穿心蓮

(ANDROGRAPHIS HERBA)

穿心蓮 MI	2
一、藥材採購及鑑定.....	2
二、藥材性狀描述 (圖 1).....	2
三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2).....	2
四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3).....	3
穿心蓮 HPLC	8
一、材料.....	8
二、儀器及層析管柱.....	8
三、實驗藥品及試劑來源.....	8
四、方法.....	8
五、結果.....	11
穿心蓮 TLC	27
一、方法.....	27
二、萃法選擇及濃度測試.....	28
三、溶媒系統選擇.....	29
四、觀察方式選擇.....	32
五、十批穿心蓮藥材樣品檢測.....	33

穿心蓮 MI

一、藥材採購及鑑定

收集 10 批來自全臺北、中、南、東各地不同通路之中藥販賣業或中藥製造業的藥材樣品，確認所收集之藥材為穿心蓮的乾燥地上部分。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：穿心蓮

生藥名：ANDROGRAPHIS HERBA

英文名：Common Andrographis Herb

基原：爵床科 Acanthaceae 植物穿心蓮 *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees 之乾燥地上部分。

採收加工：秋初莖葉茂盛時採割，曬乾。

藥材性狀：本品已切成不規則的段。莖呈四方柱形，多分枝，直徑 2~5 mm，節稍膨大。質脆，易折斷，斷面髓部白色。單葉對生，葉柄短或近無柄，葉片皺縮、易碎，完整者展開後呈披針形至卵狀披針形，先端漸尖，基部楔形下延，全緣至波狀；上表面綠色，下表面灰綠色，兩面光滑。蒴果扁，中有一縱溝，長約 1 cm。氣微，味極苦。

生長分佈：一年生草本植物，喜溫暖潮濕，忌乾旱，土壤以肥沃的砂質土最好，不宜於鹼土地區栽培。常生於濕熱的平原、丘陵地區。花期 9~10 月，果期 10~11 月。本種原產於南亞、東南亞地區，中國南方諸省如福建、廣東、雲南等均有栽培。

三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2)

莖：

1. 表皮細胞 1 列，外被角質層，偶可見腺鱗，有的細胞內含鐘乳體。
2. 厚角組織在莖的四個稜角處較多。
3. 皮層窄，細胞呈類長方形。
4. 內皮層由壁略增厚的細胞組成。
5. 韌皮部狹窄，細胞壁皺縮，排列緊密，外側有纖維散生。
6. 木質部發達，由導管和射線組成，導管直徑約 10~30 μm 。
7. 髓部薄壁細胞大，中心部分偶見含細小草酸鈣針晶，散在或成團聚集。

葉：

1. 上表皮 1 列，細胞呈類方形或長方形，有的含有圓形、長橢圓形至棒槌狀鐘乳體，偶見腺鱗、非腺毛。
2. 近中柱處之上下表皮細胞內可見厚角組織。
3. 葉肉細胞由柵狀組織及排列疏鬆的海綿組織組成。
4. 主脈維管束為外韌型，呈凹槽狀。
5. 導管直徑約 5~20 μm 。
6. 下表皮由 1 列類方形細胞組成，有的含鐘乳體、腺鱗及非腺毛。

四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3)

1. 本品粉末為黃綠色。
2. 非腺毛圓錐形，由 1~4 個細胞組成，直徑約 20~40 μm ，頂部鈍或尖，有的表面具角質紋理。
3. 腺鱗頭部扁球形，頂面觀呈類圓形，多由 8 個細胞組成，亦有 4 或 6 個細胞，直徑約 30~40 μm ，柄極短。
4. 表皮細胞呈不規則形，外壁稍增厚，角質化。可見氣孔，副衛細胞大小不等。
5. 含晶細胞呈類方形或長方形，內含圓形、橢圓形或棒狀鐘乳體。
6. 導管主要為螺紋、網紋及有緣紋孔導管，直徑約 10~50 μm 。

圖 1 穿心蓮藥材圖

圖 2A 穿心蓮莖橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖 C.鐘乳體 D.腺鱗 E.草酸鈣針晶

1.角質層 2.表皮 3.厚角組織 4.皮層 5.內皮層 6.韌皮部 7.木質部 8.射線

9.髓 10.鐘乳體 11.腺鱗

圖 2B 穿心蓮葉橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖 C.鐘乳體 D.腺鱗 E.非腺毛

1.上表皮 2.厚角組織 3.葉肉組織 4.鐘乳體 5.木質部 6.韌皮部 7.腺鱗

8.下表皮

圖 3 穿心蓮粉末顯微特徵圖

- 1.非腺毛 2.腺鱗 3.表皮細胞及氣孔 4.鐘乳體 5.螺紋導管 6.網紋導管
7.有緣紋孔導管

參考文獻

1. 衛生福利部臺灣中藥典第四版編輯工作小組(2021)。臺灣中藥典第四版。台北市：衛生福利部。213 頁。
2. 行政院衛生署中醫藥委員會(1999)。中藥材品質管制：組織型態學鑑定。台北市：行政院衛生署中醫藥委員。253~254 頁。
3. 戴新民(1978)。中藥栽培法。啟業書局。162 頁。
4. 中華人民共和國香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部(2010)。香港中藥材標準第三冊。香港：香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部。109~113 頁。
5. 肖培根等(2002)。新編中藥志第三卷。北京：化學工業出版社。250~253 頁。
6. 陳士林、林余霖(主編)(2013)。中藥飲片標準圖鑑。福州：海峽出版發行集團·福建科學技術出版社。487 頁。
7. 國家藥典委員會(2020)。中華人民共和國藥典 2020 年版一部。北京：中國醫藥科技出版社。280~281 頁。
8. 李家實(主編)(1993)。中藥鑑定學。貴州科技出版社。379~381 頁。
9. 任仁安(主編)(1986)。中藥鑑定學。上海科學技術出版社。485~486 頁。
10. 趙中振、陳虎彪(主編)(2016)。中藥顯微鑑定圖典。福建科學技術出版社。424~425 頁。
11. 范崔生(主編)(1995)。中藥採收鑑別應用全書。江西科學技術出版社。570~571 頁。
12. 李勇(主編)(2021)。中國中草藥圖典上冊。南門書局有限公司。116 頁。

穿心蓮 HPLC

一、材料

購自於臺灣各地中藥店穿心蓮藥材共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

HITACHI 5000 series，包含 DAD 5430、Column oven 5310、Auto Sampler 5260、Pump 5160；層析管柱 COSMOSIL 5C₁₈-AR-II Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)。

(二) UPLC 儀器及層析管柱

HITACHI Chromaster Ultra 6000 series，包含 DAD 6430、Autosampler 6270、Binary pump 6170、column oven 6310；層析管柱 Phenomenex Kinetex C18 Column (100 × 2.1 mm, 1.7 μm)。

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

甲醇(HPLC grade)購自於 Merck；乙腈(HPLC grade)購自於 Sigma-Aldrich。

(二) 標準品

標準品穿心蓮內酯 (Andrographolide)、脫水穿心蓮內酯 (Dehydroandrographolide)，購自於成都埃法生物科技有限公司，純度皆 98% 以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

取本品粉末 6 份，每份準確稱取 0.5 g，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇、75% 甲醇、50% 甲醇、乙醇、75% 乙醇、50% 乙醇各 25 mL，超音波振盪處理(功率 300W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，離心(6000 rpm) 10 分鐘後，以 No. 1 濾紙過濾，濾液移入 25 mL 之容量瓶中，加入溶媒至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PVDF 0.22 μm)，即得。每針 10 μL 注入高效液相層析儀(HPLC)，以所測得每克重量之標準品穿心蓮內酯與脫水穿心蓮內酯最大波峰面積為最佳穿心蓮藥材萃取溶媒。

(二) 最佳萃取次數評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 0.2 g，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇 10 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz，40 °C) 30 分鐘，離心(6000 rpm) 10 分鐘後，以 No. 1 濾紙過濾，濾液移入 25 mL 之容量瓶中，加入溶媒至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PVDF 0.22 μm)，即得。每針 10 μL 注入 HPLC，殘渣部分重複上述方法多次萃取、進樣，直到指標成分被萃取完全，並選出最佳萃取次數。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品穿心蓮內酯 1.0 mg 與脫水穿心蓮內酯 1.0 mg，分別加入 1 mL 甲醇，再以 1:1 進行混合，製成每 1 mL 含穿心蓮內酯 500 µg 與脫水穿心蓮內酯 500 µg 的混合標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 60 µg/mL 製成混合對照標準品溶液。

(四) 檢品溶液

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 0.2 g，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇 10 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz，40 °C) 30 分鐘，離心(6000 rpm) 10 分鐘後，取上清液，殘渣部分重複提取 1 次，合併上清液，以 No. 1 濾紙過濾，移入 25 mL 之容量瓶中，加甲醇至刻度，搖勻再過濾(syringe filter, PVDF 0.22 µm)，即得。

(五) 測定法

分別準確吸取對照標準品溶液、檢品溶液 10 µL，注入 HPLC，測定，用標準曲線分別計算溶液中穿心蓮內酯與脫水穿心蓮內酯的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取混合標準品儲備溶液(500 µg/mL)適量，以甲醇稀釋製成含穿心蓮內酯與脫水穿心蓮內酯分別為 240、120、60、30、10 µg/mL 的標準品溶液。以上溶液各取 10 µL 分別注入 HPLC 進行定量分析，利用標準品之波峰面積(y 軸)和標準品之濃度(x 軸)進行線性回歸，並求得檢量線之方程式 $y = ax + b$ 與相關係數 R^2 。

(七) 精密度試驗

以穿心蓮內酯與脫水穿心蓮內酯濃度為 60 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以穿心蓮內酯與脫水穿心蓮內酯的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售穿心蓮藥材粉末，依穿心蓮藥材檢品溶液製備方法平行製備 5 份穿心蓮藥材檢品溶液，進樣測定，以穿心蓮內酯與脫水穿心蓮內酯的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售穿心蓮藥材粉末，依穿心蓮藥材檢品溶液製備方法製備穿心蓮藥材檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以穿心蓮內酯與脫水穿心蓮內酯的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(九) 偵測極限與定量極限試驗

1. 偵測極限(Limit of Detection, LOD)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比 $\geq 3:1$ 時之濃度，作為偵測極限估計值。
2. 定量極限(Limit of Quantification, LOQ)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比 $\geq 10:1$ 時之濃度，作為定量極限估計值。

(十) 添加回收率試驗

取已知穿心蓮內酯與脫水穿心蓮內酯含量的穿心蓮粉末 5 份，每份準確稱取約 0.2 g，分別加入 1.0 mg 的標準品，並按檢品溶液製備方法操作測定。

(十一) HPLC 分析條件

1. 層析管：COSMOSIL 5C₁₈-AR-II Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：220 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：40 °C
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	水(%)
0	22	78
25	50	50

(十二) 臺灣市售穿心蓮藥材含量測定

取 10 批市售穿心蓮藥材依檢品溶液製備方法製備檢品溶液，取各 10 μL 連續 3 針注入 HPLC，所得平均波峰面積依附錄 I 公式計算樣品穿心蓮內酯與脫水穿心蓮內酯的百分含量。

(十三) 穿心蓮藥材檢品之 UPLC 層析條件

1. 層析管：Phenomenex Kinetex C18 Column (100 × 2.1 mm, 1.7 μm)。
2. 檢測波長：220 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：40 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	水(%)
0	22	78
10	50	50

五、結果

(一) 標準品穿心蓮內酯與脫水穿心蓮內酯之 HPLC 層析

於滯留時間 12.6 與 22.2 分鐘處分別顯示穿心蓮內酯與脫水穿心蓮內酯標準品波峰(圖一)。

圖一、穿心蓮內酯與脫水穿心蓮內酯標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售穿心蓮藥材檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 12.6 與 22.3 分鐘處分別顯示穿心蓮藥材檢品中穿心蓮內酯與脫水穿心蓮內酯的波峰(圖二)。穿心蓮內酯之分離率(R)為 1.80, 托尾因子(T)為 1.18, 脫水穿心蓮內酯之分離率(R)為 1.80, 托尾因子(T)為 1.19, 均在系統適用性要求內。

圖二、市售穿心蓮藥材檢品之 HPLC 層析圖

表一、穿心蓮內酯與脫水穿心蓮內酯之分離率與拖尾因子

對照標準品	分離率	拖尾因子
穿心蓮內酯	1.80	1.18
脫水穿心蓮內酯	1.80	1.19

(三) 最佳萃取溶媒評估

以甲醇為溶媒時，每克藥材重量所得穿心蓮內酯與脫水穿心蓮內酯的波峰面積最大，顯示甲醇為最佳萃取溶媒。

表二、不同溶媒萃取評估

溶媒	穿心蓮內酯波峰面積	脫水穿心蓮內酯波峰面積	最佳萃取
甲醇	1724112	1084104	√
75% 甲醇	1530329	1026594	
50% 甲醇	839706	642627	
乙醇	726459	372512	
75% 乙醇	868165	629207	
50% 乙醇	1311356	1016840	

(四) 最佳萃取次數評估

結果顯示萃取 2 次基本上已將穿心蓮內酯與脫水穿心蓮內酯萃取完全(萃取率大於 98%)。

表三、穿心蓮檢品萃取次數評估

甲醇萃取次數	穿心蓮內酯波峰面積	脫水穿心蓮內酯波峰面積
第 1 次	1937966	1207054
第 2 次	181848	127543
第 3 次	N.D.	N.D.

(五) 標準品穿心蓮內酯與脫水穿心蓮內酯檢量線

1. 經不同濃度穿心蓮內酯(x)對各自層析波峰面積的反應值(y)所得到的檢量線方程式為 $y = 10150x + 55373$ ， $R^2 = 0.9997$ ，顯示濃度在 10–240 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。

圖三、穿心蓮內酯之檢量線圖

2. 經不同濃度脫水穿心蓮內酯(x)對各自層析波峰面積的反應值(y)所得到的檢量線方程式為 $y = 7911.3x + 42009$ ， $R^2 = 0.9997$ ，顯示濃度在 10–240 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖四)。

圖四、脫水穿心蓮內酯之檢量線圖

表四、穿心蓮內酯與脫水穿心蓮內酯之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
穿心蓮內酯	10–240	$y = 10150x + 55373$	0.9997
脫水穿心蓮內酯	10–240	$y = 7911.3x + 42009$	0.9997

(六) 精密度試驗

實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，穿心蓮內酯與脫水穿心蓮內酯精密度之相對標準差分別為 0.85%與 0.19%，均在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，穿心蓮內酯與脫水穿心蓮內酯重複性之相對標準差分別為 3.85%與 4.62%，均在系統適用性要求內。穿心蓮內酯與脫水穿心蓮內酯在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差分別為 1.20%與 0.92%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

穿心蓮內酯偵測極限為 0.1 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)，定量極限為 0.35 $\mu\text{g/mL}$ (圖六)；脫水穿心蓮內酯偵測極限為 0.3 $\mu\text{g/mL}$ (圖七)，定量極限為 1.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖八)

圖五、穿心蓮內酯之偵測極限層析圖

圖六、穿心蓮內酯之定量極限層析圖

圖七、脫水穿心蓮內酯之偵測極限層析圖

圖八、脫水穿心蓮內酯之定量極限層析圖

表五、各項檢驗分析

檢測項目	穿心蓮內酯		脫水穿心蓮內酯	
	濃度	R.S.D. (%)	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	60 µg/mL	0.85	60 µg/mL	0.19
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.2)	3.85	檢品溶液(No.2)	4.62
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.2)	1.20	檢品溶液(No.2)	0.92
偵測極限 (n=3)	0.1 µg/mL	-	0.3 µg/mL	-
定量極限 (n=3)	0.35 µg/mL	-	1.0 µg/mL	-

(九) 添加回收率試驗

穿心蓮內酯平均添加回收率為 97.3%，相對標準偏差為 2.88% (表六)，
脫水穿心蓮內酯平均添加回收率為 95.1%，相對標準偏差為 2.16% (表七)。

表六、穿心蓮內酯添加回收率

編號	藥材稱重 (g)	含有量 (mg)	加入量 (mg)	測得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	R.S.D. (%)
1	0.202	1.2172	1.0	2.1636	97.6	97.3	2.88
2	0.202	1.2172	1.0	2.1915	98.8		
3	0.202	1.2172	1.0	2.1790	98.3		
4	0.202	1.2172	1.0	2.2062	99.5		
5	0.202	1.2172	1.0	2.0507	92.5		

表七、脫水穿心蓮內酯添加回收率

編號	藥材稱重 (g)	含有量 (mg)	加入量 (mg)	測得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	R.S.D. (%)
1	0.202	1.4912	1.0	2.3902	96.0	95.1	2.16
2	0.202	1.4912	1.0	2.2813	91.6		
3	0.202	1.4912	1.0	2.3940	96.1		
4	0.202	1.4912	1.0	2.4098	96.8		
5	0.202	1.4912	1.0	2.3649	95.0		

(十) 臺灣市售穿心蓮含量測定

10 批穿心蓮之含量測定結果(乾燥品)如表八所示，穿心蓮內酯的含量為 0.61%–2.85%，脫水穿心蓮內酯的含量為 0.27%–1.03%，穿心蓮內酯與脫水穿心蓮內酯總含量為 1.33%–3.45%。建議穿心蓮藥材指標成分穿心蓮內酯與脫水穿心蓮內酯的總含量不得少於 1.0%。理論板數按穿心蓮內酯與脫水穿心蓮內酯波峰計算分別應不低於 8000 (實際值為 44765 (穿心蓮內酯), 94475 (脫水穿心蓮內酯))。

表八、臺灣市售穿心蓮檢品之穿心蓮內酯與脫水穿心蓮內酯的含量

藥材編號 (No.)	穿心蓮內酯 含量(%)	脫水穿心蓮內酯 含量(%)	穿心蓮內酯與脫水穿心蓮內酯 總量(%)
1 (NC)	0.61	0.73	1.33
2 (NH)	1.88	0.46	2.34
3 (NJ)	0.65	0.77	1.42
4 (CA)	0.86	1.03	1.88
5 (CB)	0.64	0.83	1.47
6 (CF)	2.85	0.61	3.45
7 (CH)	2.47	0.50	2.97
8 (SC)	1.51	0.27	1.78
9 (SD)	2.80	0.40	3.20
10 (SU1-B)	0.81	0.65	1.45
平均值±S.D.	1.50±0.88	0.62±0.21	2.13±0.77

(十一) 穿心蓮藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售穿心蓮藥材檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：COSMOSIL 5C₁₈-AR-II Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)。
2. 檢測波長：220 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：40 $^{\circ}$ C
5. 注入量：10 μ L
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	水(%)
0	20	80
15	25	75
30	28	72
60	40	60
65	85	15

圖九、10 批穿心蓮之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 標準品穿心蓮內酯與脫水穿心蓮內酯之 UPLC 層析

於滯留時間 3.27 與 6.38 分鐘處分別顯示穿心蓮內酯與脫水穿心蓮內酯標準品的波峰(圖十)。

圖十、穿心蓮內酯與脫水穿心蓮內酯標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售穿心蓮藥材檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 3.27 與 6.38 分鐘處分別顯示穿心蓮檢品中穿心蓮內酯與脫水穿心蓮內酯(圖十一)。

圖十一、市售穿心蓮藥材檢品之 UPLC 層析圖

(十四) 穿心蓮內酯的分子式、分子量與熔點

分子式：C₂₀H₃₀O₅；分子量：350.45；熔點：230–231 °C；白色結晶粉末。

(十五) 穿心蓮內酯的結構

(十六) 穿心蓮內酯的 ¹H NMR 圖譜

圖十二、穿心蓮內酯的 ¹H NMR 圖譜(CD₃OD/CDCl₃)

(十七) 穿心蓮內酯的 ^{13}C NMR 圖譜

圖十三、穿心蓮內酯的 ^{13}C NMR 圖譜($\text{CD}_3\text{OD}/\text{CDCl}_3$)

(十八) 穿心蓮內酯的 ESI-MS 圖譜

圖十四、穿心蓮內酯的 ESI-MS 圖譜

(十九) 穿心蓮內酯的 FTIR 圖譜

圖十五、穿心蓮內酯的 FTIR 圖譜

(二十) 穿心蓮內酯的 UV 圖譜

圖十六、穿心蓮內酯的 UV 圖譜

(二十一) 穿心蓮內酯的氫、碳化學位移

穿心蓮內酯

表九、穿心蓮內酯的氫、碳化學位移(CD₃OD/CDCl₃)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	1.22–1.27 (m), 1.76–1.82 (m)	37.7
2	1.76–1.82 (m)	28.5
3	3.39 (t, 7.8)	80.5
4	-	43.1
5	1.22–1.27 (m)	55.9
6	1.29–1.33 (m), 1.83–1.85 (m)	24.5
7	1.96–2.01 (m), 2.38–2.41 (m)	38.4
8	-	147.6
9	3.29–3.31 (m)	56.8
10	-	39.5
11	2.52–2.61 (m)	25.3
12	6.85–6.88 (m)	149.3
13	-	129.0
14	4.96 (d, 6.0)	66.1
15	4.17 (dd, 10.2, 6.0), 4.44 (dd, 10.2, 1.8)	75.6
16	-	172.1
17	4.62 (s), 4.86 (s)	109.2
18	1.20 (s)	23.2
19	3.29–3.31 (m), 4.13 (d, 11.4)	64.7
20	0.70 (s)	15.5

^a(Multiplicity, *J* in Hz) in ppm.

(二十二) 脫水穿心蓮內酯的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{20}H_{28}O_4$ ；分子量：332.43；熔點：204 °C；白色結晶粉末。

(二十三) 脫水穿心蓮內酯的結構

(二十四) 脫水穿心蓮內酯的 1H NMR 圖譜

圖十七、脫水穿心蓮內酯的 1H NMR 圖譜($CD_3OD/CDCl_3$)

(二十五) 脫水穿心蓮內酯的 ^{13}C NMR 圖譜

圖十八、脫水穿心蓮內酯的 ^{13}C NMR 圖譜($\text{CD}_3\text{OD}/\text{CDCl}_3$)

(二十六) 脫水穿心蓮內酯的 ESI-MS 圖譜

圖十九、脫水穿心蓮內酯的 ESI-MS 圖譜

(二十七) 脫水穿心蓮內酯的 FTIR 圖譜

圖二十、脫水穿心蓮內酯的 FTIR 圖譜

(二十八) 脫水穿心蓮內酯的 UV 圖譜

圖二十一、脫水穿心蓮內酯的 UV 圖譜

(二十九) 脫水穿心蓮內酯的氫、碳化學位移

脫水穿心蓮內酯

表十、脫水穿心蓮內酯的氫、碳化學位移(CD₃OD/CDCl₃)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	1.07–1.13 (m), 1.44–1.47 (m)	38.6
2	1.68–1.72 (m)	28.0
3	3.37 (dd, 9.6, 5.4)	80.5
4	-	42.8
5	1.14–1.18 (m)	54.9
6	1.19–1.33 (m), 1.74–1.77 (m)	23.3
7	1.98–2.03 (m), 2.39–2.42 (m)	36.8
8	-	148.5
9	2.28 (d, 10.2)	62.0
10	-	38.8
11	6.79 (dd, 15.6, 10.2)	136.2
12	6.07 (d, 15.6)	121.3
13	-	129.3
14	7.23 (t, 1.8)	144.3
15	4.81 (d, 1.8)	70.4
16	-	173.6
17	4.46 (d, 1.2), 4.72 (d, 1.2)	109.2
18	1.19 (s)	22.9
19	3.28 (d, 10.8), 4.15 (d, 10.8)	64.4
20	0.77 (s)	16.1

^a(Multiplicity, *J* in Hz) in ppm.

穿心蓮 TLC

生藥名：ANDROGRAPHIS HERBA

英文名：Common Andrographis Herb

基 原：本品為爵床科 Acanthaceae 植物穿心蓮 *Andrographis paniculata* (Burm.f.)
Nees 之乾燥地部分。

一、方法

- (一) 檢品溶液 **【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》,《香港中藥材標準第三冊》✓**
—取本品粉末 1.0 g, 加乙醇 30 mL, 超音波振盪 20 分鐘, 過濾, 濾液蒸乾, 殘渣加乙醇 2 mL 使之溶解, 作為檢品溶液。
【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》
—取本品粉末 0.5 g, 加 40% 甲醇 30 mL, 超音波振盪 20 分鐘, 過濾, 取濾液作為檢品溶液。
- (二) 對照標準品
溶 液 取穿心蓮內酯 (Andrographolide) 和脫水穿心蓮內酯 (Dehydroandrographolide) 對照標準品, 加乙醇製成每 1 mL 各含 1.0 mg 的溶液, 作為對照標準品溶液。
- (三) 薄 層 板 HPTLC silica gel 60 F₂₅₄, 10 cm × 10 cm、20 cm × 10 cm
- (四) 展 開 劑 **【展開劑 1】修飾《臺灣中藥典第四版 2021》,《香港中藥材標準第三冊》**
—石油醚(60~80°C): 乙酸乙酯: 乙醇 (4:2:1)
【展開劑 2】修飾《中華人民共和國藥典 2020》
—二氯甲烷: 甲苯: 甲醇 (8:1:1)
【展開劑 3】(自行開發)✓
—正己烷: 乙酸乙酯: 乙醇 (10:6:3)
- (五) 展 開 槽 10 cm × 10 cm、20 cm × 10 cm
- (六) 展 開 展 開槽預先平衡 15 分鐘, 上行展開, 展開距離 8 cm。
- (七) 顯色&檢視 風乾後, 於主波長 254 nm 之紫外燈照射下檢視之, 或以 10% 硫酸/乙醇試液(H₂SO₄/EtOH TS)噴霧後, 105 °C 加熱至條帶顯色清晰, 於主波長 365 nm 之紫外燈照射下檢視之。

二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：110/07/26

相對溼度(RH)：62%

溫度(RT)：23.8 °C

【展開劑3】(自行開發)——正己烷：乙酸乙酯：乙醇 (10：6：3)

——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出

——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出

編號	名稱	點注量
1, 2, 3	穿心蓮內酯(1.0 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
4, 5, 6	脫水穿心蓮內酯(1.0 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
7, 8, 9	檢品溶液 2【萃取方法 1】	1, 2, 5 μ L
10, 11, 12	檢品溶液 2【萃取方法 2】	2, 5, 8 μ L

建議萃法：2種萃法之檢品溶液中皆有分離與檢出穿心蓮內酯和脫水穿心蓮內酯，因濃度適中，故維持臺灣中藥典【萃取方法 1】。

建議點注量：穿心蓮內酯 5 μ L，脫水穿心蓮內酯 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 1】 2 μ L。

三、溶媒系統選擇

實驗日期：110/07/26

相對溼度(RH)：62%

溫度(RT)：23.8 °C

【展開劑 1】修飾《臺灣中藥典第四版 2021》，《香港中藥材標準第三冊》——石油醚(60~80°C)：乙酸乙酯：乙醇 (4：2：1)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》，《香港中藥材標準第三冊》——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(穿心蓮內酯 R_f 值為 0.28，脫水穿心蓮內酯 R_f 值為 0.4)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》，《香港中藥材標準第三冊》——10% 硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出(穿心蓮內酯 R_f 值為 0.28，脫水穿心蓮內酯 R_f 值為 0.4)

【展開劑 2】修飾《中華人民共和國藥典 2020》——二氯甲烷：甲苯：甲醇 (8：1：1)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》，《香港中藥材標準第三冊》——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(穿心蓮內酯 R_f 值為 0.21，脫水穿心蓮內酯 R_f 值為 0.3)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》，《香港中藥材標準第三冊》——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出(穿心蓮內酯 R_f 值為 0.21，脫水穿心蓮內酯 R_f 值為 0.3)

【展開劑3】 (自行開發)——正己烷：乙酸乙酯：乙醇 (10：6：3) ✓

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》，《香港中藥材標準第三冊》
——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(穿心蓮內酯 R_f 值為 0.35，脫水穿心蓮內酯 R_f 值為 0.45)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》，《香港中藥材標準第三冊》
——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出(穿心蓮內酯 R_f 值為 0.35，脫水穿心蓮內酯 R_f 值為 0.45)

- 1：Blank
- 2：穿心蓮內酯
- 3：脫水穿心蓮內酯
- 4，5：檢品溶液 2
- 6：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 1】方式，三種展開劑皆可從檢品溶液中分離與檢出穿心蓮內酯，脫水穿心蓮內酯，因 R_f 值適中且分離較佳，故採用自行開發之【展開劑 3】。

四、觀察方式選擇

實驗日期：110/07/26

相對溼度(RH)：62%

溫度(RT)：23.8 °C

【展開劑3】(自行開發)——正己烷：乙酸乙酯：乙醇(10：6：3)

【萃取方法1】《臺灣中藥典第四版2021》，《香港中藥材標準第三冊》
—HPTLC 可見光檢出

【萃取方法1】《臺灣中藥典第四版2021》，《香港中藥材標準第三冊》
—HPTLC 紫外光(254 nm)檢出✓

【萃取方法1】《臺灣中藥典第四版2021》，《香港中藥材標準第三冊》
—HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後
可見光檢出

【萃取方法1】《臺灣中藥典第四版2021》，《香港中藥材標準第三冊》
—HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後
紫外光(365 nm)檢出✓

- 1：Blank
2：穿心蓮內酯
3：脫水穿心蓮內酯
4，5：檢品溶液
6：Spike

建議觀察方式：於紫外光(254 nm)檢視，或以 10%硫酸/乙醇顯色後於紫外光(365 nm)檢視下，皆有較明顯分離之條帶。

五、十批穿心蓮藥材樣品檢測

實驗日期：110/07/26

相對溼度(RH)：62%

溫度(RT)：23.8 °C

【展開劑 3】 (自行開發)——正己烷：乙酸乙酯：乙醇 (10：6：3)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》，《香港中藥材標準第三冊》

—HPTLC

(1) 紫外光(254 nm)檢出

(2) 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出

1	Blank	8, 9	檢品溶液 3 (NJ)
2	穿心蓮內酯(1.0 mg/mL)	10, 11	檢品溶液 4 (CA)
3	脫水穿心蓮內酯(1.0 mg/mL)	12, 13	檢品溶液 5 (CB)
4, 5	檢品溶液 1 (NC)	14	Spike (檢品溶液 2)
6, 7	檢品溶液 2 (NH)		

【展開劑3】(自行開發)——正己烷：乙酸乙酯：乙醇(10：6：3)

【萃取方法1】《臺灣中藥典第四版 2021》，《香港中藥材標準第三冊》

——HPTLC

(1) 紫外光(254 nm)檢出

(2) 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出

1	Blank	8, 9	檢品溶液 8 (SC)
2	穿心蓮內酯(1.0 mg/mL)	10, 11	檢品溶液 9 (SD)
3	脫水穿心蓮內酯(1.0 mg/mL)	12, 13	檢品溶液 10 (SU1B)
4, 5	檢品溶液 6 (CF)	14	Spike (檢品溶液 2)
6, 7	檢品溶液 7 (CH)		

結論與建議：以【萃取方法1】及【展開劑3】方式，顯示分離與檢出穿心蓮內酯及脫水穿心蓮內酯的效果較佳，於紫外光(254 nm)下檢視，或10%硫酸/乙醇顯色，於紫外光(365 nm)下檢視較佳。