

附子

(ACONITI LATERALIS RADIX PRAEPARATA)

附子 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
附子 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.....	13
附子 TLC	58
一、方法.....	58
二、萃法選擇及濃度測試.....	60
三、溶媒系統選擇.....	61
四、觀察方式選擇.....	63
五、十批附子藥材樣品檢測.....	64

附子 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烏頭的乾燥子根。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：附子

生藥名：ACONITI LATERALIS RADIX PRAEPARATA

英文名：Prepared Monkshood Daughter Root

基原：本品為毛茛科 Ranunculaceae 植物烏頭 *Aconitum carmichaelii* Debeaux 之乾燥子根。

採收加工：於 6 月下旬至 8 月上旬採挖，摘取烏頭旁的子根，除去泥沙，稱為「泥附子」，直接曬乾或烘乾者為生附子藥材，或經加工成不同規格品。

選擇大小均勻的泥附子，洗淨，浸入膽巴的水溶液中數日，連同浸液煮至透心，撈出，剝去外皮，縱切成厚約 0.3 cm 的片，用水浸漂直至無麻舌感，取出，蒸透，曬乾，習稱「白附片」。(參考《中華人民共和國藥典 2020 年版一部》)

藥材性狀：本品呈圓錐形，大小不一，長約 3~7 cm，直徑約 1.5~5.0 cm，表面呈灰棕色，有細皺紋，上端有凹陷的芽痕，側邊有主根(母根)摘離之痕跡，周圍有多個瘤狀隆起的支根，稱「角釘」。質堅硬，斷面呈灰白色，具粉性，橫切面可見不規則的形成層環紋，呈多角形。氣微弱，味辛辣。

飲片性狀：白附片(白順片)：本品為橫切片，已去外皮，厚約 3~5 mm，呈黃白色，半透明狀，可見白色縱向筋脈。

生長分佈：多年生草本，莖直立，高約 50~120 cm，喜溫暖濕潤環境，喜光照、耐寒、忌積水，以腐植質壤土及砂質壤土為佳，主產於四川、陝西等地。花期 6~7 月，果期 7~8 月。

三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2)

1. 後生皮層由 1 至數列黃棕色細胞組成。
2. 皮層由 8~10 列較厚的扁長方形細胞組成。
3. 內皮層明顯，細胞較小，為一系列類方形細胞。
4. 韌皮部寬廣，有小形篩管群散在，無厚壁細胞。
5. 形成層呈環，由 2~4 列扁平細胞所組成，略呈星角狀或多角形。
6. 木質部徑向或略呈「V」字形排列，導管直徑 6~66 μm。
7. 中央有髓，細胞內充滿澱粉粒。
8. 大量澱粉粒存在於薄壁細胞中。

四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3)

1. 本品粉末呈灰白色至灰棕色。
2. 澱粉粒極多，單粒球形、長圓形或腎形，臍點裂縫狀或點狀，直徑 10~21 μm ，偏光顯微鏡下呈黑十字狀；複粒由 2~7 分粒組成。
3. 後生皮層細胞表面類多角形，多破碎。
4. 石細胞較少，類方形、類長方形。
5. 導管以有緣紋孔、網紋及螺紋導管為主，直徑 6~66 μm 。



圖 1A 附子藥材圖



圖 1B 附子飲片藥材圖 (白附片)

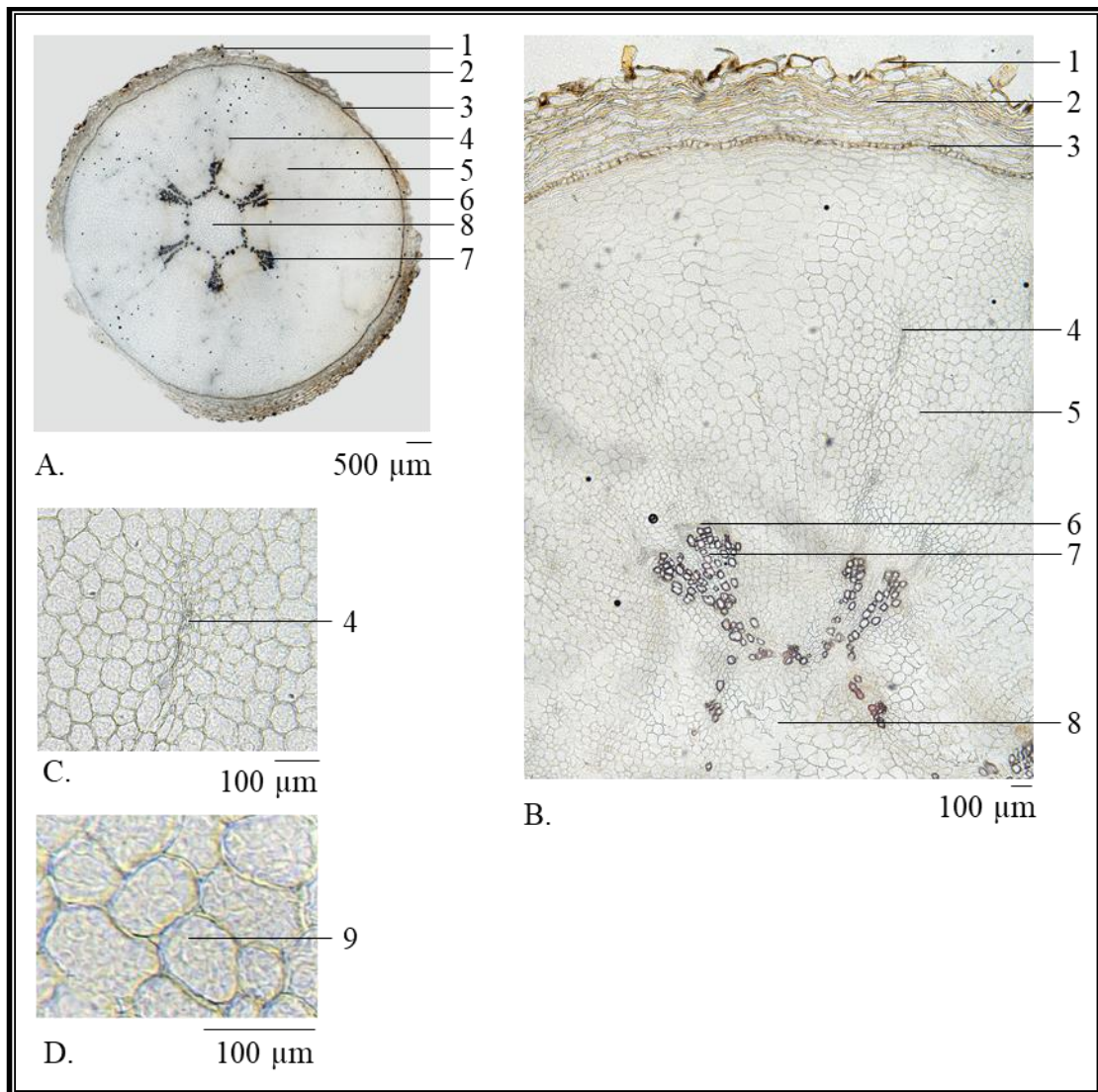


圖 2 附子橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖 C.篩管 D.薄壁細胞富含澱粉粒

1.後生皮層 2.皮層 3.內皮層 4.篩管 5.韌皮部 6.形成層 7.木質部 8.髓
9.糊化澱粉粒

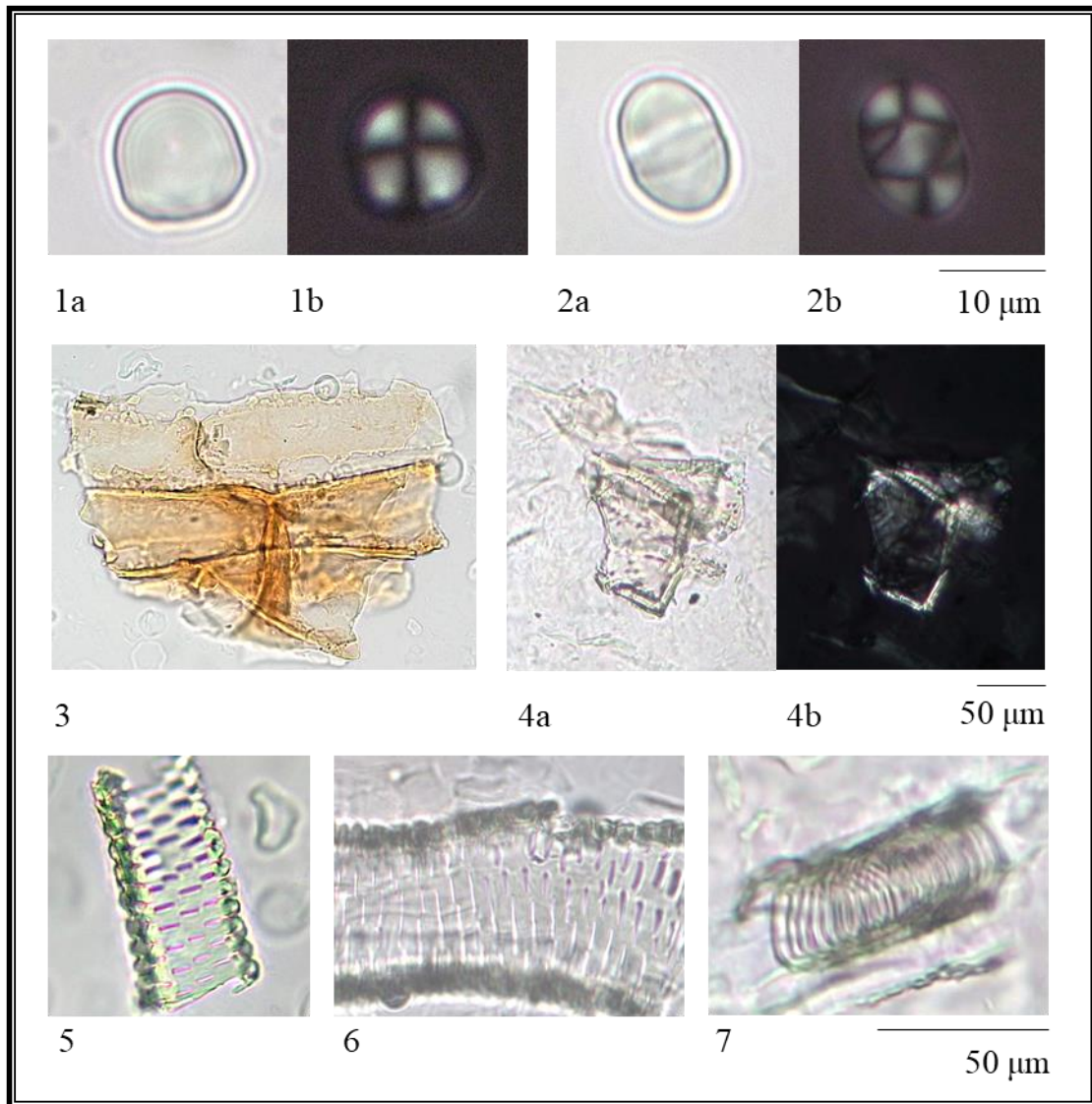


圖 3 附子粉末顯微特徵圖

a.光學顯微鏡下特徵 b.偏光顯微鏡下特徵

1.澱粉粒(單粒) 2.澱粉粒(複粒) 3.後生皮層細胞 4.石細胞 5.孔紋導管

6.網紋導管 7.螺紋導管

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。189 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。411~412 頁。
3. 張永勳、何玉玲(主編)(2019)。彩色常用中藥材鑑別圖鑑。臺北市：衛生福利部。47 頁。
4. 張永勳、何玉玲(主編)(2009)。中藥彩色圖鑑。臺北市：衛生署中醫藥委員會。218 頁。
5. 戴新民(1987)。現代本草中國藥材學上冊。啟業書局。534~538 頁。
6. 戴新民(1978)。中藥栽培法。啟業書局。202~203 頁。
7. 張賢哲(2007)。道地藥材圖鑑(一)。台中：中國醫藥大學。103~106 頁。
8. 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(2015)。香港中藥材標準第七冊。香港：香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部。26~29 頁。
9. 肖培根等(2001)。新編中藥志第一卷。北京：化學工業出版社。536~538 頁。
10. 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。340~341 頁。
11. 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。200~201 頁。
12. 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。128~129 頁。
13. 李家實(主編)(1993)。中藥鑑定學。貴州科技出版社。46~47 頁。
14. 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。35~37 頁。
15. 樓之岑、秦波(主編)(1995)。常用中藥材品種整理和質量研究第二冊。北京大學醫學出版社。142~189 頁。

附子 HPLC

一、材料

購自於臺灣各地中藥店附子藥材共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Waters 2695 Separation Module, 包含 Waters 2998、Photodiode Array Detector; 層析管柱 Agilent ZORBAX Extend C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)。

(二) UPLC 儀器及層析管柱

Agilent 1290 series, 包含 Degasser (G1330B)、Quat Pump (G4220A)、DAD (G4212A)、Autosampler (G4226A)、Column Oven (G1316C.); 層析管柱 Agilent poroshell 120 EC-C18 Column (100 × 3.0 mm, 2.7 μm)。

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

乙腈(99.9%)購自於友和貿易股份有限公司; 乙酸購自於 Merck; 氨試液(25%)購自於 Merck。

(二) 標準品

標準品苯甲醯新烏頭原鹼(Benzoylmesaconine)、苯甲醯烏頭原鹼(Benzoylaconine)、苯甲醯次烏頭原鹼(Benzoylhypaconine)、新烏頭鹼(Mesaconitine)、烏頭鹼(Aconitine)與次烏頭鹼(Hypaconitine)購自於普思生物科技股份有限公司, 純度皆 98%以上。

四、方法

(一) 萃取條件

取本品粉末(過第 20 號篩網)準確稱取 2.0 g, 置 50 mL 離心管中, 準確加入 25%氨試液 3 mL 和異丙醇: 乙酸乙酯(1:1)混合溶液 45 mL, 超音波振盪處理(功率 300 W, 頻率 40 kHz) 30 分鐘, 離心 10 分鐘(約 4000 × g), 以 No.1 濾紙過濾, 取濾液移入 50 mL 容量瓶中, 加異丙醇: 乙酸乙酯(1:1)混合溶液至刻度, 在 40 °C 以下減壓濃縮至乾, 加 0.01% 鹽酸甲醇溶液溶解, 移入 5 mL 容量瓶中, 搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μm), 取濾液即得。

(二) 萃取次數

由於萃取條件步驟複雜, 只做 1 次附子藥材萃取, 步驟同萃取條件。

(三) 對照標準品溶液

1. 準確稱取標準品苯甲醯新烏頭原鹼 4.0 mg，加 10 mL 的 0.01% 鹽酸甲醇溶液製成每 1 mL 含苯甲醯新烏頭原鹼 400 μg 的標準品儲備溶液，並以 0.01% 鹽酸甲醇溶液稀釋至 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 製成對照標準品溶液。
2. 準確稱取標準品苯甲醯烏頭原鹼 4.0 mg，加 10 mL 的 0.01% 鹽酸甲醇溶液製成每 1 mL 含苯甲醯烏頭原鹼 400 μg 的標準品儲備溶液，並以 0.01% 鹽酸甲醇溶液稀釋至 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 製成對照標準品溶液。
3. 準確稱取標準品苯甲醯次烏頭原鹼 4.0 mg，加 10 mL 的 0.01% 鹽酸甲醇溶液製成每 1 mL 含苯甲醯次烏頭原鹼 400 μg 的標準品儲備溶液，並以 0.01% 鹽酸甲醇溶液稀釋至 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 製成對照標準品溶液。
4. 準確稱取標準品新烏頭鹼 10 mg，加 10 mL 的 0.01% 鹽酸甲醇溶液製成每 1 mL 含新烏頭鹼 1000 μg 的標準品儲備溶液，並以 0.01% 鹽酸甲醇溶液稀釋至 5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 製成對照標準品溶液。
5. 準確稱取標準品烏頭鹼 7.2 mg，加 10 mL 的 0.01% 鹽酸甲醇溶液製成每 1 mL 含烏頭鹼 720 μg 的標準品儲備溶液，並以 0.01% 鹽酸甲醇溶液稀釋至 5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 製成對照標準品溶液。
6. 準確稱取標準品次烏頭鹼 6.0 mg，加 10 mL 的 0.01% 鹽酸甲醇溶液製成每 1 mL 含次烏頭鹼 600 μg 的標準品儲備溶液，並以 0.01% 鹽酸甲醇溶液稀釋至 5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 製成對照標準品溶液。

(四) 檢品溶液

取本品粉末(過第 20 號篩網)準確稱取 2.0 g，置 50 mL 離心管中，準確加入 25% 氨試液 3 mL 和異丙醇：乙酸乙酯(1：1)混合溶液 45 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，離心 10 分鐘(約 4000 $\times g$)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 50 mL 容量瓶中，加異丙醇：乙酸乙酯(1：1)混合溶液至刻度，在 40 $^{\circ}\text{C}$ 以下減壓濃縮至乾，加 0.01% 鹽酸甲醇溶液溶解，移入 5 mL 容量瓶中，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μm)，取濾液即得。

(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，用標準曲線計算溶液中苯甲醯新烏頭原鹼、苯甲醯烏頭原鹼、苯甲醯次烏頭原鹼、新烏頭鹼、烏頭鹼與次烏頭鹼的含量，即得。

(六) 檢量線

1. 準確吸取苯甲醯新烏頭原鹼標準品儲備液適量(400 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，以 0.01% 鹽酸甲醇溶液稀釋成含苯甲醯新烏頭原鹼分別為 200、100、50、20、10、5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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 。

2. 準確吸取苯甲醯烏頭原鹼標準品儲備液適量(400 $\mu\text{g/mL}$)，以 0.01%鹽酸甲醇溶液稀釋成含苯甲醯烏頭原鹼分別為 200、100、50、20、10、5.0 $\mu\text{g/mL}$ 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 。
3. 準確吸取苯甲醯次烏頭原鹼標準品儲備液適量(400 $\mu\text{g/mL}$)，以 0.01%鹽酸甲醇溶液稀釋成含苯甲醯次烏頭原鹼分別為 200、100、50、20、10、5.0 $\mu\text{g/mL}$ 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 。
4. 準確吸取新烏頭鹼標準品儲備液適量(1000 $\mu\text{g/mL}$)，以 0.01%鹽酸甲醇溶液稀釋成含新烏頭鹼分別為 100、50、25、10、5.0、2.0 $\mu\text{g/mL}$ 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 。
5. 準確吸取烏頭鹼標準品儲備液適量(720 $\mu\text{g/mL}$)，以 0.01%鹽酸甲醇溶液稀釋成含烏頭鹼分別為 100、50、25、10、5.0、2.0 $\mu\text{g/mL}$ 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 。
6. 準確吸取次烏頭鹼標準品儲備液適量(600 $\mu\text{g/mL}$)，以 0.01%鹽酸甲醇溶液稀釋成含次烏頭鹼分別為 100、50、25、10、5.0、2.0 $\mu\text{g/mL}$ 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

1. 以苯甲醯新烏頭原鹼濃度為 10 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以苯甲醯新烏頭原鹼的波峰面積為指標，求出相對標準差。
2. 以苯甲醯烏頭原鹼濃度為 10 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以苯甲醯烏頭原鹼的波峰面積為指標，求出相對標準差。
3. 以苯甲醯次烏頭原鹼濃度為 10 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以苯甲醯次烏頭原鹼的波峰面積為指標，求出相對標準差。
4. 以新烏頭鹼濃度為 5.0 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以新烏頭鹼的波峰面積為指標，求出相對標準差。
5. 以烏頭鹼濃度為 5.0 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以烏頭鹼的

波峰面積為指標，求出相對標準差。

6. 以次烏頭鹼濃度為 5.0 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以次烏頭鹼的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售附子藥材粉末，依附子藥材檢品溶液製備方法平行製備 5 份附子藥材檢品溶液，進樣測定，以苯甲醯新烏頭原鹼、苯甲醯烏頭原鹼、苯甲醯次烏頭原鹼、新烏頭鹼、烏頭鹼與次烏頭鹼的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售附子藥材粉末，依附子藥材檢品溶液製備方法製備附子藥材檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，以苯甲醯新烏頭原鹼、苯甲醯烏頭原鹼、苯甲醯次烏頭原鹼、新烏頭鹼、烏頭鹼與次烏頭鹼的含量為指標，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，並以訊號雜訊比為 $\geq 3:1$ 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，並以訊號雜訊比為 $\geq 10:1$ 時之濃度，作為定量極限估計值。

(十) 添加回收率試驗

1. 取已知苯甲醯新烏頭原鹼含量的附子藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 1.0 g，分別加入苯甲醯新烏頭原鹼 0.2 mg，並按檢品溶液製備方法操作測定。
2. 取已知苯甲醯烏頭原鹼含量的附子粉末 5 份，每份準確稱取約 1.0 g，分別加入 1 mL 的苯甲醯烏頭原鹼溶液(30 µg/mL)，並按檢品溶液製備方法操作測定。
3. 取已知苯甲醯次烏頭原鹼含量的附子藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 1.0 g，分別加入 1 mL 的苯甲醯次烏頭原鹼溶液(30 µg/mL)，並按檢品溶液製備方法操作測定。
4. 取已知新烏頭鹼含量的附子藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 1.0 g，分別加入新烏頭鹼 0.2 mg，並按檢品溶液製備方法操作測定。
5. 取已知烏頭鹼含量的附子粉末 5 份，每份準確稱取約 1.0 g，分別加入 1 mL 的烏頭鹼溶液(50 µg/mL)，並按檢品溶液製備方法操作測定。
6. 取已知次烏頭鹼含量的附子藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 1.0 g，分別加入次烏頭鹼 0.2 mg，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：Agilent ZORBAX Extend C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 235 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.2%乙酸(含 25%氨試液)(v/v, %)
0	24	76
5	31	69
20	45	55
40	78	22
50	100	0

*取 2 mL 乙酸配成 1000 mL 乙酸水溶液再加入 10 mL 氨試液(25%)
(pH 值約 10.02)。

(十二) 臺灣市售附子藥材含量測定

取 10 批市售附子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 公式計算樣品苯甲鹼新烏頭原鹼、苯甲鹼烏頭原鹼、苯甲鹼次烏頭原鹼、新烏頭鹼、烏頭鹼與次烏頭鹼的百分比含量。

(十三) 附子檢品之 UPLC 分析條件

1. 層析管：Agilent Poroshell 120 EC-C18 Column (100 x 3.0 mm, 2.7 μm)
2. 檢測波長：UV 235 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

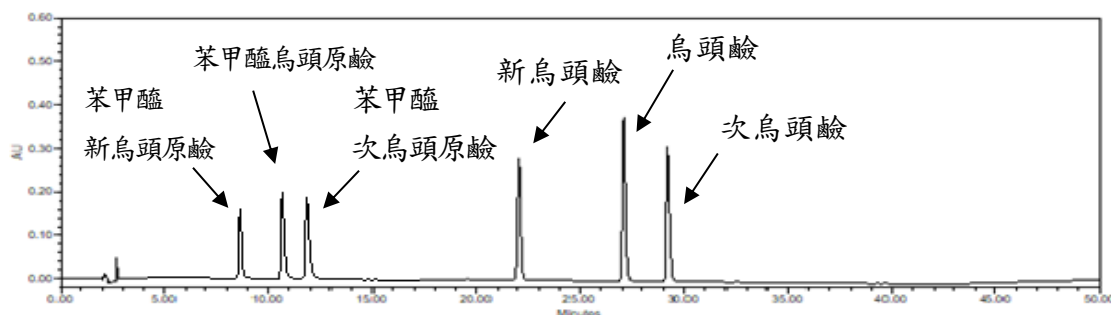
時間(min)	乙腈(%)	0.2%乙酸(含 25%氨試液)(v/v, %)
0	24	76
1	31	69
6	45	55
12	78	22
15	100	0

*取 2 mL 乙酸配成 1000 mL 乙酸水溶液再加入 10 mL 氨試液(25%)
(pH 值約 10.02)。

五、結果

(一) 標準品苯甲礬新烏頭原鹼、苯甲礬烏頭原鹼、苯甲礬次烏頭原鹼、新烏頭鹼、烏頭鹼與次烏頭鹼新烏頭鹼、烏頭鹼與次烏頭鹼之 HPLC 層析

於滯留時間 8.61、10.6、11.8、22.1、27.1 與 29.2 分鐘處分別顯示苯甲礬新烏頭原鹼、苯甲礬烏頭原鹼、苯甲礬次烏頭原鹼、新烏頭鹼、烏頭鹼與次烏頭鹼標準品波峰(圖一)。

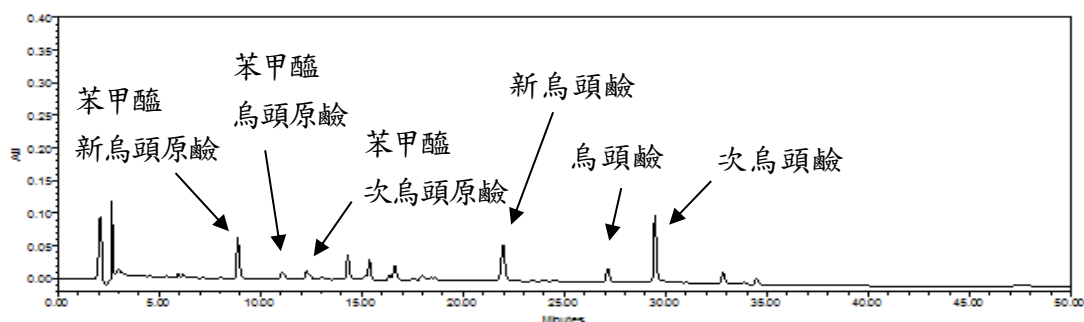


圖一、苯甲礬新烏頭原鹼、苯甲礬烏頭原鹼、苯甲礬次烏頭原鹼、新烏頭鹼、烏頭鹼與次烏頭鹼標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售附子檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 8.87、11.0、12.2、21.9、27.1 與 29.5 分鐘處分別顯示附子藥材檢品中苯甲礬新烏頭原鹼、苯甲礬烏頭原鹼、苯甲礬次烏頭原鹼、新烏頭鹼、烏頭鹼與次烏頭鹼波峰(圖二)。

苯甲礬新烏頭原鹼分離率(R)為 3.27, 拖尾因子(T)為 1.18; 苯甲礬烏頭原鹼分離率(R)為 7.12, 拖尾因子(T)為 1.19; 苯甲礬次烏頭原鹼分離率(R)為 3.09, 拖尾因子(T)為 1.20; 新烏頭鹼分離率(R)為 2.56, 拖尾因子(T)為 1.03; 烏頭鹼分離率(R)為 1.63, 拖尾因子(T)為 1.19; 次烏頭鹼分離率(R)為 7.92, 拖尾因子(T)為 1.09。



圖二、市售附子檢品之 HPLC 層析圖

表一、苯甲醯新烏頭原鹼、苯甲醯烏頭原鹼、苯甲醯次烏頭原鹼、新烏頭鹼、烏頭鹼與次烏頭鹼之分離率與拖尾因子

	苯甲醯新烏頭原鹼	苯甲醯烏頭原鹼	苯甲醯次烏頭原鹼
分離率	3.27	7.12	3.09
拖尾因子	1.18	1.19	1.20
	新烏頭鹼	烏頭鹼	次烏頭鹼
分離率	2.56	1.63	7.92
拖尾因子	1.03	1.19	1.09

(三) 萃取條件

結果顯示以 25% 氨試液 3 mL 和異丙醇：乙酸乙酯(1：1)混合溶液為溶媒時所測得之苯甲醯新烏頭原鹼、苯甲醯烏頭原鹼、苯甲醯次烏頭原鹼、新烏頭鹼、烏頭鹼與次烏頭鹼的波峰面積為佳。

表二、萃取條件

溶媒	苯甲醯新烏頭原鹼波峰面積	苯甲醯烏頭原鹼波峰面積	苯甲醯次烏頭原鹼波峰面積
25% 氨試液 3 mL 和異丙醇：乙酸乙酯(1：1)混合溶液	447277	132718	64806
溶媒	新烏頭鹼波峰面積	烏頭鹼波峰面積	次烏頭鹼波峰面積
25% 氨試液 3 mL 和異丙醇：乙酸乙酯(1：1)混合溶液	564230	156880	704019

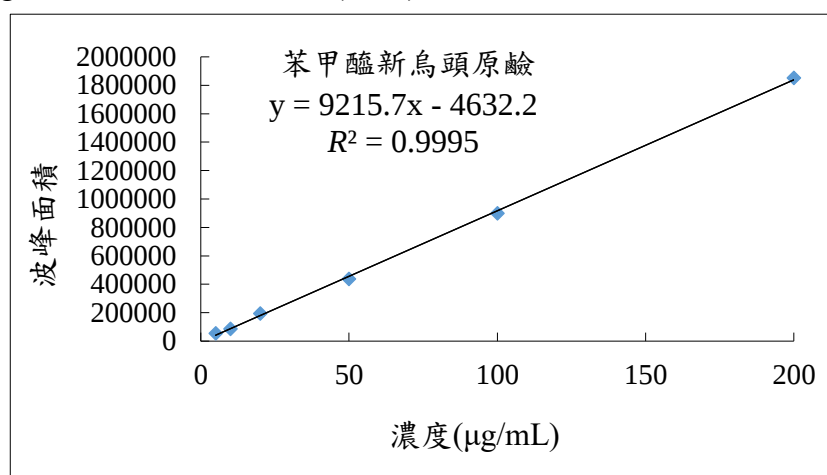
(四) 萃取次數

由於萃取條件步驟複雜，只做 1 次附子藥材萃取，結果同表二。

(五) 標準品苯甲醯新烏頭原鹼、苯甲醯烏頭原鹼、苯甲醯次烏頭原鹼、新烏頭鹼、

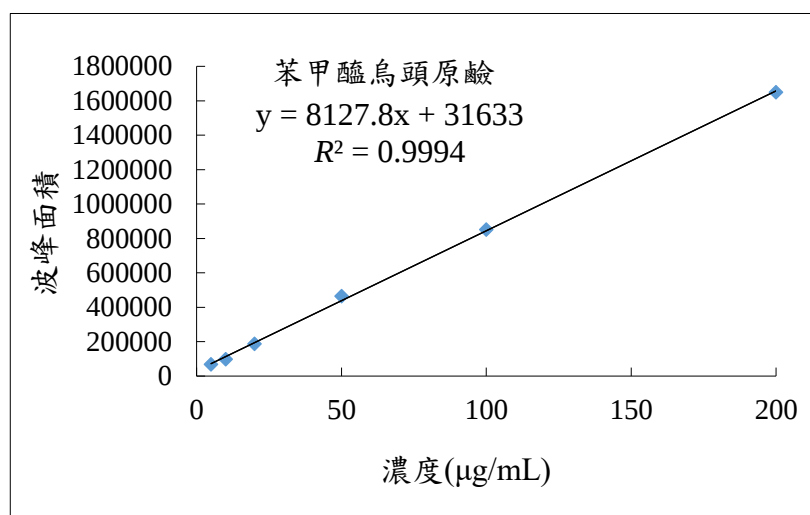
烏頭鹼與次烏頭鹼檢量線

1. 經不同濃度苯甲醯新烏頭原鹼(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 $y = 9215.7x - 4632.2$ ， $R^2 = 0.9995$ ，顯示濃度在 5.0–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



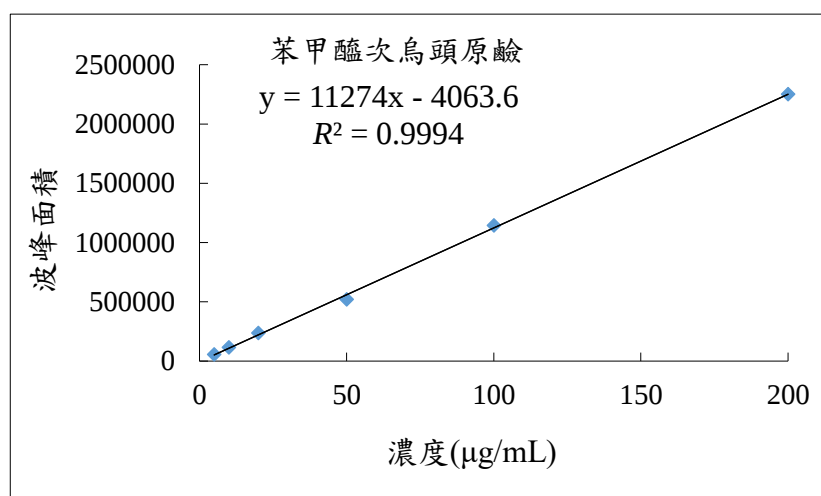
圖三、苯甲醯新烏頭原鹼之檢量線圖

2. 經不同濃度苯甲醯烏頭原鹼(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 $y = 8127.8x + 31633$ ， $R^2 = 0.9994$ ，顯示濃度在 5.0–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖四)。



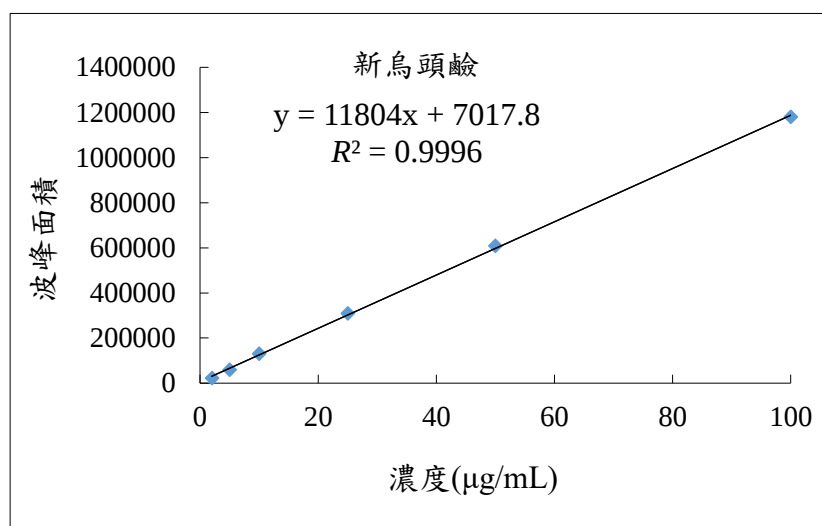
圖四、苯甲醯烏頭原鹼之檢量線圖

3. 經不同濃度苯甲醯次烏頭原鹼(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 $y = 11274x - 4063.6$ ， $R^2 = 0.9994$ ，顯示濃度在 5.0–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖五)。



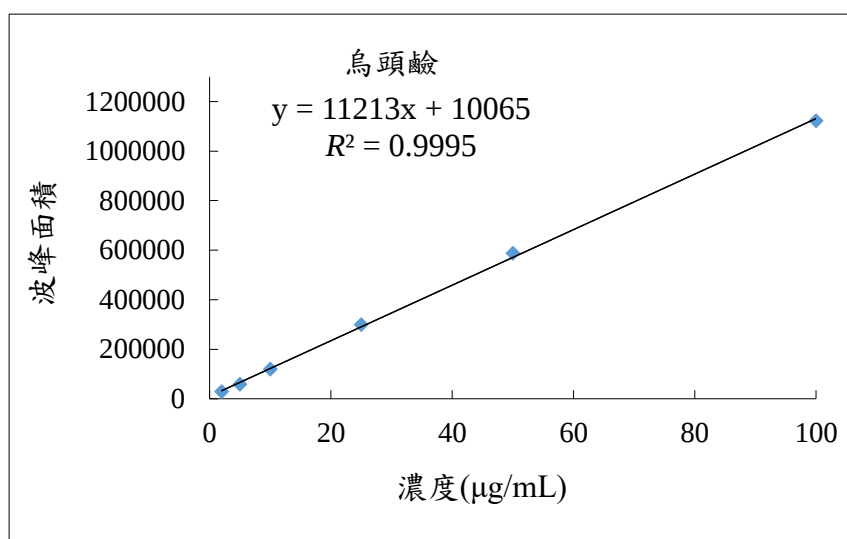
圖五、苯甲醯次烏頭原鹼之檢量線圖

4. 經不同濃度新烏頭鹼(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 $y = 11804x + 7017.8$ ， $R^2 = 0.9996$ ，顯示濃度在 2.0–100 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖六)。



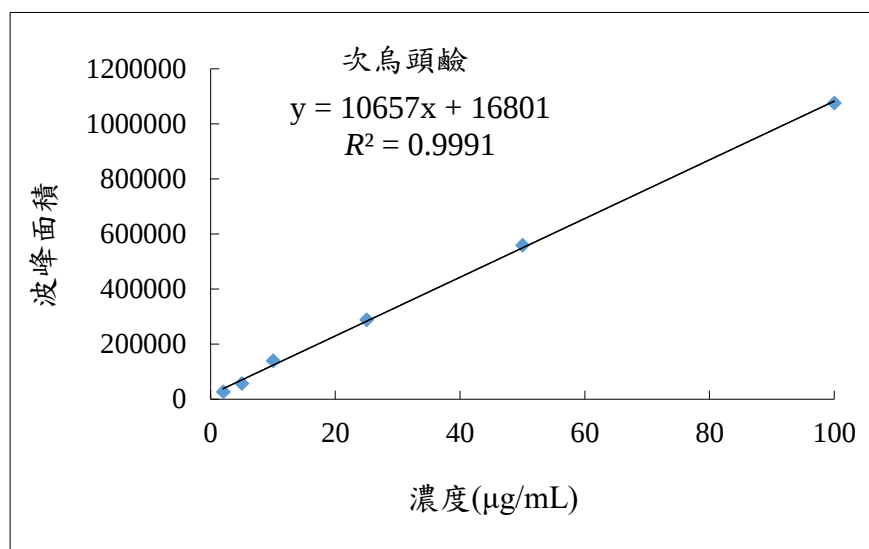
圖六、新烏頭鹼之檢量線圖

5. 經不同濃度烏頭鹼(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 $y = 11213x + 10065$ ， $R^2 = 0.9995$ ，顯示濃度在 2.0–100 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖七)。



圖七、烏頭鹼之檢量線圖

6. 經不同濃度次烏頭鹼(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 $y = 10657x + 16801$ ， $R^2 = 0.9991$ ，顯示濃度在 2.0–100 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖八)。



圖八、次烏頭鹼之檢量線圖

表三、苯甲醯新烏頭原鹼、苯甲醯烏頭原鹼、苯甲醯次烏頭原鹼、新烏頭鹼、烏頭鹼與次烏頭鹼之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
苯甲醯新烏頭原鹼	5.0–200	$y = 9215.7x - 4632.2$	0.9995
苯甲醯烏頭原鹼	5.0–200	$y = 8127.8x + 31633$	0.9994
苯甲醯次烏頭原鹼	5.0–200	$y = 11274x - 4063.6$	0.9994
新烏頭鹼	2.0–100	$y = 11804x + 7017.8$	0.9996
烏頭鹼	2.0–100	$y = 11213x + 10065$	0.9995
次烏頭鹼	2.0–100	$y = 10657x + 16801$	0.9991

(六) 精密度試驗

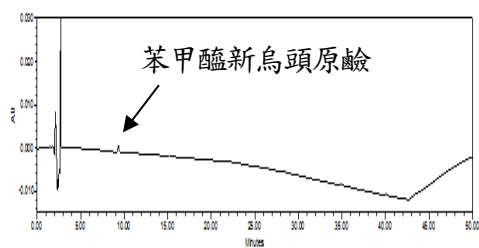
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，苯甲醯新烏頭原鹼、苯甲醯烏頭原鹼、苯甲醯次烏頭原鹼、新烏頭鹼、烏頭鹼與次烏頭鹼精密度之相對標準差分別為 0.23%、0.19%、0.34%、0.56%、0.36%與 0.55%，均在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

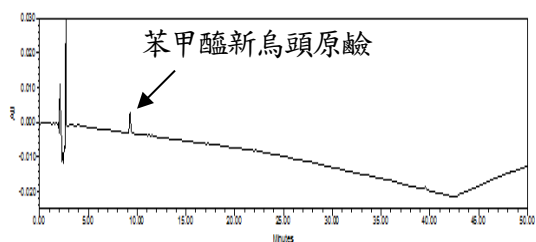
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，苯甲醯新烏頭原鹼、苯甲醯烏頭原鹼、苯甲醯次烏頭原鹼、新烏頭鹼、烏頭鹼與次烏頭鹼重複性之相對標準差分別為 2.45%、3.07%、2.31%、3.58%、2.00%與 2.25%，均在系統適用性要求內。苯甲醯新烏頭原鹼、苯甲醯烏頭原鹼、苯甲醯次烏頭原鹼、新烏頭鹼、烏頭鹼與次烏頭鹼在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差分別為 1.22%、1.98%、1.62%、1.97%、1.68%與 1.29%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

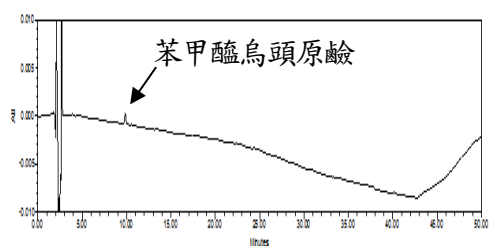
苯甲醯新烏頭原鹼偵測極限為 0.2 $\mu\text{g/mL}$ (圖九)，定量極限為 0.5 $\mu\text{g/mL}$ (圖十)。苯甲醯烏頭原鹼偵測極限為 0.5 $\mu\text{g/mL}$ (圖十一)，定量極限為 1.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖十二) 苯甲醯次烏頭原鹼偵測極限為 0.5 $\mu\text{g/mL}$ (圖十三)，定量極限為 1.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖十四)。新烏頭鹼偵測極限為 0.2 $\mu\text{g/mL}$ (圖十五)，定量極限為 1.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖十六)。烏頭鹼偵測極限為 0.2 $\mu\text{g/mL}$ (圖十七)，定量極限為 0.5 $\mu\text{g/mL}$ (圖十八) 次烏頭鹼偵測極限為 0.5 $\mu\text{g/mL}$ (圖十九)，定量極限為 2.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖二十)。



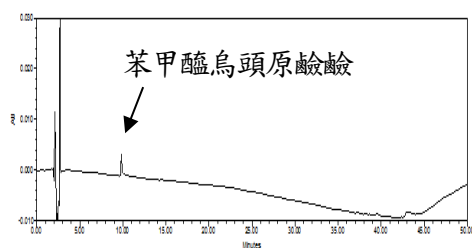
圖九、苯甲醯新烏頭原鹼之偵測極限層析圖



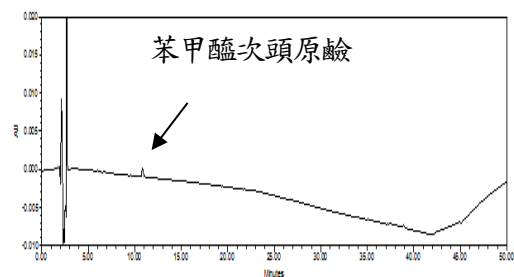
圖十、苯甲醯新烏頭原鹼之定量極
層析圖



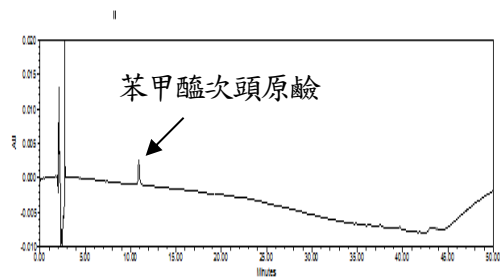
圖十一、苯甲醯烏頭原鹼之偵測極限層析圖



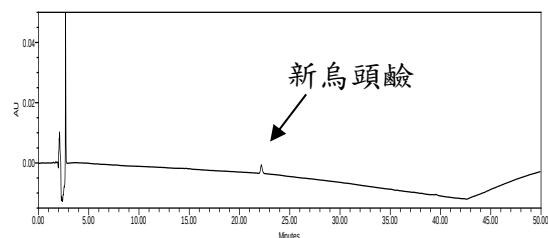
圖十二、苯甲醯烏頭原鹼之定量極
限層析圖



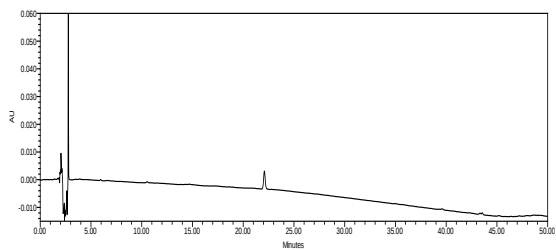
圖十三、苯甲醯次烏頭原鹼之偵測極限層析圖



圖十四、苯甲醯次烏頭原鹼之定
量極限層析圖

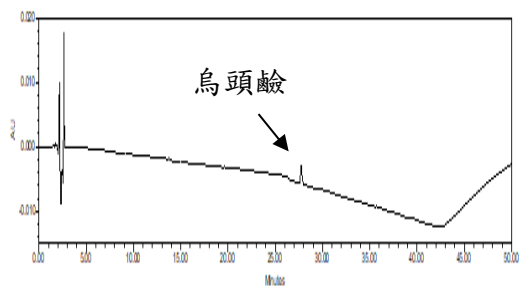


新烏頭

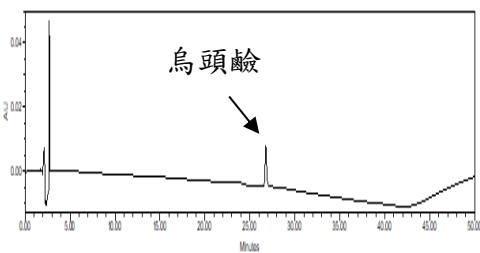


圖十五、新鳥頭鹼之偵測極限層析圖

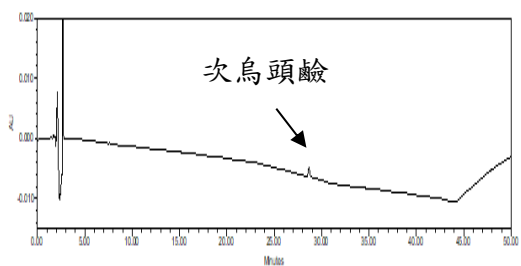
圖十六、新鳥頭鹼之定量極限層析圖



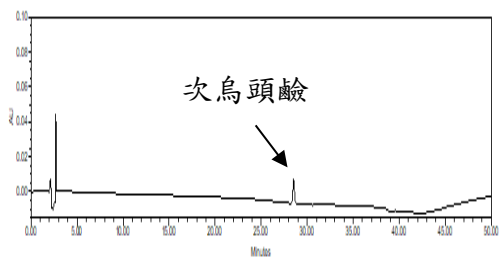
圖十七、鳥頭鹼之偵測極限層析圖



圖十八、鳥頭鹼之定量極限層析圖



圖十九、次鳥頭鹼之偵測極限層析圖



圖二十、次鳥頭鹼之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	苯甲醯新烏頭原鹼		苯甲醯烏頭原鹼	
	濃度	R.S.D. (%)	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	10 µg/mL	0.23	10 µg/mL	0.19
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.8)	2.45	檢品溶液(No.8)	3.07
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.8)	1.22	檢品溶液(No.8)	1.98
偵測極限 (n=1)	0.2 µg/mL	-	0.5 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	0.5 µg/mL	-	1.0 µg/mL	-
檢測項目	苯甲醯次烏頭原鹼		新烏頭鹼	
	濃度	R.S.D. (%)	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	10 µg/mL	0.34	5.0 µg/mL	0.56
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.8)	2.31	檢品溶液(No.8)	3.58
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.8)	1.62	檢品溶液(No.8)	1.97
偵測極限 (n=1)	0.5 µg/mL	-	0.2 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	1.0 µg/mL	-	1.0 µg/mL	-
檢測項目	烏頭鹼		次烏頭鹼	
	濃度	R.S.D. (%)	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	5.0 µg/mL	0.36	5.0 µg/mL	0.55
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.8)	2.00	檢品溶液(No.8)	2.25
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.8)	1.68	檢品溶液(No.8)	1.29
偵測極限 (n=1)	0.2 µg/mL	-	0.5 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	0.5 µg/mL	-	2.0 µg/mL	-

(九) 添加回收率試驗

苯甲醯新烏頭原鹼平均添加回收率為 95.4%，相對標準偏差為 2.61% (表五)。苯甲醯烏頭原鹼平均添加回收率為 89.9%，相對標準偏差為 2.87% (表六)。苯甲醯次烏頭原鹼平均添加回收率為 91.4%，相對標準偏差為 3.45% (表七)。新烏頭原鹼平均添加回收率為 93.4%，相對標準偏差為 2.42% (表八)。烏頭原鹼平均添加回收率為 91.6% 相對標準偏差為 2.39% (表九)。次烏頭原鹼平均添加回收率為 91.0%，相對標準偏差為 2.11% (表十)。

表五、苯甲醯新烏頭原鹼添加回收率

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	1.0	0.2041	0.2	0.3991	97.51	95.44	2.61
2	1.0	0.2041	0.2	0.3986	97.24		
3	1.0	0.2041	0.2	0.3975	96.71		
4	1.0	0.2041	0.2	0.3921	93.99		
5	1.0	0.2041	0.2	0.3876	91.74		

表六、苯甲醯烏頭原鹼添加回收率試驗

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	1.0	0.0294	0.03	0.0576	93.97	89.99	2.87
2	1.0	0.0294	0.03	0.0567	90.88		
3	1.0	0.0294	0.03	0.0562	89.24		
4	1.0	0.0294	0.03	0.0560	88.58		
5	1.0	0.0294	0.03	0.0556	87.26		

表七、苯甲醯次烏頭原鹼添加回收率

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	1.0	0.0279	0.03	0.0564	95.05	91.40	3.45
2	1.0	0.0279	0.03	0.0558	93.03		
3	1.0	0.0279	0.03	0.0544	88.30		
4	1.0	0.0279	0.03	0.0557	92.74		
5	1.0	0.0279	0.03	0.0543	87.90		

表八、新烏頭鹼添加回收率

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	1.0	0.2056	0.2	0.3980	96.20	93.39	2.42
2	1.0	0.2056	0.2	0.3888	91.61		
3	1.0	0.2056	0.2	0.3957	95.07		
4	1.0	0.2056	0.2	0.3921	93.23		
5	1.0	0.2056	0.2	0.3873	90.84		

表九、烏頭鹼添加回收率試驗

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	1.0	0.0447	0.05	0.0908	92.22	91.60	2.39
2	1.0	0.0447	0.05	0.0900	90.50		
3	1.0	0.0447	0.05	0.0893	89.22		
4	1.0	0.0447	0.05	0.0922	95.01		
5	1.0	0.0447	0.05	0.0902	91.02		

表十、次烏頭鹼添加回收率

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	1.0	0.2267	0.2	0.4063	89.80	91.02	2.11
2	1.0	0.2267	0.2	0.4101	91.69		
3	1.0	0.2267	0.2	0.4067	89.98		
4	1.0	0.2267	0.2	0.4149	94.09		
5	1.0	0.2267	0.2	0.4057	89.52		

(十) 臺灣市售附子含量測定

10 批附子藥材之含量測定結果(乾燥品)如表十一及表十二所示，苯甲醯新烏頭原鹼的含量為 0.011–0.024%，苯甲醯烏頭原鹼的含量為 0.001–0.004%，苯甲醯次烏頭原鹼的含量為 0.001–0.004%，新烏頭鹼的含量為 0.009–0.043%，烏頭鹼的含量為 0.002–0.020%，次烏頭鹼的含量為 0.019–0.068%，苯甲醯新烏頭原鹼、苯甲醯烏頭原鹼與苯甲醯次烏頭原鹼的總含量為 0.015–0.030%；新烏頭鹼、烏頭鹼與次烏頭鹼的總含量為 0.034–0.100%。建議附子藥材指標成分苯甲醯新烏頭原鹼、苯甲醯烏頭原鹼與苯甲醯次烏頭原鹼的總含量不得少於 0.01%；新烏頭鹼、烏頭鹼與次烏頭鹼的總含量不得超過 0.02%。理論板數按苯甲醯新烏頭原鹼波峰計算應不低於 5000 (實際值為 21707)，苯甲醯烏頭原鹼波峰計算應不低於 5000 (實際值為 11956)，苯甲醯次烏頭原鹼波峰計算應不低於 5000 (實際值為 16582)，新烏頭鹼波峰計算應不低於 5000 (實際值為 72637)，烏頭鹼波峰計算應不低於 5000 (實際值為 140491)，次烏頭鹼波峰計算應不低於 5000 (實際值為 154515)。

表十一、臺灣市售附子檢品之苯甲醯新烏頭原鹼、苯甲醯烏頭原鹼與苯甲醯次烏頭原鹼的含量

藥材編號 (No.)	苯甲醯新烏頭 原鹼含量 (%)	苯甲醯烏頭原 鹼含量 (%)	苯甲醯次烏頭 原鹼含量 (%)	苯甲醯新烏頭原鹼+苯 甲醯烏頭原鹼+苯甲醯 次烏頭原鹼總含量 (%)
1 (NF-1)	0.015	0.004	0.001	0.020
2 (CA)	0.015	0.001	0.002	0.018
3 (SAA)	0.013	0.001	0.002	0.016
4 (SGA)	0.014	0.001	0.001	0.016
5 (SGB)	0.015	0.001	0.002	0.018
6 (SUA)	0.016	0.003	0.004	0.023
7 (SUB)	0.013	0.001	0.001	0.015
8 (SUC)	0.024	0.003	0.003	0.030
9 (SU2A)	0.011	0.002	0.003	0.016
10 (NR)	0.014	0.001	0.002	0.017
平均值±S.D.	0.015±0.003	0.002±0.001	0.002±0.001	0.019±0.005

表十二、臺灣市售附子檢品之新烏頭鹼、烏頭鹼與次烏頭鹼的含量

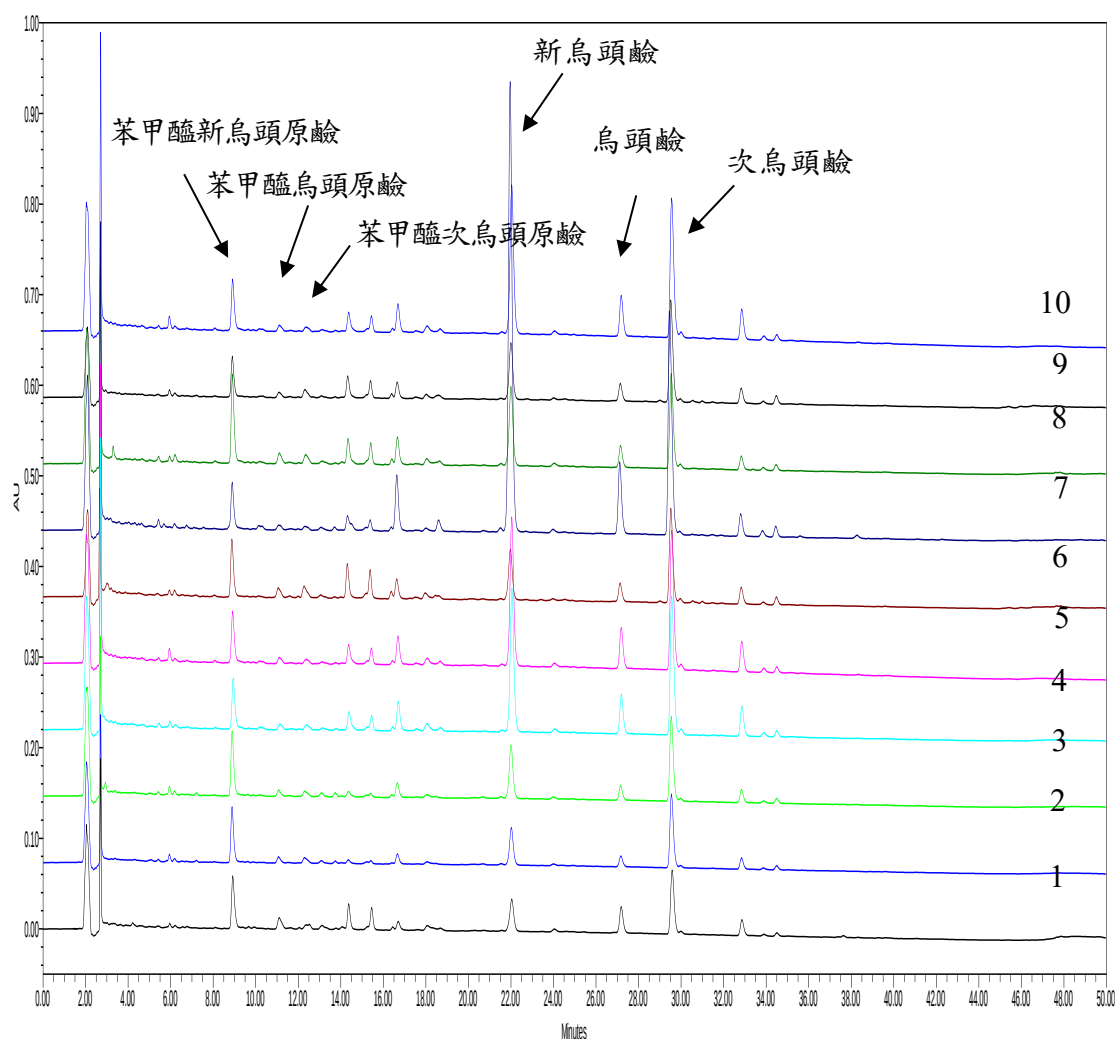
藥材編號 (No.)	新烏頭鹼 含量(%)	烏頭鹼 含量(%)	次烏頭鹼 含量(%)	新烏頭鹼+烏頭鹼+ 次烏頭鹼總含量(%)
1 (NF-1)	0.009	0.007	0.019	0.035
2 (CA)	0.011	0.002	0.021	0.034
3 (SAA)	0.015	0.003	0.024	0.042
4 (SGA)	0.042	0.010	0.041	0.093
5 (SGB)	0.043	0.011	0.041	0.095
6 (SUA)	0.015	0.004	0.027	0.046
7 (SUB)	0.012	0.020	0.068	0.100
8 (SUC)	0.023	0.005	0.027	0.055
9 (SU2A)	0.016	0.002	0.030	0.048
10 (NR)	0.043	0.010	0.039	0.092
平均值±S.D.	0.028±0.015	0.006±0.004	0.034±0.014	0.064±0.027

(十一) 附子藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售附子檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：Agilent ZORBAX Extend C18 Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 235 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：35 $^{\circ}$ C
5. 注入量：10 μ L
6. 移動相：

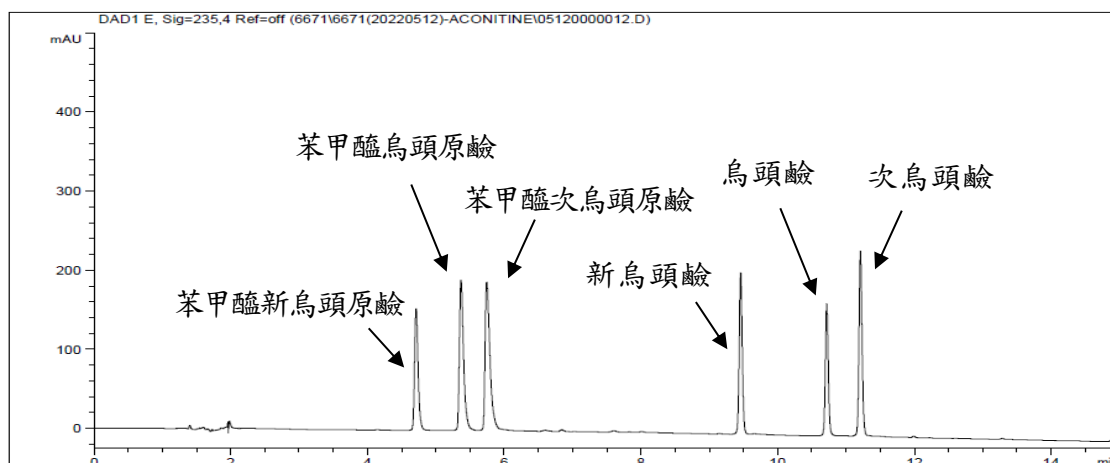
時間(min)	乙腈(%)	0.2%乙酸(含 25%氨試液)(v/v, %)
0	24	76
5	31	69
20	45	55
40	78	22
50	100	0



圖二十一、10 批附子藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 標準品苯甲醯新烏頭原鹼、苯甲醯烏頭原鹼、苯甲醯次烏頭原鹼、新烏頭鹼、烏頭鹼與次烏頭鹼之 UPLC 層析

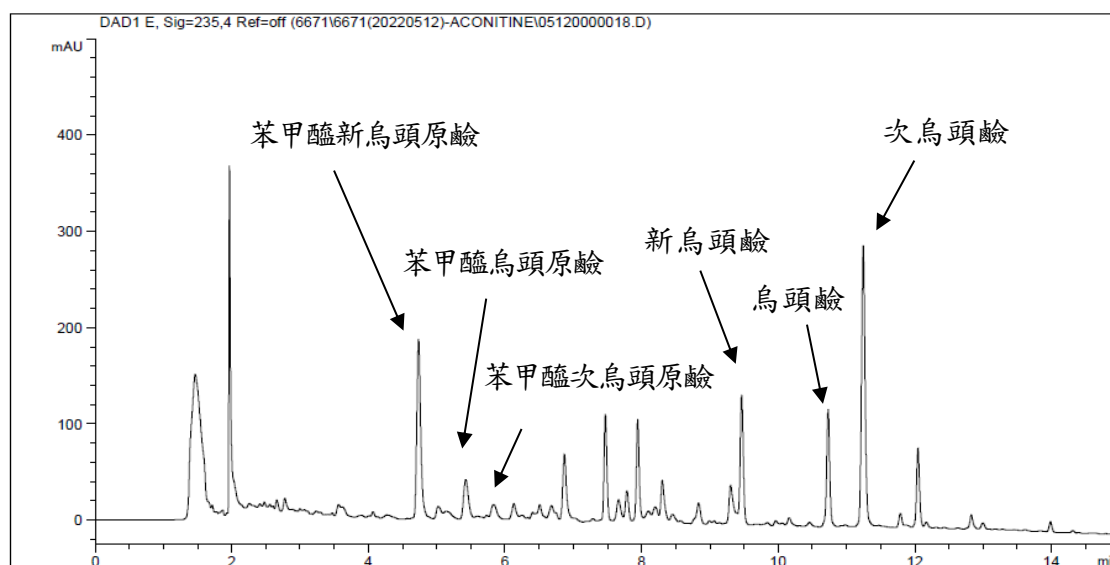
於滯留時間 4.71、5.37、5.74、9.46、10.7 與 11.2 分鐘處顯示苯甲醯新烏頭原鹼、苯甲醯烏頭原鹼、苯甲醯次烏頭原鹼、新烏頭鹼、烏頭鹼與次烏頭鹼標準品波峰(圖二十二)。



圖二十二、苯甲醯新烏頭原鹼、苯甲醯烏頭原鹼、苯甲醯次烏頭原鹼、新烏頭鹼、烏頭鹼與次烏頭鹼標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售附子檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 4.71、5.38、5.78、9.46、10.7 與 11.2 分鐘處分別顯示附子檢品中苯甲醯新烏頭原鹼、苯甲醯烏頭原鹼、苯甲醯次烏頭原鹼、新烏頭鹼、烏頭鹼與次烏頭鹼波峰(圖二十三)。

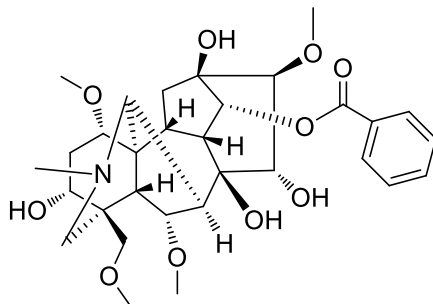


圖二十三、市售附子檢品之 UPLC 層析圖

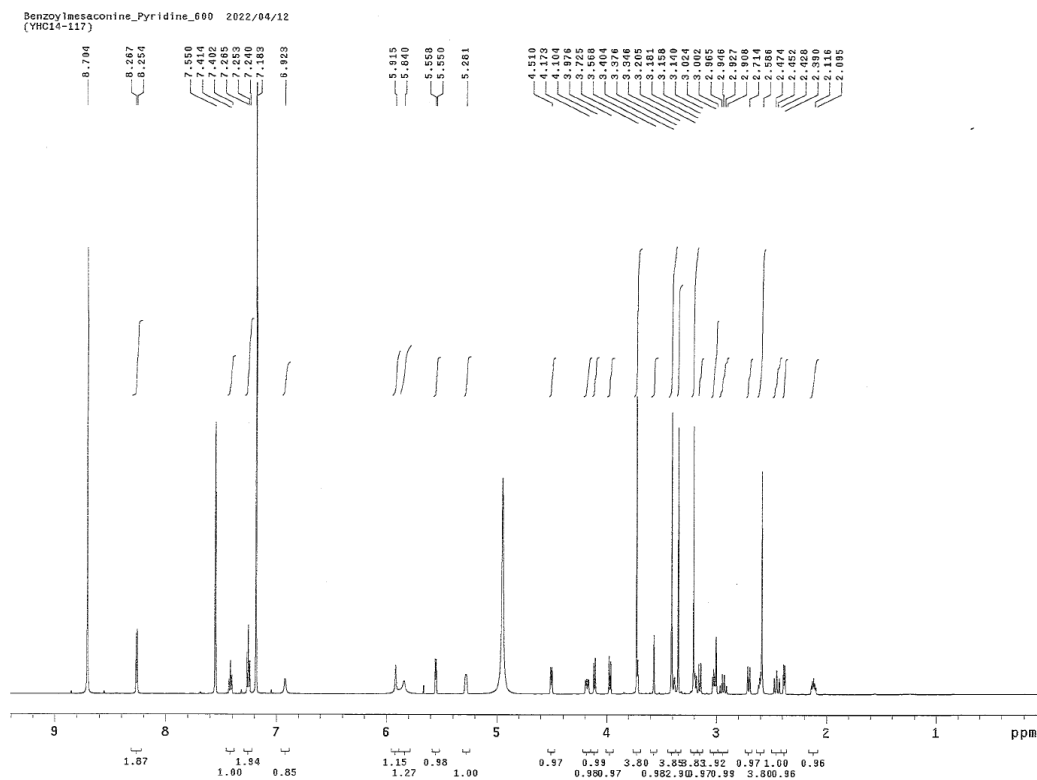
(十四) 苯甲醯新烏頭原鹼的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{31}H_{43}NO_{10}$ ；分子量：589.7；熔點：217–219 °C；白色粉末。

(十五) 苯甲醯新烏頭原鹼的結構

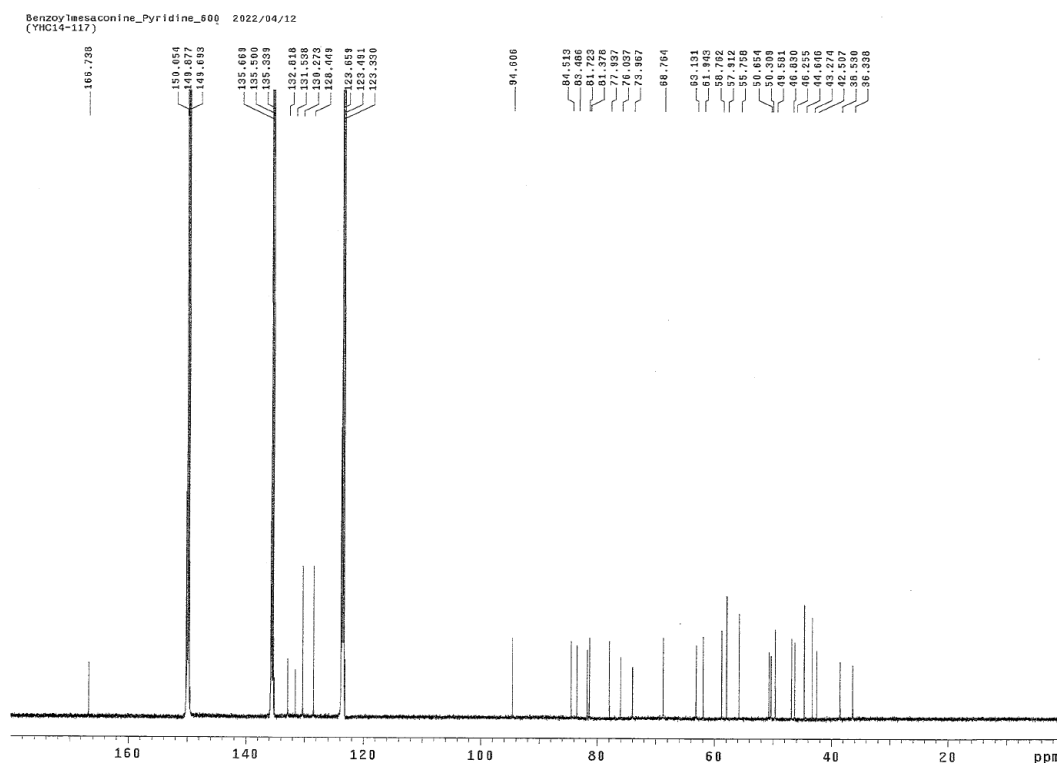


(十六) 苯甲醯新烏頭原鹼的 1H NMR 圖譜



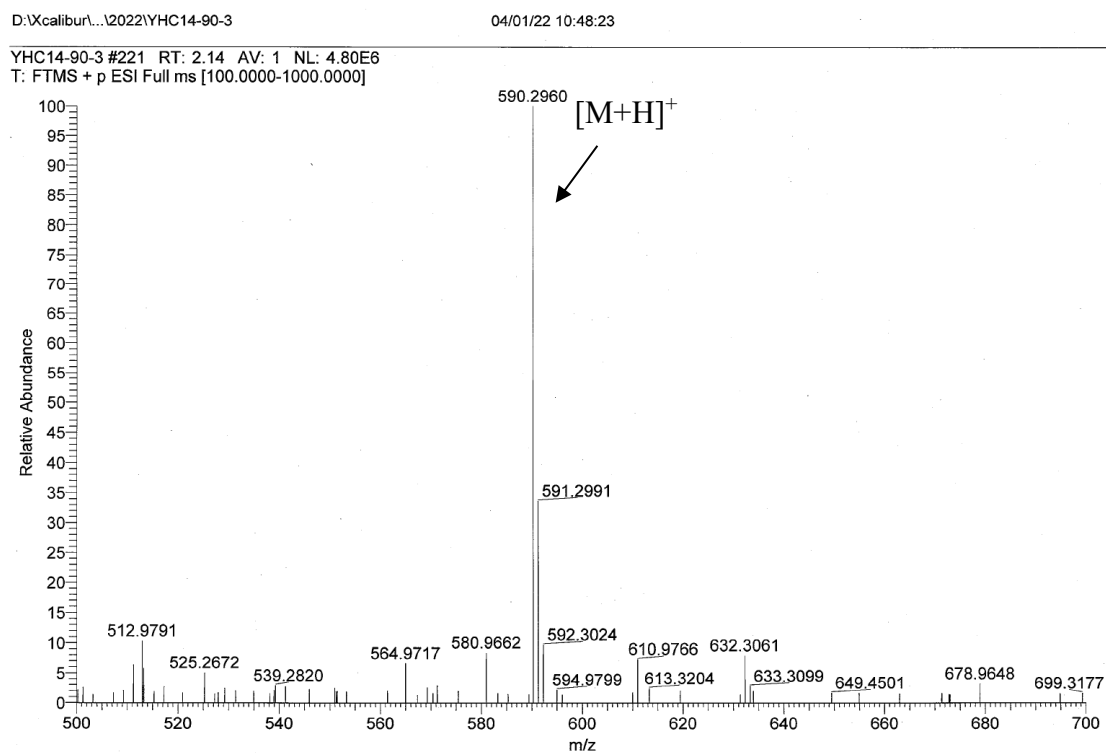
圖二十四、苯甲醯新烏頭原鹼的 1H NMR 圖譜(pyridine- d_5)

(十七) 苯甲醯新烏頭原鹼的 ^{13}C NMR 圖譜



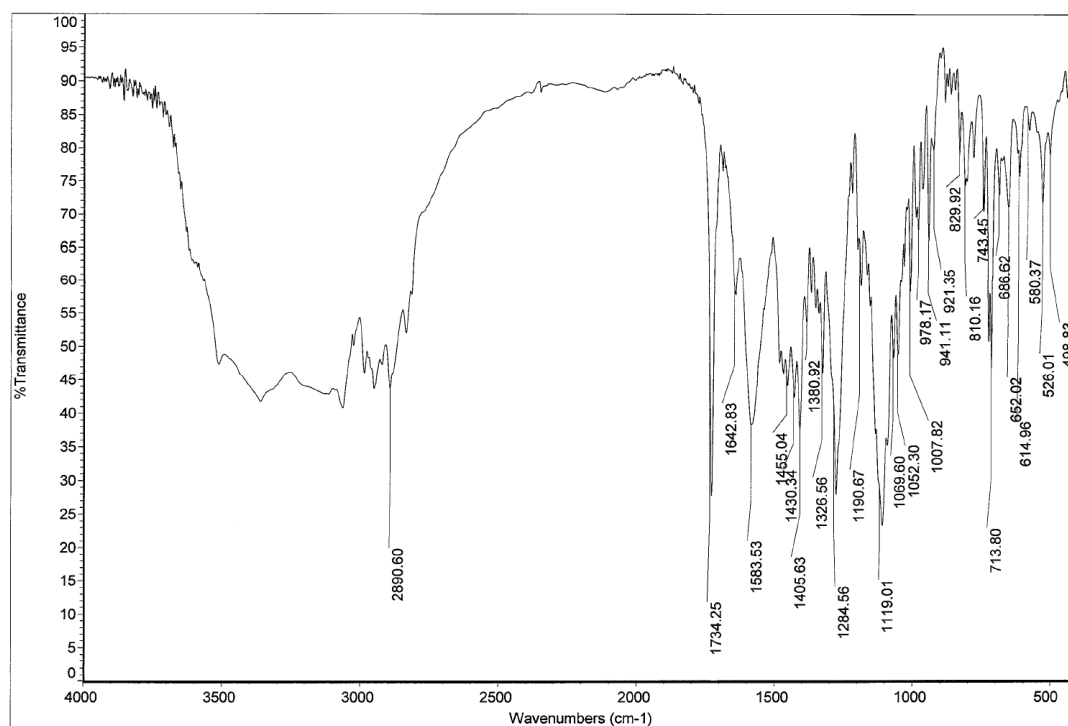
圖二十五、苯甲醯新烏頭原鹼的 ^{13}C NMR 圖譜(pyridine- d_5)

(十八) 苯甲醯新烏頭原鹼的 ESI-MS 圖譜



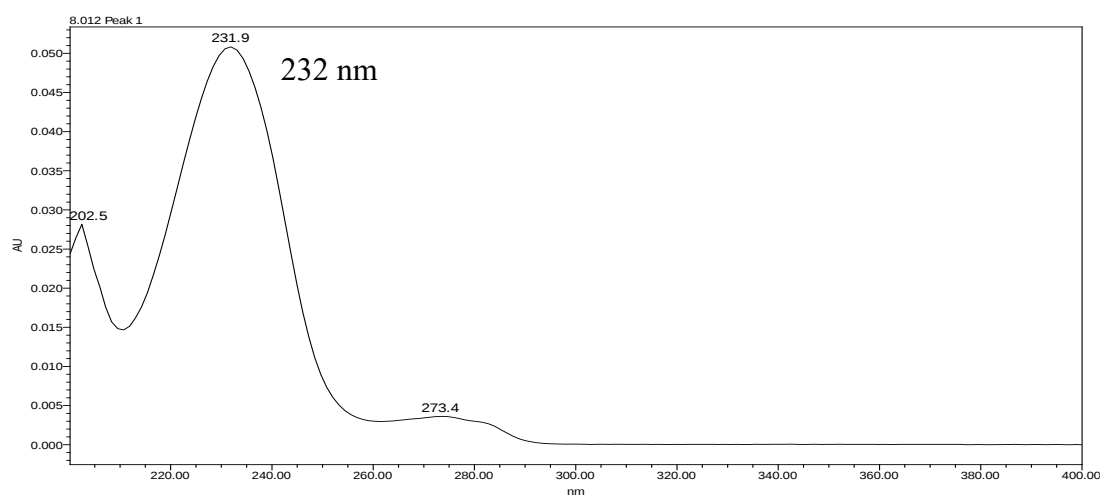
圖二十六、苯甲醯新烏頭原鹼的 ESI-MS 圖譜

(十九) 苯甲醯新烏頭原鹼的 FTIR 圖譜



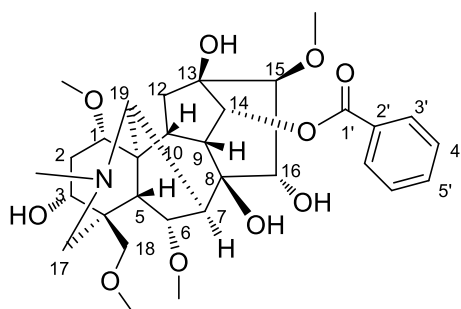
圖二十七、苯甲醯新烏頭原鹼的 FTIR 圖譜

(二十) 苯甲醯新烏頭原鹼的 UV 圖譜



圖二十八、苯甲醯新烏頭原鹼的 UV 圖譜

(二十一) 苯甲醯新烏頭原鹼的氫、碳化學位移



苯甲醯新烏頭原鹼

表十三、苯甲醯新烏頭原鹼氫、碳化學位移(pyridine- d_5)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	3.18–3.21 (m)	83.5
2	2.59–2.62 (m), 2.93 (q, 114)	36.3
3	4.18 (dd, 11.4, 5.4)	68.8
4	-	44.6
5	2.38 (d, 6.6)	46.3
6	4.50 (d, 6.6)	84.5
7	3.00 (s)	49.6
8	-	72.9
9	3.01–3.03 (m)	46.8
10	2.10–2.14 (m)	42.5
11	-	50.7
12	2.43–2.47 (m), 3.38–3.40 (m)	38.5
13	-	76.0
14	5.55 (d, 4.8)	81.4
15	3.72 (d, 6.6)	94.6
16	5.28 (br s)	81.7
17	2.71 (d, 10.8), 3.15 (d, 10.8)	50.3
18	3.97 (d, 8.4), 4.11 (d, 8.4)	74.0
19	3.57 (s)	63.1
1'	-	166.7
2'	-	131.5
3', 7'	8.26 (t, 7.8)	130.3
4', 6'	7.26 (t, 7.8)	128.5
5'	7.41 (t, 7.8)	132.8
N-CH ₃	2.59 (s)	43.3
1-OCH ₃	3.21 (s)	55.8

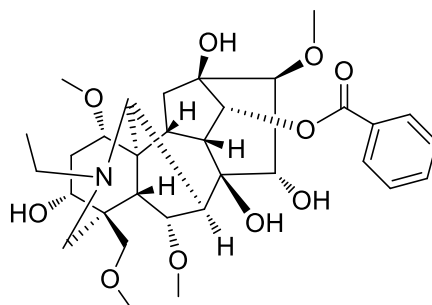
6-OCH ₃	3.40 (s)	57.9
15-OCH ₃	3.73 (s)	61.9
18-OCH ₃	3.35 (s)	58.8

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

(二十二) 苯甲醯烏頭原鹼的分子式、分子量與熔點

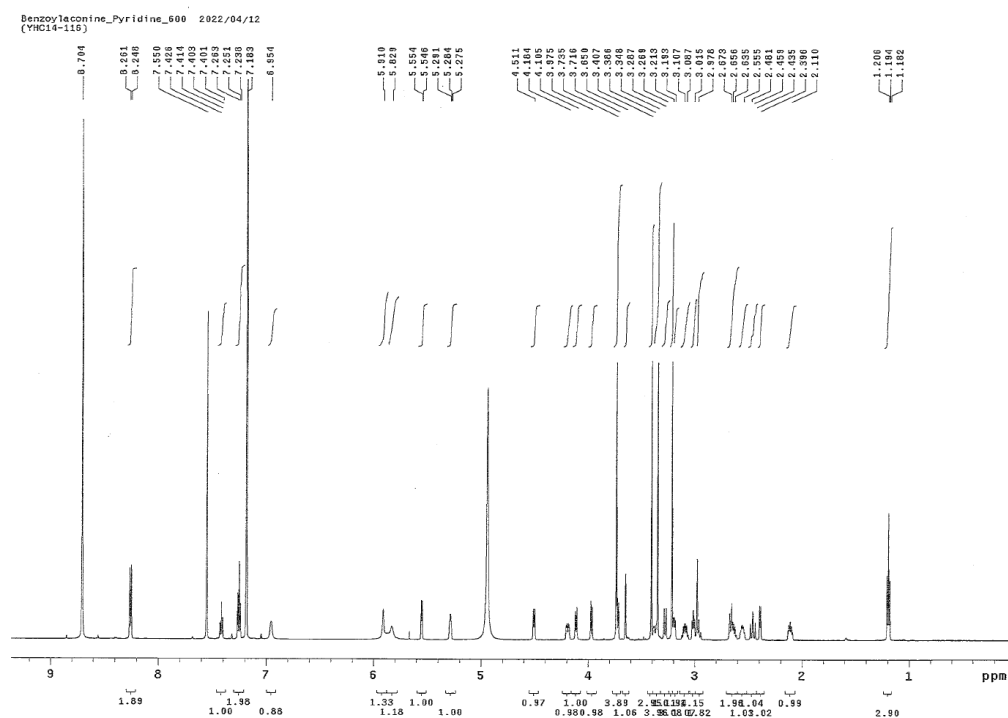
分子式： $C_{32}H_{45}NO_{10}$ ；分子量：603.7；熔點：130–132 °C；白色粉末。

(二十三) 苯甲醯烏頭原鹼的結構

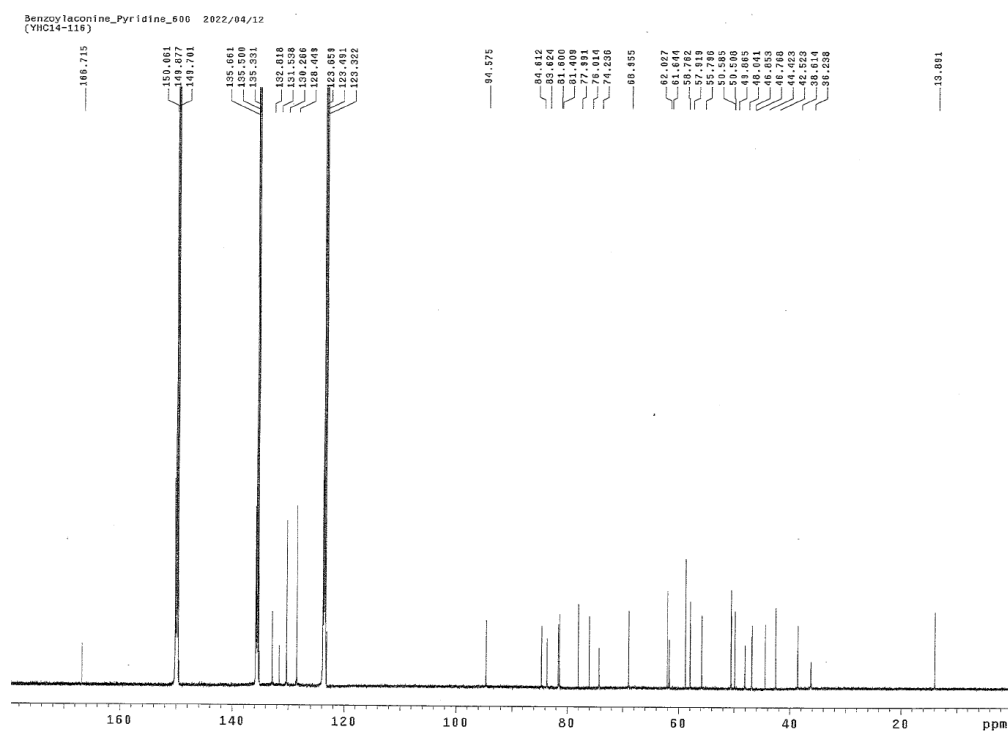


苯甲醯烏頭原鹼

(二十四) 苯甲醯烏頭原鹼的 1H NMR 圖譜

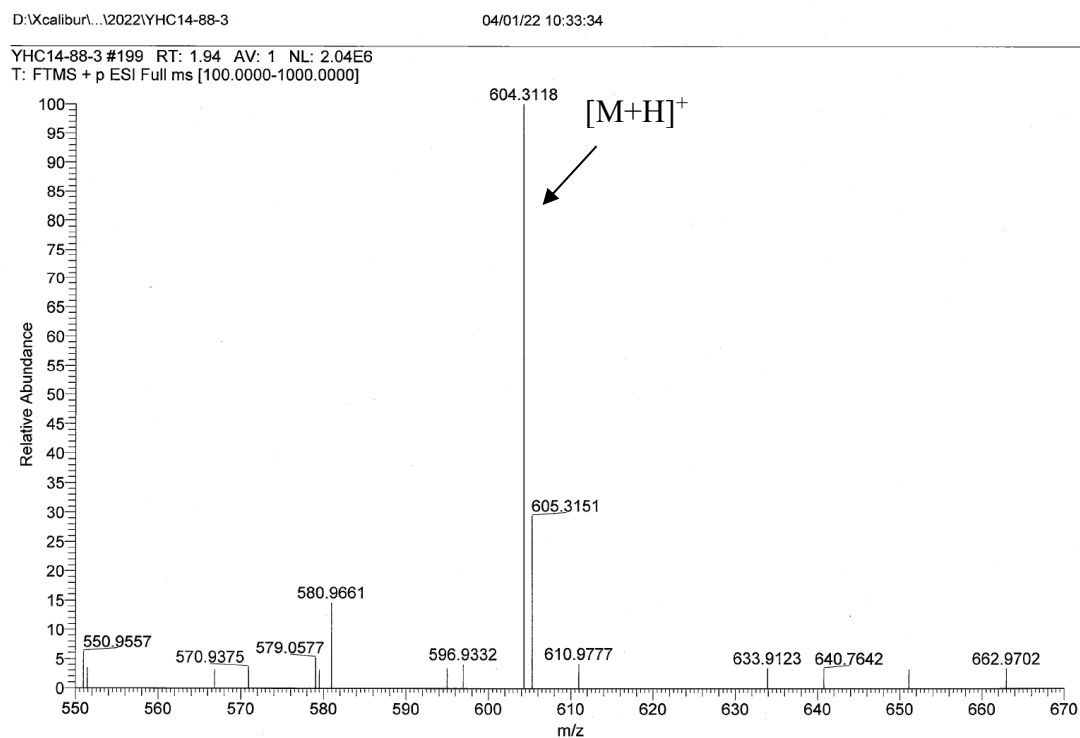


(二十五) 苯甲醯烏頭原鹼的 ^{13}C NMR 圖譜



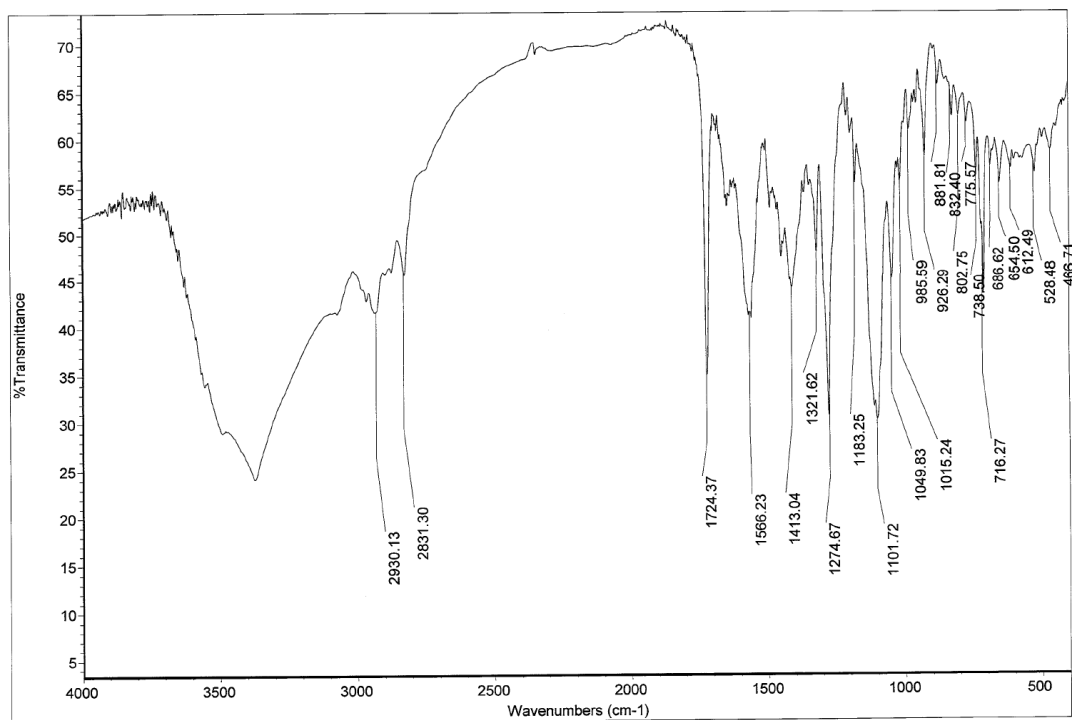
圖三十、苯甲醯烏頭原鹼的 ^{13}C NMR 圖譜(pyridine- d_5)

(二十六) 苯甲醯烏頭原鹼的 ESI-MS 圖譜



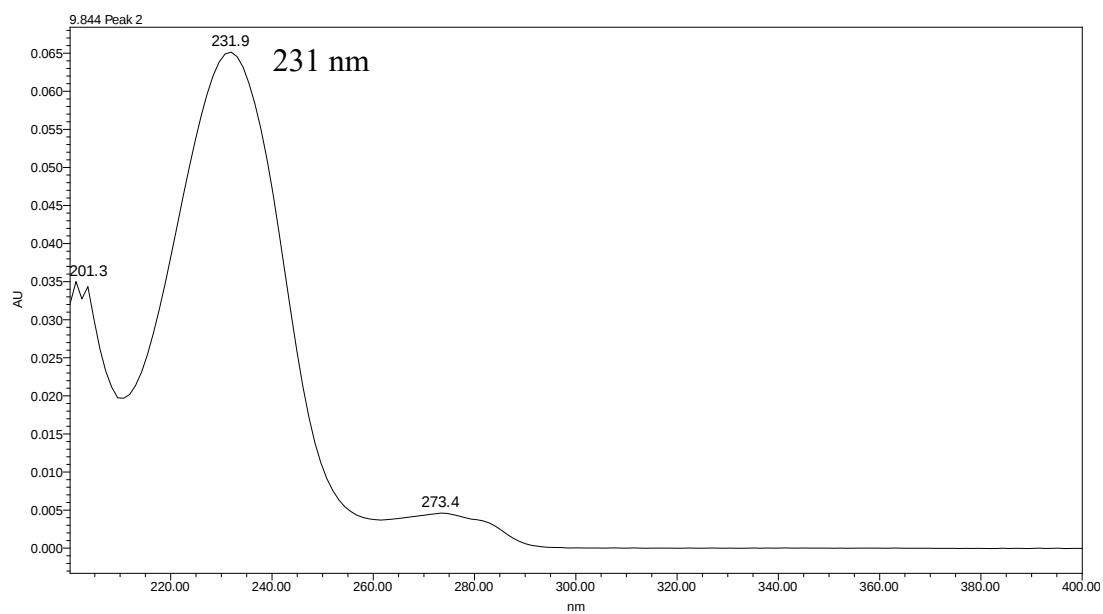
圖三十一、苯甲醯烏頭原鹼的 ESI-MS 圖譜

(二十七) 苯甲醯烏頭原鹼的 FTIR 圖譜



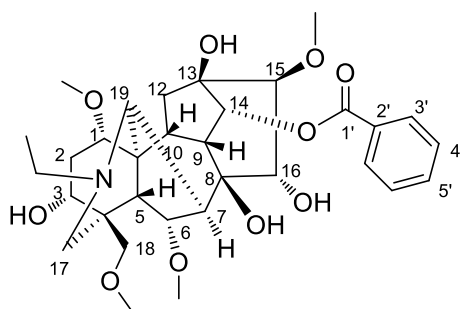
圖三十二、苯甲醯烏頭原鹼的 FTIR 圖譜

(二十八) 苯甲醯烏頭原鹼的 UV 圖譜



圖三十三、苯甲醯烏頭原鹼的 UV 圖譜

(二十九) 苯甲醯烏頭原鹼的氫、碳化學位移



苯甲醯烏頭原鹼

表十四、苯甲醯烏頭原鹼的氫、碳化學位移(pyridine- d_5)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	3.18–3.20 (m)	83.6
2	2.54–2.58 (m), 2.94–2.98 (m)	36.2
3	4.19 (dd, 11.4, 4.8)	69.0
4	-	44.4
5	2.39 (d, 6.6)	46.9
6	4.51 (d, 6.6)	84.6
7	2.98 (s)	50.5
8	-	78.0
9	3.00–3.02 (m)	46.8
10	2.09–2.13 (m)	42.5
11	-	50.6
12	2.46 (t, 13.8), 3.34–3.39 (m)	38.6
13	-	76.0
14	5.55 (d, 4.8)	81.4
15	3.72 (d, 7.2)	94.6
16	5.28–5.29 (m)	81.6
17	2.66 (d, 10.8), 3.28 (d, 10.8)	48.0
18	3.97 (d, 8.4), 4.11 (d, 8.4)	74.2
19	3.65 (s)	61.6
1'	-	166.7
2'	-	131.5
3', 7'	8.25 (t, 7.8)	130.3
4', 6'	7.25 (t, 7.8)	128.4
5'	7.41 (t, 7.8)	132.8
N-CH ₂ CH ₃	2.61–2.65 (m), 3.06–3.12 (m)	49.9
N-CH ₂ CH ₃	1.19 (t, 7.2)	13.9

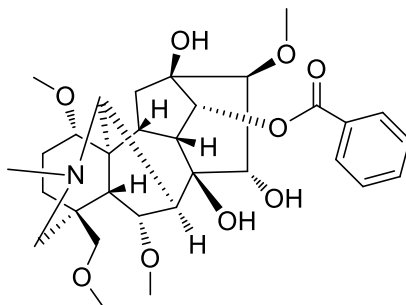
1-OCH ₃	3.21 (s)	55.8
6-OCH ₃	3.41 (s)	57.9
15-OCH ₃	3.74 (s)	62.0
18-OCH ₃	3.35 (s)	58.8

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

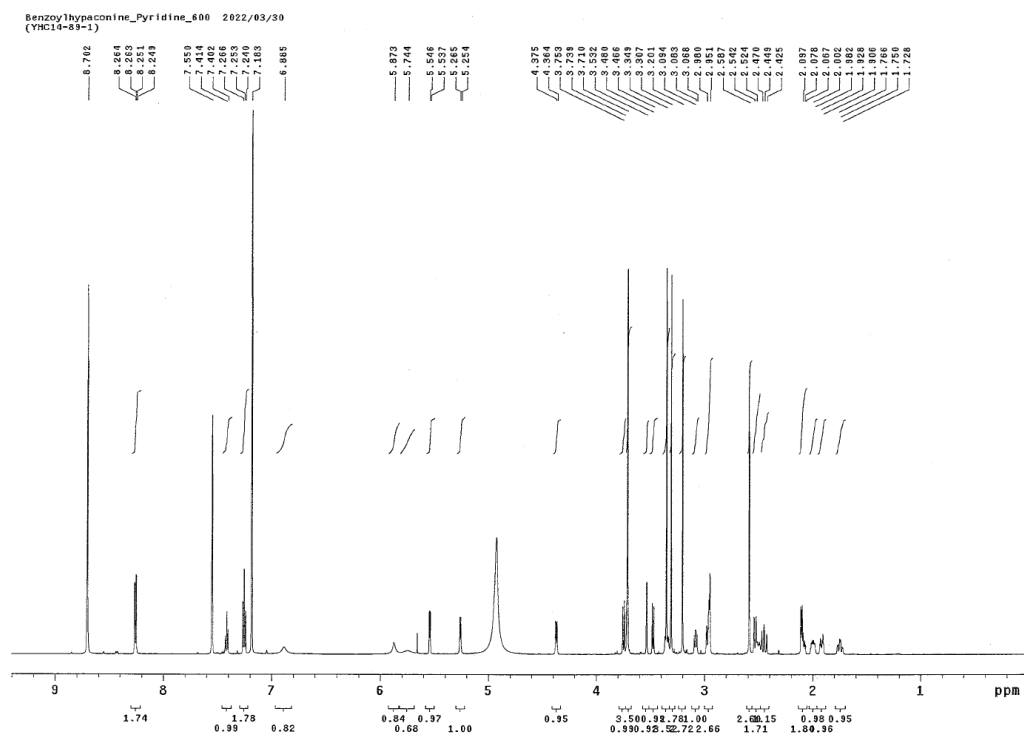
(三十) 苯甲醯次烏頭原鹼的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{31}H_{43}NO_9$ ；分子量：573.6；熔點：178–180 °C；白色粉末。

(三十一) 苯甲醯次烏頭原鹼的結構

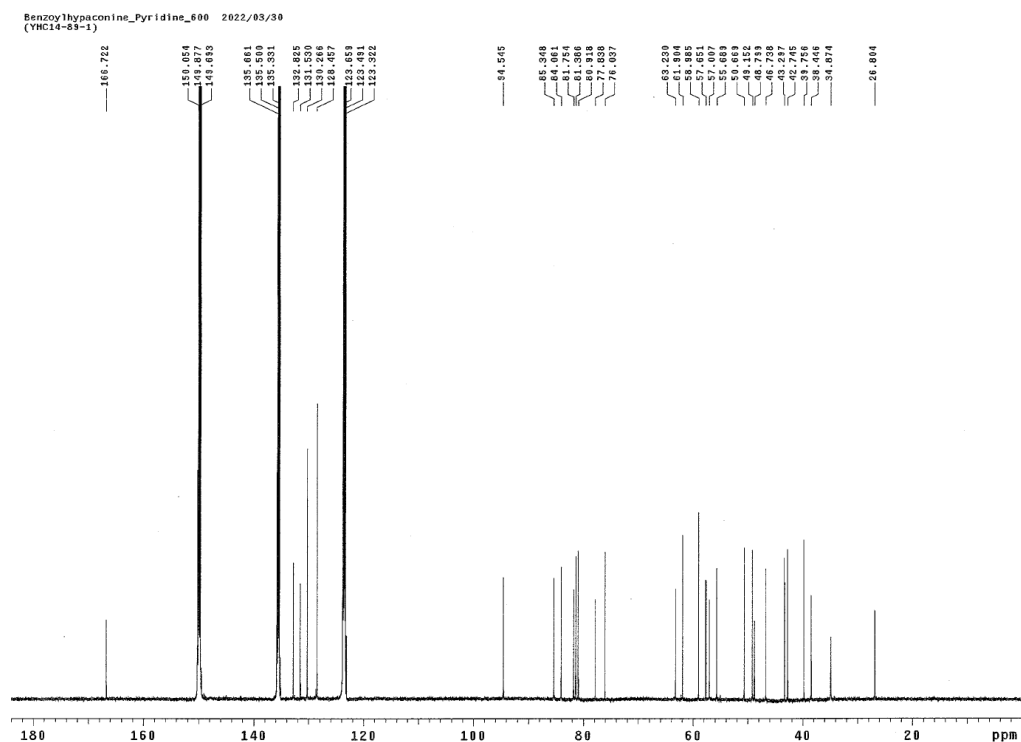


(三十二) 苯甲醯次烏頭原鹼的 1H NMR 圖譜



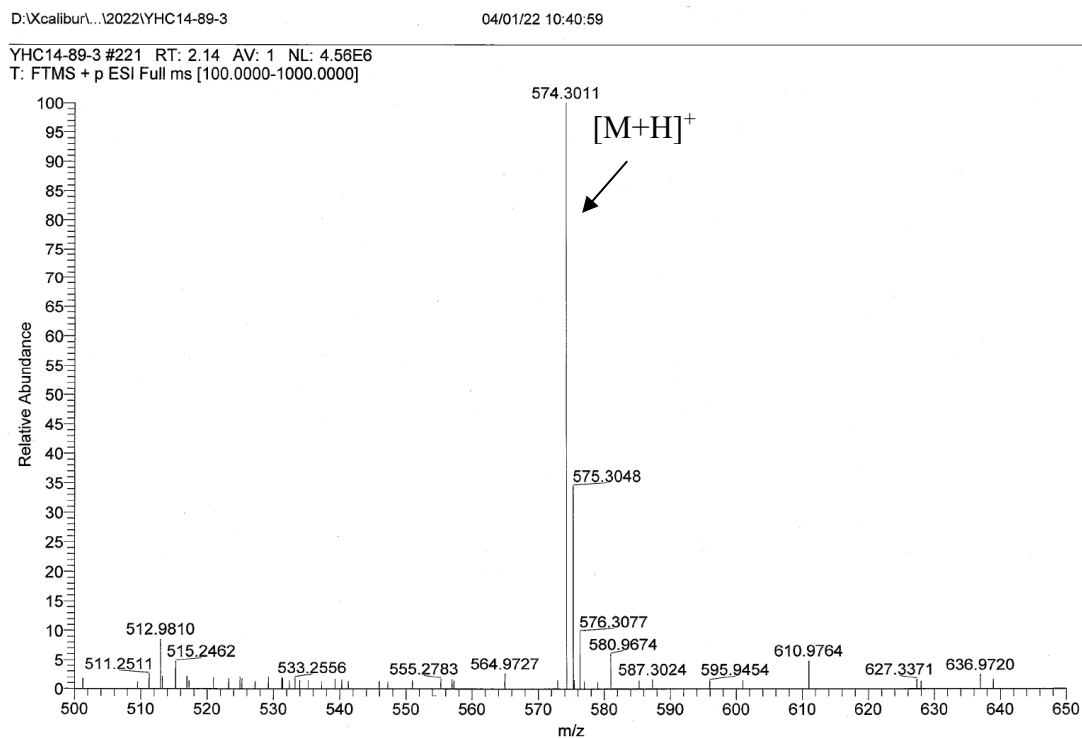
圖三十四、苯甲醯次烏頭原鹼的 1H NMR 圖譜(pyridine- d_5)

(三十三) 苯甲醯次烏頭原鹼的 ^{13}C NMR 圖譜



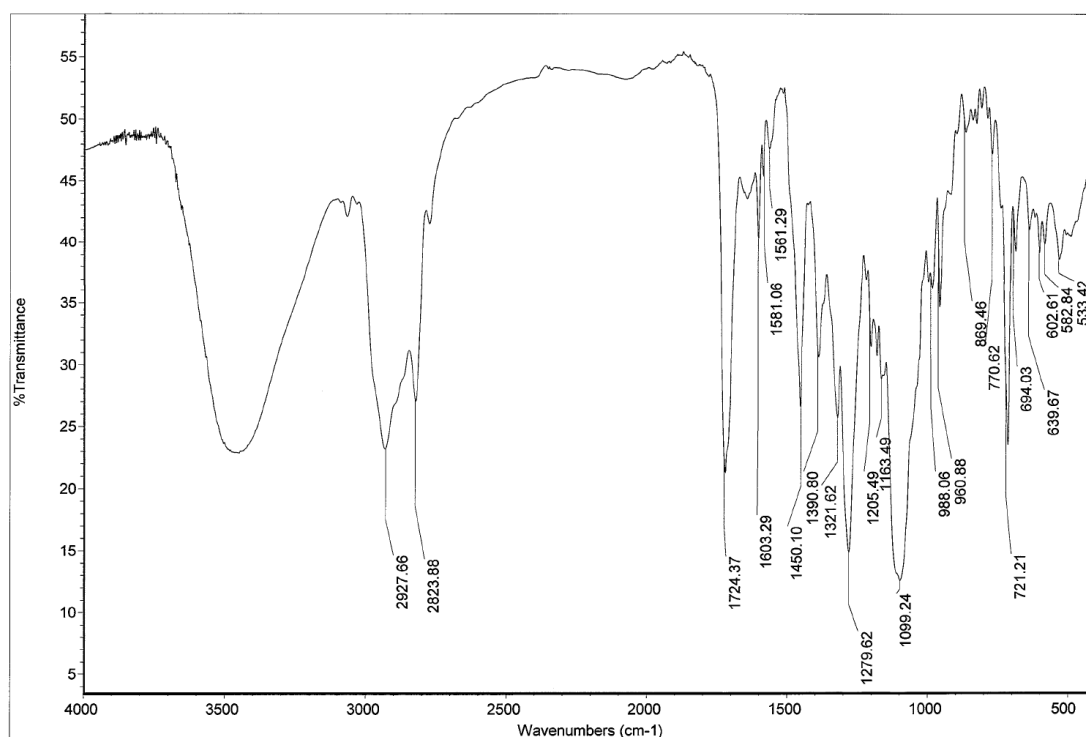
圖三十五、苯甲醯次烏頭原鹼的 ^{13}C NMR 圖譜(pyridine- d_5)

(三十四) 苯甲醯次烏頭原鹼的 ESI-MS 圖譜



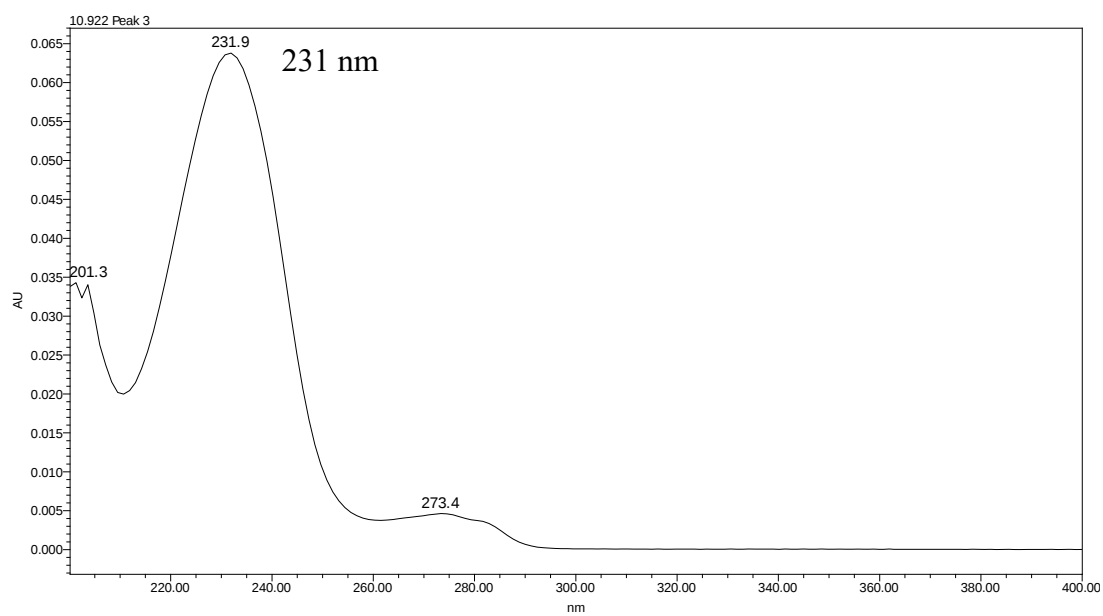
圖三十六、苯甲醯次烏頭原鹼的 ESI-MS 圖譜

(三十五) 苯甲醯次烏頭原鹼的 FTIR 圖譜



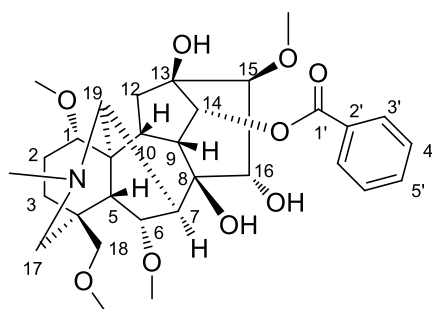
圖三十七、苯甲醯次烏頭原鹼的 FTIR 圖譜

(三十六) 苯甲醯次烏頭原鹼的 UV 圖譜



圖三十八、苯甲醯次烏頭原鹼的 UV 圖譜

(三十七) 苯甲醯次烏頭原鹼的氫、碳化學位移



苯甲醯次烏頭原鹼

表十五、苯甲醯次烏頭原鹼的氫、碳化學位移(pyridine- d_5)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	3.08 (dd, 9.0, 6.6)	85.3
2	1.98–2.01 (m), 2.47–2.51 (m)	26.8
3	1.72–1.77 (m), 1.90–1.94 (m)	34.9
4	-	39.8
5	2.10 (d, 6.6)	48.8
6	4.38 (d, 6.6)	84.1
7	2.95 (s)	49.2
8	-	77.8
9	2.95–2.98 (m)	46.7
10	2.07–2.09 (m)	42.7
11	-	50.7
12	2.09–2.12 (m), 2.80–2.84 (m)	38.4
13	-	76.0
14	5.54 (d, 5.4)	81.4
15	3.71 (d, 6.6)	94.5
16	5.26 (d, 6.6)	81.8
17	2.53 (d, 10.8), 2.97 (d, 10.8)	57.0
18	3.47 (d, 8.4), 3.75 (d, 8.4)	80.9
19	3.53 (s)	63.2
1'	-	166.7
2'	-	131.5
3', 7'	8.25–8.27 (m)	130.3
4', 6'	7.25 (t, 7.8)	128.5
5'	7.40–7.43 (m)	132.8
N-CH ₃	2.59 (s)	43.3
1-OCH ₃	3.20 (s)	55.7

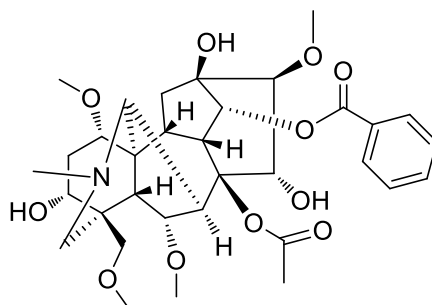
6-OCH ₃	3.35 (s)	57.7
15-OCH ₃	3.71 (s)	61.9
18-OCH ₃	3.31 (s)	59.0

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

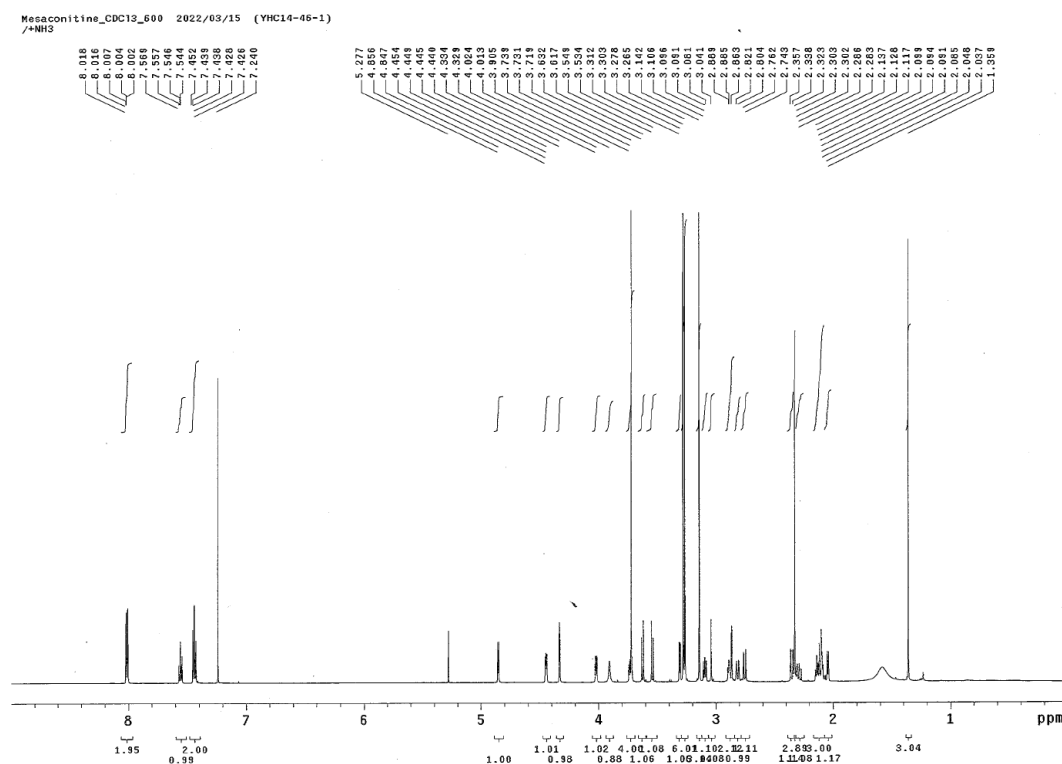
(三十八) 新烏頭鹼的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{33}H_{45}NO_{11}$ ；分子量：631.7；熔點：208–210 °C；白色粉末。

(三十九) 新烏頭鹼的結構

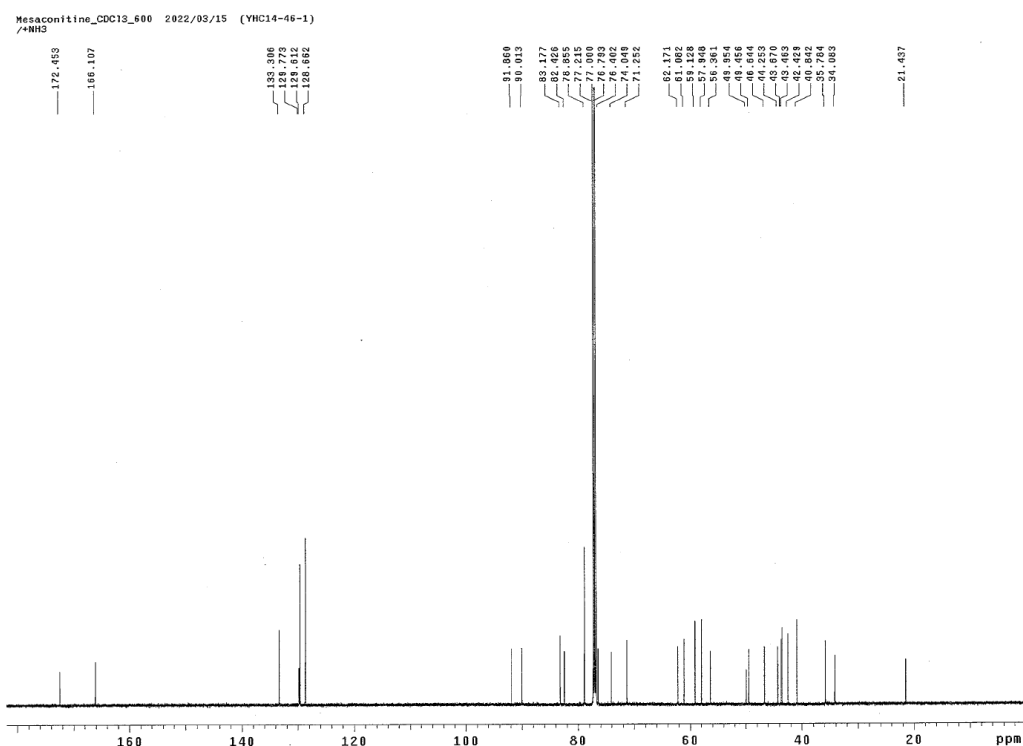


(四十) 新烏頭鹼的 1H NMR 圖譜



圖三十九、新烏頭鹼的 1H NMR 圖譜($CDCl_3$)

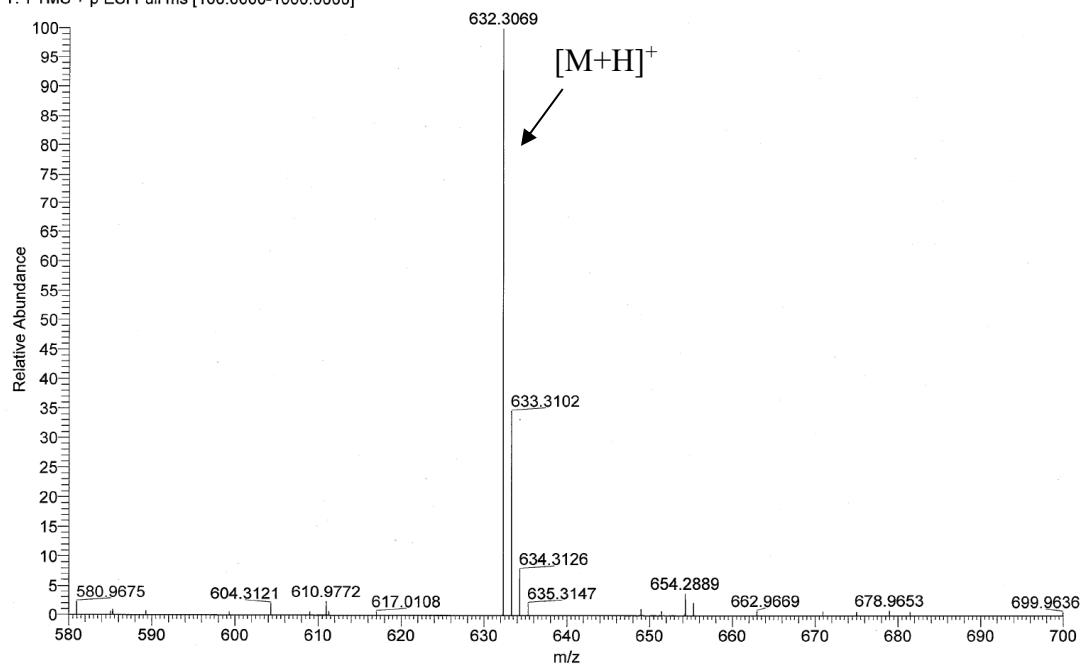
(四十一) 新烏頭鹼的 ^{13}C NMR 圖譜



圖四十、新烏頭鹼的 ^{13}C NMR 圖譜(CDCl_3)

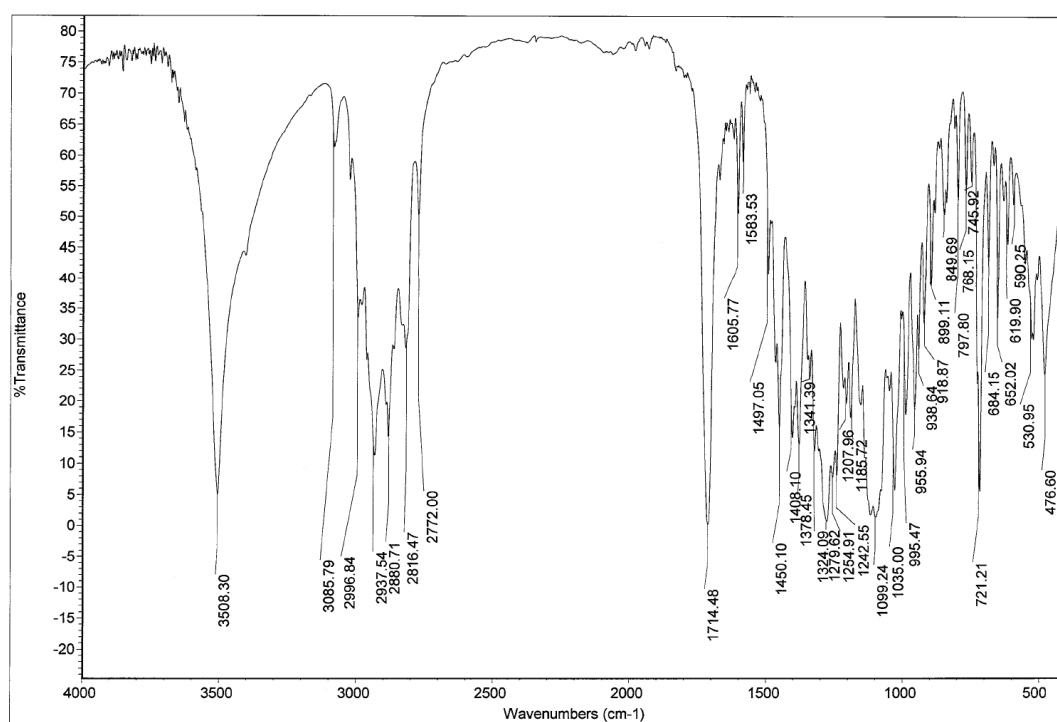
(四十二) 新烏頭鹼的 ESI-MS 圖譜

YHC14-46-5 #221 RT: 2.14 AV: 1 NL: 1.10E7
T: FTMS + p ESI Full ms [100.0000-1000.0000]



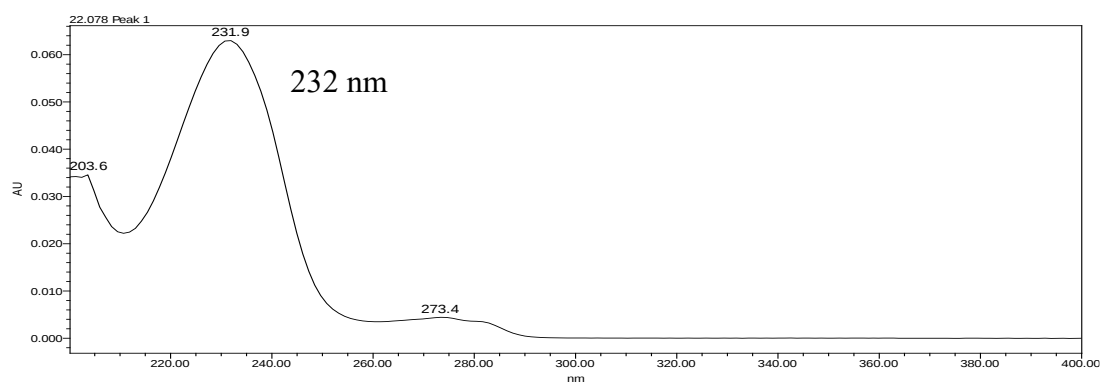
圖四十一、新烏頭鹼的 ESI-MS 圖譜

(四十三) 新烏頭鹼的 FTIR 圖譜



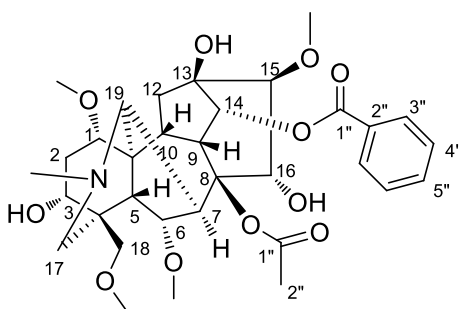
圖四十二、新烏頭鹼的 FTIR 圖譜

(四十四) 新烏頭鹼的 UV 圖譜



圖四十三、新烏頭鹼的 UV 圖譜

(四十五) 新烏頭鹼的氫、碳化學位移



表十六、新烏頭鹼氫、碳化學位移(CDCl₃)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	3.09 (dd, 9.0, 6.6)	82.4
2	2.10–2.15 (m), 2.27–2.30 (m)	34.1
3	3.74 (d, 4.8)	71.3
4	-	43.5
5	2.04 (d, 6.6)	46.6
6	4.02 (d, 6.6)	83.2
7	2.86 (s)	43.7
8	-	91.9
9	2.88–2.90 (m)	44.3
10	2.09–2.11 (m)	40.8
11	-	50.0
12	2.09–2.12 (m), 2.80–2.84 (m)	35.9
13	-	74.0
14	4.85 (d, 6.6)	78.9
15	3.31 (d, 5.4)	90.0
16	4.45 (dd, 5.4, 3.0)	78.9
17	2.35 (d, 11.4), 2.76 (d, 11.4)	49.5
18	3.54 (d, 9.0), 3.62 (d, 9.0)	76.4
19	3.04 (s)	62.2
1'	-	172.5
2'	1.36 (s)	21.4
1''	-	166.1
2''	-	129.8
3'', 7''	8.01 (dd, 8.4, 1.2)	129.6
4'', 6''	7.44 (t, 8.4)	128.7
5''	7.54–7.57 (m)	133.3
N-CH ₃	2.32 (s)	42.4

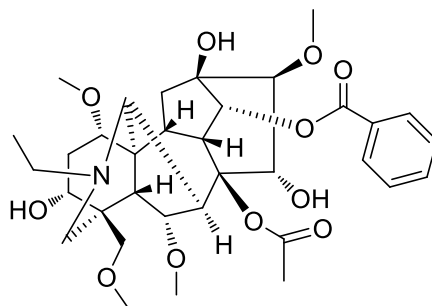
1-OCH ₃	3.27 (s)	56.4
6-OCH ₃	3.14 (s)	57.9
15-OCH ₃	3.72 (s)	61.1
16-OH	4.33 (d, 3.0)	-
18-OCH ₃	3.28 (s)	59.1

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

(四十六) 烏頭鹼的分子式、分子量與熔點

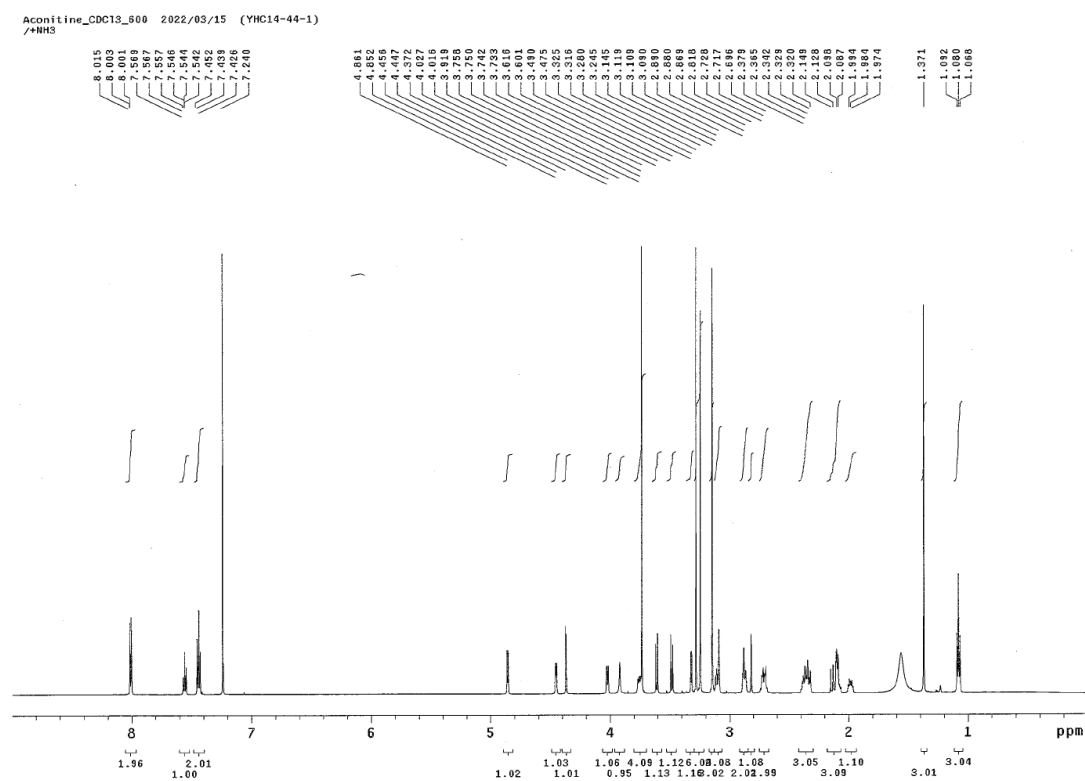
分子式： $C_{34}H_{47}NO_{11}$ ；分子量：645.7；熔點：204–206 °C；白色粉末。

(四十七) 烏頭鹼的結構



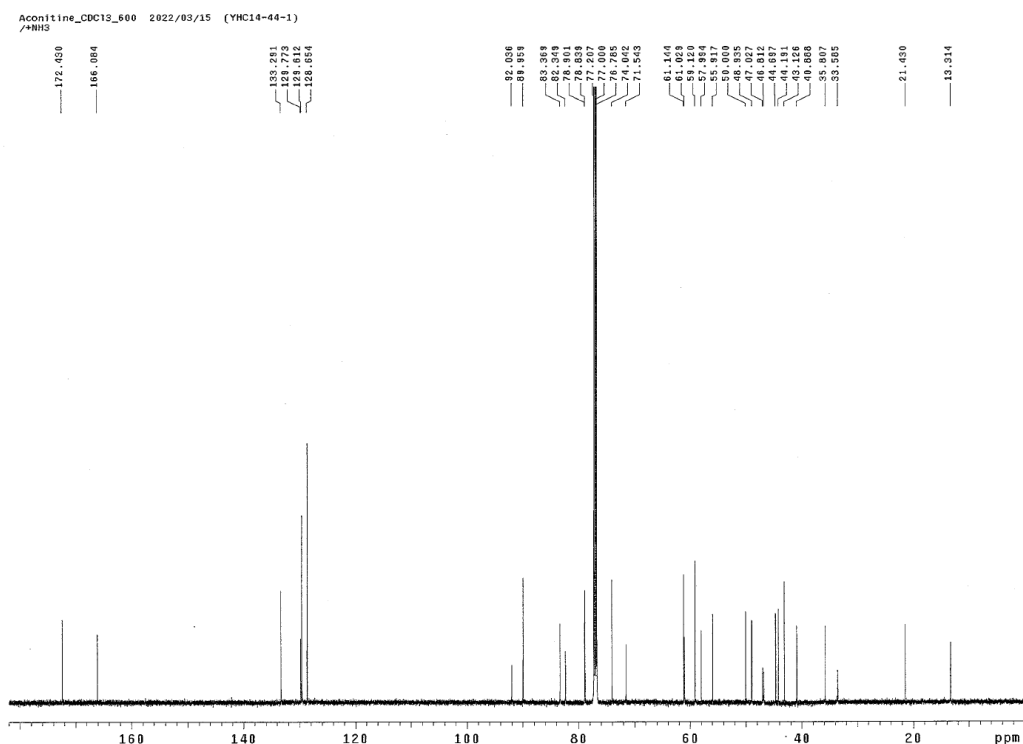
烏頭鹼

(四十八) 烏頭鹼的 1H NMR 圖譜



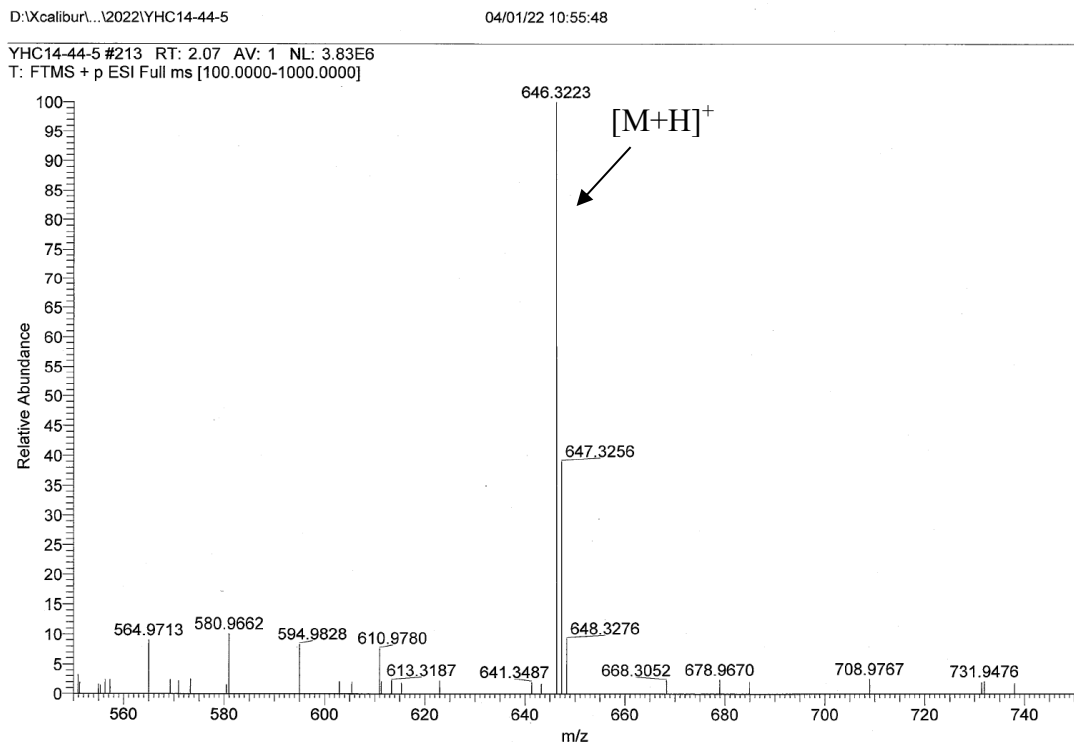
圖四十四、烏頭鹼的 1H NMR 圖譜($CDCl_3$)

(四十九) 烏頭鹼的 ^{13}C NMR 圖譜



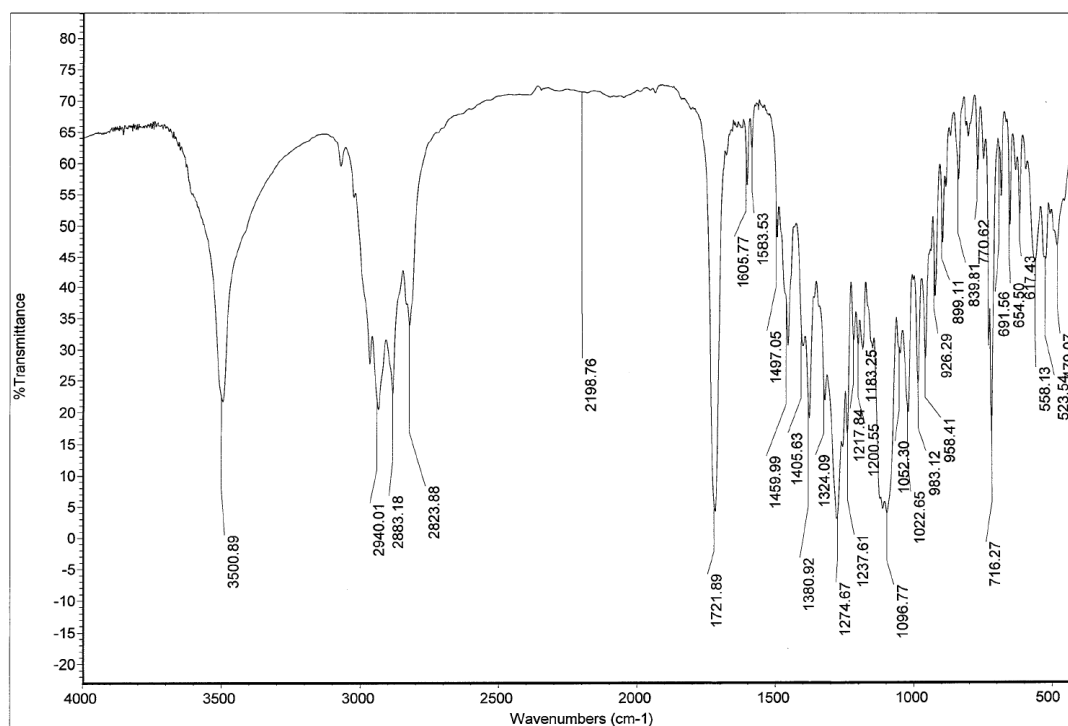
圖四十五、烏頭鹼的 ^{13}C NMR 圖譜(CDCl_3)

(五十) 烏頭鹼的 ESI-MS 圖譜



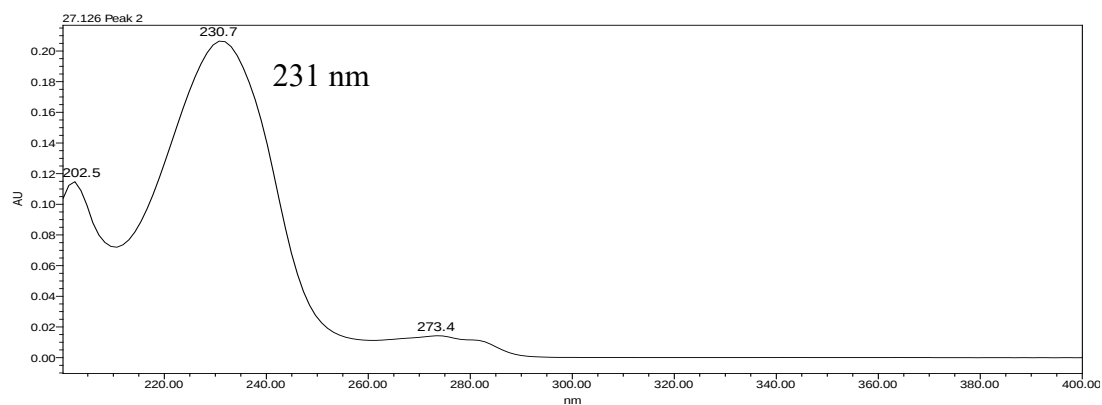
圖四十六、烏頭鹼的 ESI-MS 圖譜

(五十一) 烏頭鹼的 FTIR 圖譜



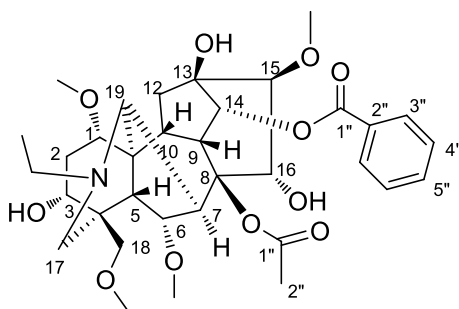
圖四十七、烏頭鹼的 FTIR 圖譜

(五十二) 烏頭鹼的 UV 圖譜



圖四十八、烏頭鹼的 UV 圖譜

(五十三) 烏頭鹼的氫、碳化學位移



烏頭鹼

表十七、烏頭鹼的氫、碳化學位移(CDCl₃)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	3.11 (dd, 7.8, 6.0)	82.3
2	1.97–2.00 (m), 2.35–2.40 (m)	33.6
3	3.75 (dd, 9.6, 4.8)	71.5
4	-	43.1
5	2.07–2.10 (m)	46.8
6	4.02 (d, 6.6)	83.4
7	2.82 (s)	44.7
8	-	92.0
9	2.86–2.89 (m)	44.2
10	2.09–2.11 (m)	40.9
11	-	50.0
12	2.08–2.15 (m), 2.68–2.74 (m)	35.8
13	-	74.0
14	4.86 (d, 5.4)	78.8*
15	3.32 (d, 5.4)	90.0
16	4.45 (dd, 5.4, 2.4)	78.9*
17	2.32–2.37 (m), 2.86–2.89 (m)	47.0
18	3.48 (d, 9.0), 3.61 (d, 9.0)	76.8
19	3.09 (s)	61.0
1'	-	172.4
2'	1.37 (s)	21.4
1''	-	166.1
2''	-	129.8
3'', 7''	8.01 (dd, 7.8, 1.2)	129.6
4'', 6''	7.44 (t, 8.4)	128.7
5''	7.54–7.57 (m)	133.3

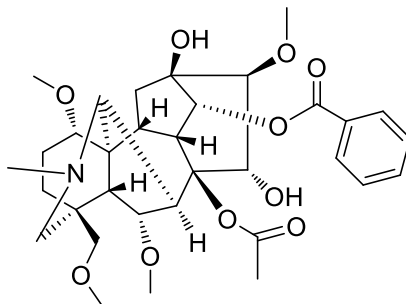
N- <u>C</u> H ₂ CH ₃	2.35–2.40 (m), 2.68–2.74 (m)	48.9
N-CH ₂ <u>C</u> H ₃	1.08 (s)	13.3
1-OCH ₃	3.25 (s)	55.9
6-OCH ₃	3.15 (s)	58.0
15-OCH ₃	3.73 (s)	61.1
16-OH	4.37 (d, 2.4)	-
18-OCH ₃	3.28 (s)	59.1

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

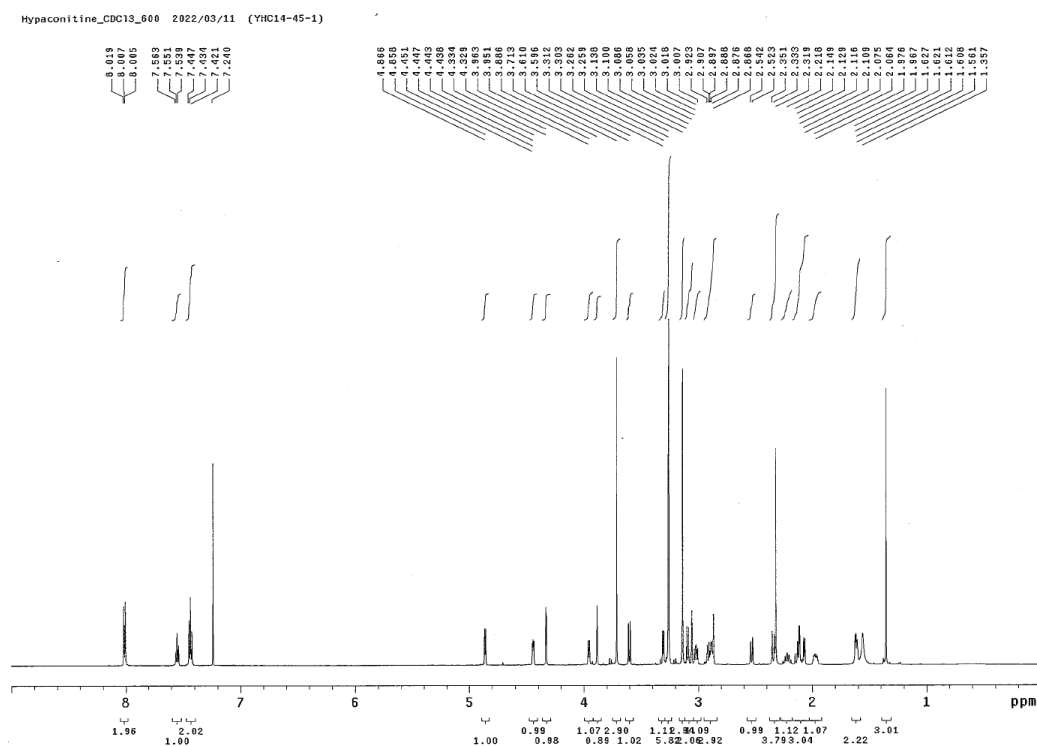
(五十四) 次烏頭鹼的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{33}H_{45}NO_{10}$ ；分子量：615.7；熔點：198–200 °C；白色粉末。

(五十五) 次烏頭鹼的結構

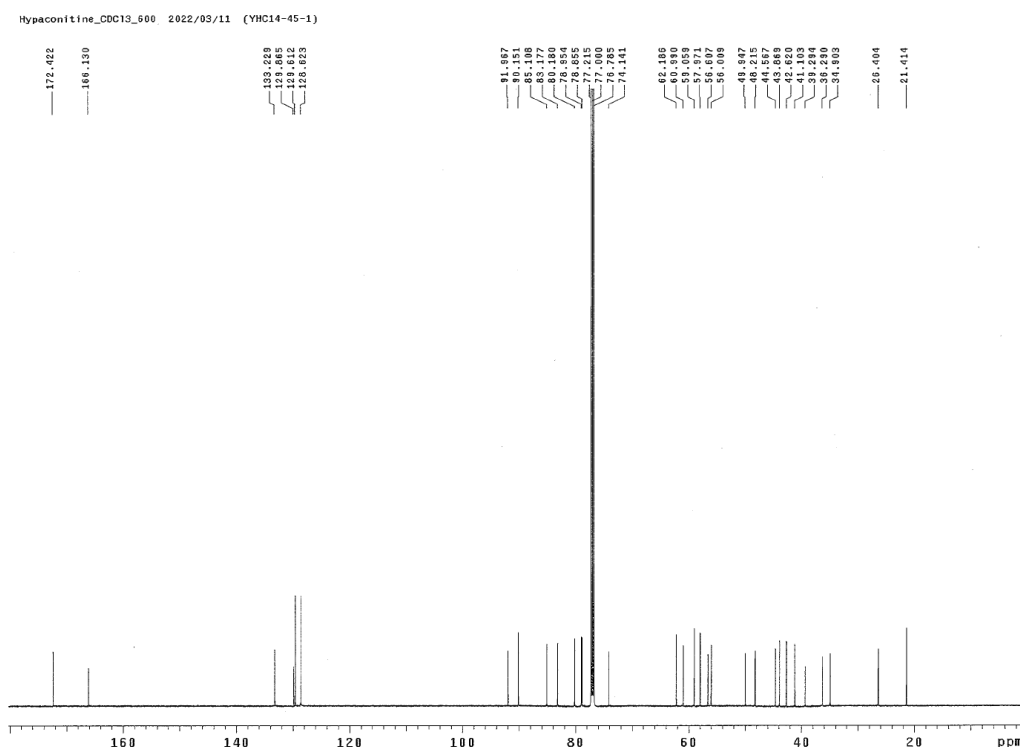


(五十六) 次烏頭鹼的 1H NMR 圖譜



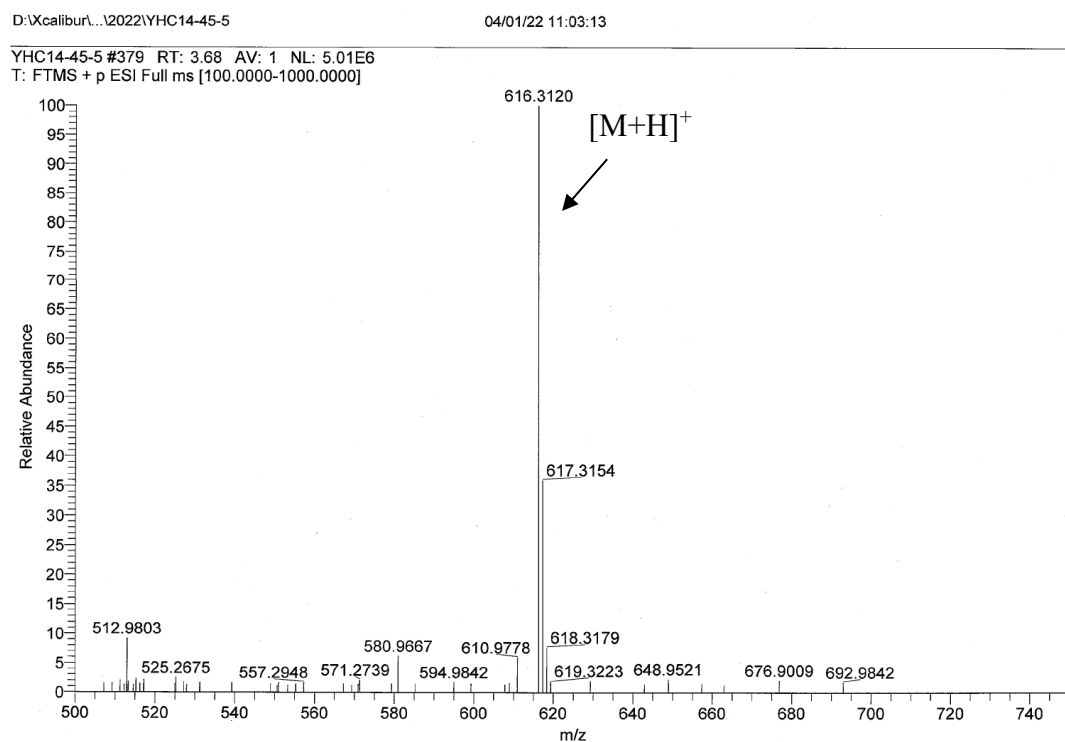
圖四十九、次烏頭鹼的 1H NMR 圖譜($CDCl_3$)

(五十七) 次烏頭鹼的 ^{13}C NMR 圖譜



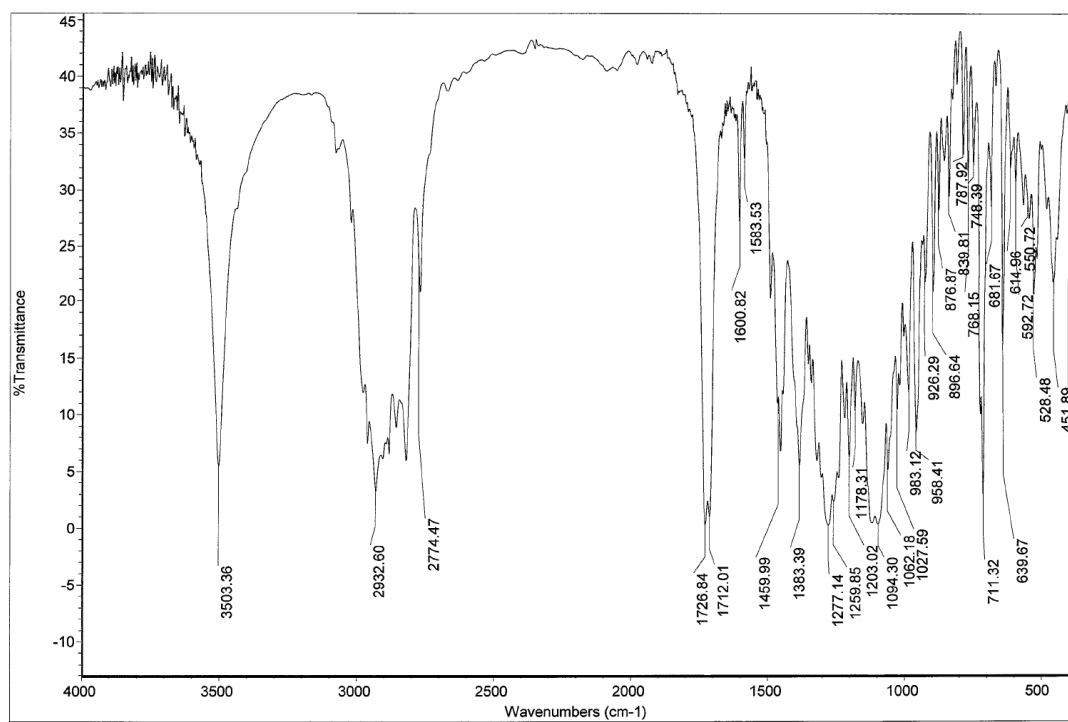
圖五十、次烏頭鹼的 ^{13}C NMR 圖譜(CDCl_3)

(五十八) 次烏頭鹼的 ESI-MS 圖譜



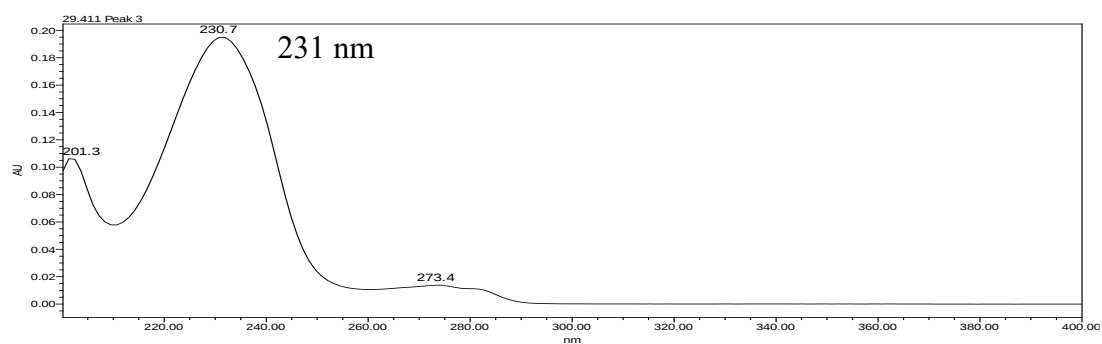
圖五十一、次烏頭鹼的 ESI-MS 圖譜

(五十九) 次烏頭鹼的 FTIR 圖譜



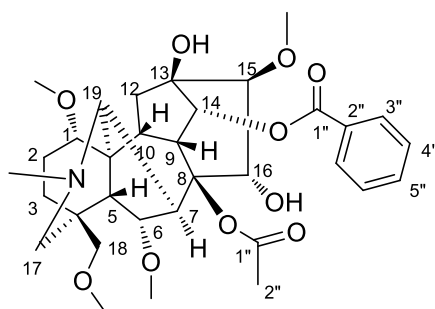
圖五十二、次烏頭鹼的 FTIR 圖譜

(六十) 次烏頭鹼的 UV 圖譜



圖五十三、次烏頭鹼的 UV 圖譜

(六十一) 次烏頭鹼的氫、碳化學位移



次烏頭鹼

表十八、次烏頭鹼的氫、碳化學位移(CDCl₃)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	3.02 (dd, 10.2, 6.6)	85.1
2	1.95–1.99 (m), 2.19–2.26 (m)	26.4
3	1.61–1.63 (m)	34.3
4	-	39.3
5	2.07 (d, 6.6)	48.2
6	3.96 (d, 6.6)	83.2
7	2.87 (s)	43.9
8	-	92.0
9	2.89–2.92 (m)	44.6
10	2.10–2.15 (m)	41.1
11	-	49.9
12	2.10–2.15 (m), 2.89–2.92 (m)	36.3
13	-	74.1
14	4.86 (d, 4.8)	79.0
15	3.31 (d, 5.4)	90.2
16	4.45 (dd, 5.4, 3.0)	78.9
17	2.34 (d, 11.4), 2.53 (d, 11.4)	56.0
18	3.09 (d, 7.4), 3.60 (d, 7.4)	80.2
19	3.06 (s)	62.2
1'	-	172.4
2'	1.36 (s)	21.4
1''	-	166.1
2''	-	129.9
3'', 7''	8.01–8.02 (m)	129.6
4'', 6''	7.43 (t, 7.8)	128.6
5''	7.54–7.56 (m)	133.2

N-CH ₃	2.32 (s)	42.6
1-OCH ₃	3.26 (s)	56.6
6-OCH ₃	3.14 (s)	58.0
15-OCH ₃	3.71 (s)	61.0
16-OH	4.33 (d, 3.0)	-
18-OCH ₃	3.26 (s)	59.1

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

附子 TLC

生藥名：ACONITI LATERALIS RADIX PRAEPARATA

英文名：Prepared Monkshood Daughter Root

基 原：本品為毛茛科 Ranunculaceae 植物烏頭 *Aconitum carmichaelii* Debeaux 之乾燥子根。

一、方法

(一) 檢品溶液 【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》

——取本品粉末 5.0 g，加乙醇 20 mL，水浴上加熱迴流 60 分鐘，過濾，濃縮至 1 mL，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 2.0 g，加氨試液 3 mL 潤濕後，加乙醚 25 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，濾液蒸乾，殘渣加二氯甲烷 0.5 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 3】《香港中藥材標準第七冊》

——取本品粉末 2.0 g，加 9.1%(w/v)氨溶液 3 mL，和乙醚 25 mL，加蓋，置冰浴中超音波振盪 30 分鐘，過濾，濾液蒸乾，殘渣加乙酸乙酯 0.5 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 4】(自行開發)✓

——取本品粉末 2.0 g，加氨試液 3 mL 潤濕後，加異丙醇: 乙酸乙酯(1:1)混合溶液 25 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，濾液蒸乾，殘渣加甲醇 0.5 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

(二) 對照標準品 溶 液

取烏頭鹼(Aconitine)、次烏頭鹼(Hypaconitine)、新烏頭鹼(Mesaconitine)、苯甲醯烏頭原鹼(Benzoylaconine)、苯甲醯次烏頭原鹼(Benzoylhypaconine)、苯甲醯新烏頭原鹼(Benzoylmesaconine)對照標準品，加甲醇製成每 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】《臺灣中藥典第四版 2021》

——正丁醇：無水乙酸：水 (7：1：2)

【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》

——正己烷：乙酸乙酯：甲醇 (6.4：3.6：1) 氨蒸氣飽和 20 分鐘。

【展開劑 3】《香港中藥材標準第七冊》

——正己烷：乙酸乙酯：甲醇 (6.4：5：1) 9.1%氨蒸氣飽和 10 分鐘。

【展開劑 4】(自行開發 2)✓

——甲苯：乙酸乙酯：二乙胺 (8：2：1)

- (五) 展 開 槽 $10\text{ cm} \times 10\text{ cm}$ 、 $20\text{ cm} \times 10\text{ cm}$
- (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，置於紫外光(254 nm)下檢視

二、萃法選擇及濃度測試

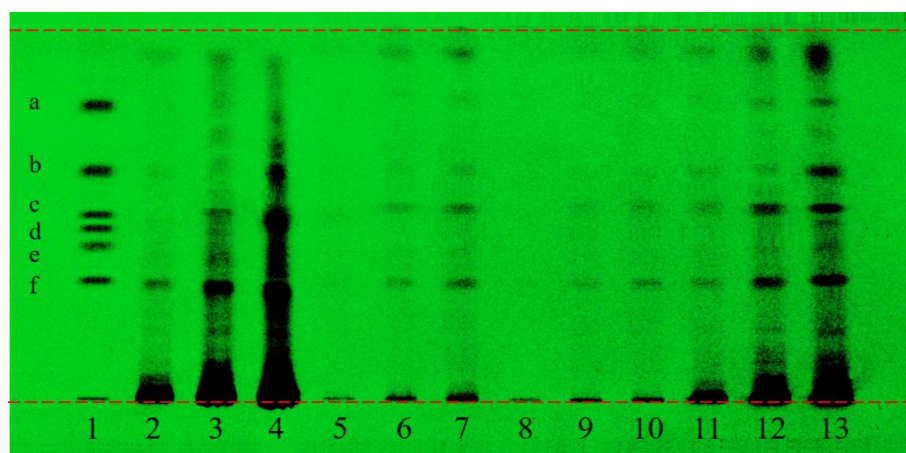
實驗日期：111/05/10

相對溼度(RH)：61%

溫度(RT)：21.1 °C

【展開劑 4】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：二乙胺 (8：2：1)

——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



編號	名稱	點注量
1	混合標準品(1.0 mg/mL)*	5 μ L
2, 3, 4	檢品溶液 8【萃取方法 1】	2, 5, 8 μ L
5, 6, 7	檢品溶液 8【萃取方法 2】	2, 5, 8 μ L
8, 9, 10	檢品溶液 8【萃取方法 3】	2, 5, 8 μ L
11, 12, 13	檢品溶液 8【萃取方法 4】	2, 5, 8 μ L

*由上至下分別為 a：次烏頭鹼， b：烏頭鹼，c：新烏頭鹼，d：苯甲醯次烏頭原鹼，e：苯甲醯烏頭原鹼，f：苯甲醯新烏頭原鹼

建議萃法：四種萃取法中，皆可分離檢出烏頭鹼，次烏頭鹼，新烏頭鹼，苯甲醯烏頭原鹼，苯甲醯次烏頭原鹼，苯甲醯新烏頭原鹼，因不使用二氯甲烷且濃度適中，故採用【萃取方法 4】。

建議點注量：混合標準品 5 μ L，檢品溶液【萃取方法 4】8 μ L。

三、溶媒系統選擇

實驗日期：111/05/10

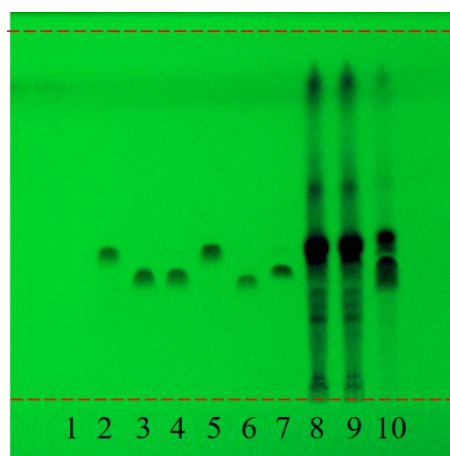
相對溼度(RH)：61%

溫度(RT)：21.1 °C

【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——正丁醇：無水乙酸：水 (7：1：2)

【萃取方法 4】(自行開發)—— HPTLC 紫外光(254 nm)檢出

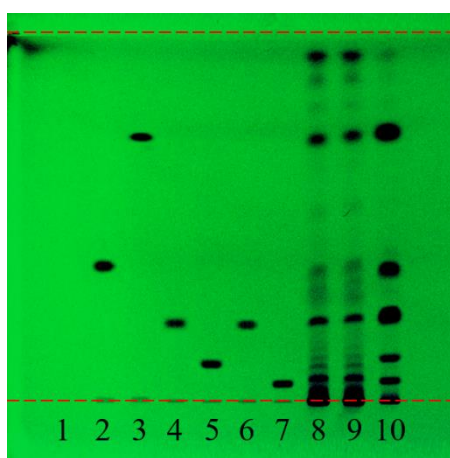
(烏頭鹼 R_f 值為 0.40、次烏頭鹼 R_f 值為 0.35、新烏頭鹼 R_f 值為 0.34、苯甲醯烏頭原鹼 R_f 值為 0.41、苯甲醯次烏頭原鹼 R_f 值為 0.32、苯甲醯新烏頭原鹼 R_f 值為 0.36)



【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》——正己烷：乙酸乙酯：甲醇 (6.4：3.6：1) 氨蒸氣飽和 20 分鐘。

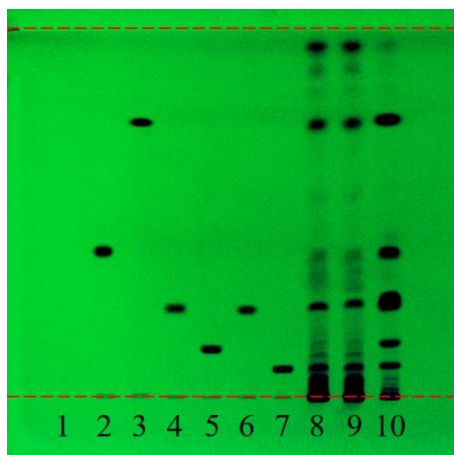
【萃取方法 4】(自行開發)—— HPTLC 紫外光(254 nm)檢出

(烏頭鹼 R_f 值為 0.35、次烏頭鹼 R_f 值為 0.72、新烏頭鹼 R_f 值為 0.20、苯甲醯烏頭原鹼 R_f 值為 0.08、苯甲醯次烏頭原鹼 R_f 值為 0.19、苯甲醯新烏頭原鹼 R_f 值為 0.03)



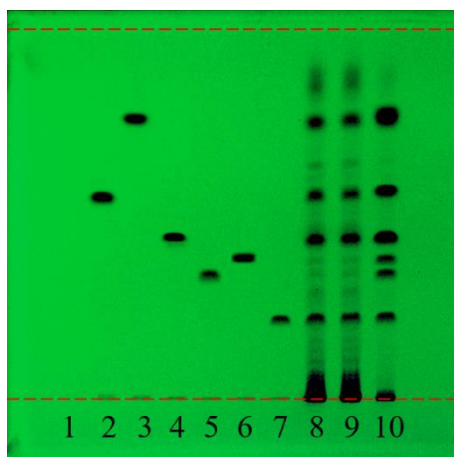
【展開劑 3】《香港中藥材標準第七冊》——正己烷：乙酸乙酯：甲醇 (6.4：5：1) 9.1% 氨蒸氣飽和 10 分鐘。

【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出
(烏頭鹼 R_f 值為 0.38、次烏頭鹼 R_f 值為 0.75、新烏頭鹼 R_f 值為 0.25、苯甲醯烏頭原鹼 R_f 值為 0.11、苯甲醯次烏頭原鹼 R_f 值為 0.24、苯甲醯新烏頭原鹼 R_f 值為 0.06)



【展開劑 4】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：二乙胺 (8：2：1) ✓

【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出
(烏頭鹼 R_f 值為 0.54、次烏頭鹼 R_f 值為 0.76、新烏頭鹼 R_f 值為 0.44、苯甲醯烏頭原鹼 R_f 值為 0.34、苯甲醯次烏頭原鹼 R_f 值為 0.38、苯甲醯新烏頭原鹼 R_f 值為 0.21)



1：Blank	4：新烏頭鹼	7：苯甲醯新烏頭原鹼
2：烏頭鹼	5：苯甲醯烏頭原鹼	8，9：檢品溶液
3：次烏頭鹼	6：苯甲醯次烏頭原鹼	10：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 4】方式，以自行開發展開劑【展開劑 4】展開，顯示分離烏頭鹼，次烏頭鹼，新烏頭鹼，苯甲醯烏頭原鹼，苯甲醯次烏頭原鹼，苯甲醯新烏頭原鹼的效果較佳，故採用【展開劑 4】。

四、觀察方式選擇

實驗日期：111/05/10

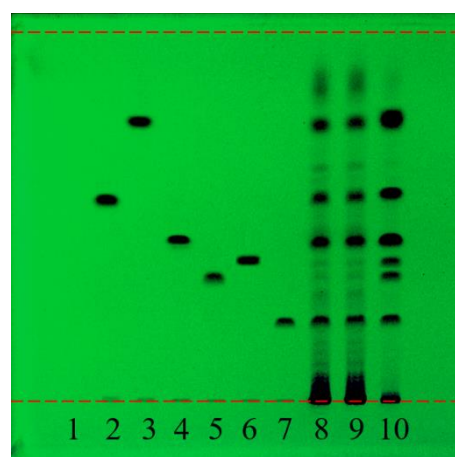
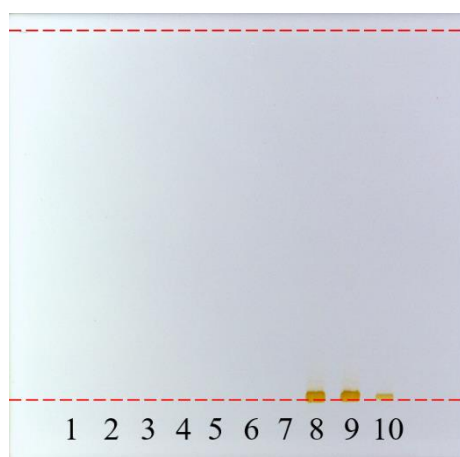
相對溼度(RH)：61%

溫度(RT)：21.1 °C

【展開劑 4】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：二乙胺 (8：2：1)

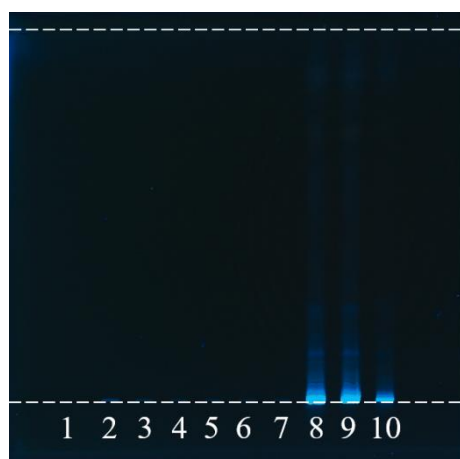
【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC 可見光檢出

【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC 紫外光(254 nm)檢出✓



【萃取方法 4】(自行開發 2)—HPTLC

紫外光(365 nm)檢出



- | | |
|-----------|------------|
| 1：Blank | 6：苯甲醯次烏頭原鹼 |
| 2：烏頭鹼 | 7：苯甲醯新烏頭原鹼 |
| 3：次烏頭鹼 | 8，9：檢品溶液 8 |
| 4：新烏頭鹼 | 10：Spike |
| 5：苯甲醯烏頭原鹼 | |

建議觀察方式：於紫外光(254 nm)檢視下，顯示有較明顯分離之條帶。

五、十批附子藥材樣品檢測

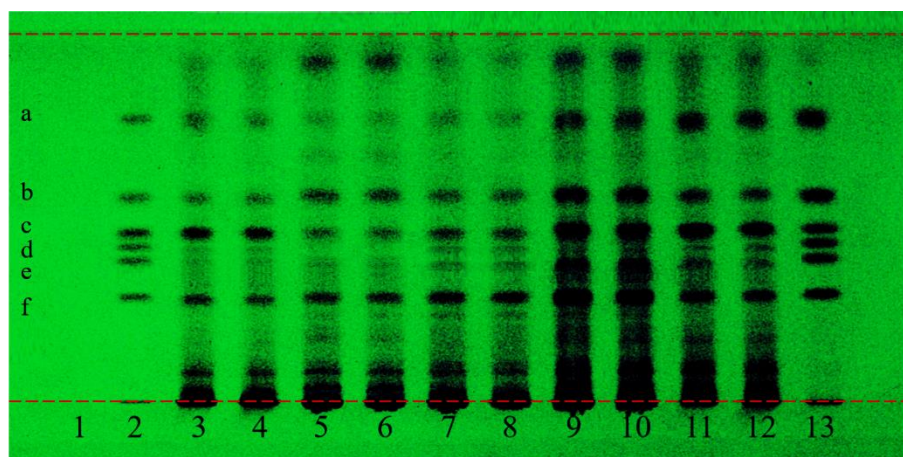
實驗日期：111/05/10

相對溼度(RH)：61%

溫度(RT)：21.1 °C

【展開劑 4】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：二乙胺 (8：2：1)

【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出

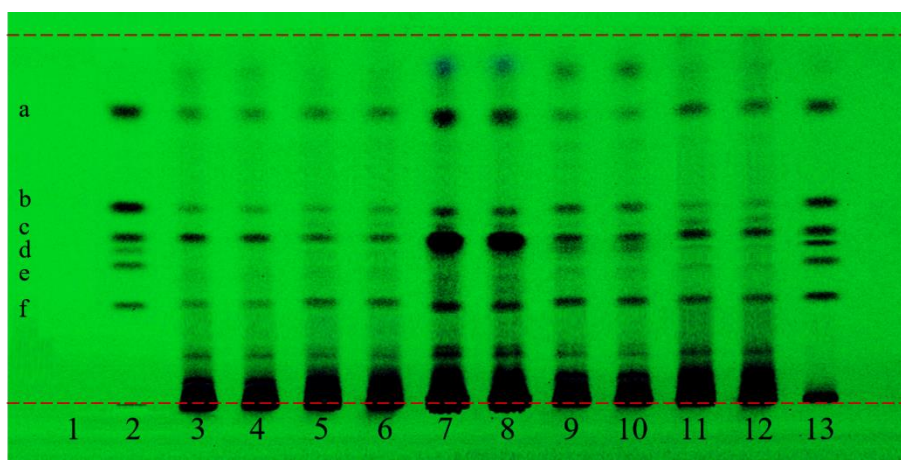


1	Blank	7, 8	檢品溶液 3 (CA)
2	混合標準品(1.0 mg/mL)*	9, 10	檢品溶液 4 (SAA)
3, 4	檢品溶液 1 (NF1)	11, 12	檢品溶液 5 (SGA)
5, 6	檢品溶液 2 (NR)	13	Spike (檢品溶液 8)

*由上至下分別為 a：次烏頭鹼， b：烏頭鹼， c：新烏頭鹼， d：苯甲醯次烏頭原鹼， e：苯甲醯烏頭原鹼， f：苯甲醯新烏頭原鹼

【展開劑 4】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：二乙胺 (8：2：1)

【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



1	Blank	7, 8	檢品溶液 8 (SUB)
2	混合標準品(1.0 mg/mL)*	9, 10	檢品溶液 9 (SUC)
3, 4	檢品溶液 6 (SGB)	11, 12	檢品溶液 10 (SU2A)
5, 6	檢品溶液 7(SUA)	13	Spike (檢品溶液 8)

*由上至下分別為 a：次烏頭鹼， b：烏頭鹼，c：新烏頭鹼，d：苯甲醯次烏頭原鹼，e：苯甲醯烏頭原鹼，f：苯甲醯新烏頭原鹼

結論與建議：以【萃取方法 4】及【展開劑 4】方式，顯示分離與檢出烏頭鹼，次烏頭鹼，新烏頭鹼，苯甲醯烏頭原鹼，苯甲醯次烏頭原鹼，苯甲醯新烏頭原鹼的效果較佳，以紫外光(254 nm)下檢視較佳。