

白薇

(AMPELOPSIS RADIX)

白薇 MI

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

白薇 HPLC

一、材料.....	6
二、儀器及層析管柱.....	6
三、實驗藥品及試劑來源.....	6
四、方法.....	6
五、結果.....	11

白薇 TLC (1)

一、方法.....	33
二、萃法選擇及濃度測試.....	34
三、溶媒系統選擇.....	35
四、觀察方式選擇.....	37
五、十批樣品檢測.....	38

白薇 TLC (2)

一、方法.....	40
二、萃法選擇及濃度測試.....	41
三、溶媒系統選擇.....	42
四、觀察方式選擇.....	44
五、十批樣品檢測.....	45

白藜

(AMPELOPSIS RADIX)

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白藜的乾燥塊根。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：白藜

生藥名：AMPELOPSIS RADIX

英文名：Japanese Ampelopsis Root

基原：葡萄科 Vitaceae 植物白藜 *Ampelopsis japonica* (Thunb.) Makino 的乾燥塊根。

採收加工：春、秋兩季採挖，除去莖葉及細鬚根，洗淨，縱切成兩半、四半或斜片，曬乾

藥材性狀：本藥材為白藜的乾燥塊根。長橢圓形或紡錘形，多縱切成兩半或斜片。表面紅棕色或深棕色，有縱皺紋、細橫紋及類白色橢圓形橫長皮孔，栓皮易作鱗片狀層層脫落，脫落處呈類白色或淡紅棕色，皺縮不平，兩側各有一條形成層線紋。縱切面周圍常向內卷曲，中部有一凸起的稜線。斜片呈卵圓形，長 4~8 cm，寬 2~3 cm，中央略薄，周邊較厚，微翹起或微彎曲。體輕，質硬而脆，粉性。氣微，味微甜。

生長分佈：木質藤本植物，塊根紡錘形或塊狀。花期 6~7 月，果期 8~9 月。生於山地、荒坡及灌木林中，亦有栽培。分布黑龍江、吉林、遼寧、河北、河南、山東、安徽、江蘇、浙江、江西、湖南、湖北、四川、山西、陝西、廣西、內蒙古等地，日本也有分布。

三、藥材組織顯微鑑別(圖 2)

1. 木栓層由數層細胞組成，有時脫落。
2. 皮層由薄壁細胞組成，有大量黏液細胞散在。
3. 草酸鈣針晶單個或成束散在於黏液細胞中。
4. 草酸鈣簇晶主要散在於皮層薄壁細胞中。
5. 韌皮部呈窄條狀。
6. 形成層成環。
7. 木質部導管稀疏排列，周圍有少數木纖維，含有草酸鈣針晶的黏液細

胞散在。

8. 薄壁細胞含澱粉粒及草酸鈣簇晶。

四、藥材粉末顯微鑑別(圖 3)

1. 本品粉末淡紅棕色。
2. 導管主要為有緣紋孔導管，紋孔常排列成梯狀或網狀，紋孔口線形。
3. 木栓細胞黃棕色，表面觀類長方形或多角形。
4. 草酸鈣針晶隨處散在或成束存在於黏液細胞中，針晶長 50~120 μm 。
偏光顯微鏡下呈多彩狀。
5. 草酸鈣簇晶直徑 25~70 μm ，稜角寬大。偏光顯微鏡下呈多彩狀。
6. 澱粉粒眾多，單粒類圓形、腎形、扁三角形或菱形，直徑 2~20 μm ，
臍點、層紋不明顯。偏光顯微鏡下呈黑十字狀。

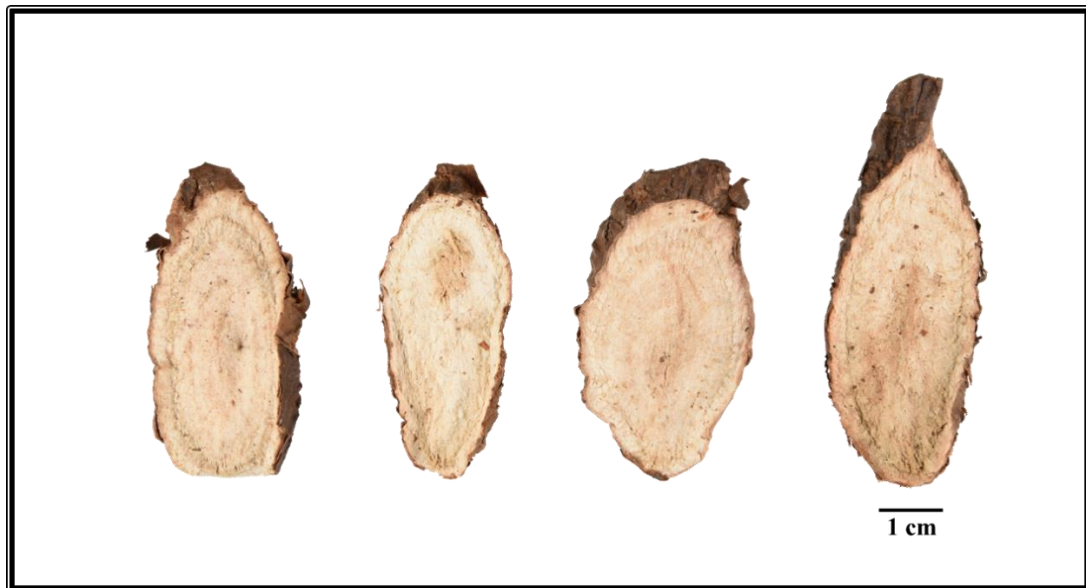


圖 1 白薤藥材圖

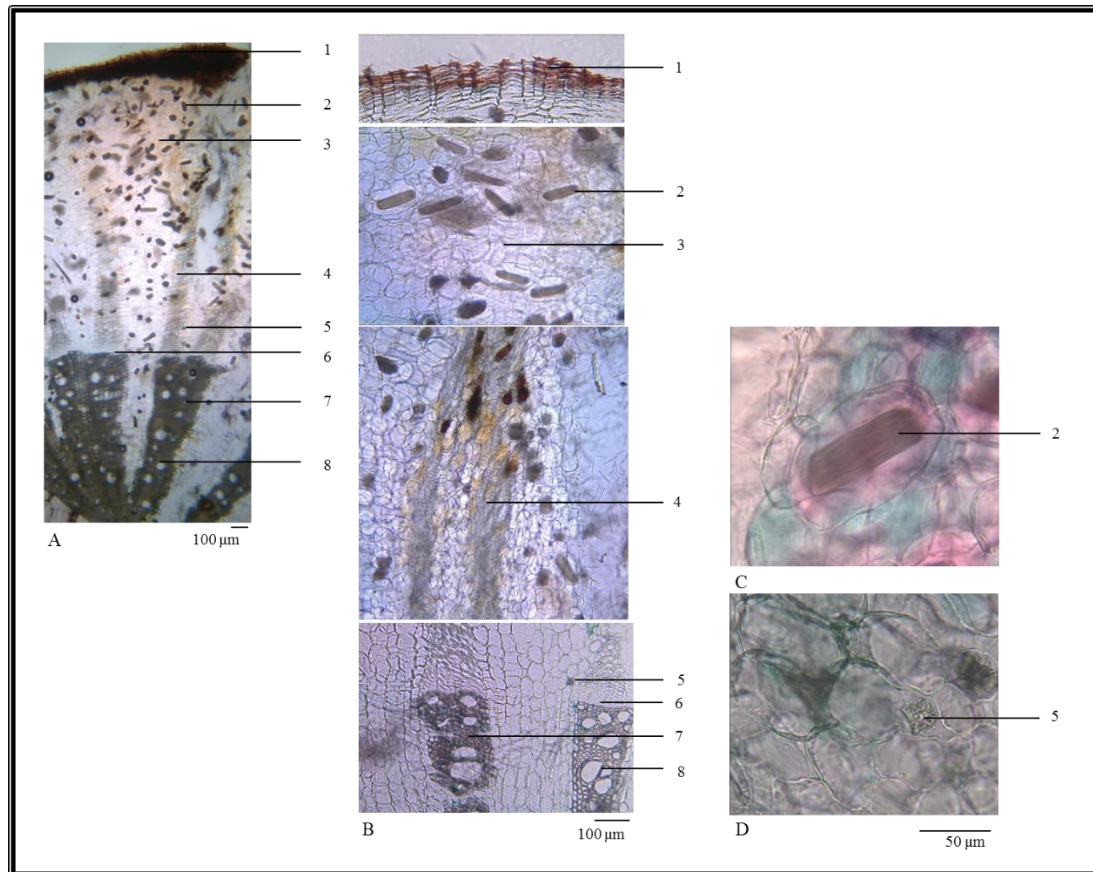


圖 2 白蘆橫切面顯微特徵圖

A.橫切面圖 B.橫切面放大圖 C.黏液細胞中的草酸鈣針晶 D.草酸鈣簇晶

1.木栓層 2.草酸鈣針晶 3.皮層 4.韌皮部 5.草酸鈣簇晶 6.形成層

7.木質部 8.導管

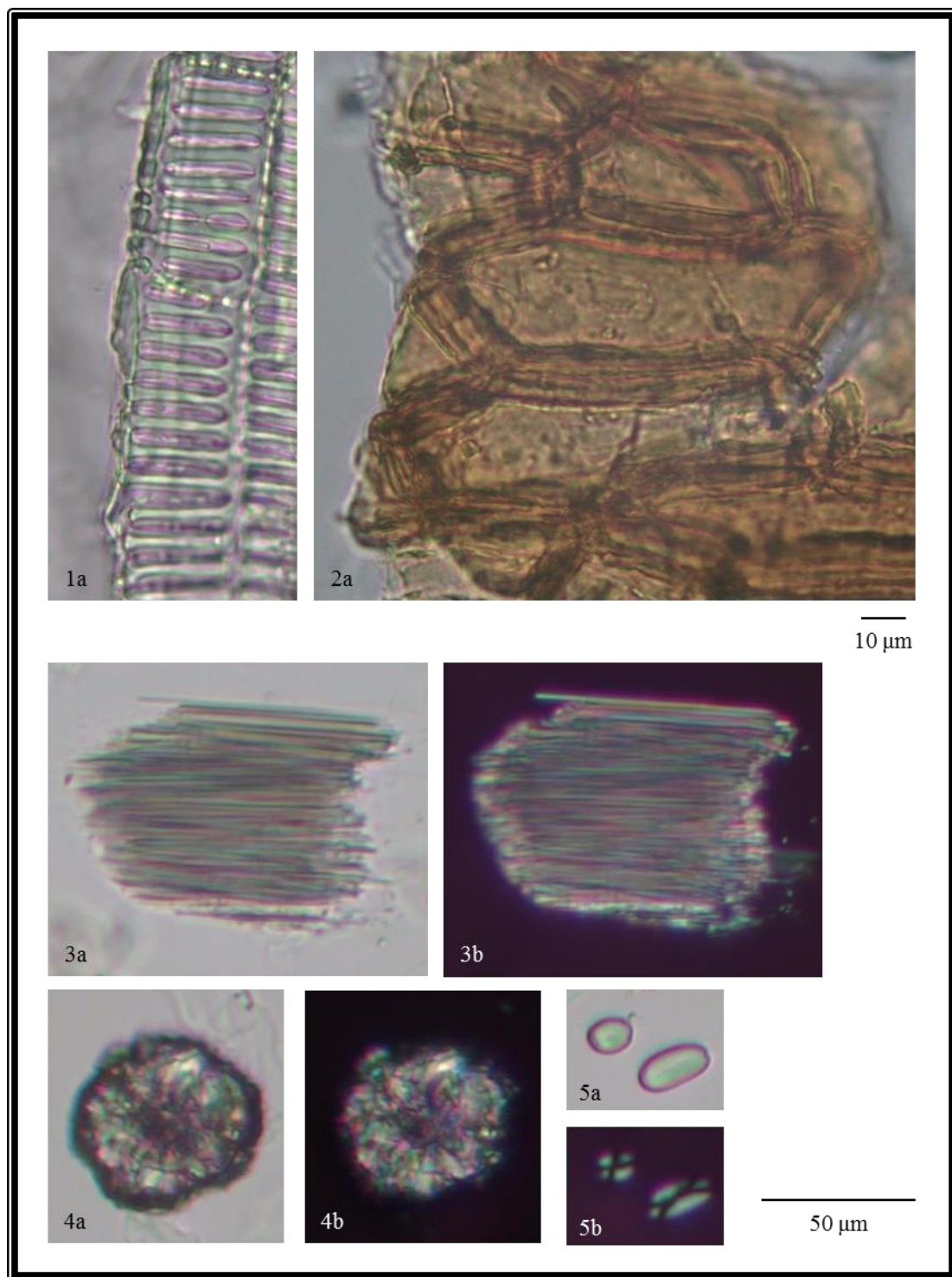


圖 3 白蘞粉末顯微特徵圖

a. 光學顯微鏡下特徵 b. 偏光顯微鏡下特徵

1. 有緣紋孔導管 2. 木栓細胞 3. 草酸鈣針晶 4. 草酸鈣簇晶 5. 澱粉粒

白藜(Ampelopsis Radix)

一、材料

購自於台灣各地中藥店白藜藥材共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Shimadzu LC-2040C 3D，包含 Quaternary pump、Autosampler、Thermostatted column compartment、Diode-Array Detector；層析管柱 Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)。

(二) UPLC 儀器及層析管柱

Waters AcQuity Ultra Performance LC，包含 Binary Solvent Manager、Sampler Manager、PDA Detector；層析管柱 Waters Acquity UPLC BEH C18 Column (100 × 2.1 mm, 1.7 μm)。

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

乙腈(99.9%)購自於 Sigma-Aldrich；乙醇(99.5%)購自於景明化工股份有限公司；甲醇(HPLC grade)購自於 Merck；磷酸(85%)購自於 Sigma-Aldrich。

(二) 標準品

沒食子酸(Gallic acid)購自於 Acros，純度 98%以上；兒茶素(Catechin)與表兒茶素(Epicatechin)購自昇漢科技，純度皆為 98%。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒開發

取本品粉末八份，每份精確稱定 0.5 g，置 50 mL 離心管中，精確加入甲醇、75%甲醇、60%甲醇、50%甲醇、乙醇、75%乙醇、50%乙醇、水各 25 mL，超音波震盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，離心 10 分鐘(約 4000 × g)，取得濾液搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μm)，即得。每針 10 μL 注入高效能液相層析儀(HPLC)，以所測得每克重量之標準品沒食子酸(Gallic acid)、兒茶素(Catechin)、表兒茶素(Epicatechin)最大波峰面積為最佳白藜萃取溶媒。

(二) 最佳萃取次數評估

取本品粉末約 0.5 g (過第 20 號篩網)，精確稱定，置 50 mL 離心管中，精確加入 60% 甲醇 10 mL，超音波震盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，離心 10 分鐘(約 $4000 \times g$)，濾液加 60% 甲醇定容至 10 mL，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μm)，取濾液，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

標準品為沒食子酸:

取標準品沒食子酸(Gallic acid)精確稱定 1.0 mg，加 1 mL 的 60% 甲醇製成每 1 mL 含沒食子酸(Gallic acid) 1000 μg 的標準品儲備溶液，並以 60% 甲醇稀釋至 5.0 $\mu\text{g/mL}$ 製成對照標準品溶液。

標準品為兒茶素:

取標準品兒茶素(Catechin)精確稱定 1.0 mg，加 1 mL 的 60% 甲醇製成每 1 mL 含兒茶素(Catechin) 1000 μg 的標準品儲備溶液，並以 60% 甲醇稀釋至 5.0 $\mu\text{g/mL}$ 製成對照標準品溶液。

標準品為表兒茶素:

取標準品表兒茶素(Epicatechin)精確稱定 1.0 mg，加 1 mL 的 60% 甲醇製成每 1 mL 含兒茶素(Catechin) 1000 μg 的標準品儲備溶液，並以 60% 甲醇稀釋至 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 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)約 0.5 g，精確稱定，置 50 mL 離心管中，精確加入 60% 甲醇 10 mL，超音波震盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，離心 10 分鐘(約 $4000 \times g$)，取濾液。殘渣部分重複提取 1 次，合併濾液，轉移至 25 mL 之定量瓶中，加入溶媒至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μm)，即得。

(五) 測定法

分別精確吸取沒食子酸(Gallic acid)對照標準品溶液、兒茶素(Catechin)對照標準品溶液、表兒茶素(Epicatechin)對照標準品溶液、檢品溶液各 10 μL ，注入 HPLC，測定，用標準曲線分別計算溶液中沒食子酸(Gallic acid)、兒茶素(Catechin)、表兒茶素(Epicatechin)的含量，即得。

(六) 檢量線

標準品為沒食子酸:

精確吸取沒食子酸(Gallic acid)標準品儲備溶液適量(1000 µg/mL)，以 60% 甲醇稀釋成含沒食子酸(Gallic acid)分別為 20、10、5.0、2.0、1.0、0.5 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 。

標準品為兒茶素:

精確吸取兒茶素(Catechin)標準品儲備溶液適量(1000 µg/mL)，以 60% 甲醇稀釋製成含兒茶素(Catechin)分別為 20、10、5.0、2.0、1.0、0.5 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 。

標準品為表兒茶素:

精確吸取表兒茶素(Epicatechin)標準品儲備溶液適量(1000 µg/mL)，以 60% 甲醇稀釋製成含表兒茶素(Epicatechin)分別為 5.0、2.0、1.0、0.5、0.3、0.1 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

標準品為沒食子酸:

以沒食子酸(Gallic acid)濃度為 5.0 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣五針，以沒食子酸(Gallic acid)波峰面積為指標，求出相對標準差。

標準品為兒茶素:

以兒茶素(Catechin)濃度為 5.0 µg/mL 之標準品溶液連續進樣五針，以兒茶素(Catechin)波峰面積為指標，求出相對標準差。

標準品為表兒茶素:

以表兒茶素(Epicatechin)濃度為 1.0 µg/mL 之標準品儲溶液連續進樣五針，以表兒茶素(Epicatechin)波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 再現性與穩定性試驗

1. 再現性:取同一批市售白藜粉末，依白藜檢品溶液製備方法平行製備五份白藜檢品溶液，進樣測定，分別以沒食子酸(Gallic acid)、兒茶素(Catechin)、表兒茶素(Epicatechin)的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性:取同一批市售白藜粉末，依白藜檢品溶液製備方法製備白藜檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以沒食子酸(Gallic acid)、兒茶素(Catechin)、表兒茶素(Epicatechin)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

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；定量極限(Limit of Quantitation, 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

標準品為沒食子酸:

取已知沒食子酸(Gallic acid)含量的白藜藥材粉末約 0.5 g，精確稱定五份，分別加入 0.3 mL 的沒食子酸(Gallic acid)溶液(1000 $\mu\text{g/mL}$)，並按檢品溶液製備方法操作測定。

標準品為兒茶素:

取已知兒茶素(Catechin)含量的白藜藥材粉末約 0.5 g，精確稱定五份，分別加入 0.1 mL 的兒茶素(Catechin)溶液(1000 $\mu\text{g/mL}$)，並按檢品溶液製備方法操作測定。

標準品為表兒茶素:

取已知表兒茶素(Epicatechin)含量的白藜藥材粉末約 0.5 g，精確稱定五份，分別加入 0.13 mL 的表兒茶素(Epicatechin)溶液(100 $\mu\text{g/mL}$)，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 Eclipse XDB-C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 202 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(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	2	98
10	2	98
55	15	85

(十二) 臺灣市售白藜含量測定

取十批市售白藜藥材依檢品溶液製備方法製備檢品溶液，取各 10 μL 連續三針注入 HPLC，所得平均波峰面積依附錄 I 公式計算樣品沒食子酸(Gallic acid)、兒茶素(Catechin)、表兒茶素(Epicatechin)的百分含量。

(十三) 白藜檢品之 UPLC 層析條件

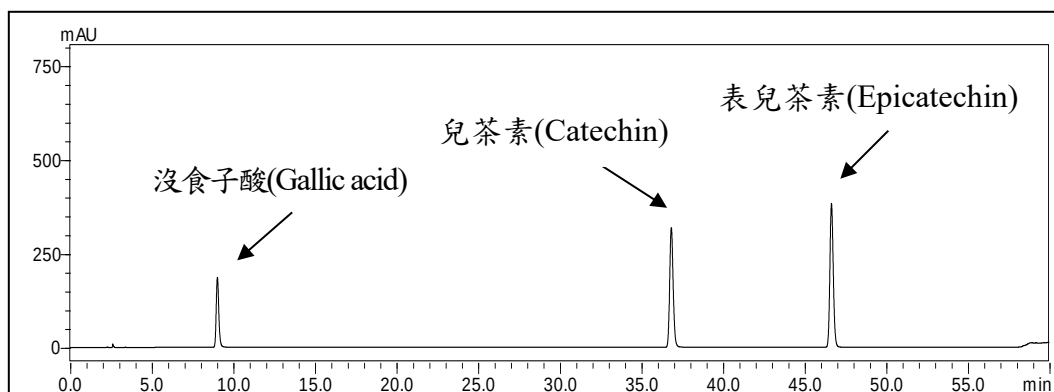
1. 層析管：Waters Acquity UPLC BEH C18 Column (100 × 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 202 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	2	98
2	2	98
10	15	85

五、結果

(一) 標準品沒食子酸(Gallic acid)、兒茶素(Catechin)、表兒茶素(Epicatechin)之 HPLC 層析

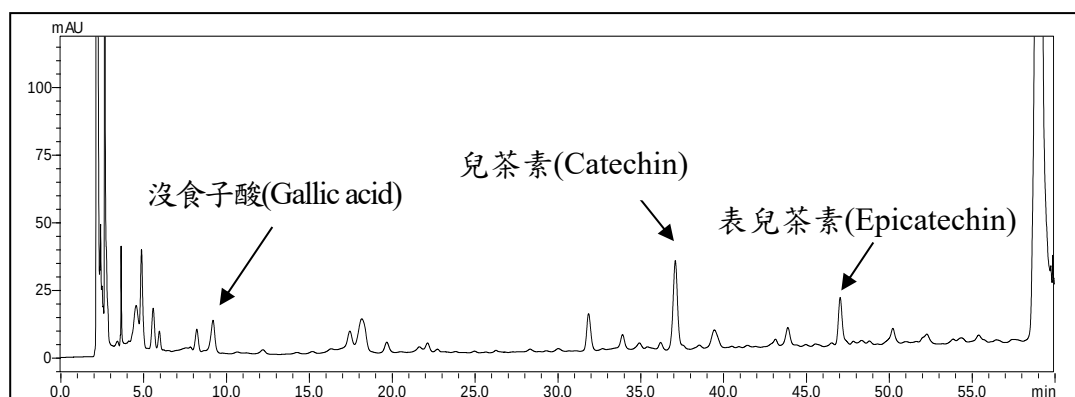
於滯留時間 9.1、36.9、46.7 分鐘處分別顯示沒食子酸(Gallic acid)、兒茶素(Catechin)、表兒茶素(Epicatechin)標準品波峰(圖一)。



圖一、沒食子酸(Gallic acid)、兒茶素(Catechin)、表兒茶素(Epicatechin)標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售白藜檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 9.2、37.1、46.9 分鐘處分別顯示白藜檢品中沒食子酸(Gallic acid)、兒茶素(Catechin)、表兒茶素(Epicatechin)波峰(圖四)。分離率分別為 $R=2.61$ 、 2.02 、 7.13 ，托尾因子分別為 $T=0.91$ 、 1.01 、 1.11 ，均在系統適用性要求內。



圖二、市售白藜檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒開發

以 60% 甲醇為溶媒時，每克藥材重量所得沒食子酸(Gallic acid)、兒茶素(Catechin)、表兒茶素(Epicatechin)的波峰面積最大，顯示 60% 甲醇為最佳萃取溶媒。

表一、不同溶媒萃取比較

溶媒	沒食子酸 波峰面積(mAU)	兒茶素 波峰面積(mAU)	表兒茶素 波峰面積(mAU)	最佳萃取
甲醇	152303	99280	78194	
75% 甲醇	839097	637790	212188	
60% 甲醇	1238198	875721	225559	√
50% 甲醇	847637	593775	160362	
乙醇	60176	40978	52489	
75% 乙醇	612873	497463	131565	
50% 乙醇	634463	851302	205176	
水	1197989	686003	124241	

(四) 最佳萃取次數評估

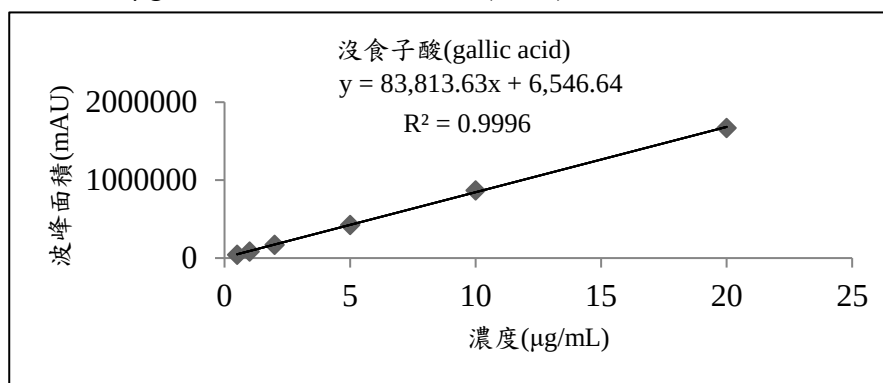
結果顯示萃取兩次基本上已將沒食子酸(Gallic acid)、兒茶素(Catechin)、表兒茶素(Epicatechin)萃取完全(>98%)。

表二、白藜檢品萃取次數評估

60% 甲醇萃取次數	沒食子酸 波峰面積(mAU)	兒茶素 波峰面積(mAU)	表兒茶素 波峰面積(mAU)
第一次	985995	763157	205062
第二次	254048	205408	60957
第三次	23323	18742	5231
第四次	5473	5473	N.D.

(五) 標準品沒食子酸(Gallic acid)、兒茶素(Catechin)與表兒茶素(Epicatechin)檢量線

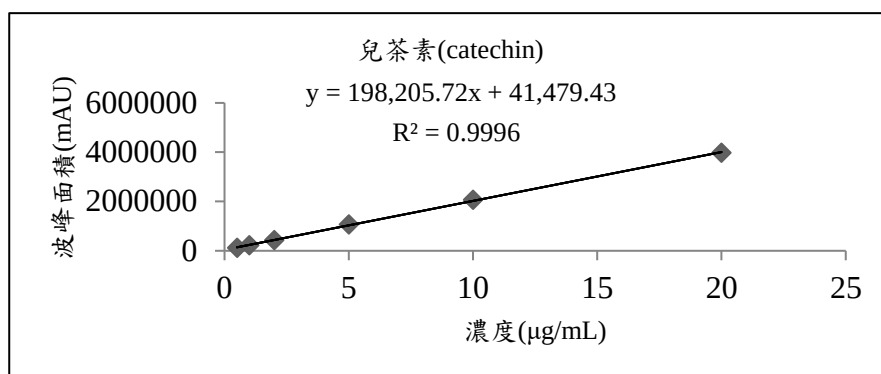
經不同濃度沒食子酸(Gallic acid)(x)對各自層析波峰面積的反應值(y)所得到的檢量線方程式為 $y = 83813.63x + 6546.64$ ， $R^2 = 0.9996$ ，顯示濃度在 0.5–20 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、沒食子酸(Gallic acid)之檢量線圖

標準品兒茶素(Catechin)檢量線

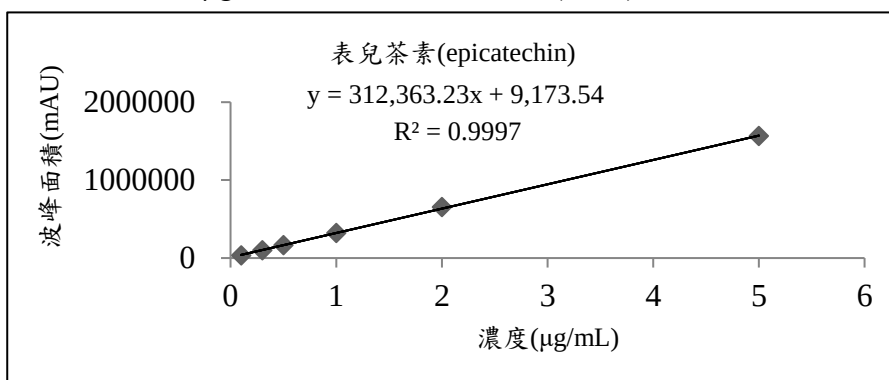
經不同濃度兒茶素(Catechin)(x)對各自層析波峰面積的反應值(y)所得到的檢量線方程式為 $y = 198205.72x + 41479.43$ ， $R^2 = 0.9996$ ，顯示濃度在 0.5–20 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖四)。



圖四、兒茶素(Catechin)之檢量線圖

標準品表兒茶素(Epicatechin)檢量線

經不同濃度表兒茶素(Epicatechin)(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 $y = 312363.23x + 9173.54$ ， $R^2 = 0.9997$ ，顯示濃度在 0.1–5.0 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖五)。



圖五、表兒茶素(Epicatechin)之檢量線圖

表三、沒食子酸(Gallic acid)、兒茶素(Catechin)與表兒茶素(Epicatechin)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
沒食子酸(Gallic acid)	0.5–20	$y = 83813.63x + 6546.64$	0.9996
兒茶素(Catechin)	0.5–20	$y = 198205.72x + 41479.43$	0.9996
表兒茶素(Epicatechin)	0.1–5.0	$y = 312363.23x + 9173.54$	0.9997

(六) 精密度與再現性試驗

實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精確度良好，沒食子酸(Gallic acid)、兒茶素(Catechin)與表兒茶素(Epicatechin)精確度之相對標準差分別為 0.25、0.15、0.26%，再現性之相對標準差為 1.36、2.81、1.35%，均在系統適用性要求內。

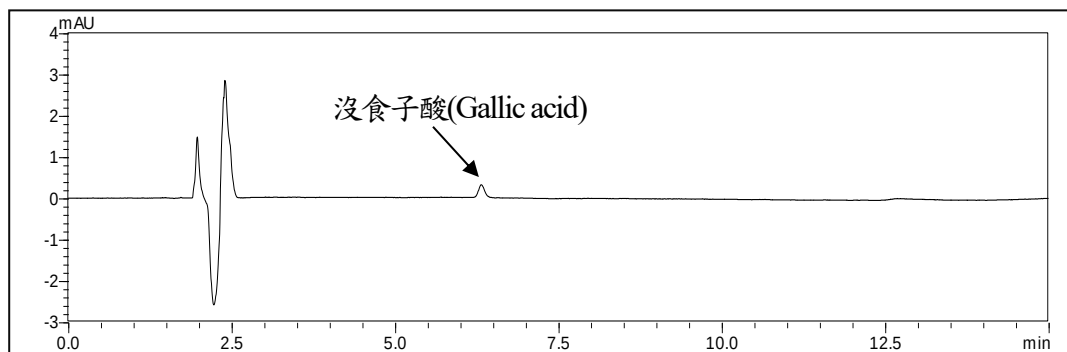
(七) 穩定性試驗

由結果可以得知，沒食子酸(Gallic acid)、兒茶素(Catechin)、表兒茶素(Epicatechin)在 24 小時內穩定，相對標準差分別為 1.67%、1.47%、1.06%，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。

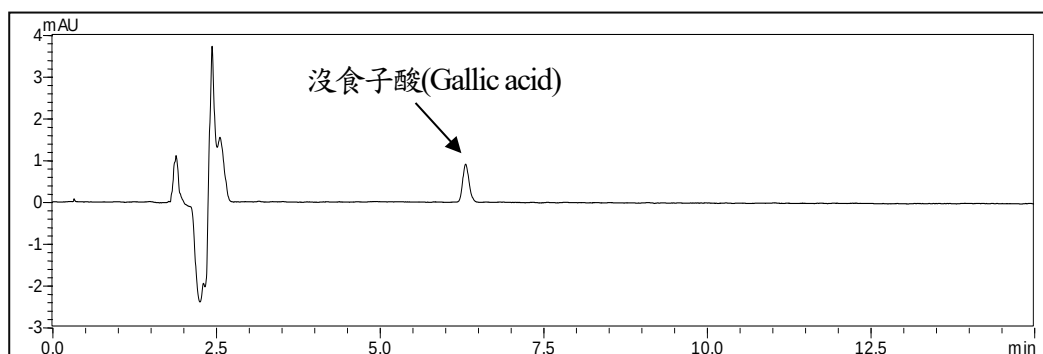
(八) 偵測極限與定量極限試驗

標準品為沒食子酸:

沒食子酸(Gallic acid)偵測極限(Limit of Detection, LOD)為 0.1 $\mu\text{g/mL}$ (圖六)，定量極限(Limit of Quantitation, LOQ)為 0.3 $\mu\text{g/mL}$ (圖七)。



圖六、沒食子酸(Gallic acid)之 LOD 層析圖



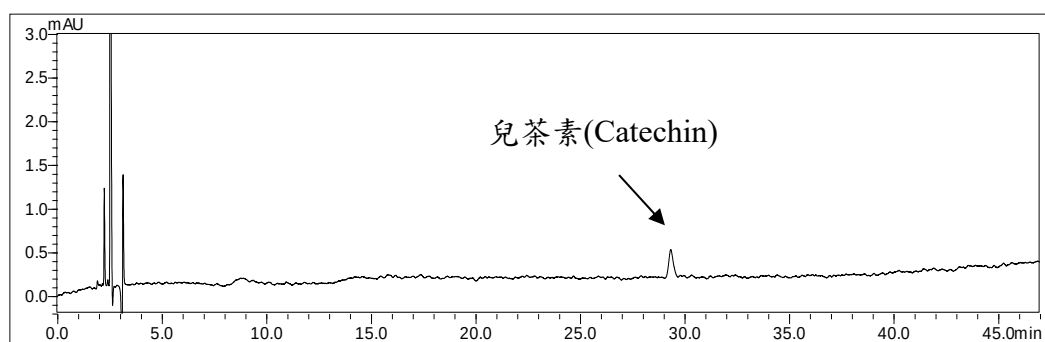
圖七、沒食子酸(Gallic acid)之 LOQ 層析圖

表四、各項檢驗分析

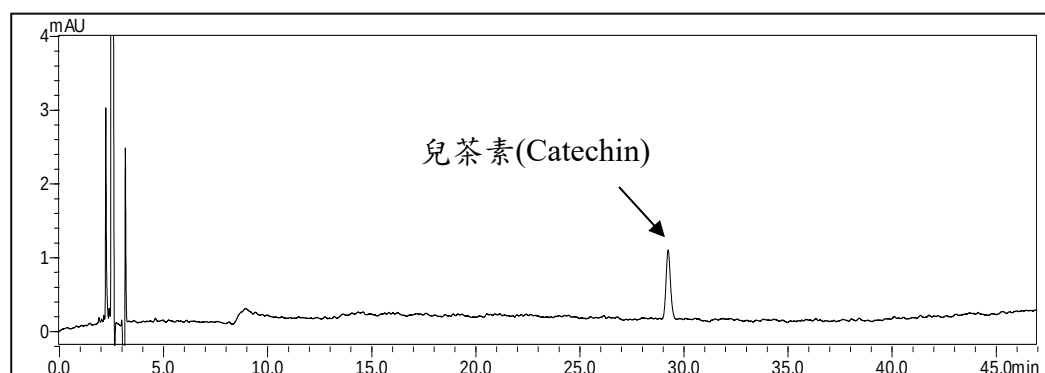
檢測項目	沒食子酸(Gallic acid)	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	5.0 µg/mL	0.25
再現性 (n=5)	檢品溶液(No.8)	1.36
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.8)	1.67
偵測極限 (n=3)	0.1 µg/mL	-
定量極限 (n=3)	0.3 µg/mL	-

標準品為兒茶素:

兒茶素(Catechin)偵測極限(Limit of Detection, LOD)為 0.01 µg/mL (圖八)，定量極限(Limit of Quantitation, LOQ)為 0.03 µg/mL (圖九)。



圖八、兒茶素(Catechin)之 LOD 層析圖



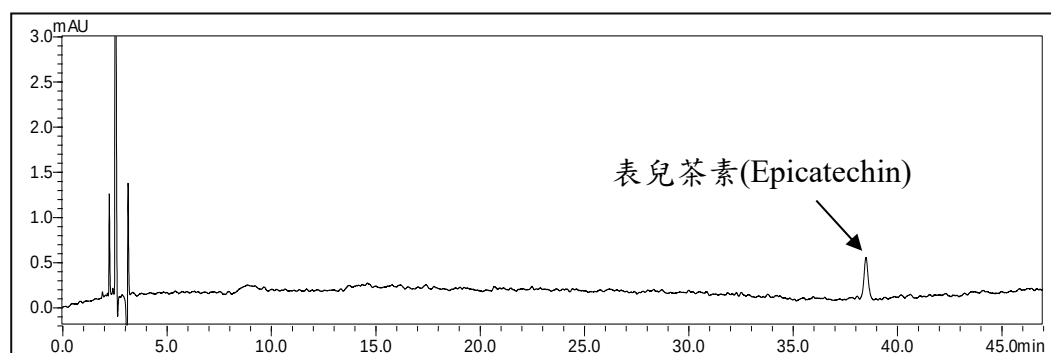
圖九、兒茶素(Catechin)之 LOQ 層析圖

表五、各項檢驗分析

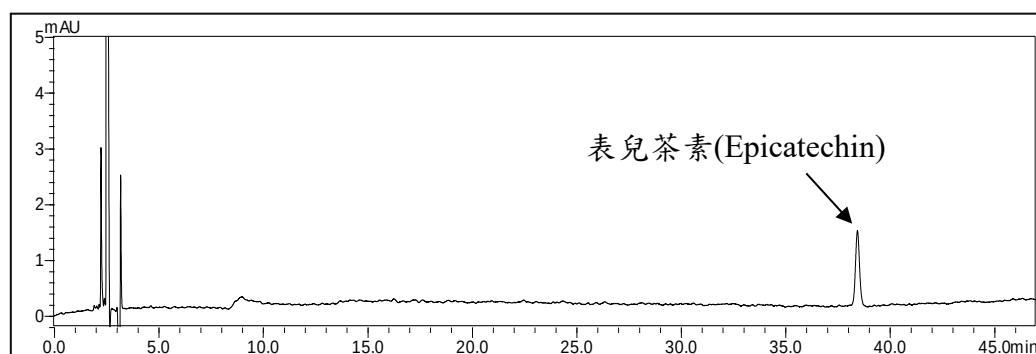
檢測項目	兒茶素(Catechin)	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	5.0 µg/mL	0.15
再現性 (n=5)	檢品溶液(No.8)	2.81
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.8)	1.47
偵測極限 (n=3)	0.01 µg/mL	-
定量極限 (n=3)	0.03 µg/mL	-

標準品為表兒茶素：

表兒茶素(Epicatechin)偵測極限(Limit of Detection, LOD)為 0.01 µg/mL (圖十)，定量極限(Limit of Quantitation, LOQ)為 0.03 µg/mL (圖十一)。



圖十、表兒茶素(Epicatechin)之 LOD 層析圖



圖十一、表兒茶素(Epicatechin)之 LOQ 層析圖

表六、各項檢驗分析

檢測項目	表兒茶素(Epicatechin)	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	1.0 µg/mL	0.26
再現性 (n=5)	檢品溶液(No.3)	1.35
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.3)	1.06
偵測極限 (n=3)	0.01 µg/mL	-
定量極限 (n=3)	0.03 µg/mL	-

(九) 添加回收率試驗

標準品為沒食子酸:

添加沒食子酸(Gallic acid)平均添加回收率 105.3%，相對標準偏差 2.23%。

表七、沒食子酸(Gallic acid)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	0.5	0.312	0.3	0.619	102.33	105.3	2.23
2	0.5	0.312	0.3	0.634	107.33		
3	0.5	0.312	0.3	0.623	103.67		
4	0.5	0.312	0.3	0.629	105.67		
5	0.5	0.312	0.3	0.634	107.33		

標準品為兒茶素:

添加兒茶素(Catechin)平均添加回收率 105.6%，相對標準偏差 3.05%。

表八、兒茶素(Catechin)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	0.5	0.095	0.1	0.196	101.0	105.6	3.05
2	0.5	0.095	0.1	0.202	107.0		
3	0.5	0.095	0.1	0.199	104.0		
4	0.5	0.095	0.1	0.203	108.0		
5	0.5	0.095	0.1	0.205	108.0		

標準品為表兒茶素：

添加表兒茶素(Epicatechin)平均添加回收率 104.6%，相對標準偏差 4.21%。

表九、表兒茶素(Epicatechin)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	0.5	0.013	0.013	0.027	107.69	104.6	4.21
2	0.5	0.013	0.013	0.026	100.00		
3	0.5	0.013	0.013	0.027	107.69		
4	0.5	0.013	0.013	0.026	100.00		
5	0.5	0.013	0.013	0.027	107.69		

(十) 台灣市售白藜含量測定

10 批白藜藥材之含量測定結果(乾燥品)如表十一所示，沒食子酸(Gallic acid)的含量為 0.007–0.088%；兒茶素(Catechin)的含量為 0.015–0.057%；表兒茶素(Epicatechin)的含量為 0.003–0.007%；兒茶素(Catechin)和表兒茶素(Epicatechin)總含量為 0.019–0.063%。由於表兒茶素(Epicatechin)的含量為都小於 0.01%，因此建議不設表兒茶素(Epicatechin)指標成分含量規範，建議白藜藥材指標成分沒食子酸(Gallic acid)的含量不得少於 0.014%；兒茶素(Catechin)的含量不得少於 0.02%。理論板數按沒食子酸(Gallic acid)波峰計算應不低於 4000 (實際值為 6715)；兒茶素(Catechin)波峰計算應不低於 20000 (實際值為 91407)。

表十、台灣市售白藜檢品之沒食子酸(Gallic acid)、兒茶素(Catechin)、表兒茶素(Epicatechin)的含量

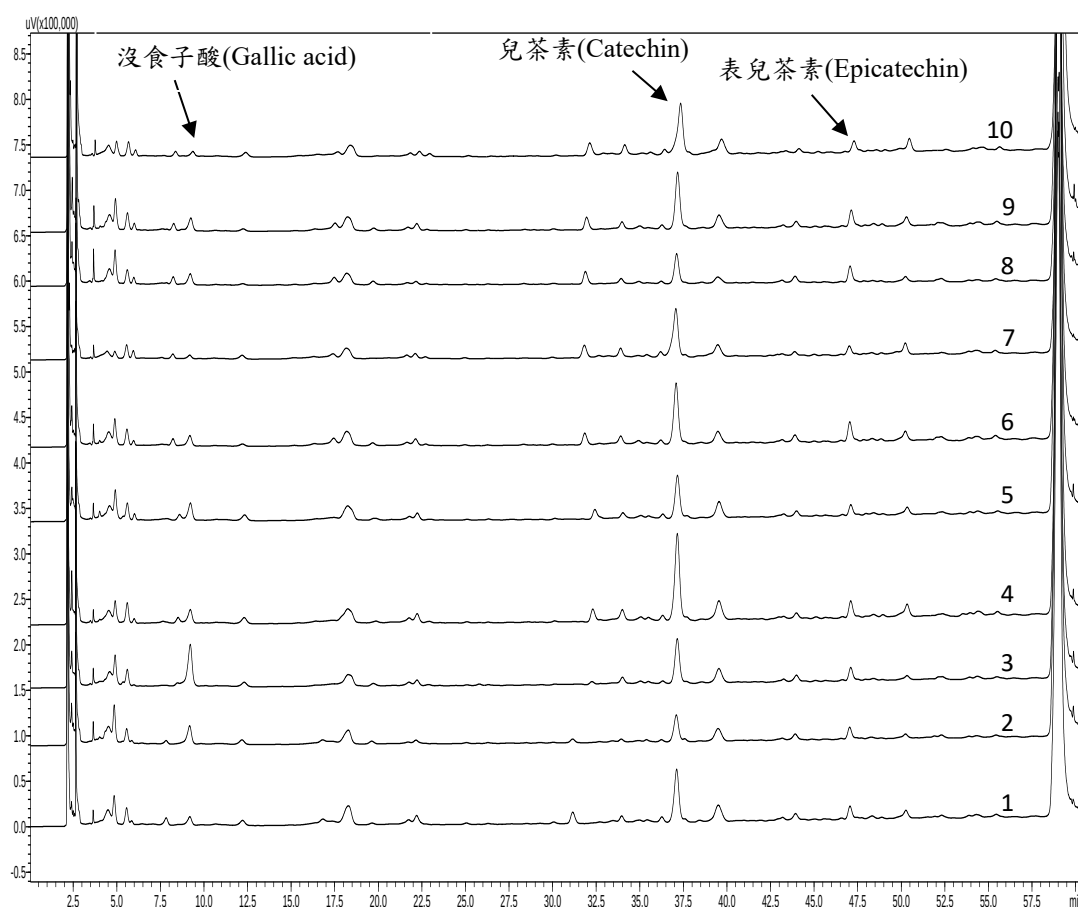
中藥店編號 (No.)	沒食子酸 (Gallic acid) 含量(%)	兒茶素 (Catechin) 含量(%)	表兒茶素 (Epicatechin) 含量(%)	兒茶素+表兒茶素 含量(%)
1 (SU1)	0.009	0.037	0.005	0.042
2 (NH)	0.028	0.036	0.006	0.042
3 (ND)	0.024	0.018	0.006	0.024
4 (NF2)	0.007	0.034	0.003	0.037
5 (NI)	0.022	0.037	0.007	0.044
6 (NL)	0.036	0.025	0.004	0.029
7 (SU2)	0.029	0.057	0.006	0.063
8 (SA)	0.088	0.026	0.005	0.031
9 (NJ)	0.038	0.015	0.004	0.019
10 (NY)	0.018	0.032	0.004	0.036

(十一) 市售白藜藥材之 HPLCC 指紋圖譜的建立

取十批市售白藜檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18 Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 202 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：

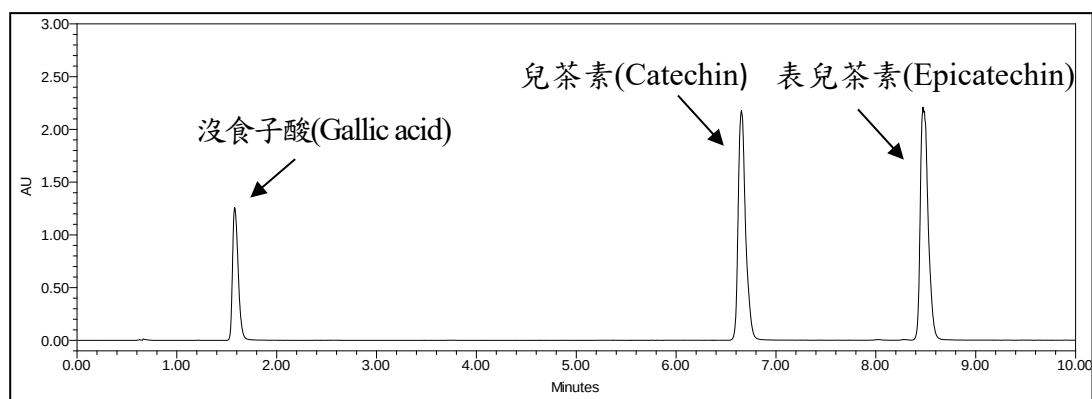
時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	2	98
10	2	98
55	15	85



圖十二、10 批白藜藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 標準品沒食子酸、兒茶素、表兒茶素之 UPLC 層析

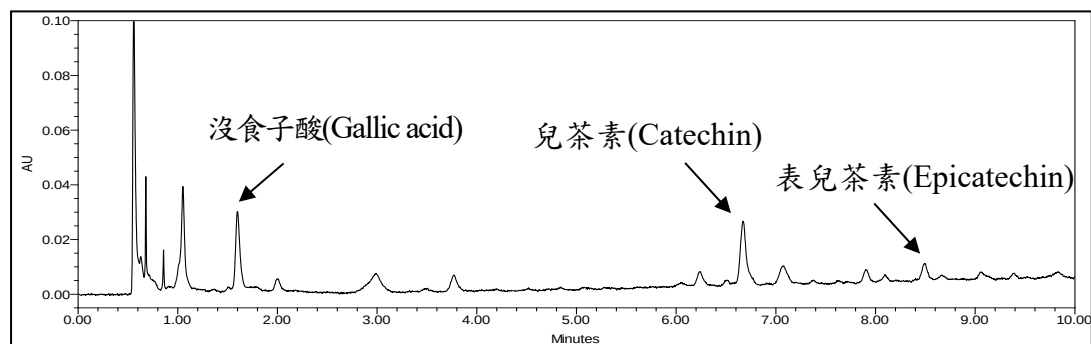
於滯留時間 1.58、6.65、8.47 分鐘處分別顯示沒食子酸(Gallic acid)、兒茶素(Catechin)、表兒茶素(Epicatechin)標準品的波峰(圖七)。



圖十三、沒食子酸(Gallic acid)、兒茶素(Catechin)、表兒茶素(Epicatechin)標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售白藜檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 1.60、6.67、8.50 分鐘處分別顯示白藜檢品中沒食子酸(Gallic acid)、兒茶素(Catechin)、表兒茶素(Epicatechin)的波峰(圖十四)。

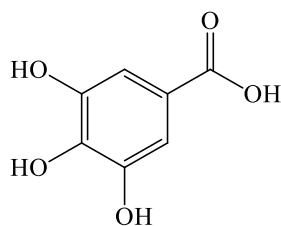


圖十四、市售白藜檢品之 UPLC 層析圖

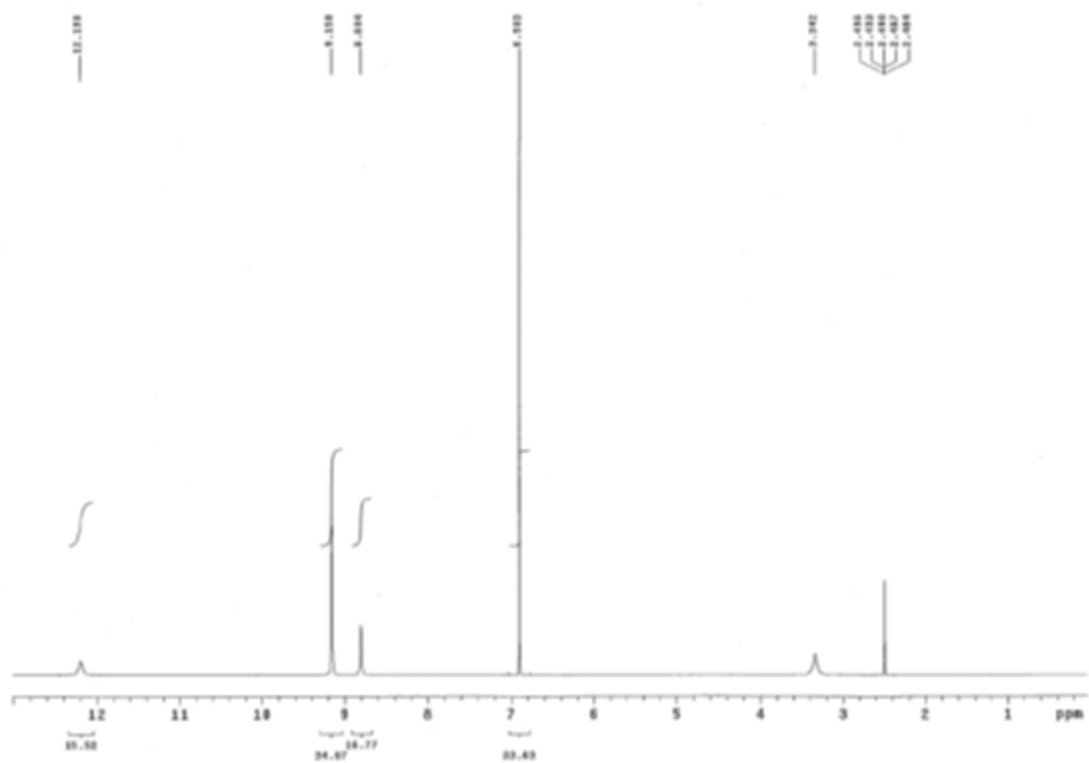
(十四) 沒食子酸(Gallic acid)的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_7H_6O_5$ ；Mol. Wt.：170.12；mp：270–272 °C；白色粉末。

(十五) 沒食子酸(Gallic acid)的結構

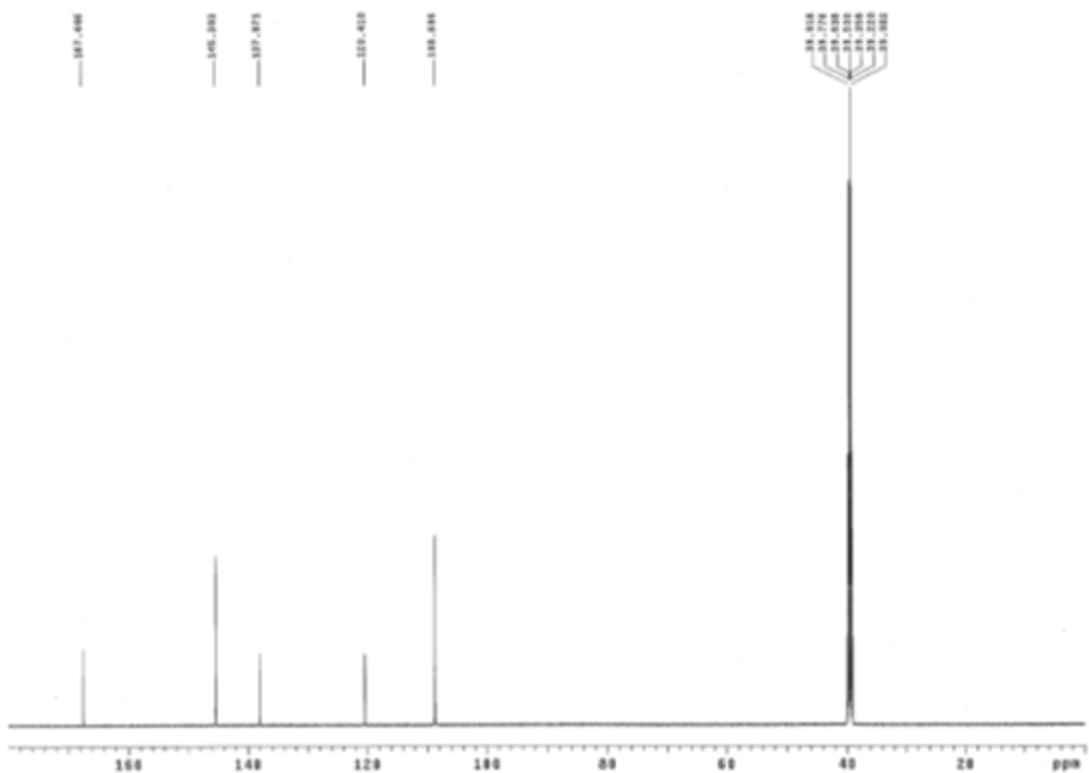


(十六) 沒食子酸(Gallic acid)的 ^1H NMR 圖譜



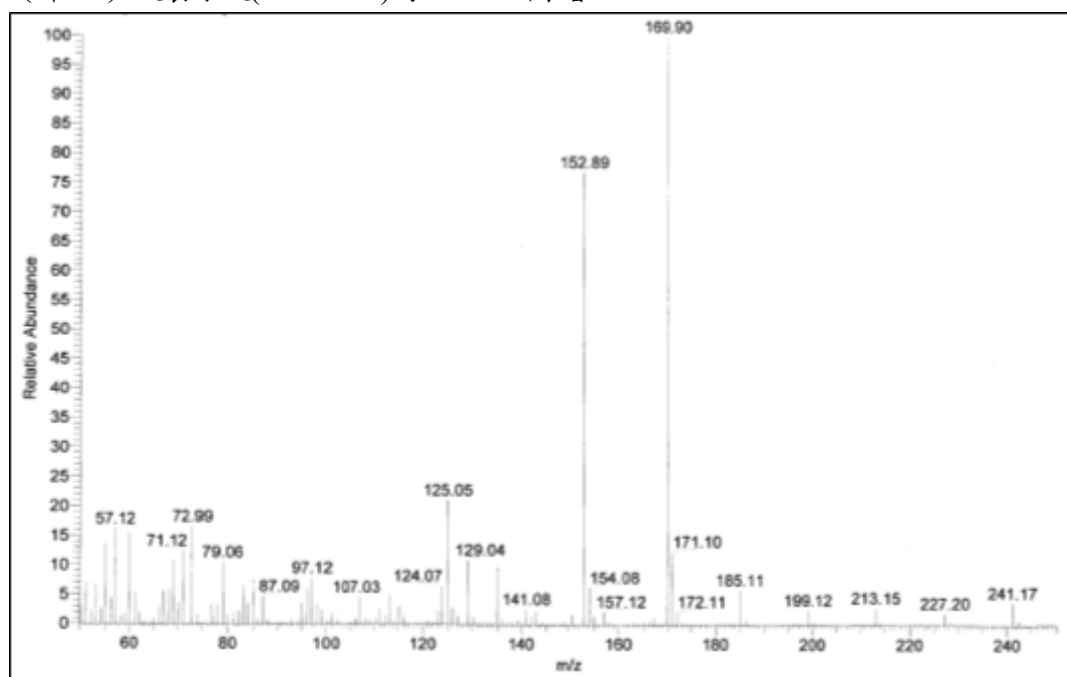
圖十五、沒食子酸(Gallic acid)的 ^1H NMR 圖譜($\text{DMSO}-d_6$)

(十七) 沒食子酸(Gallic acid)的 ^{13}C NMR 圖譜



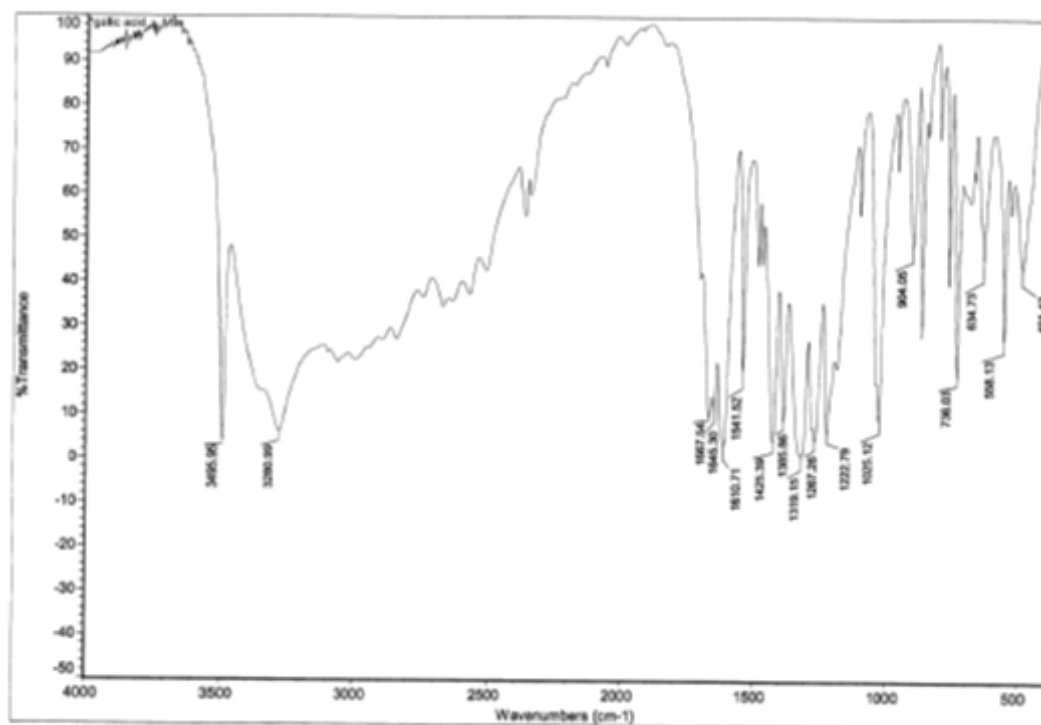
圖十六、沒食子酸(Gallic acid)的 ^{13}C NMR 圖譜($\text{DMSO}-d_6$)

(十八) 沒食子酸(Gallic acid)的 EI-MS 圖譜



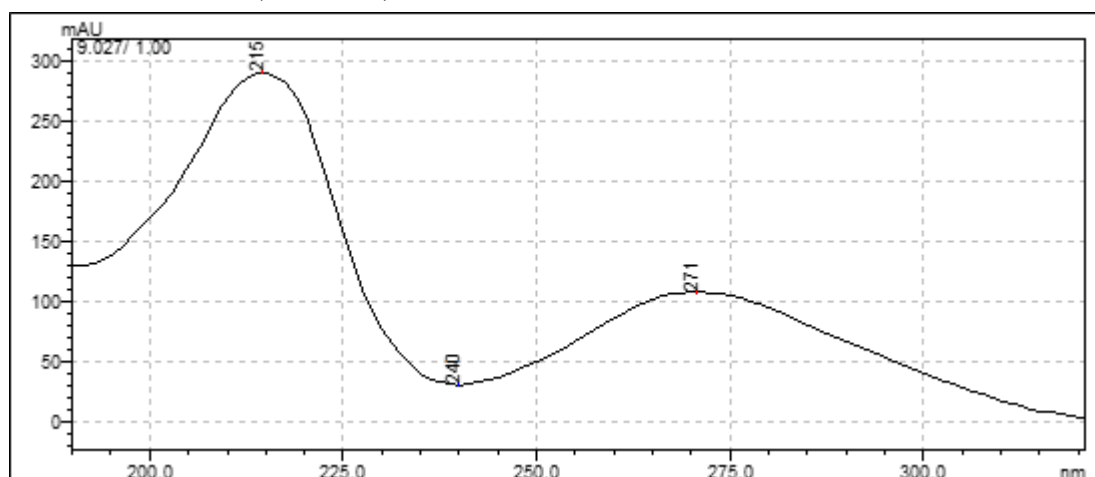
圖十七、沒食子酸(Gallic acid)的 EI-MS 圖譜

(十九) 沒食子酸(Gallic acid)的 FTIR 圖譜



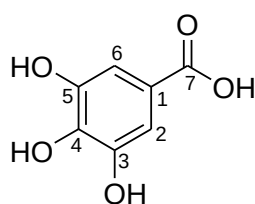
圖十八、沒食子酸(Gallic acid)的 FTIR 圖譜

(二十) 沒食子酸(Gallic acid)的 UV 圖譜



圖十九、沒食子酸(Gallic acid)的 UV 圖譜

(二十一) 沒食子酸(Gallic acid)的氫、碳化學位移



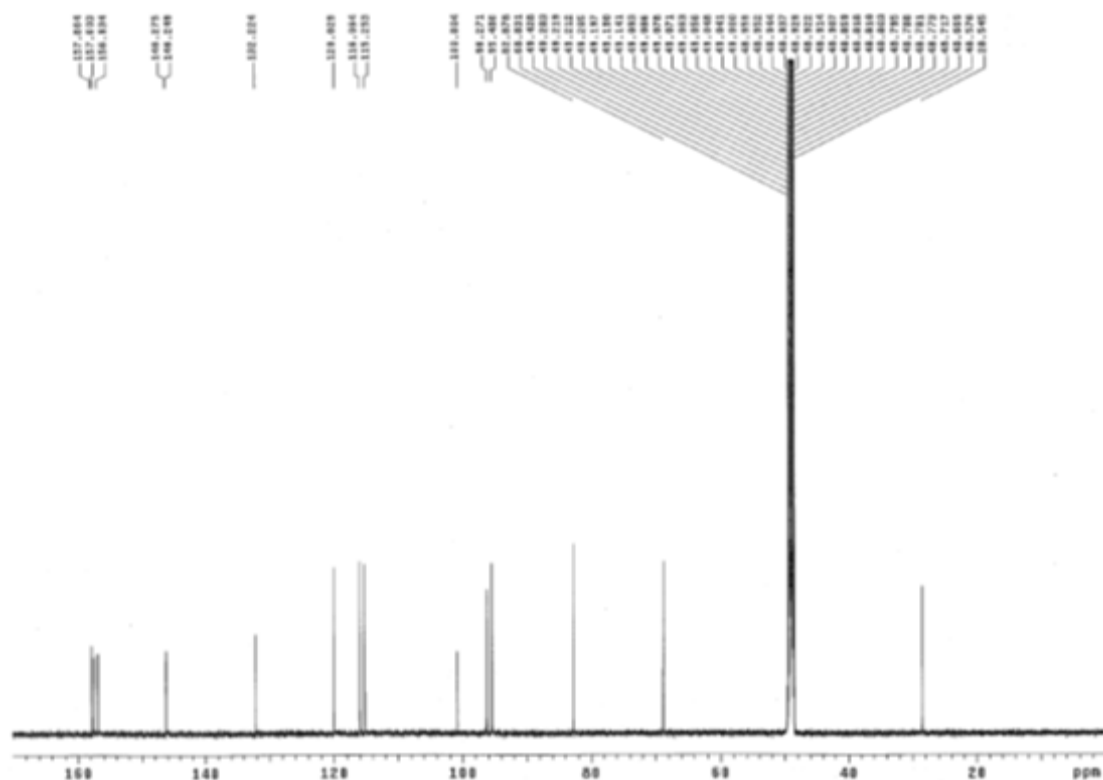
沒食子酸(Gallic acid)

表十一、沒食子酸(Gallic acid)的氫、碳化學位移(DMSO- d_6)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	-	120.4
2	6.90 (s)	108.7
3	-	145.4
4	-	138.0
5	-	145.4
6	6.90 (s)	108.7
7	-	167.4
3-OH	9.16 (s)	-
4-OH	8.80 (s)	-
5-OH	9.16 (s)	-
COOH	12.2 (brs)	-

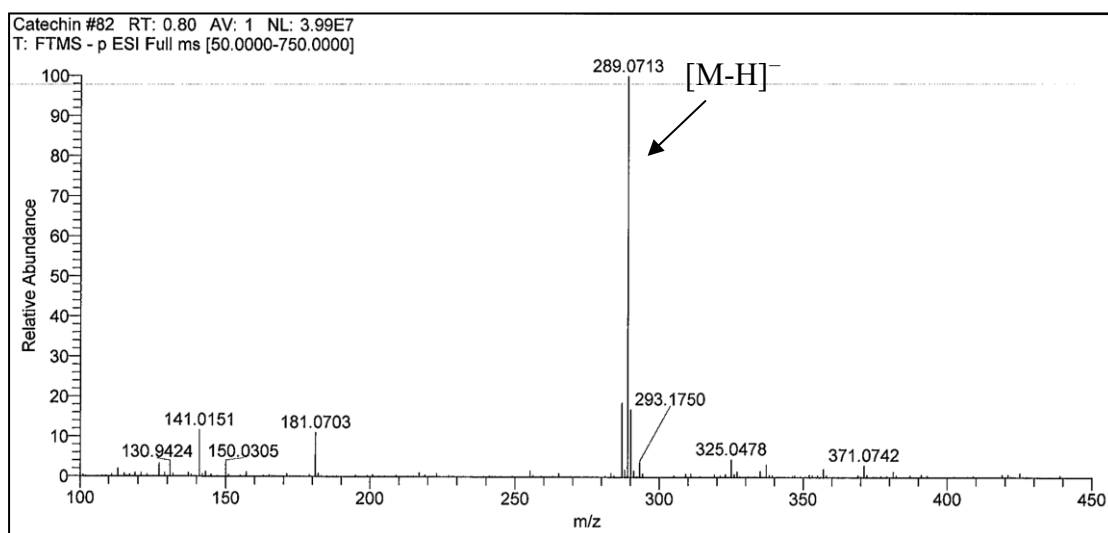
^a(Multiplicity, J in Hz) in ppm.

(二十五) 兒茶素(Catechin) ^{13}C NMR 圖譜



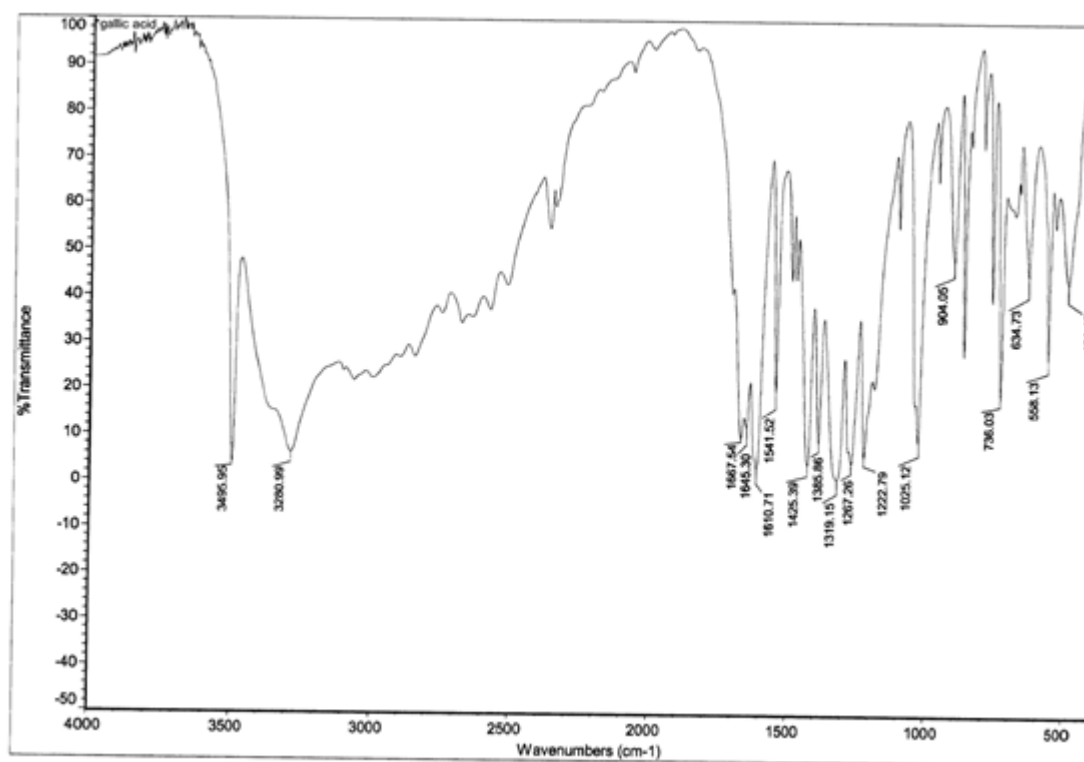
圖十九、兒茶素(Catechin)的 ^{13}C NMR 圖譜(CD_3OD)

(二十六) 兒茶素(Catechin) ESI-MS 圖譜



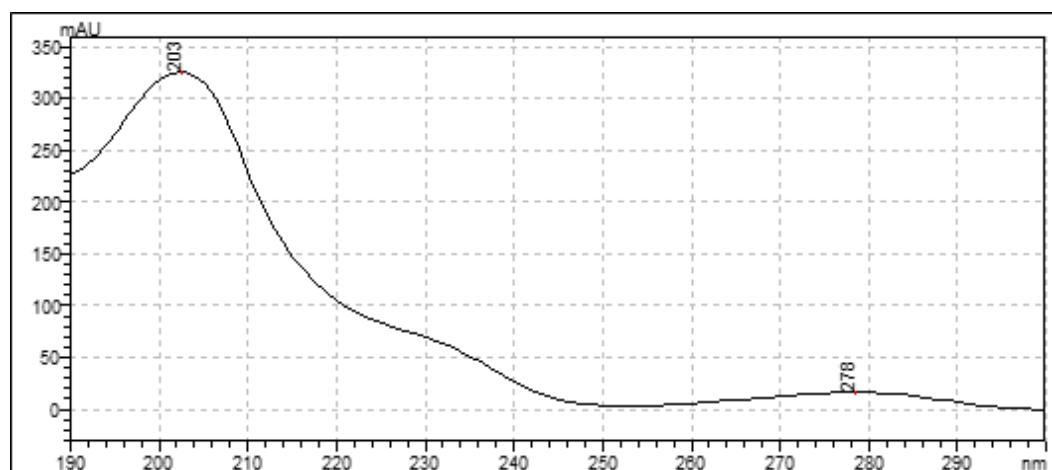
圖二十、兒茶素(Catechin)的 ESI-MS 圖譜

(二十七) 兒茶素(Catechin)的 FTIR 圖譜



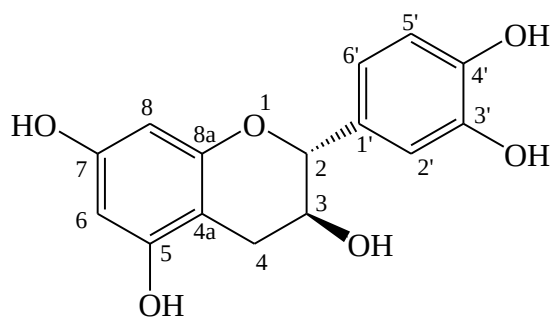
圖二十一、兒茶素(Catechin)的 FTIR 圖譜

(二十八) 兒茶素(Catechin)的 UV 圖譜



圖二十二、兒茶素(Catechin)的 UV 圖譜

(二十九) 兒茶素(Catechin)氫、碳化學位移



兒茶素(Catechin)

表十二、兒茶素(Catechin)氫、碳化學位移(CD₃OD)^a

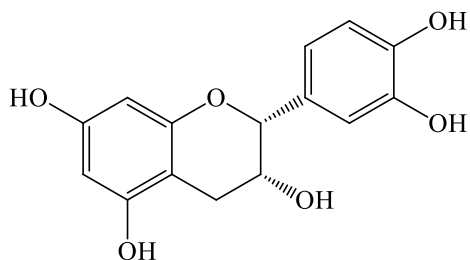
position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
2	4.55 (d, 7.2)	82.9
3	3.94–3.98 (m)	68.8
4	2.49 (dd, 16.2, 7.8), 2.84 (dd, 16.2, 5.4)	28.5
4a	-	100.8
5	-	157.6
6	5.91 (d, 2.4)	96.3
7	-	157.9
8	5.84 (d, 2.4)	95.5
8a	-	156.9
1'	-	132.2
2'	6.83 (d, 1.8)	115.3
3'	-	146.2*
4'	-	146.3*
5'	6.75 (d, 8.4)	116.1
6'	6.71 (dd, 8.4, 1.8)	120.0

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

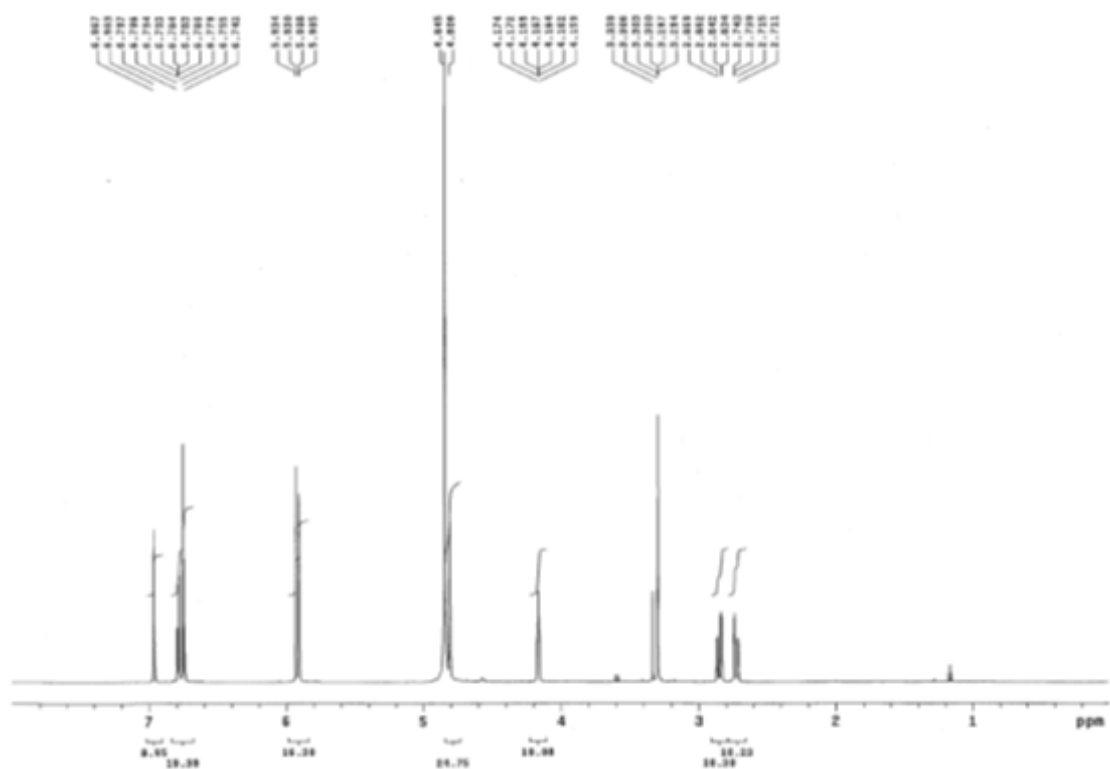
(三十) 表兒茶素(Epicatechin)的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{15}H_{14}O_6$ ；Mol. Wt.：290.27；mp：239–240 °C；白色粉末。

(三十一) 表兒茶素(Epicatechin)結構

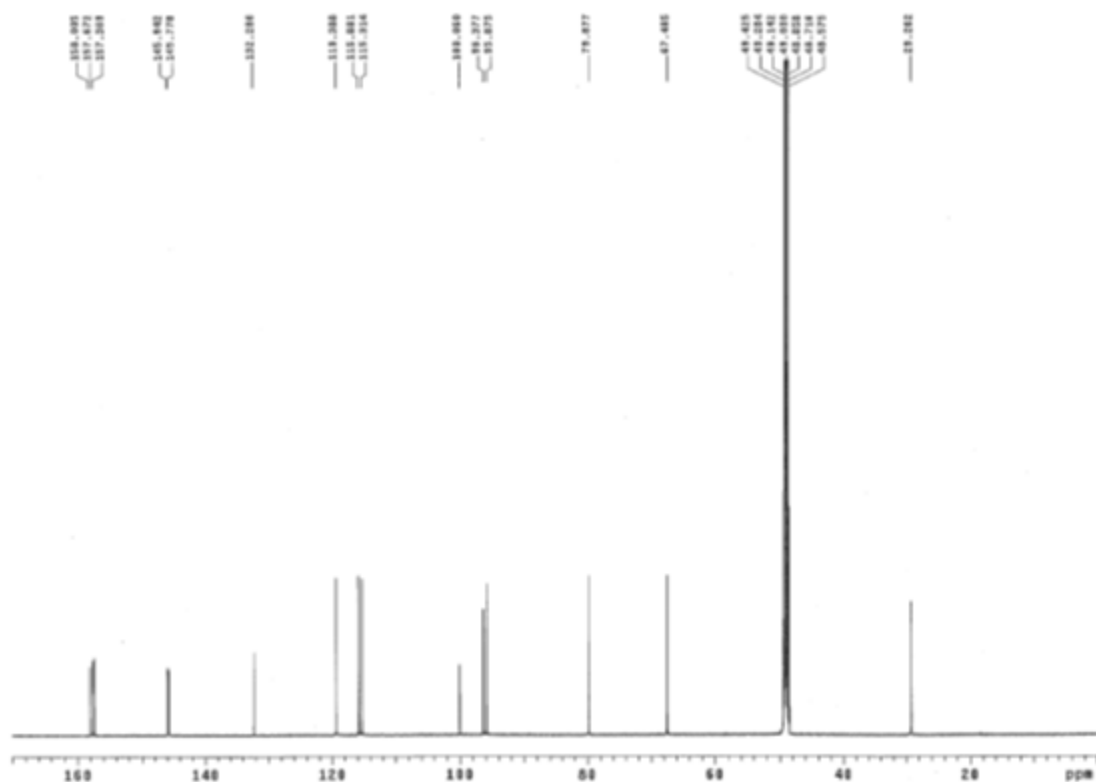


(三十二) 表兒茶素(Epicatechin) 1H NMR 圖譜



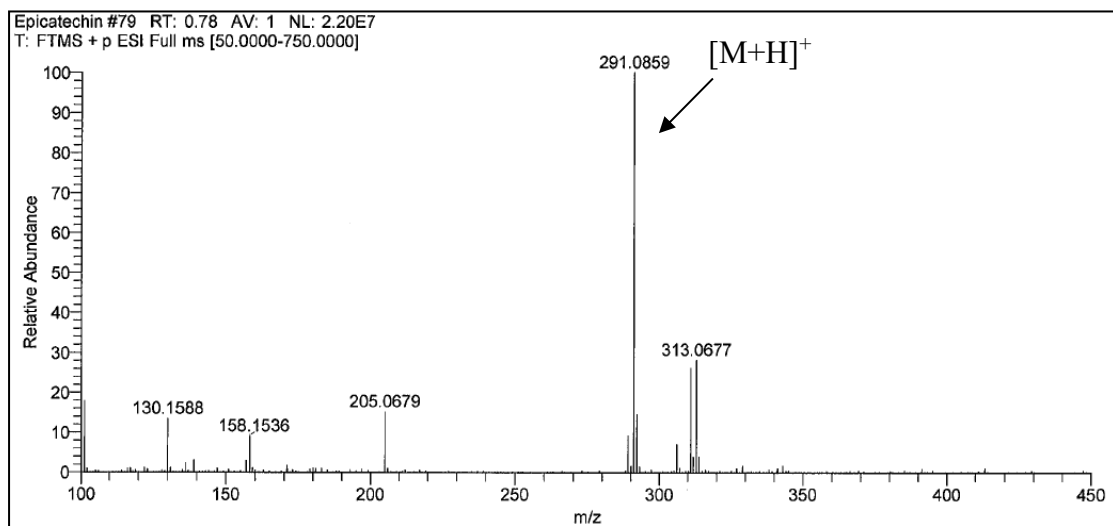
圖二十三、表兒茶素(Epicatechin)的 1H NMR 圖譜(CD_3OD)

(三十三) 表兒茶素(Epicatechin) ^{13}C NMR 圖譜



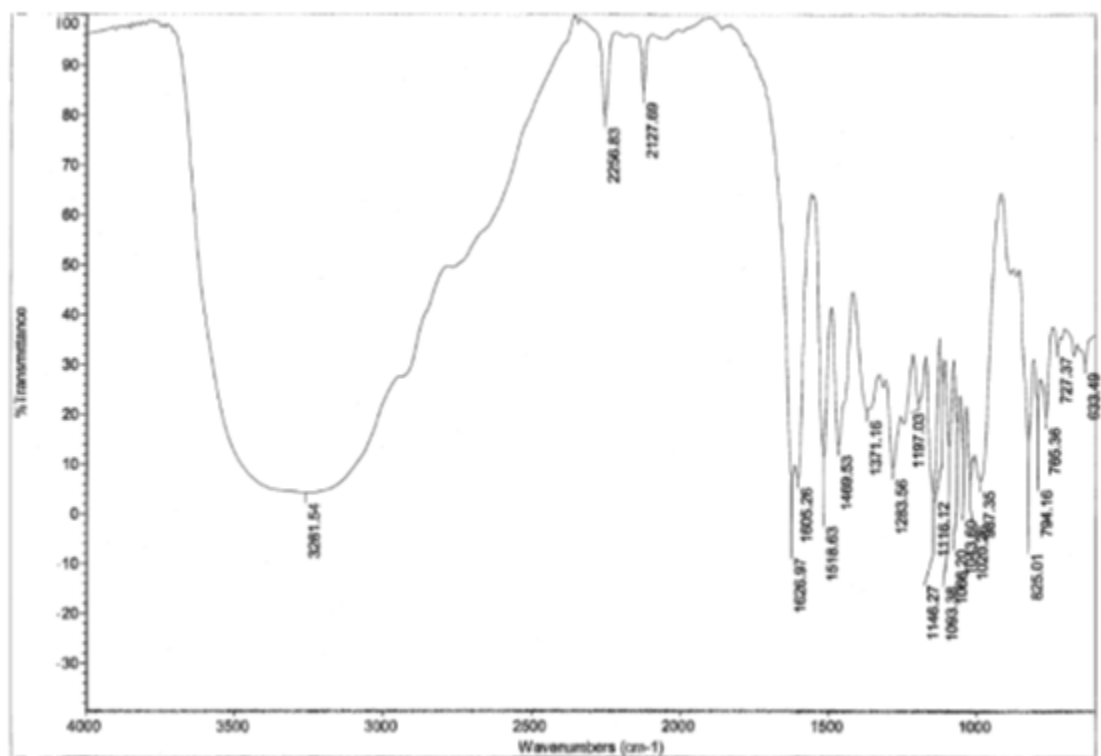
圖二十四、表兒茶素(Epicatechin)的 ^{13}C NMR 圖譜(CD_3OD)

(三十四) 表兒茶素(Epicatechin) ESI-MS 圖譜



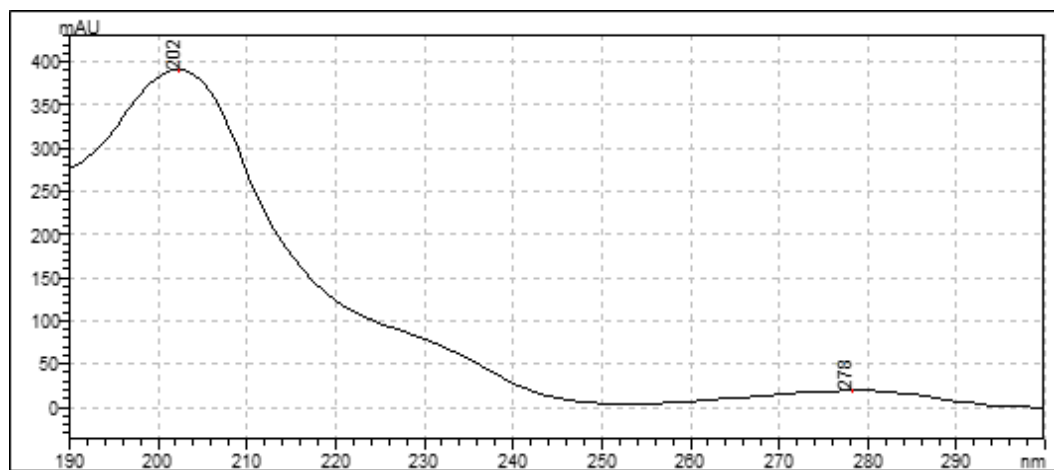
圖二十五、表兒茶素(Epicatechin)的 ESI-MS 圖譜

(三十五) 表兒茶素(Epicatechin)的 FTIR 圖譜



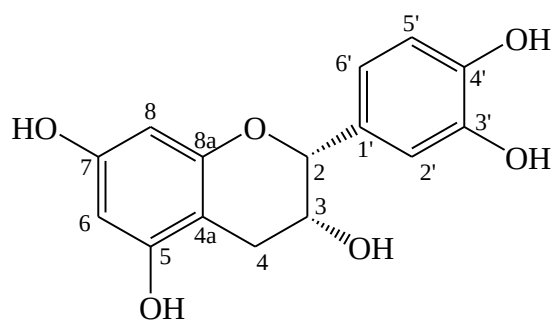
圖二十六、表兒茶素(Epicatechin)的 FTIR 圖譜

(三十六) 表兒茶素(Epicatechin)的 UV 圖譜



圖二十七、表兒茶素(Epicatechin)的 UV 圖譜

(三十七) 表兒茶素(Epicatechin)氫、碳化學位移



表兒茶素(Epicatechin)

表十三、表兒茶素(Epicatechin)氫、碳化學位移(CD₃OD)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
2	4.81 (s)	79.9
3	4.16–4.17 (m)	67.5
4	2.73 (dd, 16.8, 2.4), 2.85 (dd, 16.8, 4.8)	29.3
4a	-	100.1
5	-	158.0
6	5.93 (d, 2.4)	96.4
7	-	157.7
8	5.91 (d, 2.4)	95.9
8a	-	157.4
1'	-	132.3
2'	6.96 (d, 2.4)	115.3
3'	-	145.8*
4'	-	145.9*
5'	6.75 (d, 7.8)	115.9
6'	6.78–6.80(m)	119.4

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

白藜(1)

生藥名：AMPELOPSIS RADIX

英文名：Japanese Ampelopsis Root

基 原：葡萄科 Vitaceae 植物白藜 *Ampelopsis japonica* (Thunb.) Makino 的乾燥塊根。

一、方法

(一) 檢 品 溶 液 **【萃取方法 1】(臺灣中藥典第二版 2013；中華人民共和國藥典 2015)**

——取本品粉末 2.0 g，加乙醇 30 mL，加熱迴流 1 小時，待冷卻後過濾，濾液濃縮至乾，殘渣加乙醇 2 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 2】(香港中藥材標準第六冊) ✓

——取本品粉末 5.0 g，加甲醇 40 mL，超音波處理 30 分鐘，過濾，濾液濃縮至乾，殘渣加水 10 mL 使之溶解，水溶液用乙酸乙酯 10 mL 振搖萃取，棄水層液，將乙酸乙酯層液濃縮至乾，殘渣加甲醇 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 3】(修飾臺灣中藥典第二版 2013；修飾中華人民共和國藥典 2015)

——取本品粉末 2.0 g，加乙醇 30 mL，超音波處理 30 分鐘，過濾，濾液濃縮至乾，殘渣加乙醇 2 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

(二) 對照標準品 溶 液 取沒食子酸(Gallic acid)對照標準品，加甲醇製成每 1 mL 含 0.2 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】(修飾臺灣中藥典第二版 2013；修飾中華人民共和國藥典 2015)**

——二氯甲烷：甲醇 (6：1)

【展開劑 2】(修飾香港中藥材標準第六冊)

——正己烷：乙酸乙酯：甲酸 (5：5：1)

【展開劑 3】(自行開發) ✓

——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (6：3：1)

(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 於主波長 254 nm 之紫外燈照射下檢視。

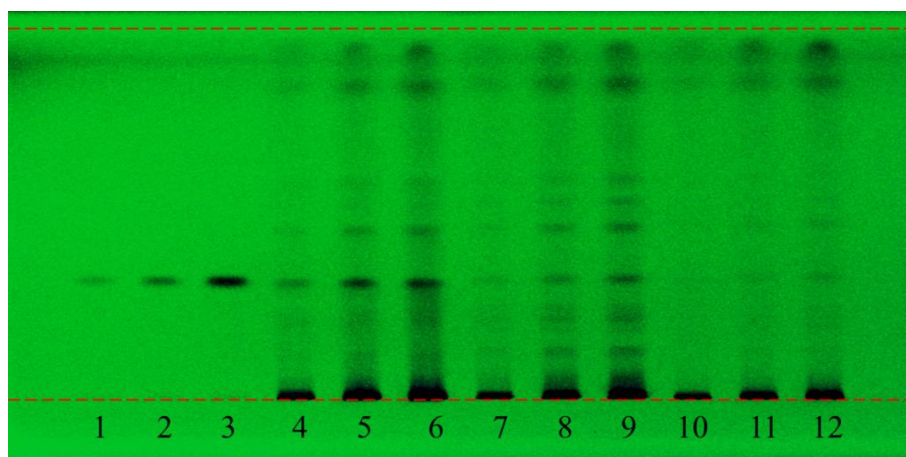
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：106/04/06

相對溼度(RH)：47%

溫度(RT)：27 °C

【展開劑 3】 (自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (6：3：1)



編號	名稱	點注量
1，2，3	沒食子酸(Gallic acid) (0.2 mg/mL)	1，2，5 μ L
4，5，6	檢品溶液 7 【萃取方法 1】	2，5，8 μ L
7，8，9	檢品溶液 7 【萃取方法 2】	2，5，8 μ L
10，11，12	檢品溶液 7 【萃取方法 3】	2，5，8 μ L

建議萃法：3 種萃法之檢品溶液中皆有分離與檢出標準品沒食子酸，而由於條帶顯示較多且較明顯，並有明顯標準品條帶，故選擇【萃取方法 2】。

建議點注量：沒食子酸(Gallic acid)標準品溶液 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 2】 8 μ L。

三、溶媒系統選擇

實驗日期：106/04/11

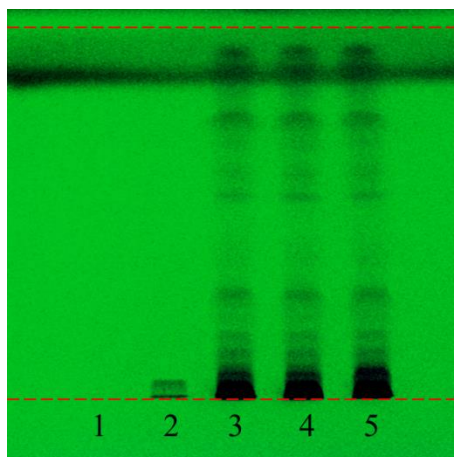
相對溼度(RH)：58%

溫度(RT)：25 °C

【展開劑 1】 (修飾臺灣中藥典第二版 2013；修飾中華人民共和國藥典 2015)

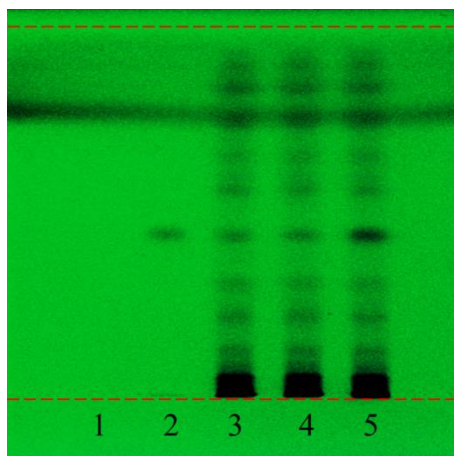
——二氯甲烷：甲醇 (6：1)

【萃取方法 2】(香港中藥材標準第六冊)——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(沒食子酸 R_f 值為 0.04； R_f 值 < 0.3)



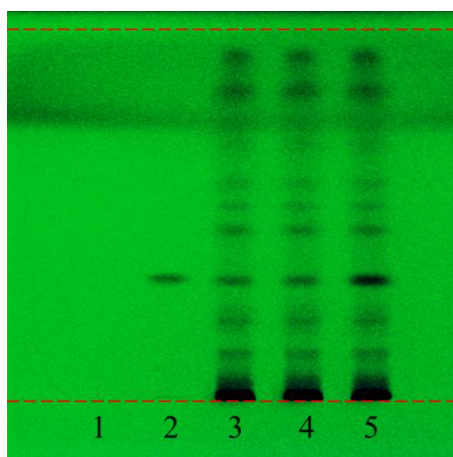
【展開劑 2】 (修飾香港中藥材標準第六冊)——正己烷：乙酸乙酯：甲酸 (5：5：1)

【萃取方法 2】(香港中藥材標準第六冊)——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(沒食子酸 R_f 值為 0.44)



【展開劑 3】 (自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (6：3：1)

【萃取方法 2】(香港中藥材標準第六冊)——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(沒食子酸 R_f 值為 0.32)



1：Blank

2：沒食子酸(Gallic acid)

3，4：檢品溶液 7

5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 2】方式，唯【展開劑 2】及【展開劑 3】展開可從檢品溶液中分離與檢出沒食子酸，而由於指標成分條帶顯示較細且較清楚，故採用自行開發之【展開劑 3】。

四、觀察方式選擇

實驗日期：106/04/11

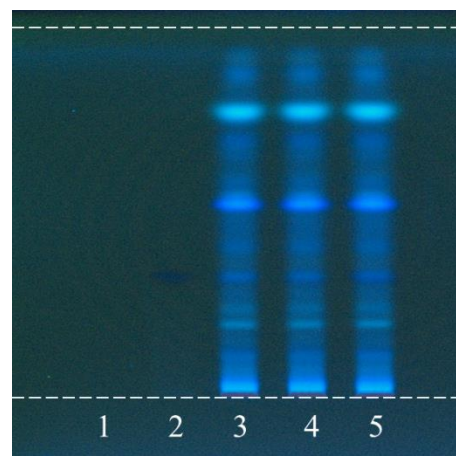
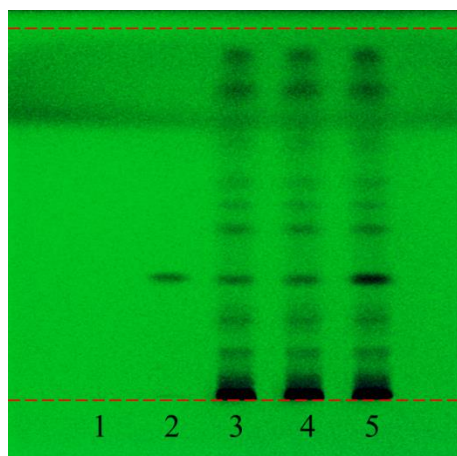
相對溼度(RH)：58%

溫度(RT)：25 °C

【展開劑 3】 (自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (6：3：1)

【萃取方法 2】 (香港中藥材標準第六冊) — HPTLC 紫外光(254 nm)檢出

【萃取方法 2】 (香港中藥材標準第六冊) — HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



1：Blank

2：沒食子酸(Gallic acid)

3，4：檢品溶液 7

5：Spike

建議觀察方式：於紫外光(254 nm)下顯示出較紫外光(365 nm)有明顯之沒食子酸(Gallic acid)標準品斑點。

五、十批樣品檢測

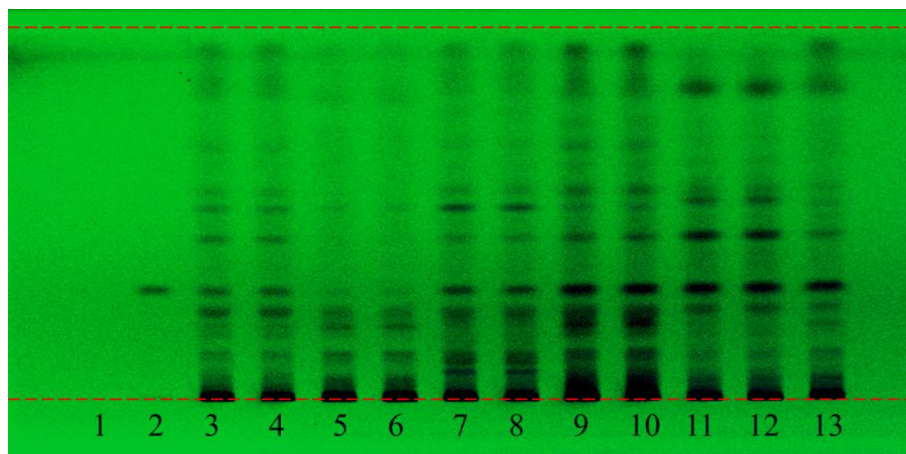
實驗日期：106/04/11

相對溼度(RH)：58%

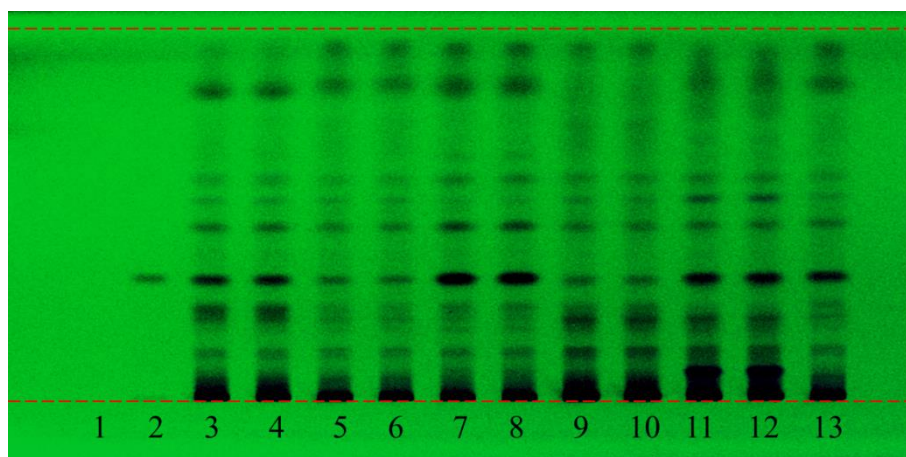
溫度(RT)：25 °C

【展開劑3】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (6：3：1)

【萃取方法2】(香港中藥材標準第六冊)——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



1	Blank
2	沒食子酸(Gallic acid) (0.2 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 1 (ND)
5 , 6	檢品溶液 2 (NF-2)
7 , 8	檢品溶液 3 (NH)
9 , 10	檢品溶液 4 (NI)
11 , 12	檢品溶液 5 (NJ)
13	Spike (檢品溶液 7)



1	Blank
2	沒食子酸(Gallic acid) (0.2 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 6 (NL)
5 , 6	檢品溶液 7 (NY)
7 , 8	檢品溶液 8 (SA)
9 , 10	檢品溶液 9 (SU-1)
11 , 12	檢品溶液 10 (SU-2)
13	Spike (檢品溶液 7)

結論與建議：以香港中藥材標準第六冊之【萃取方法 2】方式，並以自行開發之【展開劑 3】分離與檢出沒食子酸(Gallic acid)較佳，於紫外光(254 nm)下檢視較佳。

白藜(2)

生藥名：AMPELOPSIS RADIX

英文名：Japanese Ampelopsis Root

基 原：葡萄科 Vitaceae 植物白藜 *Ampelopsis japonica* (Thunb.) Makino 的乾燥塊根。

一、方法

(一) 檢 品 溶 液 **【萃取方法 1】**(臺灣中藥典第二版 2013；中華人民共和國藥典 2015)

——取本品粉末 2.0 g，加乙醇 30 mL，加熱迴流 1 小時，待冷卻後過濾，濾液濃縮至乾，殘渣加乙醇 2 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 2】(香港中藥材標準第六冊) ✓

——取本品粉末 5.0 g，加甲醇 40 mL，超音波處理 30 分鐘，過濾，濾液濃縮至乾，殘渣加水 10 mL 使之溶解，水溶液用乙酸乙酯 10 mL 振搖萃取，棄水層液，將乙酸乙酯層液濃縮至乾，殘渣加甲醇 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

(二) 對照標準品 溶 液 取兒茶素(Catechin hydrate)及表兒茶素(Epicatechin)對照標準品，加甲醇製成每 1 mL 含 0.1 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】**(修飾臺灣中藥典第二版 2013；修飾中華人民共和國藥典 2015)

——二氯甲烷：甲醇 (6：1)

【展開劑 2】(修飾香港中藥材標準第六冊)

——正己烷：乙酸乙酯：甲酸 (5：5：1)

【展開劑 3】(自行開發) ✓

——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (4：3：1)

(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 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。

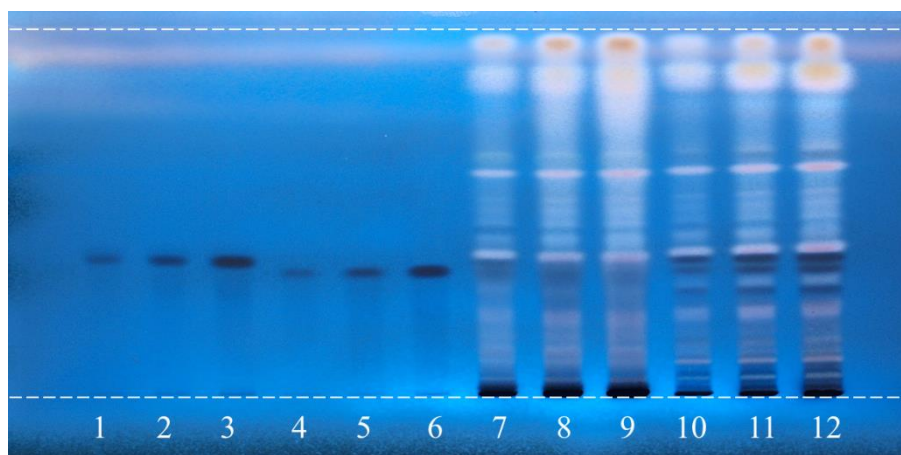
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：106/04/27

相對溼度(RH)：54%

溫度(RT)：25 °C

【展開劑3】 (自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (4：3：1)



編號	名稱	點注量
1，2，3	兒茶素(Catechin hydrate) (0.1 mg/mL)	1，2，5 μ L
4，5，6	表兒茶素(Epicatechin) (0.1 mg/mL)	1，2，5 μ L
7，8，9	檢品溶液 7 【萃取方法 1】	2，5，8 μ L
10，11，12	檢品溶液 7 【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標準品兒茶素及表兒茶素，而由於條帶顯示較清楚，故選擇【萃取方法 2】。

建議點注量：兒茶素(Catechin hydrate)標準品溶液 2 μ L，表兒茶素(Epicatechin)標準品溶液 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 2】5 μ L。

三、溶媒系統選擇

實驗日期：106/04/27

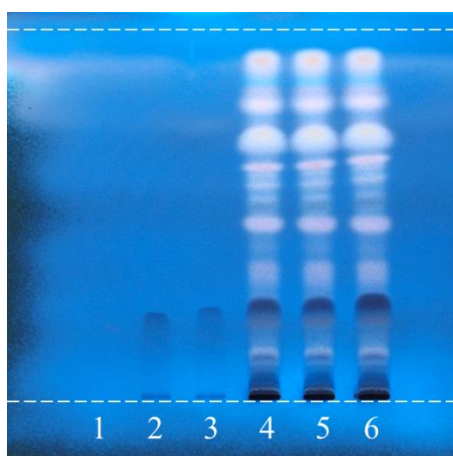
相對溼度(RH)：54%

溫度(RT)：25 °C

【展開劑 1】 (修飾臺灣中藥典第二版 2013；修飾中華人民共和國藥典 2015)

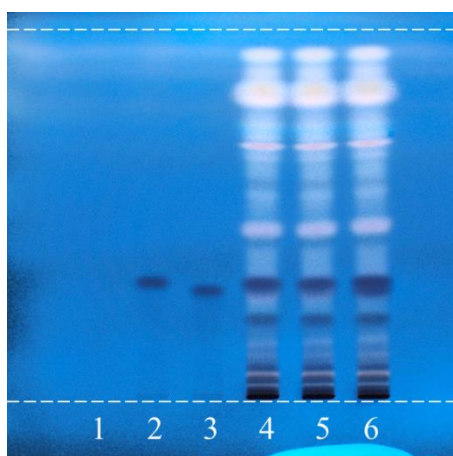
——二氯甲烷：甲醇 (6：1)

【萃取方法 2】 (香港中藥材標準第六冊) —— HPTLC 10%硫酸乙醇呈色後紫外光(365 nm)檢出(兒茶素 R_f 值為 0.22，表兒茶素 R_f 值為 0.23； R_f 值皆<0.3，且有拖尾現象)



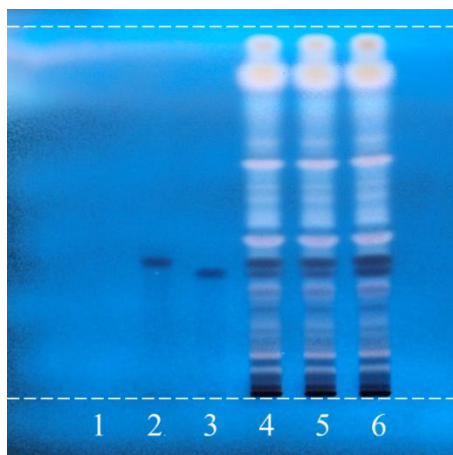
【展開劑 2】 (修飾香港中藥材標準第六冊) ——正己烷：乙酸乙酯：甲酸 (5：5：1)

【萃取方法 2】 (香港中藥材標準第六冊) —— HPTLC 10%硫酸乙醇呈色後紫外光(365 nm)檢出(兒茶素 R_f 值為 0.31，表兒茶素 R_f 值為 0.29)



【展開劑 3】 (自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (4：3：1)

【萃取方法 2】 (香港中藥材標準第六冊)——HPTLC 10%硫酸乙醇呈色後紫外光(365 nm)檢出(兒茶素 R_f 值為 0.36，表兒茶素 R_f 值為 0.33)



1：Blank

2：兒茶素(Catechin hydrate)

3：表兒茶素(Epicatechin)

4，5：檢品溶液 7

6：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 2】方式，【展開劑 3】展開可從檢品溶液中分離與檢出兒茶素及表兒茶素較佳，且條帶也較多，故採用自行開發之【展開劑 3】。

四、觀察方式選擇

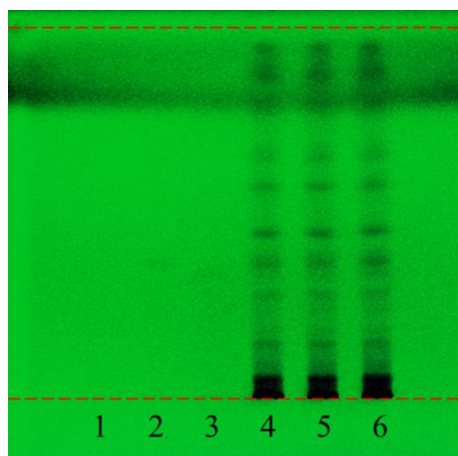
實驗日期：106/04/27

相對溼度(RH)：54%

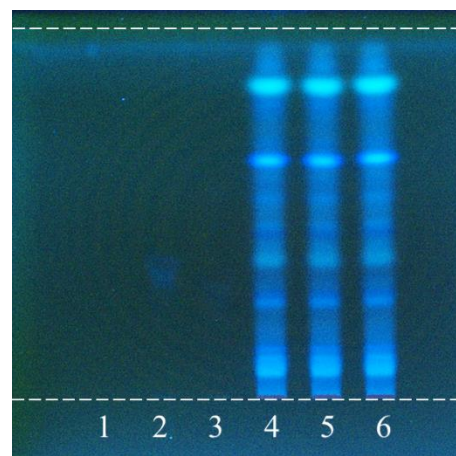
溫度(RT)：25 °C

【展開劑 3】 (自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (4：3：1)

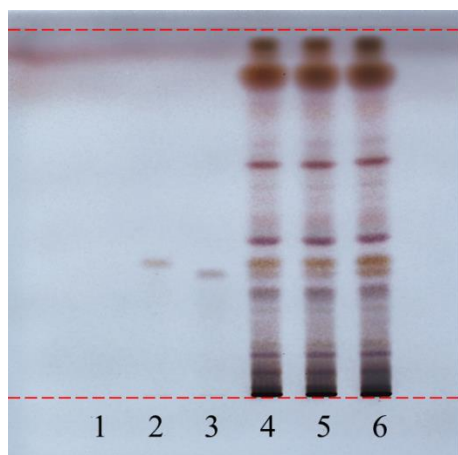
【萃取方法 2】 (香港中藥材標準第六冊) — HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



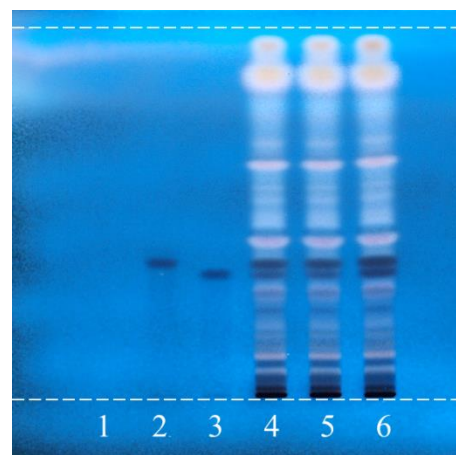
【萃取方法 2】 (香港中藥材標準第六冊) — HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



【萃取方法 2】 (香港中藥材標準第六冊) — HPTLC 呈色/可見光檢出



【萃取方法 2】 (香港中藥材標準第六冊) — HPTLC 呈色/紫外光(365 nm)檢出✓



1：Blank

2：兒茶素(Catechin hydrate)

3：表兒茶素(Epicatechin)

4，5：檢品溶液 7

6：Spike

建議觀察方式：經 10%硫酸乙醇呈色後，於紫外光(365 nm)檢視較其他觀察方式有明顯之兒茶素(Catechin hydrate)及表兒茶素(Epicatechin)標準品斑點。

五、十批樣品檢測

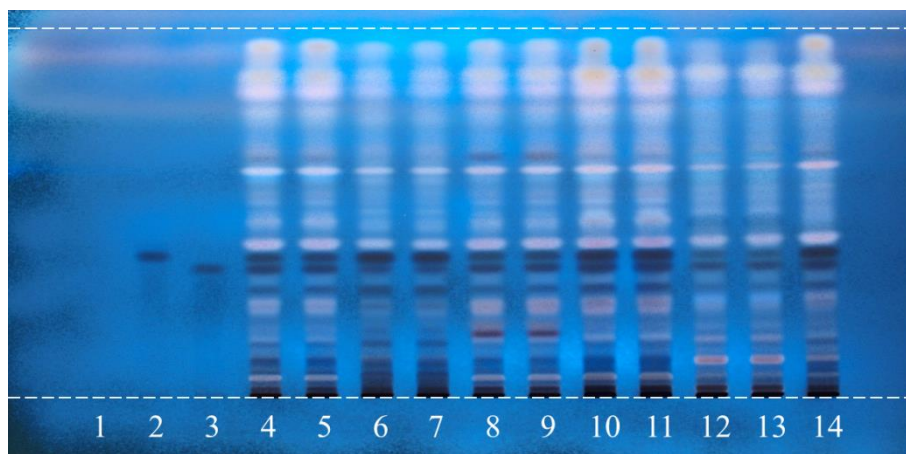
實驗日期：106/04/28

相對溼度(RH)：43%

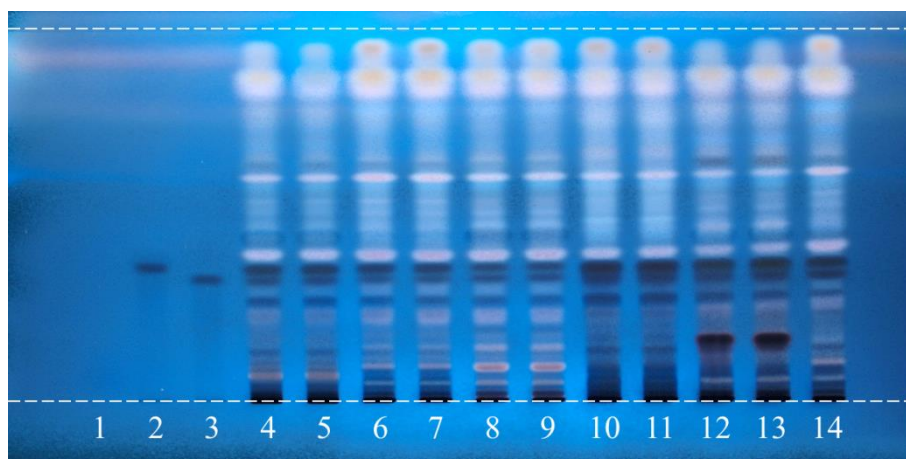
溫度(RT)：23 °C

【展開劑 3】 (自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (4：3：1)

【萃取方法 2】 (香港中藥材標準第六冊)——HPTLC 10%硫酸乙醇呈色後紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	兒茶素(Catechin hydrate) (0.1 mg/mL)
3	表兒茶素(Epicatechin) (0.1 mg/mL)
4 , 5	檢品溶液 1 (ND)
6 , 7	檢品溶液 2 (NF-2)
8 , 9	檢品溶液 3 (NH)
10 , 11	檢品溶液 4 (NI)
12 , 13	檢品溶液 5 (NJ)
14	Spike (檢品溶液 7)



1	Blank
2	兒茶素(Catechin hydrate) (0.1 mg/mL)
3	表兒茶素(Epicatechin) (0.1 mg/mL)
4, 5	檢品溶液 6 (NL)
6, 7	檢品溶液 7 (NY)
8, 9	檢品溶液 8 (SA)
10, 11	檢品溶液 9 (SU-1)
12, 13	檢品溶液 10 (SU-2)
14	Spike (檢品溶液 7)

結論與建議：以香港中藥材標準第六冊之【萃取方法 2】方式，並以自行開發之【展開劑 3】分離與檢出兒茶素(Catechin hydrate)及表兒茶素(Epicatechin)較佳，並以 10%硫酸乙醇顯色後，於紫外光(365 nm)檢視較佳。