

白芷

(ANGELICAE DAHURICAE RADIX)

白芷 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

白芷 藥材 HPLC

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

白芷 飲片 HPLC

一、材料.....	21
二、儀器及層析管柱.....	21
三、實驗藥品及試劑來源.....	21
四、方法.....	21
五、結果.....	24

白芷 TLC

一、方法.....	28
二、萃法選擇及濃度測試.....	29
三、溶媒系統選擇.....	30
四、觀察方式選擇.....	32
五、十批白芷樣品檢測.....	33
六、十批白芷飲片樣品檢測.....	35

白芷

(ANGELICAE DAHURICAE 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芷的乾燥根。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：白芷

生藥名：ANGELICAE DAHURICAE RADIX

英文名：Dahurian Angelica Root

基原：繖形科 Apiaceae (Umbelliferae) 植物臺灣白芷 *Angelica dahurica* (Fisch.ex Hoffm.) Benth. et Hook.f. var. *formosana* (Boiss.) Shan et Yuan 的乾燥根。

採收加工：夏、秋間葉黃時採挖，除去鬚根及泥沙，曬乾或低溫乾燥。

藥材性狀：本藥材為白芷的乾燥根。根呈頭粗尾細之長圓椎狀，頂端有凹陷莖痕。外表灰棕色，具有明顯較大的皮孔樣橫向突起，上部近方形或類方形。質堅實。斷面類白色，具粉性，可見近圓形之棕色形成層環。氣芳香，味辛、微苦。飲片呈橫切圓薄片，表皮淡棕色，切面灰白色，粉性且光滑，多具有明顯且偏棕色形成層環紋，環外散有棕色油點。

飲片性狀：本品為類圓形的厚片，表面白色或灰白色，具粉性，可見方形或圓棕色環，皮部散佈有多數棕色油點。氣芳香，味辛、微苦。

生長分佈：多年生草本植物，株高 1~2 m。喜溫暖濕潤氣候、耐寒。宜在陽光充足，土層深厚，疏鬆肥沃，排水良好的砂質壤土栽培。花期 5~6 月，果期 7~9 月。杭白芷分佈臺灣、浙江等地。浙江、江蘇有栽培。藥材主產浙江。

三、藥材組織顯微鑑別(圖 2)

1. 可見一列具角質層之表皮細胞，多為破裂狀，細胞呈長方形或類方形。
2. 木栓層數列，細胞呈類長方形或類方形。
3. 皮層寬廣約佔 1/2，細胞由外向內漸小，細胞間隙明顯。
4. 具明顯髓線，由形成層處向內外輻射延伸，細胞內富含澱粉粒。
5. 形成層明顯連續成環。
6. 導管巨大，單個散在或數個相聚，可見螺紋導管

7. 木質部寬廣約佔 1/2，由導管、木部柔細胞、髓線細胞組成。

四、藥材粉末顯微鑑別(圖 3)

1. 本品粉末淺白色。
2. 可見螺紋導管與網紋導管；偏光顯微鏡下呈亮白色。
3. 澱粉粒多，單粒呈圓形或類球形，複粒較大由 2~8 個分粒組成；偏光顯微鏡下呈黑十字狀。
4. 油管多破碎，內含淡黃棕色分泌物。



圖 1A 白芷藥材圖

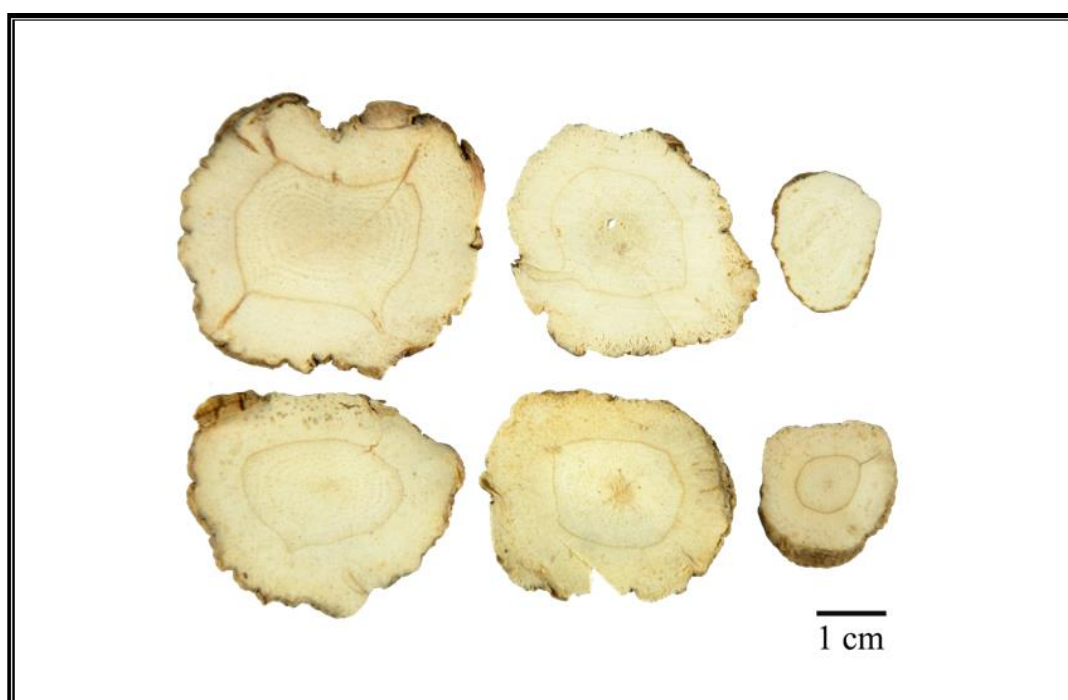


圖 1B 白芷飲片藥材圖

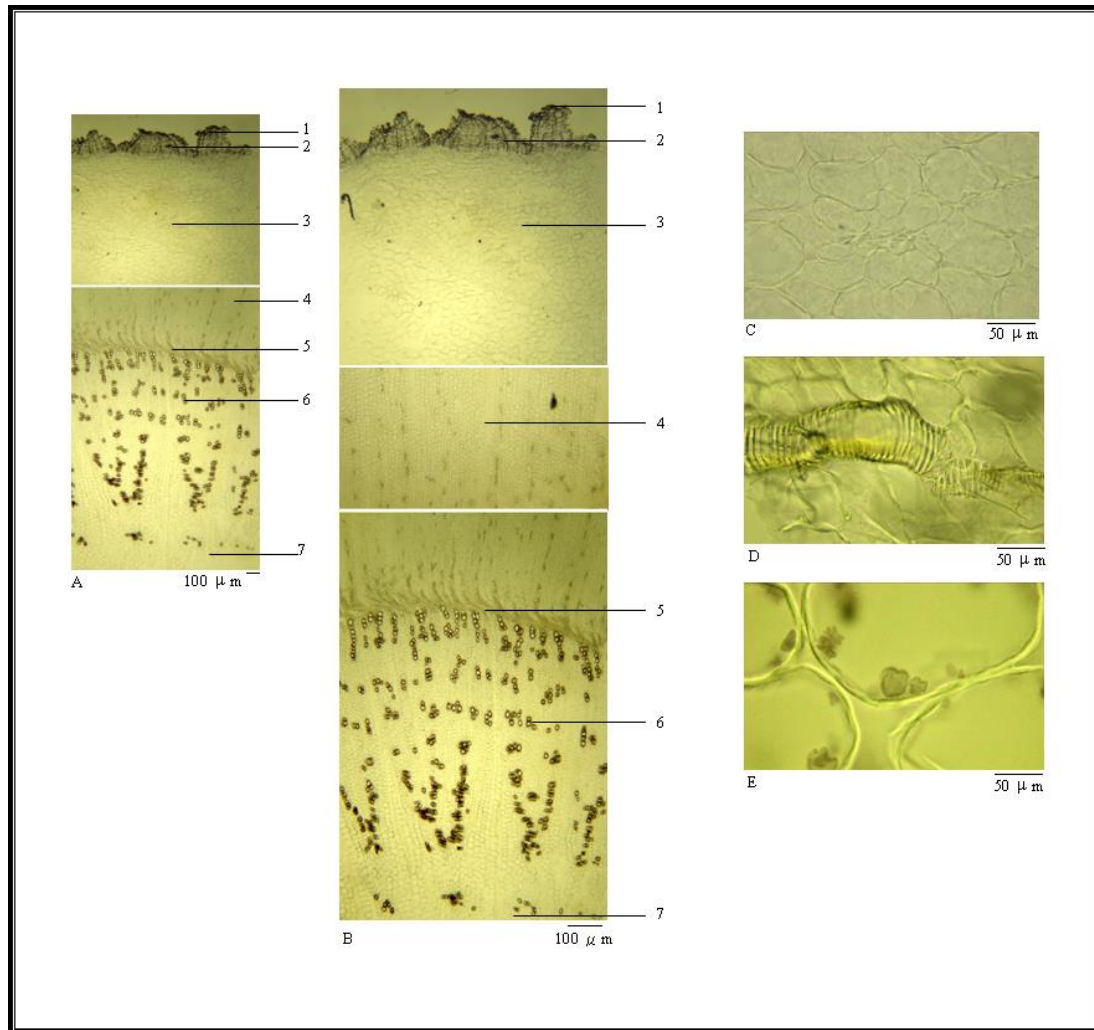


圖 2 白芷橫切面顯微特徵圖

A.橫切面圖 B.橫切面放大圖 C.木部柔細胞 D.螺紋導管 E.皮層澱粉粒

1.表皮 2.木栓層 3.皮層 4.髓線 5.形成層 6.導管 7.原生木部

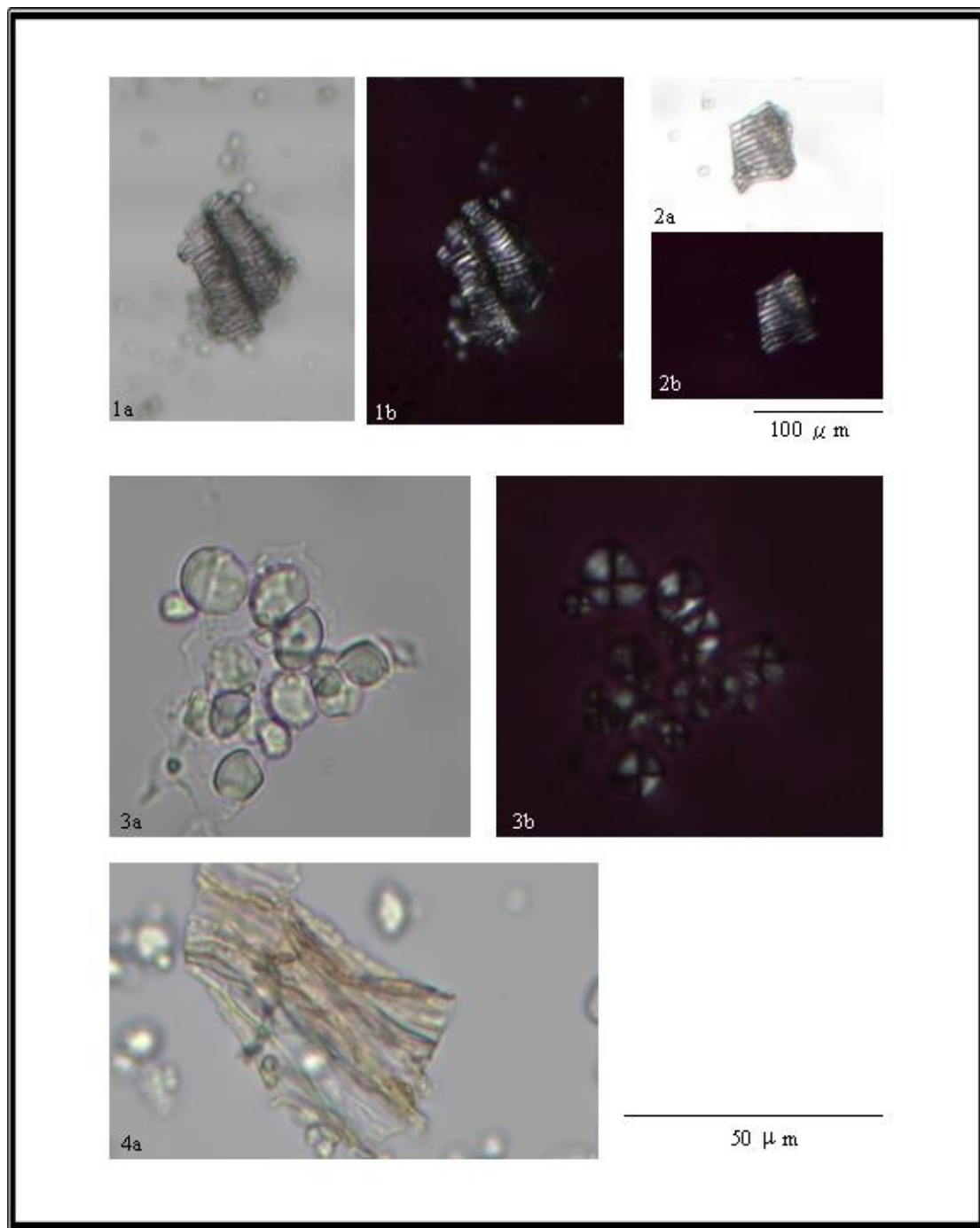


圖 3 白芷粉末顯微特徵圖

a.光學顯微鏡下特徵 b.偏光顯微鏡下特徵

1.螺旋導管 2.網紋導管 3.澱粉粒 4.油管

參考文獻

1. 行政院衛生署中華藥典中藥集編修小組編輯 (2004)。中華中藥典第一版。台北市：行政院衛生署。56 頁。
2. 張永勳、何玉玲等編輯 (2009)。中藥彩色圖鑑。台北：行政院衛生署中醫藥委員會。52 頁。
3. 張永勳、何玉玲總編輯 (2013)。台灣中藥典圖鑑。台北：衛生福利部。70 頁。
4. 張賢哲、蔡貴花編著 (2010)。中藥炮製學。台中：中國醫藥大學。175~177 頁。
5. 中國藥品生物製品檢定所、廣東省藥品檢驗所編著 (2011)。中國中藥材真偽鑑別圖典 2：常用根及根莖藥材分冊。廣東：廣東科技出版社。81~83 頁。
6. 肖培根等編輯 (2001)。新編中藥志第一卷。北京：化學工業出版社。337~344 頁。
7. 徐國鈞、何宏賢、徐珞珊、金蓉鸞等編輯 (1996)。中國藥材學上冊。北京：中國醫藥科技出版社。326~329 頁。
8. 國家中醫藥管理局《中華本草》編委會編輯 (1999)。中華本草第 5 冊。上海：上海科學技術出版社。883~888 頁。
9. 國家藥典委員會編輯 (2010)。中華人民共和國藥典 2010 年版一部。北京：中國醫藥科技出版社。97~98 頁。
10. 趙中振、陳虎彪等編著 (2010)。常用中藥材鑑別圖典。香港：萬里機構·萬里書店。98~99 頁。
11. 趙中振、陳虎彪編著 (2016)。中藥顯微鑑定圖典。福州：海峽出版發行集團·福建科學技術出版社。82~83 頁。

白芷(ANGELICAE DAHURICAE RADIX)

一、材料

購自於臺灣各地中藥廠與中藥店白芷藥材共 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 2996、Photodiode Array Detector；層析管柱 Agilent ZORBAX SB-C18 Column (250 x 4.6 mm, 5 μ m)。

(二) UPLC 儀器及層析管柱

Waters AcQuity Ultra Performance LC，包含 Binary Solvent Manager、Sample Manager、PDA Detector；層析管柱 Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μ m)。

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

甲醇(99.9%)購自於 Merck。

(二) 標準品

標準品歐前胡素(Imperatorin)來自於中醫藥司，純度 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 0.4 g，置 50 mL 離心管，準確加入甲醇、75%甲醇、50%甲醇、乙醇、75%乙醇、50%乙醇各 45 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，以 No. 1 濾紙過濾，取濾液，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μ m)，即得。每針 10 μ L 注入高效能液相層析儀(HPLC)，以所測得每克重量之標準品歐前胡素最大波峰面積為最佳白芷萃取溶媒。

(二) 最佳萃取次數評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 0.4 g，置 50 mL 離心管，準確加入甲醇 45 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，以 No. 1 濾紙過濾，取濾液轉移至 50 mL 定量瓶中，加甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μ m)，即得。每針 10 μ L 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

準確稱取標準品歐前胡素 3.0 mg，加 10 mL 的甲醇製成每 1 mL 含歐前胡素 300 µg 的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 5.0 µg/mL 製成對照標準品溶液。

(四) 檢品溶液

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 0.4 g，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇 45 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，以 No.1 濾紙過濾，取濾液，殘渣部分重複提取 1 次，合併濾液，轉移至 100 mL 定量瓶中，加甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 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，用標準曲線計算溶液中歐前胡素的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取歐前胡素標準品儲備溶液適量(300 µg/mL)，以甲醇稀釋製成含歐前胡素分別為 100、50、25、10、5.0、3.0、1.0 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

以歐前胡素濃度為 5.0 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以歐前胡素的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性:取同一批市售白芷粉末，依白芷檢品溶液製備方法平行製備 5 份白芷檢品溶液，進樣測定，以歐前胡素的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性:取同一批市售白芷粉末，依白芷檢品溶液製備方法製備白芷檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以歐前胡素的波峰面積為指標，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，並以訊號雜訊比為 $\geq 3:1$ 時之濃度，作為偵測極限估計值。
2. 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

取已知歐前胡素含量的白芷粉末 5 份，每份準確稱取約 0.20 g，分別加入 1 mL 的歐前胡素溶液(0.2 mg/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 SB-C18 Column (250 x 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 300 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)	甲醇(%)	水(%)
0	60	40
30	60	40

(十二) 臺灣市售白芷含量測定

取 10 批市售白芷藥材依檢品溶液製備方法製備檢品溶液，取各 10 μ L 連續 3 針注入 HPLC，所得平均波峰面積依附錄 I 公式計算樣品歐前胡素的百分含量。

(十三) 白芷檢品之 UPLC 層析條件

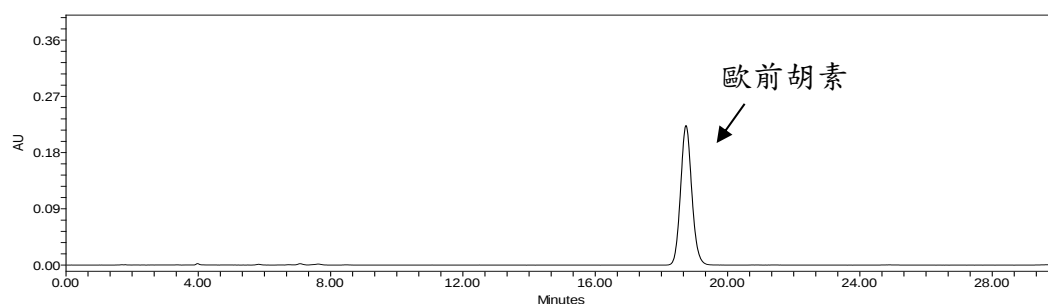
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μ m)
2. 檢測波長：UV 300 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 $^{\circ}$ C
5. 注入量：1 μ L
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	水(%)
0	60	40
10	60	40

五、結果

(一) 標準品歐前胡素之 HPLC 層析

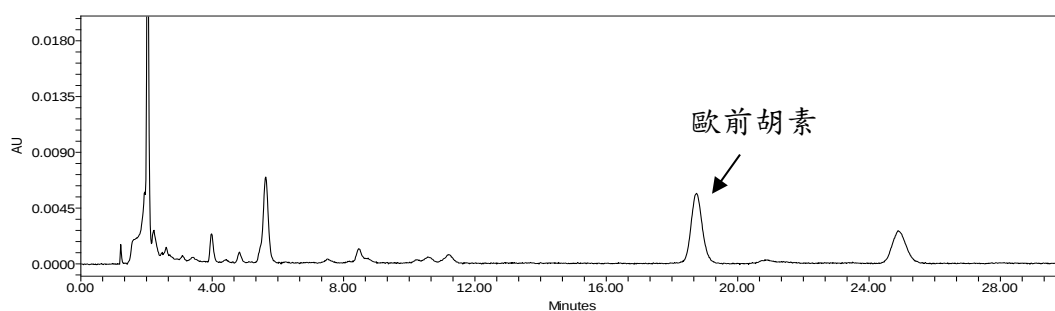
於滯留時間 18.74 分鐘處顯示歐前胡素標準品波峰(圖一)。



圖一、歐前胡素標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售白芷檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 18.74 分鐘處顯示白芷檢品中歐前胡素波峰(圖二)。分離率(R)為 1.62，托尾因子(T)為 1.12，均在系統適用性要求內。



圖二、市售白芷檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒評估

以甲醇為溶媒時，每克藥材重量所得歐前胡素的波峰面積最大，顯示甲醇為最佳萃取溶媒。

表一、不同溶媒萃取比較

溶媒	歐前胡素波峰面積(AU)	最佳萃取
甲醇	118140	√
75% 甲醇	105117	
50% 甲醇	94662	
乙醇	94823	
75% 乙醇	103888	
50% 乙醇	101456	

(四) 最佳萃取次數評估

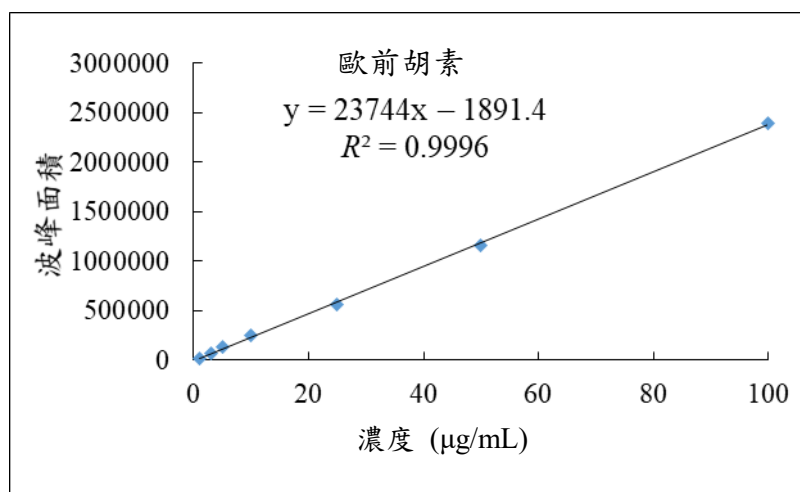
結果顯示萃取 2 次基本上已將歐前胡素萃取完全(萃取率大於 98%)。

表二、白芷檢品萃取次數評估

甲醇萃取次數	歐前胡素波峰面積(AU)
第 1 次	112603
第 2 次	9968
第 3 次	1183
第 4 次	N.D.

(五) 標準品歐前胡素檢量線

經不同濃度歐前胡素 (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 $y = 23744x - 1891.4$ ， $R^2 = 0.9996$ ，顯示濃度在 1.0–100 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、歐前胡素之檢量線圖

表三、歐前胡素之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
歐前胡素	1.0–100	$y = 23744x - 1891.4$	0.9996

(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，歐前胡素精密度之相對標準差為 1.19%，在系統適用性要求內。

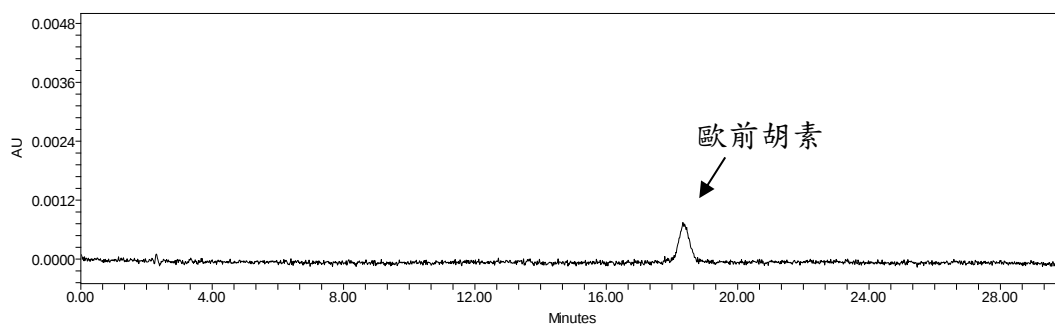
(七) 重複性與穩定性試驗

實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，歐前胡素重複性

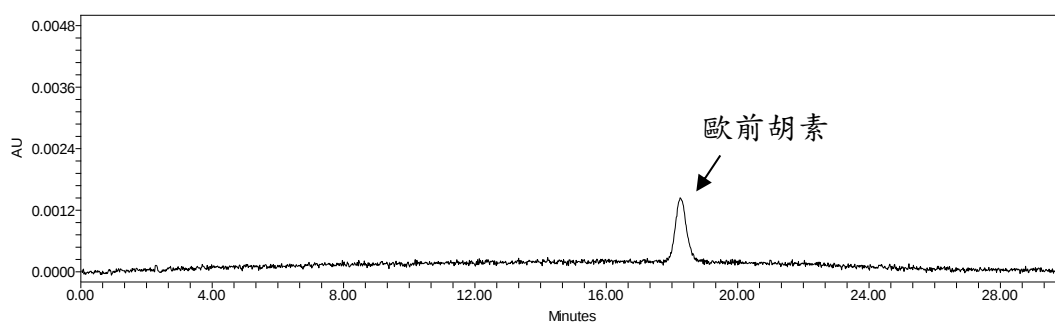
之相對標準差為 0.18%，在系統適用性要求內。歐前胡素在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差為 0.31%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

歐前胡素偵測極限為 0.1 µg/mL(圖四)，定量極限為 1.0 µg/mL(圖五)。



圖四、歐前胡素之偵測極限層析圖



圖五、歐前胡素之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	歐前胡素	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	5.0 µg/mL	1.19
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.8)	0.18
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.8)	0.31
偵測極限 (n=1)	0.1 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	1.0 µg/mL	-

(九) 添加回收率試驗

歐前胡素平均添加回收率為 98.8%，相對標準偏差為 2.66%。

表五、歐前胡素添加回收率

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	0.2	0.1922	0.2	0.3938	100.8	98.83	2.66
2	0.2	0.1922	0.2	0.3940	100.9		
3	0.2	0.1922	0.2	0.3916	99.7		
4	0.2	0.1922	0.2	0.3813	94.6		
5	0.2	0.1922	0.2	0.3886	98.2		

(十) 臺灣市售白芷含量測定

10 批白芷之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，歐前胡素的含量在 0.093–0.279%。建議白芷指標成分歐前胡素的含量不得少於 0.08%。理論板數按歐前胡素波峰計算應不低於 5000 (實際值為 14000)。

表六、臺灣市售白芷檢品之歐前胡素含量

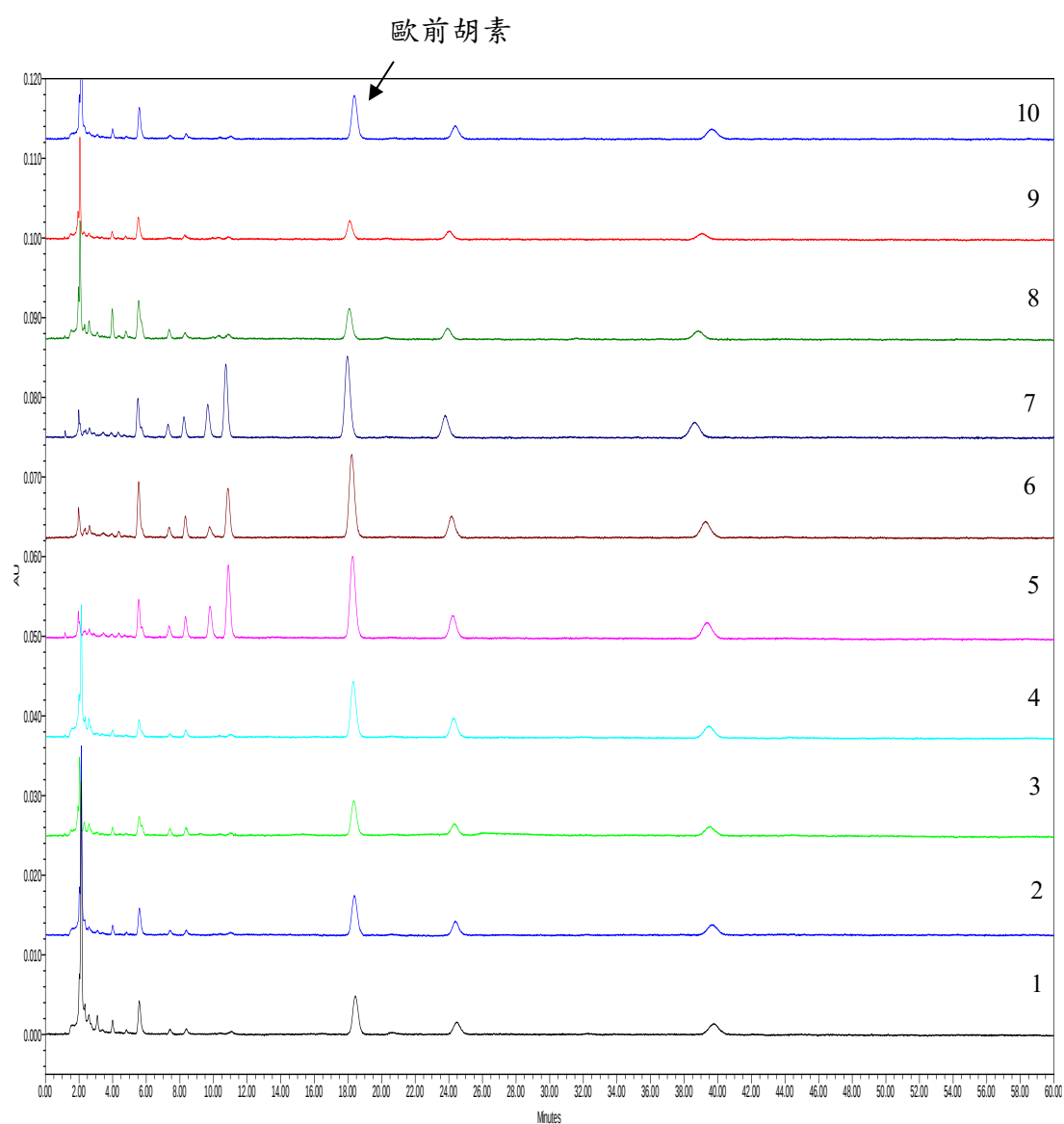
藥材編號(No.)	歐前胡素含量(%)
1 (NC-1)	0.134
2 (NC-2)	0.142
3 (ND-1)	0.115
4 (ND-2)	0.194
5 (CA-1)	0.275
6 (CA-2)	0.279
7 (CA-3)	0.275
8 (SA-1)	0.107
9 (SA-2)	0.093
10 (SG)	0.152
平均值±S.D.	0.177±0.074

(十一) 白芷藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售白芷檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：Agilent ZORBAX SB-C18 Column (250 x 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 300 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：

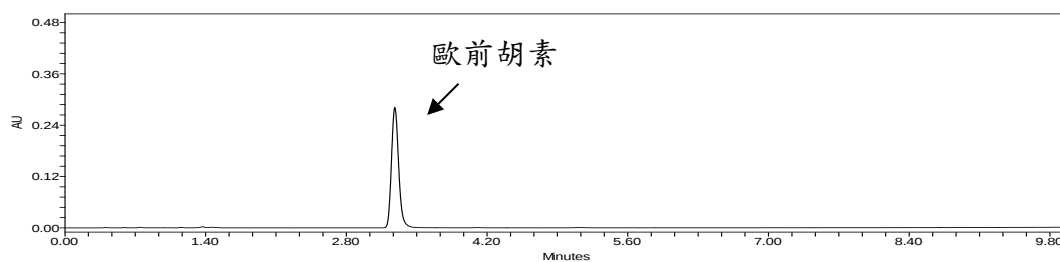
時間(min)	甲醇(%)	水(%)
0	60	40
60	60	40



圖六、10 批白芷藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 標準品歐前胡素之 UPLC 層析

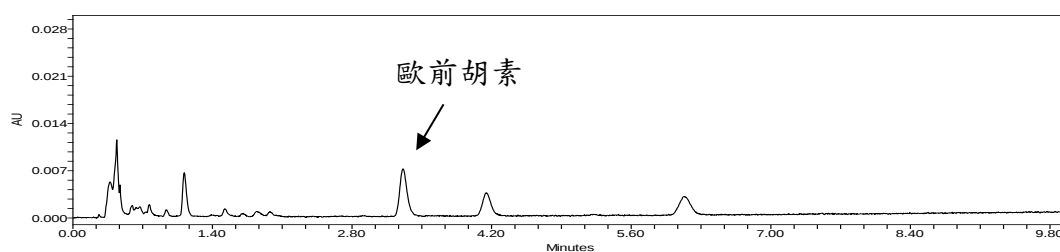
於滯留時間 3.28 分鐘處顯示歐前胡素標準品的波峰(圖七)



圖七、歐前胡素標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售白芷檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 3.31 分鐘顯示白芷飲片檢品中歐前胡素的波峰(圖八)。

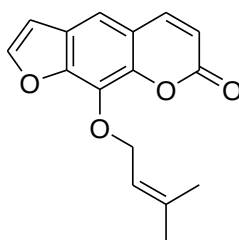


圖八、市售白芷檢品之 UPLC 層析圖

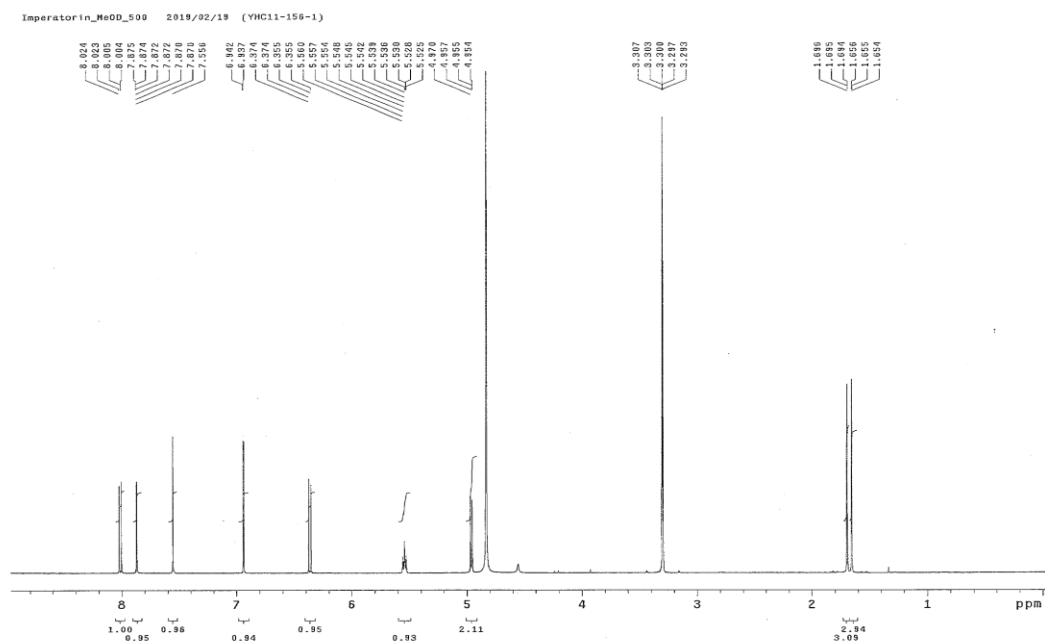
(十四) 歐前胡素的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{16}H_{14}O_4$ ；分子量：270.28；熔點：107–111 °C；白色固體。

(十五) 歐前胡素的結構

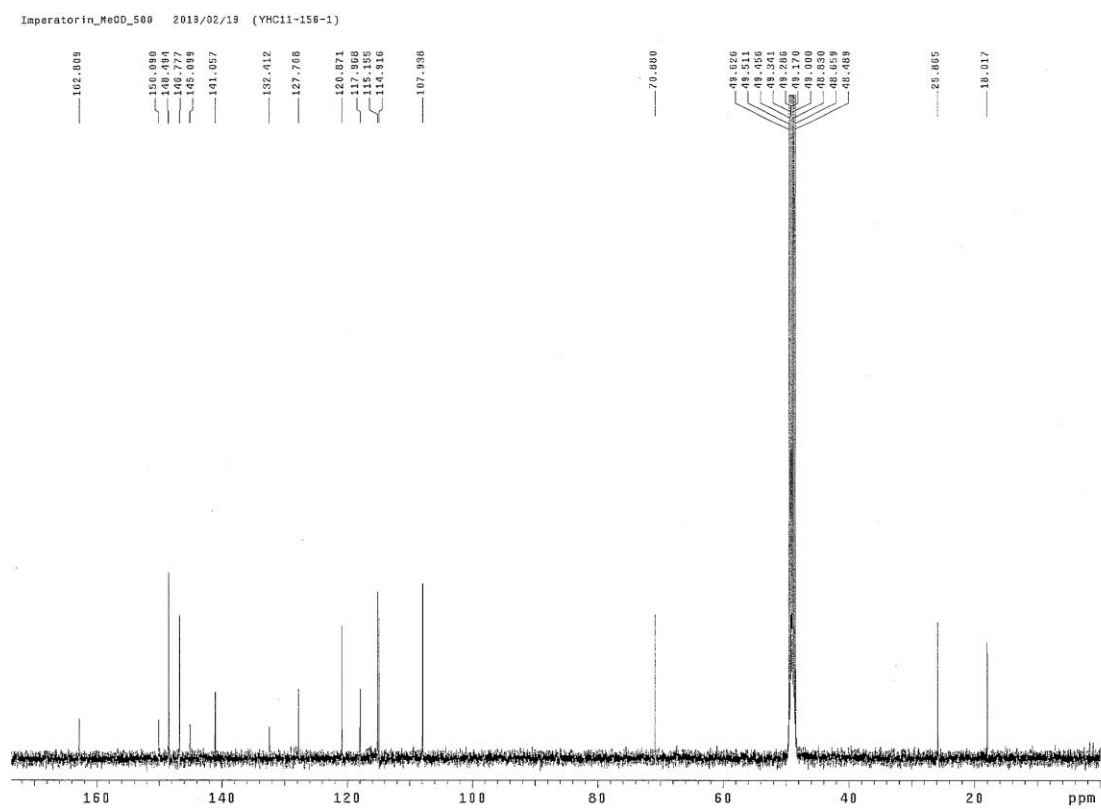


(十六) 歐前胡素的 ^1H NMR 圖譜



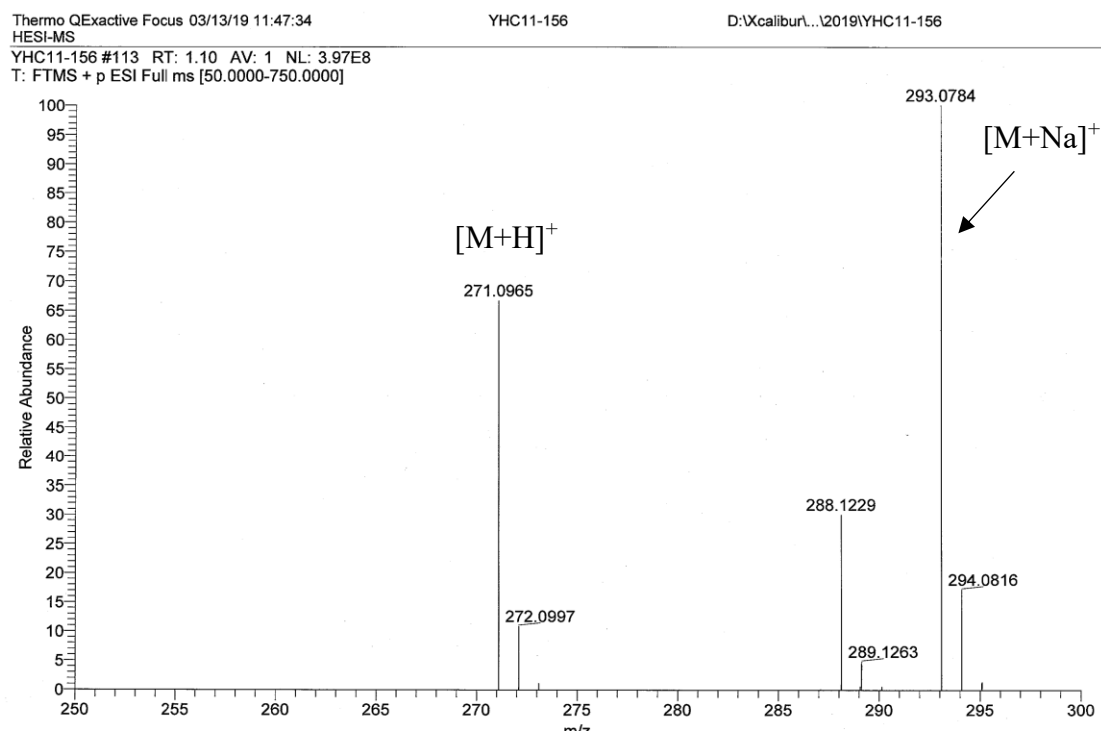
圖九、歐前胡素的 ^1H NMR 圖譜(CD_3OD)

(十七) 歐前胡素的 ^{13}C NMR 圖譜



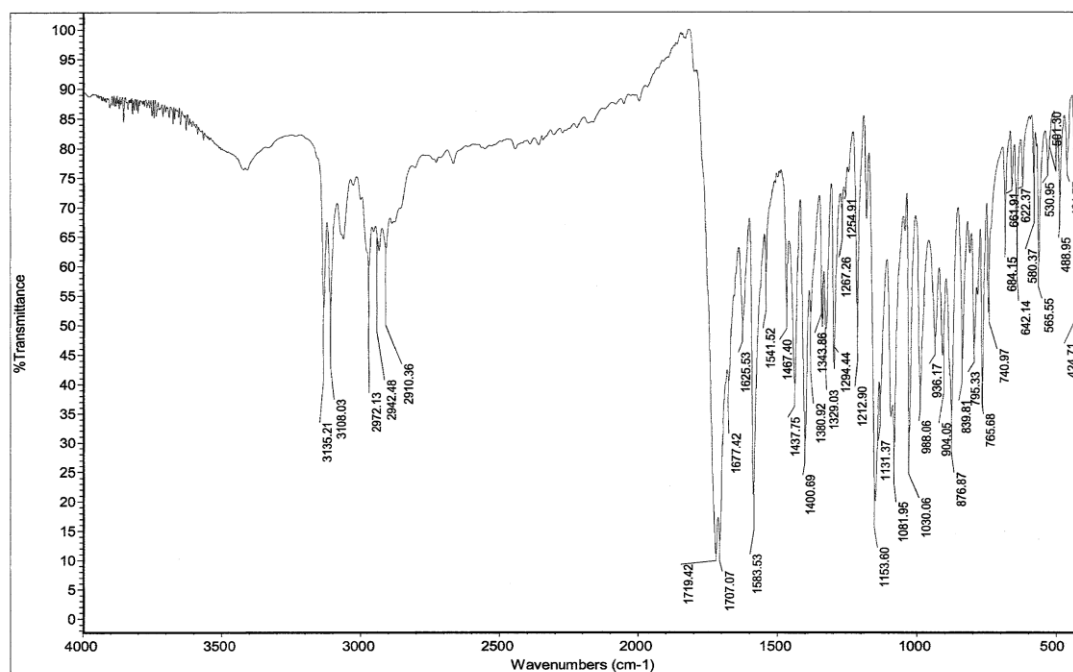
圖十、歐前胡素的 ^{13}C NMR 圖譜(CD_3OD)

(十八) 歐前胡素的 ESI-MS 圖譜



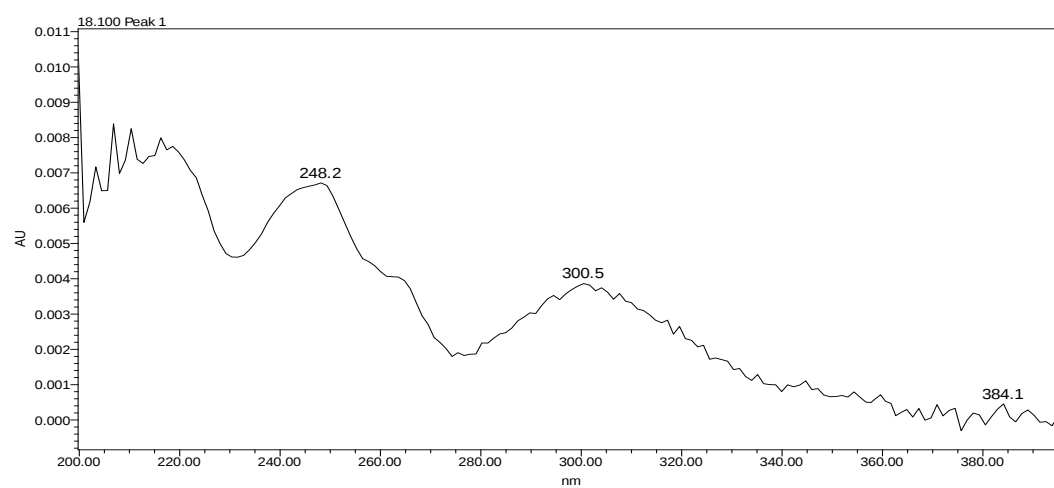
圖十一、歐前胡素的 ESI-MS 圖譜

(十九) 歐前胡素的 FTIR 圖譜



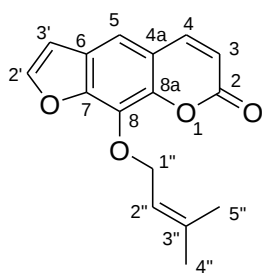
圖十二、歐前胡素的 FTIR 圖譜

(二十) 歐前胡素的 UV 圖譜



圖十三、歐前胡素的 UV 圖譜

(二十一) 歐前胡素的氫、碳化學位移



歐前胡素

表七、歐前胡素氫、碳化學位移(CD₃OD)^a

position	δ_H (500 MHz)	δ_C (125 MHz)
2	-	162.8
3	6.36 (d, 9.5)	114.9
4	8.01 (d, 9.5)	146.8
4a	-	118.0
5	7.56 (s)	115.2
6	-	127.8
7	-	150.1
8	-	132.4
8a	-	145.1
2'	7.87 (d, 2.5)	148.5
3'	6.94 (d, 2.5)	107.9
1''	4.96 (d, 7.5)	70.9
2''	5.53–5.56 (m)	120.9
3''	-	141.1
4''	1.66 (s)	18.0*
5''	1.70 (s)	25.9*

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

白芷飲片(CHUANXIONG RHIZOMA)

一、材料

購自於臺灣各地中藥廠與中藥店白芷飲片共 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 2996、Photodiode Array Detector；層析管柱 Agilent ZORBAX SB-C18 Column (250 x 4.6 mm, 5 μ m)。

(二) UPLC 儀器及層析管柱

Waters AcQuity Ultra Performance LC，包含 Binary Solvent Manager、Sample Manager、PDA Detector；層析管柱 Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μ m)。

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

甲醇(99.9%)購自於 Merck。

(二) 標準品

標準品歐前胡素(Imperatorin)來自於中醫藥司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒開發

白芷飲片最佳萃取溶媒同白芷藥材。

(二) 最佳萃取次數評估

白芷飲片最佳萃取次數同白芷藥材。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品歐前胡素 3.0 mg，加 10 mL 的甲醇製成每 1 mL 含歐前胡素 300 μ g 的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 5.0 μ g/mL 製成對照標準品溶液。

(四) 檢品溶液

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 0.4 g，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇 45 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，以 No.1 濾紙過濾，取濾液，殘渣部分重複提取 1 次，合併濾液，轉移至 100 mL 之定量瓶中，加甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μ m)，即得。

(五) 測定法

分別準確吸取對照標準品溶液、檢品溶液 10 μ L，注入 HPLC，測定，用標準曲線計算溶液中歐前胡素的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取歐前胡素標準品儲備溶液適量(300 μ g/mL)，以甲醇稀釋製成含歐前胡素分別為 100、50、25、10、5.0、3.0、1.0 μ g/mL 的標準品溶液。以上溶液各取 10 μ L 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

以歐前胡素濃度為 5.0 μ g/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以歐前胡素的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性:取同一批市售白芷飲片粉末，依白芷飲片檢品溶液製備方法平行製備 5 份白芷飲片檢品溶液，進樣測定，以歐前胡素的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性:取同一批市售白芷飲片粉末，依白芷飲片檢品溶液製備方法製備白芷飲片檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以歐前胡素的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(九) 偵測極限與定量極限試驗

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

取已知歐前胡素含量的白芷飲片 5 份，每份準確稱取約 0.15 g，分別加入 1 mL 的歐前胡素溶液(0.2 mg/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 SB-C18 Column (250 x 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 300 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)	甲醇(%)	水(%)
0	60	40
30	60	40

(十二) 臺灣市售白芷飲片含量測定

取 10 批市售白芷飲片依檢品溶液製備方法製備檢品溶液，取各 10 μ L 連續 3 針注入 HPLC，所得平均波峰面積依附錄 I 公式計算樣品歐前胡素的百分含量。

(十三) 白芷檢品之 UPLC 層析條件

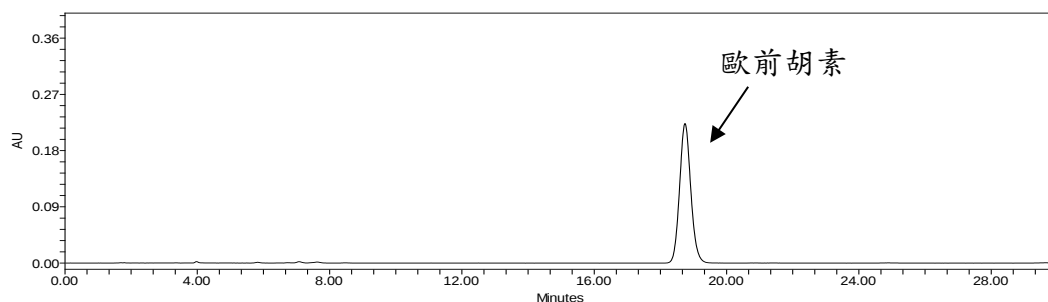
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC[®] BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μ m)
2. 檢測波長：UV 300 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 $^{\circ}$ C
5. 注入量：1 μ L
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	水(%)
0	60	40
10	60	40

五、結果

(一) 標準品歐前胡素之 HPLC 層析

於滯留時間 18.74 分鐘處顯示歐前胡素標準品的波峰(圖一)。

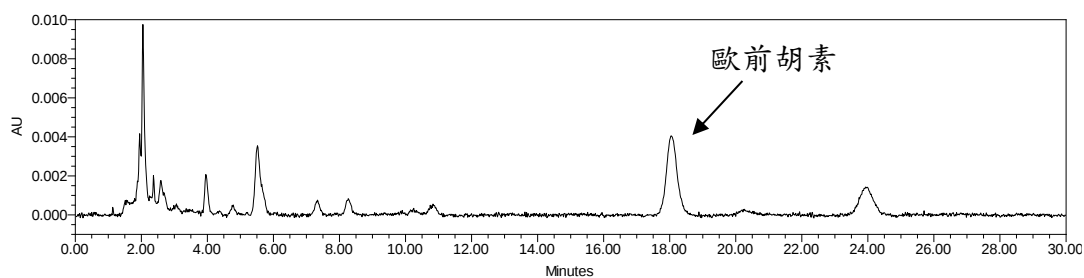


圖一、歐前胡素標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售白芷飲片檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 18.65 分鐘處顯示白芷飲片檢品中歐前胡素的波峰(圖二)。

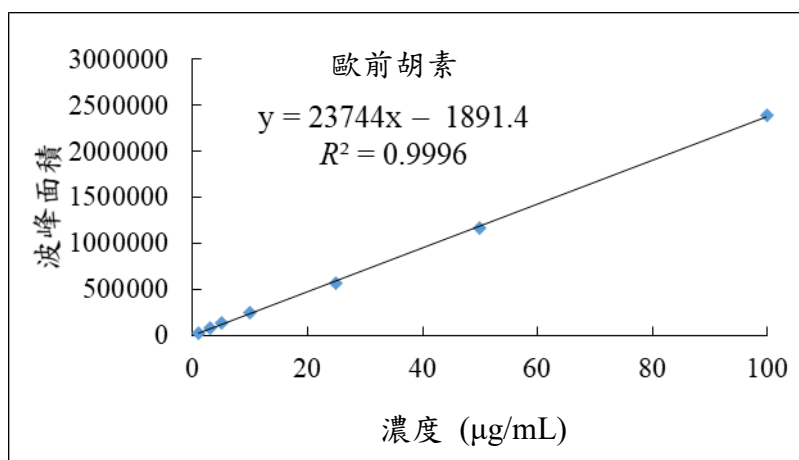
分離率 $R = 1.67$ ，托尾因子 $T = 1.10$ ，均在系統適用性要求內。



圖二、市售白芷飲片檢品之 HPLC 層析圖

(三) 標準品歐前胡素檢量線

經不同濃度歐前胡素(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 $y = 23744x - 1891.4$ ， $R^2 = 0.9996$ ，顯示濃度在 1.0–100 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、歐前胡素之檢量線圖

表一、歐前胡素之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
歐前胡素	1.0–100	$y = 23744x - 1891.4$	0.9996

(四) 精密度與重複性試驗

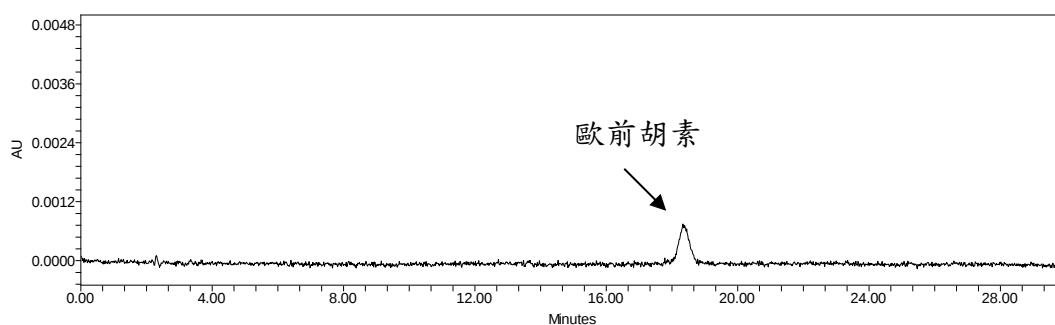
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，歐前胡素精密度之相對標準差為 1.19%，重複性之相對標準差為 1.95%，均在系統適用性要求內。

(五) 穩定性試驗

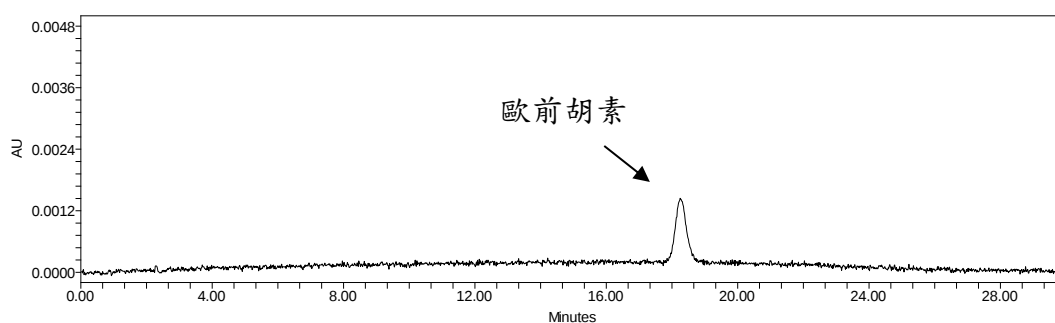
實驗結果顯示，歐前胡素在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差為 1.78%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(六) 偵測極限與定量極限試驗

歐前胡素偵測極限(limit of detection, LOD)為 0.1 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限(limit of quantitation, LOQ)為 1.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、歐前胡素之 LOD 層析圖



圖五、歐前胡素之 LOQ 層析圖

表二、各項檢驗分析

檢測項目	歐前胡素	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	5.0 µg/mL	1.19
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.2)	1.95
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.2)	1.78
偵測極限 (n=1)	0.1 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	1.0 µg/mL	-

(七) 添加回收率試驗

歐前胡素平均添加回收率為 96.6%，相對標準偏差為 0.72%。

表三、歐前胡素添加回收率

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	0.15	0.1312	0.2	0.3236	96.2	96.55	0.72
2	0.15	0.1312	0.2	0.3263	97.55		
3	0.15	0.1312	0.2	0.3226	95.7		
4	0.15	0.1312	0.2	0.3249	96.85		
5	0.15	0.1312	0.2	0.3241	96.45		

(八) 臺灣市售白芷飲片含量測定

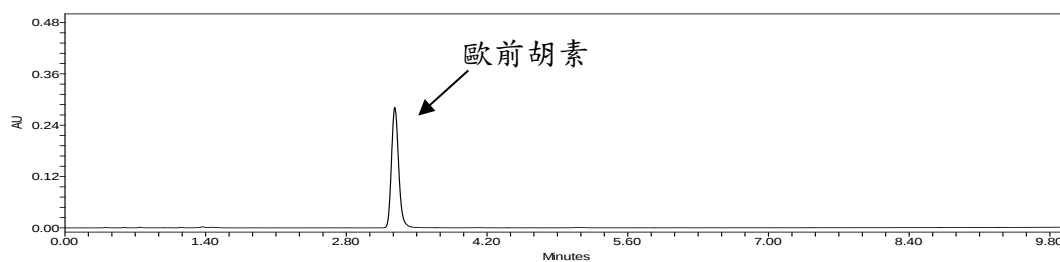
10 批白芷飲片之含量測定結果(乾燥品)如表四所示，歐前胡素的含量為 0.071–0.104%。建議白芷飲片指標成分歐前胡素的含量不得少於 0.08%。理論板數按歐前胡素波峰計算應不低於 5000 (實際值為 16000)。

表四、臺灣市售白芷飲片檢品之歐前胡素含量

藥材編號(No.)	歐前胡素含量(%)	藥材編號(No.)	歐前胡素含量(%)
1 (NB)	0.074	6 (NY)	0.091
2 (NC)	0.081	7 (SC)	0.104
3 (NF)	0.071	8 (SG)	0.092
4 (NJ)	0.089	9 (SU-1)	0.094
5 (NR)	0.087	10 (SU-2)	0.087

(九) 標準品歐前胡素之 UPLC 層析

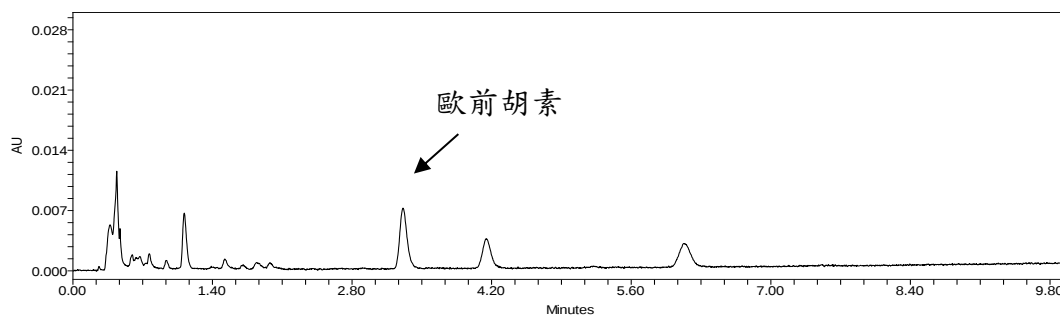
於滯留時間 3.28 分鐘處顯示歐前胡素標準品的波峰(圖六)



圖六、歐前胡素標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十) 市售白芷飲片檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 3.34 分鐘顯示白芷飲片檢品中歐前胡素的波峰(圖七)。



圖七、市售白芷飲片檢品之 UPLC 層析圖

白芷

生藥名：ANGELICAE DAHURICAE RADIX

英文名：Dahurian Angelica Root

基 原：本品為繖形科 Umbelliferae 植物白芷 *Angelica dahurica* (Hoffm.) Benth.et Hook.f.ex Franch. et Sav.、杭白芷 *Angelica dahurica* (Hoffm.) Benth.et Hook.f.ex Franch. et Sav. cv. 'Hangbaizhi' 或臺灣白芷 *Angelica dahurica* Benth. et Hook.f. var. *formosana* Yen 之乾燥根。

一、方法

- (一) 檢品溶液 **【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版 2018)**
——取本品粉末 2.0 g，加甲醇 10 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，作為檢品溶液。
【萃取方法 2】(修飾臺灣中藥典第三版 2018) ✓
——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 10 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，濾液濃縮至 1 mL，作為檢品溶液。
【萃取方法 3】(中華人民共和國藥典 2015)
——取本品粉末 0.5 g，加乙醚 10 mL，超音波振盪 1 小時，過濾，濾液濃縮至乾，殘渣加乙酸乙酯 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。
- (二) 對照標準品 取歐前胡素(Imperatorin)對照標準品，加乙酸乙酯製成每 1 mL 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】(自行開發 1)**
——正己烷：乙酸乙酯 (2：1)
【展開劑 2】(修飾臺灣中藥典第三版 2018) ✓
——石油醚(40~60 °C)：乙醚 (1：1)
【展開劑 3】(自行開發 2)
——正己烷：丙酮 (4：1)
【展開劑 4】(臺灣中藥典第三版 2018；中華人民共和國藥典 2015)
——石油醚(40~60 °C)：乙醚 (3：2)
- (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 365 nm 之紫外燈照射下檢視。

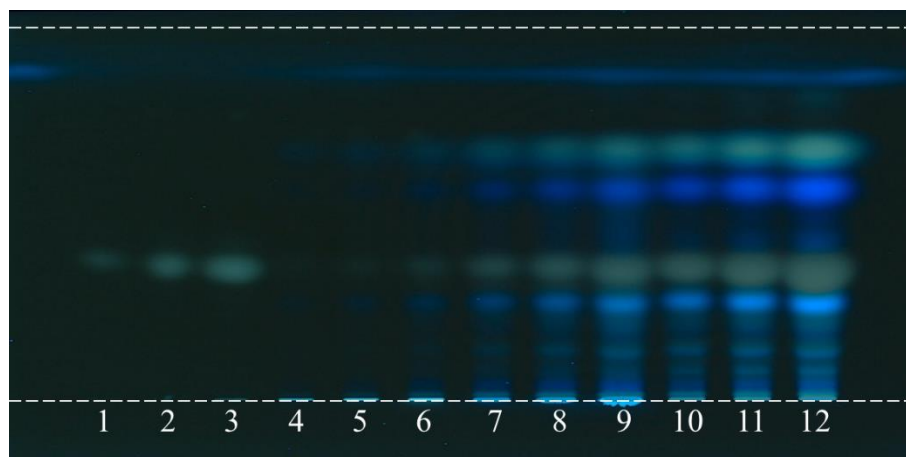
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：108/04/08

相對溼度(RH)：65%

溫度(RT)：24 °C

【展開劑 2】(修飾臺灣中藥典第三版 2018)——石油醚(40~60 °C)：乙醚 (1：1)



編號	名稱	點注量
1，2，3	歐前胡素 (1.0 mg/mL)	2，5，8 μ L
4，5，6	檢品溶液 4 【萃取方法 1】	1，2，5 μ L
7，8，9	檢品溶液 4 【萃取方法 2】	1，2，5 μ L
10，11，12	檢品溶液 4 【萃取方法 3】	1，2，5 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歐前胡素，而由於指標成分條帶顯示較明顯，故選擇修飾臺灣中藥典萃法【萃取方法 2】。

建議點注量：歐前胡素標準品溶液 5 μ L，檢品溶液【萃取方法 2】2 μ L。

三、溶媒系統選擇

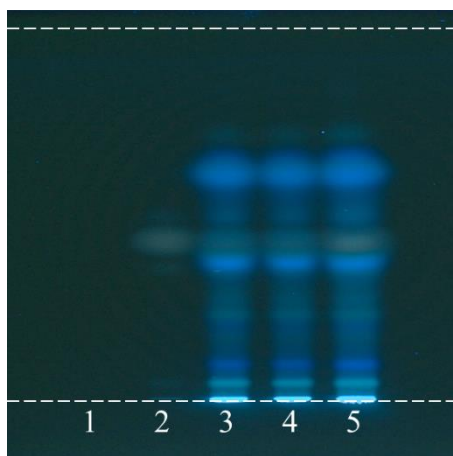
實驗日期：108/04/08

相對溼度(RH)：65%

溫度(RT)：24 °C

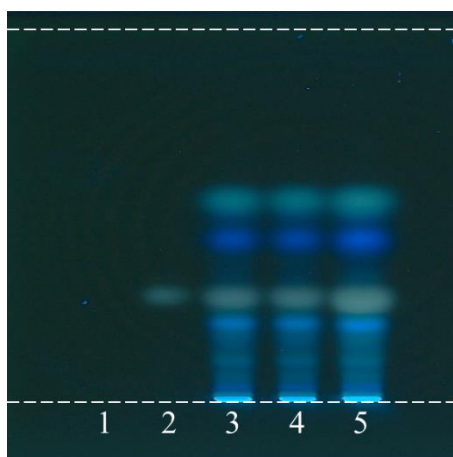
【展開劑 1】 (自行開發 1)——正己烷：乙酸乙酯 (2：1)

【萃取方法 2】 (修飾臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出
(歐前胡素 R_f 值為 0.43)



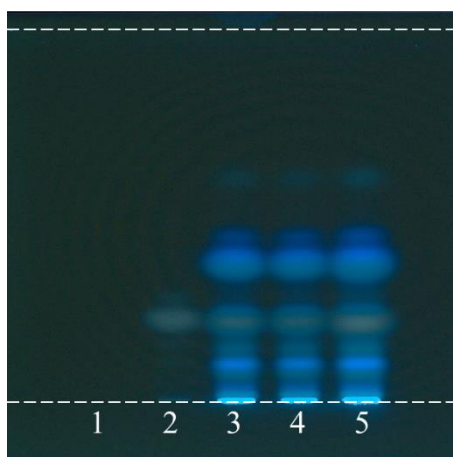
【展開劑 2】 (修飾臺灣中藥典第三版 2018)——石油醚(40~60 °C)：乙醚 (1：1) ✓

【萃取方法 2】 (修飾臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出
(歐前胡素 R_f 值為 0.3)



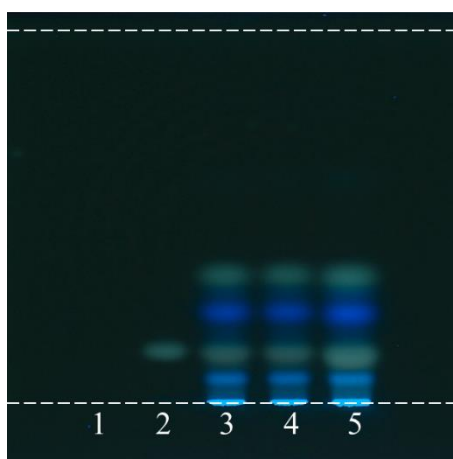
【展開劑 3】（自行開發 2）——正己烷：丙酮（4：1）

【萃取方法 2】（修飾臺灣中藥典第三版 2018）——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(歐前胡素 R_f 值為 0.21)



【展開劑 4】（臺灣中藥典第三版 2018；中華人民共和國藥典 2015）——石油醚（40~60 °C）：乙醚（3：2）

【萃取方法 2】（修飾臺灣中藥典第三版 2018）——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(歐前胡素 R_f 值為 0.14)



1：Blank

2：歐前胡素

3，4：檢品溶液 4

5：Spike

建議溶媒系統：以修飾臺灣中藥典第三版萃取方式，採用修飾臺灣中藥典第三版之溶媒系統【展開劑 2】展開，其結果與其他展開劑比較，斑點分離的較清晰。

四、觀察方式選擇

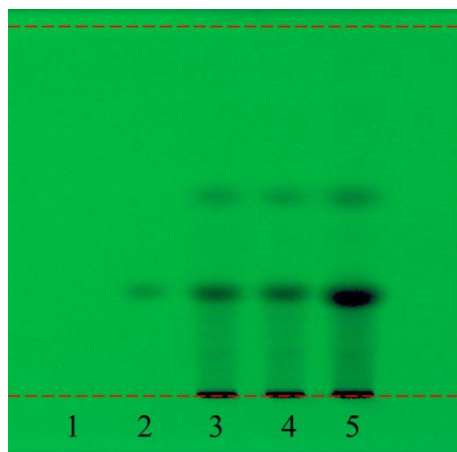
實驗日期：108/04/08

相對溼度(RH)：65%

溫度(RT)：24 °C

【展開劑 2】(修飾臺灣中藥典第三版 2018)——石油醚(40~60 °C)：乙醚 (1：1)

【萃取方法 2】(修飾臺灣中藥典第三版 2018)－HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



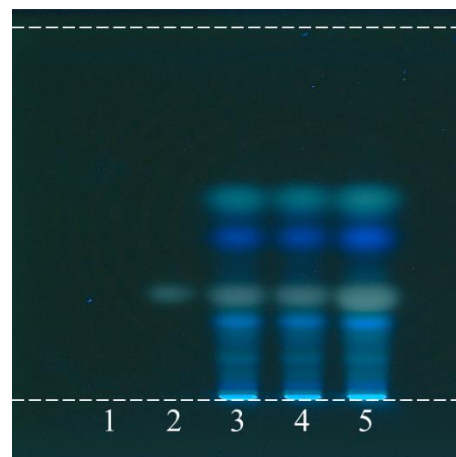
1：Blank

2：歐前胡素

3，4：檢品溶液 4

5：Spike

【萃取方法 2】(修飾臺灣中藥典第三版 2018)－HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



建議觀察方式：於紫外光(365 nm)檢視較其他觀察方式有較多明顯之條帶及歐前胡素標準品斑點。

五、十批白芷樣品檢測

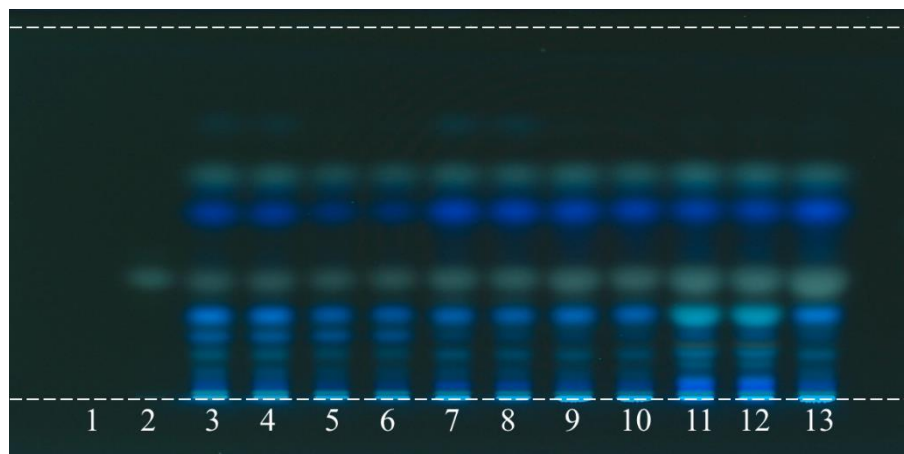
實驗日期：108/04/15

相對溼度(RH)：51%

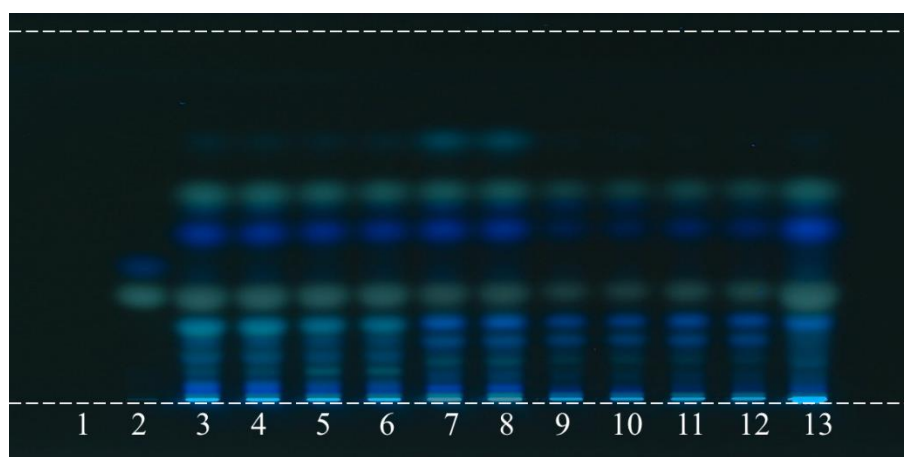
溫度(RT)：23 °C

【展開劑 2】(修飾臺灣中藥典第三版 2018)——石油醚(40~60 °C)：乙醚 (1：1)

【萃取方法 2】(修飾臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	歐前胡素 (1.0 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 1 (NC-1)
5 , 6	檢品溶液 2 (NC-2)
7 , 8	檢品溶液 3 (ND-1)
9 , 10	檢品溶液 4 (ND-2)
11 , 12	檢品溶液 5 (CA-3)
13	Spike (檢品溶液 4)



1	Blank
2	歐前胡素 (1.0 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 6 (CA-1)
5 , 6	檢品溶液 7 (CA-2)
7 , 8	檢品溶液 8 (SA-1)
9 , 10	檢品溶液 9 (SA-2)
11 , 12	檢品溶液 10 (SG)
13	Spike (檢品溶液 4)

結論與建議：以修飾臺灣中藥典第三版之【萃取方法 2】方式，以修飾臺灣中藥典第三版之【展開劑 2】分離與檢出歐前胡素較佳，於紫外光(365 nm)下檢視較佳。

白芷(飲片)

六、十批白芷飲片樣品檢測

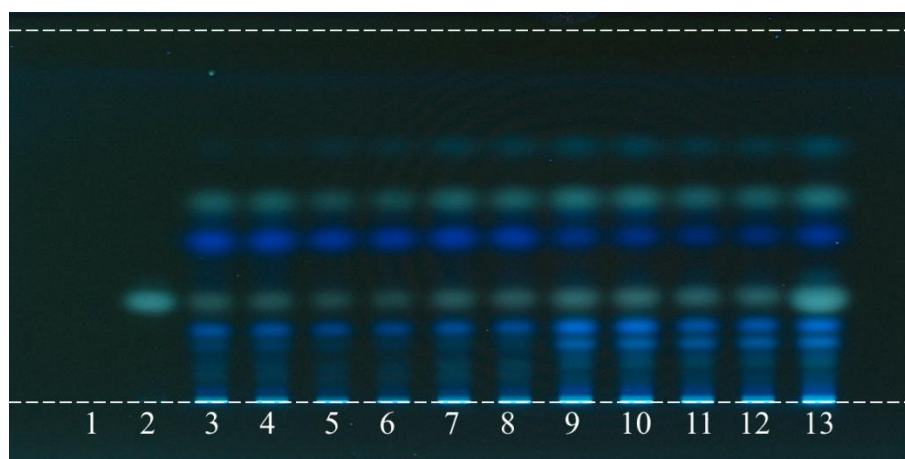
實驗日期：108/04/15

相對溼度(RH)：51%

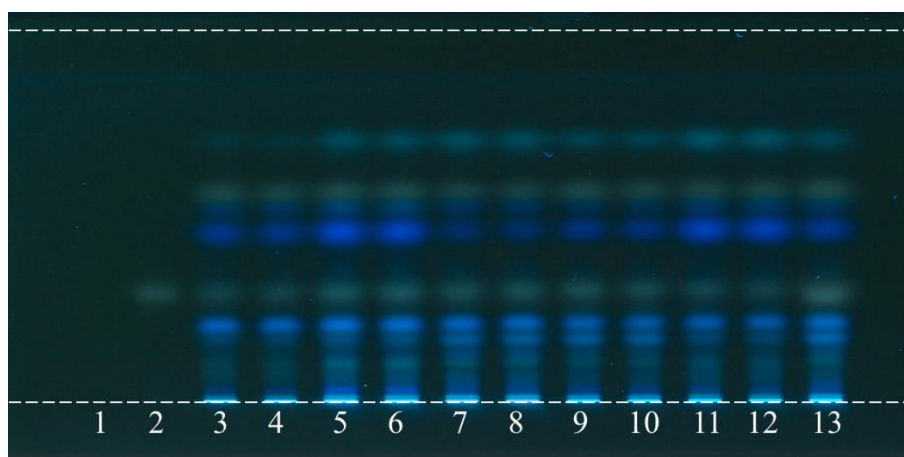
溫度(RT)：23 °C

【展開劑 2】(修飾臺灣中藥典第三版 2018)——石油醚(40~60℃)：乙醚 (1：1)

【萃取方法 2】(修飾臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	歐前胡素 (1.0 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 1 (NB)
5 , 6	檢品溶液 2 (NC)
7 , 8	檢品溶液 3 (NF)
9 , 10	檢品溶液 4 (NJ)
11 , 12	檢品溶液 5 (NR)
13	Spike (檢品溶液 5)



1	Blank
2	歐前胡素 (1.0 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 6 (NY)
5 , 6	檢品溶液 7 (SC)
7 , 8	檢品溶液 8 (SG)
9 , 10	檢品溶液 9 (SU-1)
11 , 12	檢品溶液 10 (SU-2)
13	Spike (檢品溶液 5)

結論與建議：飲片鑑別同藥材。