

當歸

(ANGELICAE SINENSIS RADIX)

當歸 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

當歸 藥材 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.....	10

當歸 飲片 HPLC

一、材料.....	19
二、儀器及層析管柱.....	19
三、實驗藥品及試劑來源.....	19
四、方法.....	19
五、結果.....	22

當歸 TLC

一、方法.....	27
二、萃法選擇及濃度測試.....	28
三、溶媒系統選擇.....	29
四、觀察方式選擇.....	30
五、十批當歸藥材樣品檢測.....	31
六、十批當歸飲片樣品檢測.....	33

當歸

(ANGELICAE SINENSIS 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當歸的乾燥根。

二、藥材性狀描述(圖 1)

藥材名：當歸

生藥名：ANGELICAE SINENSIS RADIX

英文名：Chinese Angelica Root

基原：繖形科 Umbelliferae 植物當歸 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的乾燥根。

採收加工：秋末採挖，去除鬚根，除去鬚根及泥沙，待水分稍蒸發後，慢慢燻乾。

藥材性狀：本藥材為當歸的乾燥根。根呈圓柱形下部有支根 3~5 條或更多，長 15~25 cm。表面黃棕色至棕褐色，具縱皺紋及橫長皮孔。根頭（歸頭）直徑 1.5~4 cm，具環紋，上端圓鈍，有紫色或黃綠色的莖及葉鞘的殘基；主根（歸身）表面凹凸不平；支根（歸尾）直徑 0.3~1 cm，上粗下細，多扭曲，有少數鬚根痕。質柔韌，斷面黃白色或淡黃棕色，皮部厚，有裂隙及多數棕色點狀分泌腔，木部色較淡，形成層環黃棕色。有濃郁的香氣，味甘、辛、微苦。

生長分佈：多年生草本植物，株高 40~100 cm，花期 6~7 月，果期 7~8 月。分佈於中國甘肅、四川、雲南、陝西、貴州、湖北等地，各地均有栽培。主產於中國甘肅、雲南。此外，陝西、四川、湖北、貴州等地亦產。

三、藥材組織顯微鑑別(圖 2)

1. 具 5-16 列栓皮層，為切向延長之扁長方形細胞，帶有棕黑色物質。
2. 皮層 4~10 層細胞，有少數油室散在。
3. 韌皮部寬廣，常有裂隙，有多數油室散在。
4. 韌皮射線寬 5~10 列細胞。
5. 形成層連續成環。
6. 木質部多裂隙，木射線寬 3~10 列細胞：導管單個散在或 2~5 個相聚，成放射狀排列。
7. 木質部導管單個散生或數個相聚成放射狀排列，內部偶見紅棕色物質。

8. 導管以網紋導管為主，偶見孔紋導管。



圖 1 當歸藥材圖

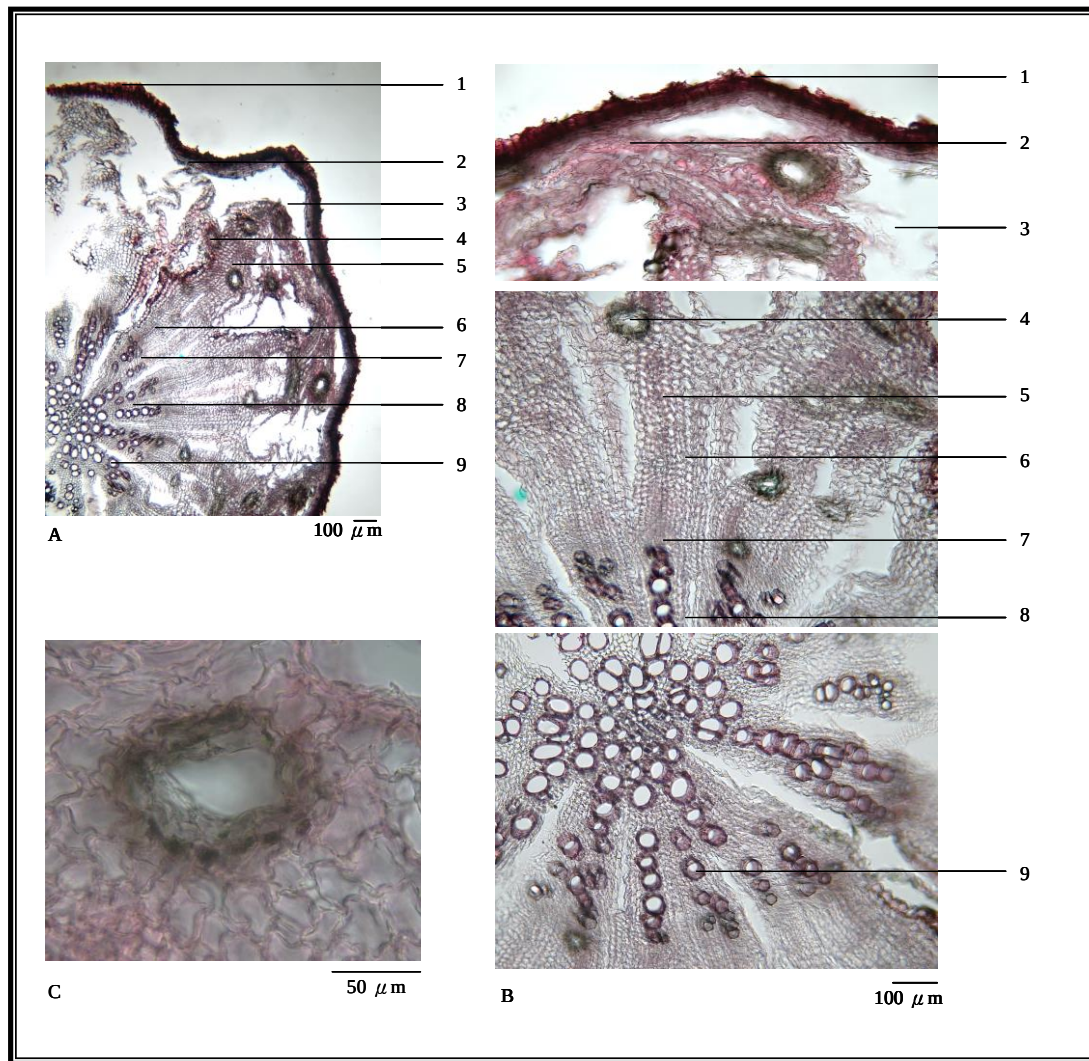


圖 2 當歸橫切面顯微特徵圖

A.橫切面圖 B.橫切面放大圖 C.油室

1.木栓層 2.皮層 3.裂隙 4.油室 5.韌皮部 6.韌皮射線 7.形成層 8.木射線 9.木質部

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。169–170 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。166–167 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。250–251 頁。
4. 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。106–108 頁。
5. 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編製 (2005)。香港中藥材標準第一冊。香港：香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部。40–48 頁。
6. 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。332–338 頁。
7. 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。893–904 頁。
8. 國家藥典委員會編輯 (2009)。中華人民共和國藥典中藥材顯微鑑別彩色圖鑑。北京：人民衛生出版社。187–188 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。124–125 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。190–191 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。106–107 頁。

當歸(ANGELICAE SINENSIS RADIX)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店當歸藥材共 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 COSMOSIL 5C₁₈ AR-II-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 x 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(95%)購自於國韶實業有限公司；甲醇(HPLC grade)購自於 Merck；磷酸(85%)購自於 Sigma-Aldrich。

(二) 標準品

標準品阿魏酸(Ferulic acid)購自於友和貿易股份有限公司，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 0.2 g，置 50 mL 圓底瓶中，準確加入甲醇、70%甲醇、50%甲醇、乙醇、75%乙醇、50%乙醇各 25 mL，加熱迴流處理 30 分鐘，冷卻後，以 No.1 濾紙過濾，取濾液，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22μm)，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阿魏酸最大波峰面積為最佳當歸萃取溶媒。

(二) 最佳萃取次數評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 0.2 g，置 50 mL 圓底瓶中，準確加入 70%甲醇 25 mL，加熱迴流處理 30 分鐘，冷卻後，以 No.1 濾紙過濾，取濾液轉移至 25 mL 之定量瓶中，加入 70%甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μm)，即得。每針 10 μL 注入 HPLC，殘渣部分重複上述方法多次萃取、進樣，直到指標成分被萃取完全，並選出最佳萃取次數。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品阿魏酸 0.5 mg，加 1 mL 的 70% 甲醇製成每 1 mL 含阿魏酸 500 µg 的標準品儲備溶液，並以 70% 甲醇稀釋至 3.0 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 0.2 g，置 50 mL 圓底瓶中，準確加入 70% 甲醇 25 mL，加熱迴流處理 30 分鐘，冷卻後，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 50 mL 之定量瓶中，加 70% 甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22µm)，即得。

(五) 測定法

分別準確吸取對照標準品溶液、檢品溶液 10 µL，注入 HPLC，測定，用標準曲線分別計算溶液中阿魏酸的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取阿魏酸標準品儲備溶液適量(500 µg/mL)，以 70% 甲醇稀釋成含阿魏酸分別為 250、100、50、25、10、3、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

以阿魏酸濃度為 3.0 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以阿魏酸的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性:取同一批市售當歸粉末，依當歸檢品溶液製備方法平行製備 5 份當歸檢品溶液，進樣測定，以阿魏酸的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性:取同一批市售當歸粉末，依當歸檢品溶液製備方法製備當歸檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以阿魏酸的波峰面積為指標，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

取已知阿魏酸含量的當歸藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.2 g，分別加入 1 mL 的阿魏酸溶液(100 µg/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：COSMOSIL 5C₁₈ AR-II-C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 µm)
2. 檢測波長：UV 320 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(%)	0.05%磷酸(v/v, %)
0	15	85
10	15	85
20	20	80
30	38	62
40	60	40
50	63	37
60	100	0

(十二) 臺南市售當歸藥材含量測定

取 10 批市售當歸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 公式計算樣品阿魏酸的百分含量。

(十三) 當歸檢品之 UPLC 層析條件

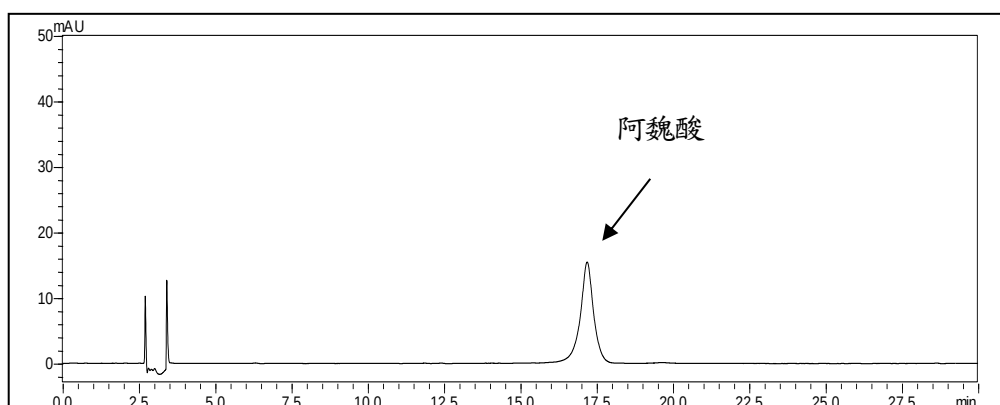
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 µm)
2. 檢測波長：UV 320 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 µL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	15	85
2	15	85
4	20	80
6	38	62
8	60	40
10	63	37

五、結果

(一) 標準品阿魏酸之 HPLC 層析

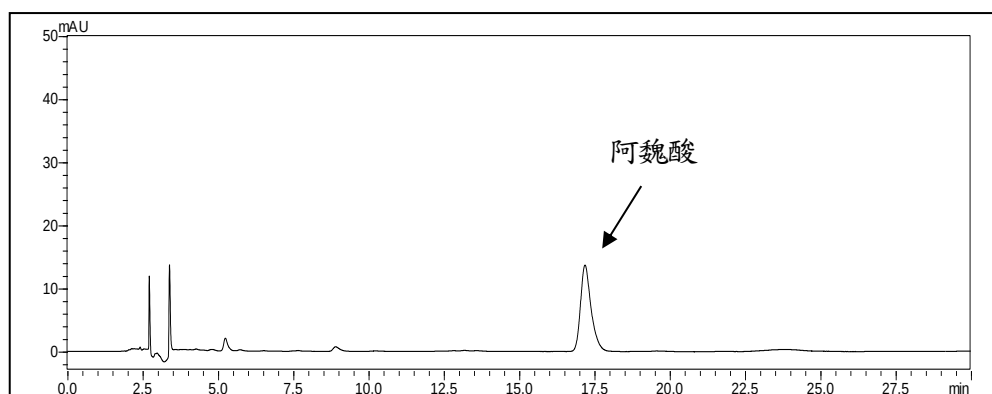
於滯留時間 17.19 分鐘處顯示阿魏酸標準品波峰(圖一)。



圖一、阿魏酸標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售當歸檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 17.13 分鐘處顯示當歸檢品中阿魏酸波峰(圖二)。分離率(R)為 16.87，托尾因子(T)為 1.10，均在系統適用性要求內。



圖二、市售當歸檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒評估

以 70% 甲醇為溶媒時，每克藥材重量所得阿魏酸的波峰面積最大，顯示 70% 甲醇為最佳萃取溶媒。

表一、不同溶媒萃取比較

溶媒	阿魏酸波峰面積	最佳萃取
甲醇	195353	
70% 甲醇	376921	√
50% 甲醇	333013	
乙醇	179984	
70% 乙醇	372783	
50% 乙醇	327082	

(四) 最佳萃取次數評估

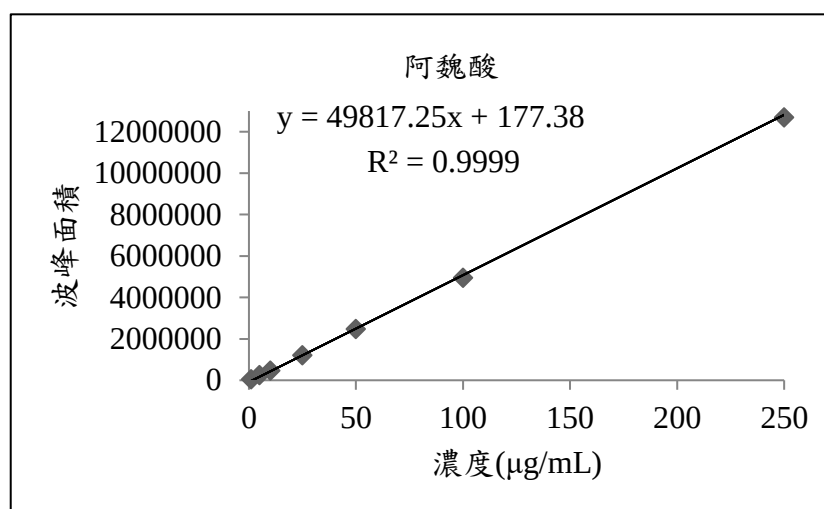
結果顯示萃取 2 次基本上已將阿魏酸萃取完全(萃取率大於 98%)。

表二、當歸檢品萃取次數評估

70% 甲醇萃取次數	阿魏酸波峰面積
第 1 次	351670
第 2 次	38773
第 3 次	N.D.

(五) 標準品阿魏酸檢量線

經不同濃度阿魏酸 (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 $y = 49817.25x + 177.38$, $R^2 = 0.9999$, 顯示濃度在 1.0–250 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、阿魏酸之檢量線圖

表三、阿魏酸之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
阿魏酸	1.0–250	$y = 49817.25x + 177.38$	0.9999

(六) 精密度試驗

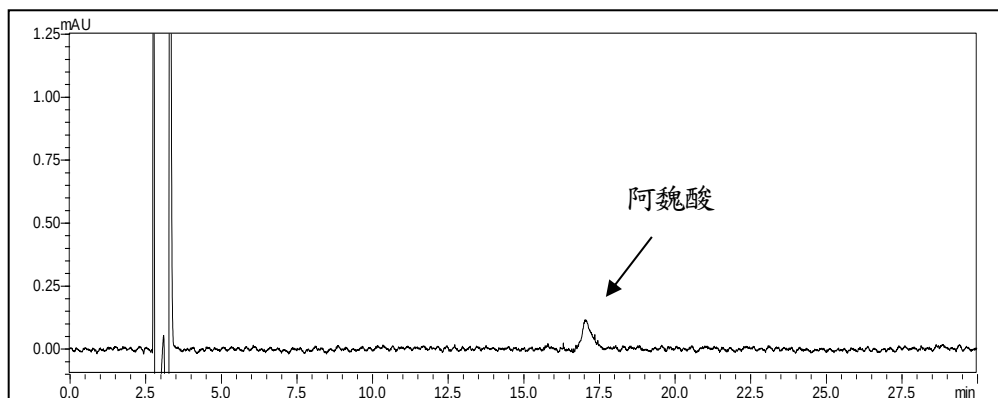
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，阿魏酸精密度之相對標準差為 0.19%，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

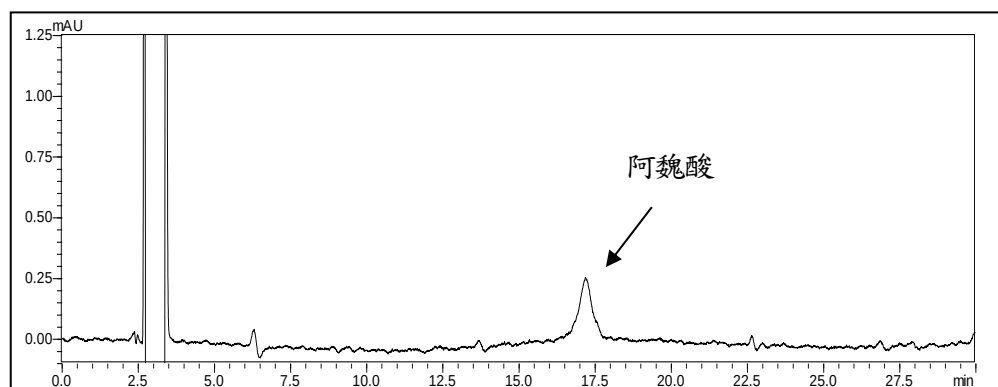
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，阿魏酸重複性之相對標準差為 0.74%，在系統適用性要求內。阿魏酸在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差為 0.26%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

阿魏酸偵測極限為 $0.03 \mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 $0.10 \mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、阿魏酸之偵測極限層析圖



圖五、阿魏酸之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	阿魏酸	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	3.0 µg/mL	0.19
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.8)	0.74
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.8)	0.26
偵測極限 (n=3)	0.03 µg/mL	-
定量極限 (n=3)	0.10 µg/mL	-

(九) 添加回收率試驗

阿魏酸平均添加回收率為 92.5%，相對標準偏差為 0.67%。

表五、阿魏酸添加回收率

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	0.20	0.15	0.10	0.242	91.60	92.54	0.67
2	0.20	0.15	0.10	0.242	92.34		
3	0.20	0.15	0.10	0.243	92.62		
4	0.20	0.15	0.10	0.243	93.25		
5	0.20	0.15	0.10	0.243	92.87		

(十) 臺灣市售當歸含量測定

10 批當歸藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，阿魏酸的含量為 0.055–0.105%。建議當歸藥材指標成分阿魏酸的含量不得少於 0.03%。理論板數按阿魏酸波峰計算應不低於 5000 (實際值為 12900)。

表六、臺灣市售當歸檢品之阿魏酸的含量

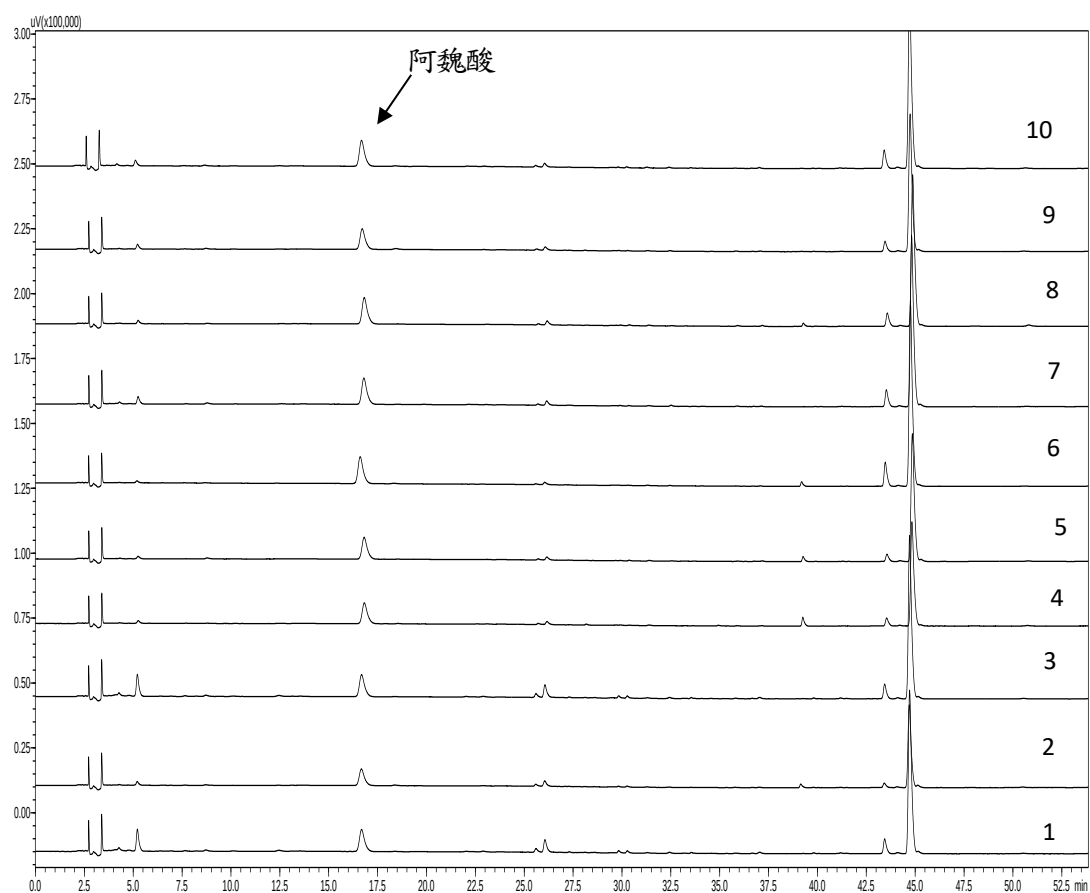
藥材編號(No.)	阿魏酸含量(%)	藥材編號(No.)	阿魏酸含量(%)
1 (CA-3)	0.078	6 (ND-2)	0.097
2 (NB)	0.097	7 (NR)	0.074
3 (NC-1)	0.060	8 (NY)	0.088
4 (NC-3)	0.097	9 (SA)	0.055
5 (ND-1)	0.096	10 (SAA)	0.105

(十一) 當歸藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售當歸檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：COSMOSIL 5C₁₈ AR-II-C18 Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 320 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：

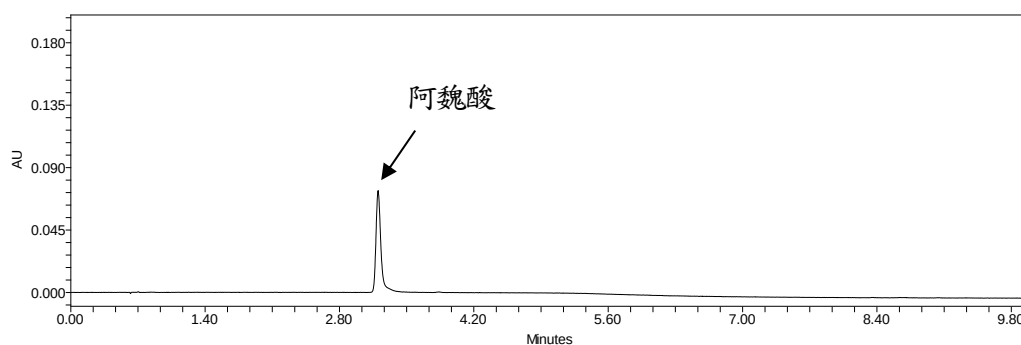
時間(min)	乙腈(%)	0.05%磷酸(v/v, %)
0	15	85
10	15	85
20	20	80
30	38	62
40	60	40
50	63	37
60	100	0



圖六、10 批當歸藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 標準品阿魏酸之 UPLC 層析

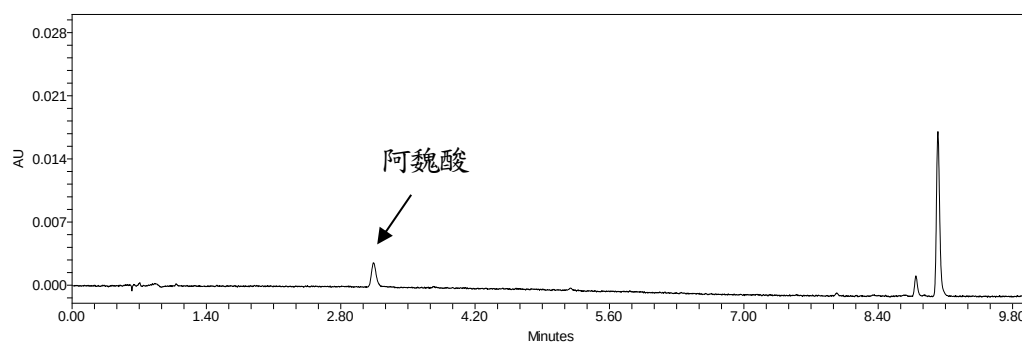
於滯留時間 3.20 分鐘處顯示阿魏酸標準品的波峰(圖七)。



圖七、阿魏酸標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售當歸檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 3.14 分鐘處顯示當歸檢品中阿魏酸的波峰(圖八)。

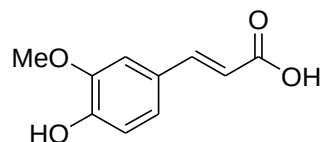


圖八、市售當歸檢品之 UPLC 層析圖

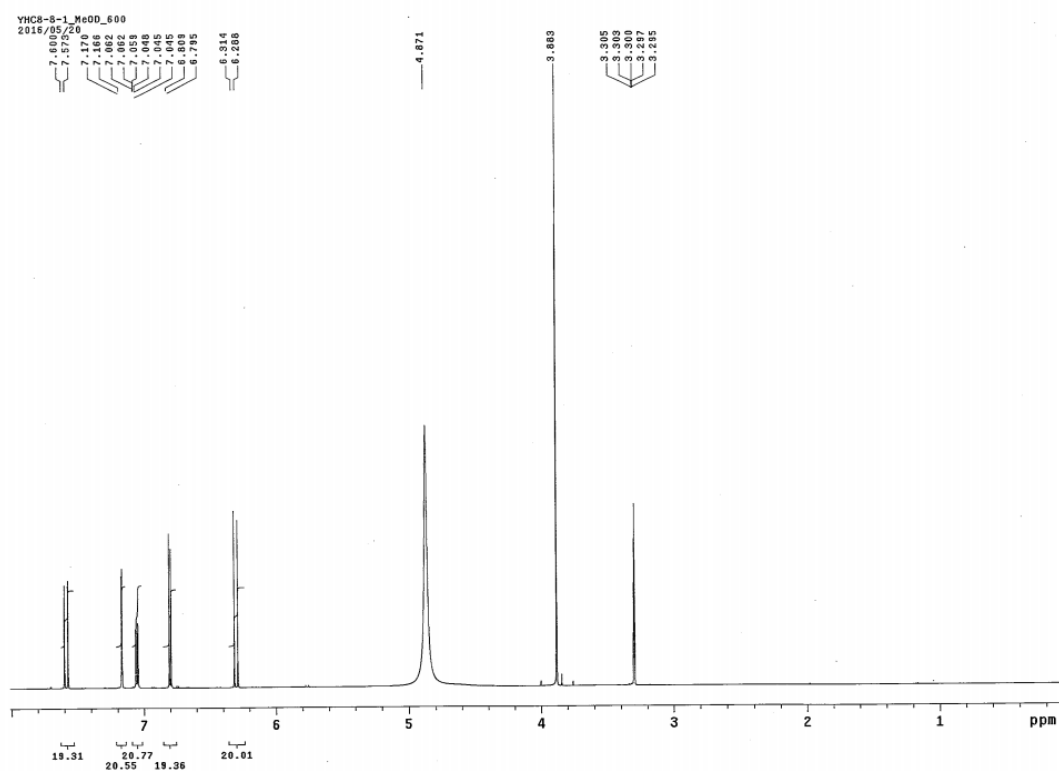
(十四) 阿魏酸的分子式、分子量與熔點

分子式: $C_{10}H_{10}O_4$ ；分子量：194.19；熔點：173–175 °C；白色固體。

(十五) 阿魏酸的結構

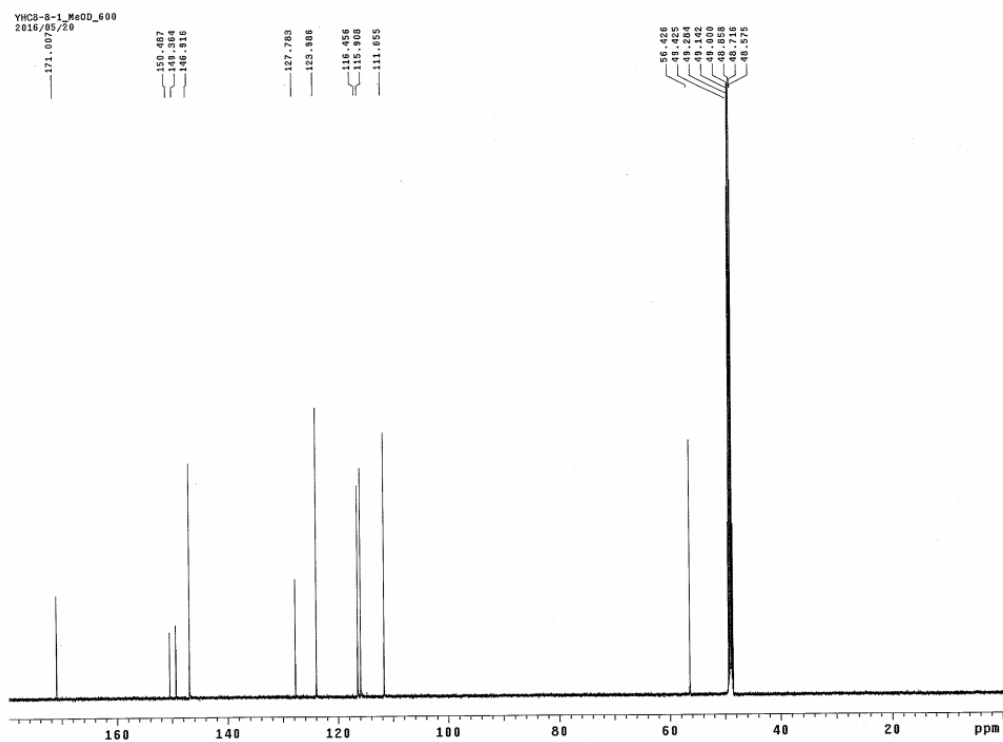


(十六) 阿魏酸的 ^1H NMR 圖譜



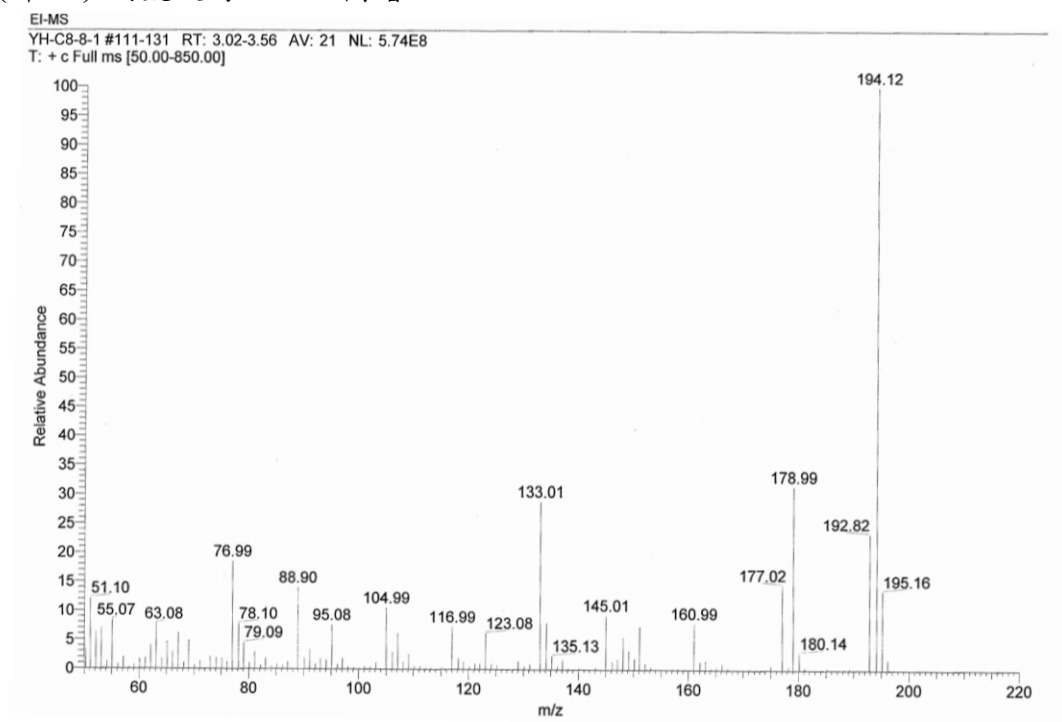
圖十、阿魏酸的 ^1H NMR 圖譜(CD_3OD)

(十七) 阿魏酸的 ^{13}C NMR 圖譜



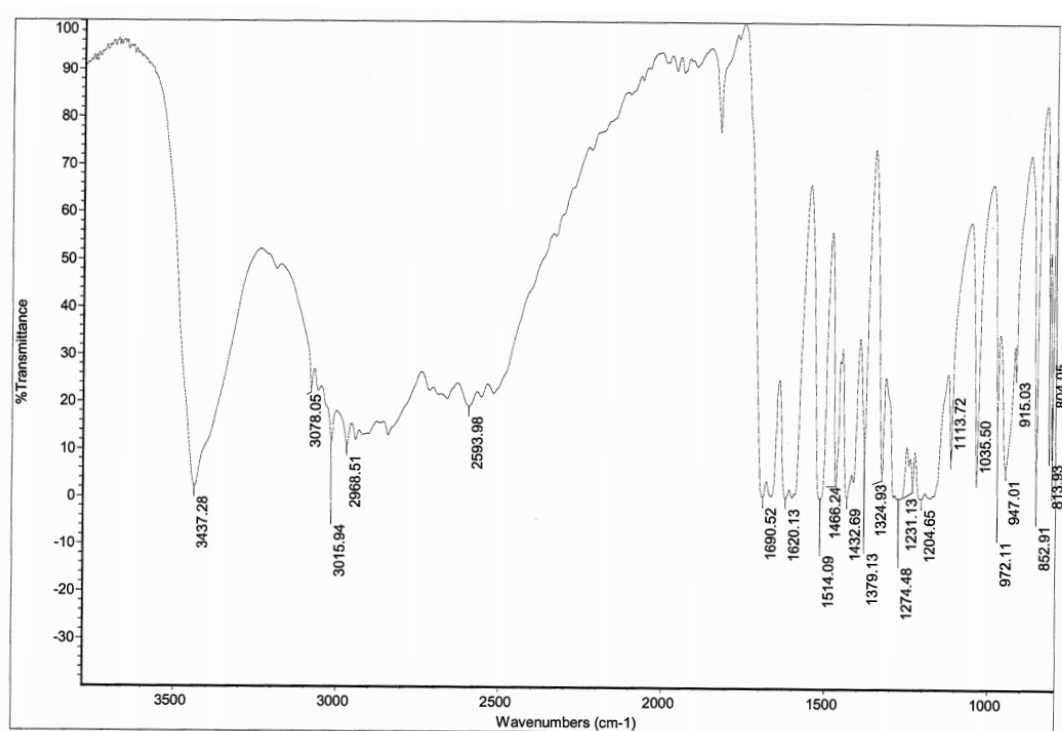
圖十一、阿魏酸的 ^{13}C NMR 圖譜(CD_3OD)

(十八) 阿魏酸的 EI-MS 圖譜



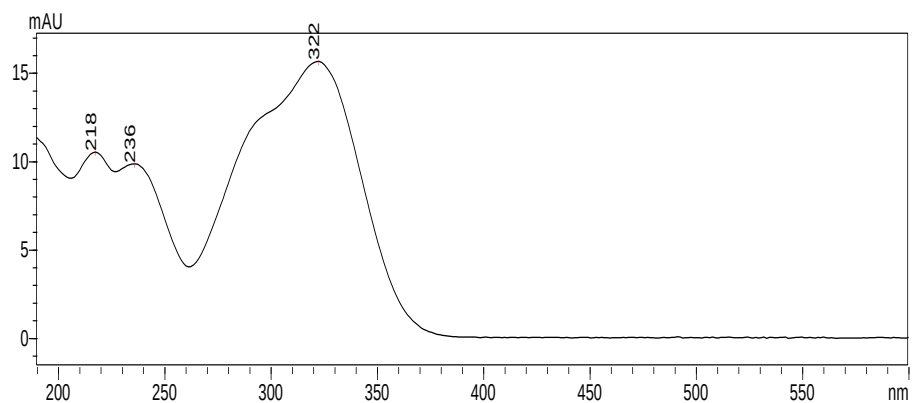
圖十二、阿魏酸的 EI-MS 圖譜

(十九) 阿魏酸的 FTIR 圖譜



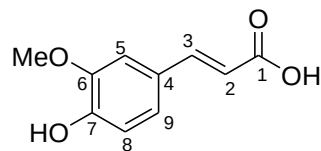
圖十三、阿魏酸的 FTIR 圖譜

(二十) 阿魏酸的 UV 圖譜



圖十三、阿魏酸的 UV 圖譜

(二十一) 阿魏酸的氫、碳化學位移



阿魏酸

表七、阿魏酸的氫、碳化學位移(CD₃OD)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	-	171.0
2	6.30 (d, 15.6)	115.9
3	7.59 (d, 15.6)	146.9
4	-	127.8
5	7.17 (d, 1.8)	111.7
6	-	149.4
7	-	150.5
8	6.80 (d, 8.4)	116.5
9	7.05 (dd, 8.4, 1.8)	124.0
OMe	3.88 (s)	56.4

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

當歸飲片(ANGELICAE SINENSIS RADIX)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店當歸飲片共 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 COSMOSIL 5C₁₈ AR-II-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 x 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(95%)購自於國韶實業有限公司；
甲醇(HPLC grade)購自於 Merck；磷酸(85%)購自於 Sigma-Aldrich。

(二) 標準品

標準品阿魏酸(Ferulic acid)購自於友和貿易股份有限公司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

當歸飲片最佳萃取溶媒同當歸藥材。

(二) 最佳萃取次數評估

當歸飲片最佳萃取次數同當歸藥材。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品阿魏酸 0.5 mg，加 1 mL 的 70% 甲醇製成每 1 mL 含阿魏酸 500 μg 的標準品儲備溶液，並以 70% 甲醇稀釋至 3.0 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 0.2 g，置 50 mL 圓底瓶中，準確加入 70% 甲醇 25 mL，加熱迴流處理 30 分鐘，冷卻後，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 50 mL 之定量瓶中，加 70% 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 μ L，注入 HPLC，測定，用標準曲線分別計算溶液中阿魏酸的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取阿魏酸標準品儲備溶液適量(500 μ g/mL)，以 70% 甲醇稀釋成含阿魏酸分別為 250、100、50、25、10、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

以阿魏酸濃度為 3.0 μ g/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以阿魏酸的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

- 一、重複性：取同一批市售當歸飲片粉末，依當歸飲片檢品溶液製備方法平行製備 5 份當歸飲片檢品溶液，進樣測定，以阿魏酸的含量(%)為指標，求出相對標準差。
- 二、穩定性：取同一批市售當歸飲片粉末，依當歸飲片檢品溶液製備方法製備當歸飲片檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以阿魏酸的波峰面積為指標，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

取已知阿魏酸含量的當歸飲片粉末 5 份，每份準確稱取約 0.2 g，分別加入 1 mL 的阿魏酸溶液(100 μ 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：COSMOSIL 5C₁₈ AR-II-C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 320 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：

三、 時間(min)	四、 乙腈(%)	五、 0.05%磷酸(v/v, %)
六、 0	七、 15	八、 85
九、 10	十、 15	十一、 85
十二、 20	十三、 20	十四、 80
十五、 30	十六、 38	十七、 62
十八、 40	十九、 60	二十、 40
二十一、 50	二十二、 63	二十三、 37
二十四、 60	二十五、 100	二十六、 0

(十二) 臺灣市售當歸飲片含量測定

取 10 批市售當歸飲片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 公式計算樣品阿魏酸的百分含量。

(十三) 當歸飲片檢品之 UPLC 層析條件

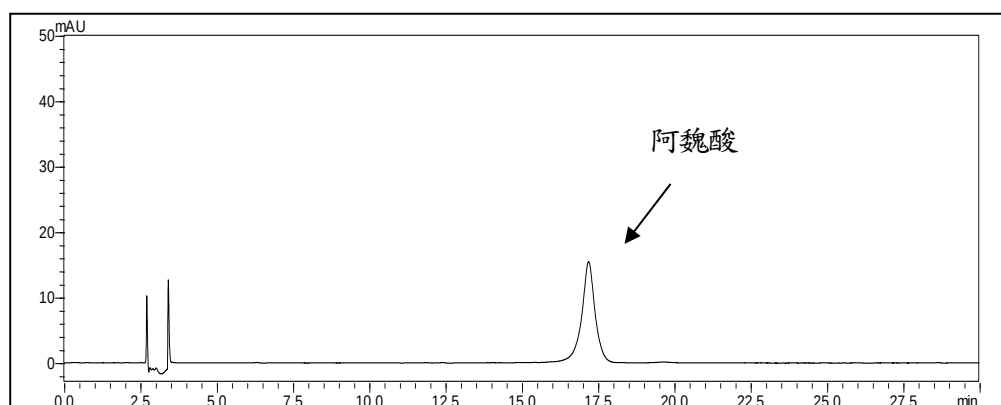
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 320 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

二十七、 時間 (min)	二十八、 乙腈(%)	二十九、 0.1%磷酸(v/v, %)
三十、 0	三十一、 15	三十二、 85
三十三、 2	三十四、 15	三十五、 85
三十六、 4	三十七、 20	三十八、 80
三十九、 6	四十、 38	四十一、 62
四十二、 8	四十三、 60	四十四、 40
四十五、 10	四十六、 63	四十七、 37

五、結果

(一) 標準品阿魏酸之 HPLC 層析

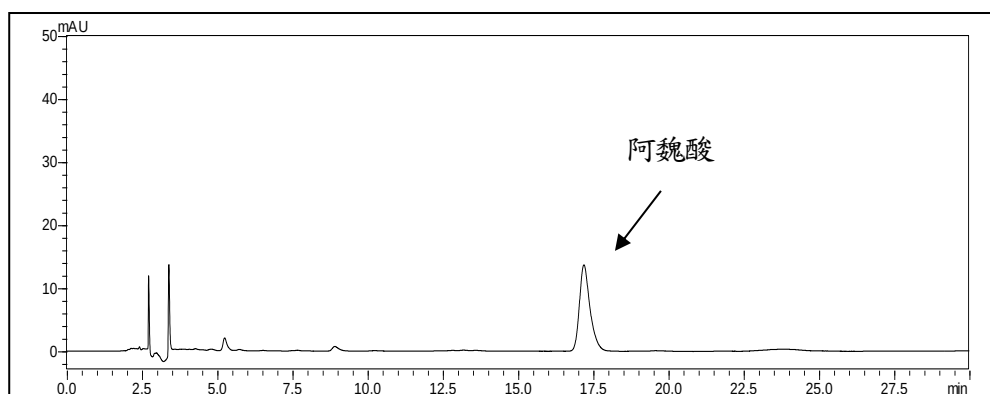
於滯留時間 17.19 分鐘處顯示阿魏酸標準品的波峰(圖一)。



圖一、阿魏酸標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售當歸飲片檢品之 HPLC 層析

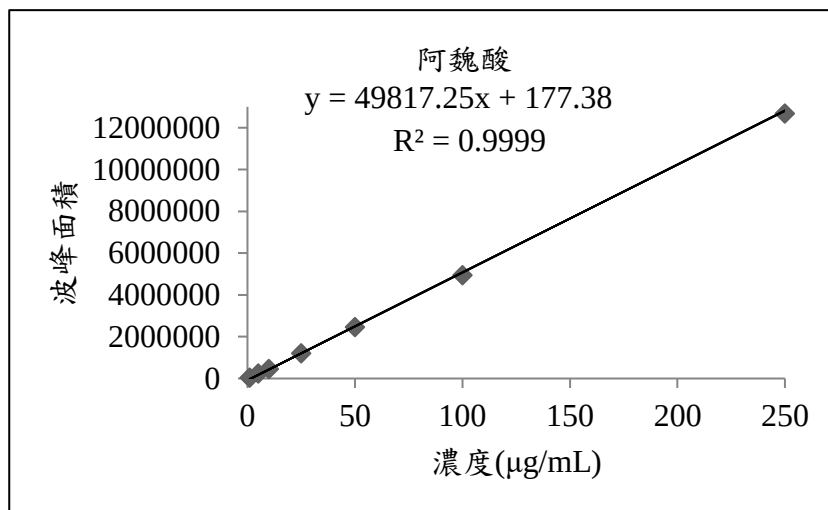
於滯留時間 17.13 分鐘處顯示當歸飲片檢品中阿魏酸的波峰(圖二)。分離率(R)為 17.31，托尾因子(T)為 1.01，均在系統適用性要求內。



圖二、市售當歸飲片檢品之 HPLC 層析圖

(三) 標準品阿魏酸檢量線

經不同濃度阿魏酸(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 $y = 49817.25x + 177.38$ ， $R^2 = 0.9999$ ，顯示濃度在 1.0–250 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、阿魏酸之檢量線圖

表一、阿魏酸之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
阿魏酸	1.0–250	$y = 49817.25x + 177.38$	0.9999

(四) 精密度試驗

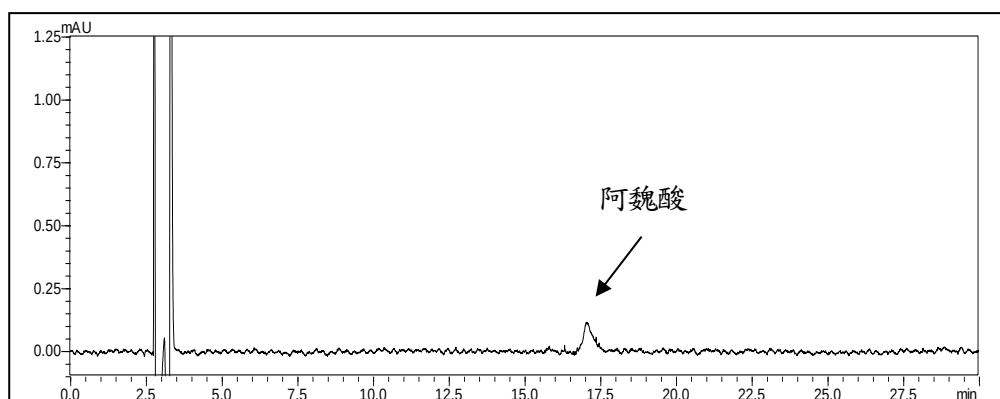
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，阿魏酸精密度之相對標準差為 0.19%，在系統適用性要求內。

(五) 重複性與穩定性試驗

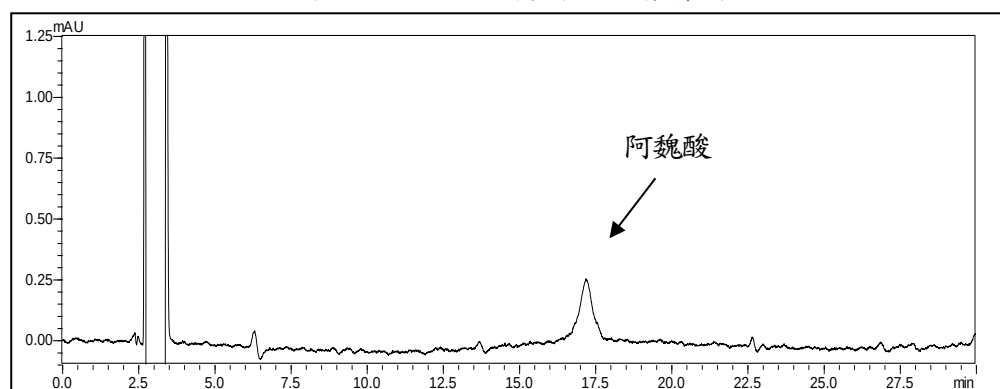
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，阿魏酸重複性之相對標準差為 0.90%，在系統適用性要求內。阿魏酸在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差為 0.31%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(六) 偵測極限與定量極限試驗

阿魏酸偵測極限為 0.03 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 0.10 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、阿魏酸之偵測極限層析圖



圖五、阿魏酸之定量極限層析圖

表二、各項檢驗分析

檢測項目	阿魏酸	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	3.0 $\mu\text{g/mL}$	0.19
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.2)	0.90
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.2)	0.31
偵測極限 (n=3)	0.03 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=3)	0.10 $\mu\text{g/mL}$	-

(七) 添加回收率試驗

阿魏酸平均添加回收率為 95.8%，相對標準偏差為 2.91%。

表五、阿魏酸添加回收率

四十八號	四十九、 材稱重 (g)	五十、 有量 (mg)	五十一、 入量 (mg)	五十二、 得量 (mg)	五十三、 收率 (%)	五十四、 均回收率 (%)	五十五、 .S.D. (%)
五十六	五十七、 .2	五十八、 .13	五十九、 .10	六十、 .221	六十一、 1.53		
六十四	六十五、 .2	六十六、 .13	六十七、 .10	六十八、 .228	六十九、 8.44		
七十、	七十一、 .2	七十二、 .13	七十三、 .10	七十四、 .226	七十五、 5.56	六十二、 5.77	九十三、 .91
七十六	七十七、 .2	七十八、 .13	七十九、 .10	八十、 .225	八十一、 5.18		
八十二	八十三、 .2	八十四、 .13	八十五、 .10	八十六、 .228	八十七、 8.15		

(八) 臺灣市售當歸飲片含量測定

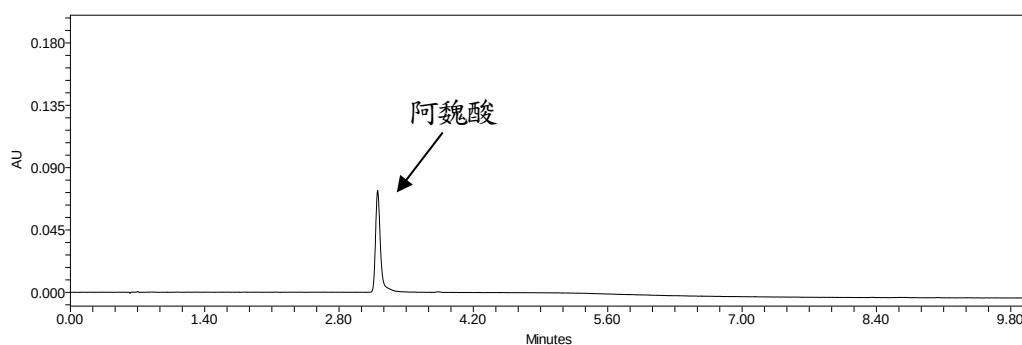
10 批當歸飲片之含量測定結果(乾燥品)如表四所示，阿魏酸的含量為 0.055–0.097%。建議當歸飲片指標成分阿魏酸的含量不得少於 0.03%。理論板數按阿魏酸的波峰計算應不低於 8000 (實際值為 18294)。

表四、臺灣市售當歸檢品之阿魏酸的含量

藥材編號(No.)	阿魏酸含量(%)	藥材編號(No.)	阿魏酸含量(%)
1 (CA-1)	0.074	6 (NR)	0.074
2 (CA-2)	0.079	7 (SC)	0.079
3 (NC)	0.060	8 (SG)	0.055
4 (NF)	0.097	9 (SU-1)	0.096
5 (NJ)	0.096	10 (SU-2)	0.096

(九) 標準品阿魏酸之 UPLC 層析

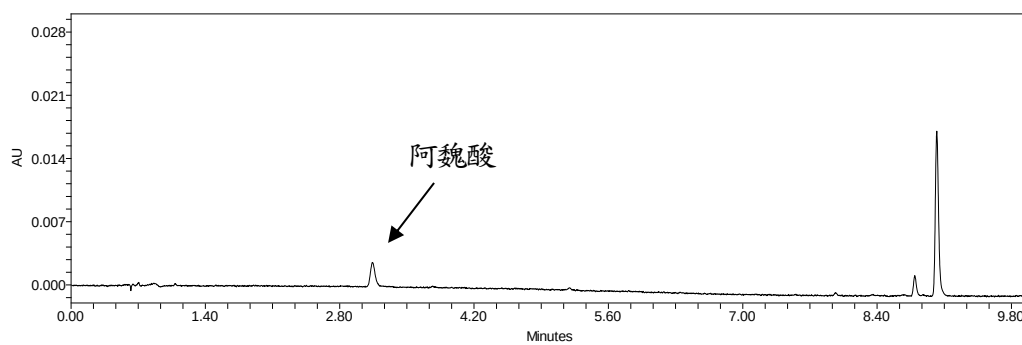
於滯留時間 3.20 分鐘處顯示阿魏酸標準品的波峰(圖六)。



圖六、阿魏酸標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十) 市售當歸飲片檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 3.14 分鐘處顯示當歸飲片檢品中阿魏酸的波峰(圖七)。



圖七、市售當歸飲片檢品之 UPLC 層析圖

當歸

生藥名：ANGELICAE SINENSIS RADIX

英文名：Chinese Angelica Root

基 原：本品為繖形科 Umbelliferae 植物當歸 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 之乾燥根。

一、方法

- (一) 檢 品 溶 液 **【萃取方法 1】(臺灣中藥典第二版 2013)**
——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 15 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，取濾液作為檢品溶液。
【萃取方法 2】(自行開發)
——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 10 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，取濾液作為檢品溶液。
【萃取方法 3】(自行開發) ✓
——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 5 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，取濾液作為檢品溶液。
- (二) 對照標準品 取阿魏酸(Ferulic 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)**
——正己烷：乙酸乙酯 (85：15)
【展開劑 2】(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 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，於可見光下檢視。

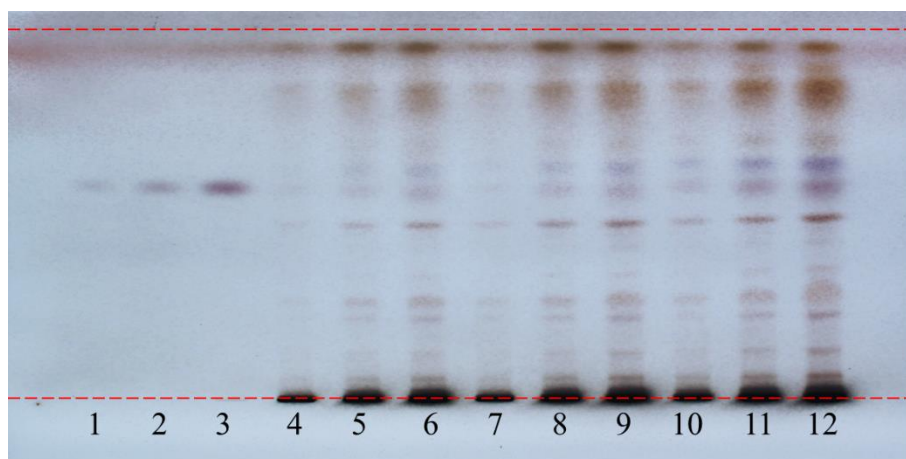
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：107/05/28

相對溼度(RH)：53%

溫度(RT)：29 °C

【展開劑 2】 (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	阿魏酸(0.2 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
4, 5, 6	檢品溶液 6【萃取方法 1】	2, 5, 8 μ L
7, 8, 9	檢品溶液 6【萃取方法 2】	2, 5, 8 μ L
10, 11, 12	檢品溶液 6【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阿魏酸，而由於點片濃度較合適，故選擇【萃取方法 3】。

建議點注量：阿魏酸標準品溶液 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 3】5 μ L。

三、溶媒系統選擇

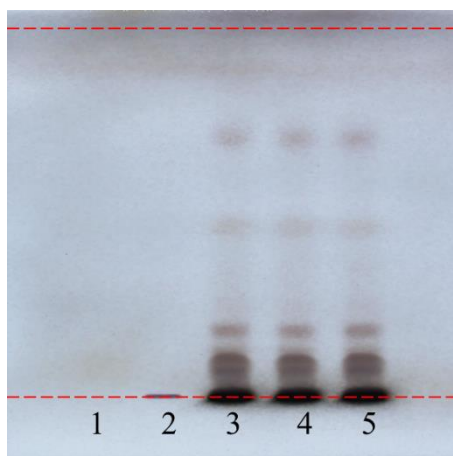
實驗日期：107/05/29

相對溼度(RH)：52%

溫度(RT)：29 °C

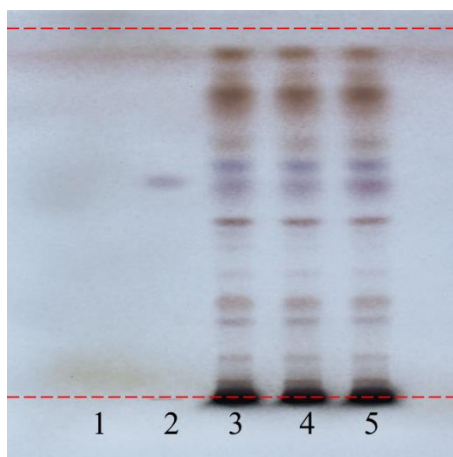
【展開劑 1】 (修飾臺灣中藥典第二版 2013)——正己烷：乙酸乙酯 (85：15)

【萃取方法 3】 (自行開發)——HPTLC 10%硫酸乙醇顯色後可見光檢出(阿魏酸 R_f 值為 0)



【展開劑 2】 (自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (6：3：1)

【萃取方法 3】 (自行開發)——HPTLC 10%硫酸乙醇顯色後可見光檢出(阿魏酸 R_f 值為 0.58)



1：Blank

2：阿魏酸

3，4：檢品溶液 6

5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 3】方式，唯【展開劑 2】展開可從檢品溶液中分離與檢出阿魏酸，故採用自行開發之【展開劑 2】。

四、觀察方式選擇

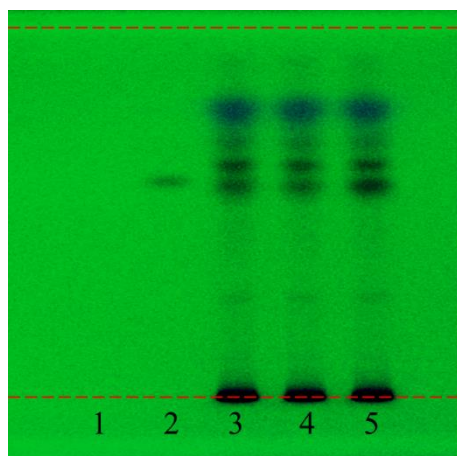
實驗日期：107/05/29

相對溼度(RH)：52%

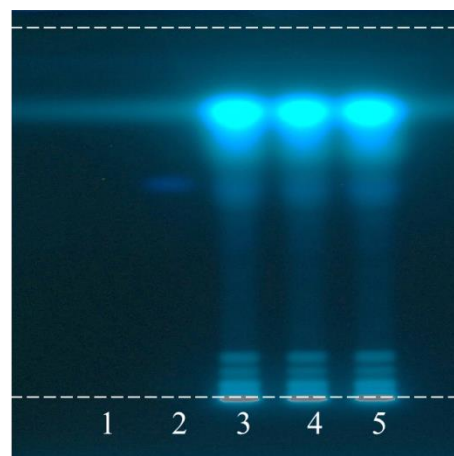
溫度(RT)：29 °C

【展開劑 2】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (6：3：1)

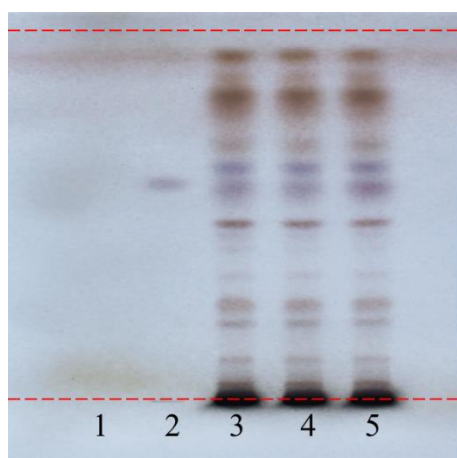
【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



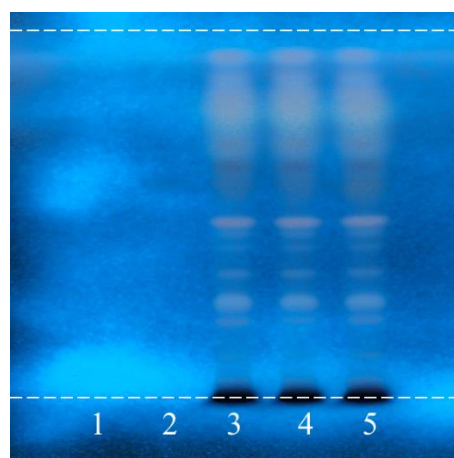
【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 顯色/可見光檢出✓



【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 顯色/紫外光(365 nm)檢出



1：Blank

2：阿魏酸

3，4：檢品溶液 6

5：Spike

建議觀察方式：經 10%硫酸乙醇顯色後，於可見光檢視較其他觀察方式有顯示出較多條帶，且有明顯之阿魏酸標準品斑點。

五、十批當歸藥材樣品檢測

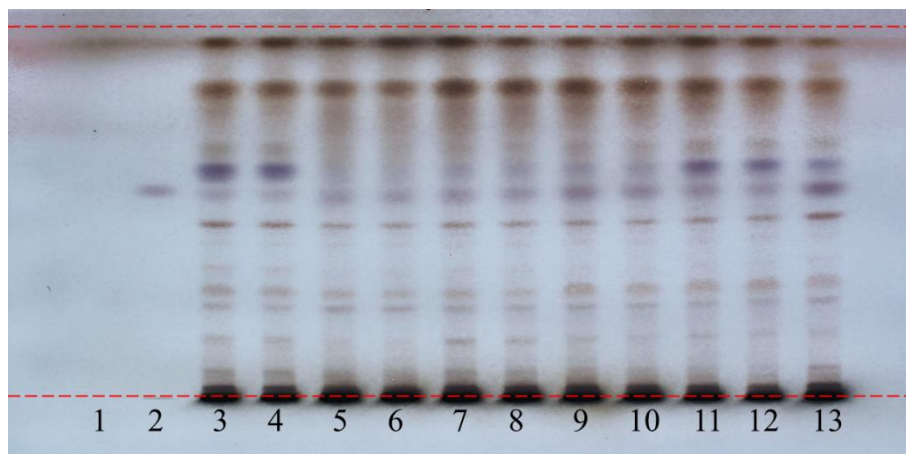
實驗日期：107/05/29

相對溼度(RH)：52%

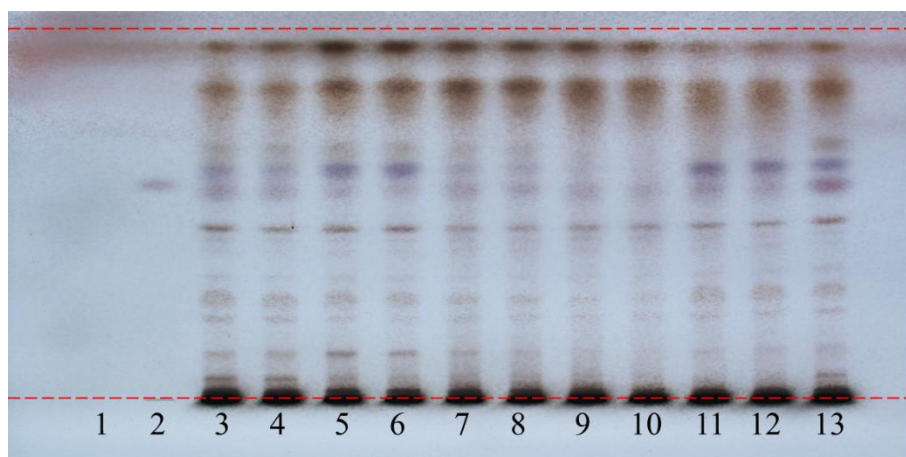
溫度(RT)：29 °C

【展開劑 2】 (自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (6：3：1)

【萃取方法 3】 (自行開發)——HPTLC 10%硫酸乙醇顯色後可見光檢出



1	Blank
2	阿魏酸(0.2 mg/mL)
3, 4	檢品溶液 1 (NB)
5, 6	檢品溶液 2 (NC-1)
7, 8	檢品溶液 3 (NC-3)
9, 10	檢品溶液 4 (ND-1)
11, 12	檢品溶液 5 (ND-2)
13	Spike (檢品溶液 6)



1	Blank
2	阿魏酸(0.2 mg/mL)
3, 4	檢品溶液 6 (NR)
5, 6	檢品溶液 7 (NY)
7, 8	檢品溶液 8 (CA-3)
9, 10	檢品溶液 9 (SA)
11, 12	檢品溶液 10 (SAA)
13	Spike (檢品溶液 6)

結論與建議：以自行開發之【萃取方法 3】方式，並以自行開發之【展開劑 2】分離與檢出阿魏酸較佳，以 10%硫酸乙醇顯色後，於可見光下檢視較佳。

當歸(飲片)

六、十批當歸飲片樣品檢測

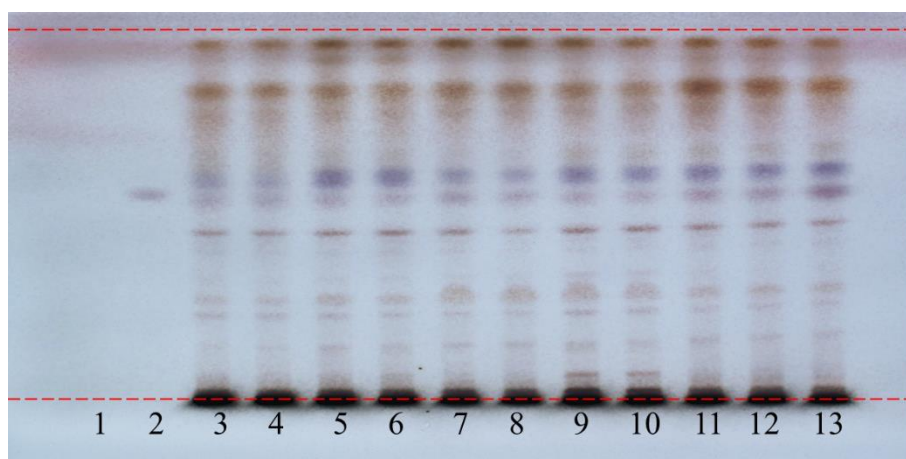
實驗日期：107/05/02

相對溼度(RH)：62%

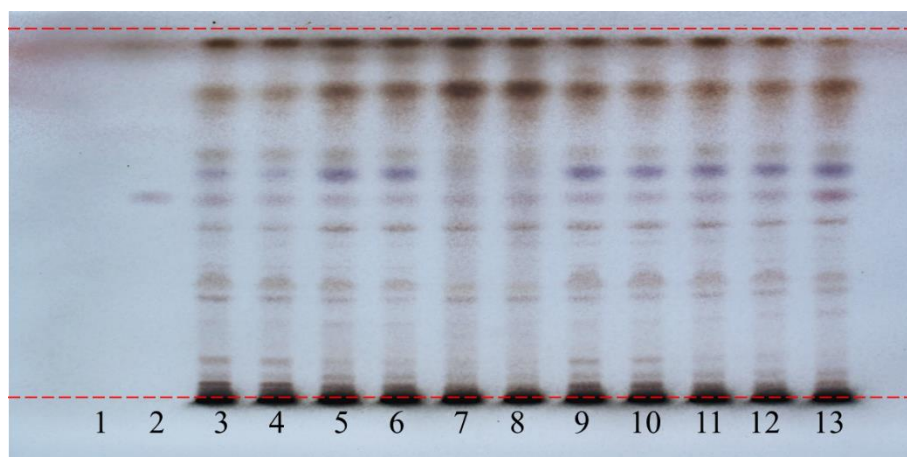
溫度(RT)：26 °C

【展開劑 2】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (6：3：1)

【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC 10%硫酸乙醇顯色後可見光檢出



1	Blank
2	阿魏酸(0.2 mg/mL)
3, 4	檢品溶液 1 (NC)
5, 6	檢品溶液 2 (NF)
7, 8	檢品溶液 3 (NJ)
9, 10	檢品溶液 4 (NR)
11, 12	檢品溶液 5 (CA-1)
13	Spike (檢品溶液 5)



1	Blank
2	阿魏酸(0.2 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 6 (CA-2)
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。