

甘草

(GLYCYRRHIZAE RADIX)

甘草 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

甘草 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.....	9

甘草 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

甘草 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.....	31
五、十批甘草藥材樣品檢測.....	32
六、十批甘草飲片樣品檢測.....	34

甘草

(GLYCYRRHIZAE 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甘草的乾燥根。

二、藥材性狀描述(圖 1)

藥材名：甘草

生藥名：GLYCYRRHIZAE RADIX

英文名：Liquorice Root

基原：豆科 Fabaceae 植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的乾燥根。

採收加工：春、秋二季採挖，除去鬚根，曬乾。

藥材性狀：本藥材為根呈圓柱形，長 25~100 cm，直徑 0.6~3.5 cm。外皮鬆緊不一。表面紅棕色或灰棕色，具顯著的縱皺紋、溝紋、皮孔及稀疏的細根痕。質堅實，斷面略顯纖維性，黃白色，粉性，形成層環明顯，射線放射狀，有的有裂隙。根莖呈圓柱形，表面有芽痕，斷面中部有髓。氣微，味甜而特殊。

生長分佈：多年生草本，高 30~100 cm，花期 7~8 月，果期 8~9 月。栽培於向陽的乾燥草原、河岸砂質土等地。分佈於中國東北、西北、華北等地。主產於內蒙古、甘肅；其次為陝西、山西、遼寧、吉林、黑龍江、河北、青海、新疆等地。

三、藥材組織顯微鑑別(圖 2)

1. 木栓層為數列或 10 數列棕色細胞。
2. 皮層較狹窄，由數列長方形薄壁細胞所組成，與韌皮部相接處多有間隙。
3. 韌皮部射線寬廣，外側多彎曲，常現裂隙。
4. 韌皮纖維多成束，非木化或微木化，周圍薄壁細胞常含草酸鈣方晶。
5. 木射線寬 2~5 列細胞；導管較多，直徑約至 170 μm ；木纖維成束，周圍薄壁細胞亦含草酸鈣方晶。
6. 木質部寬闊，導管極多，主要為孔紋導管，偶見有網紋導管。



圖 1 甘草藥材圖

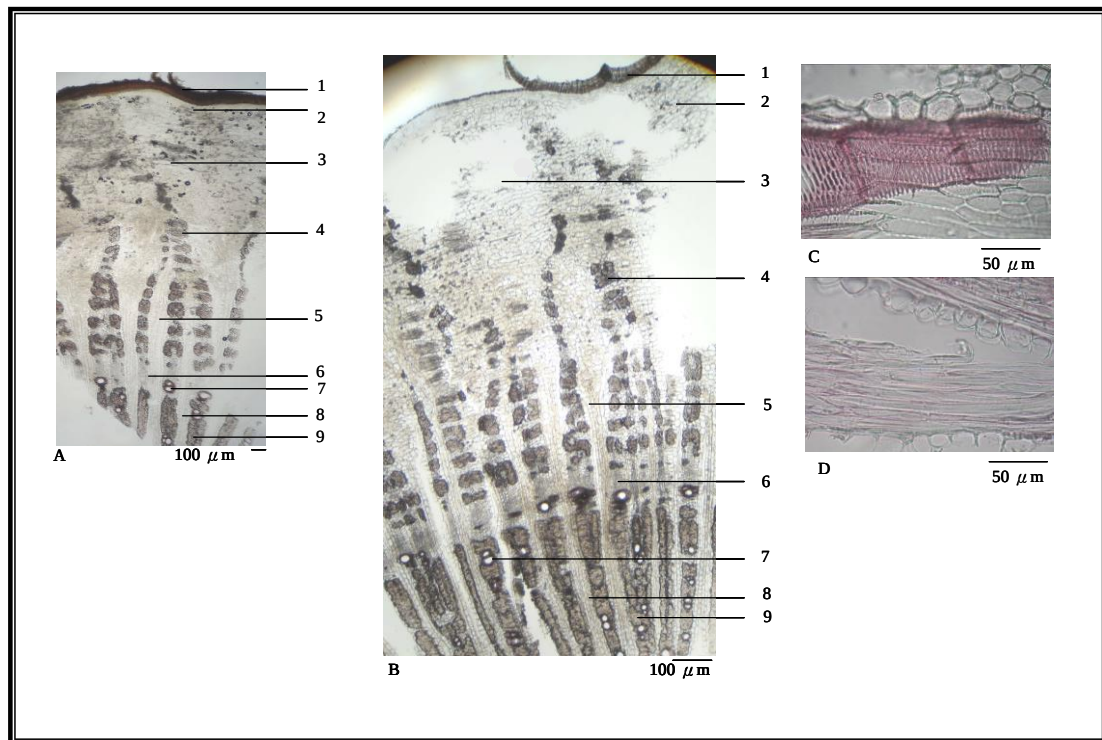


圖 2 甘草橫切面顯微特徵圖

A.簡圖 B.局部組織放大圖 C.孔紋導管 D.纖維

1.木栓層 2.皮層 3.裂隙 4.韌皮纖維束 5.韌皮射線 6.形成層 7.導管 8.木射線 9.木纖維束

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。48-49 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。45 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。61-62 頁。
4. 中華人民共和國香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部編製 (2005)。香港中藥材標準第二冊。香港：香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部。144-154 頁。
5. 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。241-248 頁。
6. 國家中醫藥管理局《中華本草》編委會編輯 (1999)。中華本草第 4 冊。上海：上海科學技術出版社。500-514 頁。
7. 國家藥典委員會 (2009)。中華人民共和國藥典中藥材顯微鑒別彩色圖鑒。北京：人民衛生出版社。132-133 頁。
8. 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。80-81 頁。
9. 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。92-93 頁。
10. 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。64-65 頁。
11. 趙中振等編輯 (2005)。中藥顯微鑒別圖鑒。遼寧科學技術出版社。222 頁。

甘草(GLYCYRRHYZAE RADIX ET RHIZOMA)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店甘草藥材共 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 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%)購自於國詔實業有限公司；甲醇(HPLC grade)購自於 Merck；磷酸(85%)購自於 Sigma-Aldrich。

(二) 標準品

標準品甘草酸(Glycyrrhizic 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 7 份，每份準確稱取 0.2 g，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇、70%甲醇、50%甲醇、乙醇、70%乙醇、50%乙醇、水各 25 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 5000 × g)，以 No. 1 濾紙過濾，取濾液，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甘草酸最大波峰面積為最佳甘草萃取溶媒。

(二) 最佳萃取次數評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 0.2 g，置 50 mL 離心管中，準確加入 50%乙醇 25 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 5000 × g)，以 No. 1 濾紙過濾，取濾液轉移至 25 mL 之定量瓶中，加入 50%乙醇至刻度，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

準確稱取標準品甘草酸 1.0 mg，加 1 mL 的 50%乙醇製成每 1 mL 含甘草酸 1000 μg 的標準品儲備溶液，並以 50%乙醇稀釋至 50 $\mu\text{g/mL}$ 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 0.2 g，置 50 mL 離心管中，準確加入 50%乙醇 25 mL，超音波振盪處理(功率 300W，頻率 40kHz) 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 50 mL 之定量瓶中，加 50%乙醇至刻度，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，用標準曲線分別計算溶液中甘草酸的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取甘草酸標準品儲備溶液適量(1000 $\mu\text{g/mL}$)，以 50%乙醇稀釋成含甘草酸分別為 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 。

(七) 精密度試驗

以甘草酸濃度為 50 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以甘草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:取同一批市售甘草粉末，依甘草檢品溶液製備方法平行製備 5 份甘草檢品溶液，進樣測定，以甘草酸的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性:取同一批市售甘草粉末，依甘草檢品溶液製備方法製備甘草檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以甘草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

取已知甘草酸含量的甘草藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.1 g，分別加入 1.5 mg 的甘草酸，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 254 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	25	75
20	50	50

(十二) 臺灣市售甘草含量測定

取 10 批市售甘草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 公式計算樣品甘草酸的百分含量。

(十三) 甘草檢品之 UPLC 層析條件

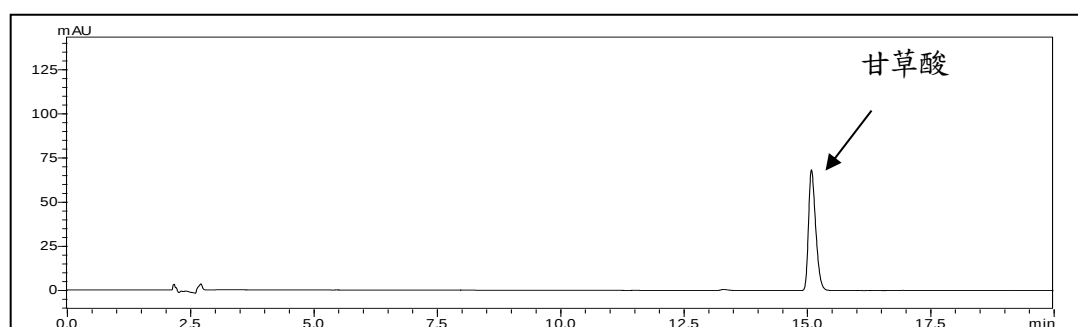
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 254 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	25	75
10	50	50

五、結果

(一) 標準品甘草酸之 HPLC 層析

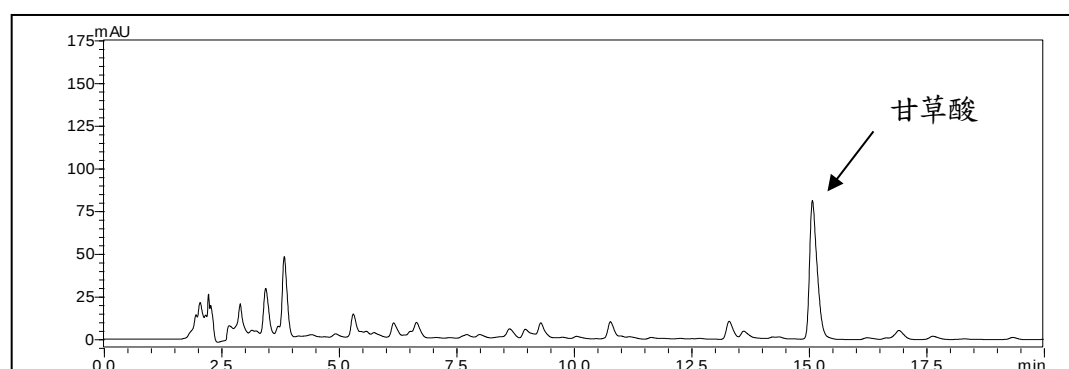
於滯留時間 15.1 分鐘處顯示甘草酸標準品波峰(圖一)。



圖一、甘草酸標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售甘草檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 15.0 分鐘處顯示甘草檢品中甘草酸波峰(圖二)。分離率(R)為 5.18，托尾因子(T)為 1.12，均在系統適用性要求內。



圖二、市售甘草檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒評估

以 50%乙醇為溶媒時，每克藥材重量所得甘草酸的波峰面積最大，顯示 50%乙醇為最佳萃取溶媒。

表一、不同溶媒萃取比較

溶媒	甘草酸波峰面積	最佳萃取
甲醇	388140	
70% 甲醇	737124	
50% 甲醇	738306	
乙醇	106416	
70% 乙醇	737407	
50% 乙醇	778166	√
水	666898	

(四) 最佳萃取次數評估

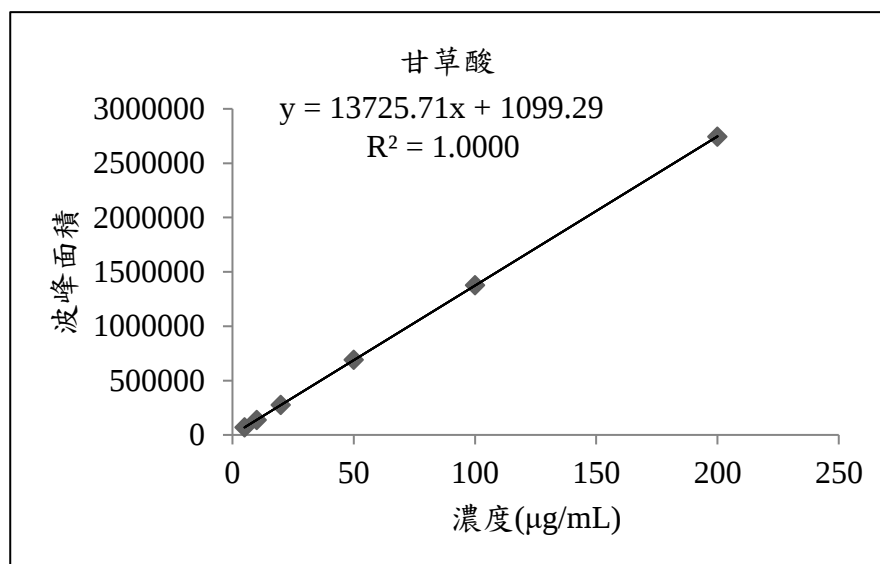
結果顯示萃取 2 次基本上已將甘草酸萃取完全(萃取率大於 98%)。

表二、甘草檢品萃取次數評估

50%乙醇萃取次數	甘草酸波峰面積
第 1 次	1493293
第 2 次	85435
第 3 次	8611
第 4 次	2107

(五) 標準品甘草酸檢量線

經不同濃度甘草酸(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 $y = 13725.71x + 1099.29$ ， $R^2 = 1.0000$ ，顯示濃度在 5.0–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、甘草酸之檢量線圖

表一、甘草酸之檢量線方程式

對照標準品	濃度(μg/mL)	線性回歸方程式	R^2
甘草酸	5.0–200	$y = 13725.71x + 1099.29$	1.0000

(六) 精密度試驗

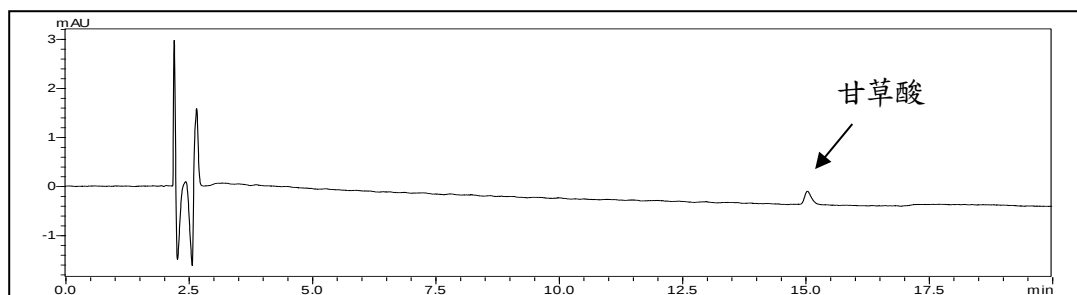
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，甘草酸精密度之相對標準差為 0.13%，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

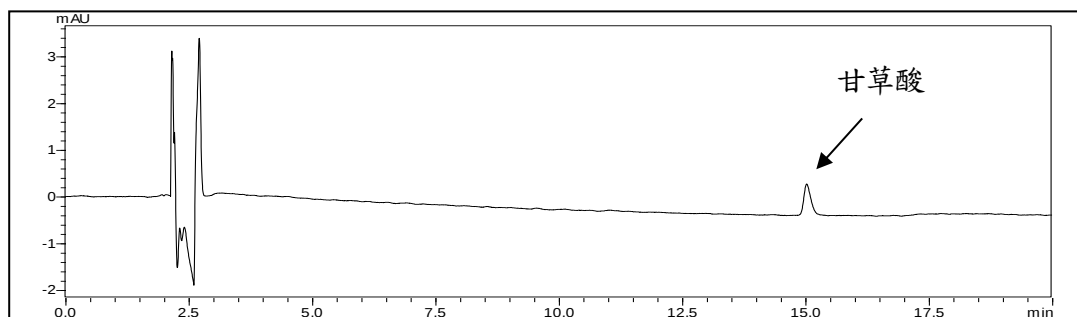
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，甘草酸重複性之相對標準差為 0.51%，在系統適用性要求內。甘草酸在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差為 0.61%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

甘草酸偵測極限為 0.2 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 0.5 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、甘草酸之偵測極限層析圖



圖五、甘草酸之定量極限層析圖

表二、各項檢驗分析

檢測項目	甘草酸	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	50 $\mu\text{g/mL}$	0.13
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.5)	0.51
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.5)	0.61
偵測極限 (n=3)	0.2 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=3)	0.5 $\mu\text{g/mL}$	-

(九) 添加回收率試驗

甘草酸平均添加回收率為 95.3%，相對標準偏差為 0.97%。

表三、甘草酸添加回收率

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	0.10	1.50	1.50	2.924	94.93	95.32	0.97
2	0.10	1.50	1.50	2.918	94.53		
3	0.10	1.50	1.50	2.924	94.93		
4	0.10	1.50	1.50	2.928	95.20		
5	0.10	1.50	1.50	2.955	97.00		

(十) 臺灣市售甘草含量測定

10 批甘草藥材之含量測定結果(乾燥品)如表四所示，甘草酸的含量為 0.946–2.056%。建議甘草藥材指標成分甘草酸的含量不得少於 2.0%。理論板數按甘草酸波峰計算應不低於 8000 (實際值為 44854)。

表四、臺灣市售甘草檢品之甘草酸的含量

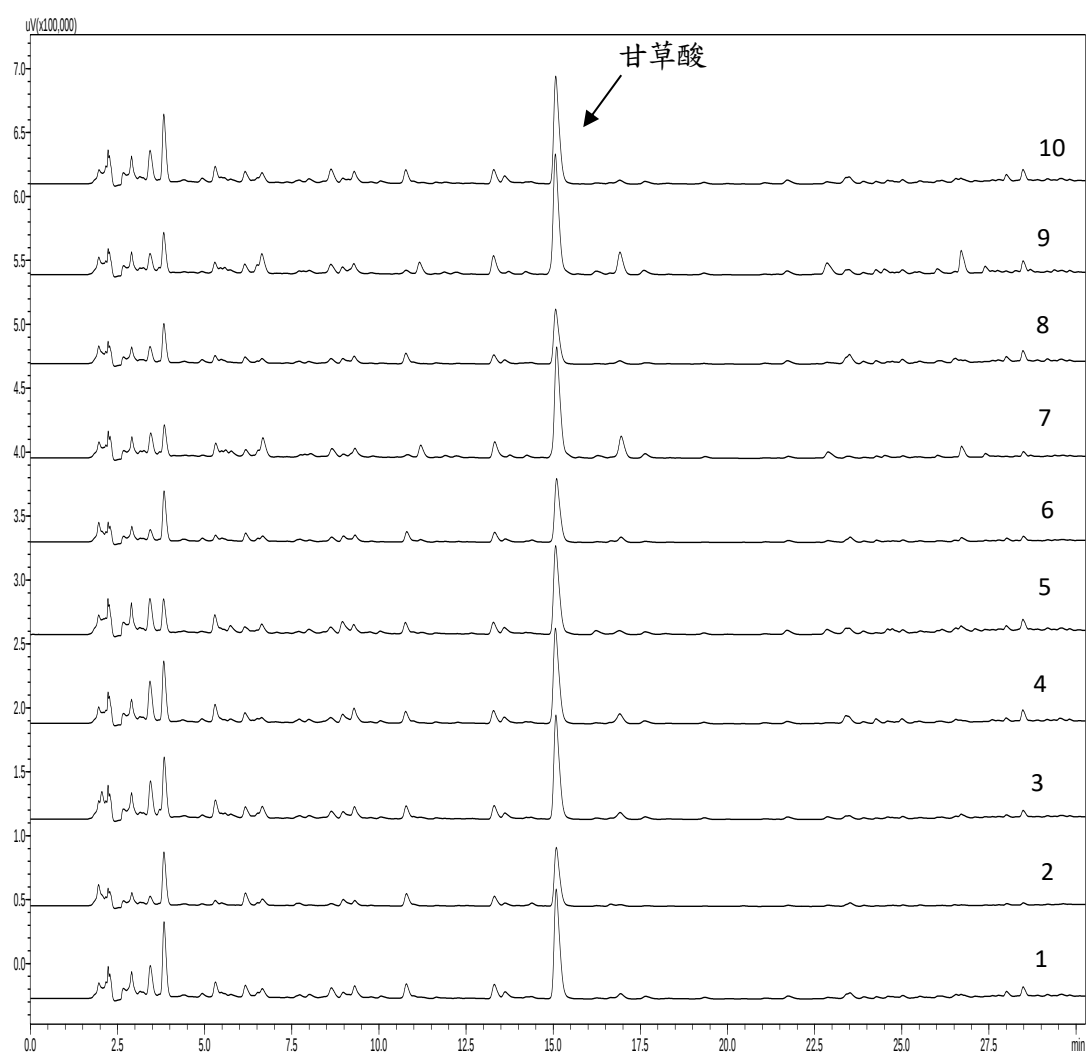
藥材編號(No.)	甘草酸含量(%)	藥材編號(No.)	甘草酸含量(%)
1 (SU-2)	1.892	6 (NC)	1.103
2 (SU-1)	1.028	7 (ND-2)	2.009
3 (SS)	1.826	8 (ND-1)	0.946
4 (SE-2)	1.830	9 (NH)	2.056
5 (NE)	1.802	10 (NB)	1.845

(十一) 甘草藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售甘草檢品溶液各 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 254 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：

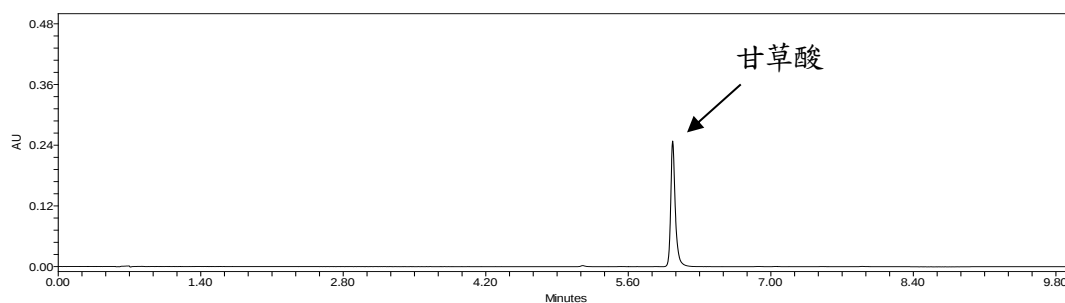
時間(min)	乙腈(%)	0.05%磷酸(v/v, %)
0	25	75
20	50	50
30	100	0



圖六、10 批甘草藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 標準品甘草酸之 UPLC 層析

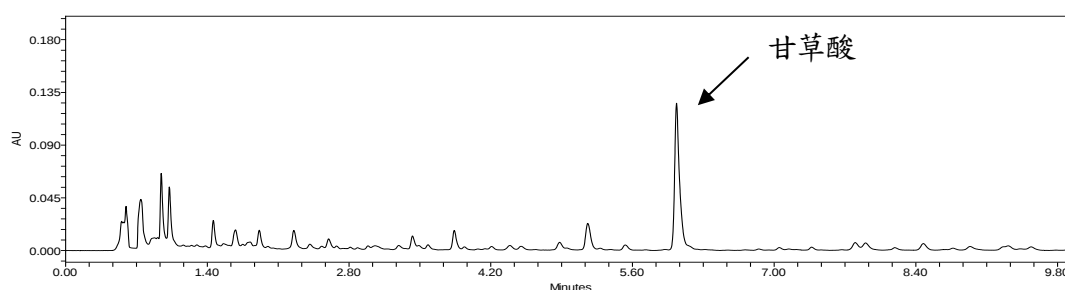
於滯留時間 6.05 分鐘處顯示甘草酸標準品的波峰(圖六)。



圖六、甘草酸標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售甘草檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 6.03 分鐘處顯示甘草檢品中甘草酸的波峰(圖七)。

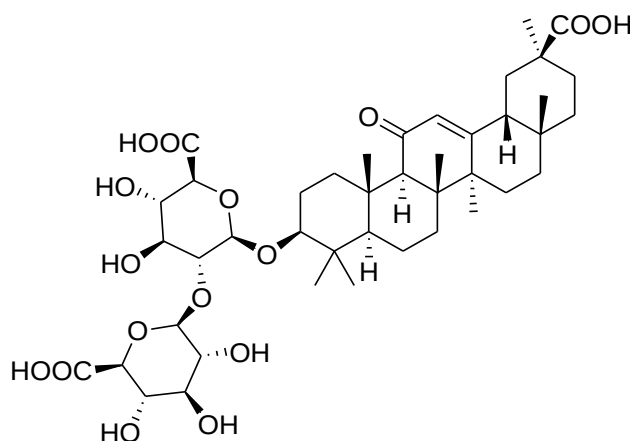


圖七、市售甘草檢品之 UPLC 層析圖

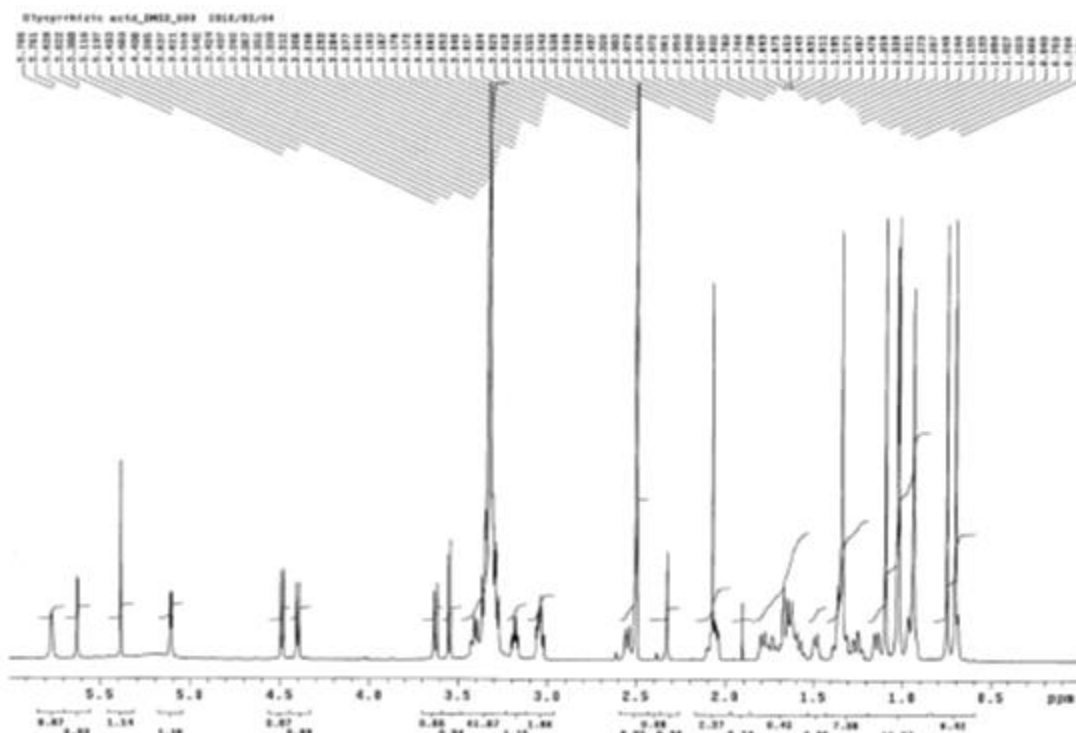
(十四) 甘草酸的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{42}H_{62}O_{16}$ ；分子量：822.95；熔點：226–227 °C；白色粉末。

(十五) 甘草酸的結構

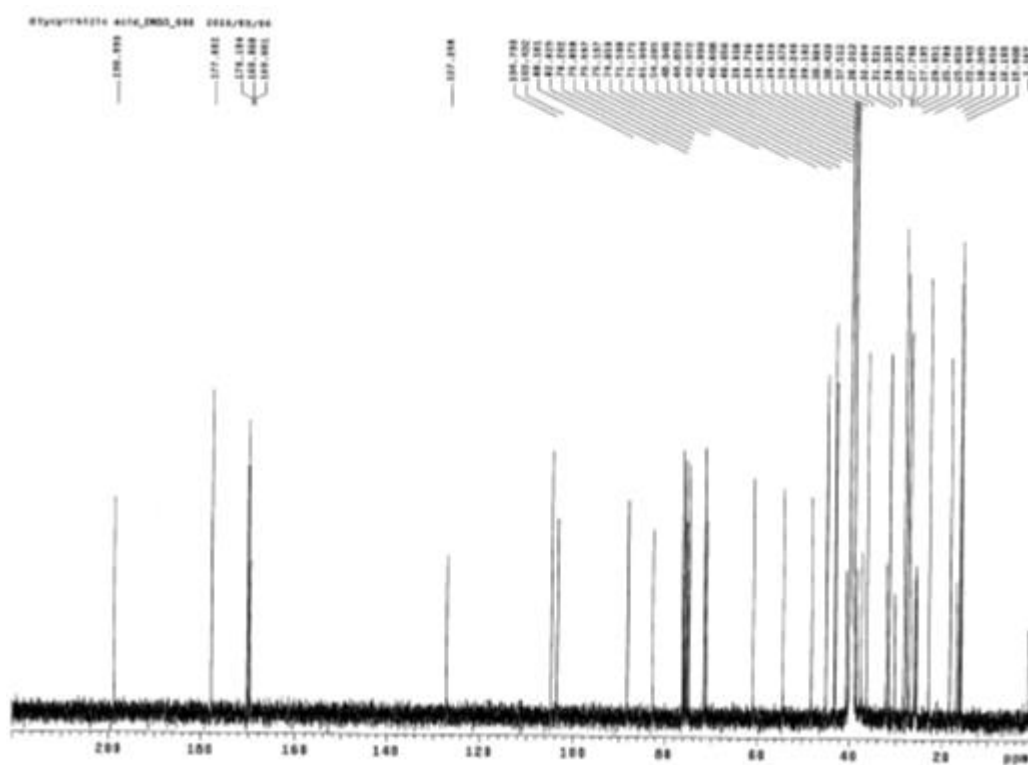


(十六) 甘草酸的 ^1H NMR 圖譜



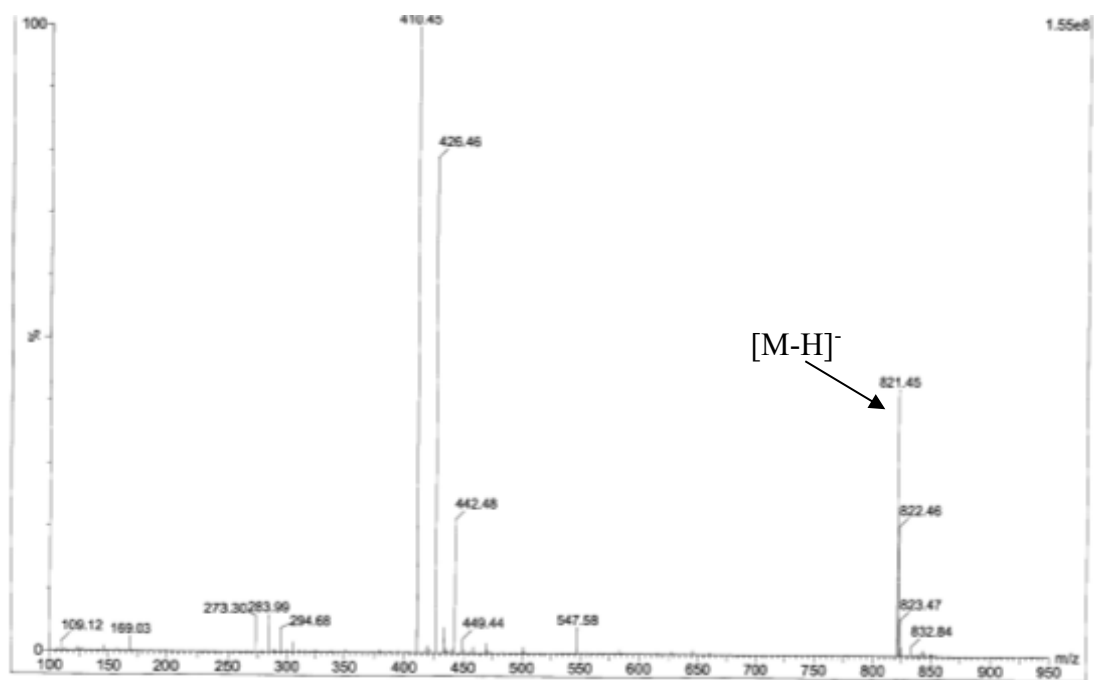
圖九、甘草酸的 ^1H NMR 圖譜(CDCl_3)

(十七) 甘草酸的 ^{13}C NMR 圖譜



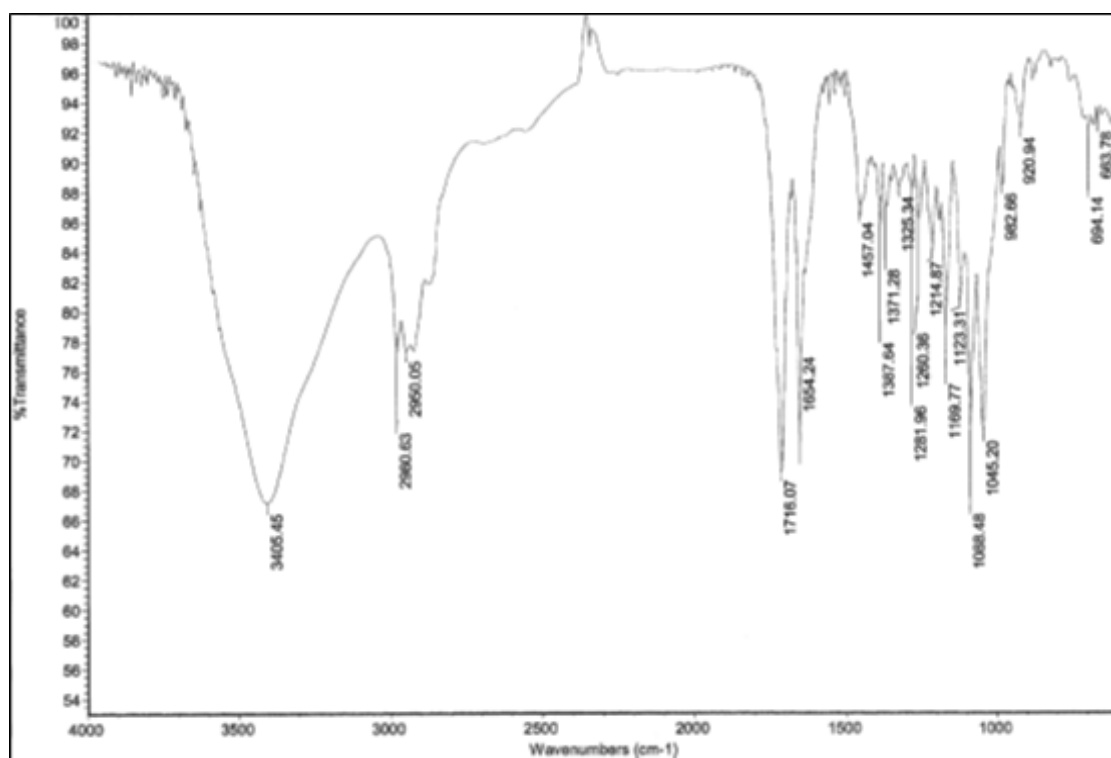
圖十、甘草酸的 ^{13}C NMR 圖譜(CDCl_3)

(十八) 甘草酸的 ESI-MS 圖譜



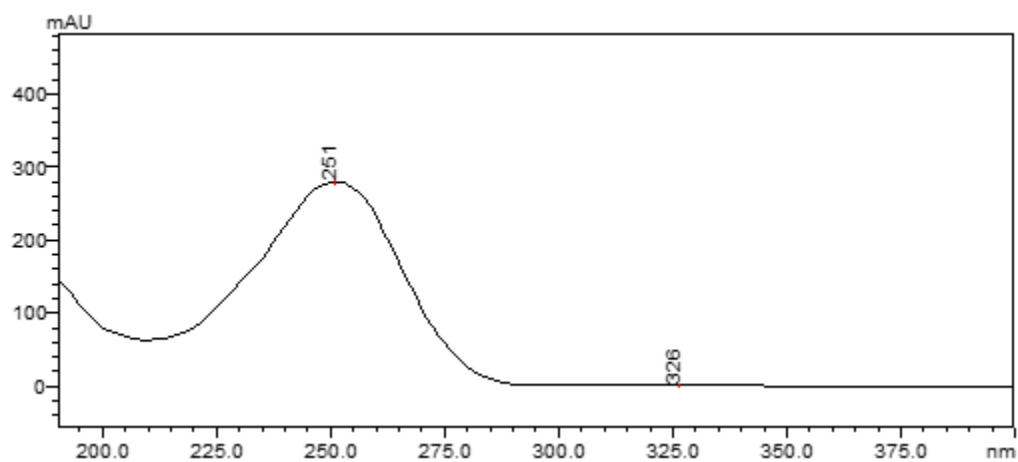
圖十一、甘草酸的 ESI-MS 圖譜

(十九) 甘草酸的 FTIR 圖譜



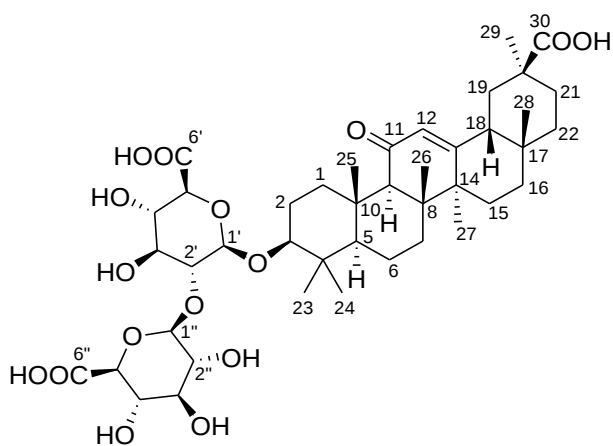
圖十二、甘草酸的 FTIR 圖譜

(二十) 甘草酸的 UV 圖譜



圖十三、甘草酸的 UV 圖譜

(二十一) 甘草酸的氫、碳化學位移



甘草酸

表七、甘草酸的氫、碳化學位移(CDCl₃)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	0.94–0.97 (m), 2.54–2.56 (m)	38.4
2	1.55–1.64 (m)	25.7
3	3.02–3.06 (m)	88.2
4	-	39.0
5	0.69–0.70 (m)	54.3
6	1.31–1.36 (m), 1.47–1.50 (m)	16.9
7	1.28–1.34 (m), 1.58–1.64 (m)	32.1
8	-	44.9
9	-	61.0
10	-	36.3
11	-	199.0
12	5.39 (s)	127.3

13	-	169.7
14	-	42.9
15	1.10–1.16 (m), 1.68–1.74 (m)	26.1
16	1.18–1.34 (m)	37.5
17	-	31.5
18	2.04–2.08 (m)	48.0
19	1.62–1.68 (m)	40.6
20	-	43.1
21	1.30–1.36 (m), 1.72–1.78 (m)	30.3
22	0.92–0.95 (m), 2.02–2.05 (m)	25.8
23	0.94 (s)*	27.1*
24	0.70 (s)*	15.9*
25	1.02 (s)	16.2
26	1.03 (s)	18.3
27	1.34 (s)	22.9
28	0.75 (s)	28.4
29	1.09 (s)	27.8
30	-	177.7
1'	4.40 (d, 7.8)	103.4
2'	3.28–3.64 (m)	82.6
3'	3.28–3.64 (m)	75.9
4'	3.28–3.64 (m)	71.2
5'	3.63 (d, 8.0)	75.1
6'	-	170.2
1''	4.49 (d, 7.8)	104.7
2''	3.02–3.06 (m)	74.9
3''	3.18 (dt, 5.4, 9.0)	75.6
4''	3.28–3.64 (m)	71.5
5''	3.55 (d, 8.5)	76.2
6''	-	170.0
2''-OH	5.63 (d, 3.6)	-
3''-OH	5.11 (d, 5.4)	-

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

甘草飲片(GLYCYRRHYZAE RADIX ET RHIZOMA)

一、材料

購自於臺灣各地中藥廠與中藥店甘草飲片共 17 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 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

標準品甘草酸(Glycyrrhizic 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

甘草飲片最佳萃取溶媒同甘草藥材。

(二) 最佳萃取次數評估

甘草飲片最佳萃取次數同甘草藥材。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品甘草酸 1.0 mg，加 1 mL 的 50%乙醇製成每 1 mL 含甘草酸 1000 μg 的標準品儲備溶液，並以 50%乙醇稀釋至 50 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 離心管中，準確加入 50%乙醇 25 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 5000 x g)，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 50%乙醇至刻度，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，用標準曲線分別計算溶液中甘草酸的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取甘草酸標準品儲備溶液適量(1000 μ g/mL)，以 50%乙醇稀釋成含甘草酸分別為 200、100、50、20、10、5.0 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

以甘草酸濃度為 50 μ g/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以甘草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：取同一批市售甘草飲片粉末，依甘草飲片檢品溶液製備方法平行製備 5 份甘草飲片檢品溶液，進樣測定，以甘草酸的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售甘草飲片粉末，依甘草飲片檢品溶液製備方法製備甘草飲片檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以甘草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

取已知甘草酸含量的甘草飲片粉末 5 份，每份準確稱取約 0.1 g，分別加入 1.5 mg 的甘草酸，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 254 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	25	75
20	50	50

(十二) 臺灣市售甘草飲片含量測定

取 10 批市售甘草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 公式計算樣品甘草酸的百分含量。

(十三) 甘草飲片檢品之 UPLC 層析條件

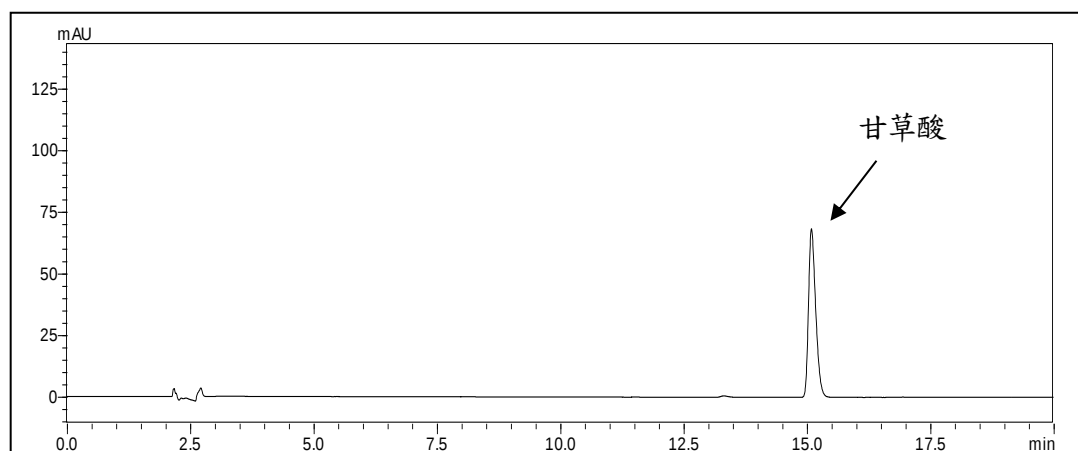
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 254 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	25	75
10	50	50

五、結果

(一) 標準品甘草酸之 HPLC 層析

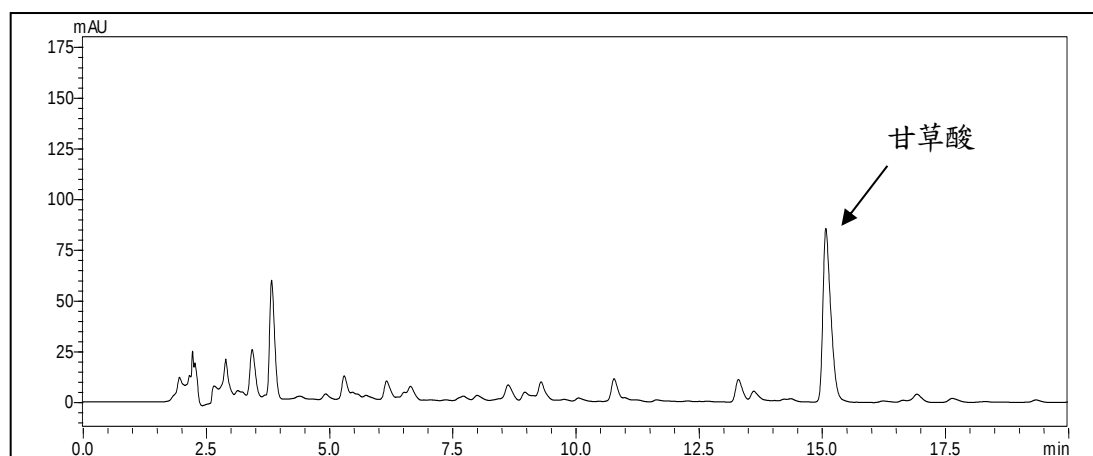
於滯留時間 15.1 分鐘處顯示甘草酸標準品波峰(圖一)。



圖一、甘草酸標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售甘草飲片檢品之 HPLC 層析

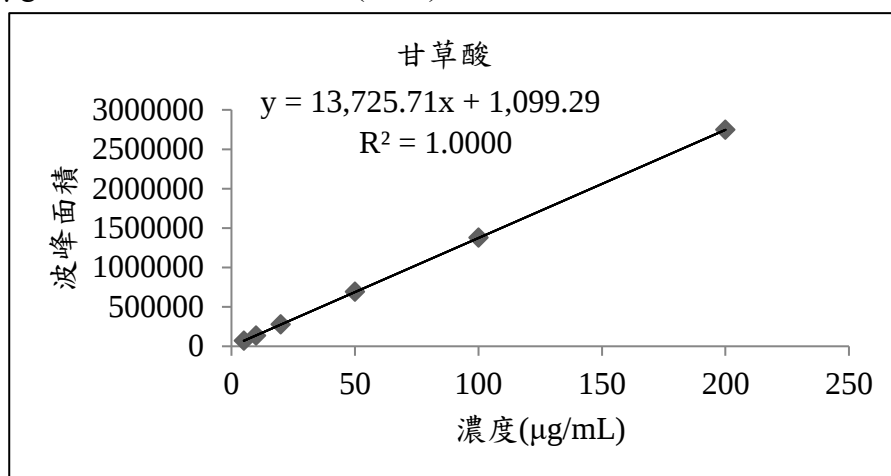
於滯留時間 15.1 分鐘處顯示甘草飲片檢品中甘草酸波峰(圖二)。分離率 (R) 為 4.86，托尾因子 (T) 為 1.17，均在系統適用性要求內。



圖二、市售甘草飲片檢品之 HPLC 層析圖

(三) 標準品甘草酸檢量線

經不同濃度甘草酸(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 $y = 13725.71x + 1099.29$ ， $R^2 = 1.0000$ ，顯示濃度在 5.0–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、甘草酸之檢量線圖

表一、甘草酸之檢量線方程式

對照標準品	濃度(μg/mL)	線性回歸方程式	R^2
甘草酸	5.0–200	$y = 13725.71x + 1099.29$	1.0000

(四) 精密度試驗

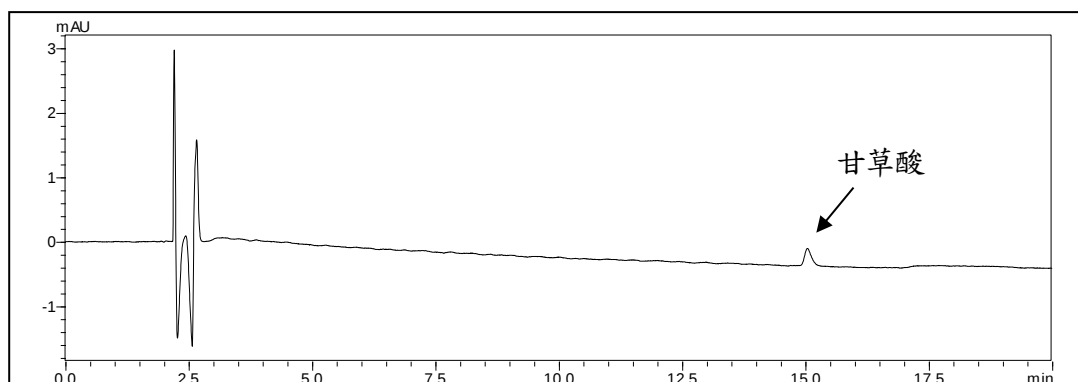
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，甘草酸精密度之相對標準差為 0.04%，在系統適用性要求內。

(五) 重複性與穩定性試驗

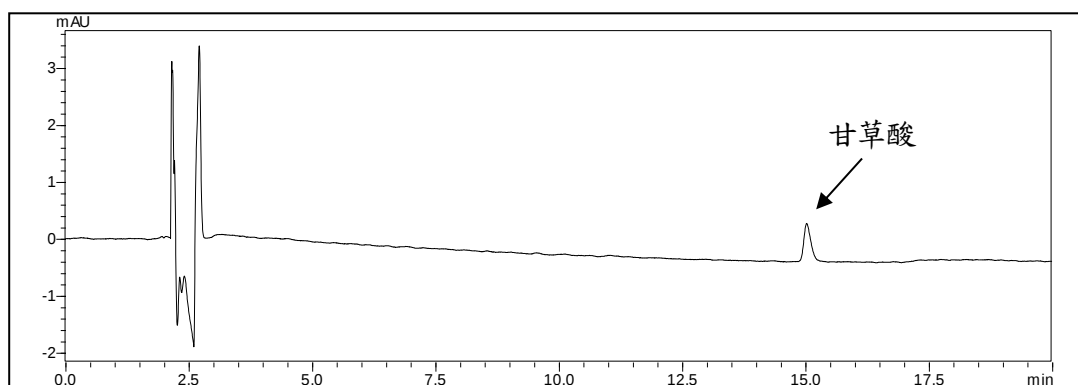
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，甘草酸重複性之相對標準差為 1.43%，在系統適用性要求內。甘草酸在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差為 1.38%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(六) 偵測極限與定量極限試驗

甘草酸偵測極限為 0.2 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 0.5 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、甘草酸之偵測極限層析圖



圖五、甘草酸之定量極限層析圖

表二、各項檢驗分析

檢測項目	甘草酸	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	50 $\mu\text{g/mL}$	0.04
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.7)	1.43
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.7)	1.38
偵測極限 (n=3)	0.2 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=3)	0.5 $\mu\text{g/mL}$	-

(七) 添加回收率試驗

甘草酸平均添加回收率為 91.6%，相對標準偏差為 1.51%。

表三、甘草酸添加回收率

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	0.10	1.471	1.50	2.837	91.07	91.63	1.51
2	0.10	1.471	1.50	2.844	91.53		
3	0.10	1.471	1.50	2.882	94.07		
4	0.10	1.471	1.50	2.820	89.93		
5	0.10	1.471	1.50	2.844	91.53		

(八) 臺灣市售甘草飲片含量測定

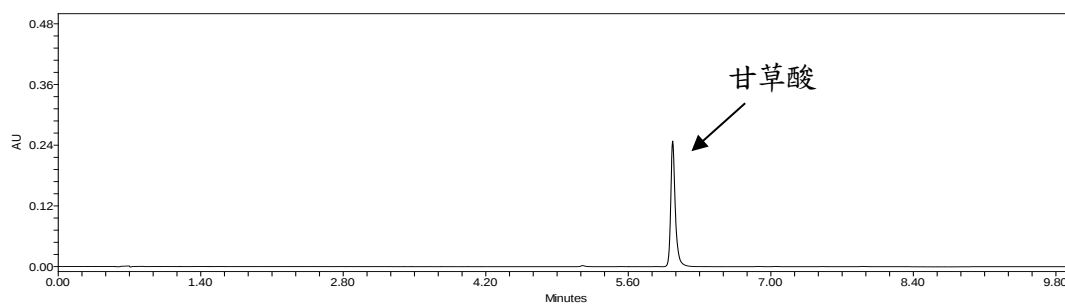
17 批甘草飲片之含量測定結果(乾燥品)如表四所示，甘草酸的含量為 0.926–3.307%。建議甘草飲片指標成分甘草酸的含量不得少於 1.8%。理論板數按甘草酸波峰計算應不低於 8000 (實際值為 44854)。

表四、臺灣市售甘草飲片檢品之甘草酸的含量

藥材編號(No.)	甘草酸含量(%)	藥材編號(No.)	甘草酸含量(%)
1 (SE)	1.566	10 (CD)	1.989
2 (SG)	2.246	11 (NKOD)	1.990
3 (SJ)	1.845	12 (NSCH)	2.676
4 (SR)	1.672	13 (NSTP)	3.307
5 (SC)	0.926	14 (SCSZ-1)	1.860
6 (NR)	1.814	15 (SCSZ-2)	1.243
7 (NJ)	1.008	16 (SCSZ-3)	2.799
8 (NN)	1.872	17 (SCSZ-4)	2.237
9 (NF)	1.083		

(九) 標準品甘草酸之 UPLC 層析

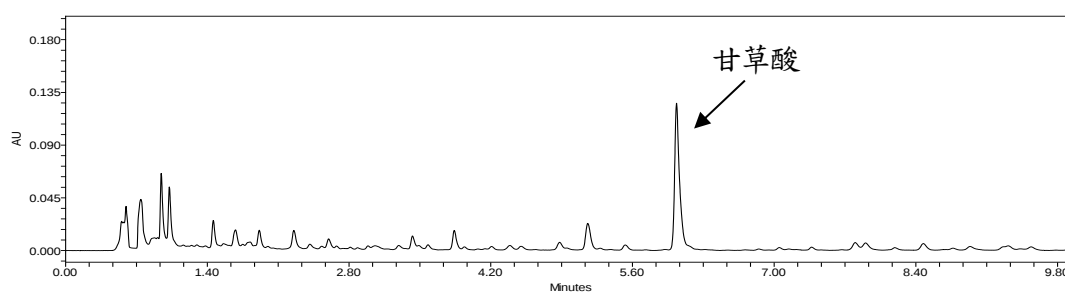
於滯留時間 6.04 分鐘處顯示甘草酸標準品的波峰(圖六)。



圖六、甘草酸標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十) 市售甘草飲片檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 6.04 分鐘處顯示甘草飲片檢品中甘草酸的波峰(圖七)。



圖七、市售甘草飲片飲片檢品之 UPLC 層析圖

甘草

生藥名：GLYCYRRHIZAE RADIX ET RHIZOMA

英文名：Liquorice Root and Rhizome

基 原：本品為豆科 Leguminosae 植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.之乾燥根及根莖。

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 2.0 g，加甲醇 10 mL，超音波振盪 30 分鐘，待冷卻後過濾，定容至 10 mL，作為檢品溶液。

【萃取方法 2】(中華人民共和國藥典 2015；香港中藥材標準第二冊)

——取本品粉末 1.0 g，加乙醚 40 mL，加熱迴流 1 小時，待冷卻後過濾，棄濾液，殘渣揮乾後，加甲醇 30 mL，加熱迴流 1 小時，待冷卻後過濾，濾液濃縮至乾，殘渣加水 40 mL 使之溶解，用正丁醇振搖萃取 3 次，每次 20 mL，合併正丁醇層液，用水洗滌 3 次，每次 20 mL，將正丁醇層液濃縮至乾，殘渣加甲醇 5 mL 使之溶解，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 10 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 溶 液

取甘草酸(Glycyrrhizic acid)對照標準品，加甲醇製成每 1 mL 含 2.0 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】(臺灣中藥典第二版 2013)

——正丁醇：水：冰醋酸 (7：2：1)

【展開劑 2】(中華人民共和國藥典 2015)

——乙酸乙酯：甲酸：冰醋酸：水 (15：1：1：2)

【展開劑 3】(香港中藥材標準第二冊)

——水：正丁醇：冰醋酸 (12：7：1)混合後，取上層液

【展開劑 4】(自行開發)✓

——乙酸乙酯：甲酸：水 (7：1：1)

(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。

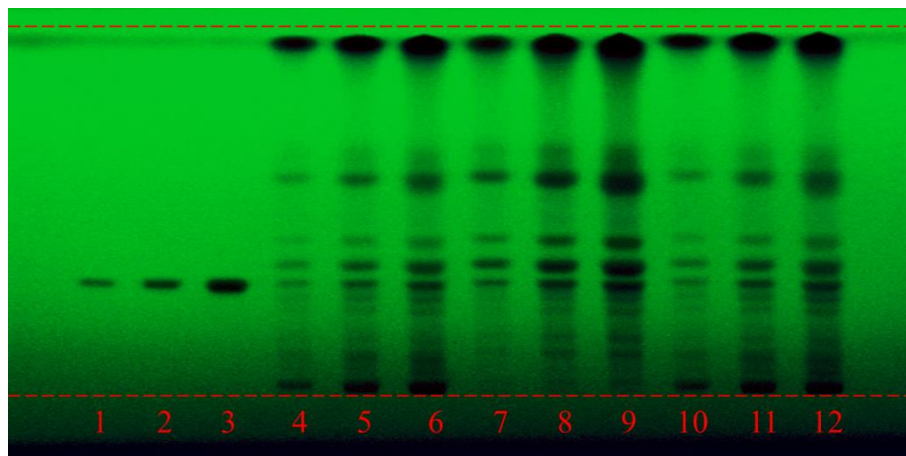
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：107/02/07

相對溼度(RH)：36%

溫度(RT)：19 °C

【展開劑 4】 (自行開發)——乙酸乙酯：甲酸：水 (7：1：1)



編號	名稱	點注量
1，2，3	甘草酸(2.0 mg/mL)	1，2，5 μ L
4，5，6	檢品溶液 5【萃取方法 1】	2，5，8 μ L
7，8，9	檢品溶液 5【萃取方法 2】	2，5，8 μ L
10，11，12	檢品溶液 5【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甘草酸，故支持臺灣藥典萃法，選擇【萃取方法 1】。

建議點注量：甘草酸標準品溶液 1 μ L，檢品溶液【萃取方法 1】5 μ L。

三、溶媒系統選擇

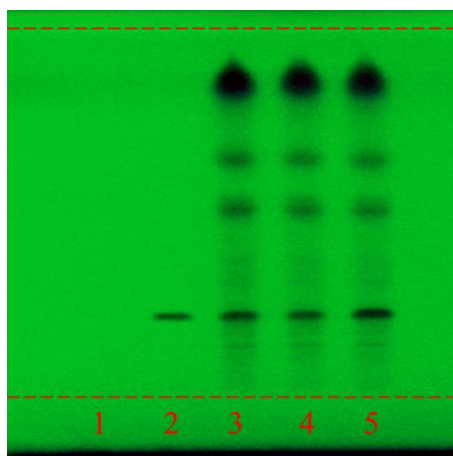
實驗日期：107/02/08

相對溼度(RH)：46%

溫度(RT)：19 °C

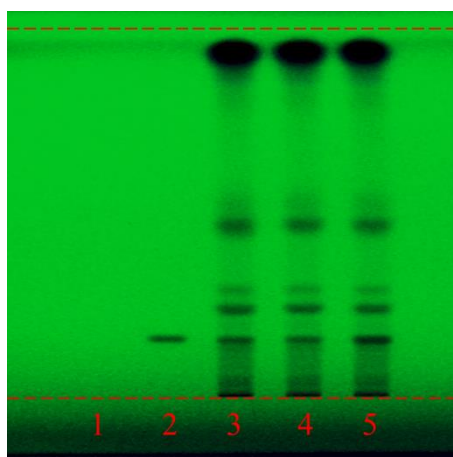
【展開劑 1】 (臺灣中藥典第二版 2013)——正丁醇：水：冰醋酸 (7：2：1)

【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第二版 2013) —— HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(甘草酸 R_f 值為 0.21)



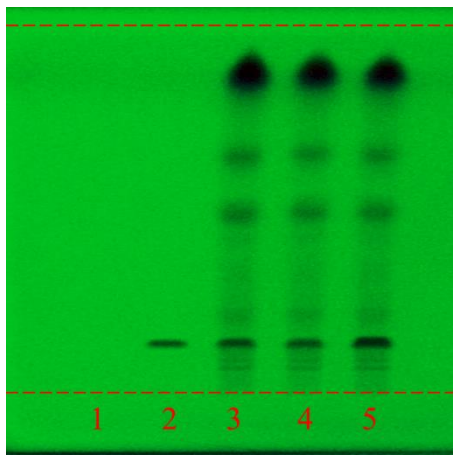
【展開劑 2】 (中華人民共和國藥典 2015)——乙酸乙酯：甲酸：冰醋酸：水 (15：1：1：2)

【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第二版 2013) —— HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(甘草酸 R_f 值為 0.15； R_f 值< 0.2)



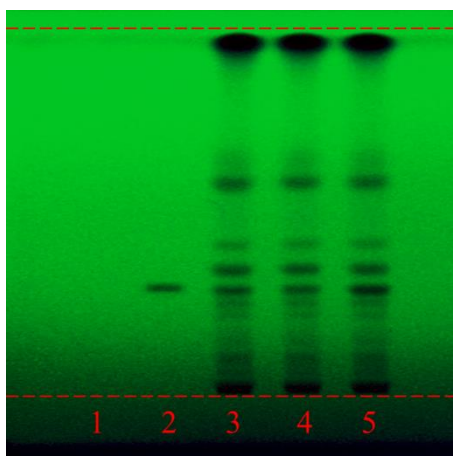
【展開劑 3】 (香港中藥材標準第二冊)——水：正丁醇：冰醋酸 (12：7：1)混合後，取上層液

【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第二版 2013) —— HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(甘草酸 R_f 值為 0.13； R_f 值 < 0.2)



【展開劑 4】 (自行開發)——乙酸乙酯：甲酸：水 (7：1：1)

【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第二版 2013) —— HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(甘草酸 R_f 值為 0.29)



1：Blank

2：甘草酸

3，4：檢品溶液

5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 1】方式，4 種展開劑展開皆可從檢品溶液中分離與檢出甘草酸，而由於條帶顯示較多較清楚、指標成分 R_f 值較趨近於中間值、展開溶媒製備較簡便及展開時間可較短等因素，選擇採用自行開發之【展開劑 4】。

四、觀察方式選擇

實驗日期：107/02/08

相對溼度(RH)：46%

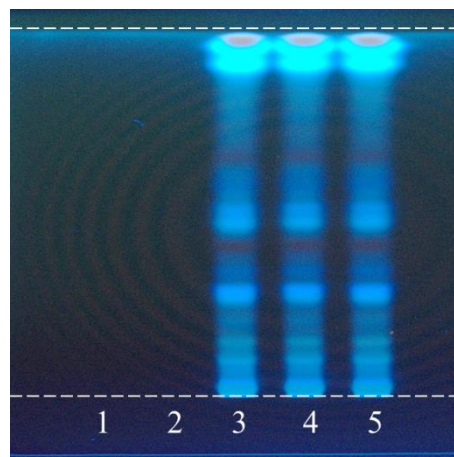
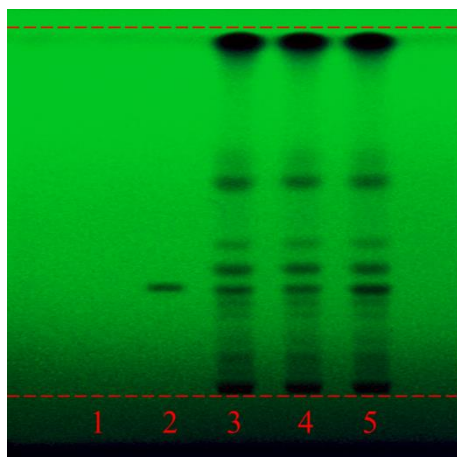
溫度(RT)：19 °C

【展開劑 4】 (自行開發)——乙酸乙酯：甲酸：水 (7：1：1)

【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第二版 2013) — HPTLC 紫外光(254 nm)檢出

✓

【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第二版 2013) — HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



1：Blank

2：甘草酸

3，4：檢品溶液 5

5：Spike

建議觀察方式：於紫外光(254 nm)下顯示出較紫外光(365 nm)有明顯之甘草酸標準品斑點。

五、十批甘草藥材樣品檢測

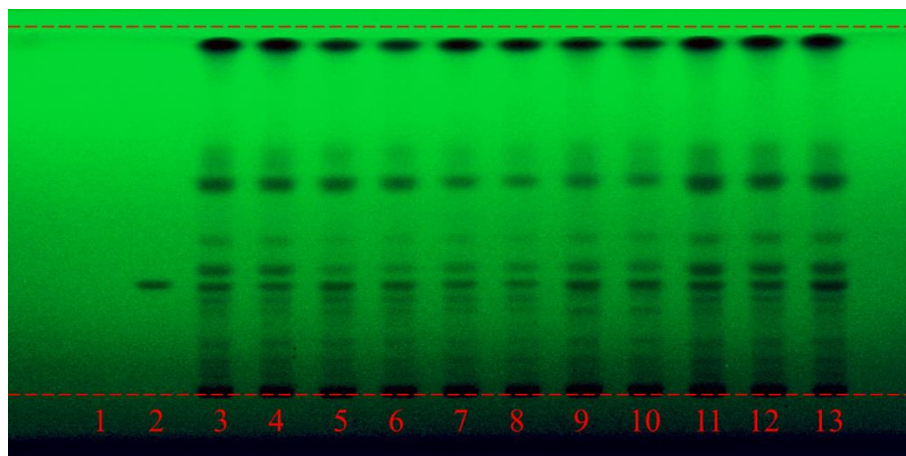
實驗日期：107/02/09

相對溼度(RH)：50%

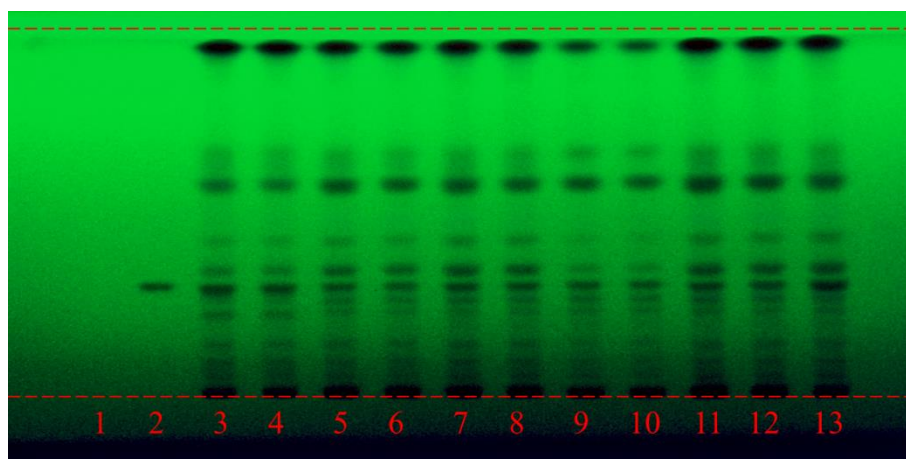
溫度(RT)：20 °C

【展開劑 4】 (自行開發)——乙酸乙酯：甲酸：水 (7：1：1)

【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第二版 2013) — HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



1	Blank
2	甘草酸(2.0 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 (ND-1)
9 , 10	檢品溶液 4 (ND-2)
11 , 12	檢品溶液 5 (NE)
13	Spike (檢品溶液 5)



1	Blank
2	甘草酸(2.0 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 6 (NH)
5 , 6	檢品溶液 7 (SE-2)
7 , 8	檢品溶液 8 (SS)
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：以臺灣中藥典第二版 2013 之【萃取方法 1】方式即可，並以自行開發之【展開劑 4】分離與檢出甘草酸較佳，於紫外光(254 nm)下檢視即可。

甘草(飲片)

六、十批甘草飲片樣品檢測

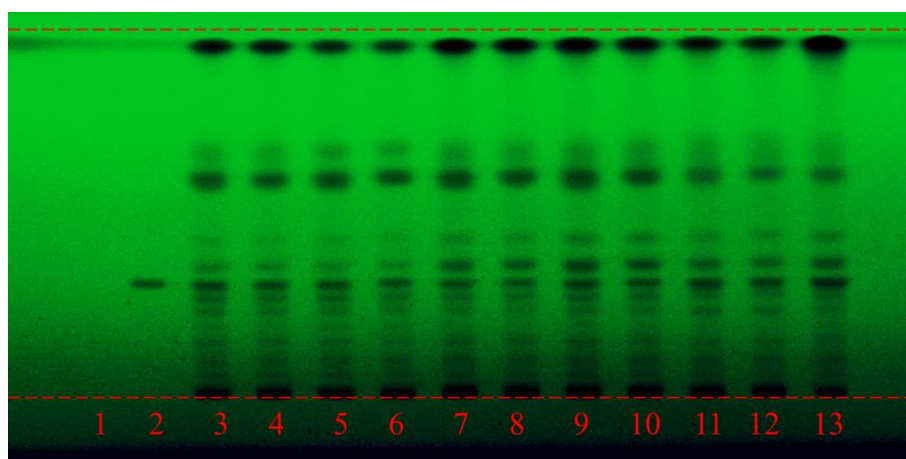
實驗日期：107/06/04

相對溼度(RH)：54%

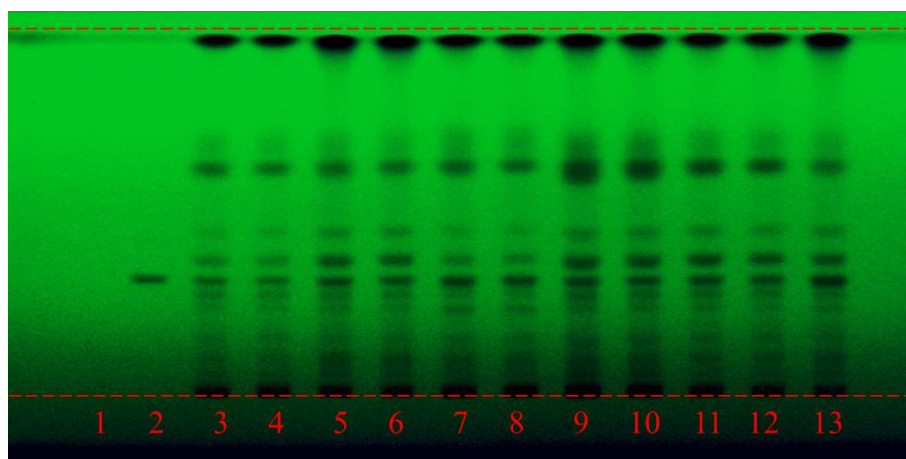
溫度(RT)：27 °C

【展開劑 4】 (自行開發)——乙酸乙酯：甲酸：水 (7：1：1)

【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第二版 2013) — HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



1	Blank
2	甘草酸(2.0 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 1 (NF)
5 , 6	檢品溶液 2 (NJ)
7 , 8	檢品溶液 3 (NN)
9 , 10	檢品溶液 4 (NR)
11 , 12	檢品溶液 5 (CD)
13	Spike (檢品溶液 7)



1	Blank
2	甘草酸(2.0 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 6 (SC)
5 , 6	檢品溶液 7 (SE)
7 , 8	檢品溶液 8 (SG)
9 , 10	檢品溶液 9 (SJ)
11 , 12	檢品溶液 10 (SR)
13	Spike (檢品溶液 7)

結論與建議：飲片鑑別同藥材。