

牡丹皮

(MOUTAN RADICIS CORTEX)

牡丹皮 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).....	2

牡丹皮 藥材 HPLC

一、材料.....	7
二、儀器及層析管柱.....	7
三、實驗藥品及試劑來源.....	7
四、方法.....	7
五、結果.....	11

牡丹皮 飲片 HPLC

一、材料.....	20
二、儀器及層析管柱.....	20
三、實驗藥品及試劑來源.....	20
四、方法.....	20
五、結果.....	23

牡丹皮 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、十批牡丹皮藥材樣品檢測.....	33
六、十批牡丹皮飲片檢測.....	35

牡丹皮

(MOUTAN RADICIS CORTEX)

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牡丹的乾燥根皮。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：牡丹皮

生藥名：MOUTAN RADICIS CORTEX

英文名：Tree Peony Bark

基原：毛茛科 Ranunculaceae 植物牡丹 *Paeonia suffruticosa* Andr.之乾燥根皮。

採收加工：秋季採挖根部，除去細根，剝取根皮，曬乾。

藥材性狀：本品呈筒狀或半筒狀，有縱剖開的裂縫，略向內捲曲或張開，厚 0.1~0.4 cm。外表面灰褐色或黃褐色，有多數橫長皮孔及細根痕，栓皮脫落處粉紅色。內表面淡灰黃色或淺棕色，有明顯的細縱紋，常見發亮的結晶。質硬而脆，易折斷，斷面較平坦，淡粉紅色，粉性。氣芳香，味微苦而澀。

生長分佈：多年生落葉小灌木。花期 4~5 月，果期 6~7 月。生於向陽及土壤肥沃的地方，常栽培於庭園。分佈於中國河北、河南、山東、四川、陝西、甘肅等地。中國各地均有栽培，主產於安徽、四川、甘肅、陝西、湖北、湖南、山東、貴州等地。此外，雲南、浙江亦產。以四川、安徽產量最大。

三、藥材組織顯微鑑別(圖 2)

1. 木栓層為數列木栓細胞。
2. 皮層為 10~20 列切向延長的薄壁細胞。
3. 韌皮部寬廣，可佔橫切面徑向的 4/5。
4. 射線寬 1~3 列細胞。
5. 草酸鈣簇晶單一或排列成行，含晶細胞有時連接或一個細胞含一至數個簇晶。

四、藥材粉末顯微鑑別(圖 3)

1. 本品粉末為白色至灰棕色。

2. 澱粉粒較多，單粒類圓形或多角形，偏光顯微鏡下呈黑十字狀。
3. 澱粉粒臍點點狀、裂縫狀或飛鳥狀；複粒由 2~6 分粒組成。
4. 草酸鈣簇晶排列成行，偏光顯微鏡下呈多彩狀。。



圖 1 牡丹皮藥材圖

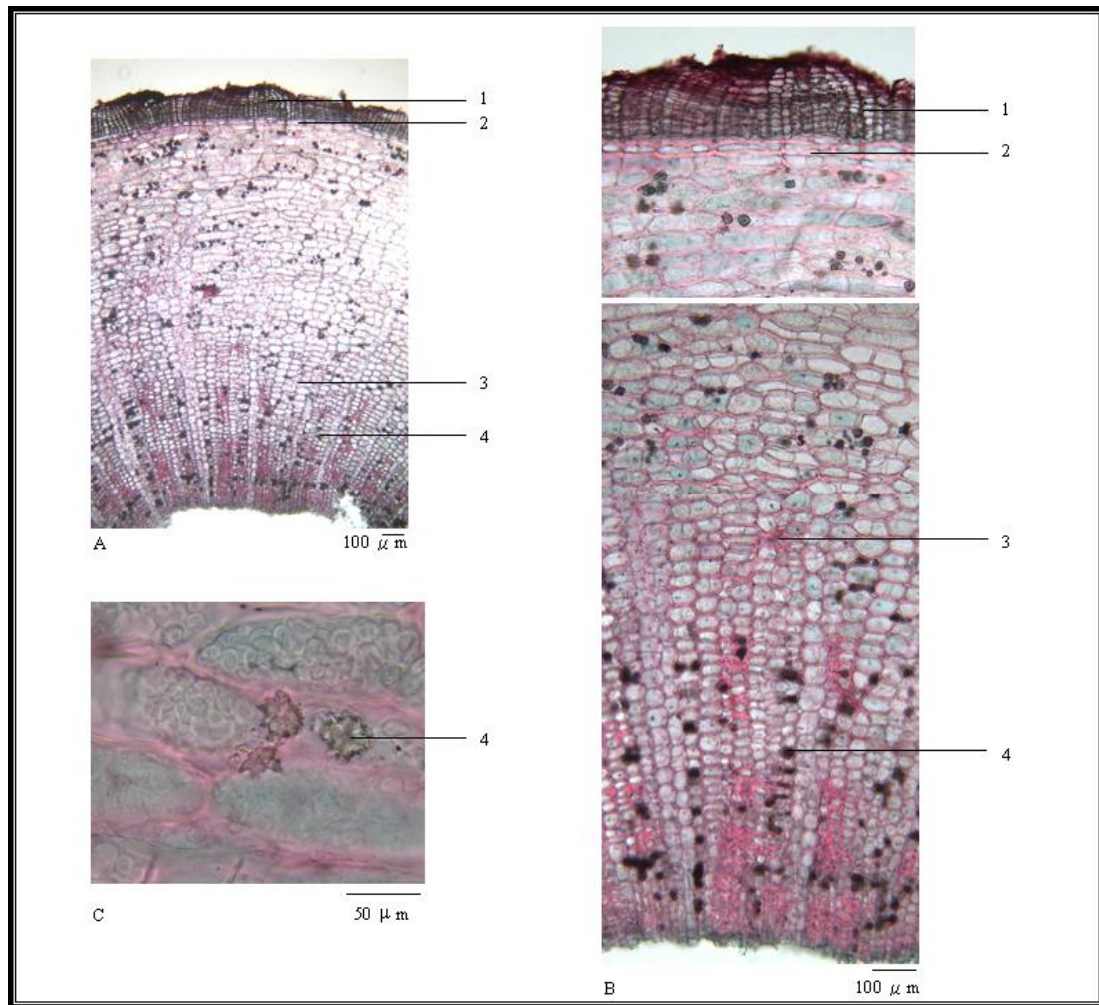


圖 2 牡丹皮橫切面顯微特徵圖

A.橫切面圖 B.橫切面放大圖 C.草酸鈣簇晶

1.木栓層 2. 皮層 3.韌皮部 4. 草酸鈣簇晶

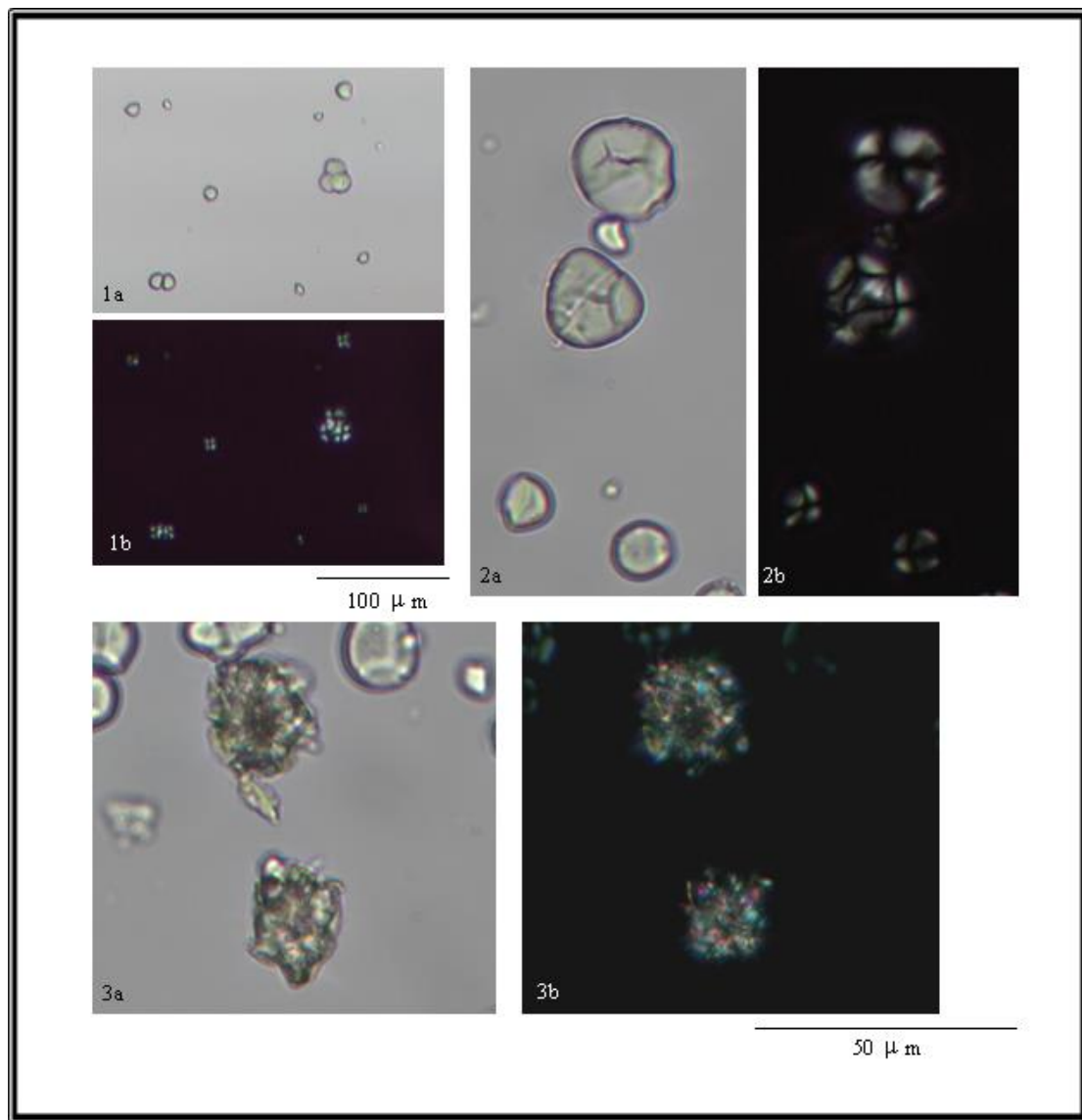


圖 3 牡丹皮粉末顯微特徵圖

a.光學顯微鏡下特徵 b.偏光顯微鏡下特徵

1.澱粉粒 2. 澱粉粒臍點 3.草酸鈣簇晶

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。85-87 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。85-86 頁。
3. 張永勳、何玉玲總編輯 (2013)。臺灣中藥典圖鑑。台北：衛生福利部。115 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 3：常用種子、果實及皮類藥材分冊。廣東：廣東科技出版社。203-206 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。10-17 頁。
6. 文瑞良主編 (2001)。中藥材彩色顯微圖鑑。北京：中國醫藥科技出版社。136-137 頁。
7. 肖培根等編輯 (2001)。新編中藥志第三卷。北京：化學工業出版社。601-606 頁。
8. 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。778-782 頁。
9. 國家中醫藥管理局《中華本草》編委會編輯 (1999)。中華本草第 3 冊。上海：上海科學技術出版社。528-535 頁。
10. 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。233 頁。
11. 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。160-161 頁。
12. 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。238 頁。
13. 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。246-247 頁。

決明子(CASSIAE SEMEN)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店決明子藥材共 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 Phenomenex Luna 5U 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(95%)購自於國韶實業有限公司; 甲醇(HPLC grade)購自於 Merck; 乙酸乙酯購自於 Merck; 鹽酸(35%)購自於 Sigma-Aldrich; 磷酸(85%)購自於 Sigma-Aldrich。

(二) 標準品

標準品大黃酚(Chrysophanol)購自於友和貿易股份有限公司, 純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳溶解溶媒評估

取本品粉末 2 份, 每份準確稱取 0.5 g, 置 100 mL 圓底瓶中, 準確加入甲醇 50 mL, 加熱迴流處理 1 小時, 冷卻後, 再稱取重量, 用甲醇補足減失的重量, 以 No. 1 濾紙過濾, 取濾液, 濃縮至乾, 加 10%鹽酸 30 mL, 加熱迴流水解 1 小時, 冷卻後, 用乙酸乙酯萃取, 取乙酸乙酯層, 共萃取 4 次, 每次 30 mL, 合併乙酸乙酯層, 溶劑濃縮至乾, 其中 1 份殘渣用無水乙醇: 乙酸乙酯(2: 1)混合溶液使之溶解, 另外 1 份以甲醇使之溶解, 轉移至 25 mL 定量瓶中, 加入溶媒至刻度, 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大黃酚最大波峰面積為最佳決明子溶解溶媒。

(二) 最佳萃取條件評估

取本品粉末 4 份, 每份準確稱取 0.5 g, 置 100 mL 圓底瓶中, 準確加入甲醇 50 mL, 分別加熱迴流處理 1 小時、2 小時、3 小時及 4 小時, 冷卻後, 再稱取重量, 用甲醇補足減失的重量, 以 No. 1 濾紙過濾, 取濾液,

濃縮至乾，加 10%鹽酸 30 mL，加熱迴流水解 1 小時，冷卻後，用乙酸乙酯萃取，取乙酸乙酯層，共萃取 4 次，每次 30 mL，合併乙酸乙酯層，溶劑濃縮至乾，殘渣用甲醇使之溶解，轉移至 25 mL 定量瓶中，加入甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μ m)，即得。每針 10 μ L 注入高效能液相層析儀(HPLC)，以所測得每克重量之標準品大黃酚最大波峰面積為最佳決明子最佳萃取條件。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品大黃酚 0.5 mg，加 1 mL 的甲醇使之溶解製成每 1 mL 含大黃酚 500 μ g 的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 40 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 0.50 g，置 100 mL 圓底瓶中，準確加入甲醇 50 mL，加熱迴流處理 3 小時，冷卻後，再稱取重量，用甲醇補足減失的重量，以 No. 1 濾紙過濾，取濾液，濃縮至乾，加 10%鹽酸 30 mL，加熱迴流水解 1 小時，冷卻後，用乙酸乙酯萃取，取乙酸乙酯層，共萃取 4 次，每次 30 mL，合併乙酸乙酯層，溶劑濃縮至乾，殘渣用甲醇使之溶解，轉移至 25 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。

(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大黃酚的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取大黃酚標準品儲備溶液適量(500 μ g/mL)，以甲醇稀釋成含大黃酚分別為 250、100、40、25、10、5.0、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

以大黃酚濃度為 40 μ g/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以大黃酚的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性:取同一批市售決明子粉末,依決明子檢品溶液製備方法平行製備 5 份決明子檢品溶液,進樣測定,以大黃酚的含量(%)為指標,求出相對標準差。
2. 穩定性:取同一批市售決明子粉末,依決明子檢品溶液製備方法製備決明子檢品溶液,分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定,以大黃酚的波峰面積為指標,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

取已知大黃酚含量的決明子藥材粉末 5 份,每份準確稱取約 0.25 g,分別加入 1 mL 的大黃酚溶液(500 $\mu\text{g/mL}$),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:Phenomenex Luna 5U C_{18} Column (250 $\times$ 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 $^{\circ}\text{C}$
5. 注入量:10 μL
6. 移動相:

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	40	60
15	40	60
30	90	10
40	90	10

(十二) 臺灣市售決明子藥材含量測定

取 10 批市售決明子藥材依檢品溶液製備方法製備檢品溶液,取各 10 μL 連續 3 針注入 HPLC,所得平均波峰面積依附錄 I 公式計算樣品大黃酚的百分含量。

(十三) 決明子檢品之 UPLC 層析條件

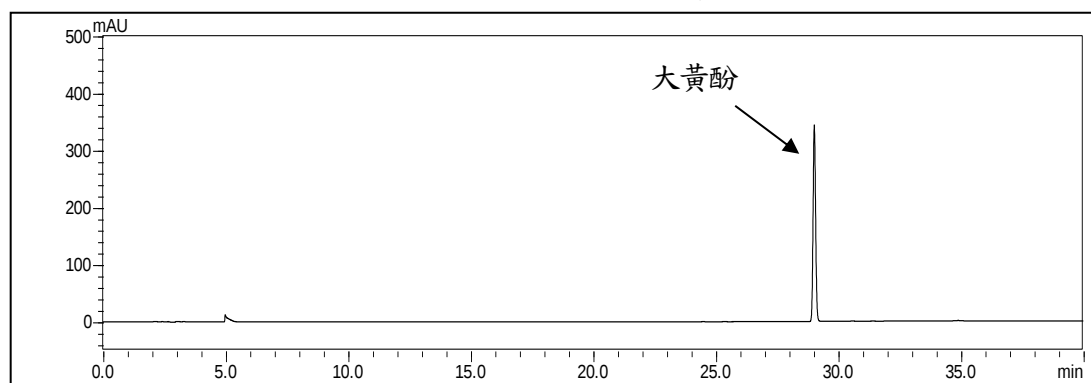
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 µm)
2. 檢測波長：UV 254 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 µL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	40	60
2	40	60
6	90	10
8	90	10
10	100	0

五、結果

(一) 標準品大黃酚之 HPLC 層析

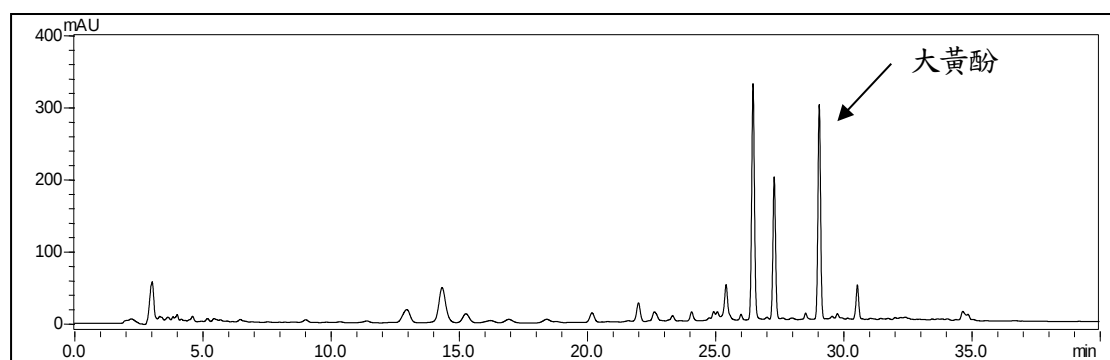
於滯留時間 29.09 分鐘處顯示大黃酚標準品波峰。



圖一、大黃酚標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售決明子檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 29.10 分鐘處顯示決明子檢品中大黃酚波峰(圖二)。分離率(R)為 9.28，托尾因子(T)為 1.01，均在系統適用性要求內。



圖二、市售決明子檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳溶解溶媒評估

以甲醇為溶媒時，每克藥材重量所得大黃酚的波峰面積最大，顯示甲醇為最佳溶解溶媒。

表一、不同溶解溶媒比較

溶解溶媒	大黃酚波峰面積(mAU)	最佳萃取
無水乙醇：乙酸乙酯(2：1)混合溶液	1998740	
甲醇	2011764	√

(四) 最佳萃取條件評估

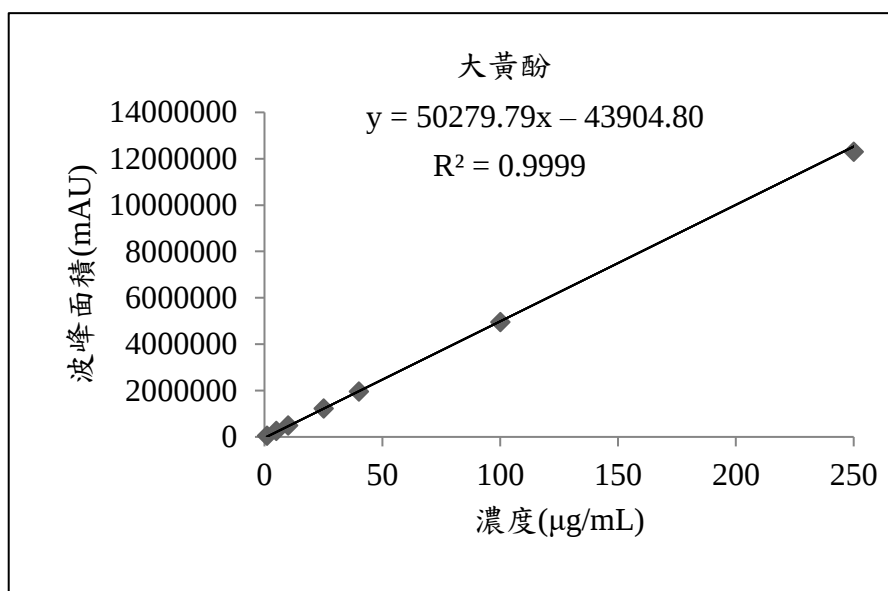
結果顯示加熱時間 3 小時，所得大黃酚的波峰面積最大。

表二、最佳萃取條件評估

加熱時間	大黃酚波峰面積(mAU)
1 小時	1988143
2 小時	1948740
3 小時	2289279
4 小時	2278238

(五) 標準品大黃酚檢量線

經不同濃度大黃酚 (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 $y = 50279.79x - 43904.80$ ， $R^2 = 0.9999$ ，顯示濃度在 1.0–250 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、大黃酚之檢量線圖

表三、大黃酚檢量線方程式

對照標準品	濃度(μg/mL)	線性回歸方程式	R^2
大黃酚	1.0–250	$y = 50279.79x - 43904.80$	0.9999

(六) 精密度試驗

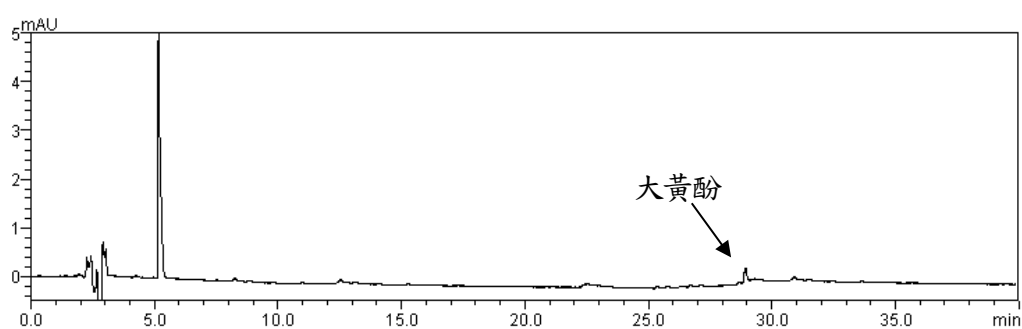
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，大黃酚精密度之相對標準差為 0.11%，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

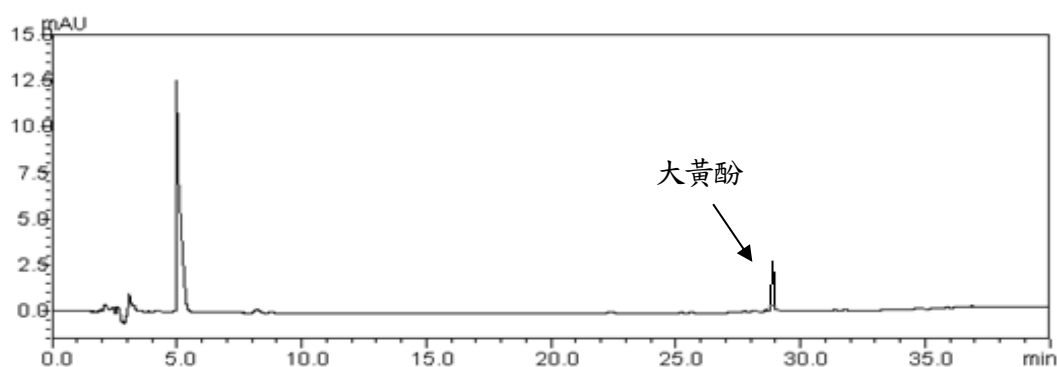
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，大黃酚重複性之相對標準差為 1.38%，在系統適用性要求內。大黃酚在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差為 1.42%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

大黃酚偵測極限為 0.03 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 0.10 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、大黃酚之偵測極限層析圖



圖五、大黃酚之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	大黃酚	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	40 $\mu\text{g/mL}$	0.11
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.8)	1.38
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.8)	1.42
偵測極限 (n=3)	0.03 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=3)	0.10 $\mu\text{g/mL}$	-

(九) 添加回收率試驗

大黃酚平均添加回收率為 95.5%，相對標準偏差為 2.15%。

表五、大黃酚添加回收率

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	0.25	0.55	0.50	1.013	96.2	95.48	2.15
2	0.25	0.55	0.50	1.015	93.0		
3	0.25	0.55	0.50	1.041	98.2		
4	0.25	0.55	0.50	1.032	96.4		
5	0.25	0.55	0.50	1.018	93.6		

(十) 臺灣市售決明子含量測定

10 批決明子藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，大黃酚的含量為 0.144–0.301%。建議決明子藥材指標成分大黃酚的含量不得少於 0.20%。理論板數按大黃酚波峰計算應不低於 8000 (實際值為 300000)。

表六、臺灣市售決明子檢品之大黃酚的含量

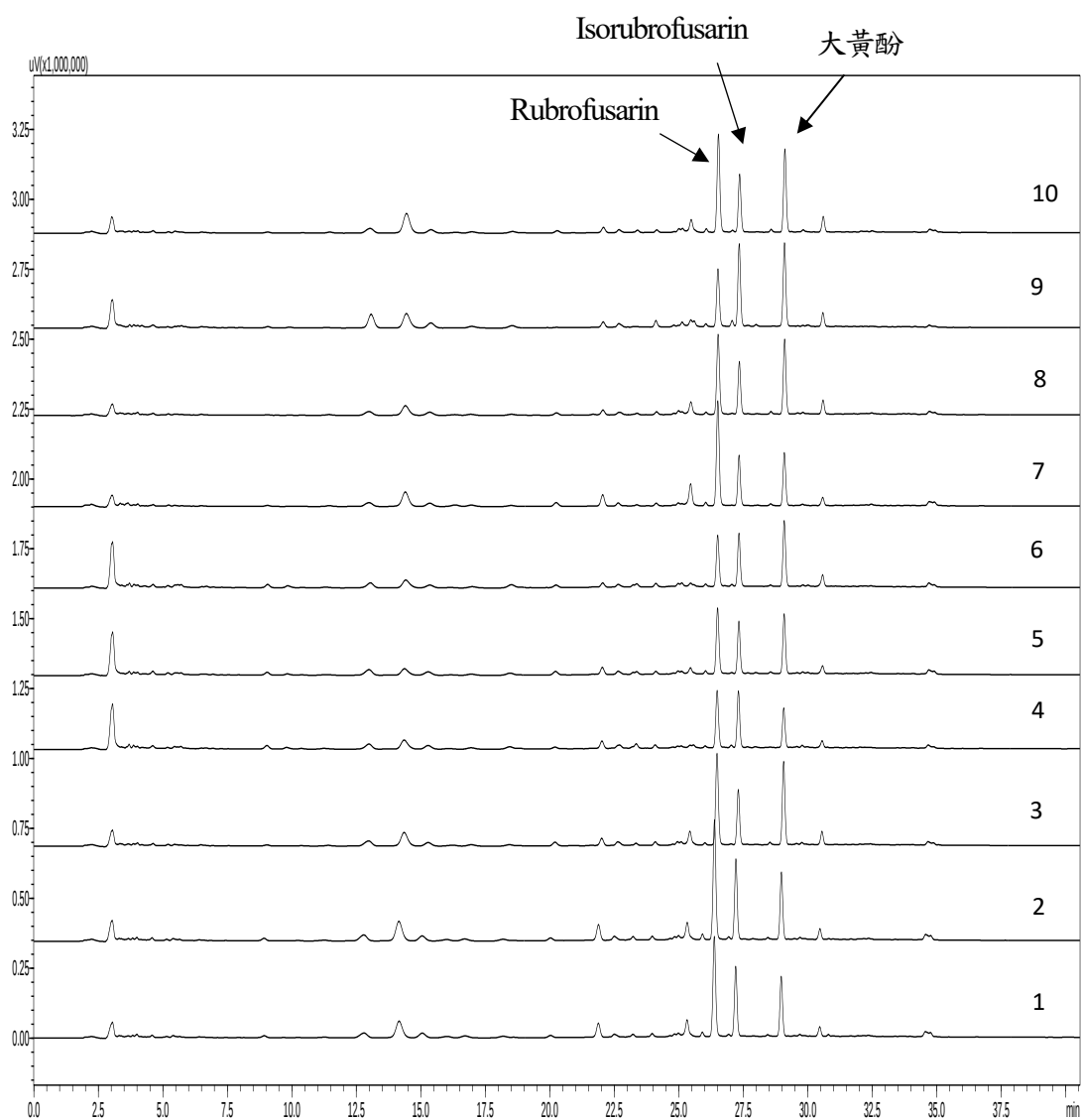
藥材編號(No.)	大黃酚含量(%)	藥材編號(No.)	大黃酚含量(%)
1 (NF-1)	0.227	6 (SC)	0.231
2 (NF-2)	0.229	7 (SG)	0.175
3 (NJ)	0.277	8 (SU-1)	0.225
4 (NN)	0.144	9 (SU-2)	0.295
5 (CA)	0.186	10 (SU-3)	0.301

(十一) 決明子藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

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

1. 層析管：Phenomenex Luna 5U 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：

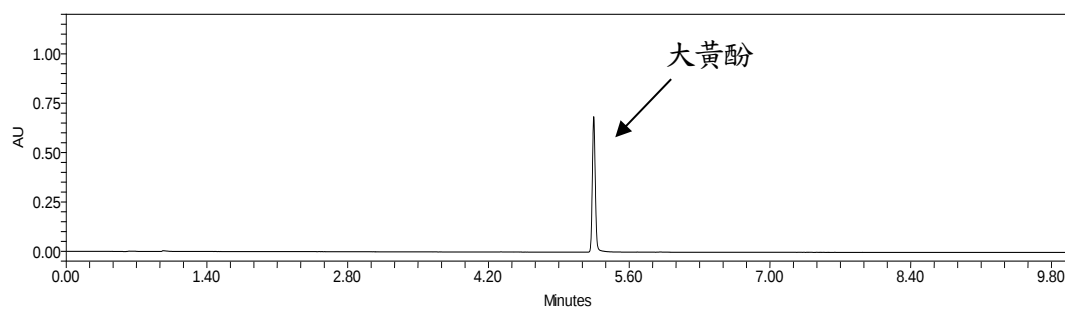
時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	40	60
15	40	60
30	90	10
40	90	10



圖六、10 批決明子藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 標準品大黃酚之 UPLC 層析

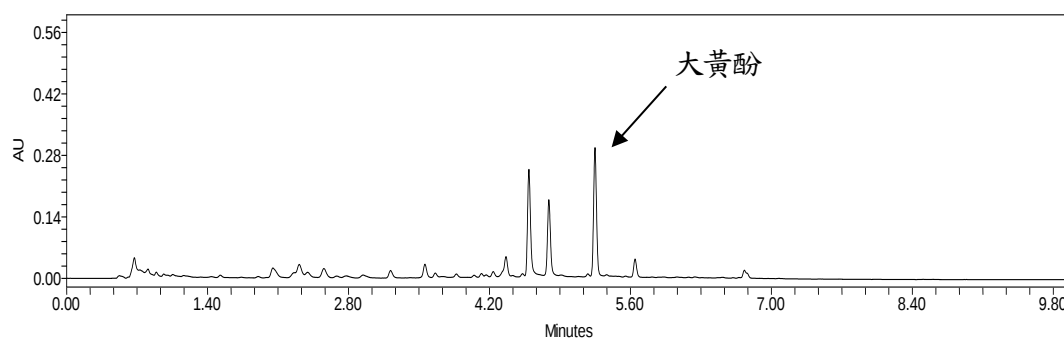
於滯留時間 5.25 分鐘處顯示大黃酚標準品的波峰(圖七)。



圖七、大黃酚標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售決明子檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 5.25 分鐘處顯示決明子檢品中大黃酚的波峰(圖八)。

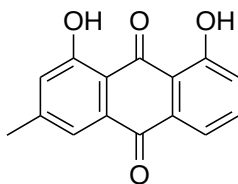


圖八、市售決明子檢品之 UPLC 層析圖

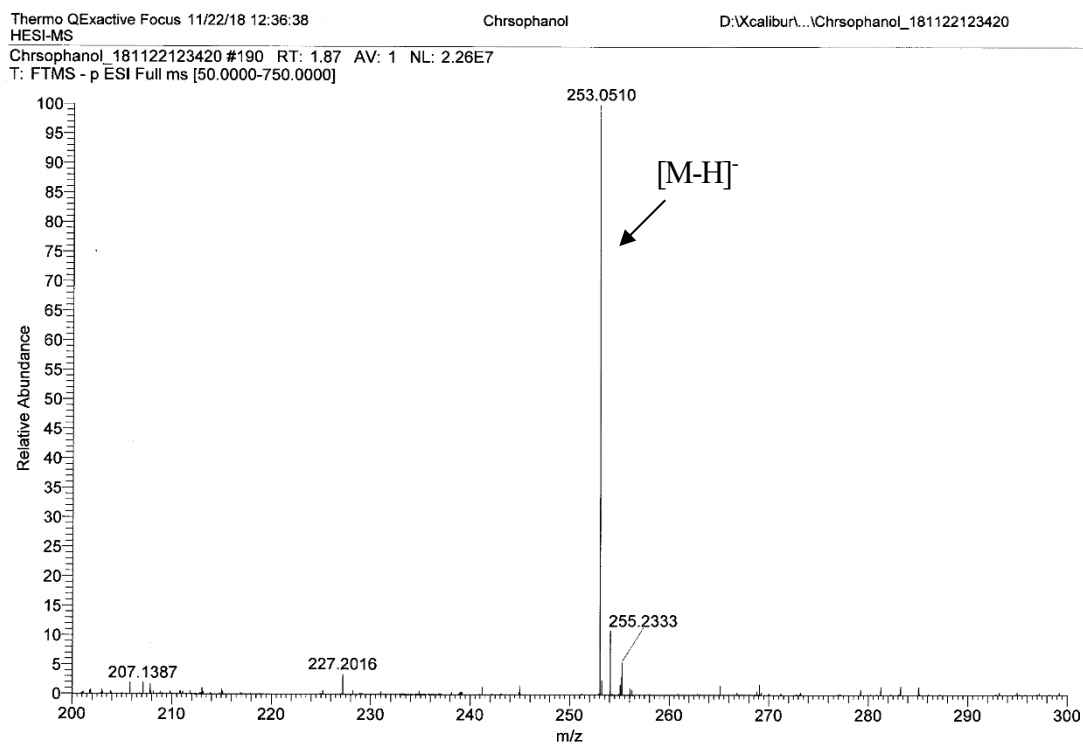
(十四) 大黃酚的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{15}H_{10}O_4$ ；分子量：254.24；熔點：196 °C；黃色晶體。

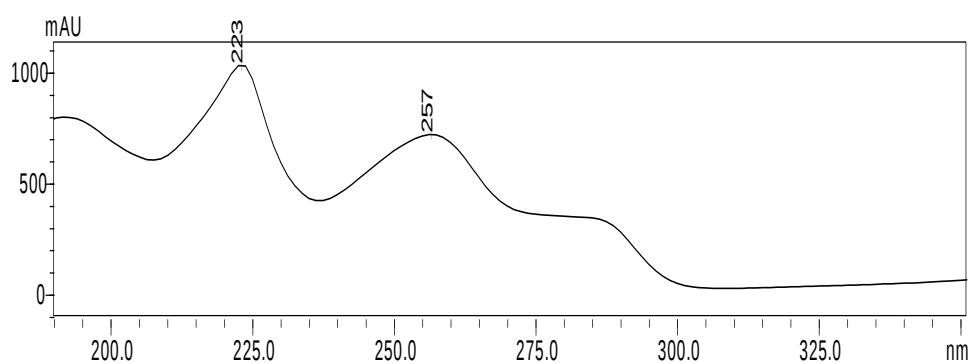
(十五) 大黃酚的結構



(十八) 大黃酚的 EI-MS 圖譜

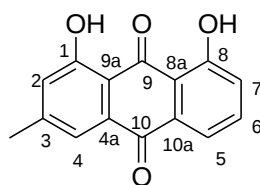


(二十) 大黃酚的 UV 圖譜



圖十三、大黃酚的 UV 圖譜

(二十一) 大黃酚的氫、碳化學位移



大黃酚

表七、大黃酚的氫、碳化學位移(CDCl₃)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	-	162.7
2	7.08–7.09 (m)	124.4
3	-	149.3
4	7.63–7.64 (m)	121.4
4a	-	133.7
5	7.80 (dd, 7.8, 1.2)	119.9
6	7.63–7.66 (m)	137.0
7	7.27 (dd, 8.4, 1.2)	124.6
8	-	162.4
8a	-	115.9
9	-	192.6
9a	-	113.7
10	-	182.0
10a	-	133.3
3-CH ₃	2.45 (s)	22.3
1-OH	12.0 (s)	-
8-OH	12.1 (s)	-

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

決明子飲片(CASSIAE SEMEN)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店決明子飲片共 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 Phenomenex Luna 5U 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；乙酸乙酯購自於 Merck；鹽酸(35%)購自於 Sigma-Aldrich；磷酸(85%)購自於 Sigma-Aldrich。

(二) 標準品

標準品大黃酚(Chrysophanol)購自於友和貿易股份有限公司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳溶解溶媒評估

決明子飲片最佳溶解溶媒同決明子藥材。

(二) 最佳萃取條件評估

決明子飲片最佳萃取條件同決明子藥材。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品大黃酚 0.5 mg，加 1 mL 的甲醇製成每 1 mL 含大黃酚 500 μg 的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 25 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 0.5 g，置 100 mL 圓底瓶中，準確加入甲醇 50 mL，加熱迴流處理 3 小時，冷卻後，再稱取重量，用甲醇補足減失的重量，以 No. 1 濾紙過濾，取濾液，濃縮至乾，加 10% 鹽酸 30

mL，加熱迴流水解 1 小時，冷卻後，用乙酸乙酯萃取，取乙酸乙酯層，共萃取 4 次，每次 30 mL，合併乙酸乙酯層，溶劑濃縮至乾，殘渣用甲醇使之溶解，轉移至 25 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。

(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大黃酚的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取大黃酚標準品儲備溶液適量(500 μ g/mL)，以甲醇稀釋成含大黃酚分別為 250、100、40、25、10、5.0、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

以大黃酚濃度為 25 μ g/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以大黃酚的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售決明子飲片粉末，依決明子飲片檢品溶液製備方法平行製備 5 份決明子飲片檢品溶液，進樣測定，以大黃酚的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售決明子飲片粉末，依決明子飲片檢品溶液製備方法製備決明子飲片檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以大黃酚的波峰面積為指標，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

取已知大黃酚含量的決明子飲片粉末 5 份，每份準確稱取約 0.25 g，分別加入 1 mL 的大黃酚溶液(300 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：Phenomenex Luna 5U 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(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	40	60
15	40	60
30	90	10
40	90	10

(十二) 臺灣市售決明子飲片含量測定

取 10 批市售決明子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 公式計算樣品大黃酚的百分含量。

(十三) 決明子飲片檢品之 UPLC 層析條件

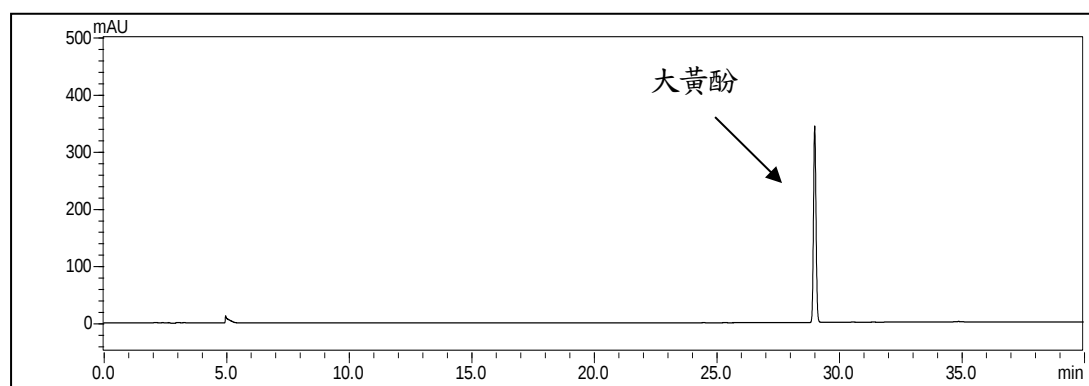
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C₁₈ Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 254 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	40	60
2	40	60
6	90	10
8	90	10
10	100	0

五、結果

(一) 標準品大黃酚之 HPLC 層析

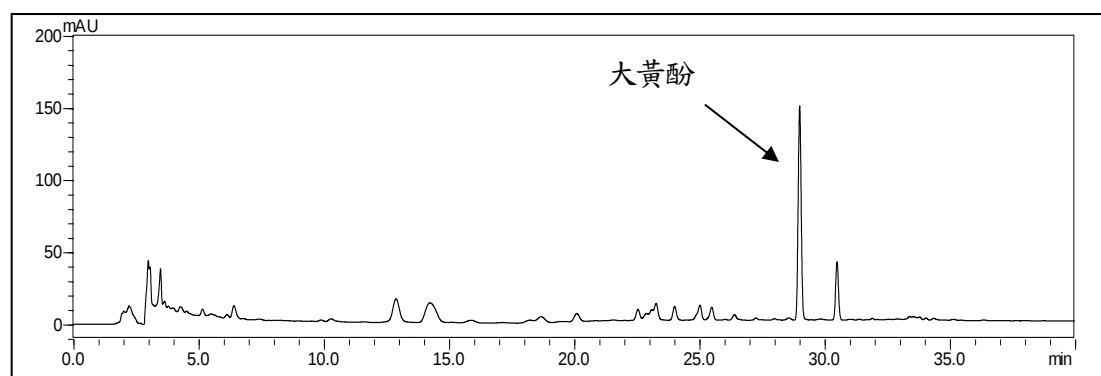
於滯留時間 29.09 分鐘處顯示大黃酚標準品波峰。



圖一、大黃酚標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售決明子飲片檢品之 HPLC 層析

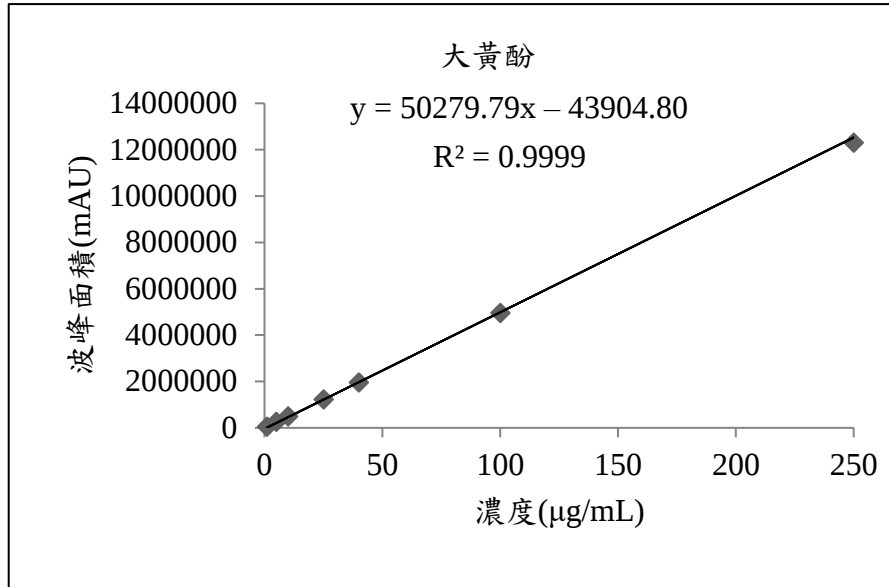
於滯留時間 29.05 分鐘處顯示決明子飲片檢品中大黃酚波峰(圖二)。分離率(R)為 2.18，托尾因子(T)為 1.01，均在系統適用性要求內。



圖二、市售決明子飲片之 HPLC 層析圖

(三) 標準品大黃酚檢量線

經不同濃度大黃酚 (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 $y = 50279.79x - 43904.80$ ， $R^2 = 0.9999$ ，顯示濃度在 1.0–250 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、大黃酚之檢量線圖

表一、大黃酚之檢量線方程式

對照標準品	濃度(µg/mL)	線性回歸方程式	R^2
大黃酚	1.0–250	$y = 50279.79x - 43904.80$	0.9999

(四) 精密度試驗

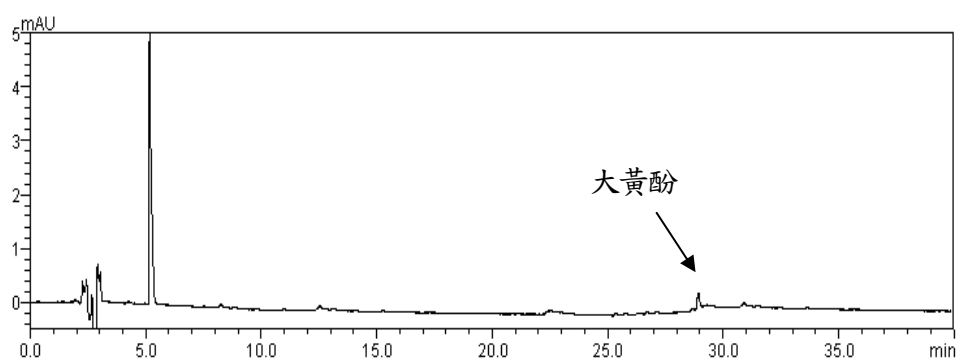
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，大黃酚精密度之相對標準差為 0.08%，均在系統適用性要求內。

(五) 重複性與穩定性試驗

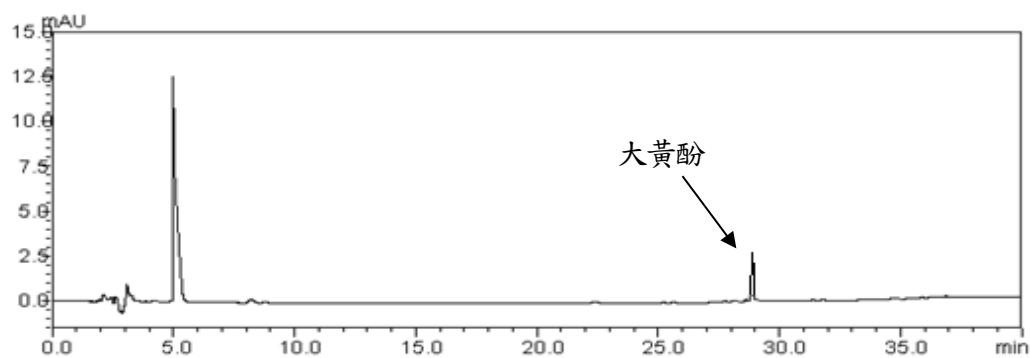
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，大黃酚重複性之相對標準差為 0.43%，在系統適用性要求內。大黃酚在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差為 0.44%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(六) 偵測極限與定量極限試驗

大黃酚偵測極限為 0.03 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 0.10 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、大黃酚之偵測極限層析圖



圖五、大黃酚之定量極限層析圖

表二、各項檢驗分析

檢測項目	大黃酚	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	25 $\mu\text{g/mL}$	0.08
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.2)	0.43
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.2)	0.44
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

大黃酚平均添加回收率為 94.3%，相對標準偏差為 0.82%。

表三、大黃酚添加回收率

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	0.25	0.34	0.30	0.621	93.67	94.33	0.82
2	0.25	0.34	0.30	0.624	94.67		
3	0.25	0.34	0.30	0.624	94.67		
4	0.25	0.34	0.30	0.620	93.33		
5	0.25	0.34	0.30	0.626	95.33		

(八) 臺灣市售決明子飲片含量測定

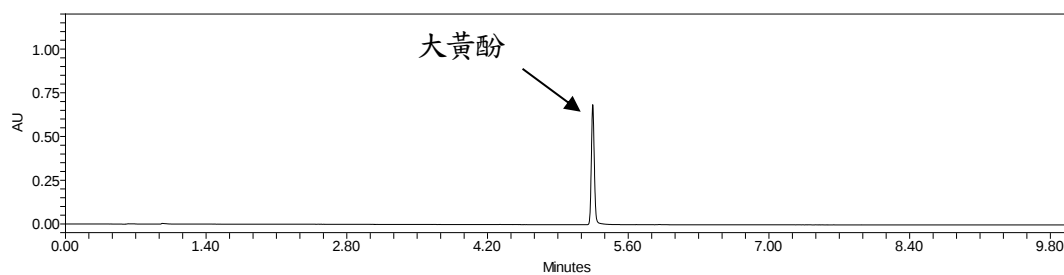
10 批決明子飲片之含量測定結果(乾燥品)如表四所示，大黃酚的含量為 0.044–0.168%。建議決明子飲片指標成分大黃酚的含量不得少於 0.08%。理論板數按大黃酚波峰計算應不低於 8000 (實際值為 200000)。

表四、臺灣市售決明子飲片檢品之大黃酚的含量

藥材編號(No.)	大黃酚含量(%)	藥材編號(No.)	大黃酚含量(%)
1 (ND)	0.168	6 (SC)	0.081
2 (NF)	0.136	7 (SF)	0.065
3 (NN)	0.050	8 (SU-1)	0.112
4 (CA)	0.081	9 (SU-2)	0.044
5 (SA)	0.053	10 (SU-3)	0.061

(九) 標準品大黃酚之 UPLC 層析

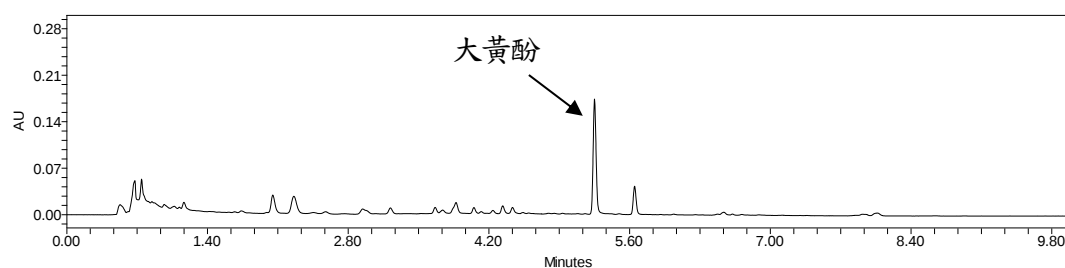
於於滯留時間 5.25 分鐘處顯示大黃酚標準品的波峰(圖六)。



圖六、大黃酚標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十) 市售決明子飲片檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 5.25 分鐘處顯示決明子檢品中大黃酚的波峰(圖七)。



圖七、市售決明子飲片檢品之 UPLC 層析圖

牡丹皮

生藥名：MOUTAN RADICIS CORTEX

英文名：Tree Peony Bark

基 原：本品為毛茛科 Ranunculaceae 植物牡丹 *Paeonia suffruticosa* Andrews 之乾燥根皮。

一、方法

(一) 檢 品 溶 液 **【萃取方法 1】**(臺灣中藥典第三版 2018；香港中藥材標準第一冊)

——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 20 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，濾液濃縮至乾，殘渣加甲醇 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 2】(修飾中華人民共和國藥典 2015) ✓

——取本品粉末 1.0 g，加乙酸乙酯 10 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，濾液濃縮至乾，殘渣加甲醇 2 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 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 溶 液 取牡丹酚(Paeonol)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】**(臺灣中藥典第三版 2018)

——正己烷：乙酸乙酯 (3：1)

【展開劑 2】(修飾中華人民共和國藥典 2015) ✓

——正己烷：乙酸乙酯：冰醋酸 (4：1：0.1)

【展開劑 3】(修飾香港中藥材標準第一冊)

——二氯甲烷：乙酸乙酯：甲醇：甲酸 (50：5：10：0.2)

(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。

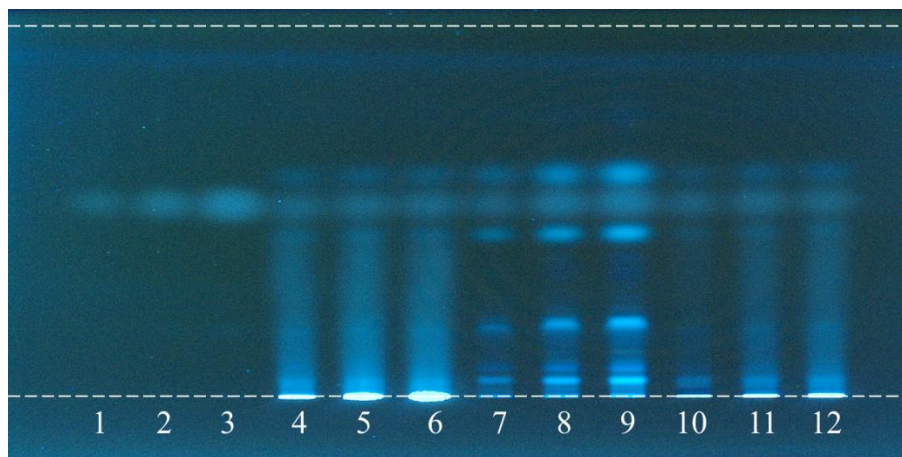
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：107/03/07

相對溼度(RH)：41%

溫度(RT)：26 °C

【展開劑 2】 (修飾中華人民共和國藥典 2015)——正己烷：乙酸乙酯：冰醋酸
(4：1：0.1)



編號	名稱	點注量
1, 2, 3	牡丹酚(2.0 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
4, 5, 6	檢品溶液 3 【萃取方法 1】	2, 5, 8 μ L
7, 8, 9	檢品溶液 3 【萃取方法 2】	2, 5, 8 μ L
10, 11, 12	檢品溶液 3 【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牡丹酚，而由於條帶顯示較清楚也較多，故選擇【萃取方法 2】。

建議點注量：牡丹酚標準品溶液 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 2】5 μ L。

三、溶媒系統選擇

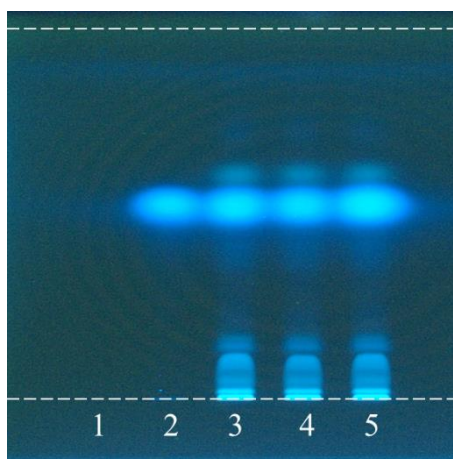
實驗日期：107/03/08

相對溼度(RH)：36%

溫度(RT)：26 °C

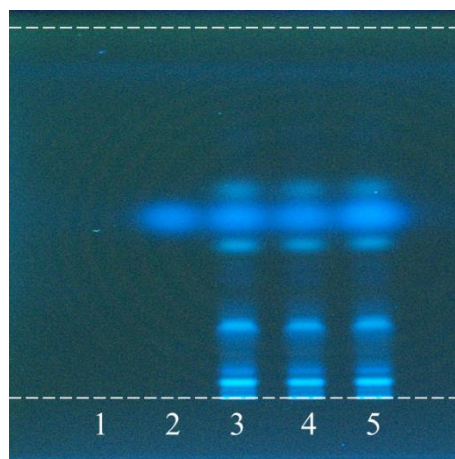
【展開劑 1】 (臺灣中藥典第三版 2018)——正己烷：乙酸乙酯 (3：1)

【萃取方法 2】 (修飾中華人民共和國藥典 2015)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(牡丹酚 R_f 值為 0.53)



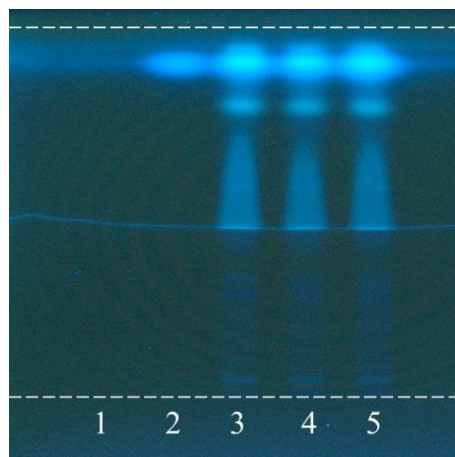
【展開劑 2】 (修飾中華人民共和國藥典 2015)——正己烷：乙酸乙酯：冰醋酸 (4：1：0.1)

【萃取方法 2】 (修飾中華人民共和國藥典 2015)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(牡丹酚 R_f 值為 0.49) ✓



【展開劑 3】 (修飾香港中藥材標準第一冊) ——二氯甲烷：乙酸乙酯：甲醇：甲酸 (50：5：10：0.2)

【萃取方法 2】 (修飾中華人民共和國藥典 2015) ——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(牡丹酚 R_f 值為 0.91； R_f 值 > 0.7)



1：Blank

2：牡丹酚

3，4：檢品溶液 3

5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 2】方式，唯【展開劑 1】及【展開劑 2】展開可明顯從檢品溶液中分離與檢出牡丹酚，而以【展開劑 1】展開，指標成分條帶顯示較明顯，但由於其它條帶顯示較多較清楚及指標成分 R_f 值較趨近於中間值等因素，故選擇採用修飾中華人民共和國藥典 2015 之【展開劑 2】。

四、觀察方式選擇

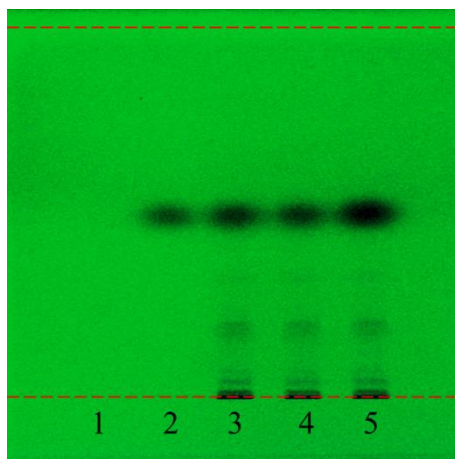
實驗日期：107/03/08

相對溼度(RH)：36%

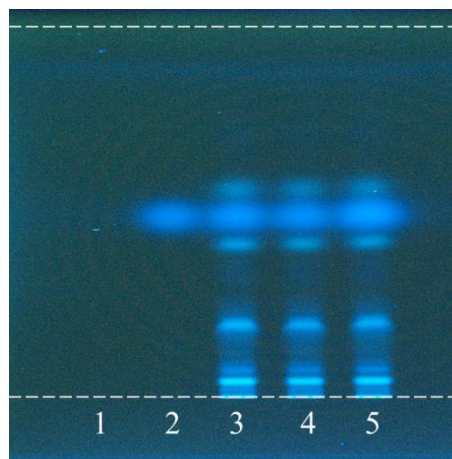
溫度(RT)：26 °C

【展開劑 2】(修飾中華人民共和國藥典 2015)——正己烷：乙酸乙酯：冰醋酸
(4：1：0.1)

【萃取方法 2】(修飾中華人民共和國
藥典 2015)－HPTLC 紫外光(254 nm)
檢出



【萃取方法 2】(修飾中華人民共和國
藥典 2015)－HPTLC 紫外光(365 nm)
檢出✓



1：Blank

2：牡丹酚

3，4：檢品溶液 3

5：Spike

建議觀察方式：於紫外光(365 nm)下顯示出較紫外光(254 nm)有較多明顯之條帶及牡丹酚標準品斑點。

五、十批牡丹皮藥材樣品檢測

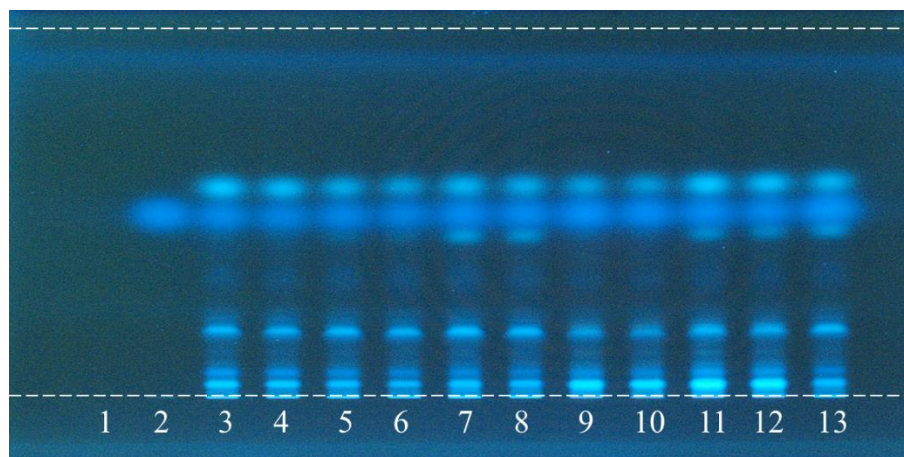
實驗日期：107/03/08

相對溼度(RH)：36%

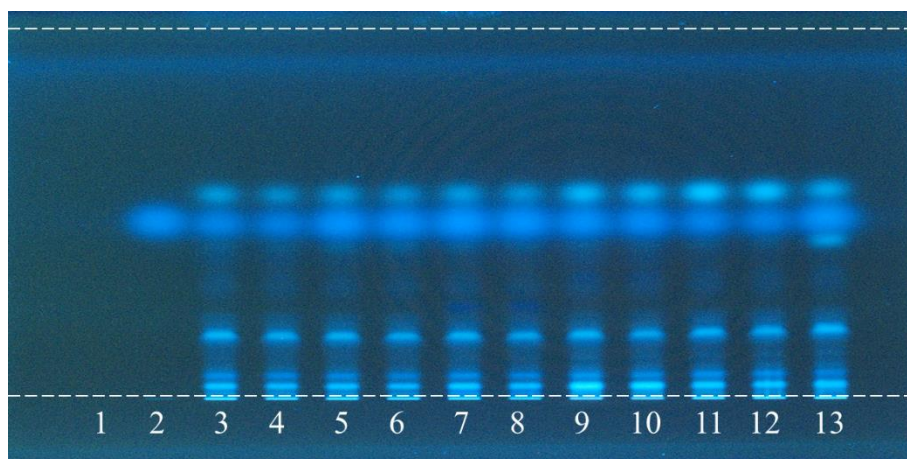
溫度(RT)：26 °C

【展開劑 2】 (修飾中華人民共和國藥典 2015)——正己烷：乙酸乙酯：冰醋酸
(4：1：0.1)

【萃取方法 2】 (修飾中華人民共和國藥典 2015) — HPTLC 紫外光(365 nm)檢
出



1	Blank
2	牡丹酚(2.0 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 1 (NA)
5 , 6	檢品溶液 2 (NC)
7 , 8	檢品溶液 3 (ND)
9 , 10	檢品溶液 4 (NE)
11 , 12	檢品溶液 5 (NG)
13	Spike (檢品溶液 3)



1	Blank
2	牡丹酚(2.0 mg/mL)
3, 4	檢品溶液 6 (NH)
5, 6	檢品溶液 7 (CA)
7, 8	檢品溶液 8 (CG)
9, 10	檢品溶液 9 (SA)
11, 12	檢品溶液 10 (SF)
13	Spike (檢品溶液 3)

結論與建議：以修飾中華人民共和國藥典 2015 之【萃取方法 2】方式，並以修飾中華人民共和國藥典 2015 之【展開劑 2】分離與檢出牡丹酚較佳，於紫外光(365 nm)下檢視較佳。

牡丹皮(飲片)

六、十批牡丹皮飲片檢測

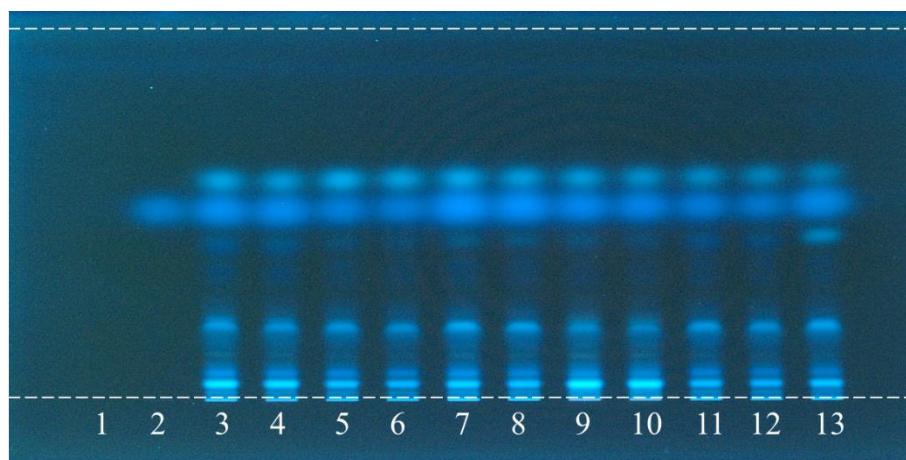
實驗日期：107/06/21

相對溼度(RH)：60%

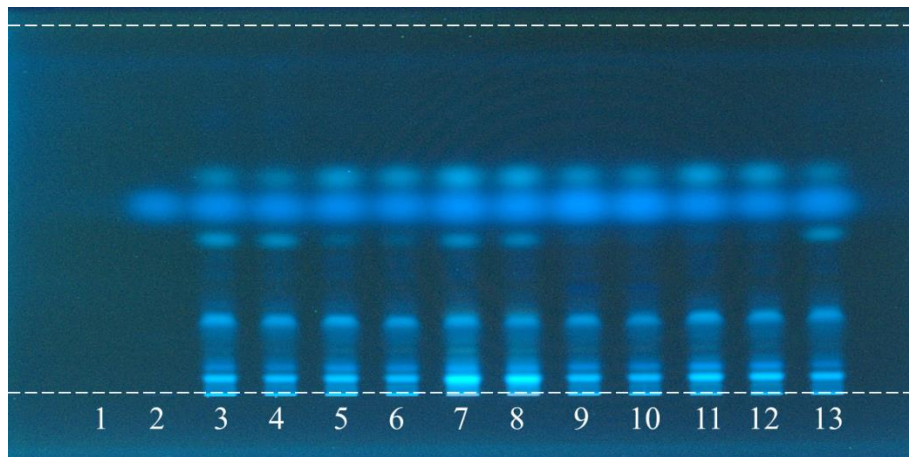
溫度(RT)：25 °C

【展開劑 2】(修飾中華人民共和國藥典 2015)——正己烷：乙酸乙酯：冰醋酸
(4：1：0.1)

【萃取方法 2】(修飾中華人民共和國藥典 2015) — HPTLC 紫外光(365 nm)檢
出



1	Blank
2	牡丹酚(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 6)



1	Blank
2	牡丹酚(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 6)

結論與建議：飲片鑑別同藥材。