

白芍

(PAEONIAE ALBA RADIX)

白芍 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

白芍 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.....	10

白芍 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

白芍 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、十批白芍藥材樣品檢測.....	33
六、十批白芍飲片檢測.....	35

白芍

(PAEONIAE ALBA 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芍的乾燥根。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：白芍

生藥名：PAEONIAE ALBA RADIX

英文名：Peony Root

基原：毛茛科 Ranunculaceae 植物芍藥 *Paeonia lactiflora* Pall. 之去皮乾燥根。

採收加工：夏、秋二季採挖，洗淨，除去頭尾及細根，置沸水中煮後除去外皮或去皮後再煮，曬乾。

藥材性狀：本品呈圓柱形，平直或稍彎曲，兩端平截。表面類白色或淡紅棕色，光潔或有縱皺紋及細根痕，偶有殘存的棕褐色外皮。質堅實，不易折斷，斷面較平坦，偏白色或微帶紅棕色，形成層環明顯，射線放射狀。氣微，味微苦、酸。

生長分佈：多年生草本植物。花期 5~6 月，果期 6~8 月。生於山坡、山谷的灌木叢或草叢中。分佈中國黑龍江、吉林、遼寧、河北、河南、山東、山西、陝西、內蒙古等地。中國各地均有栽培，主產浙江、安徽、四川等地。此外，山東、貴州、湖南、湖北、甘肅、陝西、河南、雲南等地亦產。

三、藥材組織顯微鑑別(圖 2)

1. 皮層薄壁細胞切向延長。
2. 形成層成環，明顯。
3. 木射線寬，含數列細胞。
4. 導管呈放射狀排列。
5. 薄壁細胞含草酸鈣簇晶及糊化澱粉團塊。
6. 含晶細胞有時連接，簇晶排列成行，或單一細胞含一至數個簇晶。

四、藥材粉末顯微鑑別(圖 3)

1. 本品粉末為灰白色。
2. 糊化澱粉團塊甚多。

3. 草酸鈣簇晶，偏光顯微鏡下呈多彩狀。
4. 導管大小不一，主要為網紋及具緣紋孔導管。
5. 木纖維呈長梭狀，壁厚，微木化，具圓形紋孔或斜紋孔。



圖 1 白芍藥材圖

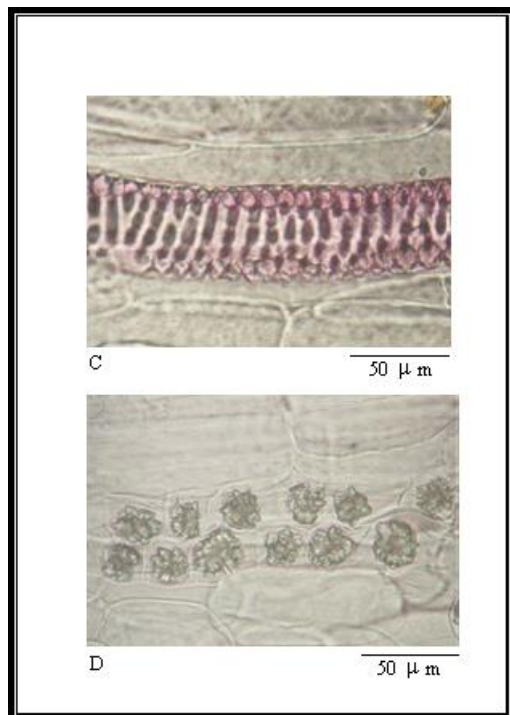
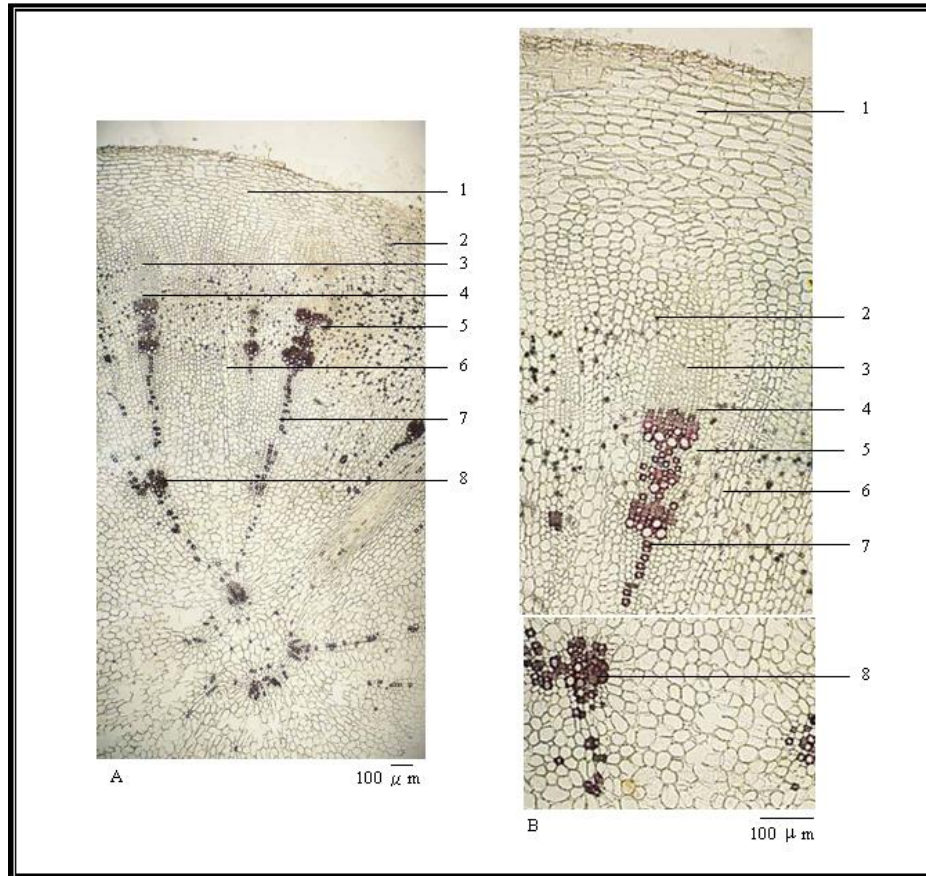


圖 2 白芍橫切面顯微特徵圖

A.橫切面圖 B.橫切面放大圖 C. 螺紋導管 D. 草酸鈣簇晶

1.皮層 2. 草酸鈣簇晶 3.韌皮部 4.形成層 5.木質部 6.木射線 7.導管 8.木纖維

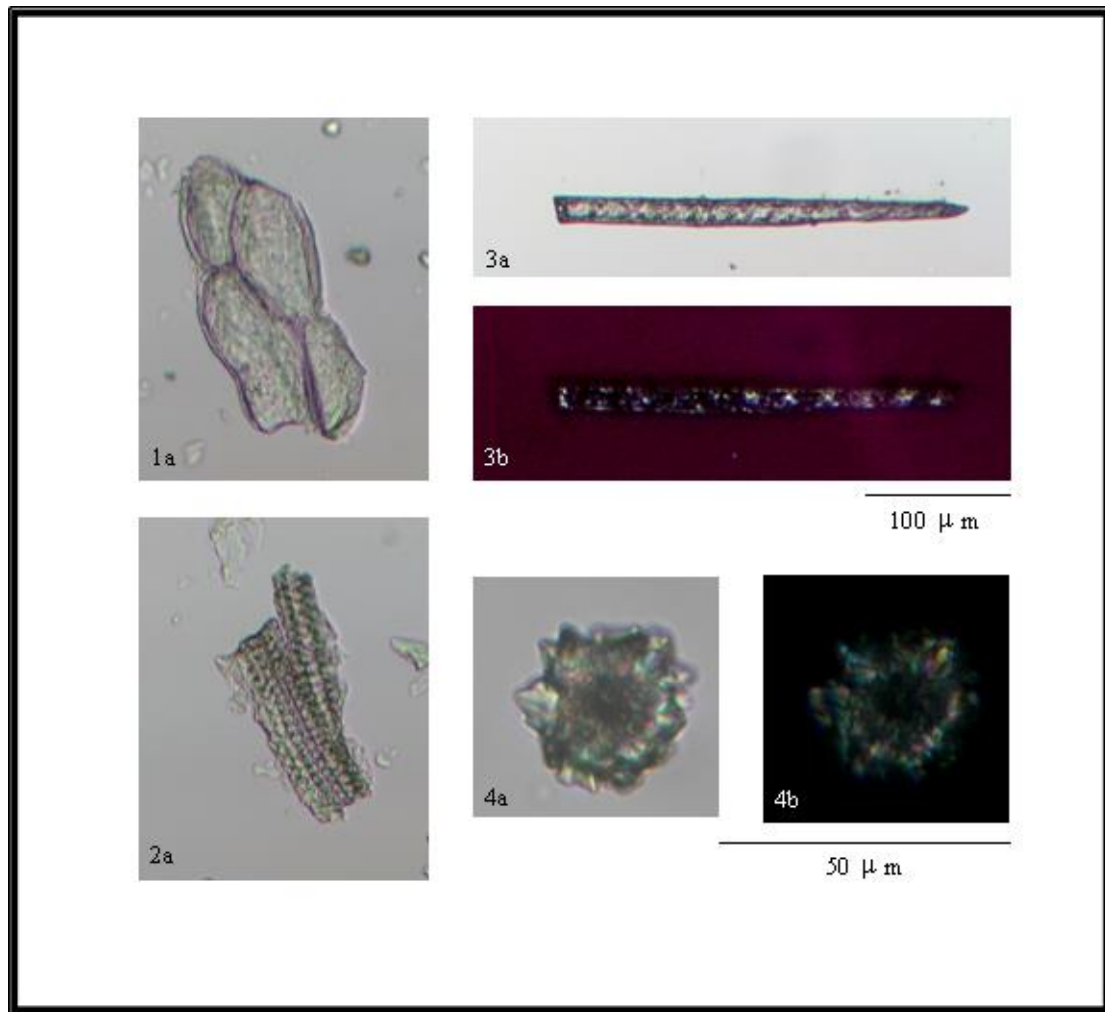


圖 3 白芍粉末顯微特徵圖

a.光學顯微鏡下特徵 b.偏光顯微鏡下特徵

1.糊化澱粉粒 2.導管 3.木纖維 4.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。52-53 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。48-49 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。66 頁。
4. 張賢哲、蔡貴花編著 (2010)。中藥炮製學。台中：中國醫藥大學。172-174 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。79-81 頁。
6. 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。172-179 頁。
7. 肖培根等編輯 (2001)。新編中藥志第一卷。北京：化學工業出版社。333-336 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。178-182 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。515-521 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。155 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。96-97 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。100 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。80-81 頁。

白芍(PAEONIAE ALBA RADIX)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店白芍藥材共 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 COSMOSIL 5C₁₈-AR-II Column (250 x 4.6 mm, 5 μm)。

(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 μm)。

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

乙腈(99.9%)購自於 Merck；磷酸(85%)購自於友和貿易股份有限公司。

(二) 標準品

標準品芍藥苷(paeoniflorin)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 0.1 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 25 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芍藥苷最大波峰面積為最佳白芍萃取溶媒。

(二) 最佳萃取次數評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 0.1 g，置 50 mL 離心管，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，以 No. 1 濾紙過濾，取濾液轉移至 25 mL 之定量瓶中，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

準確稱取標準品芍藥苷 2.0 mg，加 10 mL 的甲醇製成每 1 mL 含芍藥

苷 200 µg 的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 30 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 0.1 g，置 50 mL 錐形瓶中，準確加入 50%乙醇 20 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 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，用標準曲線計算溶液中芍藥苷的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取芍藥苷標準品儲備溶液適量(200 µg/mL)，以甲醇稀釋製成含芍藥苷分別為 100、50、30、15、5.0 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

以芍藥苷濃度為 30 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以芍藥苷的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售白芍粉末，依白芍檢品溶液製備方法平行製備 5 份白芍檢品溶液，進樣測定，以芍藥苷的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售白芍粉末，依白芍檢品溶液製備方法製備白芍檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以芍藥苷的波峰面積為指標，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

取已知芍藥苷含量的白芍粉末 5 份，每份準確稱取約 0.05 g，分別加入 1 mL 的芍藥苷溶液(1.4 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：COSMOSIL5C₁₈-AR-II Column (250 x 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 230 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(%)	水(%)
0	14	86
30	14	86

(十二) 臺灣市售白芍含量測定

取 10 批市售白芍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 公式計算樣品芍藥苷的百分含量。

(十三) 白芍檢品之 UPLC 層析條件

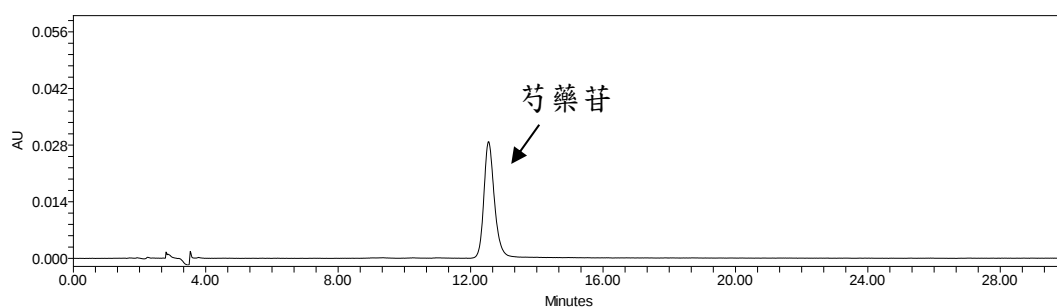
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 230 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	水(%)
0	1	99
2	10	90
5	10	90
10	25	75

五、結果

(一) 標準品芍藥苷之 HPLC 層析

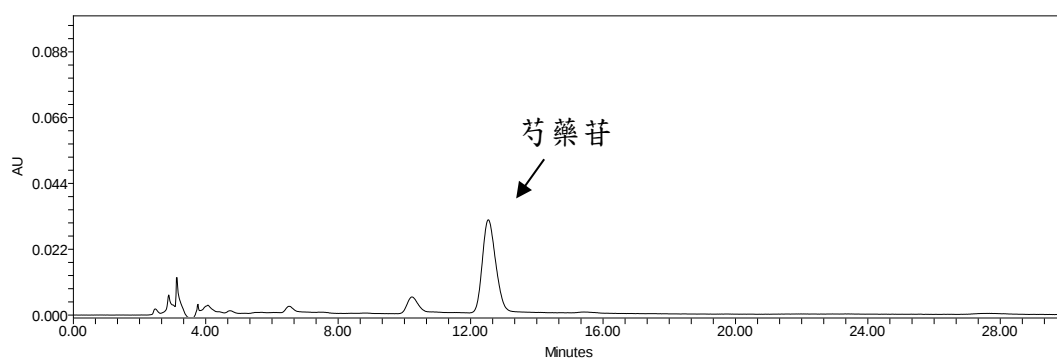
於滯留時間 12.5 分鐘處顯示芍藥苷標準品波峰(圖一)。



圖一、芍藥苷標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售白芍檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 12.5 分鐘處顯示白芍檢品中芍藥苷波峰(圖二)。分離率 $R = 4.52$ ，托尾因子 $T = 1.19$ ，均在系統適用性要求內。



圖二、市售白芍檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒評估

以 50%乙醇為溶媒時，每克藥材重量所得芍藥苷的波峰面積最大，顯示 50%乙醇為最佳萃取溶媒。

表一、不同溶媒萃取比較

溶媒	芍藥苷波峰面積(AU)	最佳萃取
甲醇	236040	
75% 甲醇	725489	
50% 甲醇	698908	
乙醇	89739	
75% 乙醇	663054	
50% 乙醇	776591	√

(四) 最佳萃取次數評估

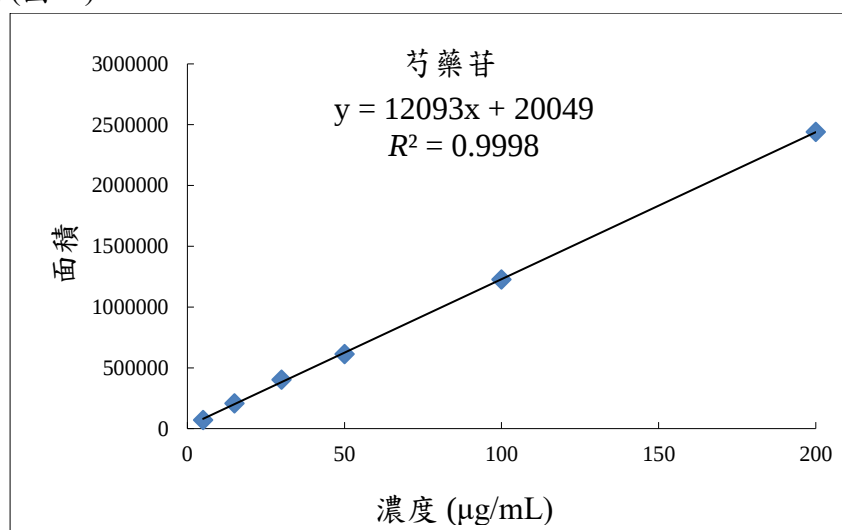
結果顯示萃取 2 次基本上已將芍藥苷萃取完全(萃取率大於 98%)。

表二、白芍檢品萃取次數評估

50%乙醇萃取次數	芍藥苷波峰面積(AU)
第 1 次	903379
第 2 次	49916
第 3 次	3153
第 4 次	N.D.

(五) 標準品芍藥苷檢量線

經不同濃度芍藥苷 (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 $y = 12093x + 20049$ ， $R^2 = 0.9998$ ，顯示濃度在 5.0–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、芍藥苷之檢量線圖

表三、芍藥苷之檢量線方程式

對照標準品	濃度(μg/mL)	線性回歸方程式	R^2
芍藥苷	5.0–200	$y = 12093x + 20049$	0.9998

(六) 精密度試驗

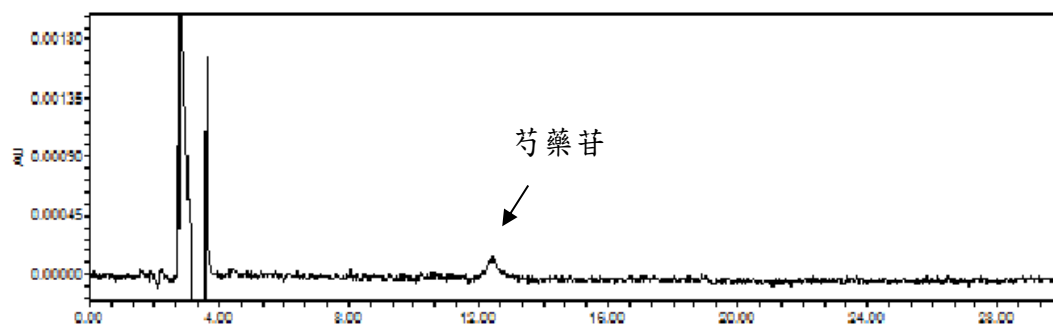
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，芍藥苷精密度之相對標準差為 1.67%，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

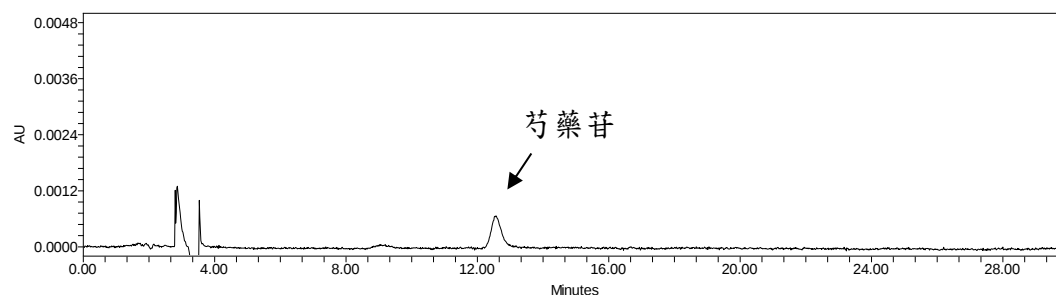
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，芍藥苷重複性之相對標準差為 1.69%，在系統適用性要求內。芍藥苷在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差為 0.56%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

芍藥苷偵測極限為 0.2 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 1.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、芍藥苷之偵測極限層析圖



圖五、芍藥苷之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	芍藥苷	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	30 $\mu\text{g/mL}$	1.67
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.1)	1.69
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.1)	0.56
偵測極限 (n=1)	0.2 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=1)	1.0 $\mu\text{g/mL}$	-

(九) 添加回收率試驗

芍藥苷平均添加回收率為 97.1%，相對標準偏差為 0.81%。

表五、芍藥苷添加回收率

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	0.05	1.4056	1.4	2.7452	95.69	97.08	0.81
2	0.05	1.4056	1.4	2.7672	97.26		
3	0.05	1.4056	1.4	2.7701	97.47		
4	0.05	1.4056	1.4	2.7724	97.63		
5	0.05	1.4056	1.4	2.7686	97.35		

(十) 臺灣市售白芍含量測定

10 批白芍之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，芍藥苷的含量在 1.161–3.745%。建議白芍指標成分芍藥苷的含量不得少於 1.0%。理論板數按芍藥苷波峰計算應不低於 5000 (實際值為 8000)。

表六、臺灣市售白芍檢品之芍藥苷含量

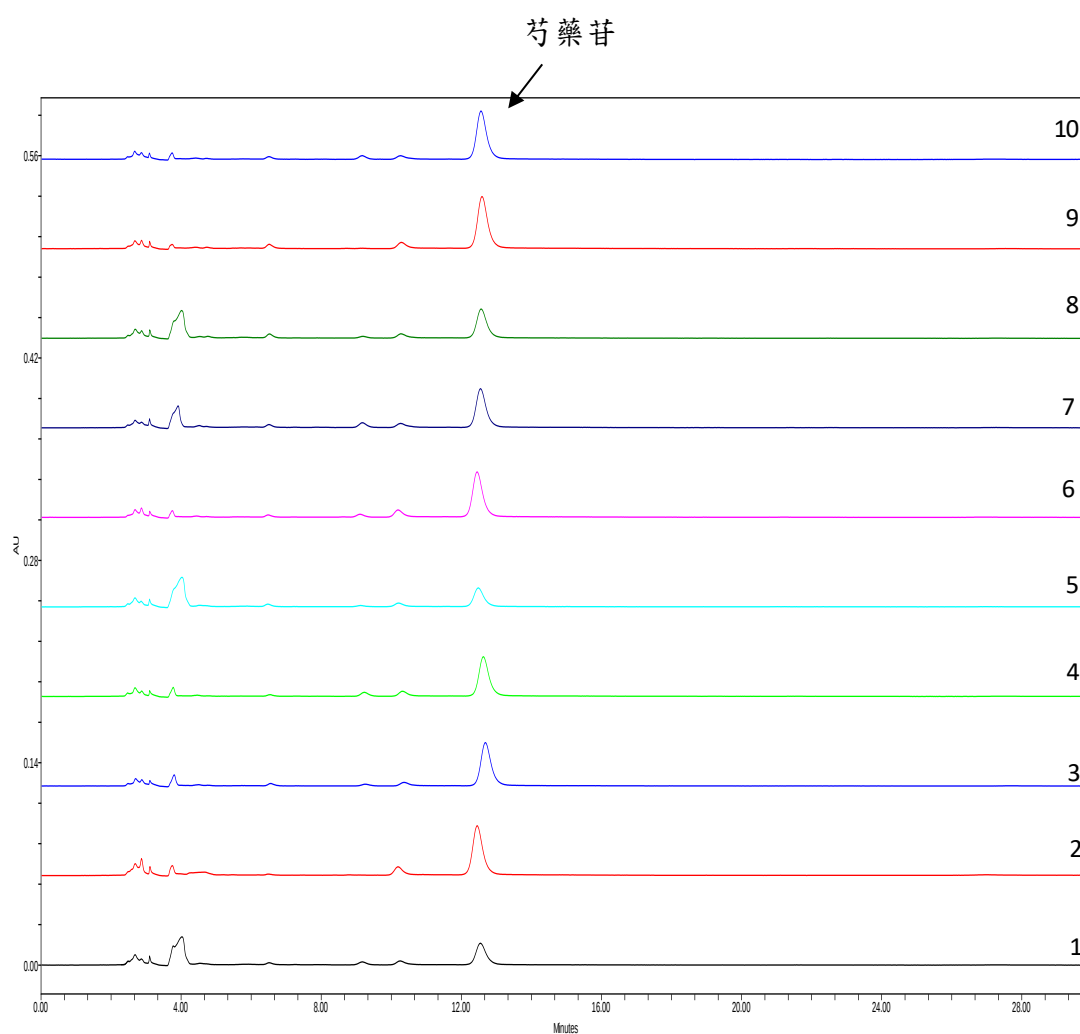
藥材編號(No.)	芍藥苷含量(%)	藥材編號(No.)	芍藥苷含量(%)
1 (NB)	2.778	6 (CA-1)	3.301
2 (ND-1)	3.415	7 (CA-2)	2.746
3 (ND-2)	3.555	8 (SA-1)	1.161
4 (ND-3)	3.145	9 (SA-2)	1.256
5 (NY)	3.745	10 (SA-3)	3.668

(十一) 白芍藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

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

1. 層析管：COSMOSIL 5C₁₈-AR-II Column (250 x 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 230 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：

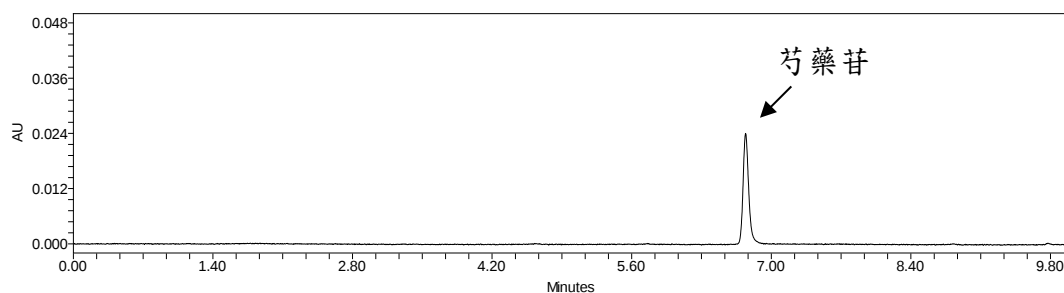
時間(min)	乙腈(%)	水(%)
0	14	86
30	14	86



圖六、10 批白芍藥材之 HPLC 層析圖

(十二) 標準品芍藥苷之 UPLC 層析

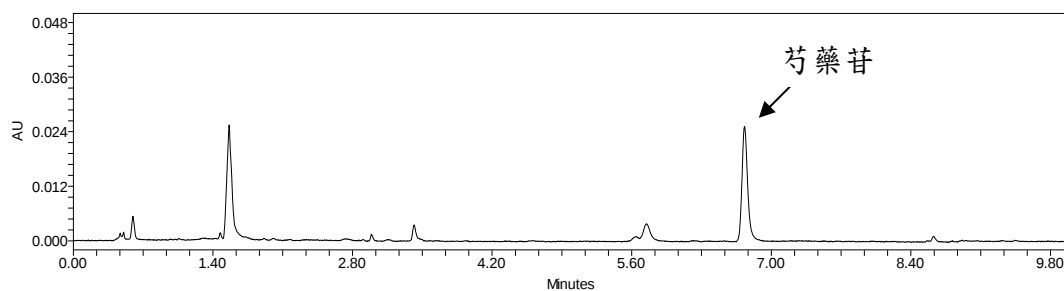
於滯留時間 6.72 分鐘處顯示芍藥苷標準品的波峰(圖六)



圖七、芍藥苷標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十) 市售白芍檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 6.76 分鐘顯示白芍檢品中芍藥苷的波峰(圖七)。

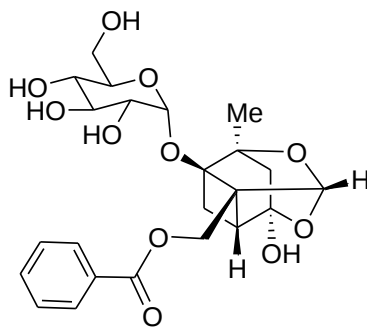


圖八、市售白芍檢品之 UPLC 層析圖

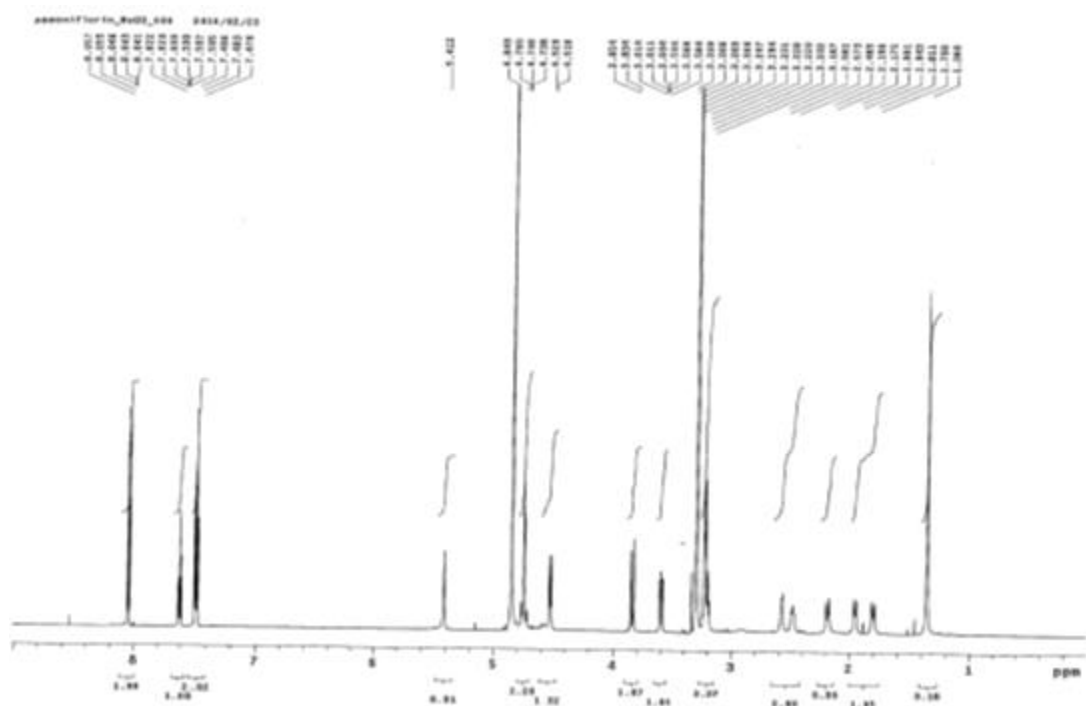
(十四) 芍藥苷的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{23}H_{28}O_{11}$ ；分子量：480.45；熔點：276–278 °C；白色固體。

(十五) 芍藥苷的結構

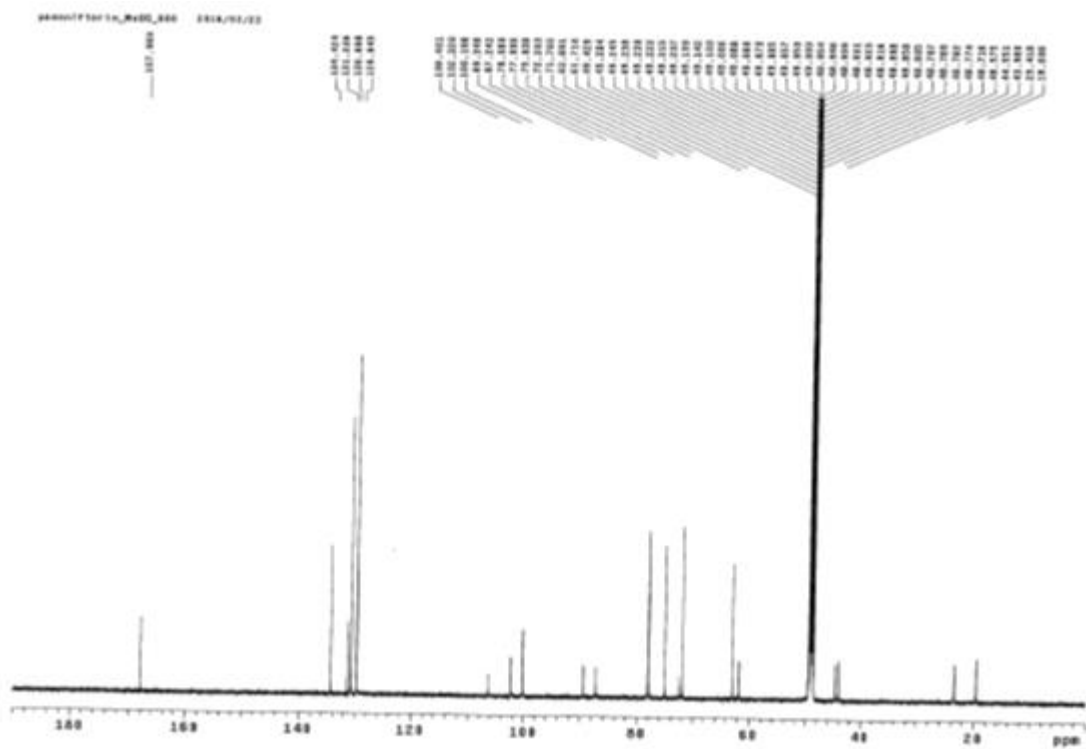


(十六) 芍藥苷的 ^1H NMR 圖譜



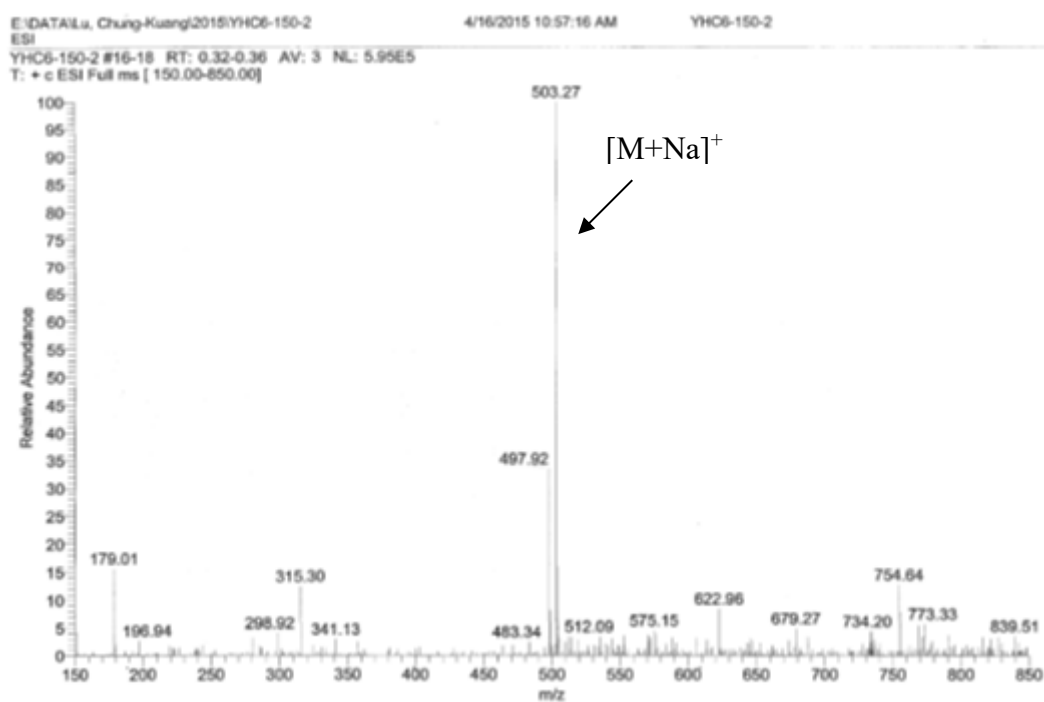
圖九、芍藥苷的 ^1H NMR 圖譜(CD_3OD)

(十七) 芍藥苷的 ^{13}C NMR 圖譜



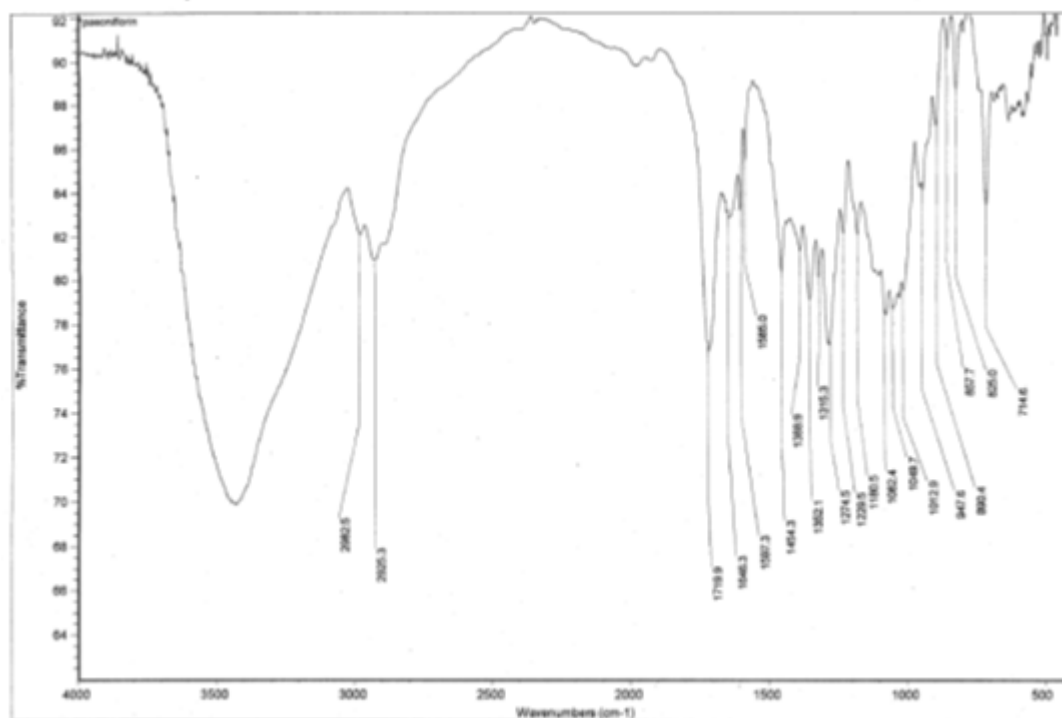
圖十、芍藥苷的 ^{13}C NMR 圖譜(CD_3OD)

(十八) 芍藥苷的 ESI-MS 圖譜



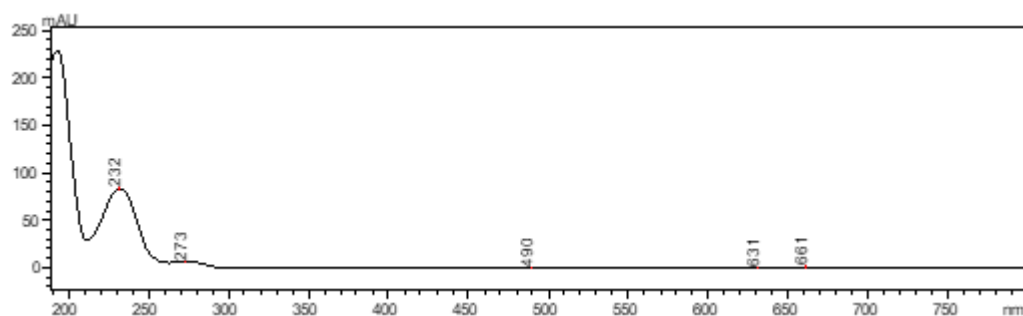
圖十一、芍藥苷的 ESI-MS 圖譜

(十九) 芍藥苷的 FTIR 圖譜



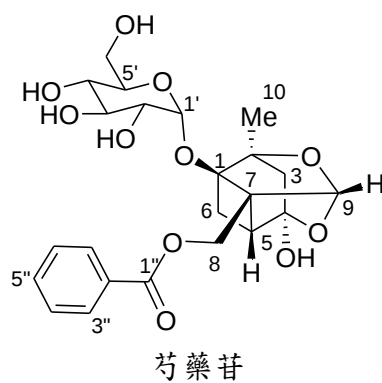
圖十二、芍藥苷的 FTIR 圖譜

(二十) 芍藥苷的 UV 圖譜



圖十三、芍藥苷的 UV 圖譜

(二十一) 芍藥苷的氫、碳化學位移



表七、芍藥苷氫、碳化學位移(CD₃OD)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	-	89.3
2	-	87.2
3	1.80 (d, 12.6), 2.19 (d, 12.6)	44.6
4	-	106.4
5	2.58 (d, 5.4)	44.0
6	1.95 (d, 10.8), 2.47–2.49 (m)	23.4
7	-	72.3
8	4.74 (d, 11.4), 4.76 (d, 11.4)	61.7
9	5.41 (s)	102.3
10	1.36 (s)	19.6
1'	4.52 (d, 7.8)	100.2
2'	3.19–3.24 (m)	75.0
3'	3.19–3.24 (m)	78.0*
4'	3.19–3.24 (m)	71.8

5'	3.19–3.24 (m)	78.1*
6'	3.58–3.61 (m), 3.84 (d, 12.0)	62.9
1''	-	168.0
2''	-	131.2
3''	8.04–8.06 (m)	130.7
4''	7.47–7.50 (m)	129.6
5''	7.60–7.62 (m)	134.4
6''	7.47–7.50 (m)	129.6
7''	8.04–8.06 (m)	130.7

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

白芍飲片(PAEONIAE ALBA RADIX)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店白芍飲片共 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 COSMOSIL 5C₁₈-AR-II Column (250 x 4.6 mm, 5 μm)。

(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 μm)。

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

乙腈(99.9%)購自於 Merck；磷酸(85%)購自於友和貿易股份有限公司。

(二) 標準品

標準品芍藥苷(Paeoniflorin)來自於中醫藥司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

白芍飲片最佳萃取溶媒同白芍藥材。

(二) 最佳萃取次數評估

白芍飲片最佳萃取次數同白芍藥材。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品芍藥苷 2.0 mg，加 10 mL 的甲醇製成每 1 mL 含芍藥苷 200 μg 的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 30 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 0.1 g，置 50 mL 錐形瓶中，準確加入 50%乙醇 20 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 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，用標準曲線計算溶液中芍藥苷的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取芍藥苷標準品儲備溶液適量(200 $\mu\text{g/mL}$)，以甲醇稀釋製成含芍藥苷分別為 100、50、30、15、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

以芍藥苷濃度為 30 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以芍藥苷的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

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

取已知芍藥苷含量的白芍飲片粉末 5 份，每份準確稱取約 0.05 g，分別加入 1 mL 的芍藥苷溶液(1.0 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：COSMOSIL5C₁₈-AR-II Column (250 x 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 230 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(%)	水(%)
0	14	86
30	14	86

(十二) 臺灣市售白芍飲片含量測定

取 10 批市售白芍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 公式計算樣品芍藥苷的百分含量。

(十三) 白芍飲片檢品之 UPLC 層析條件

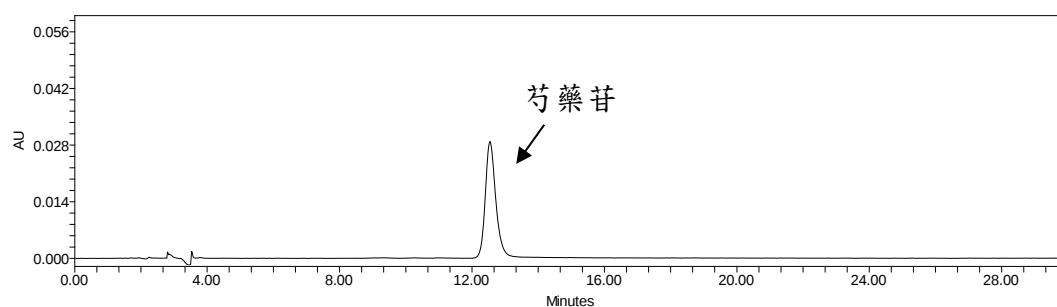
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C₁₈ Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 230 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	水(%)
0	1	99
2	10	90
5	10	90
10	25	75

五、結果

(一) 標準品芍藥苷之 HPLC 層析

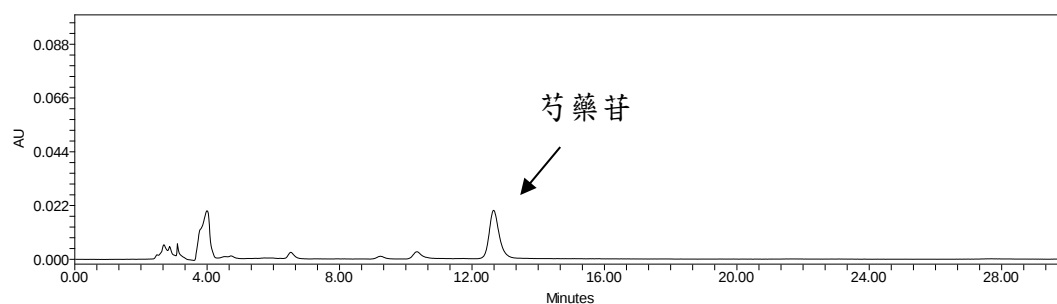
於滯留時間 12.5 分鐘處顯示芍藥苷標準品波峰(圖一)。



圖一、芍藥苷標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售白芍飲片檢品之 HPLC 層析

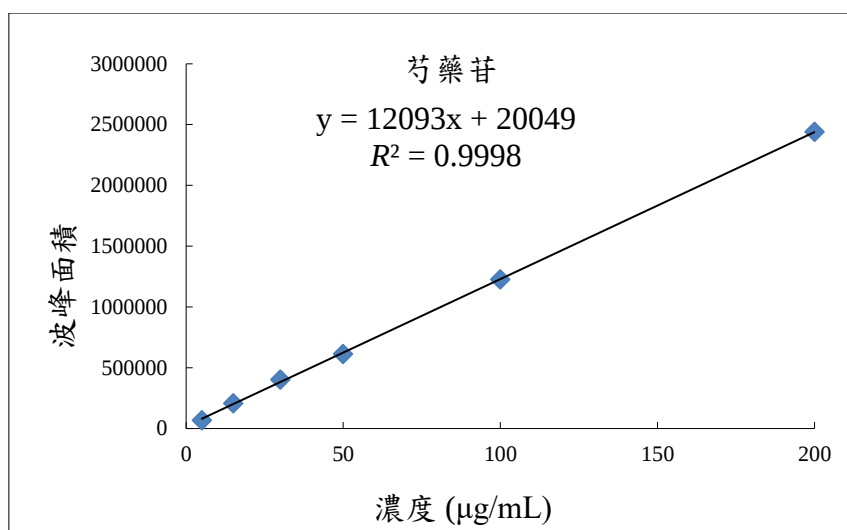
於滯留時間 12.6 分鐘處顯示白芍飲片檢品中芍藥苷波峰(圖二)。分離率(R)為 4.68，托尾因子(T)為 1.17，均在系統適用性要求內。



圖二、市售白芍飲片檢品之 HPLC 層析圖

(三) 標準品芍藥苷檢量線

經不同濃度芍藥苷 (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 $y = 12093x + 20049$ ， $R^2 = 0.9998$ ，顯示濃度在 5.0–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、芍藥苷之檢量線圖

表一、芍藥苷之檢量線方程式

對照標準品	濃度(μg/mL)	線性回歸方程式	R^2
芍藥苷	5.0–200	$y = 12093x + 20049$	0.9998

(四) 精密度試驗

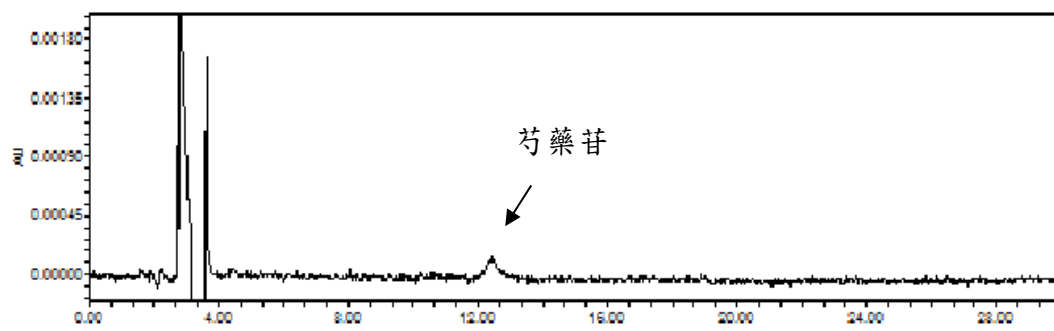
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，芍藥苷精密度之相對標準差為 1.67%，在系統適用性要求內。

(五) 重複性與穩定性試驗

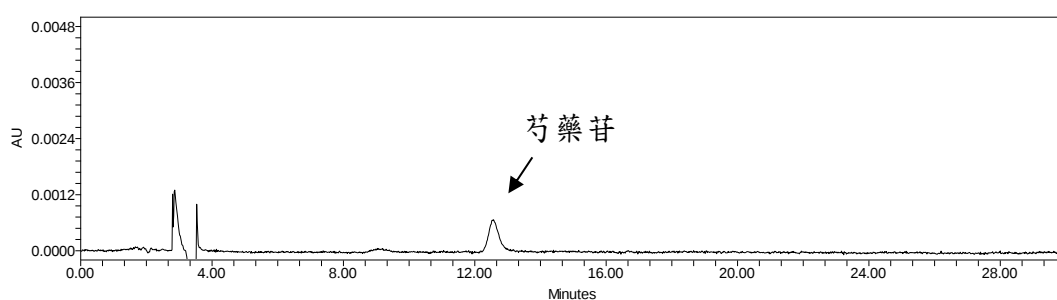
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，芍藥苷重複性之相對標準差為 1.24%，在系統適用性要求內。芍藥苷在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差為 1.15%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(六) 偵測極限與定量極限試驗

芍藥苷偵測極限為 0.2 µg/mL (圖四)，定量極限為 1.0 µg/mL (圖五)。



圖四、芍藥苷之偵測極限層析圖



圖五、芍藥苷之定量極限層析圖

表二、各項檢驗分析

檢測項目	芍藥苷	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	30 µg/mL	1.67
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.3)	1.24
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.3)	1.15
偵測極限 (n=1)	0.2 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	1.0 µg/mL	-

(七) 添加回收率試驗

芍藥苷平均添加回收率為 99.0%，相對標準偏差為 1.7%。

表三、芍藥苷添加回收率

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	0.05	0.7472	1.0	1.7476	100.05	98.96	1.70
2	0.05	0.7472	1.0	1.7428	99.56		
3	0.05	0.7472	1.0	1.7245	97.73		
4	0.05	0.7472	1.0	1.7544	100.72		
5	0.05	0.7472	1.0	1.7141	96.70		

(八) 臺灣市售白芍飲片含量測定

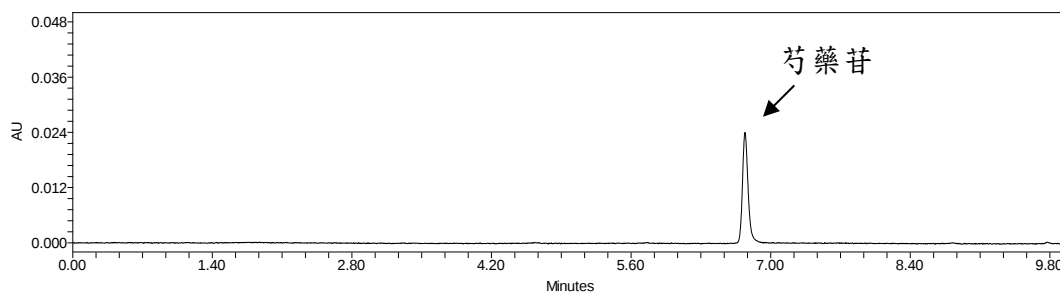
10 批白芍飲片之含量測定結果(乾燥品)如表四所示，芍藥苷的含量在 1.143–3.273%。建議白芍飲片指標成分芍藥苷的含量不得少於 1.6%。理論板數按芍藥苷波峰計算應不低於 5000 (實際值為 9000)。

表四、臺灣市售白芍飲片檢品之芍藥苷含量

藥材編號(No.)	芍藥苷含量(%)	藥材編號(No.)	芍藥苷含量(%)
1 (NC)	2.844	6 (CA)	2.759
2 (ND)	3.273	7 (SC)	1.143
3 (NF)	1.723	8 (SG)	2.464
4 (NJ)	2.324	9 (SU-1)	2.676
5 (NR)	1.314	10 (SU-2)	2.956

(九) 標準品芍藥苷之 UPLC 層析

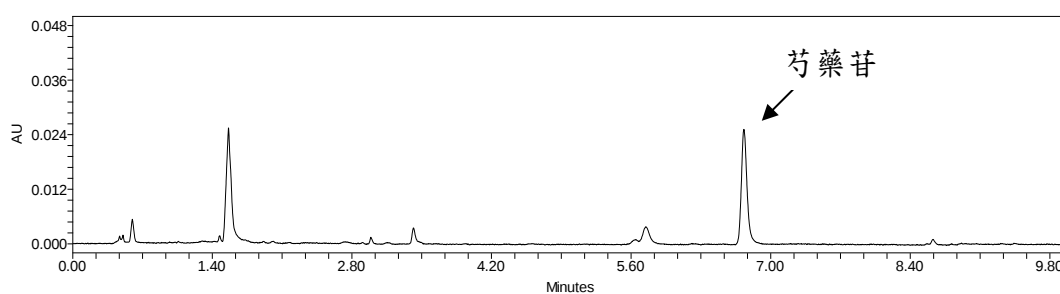
於滯留時間 6.74 分鐘處顯示芍藥苷標準品的波峰(圖六)



圖六、芍藥苷標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十) 市售白芍飲片檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 6.73 分鐘處顯示白芍飲片檢品中芍藥苷的波峰(圖七)。



圖七、市售白芍飲片檢品之 UPLC 層析圖

白芍

生藥名：PAEONIAE ALBA RADIX

英文名：Peony Root

基 原：本品為毛茛科 Ranunculaceae 植物芍藥 *Paeonia lactiflora* Pall.之去皮乾燥根。

一、方法

- (一) 檢 品 溶 液 **【萃取方法 1】(修飾臺灣中藥典第三版 2018) ✓**
——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。
【萃取方法 2】(修飾中華人民共和國藥典 2015)
——取本品粉末 0.5 g，加甲醇 10 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 3】(香港中藥材標準第二冊)
——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。
- (二) 對照標準品 取芍藥苷(Paeoniflorin)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)**
——二氯甲烷：甲醇：水 (26：14：5)混合後，取下層液
【展開劑 2】(修飾中華人民共和國藥典 2015；香港中藥材標準第二冊)
——二氯甲烷：乙酸乙酯：甲醇：甲酸 (50：5：10：0.2)
【展開劑 3】(自行開發) ✓
——乙酸乙酯：甲醇：水 (12：2：1)
- (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。

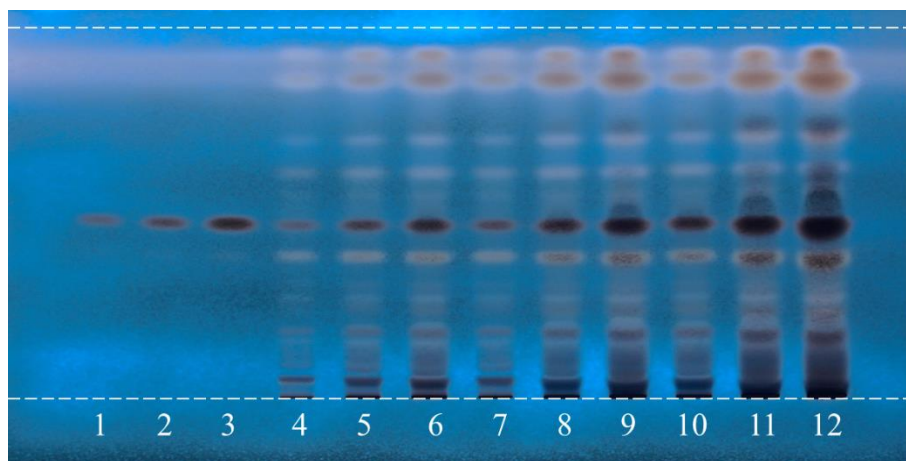
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：107/02/23

相對溼度(RH)：43%

溫度(RT)：24 °C

【展開劑3】 (自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：水 (12：2：1)



編號	名稱	點注量
1, 2, 3	芍藥苷(2.0 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
4, 5, 6	檢品溶液 1【萃取方法 1】	2, 5, 8 μ L
7, 8, 9	檢品溶液 1【萃取方法 2】	2, 5, 8 μ L
10, 11, 12	檢品溶液 1【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芍藥苷，而由於製備方法較簡便快速，故選擇【萃取方法 1】。

建議點注量：芍藥苷標準品溶液 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 1】5 μ L。

三、溶媒系統選擇

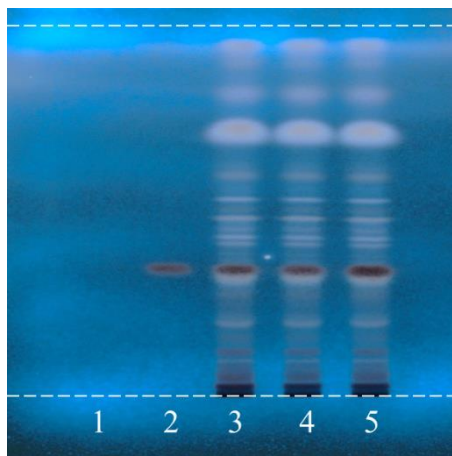
實驗日期：107/02/26

相對溼度(RH)：46%

溫度(RT)：23 °C

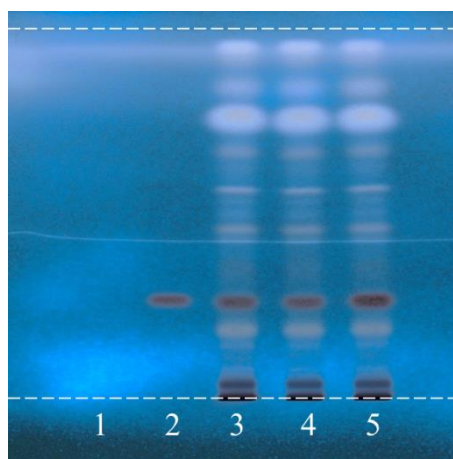
【展開劑 1】 (臺灣中藥典第三版 2018) ——二氯甲烷：甲醇：水 (26：14：5)
混合後，取下層液

【萃取方法 1】 (修飾臺灣中藥典第三版 2018) —— HPTLC 10%硫酸乙醇顯色後
紫外光(365 nm)檢出(芍藥苷 R_f 值為 0.34)



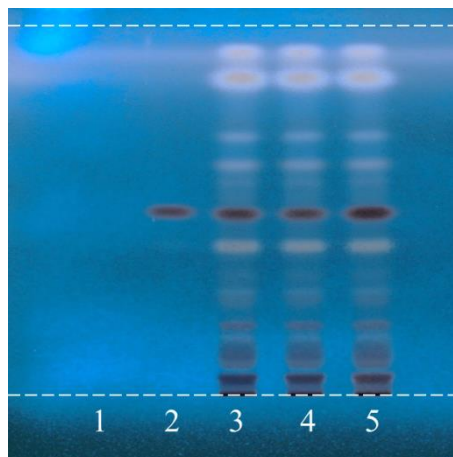
【展開劑 2】 (修飾中華人民共和國藥典 2015；香港中藥材標準第二冊) ——二
氯甲烷：乙酸乙酯：甲醇：甲酸 (50：5：10：0.2)

【萃取方法 1】 (修飾臺灣中藥典第三版 2018) —— HPTLC 10%硫酸乙醇顯色後
紫外光(365 nm)檢出(芍藥苷 R_f 值為 0.26)



【展開劑 3】 (自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：水 (12：2：1) ✓

【萃取方法 1】 (修飾臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 10%硫酸乙醇顯色後
紫外光(365 nm)檢出(芍藥苷 R_f 值為 0.50)



1：Blank

2：芍藥苷

3，4：檢品溶液 1

5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 1】方式，3 種展開劑展開皆可從檢品溶液中分離與檢出芍藥苷，而由於指標成分 R_f 值為中間值，且其分離效果較佳以及展開溶媒中所使用的溶劑較安全廣用，製備方法也較簡便等因素，選擇採用自行開發之【展開劑 3】。

四、觀察方式選擇

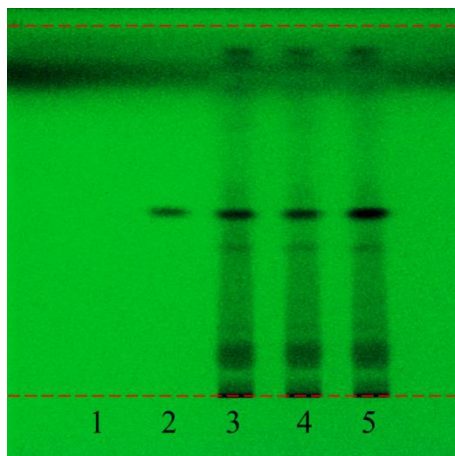
實驗日期：107/02/26

相對溼度(RH)：46%

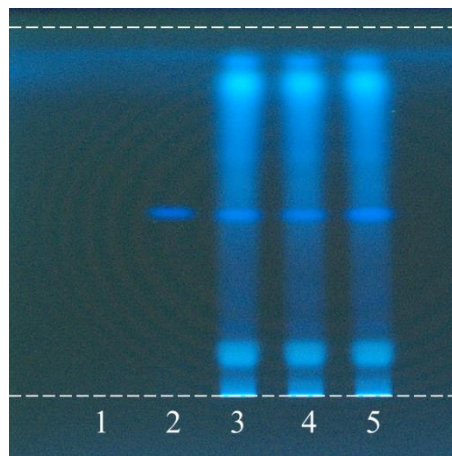
溫度(RT)：23 °C

【展開劑 3】 (自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：水 (12：2：1)

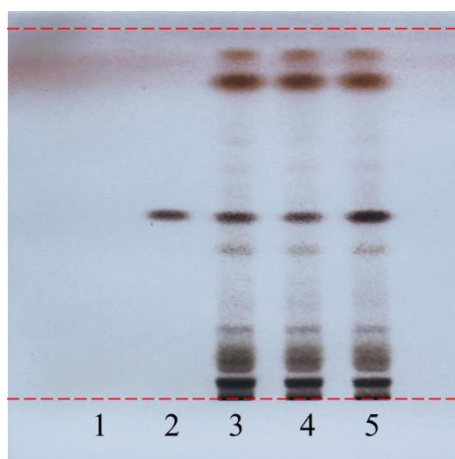
【萃取方法 1】 (修飾臺灣中藥典第三版 2018) —HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



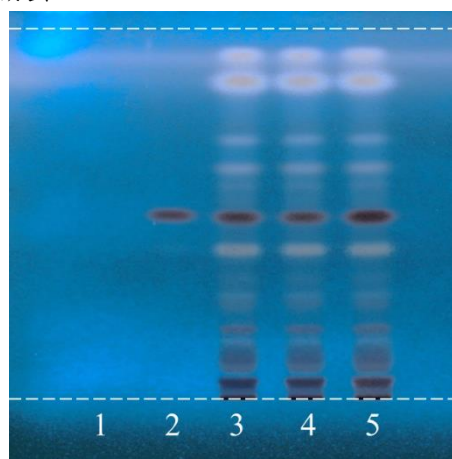
【萃取方法 1】 (修飾臺灣中藥典第三版 2018) —HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



【萃取方法 1】 (修飾臺灣中藥典第三版 2018) —HPTLC 顯色/可見光檢出



【萃取方法 1】 (修飾臺灣中藥典第三版 2018) —HPTLC 顯色/紫外光(365 nm)檢出✓



1：Blank

2：芍藥苷

3，4：檢品溶液 1

5：Spike

建議觀察方式：經 10%硫酸乙醇顯色後，於紫外光(365 nm)檢視較其他觀察方式有較多明顯之條帶及芍藥苷標準品斑點。

五、十批白芍藥材樣品檢測

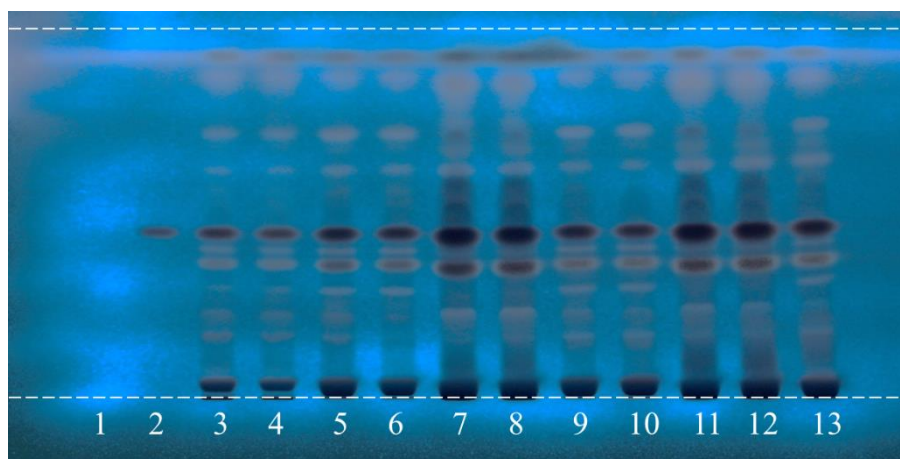
實驗日期：107/02/26

相對溼度(RH)：46%

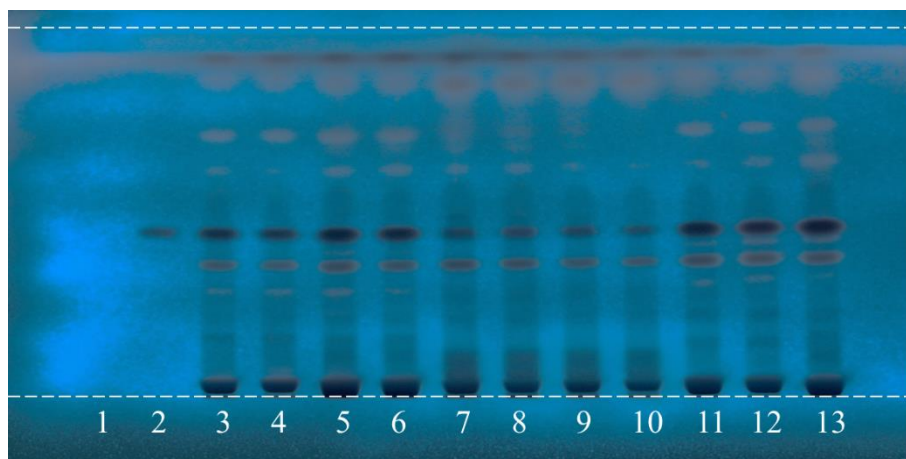
溫度(RT)：23 °C

【展開劑3】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：水 (12：2：1)

【萃取方法1】(修飾臺灣中藥典第三版2018)——HPTLC 10%硫酸乙醇顯色後
紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	芍藥苷(2.0 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 1 (NB)
5 , 6	檢品溶液 2 (ND-1)
7 , 8	檢品溶液 3 (ND-2)
9 , 10	檢品溶液 4 (ND-3)
11 , 12	檢品溶液 5 (NY)
13	Spike (檢品溶液 1)



1	Blank
2	芍藥苷(2.0 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 (SA-3)
13	Spike (檢品溶液 1)

結論與建議：以【萃取方法 1】方式，並以自行開發之【展開劑 3】分離與檢出芍藥苷較佳，以 10%硫酸乙醇顯色後，於紫外光(365 nm)下檢視較佳。

白芍(飲片)

六、十批白芍飲片檢測

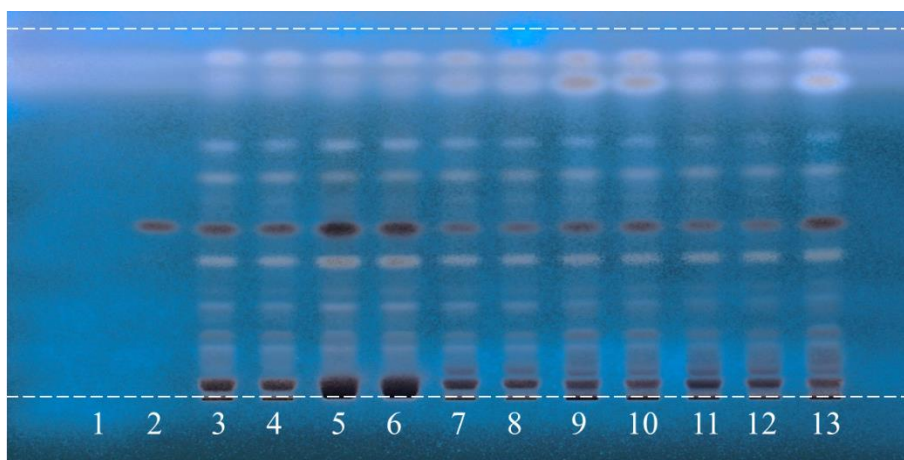
實驗日期：107/06/06

相對溼度(RH)：62%

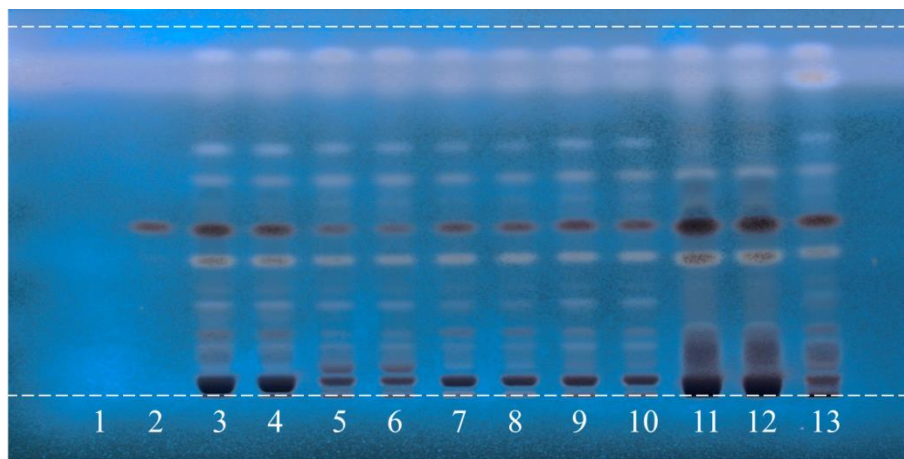
溫度(RT)：26 °C

【展開劑3】 (自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：水 (12：2：1)

【萃取方法1】 (修飾臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 10%硫酸乙醇顯色後
紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	芍藥苷(2.0 mg/mL)
3, 4	檢品溶液 1 (NC)
5, 6	檢品溶液 2 (ND)
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 4)



1	Blank
2	芍藥苷(2.0 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 6 (CA)
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 4)

結論與建議：飲片鑑別同藥材。