

何首烏

(POLYGONI MULTIFLORI RADIX)

何首烏 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）.....	3
四、藥材粉末顯微鑑別（圖 3）.....	3

何首烏 藥材 HPLC

一、材料.....	9
二、儀器及層析管柱.....	9
三、實驗藥品及試劑來源.....	9
四、方法.....	9
五、結果.....	12

何首烏 飲片 HPLC

一、材料.....	23
二、儀器及層析管柱.....	23
三、實驗藥品及試劑來源.....	23
四、方法.....	23
五、結果.....	26

何首烏 TLC

一、方法.....	31
二、萃法選擇及濃度測試.....	32
三、溶媒系統選擇.....	33
四、觀察方式選擇.....	35
五、十批何首烏藥材樣品檢測.....	36
六、十批何首烏飲片樣品檢測.....	38

何首烏

(POLYGONI MULTIFLORI 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何首烏的乾燥塊根。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：何首烏

生藥名：POLYGONI MULTIFLORI RADIX

英文名：Fleeceflower Root

基原：蓼科 Polygonaceae 植物何首烏 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的乾燥塊根。

採收加工：秋、冬兩季葉枯萎時挖取，去除兩端、洗淨泥沙，個體較大的切塊，乾燥。

藥材性狀：本藥材為團塊狀或不規則紡錘形根。表面為紅棕色或紅褐色，皺縮不平，有淺溝，橫長皮孔及細根痕。體重，質堅實，不易折斷，斷面呈淺黃棕色或淺紅棕色，顯粉性，皮部有多個類圓形散布的異形維管束環列，形成雲錦狀花紋，中央木部較大，部分呈木心。氣微，味微苦而甘澀。

飲片性狀：本品多切為厚片狀，部分切為塊狀，表皮深棕色至紅棕色，切面呈淺黃棕色至淡紅棕色，具粉質及雲錦紋，質堅實不易折斷，氣微，味微苦而甘澀。

生長分佈：多年生蔓藤草本。花期 10 月，果期 11 月。生長於草坡、路邊、山坡石隙及灌木叢中。分佈河南、山東、安徽、江蘇、浙江、福建、廣東、廣西、江西、湖南、湖北、四川、貴州、雲南等地。主產河南、湖

北、
貴州、四川、江蘇、廣西等地。此外，浙江、安徽、廣東、山東、
江
西、湖南亦產。

三、藥材組織顯微鑑別(圖 2)

1. 木栓層為數列木栓細胞，充滿棕色物。
2. 韌皮部寬廣，散佈類圓形的異型維管束。
3. 異型維管束為外韌型，導管較少。
4. 根部中央形成層成環。
5. 木質部導管亦少。
6. 薄壁細胞中含草酸鈣簇晶和大量澱粉粒。

四、藥材粉末顯微鑑別(圖 3)

1. 本品粉末為淡黃棕色。
2. 澱粉粒極多，單粒類圓形，臍點呈人字狀或三叉狀；複粒由 2~9 分粒組成，偏光顯微鏡下呈黑十字狀。
3. 草酸鈣簇晶直徑 14~130 μm ，偏光顯微鏡下呈多彩狀。
4. 木栓細胞呈類多角形，胞腔內充滿黃棕色物。
5. 具緣紋孔導管，直徑達 12~120 μm 。



圖 1A 何首烏藥材圖



圖 1B 何首烏飲片藥材圖

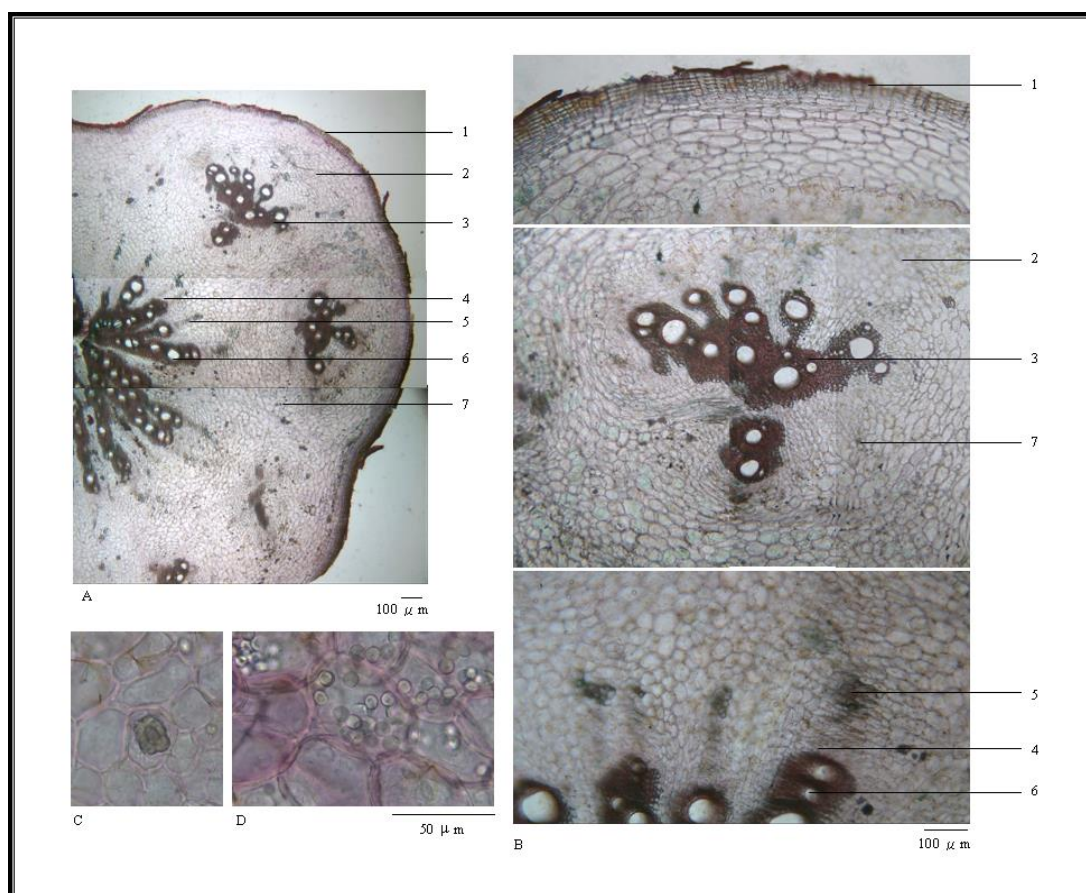


圖 2 何首烏橫切面顯微特徵圖

A.橫切面圖 B.局部組織放大圖 C.草酸鈣簇晶 D.澱粉粒

1.木栓層 2.薄壁細胞 3.異型維管束 4.塊根中央形成層 5.韌皮部 6.木質部 7.草酸鈣簇晶

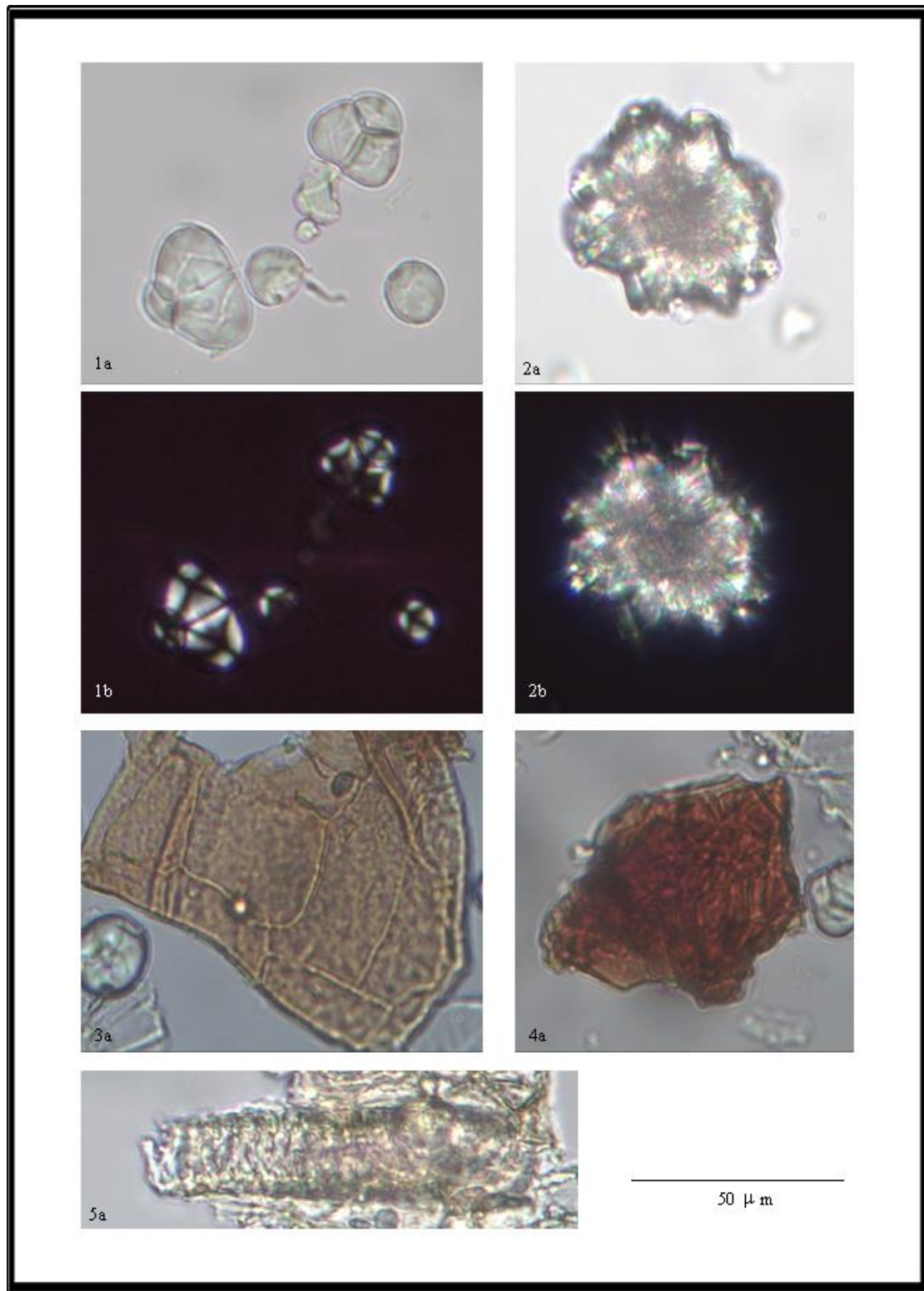


圖 3 何首烏粉末顯微特徵圖

a.光學顯微鏡下特徵 b.偏光顯微鏡下特徵

1.澱粉粒 2.草酸鈣簇晶 3.木栓細胞 4.棕色塊 5.具緣紋孔導管

參考文獻

1. 衛生福利部台灣中藥典第三版編輯工作小組編纂 (2018)。台灣中藥典 (第三版)。台北市：衛生福利部。146~148 頁。
2. 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。80~81 頁。
3. 行政院衛生署中醫藥委員會編輯 (2003)。台灣藥用植物資源名錄。台北市：行政院衛生署中醫藥委員會。181 頁。
4. 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。80 頁。
5. 張永勳、何玉玲總編輯 (2013)。台灣中藥典圖鑑。台北：衛生福利部。106 頁。
6. 張賢哲、蔡貴花編著 (2010)。中藥炮製學。台中：中國醫藥大學。186~188 頁。
7. 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。135~139 頁。
8. 肖培根等編輯 (2001)。新編中藥志第一卷。北京：化學工業出版社。518~527 頁。
9. 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。125~128 頁。
10. 國家中醫藥管理局《中華本草》編委會編輯 (1999)。中華本草第 8 冊。上海：上海科學技術出版社。671~677 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。164~165 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。120 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。124~125 頁。

何首烏(POLYGONI MULTIFLORI RADIX)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店何首烏藥材共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Agilent 1100 series，包含 Degasser G1379A、QuatPump G1311A、Sampler G1329B、DAD G1315B；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、Sampler 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 Mallinckrodt Baker. Inc.；甲酸購自於 Merck；乙腈(99.9%)和乙醇(95%)皆購自於景明化工。

(二) 標準品

標準品何首烏苷(2,3,5,4'-Tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glucoside)購自於普思生物科技股份有限公司，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 0.2g，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇、75%甲醇、50%甲醇、乙醇、75%乙醇、50%乙醇各 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，取濾液搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 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何首烏苷最大波峰面積為最佳何首烏萃取溶媒。

(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 20 mL，超音波振盪處理(功率 300W，頻率 40kHz) 30 分鐘，以 No. 1 濾紙過濾，取濾液搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 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，並選出最佳萃取次數。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品何首烏苷 5.0 mg，加 5 mL 的 50%乙醇製成每 1 mL 含何首烏苷 1000 µg 的標準品儲備溶液，並以 50%乙醇稀釋至 100 µg/mL 製成何首烏苷對照標準品溶液。

(四) 檢品溶液

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 0.2g，置 50 mL 離心管中，準確加入 50%乙醇 20 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 定量瓶中，加 50%乙醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 µm)，即得。

(五) 測定法

分別準確吸取對照標準品溶液(100 µg/mL)、檢品溶液 10mL，注入 HPLC，測定，用標準曲線計算溶液中何首烏苷的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取何首烏苷標準品儲備溶液(1000 µg/mL)適量，以 50%乙醇稀釋製成含何首烏苷分別為 400、200、160、100、80、40、20 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

以何首烏苷濃度為 100 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以何首烏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：取同一批市售何首烏粉末，依何首烏檢品溶液製備方法平行製備 5 份何首烏檢品溶液，進樣測定，以何首烏苷的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售何首烏粉末，依何首烏檢品溶液製備方法製備何首烏檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以何首烏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

取已知何首烏苷含量的何首烏藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.1 g，分別加入 2.3 mL 的何首烏苷溶液(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：Agilent ZORBAX SB-C18 Column (250 x 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 290 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：室溫
5. 注入量：10 μ L
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	1%甲酸(v/v, %)
0	17	83
20	17	83

(十二) 臺灣市售何首烏含量測定

取 10 批市售何首烏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 公式計算樣品何首烏苷的百分含量。

(十三) 何首烏檢品之 UPLC 層析條件

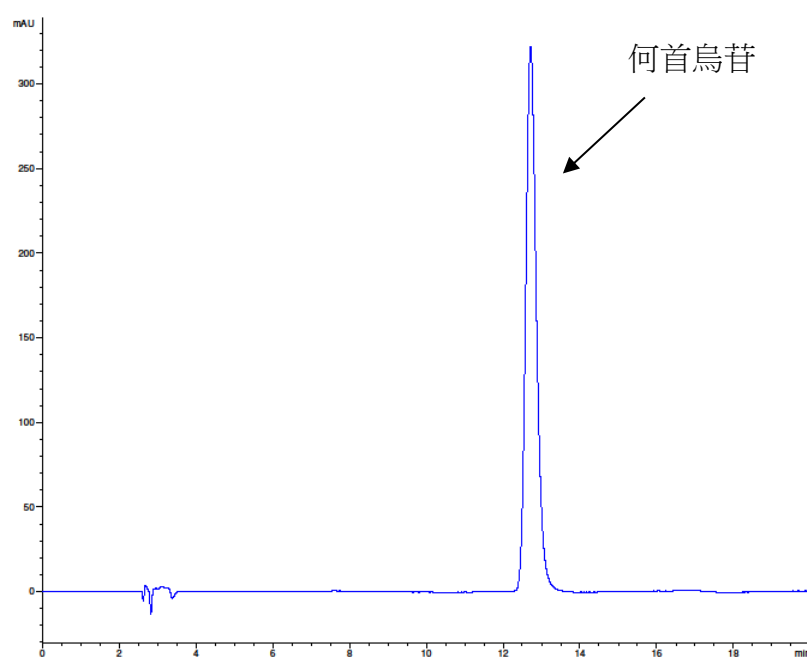
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μ m)
2. 檢測波長：UV 290 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：室溫
5. 注入量：1 μ L
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%甲酸(v/v, %)
0	17	83
10	17	83

五、結果

(一) 標準品何首烏苷之 HPLC 層析

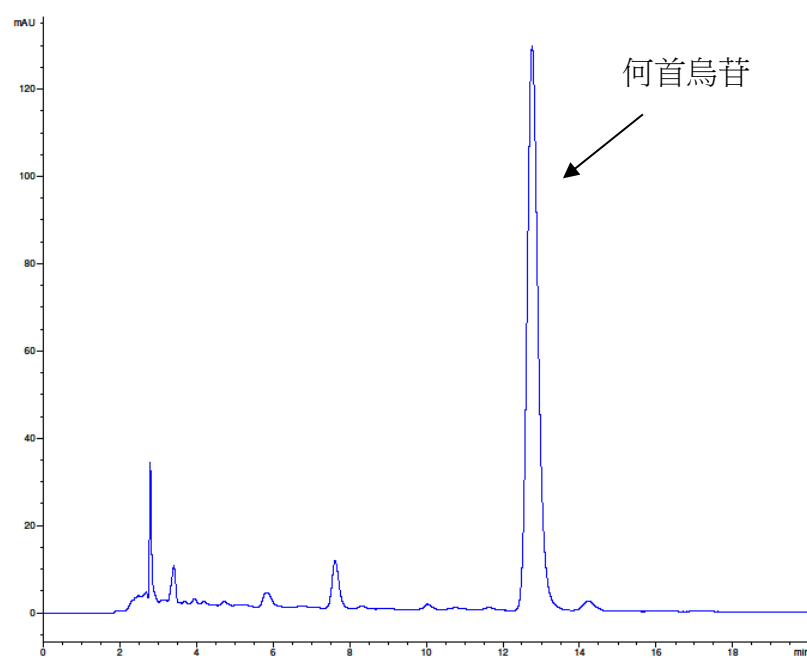
於滯留時間 12.7 分鐘處顯示何首烏苷標準品波峰(圖一)。



圖一、何首烏苷標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售何首烏檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 12.7 分鐘處顯示何首烏檢品中何首烏苷波峰(圖二)。分離率(R)為 8.4，托尾因子(T)為 1.18，均在系統適用性要求內。



圖二、市售何首烏檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒評估

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

表一、不同溶媒萃取比較

溶媒	何首烏苷波峰面積	最佳萃取
甲醇	4987.2	
75%甲醇	5496.9	
50%甲醇	5599.1	
乙醇	3765.7	
75%乙醇	5608.6	
50%乙醇	5834.3	√

(四) 最佳萃取次數評估

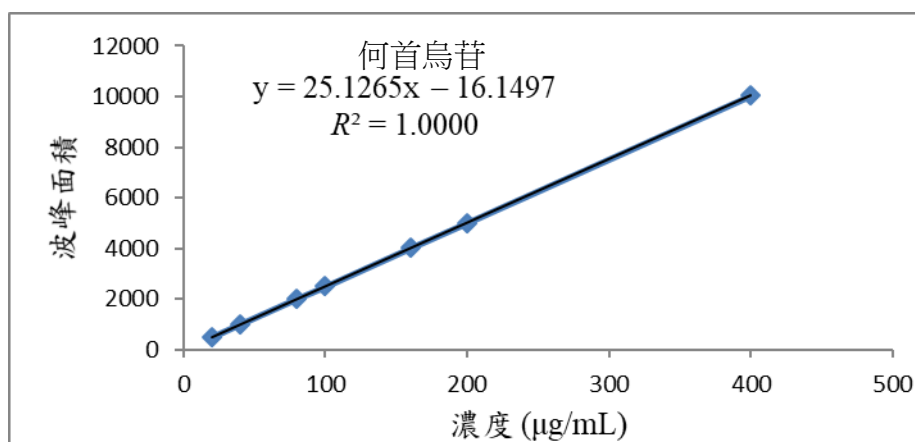
結果顯示萃取 2 次基本上已將何首烏苷萃取完全(萃取率大於 98%)

表二、何首烏檢品萃取次數考察

50%乙醇萃取次數	何首烏苷波峰面積
第 1 次	5834.3
第 2 次	158.8
第 3 次	N.D.

(五) 標準品何首烏苷檢量線

經不同濃度何首烏苷(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 $y = 25.1265x - 16.1497$ ， $R^2 = 1.0000$ ，顯示濃度在 20–400 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、何首烏苷之檢量線圖

表三、何首烏苷之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
何首烏苷	20–400	$y = 25.1265x - 16.1497$	1.0000

(六) 精密度試驗

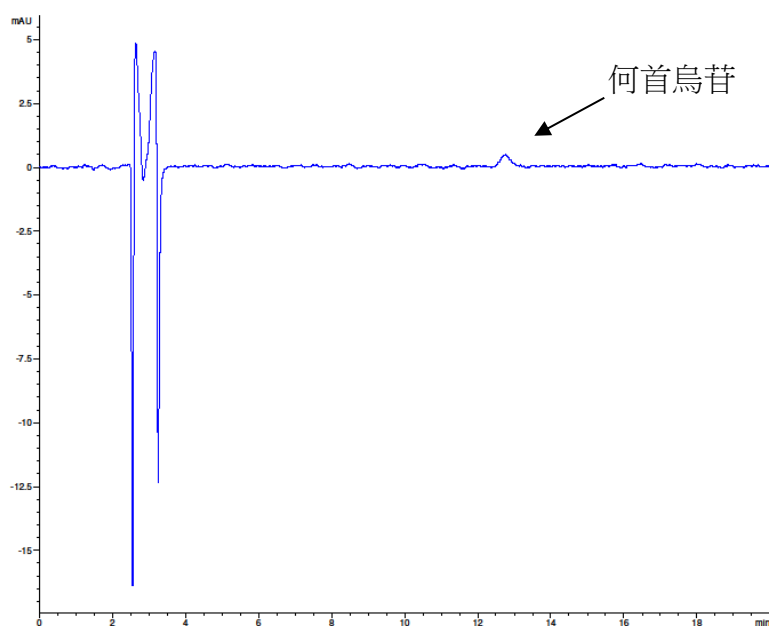
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，何首烏苷精密度之相對標準差為 0.41%，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

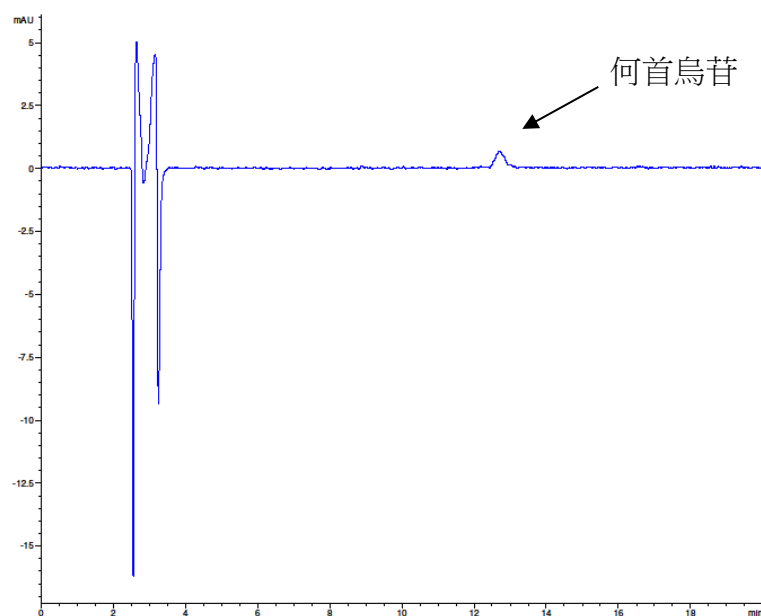
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，何首烏苷重複性之相對標準差為 0.89%，在系統適用性要求內。何首烏苷在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差為 0.39%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

何首烏苷偵測極限為 0.2 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 0.4 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、何首烏苷之偵測極限層析圖



圖五、何首烏苷之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	何首烏苷	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	100 µg/mL	0.41
重複性 (n=5)	檢品溶液(No. 8)	0.89
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No. 8)	0.39
偵測極限 (n=1)	0.2 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	0.4 µg/mL	-

(九) 添加回收率試驗

何首烏苷平均添加回收率為 99.8%，相對標準偏差為 1.91%。

表五、何首烏苷添加回收率

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	0.1	2.393	2.3	4.634	97.4	99.8	1.91
2	0.1	2.393	2.3	4.690	99.9		
3	0.1	2.393	2.3	4.741	102.1		
4	0.1	2.393	2.3	4.655	98.4		
5	0.1	2.393	2.3	4.717	101.0		

(十) 臺灣市售何首烏含量測定

10 批何首烏藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，何首烏苷的含量為 0.39–4.00%。建議何首烏藥材指標成分何首烏苷的含量不得少於 2.2%。理論板數按何首烏苷波峰計算應不低於 5000 (實際值為 10000)。

表六、臺灣市售何首烏檢品之何首烏苷含量

藥材編號(No.)	何首烏苷含量(%)
1 (CA)	0.77
2 (SGC)	0.61
3 (ND)	2.74
4 (NKODA)	3.00
5 (NDA)	2.39
6 (SA-2)	0.46
7 (SCB)	0.39
8 (SG)	4.00
9 (SCSZ)	3.08
10 (SGA)	3.58
平均值±S.D.	2.102±1.401

(十一) 何首烏 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售何首烏檢品溶液各 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 290 nm

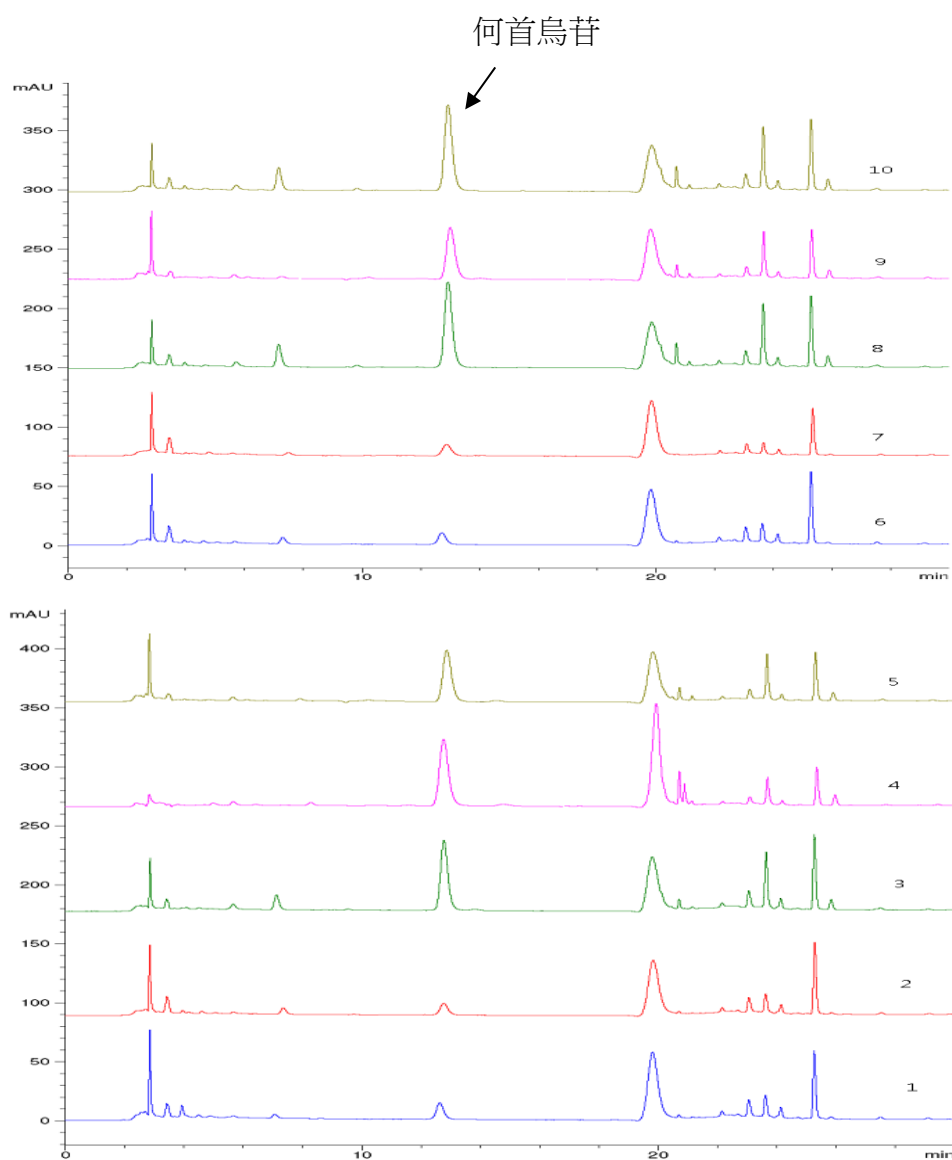
3.流速：1.0 mL/min

4.管柱溫度：室溫

5.注入量：10 μ L

6.移動相：

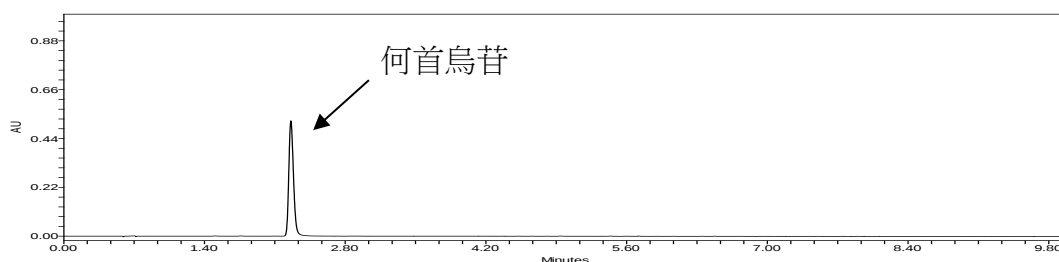
時間(min)	乙腈(%)	1%甲酸(v/v, %)
0	17	83
15	17	83
20	90	10
30	90	10



圖六、10 批何首烏藥材之 HPLC 層析圖

(十二) 標準品何首烏苷之 UPLC 層析

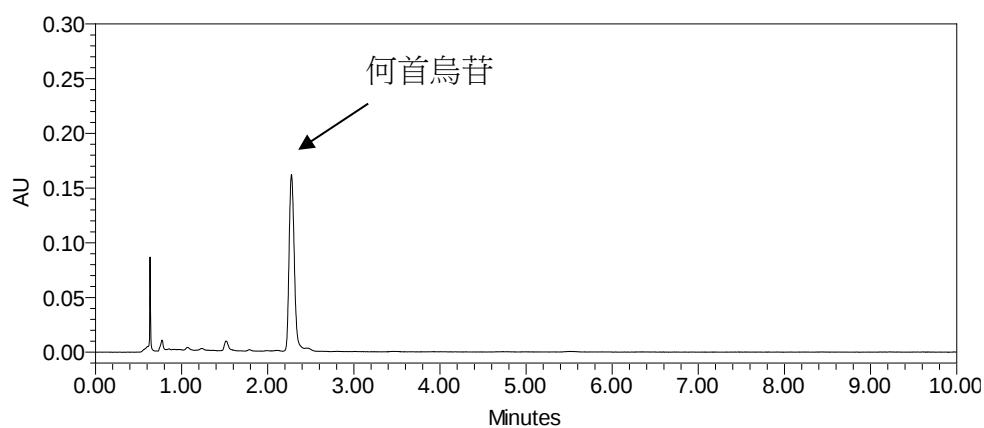
於滯留時間 2.26 分鐘處顯示何首烏苷標準品的波峰(圖七)



圖七、何首烏苷標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售何首烏檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 2.27 分鐘顯示何首烏檢品中何首烏苷的波峰(圖八)。

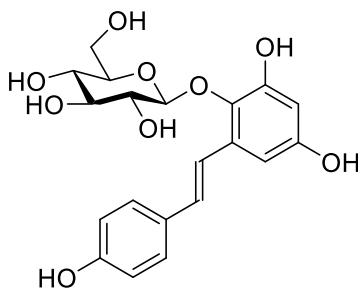


圖八、市售何首烏檢品之 UPLC 層析圖

(十四) 何首烏苷的分子式、分子量與熔點

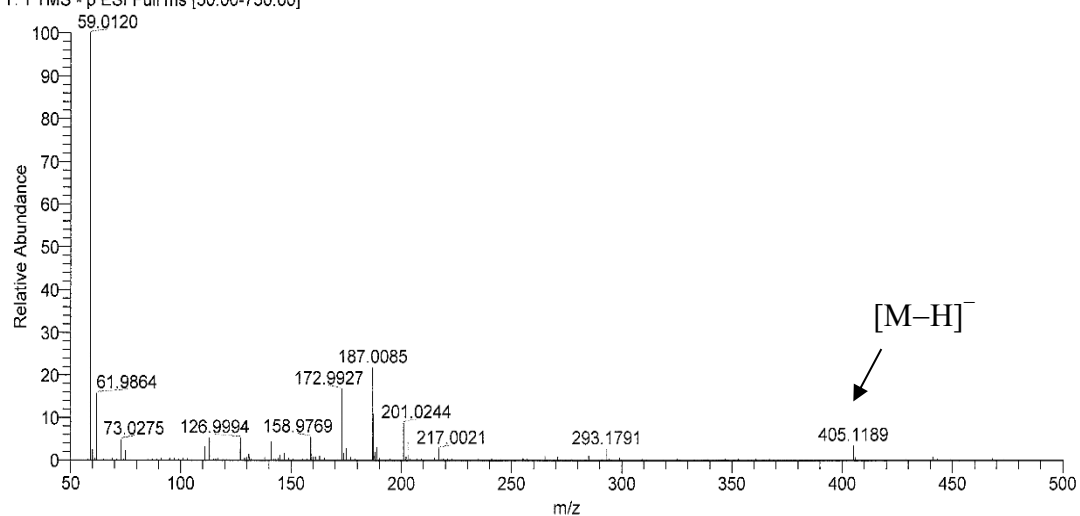
分子式： $C_{20}H_{22}O_9$ ；分子量：406.39；熔點：137–139 °C；棕色固體。

(十五) 何首烏苷的結構



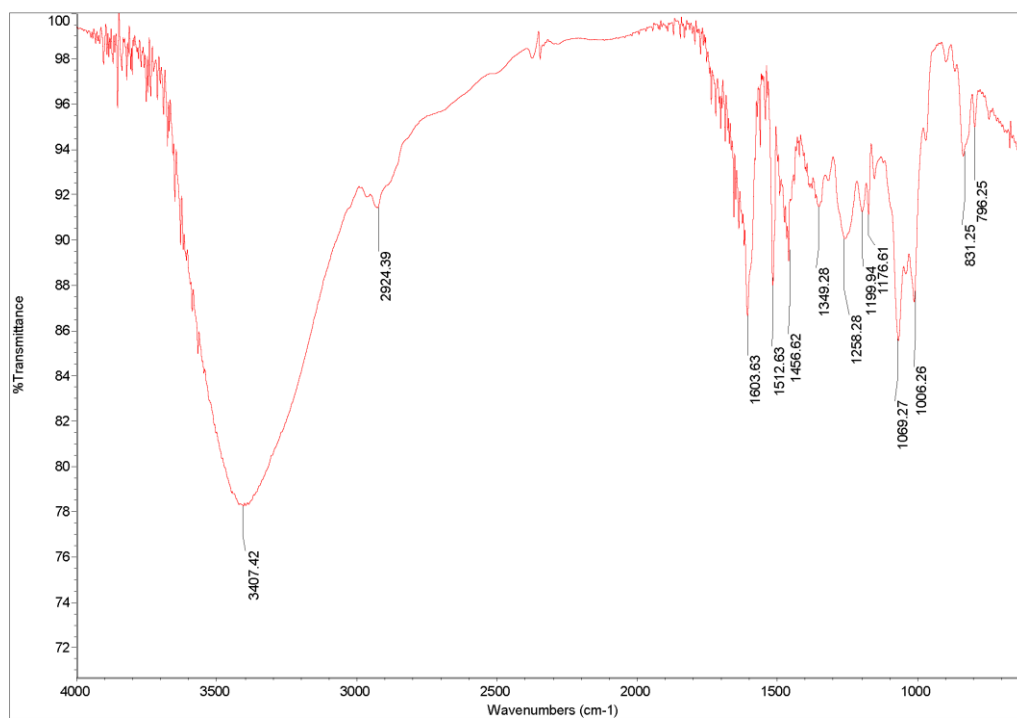
(十八) 何首烏苷的 ESI-MS 圖譜

soutin #82 RT: 0.78 AV: 1 NL: 1.70E8
T: FTMS - p ESI Full ms [50.00-750.00]



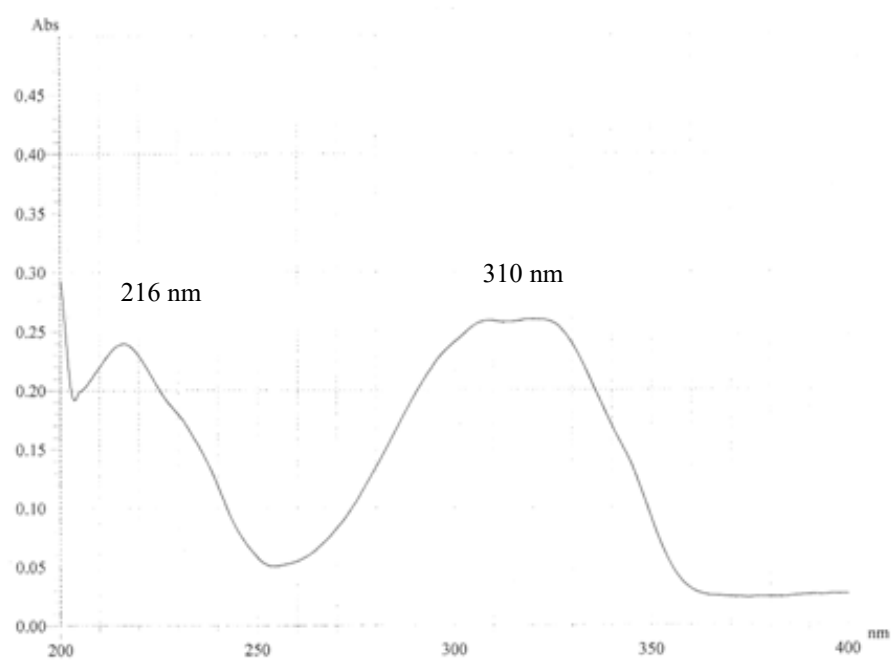
圖十一、何首烏苷的 ESI-MS 圖譜

(十九) 何首烏苷的 FTIR 圖譜



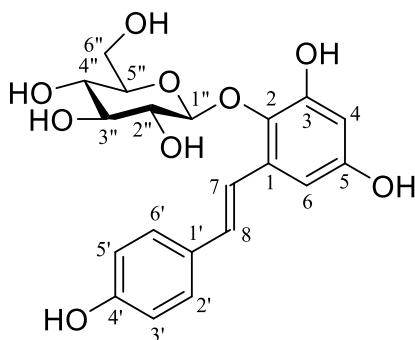
圖十二、何首烏苷的 FTIR 圖譜

(二十) 何首烏苷的 UV 圖譜



圖十三、何首烏苷的 UV 圖譜

(二十一) 何首烏苷的氫、碳化學位移



表七、何首烏苷之氫、碳化學位移(CD₃OD)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	-	133.70
2	-	137.95
3	-	152.09
4	6.23 (d, 3.0)	103.57
5	-	155.99
6	6.60 (d, 3.0)	102.64
7	7.69 (d, 16.2)	121.73
8	7.91 (d, 16.2)	130.03
1'	-	130.84
2'	7.44 (d, 8.4)	129.22
3'	8.75 (d, 8.4)	116.43
4'	-	158.38
5'	8.75 (d, 8.4)	116.43
6'	7.44 (d, 8.4)	129.22
1''	4.49 (d, 7.8)	108.25
2''	3.55 (dd, 9.6, 8.4)	75.49
3''	3.42 (t, 9.6)	77.96
4''	3.52 (t, 9.6)	70.79
5''	3.26 (ddd, 9.6, 4.2, 2.4)	78.24
6''	3.80 (dd, 12.0, 2.4)	62.09
	3.75 (dd, 12.0, 4.2)	

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

何首烏飲片 (POLYGONI MULTIFLORI RADIX)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店何首烏飲片共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Agilent 1100 series，包含 Degasser G1379A、QuatPump G1311A、Sampler G1329B、DAD G1315B；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、Sampler 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 Mallinckrodt Baker. Inc.；甲酸購自於 Merck；乙腈(99.9%)和乙醇(95%)皆購自於景明化工。

(二) 標準品

標準品何首烏苷(2,3,5,4'-Tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glucoside)購自於普思生物科技股份有限公司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒開發

何首烏飲片最佳萃取溶媒同何首烏藥材。

(二) 最佳萃取次數評估

何首烏飲片最佳萃取溶媒同何首烏藥材。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品何首烏苷 5.0 mg，加 5 mL 的 50%乙醇製成每 1 mL 含何首烏苷 1000 μ g 的標準品儲備溶液，並以 50%乙醇稀釋至 100 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 0.2 g，置 50 mL 離心管中，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 定量瓶中，加 50%乙醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 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 10mL，注入 HPLC，測定，用標準曲線計算溶液中何首烏苷的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取何首烏苷標準品儲備溶液適量(1000 µg/mL)，以 50%乙醇稀釋製成含何首烏苷分別為 400、200、160、100、80、40、20 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

以何首烏苷濃度為 100 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以何首烏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：取同一批市售何首烏飲片粉末，依何首烏檢品溶液製備方法平行製備 5 份何首烏檢品溶液，進樣測定，以何首烏苷的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售何首烏飲片粉末，依何首烏檢品溶液製備方法製備何首烏檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以何首烏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

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

取已知何首烏苷含量的何首烏飲片粉末 5 份，每份準確稱取約 0.1 g，分別加入 1.9 mL 的何首烏苷溶液(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：Agilent ZORBAX SB-C18 Column (250 x 4.6 mm, 5 µm)
2. 檢測波長：UV 290 nm

3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：室溫
5. 注入量：10 μ L
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	1%甲酸(v/v, %)
0	17	83
20	17	83

(十二) 臺灣市售何首烏飲片含量測定

取 10 批市售何首烏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 公式計算樣品何首烏苷的百分含量。

(十三) 何首烏飲片檢品之 UPLC 層析條件

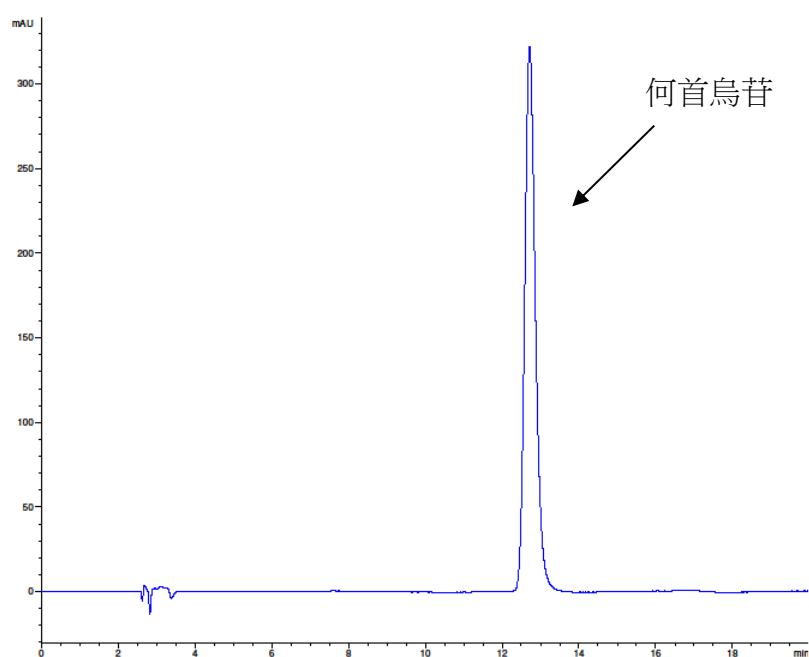
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μ m)
2. 檢測波長：UV 290 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：室溫
5. 注入量：1 μ L
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%甲酸(v/v, %)
0	17	83
10	17	83

五、結果

(一) 標準品何首烏苷之 HPLC 層析

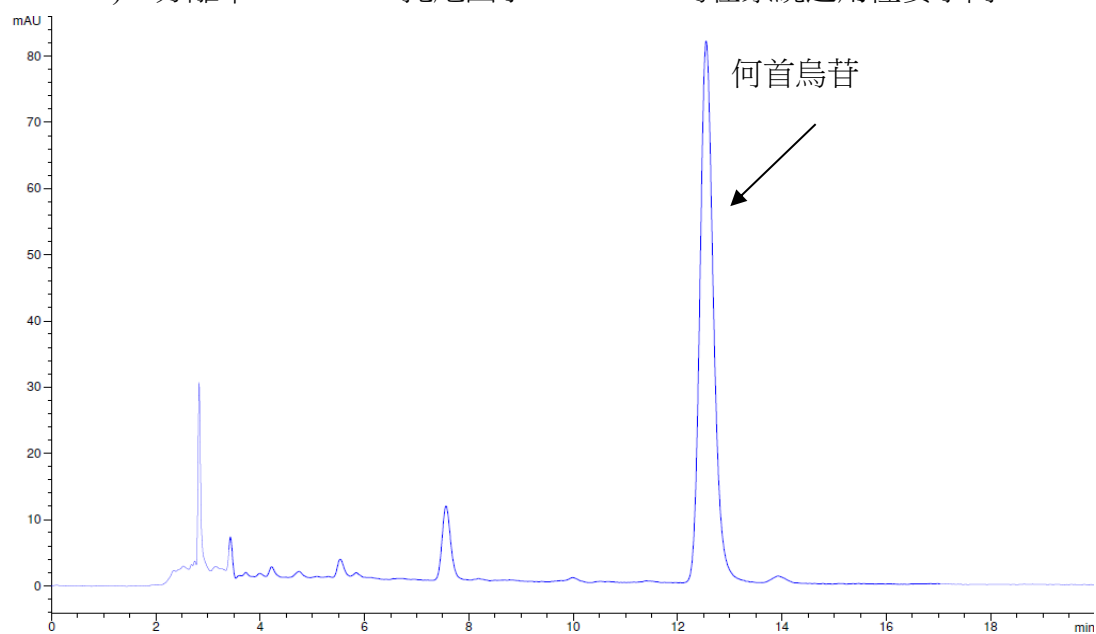
於滯留時間 12.7 分鐘處顯示何首烏苷標準品波峰(圖一)。



圖一、何首烏苷標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售何首烏飲片檢品之 HPLC 層析

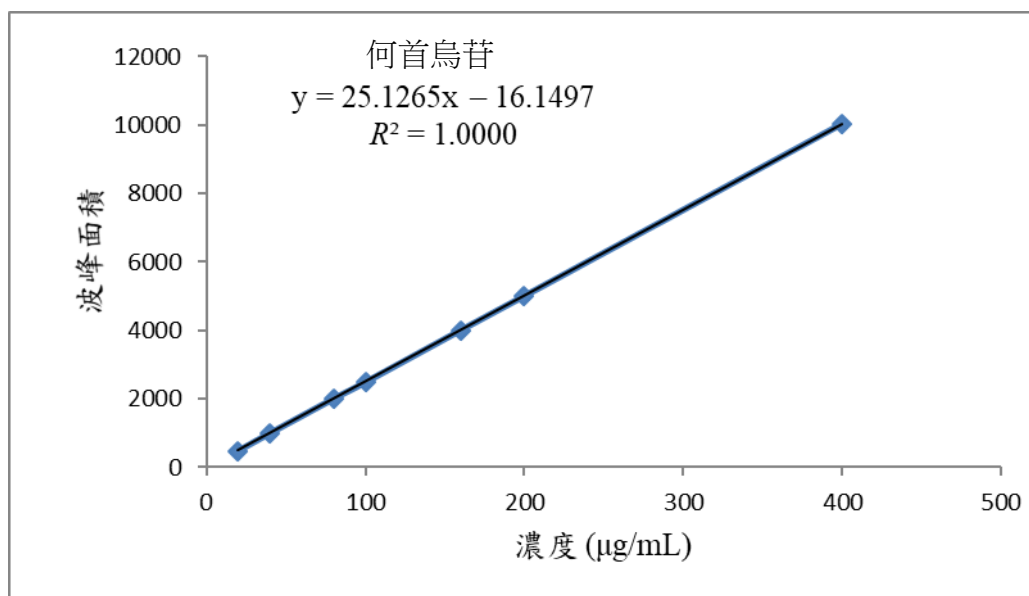
於滯留時間 12.7 分鐘處顯示何首烏飲片檢品中何首烏苷波峰(圖二)。分離率 $R = 6.04$ ，托尾因子 $T = 1.20$ ，均在系統適用性要求內。



圖二、市售何首烏飲片檢品之 HPLC 層析圖

(三) 標準品何首烏苷檢量線

經不同濃度何首烏苷(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 $y = 25.1265x - 16.1497$ ， $R^2 = 1.0000$ ，顯示濃度在 20–400 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、何首烏苷之檢量線圖

表一、何首烏苷之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
何首烏苷	20–400	$y = 25.1265x - 16.1497$	1.0000

(四) 精密度與重複性試驗

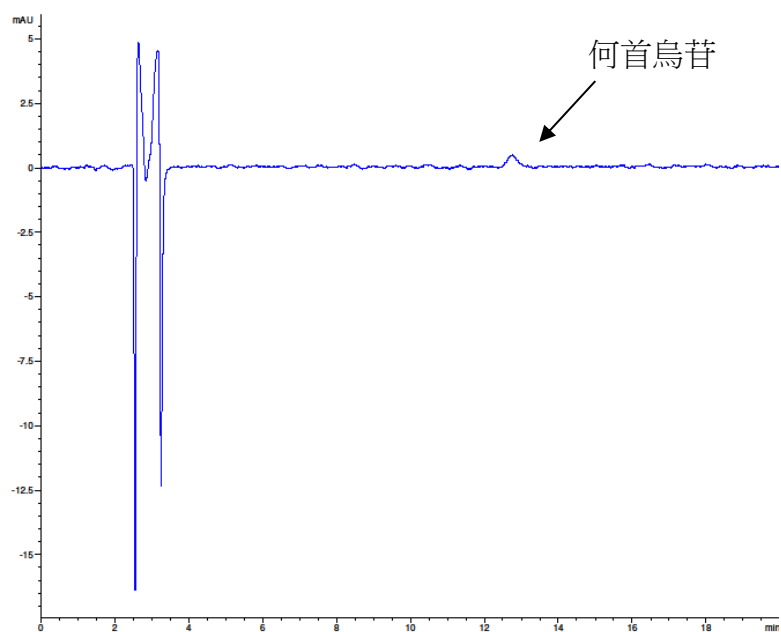
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，何首烏苷精密度之相對標準差為 0.41%，重複性之相對標準差為 0.65%，均在系統適用性要求內。

(五) 穩定性試驗

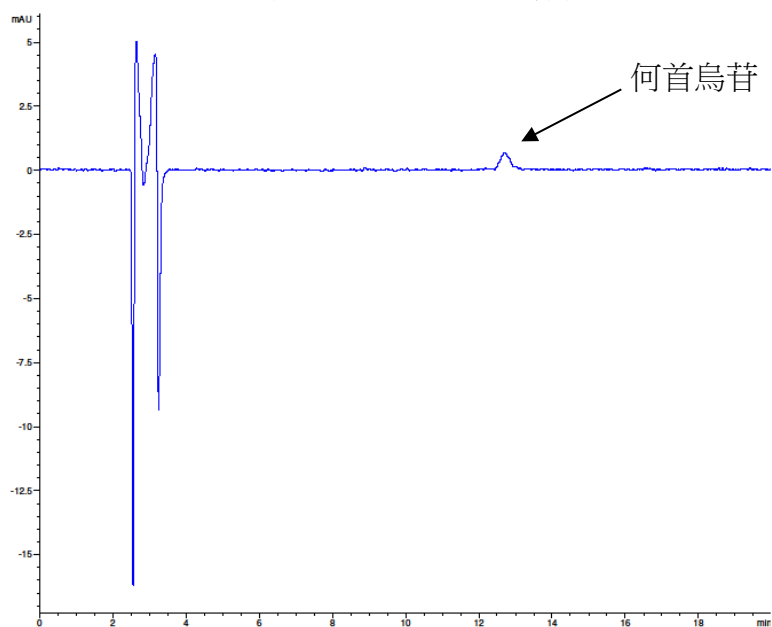
實驗結果顯示，何首烏苷在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差為 0.39%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(六) 偵測極限與定量極限試驗

何首烏苷偵測極限(limit of detection, LOD)為 0.2 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限(limit of quantitation, LOQ)為 0.4 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、何首烏苷之 LOD 層析圖



圖五、何首烏苷之 LOQ 層析圖

表二、各項檢驗分析

檢測項目	何首烏苷	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	100 µg/mL	0.41
重複性 (n=5)	檢品溶液	0.65
穩定性 (n=6)	檢品溶液	0.39
偵測極限 (n=1)	0.2 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	0.4 µg/mL	-

(七) 添加回收率試驗

何首烏苷平均添加回收率為 102.0%，相對標準偏差為 1.90%。

表三、何首烏苷添加回收率

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	0.1	1.964	1.900	3.890	101.4	102.0	1.90
2	0.1	1.964	1.900	3.859	99.7		
3	0.1	1.964	1.900	3.927	103.3		
4	0.1	1.964	1.900	3.950	104.5		
5	0.1	1.964	1.900	3.880	100.9		

(八) 臺灣市售何首烏飲片含量測定

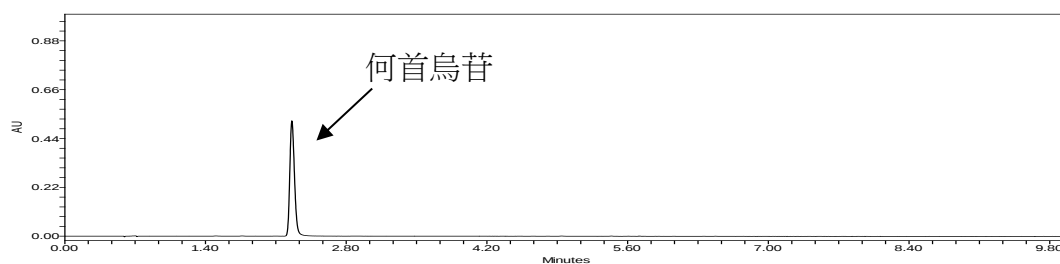
10 批何首烏飲片之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，何首烏苷的含量為 0.18–2.19%。建議何首烏飲片指標成分何首烏苷的含量不得少於 1.6%。理論板數按何首烏苷波峰計算應不低於 5000(實際值為 10000)。

表四、臺灣市售何首烏飲片檢品之何首烏苷含量

藥材編號(No.)	何首烏苷含量(%)	藥材編號(No.)	何首烏苷含量(%)
1 (NSTP)	2.15	6 (NJA)	0.18
2 (NC)	0.36	7 (SC)	0.20
3 (NDB)	2.19	8 (NKODB)	1.82
4 (NJ)	0.23	9 (SCC)	0.34
5 (SA-1)	0.26	10 (SGB)	0.32

(九) 標準品何首烏苷之 UPLC 層析

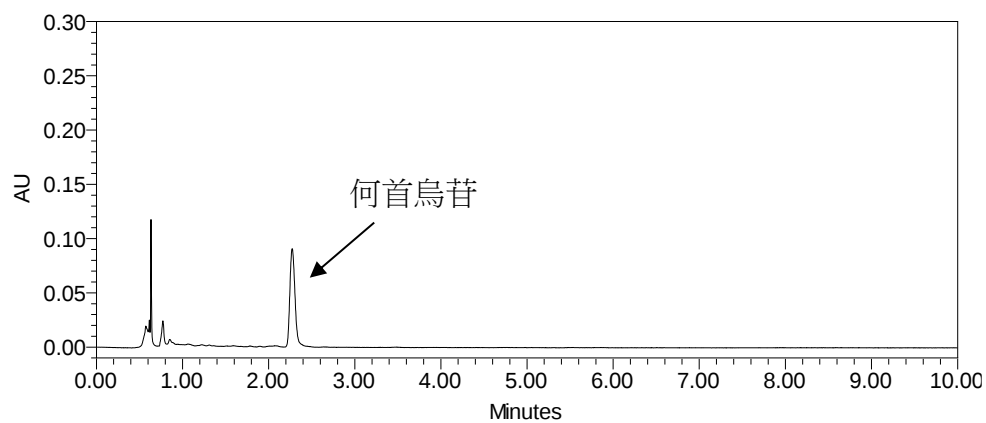
於滯留時間 2.26 分鐘處顯示何首烏苷標準品的波峰(圖七)



圖七、何首烏苷標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十) 市售何首烏飲片之 UPLC 層析

於滯留時間 2.26 分鐘顯示何首烏飲片飲片中何首烏苷的波峰(圖八)。



圖八、市售何首烏飲片之 UPLC 層析圖

何首烏

生藥名：POLYGONI MULTIFLORI RADIX

英文名：Fleeceflower Root

基 原：本品為蓼科 Polygonaceae 植物何首烏 *Polygonum multiflorum* Thunb.之乾燥塊根。

一、方法

- (一) 檢 品 溶 液 【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版 2018；香港中藥材標準第二冊) ✓
——取本品粉末 1.0 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】(中華人民共和國藥典 2015)
——取本品粉末 0.25 g，加乙醇 50 mL，加熱迴流 1 小時，過濾，濾液濃縮至 3 mL，作為檢品溶液。
- (二) 對照標準品 溶 液 取何首烏苷(2,3,5,4'-Tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside)對照標準品，加甲醇製成每 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】(香港中藥材標準第二冊)
——甲苯：乙醇：冰醋酸 (4：3：0.5)
【展開劑 2】(參照臺灣中藥典第三版 2018 首烏藤)
——二氯甲烷：乙醇：冰醋酸 (10：5：0.4)
【展開劑 3】(修飾香港中藥材標準第二冊) ✓
——甲苯：乙醇：冰醋酸 (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 於主波長 365 nm 之紫外燈照射下檢視。

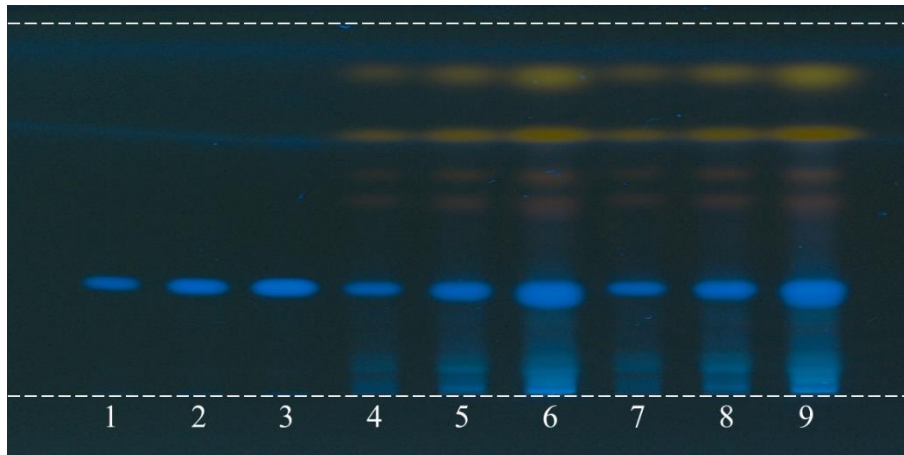
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：108/02/13

相對溼度(RH)：47%

溫度(RT)：25 °C

【展開劑 3】(修飾香港中藥材標準第二冊)——甲苯：乙醇：冰醋酸 (6：3：1)



編號	名稱	點注量
1, 2, 3	何首烏苷 (1.0 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
4, 5, 6	檢品溶液 5 【萃取方法 1】	1, 2, 5 μ L
7, 8, 9	檢品溶液 5 【萃取方法 2】	1, 2, 5 μ L

建議萃法：2 種萃法之檢品溶液中皆有分離與檢出標準品何首烏苷，而由於製備方法較簡易快速，故選擇臺灣中藥典萃法【萃取方法 1】。

建議點注量：何首烏苷標準品溶液 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 1】2 μ L。

三、溶媒系統選擇

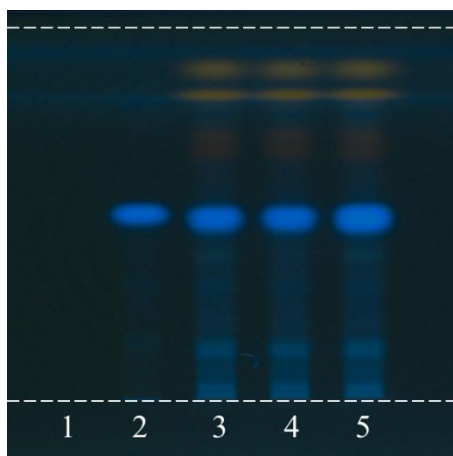
實驗日期：108/02/14

相對溼度(RH)：65%

溫度(RT)：25 °C

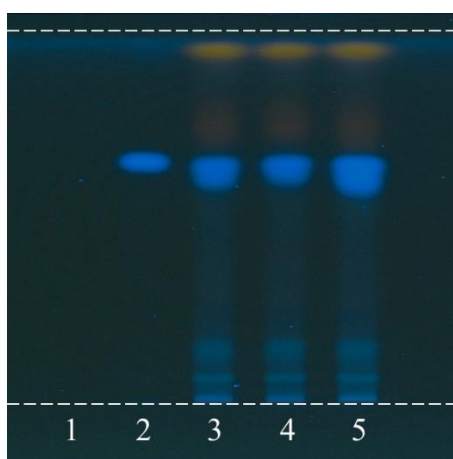
【展開劑 1】 (香港中藥材標準第二冊)——甲苯：乙醇：冰醋酸 (4：3：0.5)

【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(何首烏苷 R_f 值為 0.5)



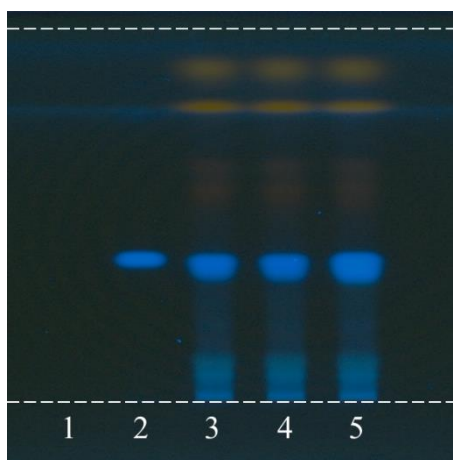
【展開劑 2】 (參照臺灣中藥典第三版 2018 首烏藤)——二氯甲烷：乙醇：冰醋酸 (10：5：0.4)

【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(何首烏苷 R_f 值為 0.66)



【展開劑 3】(修飾香港中藥材標準第二冊)——甲苯：乙醇：冰醋酸 (6：3：1)

【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(何首烏苷 R_f 值為 0.35)



1：Blank

2：何首烏苷

3，4：檢品溶液 5

5：Spike

建議溶媒系統：以臺灣中藥典第三版 2018 萃取方式，採用修飾香港中藥材標準第二冊之溶媒系統【展開劑 3】展開，具較多明顯之條帶。

。

四、觀察方式選擇

實驗日期：108/02/14

相對溼度(RH)：65%

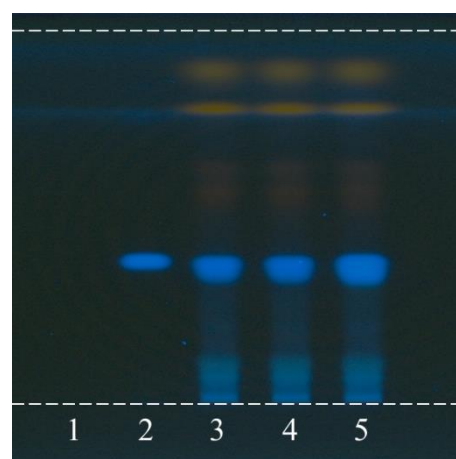
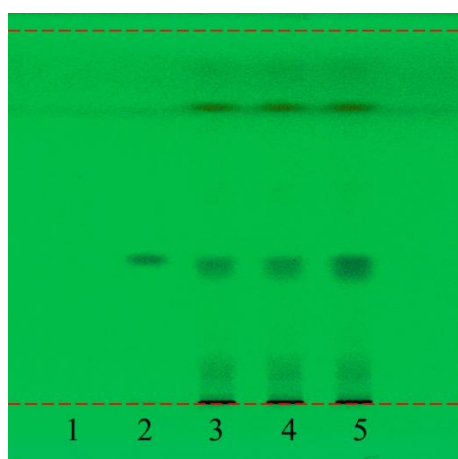
溫度(RT)：25 °C

【展開劑 3】(修飾香港中藥材標準第二冊)——甲苯：乙醇：冰醋酸 (6：3：1)

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

【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版

2018) — HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



1：Blank

2：何首烏苷

3，4：檢品溶液 5

5：Spike

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。

五、十批何首烏藥材樣品檢測

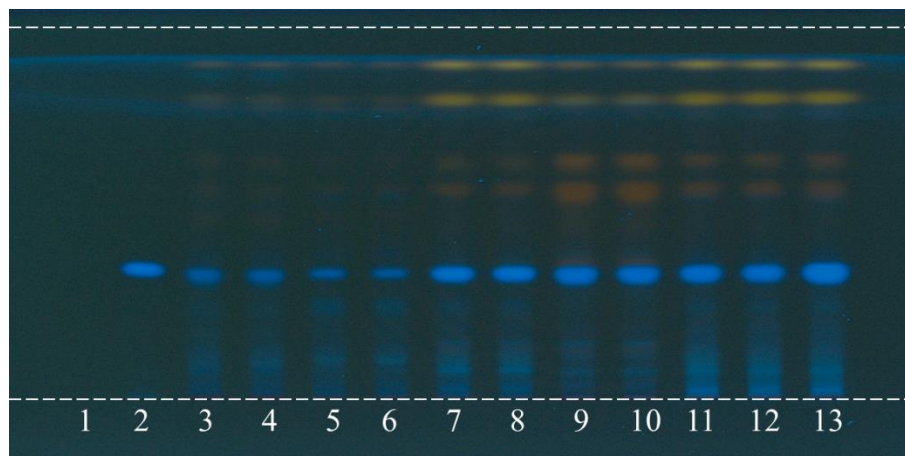
實驗日期：108/02/18

相對溼度(RH)：52%

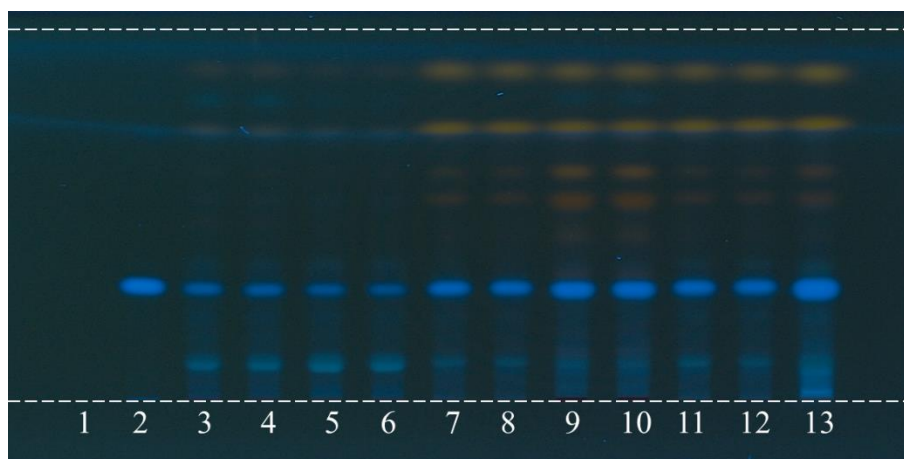
溫度(RT)：26 °C

【展開劑3】(修飾香港中藥材標準第二冊)——甲苯：乙醇：冰醋酸 (6：3：1)

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



1	Blank
2	何首烏苷 (1.0 mg/mL)
3, 4	檢品溶液 1 (CA)
5, 6	檢品溶液 2 (SGC)
7, 8	檢品溶液 3 (ND)
9, 10	檢品溶液 4 (NKODA)
11, 12	檢品溶液 5 (NDA)
13	Spike (檢品溶液 5)



1	Blank
2	何首烏苷 (1.0 mg/mL)
3, 4	檢品溶液 6 (SA-2)
5, 6	檢品溶液 7 (SCB)
7, 8	檢品溶液 8 (SG)
9, 10	檢品溶液 9 (SCSZ)
11, 12	檢品溶液 10 (SGA)
13	Spike (檢品溶液 5)

結論與建議：以臺灣中藥典第三版之【萃取方法 1】方式，以修飾香港中藥材標準第二冊之【展開劑 3】分離與檢出何首烏苷較佳，於紫外光(365 nm)下檢視較佳。

何首烏(飲片)

六、十批何首烏飲片樣品檢測

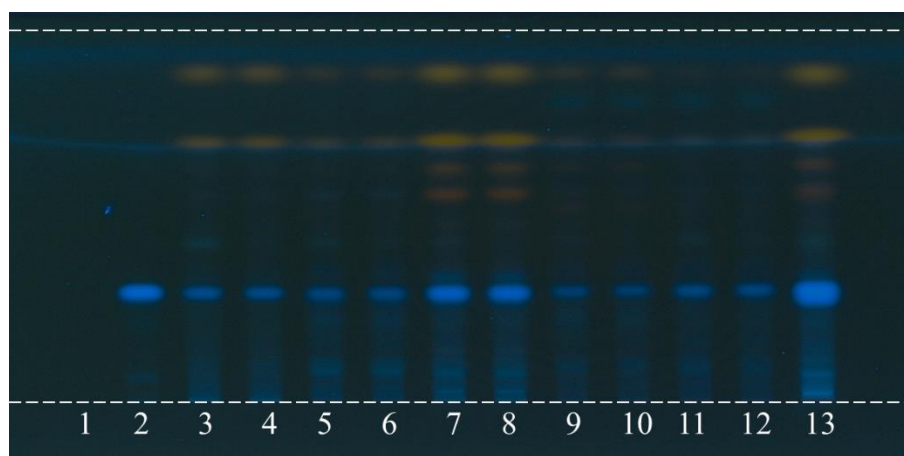
實驗日期：108/02/19

相對溼度(RH)：48%

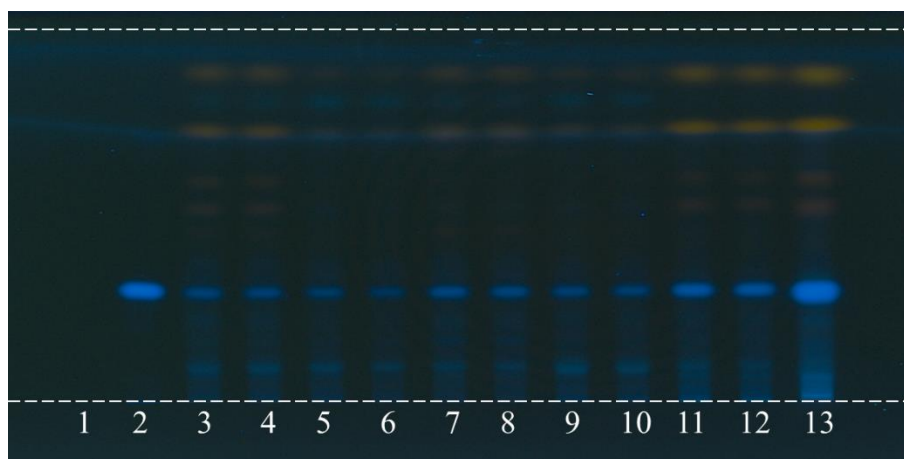
溫度(RT)：26 °C

【展開劑3】(修飾香港中藥材標準第二冊)——甲苯：乙醇：冰醋酸 (6：3：1)

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



1	Blank
2	何首烏苷 (1.0 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 1 (NSTP)
5 , 6	檢品溶液 2 (NC)
7 , 8	檢品溶液 3 (NDB)
9 , 10	檢品溶液 4 (NJ)
11 , 12	檢品溶液 5 (SA-1)
13	Spike (檢品溶液 6)



1	Blank
2	何首烏苷 (1.0 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 6 (NJA)
5 , 6	檢品溶液 7 (SC)
7 , 8	檢品溶液 8 (NKODB)
9 , 10	檢品溶液 9 (SCC)
11 , 12	檢品溶液 10 (SGB)
13	Spike (檢品溶液 10)

結論與建議：飲片鑑別同藥材。