

茯苓

(PORIA)

茯苓 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

茯苓 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

茯苓 飲片 HPLC

一、材料.....	22
二、儀器及層析管柱.....	22
三、實驗藥品及試劑來源.....	22
四、方法.....	22
五、結果.....	25

茯苓 TLC

一、方法.....	30
二、萃法選擇及濃度測試.....	31
三、溶媒系統選擇.....	32
四、觀察方式選擇.....	34
五、十批茯苓藥材樣品檢測.....	35
六、十批茯苓飲片檢測.....	37

茯苓

(PORIA)

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真菌茯苓的乾燥菌核。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：茯苓

生藥名：PORIA

英文名：Indian Buead

基原：多孔菌科 Polyporaceae 真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的乾燥菌核。

採收加工：夏、秋採挖，挖出後除去泥沙，堆置於不通風處，將茯苓與稻草逐層鋪換，再蓋以厚麻袋，使其發汗。放置發汗後，攤放陰涼處曬晾至表面乾燥，再行發汗，反覆數次直到表面出現皺紋呈褐色，大部分的內部水分散失後，再行陰乾，稱為茯苓個。茯苓個呈球形、扁圓形或不規則的塊狀，大小不一，小者如拳，大者可達數 10 斤重。外皮薄而粗糙呈褐色或棕褐色，有明顯隆起的瘤狀突起，常附有泥土。斷面不平坦呈白色，顆粒狀或粉狀。

藥材性狀：本品為茯苓個經浸泡，洗淨，濕潤後稍蒸，去皮後切製的茯苓片，呈不規則厚片，厚薄不一，色白細膩而有粉滑感。質鬆脆，易折斷破碎，有時邊緣呈黃棕色。氣微、味淡，嚼之略為黏牙。

生長分佈：生於向陽、溫暖的山坡，疏鬆、排水良好的沙質土壤。多寄生於松科植物赤松或馬尾松等樹根上。野生或栽培，主產於中國雲南、安徽、湖北、四川等地。

三、藥材組織顯微鑑別(圖 2)

1. 本品橫切面呈白色，不規則顆粒狀團塊及散狀團塊。
2. 菌絲無色或白色，細長，稍彎曲，部分有分枝。
3. 近皮處為較細長且排列緻密的淡棕色菌絲。

四、藥材粉末顯微鑑別(圖 3)

1. 本品粉末為灰白色，無特殊氣味，嚼之黏牙。
2. 不規則顆粒狀團塊或分枝狀團塊，偶見棕色不規則團塊。
3. 菌絲無色，細長，稍彎曲，有分枝。



圖 1 茯苓藥材圖

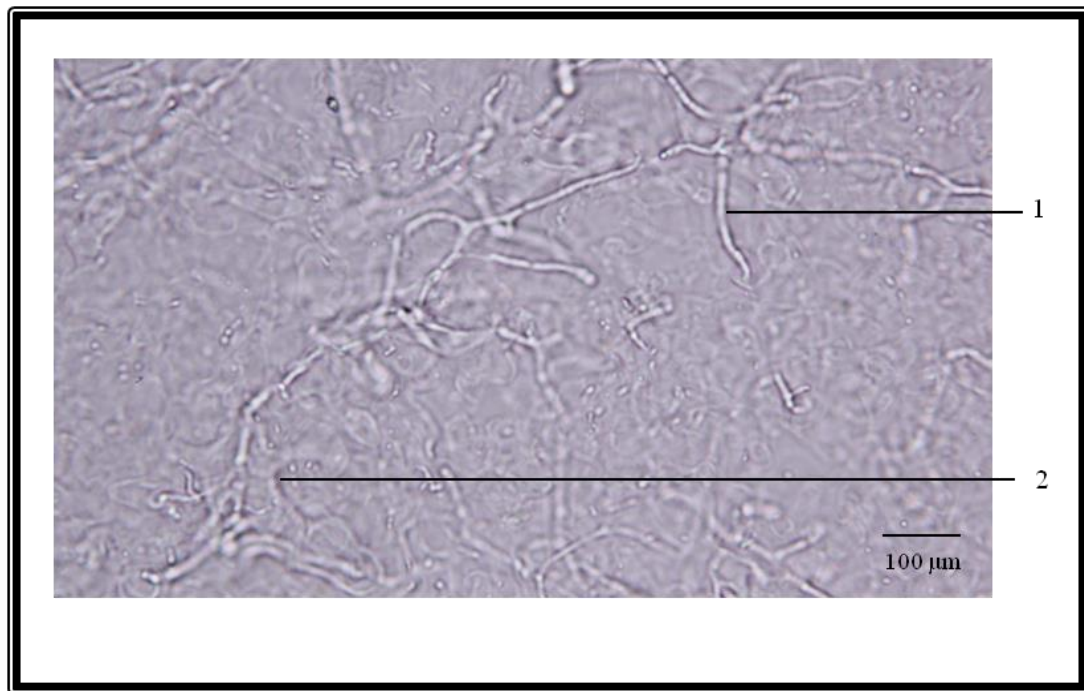


圖 2 茯苓橫切面顯微特徵圖

1.菌絲 2.團塊

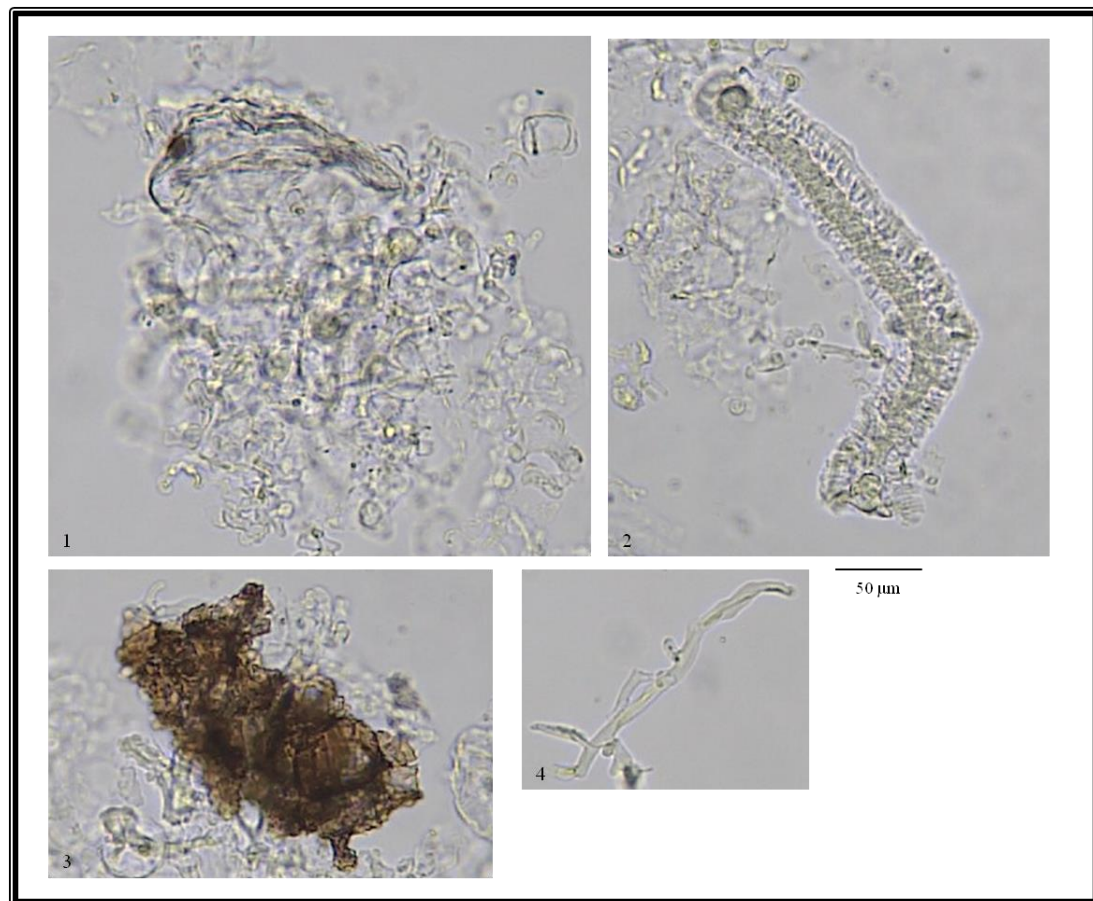


圖 3 茯苓粉末顯微特徵圖

1.塊狀細胞團 2.分枝狀細胞團 3.棕色細胞團 4.無色菌絲

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。140 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。140-141 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。207 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 4：常用花葉、全草、動礦物及其他藥材分冊。廣東：廣東科技出版社。216-218 頁。
5. 肖培根等編輯 (2001)。新編中藥志第三卷。北京：化學工業出版社。890-895 頁。
6. 徐國鈞、何宏賢、徐珞珊、金蓉鸞等編輯 (1996)。中國藥材學下冊。北京：中國醫藥科技出版社。1706-1709 頁。
7. 國家中醫藥管理局《中華本草》編委會編輯 (1999)。中華本草第一冊。上海：上海科學技術出版社。554-560 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。297 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。224 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。462-463 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。448 頁。

茯苓(PORIA)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店茯苓藥材共 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、Sample 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(HPLC Grade)購自於 DUKSAN PURE CHEMICALS；乙腈(99.9%)購自於 Sigma-Aldrich Co.，乙醇(95%)購自於國韶實業有限公司。

(二) 標準品

標準品茯苓酸(Pachymic acid)購自於昇漢科技有限公司，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 1.0 g，置 50 mL 三角錐形瓶中，準確加入甲醇、75%甲醇、50%甲醇、乙醇、75%乙醇和 50%乙醇各 10 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，冷卻後，以 No. 1 濾紙過濾，取濾液，搖勻再過濾(Syringe filter, 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茯苓酸最大波峰面積為最佳茯苓萃取溶媒。

(二) 最佳萃取次數評估

準確稱取本品粉末約 2.0 g，置 50 mL 三角錐形瓶中，準確加入甲醇 20 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，冷卻後，以 No. 1 濾紙過濾，取濾液轉移至 20 mL 定量瓶中，加入甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, 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，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

準確稱取標準品茯苓酸 1.0 mg，加 1 mL 的甲醇製成每 1 mL 含茯苓酸 1000 µg 的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 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 2.0 g，置 50 mL 錐形瓶中，準確加入甲醇 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，減壓濃縮至少量，轉移至 25 mL 之定量瓶中，加甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, 0.45 µm)，取濾液，即得。

(五) 測定法

分別準確吸取標準品溶液、檢品溶液各 10 µL，注入 HPLC，測定，用標準曲線計算溶液中茯苓酸的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取茯苓酸標準品儲備溶液適量(1000 µg/mL)，以甲醇稀釋製成含茯苓酸分別為 750、500、250、100、50、30 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

以茯苓酸濃度為 50 µg/mL 之標準品儲備液連續進樣 5 針，以茯苓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：取同一批市售茯苓粉末，依茯苓檢品溶液製備方法平行製備 5 份茯苓檢品溶液，進樣測定，以茯苓酸的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售茯苓粉末，依茯苓檢品溶液製備方法製備茯苓檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以茯苓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

取已知茯苓酸含量的茯苓藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 1.0 g，分別加入 5 mL 的茯苓酸溶液(100 $\mu\text{g/mL}$)，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：Agilent ZORBAX SB-C18 Column (250 x 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 203 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：室溫
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	70	30
20	100	0
23	100	0
25	70	30
30	70	30

(十二) 臺灣市售茯苓含量測定

取 10 批市售茯苓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 公式計算樣品茯苓酸的百分含量。

(十三) 茯苓檢品之 UPLC 層析條件

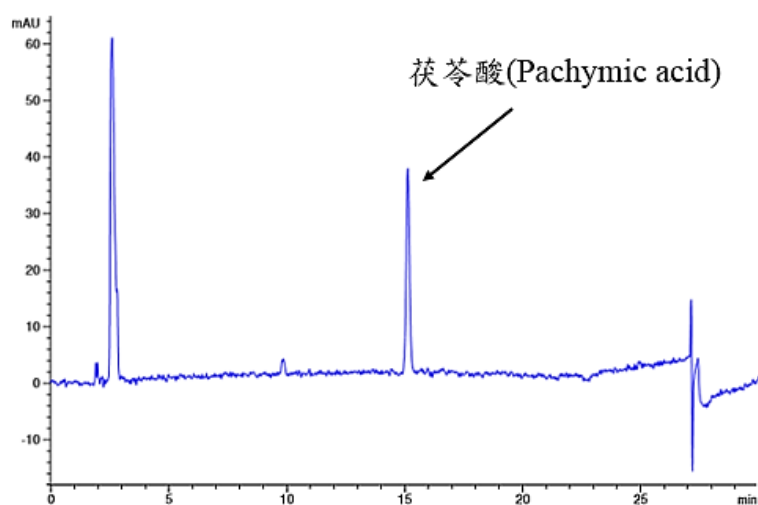
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 203 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：25 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	70	30
10	100	0

五、結果

(一) 標準品茯苓酸之 HPLC 層析

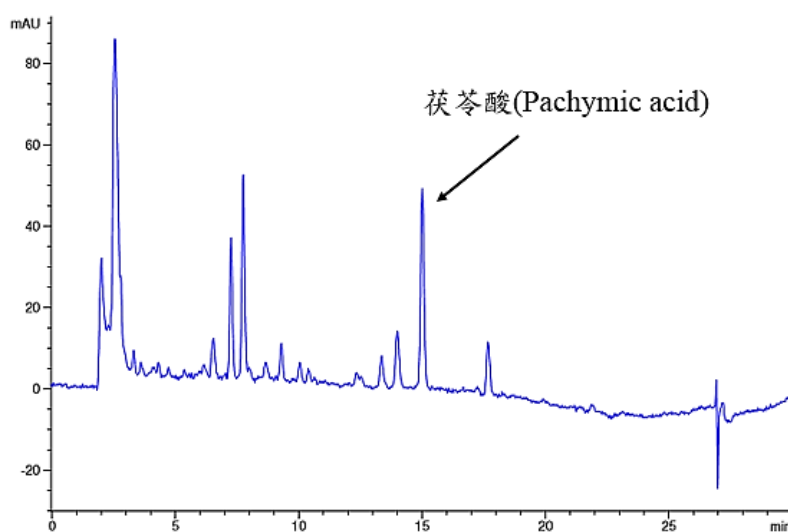
於滯留時間 15.0 分鐘處顯示茯苓酸標準品的波峰(圖一)。



圖一、茯苓酸標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售茯苓檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 15.0 分鐘顯示茯苓檢品中茯苓酸的波峰(圖二)。分離率(R)為 3.537，托尾因子(T)為 1.072，均在系統適用性要求內。



圖二、市售茯苓檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒評估

以甲醇為溶媒時，每克藥材重量所得茯苓酸的波峰面積最大，顯示甲醇為最佳萃取溶媒。

表一、不同溶媒萃取比較

溶媒	茯苓酸波峰面積	最佳萃取
甲醇	650.1	√
75% 甲醇	623.3	
50% 甲醇	103.2	
乙醇	625	
75% 乙醇	615.5	
50% 乙醇	124	

(四) 最佳萃取次數評估

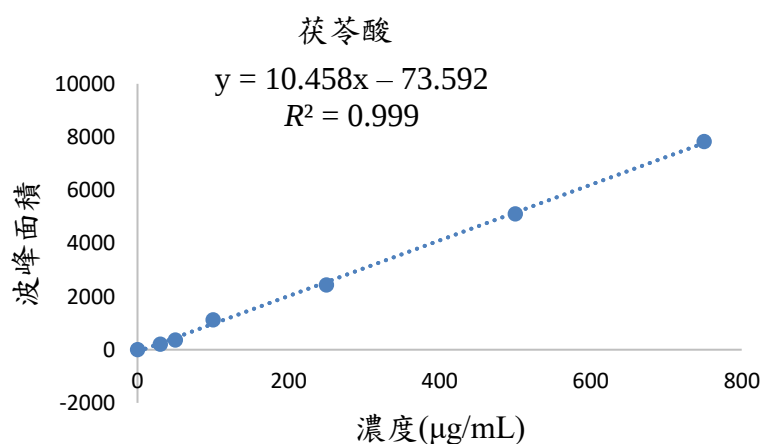
結果顯示萃取 2 次基本上已將茯苓酸萃取完全(萃取率大於 98%)

表二、茯苓檢品萃取次數評估

甲醇萃取次數	茯苓酸波峰面積
第 1 次	617.6
第 2 次	79.5
第 3 次	N.D.

(五) 標準品茯苓酸檢量線

經不同濃度茯苓酸(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 $y = 10.458x - 73.592$ ， $R^2 = 0.9990$ ，顯示濃度在 30–750 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、茯苓酸之檢量線圖

表三、茯苓酸之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
茯苓酸	30–750	$y = 10.458x - 73.592$	0.9990

(六) 精密度試驗

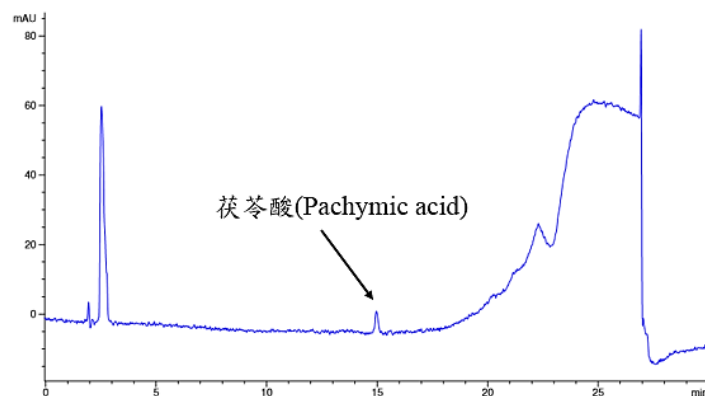
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，茯苓酸精密度之相對標準差為 0.82%，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

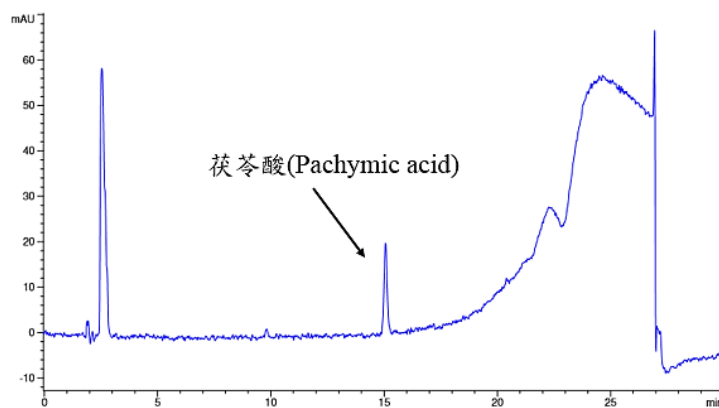
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，茯苓酸重複性之相對標準差為 1.49%，在系統適用性要求內。茯苓酸在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差為 2.05%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

茯苓酸偵測極限為 $5.0 \mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 $10 \mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、茯苓酸之偵測極限層析圖



圖五、茯苓酸之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	茯苓酸	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	55 µg/mL	0.82
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.7)	1.49
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.7)	2.05
偵測極限 (n=1)	5.0 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	10 µg/mL	-

(九) 添加回收率試驗

茯苓酸平均添加回收率為 90.5%，相對標準偏差為 5.69%。

表五、茯苓酸添加回收率

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	1.027	0.735	0.5	1.22	97.7	90.46	5.69
2	1.208	0.864	0.5	1.29	84.8		
3	1.421	1.016	0.5	1.47	87.8		
4	1.025	0.733	0.5	1.20	93.6		
5	1.069	0.764	0.5	1.21	88.4		

(十) 臺灣市售茯苓含量測定

10 批茯苓藥材之含量測定結果(乾燥品)如表四所示，茯苓酸的含量為 0.05%–0.09%。建議茯苓藥材指標成分茯苓酸的含量不得少於 0.04%。建議理論板數按茯苓酸波峰計算應不低於 10000 (實際值為 47100)。

表六、臺灣市售茯苓檢品之茯苓酸含量

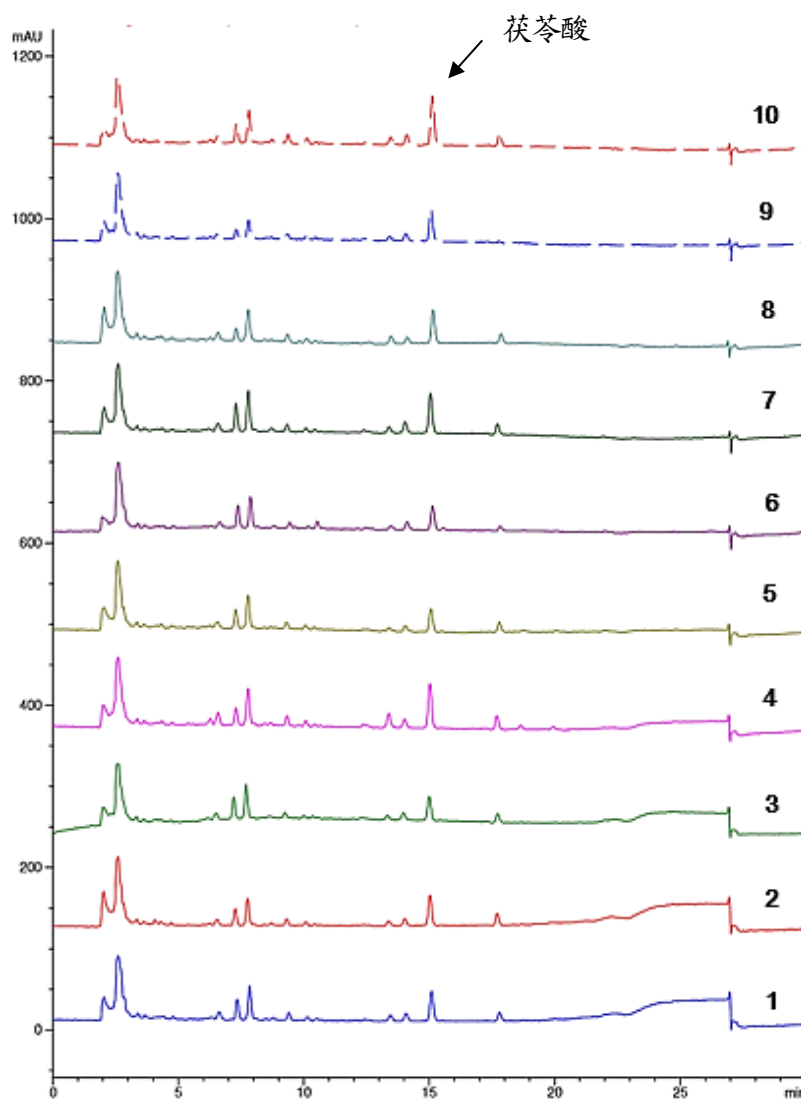
藥材編號(No.)	茯苓酸含量(%)	藥材編號(No.)	茯苓酸含量(%)
1 (SQ)	0.06	6 (NN)	0.05
2 (SG)	0.06	7 (NF)	0.08
3 (NR)	0.05	8 (SE)	0.06
4 (NJ)	0.08	9 (SC)	0.06
5 (CE)	0.05	10 (SJ)	0.09

(十一) 茯苓藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售茯苓檢品溶液各 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 203 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：

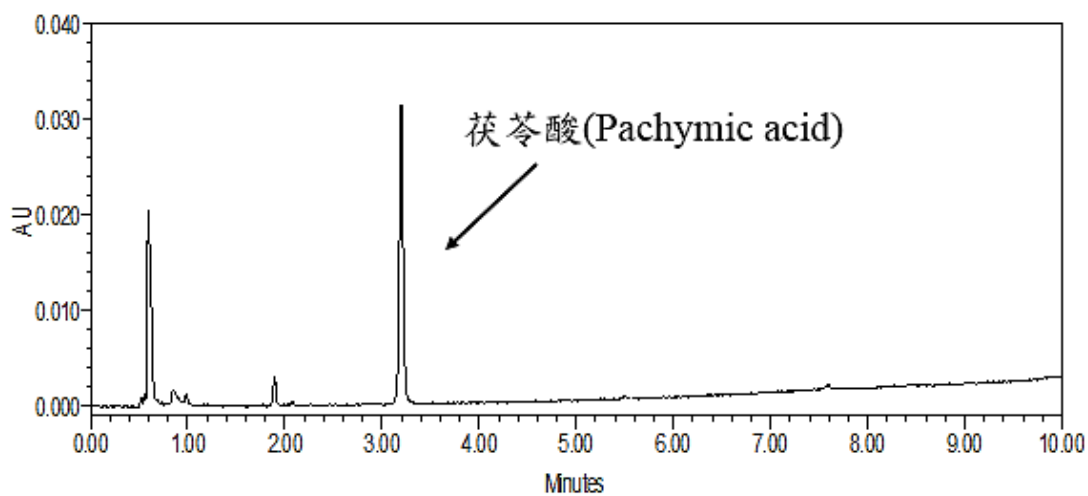
時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	70	30
20	100	0
23	100	0
25	70	30
30	70	30



圖六、10 批茯苓藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 標準品茯苓酸之 UPLC 層析

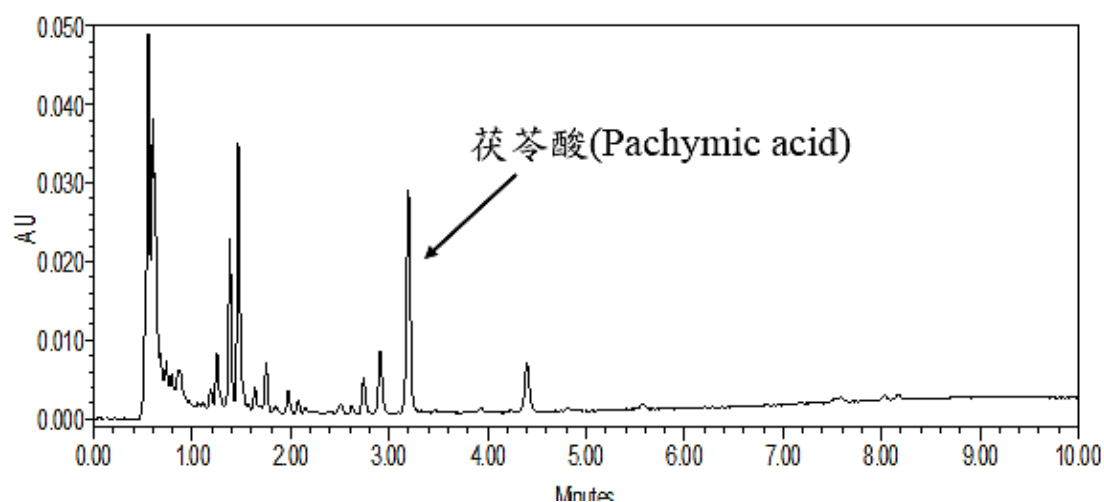
於滯留時間 3.2 分鐘處顯示茯苓酸標準品的波峰(圖七)。



圖七、茯苓酸標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售茯苓檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 3.2 分鐘顯示茯苓檢品中茯苓酸的波峰(圖八)。

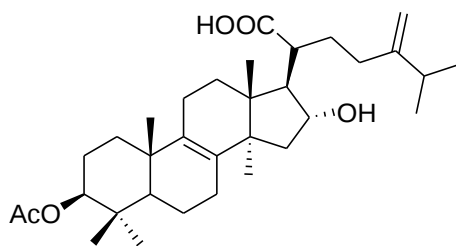


圖八、市售茯苓檢品之 UPLC 層析圖

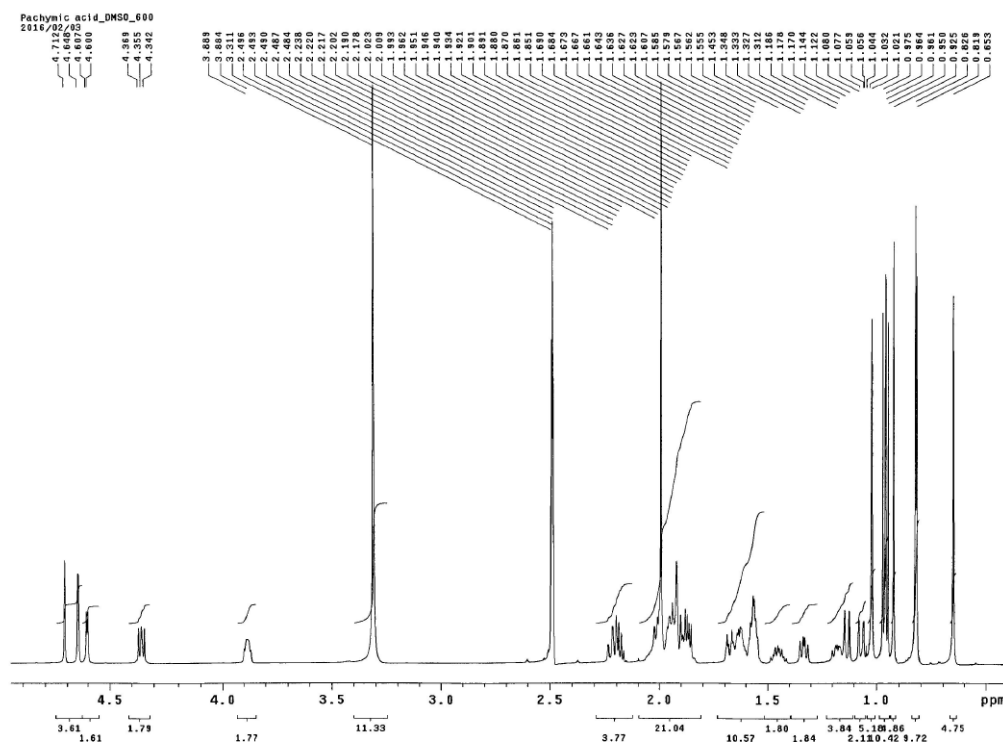
(十四) 茯苓酸的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{33}H_{52}O_5$ ；分子量：528.76；熔點：293–294 °C；白色固體。

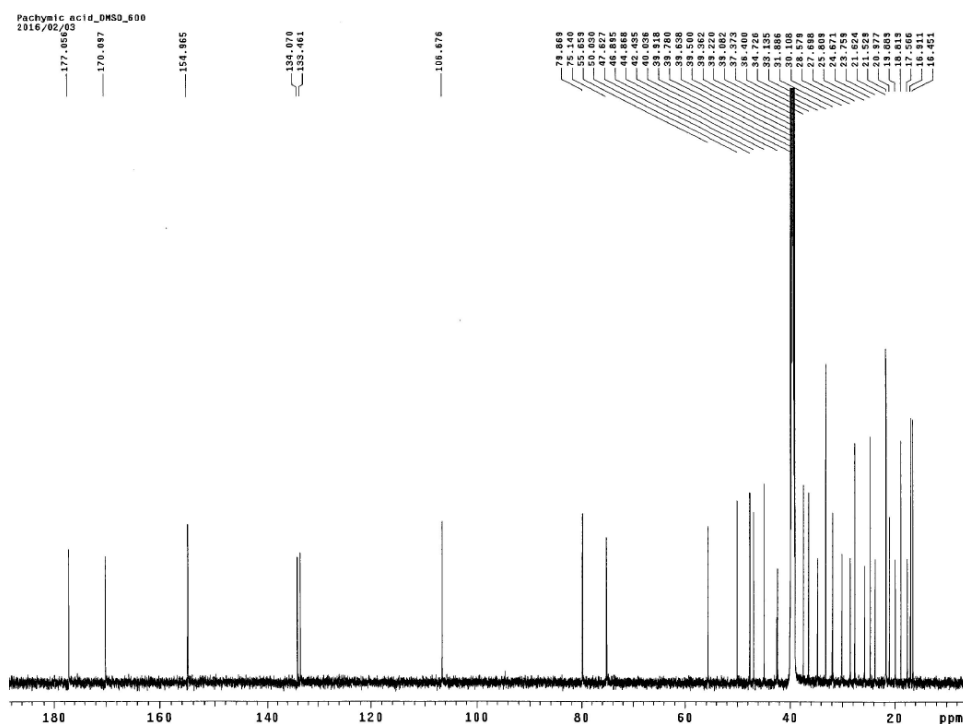
(十五) 茯苓酸的結構



(十六) 茯苓酸的 1H NMR 圖譜

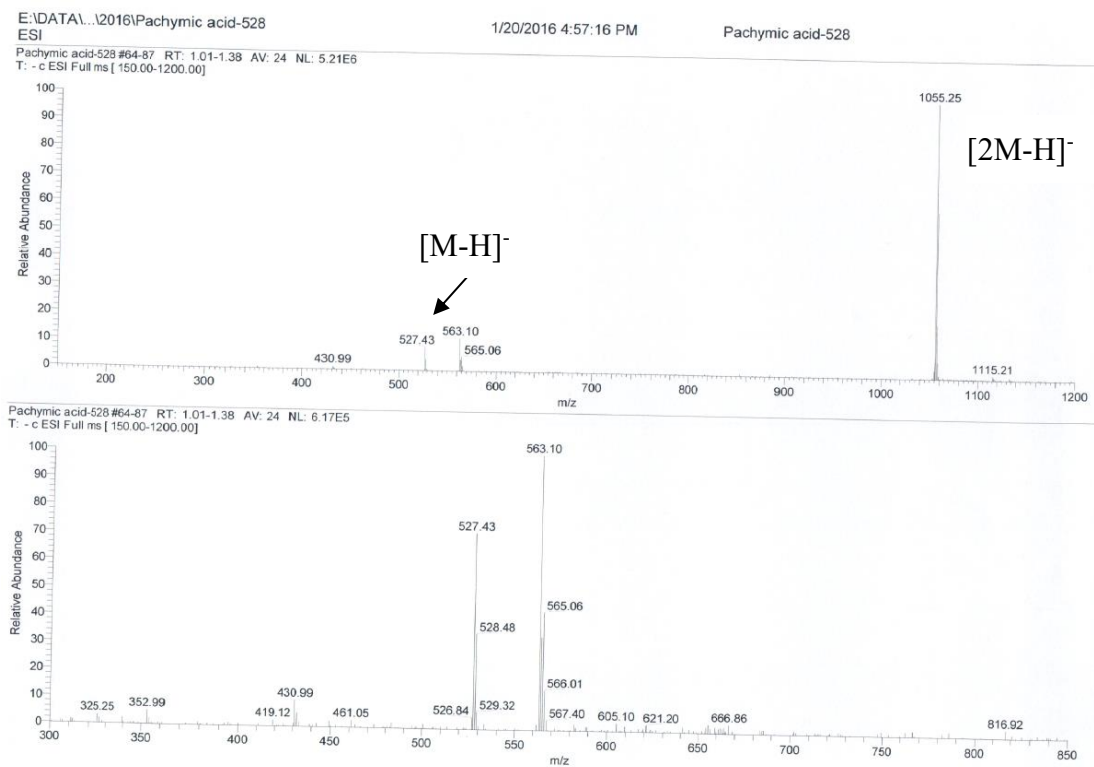


圖九、茯苓酸的 1H NMR 圖譜(DMSO- d_6)

(十七) 茯苓酸的 ^{13}C NMR 圖譜

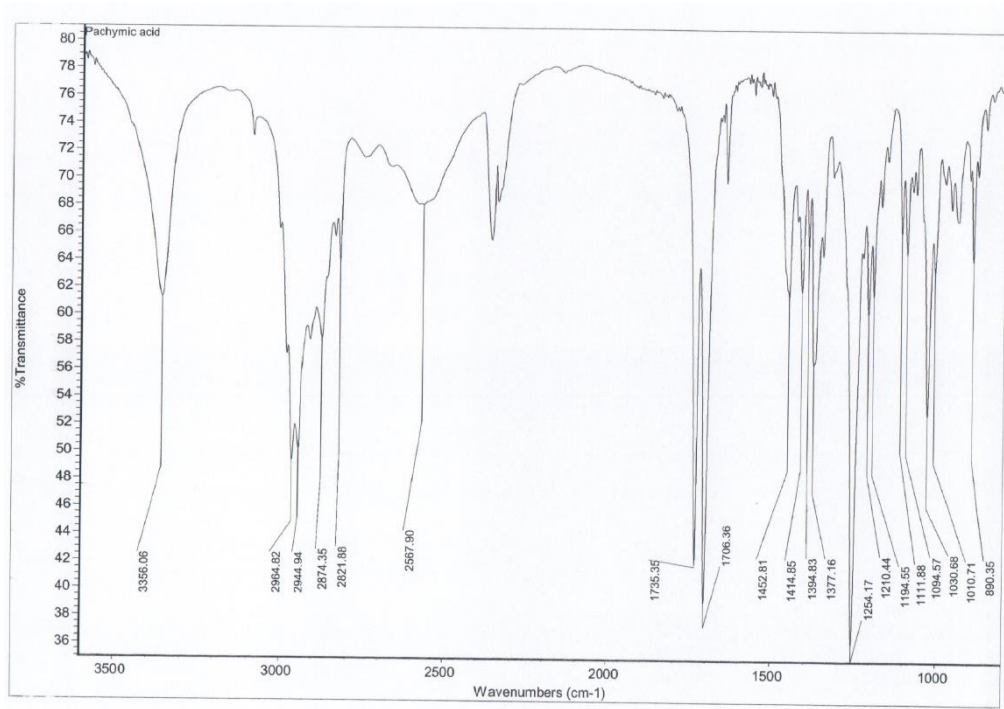
圖十、茯苓酸的 ^{13}C NMR 圖譜($\text{DMSO}-d_6$)

(十八) 茯苓酸的 ESI-MS 圖譜



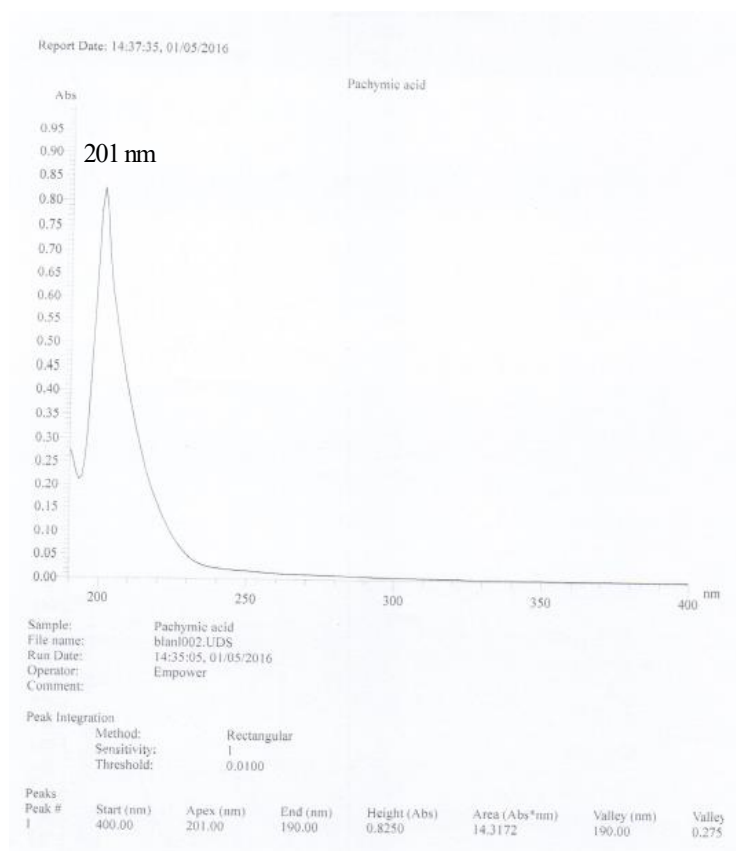
圖十一、茯苓酸的 ESI-MS 圖譜

(十九) 茯苓酸的 FTIR 圖譜



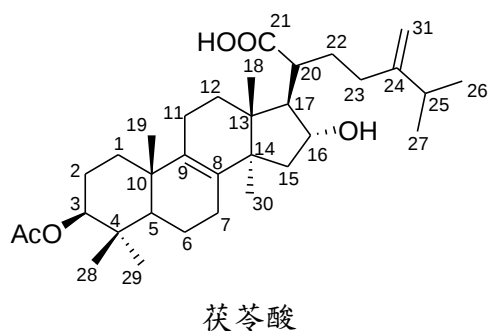
圖十二、茯苓酸的 FTIR 圖譜

(二十) 茯苓酸的 UV 圖譜



圖十三、茯苓酸的 UV 圖譜

(二十一) 茯苓酸的氫、碳化學位移



表七、茯苓酸的氫、碳化學位移(DMSO- d_6)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	1.16–1.20 (m), 1.66–1.70 (m)	34.7
2	1.55–1.60 (m)	23.8
3	4.36 (dd, 8.4, 7.8)	79.9
4		37.4
5	1.07 (dd, 12.6, 1.8)	50.0
6	1.41–1.49 (m), 1.60–1.64 (m)	17.6
7	1.72–2.02 (m)	25.8
8		134.1
9		133.5
10		36.4
11	1.55–1.60 (m), 1.86–1.90 (m)	30.1
12	1.33 (dd, 12.6, 9.0), 1.60–1.64 (m)	28.6
13		47.6
14		44.9
15	1.13 (d, 13.2)	42.4
16	3.86–3.90 (m)	75.1
17	1.87 (dd, 11.4, 6.0)	55.7
18	0.65 (s)	16.9
19	0.93 (s)	18.8
20	2.20–2.24 (m)	46.9
21		177.1
22	1.88–1.94 (m)	19.9
23	1.90–1.94 (m)	31.9
24		155.0
25	2.16–2.20 (m)	33.1
26	0.96 (d, 6.6)*	21.5*
27	0.97 (d, 6.6)*	21.6*

28	0.82 (s) [#]	27.7 [#]
29	0.83 (s) [#]	16.5 [#]
30	1.02 (s)	24.7
31	4.65 (s), 4.71 (s)	106.7
OAc	1.99 (s)	21.0
		170.1

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

茯苓飲片(PORIA)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店茯苓飲片共 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、Sample 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(HPLC Grade)購自於 DUKSAN PURE CHEMICALS；乙醇(95%)購自於國韶實業有限公司；乙腈(99.9%)購自於 Sigma-Aldrich；磷酸(85%)購自於 Merck。

(二) 標準品

標準品茯苓酸(Pachymic acid)購自於昇漢科技有限公司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

茯苓飲片最佳萃取溶媒同茯苓藥材。

(二) 最佳萃取次數評估

茯苓飲片最佳萃取次數同茯苓藥材。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品茯苓酸 1.0 mg，加 1 mL 的甲醇製成每 1 mL 含茯苓酸 1000 μ g/mL 的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 50 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 2.0 g，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇 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，減壓濃

縮至少量，轉移至 25 mL 之定量瓶中，加甲醇至刻度，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、檢品溶液 10 μL ，注入 HPLC，測定，用標準曲線計算溶液中茯苓酸的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取茯苓酸標準品儲備溶液適量(1000 $\mu\text{g/mL}$)，以甲醇稀釋製成含茯苓酸分別為 150、100、50、20、10 $\mu\text{g/mL}$ 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

以茯苓酸濃度為 50 $\mu\text{g/mL}$ 之標準品儲備液連續進樣 5 針，以茯苓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：取同一批市售茯苓飲片粉末，依茯苓飲片檢品溶液製備方法平行製備 5 份茯苓飲片檢品溶液，進樣測定，以茯苓酸的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售茯苓飲片粉末，依茯苓飲片檢品溶液製備方法製備茯苓飲片檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以茯苓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

取已知茯苓酸含量的茯苓飲片粉末 5 份，每份準確稱取約 1.0 g，分別加入 0.5 mL 的茯苓酸溶液(1000 $\mu\text{g/mL}$)，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：Agilent ZORBAX SB-C18 Column (250 x 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 203 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(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	70	30
20	100	0
23	100	0
25	70	30
30	70	30

(十二) 臺灣市售茯苓飲片含量測定

取 10 批市售茯苓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 公式計算樣品茯苓酸的百分含量。

(十三) 茯苓飲片檢品之 UPLC 層析條件

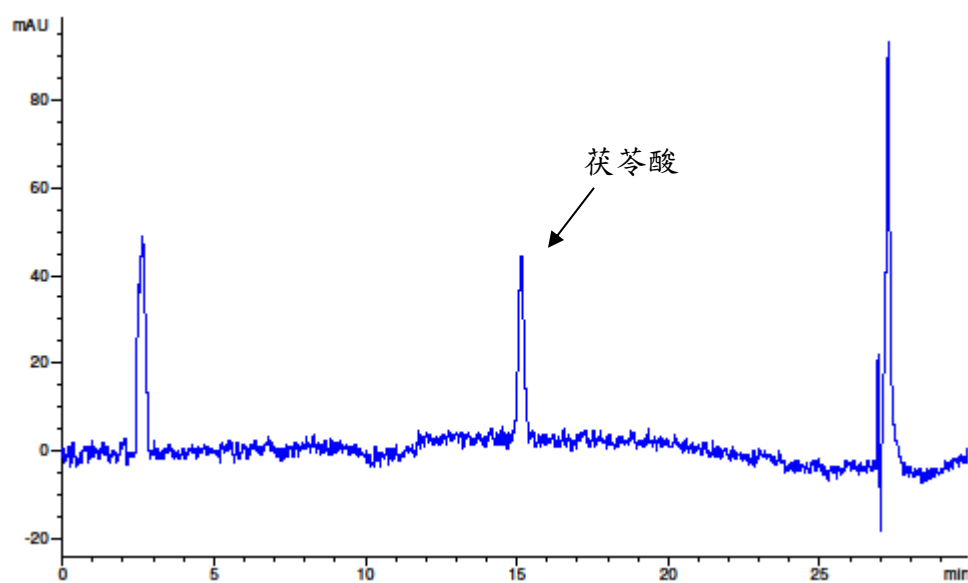
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μ m)
2. 檢測波長：UV 203 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：25 $^{\circ}$ C
5. 注入量：1 μ L
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	70	30
5	100	0
8	100	0

五、結果

(一) 標準品茯苓酸之 HPLC 層析

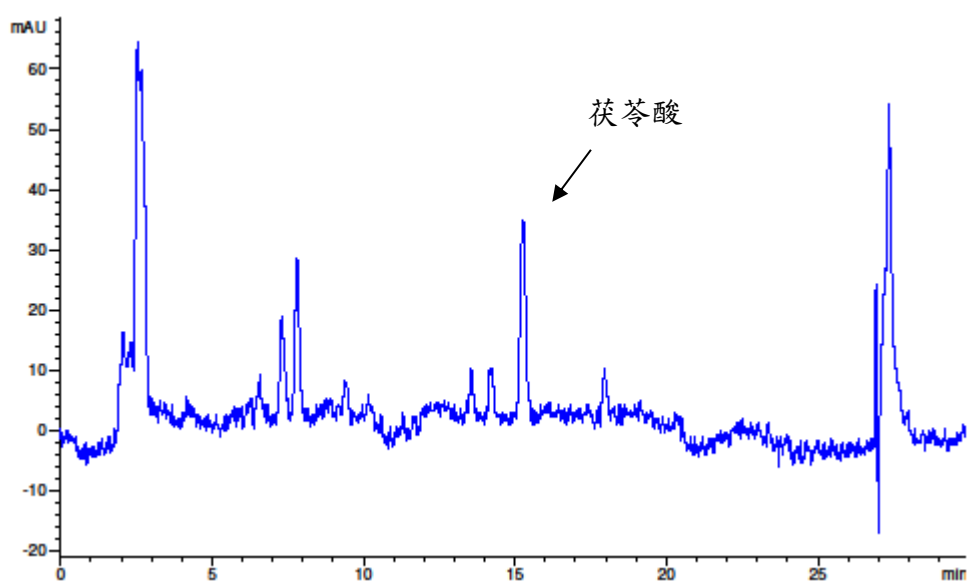
於滯留時間 15.1 分鐘處顯示茯苓酸標準品的波峰(圖一)。



圖一、茯苓酸標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售茯苓飲片檢品之 HPLC 層析

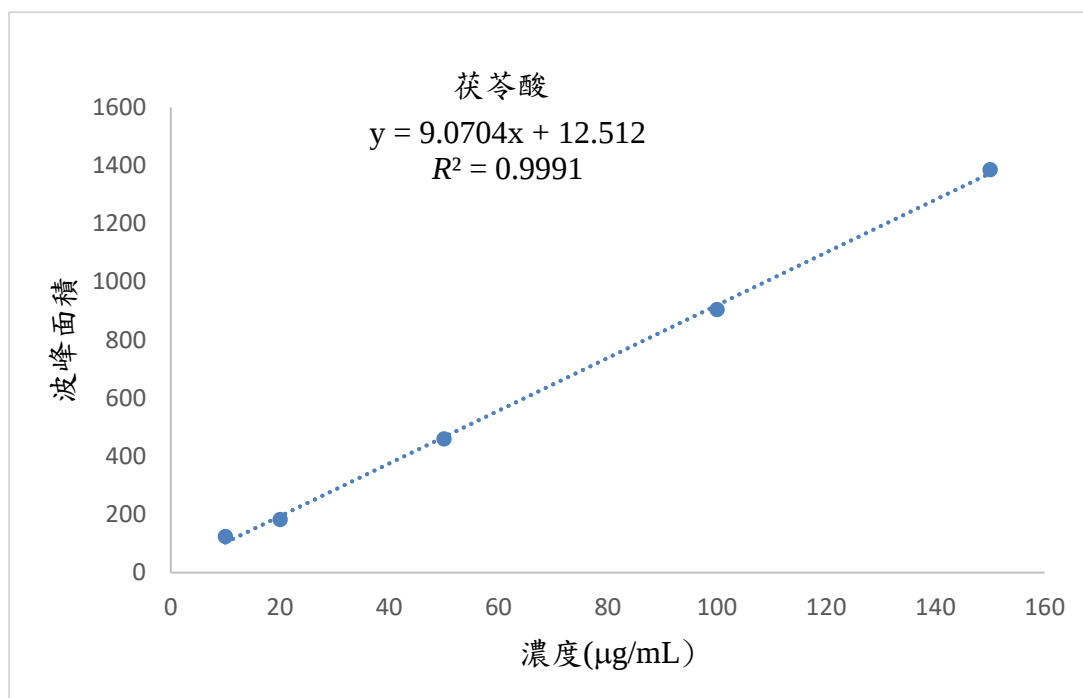
於滯留時間 15.2 分鐘處顯示茯苓飲片檢品中茯苓酸的波峰(圖二)，分離率(R)為 3.156，托尾因子(T)為 1.034，均在系統適用性要求內。



圖二、市售茯苓飲片檢品之 HPLC 層析圖

(三) 標準品茯苓酸檢量線

經不同濃度茯苓酸(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 $y = 9.0704x + 12.512$ ， $R^2 = 0.9991$ 顯示濃度在 10–150 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、茯苓酸之檢量線圖

表一、茯苓酸之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
茯苓酸	10–150	$y = 9.0704x + 12.512$	0.9991

(四) 精密度試驗

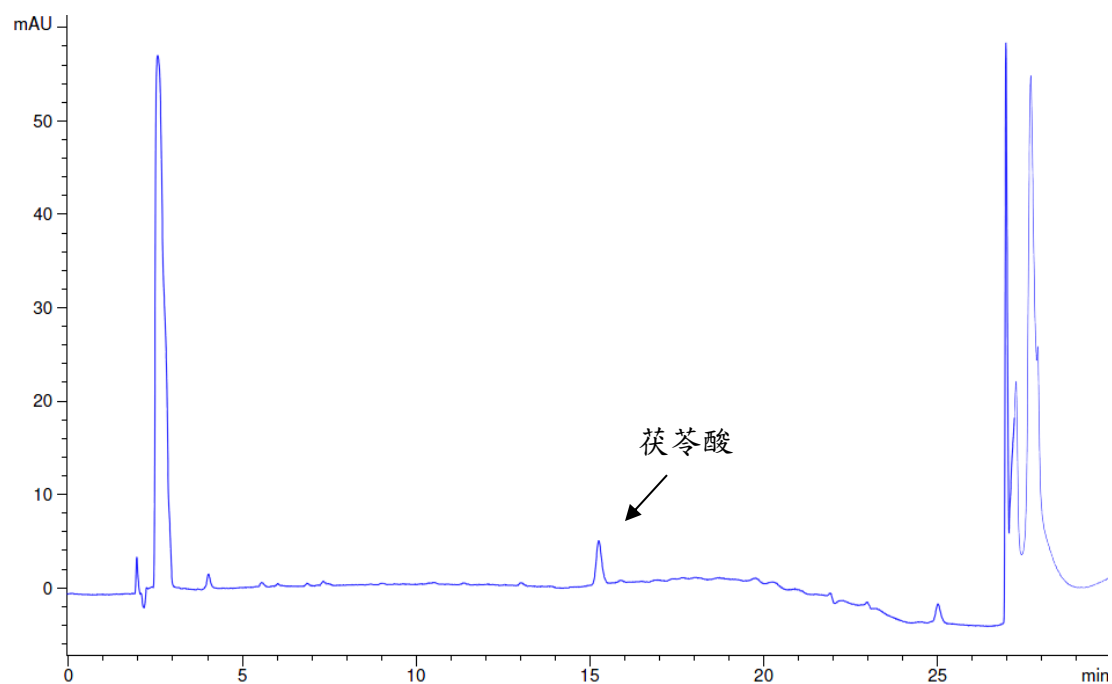
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，茯苓酸精密度之相對標準差為 0.33%，在系統適用性要求內。

(五) 重複性與穩定性試驗

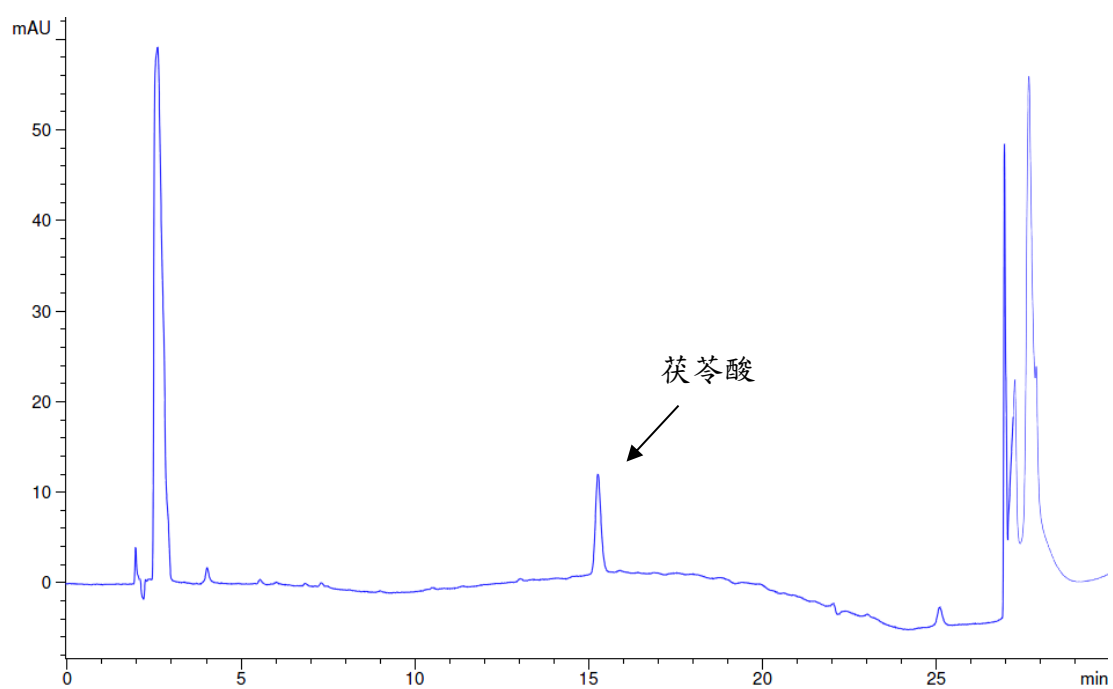
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，茯苓酸重複性之相對標準差為 0.84，在系統適用性要求內。茯苓酸在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差為 1.90%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(六) 偵測極限與定量極限試驗

茯苓酸偵測極限為 5.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 10 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、茯苓酸之偵測極限層析圖



圖五、茯苓酸之定量極限層析圖

表二、各項檢驗分析

檢測項目	茯苓酸	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	50 µg/mL	0.33
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.6)	0.84
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.6)	1.90
偵測極限 (n=1)	5.0 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	10 µg/mL	-

(七) 添加回收率試驗

茯苓酸平均添加回收率為 101.1%，相對標準偏差為 2.45%。

表三、茯苓酸添加回收率

編號	藥材稱重(g) (No. 10)	含有量 (mg)	加入量 (mg)	測得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	R.S.D. (%)
1	1.0504	0.61	0.5	1.12	101.5	100.45	2.48
2	1.0484	0.61	0.5	1.10	97.6		
3	1.0323	0.60	0.5	1.11	102.1		
4	1.0358	0.61	0.5	1.12	102.3		
5	1.0094	0.59	0.5	1.13	105.9		

(八) 臺灣市售茯苓飲片含量測定

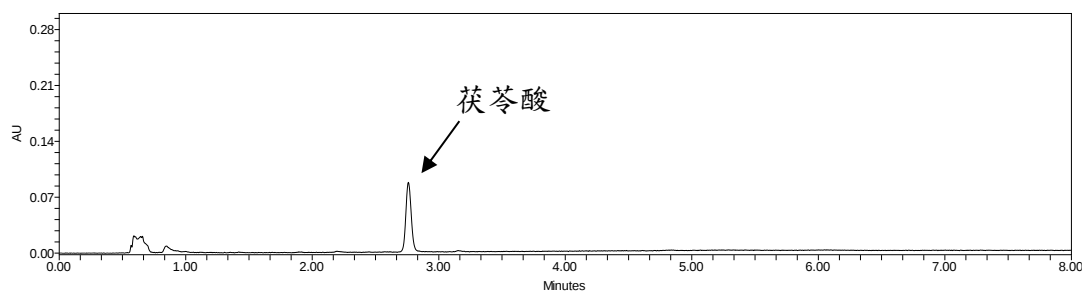
10 批茯苓飲片之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，茯苓酸含量為 0.05%–0.11%。建議茯苓飲片指標成分茯苓酸的含量不得少於 0.04%。建議理論板數按茯苓酸波峰計算應不低於 5000 (實際值為 36130)。

表四、臺灣市售茯苓飲片檢品之茯苓酸含量

藥材編號(No.)	茯苓酸含量(%)	藥材編號(No.)	茯苓酸含量(%)
1 (SUA)	0.05	6 (NJA)	0.07
2 (SUC)	0.09	7 (NFA)	0.07
3 (NRA)	0.05	8 (CAA)	0.07
4 (SGA)	0.08	9 (SEA)	0.11
5 (SUB)	0.05	10 (SG)	0.07

(九) 標準品茯苓酸(Pachymic acid)之 UPLC 層析

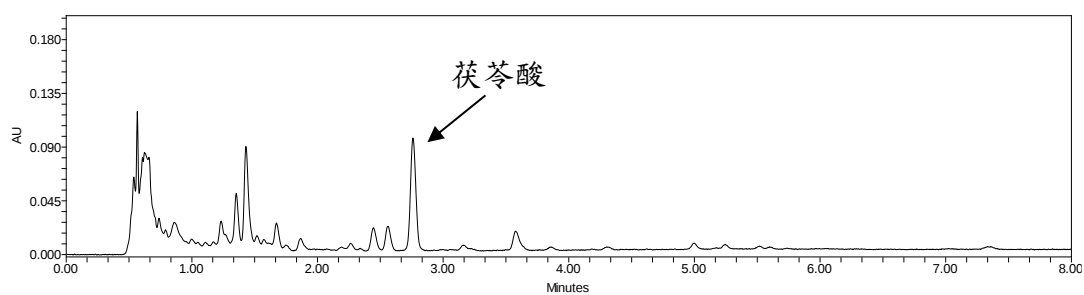
於滯留時間 2.76 分鐘處顯示茯苓酸標準品的波峰(圖六)。



圖六、茯苓酸(Pachymic acid)標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十) 市售茯苓飲片之 UPLC 層析

於滯留時間 2.67 分鐘處顯示茯苓飲片中茯苓酸的波峰(圖七)。



圖七、市售茯苓飲片檢品之 UPLC 層析圖

茯苓

生藥名：PORIA

英文名：Indian Bread

基 原：本品為多孔菌科 Polyporaceae 真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 之乾燥菌核。

一、方法

(一) 檢品溶液

【萃取方法 1】(修飾臺灣中藥典第二版 2013)

—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 2】(中華人民共和國藥典 2015)

—取本品粉末 1.0 g，加乙醚 50 mL，超音波振盪 10 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】(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

取茯苓酸(Pachymic 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】(臺灣中藥典第二版 2013)

—甲苯：乙酸乙酯 (1：1)

【展開劑 2】(中華人民共和國藥典 2015) ✓

—甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (20：5：0.5)

【展開劑 3】(臺灣中藥典第三版 2018)

—正己烷：乙酸乙酯：甲酸 (6：3：0.2)

(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

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。

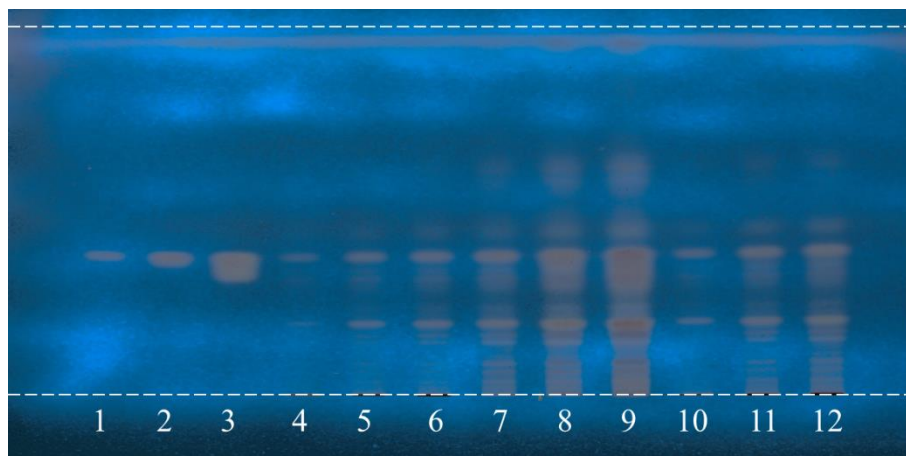
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：107/04/02

相對溼度(RH)：42%

溫度(RT)：26 °C

【展開劑 2】 (中華人民共和國藥典 2015)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (20：5：0.5)



編號	名稱	點注量
1，2，3	茯苓酸(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茯苓酸，而由於製備方法較簡便，且所使用的萃取溶劑量可較低，故選擇【萃取方法 3】。

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

三、溶媒系統選擇

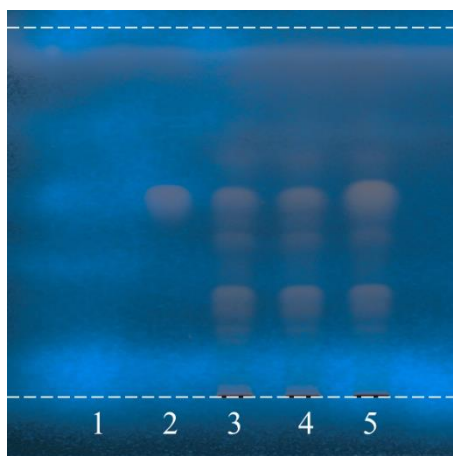
實驗日期：107/04/03

相對溼度(RH)：58%

溫度(RT)：24 °C

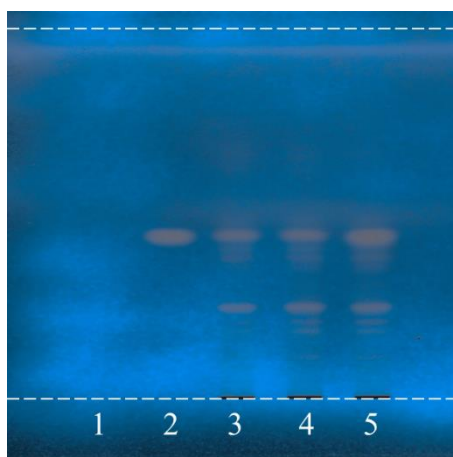
【展開劑 1】 (臺灣中藥典第二版 2013)——甲苯：乙酸乙酯 (1：1)

【萃取方法 3】 (自行開發) —— HPTLC 10%硫酸乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出(茯苓酸 R_f 值為 0.55，稍產生拖尾現象)



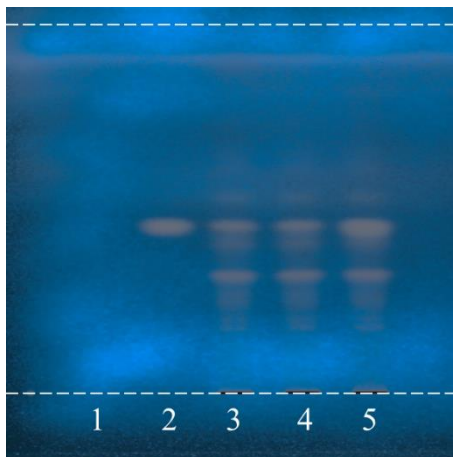
【展開劑 2】 (中華人民共和國藥典 2015)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (20：5：0.5) ✓

【萃取方法 3】 (自行開發) —— HPTLC 10%硫酸乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出(茯苓酸 R_f 值為 0.44)



【展開劑 3】 (臺灣中藥典第三版 2018)——正己烷：乙酸乙酯：甲酸 (6：3：0.2)

【萃取方法 3】 (自行開發) —— HPTLC 10%硫酸乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出(茯苓酸 R_f 值為 0.45)



1：Blank

2：茯苓酸

3，4：檢品溶液

5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 3】方式，3 種展開劑展開皆可從檢品溶液中分離與檢出茯苓酸，而由於分離效果較佳，故採用中華人民共和國藥典 2015 之【展開劑 2】。

四、觀察方式選擇

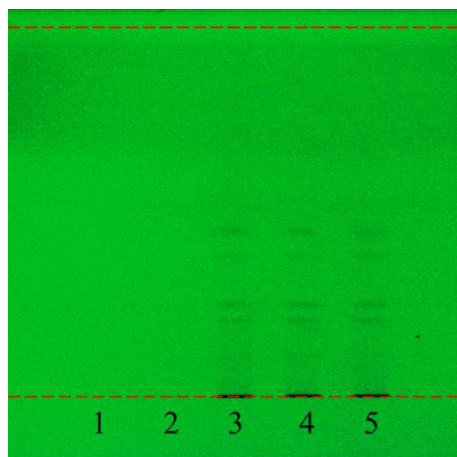
實驗日期：107/04/03

相對溼度(RH)：58%

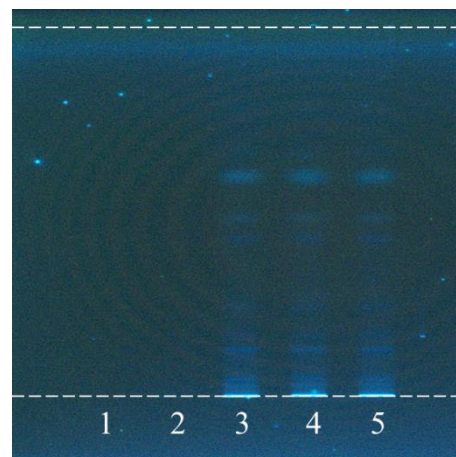
溫度(RT)：24 °C

【展開劑 2】 (中華人民共和國藥典 2015)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (20：5：0.5)

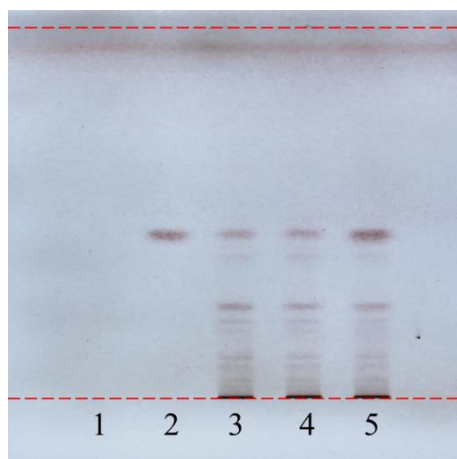
【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



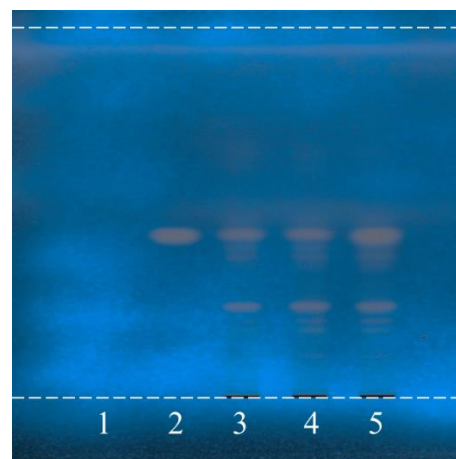
【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



【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：茯苓酸

3，4：檢品溶液 6

5：Spike

建議觀察方式：經 10%硫酸乙醇呈色後，於紫外光(365 nm)檢視較其他觀察方式有明顯之茯苓酸標準品斑點。

五、十批茯苓藥材樣品檢測

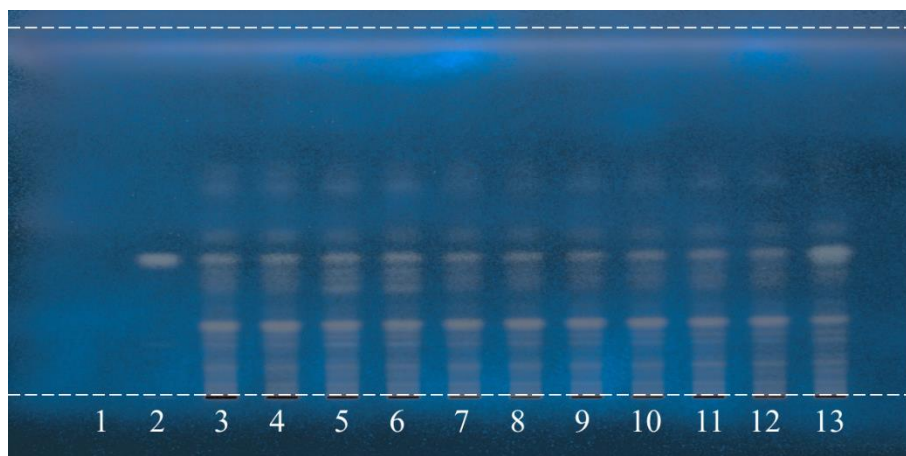
實驗日期：107/04/03

相對溼度(RH)：58%

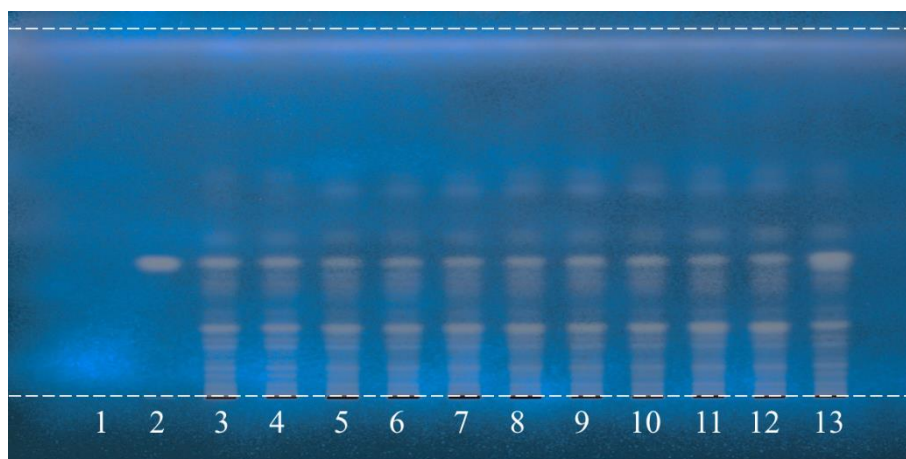
溫度(RT)：24 °C

【展開劑 2】 (中華人民共和國藥典 2015)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (20：5：0.5)

【萃取方法 3】 (自行開發) — HPTLC 10%硫酸乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	茯苓酸(0.2 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 (CE)
13	Spike (檢品溶液 6)



1	Blank
2	茯苓酸(0.2 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 (SQ)
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，並以中華人民共和國藥典 2015 之【展開劑 2】分離與檢出茯苓酸較佳，以 10%硫酸乙醇顯色後，於紫外光(365 nm)下檢視較佳。

茯苓(飲片)

六、十批茯苓飲片檢測

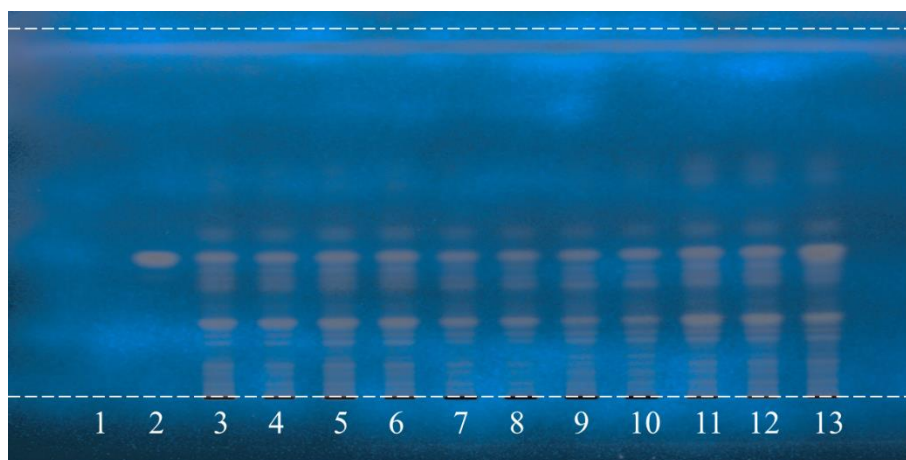
實驗日期：107/06/07

相對溼度(RH)：59%

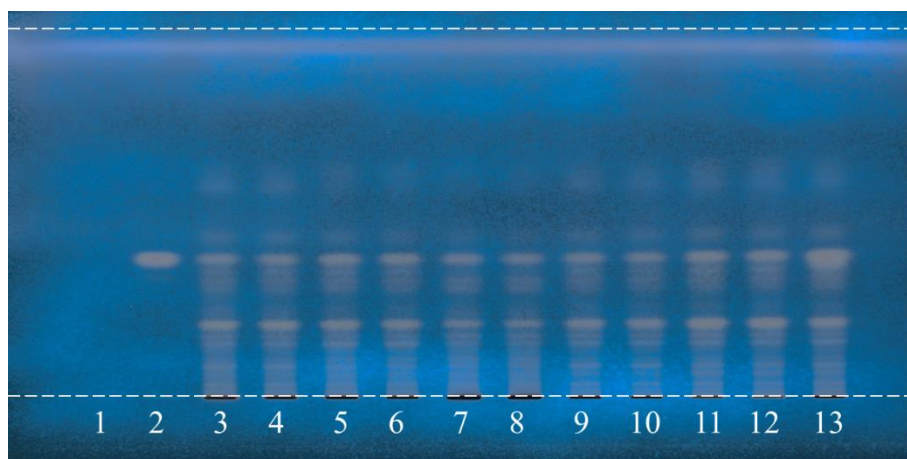
溫度(RT)：25 °C

【展開劑 2】 (中華人民共和國藥典 2015)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (20：5：0.5)

【萃取方法 3】 (自行開發) — HPTLC 10%硫酸乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	茯苓酸(0.2 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 1 (NFA)
5 , 6	檢品溶液 2 (NJA)
7 , 8	檢品溶液 3 (NRA)
9 , 10	檢品溶液 4 (CAA)
11 , 12	檢品溶液 5 (SEA)
13	Spike (檢品溶液 2)



1	Blank
2	茯苓酸(0.2 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 6 (SG)
5 , 6	檢品溶液 7 (SGA)
7 , 8	檢品溶液 8 (SUA)
9 , 10	檢品溶液 9 (SUB)
11 , 12	檢品溶液 10 (SUC)
13	Spike (檢品溶液 2)

結論與建議：飲片鑑別同藥材。