

葛根

(PUERARIAE LOBATAE RADIX)

葛根 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

葛根 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

葛根 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

葛根 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、十批葛根藥材樣品檢測.....	33
六、十批葛根飲片樣品檢測.....	35

葛根

(PUERARIAE LOBATAE 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野葛的乾燥根。

二、藥材性狀描述(圖 1)

藥材名：葛根

生藥名：PUERARIAE LOBATAE RADIX

英文名：Pueraria Lobata Root

基原：豆科 Leguminosea 植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 的乾燥根。

採收加工：秋、冬二季採挖，趁鮮切成厚片或小塊；乾燥。

藥材性狀：本藥材為野葛的乾燥根。呈縱切的長方形厚片或小方塊，長 5~35 cm，厚 0.5~1 cm。外皮淡棕色，有縱皺紋，粗糙。切面黃白色，紋理不明顯。質韌，纖維性強。氣微，味微甜。

生長分佈：多年生落葉藤本，長達 10 m。全株被黃褐色粗毛。塊根圓柱狀，肥厚，外皮灰黃色，內部粉質，纖維性很強。花期 4~8 月，果期 8~10 月。生於山坡草叢中或路旁及較陰濕的地方。分佈於臺灣及中國遼寧、河北、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、山西、陝西、甘肅等地。除新疆、西藏外，中國各地多有分佈。主產於河南、湖南、浙江、四川等地。

三、藥材組織顯微鑑別(圖 2)

1. 木栓層較寬，由數列木栓細胞緊密排列而成。
2. 皮層較窄。
3. 韌皮部與木質部相間排列，異形維管束形成 1~3 個同心環。
4. 纖維束多，與導管群相間排列。
5. 纖維束周圍薄壁細胞含草酸鈣方晶，形成晶纖維。
6. 導管大、密集，與纖維束相間排列；射線較窄。



圖 1 葛根藥材圖

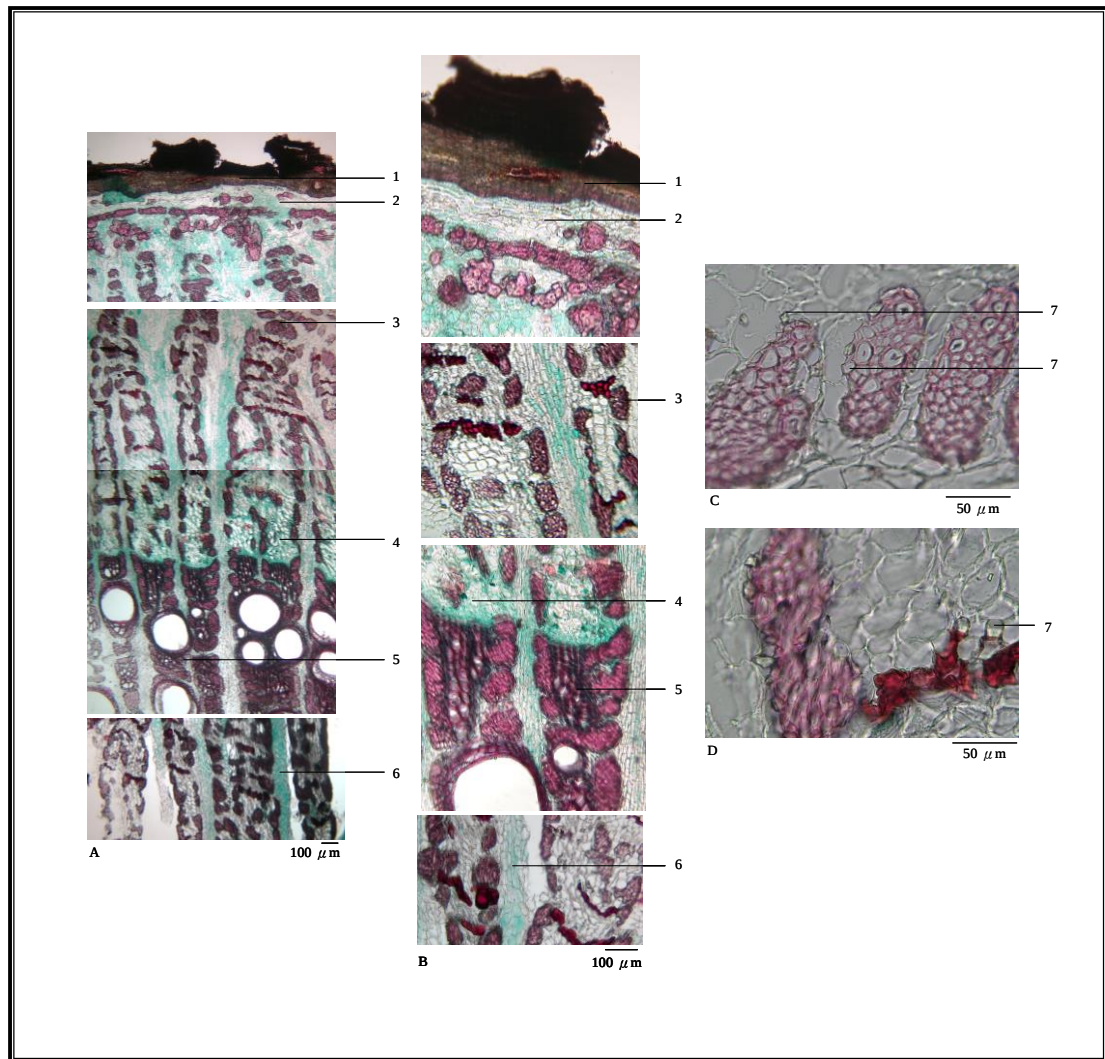


圖 2 葛根橫切面顯微特徵圖

A.橫切面圖 B.橫切面放大圖 C.纖維束 D.草酸鈣方晶

1.木栓層 2.皮層 3.纖維束 4.韌皮部 5.木質部 6.木射線 7.草酸鈣方晶

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。170–172 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。167–168 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。251–252 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 2：常用根及根莖藥材分冊。廣東：廣東科技出版社。246–248 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)。香港中藥材標準第三冊。香港：香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部。213–221 頁。
6. 肖培根等編輯 (2001)。新編中藥志第一卷。北京：化學工業出版社。962–975 頁。
7. 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。249–252 頁。
8. 國家中醫藥管理局《中華本草》編委會編輯 (1999)。中華本草第四冊。上海：上海科學技術出版社。610–619 頁。
9. 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。357 頁。
10. 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。272，312–313 頁。
11. 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。184–185 頁。
12. 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。178–179 頁。

葛根(*Puerariae lobata*)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店葛根藥材共 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

甲醇(99.9%)購自於 Merck；甲酸購自於友和貿易有限公司。

(二) 標準品

標準品葛根素(Puerarin)自行純化，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 0.1 g，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、30%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. 2 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葛根素的最高波峰面積為最佳葛根萃取溶媒。

(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 離心管中，準確加入 30%乙醇 25 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，以 No. 2 濾紙過濾，取濾液轉移至 25 mL 之定量瓶中，加入 30%乙醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μm)，取濾液，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

準確稱取標準品葛根素 2.0 mg，加 10 mL 的 30%乙醇製成每 1 mL 含

葛根素 200 µg 的標準品儲備溶液，並以 30%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 0.1 g，置 50 mL 錐形瓶中，準確加入 30%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 30%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葛根素的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取葛根素標準品儲備溶液適量(200 µg/mL)，以 30%乙醇稀釋製成含葛根素分別為 100、50、10、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

以葛根素)濃度為 50 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以葛根素的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性:取同一批市售葛根粉末，依葛根檢品溶液製備方法平行製備 5 份葛根檢品溶液，進樣測定，以葛根素的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性:取同一批市售葛根粉末，依葛根檢品溶液製備方法製備葛根檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以葛根素的波峰面積為指標，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

取已知葛根素含量的葛根藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.05 g，分別加入 1 mL 的葛根素溶液(1500 µg/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：COSMOSIL 5C₁₈-AR-II Column (250 x 4.6 mm, 5 µm)
2. 檢測波長：UV 250 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% 甲酸(v/v, %)
0	10	90
40	35	65

(十二) 臺灣市售葛根含量測定

取 10 批市售葛根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 公式計算樣品葛根素(puerarin)的百分含量。

(十三) 葛根檢品之 UPLC 層析條件

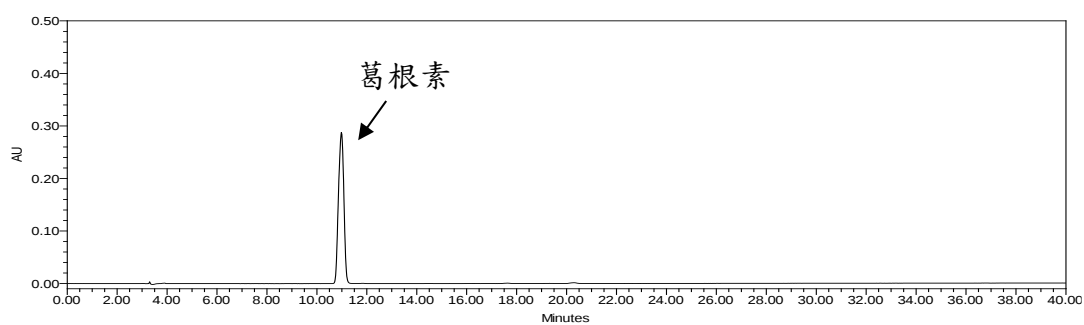
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C₁₈ Column (100 x 2.1 mm, 1.7 µm)
2. 檢測波長：UV 250 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 µL
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	水(%)
0	25	75
10	25	75

五、結果

(一) 標準品葛根素之 HPLC 層析

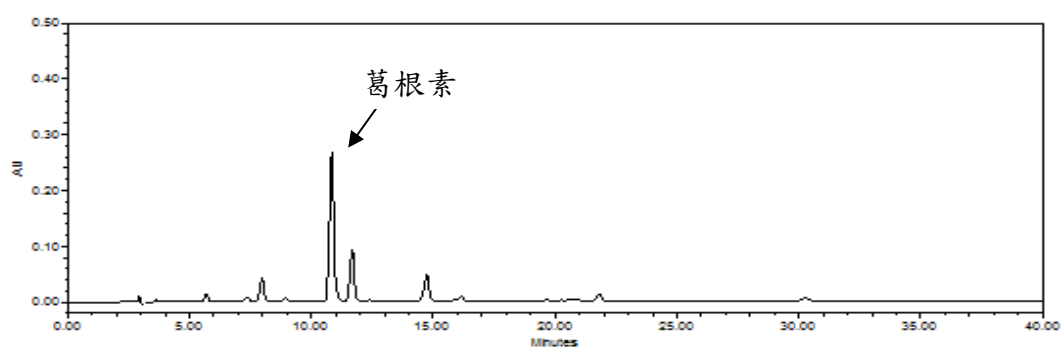
於滯留時間 10.98 分鐘處顯示葛根素標準品波峰(圖一)。



圖一、葛根素標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售葛根檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 10.96 分鐘處顯示葛根檢品中葛根素波峰(圖二)。分離率為(*R*)為 3.27，托尾因子為(*T*)為 1.07，均在系統適用性要求內。



圖二、市售葛根檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒評估

以 30%乙醇為溶媒時，每克藥材重量所得葛根素的波峰面積最大，顯示 30%乙醇為最佳萃取溶媒。

表一、不同溶媒萃取比較

溶媒	葛根素波峰面積(mAU)	最佳萃取
甲醇	363098	
75% 甲醇	535961	
50% 甲醇	553081	
乙醇	268086	
75% 乙醇	495010	
50% 乙醇	546172	
30% 乙醇	561605	√

(四) 最佳萃取次數評估

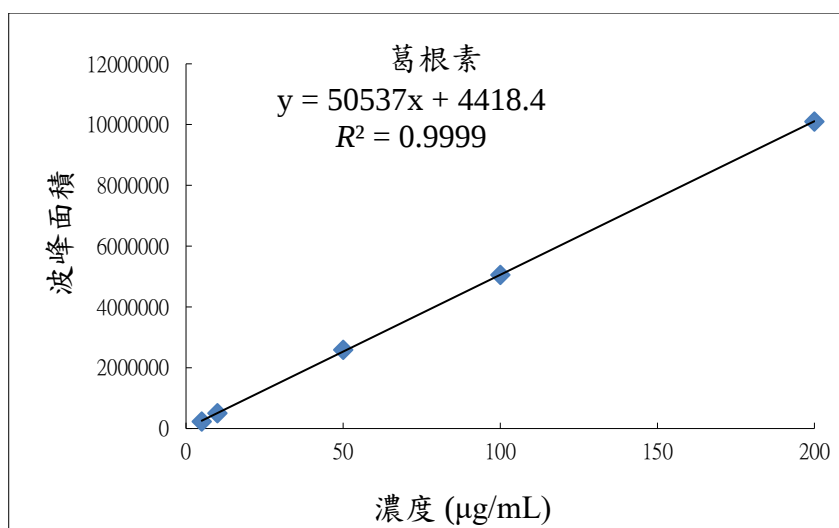
結果顯示萃取 2 次基本上已將葛根素萃取完全(萃取率大於 98%)。

表二、葛根檢品萃取次數評估

30%乙醇萃取次數	葛根素波峰面積(AU)
第 1 次	939128
第 2 次	129253
第 3 次	17700
第 4 次	N.D.

(五) 標準品葛根素檢量線

經不同濃度葛根素(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 $y = 50537x + 4418.4$ ， $R^2 = 0.9999$ ，顯示濃度在 5.0–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、葛根素之檢量線圖

表三、葛根素之檢量線方程式

對照標準品	濃度(µg/mL)	線性回歸方程式	R^2
葛根素	5.0–200	$y = 50537x + 4418.4$	0.9999

(六) 精密度試驗

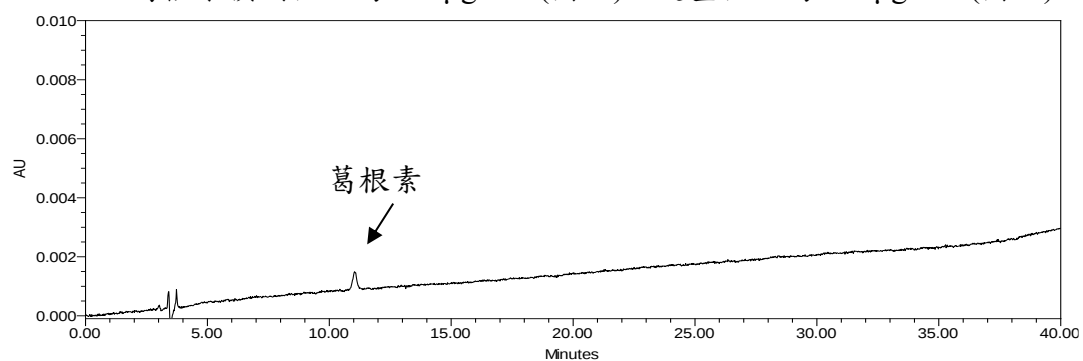
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，葛根素精密度之相對標準差為 2.0%，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

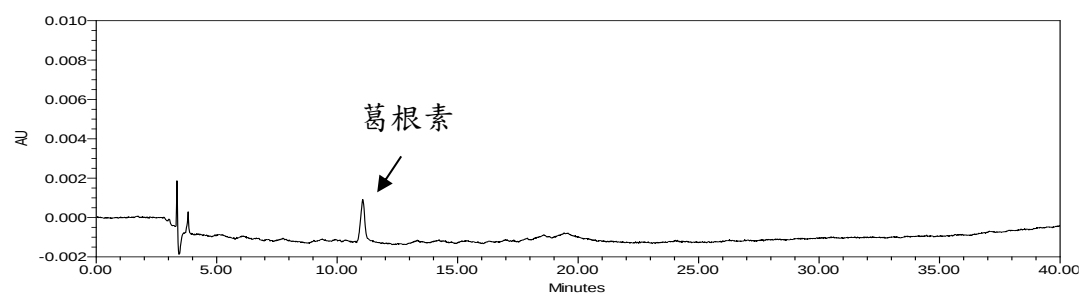
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，葛根素重複性之相對標準差為 1.46%，在系統適用性要求內。葛根素在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差為 1.48%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

葛根素偵測極限為 0.2 µg/mL (圖四)，定量極限為 0.5 µg/mL (圖五)。



圖四、葛根素之偵測極限層析圖



圖五、葛根素之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	葛根素	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	50 µg/mL	2.0
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.1)	1.46
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.1)	1.45
偵測極限 (n=1)	0.2 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	0.5 µg/mL	-

(九) 添加回收率試驗

葛根素平均添加回收率為 98.8%，相對標準偏差為 0.6%。

表五、葛根素添加回收率

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	1.5375	1.50	3.0152	98.53	98.84	0.6
2	0.05	1.5372	1.50	3.0094	98.15		
3	0.05	1.5375	1.50	3.0263	99.27		
4	0.05	1.5372	1.50	3.0166	98.62		
5	0.05	1.5372	1.50	3.0312	99.60		

(十) 臺灣市售葛根含量測定

10 批葛根藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，8 批葛根素的含量為 3.084—4.635%。建議葛根藥材指標成分葛根素的含量不得少於 2.5%。理論板數按葛根素波峰計算應不低於 5000 (實際值為 10000)。

表六、臺灣市售葛根檢品之葛根素含量

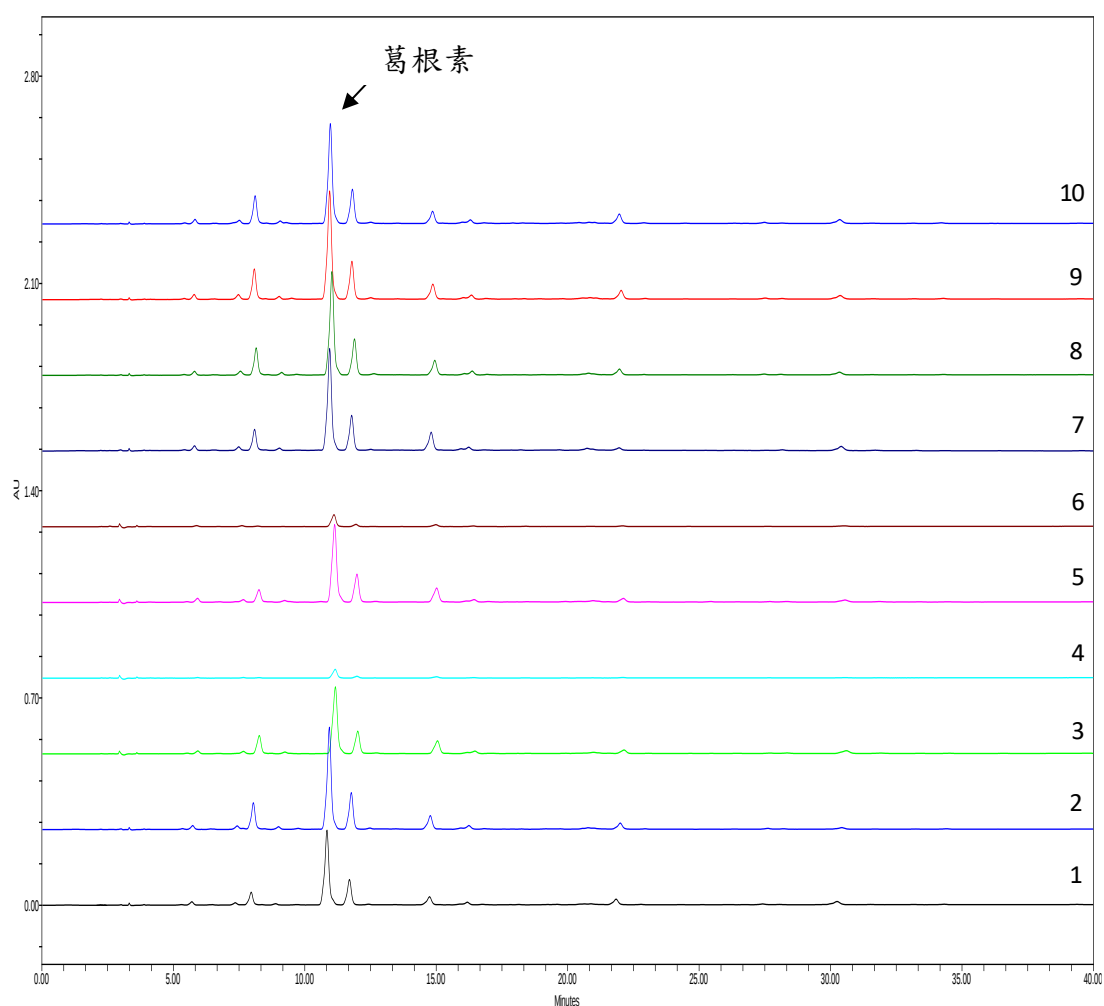
藥材編號(No.)	葛根素含量(%)	藥材編號(No.)	葛根素含量(%)
1 (NC)	4.269	6 (CA-1)	3.595
2 (ND)	4.635	7 (CA-2)	0.384
3 (NF)	4.388	8 (SA)	3.084
4 (NI)	4.301	9 (SU-1)	4.356
5 (NY)	0.523	10 (SU-2)	3.281

(十一) 葛根藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售葛根檢品溶液各 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 250 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：

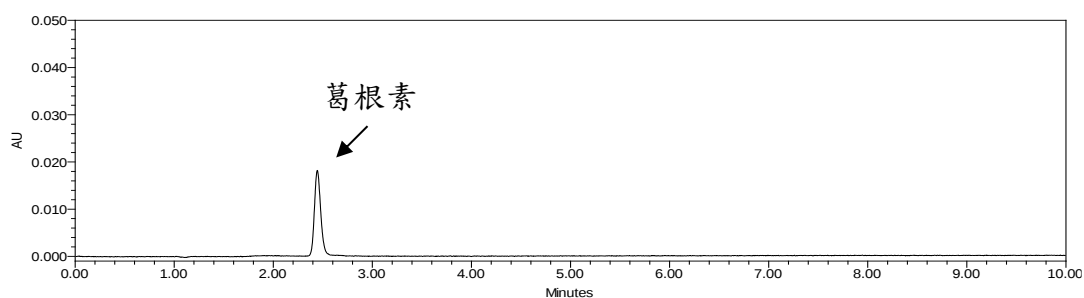
時間(min)	乙腈(%)	0.1% 甲酸(v/v, %)
0	10	90
40	35	65



圖六、10 批葛根藥材之 HPLC 層析圖

(十二) 標準品葛根素之 UPLC 層析

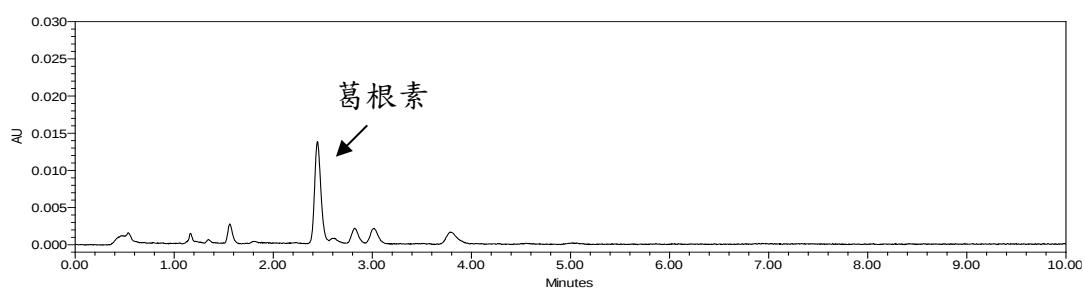
於滯留時間 2.44 分鐘處顯示葛根素標準品的波峰(圖七)



圖七、葛根素標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售葛根檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 2.47 分鐘顯示葛根檢品中葛根素的波峰(圖八)。

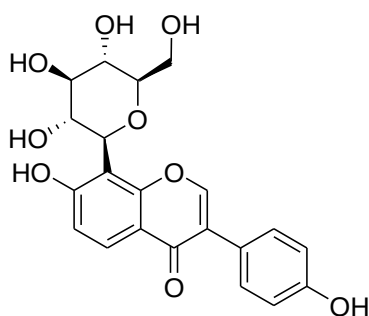


圖八、市售葛根檢品之 UPLC 層析圖

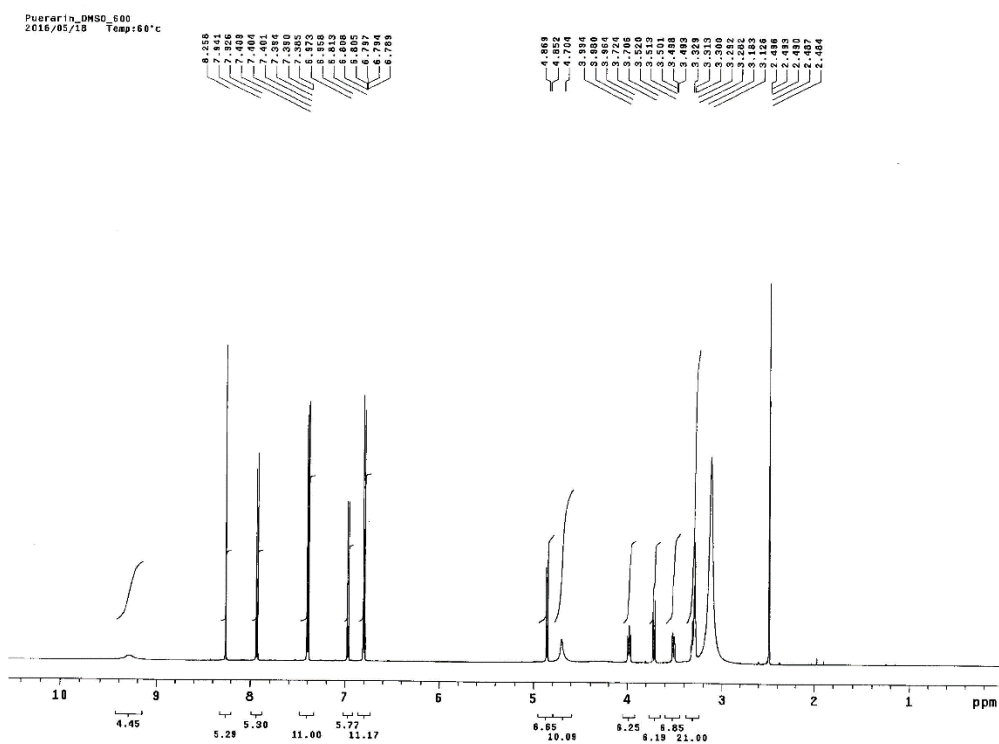
(十四) 葛根素的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{21}H_{20}O_9$ ；分子量：416.38；熔點：187–189 °C；白色固體。

(十五) 葛根素的結構

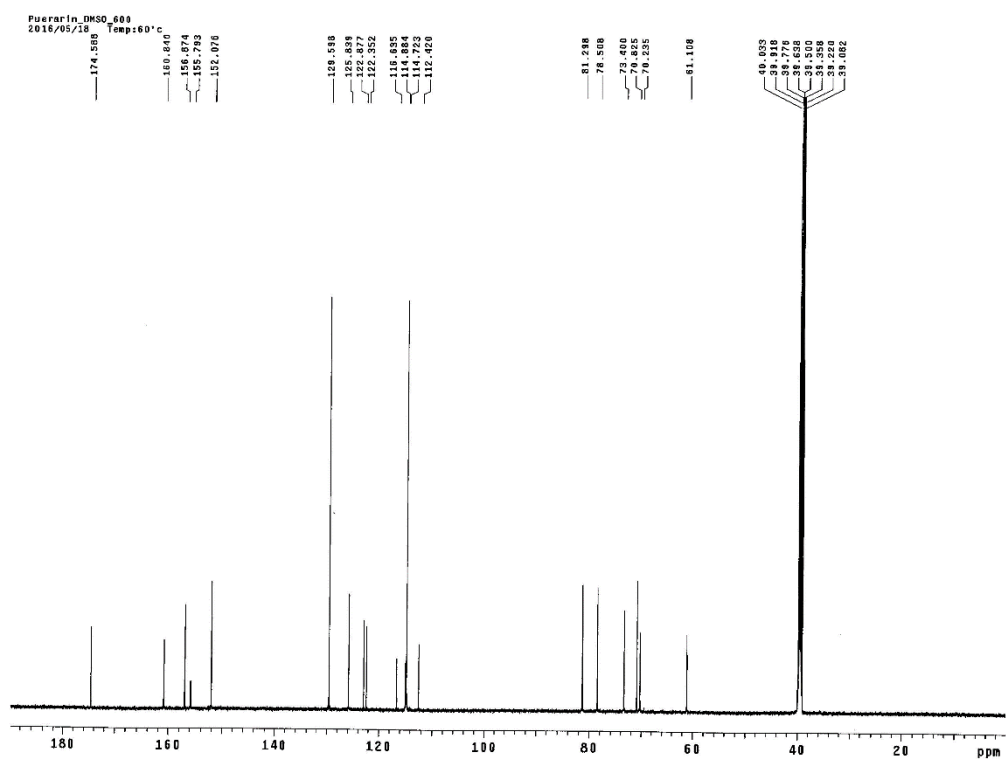


(十六) 葛根素的 ^1H NMR 圖譜



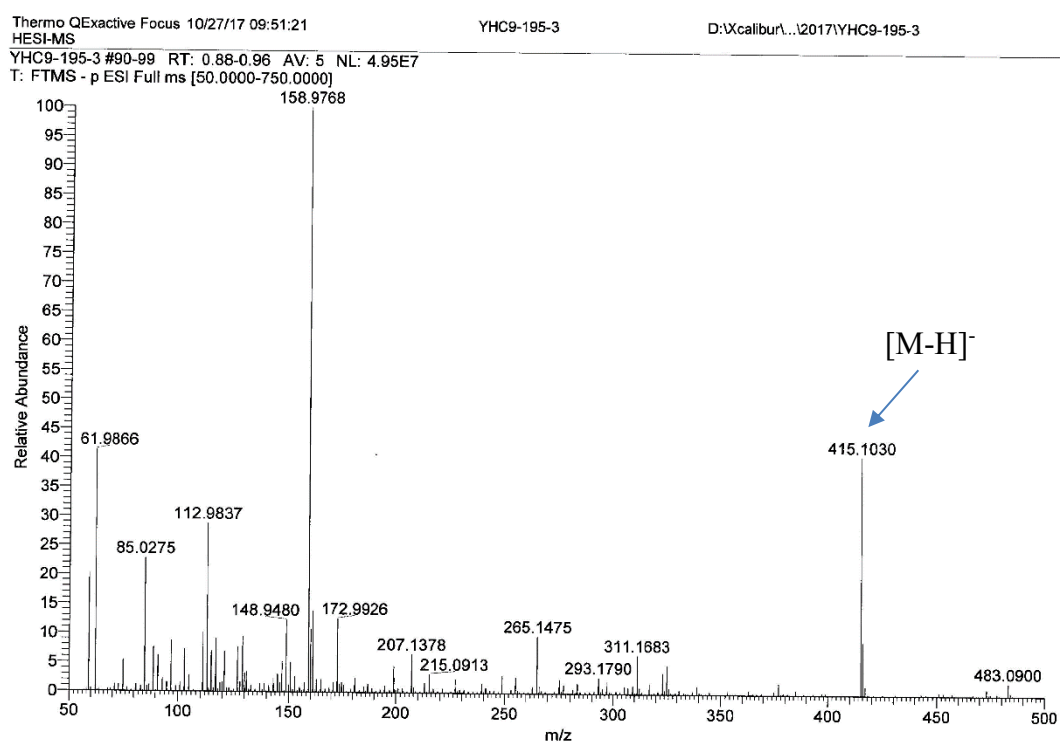
圖九、葛根素的 ^1H NMR 圖譜($\text{DMSO}-d_6$)

(十七) 葛根素的 ^{13}C NMR 圖譜



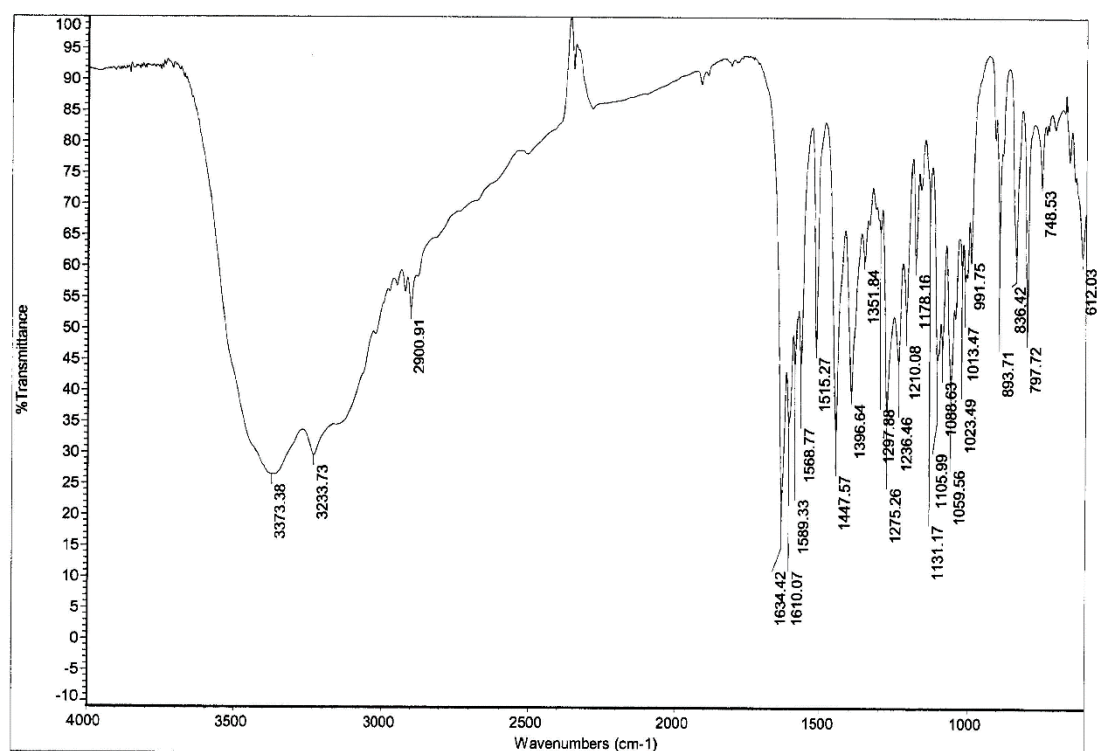
圖十、葛根素的 ^{13}C NMR 圖譜($\text{DMSO}-d_6$)

(十八) 葛根素的 EI-MS 圖譜



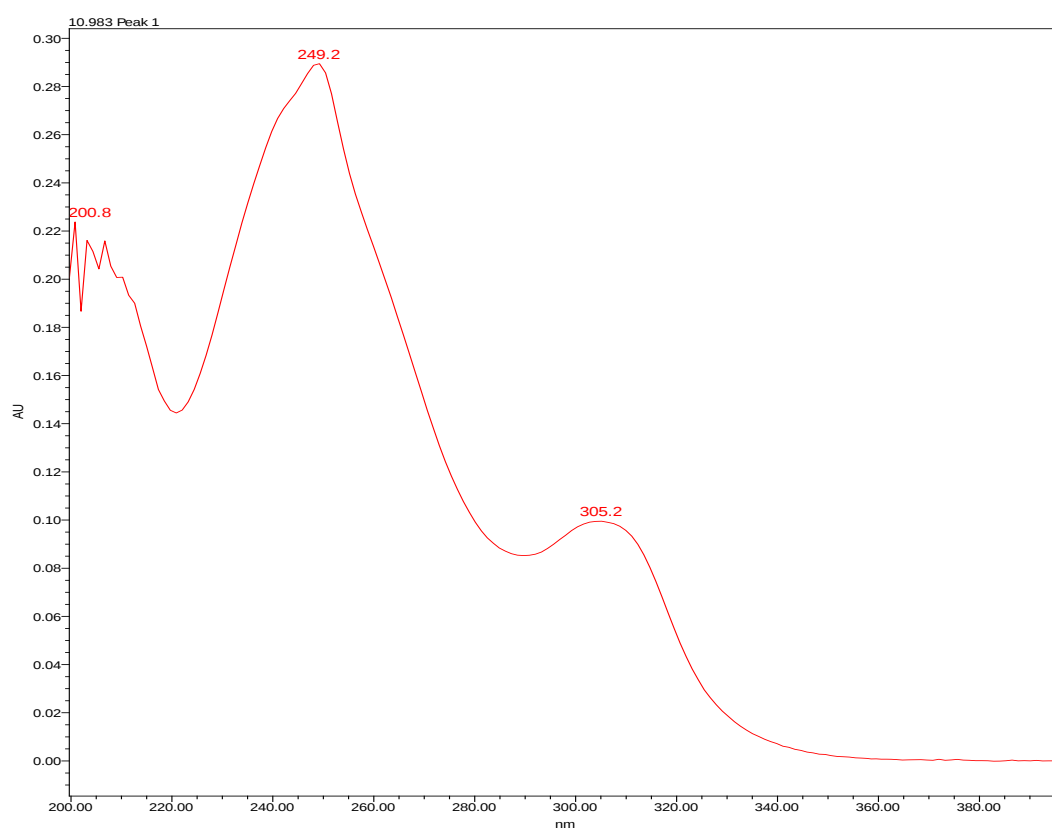
圖十一、葛根素的 EI-MS 圖譜

(十九) 葛根素的 FTIR 圖譜



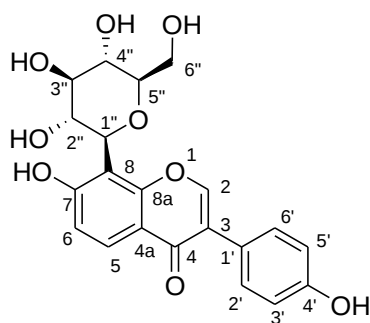
圖十二、葛根素的 FTIR 圖譜

(二十) 葛根素的 UV 圖譜



圖十三、葛根素的 UV 圖譜

(二十一) 葛根素的氫、碳化學位移



葛根素

表七、葛根素的氫、碳化學位移(DMSO-*d*₆)^a

position	δ_{H} (600 MHz)	δ_{C} (150 MHz)
2	8.26 (s)	152.1
3	-	122.9
4	-	174.6
4a	-	111.7
5	7.93 (d, 9.0)	125.8
6	6.97 (d, 9.0)	114.9
7	-	160.8
8	-	112.4
8a	-	155.8
1'	-	122.4
2',6'	7.40 (d, 8.4)	129.6
3',5'	6.80 (d, 8.4)	114.7
4'	-	156.9
1''	4.86 (d, 9.6)	73.4
2''	3.98 (t, 9.6)	70.8
3''	3.13–3.33 (m)	78.5
4''	3.13–3.33 (m)	70.2
5''	3.13–3.33 (m)	81.3
6''	3.49–3.52 (m), 3.72 (d, 10.8)	61.1

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

葛根飲片(*Puerariae lobata*)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店葛根飲片共 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

甲醇(99.9%)購自於 Merck；甲酸購自於友和貿易股份有限公司。

(二) 標準品

標準品葛根素(Puerarin)自行純化，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

葛根飲片最佳萃取溶媒同葛根藥材。

(二) 最佳萃取次數評估

葛根飲片最佳萃取次數同葛根藥材。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品葛根素 2.0 mg，加 10 mL 的 30%乙醇製成每 1 mL 含葛根素 200 μg 的標準品儲備溶液，並以 30%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 0.1 g，置 50 mL 錐形瓶中，準確加入 30%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 30%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 μ L，注入 HPLC，測定，用標準曲線計算溶液中葛根素的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取葛根素標準品儲備溶液適量(200 μ g/mL)，以 30%乙醇稀釋製成含葛根素分別為 100、50、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 $y = ax + b$ 與關係數 R^2 。

(七) 精密度試驗

以葛根素濃度為 50 μ g/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以葛根素的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售葛根飲片粉末，依葛根飲片檢品溶液製備方法平行製備 5 份葛根飲片檢品溶液，進樣測定，以葛根素的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售葛根飲片粉末，依葛根飲片檢品溶液製備方法製備葛根飲片檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以葛根素的波峰面積為指標，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

取已知葛根素含量的葛根飲片粉末 5 份，每份準確稱取約 0.05 g，分別加入 1 mL 的葛根素溶液(1500 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：COSMOSIL 5C₁₈-AR-II Column (250 x 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 250 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% 甲酸(v/v, %)
0	10	90
40	35	65

(十二) 臺灣市售葛根飲片含量測定

取 10 批市售葛根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 公式計算樣品葛根素的百分含量。

(十三) 葛根飲片檢品之 UPLC 層析條件

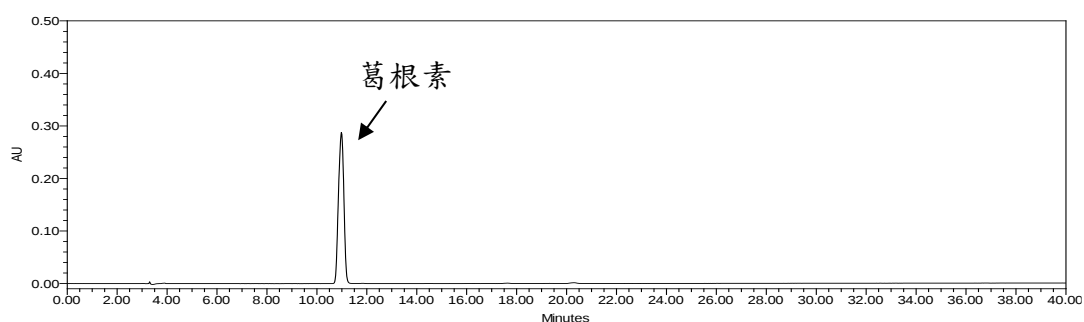
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 250 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	水(%)
0	25	75
10	25	75

五、結果

(一) 標準品葛根素之 HPLC 層析

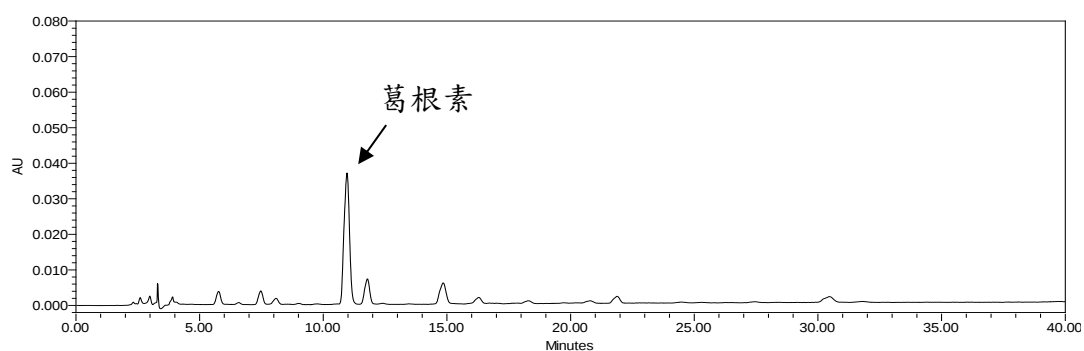
於滯留時間 10.98 分鐘處顯示葛根素標準品波峰(圖一)。



圖一、葛根素標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售葛根飲片檢品之 HPLC 層析

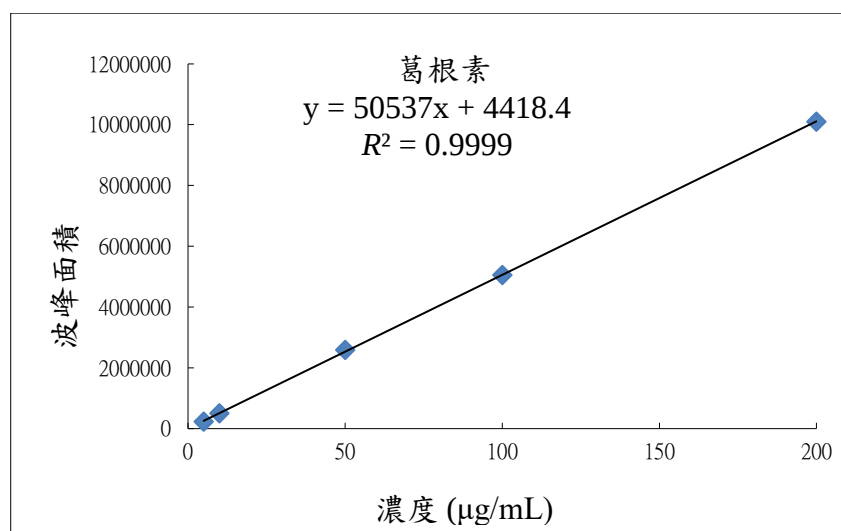
於滯留時間 10.96 分鐘處顯示葛根飲片檢品中葛根素波峰(圖二)。分離率為(*R*)為 3.21，托尾因子為(*T*)為 1.11，均在系統適用性要求內。



圖二、市售葛根飲片檢品之 HPLC 層析圖

(三) 標準品葛根素檢量線

經不同濃度葛根素(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 $y = 50537x + 4418.4$ ， $R^2 = 0.9999$ ，顯示濃度在 5.0–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、葛根素之檢量線圖

表一、葛根素之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
葛根素	5.0–200	$y = 50537x + 4418.4$	0.9999

(四) 精密度試驗

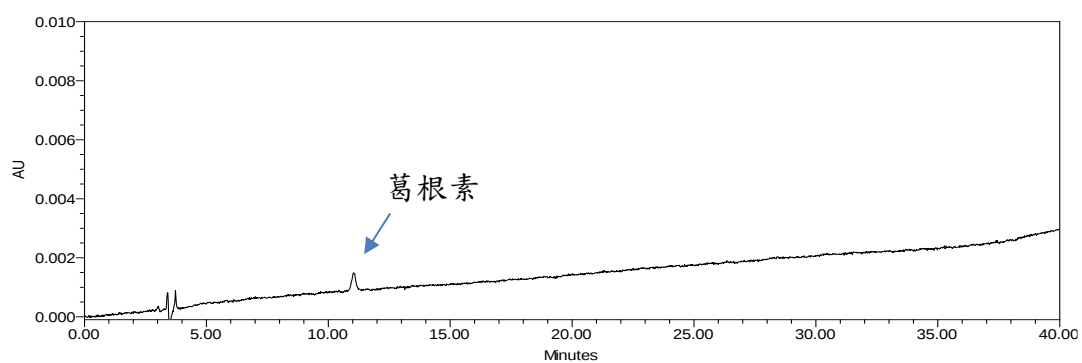
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，葛根素精密度之相對標準差為 2.0%，在系統適用性要求內。

(五) 重複性與穩定性試驗

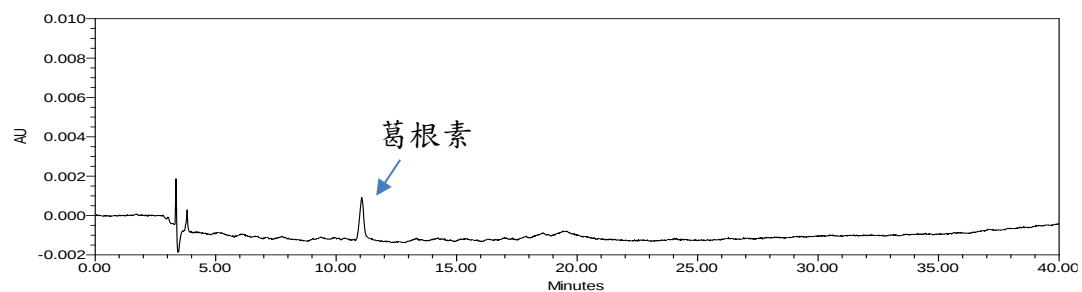
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，葛根素重複性之相對標準差為 1.25%，在系統適用性要求內。葛根素在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差為 1.37%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(六) 偵測極限與定量極限試驗

葛根素偵測極限為 0.2 µg/mL (圖四)，定量極限為 0.5 µg/mL (圖五)。



圖四、葛根素之偵測極限層析圖



圖五、葛根素之定量極限層析圖

表二、各項檢驗分析

檢測項目	葛根素	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	50 µg/mL	2.0
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.1)	1.25
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.1)	1.37
偵測極限 (n=1)	0.2 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	0.5 µg/mL	-

(七) 添加回收率試驗

添加葛根素平均回收率為 92.9%，相對標準偏差為 0.88%。

表三、葛根素添加回收率

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	1.8560	1.50	3.2329	91.79	92.89	0.88
2	0.05	1.8560	1.50	3.2469	92.73		
3	0.05	1.8560	1.50	3.2638	93.85		
4	0.05	1.8560	1.50	3.2442	92.54		
5	0.05	1.8560	1.50	3.2588	93.52		

(八) 臺灣市售葛根飲片含量測定

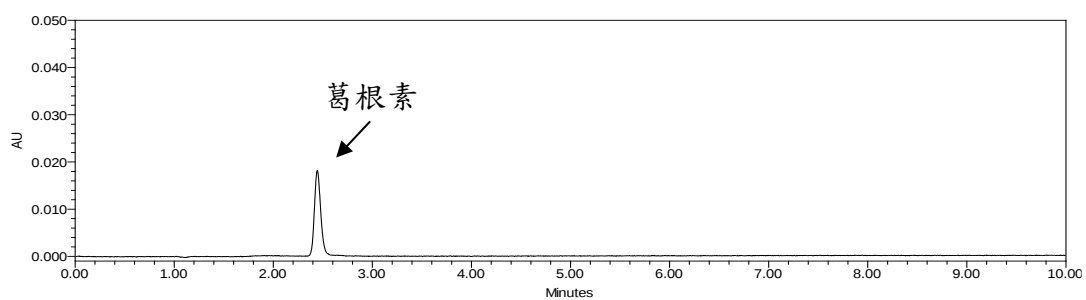
10 批葛根飲片之含量測定結果(乾燥品)如表四所示，葛根素的含量為 3.132–5.258%。建議葛根飲片指標成分葛根素的含量不得少於 2.5%。理論板數按葛根素波峰計算應不低於 5000 (實際值為 10000)。

表四、臺灣市售葛根飲片檢品之葛根素含量

藥材編號(No.)	葛根素含量(%)	藥材編號(No.)	葛根素含量(%)
1 (NCA)	4.369	6 (CAB)	3.360
2 (NDA)	4.572	7 (SAA)	3.132
3 (NFA)	5.258	8 (SGA)	3.735
4 (NIA)	4.331	9 (SGB)	4.941
5 (CAA)	3.676	10 (SUA)	4.797

(九) 標準品葛根素之 UPLC 層析

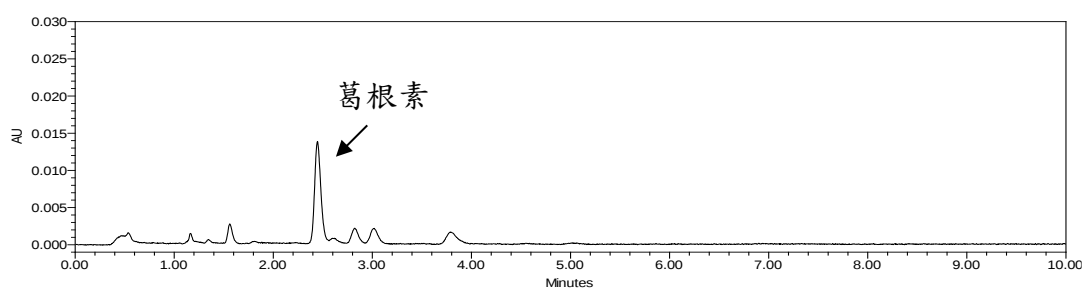
於滯留時間 2.41 分鐘處顯示葛根素標準品的波峰(圖六)



圖六、葛根素標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十) 市售葛根飲片檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 2.43 分鐘處顯示葛根飲片檢品中葛根素的波峰(圖七)。



圖七、市售葛根飲片檢品之 UPLC 層析圖

葛根

生藥名：PUERARIAE LOBATAE RADIX

英文名：Lobed Kudzuvine Root

基 原：本品為豆科 Leguminosae 植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 之乾燥根。習稱「野葛」。

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 1.0 g，加甲醇 15 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 0.8 g，加甲醇 10 mL，靜置 2 小時，過濾，濾液濃縮至乾，殘渣加甲醇 0.5 mL 使之溶解，作為檢品溶液。
【萃取方法 3】(修飾香港中藥材標準第三冊) ✓
——取本品粉末 0.1 g，加 70%乙醇 10 mL，超音波振盪 10 分鐘，過濾，取濾液作為檢品溶液。
- (二) 對照標準品 取葛根素(Puerarin)對照標準品，加 70%乙醇製成每 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) ✓**
——乙酸乙酯：甲醇：水 (12：2：1)
【展開劑 2】(修飾中華人民共和國藥典 2015)
——二氯甲烷：甲醇：水 (7：2.5：0.25)
【展開劑 3】(香港中藥材標準第三冊)
——乙酸乙酯：乙醇：水 (12：3：1)
- (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。

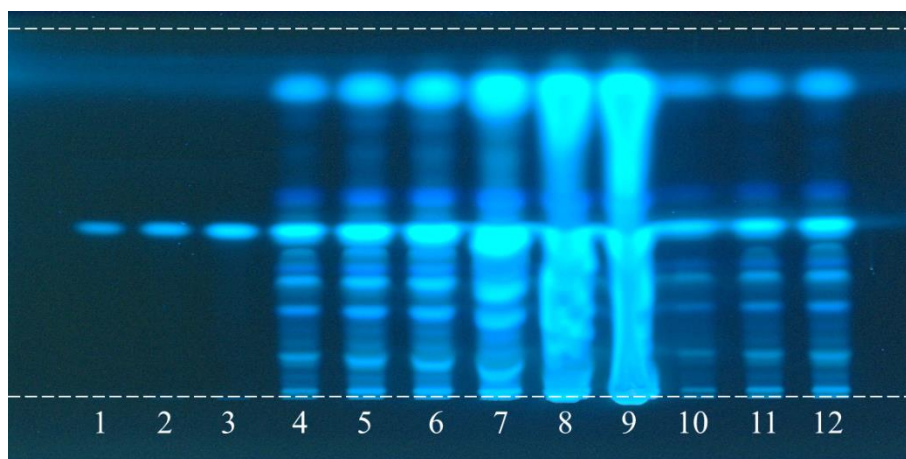
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：106/11/28

相對溼度(RH)：59%

溫度(RT)：25 °C

【展開劑 1】 (臺灣中藥典第二版 2013)——乙酸乙酯：甲醇：水 (12：2：1)



編號	名稱	點注量
1, 2, 3	葛根素(0.2 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
4, 5, 6	檢品溶液 8【萃取方法 1】	2, 5, 8 μ L
7, 8, 9	檢品溶液 8【萃取方法 2】	2, 5, 8 μ L
10, 11, 12	檢品溶液 8【萃取方法 3】	2, 5, 8 μ L

建議萃法：唯【萃取方法 1】及【萃取方法 3】之檢品溶液中有較明顯分離與檢出標準品葛根素，而【萃取方法 2】之檢品溶液則因濃度過高而產生拖尾現象，且由於製備方法較快速，檢品粉末量可較低，故選擇【萃取方法 3】。

建議點注量：葛根素標準品溶液 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 3】2 μ L。

三、溶媒系統選擇

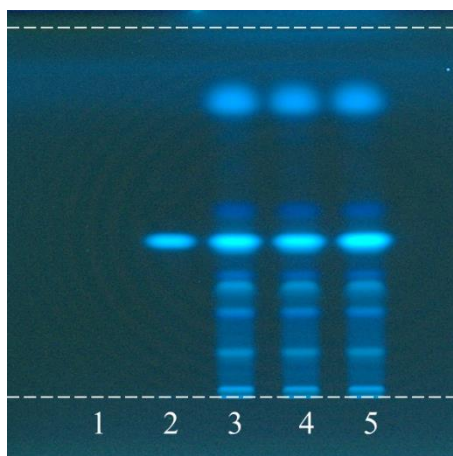
實驗日期：106/11/28

相對溼度(RH)：59%

溫度(RT)：25 °C

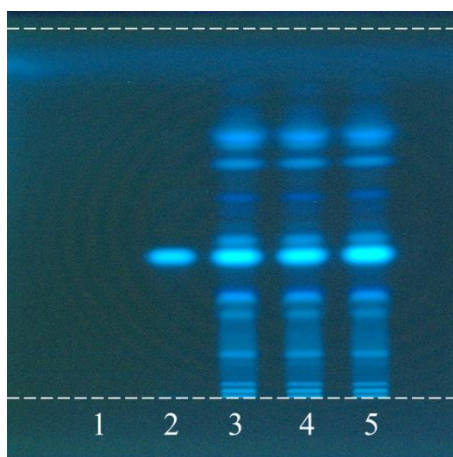
【展開劑 1】 (臺灣中藥典第二版 2013)——乙酸乙酯：甲醇：水 (12：2：1)

【萃取方法 3】 (修飾香港中藥材標準第三冊)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出
(葛根素 R_f 值為 0.42)



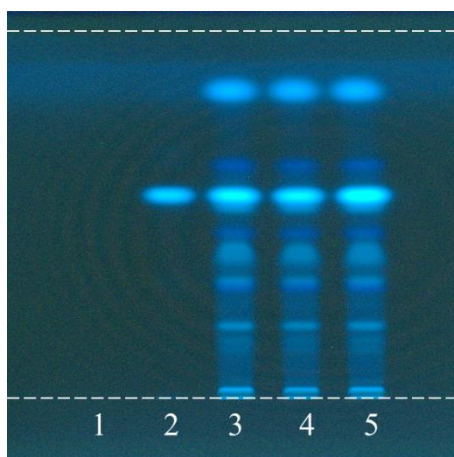
【展開劑 2】 (修飾中華人民共和國藥典 2015)——二氯甲烷：甲醇：水 (7：2.5：0.25)

【萃取方法 3】 (修飾香港中藥材標準第三冊)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出
(葛根素 R_f 值為 0.37)



【展開劑 3】 (香港中藥材標準第三冊)——乙酸乙酯：乙醇：水 (12：3：1)

【萃取方法 3】 (修飾香港中藥材標準第三冊)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出
(葛根素 R_f 值為 0.54)



1：Blank

2：葛根素

3，4：檢品溶液 8

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葛根素，故支持臺灣藥典方法，採用臺灣中藥典第二版 2013 之【展開劑 1】。

四、觀察方式選擇

實驗日期：106/11/28

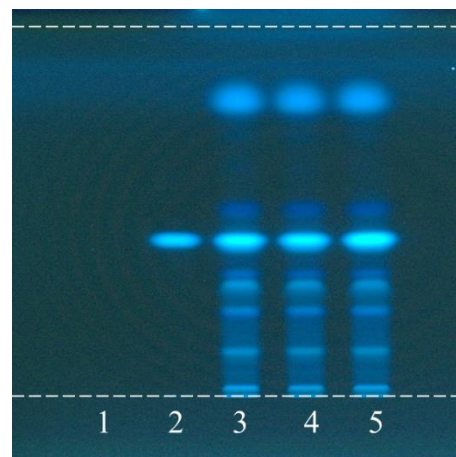
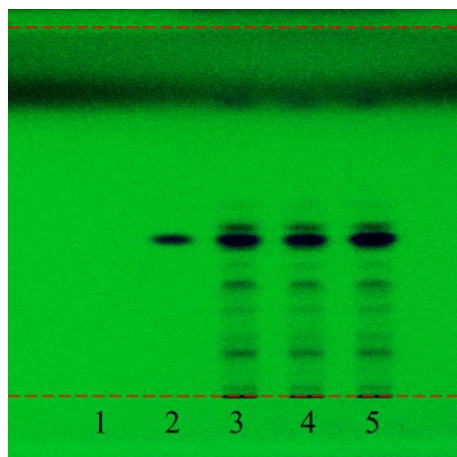
相對溼度(RH)：59%

溫度(RT)：25 °C

【展開劑 1】 (臺灣中藥典第二版 2013) —— 乙酸乙酯：甲醇：水 (12：2：1)

【萃取方法 3】 (修飾香港中藥材標準第三冊) — HPTLC 紫外光(254 nm)檢出

【萃取方法 3】 (修飾香港中藥材標準第三冊) — HPTLC 紫外光(365 nm)檢出✓



1：Blank

2：葛根素

3，4：檢品溶液 8

5：Spike

建議觀察方式：於紫外光(365 nm)下顯示出較紫外光(254 nm)有明顯之葛根素標準品斑點。

五、十批葛根藥材樣品檢測

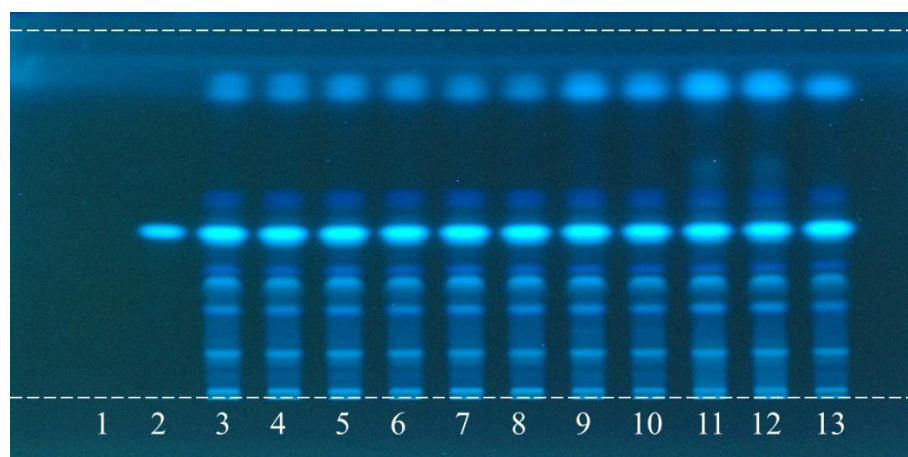
實驗日期：106/11/29

相對溼度(RH)：58%

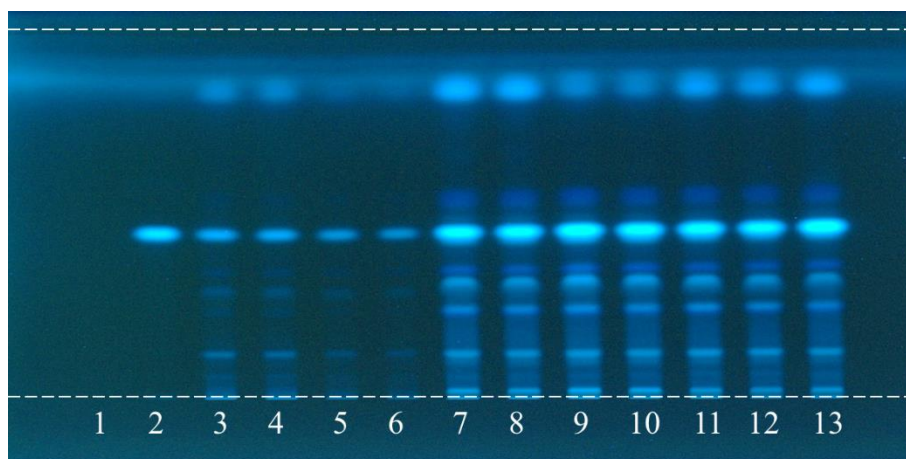
溫度(RT)：27 °C

【展開劑 1】 (臺灣中藥典第二版 2013)——乙酸乙酯：甲醇：水 (12：2：1)

【萃取方法 3】 (修飾香港中藥材標準第三冊) — HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	葛根素(0.2 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 (NI)
11, 12	檢品溶液 5 (CA-1)
13	Spike (檢品溶液 8)



1	Blank
2	葛根素(0.2 mg/mL)
3, 4	檢品溶液 6 (NY)
5, 6	檢品溶液 7 (CA-2)
7, 8	檢品溶液 8 (SA)
9, 10	檢品溶液 9 (SU-1)
11, 12	檢品溶液 10 (SU-2)
13	Spike (檢品溶液 8)

結論與建議：以修飾香港中藥材標準第三冊之【萃取方法 3】方式，並以臺灣中藥典第二版 2013 之【展開劑 1】分離與檢出葛根素即可，於紫外光(365 nm)下檢視較佳。

葛根(飲片)

六、十批葛根飲片樣品檢測

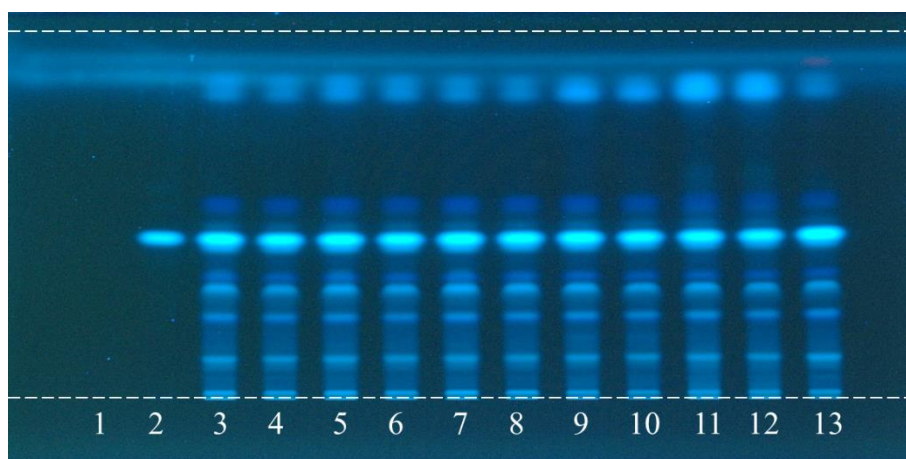
實驗日期：107/04/30

相對溼度(RH)：60%

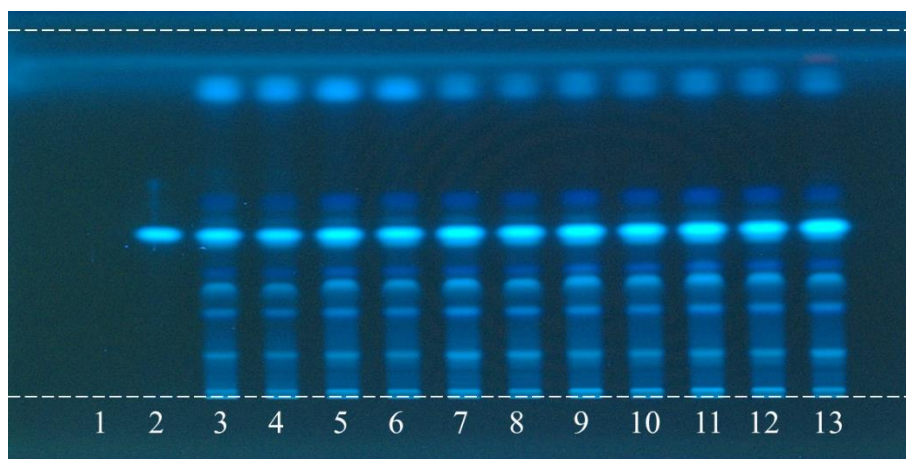
溫度(RT)：26 °C

【展開劑 1】 (臺灣中藥典第二版 2013)——乙酸乙酯：甲醇：水 (12：2：1)

【萃取方法 3】 (修飾香港中藥材標準第三冊) — HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	葛根素(0.2 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 1 (NCA)
5 , 6	檢品溶液 2 (NDA)
7 , 8	檢品溶液 3 (NFA)
9 , 10	檢品溶液 4 (NIA)
11 , 12	檢品溶液 5 (CAA)
13	Spike (檢品溶液 8)



1	Blank
2	葛根素(0.2 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 6 (CAB)
5 , 6	檢品溶液 7 (SAA)
7 , 8	檢品溶液 8 (SGA)
9 , 10	檢品溶液 9 (SGB)
11 , 12	檢品溶液 10 (SUA)
13	Spike (檢品溶液 8)

結論與建議：飲片鑑別同藥材。