

漏蘆

(RHAPONTICI RADIX)

漏蘆 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).....	3

漏蘆 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

漏蘆 TLC

一、方法.....	23
二、萃法選擇及濃度測試.....	24
三、溶媒系統選擇.....	25
四、觀察方式選擇.....	26
五、十批樣品檢測.....	27

漏蘆

(RHAPONTICI 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祈州漏蘆的乾燥根。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：漏蘆

生藥名：RHAPONTICI RADIX

英文名：Uniflowers Swisscentaury Root

基原：菊科 Compositae 植物祈州漏蘆 *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC. 的乾燥根。

採收加工：春，秋季採挖，除去殘莖及鬚根，洗淨泥土，潤透，切厚片，曬乾，置通風乾燥處。

藥材性狀：本藥材為祈州漏蘆的乾燥根。根呈圓錐形或扁塊狀，有的稍扭曲或扁壓，長短不一，通常不分枝，直徑 1~2.5 cm。表面暗棕色、灰褐色或黑褐色，粗糙，具不規則縱形溝紋及菱形的網狀裂隙。外層易剝落，根頭部膨大，有少數殘莖及鱗片狀葉基，頂端有灰白色絨毛。質輕而脆，易折斷，折斷時皮部常與木部脫離，斷面不整齊，有灰黃色菊花紋及裂隙，皮部色澤較深，木部黃白色，呈放射狀排列，木射線多破裂，中心有的因朽蝕呈星狀裂隙，灰黑色或深棕色。氣特異，味微苦。

生長分佈：多年生草本植物，高 30~100 cm。花期 5~7 月，果期 6~8 月。生於林緣、乾燥山坡、草叢向陽處。分佈黑龍江、吉林、遼寧、河北、河南、山西、內蒙古、江蘇、湖北等地。主產河北、遼寧、山西。

三、藥材組織顯微鑑別(圖 2)

1. 表皮常已脫落，後生皮層為數層至 20 多層棕色細胞，壁稍厚，木化及木栓化，細根中可見有長圓形樹脂道排列略呈環狀。
2. 在內皮附近，散生由 6~10 個分泌細胞所圍成之分泌腔，內含有棕褐色內容物。
3. 韌皮部較寬廣，髓線寬，韌皮束及髓線中有多數油室散在。
4. 形成層成環，明顯，呈扁平形，由數層柔細胞組成。
5. 木質部寬闊，具明顯大小不一之裂隙。

6. 導管較多，呈多股性排列，大型導管群常與小型導管群相間排列，有時小型導管群將大型導管群分隔成數段。
7. 木髓線明顯，常有徑向裂隙，中央有時呈星狀裂隙，其周圍的細胞壁木栓化。
8. 薄壁組織中有油室分布，油室周圍的分泌細胞含黃棕色分泌物。

四、藥材粉末顯微鑑別(圖 3)

1. 本品粉末棕色。
2. 後生皮層細胞類方形或長方形，壁稍厚，紅棕色，木化及木栓化。
3. 石細胞單個散生或成群，呈長稜形，末端尖銳、圓鈍或尖鈍，具明顯孔溝及孔紋，徑 40~50 μm ，長 200~350 μm 或更長。偏光顯微鏡下呈紫白色。
4. 網紋導管和有緣紋孔導管較多。
5. 根頭部非腺毛細胞甚長，木化，長 0.5~4 mm，直徑 10~25 μm 。偏光顯微鏡下呈亮白色。
6. 分泌管長條狀，直徑 30~50 μm ，內含紅棕色分泌物。

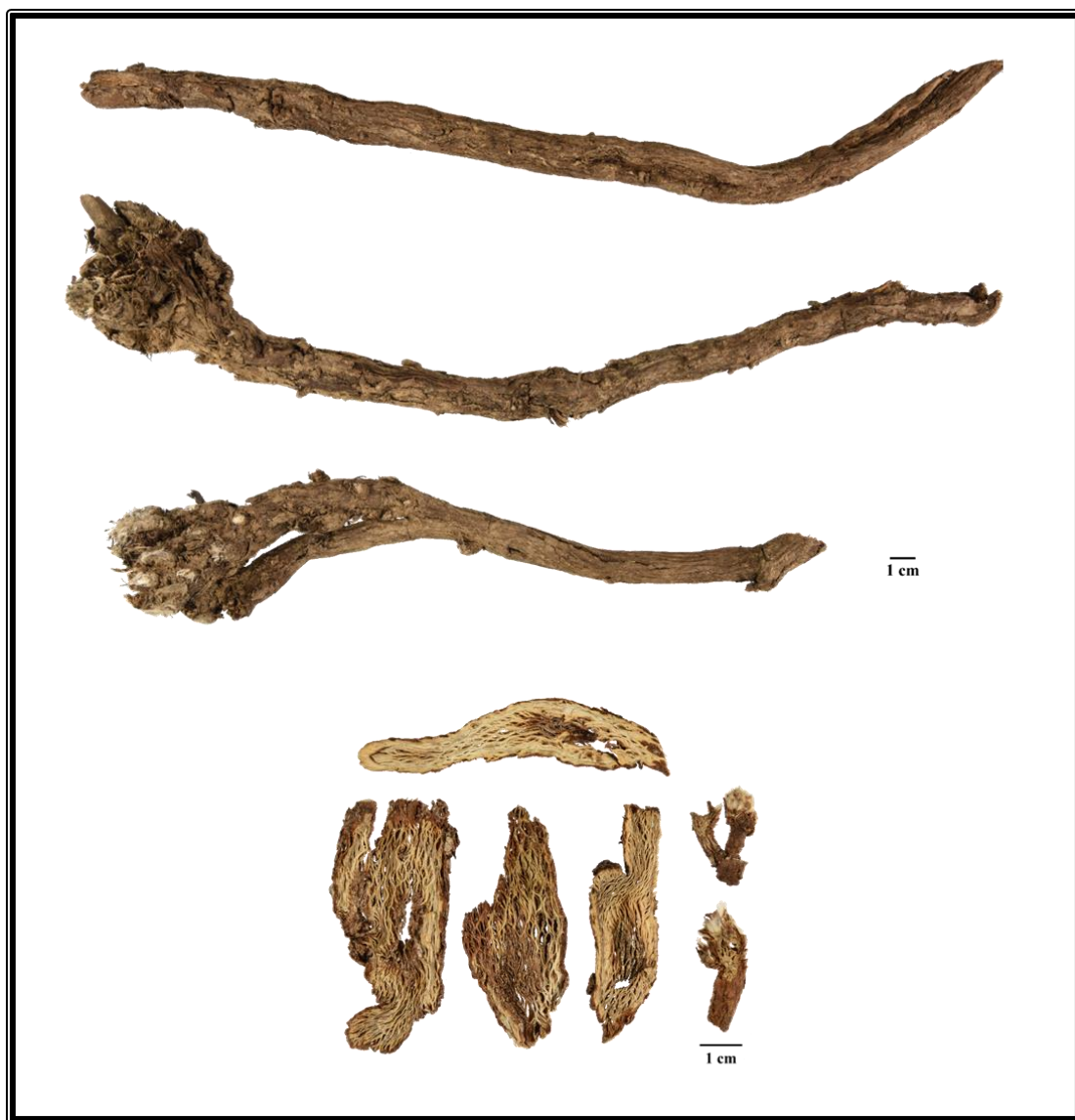


圖 1 漏蘆藥材圖

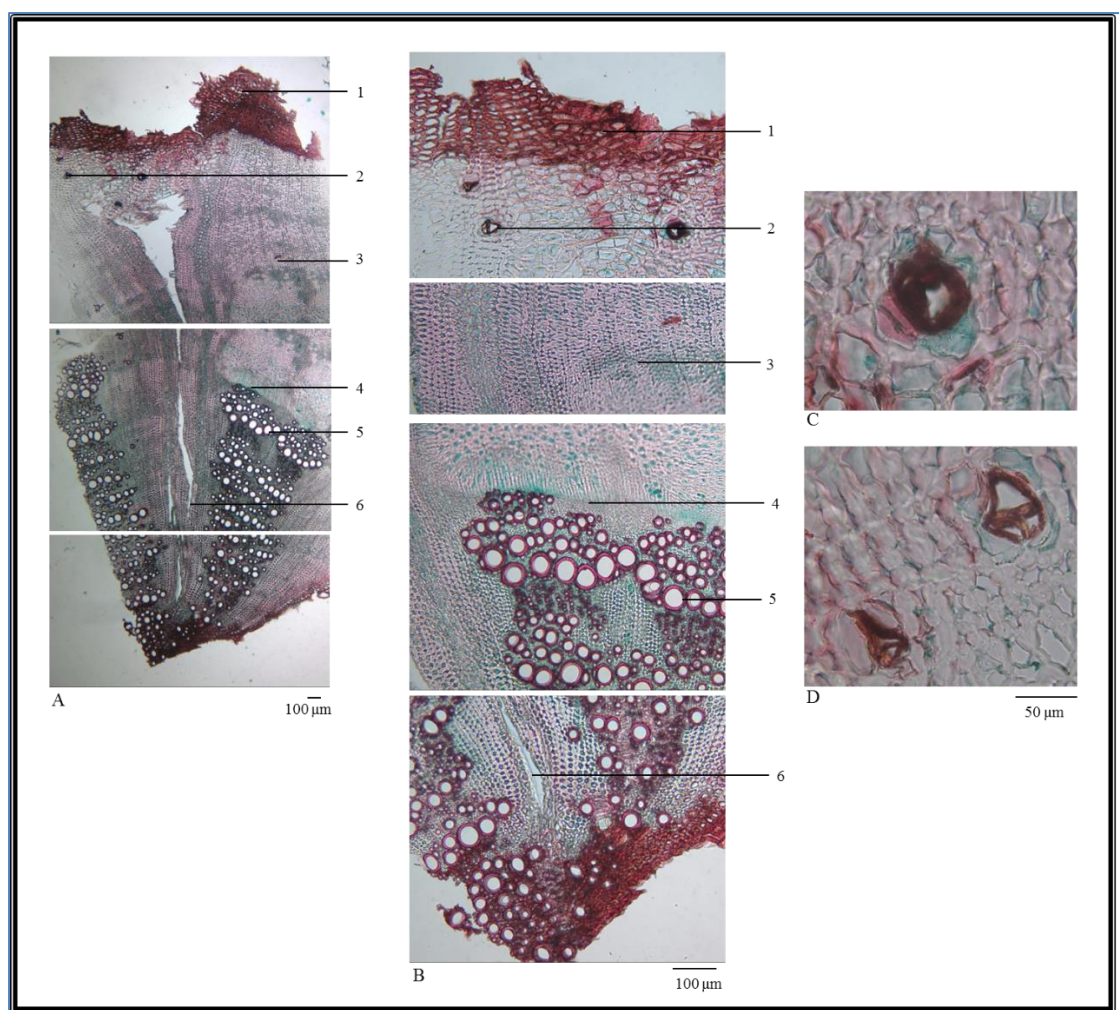


圖 2 漏蘆橫切面顯微特徵圖

A.橫切面圖 B.橫切面放大圖 C.油室 D.分泌管

1.後生皮層 2.分泌腔 3.韌皮部 4.形成層 5.木質部 6.裂隙

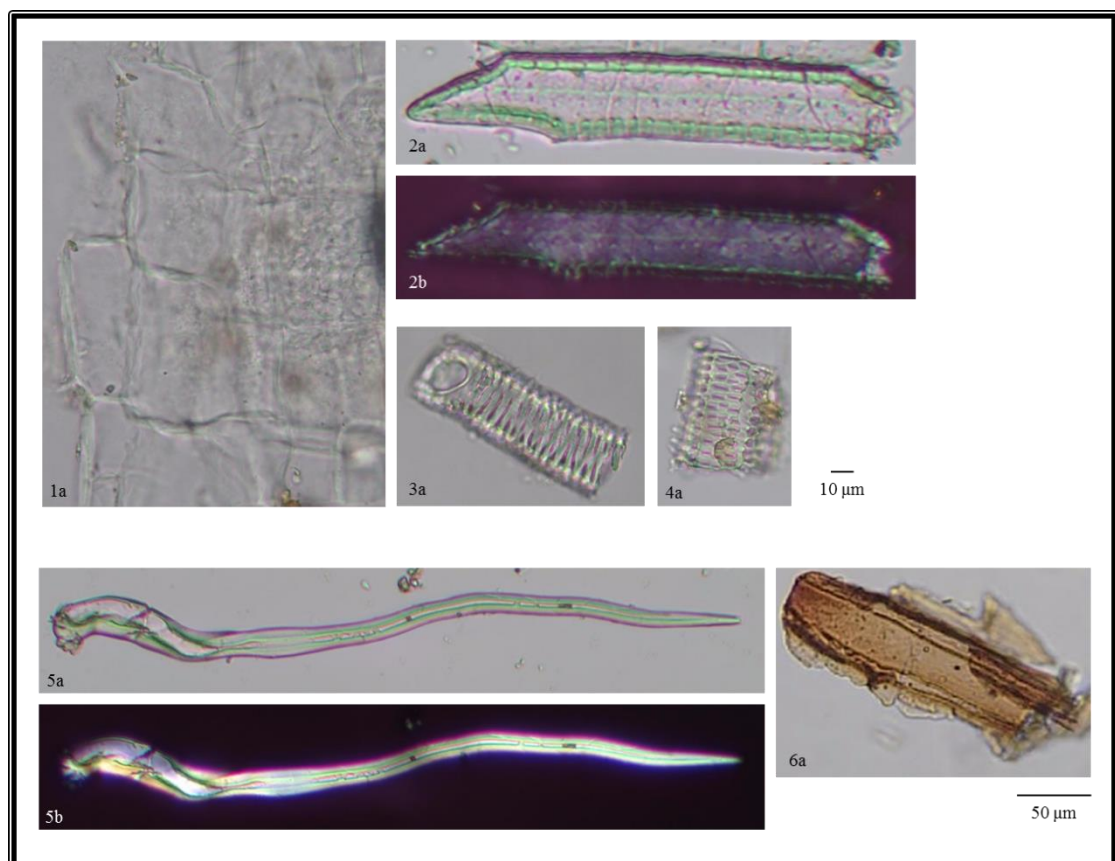


圖 3 漏蘆粉末顯微特徵圖

a.光學顯微鏡下特徵 b.偏光顯微鏡下特徵

- 1.後生皮層細胞(木栓化) 2.石細胞 3.網紋導管 4.有緣紋孔導管
5.非腺毛 6.分泌管

漏蘆(Rhapontici Radix)

一、材料

購自於台灣各地中藥店漏蘆藥材共 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)、Quat Pump (G1311A)、DAD (G1315B)、Autosampler (G1329A)、Column Oven H-650 (Chrom Tech, TNC.)；層析管柱 Cosmosil 5C18-AR-II 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、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%)購自於默克股份有限公司；乙醇(95%)購自於國詔實業有限公司。

(二) 標準品

標準品 β-蛻皮甾酮(β-Ecdysterone)購自於昇漢科技有限公司，純度 98% 以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒開發

取本品粉末八份，每份精確稱定 1.0 g，置 50 mL 三角錐形瓶中，精確加入甲醇、75% 甲醇、50% 甲醇、30% 甲醇、95% 乙醇、75% 乙醇、50% 乙醇、30% 乙醇各 25 mL，超音波震盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，另取本品粉末一份，精確稱定 1.0 g，置 50 mL 圓底瓶中，加入 30% 甲醇 25 mL，加熱回流 1 小時，冷卻後以 No.1 濾紙過濾至 25 mL 之定量瓶中，加入溶媒至刻度，取濾液搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 μm)，即得。每針 10 μL 注入 HPLC，以所測得每克重量之標準品 β-蛻皮甾酮(β-Ecdysterone) 最大波峰面積為最佳漏蘆萃取溶媒。

(二) 最佳萃取次數評估

取本品粉末約 1.0 g (過第 20 號篩網)，精確稱定，置 50 mL 三角錐形瓶中，精確加入 30% 乙醇 15 mL，超音波震盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，冷卻後以 No.1 濾紙過濾至 25 mL 之定量瓶中，加 30% 乙醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 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

取標準品 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)精確稱定 4.0 mg，加甲醇定體積至 10 mL 製成每 1 mL 含 400 μ g β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)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

取本品粉末(過第 20 號篩網)約 1.0 g，精確稱定，置 50 mL 三角錐形瓶中，加入 30%乙醇 15 mL，超音波震盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘；重複提取 2 次，合併萃取液，以 No.1 濾紙過濾至 50 mL 之定量瓶，加 30%乙醇至刻度，搖勻再經微孔濾膜(Syringe filter, PTFE 0.45 μ m)，即得。

(五) 測定法

分別精確吸取標準品溶液、檢品溶液各 10 μ L 注入 HPLC，測定，用標準曲線計算溶液中 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)的含量，即得。

(六) 檢量線

精確吸取 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)標準品儲備溶液適量(400 μ g/mL)，以甲醇稀釋製成含 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)分別為 200、100、40、20、10、4.0、2.0 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) 精確度試驗

以 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)濃度為 20 μ g/mL 之對照標準品溶液連續進樣五針，以 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 再現性與穩定性試驗

1. 再現性：取同一批市售漏蘆粉末，依漏蘆檢品溶液製備方法平行製備五份漏蘆檢品溶液，進樣測定，以 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售漏蘆粉末，依漏蘆檢品溶液製備方法製備漏蘆檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)的含量為指標，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 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)含量的漏蘆材料粉末約 0.5 g, 精確稱定五份, 分別加入 1 mL 的 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)標準品(590 $\mu\text{g/mL}$), 並按檢品溶液製備方法製備, 每次取 10 μL 注入 HPLC, 每個檢測品進行三重複。

(十一) HPLC 分析條件

1. 層析管: Cosmosil 5C18-AR-II Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長: UV 247 nm
3. 流速: 1.0 mL/min
4. 管柱溫度: 30 $^{\circ}\text{C}$
5. 注入量: 10 μL
6. 移動相:

時間(min)	甲醇(%)	水(%)
0	30	70
10	30	70
30	50	50
40	100	0

(十二) 臺灣市售漏蘆含量測定

取十批市售漏蘆藥材依檢品溶液製備方法製備檢品溶液, 取各 10 μL 連續三針注入 HPLC, 所得平均波峰面積依附錄 I 公式計算樣品 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)的百分含量。

(十三) UPLC 層析條件

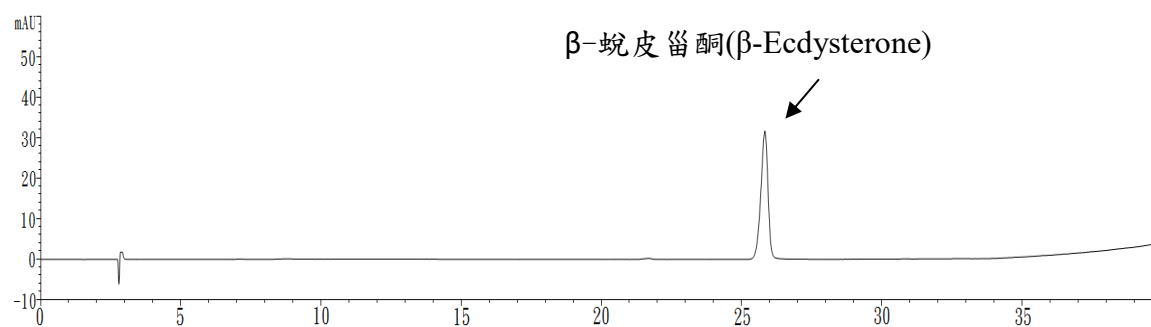
1. 層析管：Waters Acquity UPLC BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μ m)
2. 檢測波長：247 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 $^{\circ}$ C
5. 注入量：1 μ L
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	水(%)
0	30	70
3	30	70
8	50	50

五、結果

(一) 標準品 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)之 HPLC 層析

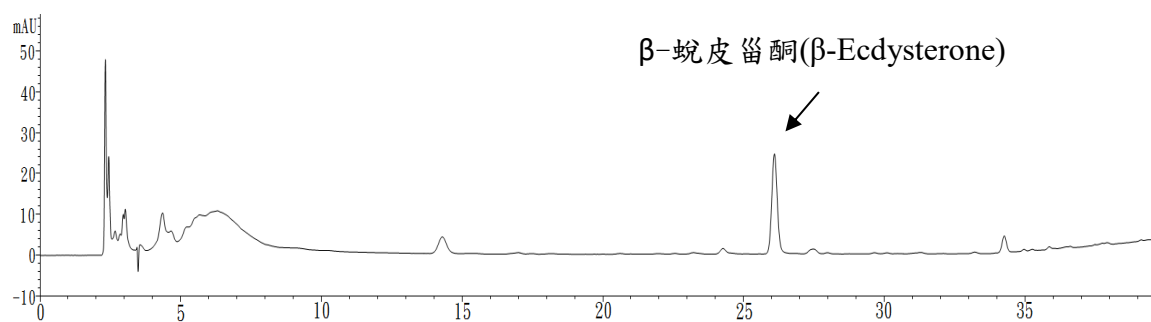
於滯留時間 25.8 分鐘處顯示 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)標準品波峰(圖一)。



圖一、 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售漏蘆檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 25.9 分鐘處顯示漏蘆檢品中 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)波峰(圖二)。分離率為 $R=5.2$ ，托尾因子為 $T=1.06$ ，均在系統適用性要求內。



圖二、市售漏蘆檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒開發

以 30%乙醇為溶媒時，每克藥材重量所得 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)的波峰面積最大，顯示 30%乙醇為最佳萃取溶媒。(大陸藥典使用 30%甲醇，加熱回流 1 小時)

表一、不同溶媒萃取比較

溶媒	波峰面積	最佳萃取
甲醇	101.7	
75% 甲醇	301.8	
50% 甲醇	372.3	
30% 甲醇	336.8	
乙醇	62.5	
75% 乙醇	321.9	
50% 乙醇	390.4	
30% 乙醇	414.1	√
30% 甲醇加熱回流	404.7	

(四) 最佳萃取次數評估

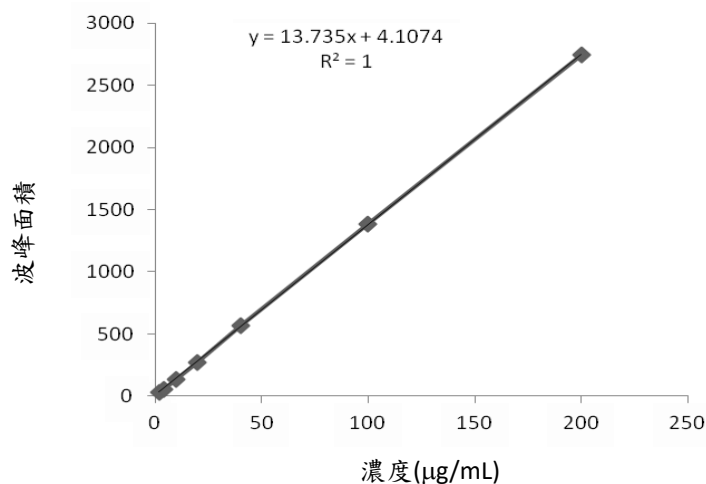
結果顯示萃取次數需達三次，才能將 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)萃取完全(>98%)。

表二、漏蘆檢品萃取次數評估

30%乙醇萃取次數	β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)波峰面積
第一次	232.9
第二次	108.5
第三次	30.6
第四次	N.D.

(五) 標準品 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)檢量線

經不同濃度 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone) (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 $y = 13.735x + 4.1074$ ， $R^2 = 1$ ，顯示濃度在 2.0–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)之檢量線圖

表三、 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)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
β -蛻皮甾酮 (β -Ecdysterone)	2.0–200	$y = 13.735x + 4.1074$	1

(六) 精確度與再現性試驗

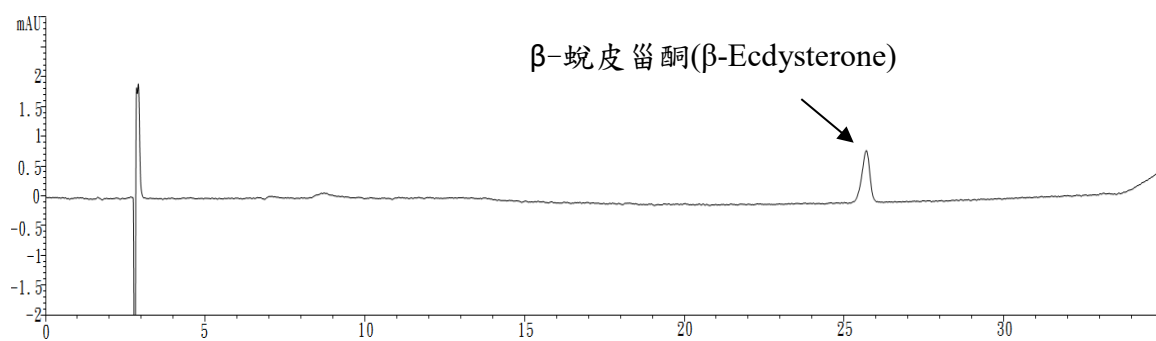
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精確度良好， β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)精密度之相對標準差為 0.15%，再現性之相對標準差為 1.64%，均在系統適用性要求內。

(七) 穩定性試驗

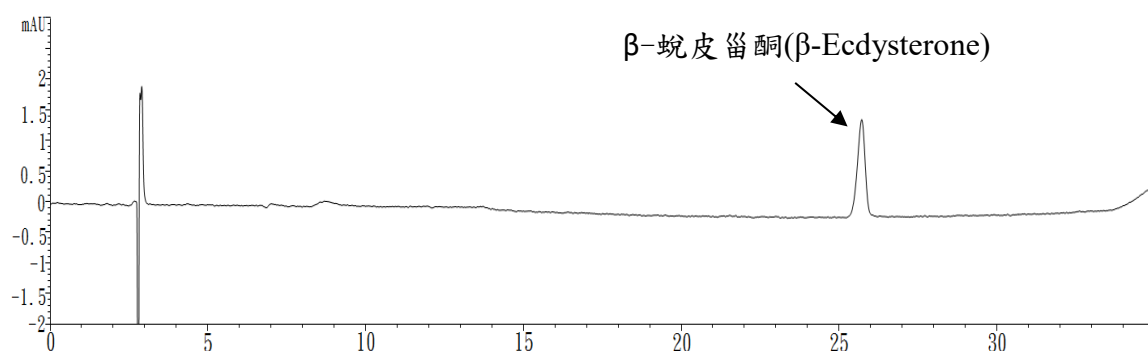
由結果可以得知， β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)在 24 小時內穩定，相對標準差為 0.17%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)偵測極限(Limit of Detection, LOD)為 1.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限(Limit of Quantitation, LOQ)為 2.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、β-蛻皮甯酮(β-Ecdysterone)之 LOD 層析圖



圖五、β-蛻皮甯酮(β-Ecdysterone)之 LOQ 層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	β-蛻皮甯酮(β-Ecdysterone)	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	20 µg/mL	0.15
再現性 (n=5)	檢品溶液 (No.4)	1.64
穩定性 (n=6)	檢品溶液 (No.4)	0.17
偵測極限 (n=1)	1.0 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	2.0 µg/mL	-

(九) 回收率試驗

β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)平均回收率 90.4%，相對標準偏差 1.20%。

表五、 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)添加回收率試驗

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	0.500	0.550	0.590	1.077	89.32	90.41	1.20
2	0.501	0.550	0.590	1.077	89.32		
3	0.501	0.550	0.590	1.090	91.53		
4	0.500	0.550	0.590	1.081	90.00		
5	0.500	0.550	0.590	1.092	91.86		

(十) 臺灣市售漏蘆中 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)含量測定

10 批漏蘆藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示， β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)的含量為 0.100–0.162%。建議漏蘆藥材指標成分 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)的含量不得少於 0.08%。理論板數按 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)波峰計算應不低於 10000 (實際值為 80000)。

表六、臺灣市售漏蘆檢品之 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)含量

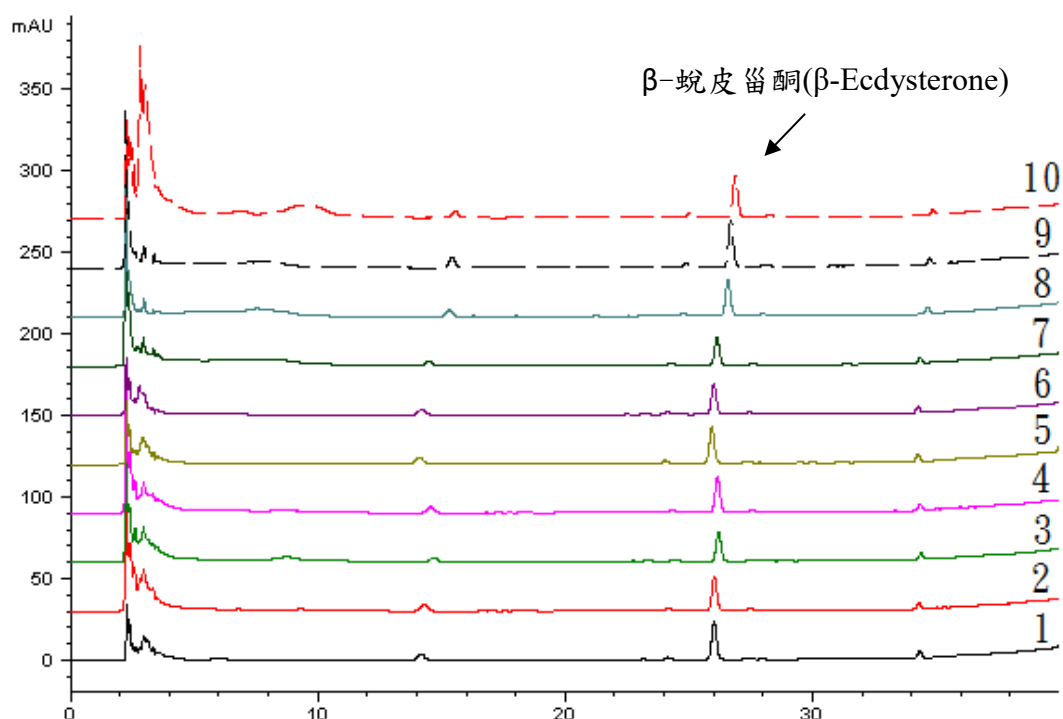
中藥店編號 (No.)	β -蛻皮甾酮 (β -Ecdysterone) 含量(%)	中藥店編號 (No.)	β -蛻皮甾酮 (β -Ecdysterone) 含量(%)
1 (NB)	0.130	6 (NR)	0.107
2 (NC)	0.122	7 (SE)	0.100
3 (NF)	0.105	8 (SU)	0.134
4 (NI)	0.127	9 (CA-2)	0.162
5 (NJ)	0.123	10 (CG)	0.144

(十一) 市售漏蘆藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取十批市售漏蘆檢品溶液各 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 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 247 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：30 $^{\circ}$ C
5. 注入量：10 μ L
6. 移動相：

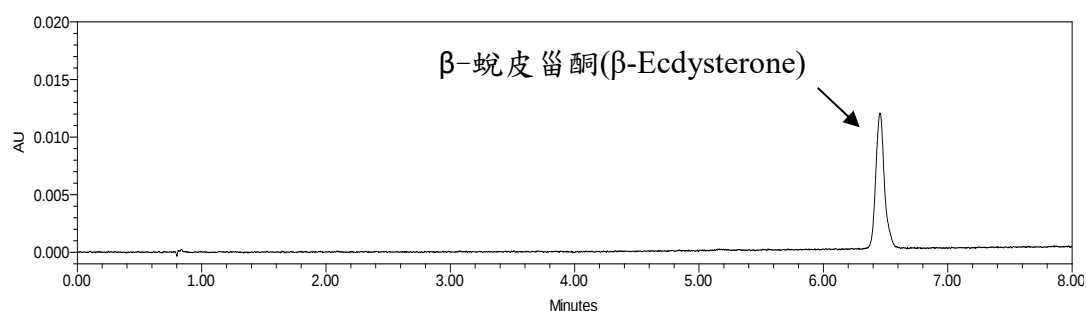
時間(min)	甲醇(%)	水(%)
0	30	70
10	30	70
30	50	50
40	100	0



圖六、10 批漏蘆藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 標準品 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)之 UPLC 層析

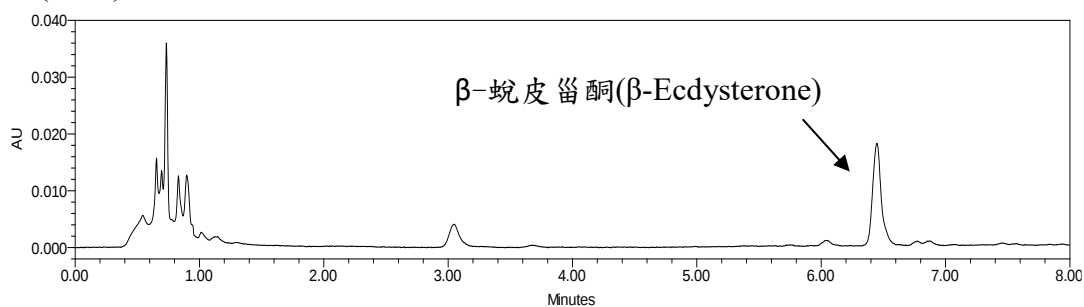
於滯留時間 6.45 分鐘處顯示 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)標準品的波峰(圖七)。



圖七、 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售漏蘆檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 6.44 分鐘處顯示漏蘆檢品中 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)的波峰(圖八)。

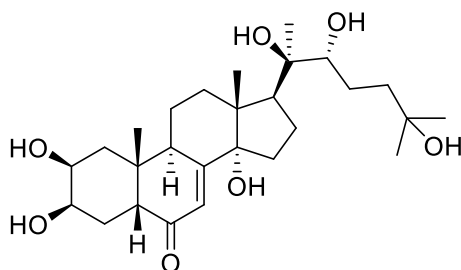


圖八、市售漏蘆檢品之 UPLC 層析圖

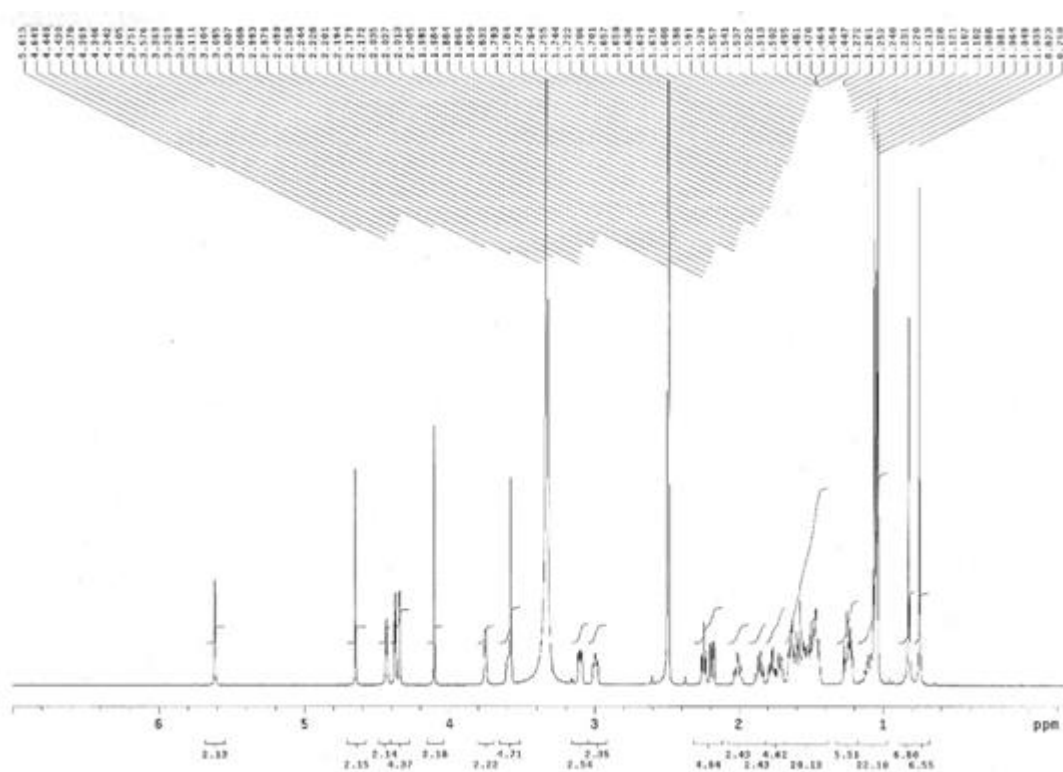
(十四) β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{27}H_{44}O_7$ ；Mol. Wt.：480.6；mp：168–169 °C；白色固體。

(十五) β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)的結構

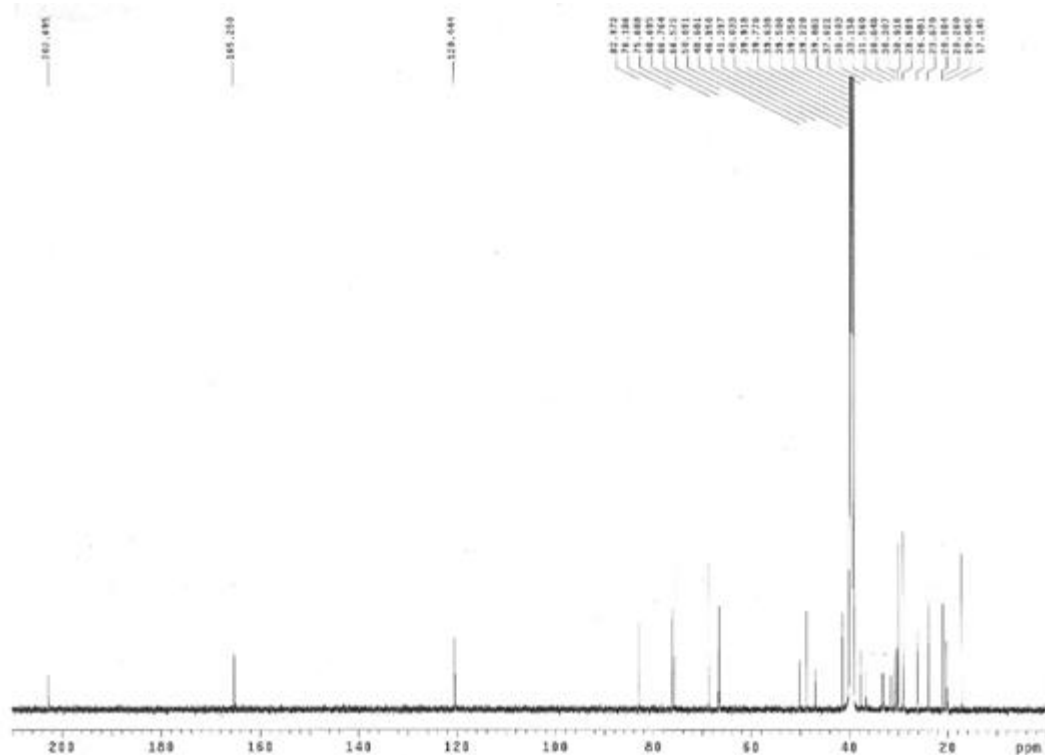


(十六) β -蜕皮甾酮(β -Ecdysterone)的 ^1H NMR 圖譜



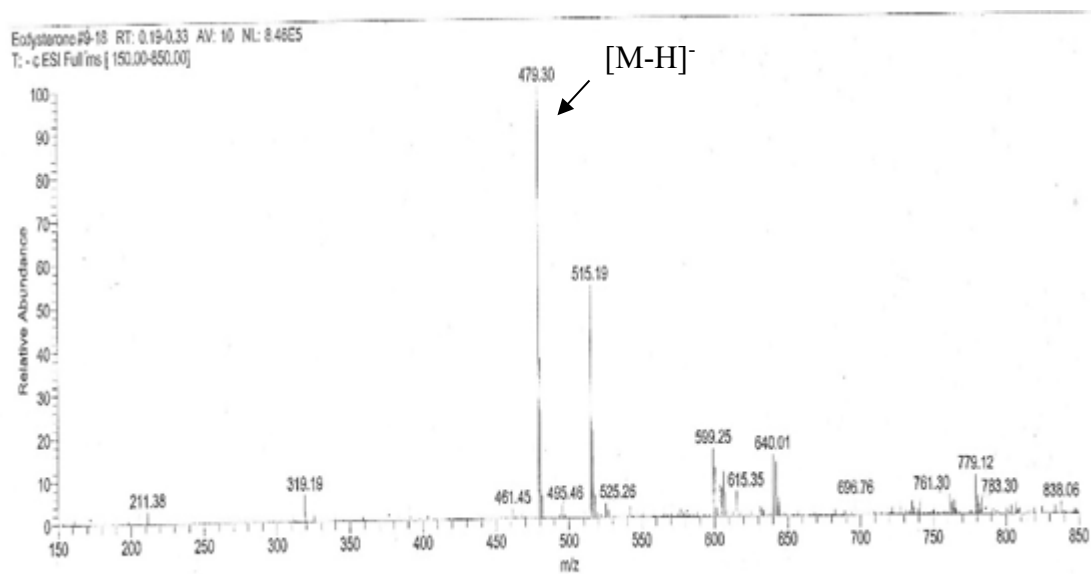
圖九、 β -蜕皮甾酮(β -Ecdysterone)的 ^1H NMR 圖譜($\text{DMSO}-d_6$)

(十七) β -蜕皮甾酮(β -Ecdysterone)的 ^{13}C NMR 圖譜



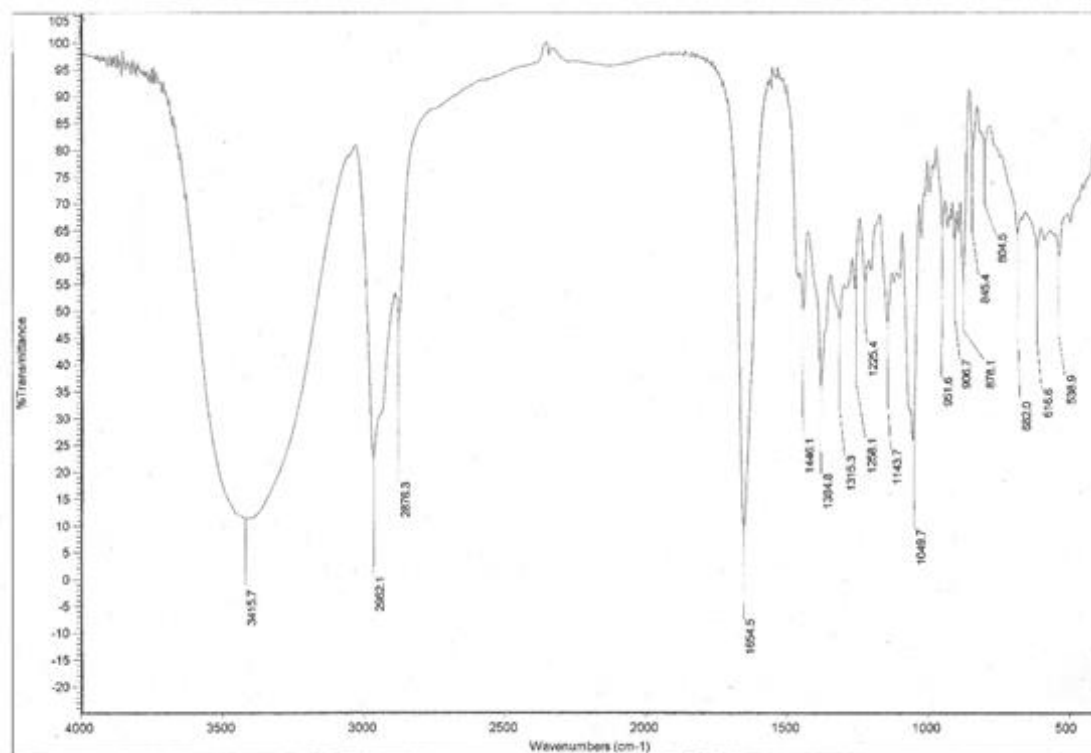
圖十、 β -蜕皮甾酮(β -Ecdysterone)的 ^{13}C NMR 圖譜($\text{DMSO}-d_6$)

(十八) β -蜕皮甾酮(β -Ecdysterone)的 ESI-MS 圖譜



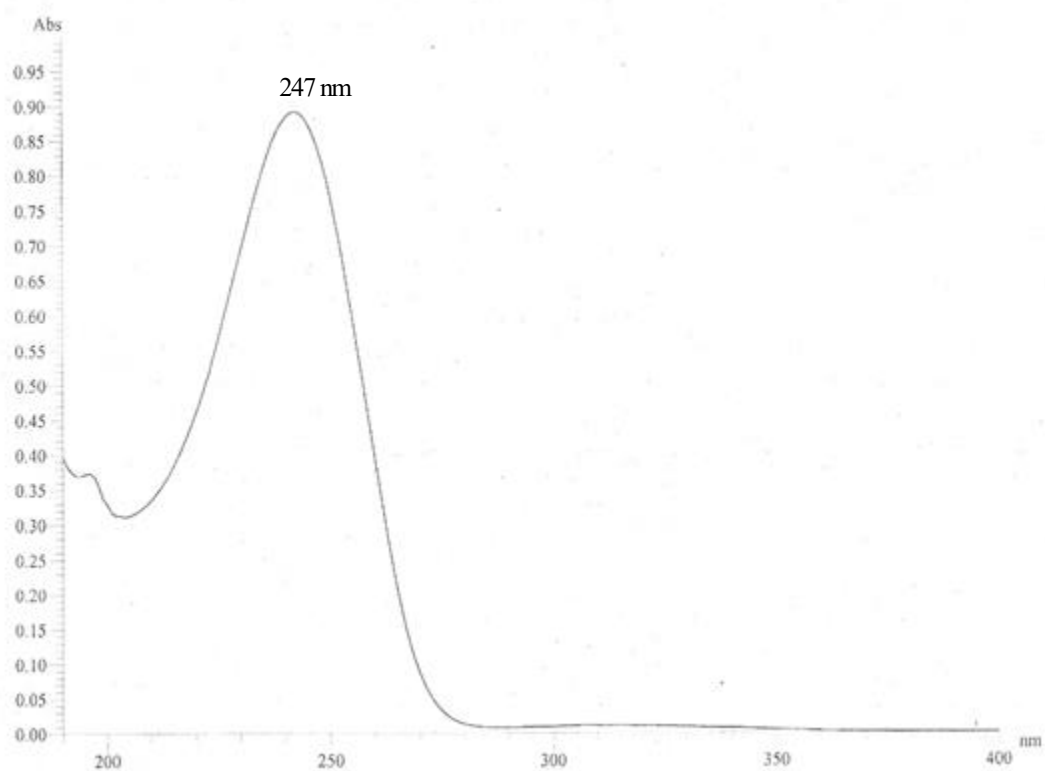
圖十一、 β -蜕皮甾酮(β -Ecdysterone)的 ESI-MS 圖譜

(十九) β -蜕皮甾酮(β -Ecdysterone)的 FTIR 圖譜



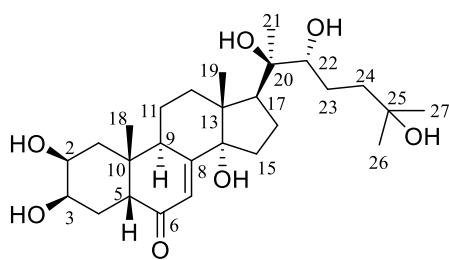
圖十二、 β -蜕皮甾酮(β -Ecdysterone)的 FTIR 圖譜

(二十) β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)的 UV 圖譜



圖十三、 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)的 UV 圖譜

(二十一) β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)的氫、碳化學位移



β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)

表七、 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)的氫、碳化學位移(DMSO- d_6)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	1.26 (m), 1.57 (m)	36.6
2	3.58 (m)	66.8
3	3.75 (br s)	66.6
4	1.45 (m), 1.56 (m)	31.6
5	2.18 (dd, 4.2, 13.2)	50.1
6	-	202.7
7	5.61 (s)	120.4
8	-	165.3
9	2.99 (t, 8.4)	33.2
10	-	37.6
11	1.22 (m), 1.64 (m)	41.4
12	1.72 (m), 2.01 (m)	30.8
13	-	46.9
14	-	83.0
15	1.48 (m), 1.64 (m)	20.1
16	1.52 (m), 1.86 (m)	20.3
17	2.24 (t, 9.6)	48.7
18	0.82 (s)	23.9
19	0.75 (s)	17.1
20	-	75.7
21	1.05 (s)	21.0
22	3.10 (m)	76.2
23	1.11 (m), 1.45 (m)	26.1
24	1.47 (m), 1.77 (m)	30.3
25	-	68.7
26	1.04 (s)	29.0*
27	1.06 (s)	30.0*

2-OH	4.43 (d, 6.0)	-
3-OH	4.34 (d, 2.4)	-
22-OH	4.37 (d, 5.4)	-

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

漏蘆

生藥名：RHAPONTICI RADIX

英文名：Uniflower Swisscentaury Root

基 原：菊科 Compositae 植物祈州漏蘆 *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC. 的乾燥根。

一、方法

(一) 檢 品 溶 液 【萃取方法 1】(臺灣中藥典第二版 2013；修飾中華人民共和國藥典 2015)

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

【萃取方法 2】(自行開發)

——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 10 mL，超音波處理 30 分鐘，過濾，取濾液作為檢品溶液。

【萃取方法 3】(自行開發) ✓

——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 10 mL，超音波處理 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 溶 液 取 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)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】(修飾臺灣中藥典第二版 2013；修飾中華人民共和國藥典 2015)

——正己烷：丙酮 (4：1)

【展開劑 2】(自行開發) ✓

——乙酸乙酯：甲醇 (4：1)

(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。

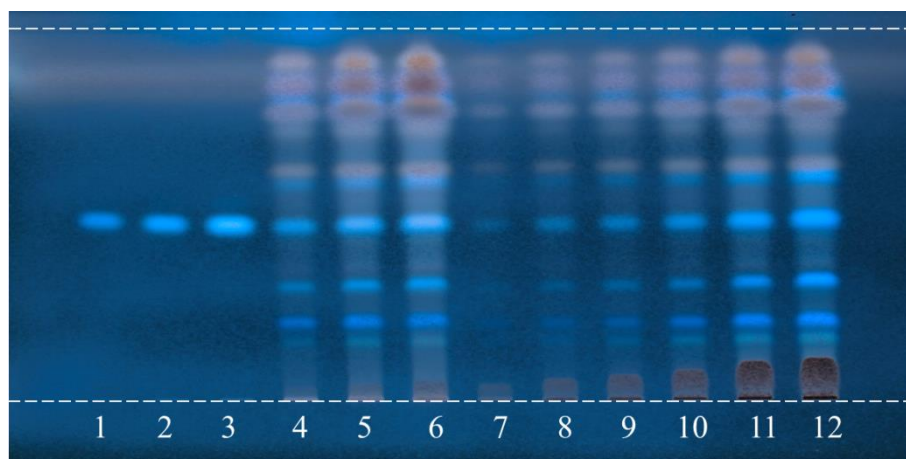
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：106/03/03

相對溼度(RH)：33%

溫度(RT)：23 °C

【展開劑 2】 (自行開發)——乙酸乙酯：甲醇 (4：1)



編號	名稱	點注量
1, 2, 3	β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone) (0.2 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
4, 5, 6	檢品溶液 2 【萃取方法 1】	2, 5, 8 μ L
7, 8, 9	檢品溶液 2 【萃取方法 2】	2, 5, 8 μ L
10, 11, 12	檢品溶液 2 【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 β -蛻皮甾酮，而由於指標成分條帶顯示較清楚，且所使用之萃取溶劑量也較低，故選擇【萃取方法 3】。
建議點注量： β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)標準品溶液 1 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：106/03/06

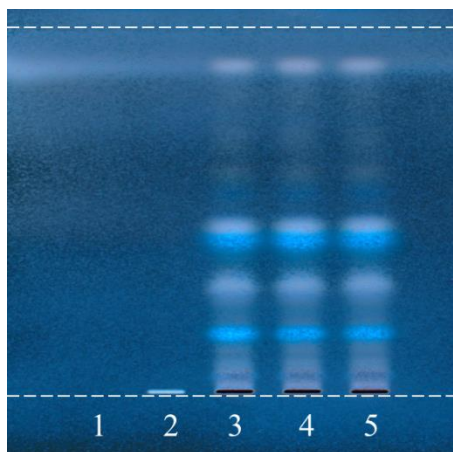
相對溼度(RH)：55%

溫度(RT)：20 °C

【展開劑 1】 (修飾臺灣中藥典第二版 2013；修飾中華人民共和國藥典 2015)

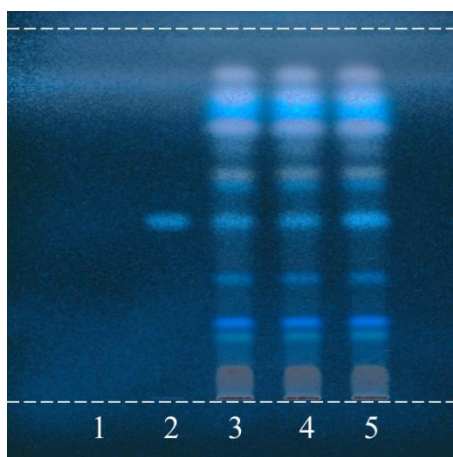
——正己烷：丙酮 (4：1)

【萃取方法 3】 (自行開發) —— HPTLC 10%硫酸乙醇呈色後紫外光(365 nm)檢出(β -蛻皮甯酮 R_f 值為 0)



【展開劑 2】 (自行開發) ——乙酸乙酯：甲醇 (4：1)

【萃取方法 3】 (自行開發) —— HPTLC 10%硫酸乙醇呈色後紫外光(365 nm)檢出(β -蛻皮甯酮 R_f 值為 0.48)



1：Blank

2： β -蛻皮甯酮(β -Ecdysterone)

3，4：檢品溶液 2

5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 3】方式，唯【展開劑 2】展開可從檢品溶液中分離與檢出 β -蛻皮甯酮，故採用自行開發之【展開劑 2】。

四、觀察方式選擇

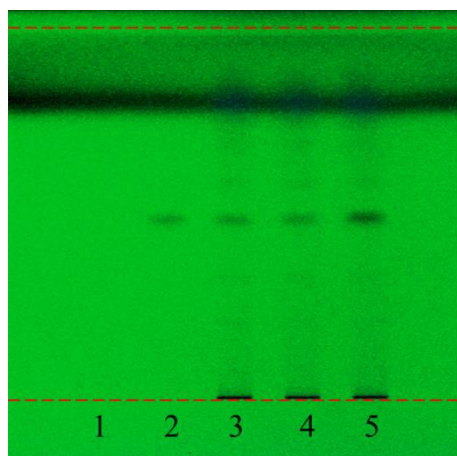
實驗日期：106/03/06

相對溼度(RH)：55%

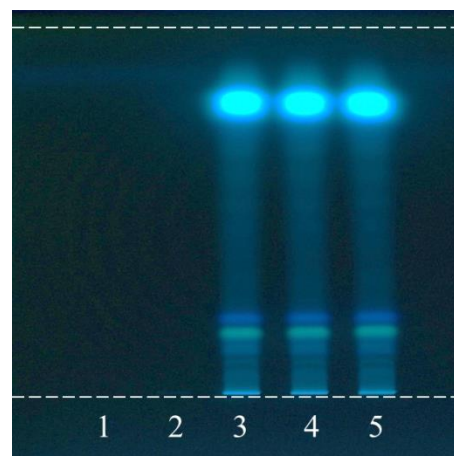
溫度(RT)：20 °C

【展開劑 2】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇 (4：1)

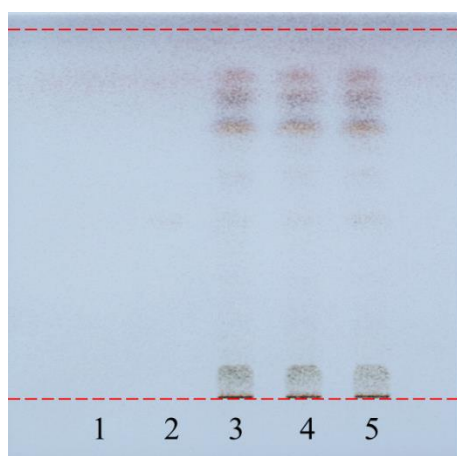
【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



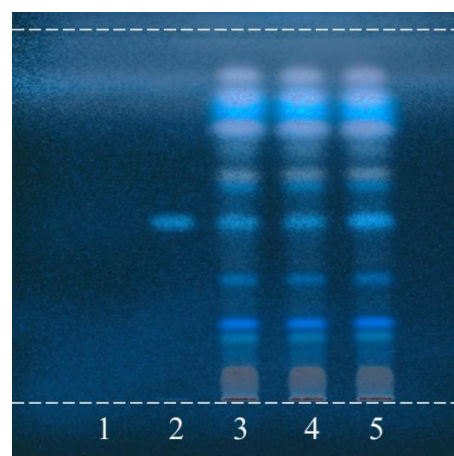
【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 呈色/可見光檢出



【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 呈色/紫外光(365 nm)檢出✓



1：Blank

2：β-蛻皮甾酮(β-Ecdysterone)

3，4：檢品溶液 2

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較多明顯之條帶及 β-蛻皮甾酮(β-Ecdysterone)標準品斑點。

五、十批樣品檢測

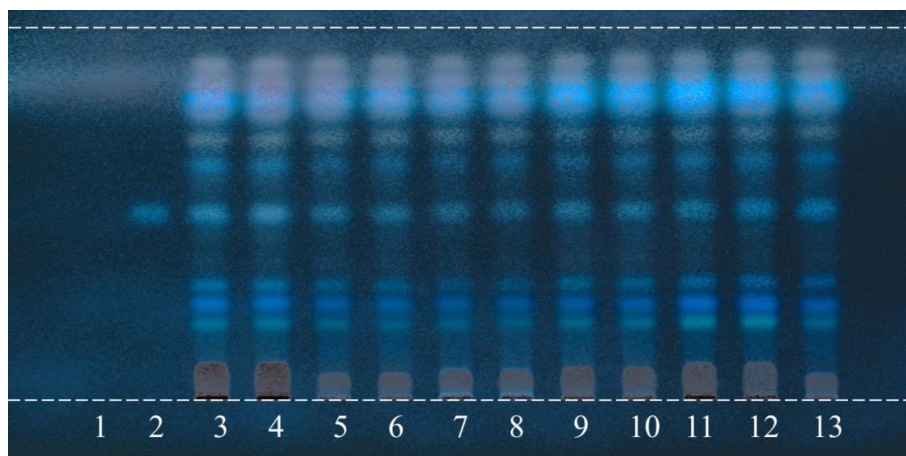
實驗日期：106/03/06

相對溼度(RH)：55%

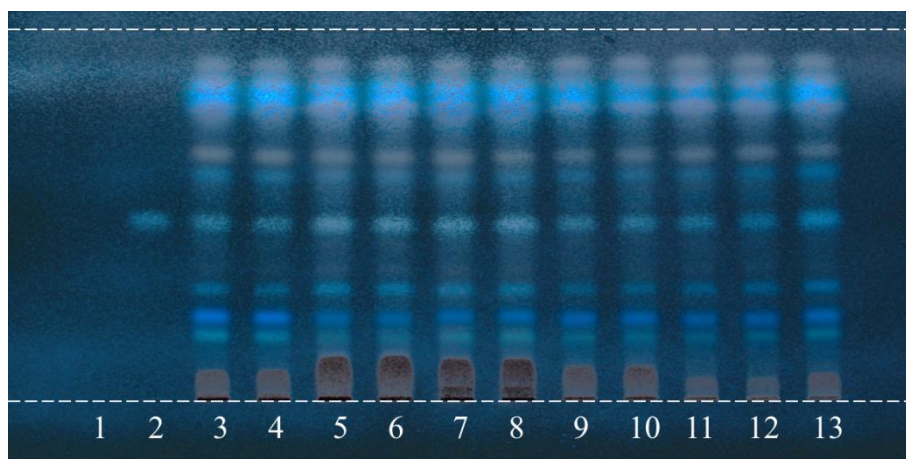
溫度(RT)：20 °C

【展開劑 2】 (自行開發)——乙酸乙酯：甲醇 (4：1)

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



1	Blank
2	β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone) (0.2 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 1 (NB)
5 , 6	檢品溶液 2 (NC)
7 , 8	檢品溶液 3 (NF)
9 , 10	檢品溶液 4 (NI)
11 , 12	檢品溶液 5 (NJ)
13	Spike (檢品溶液 2)



1	Blank
2	β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone) (0.2 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 6 (NR)
5 , 6	檢品溶液 7 (CA-2)
7 , 8	檢品溶液 8 (CG)
9 , 10	檢品溶液 9 (SE)
11 , 12	檢品溶液 10 (SU)
13	Spike (檢品溶液 2)

結論與建議：以自行開發之【萃取方法 3】方式，並以自行開發之【展開劑 2】分離與檢出 β -蛻皮甾酮(β -Ecdysterone)較佳，並以 10%硫酸乙醇顯色後，於紫外光(365 nm)檢視較佳。