

# 紫花地丁

(VIOLAE HERBA)

## 紫花地丁 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.....      | 2 |
| 四、藥材粉末顯微鑑別(圖 4)..... | 3 |

## 紫花地丁 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 |

## 紫花地丁 TLC

|                  |    |
|------------------|----|
| 一、方法.....        | 21 |
| 二、萃法選擇及濃度測試..... | 22 |
| 三、溶媒系統選擇.....    | 23 |
| 四、觀察方式選擇.....    | 25 |
| 五、十批樣品檢測.....    | 26 |

# 紫花地丁

(VIOLAE HERBA)

## 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紫花地丁的乾燥全草。

## 二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：紫花地丁

生藥名：VIOLAE HERBA

英文名：Philippine Violet Herb

基原：堇菜科 Violaceae 植物紫花地丁 *Viola yedoensis* Makino 的乾燥全草。

採收加工：春秋二季採收，除去雜質，洗淨，切碎，乾燥使用。

藥材性狀：本藥材為紫花地丁的乾燥全草。藥材多皺縮成團。主根長圓錐形，淡黃棕色，直徑 0.1~0.3 cm，有細縱紋，質硬，易折斷，斷面平坦，白色粉性。葉基生，灰綠色，展平後呈披針形或卵狀披針形，長 1.5~5 cm，寬 1~2 cm，先端鈍，基部截形或微心形，邊緣具鈍鋸齒，兩面披毛；葉柄細長，上部具明顯狹翼。花莖纖細；花淡紫色，花瓣 5，花距細管狀。蒴果橢圓形，從基部 3 裂，種子多數。氣微，味微苦而稍黏。

生長分佈：多年生草本植物。花期 3~4 月。喜半陰的環境和濕潤的土壤，耐寒、耐旱，對土壤要求不嚴格。多生長於田埂或路旁。中國大部分地區均有分布，也分布在朝鮮、日本、俄羅斯等地。

## 三、藥材組織顯微鑑別

根的橫切面(圖 2)

1. 最外層為 4~6 層木栓細胞，細胞壁微木化。
2. 皮層廣闊，薄壁細胞類圓形。
3. 韌皮部可見散在的篩管群，髓線不明顯。
4. 形成層環狀，細胞扁平。
5. 木質部導管單個散在或數個成群排列，多角形或類圓形，壁木化。
6. 木纖維發達，排列在導管的周圍。
7. 薄壁細胞含有大量澱粉粒與草酸鈣簇晶，草酸鈣簇晶直徑 18~30  $\mu\text{m}$ 。

葉的橫切面(圖 3)

1. 上表皮細胞較大，切向延長，有串珠狀增厚，內壁黏液化，表面有明顯角質紋理。
2. 下表皮細胞較小，增厚現象不明顯，偶有黏液細胞，表面亦有角質紋理。
3. 上下表皮均有單細胞非腺毛，長 30~180  $\mu\text{m}$ ，直徑 20~32  $\mu\text{m}$ ，具角質短線紋。
4. 葉肉組織中可見草酸鈣簇晶，直徑 15~40  $\mu\text{m}$ 。
5. 柵欄細胞 2~3 列。
6. 海綿細胞類圓形，含草酸鈣簇晶，直徑 11~40  $\mu\text{m}$ 。

#### 四、藥材粉末顯微鑑別(圖 4)

1. 本品粉末灰綠色至棕綠色。
2. 上表皮細胞較大，表面觀呈類多角形，垂周壁連珠狀。
3. 下表皮細胞表面觀呈類多角形，垂周壁略彎曲；氣孔多數，不等式。
4. 非腺毛長 50~266  $\mu\text{m}$ ，直徑 11~40  $\mu\text{m}$ ，具角質短線紋。
5. 導管主要為階紋導管及螺旋紋導管。
6. 具草酸鈣簇晶。偏光顯微鏡下呈多彩狀。
7. 澱粉粒散在，單粒類圓形，直徑 1~20  $\mu\text{m}$ ，臍點明顯，點狀、裂縫狀、人字狀或星狀，層紋不明顯。偏光顯微鏡下呈黑十字狀。



圖 1 紫花地丁藥材圖

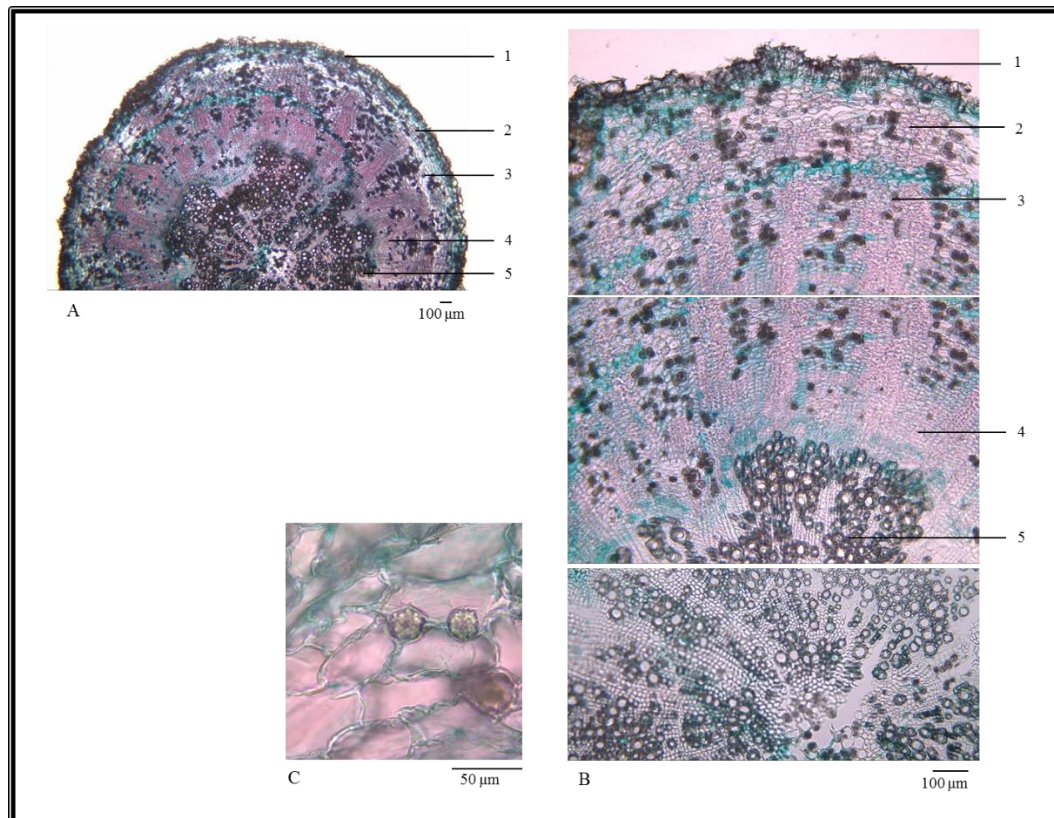


圖 2 紫花地丁的根橫切面顯微特徵圖

A.橫切面圖 B.橫切面放大圖 C.草酸鈣簇晶

1.木栓層 2.皮層 3.草酸鈣簇晶 4.韌皮部 5.木質部

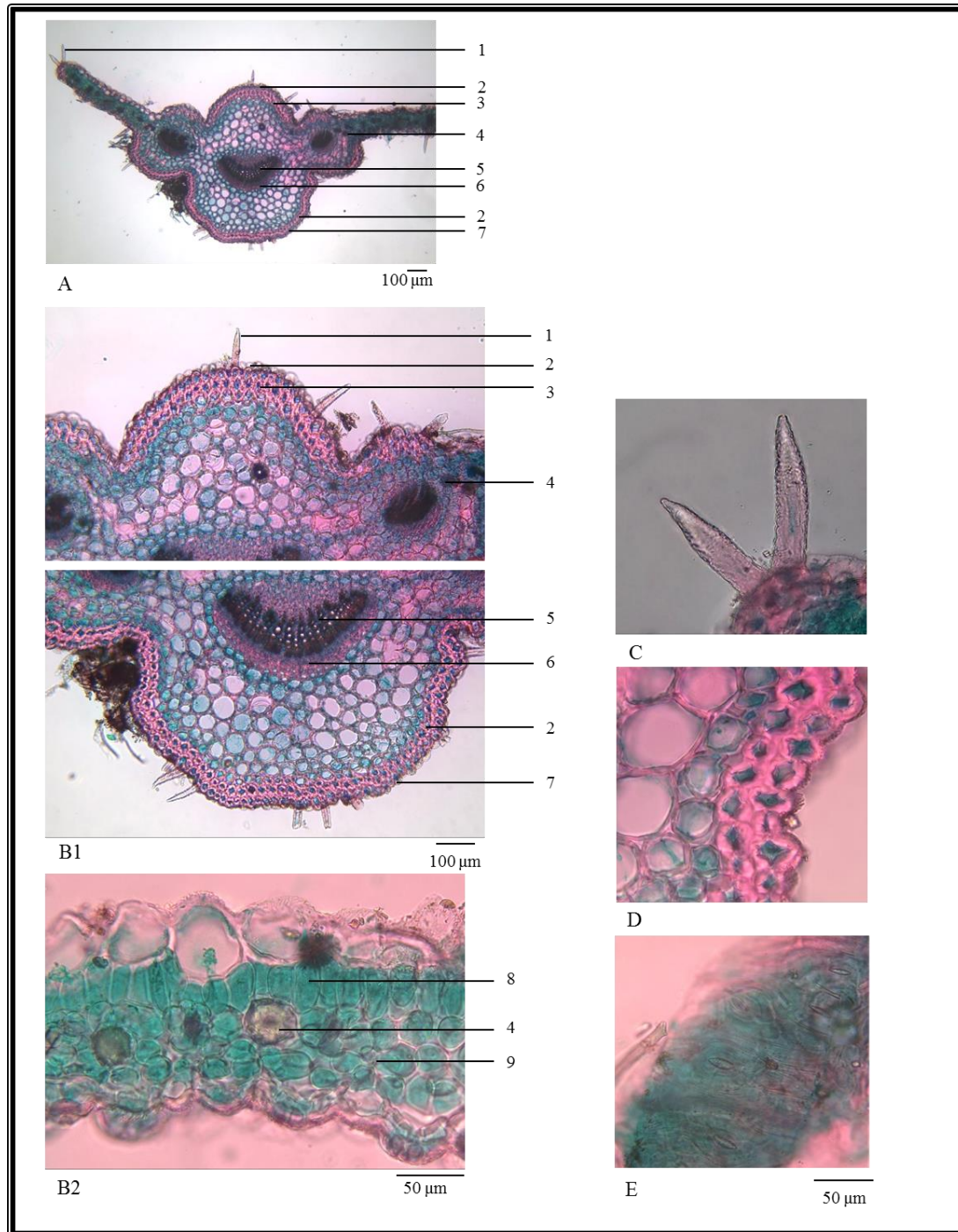


圖 3 紫花地丁的葉橫切面顯微特徵圖

A.橫切面圖 B1.葉橫切面放大圖 B2.葉柄橫切面放大圖

C.非腺毛 D.厚角組織 E.氣孔

1.非腺毛 2.上表皮 3.厚角組織 4.草酸鈣簇晶 5.木質部 6. 韌皮部

7.下表皮 8.柵狀組織 9.海綿組織

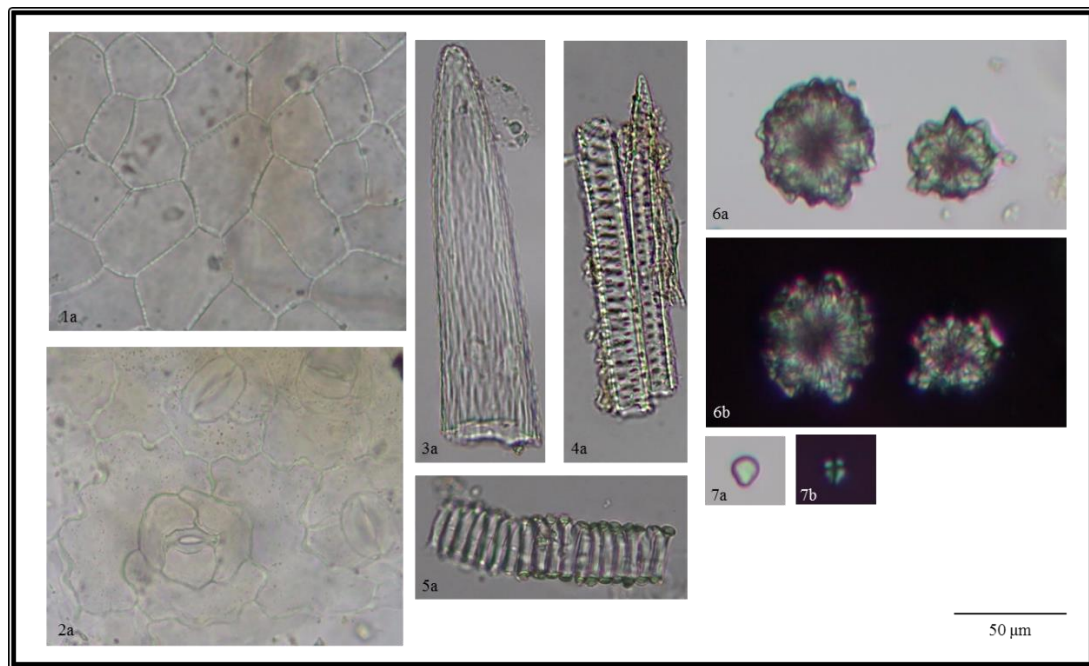


圖 4 紫花地丁粉末顯微特徵圖

a.光學顯微鏡下特徵 b.偏光顯微鏡下特徵

- 1.葉上表皮細胞 2.葉下表皮細胞與氣孔 3.非腺毛 4.階紋導管
- 5.螺旋紋導管 6.草酸鈣簇晶 7.澱粉粒

## 紫花地丁(Violae Herba)

### 一、材料

購自於台灣各地中藥店紫花地丁藥材共十批。

### 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 × 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 × 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 Duksan Pure Chemicals Co., Ltd.；乙醇(95%)購自於景明化工股份有限公司；乙腈(99.8%)購自於 Mallinckrodt Baker Inc.；冰醋酸(glacial acetic acid, 99.9%)購自於 J. T. Baker。

#### (二) 標準品

秦皮乙素(Esculetin)購自於東京化學工業株式會社，純度 98%以上。

### 四、方法

#### (一) 最佳萃取溶媒開發

取本品粉末(過 20 號篩網)六份，每份精確稱定 0.2 g，置 50 mL 離心管中，精確加入甲醇、75%甲醇、50%甲醇、乙醇、75%乙醇、50%乙醇各 20 mL，超音波震盪處理(功率 200 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘後，離心 15 分鐘(約 3500 × g)，取上清液並過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 μm)，即得。每針 10 μL 注入高效能液相層析儀(HPLC)，以所測得之標準品秦皮乙素(Esculetin)最大波峰面積為最佳紫花地丁萃取溶媒。

#### (二) 最佳萃取次數評估

取本品粉末(過 20 號篩網)精確稱定 0.2 g，置 50 mL 離心管中，精確加入 50%乙醇 20 mL，超音波震盪處理(功率 200 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘後，離心 15 分鐘(約 3500 × g)，取上清液並過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 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

取標準品秦皮乙素(Esculetin)精確稱定 2.0 mg，加 10 mL 的乙醇製成每 1 mL 含秦皮乙素(Esculetin) 200 µg 的標準品儲備溶液，並以乙醇稀釋至 10 µg/mL 製成對照標準品溶液。

### (四) 檢品溶液

取本品粉末(過 20 號篩網)精確稱定 0.2 g，置 50 mL 離心管中，精確加入 50%乙醇 20 mL，超音波震盪處理(功率 200 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘後，離心 15 分鐘(約 3500 × g)，取上清液後殘渣部分重複提取一次，合併濾液，將濾液轉移至 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

分別精確吸取對照標準品溶液、檢品溶液各 10 µL，注入 HPLC 測定，用標準曲線計算溶液中秦皮乙素(Esculetin)的含量，即得。

### (六) 檢量線

精確吸取秦皮乙素(Esculetin)標準品儲備溶液適量(200 µg/mL)，以乙醇稀釋製成含秦皮乙素(Esculetin)分別為 100、50、20、10、5.0、2.0 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

以秦皮乙素(Esculetin)濃度為 10 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣五針，以秦皮乙素(Esculetin)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：取同一批市售紫花地丁粉末，依紫花地丁檢品溶液製備方法平行製備五份紫花地丁檢品溶液，進樣測定，以秦皮乙素(Esculetin)含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售紫花地丁粉末，依紫花地丁檢品溶液製備方法製備紫花地丁檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以秦皮乙素(Esculetin)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  $\geq 3:1$  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 $\geq 10:1$ 時之濃度，作為定量極限估計值。

(十) 添加回收率試驗

取已知秦皮乙素(Esculetin)含量的紫花地丁藥材粉末約 0.1 g，精確稱定五份，分別加入 1 mL 的秦皮乙素(Esculetin)溶液(0.6 mg/mL)，並按檢品溶液製備方法操作測定。

(十一) 臺灣市售紫花地丁中秦皮乙素(Esculetin)含量測定 HPLC 分析條件

1. 層析管：Agilent ZORBAX SB-C<sub>18</sub> Column (250 × 4.6 mm, 5  $\mu$ m)
2. 檢測波長：340 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：室溫
5. 注入量：10  $\mu$ L
6. 移動相：

| 時間(min) | 乙腈(%) | 0.1%冰醋酸(v/v, %) |
|---------|-------|-----------------|
| 0       | 5     | 95              |
| 5       | 15    | 85              |
| 15      | 26    | 74              |
| 20      | 95    | 5               |
| 25      | 95    | 5               |

(十二) 臺灣市售紫花地丁含量測定

取十批市售紫花地丁藥材依檢品溶液製備方法製備檢品溶液，取各 10  $\mu$ L 連續三針注入 HPLC，所得平均波峰面積依附錄 I 公式計算樣品秦皮乙素(Esculetin)的百分含量。

(十三) 紫花地丁檢品之 UPLC 層析條件

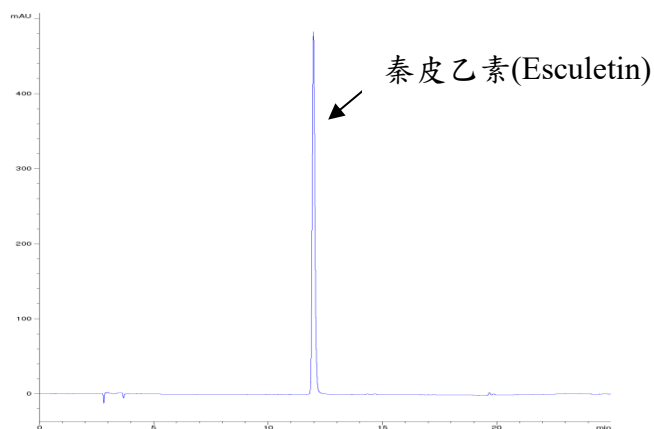
1. 層析管：Waters Acquity UPLC BEH C18 Column (100 × 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：340 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：25 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

| 時間(min) | 乙腈(%) | 0.1%冰醋酸(v/v, %) |
|---------|-------|-----------------|
| 0       | 5     | 95              |
| 2       | 10    | 90              |
| 7       | 20    | 80              |
| 10      | 95    | 5               |

## 五、結果

### (一) 標準品秦皮乙素(Esculetin)之 HPLC 層析

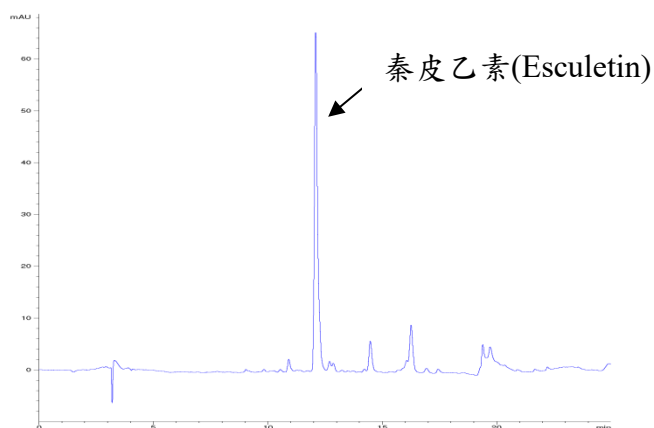
於滯留時間 12.0 分鐘處顯示秦皮乙素(Esculetin)標準品波峰(圖一)。



圖一、秦皮乙素(Esculetin)標準品溶液之 HPLC 層析圖

### (二) 市售紫花地丁檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 12.0 分鐘處顯示紫花地丁檢品中秦皮乙素(Esculetin)波峰(圖二)。分離率為  $R=5.57$ ，托尾因子為  $T=1.05$ ，均在系統適用性要求內。



圖二、市售紫花地丁檢品之 HPLC 層析圖

### (三) 最佳萃取溶媒開發

以 50%乙醇為溶媒時，藥材所得秦皮乙素(Esculetin)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     | 波峰面積 | 最佳萃取 |
|--------|------|------|
| 甲醇     | 1975 |      |
| 75% 甲醇 | 1997 |      |
| 50% 甲醇 | 1987 |      |
| 乙醇     | 1061 |      |
| 75 乙醇  | 1990 |      |
| 50%乙醇  | 2051 | √    |

#### (四) 最佳萃取次數評估

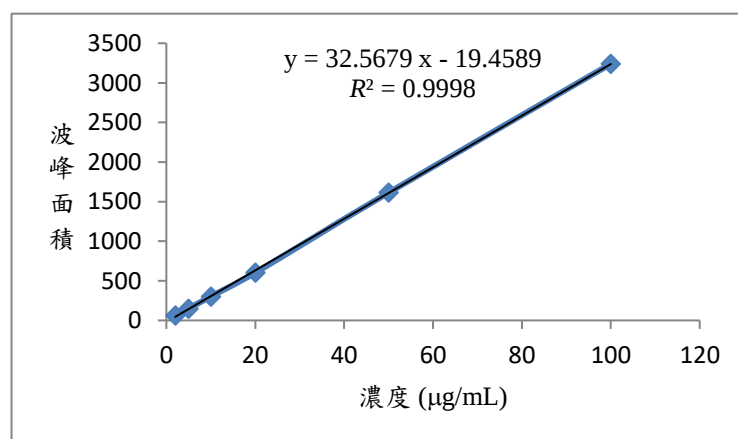
結果顯示萃取兩次基本上已將秦皮乙素(Esculetin)萃取完全(>99%)。

表二、紫花地丁檢品萃取次數評估

| 萃取次數 | 秦皮乙素(Esculetin)波峰面積 |
|------|---------------------|
| 第一次  | 2050.7              |
| 第二次  | 113.5               |
| 第三次  | ND                  |

#### (五) 標準品秦皮乙素(Esculetin)檢量線

經不同濃度秦皮乙素(Esculetin)(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  $y = 32.5679x - 19.4589$ ， $R^2 = 0.9998$ ，顯示濃度在 2.0–100  $\mu\text{g/mL}$  有良好的線性關係(圖三)。



圖三、秦皮乙素(Esculetin)之檢量線圖

表三、秦皮乙素之檢量線方程式

| 對照標準品 | 濃度( $\mu\text{g/mL}$ ) | 線性回歸方程式 | $R^2$ |
|-------|------------------------|---------|-------|
|-------|------------------------|---------|-------|

|                 |         |                          |        |
|-----------------|---------|--------------------------|--------|
| 秦皮乙素(Esculetin) | 2.0–100 | $y = 32.5679x - 19.4589$ | 0.9998 |
|-----------------|---------|--------------------------|--------|

#### (六) 精密度與再現性試驗

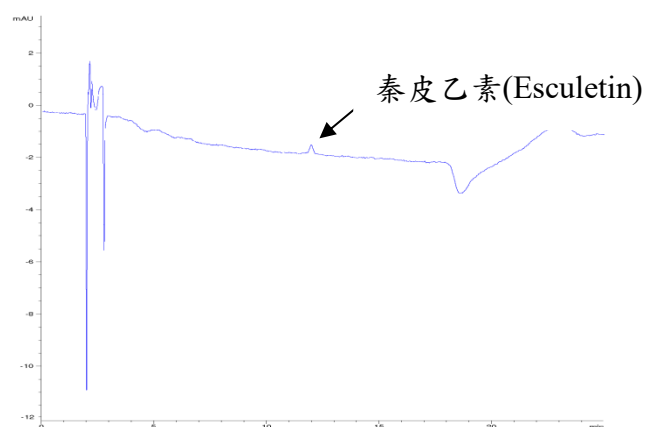
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，秦皮乙素(Esculetin)精密度之相對標準差為 0.96%，再現性之相對標準差 0.58%，均在系統適用性要求內。

#### (七) 穩定性試驗

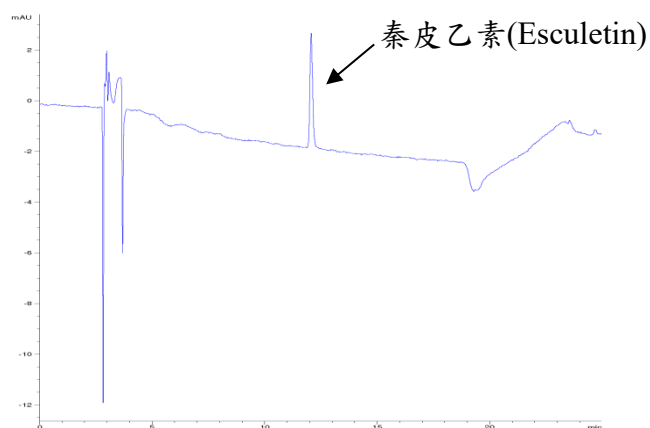
由結果可以得知，秦皮乙素(Esculetin)在 24 小時內穩定，相對標準差為 0.66%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

#### (八) 偵測極限與定量極限試驗

秦皮乙素(Esculetin)偵測極限(limit of detection, LOD)為 0.5  $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限(limit of quantitation, LOQ)為 1.0  $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、秦皮乙素(Esculetin)之 LOD 層析圖



圖五、秦皮乙素(Esculetin)之 LOQ 層析圖

表四、各項檢驗分析

| 檢測項目       | 秦皮乙素(Esculetin) |            |
|------------|-----------------|------------|
|            | 濃度              | R.S.D. (%) |
| 精密度 (n=5)  | 10 µg/mL        | 0.96       |
| 再現性 (n=5)  | 檢品溶液(No. 9)     | 0.58       |
| 穩定性 (n=6)  | 檢品溶液(No. 9)     | 0.66       |
| 偵測極限 (n=1) | 0.5 µg/mL       | -          |
| 定量極限 (n=1) | 1.0 µg/mL       | -          |

## (九) 添加回收率試驗

添加秦皮乙素(Esculetin)平均回收率 98.0%，相對標準偏差 1.31 %。

表五、秦皮乙素(Esculetin)添加回收率

| 編號 | 藥材稱重<br>(g) | 含有量<br>(mg) | 加入量<br>(mg) | 測得量<br>(mg) | 回收率<br>(%) | 平均回收率<br>(%) | R.S.D.<br>(%) |
|----|-------------|-------------|-------------|-------------|------------|--------------|---------------|
| 1  | 0.1005      | 0.622       | 0.60        | 1.212       | 98.4       | 97.96        | 1.31          |
| 2  | 0.1000      | 0.619       | 0.60        | 1.210       | 98.5       |              |               |
| 3  | 0.0999      | 0.618       | 0.60        | 1.215       | 99.4       |              |               |
| 4  | 0.1002      | 0.620       | 0.60        | 1.205       | 97.4       |              |               |
| 5  | 0.1001      | 0.620       | 0.60        | 1.196       | 96.0       |              |               |

## (十) 台灣市售紫花地丁含量測定

十批紫花地丁藥材(乾燥品)之含量測定結果，秦皮乙素(Esculetin)的含量均在 0.49–1.31%之間。建議紫花地丁藥材指標成分秦皮乙素(Esculetin)的含量不得少於 0.20%。理論板數按秦皮乙素(Esculetin)波峰計算應不低於 10000 (實際值為 43000)。

表六、台灣市售紫花地丁檢品之秦皮乙素(Esculetin)含量

| 中藥店編號<br>(No.) | 秦皮乙素(Esculetin)<br>含量(%) | 中藥店編號<br>(No.) | 秦皮乙素(Esculetin)<br>含量(%) |
|----------------|--------------------------|----------------|--------------------------|
| 1 (SJ)         | 0.796                    | 6 (SE)         | 1.314                    |
| 2 (CG)         | 0.557                    | 7 (CA)         | 0.690                    |
| 3 (ND)         | 0.535                    | 8 (NN)         | 0.778                    |
| 4 (SA)         | 1.110                    | 9 (NJ)         | 0.675                    |
| 5 (NI)         | 0.485                    | 10 (NB)        | 0.670                    |

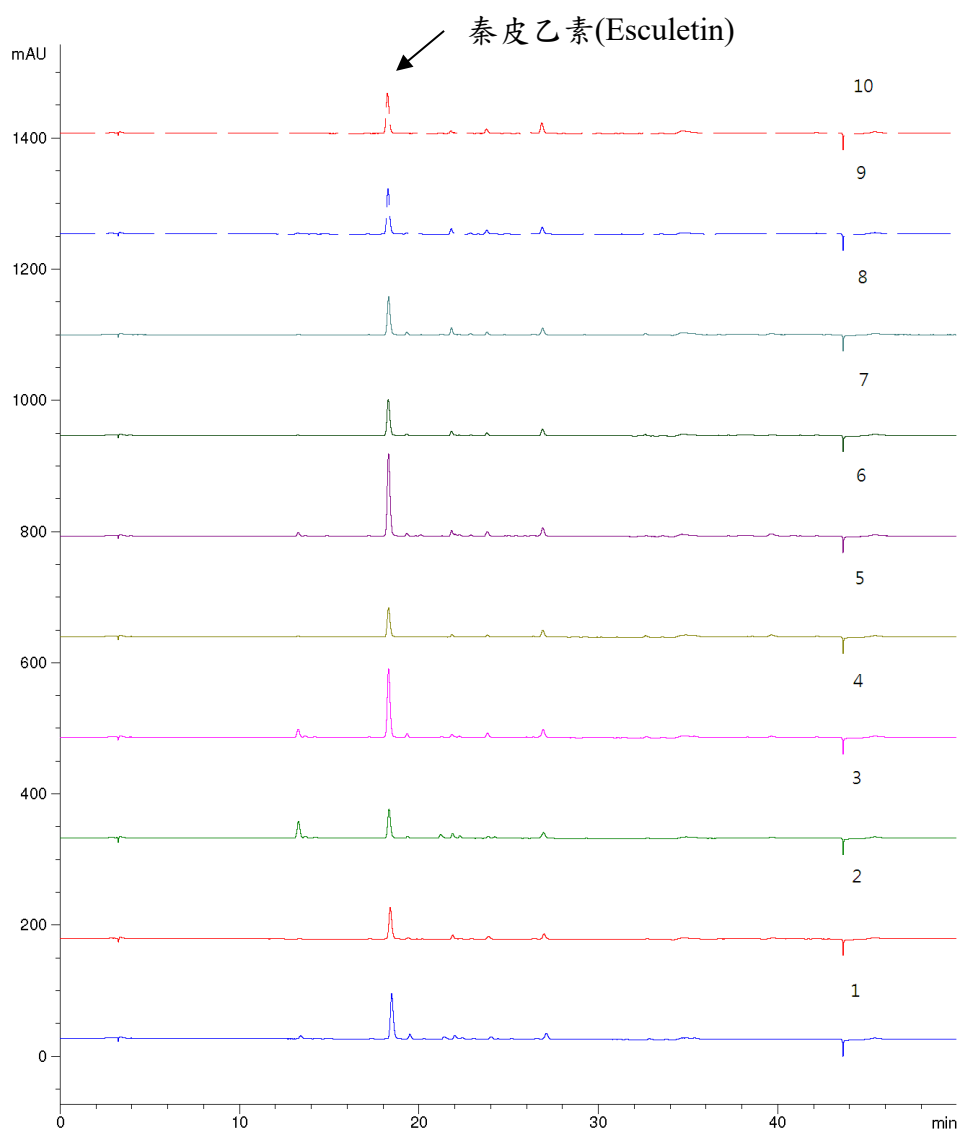


(十一) 市售紫花地丁藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取十批市售紫花地丁檢品溶液各 10  $\mu$ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：Agilent ZORBAX SB-C18 Column (250  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m)
2. 檢測波長：340 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：室溫
5. 注入量：10  $\mu$ L
6. 移動相：

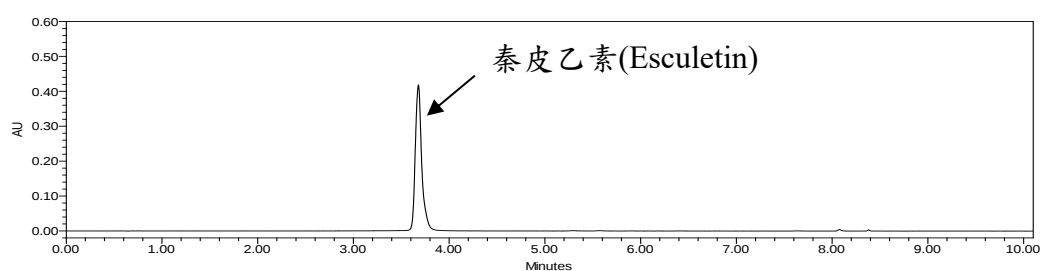
| 時間(min) | 乙腈(%) | 0.1%冰醋酸(v/v, %) |
|---------|-------|-----------------|
| 0       | 5     | 95              |
| 15      | 15    | 85              |
| 30      | 26    | 74              |
| 35      | 95    | 5               |
| 40      | 95    | 5               |



圖六、10 批紫花地丁之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 標準品秦皮乙素(Esculetin)之 UPLC 層析

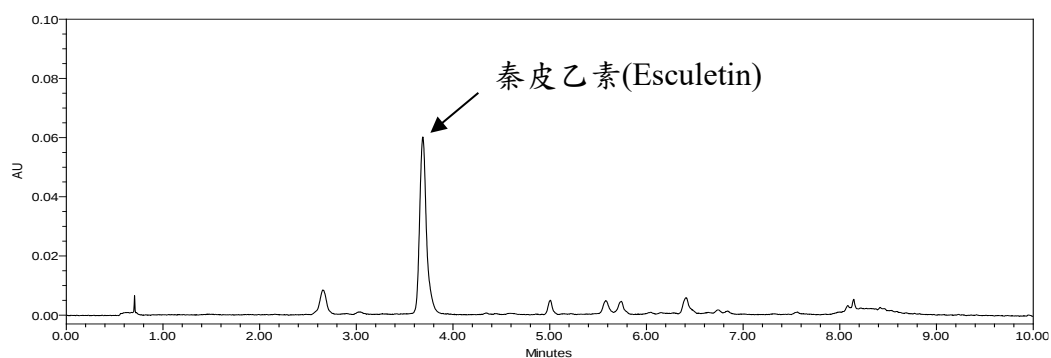
於滯留時間 3.68 分鐘處顯示秦皮乙素(Esculetin)標準品的波峰(圖七)。



圖七、秦皮乙素標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售紫花地丁檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 3.69 分鐘處顯示紫花地丁檢品中秦皮乙素(Esculetin)的波峰(圖八)。

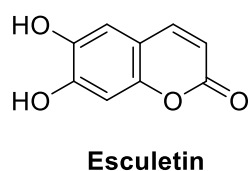


圖八、紫花地丁藥材之 UPLC 層析圖

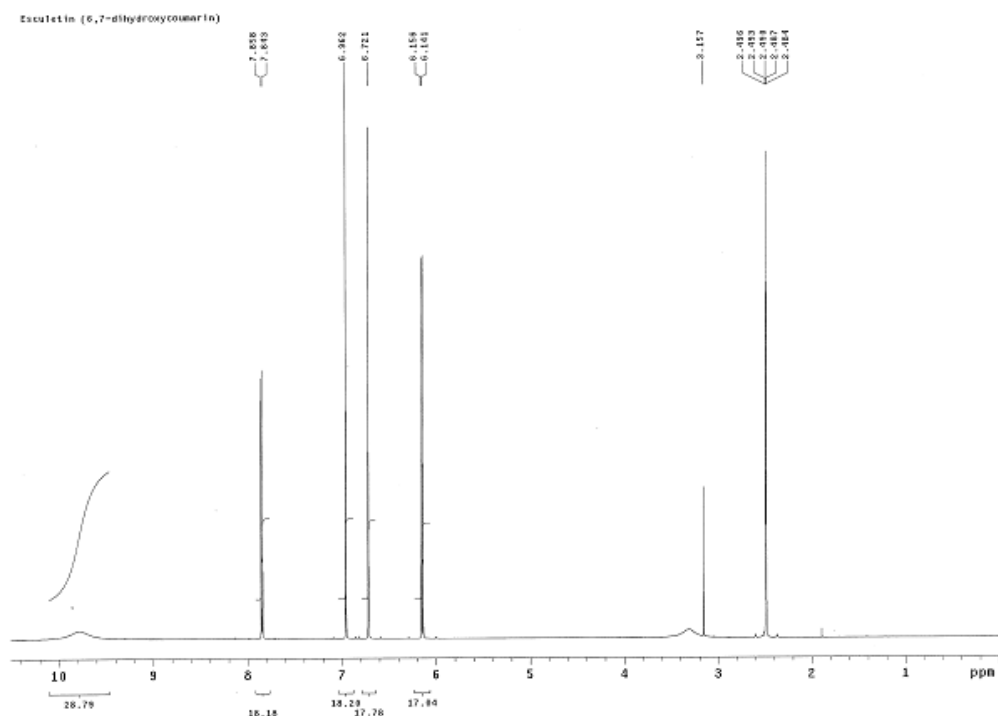
(十四) 秦皮乙素(Esculetin)的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_9H_6O_4$ ；Mol. Wt.：178.14；熔點：268–269 °C；淺褐色固體。

(十五) 秦皮乙素(Esculetin)的結構

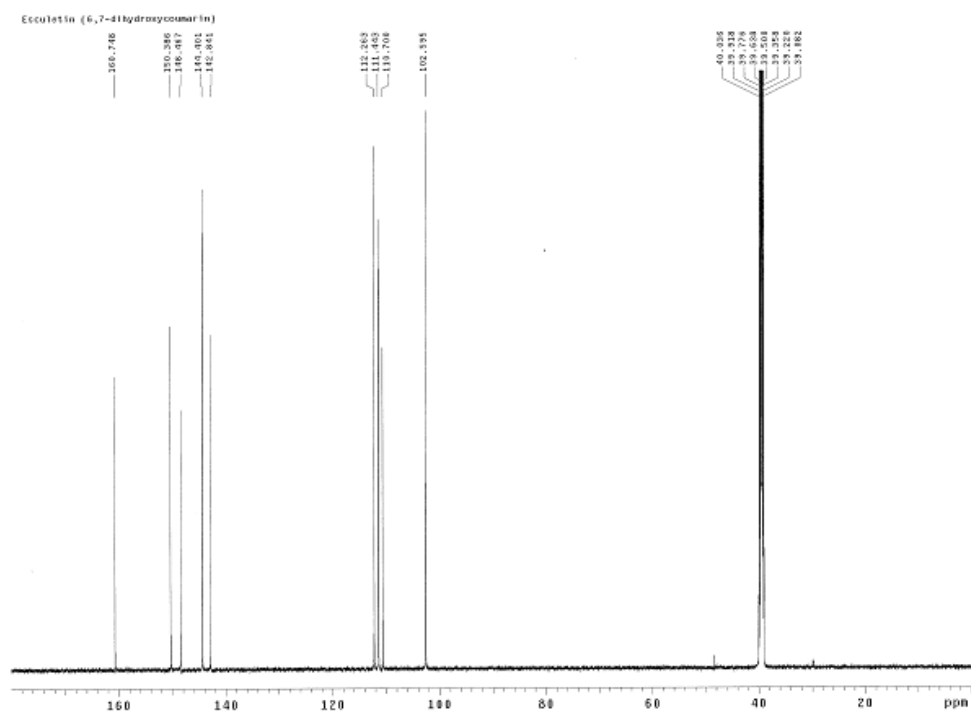


(十六) 秦皮乙素(Esculetin)的  $^1\text{H}$  NMR 圖譜



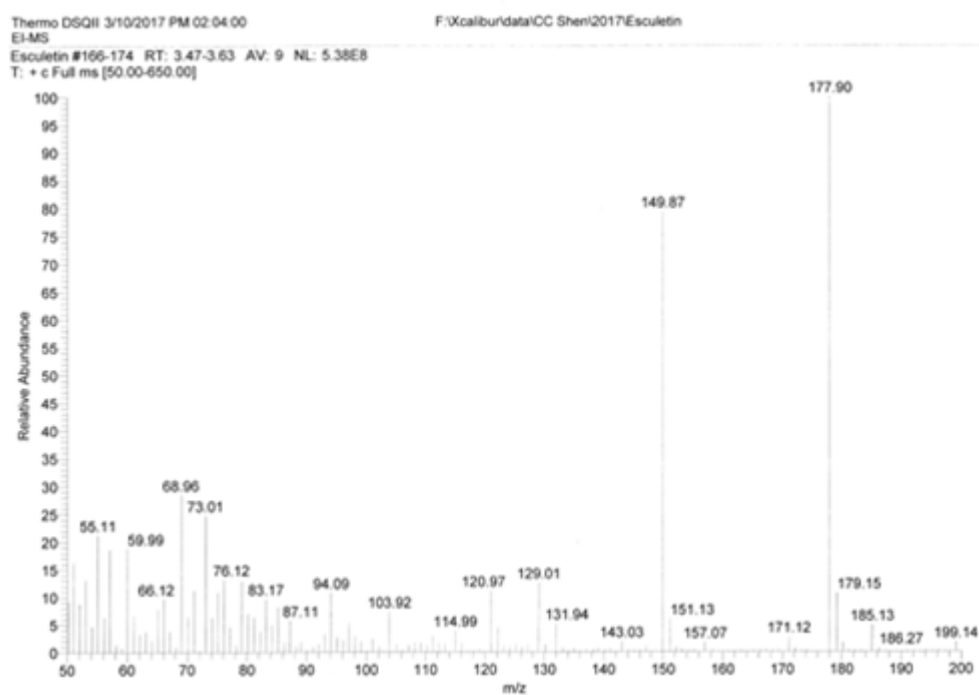
圖九、秦皮乙素(Esculetin)之  $^1\text{H}$  NMR 圖譜( $\text{DMSO}-d_6$ )

(十七) 秦皮乙素(Esculetin)的  $^{13}\text{C}$  NMR 圖譜



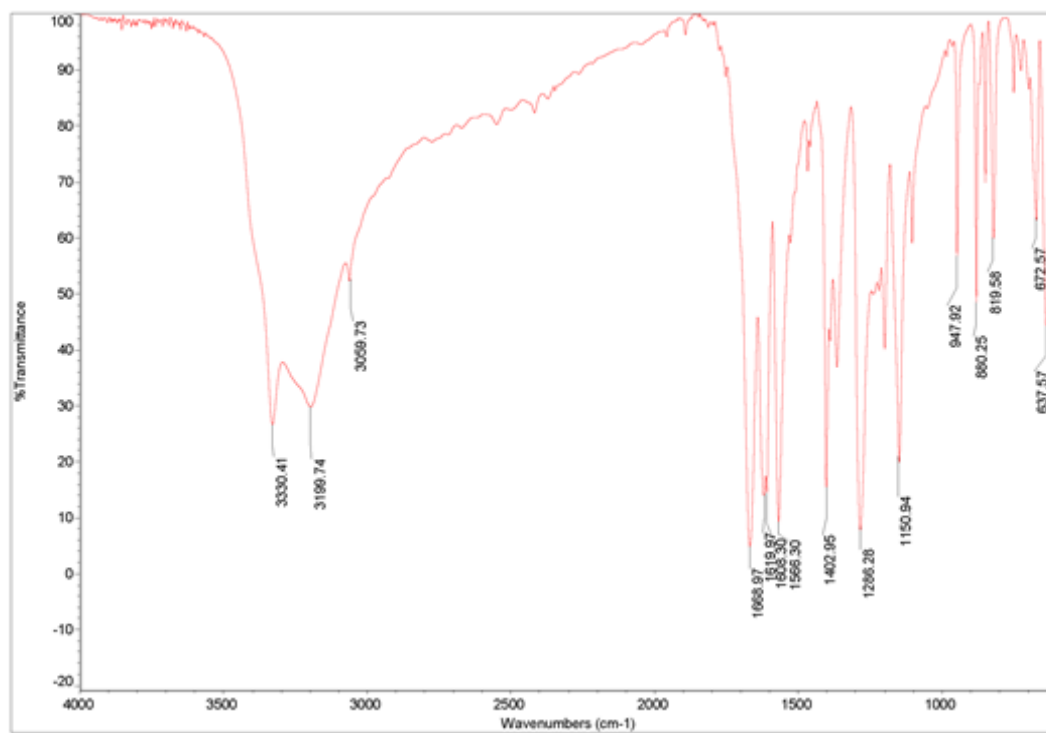
圖十、秦皮乙素(Esculetin)之  $^{13}\text{C}$  NMR 圖譜(DMSO- $d_6$ )

(十八) 秦皮乙素(Esculetin)的 EI-MS 圖譜



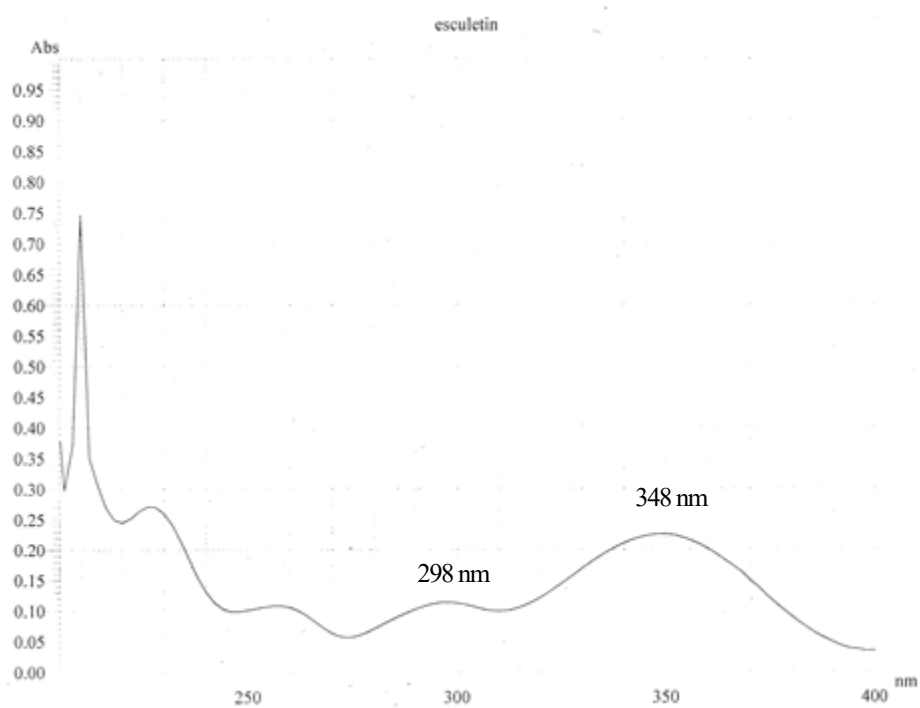
圖十一、秦皮乙素(Esculetin)之 EI-MS 圖譜

(十九) 秦皮乙素(Esculetin)的 FTIR 圖譜



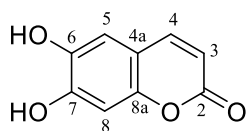
圖十二、秦皮乙素(Esculetin)之 FTIR 圖譜

(二十) 秦皮乙素(Esculetin)的 UV 圖譜



圖十三、秦皮乙素(Esculetin)之 UV 圖譜

(二十) 秦皮乙素(Esculetin)之氫、碳化學位移



表七、秦皮乙素(Esculetin)之氫、碳化學位移(DMSO- $d_6$ )<sup>a</sup>

| position | $\delta_H$ (600 MHz) | $\delta_C$ (150 MHz) |
|----------|----------------------|----------------------|
| 2        | -                    | 160.75               |
| 3        | 6.15 (d, 9.0)        | 111.44               |
| 4        | 7.85 (d, 9.0)        | 144.40               |
| 4a       | -                    | 110.70               |
| 5        | 6.96 (s)             | 112.26               |
| 6        | -                    | 142.84               |
| 7        | -                    | 150.39               |
| 8        | 6.72 (s)             | 102.60               |
| 8a       | -                    | 148.47               |

<sup>a</sup>(Multiplicity,  $J$  in Hz) in ppm.

## 紫花地丁

生藥名：VIOLAE HERBA

英文名：Philippine Violet Herb

基 原：堇菜科 Violaceae 植物紫花地丁 *Viola yedoensis* Makino 的乾燥全草。

### 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 10 mL，超音波處理 30 分鐘，待冷後過濾，定容至 10 mL，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 2.0 g，加甲醇 20 mL，超音波處理 20 分鐘，過濾，濾液濃縮至乾，殘渣加熱水 10 mL 使之溶解，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】(香港中藥材標準第五冊)**

——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。

(二) 對照標準品 溶 液 取秦皮乙素(Aesculetin)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 F<sub>254</sub>，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 (5：3：1)

**【展開劑 3】(修飾香港中藥材標準第五冊)**

——乙酸乙酯：甲醇：甲酸 (15：1：0.5)

(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

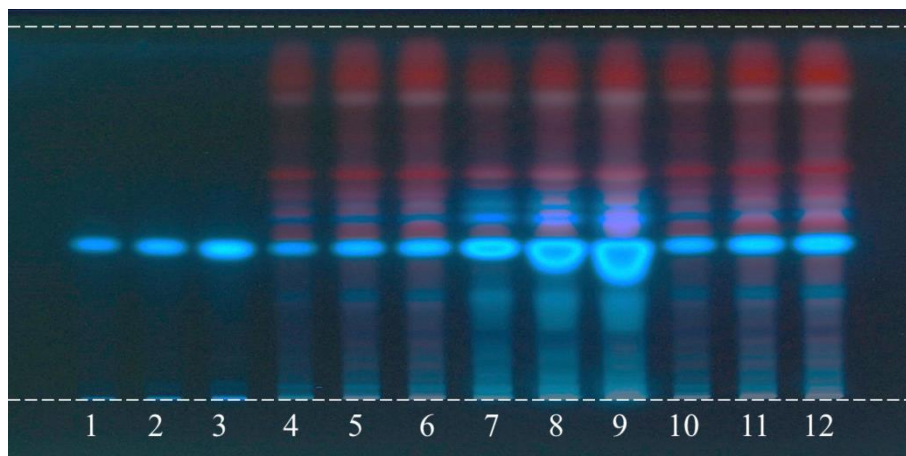
實驗日期：106/03/16

相對溼度(RH)：52%

溫度(RT)：23 °C

【展開劑 2】（中華人民共和國藥典 2015）——甲苯：乙酸乙酯：甲酸（5：3：

1)



| 編號       | 名稱                           | 點注量           |
|----------|------------------------------|---------------|
| 1，2，3    | 秦皮乙素(Aesculetin) (0.2 mg/mL) | 1，2，5 $\mu$ L |
| 4，5，6    | 檢品溶液 1【萃取方法 1】               | 2，5，8 $\mu$ L |
| 7，8，9    | 檢品溶液 1【萃取方法 2】               | 2，5，8 $\mu$ L |
| 10，11，12 | 檢品溶液 1【萃取方法 3】               | 2，5，8 $\mu$ 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秦皮乙素，【萃取方法 2】的濃度太濃，有托尾現象，【萃取方法 1】及【萃取方法 3】的結果相似，故支持臺灣中藥典萃法，選擇【萃取方法 1】。

建議點注量：秦皮乙素(Aesculetin)標準品溶液 1  $\mu$ L，檢品溶液【萃取方法 1】2  $\mu$ L。

### 三、溶媒系統選擇

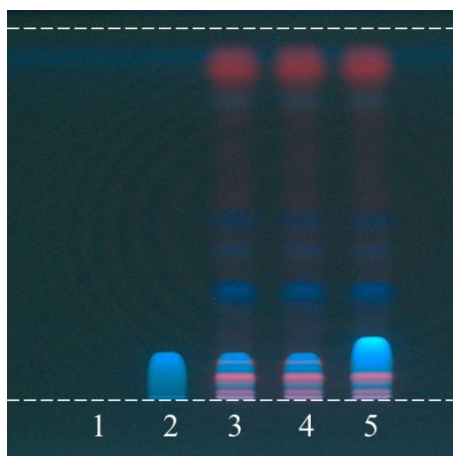
實驗日期：106/03/17

相對溼度(RH)：58%

溫度(RT)：22 °C

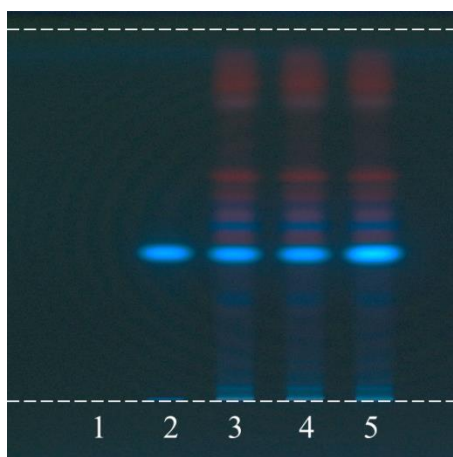
【展開劑 1】 (臺灣中藥典第二版 2013)——甲苯：乙酸乙酯 (1：1)

【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第二版 2013)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出 (秦皮乙素因產生拖尾現象，故  $R_f$  值無法測量)



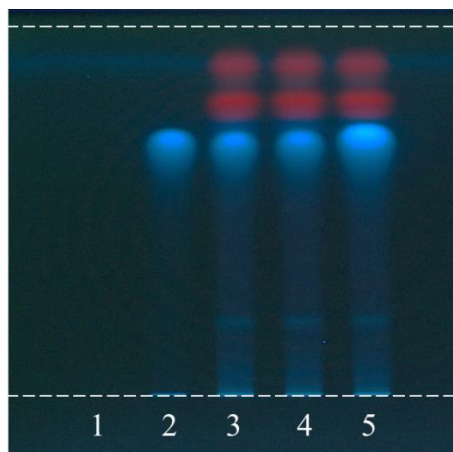
【展開劑 2】 (中華人民共和國藥典 2015)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (5：3：1)

【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第二版 2013)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出 (秦皮乙素  $R_f$  值為 0.39)



【展開劑 3】(修飾香港中藥材標準第五冊)——乙酸乙酯：甲醇：甲酸 (15：1：0.5)

【萃取方法 1】(臺灣中藥典第二版 2013)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出 (秦皮乙素因產生拖尾現象，故  $R_f$  值無法測量)



1：Blank

2：秦皮乙素(Aesculetin)

3，4：檢品溶液 1

5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 1】方式，【展開劑 1】與【展開劑 3】的標準品秦皮乙素(Aesculetin) $R_f$ 值太低及太高，又有拖尾現象，唯【展開劑 2】展開可從檢品溶液中分離與檢出秦皮乙素(Aesculetin) $R_f$ 值適中且無拖尾現象，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：106/03/17

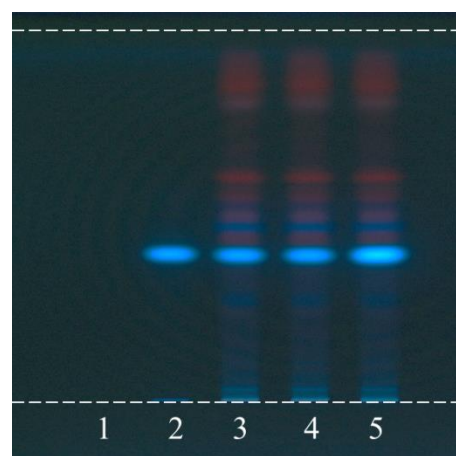
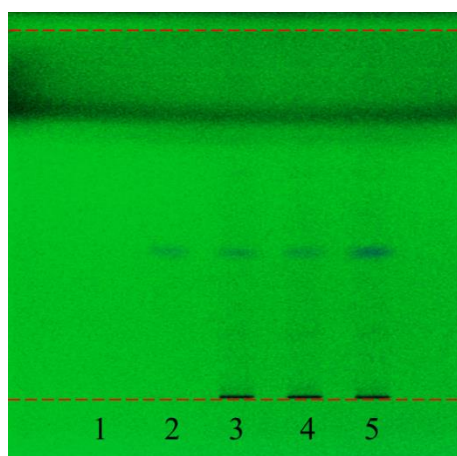
相對溼度(RH)：58%

溫度(RT)：22 °C

【展開劑 2】(中華人民共和國藥典 2015)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (5：3：1)

【萃取方法 1】(臺灣中藥典第二版 2013) — HPTLC 紫外光(254 nm)檢出

【萃取方法 1】(臺灣中藥典第二版 2013) — HPTLC 紫外光(365 nm)檢出  
✓



1：Blank

2：秦皮乙素(Aesculetin)

3，4：檢品溶液 1

5：Spike

建議觀察方式：於紫外光(365 nm)下顯示出較紫外光(254 nm)有較多明顯之條帶及秦皮乙素(Aesculetin)標準品斑點較清楚。

## 五、十批樣品檢測

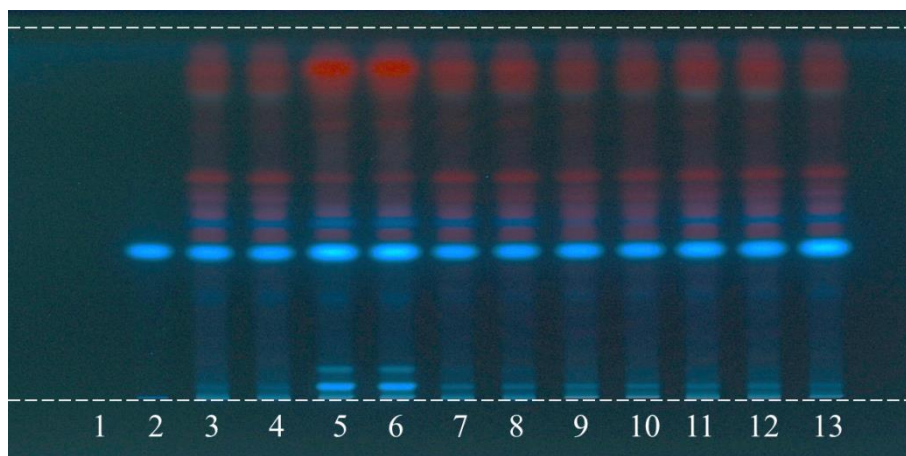
實驗日期：106/03/20

相對溼度(RH)：54%

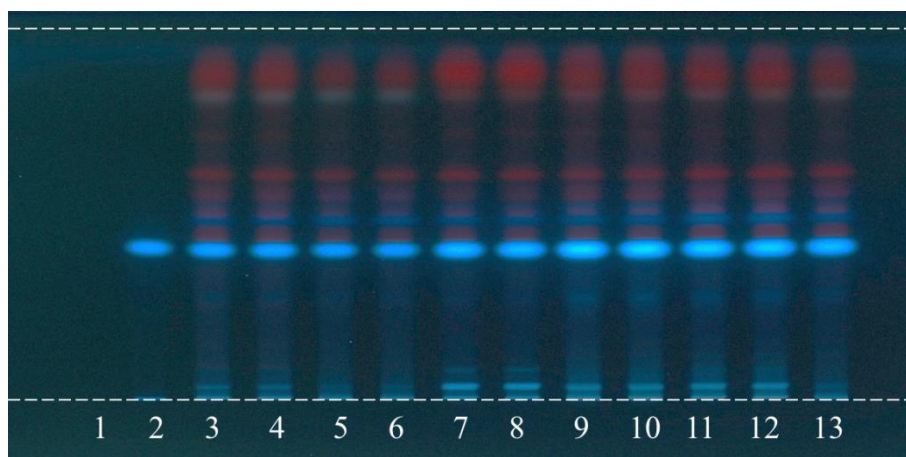
溫度(RT)：26 °C

【展開劑 2】 (中華人民共和國藥典 2015)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (5：3：1)

【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第二版 2013)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



|         |                              |
|---------|------------------------------|
| 1       | Blank                        |
| 2       | 秦皮乙素(Aesculetin) (0.2 mg/mL) |
| 3 , 4   | 檢品溶液 1 (NB)                  |
| 5 , 6   | 檢品溶液 2 (ND)                  |
| 7 , 8   | 檢品溶液 3 (NI)                  |
| 9 , 10  | 檢品溶液 4 (NJ)                  |
| 11 , 12 | 檢品溶液 5 (NN)                  |
| 13      | Spike (檢品溶液 1)               |



|         |                              |
|---------|------------------------------|
| 1       | Blank                        |
| 2       | 秦皮乙素(Aesculetin) (0.2 mg/mL) |
| 3 , 4   | 檢品溶液 6 (CA)                  |
| 5 , 6   | 檢品溶液 7 (CG)                  |
| 7 , 8   | 檢品溶液 8 (SA)                  |
| 9 , 10  | 檢品溶液 9 (SE)                  |
| 11 , 12 | 檢品溶液 10 (SJ)                 |
| 13      | Spike (檢品溶液 1)               |

結論與建議：以臺灣中藥典第二版 2013 之【萃取方法 1】方式即可，並以中華人民共和國藥典 2015 之【展開劑 2】分離與檢出秦皮乙素(Aesculetin)較佳，於紫外光(365 nm)下檢視較佳。