

丹參

(SALVIAE MILTIORRHIZAE RADIX ET RHIZOMA)

丹參 MI	2
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
丹參 HPLC (藥材)	7
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	10
丹參 TLC (藥材、飲片)	21
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、十批丹參藥材樣品檢測	26
六、十批丹參飲片樣品檢測	28
丹參 HPLC (飲片)	30
一、材料	30
二、儀器及層析管柱	30
三、實驗藥品及試劑來源	30
四、方法	30
五、結果	33

丹參

(SALVIAE MILTIORRHIZAE RADIX ET RHIZOMA)

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丹參的乾燥根及根莖。

二、藥材性狀描述(圖 1)

藥材名：丹參

生藥名：SALVIAE MILTIORRHIZAE RADIX ET RHIZOMA

英文名：Red Sage Root and Rhizome

基原：唇形科 Labiatae 植物丹參 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 之乾燥根及根莖。

採收加工：於秋季地上部枯萎後春季未萌芽前採挖，去除泥沙，乾燥。

藥材性狀：本品根莖粗短，有時頂端殘留莖部殘基，根一至數條，長圓柱形，稍彎曲，長短不一，有時可見分枝及細根痕，外表皮磚紅色，具不規則縱皺紋。質硬脆易折斷，斷面疏鬆，具裂隙或稍平整而緻密。氣微，味微苦澀。

飲片性狀：本品飲片多為斜切厚片，呈類圓形或橢圓形。外表皮紅棕色，具不規則縱皺紋。切面具裂隙或稍平整而緻密，皮部呈紅棕色，木部呈灰黃色或黃褐色，導管束黃白色，呈放射狀排列。氣微，味微苦澀。

生長分佈：多年生草本植物，株高 30~100 cm，喜溫暖、濕潤、陽光充足的環境，耐低溫、怕乾旱、忌積水，以土層深厚、疏鬆、排水良好的砂質壤為宜，花期 5~9 月，果期 8~10 月。除中國新疆、內蒙西藏等地，其他各地皆有分布；藥材主產中國安徽、山西、四川等地。

三、藥材組織顯微鑑別(圖 2)

1. 木栓層細胞呈扁長方形，帶有棕色物質，有時可見落皮層。
2. 皮部寬廣，薄壁細胞含紅棕色顆粒。
3. 韌皮部較狹窄，呈彎曲狀。
4. 形成層連續成環。
5. 木質部寬廣，中央為初生木質部，導管放射狀排列，有的伴有木纖維。

四、藥材粉末顯微鑑別(圖 3)

1. 本品粉末紅棕色。
2. 導管主要為網紋導管及有緣紋孔導管，直徑 15~70 μm 。
3. 木栓細胞表面觀類長方形或多角形，胞腔內常有黃棕色色素。
4. 木纖維少見，呈長梭形，直徑約 15 μm ，壁厚約 5 μm ，孔紋稀疏。偏光顯微鏡下呈亮黃白色。



圖 1A 丹參藥材圖



圖 1B 丹參飲片藥材圖

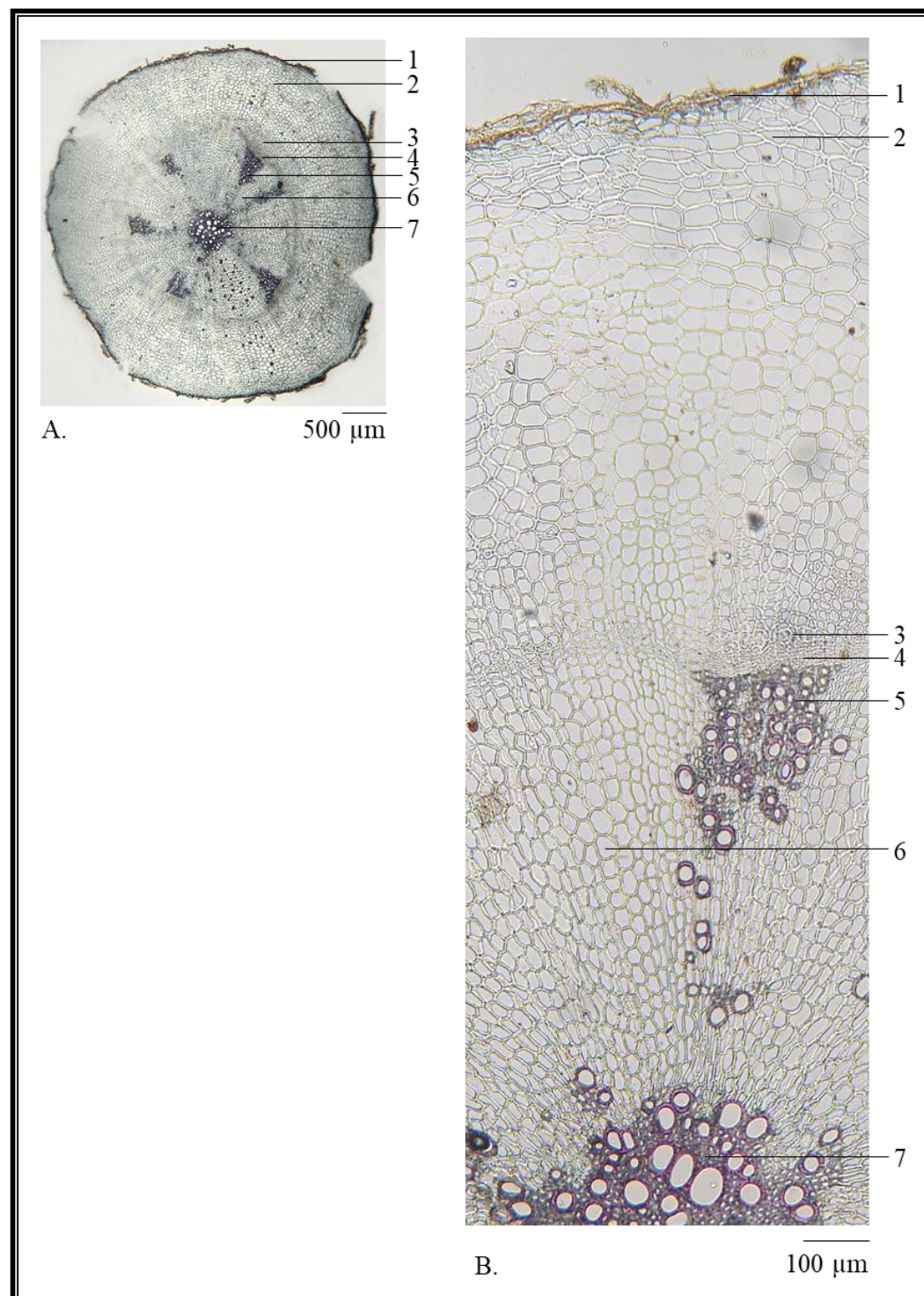


圖 2 丹參根橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖

1.木栓層 2.皮層 3.韌皮部 4.形成層 5.木質部 6.髓線 7.初生木質部

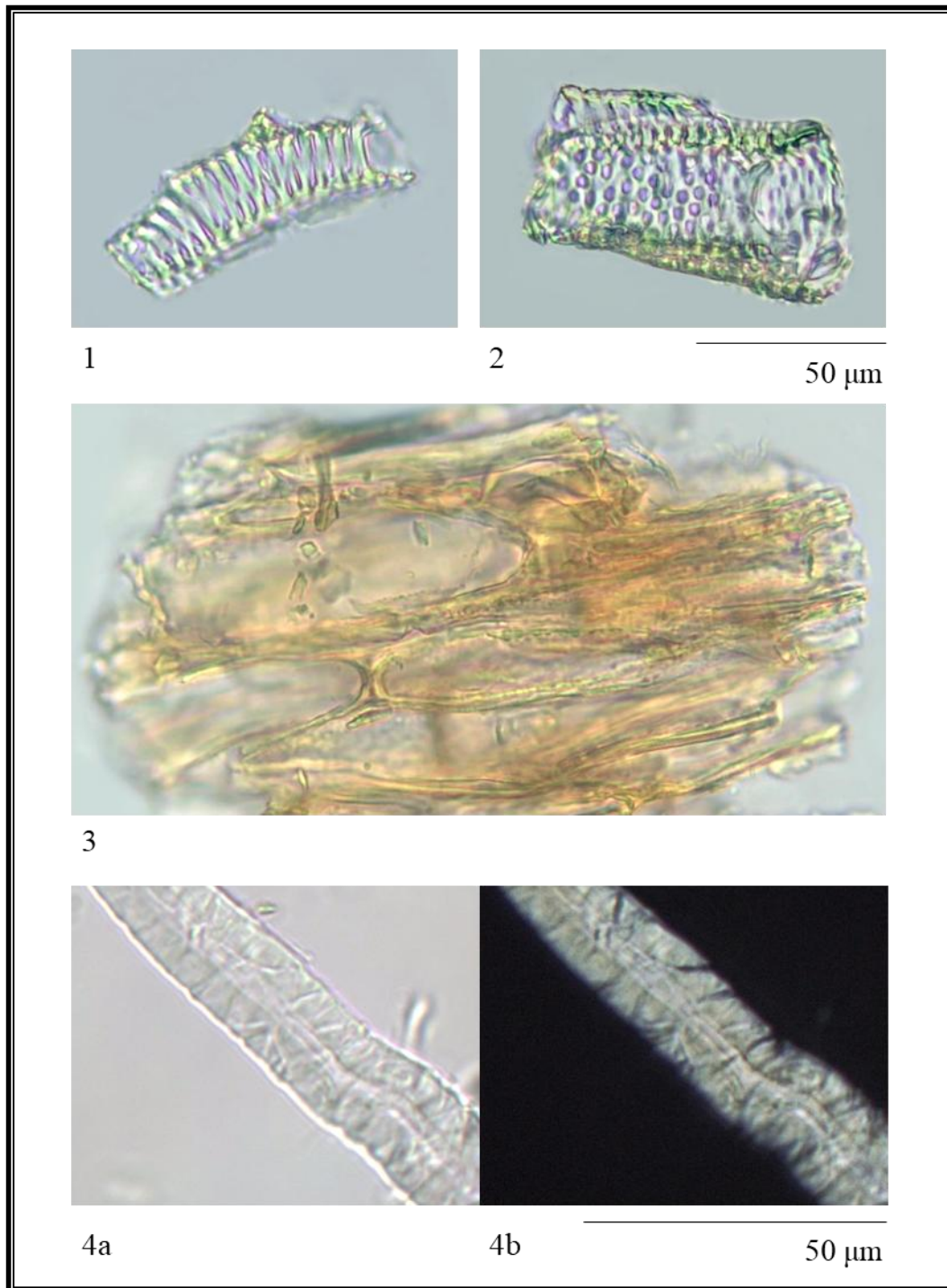


圖 3 丹參粉末顯微特徵圖

a.光學顯微鏡下特徵 b.偏光顯微鏡下特徵

1.網紋導管 2.有緣紋孔導管 3.木栓細胞 4.木纖維

參考文獻

1. 衛生福利部臺灣中藥典第四版編輯工作小組編纂(2021)。臺灣中藥典第四版。台北市：衛生福利部。40~41 頁。
2. 張永勳、何玉玲總編輯(2013)。台灣中藥典圖鑑。台北：衛生福利部。25 頁。
3. 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。20 頁。
4. 郭昭麟、陳昭蓉、羅淑芳(2011)。2011 臺灣丹參產業發展研討會專刊：台灣市售丹參藥材及基原植物之鑑定。花蓮縣吉安鄉：行政院農業委員會花蓮區農業改良場。
5. 戴新民(1986)。中藥材炮製規範。啟業書局。31~32 頁。
6. 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。49~50 頁。
7. 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)。香港中藥材標準第一冊。香港：香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部。82~92 頁。
8. 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。392~397 頁。
9. 國家中醫藥管理局《中華本草》編委會編輯(1999)。中華本草第 7 冊。上海：上海科學技術出版社。169~186 頁。
10. 肖培根等編輯(2002)。新編中藥志第一卷。北京：化學工業出版社。212~228 頁。
11. 國家藥典委員會編輯(2020)。中華人民共和國藥典 2020 年版一部。北京：中國醫藥科技出版社。77~78 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。70 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。58~59 頁。
14. 徐國鈞、徐珞珊主編(1994)。常用中草藥品種整理和質量研究第一冊。福建科學技術出版社。140~155 頁。

丹參(SALVIAE MILTIORRHIZAE RADIX ET RHIZOMA)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店丹參藥材共 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 2998、Photodiode Array Detector；層析管柱 COSMOSIL 5C₁₈ AR-II-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 Mallinckrodt Baker Inc.；乙腈(99.9%)購自於 Sigma-Aldrich；磷酸(85%)購自於 Merck。

(二) 標準品

丹參酚酸 B (Salvianolic acid B)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 4 份，每份準確稱定 0.15 g，置 100 mL 圓底瓶中，準確加入甲醇、80%甲醇、70%甲醇、60%甲醇各 25 mL，超音波振盪處理(功率 300W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，取上清液過濾(syringe filter, PTFE 0.45 μm)，即得。每針 10 μL 注入高效液相層析儀(HPLC)，以所測得之標準品丹參酚酸 B 最大波峰面積為最佳丹參萃取溶媒。

(二) 最佳萃取次數評估

準確稱取本品粉末約 0.15 g，置 50 mL 離心管中，準確加入 80%甲醇 25 mL，超音波振盪處理(功率 300W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，取上清液過濾(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

準確稱取標準品丹參酚酸 B 1.0 mg，加 1 mL 80%乙醇製成每 1 mL 含丹參酚酸 B 1000 μg 的標準品儲備溶液，並以 80%甲醇稀釋至 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 製成對照標準品溶液。

(四) 檢品溶液

準確稱取本品粉末約 0.15 g，置 50 mL 離心管中，準確加入 80%甲醇 25 mL，超音波振盪處理(功率 300W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，取上清液，殘渣部分重複提取 1 次，合併上清液，移入 50 mL 之容量瓶中，加 80%甲醇至刻度，搖勻再過濾(syringe filter, PTFE 0.45 μm)，即得。

(五) 測定法

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標準品丹參酚酸 B 的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取丹參酚酸 B 標準品儲備溶液(1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$)適量，以 80%甲醇稀釋製成含丹參酚酸 B 分別為 400、300、100、50、40、30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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

以丹參酚酸 B 濃度為 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以丹參酚酸 B 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：取同一批市售丹參粉末，依丹參檢品溶液製備方法平行製備五份丹參檢品溶液，進樣測定，以丹參酚酸 B 的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售丹參粉末，依丹參檢品溶液製備方法製備丹參檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以丹參酚酸 B 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 $\geq 3:1$ 時之濃度，作為偵測極限估計值。
2. 定量極限(Limit of Quantification, 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

取已知丹參酚酸 B 含量的丹參粉末 5 份，每份準確稱取約 0.05 g，分別加入 0.7 mL 的丹參酚酸 B 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：COSMOSIL 5C₁₈ AR-II-C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：286 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	22	78
40	22	78

(十二) 臺灣市售丹參含量測定

取 10 批市售丹參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 公式計算樣品丹參酚酸 B 的百分含量。

(十三) 丹參檢品之 UPLC 層析條件

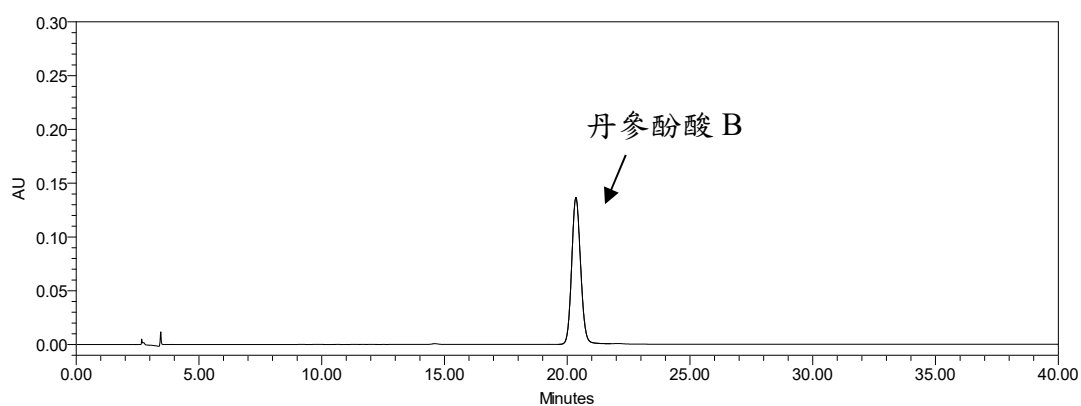
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC BEH C18 Column (100 × 2.1 mm, 1.7 μ m)
2. 檢測波長：286 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：室溫
5. 注入量：1 μ L
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	22	78
10	22	78

五、結果

(一) 標準品丹參酚酸 B 之 HPLC 層析

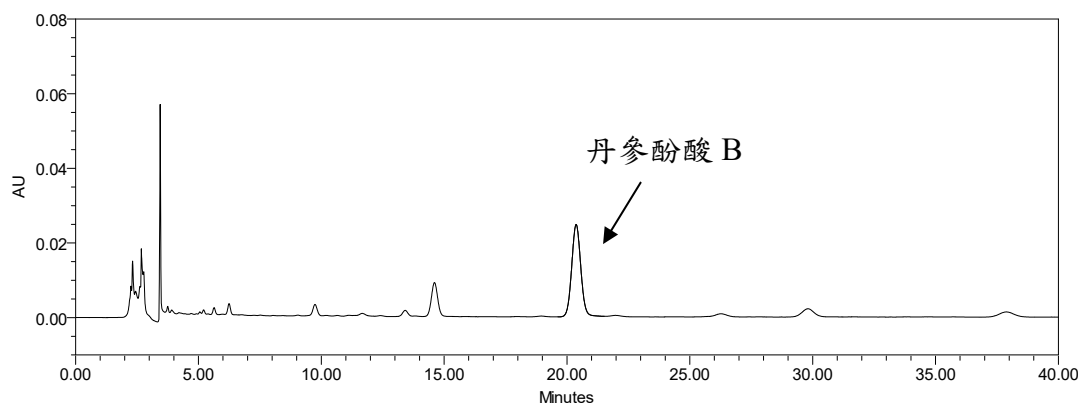
於滯留時間 20.3 分鐘處顯示丹參酚酸 B 標準品波峰(圖一)。



圖一、丹參酚酸 B 標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售丹參檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 20.3 分鐘顯示丹參檢品中丹參酚酸 B 的波峰(圖二)。丹參酚酸 B 之分離率(R)為 10.1，托尾因子(T)為 1.05，均在系統適用性要求內。



圖二、市售丹參檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒評估

以 80% 甲醇為溶媒時，每克藥材重量所得丹參酚酸 B 的波峰面積最大，顯示 80% 甲醇為最佳萃取溶媒。

表一、不同溶媒萃取比較

溶媒	丹參酚酸 B 波峰面積	最佳萃取
甲醇	3574302	
80% 甲醇	4591325	√
70% 甲醇	4321656	
60% 甲醇	4427212	

(四) 最佳萃取次數評估

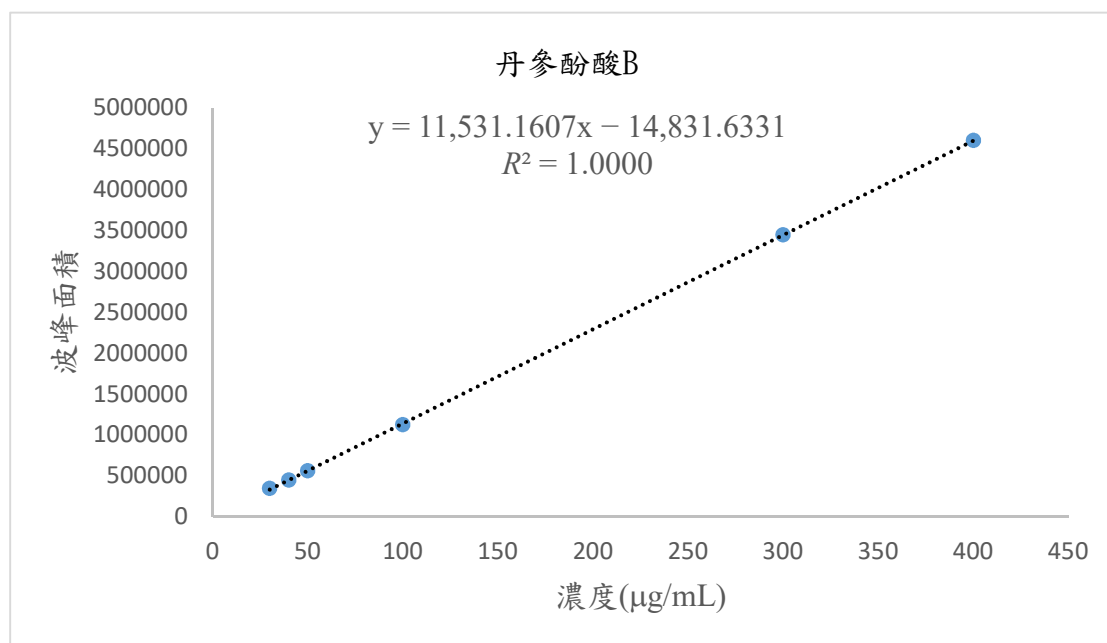
結果顯示萃取 2 次基本上已將丹參酚酸 B 萃取完全(萃取率大於 99%)。

表二、丹參檢品萃取次數評估

80% 甲醇萃取次數	丹參酚酸 B 波峰面積	最佳萃取
第 1 次	4408973	
第 2 次	198532	√
第 3 次	50108	

(五) 標準品丹參酚酸 B 檢量線

經不同濃度丹參酚酸 B(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 $y = 11531.1607x - 14831.633$ ， $R^2 = 1.0000$ ，顯示濃度在 30–400 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、標準品丹參酚酸 B 之檢量線圖

表三、丹參酚酸 B 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
丹參酚酸 B	30–400	$y = 11531.1607x - 14831.633$	1.0000

(六) 精密度試驗

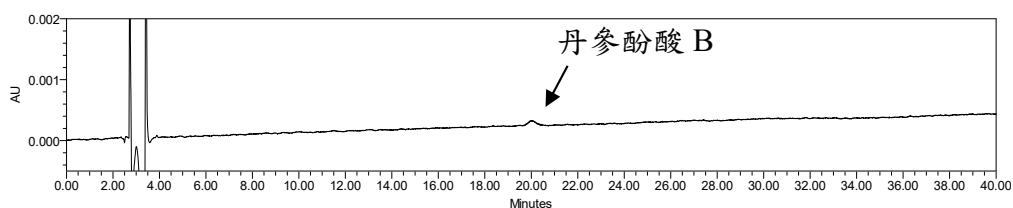
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，丹參酚酸 B 精密度之相對標準差為 0.26%，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

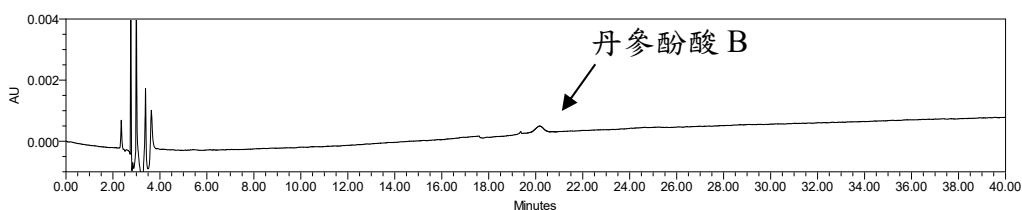
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，丹參酚酸 B 重複性之相對標準差為 1.41%，在系統適用性要求內。丹參酚酸 B 在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差為 0.43%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

丹參酚酸 B 偵測極限為 $0.03 \mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 $0.1 \mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、丹參酚酸 B 之偵測極限層析圖



圖五、丹參酚酸 B 之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	$100 \mu\text{g/mL}$	0.26
重複性 (n=5)	檢品溶液(No. 8)	1.41
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No. 8)	0.43
偵測極限 (n=1)	$0.03 \mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=1)	$0.1 \mu\text{g/mL}$	-

(九) 添加回收率試驗

丹參酚酸 B 平均添加回收率為 101.0%，相對標準偏差為 2.76% (表五)。

表五、丹參酚酸 B 添加回收率

編號	藥材稱重(g) (No. 8)	含有量 (mg)	加入量 (mg)	測得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	R.S.D. (%)
1	0.0524	2.344	0.70	3.030	98.0	101.03	2.76
2	0.0536	2.397	0.70	3.114	102.4		
3	0.0552	2.469	0.70	3.191	103.1		
4	0.0541	2.420	0.70	3.145	103.6		
5	0.0564	2.523	0.70	3.209	98.0		

(十) 臺灣市售丹參含量測定

10 批丹參之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，丹參酚酸 B 之含量為 3.651–7.122%。建議丹參藥材指標成分丹參酚酸 B 的含量不得少於 3.5%。理論板數按丹參酚酸 B 波峰計算均應不低於 5000 (實際值為 24715)。

表六、臺灣市售丹參檢品之丹參酚酸 B 含量

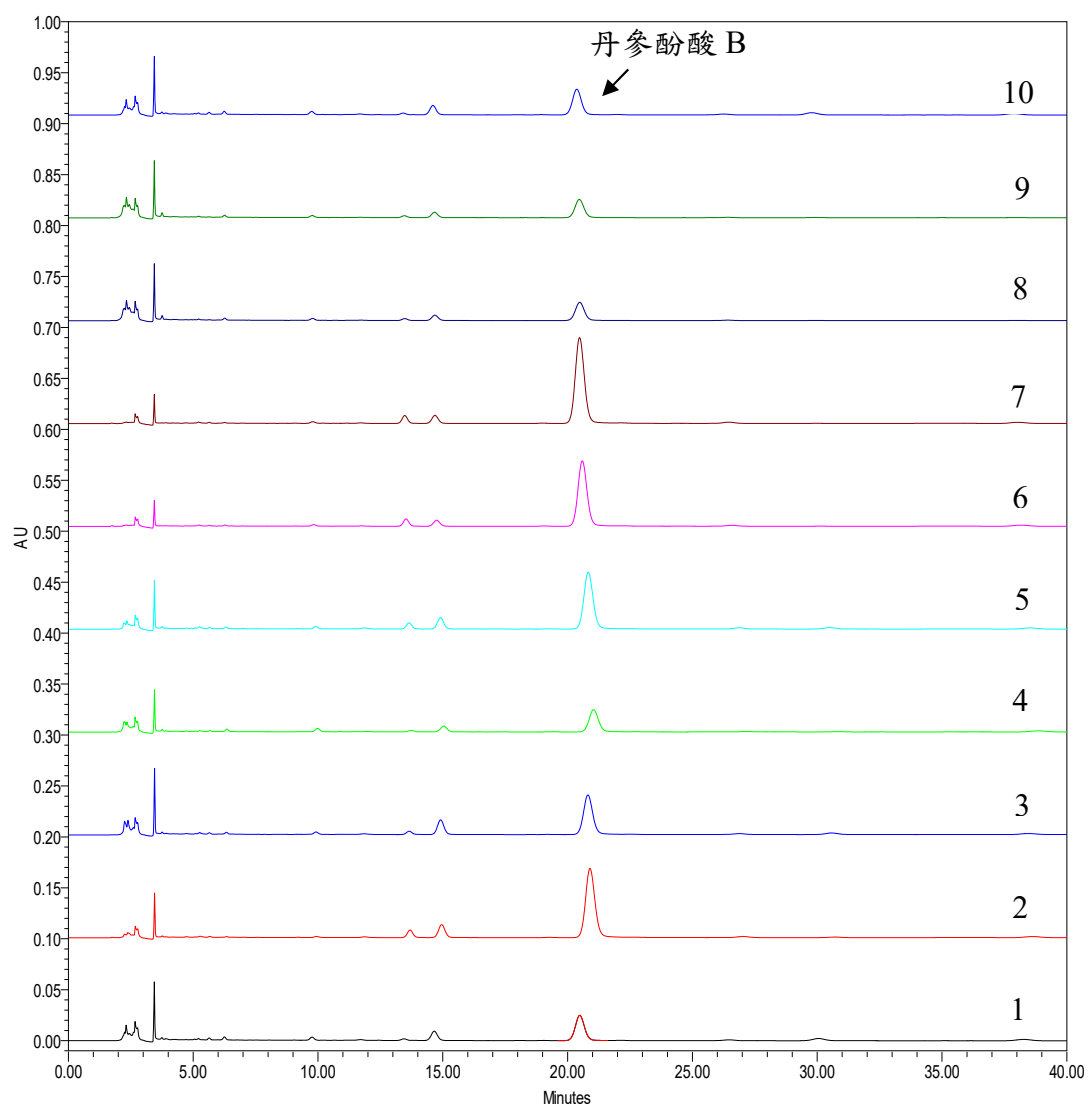
藥材編號(No.)	丹參酚酸 B 含量(%)
1 (SU-1)	3.651
2 (SA-2)	5.858
3 (NC-5)	4.808
4 (NR)	4.764
5 (NC-1)	5.731
6 (NDJ)	5.117
7 (NC-4)	7.122
8 (NKOD)	5.056
9 (SA-1)	5.587
10 (ND)	5.916
平均值±S.D.	5.361±0.918

(十一) 丹參藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售丹參藥材檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：COSMOSIL 5C₁₈ AR-II-C18 Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：286 nm
3. 管柱溫度：室溫
4. 流速：1.0 mL/min
5. 注入量：10 μ L
6. 移動相：

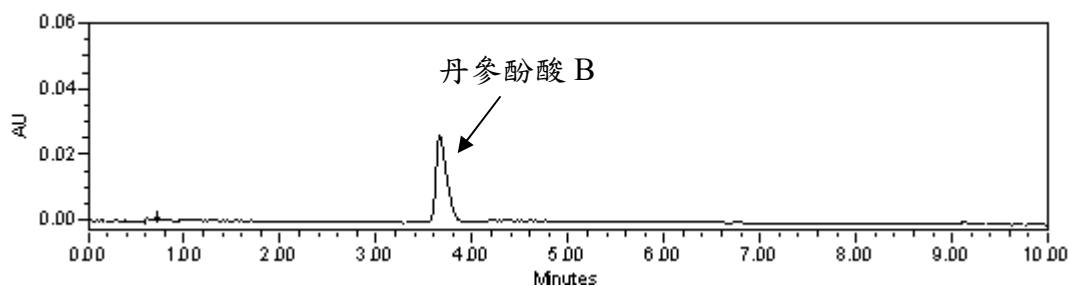
時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0-40	22	78



圖六、10 批丹參之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 標準品丹參酚酸 B 之 UPLC 層析

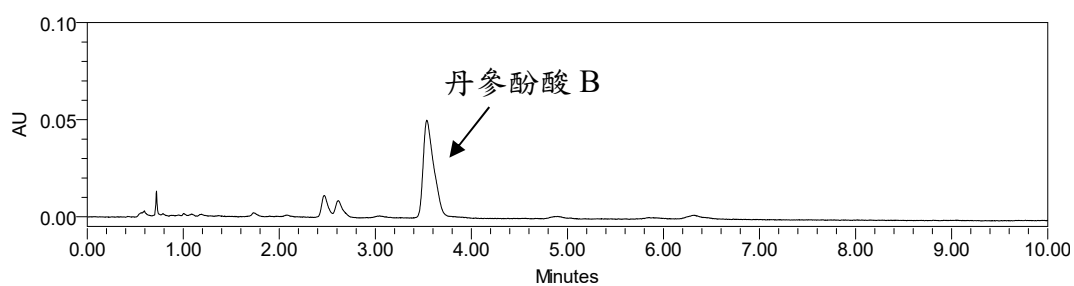
於滯留時間 3.66 分鐘顯示丹參酚酸 B 標準品的波峰(圖七)。



圖七、丹參酚酸 B 標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售丹參檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 3.53 分鐘顯示丹參檢品中丹參酚酸 B 的波峰(圖八)。

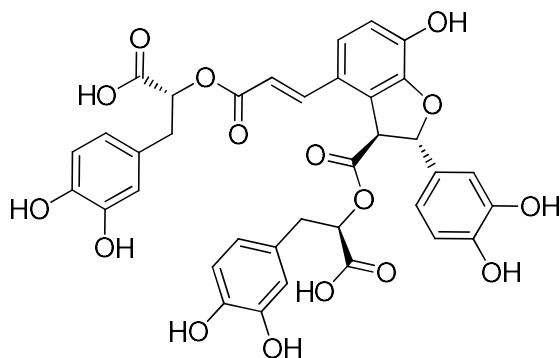


圖八、市售丹參檢品之 UPLC 層析圖

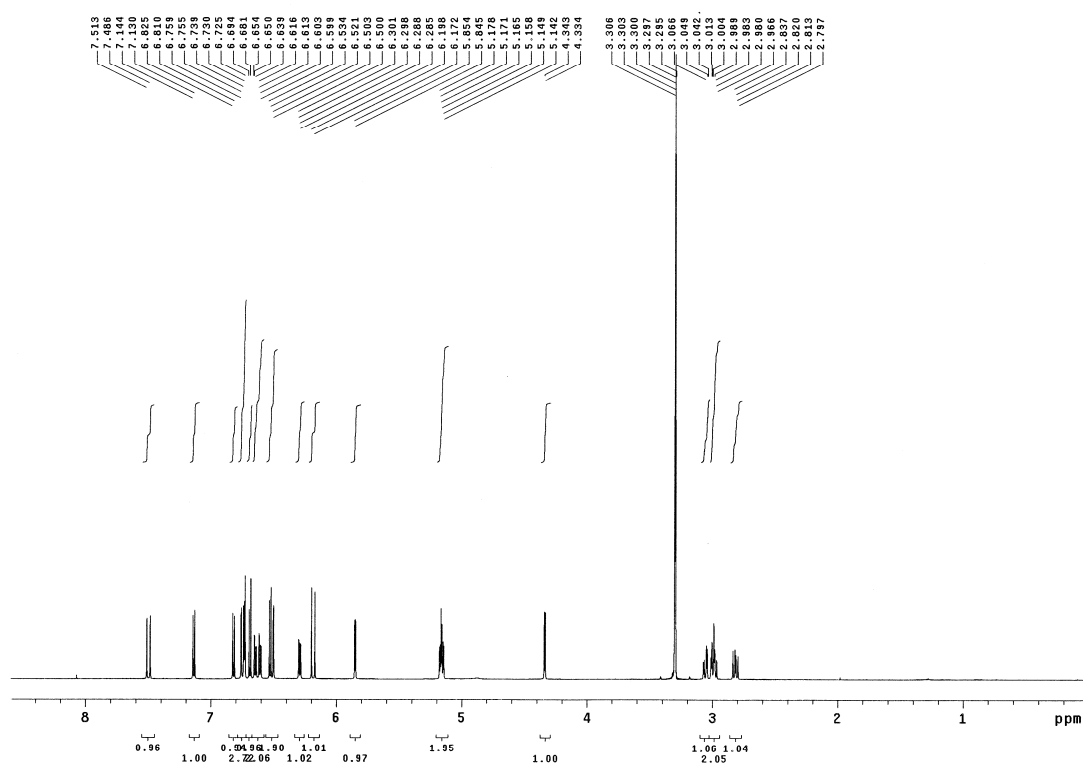
(十四) 丹參酚酸 B 的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{36}H_{30}O_{16}$ ；分子量：718.62；熔點：170–172 °C；白色固體。

(十五) 丹參酚酸 B 的結構

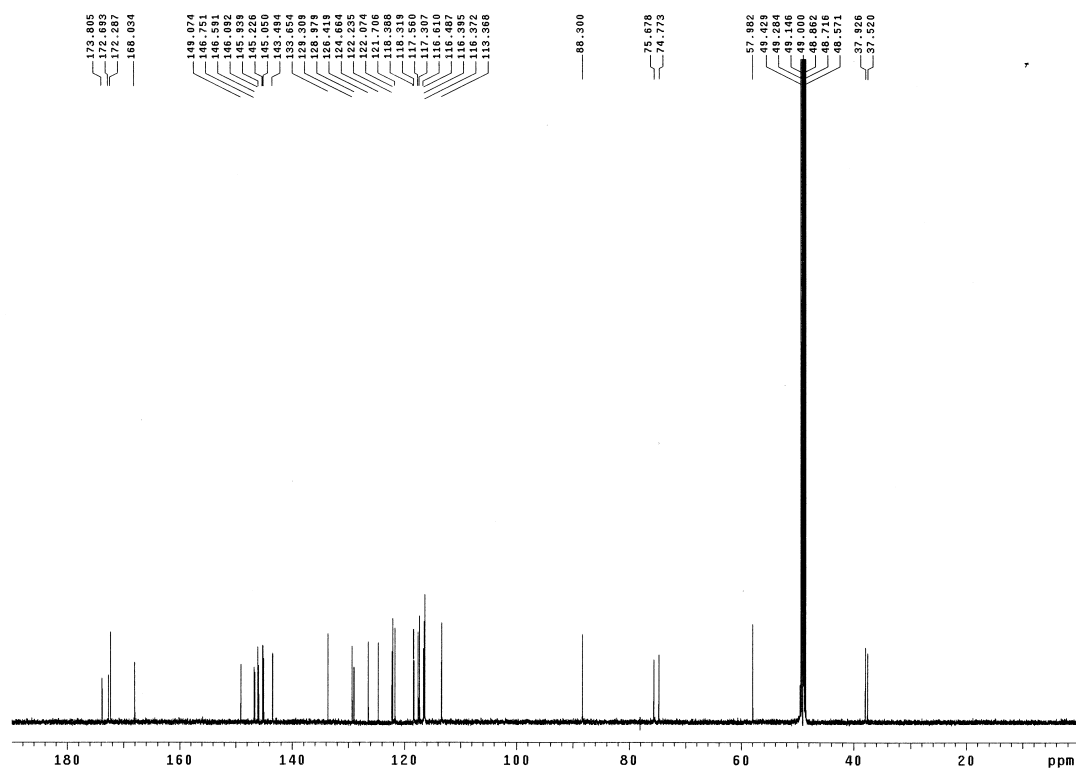


(十六) 丹參酚酸 B 的 1H NMR 圖譜



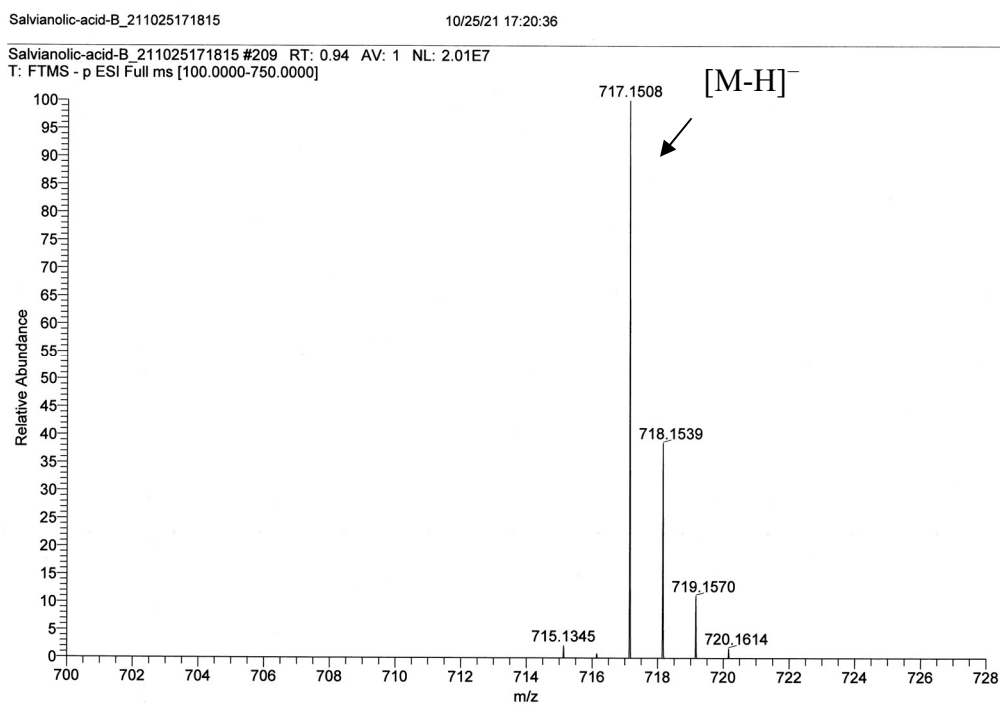
圖九、丹參酚酸 B 的 1H NMR 圖譜(CD_3OD)

(十七) 丹參酚酸 B 的 ^{13}C NMR 圖譜



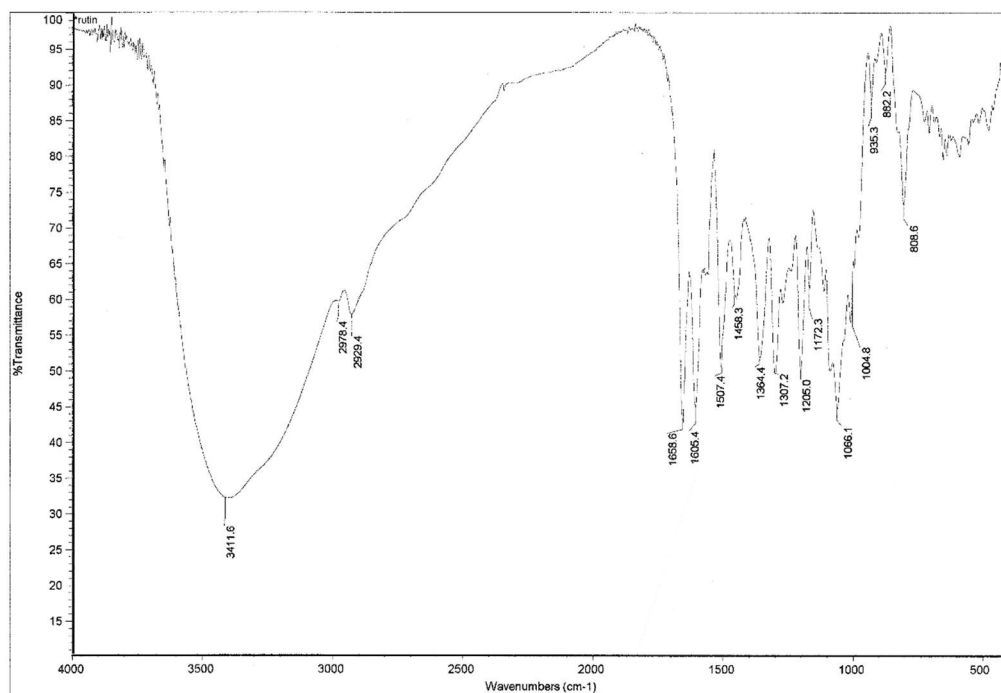
圖十、丹參酚酸 B 的 ^{13}C NMR 圖譜(CD_3OD)

(十八) 丹參酚酸 B 的 ESI-MS 圖譜



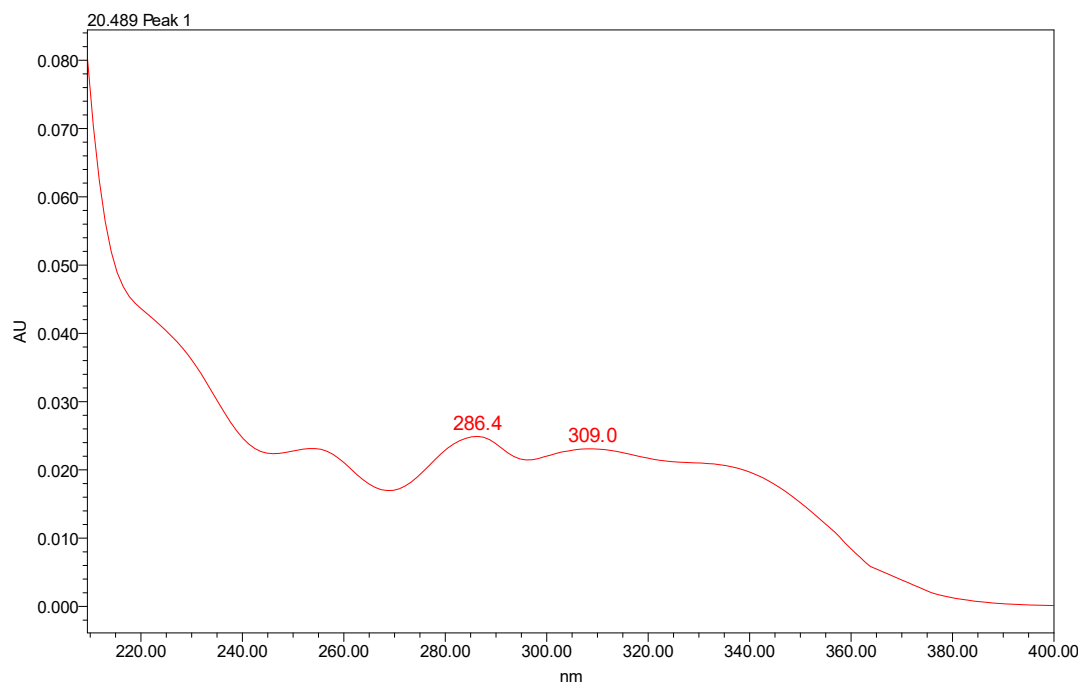
圖十一、丹參酚酸 B 的 ESI-MS 圖譜

(十九) 丹參酚酸 B 的 FTIR 圖譜



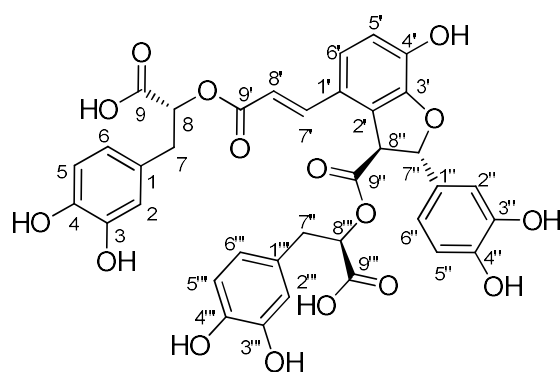
圖十二、丹參酚酸 B 的 FTIR 圖譜

(二十) 丹參酚酸 B 的 UV 圖譜



圖十三、丹參酚酸 B 的 UV 圖譜

(二十一) 丹參酚酸 B 的氫、碳化學位移



丹參酚酸 B

表七、丹參酚酸 B 的氫、碳化學位移(CD₃OD)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	-	129.3
2	6.73 (d, 2.4)	117.6
3	-	146.1
4	-	145.2
5	6.69 (d, 7.8)	116.4
6	6.61 (dd, 7.8, 2.4)	122.1
7	2.97–3.01 (m), 3.06 (dd, 14.4, 4.2)	37.9
8	5.17 (dd, 7.8, 2.4)	74.8
9	-	173.8
1'	-	124.7
2'	-	126.4
3'	-	149.1
4'	-	145.1
5'	6.82 (d, 9.0)	118.4
6'	7.14 (d, 9.0)	122.2
7'	7.50 (d, 15.6)	143.5
8'	6.19 (d, 15.6)	116.6
9'	-	168.0
1''	-	133.7
2''	6.76 (d, 2.4)	113.4
3''	-	146.6
4''	-	146.8
5''	6.73(d, 8.4)	116.4
6''	6.65 (dd, 8.4, 2.4)	118.3

7''	5.85 (d, 5.4)	88.3
8''	4.34 (d, 5.4)	58.0
9''	-	172.3
1'''	-	129.0
2'''	6.50 (d, 1.8)	117.3
3'''	-	145.9
4'''	-	145.1
5'''	6.53 (d, 7.8)	116.5
6'''	6.29 (dd, 7.8, 1.8)	121.7
7'''	2.82 (d, 13.8, 9.6), 2.97–3.01 (m)	37.5
8'''	5.15 (dd, 9.6, 4.2)	75.7
9'''	-	172.7

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

丹參

生藥名：SALVIAE MILTIORRHIZAE RADIX ET RHIZOMA

英文名：Red Sage Root and Rhizome

基 原：本品為唇形科 Labiatae 植物丹參 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 之乾燥根及根莖。

一、方法

- (一) 檢品溶液 **【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》**
——取本品粉末 1.0 g，加乙醚 5 mL，振搖 1 小時，過濾，濾液揮乾，殘渣加乙酸乙酯 1 mL，作為檢品溶液。
【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》✓
——取本品粉末 1.0 g，加乙醇 5 mL，超音波振盪 15 分鐘，過濾，取濾液作為檢品溶液。
【萃取方法 3】《香港中藥材標準第一冊》
——取本品粉末 1.0 g，加水 50 mL，加熱沸騰保持微沸 30 分鐘，放冷至室溫，離心，取上清液，加 2M 鹽酸調 PH 值至 2，過濾，用乙酸乙酯提取 3 次，每次 10 mL，合併蒸乾，殘渣加乙酸乙酯 2 mL，作為檢品溶液。
- (二) 對照標準品溶液 取丹參酚酸 B (Salvianolic acid B)、迷迭香酸(Rosmarinic acid)對照標準品，分別加甲醇製成每 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】《臺灣中藥典第四版 2021》**
——石油醚(30~60℃)：乙酸乙酯 (4：1)
【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》
——三氯甲烷：甲苯：乙酸乙酯：甲醇：甲酸 (6：4：8：1：4) 展開至 4 公分，晾乾，再以石油醚 (30~60℃)：乙酸乙酯 (4：1)展開。
【展開劑 3】《香港中藥材標準第一冊》
——三氯甲烷：甲苯：乙酸乙酯：甲醇：甲酸 (15：20：10：1：10)
【展開劑 4】(自行開發)✓
——甲苯：乙酸乙酯：甲醇：甲酸 (10：8：3：2)
- (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 風乾後，置於紫外光(365 nm)下檢視之。

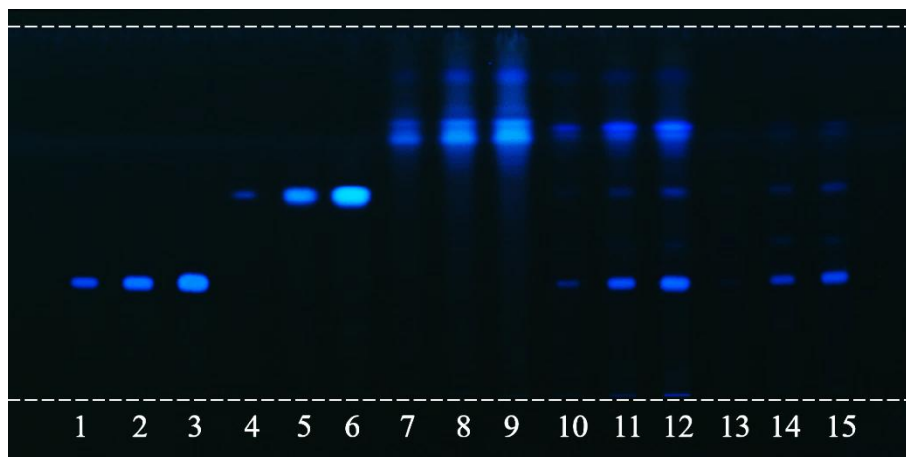
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：110/11/05

相對溼度(RH)：52%

溫度(RT)：22.6 °C

【展開劑 4】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲醇：甲酸 (10：8：3：2)
——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



編號	名稱	點注量
1，2，3	丹參酚酸 B (1.0 mg /mL)	1，2，5 μ L
4，5，6	迷迭香酸(1.0 mg /mL)	1，2，5 μ L
7，8，9	檢品溶液 2 【萃取方法 1】	2，5，8 μ L
10，11，12	檢品溶液 2 【萃取方法 2】	2，5，8 μ L
13，14，15	檢品溶液 2 【萃取方法 3】	2，5，8 μ L

建議萃法：臺灣中藥典萃取法(【萃取方法 1】)，無法檢出丹參酚酸 B 及迷迭香酸，中國及香港萃法之檢品溶液中皆有分離與檢出丹參酚酸 B 及迷迭香酸，因濃度適中，方法簡便，故採用【萃取方法 2】。

建議點注量：丹參酚酸 B 2 μ L，迷迭香酸 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 2】8 μ L。

三、溶媒系統選擇

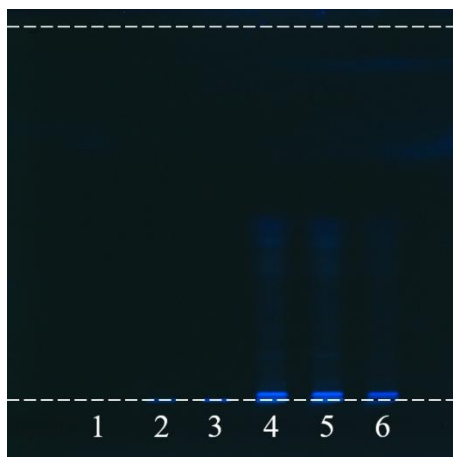
實驗日期：110/11/05

相對溼度(RH)：52%

溫度(RT)：22.6 °C

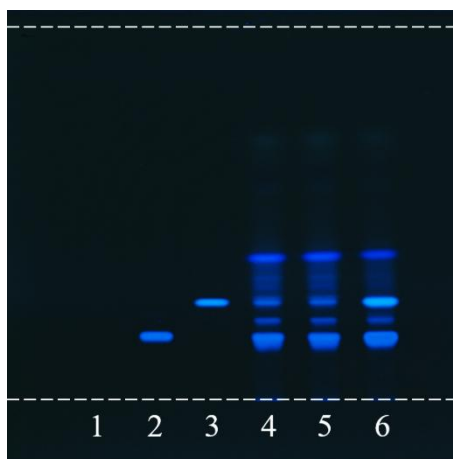
【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——石油醚(30~60°C)：乙酸乙酯 (4：1)

【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出
(丹參酚酸 B R_f 值為 0，迷迭香酸 R_f 值為 0)



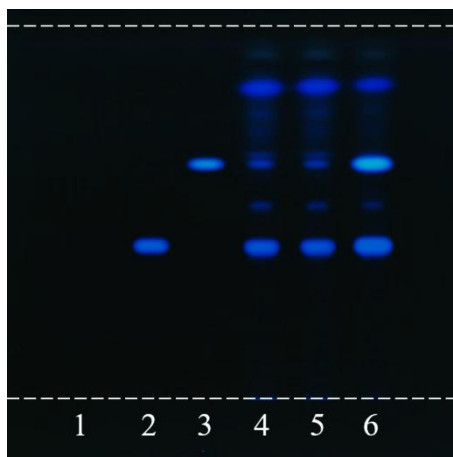
【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》——三氯甲烷：甲苯：乙酸乙酯：甲醇：甲酸 (6：4：8：1：4) 展開至 4 公分，晾乾，再以石油醚(30~60°C)：乙酸乙酯 (4：1)展開。

【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出
(丹參酚酸 B R_f 值為 0.17，迷迭香酸 R_f 值為 0.26)



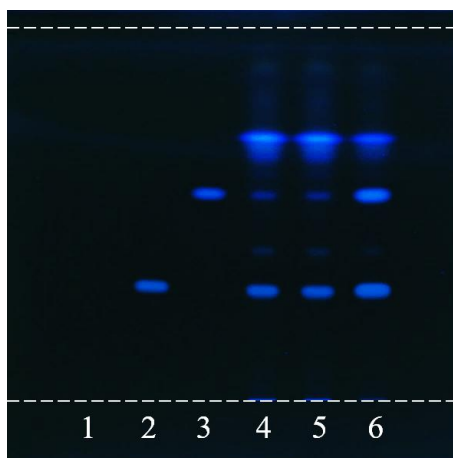
【展開劑 3】《香港中藥材標準第一冊》——三氯甲烷：甲苯：乙酸乙酯：甲醇：甲酸 (15：20：10：1：10)

【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出 (丹參酚酸 B R_f 值為 0.42，迷迭香酸 R_f 值為 0.63)



【展開劑 4】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲醇：甲酸 (10：8：3：2) ✓

【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出 (丹參酚酸 B R_f 值為 0.31，迷迭香酸 R_f 值為 0.56)



1：Blank

4，5：檢品溶液 2

2：丹參酚酸 B

6：Spike

3：迷迭香酸

建議溶媒系統：以臺灣中藥典展開法方式(【展開劑 1】)，無法分離檢測丹參酚酸 B 及迷迭香酸，其餘皆可分離檢測丹參酚酸 B 及迷迭香酸，因 R_f 值適中，且配制簡單，沒有使用含氯溶媒，故採用自行開發之【展開劑 4】。

四、觀察方式選擇

實驗日期：110/11/05

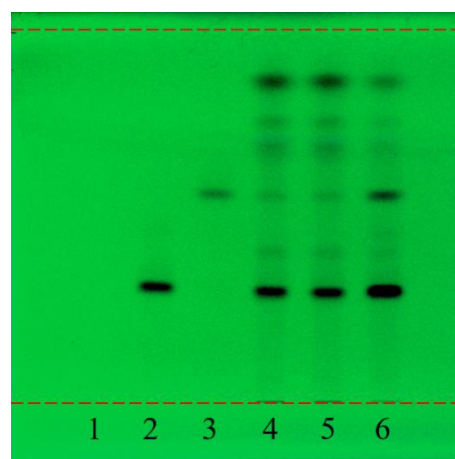
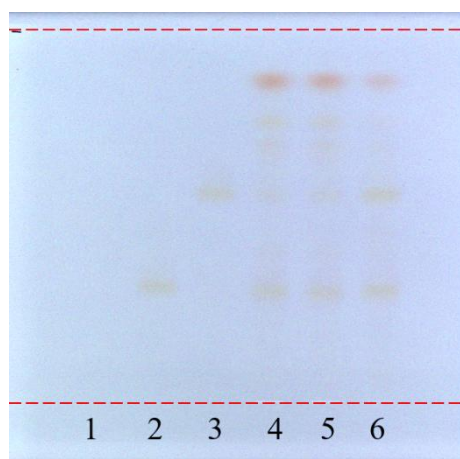
相對溼度(RH)：52%

溫度(RT)：22.6 °C

【展開劑 4】 (自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲醇：甲酸 (10：8：3：2)

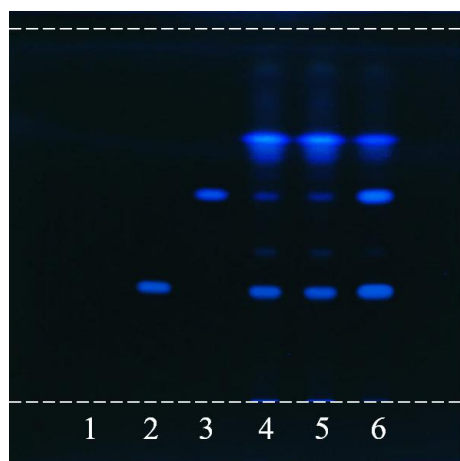
【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》—HPTLC 可見光檢出

【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》—HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》—HPTLC 紫外光(365 nm)檢出

✓



1：Blank

4，5：檢品溶液 2

2：丹參酚酸 B

6：Spike

3：迷迭香酸

建議觀察方式：以紫外光(365 nm)檢視下，有較明顯分離之條帶。

五、十批丹參藥材樣品檢測

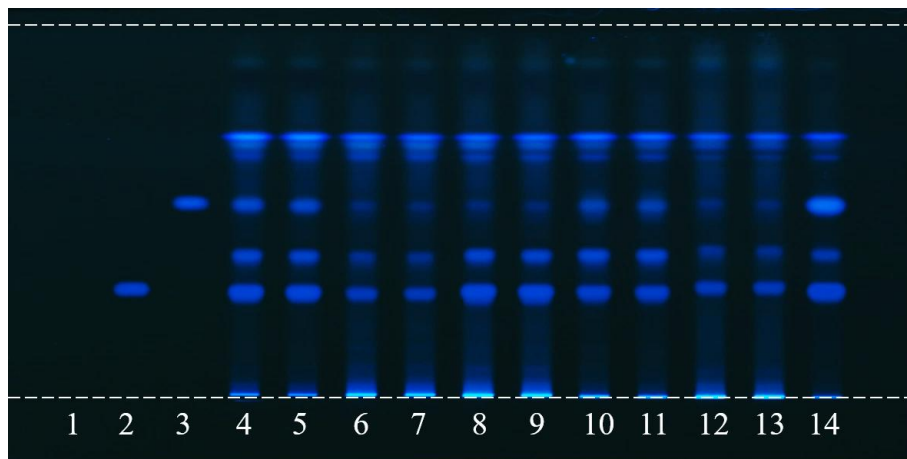
實驗日期：110/11/05

相對溼度(RH)：52%

溫度(RT)：22.6 °C

【展開劑 4】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲醇：甲酸 (10：8：3：2)

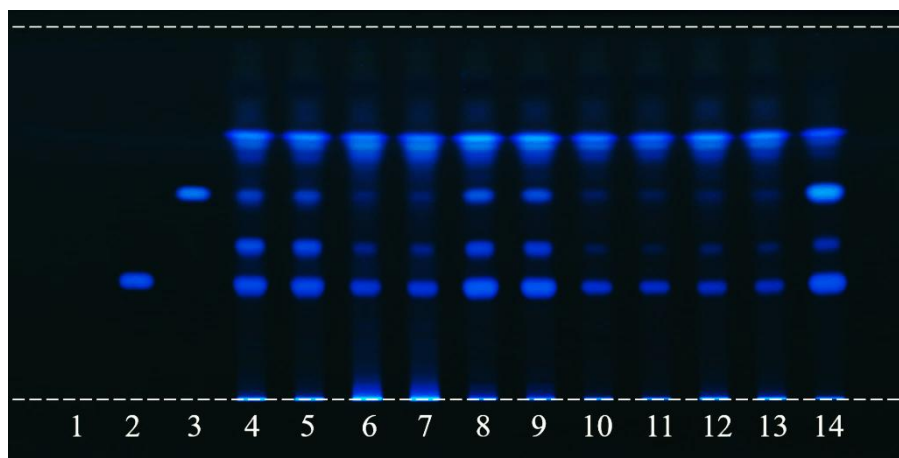
【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



1	Blank	8，9	檢品溶液 3 (NC5)
2	丹參酚酸 B (1.0 mg/mL)	10，11	檢品溶液 4 (ND)
3	迷迭香酸(1.0 mg/mL)	12，13	檢品溶液 5 (NDJ)
4，5	檢品溶液 1 (NC1)	14	Spike (檢品溶液 2)
6，7	檢品溶液 2 (NC4)		

【展開劑 4】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲醇：甲酸 (10：8：3：2)

【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



1	Blank	8, 9	檢品溶液 8 (SA1)
2	丹參酚酸 B (1.0 mg/mL)	10, 11	檢品溶液 9 (SA2)
3	迷迭香酸(1.0 mg/mL)	12, 13	檢品溶液 10 (SU1)
4, 5	檢品溶液 6 (NKOD)	14	Spike (檢品溶液 2)
6, 7	檢品溶液 7 (NR)		

結論與建議：以【萃取方法 2】及【展開劑 4】方式，顯示分離與檢出丹參酚酸 B、迷迭香酸效果較佳，以紫外光(365 nm)下檢視較佳。

丹參(飲片)

六、十批丹參飲片樣品檢測

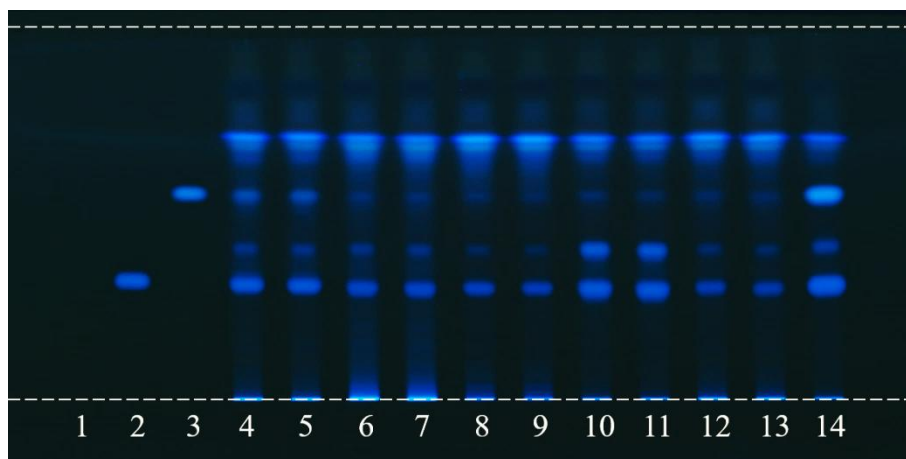
實驗日期：110/11/05

相對溼度(RH)：52%

溫度(RT)：22.6 °C

【展開劑 4】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲醇：甲酸 (10：8：3：2)

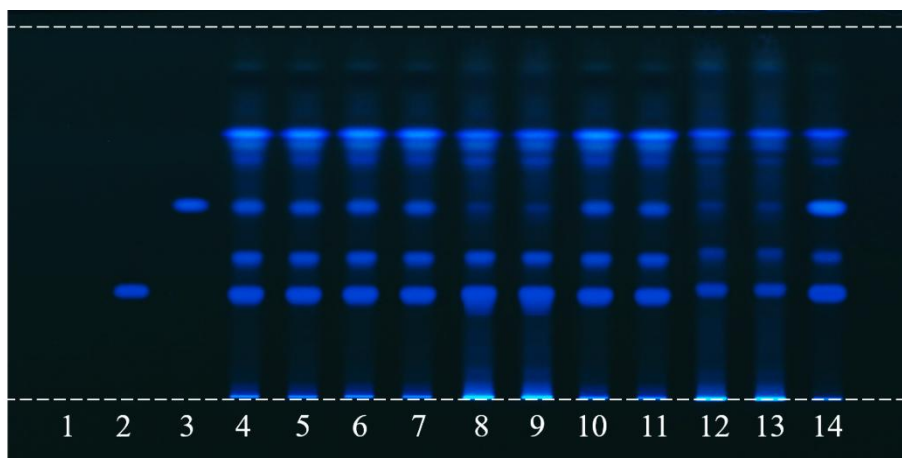
【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



1	Blank	8, 9	檢品溶液 3 (NF)
2	丹參酚酸 B (1.0 mg/mL)	10, 11	檢品溶液 4 (NJ)
3	迷迭香酸(1.0 mg/mL)	12, 13	檢品溶液 5 (NR)
4, 5	檢品溶液 1 (NC2-1)	14	Spike (檢品溶液 9)
6, 7	檢品溶液 2 (NC3-1)		

【展開劑 4】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲醇：甲酸 (10：8：3：2)

【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



1	Blank	8, 9	檢品溶液 8 (SCU)
2	丹參酚酸 B (1.0 mg/mL)	10, 11	檢品溶液 9 (SU1-1)
3	迷迭香酸(1.0 mg/mL)	12, 13	檢品溶液 10 (SU2)
4, 5	檢品溶液 6 (SA2-1)	14	Spike (檢品溶液 9)
6, 7	檢品溶液 7 (SC-1)		

結論與建議：飲片鑑別同藥材。

丹參飲片(SALVIAE MILTIORRHIZAE RADIX ET RHIZOMA)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店丹參飲片共 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 2998、Photodiode Array Detector；層析管柱 COSMOSIL 5C₁₈ AR-II-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 Mallinckrodt Baker Inc.；乙腈(99.9%)購自於 Sigma-Aldrich；磷酸(85%)購自於 Merck。

(二) 標準品

丹參酚酸 B (Salvianolic acid B)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

丹參飲片萃取溶媒同丹參藥材。

(二) 最佳萃取次數評估

丹參飲片萃取次數同丹參藥材。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品丹參酚酸 B 1.0 mg，加 1 mL 80%乙醇製成每 1 mL 含丹參酚酸 B 1000 μg 的標準品儲備溶液，並以 80%甲醇稀釋至 100 μg/mL 製成對照標準品溶液。

(四) 檢品溶液

準確稱取本品粉末約 0.15 g，置 50 mL 離心管中，準確加入 80%甲醇 25 mL，超音波振盪處理(功率 300W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，取上清液，殘渣部分重複提取 1 次，合併上清液，移入 50 mL 之容量瓶中，加 80%甲

醇至刻度，搖勻再過濾(syringe filter, PTFE 0.45 μm)，即得。

(五) 測定法

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標準品丹參酚酸 B 的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取丹參酚酸 B 標準品儲備溶液(1000 $\mu\text{g/mL}$)適量，以 80% 甲醇稀釋製成含丹參酚酸 B 分別為 400、300、100、50、40、30 $\mu\text{g/mL}$ 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

以丹參酚酸 B 濃度為 100 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以丹參酚酸 B 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：取同一批市售丹參飲片粉末，依丹參飲片檢品溶液製備方法平行製備五份丹參飲片檢品溶液，進樣測定，以丹參酚酸 B 的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售丹參飲片粉末，依丹參飲片檢品溶液製備方法製備丹參飲片檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以丹參酚酸 B 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 $\geq 3:1$ 時之濃度，作為偵測極限估計值。
2. 定量極限(Limit of Quantification, 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

取已知丹參酚酸 B 含量的丹參片粉末 5 份，每份準確稱取約 0.05 g，分別加入 0.5 mL 的丹參酚酸 B 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：COSMOSIL 5C₁₈ AR-II-C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：286 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	22	78
40	22	78

(十二) 臺灣市售丹參飲片含量測定

取 10 批市售丹參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 公式計算樣品丹參酚酸 B 的百分含量。

(十三) 丹參檢品之 UPLC 層析條件

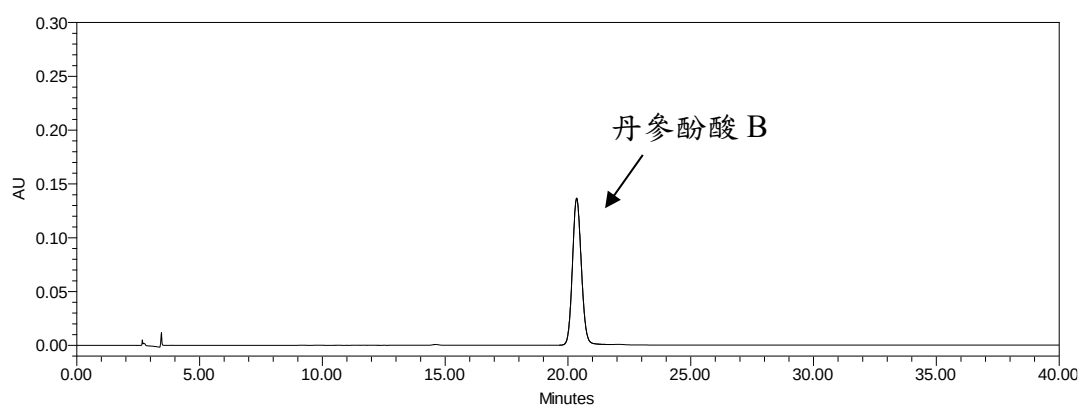
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC BEH C18 Column (100 × 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：286 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：室溫
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	22	78
10	22	78

五、結果

(一) 標準品丹參酚酸 B 之 HPLC 層析

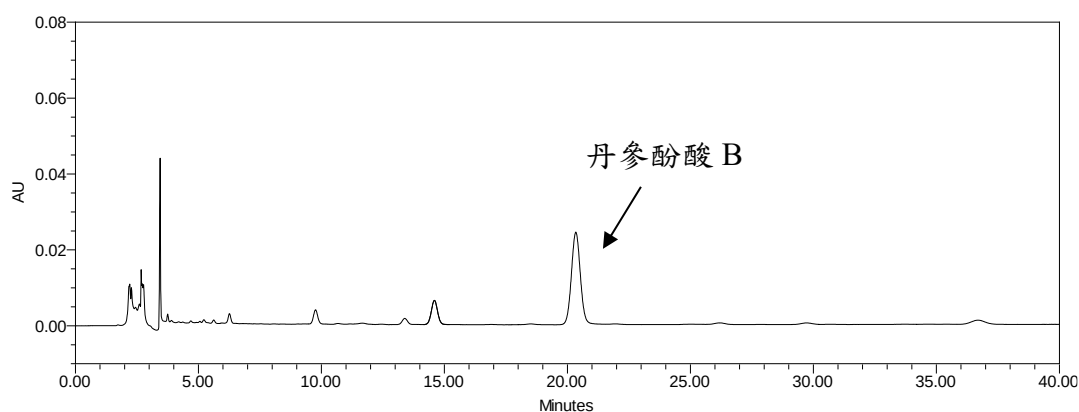
於滯留時間 20.3 分鐘處顯示丹參酚酸 B 標準品波峰(圖一)。



圖一、丹參酚酸 B 標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售丹參飲片檢品之 HPLC 層析

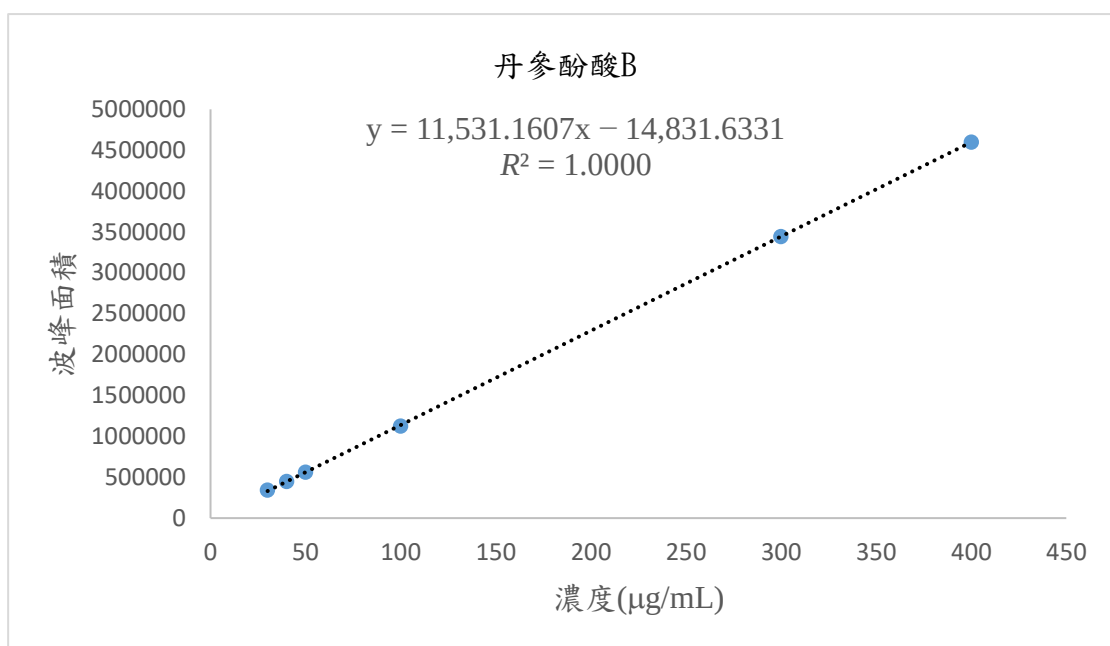
於滯留時間 20.3 分鐘顯示丹參飲片檢品中丹參酚酸 B 的波峰(圖二)。丹參酚酸 B 之分離率(R)為 10.2，托尾因子(T)為 1.04，均在系統適用性要求內。



圖二、市售丹參檢品之 HPLC 層析圖

(三) 標準品丹參酚酸 B 檢量線

經不同濃度丹參酚酸 B(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 $y = 11531.1607x - 14831.633$ ， $R^2 = 1.0000$ ，顯示濃度在 30–400 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、標準品丹參酚酸 B 之檢量線圖

表一、丹參酚酸 B 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
丹參酚酸 B	30-400	$y = 11531.1607x - 14831.633$	1.0000

(四) 精密度試驗

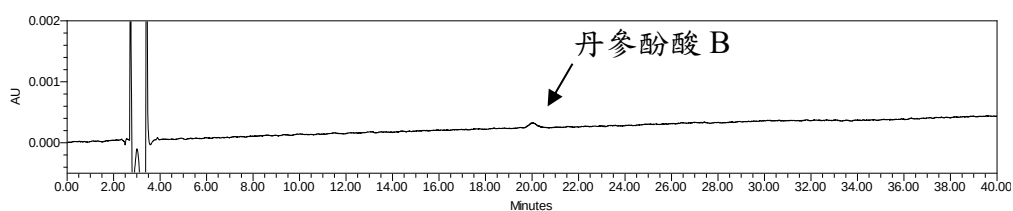
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，丹參酚酸 B 精密度之相對標準差為 0.17%，在系統適用性要求內。

(五) 重複性與穩定性試驗

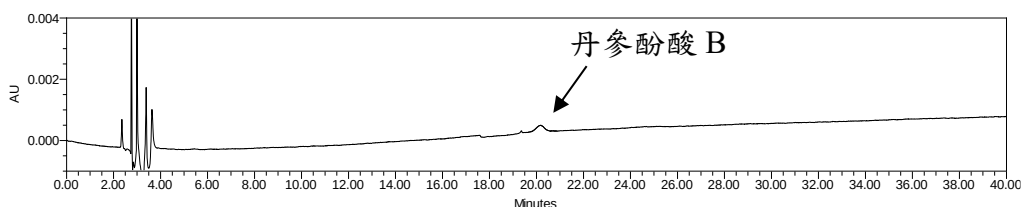
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，丹參酚酸 B 重複性之相對標準差為 1.97%，在系統適用性要求內。丹參酚酸 B 在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差為 0.78%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(六) 偵測極限與定量極限試驗

丹參酚酸 B 偵測極限為 0.03 µg/mL (圖四)，定量極限為 0.1 µg/mL (圖五)。



圖四、丹參酚酸 B 之偵測極限層析圖



圖五、丹參酚酸 B 之定量極限層析圖

表二、各項檢驗分析

檢測項目	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	100 µg/mL	0.17
重複性 (n=5)	檢品溶液(No. 3)	1.97
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No. 3)	0.78
偵測極限 (n=1)	0.03 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	0.1 µg/mL	-

(七) 添加回收率試驗

丹參酚酸 B 平均添加回收率為 105.1%，相對標準偏差為 2.83% (表三)。

表三、丹參酚酸 B 添加回收率

編號	飲片稱重(g) (No. 3)	含有量 (mg)	加入量 (mg)	測得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	R.S.D. (%)
1	0.0552	1.022	0.50	1.548	105.1	105.09	2.83
2	0.0559	1.035	0.50	1.571	107.0		
3	0.0555	1.028	0.50	1.564	107.1		
4	0.0545	1.009	0.50	1.540	106.2		
5	0.0541	1.002	0.50	1.502	100.0		

(八) 臺灣市售丹參飲片含量測定

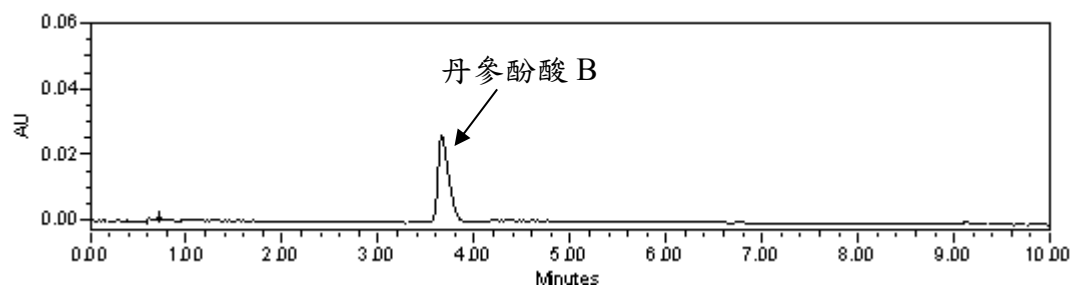
10 批丹參飲片之含量測定結果(乾燥品)如表四所示，丹參酚酸 B 之含量為 1.211–4.790%。建議丹參飲片指標成分丹參酚酸 B 的含量不得少於 1.5%。理論板數按丹參酚酸 B 波峰計算均應不低於 5000 (實際值為 24365)。

表四、臺灣市售丹參飲片檢品之丹參酚酸 B 含量

飲片編號(No.)	丹參酚酸 B 含量(%)
1 (SC-1)	1.357
2 (NF)	2.095
3 (NC-3-1)	1.852
4 (NJ-1)	1.907
5 (SA-2-1)	4.790
6 (NR-1)	4.343
7 (SU-1-1)	3.249
8 (SCU)	1.377
9 (SU-2)	1.211
10 (NC-2-1)	1.587
平均值±S.D.	2.377 ± 1.293

(九) 標準品丹參酚酸 B 之 UPLC 層析

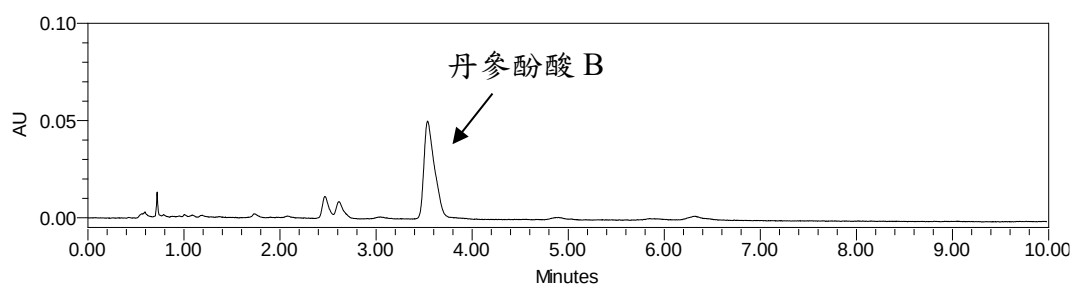
於滯留時間 3.66 分鐘顯示丹參酚酸 B 標準品的波峰(圖七)。



圖六、丹參酚酸 B 標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十) 市售丹參飲片檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 3.53 分鐘顯示丹參飲片檢品中丹參酚酸 B 的波峰(圖八)。



圖七、市售丹參飲片檢品之 UPLC 層析圖