

化橘紅

(CITRI GRANDIS EXOCARPIUM)

化橘紅 MI

一、藥材採購及鑑定.....	3
二、藥材性狀描述 (圖 1).....	3
三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2).....	3
四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3).....	4

化橘紅 藥材 HPLC

一、材料.....	9
二、儀器及層析管柱.....	9
三、實驗藥品及試劑來源.....	9
四、方法.....	9
五、結果.....	12

化橘紅 飲片 HPLC

一、材料.....	23
二、儀器及層析管柱.....	23
三、實驗藥品及試劑來源.....	23
四、方法.....	23
五、結果.....	26

化橘紅 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、十批化橘紅樣品檢測.....	35

六、十批化橘紅飲片樣品檢測.....	37
--------------------	----

化橘紅

(CITRI GRANDIS EXOCARPIUM)

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柚的未成熟或近成熟的乾燥外層果皮。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：化橘紅

生藥名：CITRI GRANDIS EXOCARPIUM

英文名：Pummelo Exocarp

基原：芸香科 Rutaceae 植物柚 *Citrus grandis* (L.) Osbeck 之未成熟或近成熟的乾燥外層果皮。

採收加工：於 8~10 月摘取未成熟或近成熟之果實，用沸水略燙過後，將果皮縱切成 5~7 瓣，剝下，修去部分白色中果皮，曬乾後再以水稍微浸潤，對折，壓平，乾燥，即得。

藥材性狀：本品呈 5、6 或 7 角星狀，習稱「五爪」、「六爪」或「七爪」，對折，展開後直徑 10~28 cm，厚 2~5 mm；外表面黃綠色或黃棕色，粗糙，密布圓形下凹油室，無毛，久儲者色深；內表面黃白色，有線狀或點狀筋脈突起(維管束)。斷面外側有下凹的油室 1 列，大小不一。氣微香，味苦、澀。

飲片性狀：本品飲片呈絲狀，外表面黃綠色或黃棕色，厚 2~5 mm，有下凹的點狀油室，久儲者色深；內表面黃白色，斷面外側有下凹的油室 1 列，大小不一。氣微香，味苦、澀。

生長分佈：常綠小喬木，通常有刺，喜日照、溫暖濕潤的氣候與排水良好之土壤，不耐寒。花盛開期 3~4 月，果實成熟期 10~12 月。多栽培於中國南方地區，如浙江、湖北、福建、廣東等地，臺灣亦有種植。

三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2)

1. 表皮細胞 1 層，外有角質層，細胞呈扁長方形、扁方形。
2. 油室大多 1 層，大小不一，直徑 200~500 μm ，呈長圓形，由分泌細胞組成，分泌細胞呈扁長方形或不規則形，內含有油滴。
3. 中果皮細胞類圓形，排列疏鬆。
4. 維管束縱橫散佈。
5. 草酸鈣方晶存在於薄壁細胞中，直徑約 10 μm ，並且多見於外側細胞。

四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3)

1. 本品粉末灰棕色或黃綠色。
2. 表皮細胞表面觀多角形或類方形，壁薄。
3. 氣孔類圓形，副衛細胞 5~7 個，不明顯。
4. 草酸鈣方晶可見，亦有雙錐形、菱形、柱形或不規則多面體，直徑約 10 μm ，偏光顯微鏡下呈亮白色至多彩色。
5. 導管細小，多為螺紋導管及網紋導管。
6. 石細胞少見，紋孔明顯，偏光顯微鏡下呈亮黃色。
7. 纖維亦少見，偏光顯微鏡下呈亮白色至多彩色。



圖 1A 化橘紅藥材圖



圖 1B 化橘紅飲片藥材圖

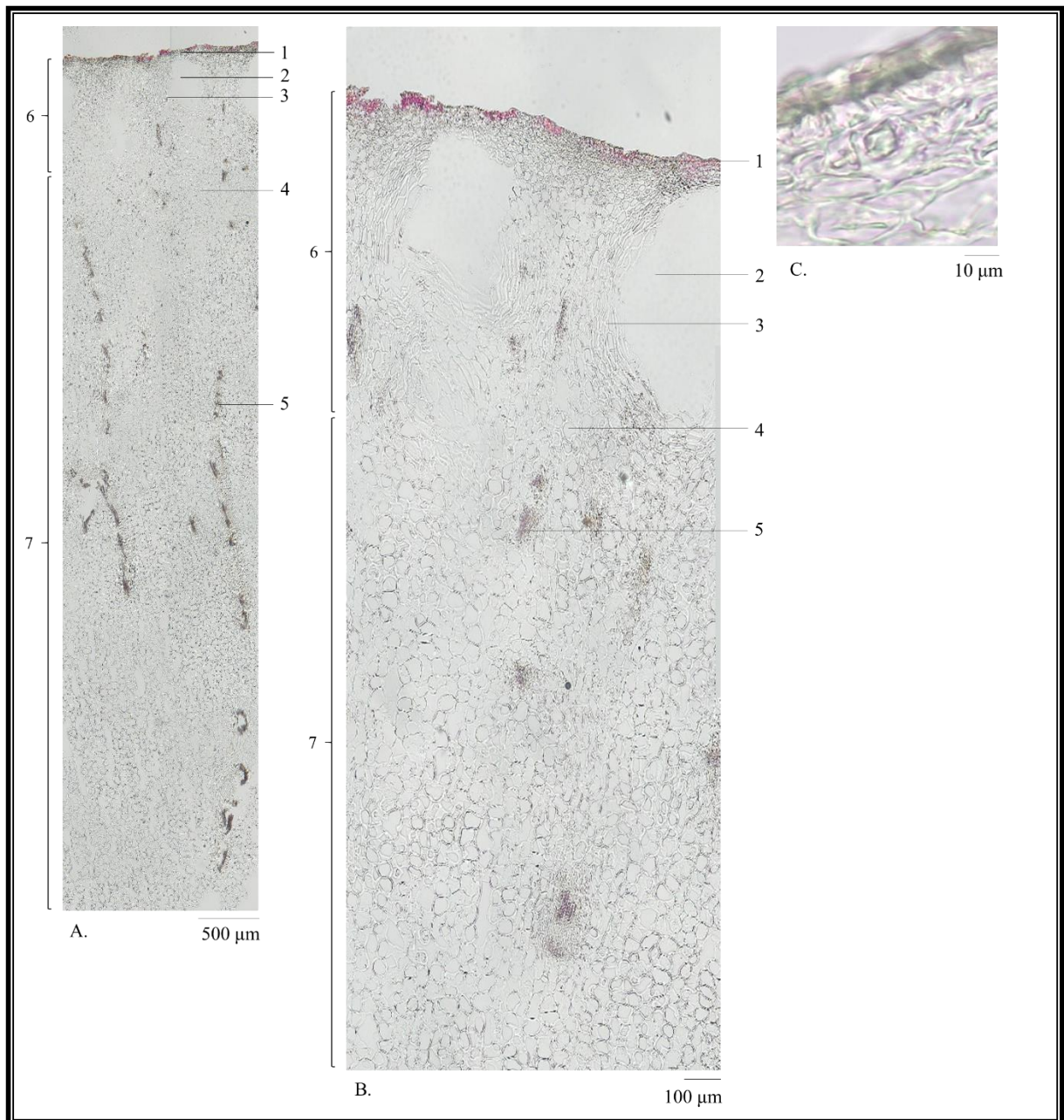


圖 2 化橘紅橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖 C 草酸鈣方晶

1.表皮 2.油室 3.分泌細胞 4.薄壁細胞 5.維管束 6.外果皮 7.中果皮

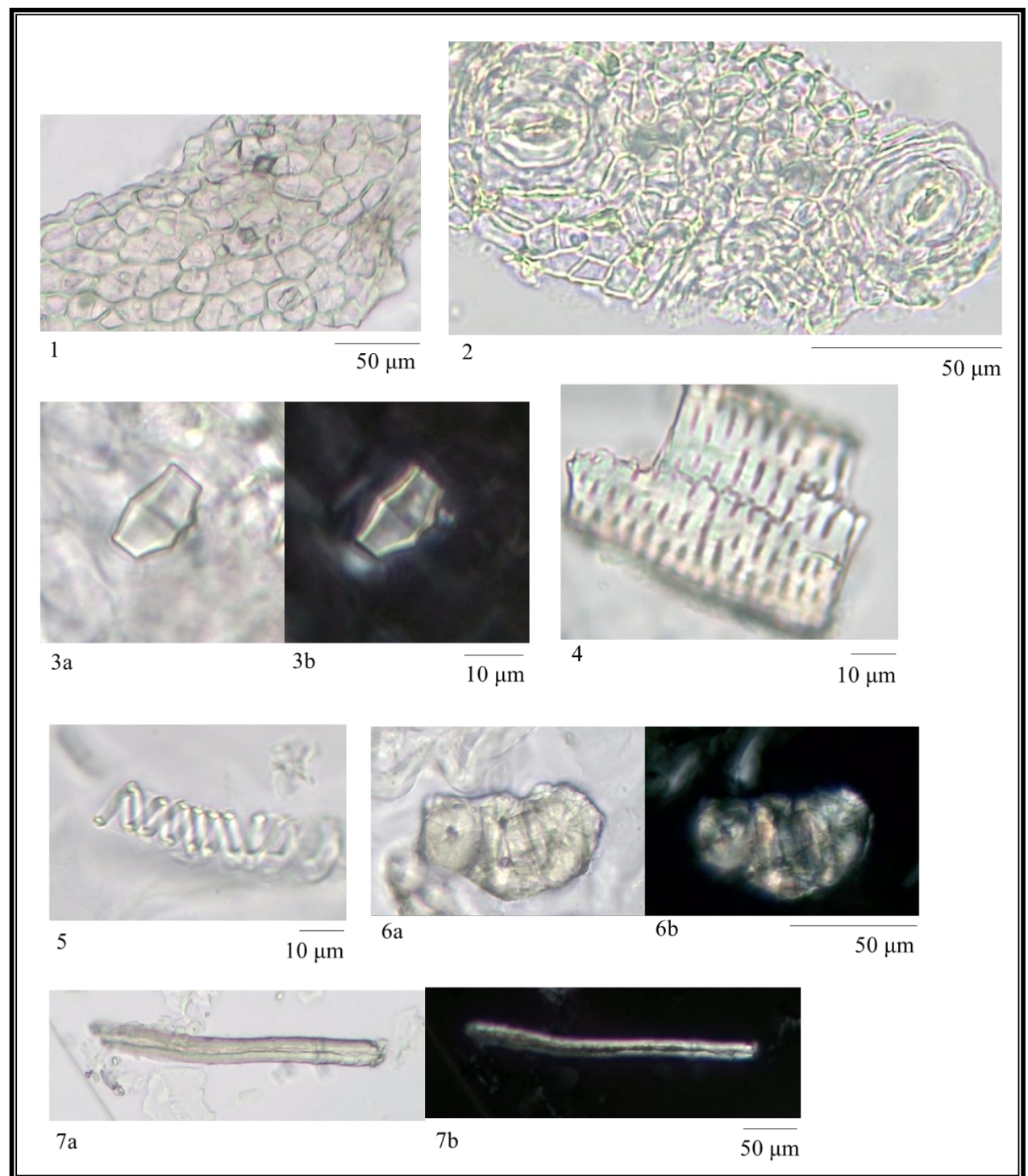


圖 3 化橘紅粉末顯微特徵圖

a. 光學顯微鏡下特徵 b. 偏光顯微鏡下特徵

1. 表皮細胞 2. 氣孔 3. 草酸鈣方晶 4. 網紋導管 5. 螺旋導管 6. 石細胞 7. 纖維

參考文獻

1. 衛生福利部臺灣中藥典第三版編輯工作小組編纂(2018)。臺灣中藥典第三版。台北市：衛生福利部。45~46 頁。
2. 張賢哲、蔡貴花編著(2003)。中藥炮製學第二次修訂版。台中：中國醫藥大學。457~458 頁。
3. 戴新民(1974)。現代本草中國藥材學下冊。啟業書局。874~876 頁。
4. 肖培根等編輯(2001)。新編中藥志第二卷。北京：化學工業出版社。156~161 頁。
5. 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。76~77 頁。
6. 陳士林、林余霖主編(2013)。中藥飲片標準圖鑑。福州：海峽出版發行集團·福建科學技術出版社。132~133 頁。
7. 國家藥典委員會(2009)。中華人民共和國藥典中藥材顯微鑑別彩色圖鑑。人民衛生出版社。124 頁。
8. 范崔生主編(1995)。中藥採收鑑別應用全書。江西科學技術出版社。413~414 頁。

化橘紅(CITRI GRANDIS EXOCARPIUM)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店化橘紅藥材共 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-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、Sampler 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

乙腈(99.9%)購自於 Sigma-Aldrich；乙醇(95%)購自於國韶實業有限公司；甲醇(HPLC grade)購自於 Merck。

(二) 標準品

標準品柚皮苷(Naringin)，來自於中醫藥司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取條件評估

取本品粉末 6 份，每份準確稱取 0.5 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%乙醇各 30 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，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柚皮苷最大波峰面積為最佳化橘紅萃取溶媒。

(二) 最佳萃取次數評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 0.5 g，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇 30 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，取濾液移入 30 mL 容量瓶中，加甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 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

準確稱取標準品柚皮苷 3.0 mg，加 2.0 mL 的甲醇製成每 1 mL 含柚皮苷 1500 μg 的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 製成對照標準品溶液。

(四) 檢品溶液

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 0.5 g，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇 30 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 2 次，合併濾液，移入 100 mL 容量瓶中，加甲醇至刻度，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，用標準曲線分別計算溶液中柚皮苷的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取柚皮苷標準品儲備溶液適量(1500 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，以甲醇稀釋成含柚皮苷分別為 500、300、100、60、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

以柚皮苷為 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以柚皮苷的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售化橘紅藥材粉末，依化橘紅藥材檢品溶液製備方法平行製備 5 份化橘紅檢品溶液，進樣測定，以柚皮苷的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售化橘紅藥材粉末，依化橘紅藥材檢品溶液製備方法製備化橘紅檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以柚皮苷的波峰面積為指標，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

取已知柚皮苷含量的化橘紅藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.2 g，分別加入柚皮苷 5.0 mg，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：UV 283 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)	甲醇(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	35	65
30	35	65

(十二) 臺灣市售化橘紅藥材含量測定

取 10 批市售化橘紅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 公式計算樣品柚皮苷的百分含量。

(十三) 化橘紅檢品之 UPLC 層析條件

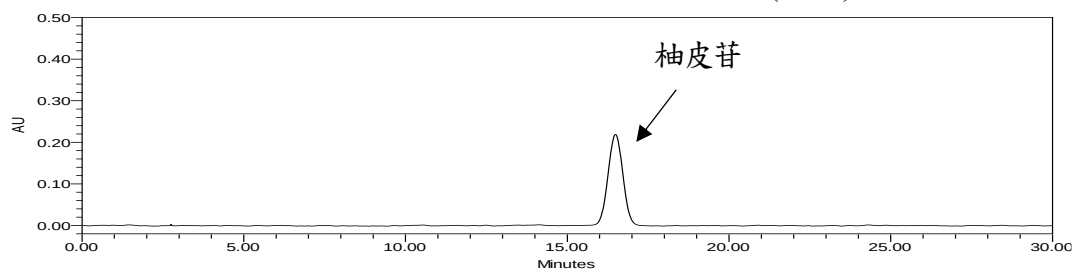
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 283 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	35	65
10	35	65

五、結果

(一) 標準品柚皮苷之 HPLC 層析

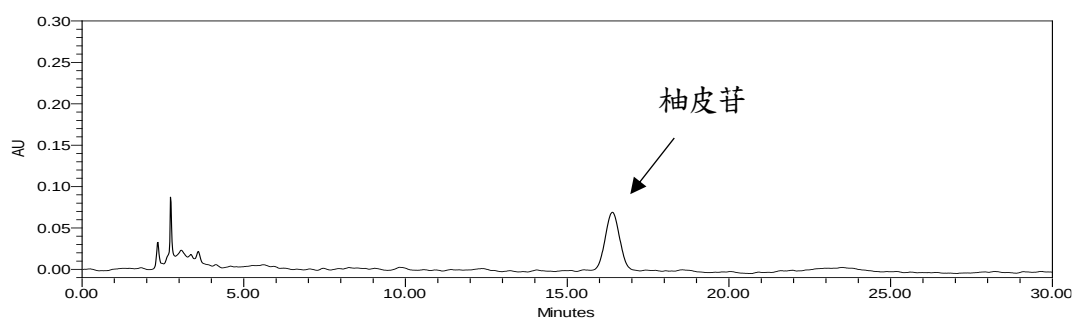
於滯留時間 16.49 分鐘處顯示柚皮苷標準品波峰(圖一)。



圖一、柚皮苷標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售化橘紅藥材檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 16.39 分鐘處顯示化橘紅藥材檢品中柚皮苷波峰(圖二)。柚皮苷分離率(R)為 5.92，拖尾因子(T)為 1.03，均在系統適用性要求內。



圖二、市售化橘紅藥材檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒評估

以甲醇為溶媒時，每克藥材重量所得柚皮苷的波峰面積最大，顯示甲醇為最佳萃取溶媒。

表一、不同溶媒萃取比較

溶媒	柚皮苷波峰面積	最佳萃取
甲醇	2561328	√
75%甲醇	2189037	
50%甲醇	2056721	
乙醇	1322029	
75%乙醇	2550248	
50%乙醇	2246106	

(四) 最佳萃取次數評估

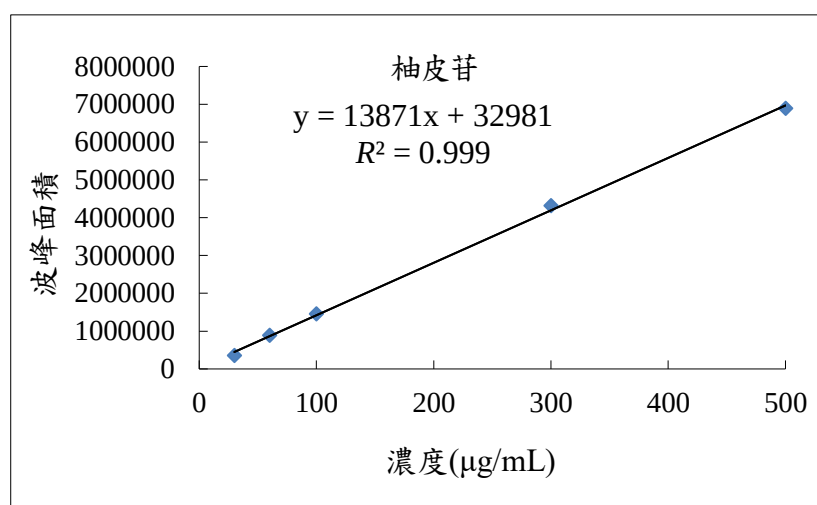
結果顯示萃取 3 次基本上已將柚皮苷萃取完全(萃取率大於 98%)。

表二、化橘紅藥材檢品萃取次數評估

甲醇萃取次數	柚皮苷波峰面積
第 1 次	2129917
第 2 次	550872
第 3 次	150054
第 4 次	6900
第 5 次	N.D.

(五) 標準品柚皮苷檢量線

經不同濃度柚皮苷(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 $y = 13871x + 32981$ ， $R^2 = 0.999$ ，顯示濃度在 30–500 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、柚皮苷之檢量線圖

表三、柚皮苷之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
柚皮苷	30–500	$y = 13871x + 32981$	0.999

(六) 精密度試驗

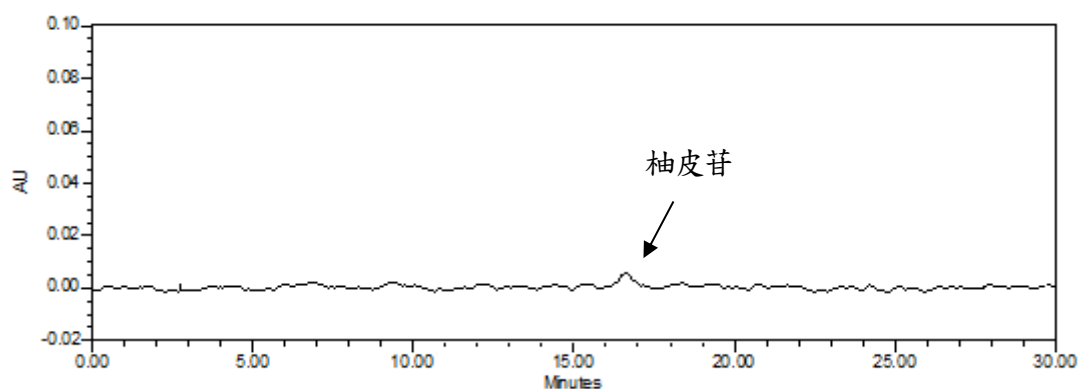
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，柚皮苷精密度之相對標準差為 0.87%，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

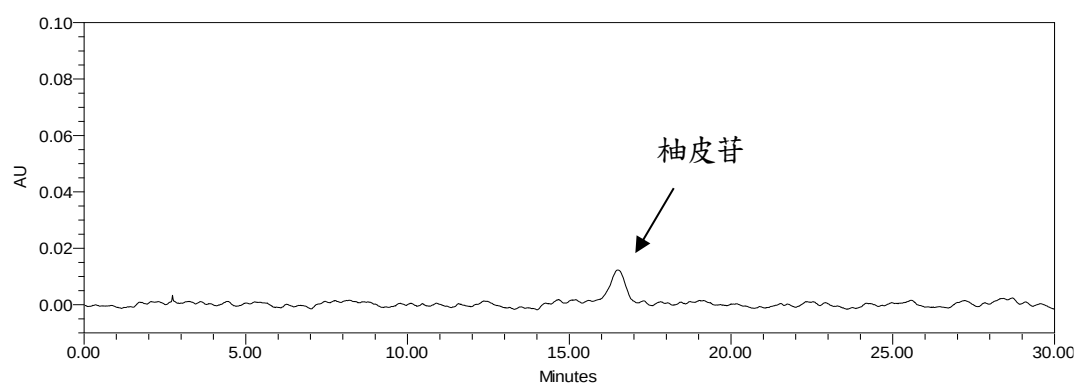
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，柚皮苷重複性之相對標準差為 1.17%，在系統適用性要求內。柚皮苷在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準為 1.11%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

柚皮苷偵測極限為 5.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 15 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、柚皮苷之偵測極限層析圖



圖五、柚皮苷之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	柚皮苷	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	60 $\mu\text{g/mL}$	0.87
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.5)	1.17
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.5)	1.11
偵測極限 (n=3)	5.0 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=3)	15 $\mu\text{g/mL}$	-

(九) 添加回收率試驗

柚皮苷平均添加回收率為 93.12%，相對標準偏差為 0.88%。

表五、柚皮苷添加回收率

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	0.2023	4.1997	5.0	8.8181	92.37	93.12	0.88
2	0.2023	4.1997	5.0	8.8824	93.65		
3	0.2023	4.1997	5.0	8.9143	92.73		
4	0.2023	4.1997	5.0	8.8364	93.00		
5	0.2023	4.1997	5.0	8.8285	92.58		

(十) 臺灣市售化橘紅藥材含量測定

10 批化橘紅藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，柚皮苷的含量為 1.451–3.857%，建議化橘紅藥材指標成分柚皮苷的含量不得少於 1.5%。理論板數按柚皮苷波峰計算應不低於 4000 (實際值為 6102)。

表六、臺灣市售化橘紅檢品之柚皮苷的含量

藥材編號(No.)	柚皮苷含量(%)
1 (NB)	3.857
2 (NC)	2.749
3 (NF)	2.405
4 (NJ)	2.796
5 (CA-1)	2.149
6 (CA-2)	1.754
7 (CA-3)	1.761
8 (CAA)	1.783
9 (SA)	1.451
10 (SC)	1.750
平均值±S.D.	2.245±0.726

(十一) 化橘紅藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售化橘紅藥材檢品溶液各 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：UV 320nm

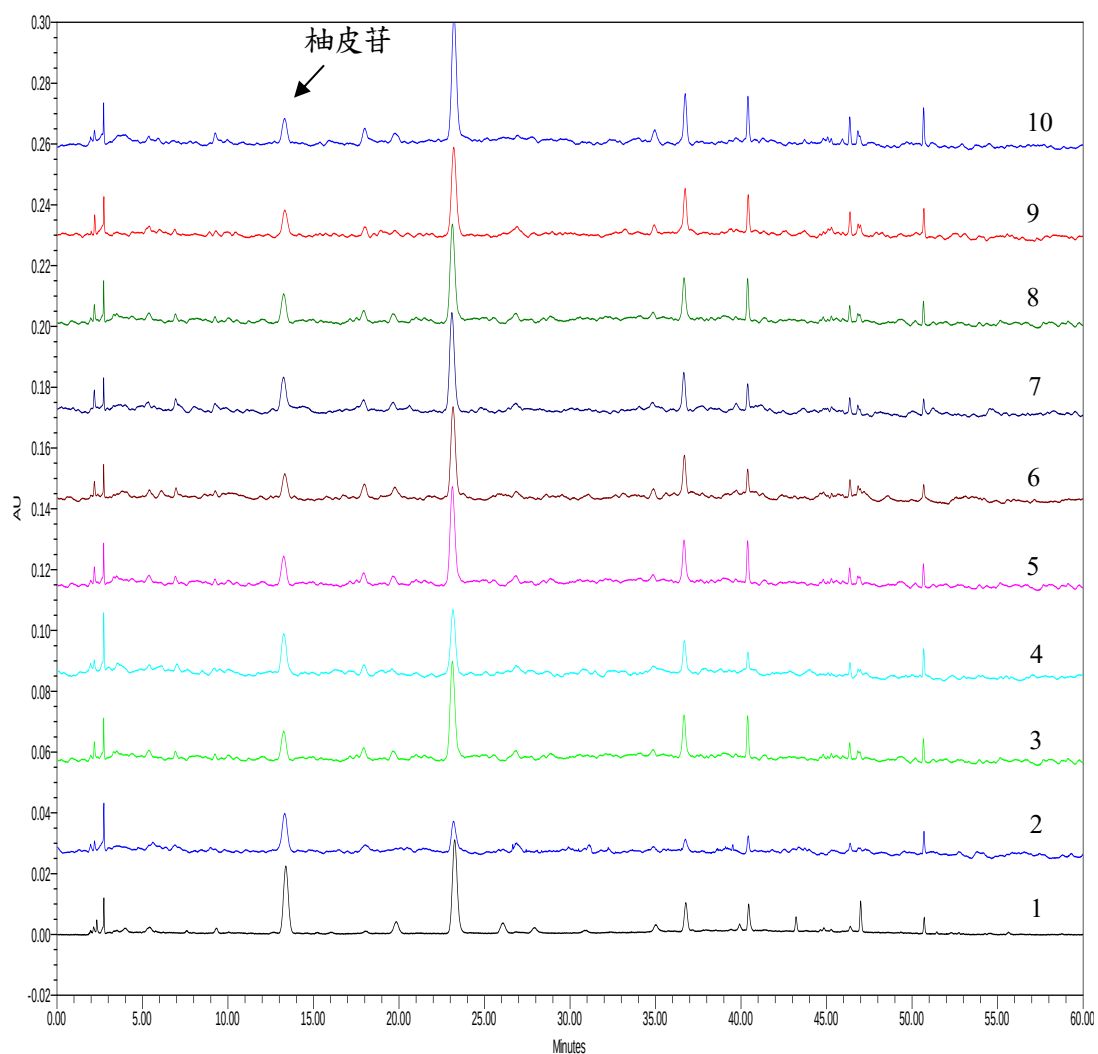
4. 管柱溫度：35 $^{\circ}$ C

量：10 μ L

6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	0.1%醋酸(v/v, %)
0	35	65
30	45	55
50	100	0
60	100	0

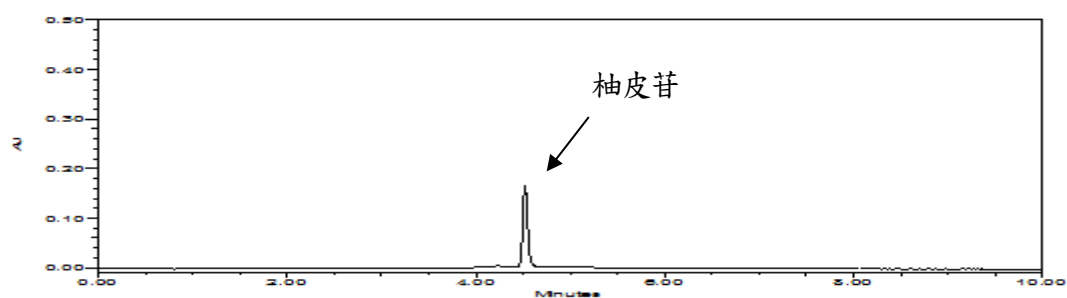
3. 流速：



圖六.、10 批化橘紅藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 標準品柚皮苷之 UPLC 層析

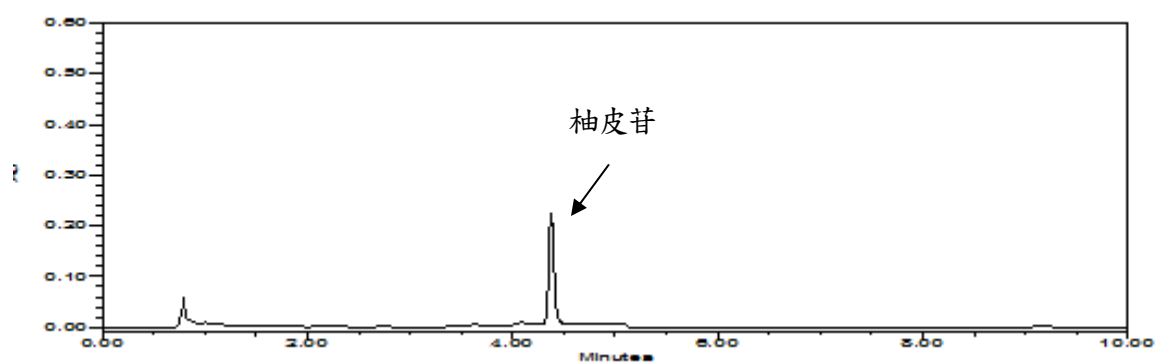
於滯留時間 4.45 別顯示柚皮苷標準品的波峰(圖七)。



圖七、柚皮苷標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售化橘紅藥材檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 4.39 化橘紅藥材檢品中柚皮苷的波峰(圖八)。

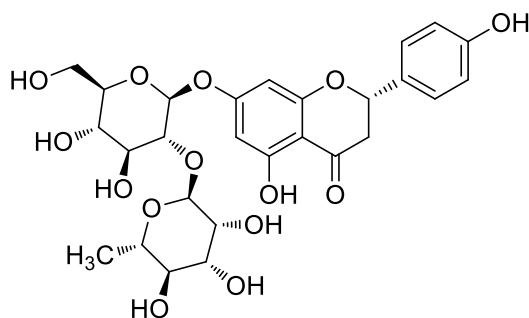


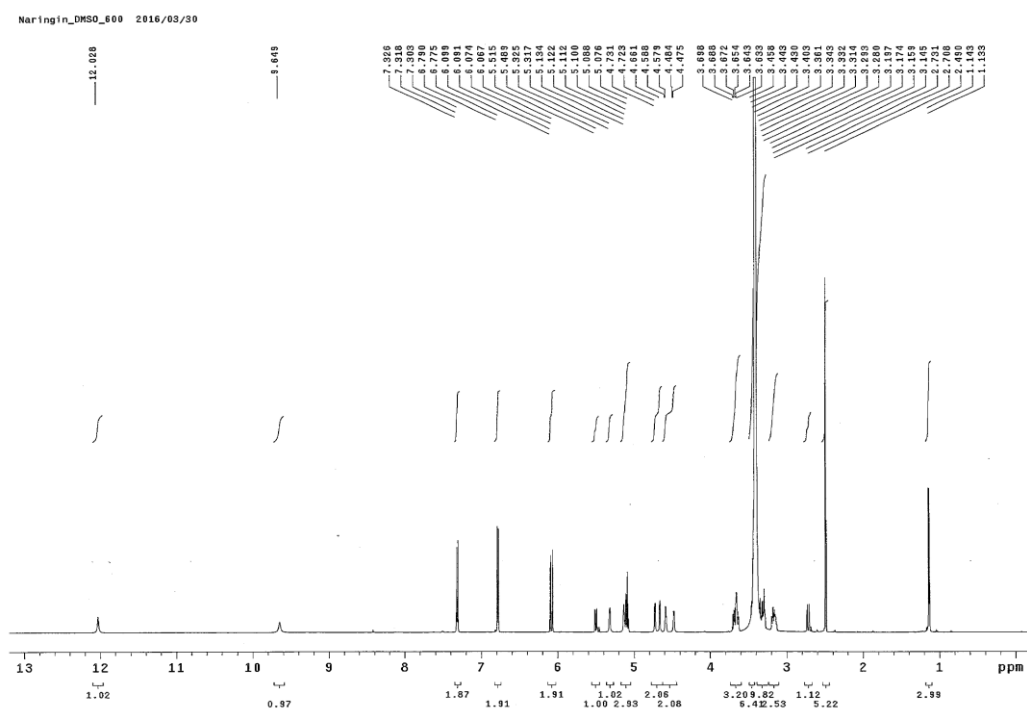
圖八、市售化橘紅藥材檢品之 UPLC 層析圖

(十四) 柚皮苷的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{27}H_{32}O_{14}$ ；分子量：580.54；熔點：166–168 °C；淡黃色粉末。

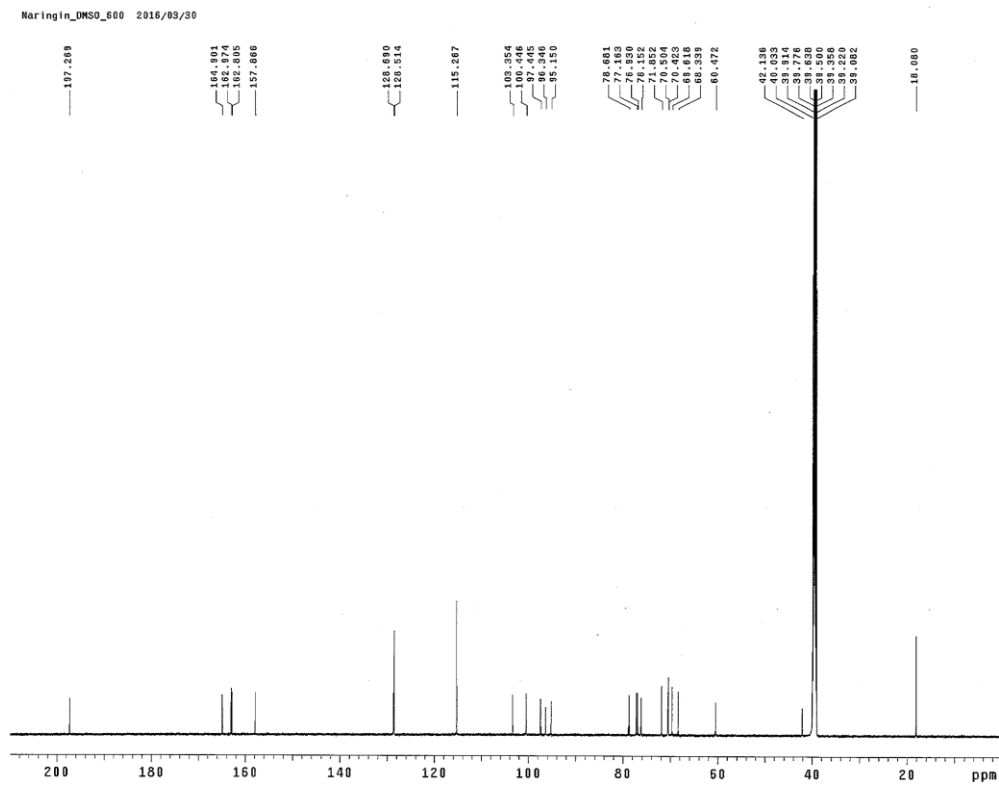
(十五) 柚皮苷的結構



(十六) 柚皮苷的 ^1H NMR 圖譜

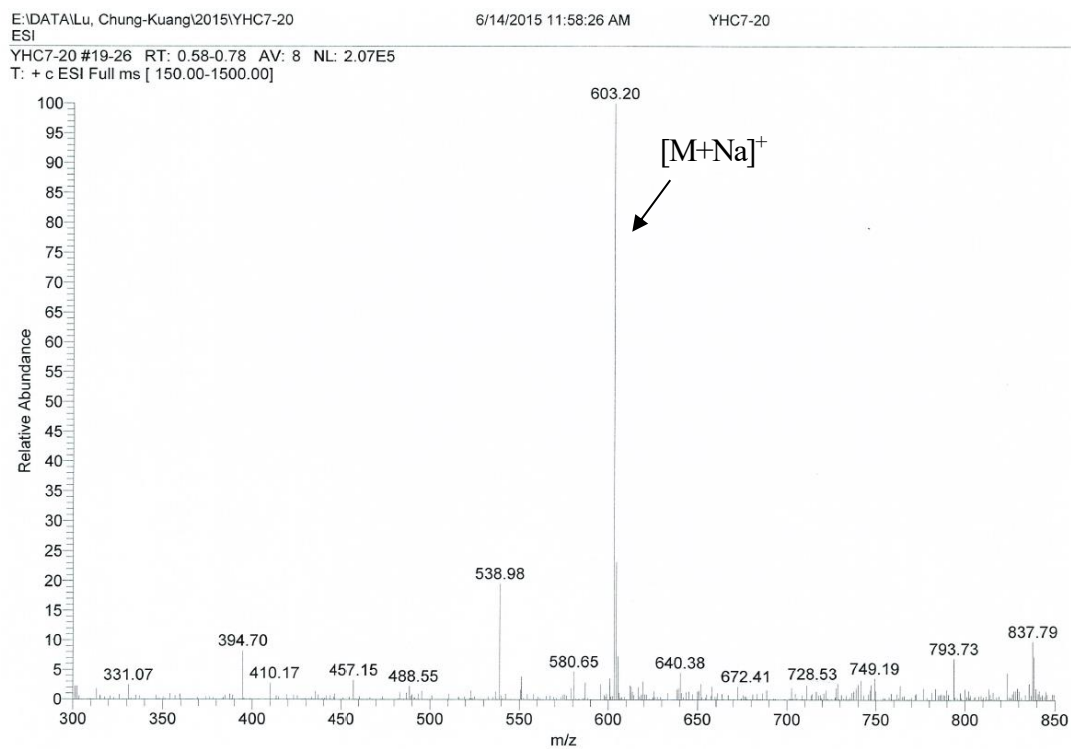
圖九、柚皮苷的 ^1H NMR 圖譜(DMSO- d_6)

(十七) 柚皮苷的 ^{13}C NMR 圖譜



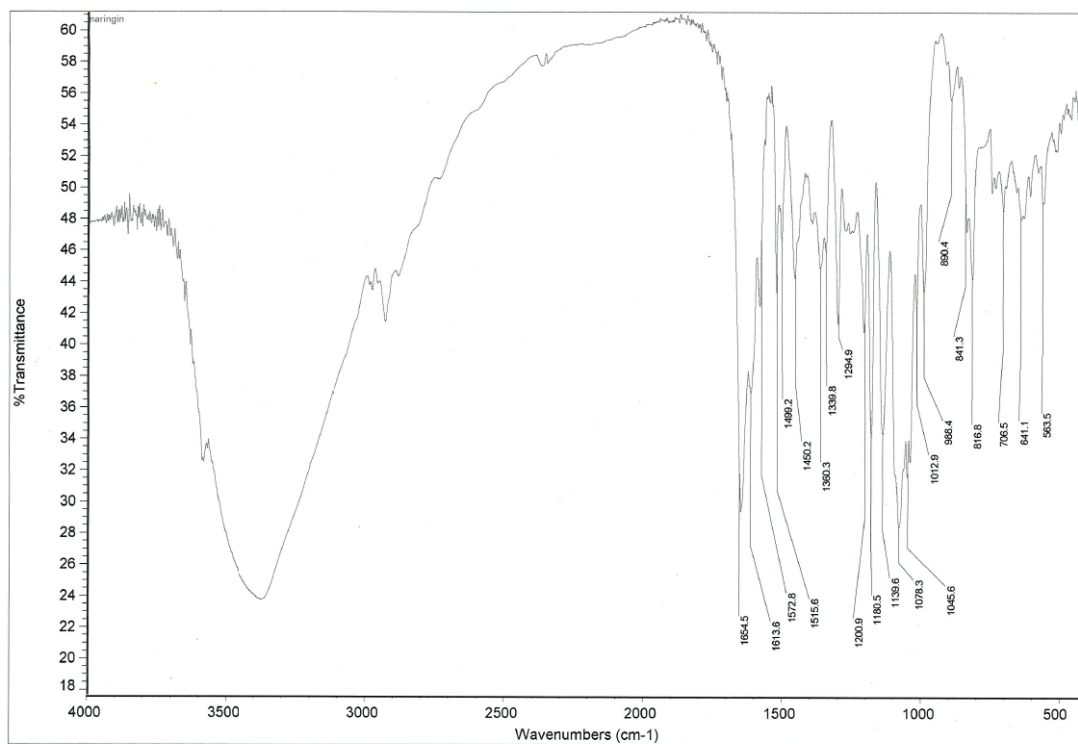
圖十、柚皮苷的 ^{13}C NMR 圖譜(DMSO- d_6)

(十八) 柚皮苷的 ESI-MS 圖譜



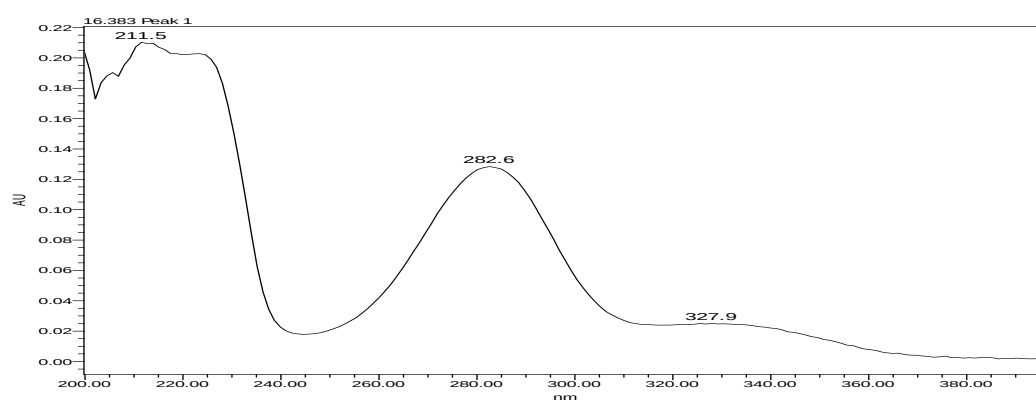
圖十一、柚皮苷的 ESI-MS 圖譜

(十九) 柚皮苷的 FTIR 圖譜



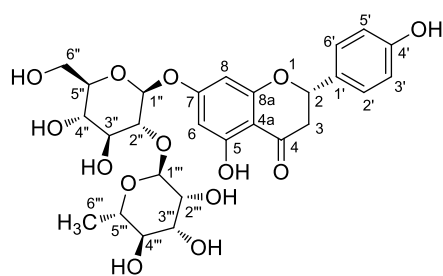
圖十二、柚皮苷的 FTIR 圖譜

(二十) 柚皮苷的 UV 圖譜



圖十三、柚皮苷的 UV 圖譜

(二十一) 柚皮苷的氫、碳化學位移



柚皮苷

表七、柚皮苷的氫、碳化學位移(DMSO-*d*₆)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	-	-
2	5.50 (dd, 13.2, 3.0)	78.7
3	2.72 (dd, 16.8, 3.0), 3.28–3.31 (m)	42.1
4	-	197.3
4a	-	103.3
5	-	163.0
6	6.07 (d, 2.4)	96.3
7	-	164.9
8	6.10 (d, 2.4)	95.2
8a	-	162.8
1'	-	128.7
2',6'	6.88(dd, 8.5, 2.0)	128.5
3',5'	6.94 (d, 8.5)	115.3
4'	-	157.9
1''	5.09 (d, 7.2)	97.4
2''	3.42–3.46 (m)	76.2
3''	3.14–3.18 (m)	69.6
4''	3.38–3.44 (m)	77.2
5''	3.38–3.44 (m)	76.9
6''	3.40–3.44 (m), 3.62–3.66 (m)	60.5
1'''	5.08 (d, 6.0)	100.4
2'''	3.64–3.68 (m)	70.4*
3'''	3.27–3.32 (m)	70.5*
4'''	3.16–3.20 (m)	71.9
5'''	3.66–3.70 (m)	68.3
6'''	1.14 (d, 6.0)	18.1
5-OH	12.0 (s)	-
4'-OH	9.65 (br s)	-

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

化橘紅飲片(CITRI GRANDIS EXOCARPIUM)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店化橘紅飲片共 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-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、Sampler 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

乙腈(99.9%)購自於 Sigma-Aldrich；乙醇(95%)購自於國韶實業有限公司；甲醇(HPLC grade)購自於 Merck。

(二) 標準品

標準品柚皮苷(Naringin)來自於中醫藥司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取條件評估

化橘紅飲片最佳萃取條件同化橘紅藥材。

(二) 最佳萃取次數評估

化橘紅飲片最佳萃取時間同化橘紅藥材。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品柚皮苷 3.0 mg，加 2.0 mL 的甲醇製成每 1 mL 含柚皮苷 1500 μg 的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 60 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 0.5 g，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇 30 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 2 次，合併濾液，移入 100 mL 容量瓶中，加甲醇至刻度，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，用標準曲線分別計算溶液中柚皮苷的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取柚皮苷標準品儲備溶液適量(1500 $\mu\text{g/mL}$)，以甲醇稀釋成含柚皮苷分別為 500、300、100、60、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

以柚皮苷為 60 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以柚皮苷的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售化橘紅飲片粉末，依化橘紅飲片檢品溶液製備方法平行製備 5 份化橘紅飲片檢品溶液，進樣測定，以柚皮苷的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售化橘紅飲片粉末，依化橘紅飲片檢品溶液製備方法製備化橘紅飲片檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以柚皮苷的波峰面積為指標，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

取已知柚皮苷含量的化橘紅飲片粉末 5 份，每份準確稱取約 0.2 g，分別加入柚皮苷 5.0 mg，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：UV 283 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)	甲醇(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	35	65
30	35	65

(十二) 臺灣市售化橘紅飲片含量測定

取 10 批市售化橘紅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 公式計算樣品柚皮苷的百分含量。

(十三) 化橘紅飲片檢品之 UPLC 層析條件

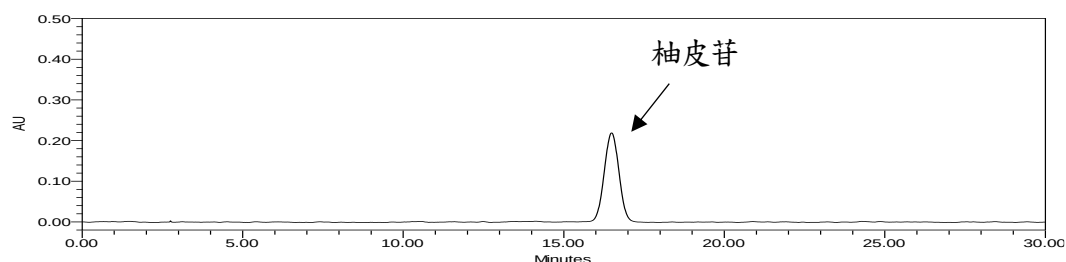
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 283 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	35	65
10	35	65

五、結果

(一) 標準品柚皮苷之 HPLC 層析

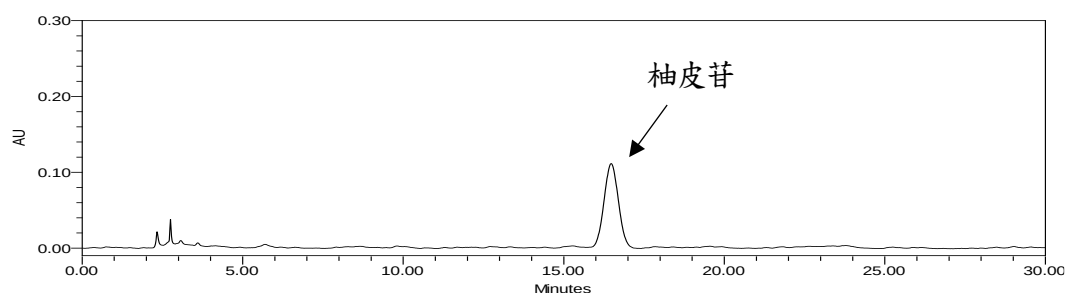
於滯留時間 16.49 分鐘處顯示柚皮苷標準品波峰(圖一)。



圖一、柚皮苷標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售化橘紅飲片檢品之 HPLC 層析

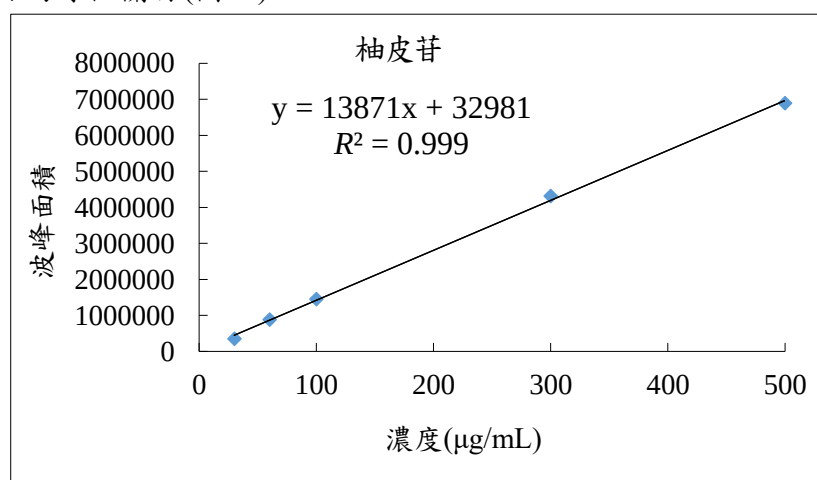
於滯留時間 16.47 分鐘處顯示化橘紅檢品中柚皮苷波峰(圖二)。柚皮苷分離率(R)為 9.91，拖尾因子(T)為 1.01，均在系統適用性要求內。



圖二、市售化橘紅飲片檢品之 HPLC 層析圖

(三) 標準品柚皮苷檢量線

經不同濃度柚皮苷(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 $y = 13871x + 32981$ ， $R^2 = 0.999$ ，顯示濃度在 30–500 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、柚皮苷之檢量線圖

表一、柚皮苷之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
柚皮苷	30–500	$y = 13871x + 32981$	0.999

(四) 精密度試驗

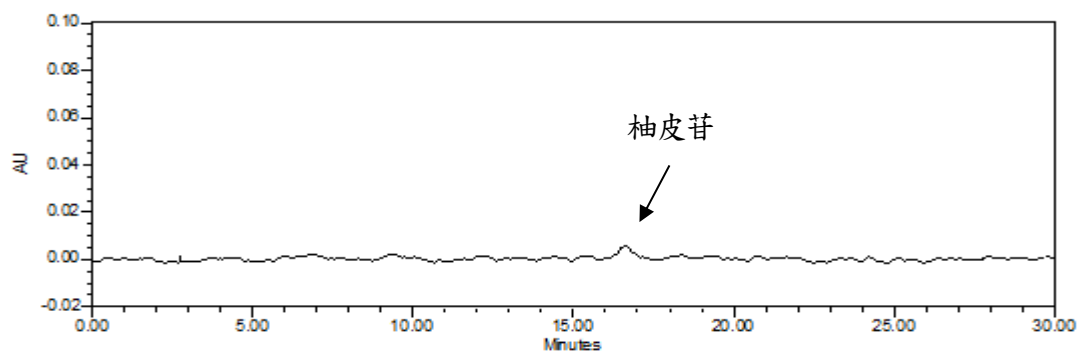
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，柚皮苷精密度之相對標準差為 0.87%，在系統適用性要求內。

(五) 重複性與穩定性試驗

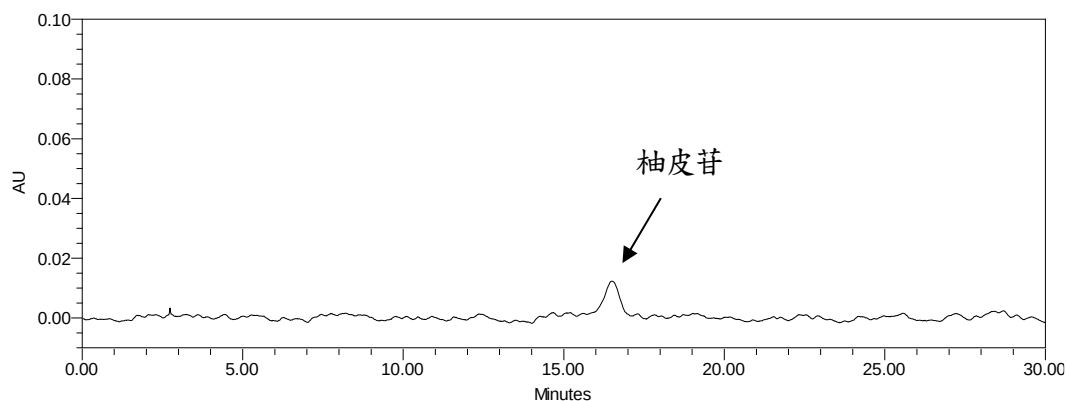
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，柚皮苷重複性之相對標準差為 0.71%，在系統適用性要求內。柚皮苷在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準為 0.81%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(六) 偵測極限與定量極限試驗

柚皮苷偵測極限為 $5.0 \mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 $15 \mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、柚皮苷之偵測極限層析圖



圖五、柚皮苷之定量極限層析圖

表二、各項檢驗分析

檢測項目	柚皮苷	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	60 µg/mL	0.87
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.6)	0.71
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.6)	0.81
偵測極限 (n=3)	5.0 µg/mL	-
定量極限 (n=3)	15 µg/mL	-

(七) 添加回收率試驗

柚皮苷平均添加回收率為 92.04%，相對標準偏差為 1.06%。

表三、柚皮苷添加回收率

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	0.2001	4.2589	5.0	8.8959	92.74	92.04	1.06
2	0.2001	4.2589	5.0	8.7996	90.81		
3	0.2001	4.2589	5.0	8.8176	91.17		
4	0.2001	4.2589	5.0	8.8863	92.55		
5	0.2001	4.2589	5.0	8.9060	92.94		

(八) 臺灣市售化橘紅飲片含量測定

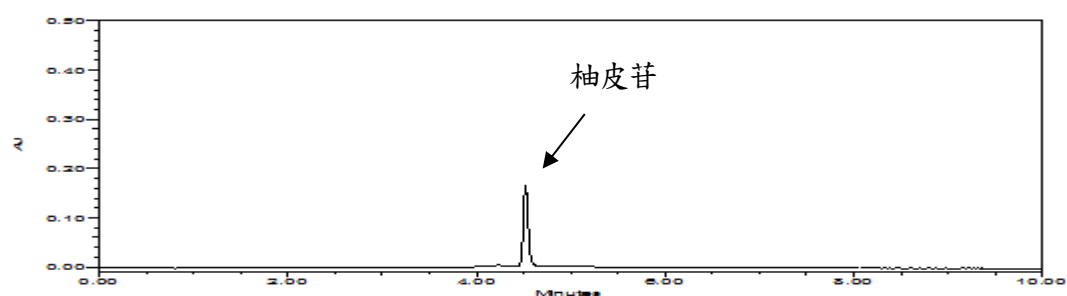
10 批化橘紅飲片之含量測定結果(乾燥品)如表四所示，柚皮苷的含量為 2.331–3.228%，建議化橘紅飲片指標成分柚皮苷的含量不得少於 1.5%。理論板數按柚皮苷波峰計算應不低於 4000 (實際值為 6176)。

表四、臺灣市售化橘紅飲片檢品之柚皮苷的含量

藥材編號(No.)	柚皮苷含量(%)
1 (NC)	2.366
2 (NF)	2.341
3 (NJ)	3.140
4 (NR)	3.118
5 (CA)	3.123
6 (CAB)	2.331
7 (SA)	2.471
8 (SC)	3.024
9 (SE)	3.040
10 (SG)	3.228
平均值±S.D.	2.818±0.385

(九) 標準品柚皮苷之 UPLC 層析

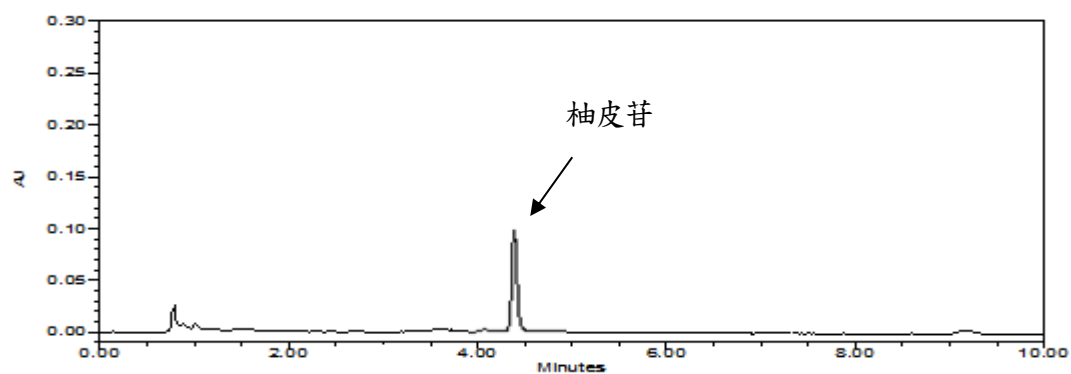
於滯留時間 4.45 分鐘處分別顯示柚皮苷標準品的波峰(圖六)。



圖六、柚皮苷標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十) 市售化橘紅飲片檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 4.36 分鐘處顯示化橘紅飲片檢品中柚皮苷的波峰(圖七)。



圖七、市售化橘紅飲片檢品之 UPLC 層析圖

化橘紅

中文名：化橘紅

生藥拉丁名：CITRI GRANDIS EXOCARPIUM

英文名：Pummelo Exocarp

基 原：本品為芸香科 Rutaceae 植物柚 *Citrus grandis* (L.) Osbeck 之未成熟或近成熟之乾燥外層果皮。

一、方法

- (一) 檢 品 溶 液 【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版 2018) ✓
——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 2020)
——取本品粉末 0.5 g，加甲醇 5 mL，超音波振盪 15 分鐘，過濾，取濾液作為檢品溶液。
- (二) 對照標準品 取柚皮苷(Naringin)對照標準品，加甲醇製成每 1 mL 含 1 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】(臺灣中藥典第三版 2018)
——乙酸乙酯：甲醇：水 (10：2：3)，10°C 以下分層的上層溶液。
 【展開劑 2】(中華人民共和國藥典 2020)
——乙酸乙酯：丙酮：無水乙酸：水 (8：4：0.3：1)
 【展開劑 3】(修飾臺灣中藥典第三版 2018) ✓
——乙酸乙酯：甲醇：水 (100：17：13)
- (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 5%三氯化鋁試液(AlCl₃/EtOH TS)噴霧後，置於主波長 365 nm 之紫外燈照射下檢視。

二、萃法選擇及濃度測試

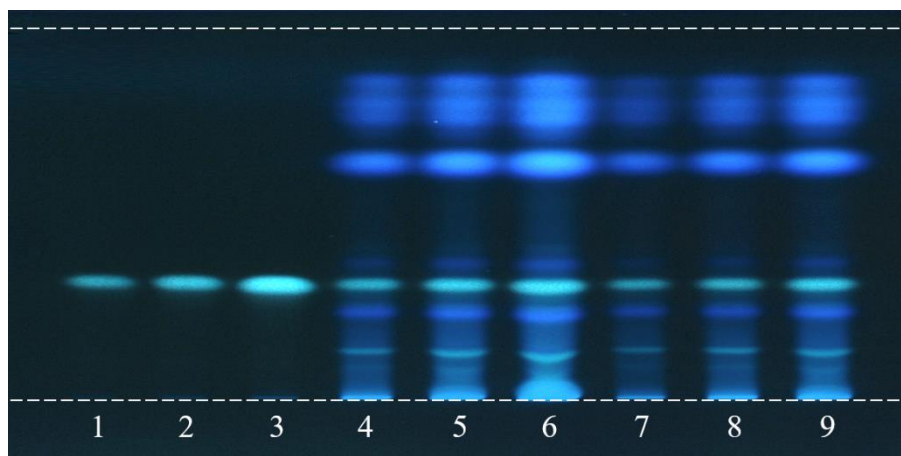
實驗日期：109/09/29

相對溼度(RH)：61%

溫度(RT)：25.6 °C

【展開劑 3】(修飾臺灣中藥典第三版 2018)——乙酸乙酯：甲醇：水 (100：17：13)

—HPTLC 5%三氯化鋁/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出



編號	名稱	點注量
1，2，3	柚皮苷(1.0 mg/mL)	1，2，5 μ L
4，5，6	檢品溶液 5【萃取方法 1】	1，2，5 μ L
7，8，9	檢品溶液 5【萃取方法 2】	1，2，5 μ L

建議萃法：2 種萃法之檢品溶液中皆有分離與檢出標準品柚皮苷，維持臺灣中藥典第三版 2018 之【萃取方法 1】。

建議點注量：柚皮苷 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 1】2 μ L。

三、溶媒系統選擇

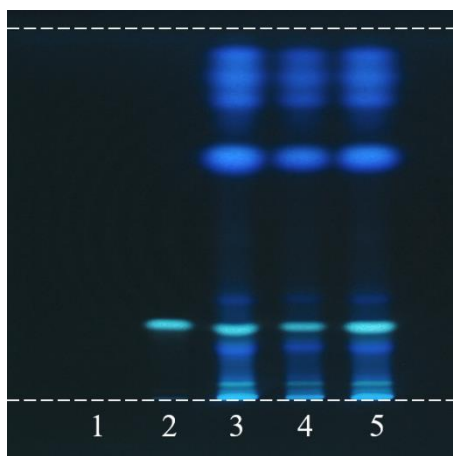
實驗日期：109/09/29

相對溼度(RH)：61%

溫度(RT)：25.6 °C

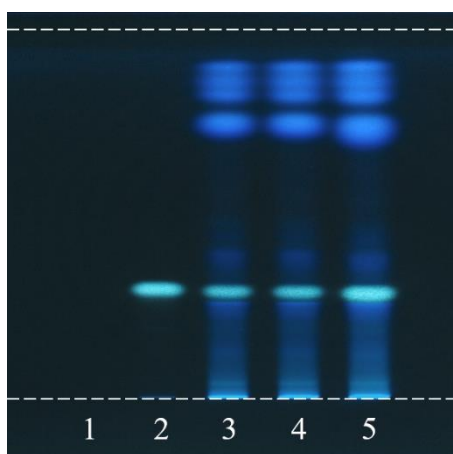
【展開劑 1】 (臺灣中藥典第三版 2018)——乙酸乙酯：甲醇：水 (10：2：3)，
10°C 以下分層的上層溶液。

【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 5%三氯化鋁/乙醇顯色後
紫外光(365 nm)檢出(柚皮苷 R_f 值為 0.22)



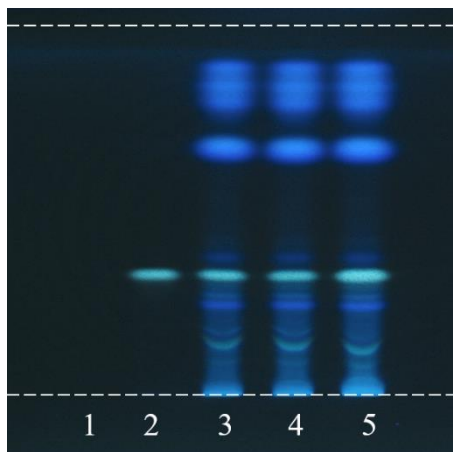
【展開劑 2】 (中華人民共和國藥典 2020)——乙酸乙酯：丙酮：無水乙酸：
水 (8：4：0.3：1)

【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 5%三氯化鋁/乙醇顯色
後紫外光(365 nm)檢出(柚皮苷 R_f 值為 0.29)



【展開劑 3】(修飾臺灣中藥典第三版 2018)——乙酸乙酯：甲醇：水 (100：17：13)✓

【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 5%三氯化鋁/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出(柚皮苷 R_f 值為 0.34)



1：Blank

2：柚皮苷

3，4：檢品溶液

5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 1】及【展開劑 3】方式，柚皮苷之 R_f 值適中且方法簡單，故採用修飾臺灣中藥典第三版 2018 之【展開劑 3】。

四、觀察方式選擇

實驗日期：109/09/29

相對溼度(RH)：61%

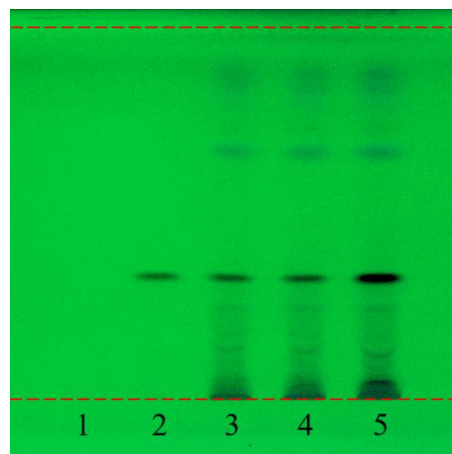
溫度(RT)：25.6 °C

【展開劑 3】(修飾臺灣中藥典第三版 2018)——乙酸乙酯：甲醇：水 (100：17：13)

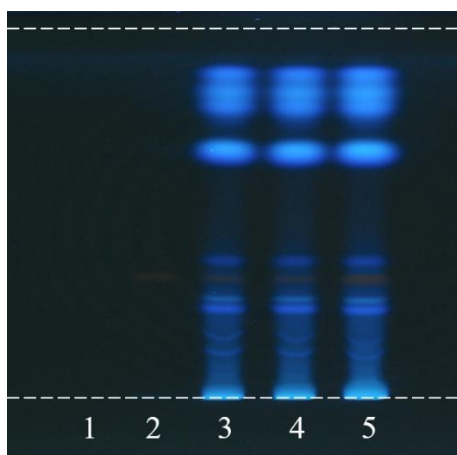
【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版 2018) —HPTLC 可見光檢出



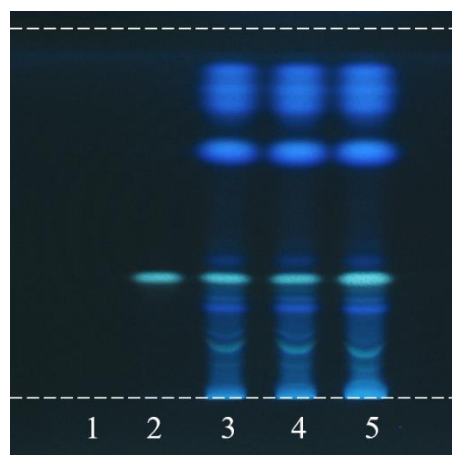
【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版 2018) —HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版 2018) —HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版 2018) — HPTLC 5%三氯化鋁/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出✓



1：Blank

2：柚皮苷

3，4：檢品溶液 5

5：Spike

建議觀察方式：5%三氯化鋁/乙醇顯色後，於紫外光(365 nm)檢視，有較明顯分離之條帶。

五、十批化橘紅樣品檢測

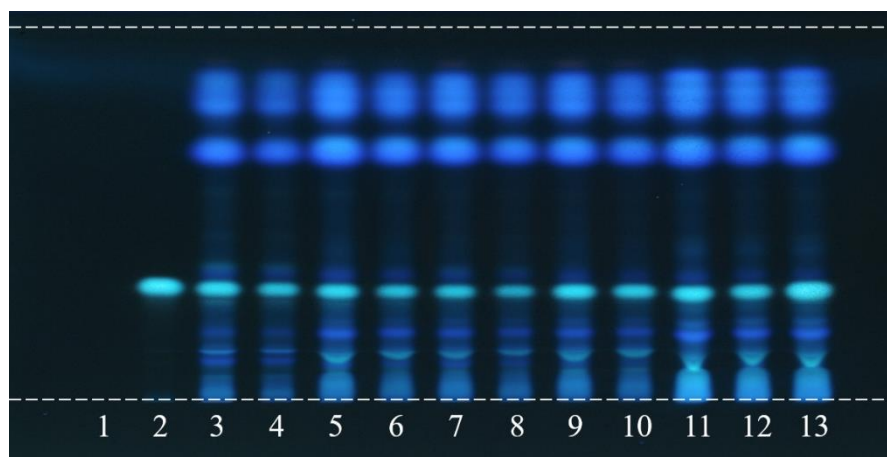
實驗日期：109/09/29

相對溼度(RH)：61%

溫度(RT)：25.6 °C

【展開劑 3】(修飾臺灣中藥典第三版 2018)——乙酸乙酯：甲醇：水 (100：17：13)

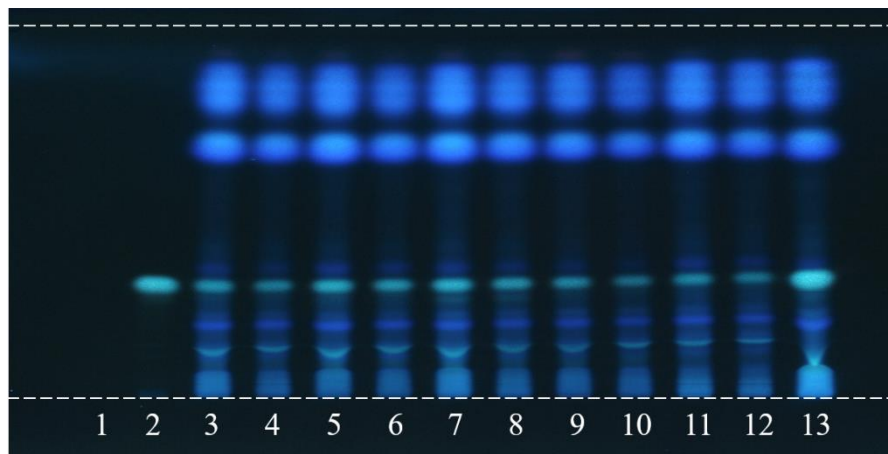
【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 5%三氯化鋁/乙醇顯色紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	柚皮苷(1.0 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 (NJ)
11 , 12	檢品溶液 5 (CA1)
13	Spike (檢品溶液 5)

【展開劑 3】(修飾臺灣中藥典第三版 2018)——乙酸乙酯：甲醇：水 (100：17：13)

【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 5%三氯化鋁/乙醇顯色紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	柚皮苷(1.0 mg/mL)
3，4	檢品溶液 6 (CA2)
5，6	檢品溶液 7 (CA3)
7，8	檢品溶液 8 (CAA)
9，10	檢品溶液 9 (SA)
11，12	檢品溶液 10 (SC)
13	Spike (檢品溶液 5)

結論與建議：以【萃取方法 1】及【展開劑 3】方式，顯示分離與檢出柚皮苷較佳，以 5%三氯化鋁/乙醇顯色後，於紫外光(365 nm)下檢視較佳。

化橘紅(飲片)

六、十批化橘紅飲片樣品檢測

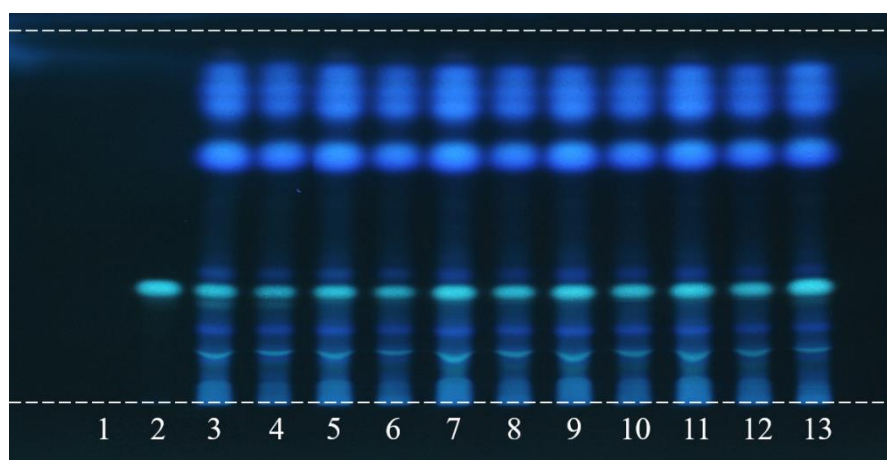
實驗日期：109/09/29

相對溼度(RH)：61%

溫度(RT)：25.6 °C

【展開劑 3】(修飾臺灣中藥典第三版 2018)——乙酸乙酯：甲醇：水 (100：17：13)

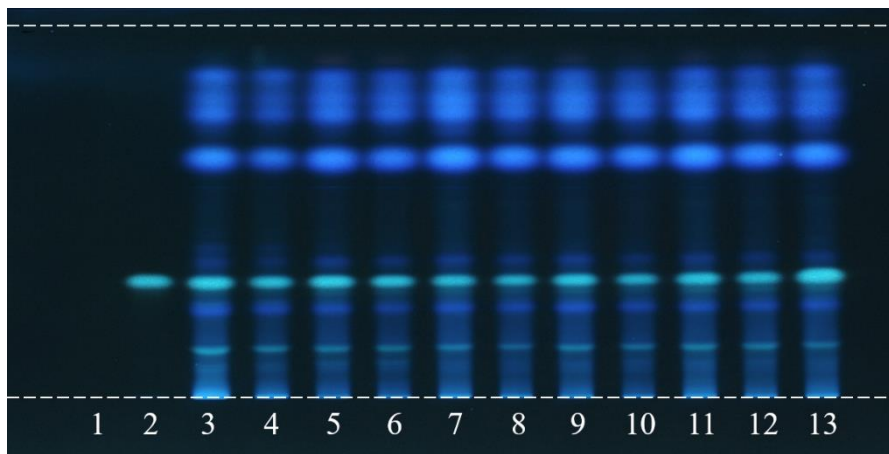
【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 5%三氯化鋁/乙醇顯色紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	柚皮苷(1.0 mg/mL)
3, 4	檢品溶液 1 (NC)
5, 6	檢品溶液 2 (NF)
7, 8	檢品溶液 3 (NJ)
9, 10	檢品溶液 4 (NR)
11, 12	檢品溶液 5 (CA)
13	Spike (檢品溶液 8)

【展開劑 3】(修飾臺灣中藥典第三版 2018)——乙酸乙酯：甲醇：水 (100：17：13)

【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 5%三氯化鋁/乙醇顯色紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	柚皮苷(1.0 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 6 (CAB)
5 , 6	檢品溶液 7 (SA)
7 , 8	檢品溶液 8 (SC)
9 , 10	檢品溶液 9 (SE)
11 , 12	檢品溶液 10 (SG)
13	Spike (檢品溶液 8)

結論與建議：飲片鑑別同藥材。