

仙鶴草

(AGRIMONIAE HERBA)

仙鶴草 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
仙鶴草 HPLC （藥材）	10
一、材料	10
二、儀器及層析管柱	10
三、實驗藥品及試劑來源	10
四、方法	10
五、結果	13
仙鶴草 TLC （藥材）	23
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	27
五、十批仙鶴草藥材樣品檢測	28

仙鶴草 MI

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仙鶴草的乾燥全草。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：仙鶴草

生藥名：AGRIMONIAE HERBA

英文名：Hairyvein Agrimonia Herb

基原：本品為薔薇科 Rosaceae 植物龍牙草 *Agrimonia pilosa* Ledeb. 之乾燥全草。

採收加工：夏、秋季枝葉茂盛時，割取全草，除去雜質，洗淨，稍潤，切段後乾燥。

藥材性狀：本品已切成長短不一的段，全體被白色柔毛。莖下部圓柱形，直徑 4~6 mm，常木質化，紅棕色；上部方柱形或扁柱形，四面略凹陷，綠褐色，有縱溝及稜線；莖節明顯，節長 0.2~2.5 cm，向上節間漸長；體輕，質硬脆，易折斷，斷面黃白色或中空。奇數羽狀複葉互生，暗綠色，皺縮捲曲，質脆易碎；小葉有大小兩型，相間生於葉軸上，頂端小葉較大，完整者倒卵形或倒卵狀披針形，基部楔形，邊緣有鋸齒，葉下表面毛較多。有時可見細長的總狀花序；花小，花瓣黃色。稀有帶果實者。氣微，味微苦。

生長分佈：多年生草本植物，喜溫暖濕潤的環境，以疏鬆、肥沃的砂質土壤為宜。常見於低海拔的向陽山坡草地、林邊、溪邊及疏林中。花期 7~9 月，果期 9~10 月。中國及臺灣各地皆有產。

三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2)

根：

1. 木栓層細胞呈類長方形，5~7 列，排列整齊，木化。
2. 皮層寬廣，細胞呈類長方形或不規則形狀，近木栓層的細胞較大，往內越小。
3. 韌皮部細胞不規則形狀，較窄。
4. 木質部細胞類圓形或橢圓形徑向排列，較寬。

莖：

1. 表皮細胞常著生非腺毛，長短不一，壁厚。
2. 表皮細胞 1 列，呈類長方形或類橢圓形細胞排列而成，外壁稍厚，整齊排列。

3. 皮層由 5~8 列薄壁細胞組成，細胞呈類長方形、橢圓形或不規則形。皮層以內為木化的中柱鞘纖維層，多角形，呈環排列。纖維直徑 5~20 μm 。
4. 韌皮部相對狹窄，成環排列。
5. 木質部相對較寬，導管徑向排列，形成波浪狀環。導管直徑 10~35 μm 。
6. 髓部寬廣，由類橢圓形薄壁細胞組成。
7. 草酸鈣簇晶散在皮層、髓部中。

葉：

1. 葉橫切面中脈向下突出。
2. 上表皮由 1 列細胞組成，呈類方形或長方形，排列整齊。
3. 柵狀組織由 1~2 列類長圓細胞組成，不通過中脈。
4. 海綿組織由 2-4 列類圓形、長方形或不規則狀的細胞組成。
5. 柵狀組織及海綿組織薄壁細胞中散有草酸鈣簇晶，直徑 15~43 μm 。
6. 維管束呈新月狀，韌皮部較窄，木質部較寬，導管呈徑向排列。
7. 厚角細胞位於中脈上、下表皮內側，上表皮較少、下表皮較多。
8. 下表皮細胞 1 列，排列整齊。
9. 非腺毛分布於上、下表皮。
10. 上、下表皮亦可見腺毛與腺鱗。

四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3)

1. 本品粉末深綠色。
2. 葉上表皮細胞呈多角形。
3. 葉下表皮細胞壁波狀彎曲，氣孔不定式或不等式。
4. 非腺毛單細胞，長短不一，壁厚，先端漸尖，基部稍膨大，具疣狀突起，有時可見螺旋紋理。直徑 8~20 μm ，長 140~355 μm 。
5. 腺毛偶見，頭部多細胞，柄 1~2 細胞，頭部直徑 20~36 μm ，含揮發油滴。
6. 腺鱗由多細胞頭部和單細胞柄部組成，頭部直徑 42~54 μm 。
7. 澱粉粒單粒，直徑 22~34 μm ；偏光顯微鏡下呈黑十字。
8. 草酸鈣簇晶眾多，直徑 10~48 μm ；偏光顯微鏡下呈多彩狀。
9. 導管主要為螺紋導管，直徑 10~37 μm 。

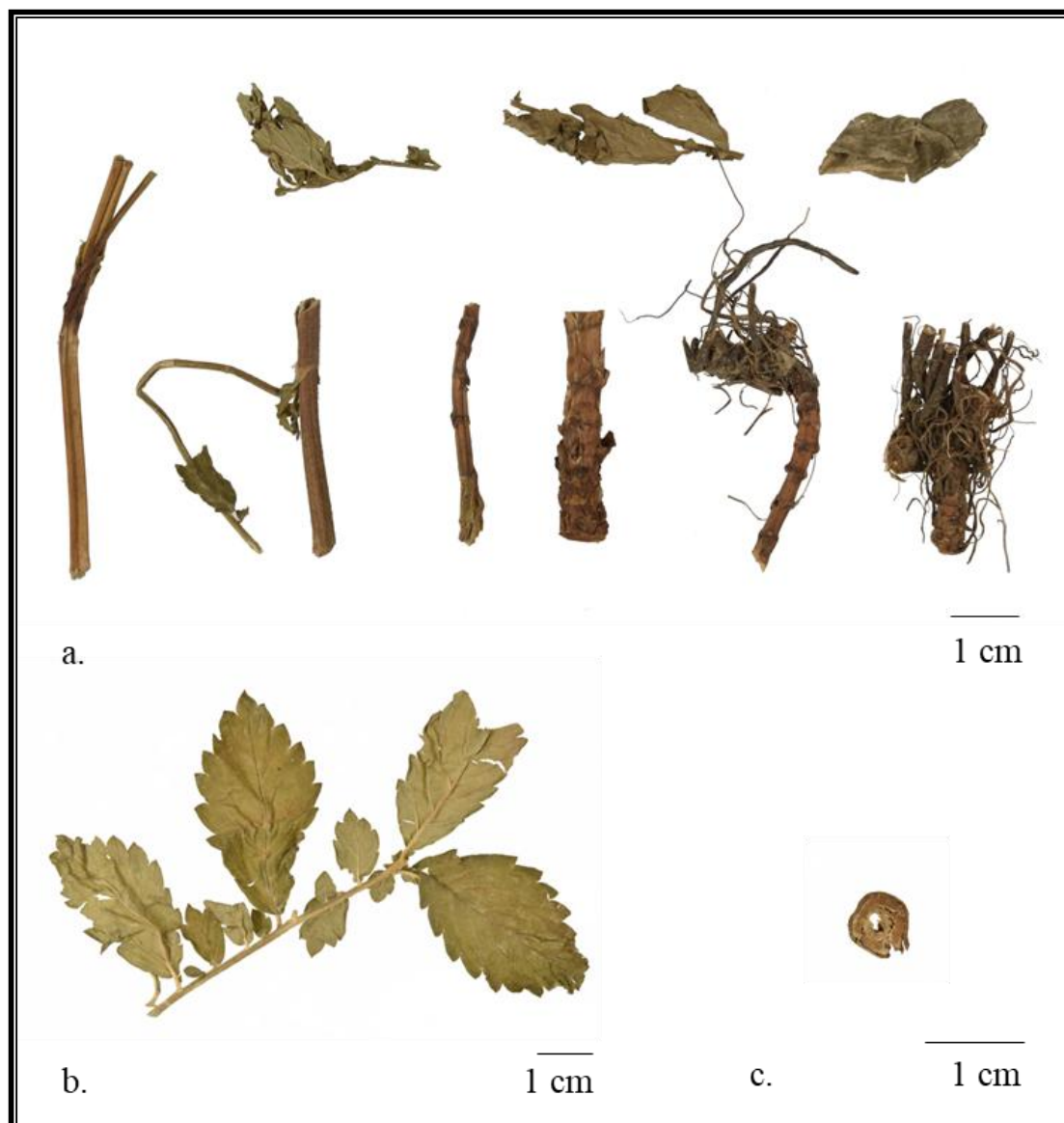


圖 1 仙鶴草藥材圖

a.藥材圖 b.葉展開圖 c.莖橫切面圖

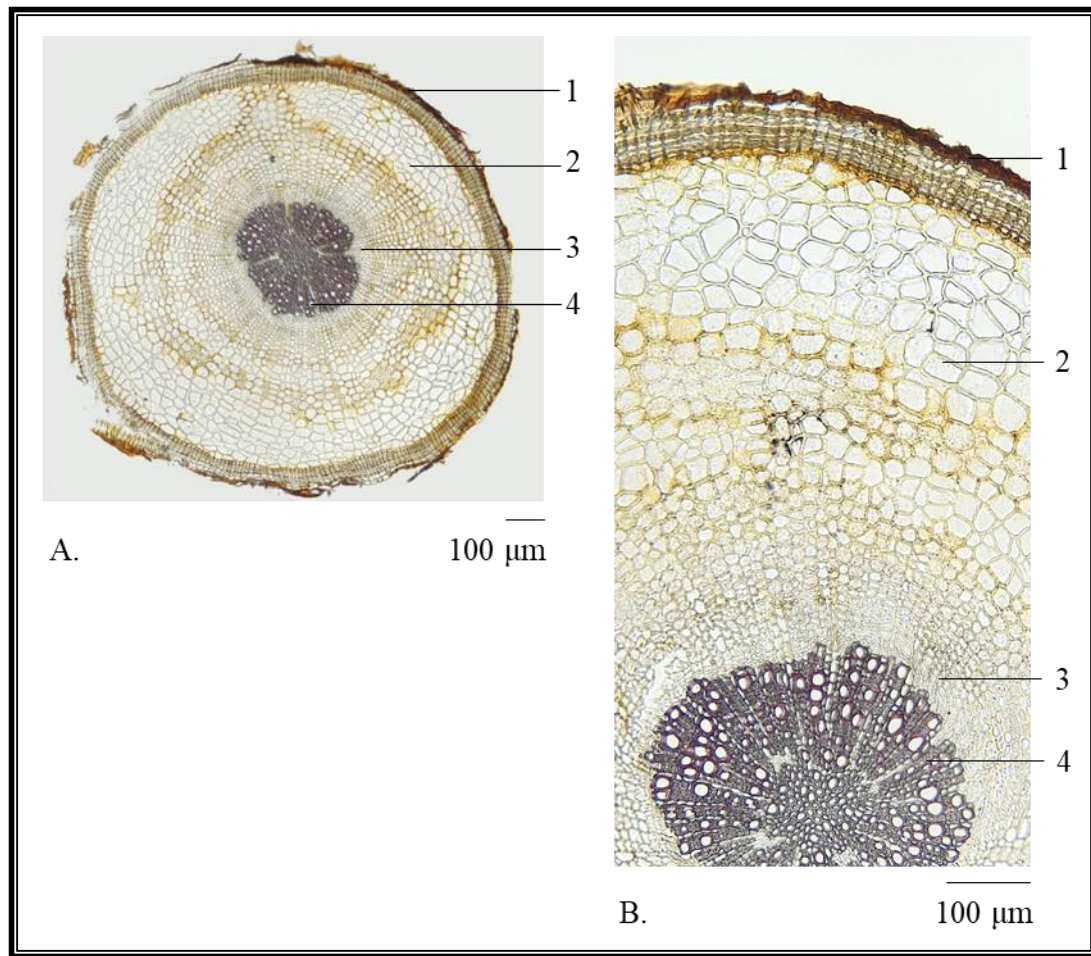


圖 2A 仙鶴草根橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖

1.木栓層 2.皮層 3.韌皮部 4.木質部

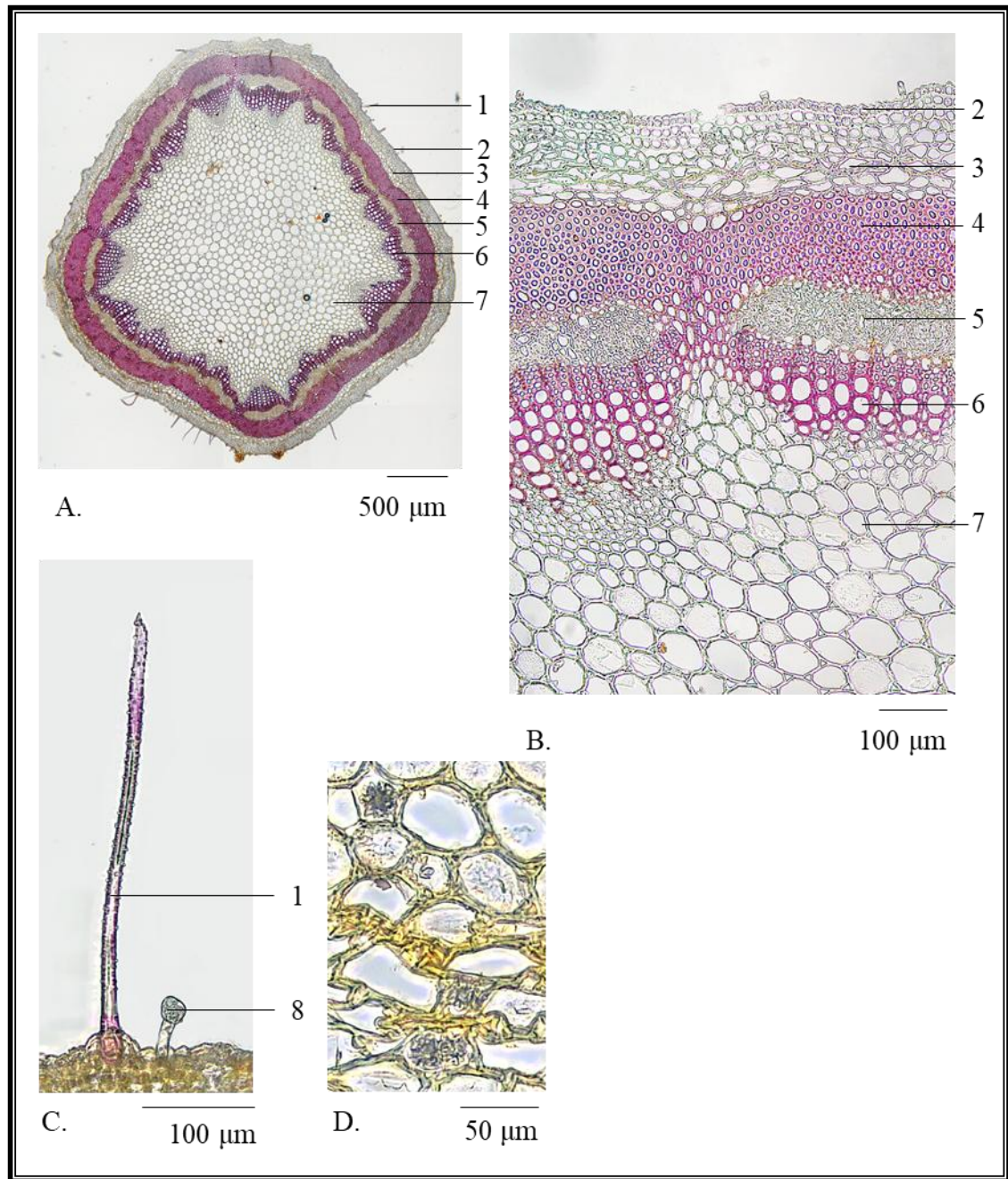


圖 2B 仙鶴草莖橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖 C 非腺毛及腺毛 D.草酸鈣簇晶

1. 非腺毛 2.表皮 3.皮層 4.中柱纖維 5.韌皮部 6.木質部 7.髓 8.腺毛

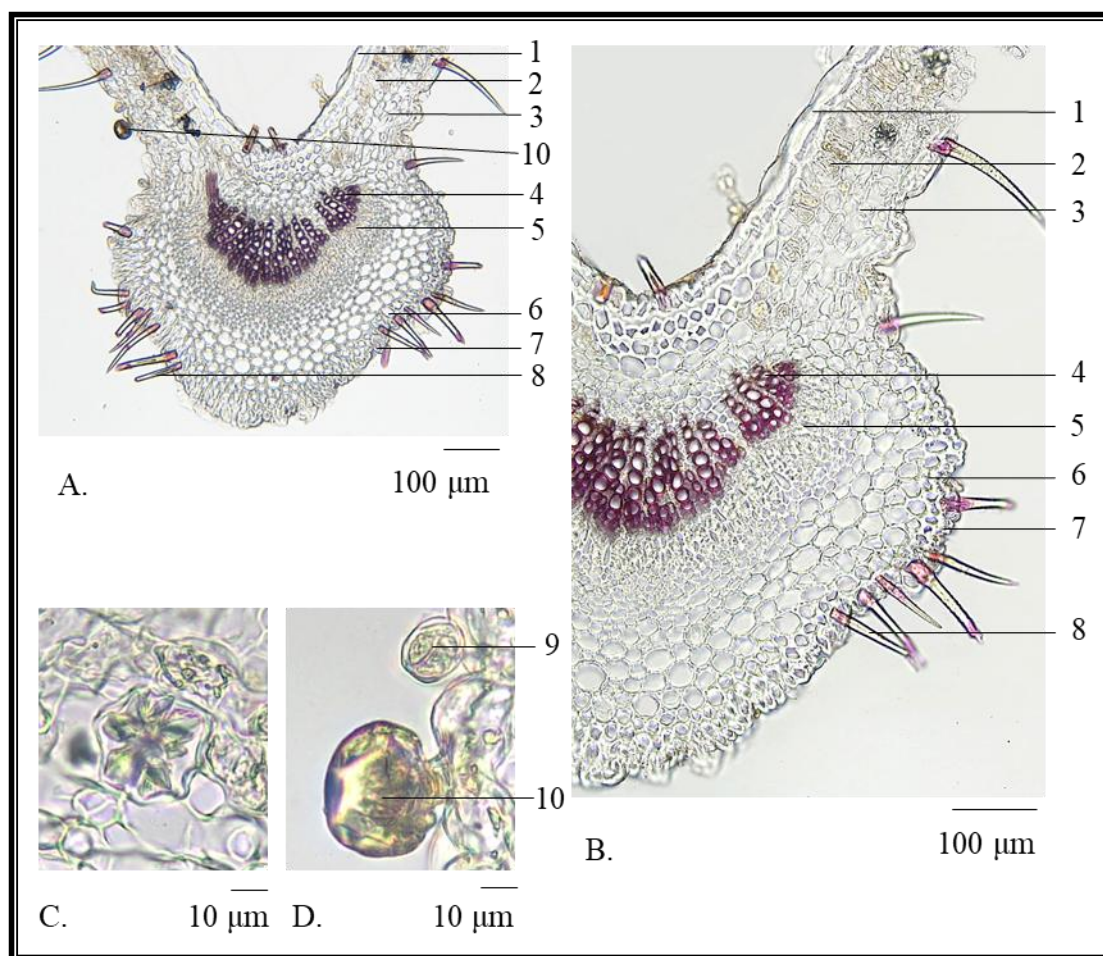


圖 2C 仙鶴草葉橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖 C.簇晶 D.腺鱗與腺毛

1. 上表皮 2.柵狀組織 3.海綿組織 4.木質部 5.韌皮部 6.厚角組織
7.下表皮 8.非腺毛 9.腺毛 10.腺鱗

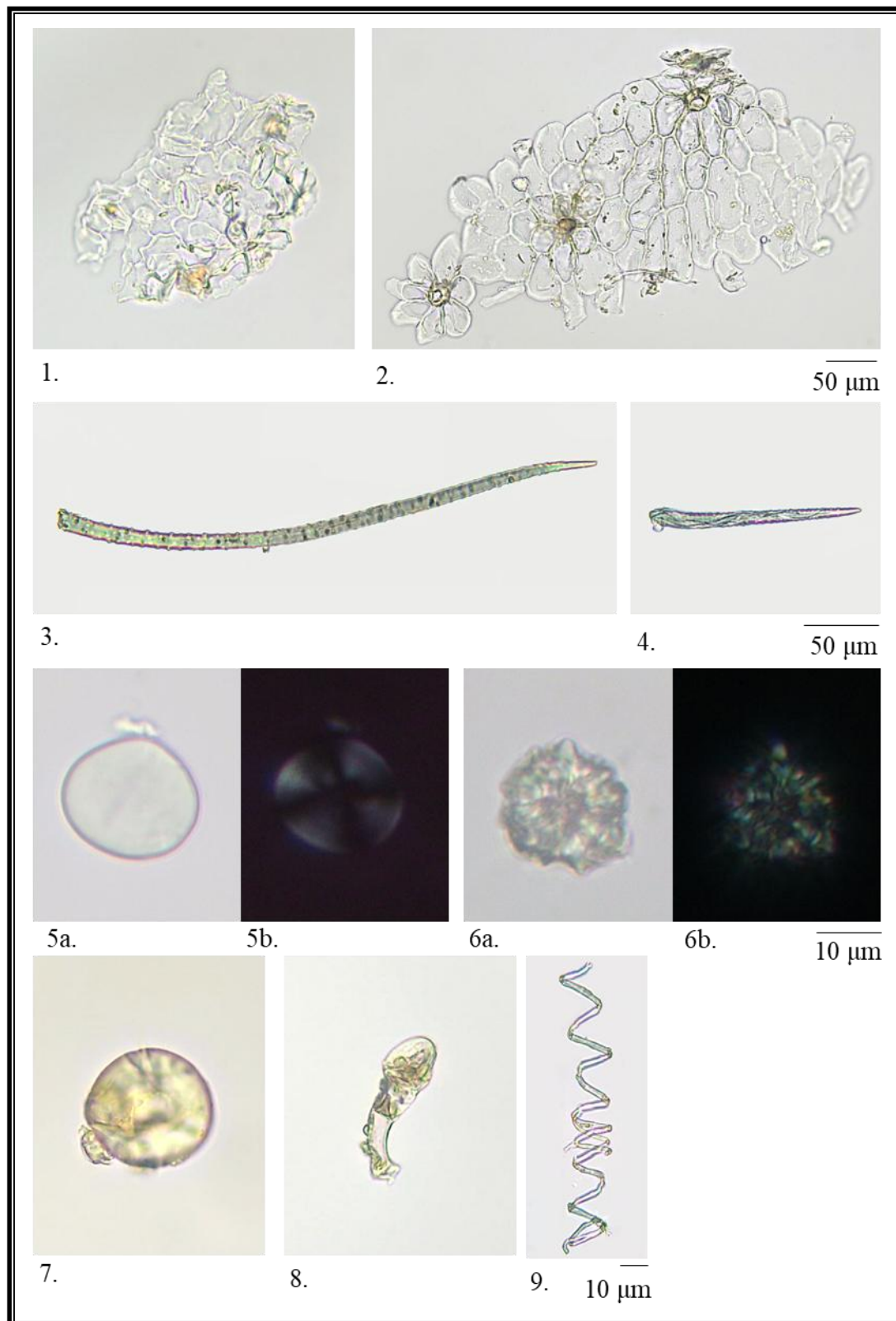


圖 3 仙鶴草粉末顯微特徵圖

a. 光學顯微鏡下特徵 b. 偏光顯微鏡下特徵

1. 葉下表皮細胞 2. 葉上表皮細胞 3. 疣狀非腺毛 4. 螺旋狀非腺毛

5. 澱粉粒 6. 草酸鈣簇晶 7. 腺鱗 8. 腺毛 9. 螺旋導管

參考文獻

1. 衛生福利部臺灣中藥典第四版編輯工作小組(2021)。臺灣中藥典第四版。臺北市：衛生福利部。76~77 頁。
2. 行政院衛生署中醫藥委員會(1999)。中藥材品質管制：組織型態學鑑定。臺北市：行政院衛生署中醫藥委員。167~168 頁。
3. 肖培根(主編)(2002)。新編中藥志第三卷。北京：化學工業出版社。62~67 頁。
4. 郭生禎(主編)(1987)。藥用植物栽培技術。陝西：科學技術出版社。471~474 頁。
5. 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。北京：人民衛生出版社。151 頁。
6. 趙中振、陳虎彪(主編)(2016)。中藥顯微鑑定圖典。福建科學技術出版社。410~411 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(2015)。香港中藥材標準第七冊。香港：香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部。53~64 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。514~516 頁。
9. 國家藥典委員會(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。106 頁。
10. 黃璐琦(總主編)(2020)。新編中國藥材學第三卷。北京：中國醫藥科技出版社。52~54 頁。
11. 行政院衛生署中醫藥委員會(2009)。中藥彩色圖鑑。臺北市：行政院衛生署中醫藥委員。38 頁。
12. 韓媛(2009)。仙鶴草及常見偽品的鑒定。長春中醫藥大學學報第 25 卷第 6 期。DOI:10.13463/j.cnki.cczyy.2009.06.073
13. 謝法東、劉燦坤(2011)。仙鶴草藥材質量及其偽品的經驗鑒別。中醫臨床研究 2011 年第 3 卷第 13 期。

仙鶴草(AGRIMONIAE HERBA)

一、材料

購置於臺灣各地中藥店仙鶴草藥材共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Agilent 1260 Infinity II，包含 Quaternary pump、Autosampler、Thermostatted column compartment、Diode-Array Detector；層析管柱 Agilent ZORBAX Eclipse Plus 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 x 2.1 mm, 1.7 μm)。

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

甲醇(HPLC grade)購置於 Duksan Pure Chemicals Co., Ltd；磷酸購置於台灣默克有限公司。

(二) 對照標準品

鞣花酸(Ellagic acid)購置於普思生物科技公司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

取本品粉末 6 份，每份準確稱取約 1.0 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 20 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，離心 10 分鐘(約 4000 × g)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 20 mL 之容量瓶中，加溶媒至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 μm)；另取本品粉末 4 份，每份準確稱取約 1.0 g，置 100 mL 圓底瓶中，準確加入 75%甲醇、50%甲醇、5%乙醇、50%乙醇各 20 mL，加熱迴流 30 分鐘，冷卻後以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 20 mL 之容量瓶中，加入溶媒至刻度。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鞣花酸最大波峰面積為最佳仙鶴草藥材萃取溶媒。

(二) 最佳萃取時間評估

準確稱取本品粉末 4 份(過第 20 號篩網)約 1.0 g，置 100 mL 圓底瓶

中，準確加入 50%乙醇 20 mL，分別加熱迴流 30、60、90 及 120 分鐘，冷卻後以 No. 1 濾紙過濾，取濾液移入 20 mL 之容量瓶中，加入 50%乙醇至刻度。搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 μ m)，即得。每針 10 μ L 注入 HPLC，以所測得每克重量之鞣花酸最大波峰面積為最佳仙鶴草藥材萃取時間。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取對照標準品鞣花酸 4.0mg，加 10 mL 的甲醇製成每 1 mL 含鞣花酸 400 μ g 的對照標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至鞣花酸 100 μ g/mL 製成對照標準品溶液。

(四) 檢品溶液

準確稱取本品粉末(過 No.20 篩網)約 1.0 g，置 100 mL 圓底瓶中，準確加入 50%乙醇 20 mL，加熱迴流 30 分鐘，冷卻後以 No. 1 濾紙過濾，取濾液移入 20 mL 之容量瓶中，加入 50%乙醇至刻度。搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 μ m)，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仙鶴草的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取鞣花酸對照標準品儲備液適量(400 μ g/mL)，以甲醇稀釋成含鞣花酸分別為 400、200、100、50、25 μ g/mL 的對照標準品溶液。以上溶液各取 10 μ L 分別注入 HPLC 進行定量分析，利用對照標準品之波峰面積(y 軸)和對照標準品之濃度(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

以鞣花酸為 100 μ g/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以鞣花酸的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售仙鶴草藥材粉末，依仙鶴草藥材檢品溶液製備方法平行製備 5 份仙鶴草藥材檢品溶液，進樣測定，以鞣花酸的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售仙鶴草藥材粉末，依仙鶴草藥材檢品溶液製備方法製備仙鶴草藥材檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，以鞣花酸

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

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 Quantification, 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

取已知鞣花酸含量的仙鶴草藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.5 g，分別加入鞣花酸 0.5 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：Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 360 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：10 μ L
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	38	62
30	38	62

(十二) 臺灣市售仙鶴草藥材含量測定

取 10 批市售仙鶴草藥材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 公式計算樣品鞣花酸的百分比含量。

(十三) 仙鶴草檢品之 UPLC 分析條件

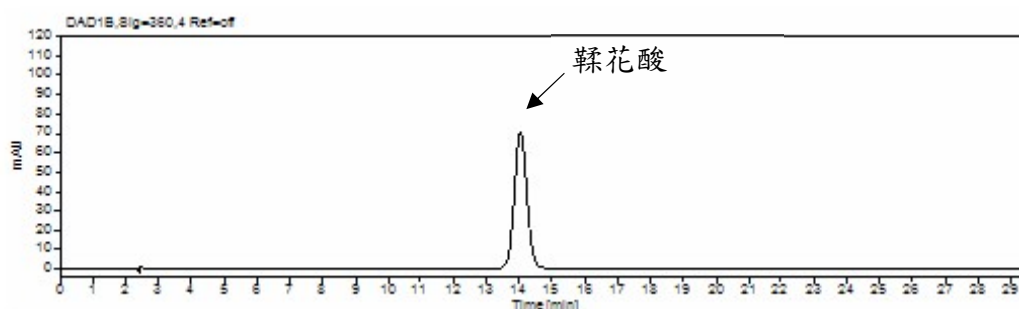
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μ m)
2. 檢測波長：UV 360 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μ L
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	38	62
10	38	62

五、結果

(一) 對照標準品鞣花酸之 HPLC 層析

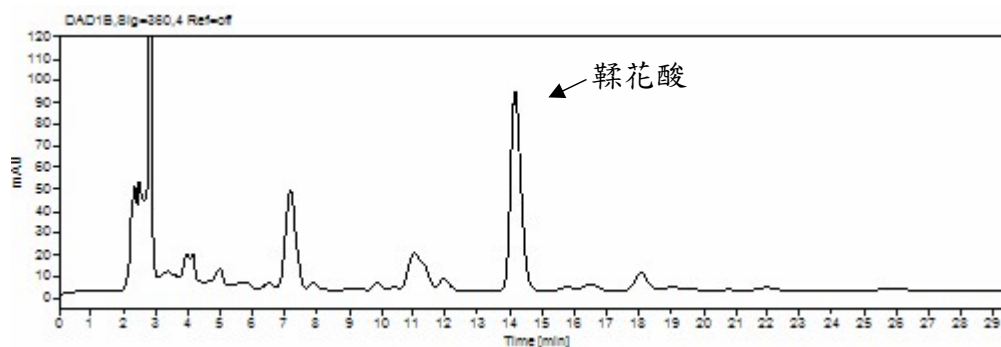
於滯留時間 14.0 分鐘處顯示鞣花酸對照標準品波峰(圖一)。



圖一、鞣花酸對照標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售仙鶴草藥材檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 14.0 分鐘處顯示仙鶴草藥材檢品中鞣花酸波峰(圖二)。鞣花酸分離率(R)為 3.6，拖尾因子(T)為 1.2，均在系統適用性要求內。



圖二、市售仙鶴草藥材檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒評估

結果顯示以 50%乙醇溶液為溶媒時及以加熱迴流方式，每克藥材重量所得鞣花酸的波峰面積最大，顯示 50%乙醇溶液為最佳萃取溶媒(表一)。

表一、不同萃取溶媒評估

溶媒	超音波振盪		加熱迴流	
	鞣花酸波峰面積	最佳萃取	鞣花酸波峰面積	最佳萃取
甲醇	596		-	
75%甲醇	588		1585	
50%甲醇	705		1633	
乙醇	429		-	
75%乙醇	821		2060	
50%乙醇	940		2074	√

(四) 最佳萃取時間評估

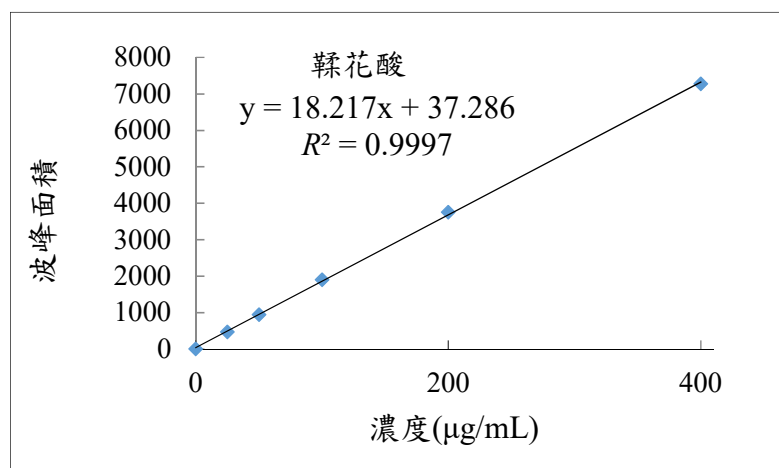
結果顯示加熱迴流萃取 30 分鐘，鞣花酸波峰面積最大，顯示加熱迴流萃取 30 分鐘為最佳萃取時間(表二)。

表二、仙鶴草藥材檢品萃取時間評估

50%乙醇	鞣花酸波峰面積
加熱迴流 30 分鐘	1989
加熱迴流 60 分鐘	1918
加熱迴流 90 分鐘	1909
加熱迴流 120 分鐘	1885

(五) 對照標準品鞣花酸檢量線

經不同濃度鞣花酸(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 $y = 18.217x + 37.286$ ， $R^2 = 0.9997$ ，顯示濃度在 25–400 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、鞣花酸之檢量線圖

表三、鞣花酸之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
鞣花酸	25–400	$y = 18.217x + 37.286$	0.9997

(六) 精密度試驗

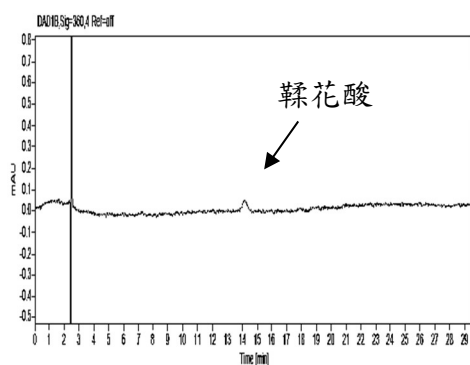
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，鞣花酸精密度之相對標準差為 1.17%，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

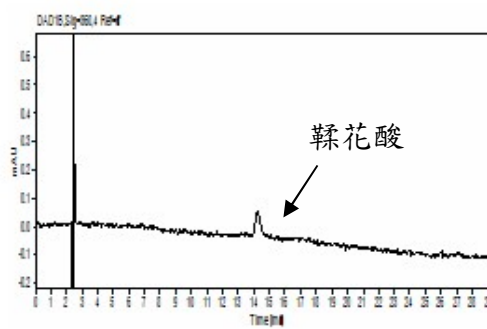
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，鞣花酸重複性之相對標準差為 1.58%，在系統適用性要求內。鞣花酸在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差為 0.53%，變化差異小，若所有樣品分析都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

鞣花酸偵測極限為 0.03 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 0.10 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、鞣花酸之偵測極限層析圖



圖五、鞣花酸之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	鞣花酸	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	100 $\mu\text{g/mL}$	1.17
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.9)	1.58
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.9)	0.53
偵測極限 (n=1)	0.03 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=1)	0.10 $\mu\text{g/mL}$	-

(九) 添加回收率試驗

鞣花酸平均添加回收率為 96.2%，相對標準偏差為 4.11%(表五)。

表五、鞣花酸添加回收率

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	0.5002	0.5761	0.5	1.0679	98.37	96.2	4.11
2	0.5001	0.5760	0.5	1.0240	89.61		
3	0.5002	0.5761	0.5	1.0734	99.47		
4	0.5004	0.5763	0.5	1.0668	98.10		
5	0.5001	0.5760	0.5	1.0547	95.76		

(十) 臺灣市售仙鶴草藥材含量測定

10 批仙鶴草藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，鞣花酸的含量為 0.103–0.177%，建議仙鶴草藥材指標成分鞣花酸的含量不得少於 0.1%。理論板數按鞣花酸波峰計算應不低於 5000 (實際值為 9380)。

表六、臺灣市售仙鶴草藥材檢品之鞣花酸的含量

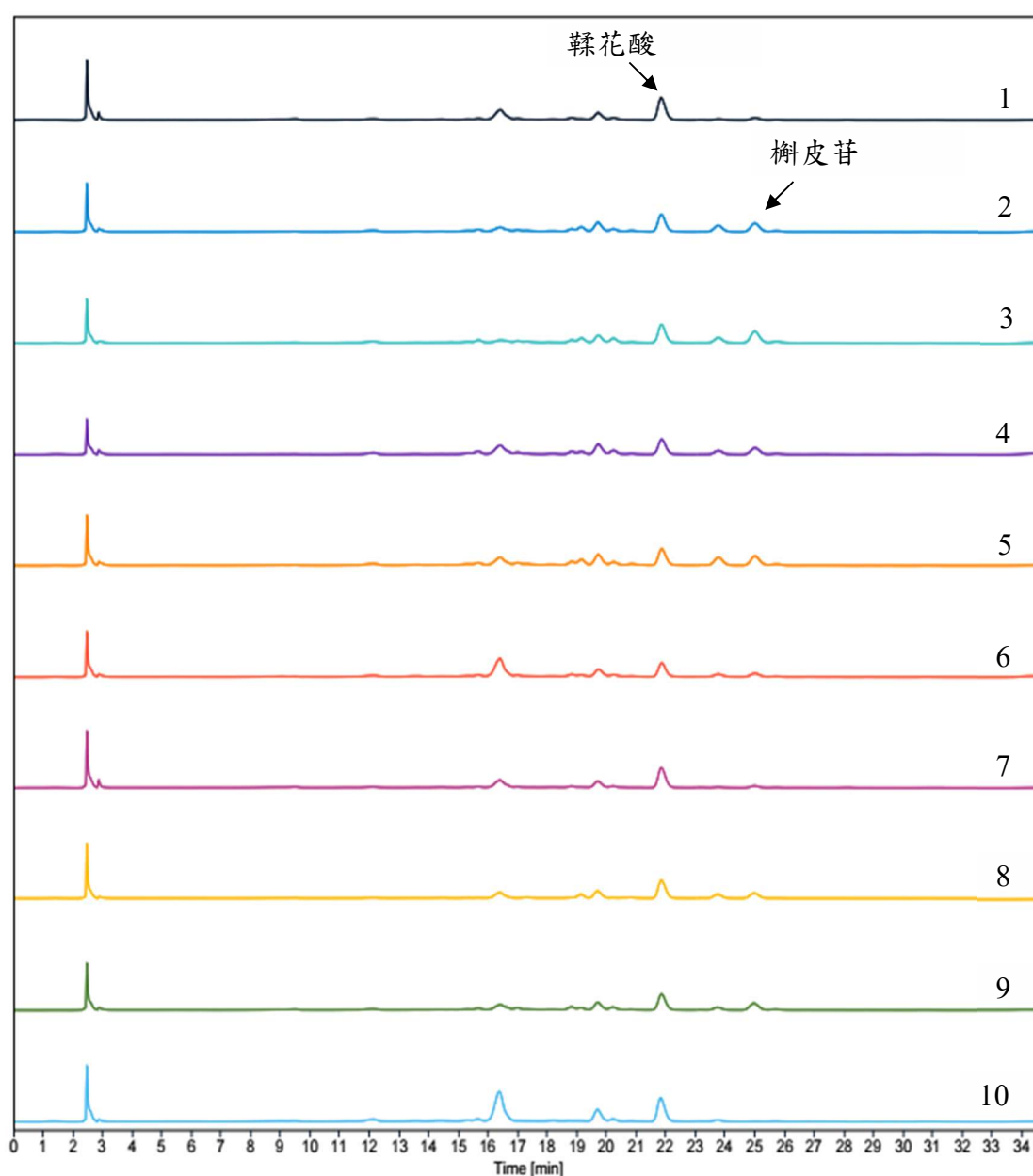
藥材編號(No.)	鞣花酸含量(%)
1 (NC)	0.168
2 (NJ)	0.131
3 (NO)	0.140
4 (NRB)	0.117
5 (CB)	0.124
6 (CE)	0.103
7 (CH)	0.150
8 (SK2)	0.142
9 (SK3)	0.122
10 (SUC)	0.177
平均值±S.D.	0.137±0.023

(十一) 仙鶴草藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售仙鶴草藥材檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 360 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：

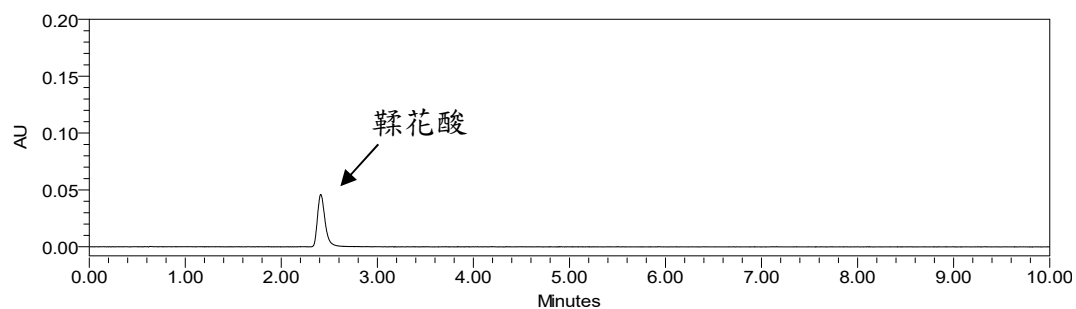
時間(min)	甲醇(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	20	80
15	40	60
35	40	60



圖六、10 批仙鶴草藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 對照標準品鞣花酸之 UPLC 層析

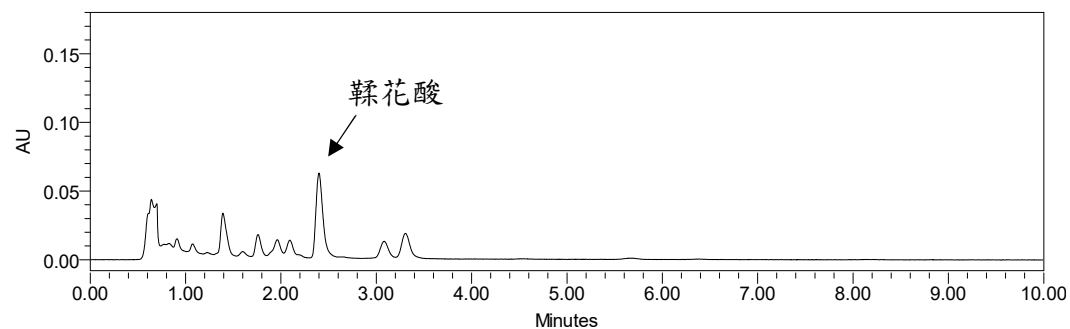
於滯留時間 2.41 分鐘處顯示鞣花酸對照標準品波峰(圖七)。



圖七、鞣花酸對照標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售仙鶴草藥材檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 2.40 分鐘處顯示仙鶴草藥材檢品中鞣花酸波峰(圖八)。

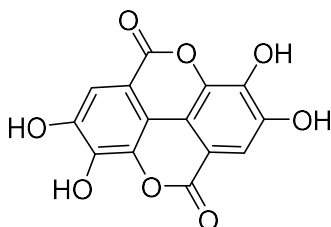


圖八、市售仙鶴草藥材檢品之 UPLC 層析圖

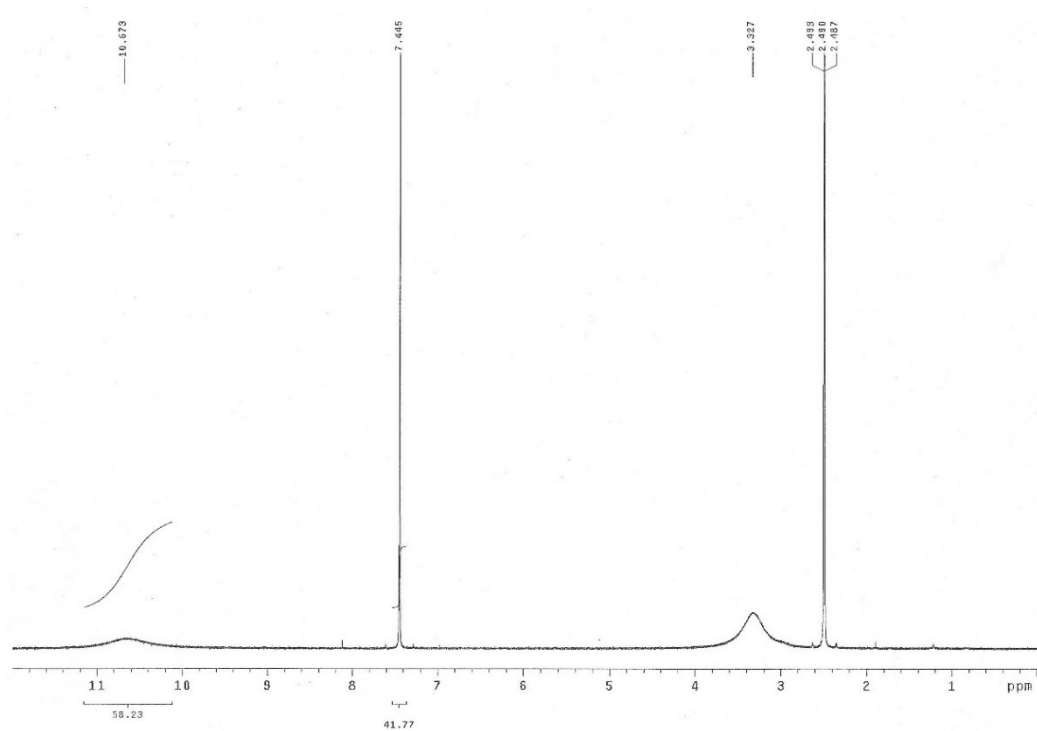
(十四) 鞣花酸的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{14}H_6O_8$ ；Mol. Wt.：302.19；mp：350 °C；白色固體。

(十五) 鞣花酸的結構

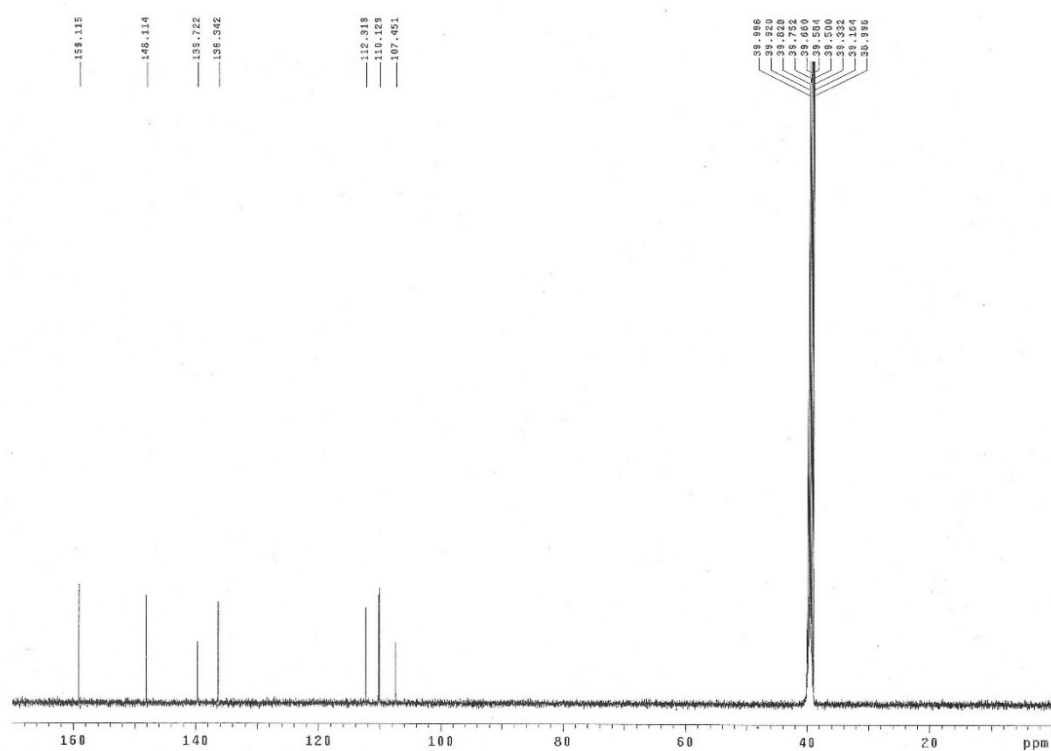


(十六) 鞣花酸的 1H NMR 圖譜



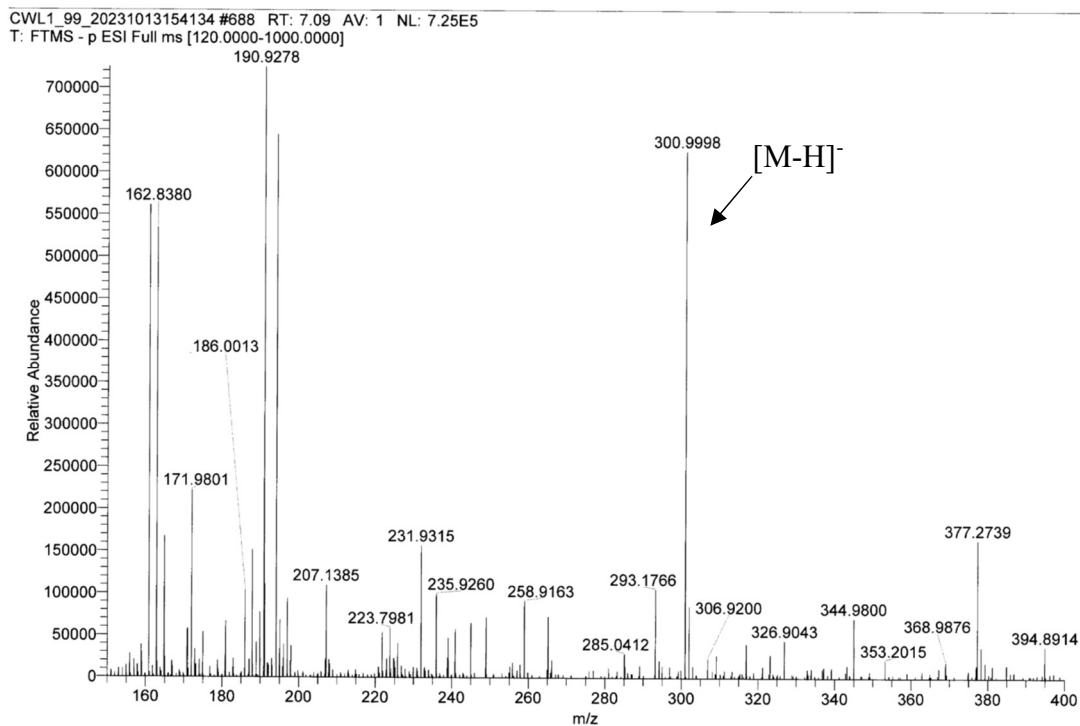
圖十、鞣花酸的 1H NMR 圖譜(DMSO- d_6)

(十七) 鞣花酸的 ^{13}C NMR 圖譜



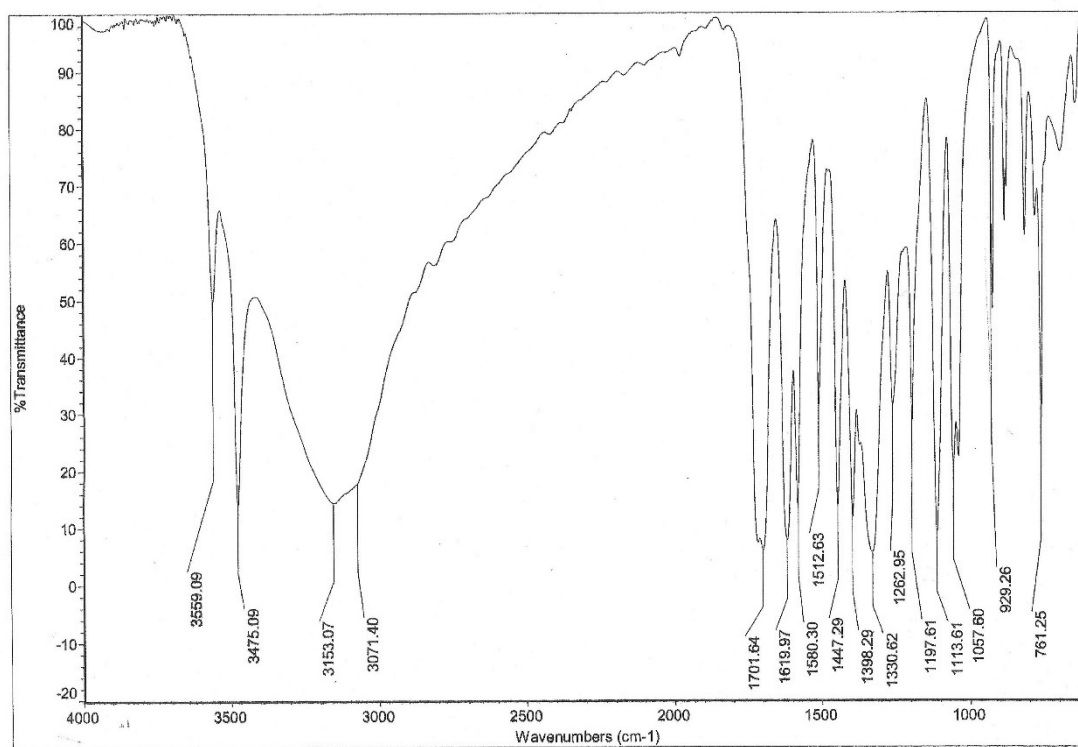
圖十一、鞣花酸的 ^{13}C NMR 圖譜(DMSO- d_6)

(十八) 鞣花酸的 ESI-MS 圖譜



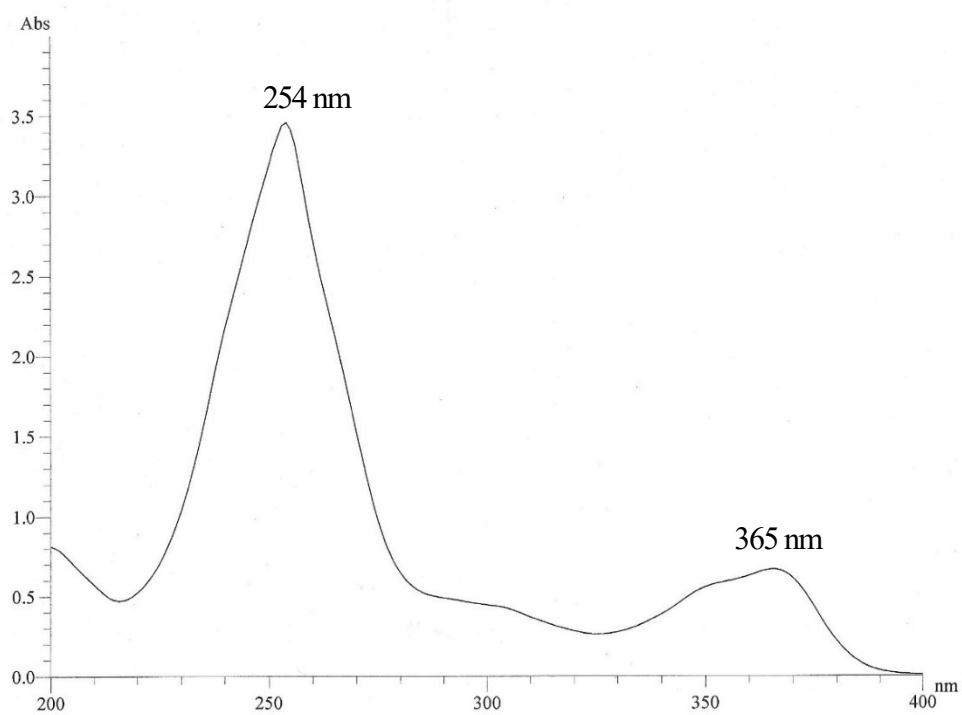
圖十二、鞣花酸的 ESI-MS 圖譜

(十九) 鞣花酸的 FTIR 圖譜



圖十三、鞣花酸的 FTIR 圖譜

(二十) 鞣花酸的 UV 圖譜



圖十四、鞣花酸的 UV 圖譜

(二十一) 鞣花酸的氫、碳化學位移



表七、鞣花酸的氫、碳化學位移(DMSO-*d*₆)^a

position	δ_{H} (500 MHz)	δ_{C} (125 MHz)
1, 1'	-	112.3
2, 2'	-	136.3
3, 3'	-	139.7
4, 4'	-	148.1
5, 5'	7.45 (s)	110.1
6, 6'	-	107.5
7, 7'	-	159.1

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

仙鶴草

生藥名：AGRIMONIAE HERBA

英文名：Hairyvein Agrimonia Herb

基 原：本品為薔薇科 Rosaceae 植物龍牙草 *Agrimonia pilosa* Ledeb.之乾燥全草。

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，加石油醚(30~60℃)30 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，蒸乾，殘渣加二氯甲烷 2 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 2】《香港中藥材標準第七冊》✓

——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。

(二) 對照標準品 溶 液 取鞣花酸(Ellagic acid)對照標準品，加甲醇製成每 1 mL 含 1.0 mg 的飽和溶液，槲皮苷(Quercitrin)對照標準品，加甲醇製成每 1 mL 含 0.5 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：無水乙酸 (20：2：1)

【展開劑 2】《香港中藥材標準第七冊》

——乙酸乙酯：丙酮：甲酸：水 (25：2：2：1)

【展開劑 3】(自行開發)✓

——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (3：3：1)

(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 以 10%硫酸/乙醇試液(H₂SO₄/EtOH TS)噴霧後，105℃加熱至條帶顯色清晰，於主波長 365 nm 之紫外燈照射下檢視之。

二、萃法選擇及濃度測試

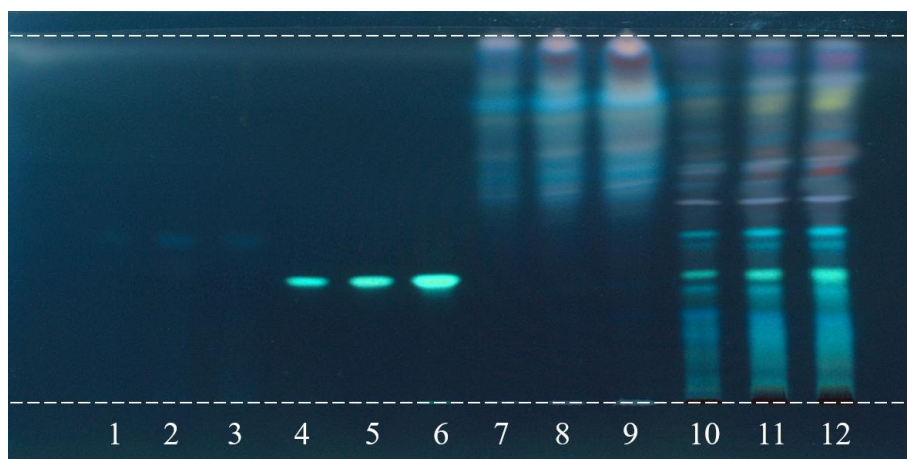
實驗日期：112/09/18

相對溼度(RH)：61%

溫度(RT)：24.7 °C

【展開劑 3】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (3：3：1)

——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出



編號	名稱	點注量
1，2，3	鞣花酸(1.0 mg/mL)	2，5，8 μ L
4，5，6	槲皮苷(0.5 mg/mL)	1，2，5 μ L
7，8，9	檢品溶液 3【萃取方法 1】	2，5，8 μ L
10，11，12	檢品溶液 3【萃取方法 2】	2，5，8 μ L

建議萃法：兩種萃取方法，其中檢品溶液中【萃取方法 2】才可分離與檢出鞣花酸與槲皮苷，故採用香港中藥材標準【萃取方法 2】。

建議點注量：鞣花酸 8 μ L，槲皮苷 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 2】5 μ L。

三、溶媒系統選擇

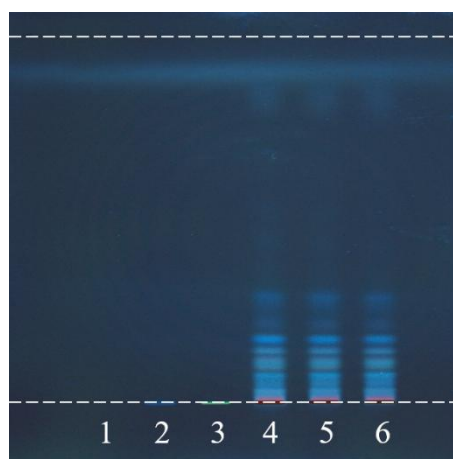
實驗日期：112/09/18

相對溼度(RH)：61%

溫度(RT)：24.7 °C

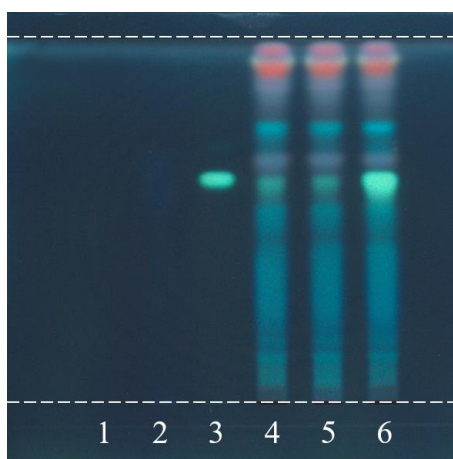
【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——石油醚(30~60°C)：乙酸乙酯：無水乙酸 (20：2：1)

【萃取方法 2】《香港中藥材標準第七冊》——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出(鞣花酸 R_f 值為 0，槲皮苷 R_f 值為 0)



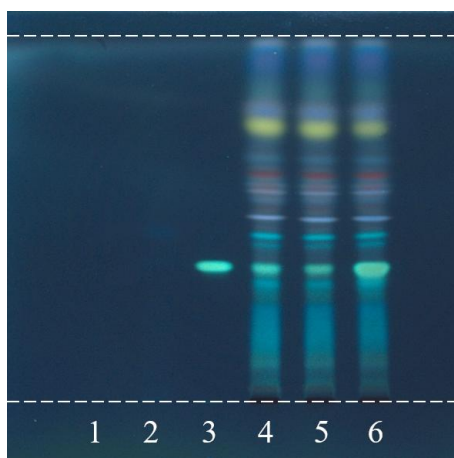
【展開劑 2】《香港中藥材標準第七冊》——乙酸乙酯：丙酮：甲酸：水 (25：2：2：1)

【萃取方法 2】《香港中藥材標準第七冊》——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出(鞣花酸 R_f 值無法判斷，槲皮苷 R_f 值為 0.61)



【展開劑3】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (3：3：1)✓

【萃取方法2】《香港中藥材標準第七冊》——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出(鞣花酸 R_f 值為 0.46，槲皮苷 R_f 值為 0.35)



1：Blank

4，5：檢品溶液3

2：鞣花酸

6：Spike

3：槲皮苷

建議溶媒系統：以【萃取方法2】方式，以自行開發之【展開劑3】展開，顯示鞣花酸，槲皮苷的 R_f 值適中，分離佳，故採用【展開劑3】。

四、觀察方式選擇

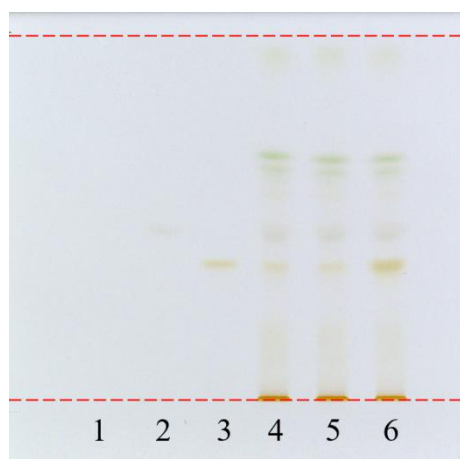
實驗日期：112/09/18

相對溼度(RH)：61%

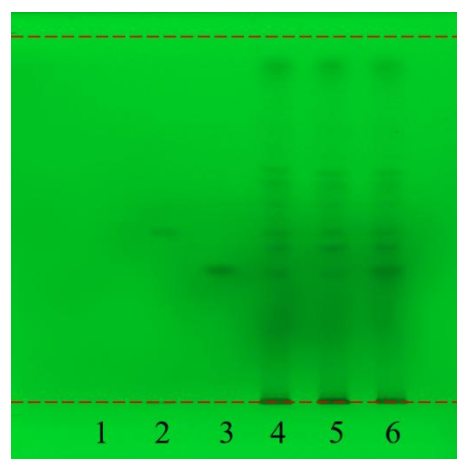
溫度(RT)：24.7 °C

【展開劑 3】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (3：3：1)

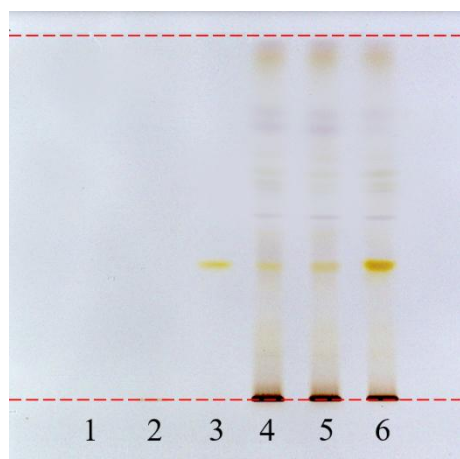
【萃取方法 2】《香港中藥材標準第七冊》—HPTLC 可見光檢出



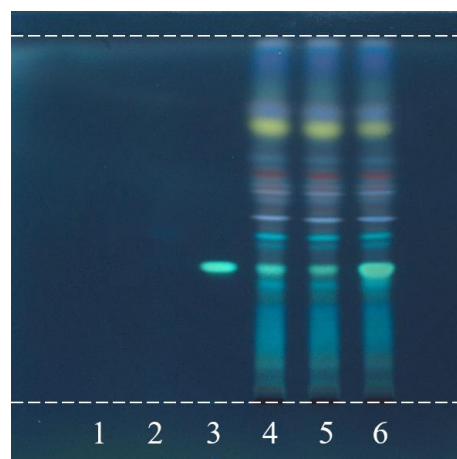
【萃取方法 2】《香港中藥材標準第七冊》—HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



【萃取方法 2】《香港中藥材標準第七冊》—HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後可見光檢出



【萃取方法 2】《香港中藥材標準第七冊》—HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出✓



1：Blank

4，5：檢品溶液 3

2：鞣花酸

6：Spike

3：槲皮苷

建議觀察方式：以 10%硫酸/乙醇試液顯色後於紫外光(365 nm)，有較多明顯分離之條帶。其中鞣花酸經顯色後，不易觀察，須採用紫外光(254 nm)觀察，但斑點不清晰且溶解度差，故建議採用槲皮苷為對照標準品即可。

五、十批仙鶴草藥材樣品檢測

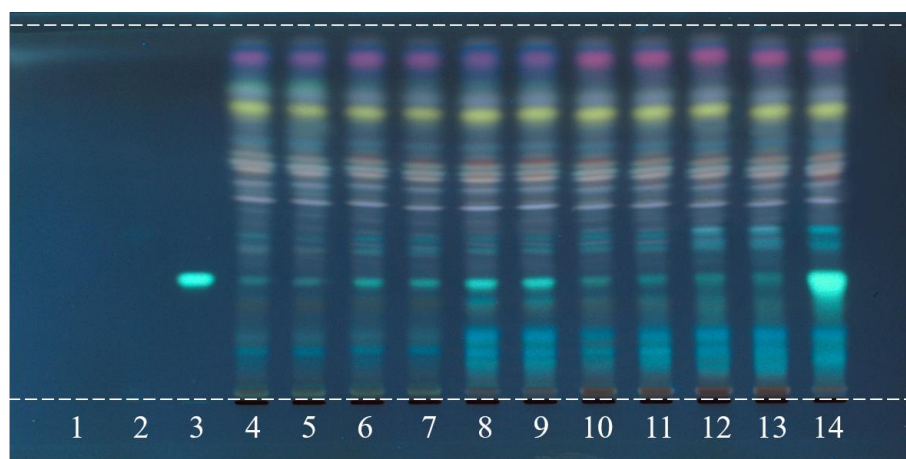
實驗日期：112/09/18

相對溼度(RH)：61%

溫度(RT)：24.7 °C

【展開劑 3】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (3：3：1)

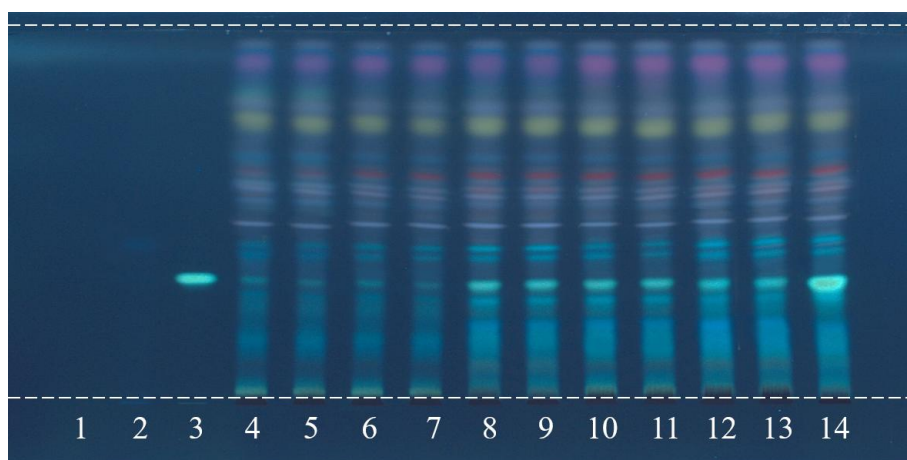
【萃取方法 2】《香港中藥材標準第七冊》—HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後
紫外光(365 nm)檢出



1	Blank	8, 9	檢品溶液 3 (NO)
2	鞣花酸(1.0 mg/mL)	10, 11	檢品溶液 4 (NRB)
3	槲皮苷(0.5 mg/mL)	12, 13	檢品溶液 5 CB)
4, 5	檢品溶液 1 (NC)	14	Spike (檢品溶液 3)
6, 7	檢品溶液 2 (NJ)		

【展開劑 3】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (3：3：1)

【萃取方法 2】《香港中藥材標準第七冊》—HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後
紫外光(365 nm)檢出



1	Blank	8, 9	檢品溶液 8 (SK2)
2	鞣花酸(1.0 mg/mL)	10, 11	檢品溶液 9 (SK3)
3	槲皮苷(0.5 mg/mL)	12, 13	檢品溶液 10(SUC)
4, 5	檢品溶液 6(CE)	14	Spike (檢品溶液 3)
6, 7	檢品溶液 7 (CH)		

結論與建議：以【萃取方法 2】方式及自行開發之【展開劑 3】分離與檢出槲皮苷較佳，以 10%硫酸/乙醇顯色後於紫外光(365 nm)檢視較佳。