

白花蛇舌草

(HEDYOTIDIS DIFFUSAE HERBA)

白花蛇舌草 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）	2
白花蛇舌草 HPLC	6
一、材料	6
二、儀器及層析管柱	6
三、實驗藥品及試劑來源	6
四、方法	6
五、結果	11
白花蛇舌草 TLC	24
一、方法	24
二、萃法選擇及濃度測試	25
三、溶媒系統選擇	26
四、觀察方式選擇	28
五、十家樣品檢測	29

白花蛇舌草 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白花蛇舌草的乾燥全草。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：白花蛇舌草

生藥名：HEDYOTIDIS DIFFUSAE HERBA

英文名：Spreading Hedyotis Herb

基原：茜草科 Rubiaceae 植物白花蛇舌草 *Hedyotis diffusa* Willd. 的乾燥全草。

採收加工：夏、秋兩季採收，除去土壤雜質，洗淨，鮮用或曬乾。

藥材性狀：本品為乾燥全草，全體扭纏成團狀，灰綠色至灰棕色。主根細長，鬚根纖細；莖細圓柱形有顯著的縱稜，質脆易折斷，捲曲狀；葉對生，多皺縮，破碎，易脫落，完整葉片展開後呈線形至線狀披針形；花雙生或對腋生；果實為蒴果扁球形，單生或對生於葉腋，膜質，兩側各有一條縱溝，果梗短而略粗。

生長分佈：一年生草本植物，高約 15~50 cm。花期 7~9 月，果熟期 8~10 月。生於潮濕的田邊、溝邊、路旁和草地，喜溫暖濕潤的環境，不耐旱。分布於中國、尼泊爾、日本，以及中國東南至西南部各地及臺灣。藥材主產於福建、廣東、廣西等地。

三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2)

莖橫切面

1. 表皮有乳突狀突起，內部維管束呈類圓形。
2. 表皮細胞 1 列，細胞呈類方形或卵圓形，常有單細胞向外突起，形成非腺毛，外被角質層，可見橢圓形氣孔。
3. 皮層窄，由數層柔細胞所組成，細胞呈類圓形，內含棕色物質。
4. 內皮層細胞 1 列。
5. 韌皮部窄，由 3~5 層柔細胞所組成，細胞緊密細小。
6. 木質部由導管、纖維及髓腺細胞所組成。
7. 髓線窄，壁薄，木化。
8. 中央為髓部，寬廣，裂隙大。
9. 皮層及髓部薄壁細胞中可見縱向排列的草酸鈣針晶。

四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3)

1. 本品粉末為灰黃色。

2. 莖表皮細胞呈長條形或多角不規則狀。
3. 葉表皮細胞多呈破碎狀。
4. 導管可見螺旋紋或環紋導管。
5. 草酸鈣簇晶存在於葉肉組織中。偏光顯微鏡下呈多彩狀。
6. 草酸鈣針晶多見，成束或散在。偏光顯微鏡下呈多彩狀。
7. 莖纖維較長，平直或稍彎曲。偏光顯微鏡下呈亮黃白色。
8. 氣孔呈長圓形。
9. 澱粉粒多單粒，類圓形，層紋與臍點皆不明顯。



圖 1 白花蛇舌草藥材圖

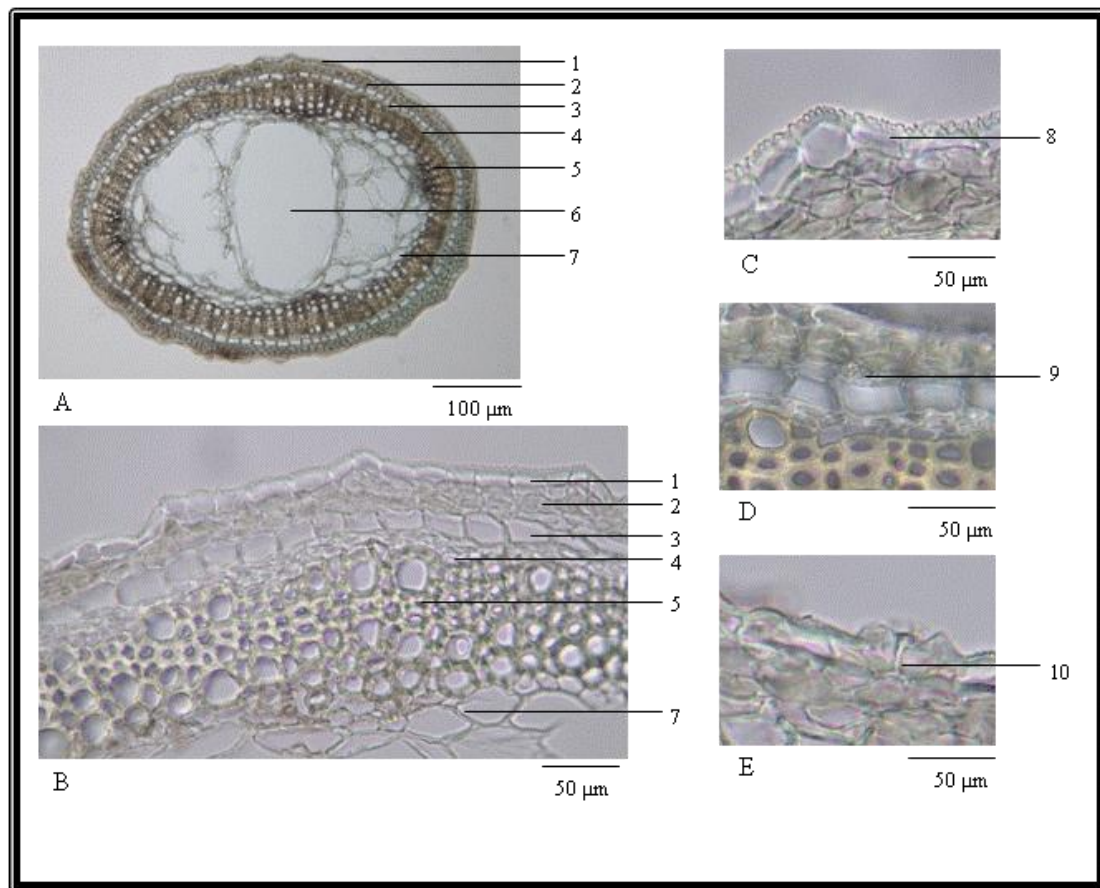


圖 2 白花蛇舌草莖橫切面顯微特徵圖

A.橫切面圖 B.局部組織放大圖 C.表皮乳突狀突起 D.草酸鈣針晶 E.氣孔

1.表皮 2.皮層 3.內皮層 4.韌皮部 5.木質部 6.裂隙 7.髓部

8.表皮乳突狀突起 9.草酸鈣針晶 10.氣孔

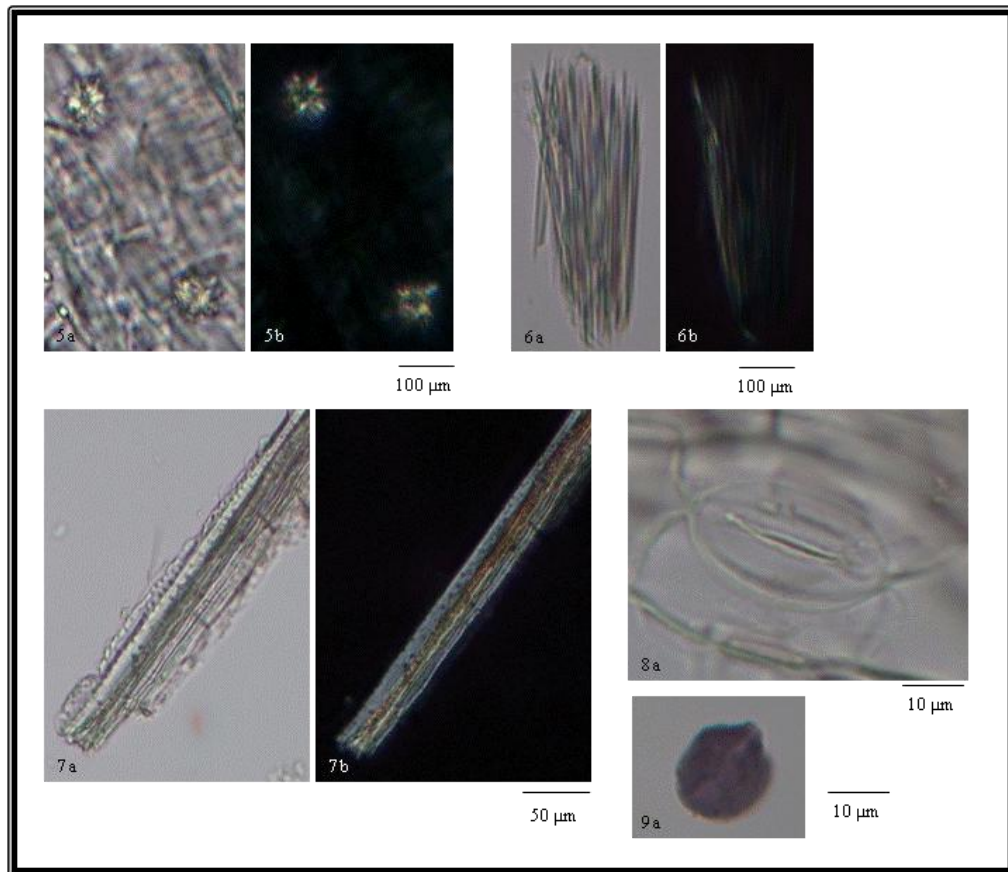
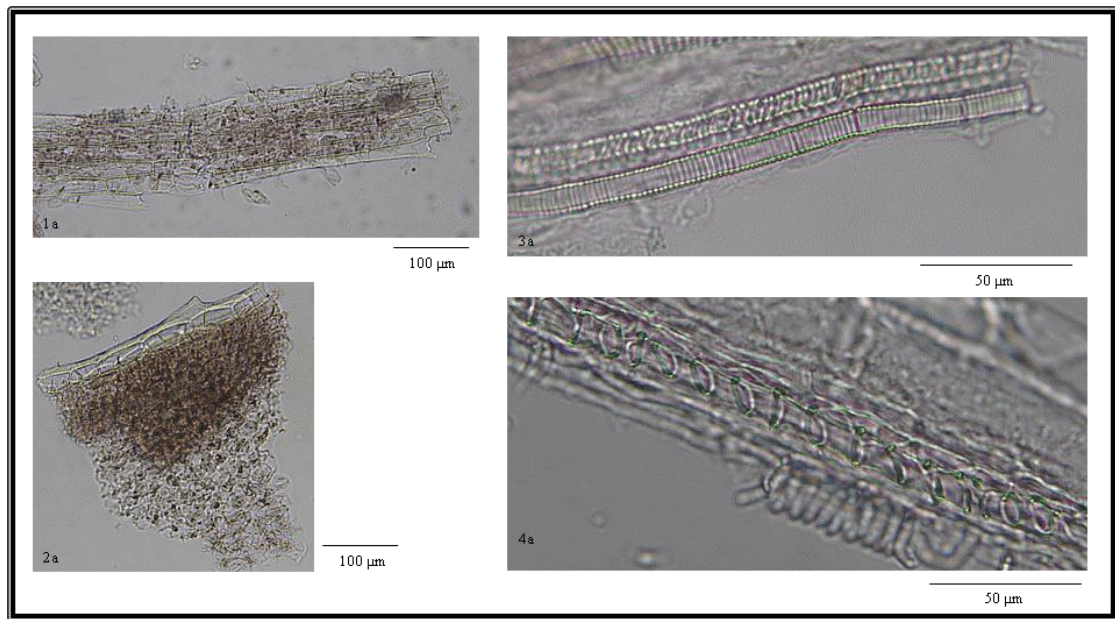


圖 3 白花蛇舌草粉末顯微特徵圖

a.光學顯微鏡下特徵 b.偏光顯微鏡下特徵

- 1.莖表皮細胞 2.破碎葉細胞 3.環紋導管 4.螺旋紋導管
5.草酸鈣簇晶 6.草酸鈣針晶 7.莖纖維 8.氣孔 9.澱粉粒

白花蛇舌草(HEDYOTIDIS DIFFUSAE HERBA)

一、材料

購自於台灣各地中藥店白花蛇舌草藥材共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Shimadzu SCL 10Avp System Controller, SPD-10Avp UV-Vis Detector, LC-20AT Pump, SIL-20A prominence autosampler, and Biotech 2003 Degasser；層析管柱 Cosmosil AR-II C₁₈ Column (250 x 4.6 mm, 5 μm)。

(二) UPLC 儀器及層析管柱

Agilent 1200 Infinity Series UPLC: 1290 DAD, 1290 TCC, 1290 Sampler, 1290 Thermostat, 1290 Bin Pump；層析管柱 Agilent Poroshell EC-C₁₈ plus Column (150 x 3.0 mm, 2.7 μm)

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

甲醇(99.9%)購自於 Mallinckrodt Baker. Inc.；磷酸(85%)購自於 Tedia；乙腈(99.9%)和乙醇(95%)皆購自於景明化工。

(二) 標準品

標準品白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I)，自行分離純化製備，純度在 98%以上。

四、方法

(一) 萃取溶媒開發

取本品粉末九份，每份精確稱定 0.5 g，置 50 mL 離心管中稱定重量，分別精確加入甲醇、70%甲醇、50%甲醇、30%甲醇、乙醇、70%乙醇、50%乙醇、30%乙醇、水各 25 mL，超音波震盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘。各提取液離心(3000 rpm, 15 分鐘)，過濾(Syringe filter, 0.45 μm)，取濾液，即得。每針 10 μL 注入高效能液相層析儀(HPLC)，以所測得每克重量標準品白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I)之最大波峰面積為白花蛇舌草最佳萃取溶媒。

(二) 萃取次數考察

取本品粉末(過第 20 號篩網)約 0.5 g，精確稱定，置 50 mL 離心管中，精確加入 50%乙醇 25 mL，超音波震盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，離心(3000 rpm, 15 分鐘)，取上清液，過濾(Syringe filter, 0.45 μm)，取

濾液，即得。殘渣部分重複上述方法再次萃取、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

取白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 精確稱定 20 mg，加 20 mL 的 50% 乙醇製成每 1 mL 含白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 1.0 mg 的標準品儲備溶液。再精確取儲備溶液以 50% 乙醇配製成 100 µg/mL 之對照標準品溶液。

(四) 檢品溶液

取本品粉末精確稱定 0.5 g，置 50 mL 離心管中，精確加入 50% 乙醇 25 mL，超音波震盪處理(功率 500 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，將提取液離心(3000 rpm, 15 分鐘)，取上清液，並過濾(Syringe filter, 0.45 µm)，取濾液，即得。

(五) 測定法

分別精確吸取標準品溶液及檢品溶液各 10 µL 注入 HPLC，測定，用標準曲線計算溶液中白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 的含量，即得。

(六) 檢量線

精確吸取白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 標準品儲備溶液適量(1.0 mg/mL)，以 50% 乙醇稀釋製成含白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 分別為 400 µg/mL、200 µg/mL、100 µg/mL、50.0 µg/mL、10.0 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(x 軸)和標準品之濃度(y 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

以白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 濃度為 100 µg/mL 之標準品液連續進樣五針，以白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 波峰面積為指標，求出相對標準偏差。

(八) 再現性與穩定性試驗

1. 再現性：取同一批市售白花蛇舌草粉末，依白花蛇舌草檢品溶液製備方法平行製備五份白花蛇舌草檢品溶液，進樣測定，以白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 波峰面積為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取一批市售白花蛇舌草粉末，依白花蛇舌草檢品溶液製備方法製備一份白花蛇舌草檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 波峰面積為指標，求出相對標準偏差。

(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) 同日間與異日間差異試驗

取 100 $\mu\text{g/mL}$ 之標準品溶液進行同日間測試(在 24 小時內每個濃度注射三次)與異日間測試(七天內注射三次，每次間隔 24 小時以上，每個濃度重複注射三次)，求其相對標準差，以評估 HPLC 分析條件之穩定性與再現性。

(十一) 添加回收率試驗

取已知白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 含量的藥材粉末約 0.25 g，精確稱定 5 份，分別置 50 mL 離心管中，再分別加入 25 mL 的白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 溶液(50 $\mu\text{g/mL}$)，並按檢品溶液製備方法操作測定。

(十二) HPLC 分析條件

1. 層析管：Cosmosil AR-II C_{18} Column (250 x 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 310 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	17	83
40	17	83

(十三) 臺灣市售白花蛇舌草含量測定

取十批市售白花蛇舌草檢品溶液(平行操作各 3 份)各 10 μL 連續兩針注入 HPLC，所得平均波峰面積依附錄 I 公式計算樣品白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 的百分含量。

(十四) 臺灣市售白花蛇舌草 HPLC 指紋圖譜的建立

取市售白花蛇舌草檢品溶液 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：Cosmosil AR-II C₁₈ Column (250 mm x 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 310 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	10	90
35	30	70
40	35	65
50	50	50
80	90	10
85	100	0

(十五) UPLC 分析條件

標準品白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) UPLC 圖譜分析條件。

1. 層析管：Agilent Poroshell EC-C₁₈ plus Column (150 x 3.0 mm, 2.7 μ m)
2. 檢測波長：UV 310 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：室溫
5. 注入量：1.0 μ L
6. 移動相：20%乙腈在 0.1%磷酸水溶液中

(十六) 臺灣市售白花蛇舌草 UPLC 指紋圖譜的建立

取市售白花蛇舌草檢品溶液 1.0 μL 進樣，進行 UPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：Agilent Poroshell EC- C_{18} plus Column (150 x 3.0 mm, 2.7 μm)

2. 檢測波長：UV 210 nm

3. 流速：0.4 mL/min

4. 管柱溫度：室溫

5. 注入量：1.0 μL

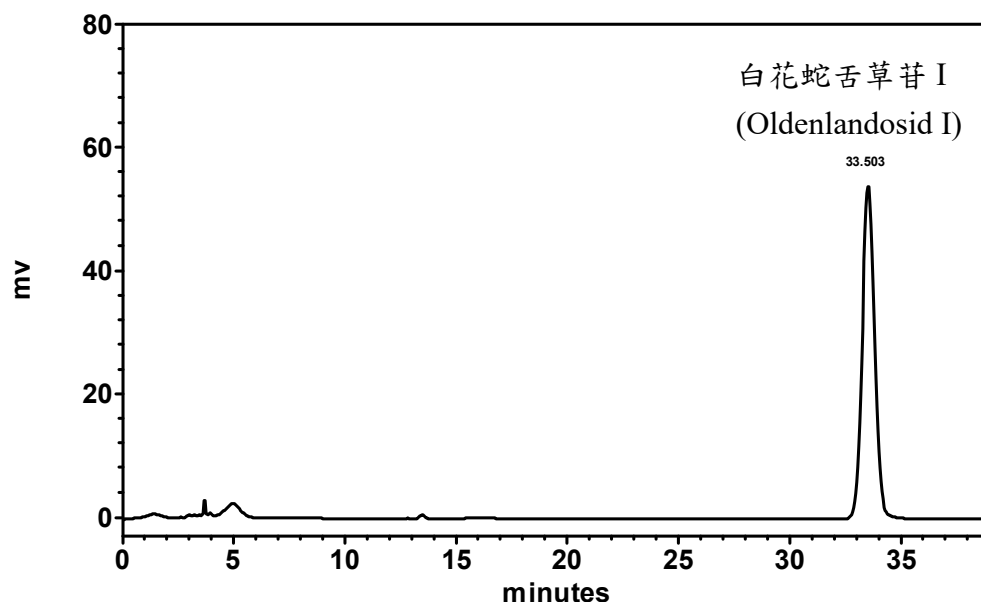
6. 移動相：

時間(min)	乙腈	0.1%磷酸(%, v/v)
0	10	90
10	20	80
20	40	60
30	50	50
40	80	20
45	100	0
50	10	90
55	10	90

五、結果

(一) 標準品白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 之 HPLC 層析

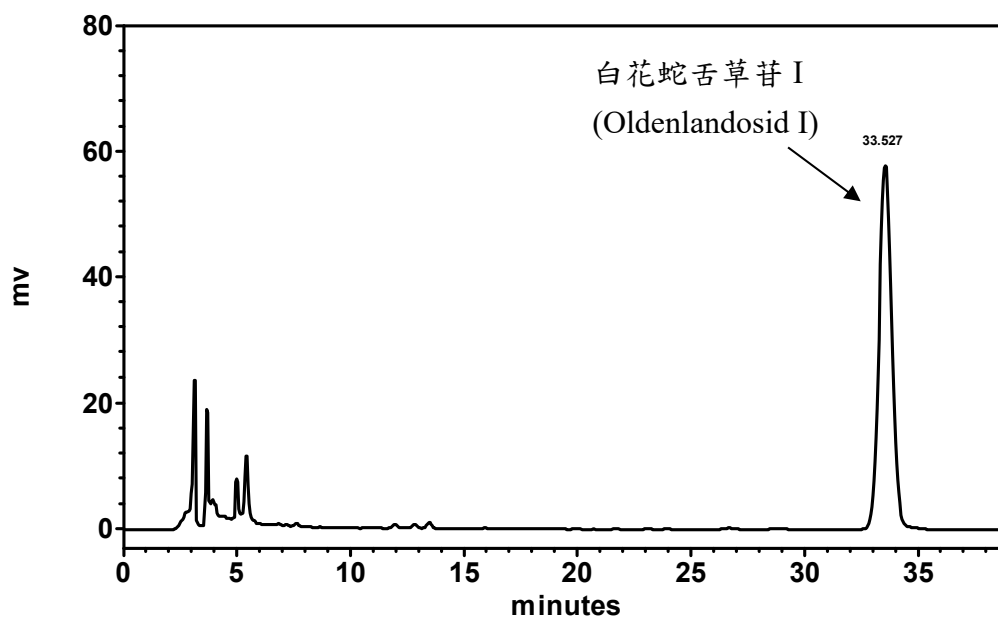
於滯留時間 33.5 分鐘處顯示白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 標準品波峰 (圖一)。



圖一、白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售白花蛇舌草檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 33.5 分鐘處顯示白花蛇舌草檢品中白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 標準品波峰 (圖二)。分離率為 $R > 3.0$ ，托尾因子為 $T = 1.02$ ，均在系統適用性要求內。



圖二、市售白花蛇舌草檢品之 HPLC 層析圖

(三) 萃取溶媒選擇

以 50%乙醇為溶媒時，每克藥材重量所得白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 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	507839	
70%甲醇	532583	
50%甲醇	529186	
30%甲醇	472403	
乙醇	387325	
70%乙醇	525937	
50%乙醇	534567	√
30%乙醇	509092	
H ₂ O	314880	

(四) 萃取次數考察

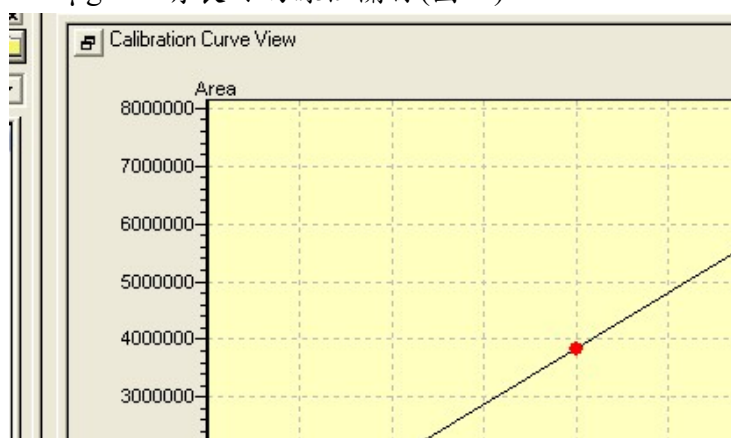
結果顯示萃取一次基本上已將白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 萃取完全 (萃取率大於 99.0%)。

表二、白花蛇舌草檢品萃取次數考察

50%乙醇萃取次數	波峰面積
第一次	1811860
第二次	7872
第三次	ND

(五) 標準品白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 檢量線

經不同濃度白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) (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： $y = 19300.86x - 10818.8$ ， $R^2 = 0.9999$ ，顯示濃度在 10.0–400 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 之檢量線圖

表三、白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 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
白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I)	10.0–400	$y = 19300.86x - 10818.8$	0.9999

(六) 精密度試驗

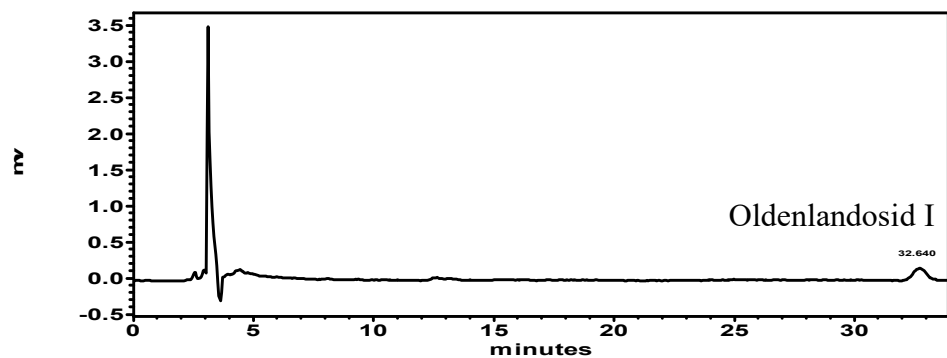
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 精密度之相對標準差為 0.22%，再現性之相對標準差為 1.45%，均在可接受的範圍以內。

(七) 穩定性試驗

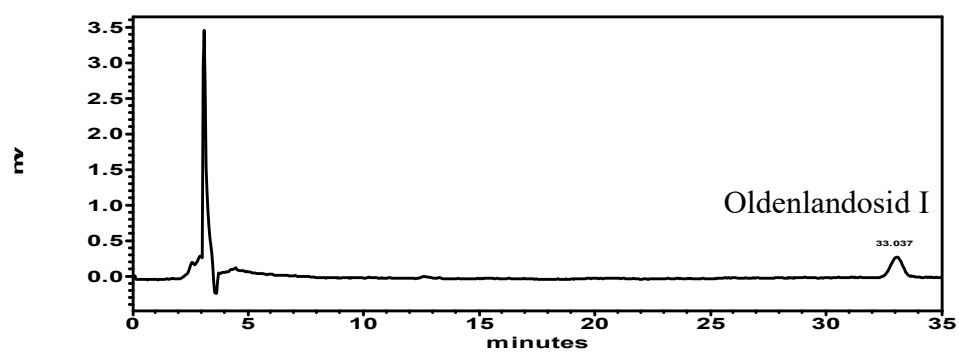
由結果可以得知，檢品溶液在 24 小時內穩定，相對標準差為 1.25%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限、定量極限及再現性

白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) (Limit of Detection, LOD) 為 0.25 µg/mL (圖四)，定量極限(Limit of Quantitation, LOQ) 為 1.0 µg/mL (圖五)。



圖四、白花蛇舌草苷(Oldenlandosid I)之 LOD 層析圖



圖五、白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I)之 LOQ 層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I)	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	100 µg/mL	0.22
再現性 (n=5)	檢品溶液(No.6)	1.45
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.6)	1.25
偵測極限 (n=1)	0.25 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	1.0 µg/mL	-

(九) 同日間與異日間試驗

由結果可以得知，白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 在檢量線之範圍濃度內同日間的相對標準差為 0.06%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則幾乎無差異；異日間的相對標準差為 0.16%，顯示樣品在低溫冷藏情況下，7 日內穩定。

表五、白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 同日間與異日間試驗

對照標準品	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	異日間 (n=9) mean $\pm$ SD	同日間 (n=3) mean $\pm$ SD
白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I)	50.0	49.56 $\pm$ 0.08	49.62 $\pm$ 0.03

(十) 添加回收率試驗

白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 平均回收率為 101.76%，相對標準偏差 1.27%。

表六、白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 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	0.2546	1.3750	1.275	2.7344	103.18	101.76	1.27
2	0.2554	1.3794	1.275	2.7339	102.99		
3	0.2508	1.3545	1.275	2.6543	100.94		
4	0.2551	1.3778	1.275	2.6925	101.49		
5	0.2537	1.3702	1.275	2.6508	100.21		

(十一) 台灣市售白花蛇舌草含量測定

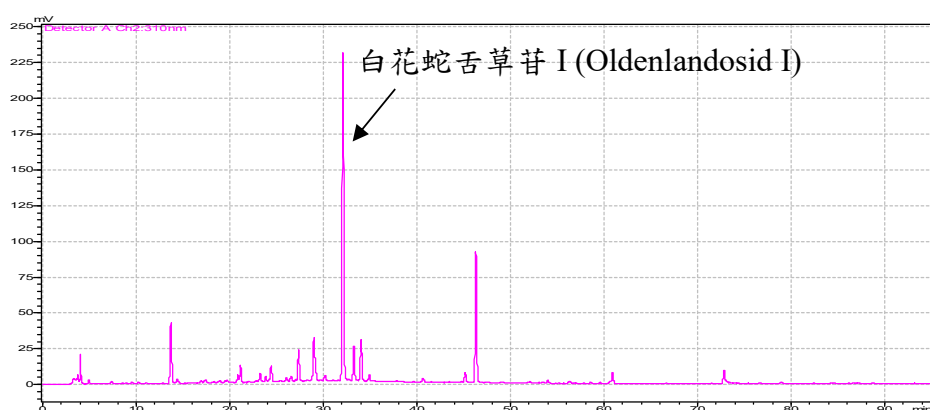
10 批白花蛇舌草藥材之含量測定結果(乾燥品)，白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I)的含量為 0.21–0.88%。建議白花蛇舌草藥材以白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I)為指標成分，且含量不得少於 0.4%。理論板數按白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I)波峰計算應不低於 8000 (實際值為 16000)。

表七、台灣市售白花蛇舌草檢品之白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I)含量

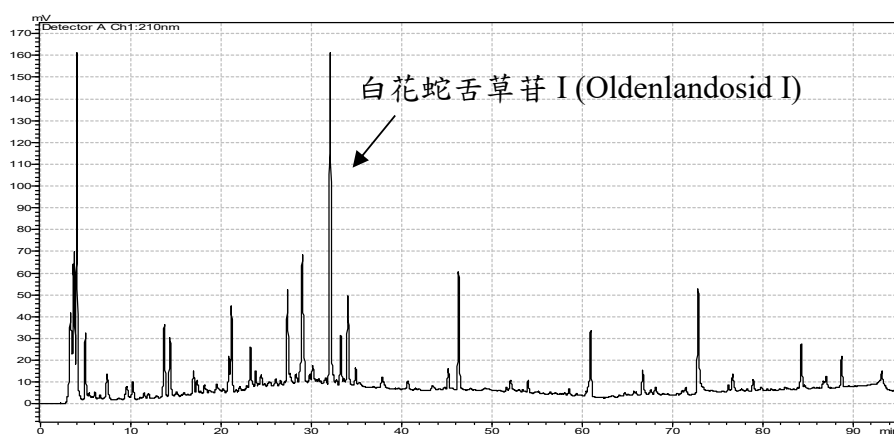
中藥店編號 (No.)	白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I)含量(%)	中藥店編號 (No.)	白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I)含量(%)
1 (CD)	0.206	6 (NYS)	0.625
2 (NHS)	0.640	7 (NDA)	0.618
3 (NWA)	0.340	8 (SL)	0.405
4 (SC)	0.881	9 (NYSH)	0.634
5 (NFJ)	0.706	10 (TS)	0.597

(十二) 台灣市售白花蛇舌草 HPLC 指紋圖譜

建立台灣市售白花蛇舌草 HPLC 指紋圖譜 (圖六、圖七)，並指認了主成分白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I)。

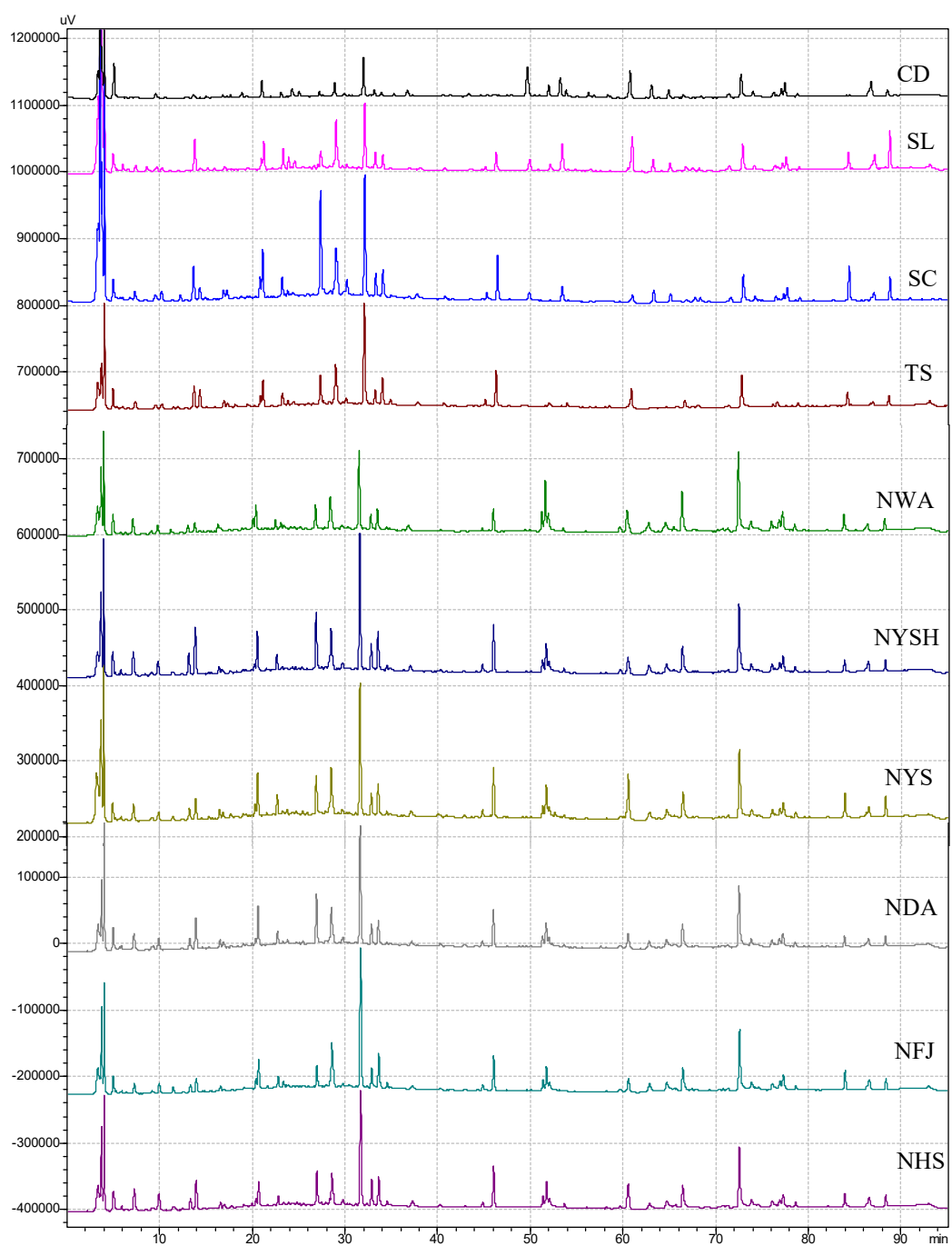


圖六、市售白花蛇舌草之 HPLC 指紋圖譜 310 nm.



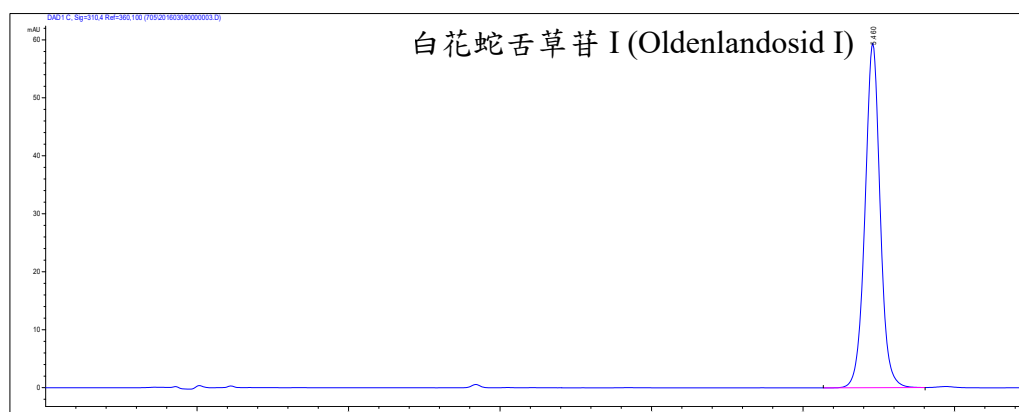
圖七、市售白花蛇舌草之 HPLC 指紋圖譜 210 nm.

(十三) 台灣 10 批市售白花蛇舌草藥材之 HPLC 層析



圖八、十批市售白花蛇舌草之 HPLC 指紋圖譜(UV 210 nm)

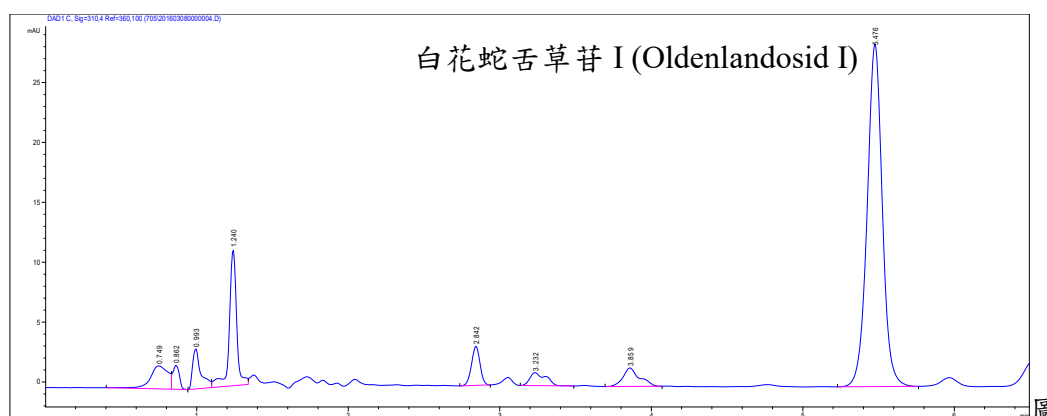
(十四) 標準品白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 之 UPLC 層析



圖九、白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 標準品溶液之 UPLC 層析圖 (UV 310 nm)

(十五) 市售白花蛇舌草 UPLC 層析

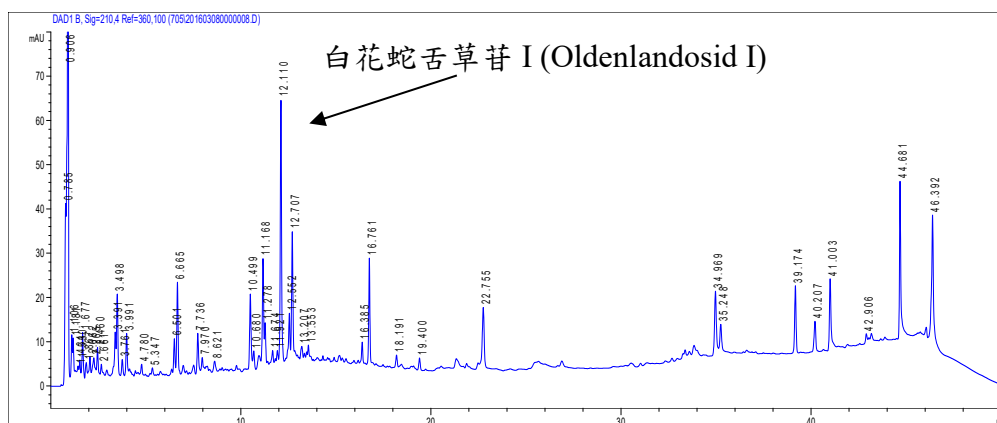
以白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 為指標成分的市售白花蛇舌草 UPLC 圖譜 (圖十)。



圖十、市售白花蛇舌草之 UPLC 層析圖譜 (UV 310 nm)

(十六) 市售白花蛇舌草 UPLC 指紋圖譜

建立白花蛇舌草藥材的 UPLC 指紋圖譜，並指認其主成分白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) (圖十一)。

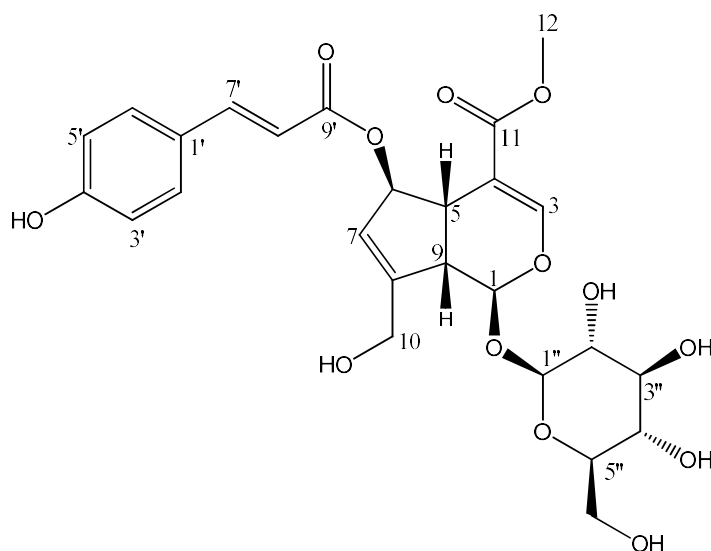


圖十一、市售白花蛇舌草之 UPLC 指紋圖譜(UV 210 nm)

(十七) 白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 的分子式、分子量與熔點

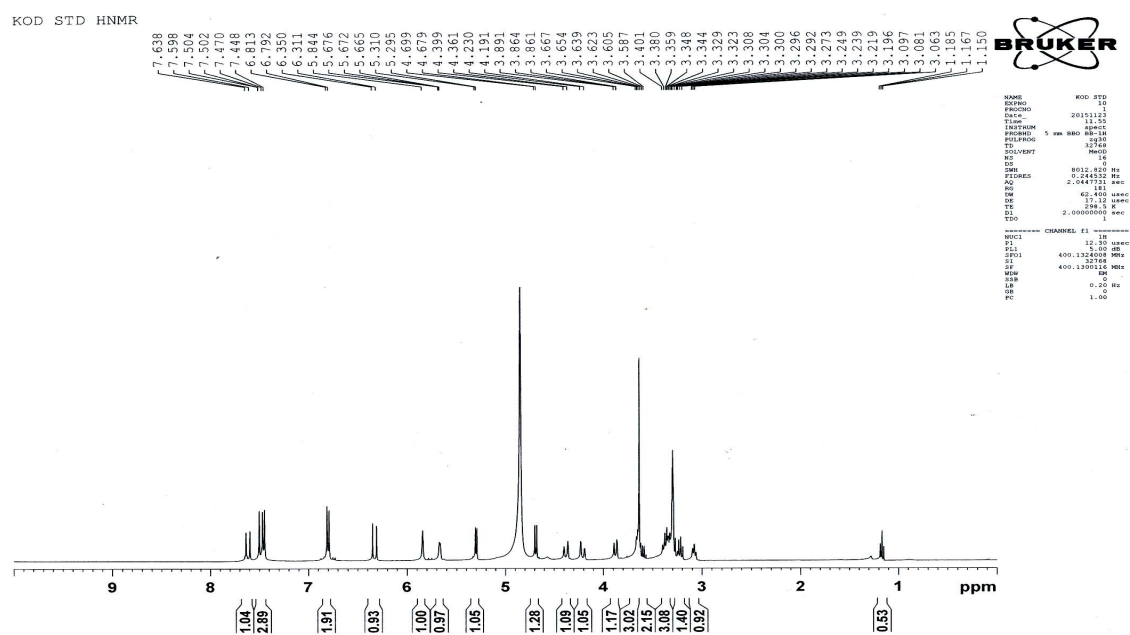
分子式：C₂₆H₃₀O₁₃ Mol. Wt.: 550.50 mp: 155 °C

(十八) 白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 的化學結構



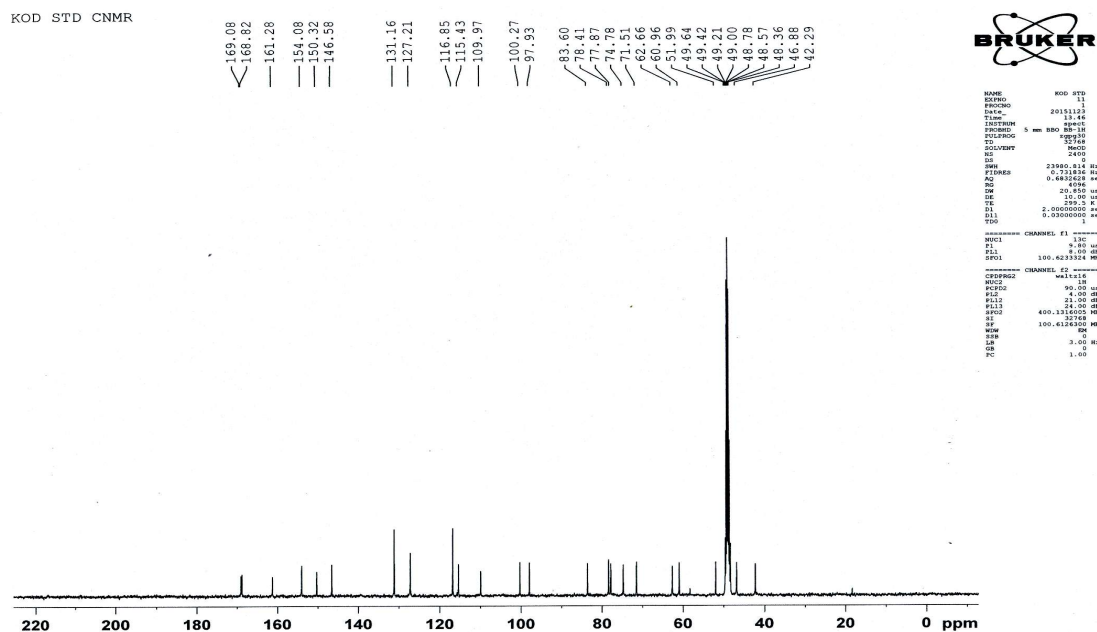
Chemical Formula: C₂₆H₃₀O₁₃
Exact Mass: 550.17

(十九) 白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 的 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜



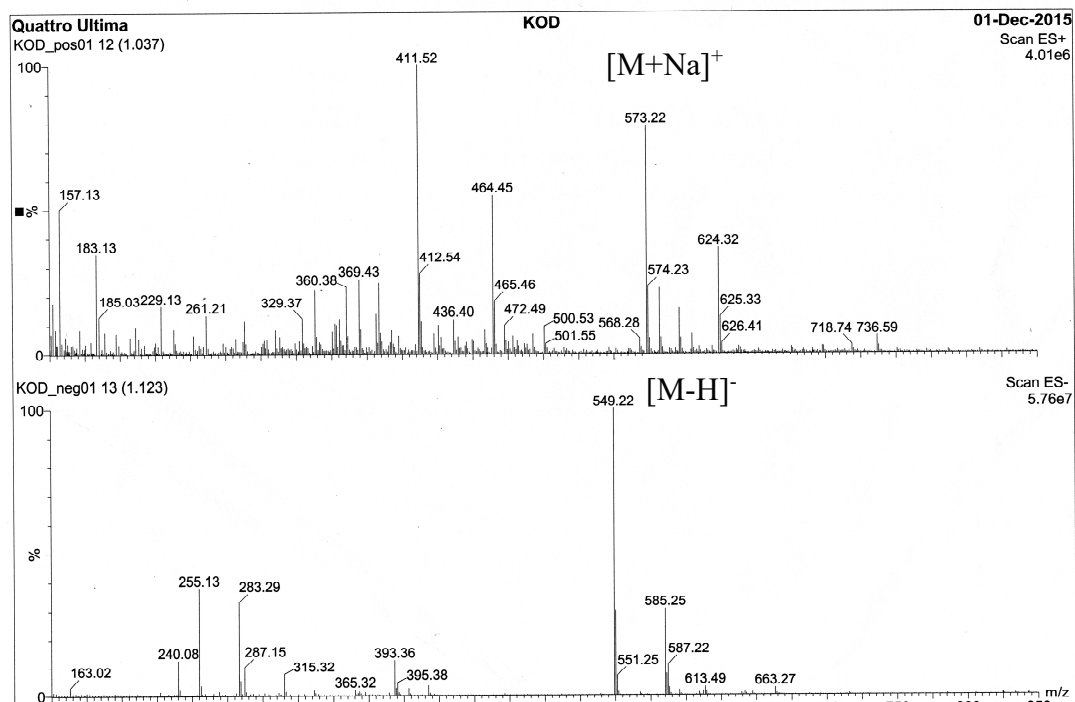
圖十二、白花蛇舌草昔 I (Oldenlandosid I) 的 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜(CD_3OD)

(二十) 白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 的 ^{13}C -NMR 圖譜



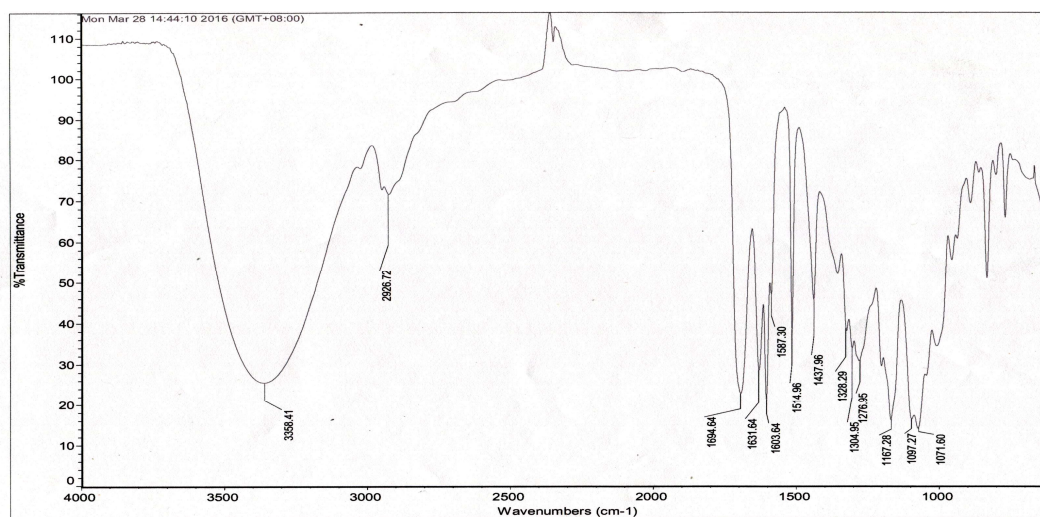
圖十三、白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 的 ^{13}C -NMR 圖譜(CD_3OD)

(二十一) 白花蛇舌草苷(Oldenlandosid I)的 ESI-MS 圖譜



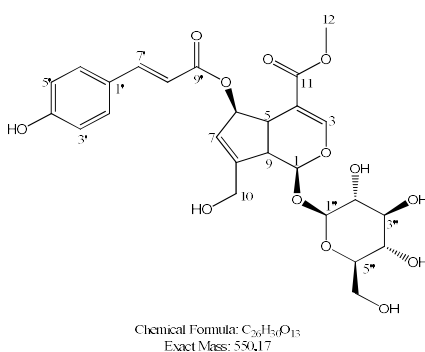
圖十四、白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 的 ESI-MS 圖譜

(二十二) 白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) FTIR 圖譜



圖十五、白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 的 FTIR 圖譜

(二十三) 白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 的氫、碳化學位移



表七、白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 的氫、碳化學位移(CD₃OD)^a

白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I)		
position	δ_H (400 MHz)	δ_C (100 MHz)
1	5.30 (d, 6.6)	97.9
3	7.50 (s)	154.1
4	-	110.0
5	3.21 (dd, 9.0, 7.8)	42.3
6	5.67 (brd, 1.8)	83.6
7	5.84 (brs)	127.2
8	-	150.3
9	3.08 (dd, 7.2, 6.6)	46.9
10	4.38 (d, 15.6) , 4.21 (d, 15.6)	61.0
11	-	169.1
12	3.65 (s)	52.0
1'	-	127.2
2', 6'	7.46 (d, 7.8)	131.2
3', 5'	6.80 (d, 7.8)	116.8
4'	-	161.3
7'	7.62 (d, 15.6)	146.6
8'	6.33 (d, 15.6)	115.4
9'	-	168.8
1''	4.69 (d, 7.8)	100.3
2''	3.25–3.40 (m)	74.8
3''	3.25–3.40 (m)	77.9
4''	3.25–3.40 (m)	71.5
5''	3.25–3.40 (m)	78.4
6''	3.87 (brd, 12.6), 3.65 (dd, 12.0, 6.0)	62.7

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

附錄 I、定量濃度及百分含量計算

用標準品的波峰面積與溶液中相應濃度($\mu\text{g/mL}$)作圖，進行線性迴歸分析得斜率與截距。

按下列公式計算溶液中待測成分的濃度：

$$A = \frac{I - b}{m}$$

其中

A：待測成分濃度($\mu\text{g/mL}$)

I：檢品中待測成分之波峰面積

b：檢量線的 y 軸截距

m：檢量線的斜率

$$C = \frac{A \times D \times V}{1000 W} \times 100\%$$

按下列公式計算樣品中待測成分的百分含量

其中

C：待測成分含量(%)

A：檢品濃度($\mu\text{g/mL}$)

D：稀釋倍數

V：定容體積(mL)

W：藥材重(mg)

白花蛇舌草

中文名：白花蛇舌草

生藥拉丁名：HEDYOTIDIS DIFFUSAE HERBA

英文名：Spreading Hedyotis Herb

基 原：本品為茜草科 Rubiaceae 植物白花蛇舌草 *Hedyotis diffusa* Willd.之乾燥全草。夏秋季採收、洗淨、曬乾、切段。

一、方法

(一) 檢 品 溶 液 【萃取方法 1】(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 2】(自行開發) ✓

——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 5 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 取白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 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】(自行開發)

——乙酸乙酯：甲醇 (4：1)

【展開劑 2】(自行開發)

——乙酸乙酯：甲醇：甲酸 (20：5：1)

【展開劑 3】(自行開發) ✓

——二氯甲烷：甲醇：甲酸 (20：5：1)

(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 浸於 10% 硫酸乙醇試液，取出風乾後，150 °C 加熱至條帶顯色清晰，於可見光下檢視。

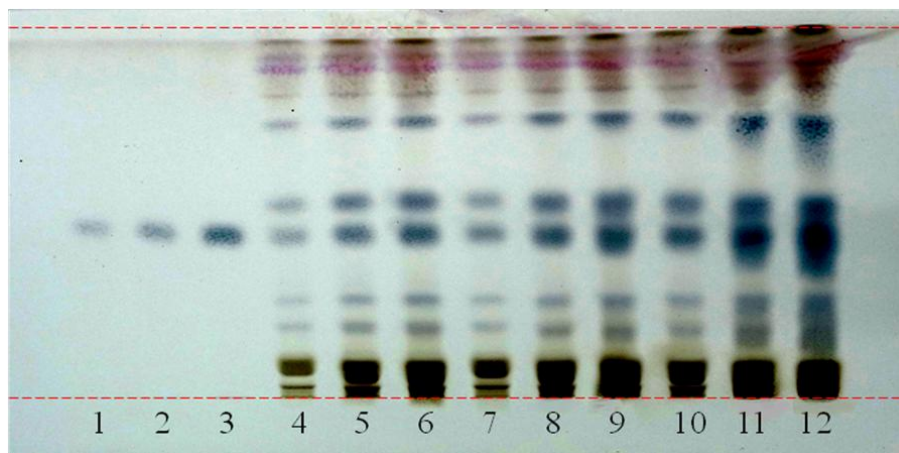
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：105/04/14

相對溼度(RH)：64%

溫度(RT)：26 °C

【展開劑 3】 (自行開發)——二氯甲烷：甲醇：甲酸 (20：5：1)



編號	名稱	含量
1, 2, 3	白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) (0.5 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
4, 5, 6	TS 檢品溶液【萃取方法 1】	2, 5, 8 μ L
7, 8, 9	TS 檢品溶液【萃取方法 2】	2, 5, 8 μ L
10, 11, 12	TS 檢品溶液【萃取方法 3】	2, 5, 8 μ L

建議萃法：3 種萃法之 TS 檢品溶液中皆有分離與檢出白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I)，而由於製備簡便快速，且使用溶劑量較低，故選擇【萃取方法 2】。

建議點注量：白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 標準品溶液 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 2】 2 μ L。

三、溶媒系統選擇

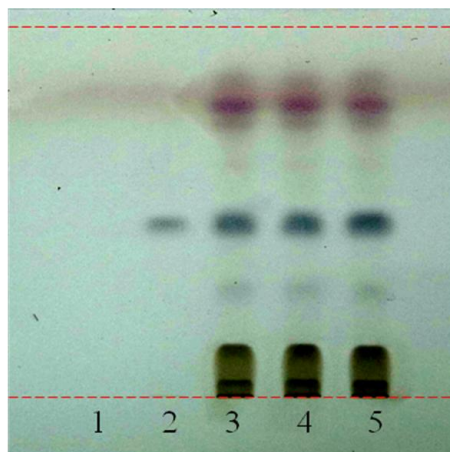
實驗日期：105/04/14

相對溼度(RH)：64%

溫度(RT)：26 °C

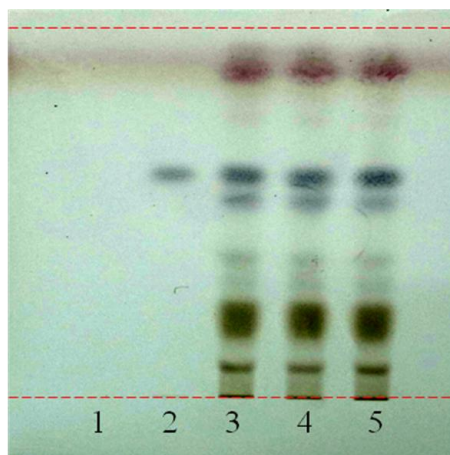
【展開劑 1】 (自行開發)——乙酸乙酯：甲醇 (4：1)

【萃取方法 3】 (自行開發)—— HPTLC 10%硫酸乙醇呈色後可見光檢出(白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) R_f 值為 0.48)



【展開劑 2】 (自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：甲酸 (20：5：1)

【萃取方法 3】 (自行開發)—— HPTLC 10%硫酸乙醇呈色後可見光檢出(白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) R_f 值為 0.61)



【展開劑 3】 (自行開發)——二氯甲烷：甲醇：甲酸 (20：5：1)

【萃取方法 3】 (自行開發)——HPTLC 10%硫酸乙醇呈色後可見光檢出(白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) R_f 值為 0.44)



1：Blank

2：白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I)

3，4：TS 檢品溶液

5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 2】方式，3 種展開劑展開皆可從 TS 檢品溶液中分離與檢出出白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I)，而由於條帶顯示較多也較細，故採用自行開發之【展開劑 3】。

四、觀察方式選擇

實驗日期：105/04/14

相對溼度(RH)：64%

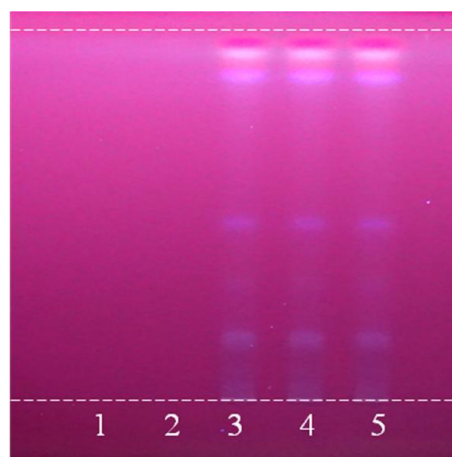
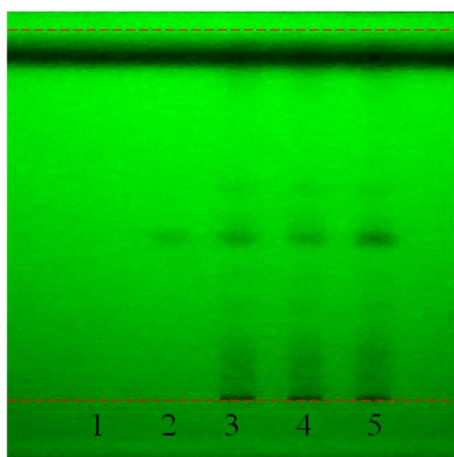
溫度(RT)：26 °C

【展開劑 3】 (自行開發)——二氯甲烷：甲醇：甲酸 (20：5：1)

【萃取方法 2】 (自行開發) — HPTLC 【萃取方法 2】 (自行開發) — HPTLC

紫外光(254 nm)檢出

紫外光(365 nm)檢出

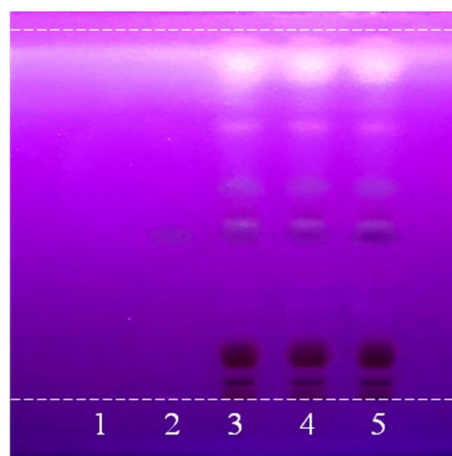


【萃取方法 2】 (自行開發) — HPTLC

呈色/可見光檢出

【萃取方法 2】 (自行開發) — HPTLC

呈色/紫外光(365 nm)檢出



1：Blank

2：白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I)

3，4：TS 檢品溶液

5：Spike

建議觀察方式：經 10% 硫酸乙醇呈色後，於可見光下顯示出較其他觀察方式下明顯之白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 標準品斑點，且所呈現之條帶也較多。

五、十家樣品檢測

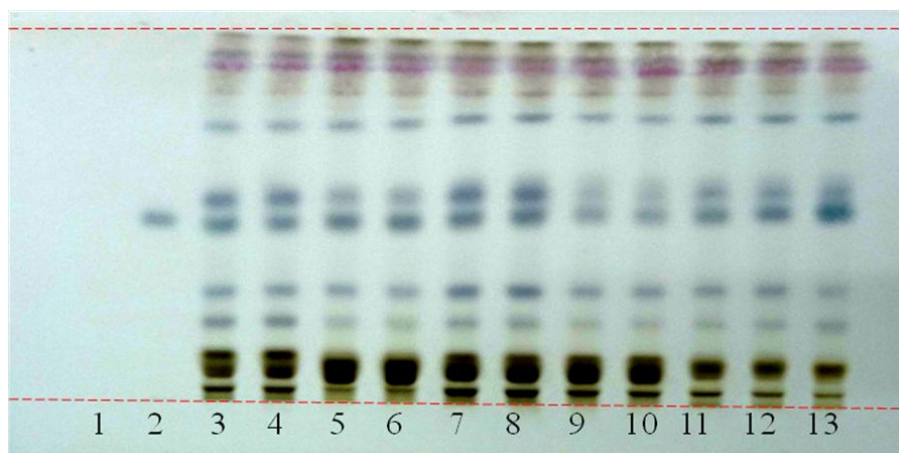
實驗日期：105/04/14

相對溼度(RH)：64%

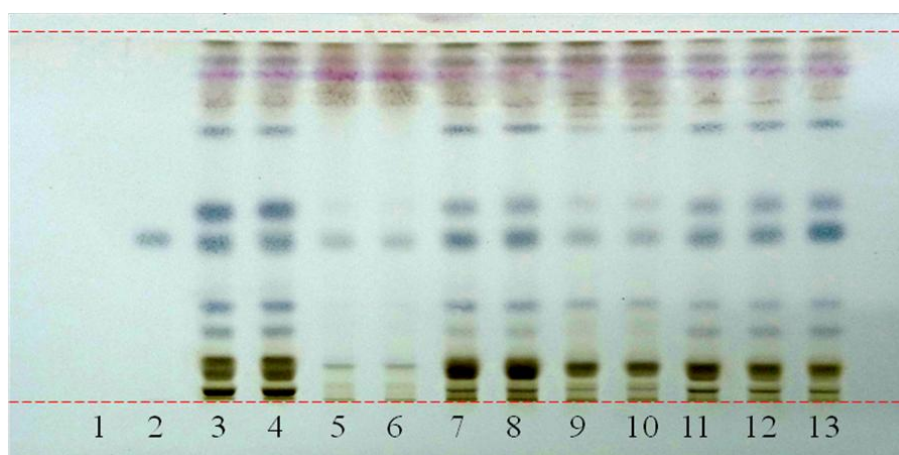
溫度(RT)：26 °C

【展開劑 3】 (自行開發)——二氯甲烷：甲醇：甲酸 (20：5：1)

【萃取方法 2】 (自行開發)——HPTLC 10%硫酸乙醇呈色後可見光檢出



1	Blank
2	白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) (0.5 mg/mL)
3, 4	NDA 檢品溶液
5, 6	NFJ 檢品溶液
7, 8	NHS 檢品溶液
9, 10	NWA 檢品溶液
11, 12	NYS 檢品溶液
13	Spike (TS 檢品溶液)



1	Blank
2	白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) (0.5 mg/mL)
3, 4	NYSH 檢品溶液
5, 6	CD 檢品溶液
7, 8	SC 檢品溶液
9, 10	SL 檢品溶液
11, 12	TS 檢品溶液
13	Spike (TS 檢品溶液)

結論與建議：以自行開發之【萃取方法 2】方式，並以自行開發之【展開劑 3】分離與檢出白花蛇舌草苷 I (Oldenlandosid I) 效果較佳，所呈現出的條帶也較多，以 10% 硫酸乙醇顯色後，在可見光下檢視較清楚。