

白鮮皮

(DICTAMNI CORTEX)

白鮮皮 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
白鮮皮 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	10
白鮮皮 TLC	32
一、方法	32
二、萃法選擇及濃度測試	33
三、溶媒系統選擇	35
四、觀察方式選擇	39
五、十家樣品檢測	41

白鮮皮

(DICTAMNI CORTEX)

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鮮的乾燥根皮。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：白鮮皮

生藥名：DICTAMNI CORTEX

英文名：Dense Fruit Pittany Root-Bark

基原：芸香科 Rutaceae 植物白鮮 *Dictamnus dasycarpus* Turcz. 的乾燥根皮。

採收加工：春、秋二季採挖根部，南方於立夏後採挖，洗淨泥土，去除鬚根及粗皮，縱向剖開，抽去木心，曬乾。炮製：揀淨雜質，除去粗皮雜質，洗淨，稍潤，切片，乾燥。

藥材性狀：本藥材為捲筒狀或半捲筒狀的不規則切片，外表面淡灰色或灰白色，具縱皺紋、橫向皮孔及細根痕，常有突起的顆粒狀小點；內表面淡黃色，有細縱紋。質脆，易折斷，折斷時有粉塵飛揚，斷面不平坦，略呈層片狀。有羊膻氣，味微苦。

生長分佈：多年生草本，高 1 m，全株具特異香味。花期 4~7 月，果期 6~8 月。生於丘陵土坡或平地灌木叢中或草地或疏林下，石灰岩山地亦常見。喜溫暖濕潤氣候，耐寒、怕旱、怕澇、怕強光照。主產遼寧、河北、四川、江蘇、浙江、安徽等地。朝鮮、蒙古、俄羅斯（遠東）也有。

三、藥材組織顯微鑑別(圖 2)

1. 木栓層為數列扁平的木栓細胞，微木化，呈黃棕色。
2. 木栓形成層不明顯。
3. 皮層狹窄，長圓形薄壁細胞切向排列，有大型裂隙散在。
4. 韌皮部寬廣，薄壁細胞排列疏鬆，有裂隙。
5. 韌皮髓線為數列薄壁細胞。
6. 皮層、韌皮部纖維單個散在，壁厚，木化，層紋明顯。
7. 薄壁細胞內含大量草酸鈣簇晶及澱粉粒。

四、藥材粉末顯微鑑別(圖 3)

1. 本品粉末為淡黃白色，氣微香，味微苦略帶清涼感。
2. 木栓細胞成多角形或方形，微木化。
3. 纖維較多，常單個散在，多呈梭形或狹長紡錘形，壁厚，木化，具有細密明顯的層紋。偏光顯微鏡下呈多彩狀。
4. 澱粉粒呈類圓形，多為單粒，較大的澱粉粒中可見點狀或縫狀臍點，層紋不明顯。偏光顯微鏡下呈多彩狀。
5. 草酸鈣簇晶多見，直徑 20~110 μm ，常連續聚成帶狀。偏光顯微鏡下呈多彩狀。



圖 1 白鮮皮藥材圖

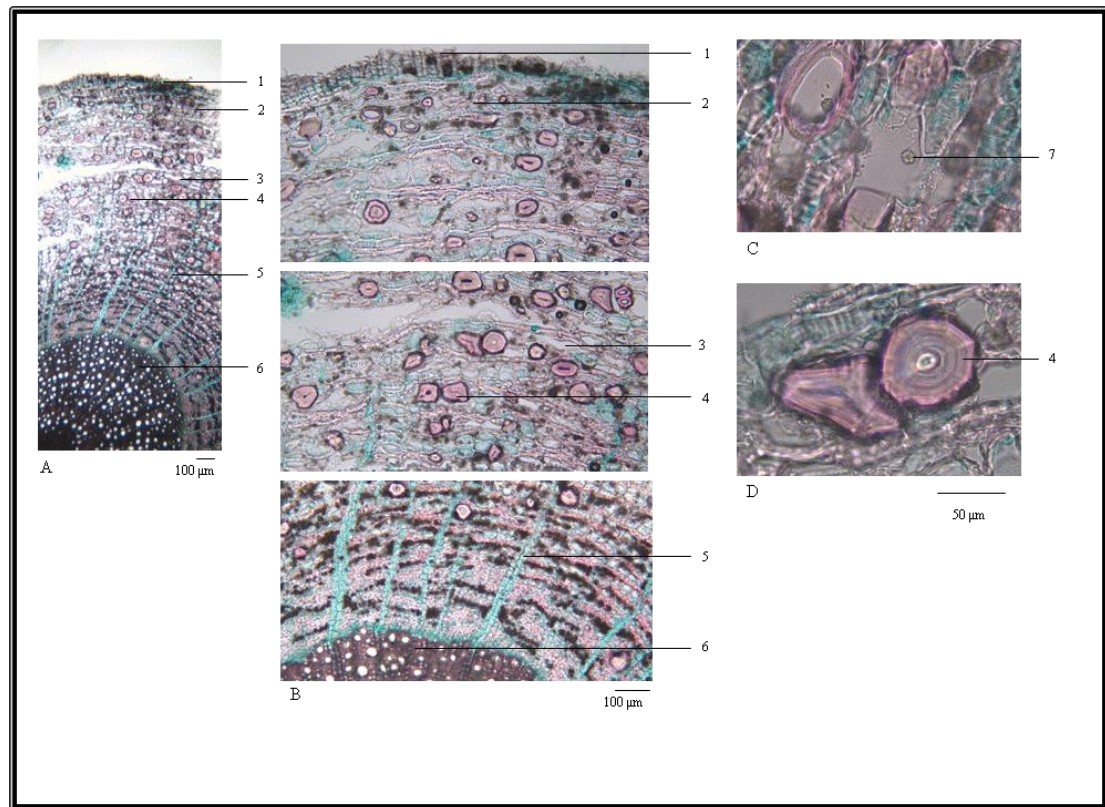


圖 2 白鮮皮橫切面顯微特徵圖

A.橫切面圖 B.橫切面放大圖 C.草酸鈣簇晶 D.韌皮纖維

1.木栓層 2.皮層 3.裂隙 4.韌皮纖維 5.韌皮髓線 6.木質部 7.草酸鈣簇晶

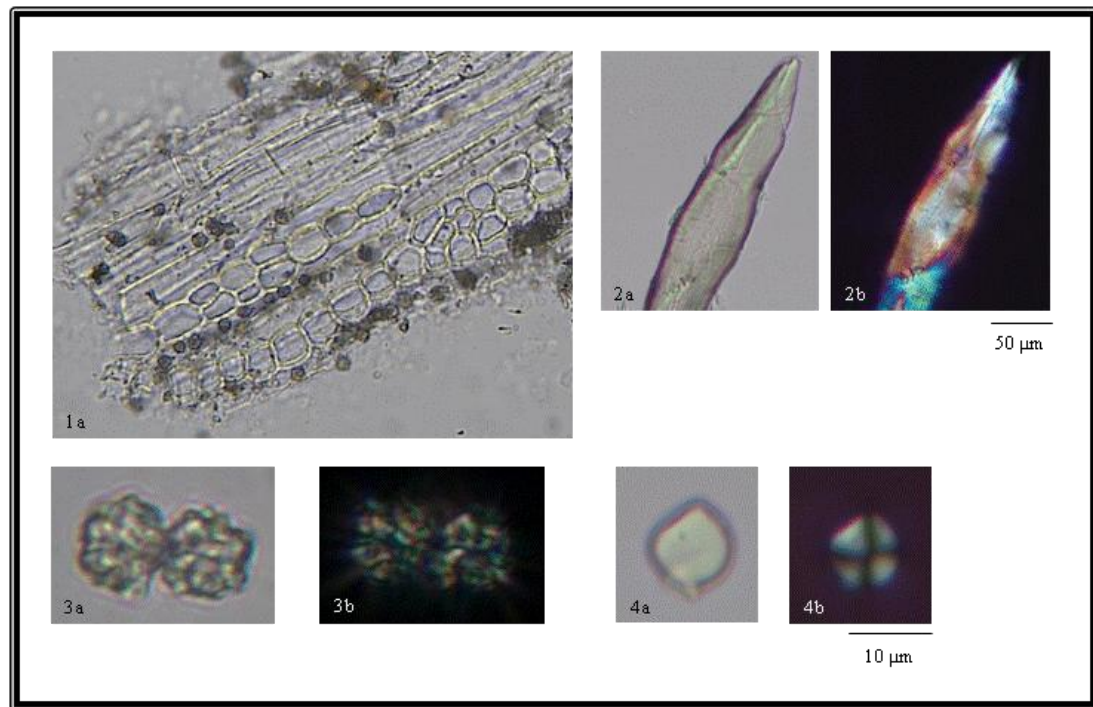


圖 3 白鮮皮粉末顯微特徵圖

a.光學顯微鏡下特徵 b.偏光顯微鏡下特徵

1.木栓細胞 2.纖維 3.澱粉粒 4.草酸鈣簇晶

白鮮皮 (DICTAMNI RADICIS CORTEX)

一、材料

購自於台灣各地中藥店白鮮皮藥材共 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 ZORBAX Eclipse Plus C18 Column Column (150 x 4.6 mm, 5 μ m)。

(二) UPLC 儀器及層析管柱

AcQuity Ultra Performance LC，包含 Binary Solvent Manager、Sample Manager、PDA Detector；層析管柱 Waters Acquity UPLC BEH C₁₈ (100 x 2.1 mm, 1.7 μ m)。

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

乙腈(Acetonitrile)、甲醇(Methanol)，HPLC 級，購自於 Merck，85%磷酸(Phosphoric acid)購自於 SIGMA。

(二) 標準品

標準品白鮮鹼(Dictamnine)、黃柏酮(Obakunone)、梣酮(Fraxinellone)購自於廣站，純度皆在 99% 以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒開發

取本品粉末六份，每份精確稱定 1.0 g，置 100 mL 濃縮瓶中，精確加入甲醇、75%甲醇、50%甲醇、乙醇、75%乙醇、50%乙醇各 25 mL，連接迴流冷凝裝置，置加熱包迴流萃取 60 分鐘，冷卻後，以 125 mm No.1 濾紙過濾，定容至 25 mL，取得濾液搖勻再過濾(syringe filter, 0.22 μ m)，即得。每針 10 μ L 注入高效能液相層析儀(HPLC)，以所測得每克重量之標準品白鮮鹼(Dictamnine)、黃柏酮(Obakunone)、梣酮(Fraxinellone)最大波峰面積為最佳白鮮皮萃取溶媒。

(二) 最佳萃取次數評估

取本品粉末約 1.0 g，精確稱定，置 100 mL 濃縮瓶中，精確加入甲醇 25 mL，連接迴流冷凝裝置，置加熱包迴流萃取 60 分鐘，冷卻後，以 125 mm No.1 濾紙過濾，定容至 25 mL，搖勻再過濾(syringe filter, 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

取標準品白鮮鹼(Dictamnine)精確稱定 0.6 mg，加 10 mL 的甲醇製成每 1 mL 含白鮮鹼(Dictamnine) 60 μg 的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 30 μg/mL 製成對照標準品溶液。

取標準品黃柏酮(Obakunone)精確稱定 5.0 mg，加 10 mL 的甲醇製成每 1 mL 含黃柏酮(Obakunone) 500 μg 的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 125 μg/mL 製成對照標準品溶液。

取標準品梣酮(Fraxinellone)精確稱定 5.0 mg，加 10 mL 的甲醇製成每 1 mL 含梣酮(Fraxinellone) 500 μg 的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋 30 μg/mL 製成對照標準品溶液。

(四) 檢品溶液

取本品粉末(過第 20 號篩網)約 1.0 g，精確稱定，置 100 mL 濃縮瓶中，加入 25 mL 甲醇，連接迴流冷凝裝置，置加熱包迴流萃取 60 分鐘，冷卻後，以 125 mm No.1 濾紙過濾，定容至 25 mL，搖勻再過濾(syringe filter, 0.22 μm)，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鮮鹼(Dictamnine)、黃柏酮(Obakunone)、梣酮(Fraxinellone)的含量，即得。

(六) 檢量線

精確吸取白鮮鹼(Dictamnine)標準品儲備溶液適量(60 μg/mL)，以甲醇稀釋製成含白鮮鹼(Dictamnine)分別為 30、15、5.0、1.0 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 。

精確吸取黃柏酮(Obakunone)標準品儲備溶液適量(500 μg/mL)，以甲醇稀釋製成含黃柏酮(Obakunone)分別為 250、125、100、60 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 。

精確吸取梣酮(Fraxinellone)標準品儲備溶液適量(500 μg/mL)，以甲醇稀釋製成含梣酮(Fraxinellone)分別為 250、125、60、30、10 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) 精確度試驗

以白鮮鹼(Dictamnine)濃度為 30 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣五針，以白鮮鹼(Dictamnine)波峰面積為指標，求出相對標準差。

以黃柏酮(Obakunone)濃度為 125 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣五針，以黃柏酮(Obakunone)波峰面積為指標，求出相對標準差。

以梣酮(Fraxinellone)濃度為 30 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣五針，以梣酮(Fraxinellone)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:取同一批市售白鮮皮粉末，依白鮮皮檢品溶液製備方法平行製備五份白鮮皮檢品溶液，進樣測定，以白鮮鹼(Dictamnine)、黃柏酮(Obakunone)、梣酮(Fraxinellone)含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性:取同一批市售白鮮皮粉末，依白鮮皮檢品溶液製備方法製備白鮮皮檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以白鮮鹼(Dictamnine)、黃柏酮(Obakunone)、梣酮(Fraxinellone)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) 添加回收率試驗

取已知白鮮鹼(Dictamnine)含量的白鮮皮藥材粉末約 1.0 g，精確稱定五份，分別加入 1 mL 的白鮮鹼(Dictamnine)溶液(100 µg/mL)，並按檢品溶液製備方法操作測定。

取已知黃柏酮(Obakunone)含量的白鮮皮藥材粉末約 0.2 g，精確稱定五份，分別加入 1 mL 的黃柏酮(Obakunone)溶液(1000 µg/mL)，並按檢品溶液製備方法操作測定。

取已知梣酮(Fraxinellone)含量的白鮮皮藥材粉末約 1.0 g，精確稱定五份，分別加入 1 mL 的梣酮(Fraxinellone)溶液(500 µg/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：ZORBAX Eclipse Plus C18 Column (150 mm x 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 236 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(%)	水(%)
0	55	45
20	55	45

(十二) 臺灣市售白鮮皮含量測定

取十批市售白鮮皮藥材依檢品溶液製備方法製備檢品溶液，取各 10 μ L 連續三針注入 HPLC，所得平均波峰面積依附錄 I 公式計算樣品白鮮鹼(Dictamnine)、黃柏酮(Obakunone)、梣酮(Fraxinellone)的百分含量。

(十三) 白鮮皮檢品之 UPLC 層析條件

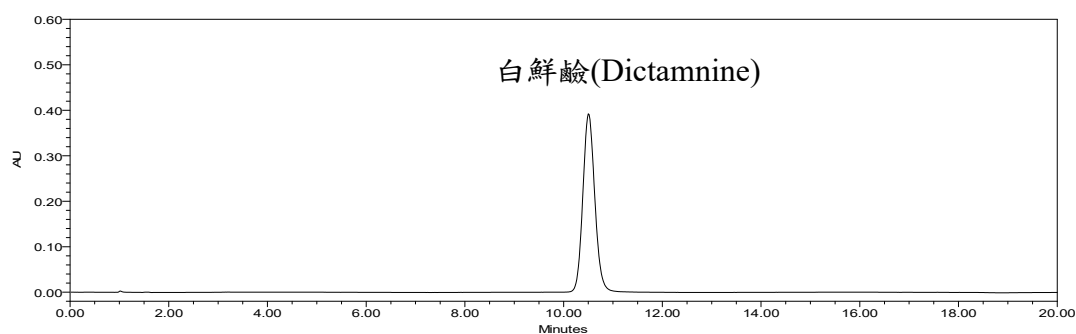
1. 層析管：Waters Acquity UPLC BEH C₁₈ (100 x 2.1 mm, 1.7 μ m)
2. 檢測波長：UV 236 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 $^{\circ}$ C
5. 注入量：1.0 μ L
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(%, v/v)
0	35	65
5	35	65
6	45	55
11	45	55

五、結果

(一) 標準品白鮮鹼(Dictamnine)之 HPLC 層析

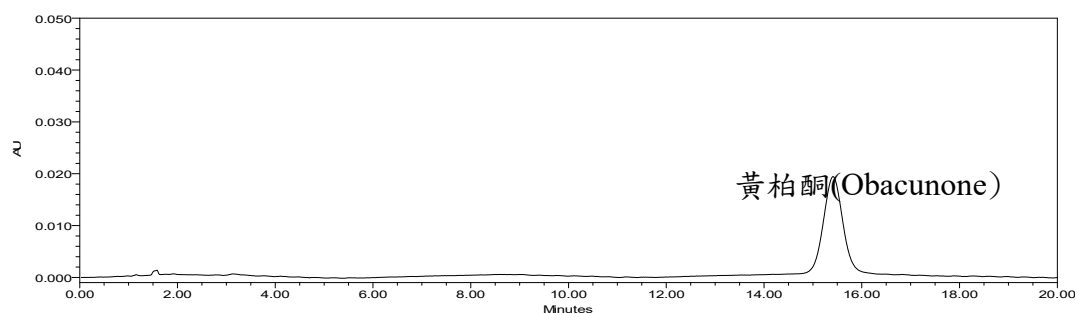
於滯留時間 10.5 分鐘處顯示白鮮鹼(Dictamnine)標準品波峰(圖一)。



圖一、白鮮鹼(Dictamnine)標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 標準品黃柏酮(Obacunone)之 HPLC 層析

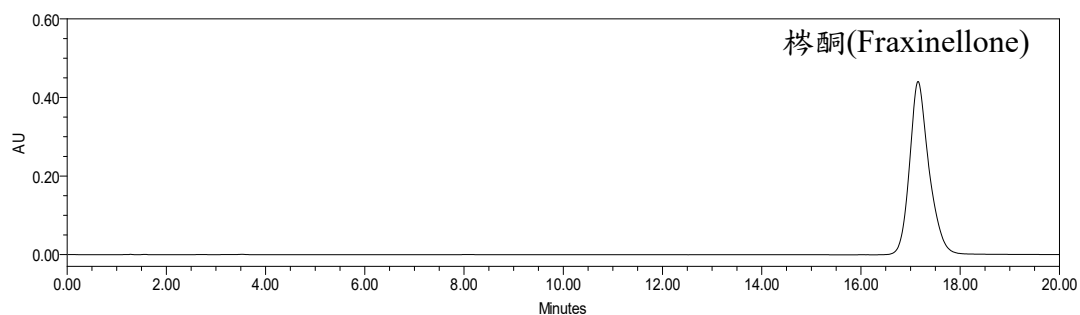
於滯留時間 15.4 分鐘處顯示黃柏酮(Obacunone)標準品波峰(圖二)。



圖二、黃柏酮(Obacunone)標準品溶液之 HPLC 層析圖

(三) 標準品梣酮(Fraxinellone)之 HPLC 層析

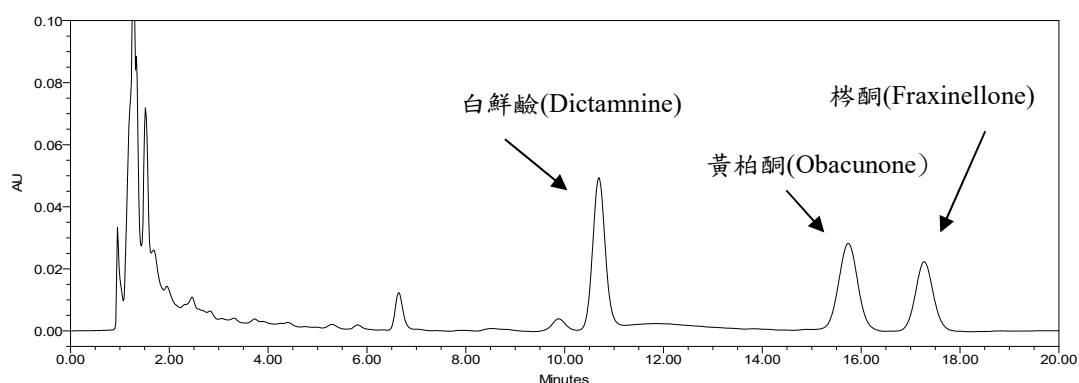
於滯留時間 17.2 分鐘處顯示梣酮(Fraxinellone)標準品波峰(圖三)。



圖三、梣酮(Fraxinellone)標準品溶液之 HPLC 層析圖

(四) 市售白鮮皮檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 10.7 分鐘處顯示白鮮鹼(Dictamnine)波峰(圖四)，分離率為 $R = 1.76$ ，托尾因子為 $T = 1.11$ ；於滯留時間 15.7 分鐘處顯示白鮮皮檢品中黃柏酮(Obakunone)波峰(圖四)，分離率為 $R = 8.99$ ，托尾因子為 $T = 1.02$ ；於滯留時間 17.3 分鐘處顯示白鮮皮檢品中梣酮(Fraxinellone)波峰(圖四)，分離率為 $R = 2.15$ ，托尾因子為 $T = 1.06$ ，均在系統適用性要求內。



圖四、市售白鮮皮檢品之 HPLC 層析圖

(五) 最佳萃取溶媒開發

以甲醇為溶媒時，每克藥材重量所得白鮮鹼(Dictamnine)、黃柏酮(Obakunone)、梣酮(Fraxinellone)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	白鮮鹼 (Dictamnine) 波峰面積	黃柏酮 (Obakunone) 波峰面積	梣酮 (Fraxinellone) 波峰面積	最佳萃取
甲醇	764838	321015	508591	√
75%甲醇	592364	225529	340702	
50%甲醇	301084	7206	204621	
乙醇	672812	235131	350524	
75%乙醇	656337	221867	331124	
50%乙醇	436647	164773	260103	

(六) 最佳萃取次數評估

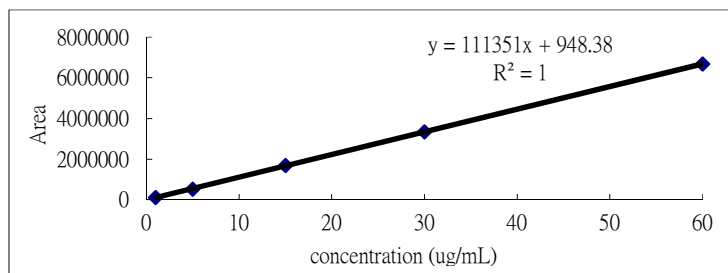
結果顯示萃取一次基本上已將白鮮鹼(Dictamnine)、黃柏酮(Obakunone)、梣酮(Fraxinellone)萃取完全(萃取率大於 98%)。

表二、白鮮皮檢品萃取次數評估

甲醇萃取次數	白鮮鹼 (Dictamnine) 波峰面積	黃柏酮 (Obakunone) 波峰面積	梣酮 (Fraxinellone) 波峰面積
第一次	764838	321015	508591
第二次	7754	5323	13835
第三次	N.D.	N.D.	N.D.

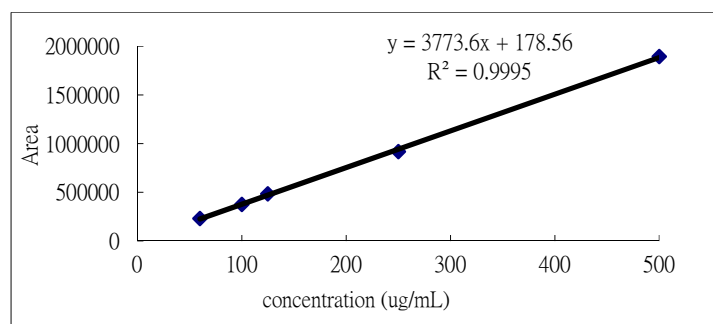
(七) 標準品白鮮鹼(Dictamnine)、黃柏酮(Obakunone)、梣酮(Fraxinellone)檢量線

經不同濃度白鮮鹼(Dictamnine)(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： $y = 111351x + 948.38$ ， $R^2 = 1$ ，顯示濃度在 1.0–60.0 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖五)。



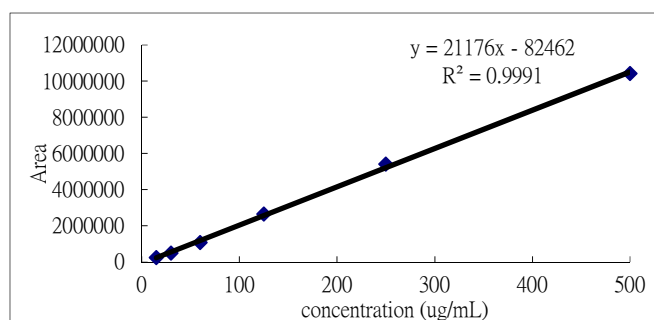
圖五、白鮮鹼(Dictamnine)之檢量線圖

經不同濃度黃柏酮(Obakunone) (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： $y = 3773.6x + 178.56$ ， $R^2 = 0.9995$ ，顯示濃度在 60.0–500.0 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖五)。



圖六、黃柏酮(Obakunone)之檢量線圖

經不同濃度梔酮(Fraxinellone) (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： $y = 21176x - 82462$ ， $R^2 = 0.9991$ ，顯示濃度在10.0–500.0 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖五)。



圖七、梔酮(Fraxinellone)之檢量線圖

表三、白鮮鹼(Dictamnine)、黃柏酮(Obacunone)、梔酮(Fraxinellone)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
白鮮鹼(Dictamnine)	1.0–60.0	$Y = 111351x + 948.38$	1
黃柏酮(Obacunone)	60.0–500	$Y = 3773.6x + 178.56$	0.9995
梔酮(Fraxinellone)	10.0–500	$Y = 21176x - 82462$	0.9991

(八) 精確度與再現性試驗

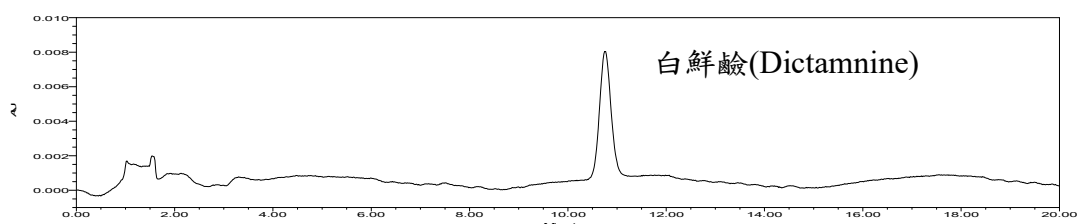
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精確度良好，白鮮鹼(Dictamnine)、黃柏酮(Obacunone)、梔酮(Fraxinellone)精密度之相對標準差為分別 1.16%、0.82%、0.40%，再現性之相對標準差分別為 2.98%、3.75%、3.08%，均在系統適用性要求內。

(九) 穩定性試驗

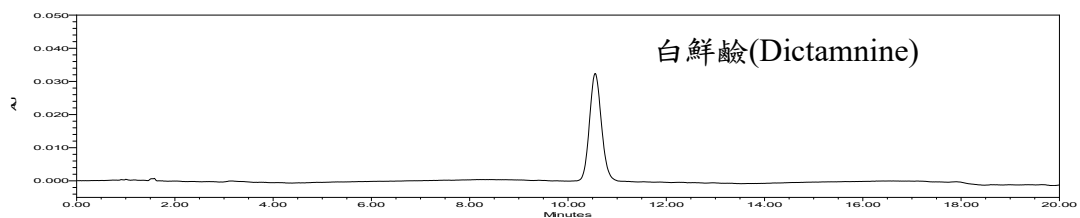
由結果可以得知，白鮮鹼(Dictamnine)、黃柏酮(Obacunone)、梔酮(Fraxinellone)在 24 小時內穩定，相對標準差分別為 3.15%、2.85%、4.35%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(十) 偵測極限與定量極限試驗

白鮮鹼(Dictamnine)偵測極限(limit of detection, LOD)為 0.1 $\mu\text{g/mL}$ (圖八)，定量極限(limit of quantitation, LOQ)為 1.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖九)。

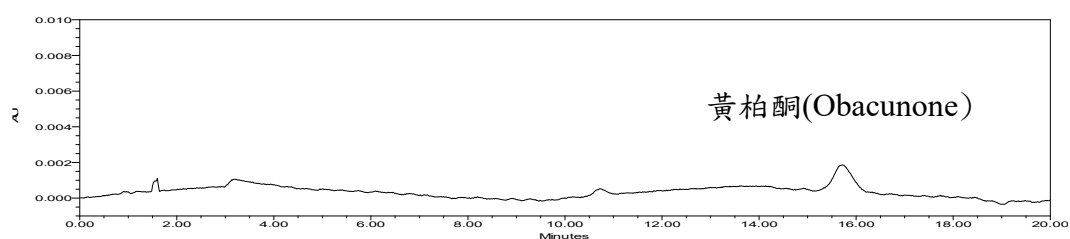


圖八、白鮮鹼(Dictamnine)LOD 層析圖

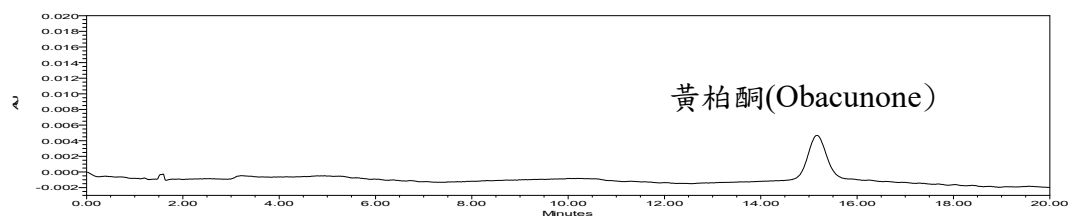


圖九、白鮮鹼(Dictamnine)LOQ 層析圖

黃柏酮(Obacunone)偵測極限(Limit of Detection, LOD)為 15.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖十)，定量極限(Limit of Quantitation, LOQ)為 60.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖十一)。

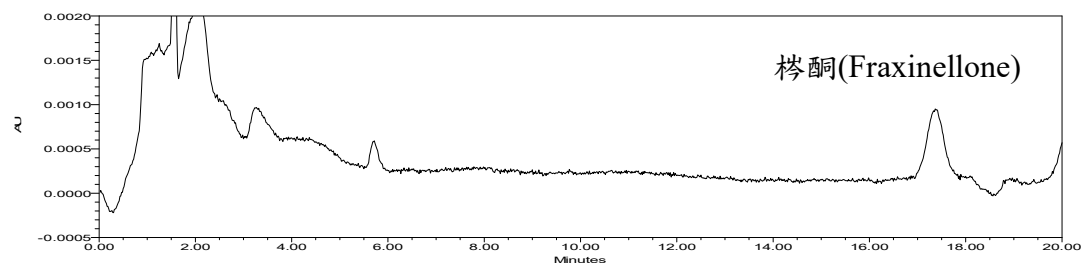


圖十、黃柏酮(Obacunone) LOD 層析圖

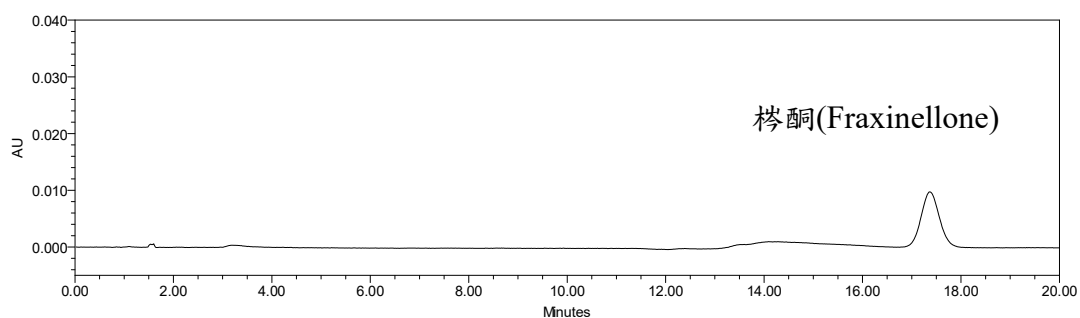


圖十一、黃柏酮(Obacunone) LOQ 層析圖

梣酮(Fraxinellone)偵測極限(Limit of Detection, LOD)為 1.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖十二)，定量極限(Limit of Quantitation, LOQ)為 10.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖十三)。



圖十二、梣酮(Fraxinellone) LOD 層析圖



圖十三、Fraxinellone LOQ 層析圖

表四、Dictamnine 各項檢驗分析

檢測項目	Dictamnine	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	30.0 µg/mL	1.16
再現性 (n=5)	檢品溶液 (No.1)	2.98
穩定性 (n=6)	檢品溶液 (No.1)	3.15
偵測極限 (n=1)	0.1 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	1.0 µg/mL	-

表五、Obacunone 各項檢驗分析

檢測項目	Obacunone	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	125 µg/mL	0.82
再現性 (n=5)	檢品溶液 (No.1)	3.75
穩定性 (n=6)	檢品溶液 (No.1)	2.85
偵測極限 (n=1)	15.0 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	60.0 µg/mL	-

表六、Fraxinellone 各項檢驗分析

檢測項目	Fraxinellone	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	30 µg/mL	0.40
再現性 (n=5)	檢品溶液 (No.1)	3.08
穩定性 (n=6)	檢品溶液 (No.1)	4.35
偵測極限 (n=1)	1.0 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	10.0 µg/mL	-

(十一) 添加回收率試驗

添加白鮮鹼(Dictamnine)、黃柏酮(Obacunone)、梣酮(Fraxinellone)平均回收率分別為 99.4%、99.22%、98.2%，相對標準偏差分別為 1.15%、1.00%、0.73%。

表七、白鮮鹼(Dictamnine)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	1.01	0.176	0.10	0.275	99.0	99.4	1.15
2	1.02	0.176	0.10	0.277	101.0		
3	1.01	0.176	0.10	0.276	100.0		
4	1.02	0.176	0.10	0.275	99.0		
5	1.02	0.176	0.10	0.274	98.0		

表八、黃柏酮(Obacunone)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	0.21	0.795	1.00	1.803	101.0	99.22	1.00
2	0.22	0.795	1.00	1.789	99.4		
3	0.21	0.795	1.00	1.775	98.2		
4	0.22	0.795	1.00	1.781	98.6		
5	0.22	0.795	1.00	1.785	99.1		

表九、梣酮(Fraxinellone)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	1.02	0.249	0.50	0.735	97.2	98.2	0.73
2	1.01	0.249	0.50	0.741	98.4		
3	1.02	0.249	0.50	0.745	99.2		
4	1.02	0.249	0.50	0.739	98.0		
5	1.02	0.249	0.50	0.740	98.2		

(十二) 臺灣市售白鮮皮中白鮮鹼(Dictamnine)、黃柏酮(Obacunone)、梣酮(Fraxinellone)含量測定

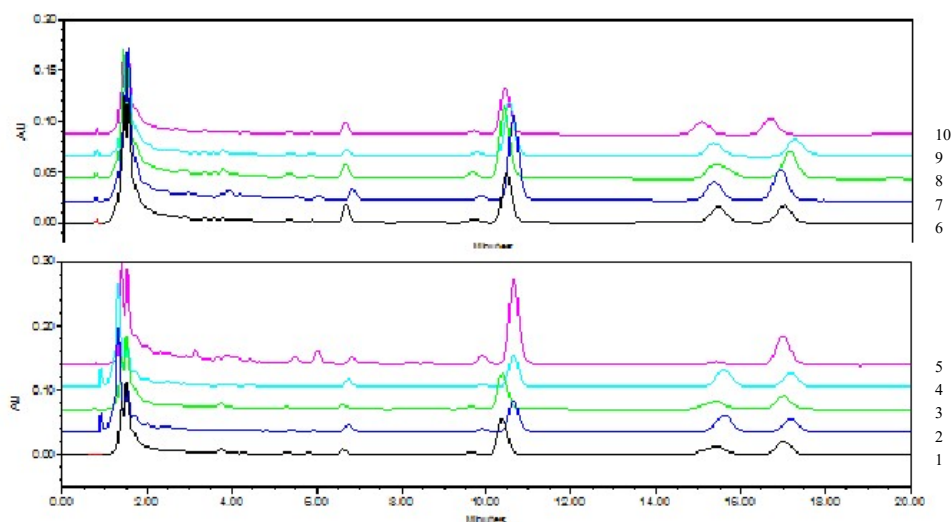
十批白鮮皮藥材之含量測定結果(乾燥品)，藥材中白鮮鹼(Dictamnine)

的含量為 0.019–0.054%；黃柏酮(Obacunone)的含量為 0.083–0.522%；梣酮(Fraxinellone)的含量為 0.008–0.087%，總量範圍為 0.224–0.569%。建議白鮮皮藥材指標成分白鮮鹼(Dictamnine)的含量不得少於 0.02%、黃柏酮(Obacunone)的含量不得少於 0.15%、梣酮(Fraxinellone)的含量不得少於 0.05%。理論板數按白鮮鹼(Dictamnine)波峰計算應不低於 6000 (實際值為 11000)、理論板數按黃柏酮(Obacunone)波峰計算應不低於 6000 (實際值為 9000)、理論板數按梣酮(Fraxinellone)波峰計算應不低於 6000 (實際值為 12000)。

表十、臺灣市售白鮮皮檢品之白鮮鹼(Dictamnine)、黃柏酮(Obacunone)、梣酮(Fraxinellone)含量

中藥店編號 (No.)	白鮮鹼(Dictamnine) 含量(%)	黃柏酮(Obacunone) 含量(%)	梣酮(Fraxinellone) 含量(%)	總量
1	0.021	0.522	0.026	0.569
2	0.029	0.404	0.067	0.500
3	0.022	0.258	0.018	0.298
4	0.021	0.220	0.059	0.300
5	0.054	0.083	0.087	0.224
6	0.020	0.263	0.012	0.295
7	0.034	0.295	0.048	0.377
8	0.028	0.336	0.039	0.403
9	0.021	0.214	0.008	0.243
10	0.019	0.222	0.008	0.249

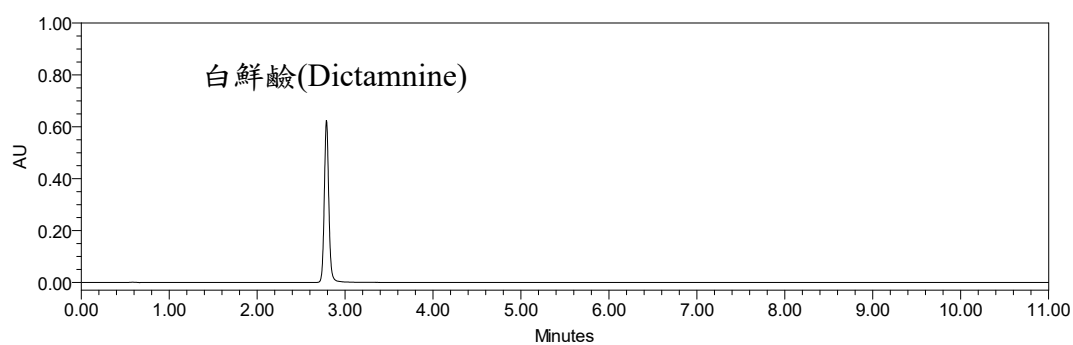
(十三) 台灣 10 批市售白鮮皮藥材之 HPLC 層析



圖十四、10 批白鮮皮藥材之 HPLC 層析圖

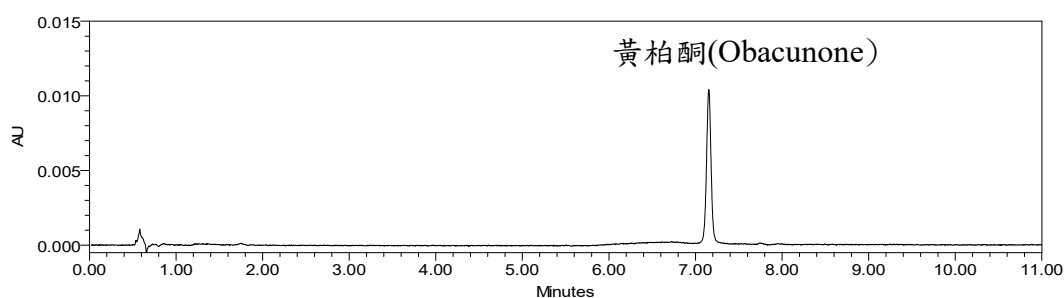
(十四) 標準品白鮮鹼(Dictamnine)、黃柏酮(Obacunone)、梣酮(Fraxinellone)
之 UPLC 層析

於滯留時間 2.79 分鐘處顯示白鮮鹼(Dictamnine)標準品波峰(圖十五)。



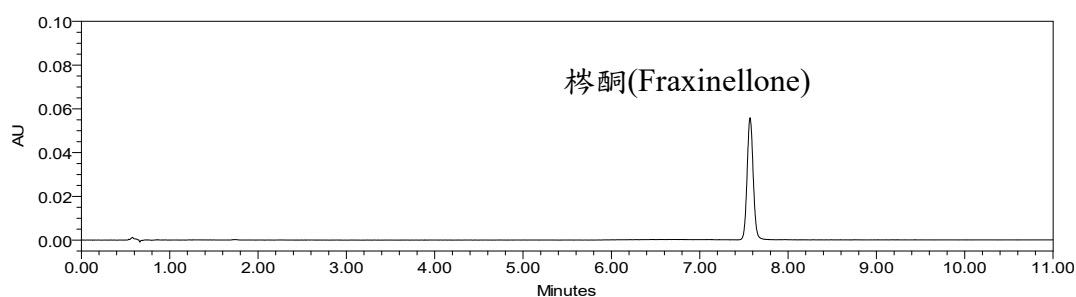
圖十五、白鮮鹼(Dictamnine)標準品溶液之 UPLC 層析圖

於滯留時間 7.15 分鐘處顯示黃柏酮(Obacunone)標準品波峰(圖十六)。



圖十六、黃柏酮(Obacunone)標準品溶液之 UPLC 層析圖

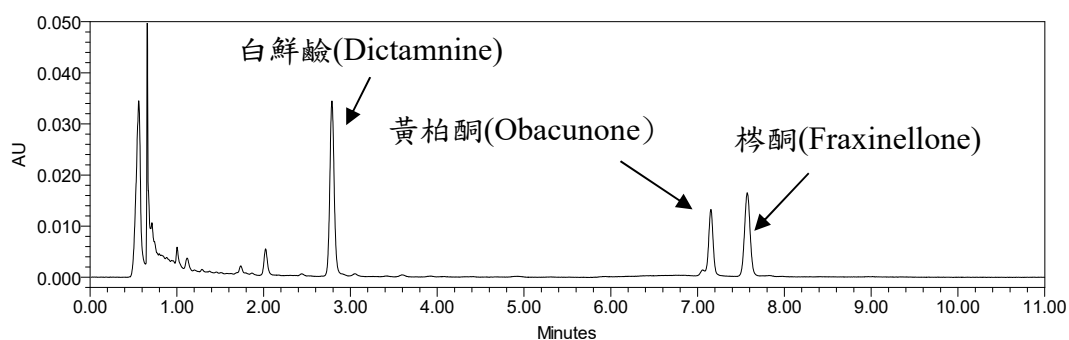
於滯留時間 7.57 分鐘處顯示梣酮(Fraxinellone)標準品波峰(圖十七)。



圖十七、梣酮(Fraxinellone)標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十五) 市售白鮮皮檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 2.79 分鐘、7.15 分鐘、7.57 分鐘處分別顯示白鮮鹼 (Dictamnine)、黃柏酮 (Obacunone)、梣酮 (Fraxinellone) 標準品波峰 (圖十八)。



圖十八、市售白鮮皮檢品之 UPLC 層析圖

(十六) 白鮮鹼 (Dictamnine) 的分子式、分子量與熔點

白色固體；分子式： $C_{12}H_9NO_2$ ；Mol. Wt.：199.21；熔點：122–123 °C

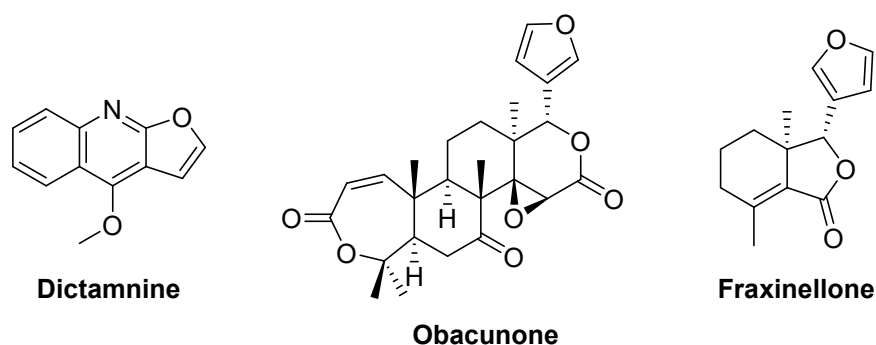
(十七) 黃柏酮 (Obacunone) 的分子式、分子量與熔點

白色固體；分子式： $C_{26}H_{30}O_7$ ；Mol. Wt.：454.52；熔點：225–226 °C

(十八) 梣酮 (Fraxinellone) 的分子式、分子量與熔點

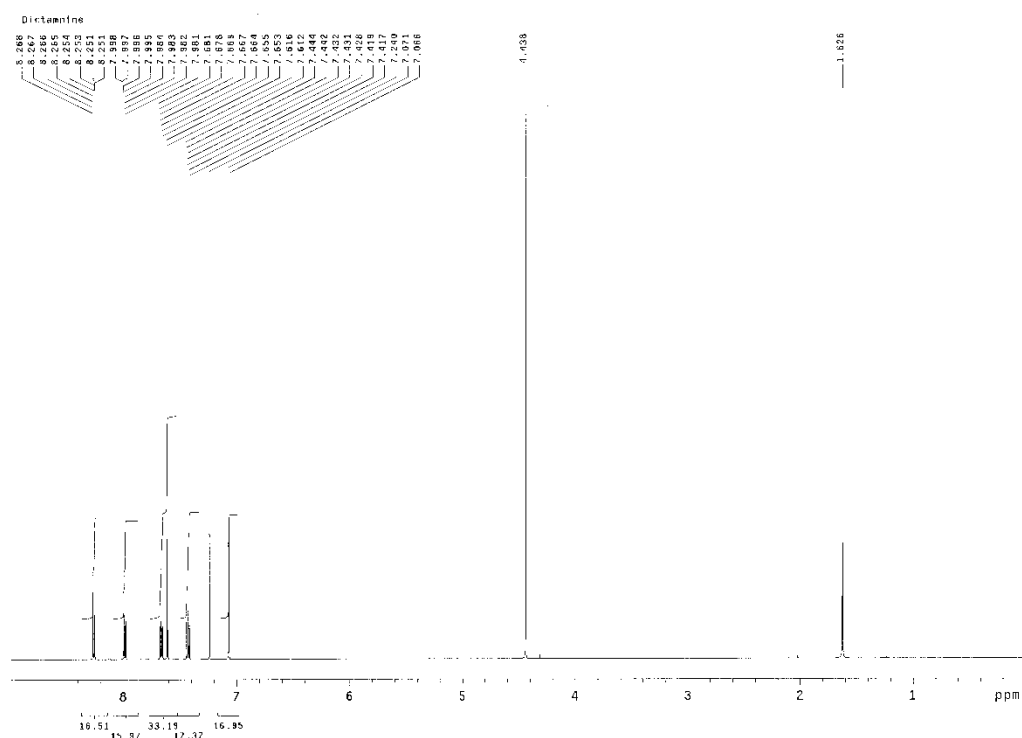
白色固體；分子式： $C_{14}H_{16}O_3$ ；Mol. Wt.：232.27；熔點：104–105 °C

(十九) 白鮮鹼 (Dictamnine)、黃柏酮 (Obacunone)、梣酮 (Fraxinellone) 的結構

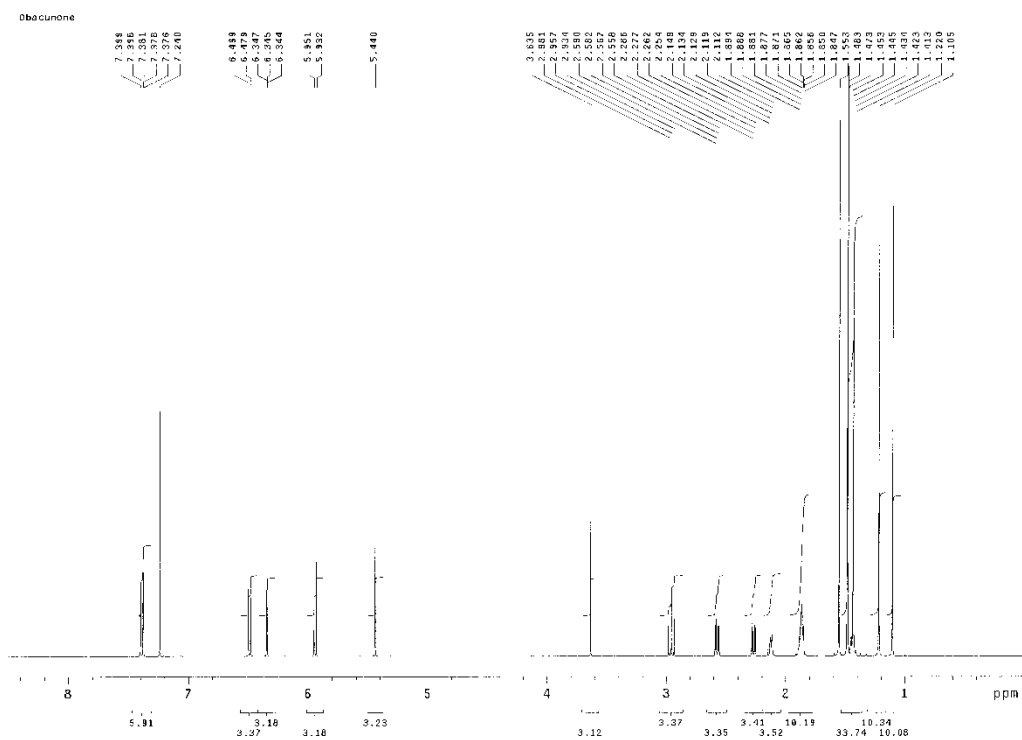


圖十九、白鮮鹼 (Dictamnine)、黃柏酮 (Obacunone)、梣酮 (Fraxinellone) 之結構

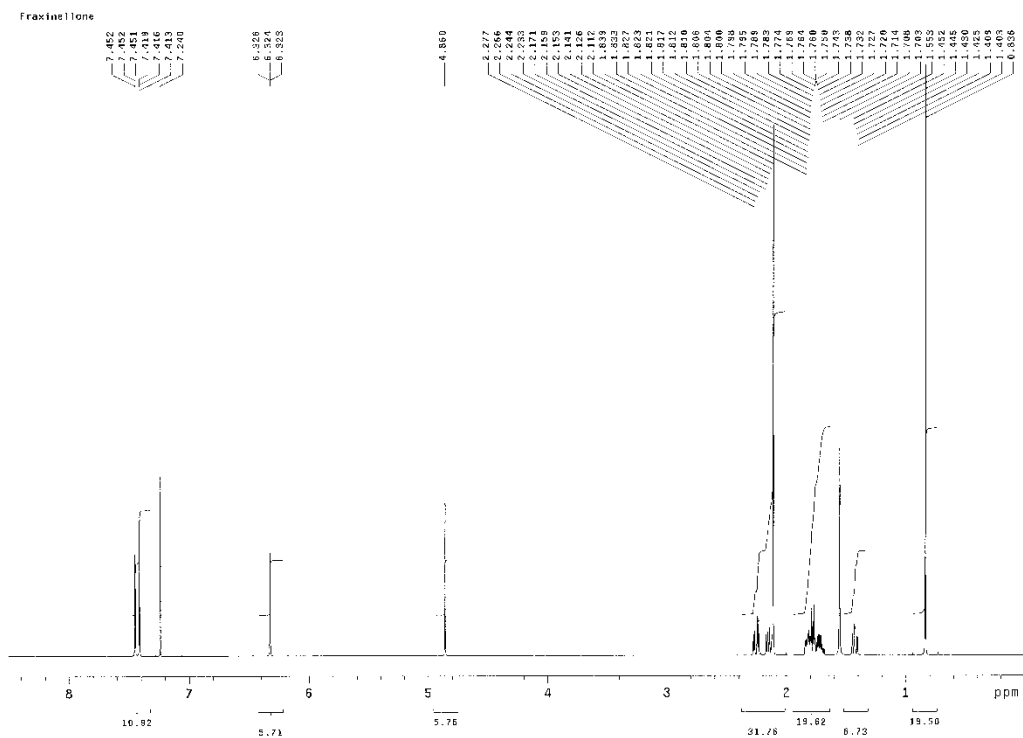
(二十) 白鮮鹼(Dictamnine)、黃柏酮(Obacunone)、梣酮(Fraxinellone)的 ^1H NMR 圖譜



圖二十、白鮮鹼(Dictamnine)的 ^1H NMR 圖譜(CD_3OD)

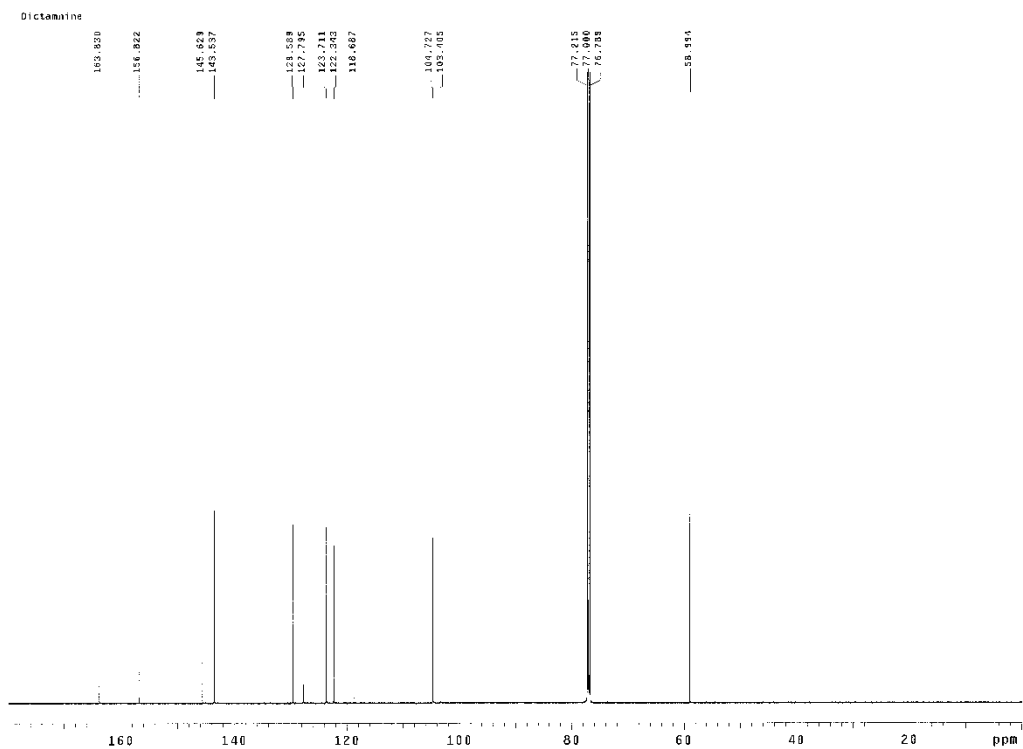


圖二十一、黃柏酮(Obacunone)的 ^1H NMR 圖譜(CD_3OD)

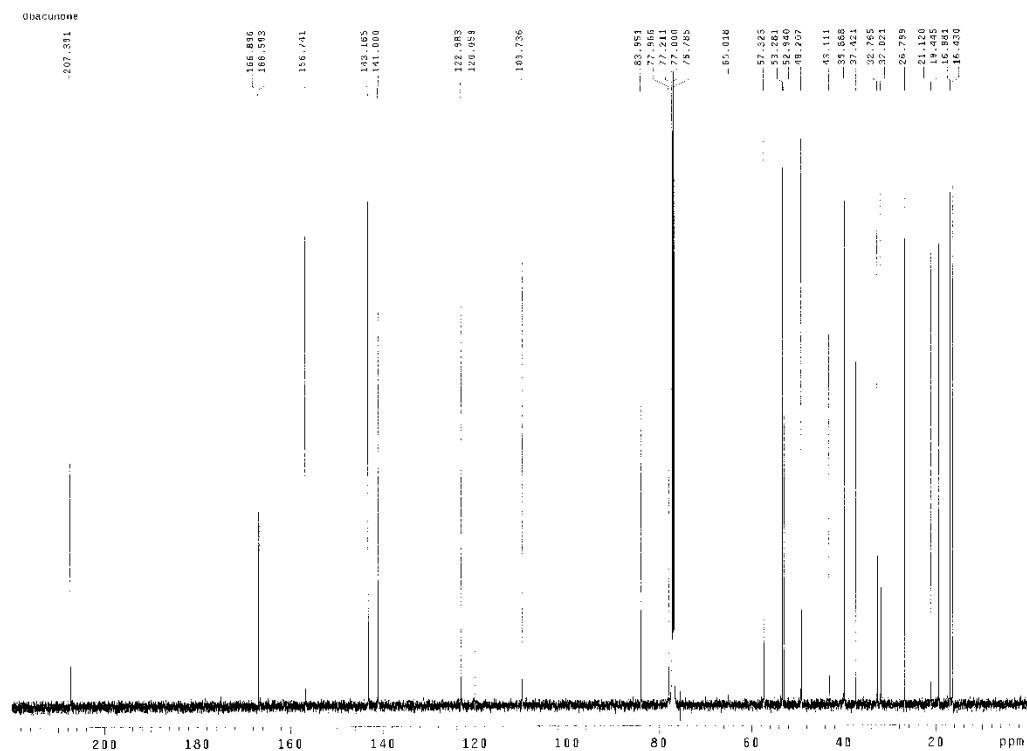


圖二十二、栲酮(Fraxinellone)的 ^1H NMR 圖譜(CD_3OD)

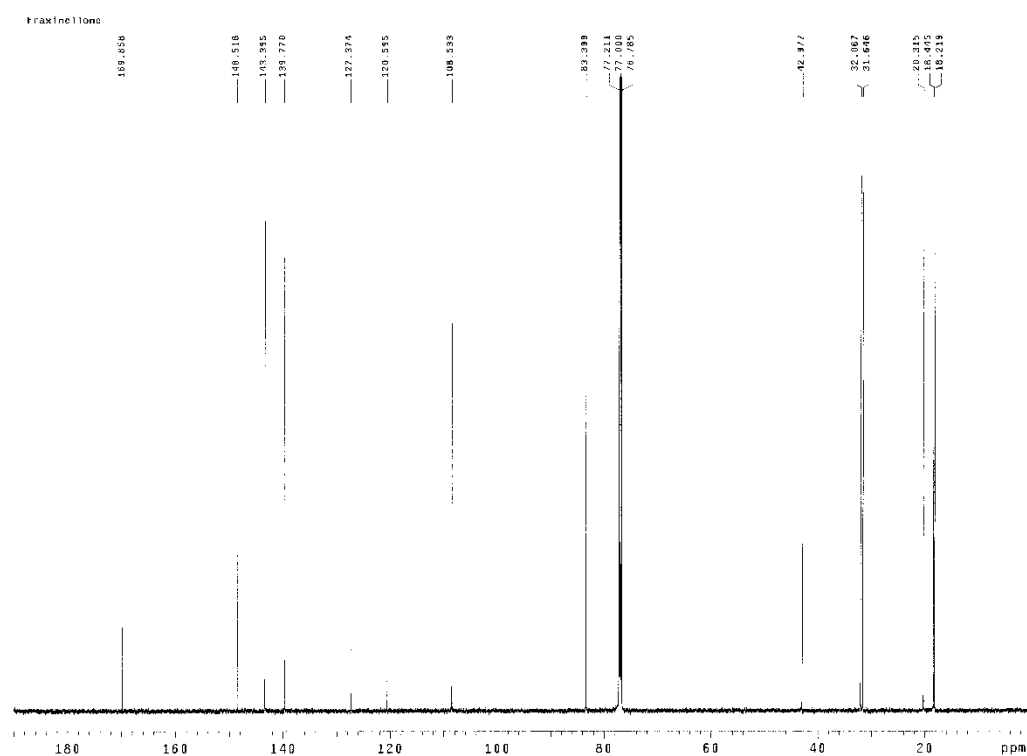
(二十一) 白鮮鹼(Dictamnine)、黃柏酮(Obacunone)、栲酮(Fraxinellone)的 ^{13}C NMR 圖譜



圖二十三、白鮮鹼(Dictamnine)的 ^{13}C NMR 圖譜(CD_3OD)

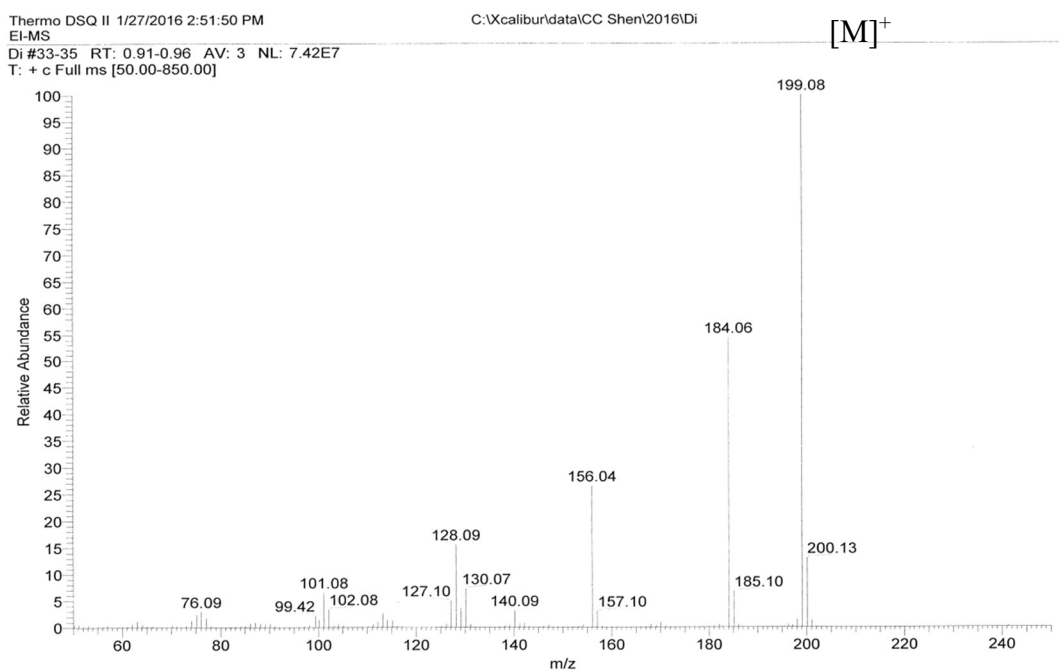


圖二十四、黃柏酮(Obacunone)的 ^{13}C NMR 圖譜(CD_3OD)

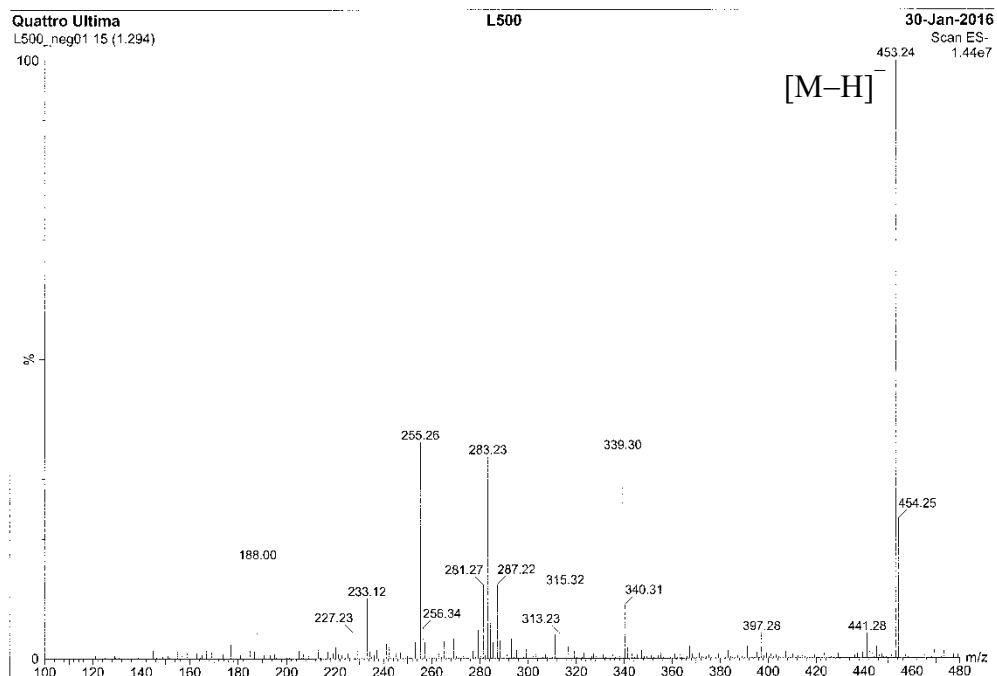


圖二十五、枞酮(Fraxinellone)的 ^{13}C NMR 圖譜(CD_3OD)

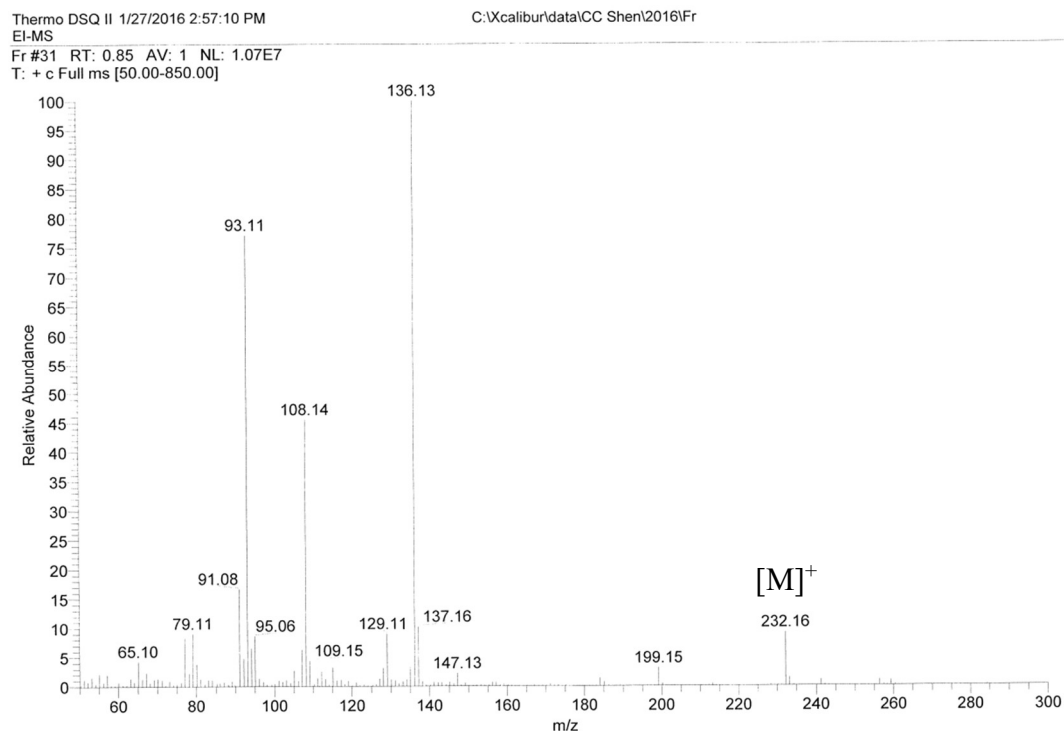
(二十二) 白鮮鹼(Dictamnine)、黃柏酮(Obacunone)、梣酮(Fraxinellone)的
MS 圖譜



圖二十六、白鮮鹼(Dictamnine)的 EI-MS 圖譜

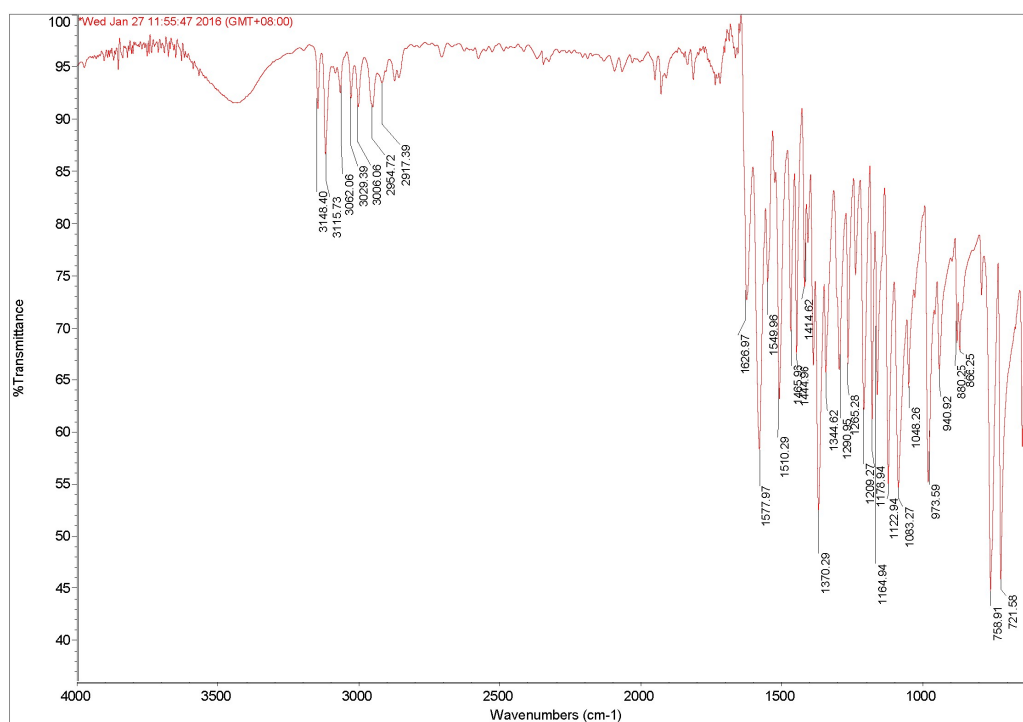


圖二十七、黃柏酮(Obacunone)的 ESI-MS 圖譜

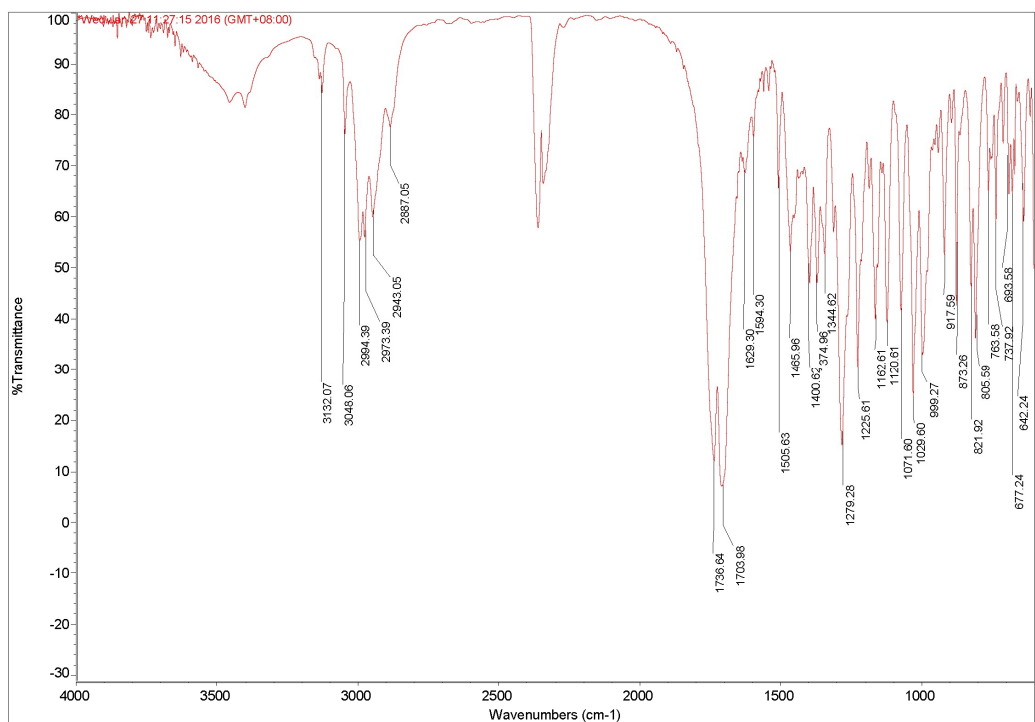


圖二十八、梣酮(Fraxinellone)的 EI-MS 圖譜

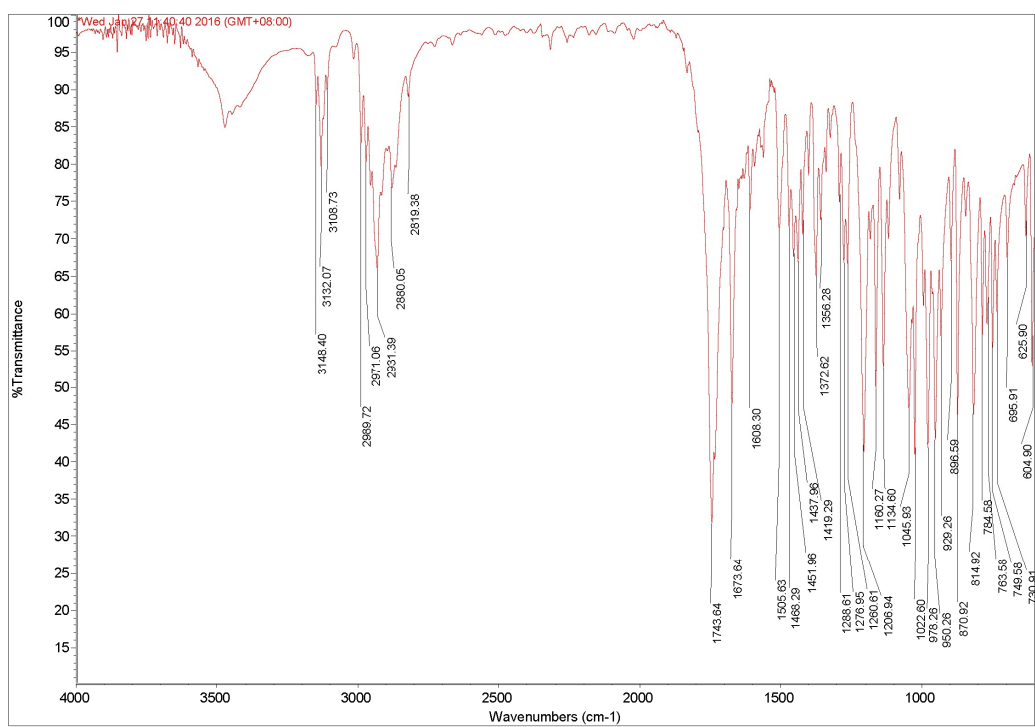
(二十三) 白鮮鹼(Dictamnine)、黃柏酮(Obacunone)、梣酮(Fraxinellone)的 FTIR 圖譜



圖二十九、白鮮鹼(Dictamnine)的 FTIR 圖譜

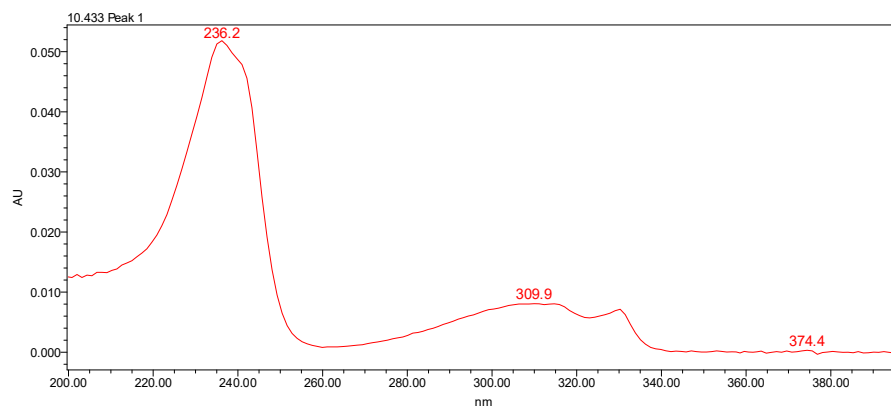


圖三十、黃柏酮(Obacunone)的 FTIR 圖譜

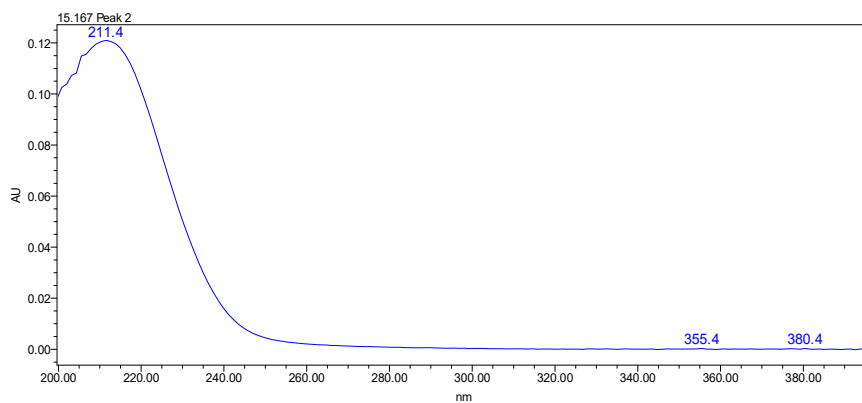


圖三十一、枋酮(Fraxinellone)的 FTIR 圖譜

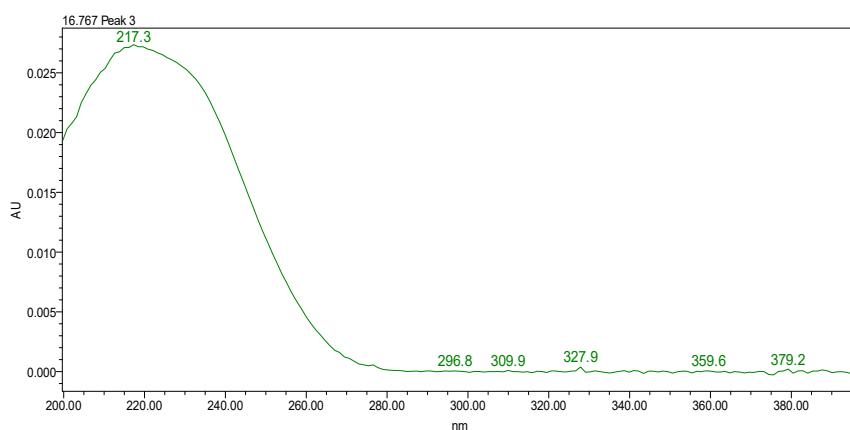
(二十四) 白鮮鹼(Dictamnine) 、黃柏酮(Obacunone) 、梣酮(Fraxinellone)的
UV 圖譜



圖三十二、白鮮鹼(Dictamnine)的 UV 圖譜

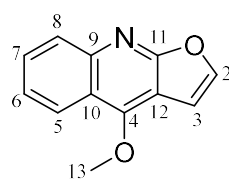


圖三十三、黃柏酮(Obacunone)的 UV 圖譜



圖三十四、梣酮(Fraxinellone)的 UV 圖譜

(二十五) 白鮮鹼(Dictamnine)的氫、碳化學位移

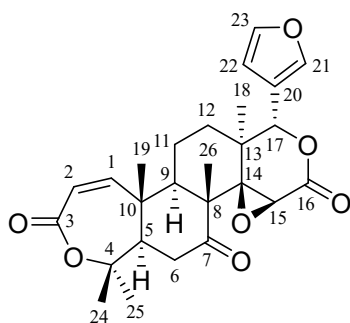


表十一、白鮮鹼(Dictamnine)之氫、碳化學位移(CDCl₃)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
2	7.61 (d, 3.0)	143.54
3	7.07 (d, 3.0)	104.73
4	-	156.82
5	8.25–8.27 (m)	122.34
6	7.42–7.44 (m)	123.71
7	7.65–7.68 (m)	129.59
8	7.98–8.00 (m)	127.80
9	-	145.63
10	-	118.69
11	-	163.83
12	-	103.41
13	4.44 (s)	58.99

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

(二十六) 黃柏酮(Obacunone)之氫、碳化學位移

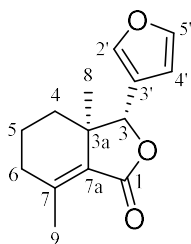


表十二、黃柏酮(Obacunone)之氫、碳化學位移(CDCl₃)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	6.49 (d, 12.0)	156.74
2	5.94 (d, 12.0)	122.98
3	-	166.90
4	-	83.95
5	2.57 (dd, 13.8, 4.8)	57.32
6	α : 2.27 (dd, 13.8, 4.8) β : 2.96 (t, 13.8)	39.89
7	-	207.39
8	-	52.94
9	2.12 (dd, 9.6, 3.6)	49.21
10	-	43.11
11	1.86 (m)	19.45
12	α : 1.44 (m), β : 1.87 (m)	32.77
13	-	37.42
14	-	65.02
15	3.64 (s)	53.28
16	-	166.59
17	5.44 (s)	77.97
18	1.11 (s)	21.12
19	1.48 (s)	16.43
20	-	120.06
21	7.40 (m)	141.00
22	6.35 (m)	109.74
23	7.38 (t, 1.8)	143.17
24	1.48 (s)	26.80
25	1.43 (s)	32.02
26	1.22 (s)	16.98

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

(二十七) 栲酮(Fraxinellone)之氫、碳化學位移



表十三、栲酮(Fraxinellone)之氫、碳化學位移(CDCl₃)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	-	169.86
3	4.86 (br s)	83.40
3a	-	42.98
4	α : 1.78 (dt, 12.0, 3.3) β : 1.43 (td, 12.6, 3.6)	31.65
5	α : 1.72 (m) β : 1.82 (m)	18.22
6	α : 2.26 (dd, 19.8, 6.6) β : 2.14 (m)	32.07
7	-	148.52
7a	-	127.37
8	0.84 (s)	20.32
9	2.11 (s)	18.45
2'	7.45 (m)	139.77
3'	-	120.60
4'	6.32 (d, 1.8)	108.53
5'	7.42 (t, 1.8)	143.40

^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

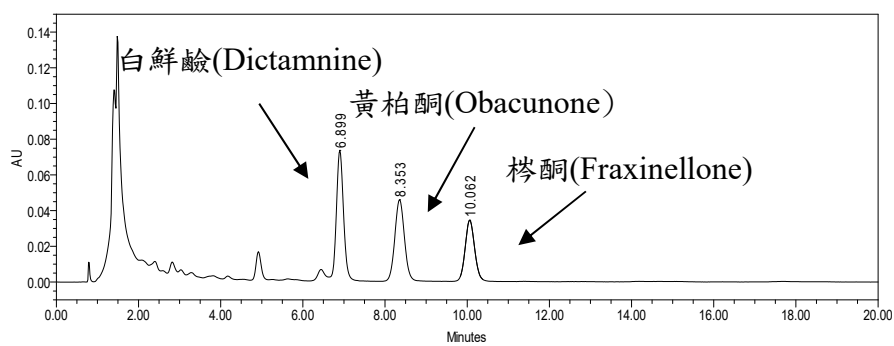
V：定容體積(mL)

W：藥材重(mg)

*2010 中國藥典: HPLC 分析條件

1. 層析管：Agilent ZORBAX SB-C18 (150 × 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：236 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：30 °C
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%, v/v)	水(%, v/v)
0	60	40
20	60	40



白鮮皮

中文名：白鮮皮

生藥拉丁名：DICTAMNI RADICIS CORTEX

英文名：Densefruit Pittany Root-bark

基 原：本品為芸香科 Rutaceae 植物白鮮 *Dictamnus dasycarpus* Turcz.之乾燥根皮。春、秋二季採挖根部，除去泥沙和鬚根，洗淨，縱向切開，剝取根皮，乾燥。

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 20 mL，超音波處理 10 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 2015)
——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 20 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。
【萃取方法 3】(香港中藥材標準第四冊) ✓
——取本品粉末 2.0 g，加甲醇 10 mL，超音波處理 15 分鐘，過濾，取濾液作為檢品溶液。
- (二) 對照標準品溶 液 取白鮮鹼 (Dictamnine)、梣酮 (Fraxinellone) 及黃柏酮 (Obacunone) 對照標準品，加甲醇分別製成每 1 mL 含 0.2 mg、0.2 mg 及 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】(臺灣中藥典第二版 2013) ✓**
——正己烷：乙酸乙酯 (3：2)
【展開劑 2】(修飾中華人民共和國藥典 2015)
——甲苯：正己烷：乙酸乙酯 (3：3：3)
【展開劑 3】(香港中藥材標準第四冊)
——甲苯：甲醇：冰醋酸 (10：0.5：0.1)
- (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，105 °C 加熱至條帶顯色清晰，於可見光、主波長 254 nm 及 365 nm 之紫外燈照射下檢視。

二、萃法選擇及濃度測試

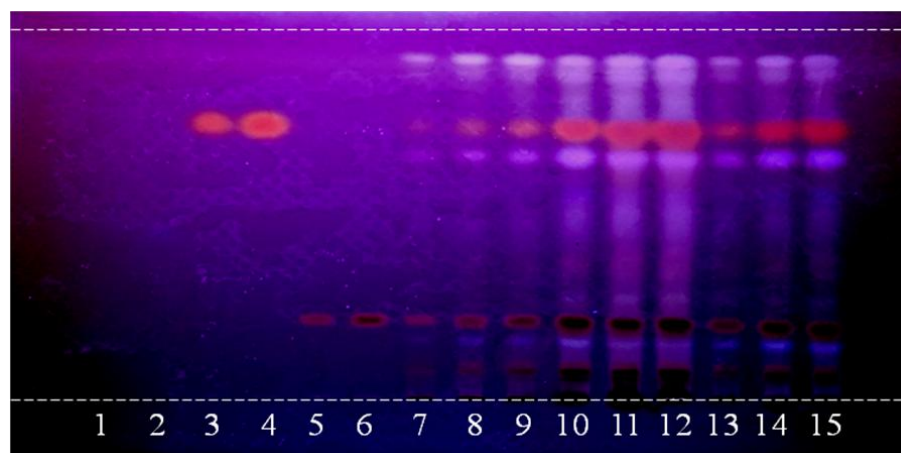
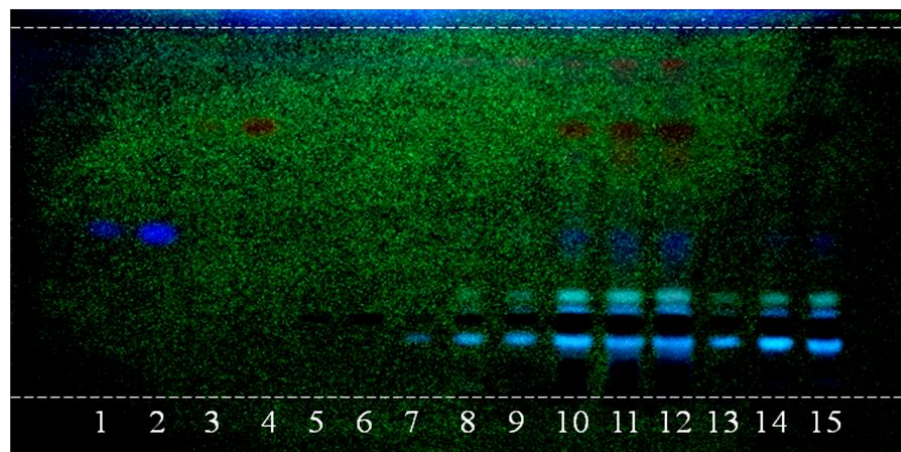
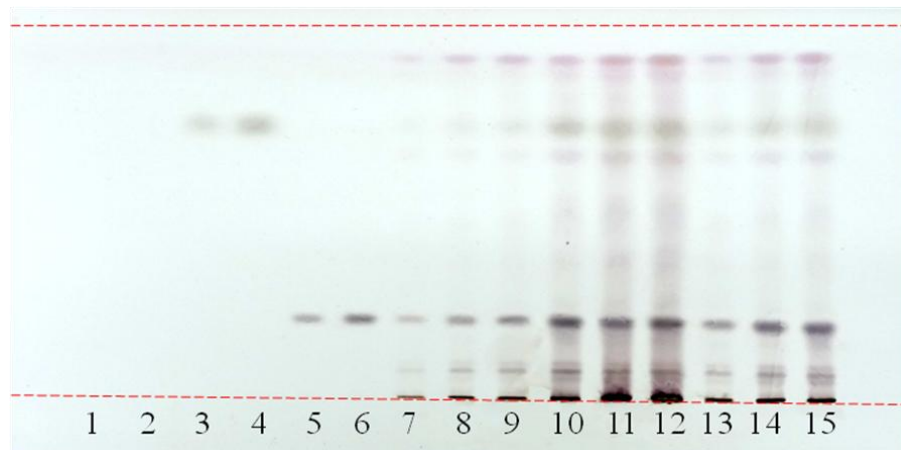
實驗日期：105/02/01

相對溼度(RH)：50%

溫度(RT)：23 °C

【展開劑 1】 (臺灣中藥典第二版 2013)——正己烷：乙酸乙酯 (3：2)

HPTLC 10%硫酸乙醇呈色後可見光檢出(上圖)、紫外光(254 nm)檢出(中圖)及紫外光(365 nm)檢出(下圖)



編號	名稱	含量
1, 2	白鮮鹼 (Dictamnine) (0.2 mg/mL)	2, 5 μ L
3, 4	梣酮 (Fraxinellone) (0.2 mg/mL)	2, 5 μ L
5, 6	黃柏酮 (Obacunone) (0.5 mg/mL)	2, 5 μ L
7, 8, 9	檢品溶液 1 【萃取方法 1】	2, 5, 8 μ L
10, 11, 12	檢品溶液 1 【萃取方法 2】	2, 5, 8 μ L
13, 14, 15	檢品溶液 1 【萃取方法 3】	2, 5, 8 μ L

建議萃法：3 種萃法之 NF 檢品溶液，皆有分離與檢出標準品梣酮及黃柏酮，其中【萃取方法 2】及【萃取方法 3】之檢品溶液中亦有檢出標準品白鮮鹼，而由於萃取方法製備簡便，故選擇【萃取方法 3】。

建議點注量：白鮮鹼 (Dictamnine) (0.2 mg/mL) 標準品溶液 5 μ L，梣酮 (Fraxinellone) (0.2 mg/mL) 標準品溶液 2 μ L，黃柏酮 (Obacunone) (0.5 mg/mL) 標準品溶液 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 3】5 μ L。

三、溶媒系統選擇

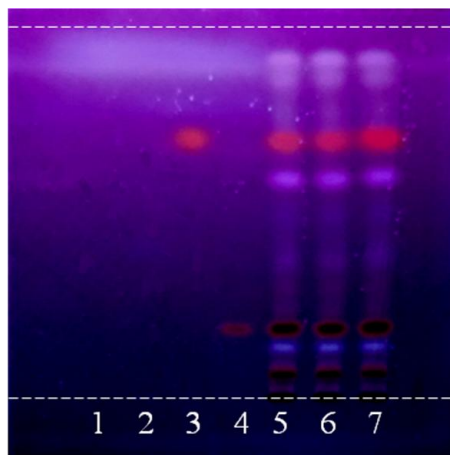
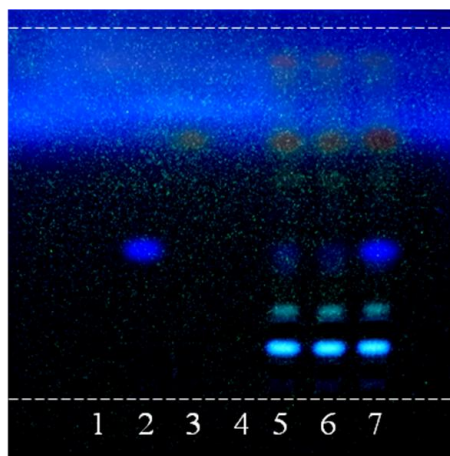
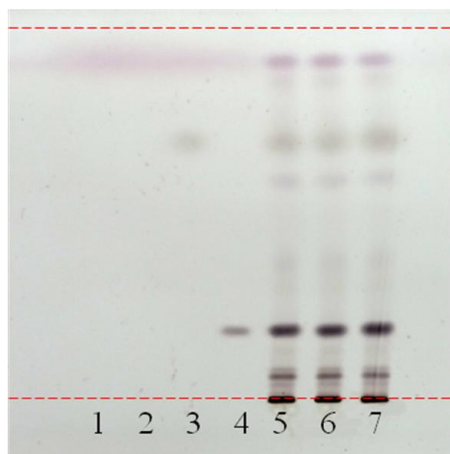
實驗日期：104/02/02

相對溼度(RH)：43%

溫度(RT)：22 °C

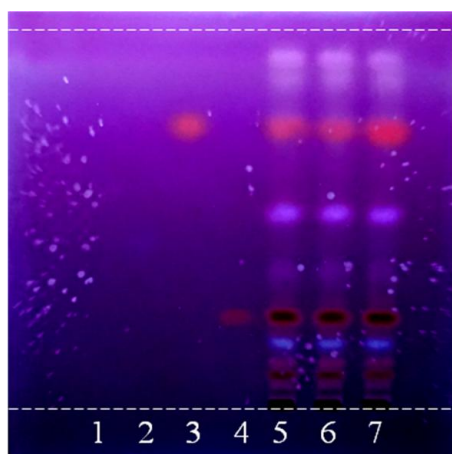
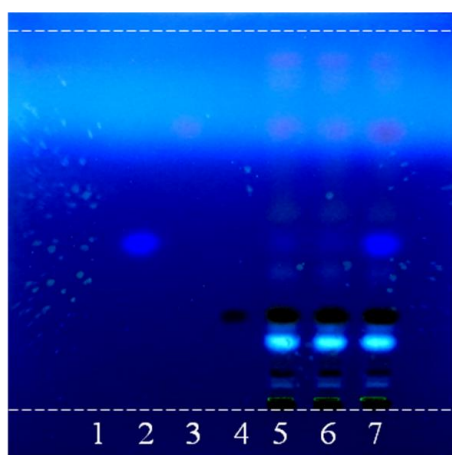
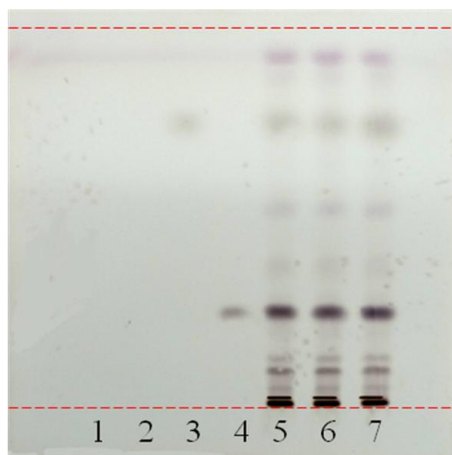
【展開劑 1】 (臺灣中藥典第二版 2013) — 正己烷：乙酸乙酯 (3：2)

【萃取方法 3】 (香港中藥材標準第四冊) — HPTLC 10%硫酸乙醇呈色後可見光檢出(上圖)、紫外光(254 nm)檢出(中圖)及紫外光(365 nm)檢出(下圖) (白鮮鹼 R_f 值為 0.40、梔酮 R_f 值為 0.70、黃柏酮 R_f 值為 0.19)



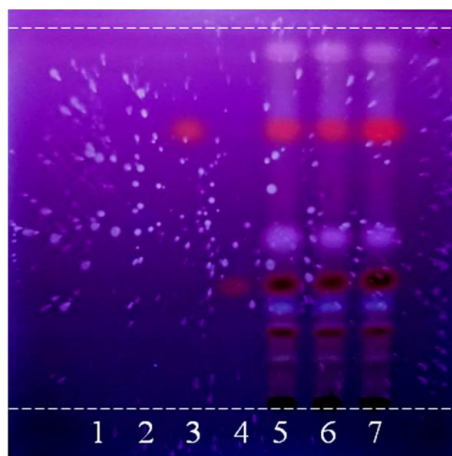
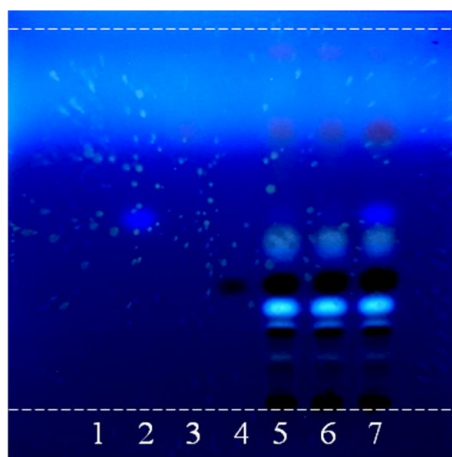
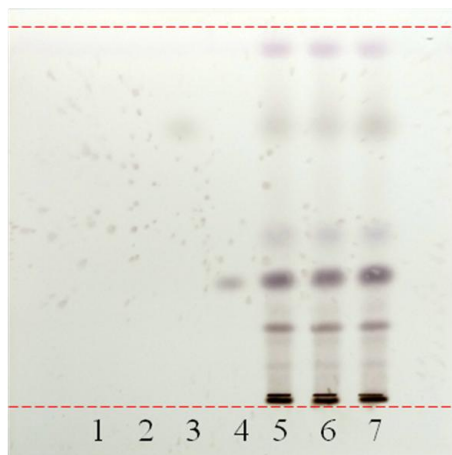
【展開劑 2】(中華人民共和國藥典 2015)——甲苯：正己烷：乙酸乙酯 (3：3：3)

【萃取方法 3】(香港中藥材標準第四冊)——HPTLC 10%硫酸乙醇呈色後可見光檢出(上圖)、紫外光(254 nm)檢出(中圖)及紫外光(365 nm)檢出(下圖)(白鮮鹼 R_f 值為 0.44、梔酮 R_f 值為 0.75、黃柏酮 R_f 值為 0.24)



【展開劑 3】 (香港中藥材標準第四冊)——甲苯：甲醇：冰醋酸 (10：0.5：0.1)

【萃取方法 3】 (香港中藥材標準第四冊)—— HPTLC 10%硫酸乙醇呈色後可見光檢出(上圖)、紫外光(254 nm)檢出(中圖)及紫外光(365 nm)檢出(下圖) (白鮮鹼 R_f 值為 0.49、梔酮 R_f 值為 0.73、黃柏酮 R_f 值為 0.32)



- 1：Blank
- 2：白鮮鹼(Dictamnine)
- 3：梣酮(Fraxinellone)
- 4：黃柏酮(Obacunone)
- 5，6：檢品溶液 1
- 7：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 3】方式，3 種展開劑展開皆可從 NF 檢品溶液中分離與檢出白鮮鹼、梣酮及黃柏酮，而由於使用溶劑較簡便，故採用臺灣中藥典第二版 2013 之【展開劑 1】。

四、觀察方式選擇

實驗日期：104/02/02

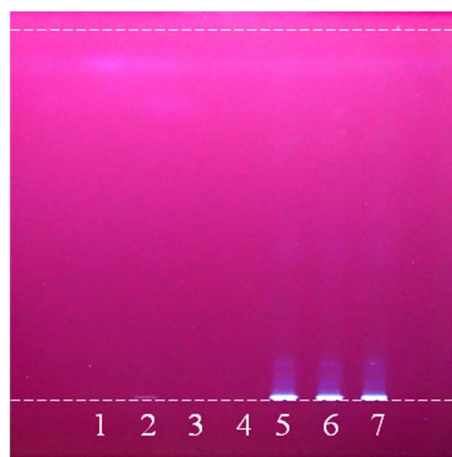
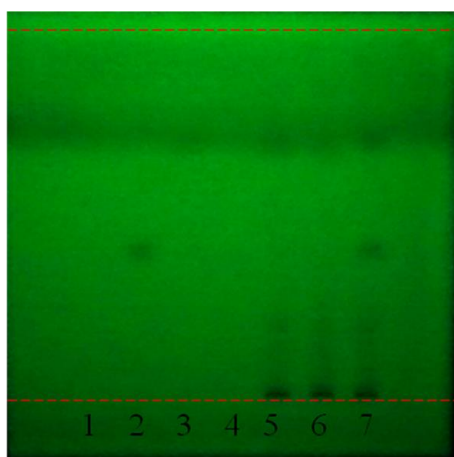
相對溼度(RH)：43%

溫度(RT)：22 °C

【展開劑 1】 (臺灣中藥典第二版 2013) —正己烷：乙酸乙酯 (3：2)

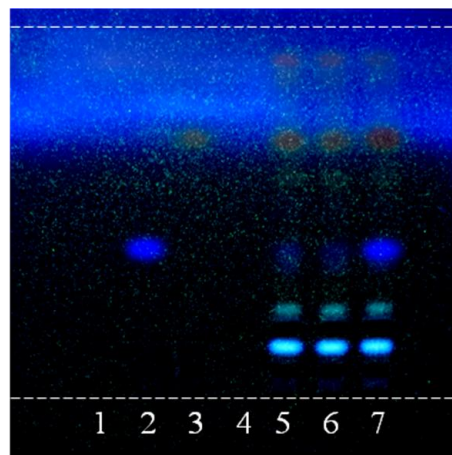
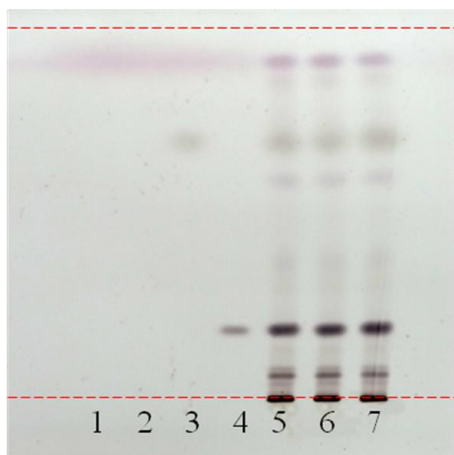
【萃取方法 3】 (香港中藥材標準第四冊) — HPTLC 紫外光(254 nm)檢出

【萃取方法 3】 (香港中藥材標準第四冊) — HPTLC 紫外光(365 nm)檢出

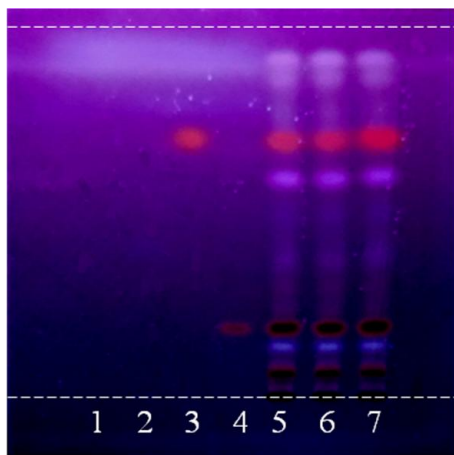


【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第二版 2013) — HPTLC 呈色/可見光檢出

【萃取方法 3】 (香港中藥材標準第四冊) — HPTLC 呈色/紫外光(254 nm)檢出



【萃取方法 3】(香港中藥材標準第四冊) — HPTLC 呈色/紫外光(365 nm)檢出



- 1 : Blank
- 2 : 白鮮鹼 (Dictamnine)
- 3 : 梣酮 (Fraxinellone)
- 4 : 黃柏酮 (Obacunone)
- 5, 6 : 檢品溶液 1
- 7 : 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黃柏酮 (Obacunone) 標準品班點；而於紫外光(254 nm)下顯示出較其他觀察方式下明顯之白鮮鹼 (Dictamnine) 標準品班點；另於紫外光(365 nm)下顯示出較其他觀察方式下明顯之梣酮 (Fraxinellone) 標準品班點。

五、十家樣品檢測

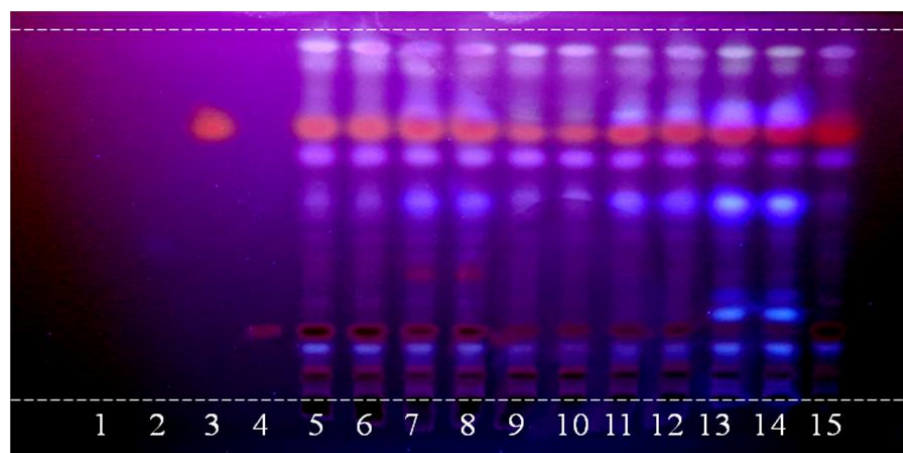
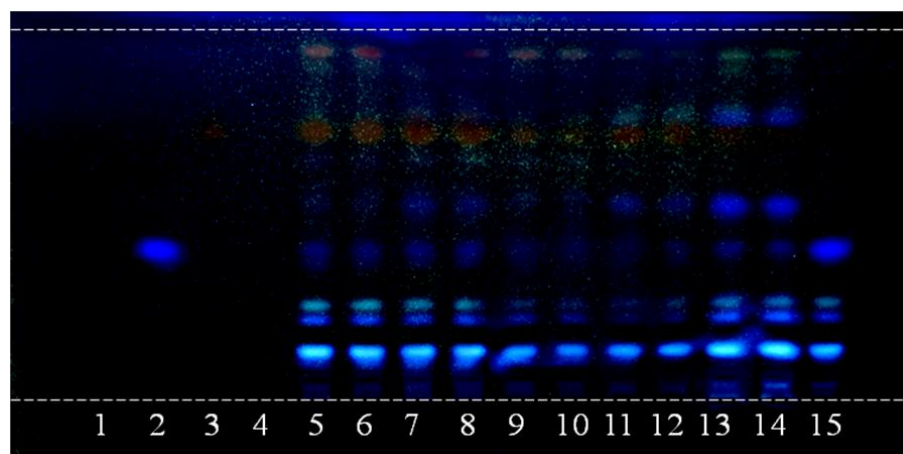
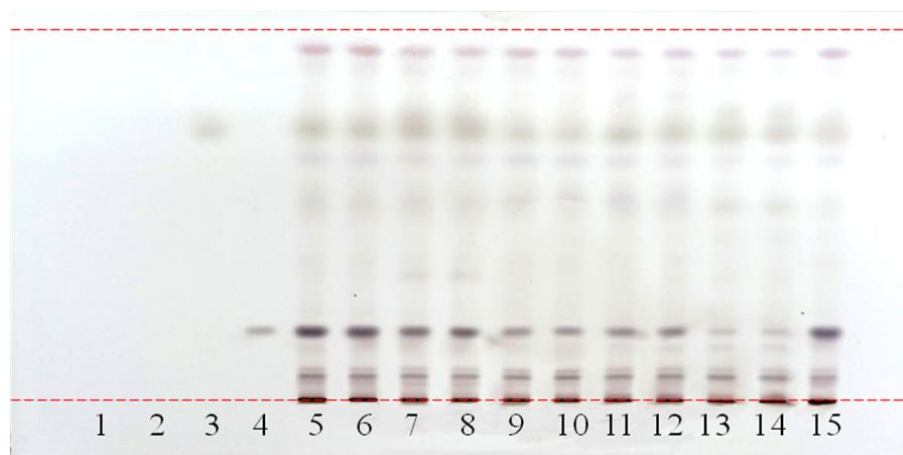
實驗日期：105/02/03

相對溼度(RH)：47%

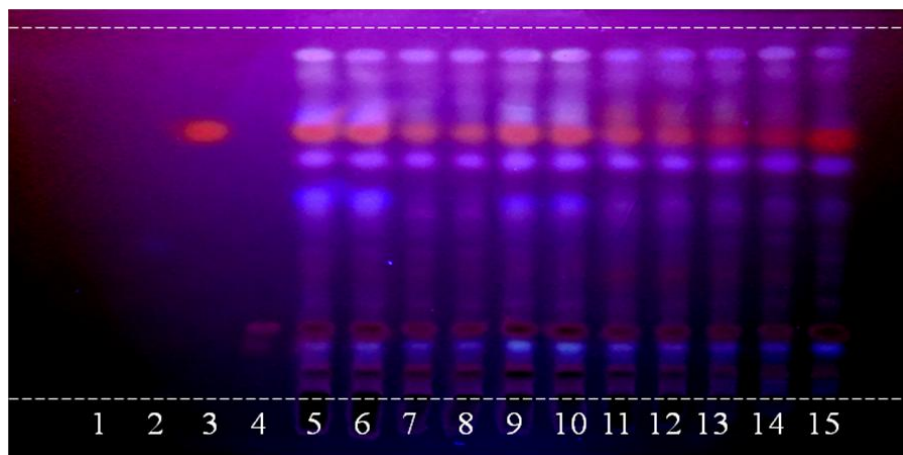
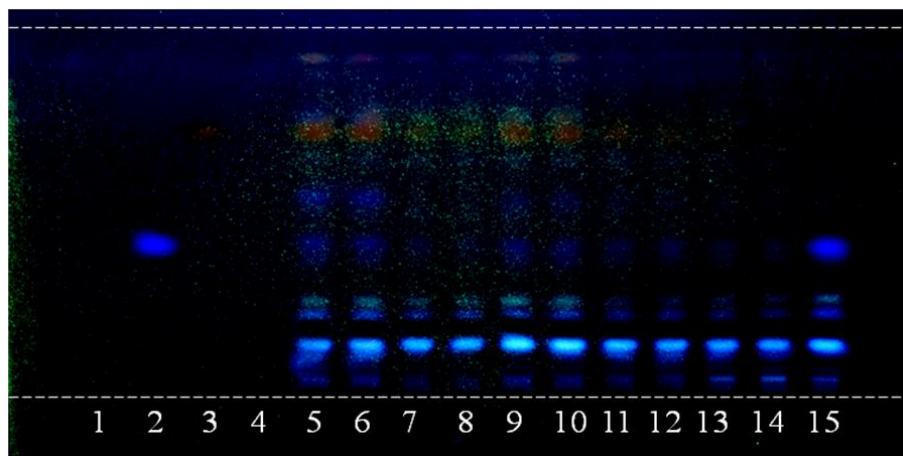
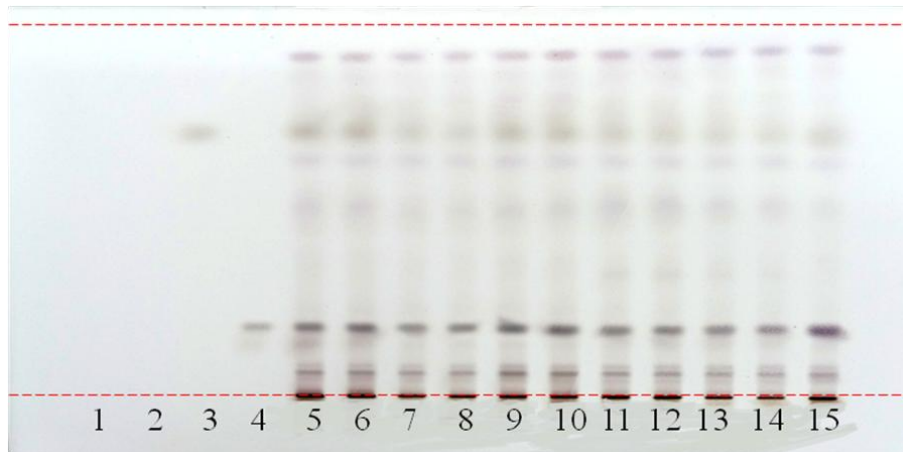
溫度(RT)：23 °C

【展開劑 1】 (臺灣中藥典第二版 2013) — 正己烷：乙酸乙酯 (3：2)

【萃取方法 3】 (香港中藥材標準第四冊) — HPTLC 10%硫酸乙醇呈色後可見光
檢出(上圖)、紫外光(254 nm)檢出(中圖)及紫外光(365 nm)檢出(下圖)



1	Blank
2	白鮮鹼 (Dictamnine) (0.2 mg/mL)
3	梣酮 (Fraxinellone) (0.2 mg/mL)
4	黃柏酮 (Obacunone) (0.5 mg/mL)
5 , 6	檢品溶液 1 (NF)
7 , 8	檢品溶液 2 (NJ)
9 , 10	檢品溶液 3 (NN)
11 , 12	檢品溶液 4 (NR)
13 , 14	檢品溶液 6 (CE)
15	Spike (檢品溶液 1)



1	Blank
2	白鮮鹼 (Dictamnine) (0.2 mg/mL)
3	梣酮 (Fraxinellone) (0.2 mg/mL)
4	黃柏酮 (Obacunone) (0.5 mg/mL)
5, 6	檢品溶液 6 (SC)
7, 8	檢品溶液 7 (SE)
9, 10	檢品溶液 8 (SG)
11, 12	檢品溶液 9 (SJ)
13, 14	檢品溶液 10 (SQ)
15	Spike (檢品溶液 1)

結論與建議：以香港中藥材標準第四冊之【萃取方法 3】方式，並採用臺灣中藥典第二版 2013 之【展開劑 1】分離與檢出白鮮鹼 (Dictamnine)、梣酮 (Fraxinellone) 及黃柏酮 (Obacunone)較簡便，以 10%硫酸乙醇顯色後，黃柏酮 (Obacunone)以可見光下檢視較清楚，白鮮鹼 (Dictamnine)以紫外光(254 nm)下檢視較清楚，而梣酮 (Fraxinellone)則以紫外光(365 nm)下檢視較清楚。