

石韋

(PYRROSIAE FOLIUM)

石韋 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).....	4
石韋 HPLC.....	16
一、材料.....	16
二、儀器及層析管柱.....	16
三、實驗藥品及試劑來源.....	16
四、方法.....	16
五、結果.....	19
石韋 TLC.....	29
一、方法.....	29
二、萃法選擇及濃度測試.....	30
三、溶媒系統選擇.....	31
四、觀察方式選擇.....	32
五、十批石韋藥材樣品檢測.....	33

石韋 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石韋及有柄石韋的乾燥葉。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：石韋

生藥名：PYRROSIAE FOLIUM

英文名：Pyrrosia Leaf

基原：本品為水龍骨科 Polypodiaceae 植物石韋 *Pyrrosia lingua* (Thunb.) Farw.或有柄石韋 *Pyrrosia petiolosa* (Christ) Ching 之乾燥葉。

採收加工：全年均可採收，去除根及根莖後，曬乾即得。

藥材性狀：(1) 石韋：本品已切成長短不一的段，常內捲，完整者展開後呈披針形或長圓披針形，長 8~18 cm，寬 1~5 cm。基部楔形，對稱。葉上表面有凹點，下表面密生星狀毛及孢子囊，孢子囊群在側脈間，排列緊密而整齊。葉柄長 5~10 cm，直徑約 1.5 mm。

(2) 有柄石韋：本品多呈捲曲筒狀，展平後呈長圓形或卵狀長圓形，長 3~8 cm，寬 1~3.5 cm。基部楔形，對稱。具長柄，通常為葉片長度的 1/2~2 倍長。葉上表面有白色凹點，排列整齊，下表面側脈不明顯，密生星狀毛及孢子囊。葉柄長 3~12 cm，直徑約 1 mm。

生長分佈：附生蕨類，喜陰涼濕潤氣候，較耐寒、不耐旱，常附生於佈滿苔癭的岩石或樹幹上。有柄石韋中國各地皆有產；石韋主產於河南、浙江、安徽、湖北、廣東等地，臺灣中低海拔闊葉林中亦有分布。

三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2)

葉柄：

石韋：

1. 表皮細胞 1 列，細胞呈方形、類方形、類圓形，淡棕色。
2. 表皮下方為數列厚壁細胞環狀排列，細胞呈類圓形、類多角形。
3. 皮層細胞類圓形、類橢圓形、類多邊形，具有明顯的細胞間隙。
4. 維管束外韌型，6~8 個，少數至 9 個，呈”V”字形排列，其中 2 個較大。
5. 每個維管束外圍均有 1 層內皮細胞，細胞內側壁增厚，呈淡黃色至深棕色。
6. 維管束由篩部薄壁細胞、導管及纖維組成；篩部薄壁細胞，外略大內細小，細胞呈類圓形、類橢圓形；木質部，由導管及纖維組成，連生

為微彎曲形。

有柄石韋：

1. 表皮細胞 1 列，細胞呈方形、類方形、類圓形，淡棕色。
2. 表皮下方為數列厚壁細胞環狀排列，細胞呈類圓形、類多角形。
3. 皮層細胞類圓形、類橢圓形、類多邊形，具有明顯的細胞間隙。
4. 維管束外韌型，5~7 個，呈”V”字形排列，其中 2 個較大。
5. 每個維管束外圍均有 1 層內皮細胞，細胞內側壁增厚，呈淡黃色至深棕色。
6. 維管束由篩部薄壁細胞、導管及纖維組成；篩部薄壁細胞，外略大內細小，細胞呈類圓形、類橢圓形；木質部，由導管及纖維組成，連生為微彎曲形。

葉：

石韋：

1. 葉表皮細胞 1 列，外被厚角質層，細胞類方形至類圓形。
2. 上表面有時可見凹陷水孔，水孔呈”U”字形，由薄壁細胞組成，徑向長約 210 μm ，切向長約 280 μm 。
3. 上表皮下方 1~2 列為下皮細胞，壁稍厚，稍大於表皮細胞。
4. 柵狀細胞 3~4 列，海綿組織排列疏鬆，約占葉片 1/2，皆不通過主脈。
5. 主脈上方略凹陷，下方凸出，上、下表皮內側均有厚壁組織，上表皮的內側含有較少的厚壁組織。
6. 主脈維管束 1~2 個，外韌型。每個維管束外圍均有 1 層內皮細胞，細胞內側壁增厚，呈淡黃色至深棕色。
7. 維管束由篩部薄壁細胞、導管及纖維組成；篩部薄壁細胞，外略大內細小，細胞呈類圓形、類橢圓形；木質部，由導管組成，大型維管束連生為三叉狀。
8. 氣孔著生於下表皮，略低於下表面或與表面平齊。
9. 星狀毛著生於下表面，柄部 1~8 個細胞，內常含棕色物，毛體分枝 8~12 個。

有柄石韋：

1. 葉表皮細胞 1 列，外被厚角質層，細胞類方形至類圓形。
2. 上表面可見凹陷水孔，水孔呈”U”字形，由薄壁細胞組成，徑向長約 125 μm ，切向長約 185 μm 。
3. 上表皮下方 1~2 列為下皮細胞，壁稍厚，稍大於表皮細胞。
4. 柵狀細胞 3~4 列，海綿組織排列疏鬆，約占葉片 1/3，皆不通過主脈。
5. 主脈上方凹陷，下方凸出，上、下表皮內側均有厚壁組織，上表皮的內側含有較少的厚壁組織。
6. 主脈維管束 1~2 個，外韌型。每個維管束外圍均有 1 層內皮細胞，細

胞內側壁增厚，呈淡黃色至深棕色。

7. 維管束由篩部薄壁細胞、導管及纖維組成；篩部薄壁細胞，外略大內細小，細胞呈類圓形、類橢圓形；木質部，由導管組成，大型維管束連生為三叉狀。
8. 氣孔著生於下表皮，略低於下表面。
9. 星狀毛著生於下表面，柄部 1~8 個細胞，內常含棕色物，毛體分枝 8~12 個。

四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3)

石韋：

1. 本品粉末黃棕色。
2. 孢子囊黃棕色，類卵圓形，有柄，孢子囊環帶為紅色至黃棕色輪狀，直徑約 150 μm 。
3. 孢子囊環帶細胞，木質化，側面觀呈輪狀，細胞類長方形、類方形，側壁及內壁較厚，外壁薄；表面觀呈扁長方形，長 30~93 μm ，直徑 28~35 μm 。
4. 孢子極多，呈橢圓形、類圓形、類豆形，長 50~80 μm ，寬 25~60 μm ，外壁厚 2~3 μm ，周壁有瘤狀突起物，易脫落。
5. 星狀毛，極多，甚大，淡黃棕色，有長柄，常斷裂。柄為 1~8 個細胞組成，常皺縮，有的呈結節狀，內含棕色物；毛體為 5~9 個細胞組成，少數可達 12 個，毛的長短懸殊，作輻射狀排列成上下 2 輪，呈披針形，長 110~270 μm ，直徑 25~60 μm 。
6. 表面觀之葉上表皮細胞，細胞呈類長多角形、類長方形，垂周壁略厚呈波狀彎曲，常可見已斷裂之非腺毛殘基，表皮基部可見網狀下皮痕跡。
7. 表面觀之葉下表皮細胞，細胞呈類多角形、類長方形，周壁較薄；氣孔甚多，呈類圓形，直徑 30~40 μm ，外有 1 個副衛細胞圍繞氣孔。
8. 導管細小，多為階紋導管，直徑 9~13 μm 。

有柄石韋：

1. 本品粉末黃棕色。
2. 孢子囊黃棕色，類卵圓形，有柄，孢子囊環帶為紅色至黃棕色輪狀，直徑約 300 μm 。
3. 孢子囊環帶細胞，木質化，側面觀呈輪狀，細胞類長方形、類方形，側壁及內壁較厚，外壁薄；表面觀呈扁長方形，長 30~93 μm ，直徑 28~35 μm 。
4. 孢子極多，呈橢圓形、類圓形、類豆形，長 50~65 μm ，寬 30~60 μm ，外壁厚 2~3 μm ，周壁有瘤狀突起物，易脫落。
5. 星狀毛，極多，甚大，淡黃棕色，有長柄，常斷裂。柄為 1~8 個細胞

組成，常皺縮，有的呈結節狀，內含棕色物；毛體為 8~12 個細胞組成，毛的長短懸殊，作輻射狀排列成上下 2 輪，呈披針形，長 110~320 μm ，直徑 35~75 μm 。

6. 表面觀之葉上表皮細胞，細胞呈類長多角形、類長方形，垂周壁略厚呈波狀彎曲，常可見已斷裂之非腺毛殘基，表皮基部可見網狀下皮痕跡。
7. 表面觀之葉下表皮細胞，細胞呈類多角形、類長方形，周壁較薄；氣孔甚多，呈類圓形，直徑 30~40 μm ，外有 1 個副衛細胞圍繞氣孔。
8. 導管細小，多為階紋導管，直徑 9~13 μm 。

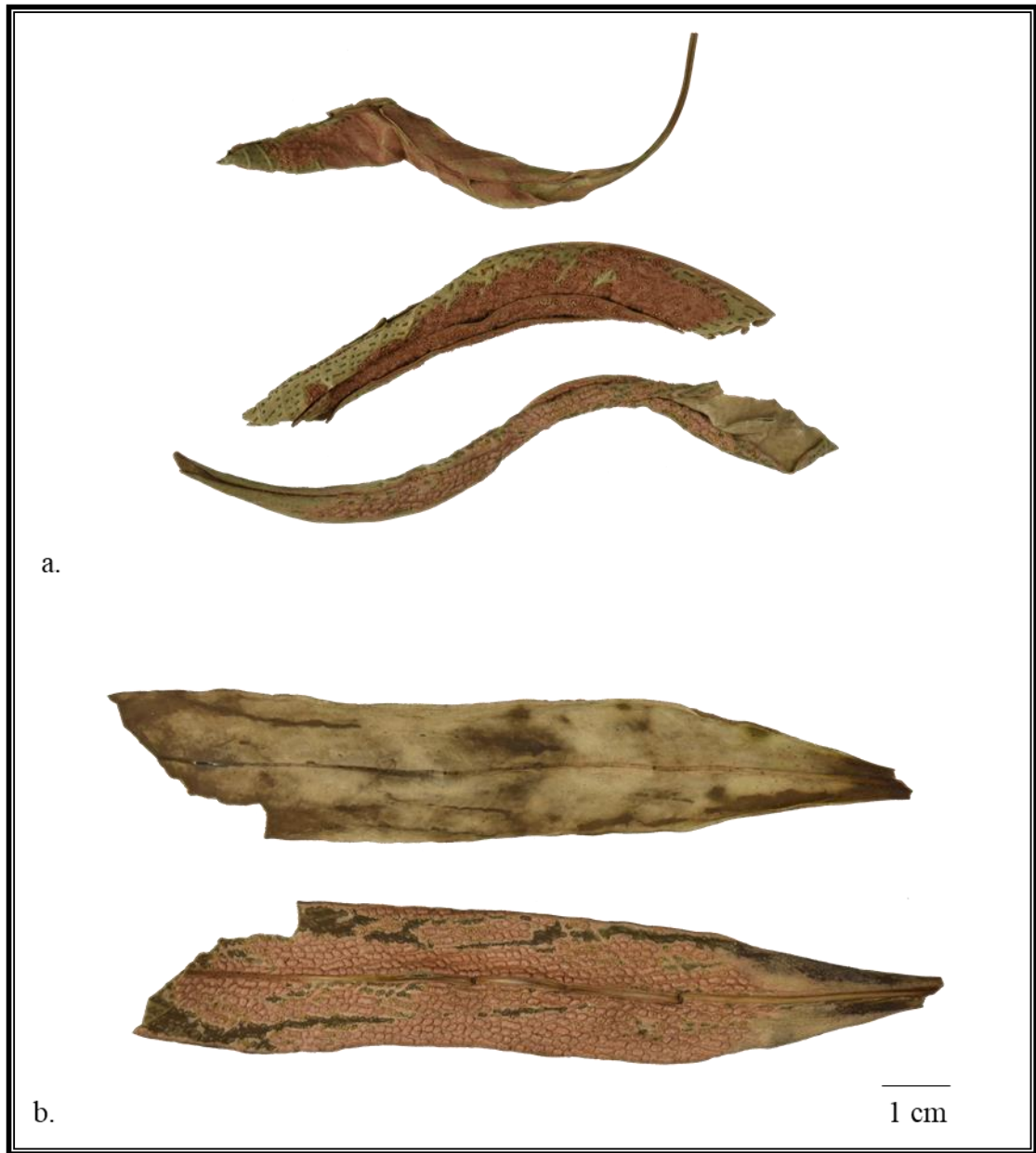


圖 1A 石韋藥材圖

a.藥材圖 b.葉片展開圖

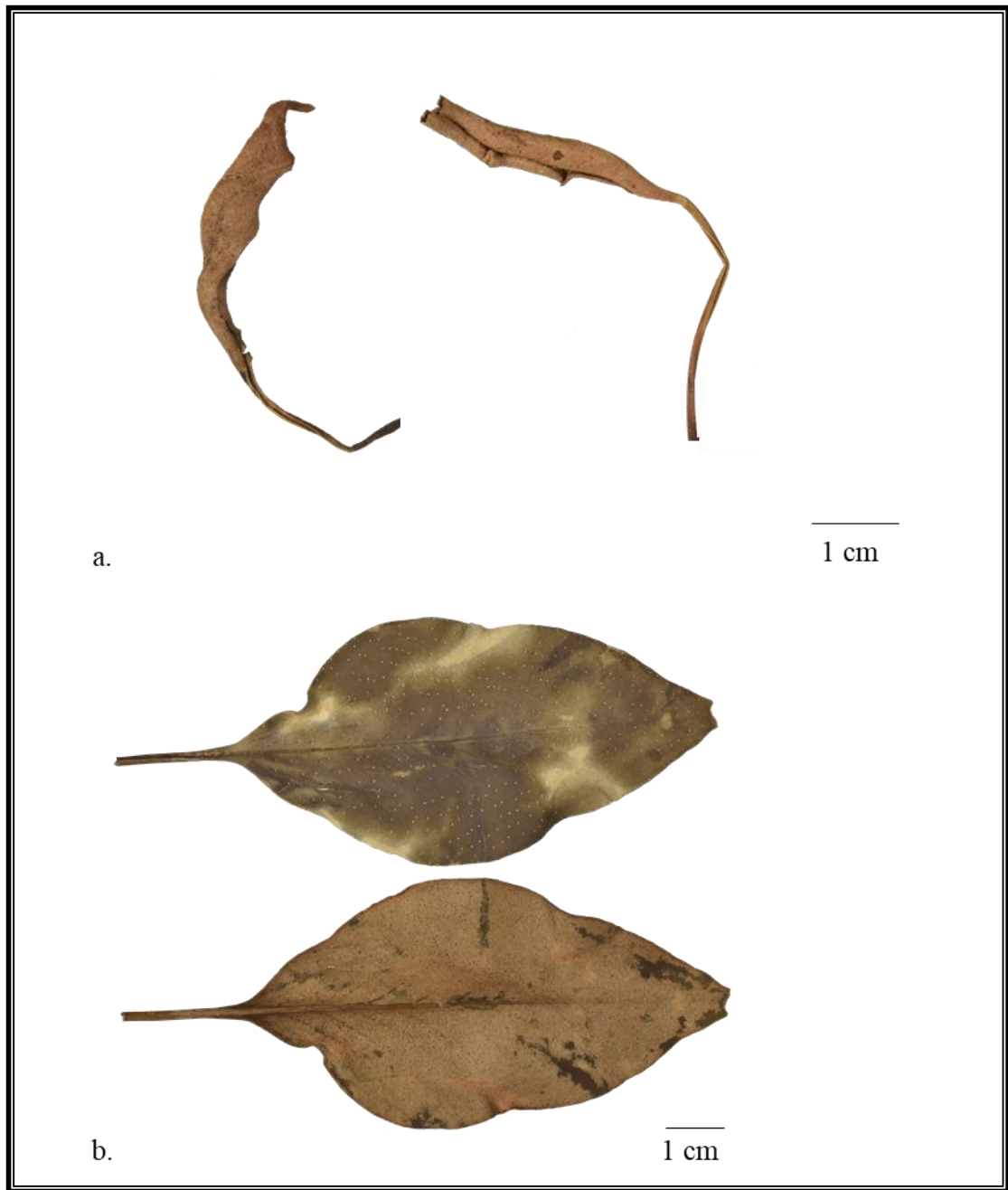


圖 1B 有柄石韋藥材圖

a. 藥材圖 b. 葉片展開圖



圖 1C 石韋飲片圖

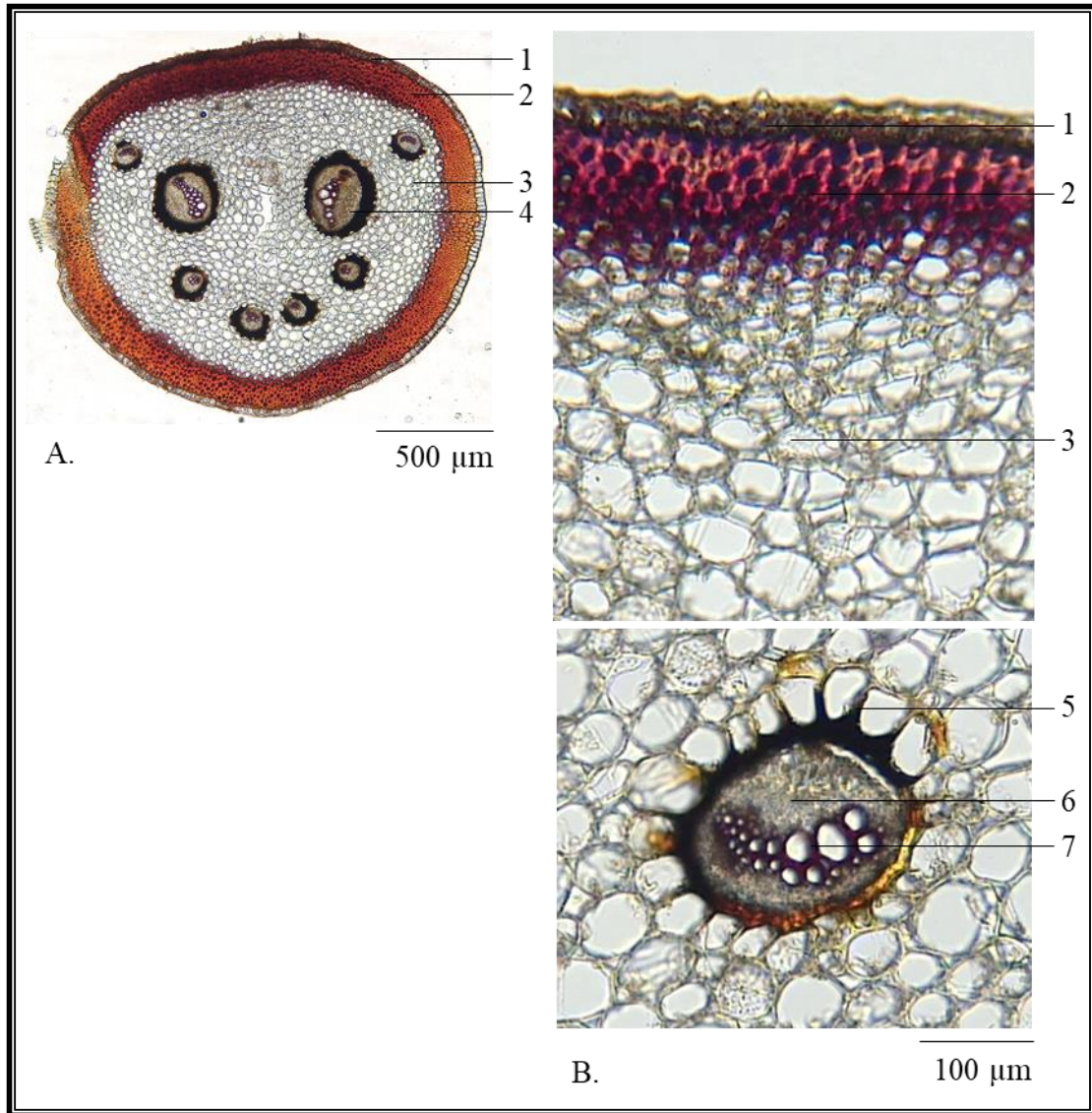


圖 2A 石韋葉柄顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖

1.表皮 2.厚壁組織 3.皮層 4.維管束 5.內皮層 6.韌皮部 7.木質部

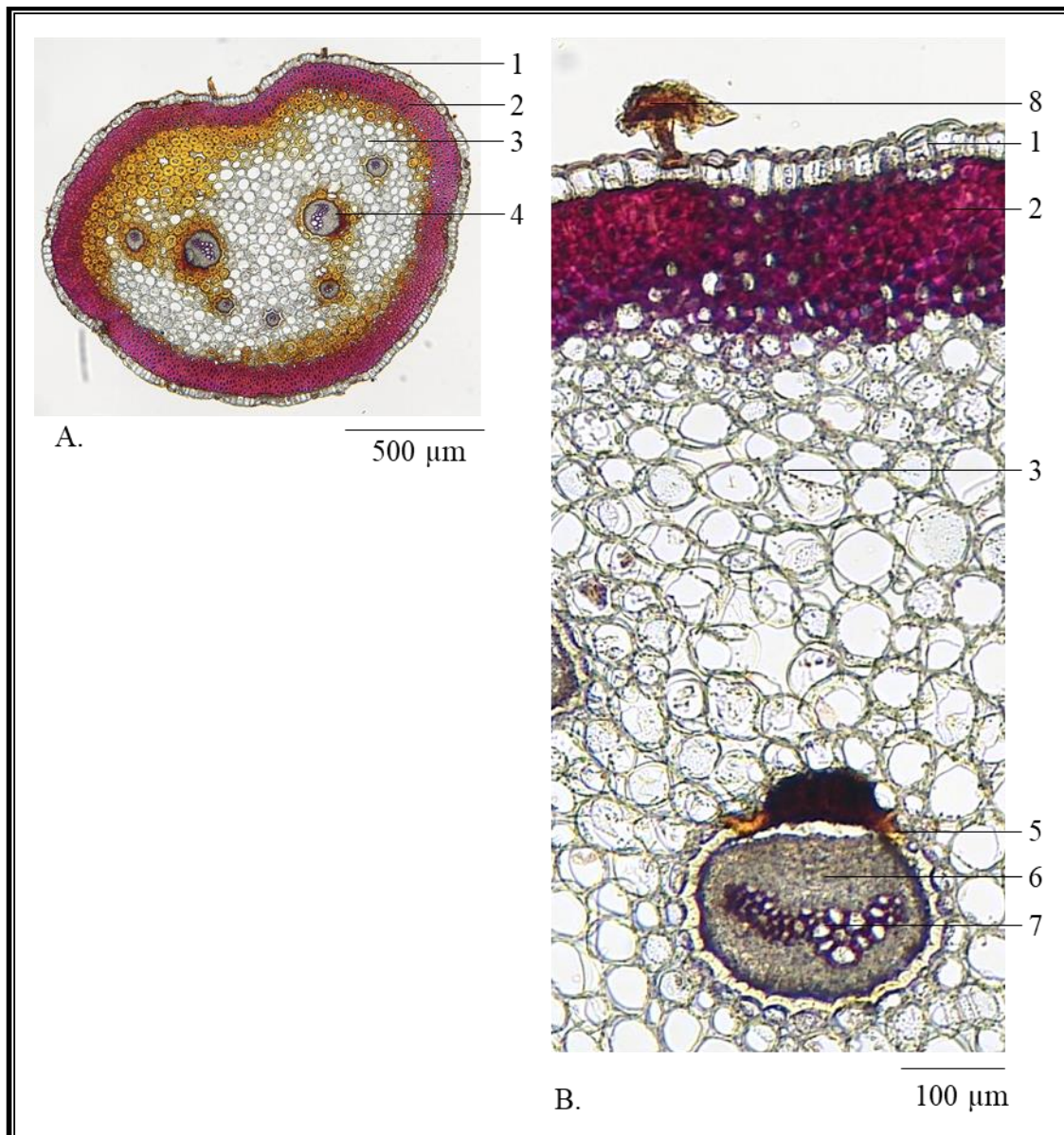


圖 2B 有柄石韋葉柄顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖

1.表皮 2.厚壁組織 3.皮層 4.維管束 5.內皮層 6.韌皮部 7.木質部

8.星狀毛

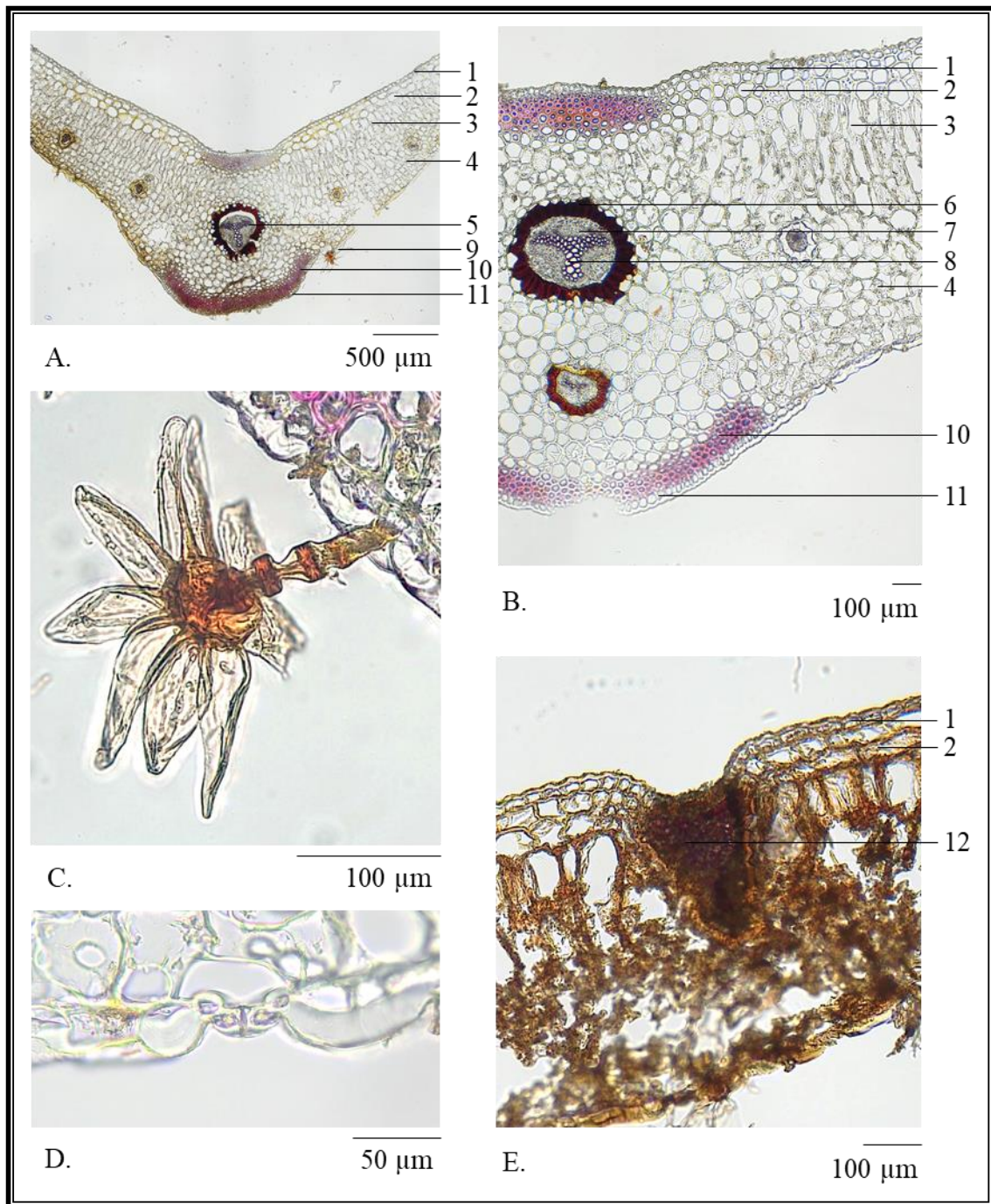


圖 2C 石韋葉顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖 C.星狀毛 D.氣孔 E.水孔

1.上表皮 2.下皮細胞 3.柵狀組織 4.海綿組織 5.維管束 6.內皮層

7.韌皮部 8.木質部 9.星狀毛 10.厚壁組織 11.下表皮 12.水孔

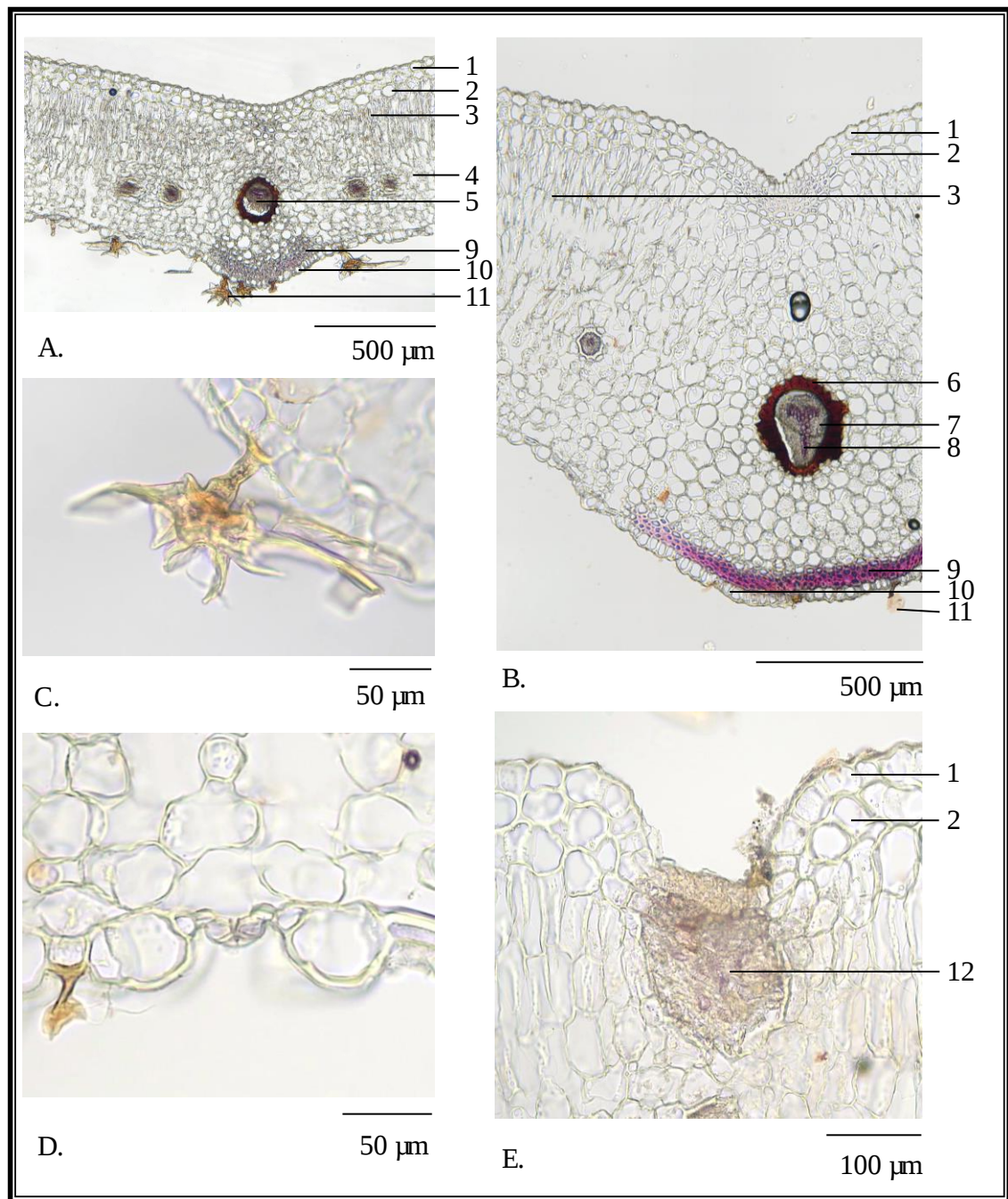


圖 2D 有柄石韋葉顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖 C.星狀毛 D.氣孔 E.水孔

1.上表皮 2.下皮細胞 3.柵狀組織 4.海綿組織 5.維管束 6.內皮層
7.韌皮部 8.木質部 9.厚壁組織 10.下表皮 11.星狀毛 12.水孔

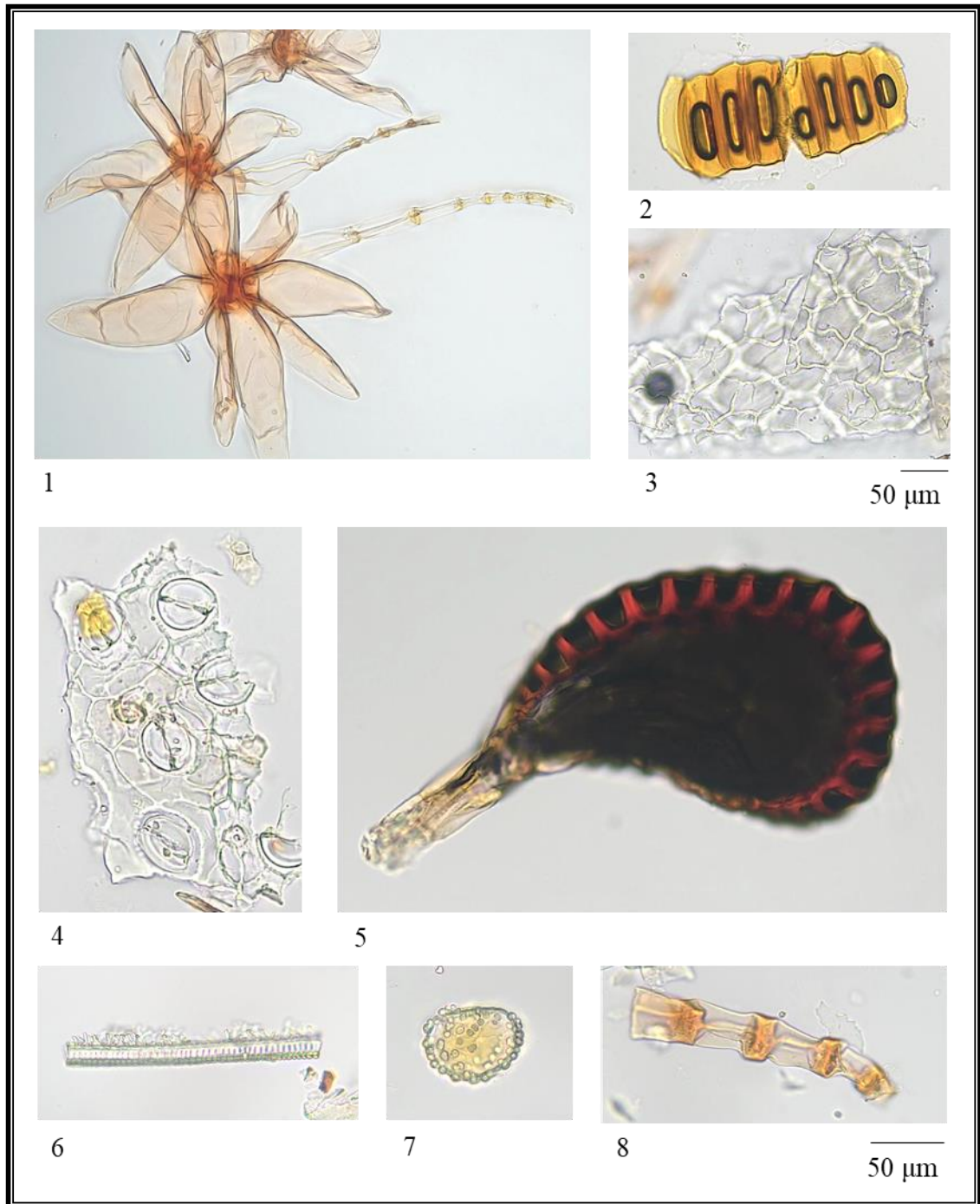


圖 3A 石韋粉末顯微特徵圖

1.星狀毛 2.孢子囊環帶表面觀 3.葉上表皮 4.葉下表皮與氣孔及星狀毛殘基 5.孢子囊 6.階紋導管 7.孢子 8.星狀毛柄

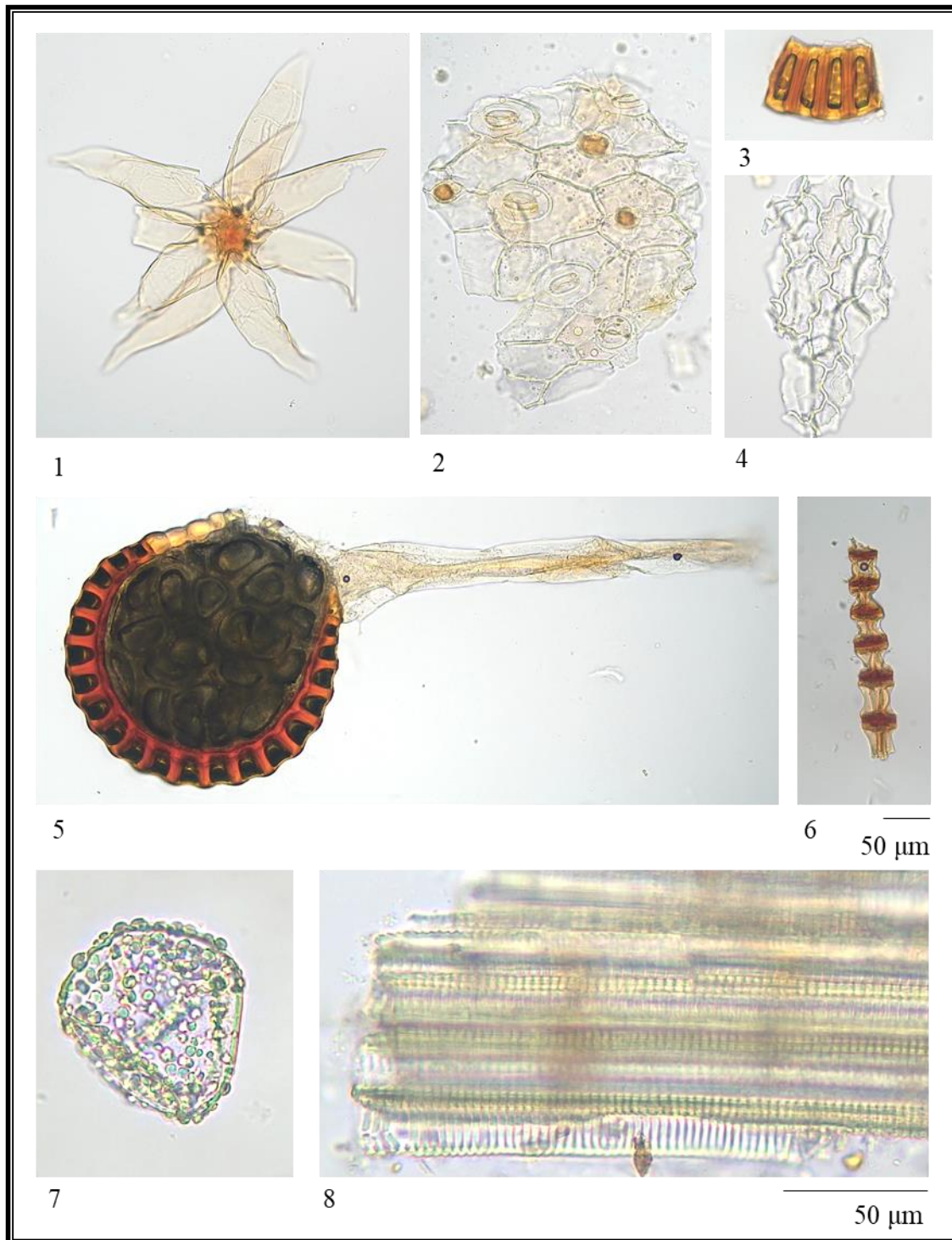


圖 3B 有柄石韋粉末顯微特徵圖

- 1.星狀毛 2.葉下表皮與氣孔及星狀毛殘基 3.孢子囊環帶表面觀
- 4.葉上表皮 5.孢子囊 6.星狀毛柄 7.孢子 8.階紋導管

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。台北市：衛生福利部。112 頁。
2. 許天銓、陳正為、Ralf Knapp、洪信介(2019)。台灣原生植物全圖鑑第八卷(下)。貓頭鷹出版。444頁。
3. 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(2013)。香港中藥材標準第六冊。香港：香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部。631~650 頁。
4. 肖培根(主編)(2002)。新編中藥志第三卷。北京：化學工業出版社。441~452 頁。
5. 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。158~159 頁。
6. 肖培根、陳士林(主編)(2020)。中國珍稀藥用植物圖典(下冊)。湖南科學技術出版社。1182~1189 頁。
7. 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。91 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。490~491 頁。
9. 中國科學院中國植物志編輯委員會(2000)。中國植物志第六卷第二分冊。科學出版社。125~128 頁
10. 任仁安(主編)(1986)。中藥鑑定學。上海科學技術出版社。451~453 頁。
11. 蔡少青、李勝華(主編)(2005)。常用中藥材品種整理和質量研究第四冊。北京大學醫學出版社。183~221 頁。
12. 張繼、陳德昌、林惠蓉、陸惠文(主編)(1999)。中國中藥材真偽鑑別圖典 4。廣東科技出版社。48~51 頁。
13. 王滿恩、趙昌(主編)(2019)。飲片驗收經驗。山西科學技術出版社。140~142 頁。
14. 陳萬生、詹亞華、吳和珍(主編)(2020)。新編中國藥材學第四卷。中國醫藥科技出版社。69~72 頁。
15. 國家藥典委員會(2009)。中華人民共和國藥典中藥材顯微鑒別彩色圖鑒。人民衛生出版社。136 頁。
16. 楊金玲、郭慶梅、周鳳琴、陳正溪、李建秀(2009)。有柄石韋及其近緣種葉的顯微鑒別。中藥材，32(7)，1046-1048。

石韋 HPLC

一、材料

購置於臺灣各地中藥店石韋藥材共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Agilent 1260 series, 包含 Quat Pump (G1311B)、DAD (G1315D)、Autosampler (G1329B)、Column Oven (G1316A); 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

乙腈(99.9%)購置於友和貿易股份有限公司; 磷酸購置於友和貿易股份有限公司。

(二) 對照標準品

綠原酸(Chlorogenic 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 4 份, 每份準確稱取約 0.5 g, 置 50 mL 離心管中, 準確加入 75% 甲醇、50% 甲醇、75% 乙醇、50% 乙醇各 25 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 5000 × g), 以 No.1 濾紙過濾, 取濾液移入 25 mL 之容量瓶中, 加溶媒至刻度, 搖勻再過濾(Syringe filter, PVDF 0.45 μm), 即得。每針 10 μL 注入 HPLC, 以所測得每克重量之綠原酸最大波峰面積為最佳石韋藥材萃取溶媒。

(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 50% 甲醇 25 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 5000 × g), 以 No.1 濾紙過濾, 取濾液移入 25 mL 之容量瓶中, 加 50% 甲醇至刻度, 搖勻再過濾(Syringe filter, PVDF 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, 直到綠原酸被萃取完全, 並選出最佳萃取次數。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取對照標準品綠原酸 2.0 mg，加 10 mL 的 50% 甲醇製成每 1 mL 含綠原酸 200 μg 的對照標準品儲備溶液，並以 50% 甲醇稀釋至 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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，加入 50% 甲醇 25 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 $5000 \times g$)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液，殘渣部分重複提取 1 次，合併濾液，移入至 50 mL 之容量瓶中，加 50% 甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PVDF 0.45 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，用標準曲線計算溶液中綠原酸的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取綠原酸對照標準品儲備液適量(200 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，以 50% 甲醇稀釋成含綠原酸分別為 100、80、50、20、10、5.0、2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的對照標準品溶液。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

以綠原酸為 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以綠原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：取同一批市售石韋藥材粉末，依石韋藥材檢品溶液製備方法平行製備 5 份石韋藥材檢品溶液，進樣測定，以綠原酸的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售石韋藥材粉末，依石韋藥材檢品溶液製備方法製備石韋藥材檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，以綠原酸的含量為指標，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)：將已知濃度之對照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)：將已知濃度之對照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

取已知綠原酸含量的石韋藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.25 g，分別加入 2 mL 綠原酸溶液(200 $\mu\text{g/mL}$)，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：Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 327 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：35 $^{\circ}\text{C}$
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	11	89
25	11	89

(十二) 臺灣市售石韋藥材含量測定

取 10 批市售石韋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 公式計算樣品綠原酸的百分比含量。

(十三) 石韋檢品之 UPLC 分析條件

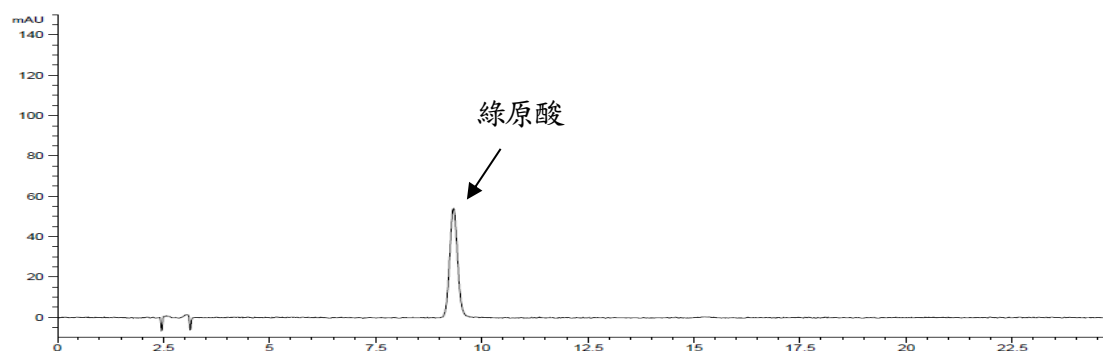
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC[®] BEH C18 Column (100 $\times$ 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 327 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 $^{\circ}\text{C}$
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	11	89
6	11	89

五、結果

(一) 對照標準品綠原酸之 HPLC 層析

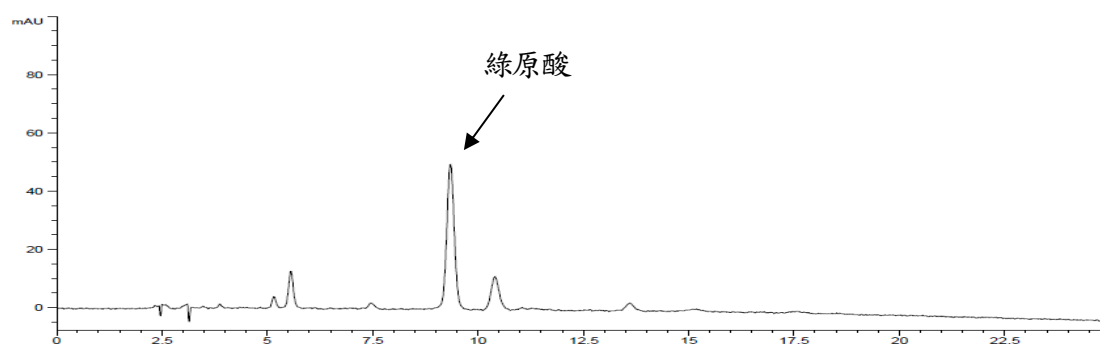
於滯留時間 9.4 分鐘處顯示綠原酸對照標準品波峰(圖一)。



圖一、綠原酸對照標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售石韋藥材檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 9.4 分鐘處顯示石韋藥材檢品中綠原酸波峰(圖二)。綠原酸分離率(R)為 3.3，拖尾因子(T)為 1.1，均在系統適用性要求內。



圖二、市售石韋藥材檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取條件評估

以 50% 甲醇為溶媒時，每克藥材重量所得綠原酸的波峰面積最大，顯示 50% 甲醇為最佳萃取溶媒。

表一、不同溶媒條件萃取評估

溶媒	綠原酸波峰面積	最佳萃取
75% 甲醇	869.9	
50% 甲醇	886.2	√
75% 乙醇	569.3	
50% 乙醇	689.5	

(四) 最佳萃取次數評估

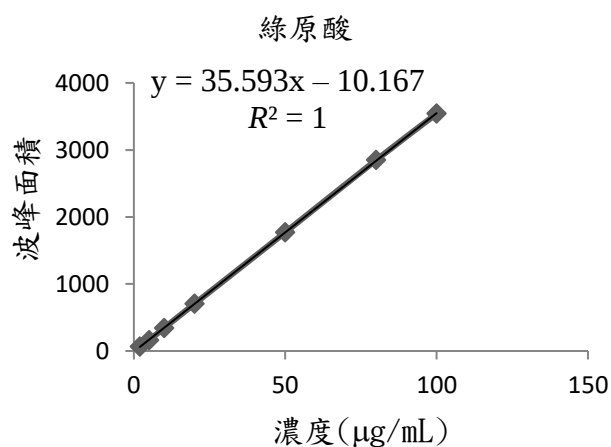
結果顯示萃取 2 次基本上已將綠原酸萃取完全(萃取率大於 98%)。

表二、石韋藥材檢品萃取次數評估

50%甲醇	綠原酸波峰面積
第 1 次	998.9
第 2 次	108.7
第 3 次	N.D

(五) 對照標準品綠原酸檢量線

經不同濃度綠原酸(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 $y = 35.593x - 10.167$ ， $R^2 = 1$ ，顯示濃度在 2.0–100 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、綠原酸之檢量線圖

表三、綠原酸之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
綠原酸	2.0–100	$y = 35.593x - 10.167$	1

(六) 精密度試驗

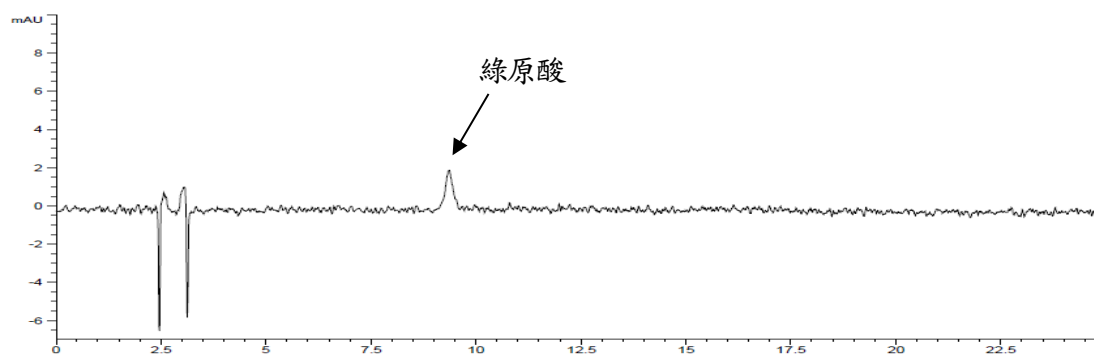
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，綠原酸精密度之相對標準差為 0.44%，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

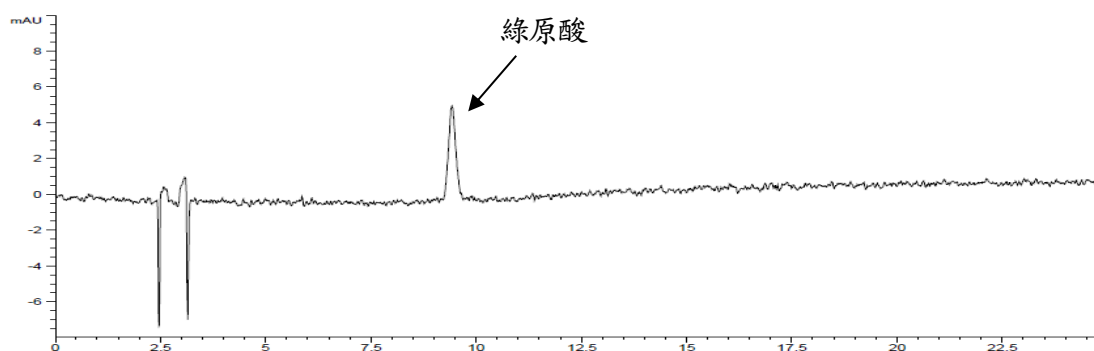
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，綠原酸重複性之相對標準差為 3.19%，在系統適用性要求內。綠原酸在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差為 1.18%，變化差異小，若所有樣品分析都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

綠原酸偵測極限為 1.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 2.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、綠原酸之偵測極限層析圖



圖五、綠原酸之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	綠原酸	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	20 $\mu\text{g/mL}$	0.44
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.6)	3.19
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.6)	1.18
偵測極限 (n=1)	1.0 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=1)	2.0 $\mu\text{g/mL}$	-

(九) 添加回收率試驗

綠原酸平均添加回收率為 99.4%，相對標準偏差為 1.19% (表五)。

表五、綠原酸添加回收率

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	0.250	0.461	0.4	0.852	97.75	99.40	1.19
2	0.250	0.461	0.4	0.856	98.75		
3	0.251	0.461	0.4	0.858	99.25		
4	0.251	0.461	0.4	0.866	101.25		
5	0.250	0.461	0.4	0.861	100.00		

(十) 臺灣市售石韋藥材含量測定

10 批石韋藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六，綠原酸的含量為 0.049–0.202%。建議石韋藥材指標成分綠原酸的含量不得少於 0.2%。理論板數按綠原酸波峰計算應不低於 5000 (實際值為 10000)。

表六、臺灣市售石韋藥材檢品之綠原酸的含量

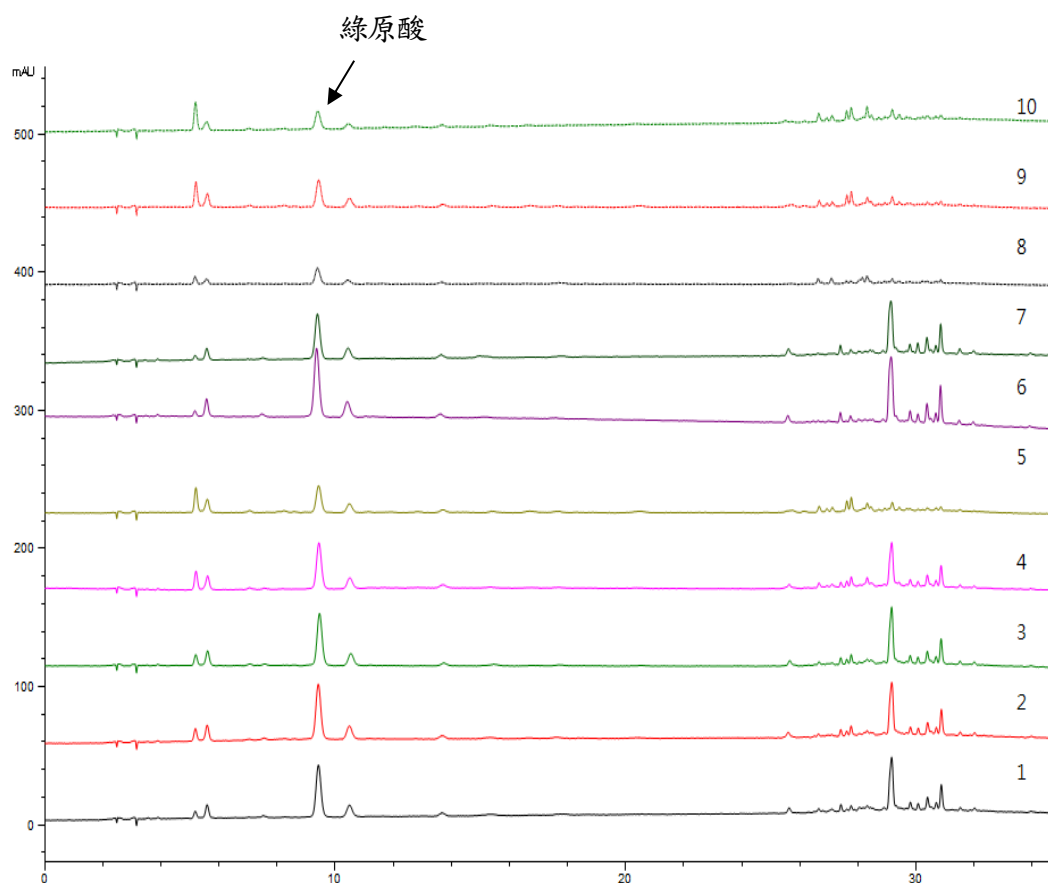
藥材編號(No.)	綠原酸含量(%)
1 (SCA)	0.148
2 (SCB)	0.159
3 (SCE)	0.148
4 (NF-2)	0.132
5 (NF-5)	0.094
6 (SUC)	0.202
7 (SU2C)	0.134
8 (CA)	0.049
9 (CB)	0.054
10 (CH)	0.080
平均值±S.D.	0.120±0.047

(十一) 石韋藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售石韋藥材檢品溶液各 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 327 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：

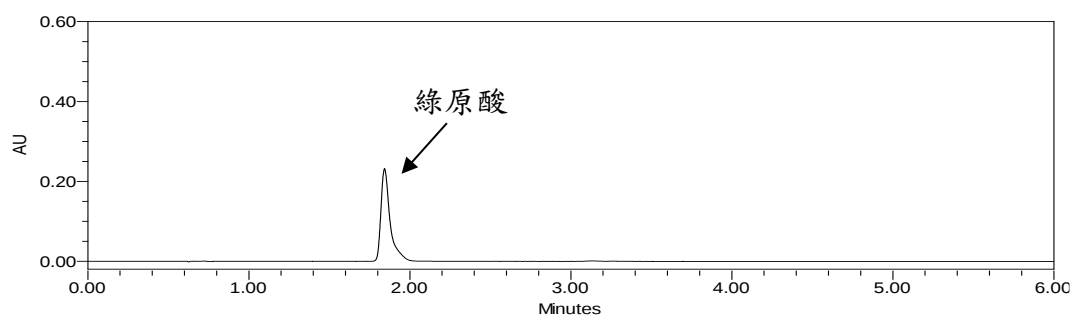
時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	11	89
20	11	89
25	35	65
35	50	50
45	70	30
55	100	0



圖六、10 批石韋藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 對照標準品綠原酸之 UPLC 層析

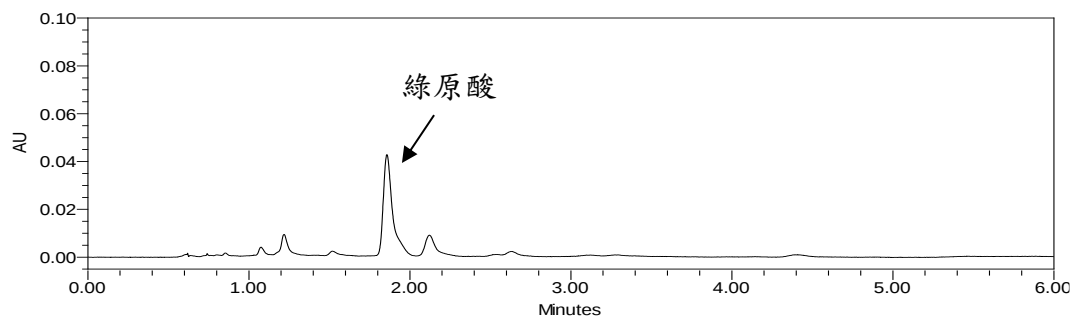
於滯留時間 1.84 分鐘處顯示綠原酸對照標準品波峰(圖七)。



圖七、綠原酸對照標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售石韋藥材檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 1.85 分鐘處顯示石韋藥材檢品中綠原酸波峰(圖八)。

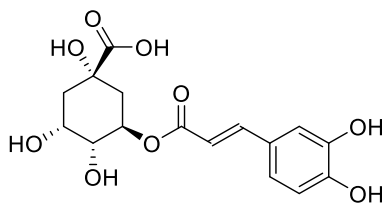


圖八、市售石韋藥材檢品之 UPLC 層析圖

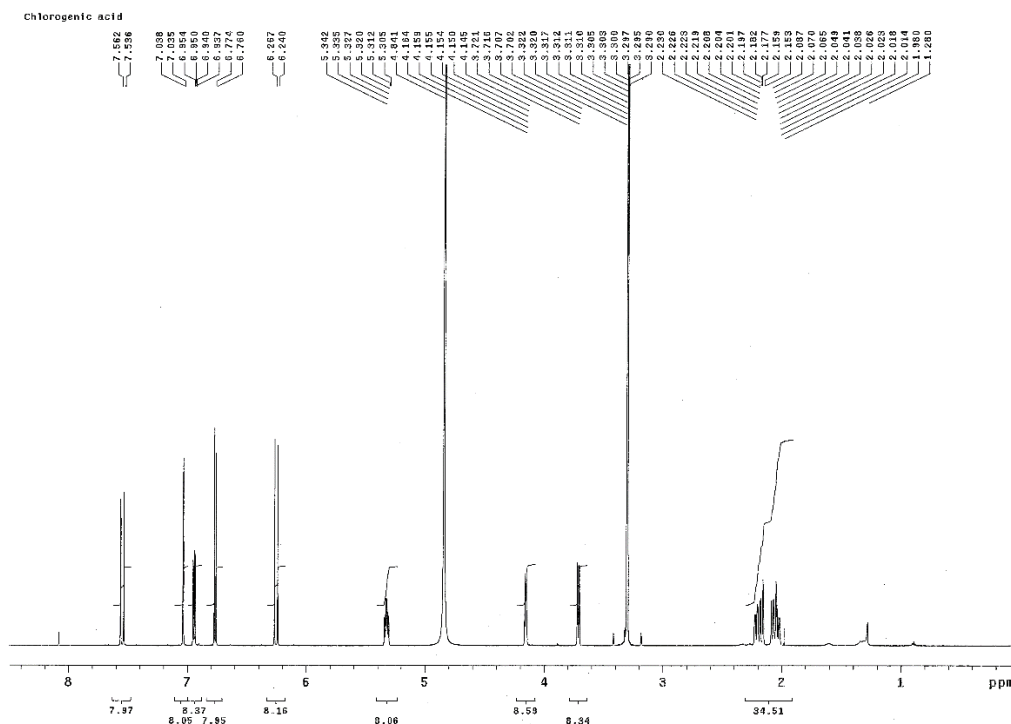
(十四) 綠原酸的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{16}H_{18}O_9$ ；分子量：354.31；熔點：212 °C；白色粉末。

(十五) 綠原酸的結構

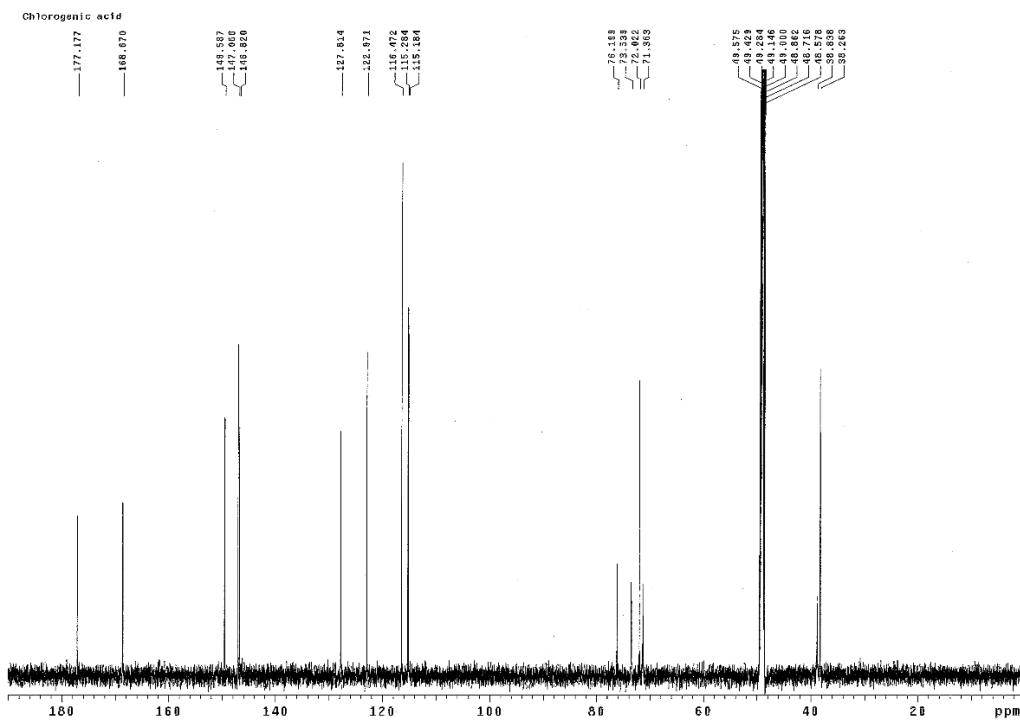


(十六) 綠原酸的 ^1H NMR 圖譜



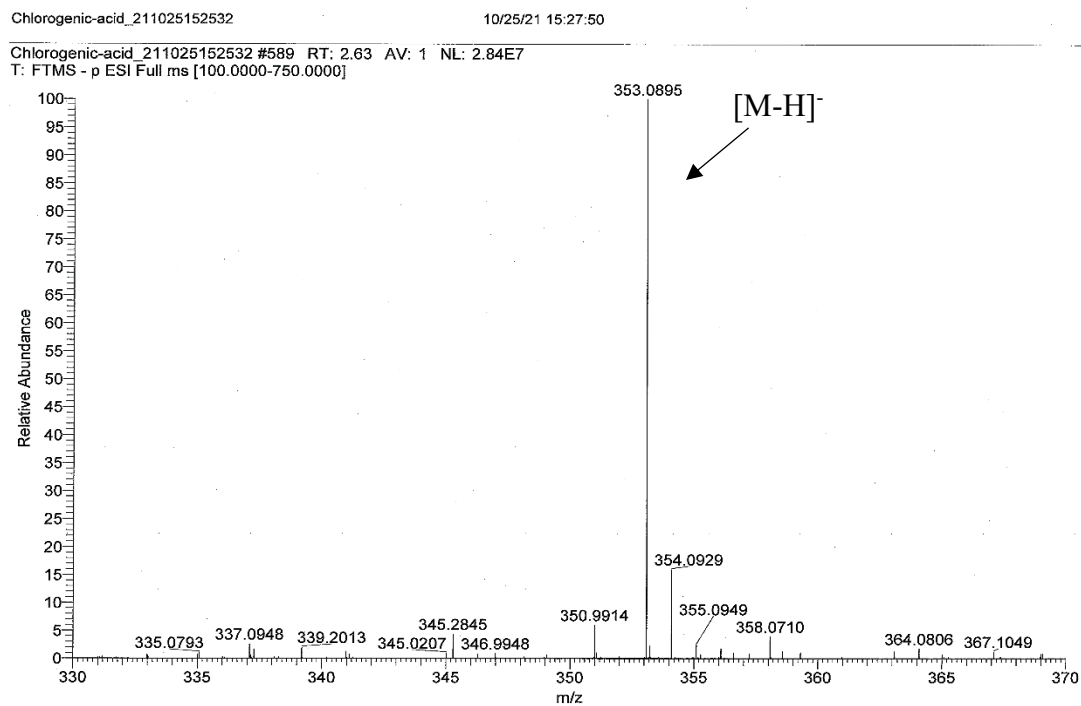
圖九、綠原酸的 ^1H NMR 圖譜(CD_3OD)

(十七) 綠原酸的 ^{13}C NMR 圖譜



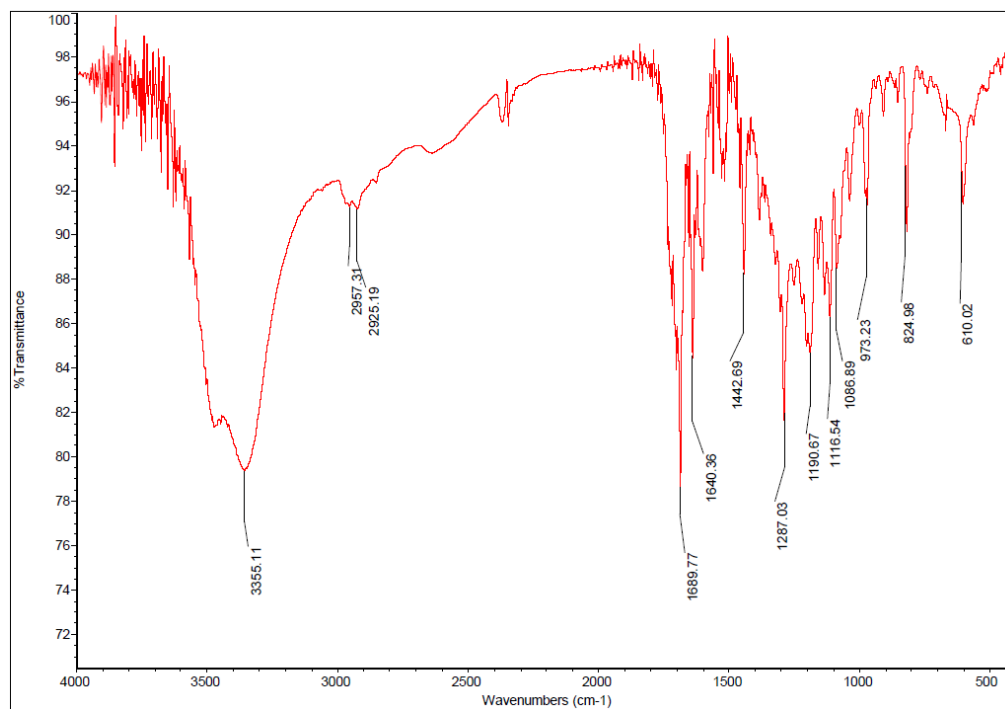
圖十、綠原酸的 ^{13}C NMR 圖譜(CD_3OD)

(十八) 綠原酸的 ESI-MS 圖譜



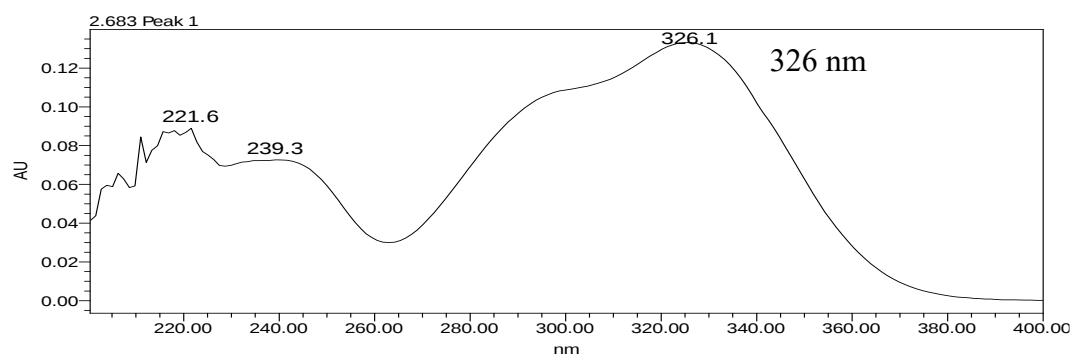
圖十一、綠原酸的 ESI-MS 圖譜

(十九) 綠原酸的 FTIR 圖譜



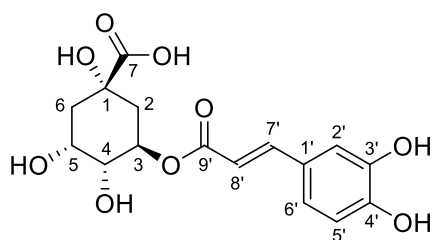
圖十二、綠原酸的 FTIR 圖譜

(二十) 綠原酸的 UV 圖譜



圖十三、綠原酸的 UV 圖譜

(二十一) 綠原酸的氫、碳化學位移



綠原酸

表七、綠原酸氫、碳化學位移(CD₃OD)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	-	76.20
2	2.21 (ddd, 13.2, 4.2, 2.4) 2.07 (dd, 13.2, 10.2)	38.84
3	5.32 (td, 9.0, 4.2)	72.02
4	3.71 (dd, 8.4, 3.0)	73.54
5	4.15 (dt, 6.0, 3.0)	71.36
6	2.03 (ddd, 14.4, 5.4, 2.4) 2.17 (dd, 14.4, 3.0)	38.26
7	-	177.18
1'	-	127.81
2'	7.04, (d, 1.8)	115.18
3'	-	146.82
4'	-	149.59
5'	6.77 (d, 8.4)	116.42
6'	6.95 (dd, 8.4, 1.8)	122.97
7'	7.55 (d, 15.6)	147.07
8'	6.25 (d, 15.6)	115.28
9'	-	168.67

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

石韋 TLC

生藥名：PYRROSIAE FOLIUM

英文名：Pyrrosia Leaf

基 原：本品為水龍骨科 Polypodiaceae 植物廬山石韋 *Pyrrosia shearerii* (Baker) Ching、石韋 *Pyrrosia lingua* (Thunb.) Farw.或有柄石韋 *Pyrrosia petiolosa* (Christ.) Ching 之乾燥葉。

一、方法

(一) 檢品溶液 【萃取方法 1】《香港中藥材標準第六冊》✓

——取本品粉末 1.0 g，加 50% 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】(自行開發 1)

——取本品粉末 1.0 g，加 75% 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 3】(自行開發 2)

——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 液 取綠原酸(Chlorogenic acid)對照標準品，加 甲醇製成每 1 mL 含 0.2 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】《香港中藥材標準第六冊》

——乙酸乙酯：丙酮：甲酸：水 (20：3：1.5：1.5)

【展開劑 2】(自行開發) ✓

——乙酸乙酯：甲酸：水 (7：1：1)

(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 風乾後，置於紫外光(365 nm)下檢視。

二、萃法選擇及濃度測試

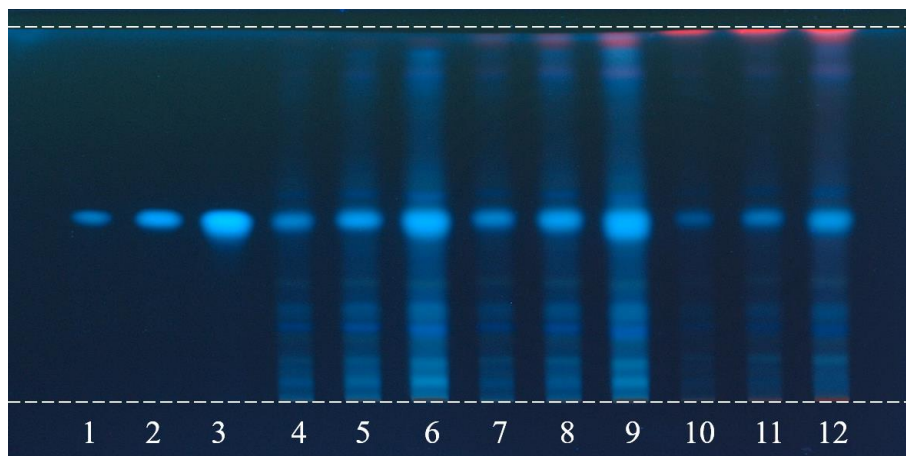
實驗日期：112/03/24

相對溼度(RH)：61%

溫度(RT)：25.3 °C

【展開劑 2】(自行開發)——乙酸乙酯：甲酸：水 (7：1：1)

——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



編號	名稱	點注量
1, 2, 3	綠原酸(0.2 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
4, 5, 6	檢品溶液 4 【萃取方法 1】	1, 2, 5 μ L
7, 8, 9	檢品溶液 4 【萃取方法 2】	1, 2, 5 μ L
10, 11, 12	檢品溶液 4 【萃取方法 3】	1, 2, 5 μ L

建議萃法：三種萃取方法，檢品溶液中皆可分離與檢出綠原酸，因濃度適中，故採用香港中藥材標準【萃取方法 1】。

建議點注量：綠原酸 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 1】2 μ L。

三、溶媒系統選擇

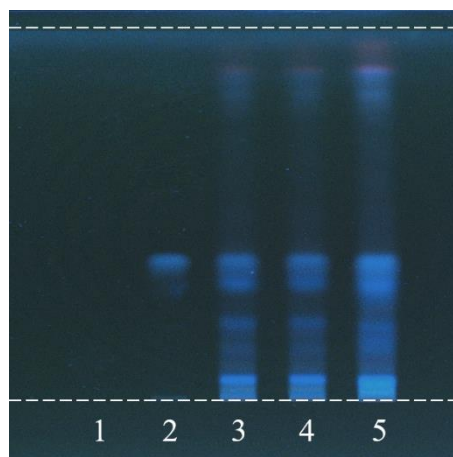
實驗日期：112/03/24

相對溼度(RH)：61%

溫度(RT)：25.3 °C

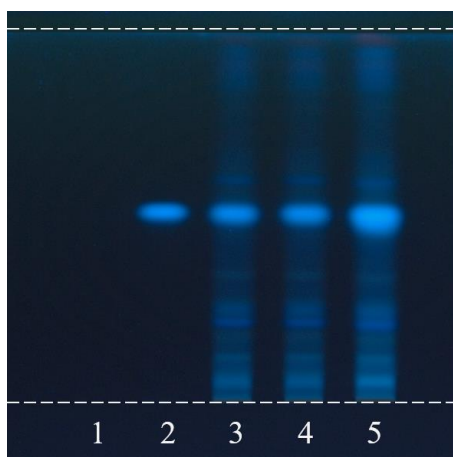
【展開劑 1】《香港中藥材標準第六冊》——乙酸乙酯：丙酮：甲酸：水 (20：3：1.5：1.5)

【萃取方法 1】《香港中藥材標準第六冊》——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(綠原酸 R_f 值為 0.41)



【展開劑 2】(自行開發)——乙酸乙酯：甲酸：水 (7：1：1) ✓

【萃取方法 1】《香港中藥材標準第六冊》——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(綠原酸 R_f 值為 0.53)



1：Blank

3，4：檢品溶液 4

2：綠原酸

5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 1】方式，以自行開發之【展開劑 2】展開，顯示綠原酸的 R_f 值適中，分離佳且沒有拖尾現象，故採用【展開劑 2】。

四、觀察方式選擇

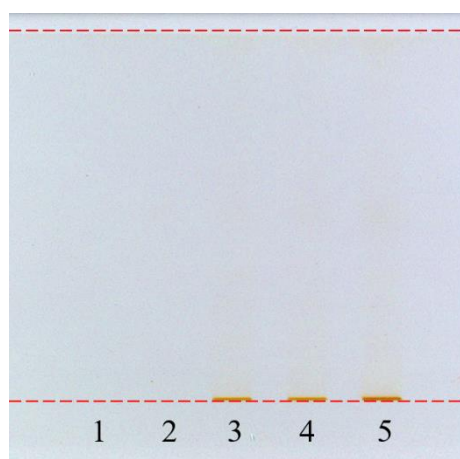
實驗日期：112/03/24

相對溼度(RH)：61%

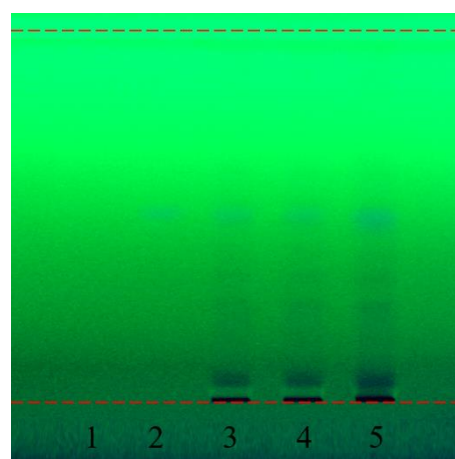
溫度(RT)：25.3 °C

【展開劑 2】(自行開發)——乙酸乙酯：甲酸：水 (7：1：1)

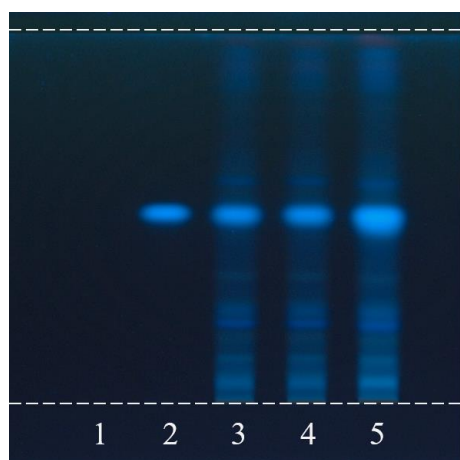
【萃取方法 1】《香港中藥材標準第六冊》—HPTLC 可見光檢出



【萃取方法 1】《香港中藥材標準第六冊》—HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



【萃取方法 1】《香港中藥材標準第六冊》—HPTLC 紫外光(365 nm)檢出✓



1：Blank

2：綠原酸

3，4：檢品溶液 4

5：Spike

建議觀察方式：於紫外光(365 nm)檢視下，顯示有明顯分離之條帶。

五、十批石韋藥材樣品檢測

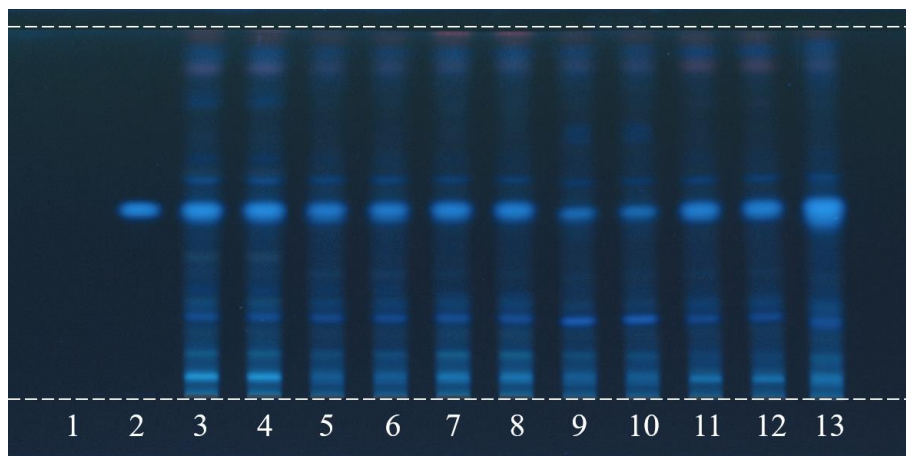
實驗日期：112/03/24

相對溼度(RH)：61%

溫度(RT)：25.3 °C

【展開劑 2】(自行開發)——乙酸乙酯：甲酸：水 (7：1：1)

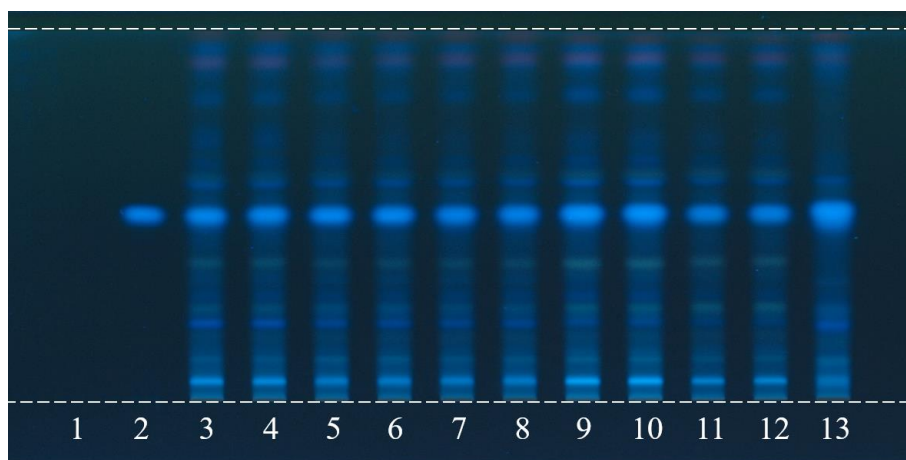
【萃取方法 1】《香港中藥材標準第六冊》—HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



1	Blank	7, 8	檢品溶液 3 (CA)
2	綠原酸(0.2 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 4 (CB)
3, 4	檢品溶液 1 (NF2)	11, 12	檢品溶液 5 (CH)
5, 6	檢品溶液 2 (NF5)	13	Spike (檢品溶液 4)

【展開劑 2】(自行開發)——乙酸乙酯：甲酸：水 (7：1：1)

【萃取方法 1】《香港中藥材標準第六冊》—HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



1	Blank	7, 8	檢品溶液 8 (SCE)
2	綠原酸(0.2 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 9 (SUC)
3, 4	檢品溶液 6 (SCA)	11, 12	檢品溶液 10 (SU2C)
5, 6	檢品溶液 7 (SCB)	13	Spike (檢品溶液 4)

結論與建議：以【萃取方法 1】方式及自行開發之【展開劑 2】分離與檢出綠原酸較佳，以紫外光(365 nm)下檢視較佳。