

合歡皮

(ALBIZIAE CORTEX)

合歡皮 MI

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

合歡皮 HPLC

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

合歡皮 TLC

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.....	27
五、十批樣品檢測.....	28

合歡皮

(ALBIZIAE 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合歡的乾燥樹皮。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：合歡皮

生藥名：ALBIZIAE CORTEX

英文名：Silktree Albizia Bark

基原：豆科 Leguminosae 植物合歡 *Albizia julibrissin* (L.) Durazz. 的乾燥樹皮。

採收加工：夏、秋間採收，剝下樹皮，曬乾。

藥材性狀：本藥材為合歡的乾燥樹皮。呈筒狀或槽狀，筒徑 2~3.5 cm，厚 1~2 mm。外表面粗糙，灰棕色或灰褐色，稍有縱皺紋，有的成淺裂紋，密生明顯的棕色或紅棕色橫長或橢圓形皮孔，偶有突起的橫棱或較大的圓形枝痕，常附有地衣斑；內表面淡黃白色，平滑，有細密縱紋。質硬而脆，易折斷，折斷面呈纖維性裂片狀。氣微香，味微澀，稍刺舌，而後喉頭有不適感。

生長分佈：落葉喬木，高達 10 m 以上。花期 6~8 月，果期 8~10 月。喜溫暖向陽環境，耐寒和乾旱。對土壤要求不嚴格。生長於山坡、路旁，常栽培於庭園。分布華南、西南、華東、東北及河北、河南、湖北等地。

三、藥材組織顯微鑑別(圖 2)

1. 木栓層為多層木栓細胞，細胞含棕色物。
2. 皮層窄，細胞切向延長，散有石細胞及草酸鈣方晶，近木栓層處為多。
3. 多數石細胞成群。
4. 中柱鞘主要為石細胞群及少數纖維束，呈環狀排列。
5. 石細胞群與纖維束周圍含有較多的草酸鈣方晶。
6. 韌皮部寬廣，有眾多纖維束，切向排列成層；外側散有少數石細胞群。
7. 韌皮纖維成束，周圍的薄壁細胞含草酸鈣方晶，形成晶纖維。
8. 韌皮髓線寬 2 層細胞。

四、藥材粉末顯微鑑別(圖 3)

1. 本品粉末米白色。
2. 纖維細長，直徑 7~48 μm ，壁極厚，木化。
3. 纖維束周圍的厚壁細胞含草酸鈣方晶，形成晶纖維。偏光顯微鏡下呈多彩狀。
4. 石細胞類方形、類長方形或類多角形，直徑 11~56 μm ，壁極厚，可見層紋，孔溝明顯。偏光顯微鏡下呈亮白色。
5. 石細胞群周圍的厚壁細胞常含方晶。
6. 草酸鈣方晶呈多面形，少數呈正立方形或扁方形，直徑約至 16 μm 。偏光顯微鏡下呈亮白色或多彩狀。
7. 木栓細胞淡黃棕色，呈類多角形。
8. 韌皮薄壁細胞呈類正方形、長方形、類多角形。
9. 澱粉粒稀少，單粒或成群，呈類球形，直徑 2~7 μm 。



圖 1 合歡皮藥材圖

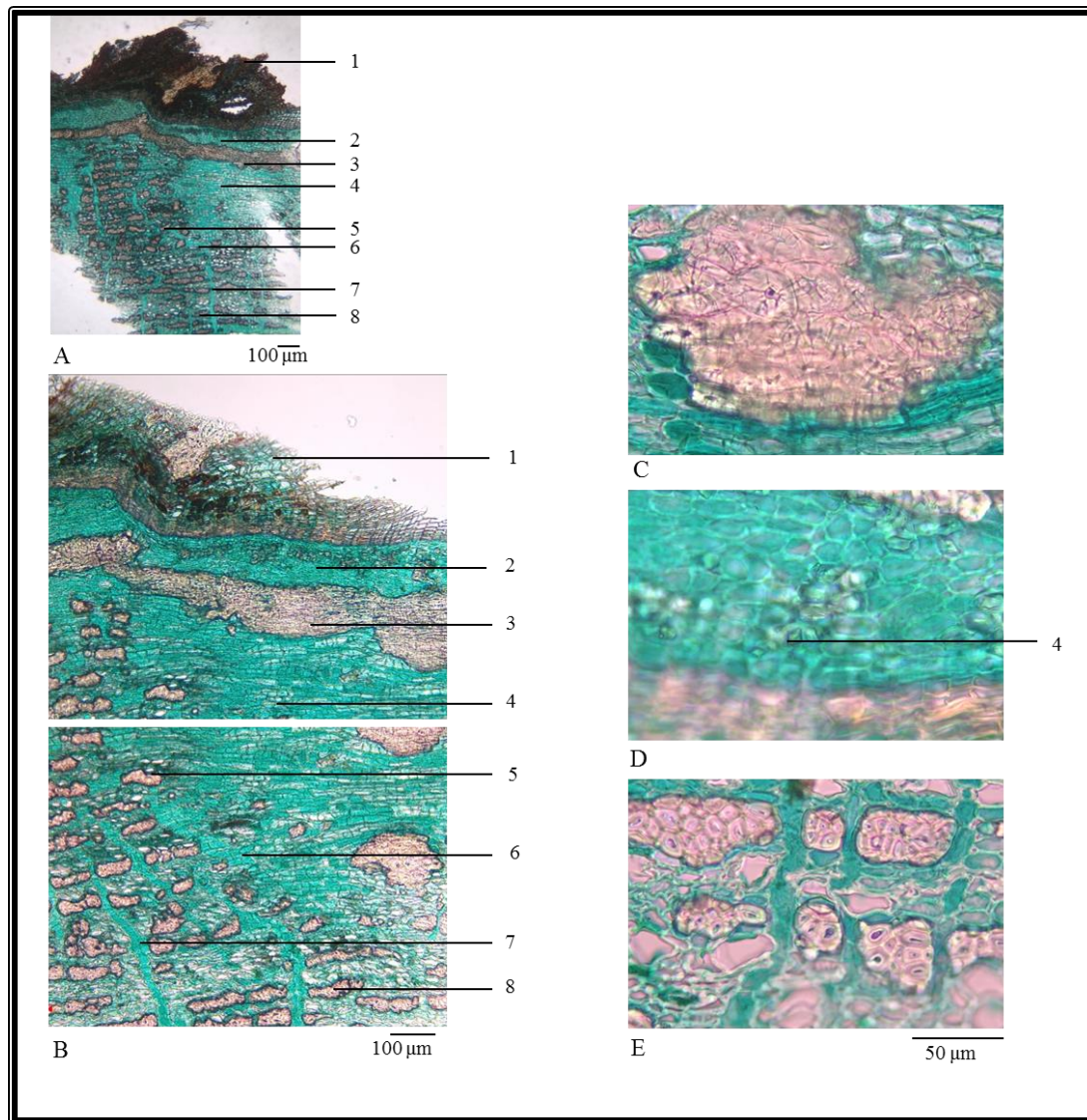


圖 2 合歡皮橫切面顯微特徵圖

A.橫切面圖 B.橫切面放大圖 C.石細胞 D.草酸鈣方晶 E.纖維束
 1.木栓層 2.皮層 3.石細胞群 4.草酸鈣方晶 5.石細胞 6.韌皮部
 7.韌皮髓線 8.纖維束

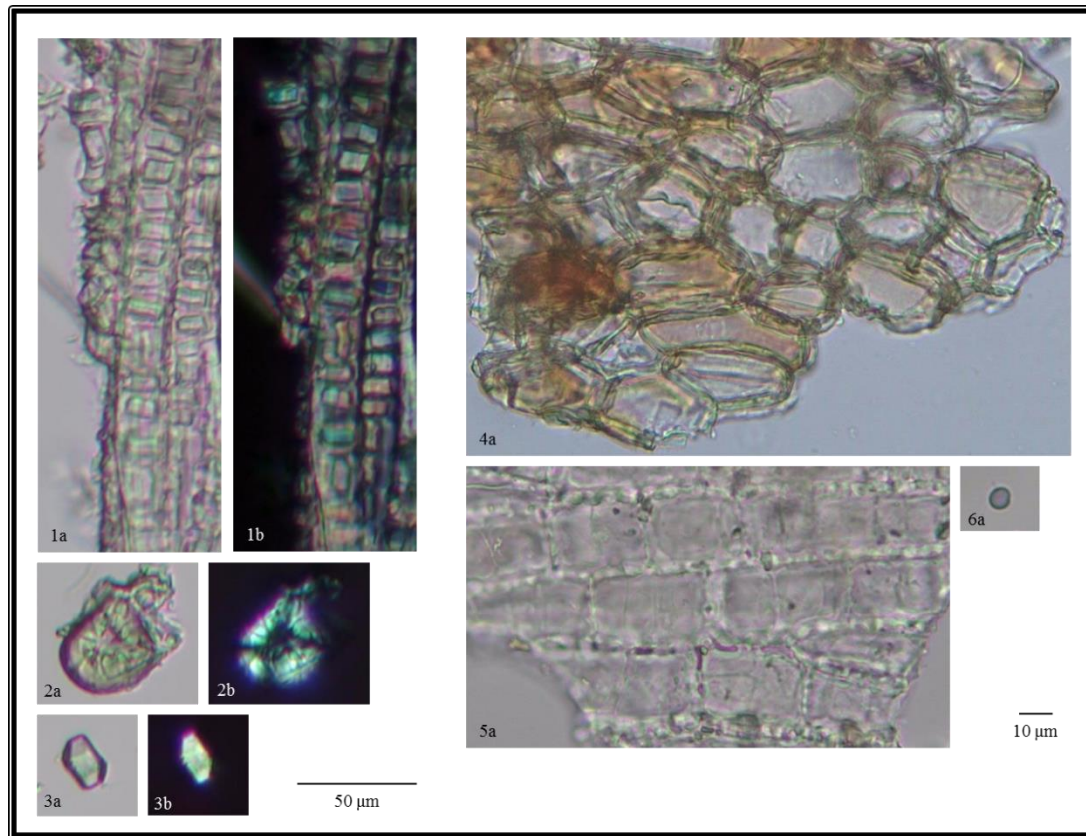


圖 3 合歡皮粉末顯微特徵圖

a.光學顯微鏡下特徵 b.偏光顯微鏡下特徵

1.晶纖維 2.石細胞 3.草酸鈣方晶 4.木栓細胞 5.韌皮薄壁細胞

6.澱粉粒

合歡皮(Albiziae Cortex)

一、材料

購自於台灣各地中藥店合歡皮藥材共 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 Cosmosil 5C18-AR Column (250 x 4.6 mm, 5 μ m)。

(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 μ m)。

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

甲醇(HPLC Grade)購自於 DUKSAN PURE CHEMICALS；乙腈(99.9%)購自於 Sigma-Aldrich Co.，乙醇(95%)購自於景明化工股份有限公司；85%磷酸購自於 Merck。

(二) 標準品

標準品(-)-丁香樹脂酚-4-O- β -D-呋喃芹糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O- β -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside) 購自於昇漢，純度 98%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 0.5 g，置 50 mL 三角錐形瓶中，精確加入甲醇、75%甲醇、50%甲醇、乙醇、75%乙醇和 50%乙醇各 20 mL，超音波震盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，冷卻後以 No. 2 濾紙過濾，取得濾液搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μ m)，即得。每針 20 μ L 注入高效能液相層析儀(HPLC)，以所測得每克藥材之標準品(-)-丁香樹脂酚-4-O- β -D-呋喃芹糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O- β -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside) 最大波峰面積為最佳合歡皮萃取溶媒。

(二) 最佳萃取次數評估

取本品粉末約 0.5 g，精確稱定，置 50 mL 三角錐形瓶中，精確加入 75%甲醇 20 mL，超音波震盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，以 No. 2 濾紙過濾，濾液加 75%甲醇定容至 20 mL，搖勻再過濾(Syringe

filter, PTFE 0.22 μ m), 取濾液, 即得。每針 20 μ L 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(-)-丁香樹脂酚-4-O- β -D-呋喃芹糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O- β -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside) 精確稱定 1.0 mg, 加 10 mL 的甲醇製成每 1 mL 含(-)-丁香樹脂酚-4-O- β -D-呋喃芹糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O- β -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside) 100 μ g/mL 的標準品儲備溶液, 並以甲醇稀釋至 25 μ g/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 0.5 g, 精確稱定, 置 50 mL 錐形瓶中, 精確加入 75% 甲醇 20 mL, 超音波震盪處理(功率 300 W, 頻率 40 kHz) 30 分鐘, 以 No. 2 濾紙過濾, 殘渣部分重複提取一次, 合併濾液濃縮至少量, 至 20 mL 之定量瓶中, 加 75% 甲醇定容至刻度, 搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μ m), 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 20 μ L 注入 HPLC, 測定, 用標準曲線計算溶液中(-)-丁香樹脂酚-4-O- β -D-呋喃芹糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O- β -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside)的含量, 即得。

(六) 檢量線

精確吸取(-)-丁香樹脂酚-4-O- β -D-呋喃芹糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O- β -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside) 標準品儲備溶液適量(100 μ g/mL), 以甲醇稀釋製成含(-)-丁香樹脂酚-4-O- β -D-呋喃芹糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O- β -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside)分別為 50、25、10、5.0、1.0 的標準品溶液。以上溶液各取 20 μ L 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(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside) 濃度為 25 μg/mL 之對照標準品溶液連續進樣五針，以(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 再現性與穩定性試驗

1. 再現性：取同一批市售合歡皮粉末，依合歡皮檢品溶液製備方法平行製備五份合歡皮檢品溶液，進樣測定，以(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售合歡皮粉末，依合歡皮檢品溶液製備方法製備合歡皮檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside) 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

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(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)含量的合歡皮藥材粉末約 0.2 g，精確稱定五份，分別加入 1 mL 的(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)溶液(50 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：Cosmosil 5C18-AR Column (250 x 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 204 nm
3. 流速：0.8 mL/min
4. 管柱溫度：35 $^{\circ}$ C
5. 注入量：20 μ L
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	18	82
40	18	82

(十二) 臺灣市售合歡皮含量測定

取十批市售合歡皮藥材依檢品溶液製備方法製備檢品溶液，取各 20 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(-)-丁香樹脂酚-4-O- β -D-呋喃芹糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O- β -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside) 的百分含量。

(十三) 合歡皮檢品之 UPLC 層析條件

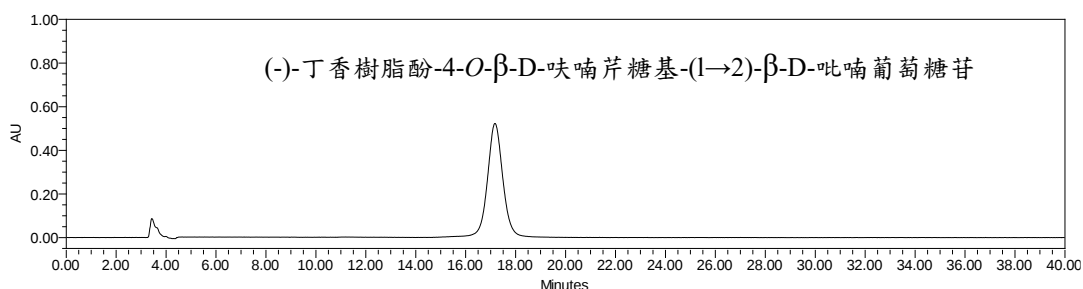
1. 層析管：Waters Acquity UPLC BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μ m)
2. 檢測波長：UV 204 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 $^{\circ}$ C
5. 注入量：1.0 μ L
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	8	92
10	8	92

五、結果

(一) 標準品(-)-丁香樹脂酚-4-*O*- β -D-呋喃芹糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-*O*- β -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside) 之 HPLC 層析

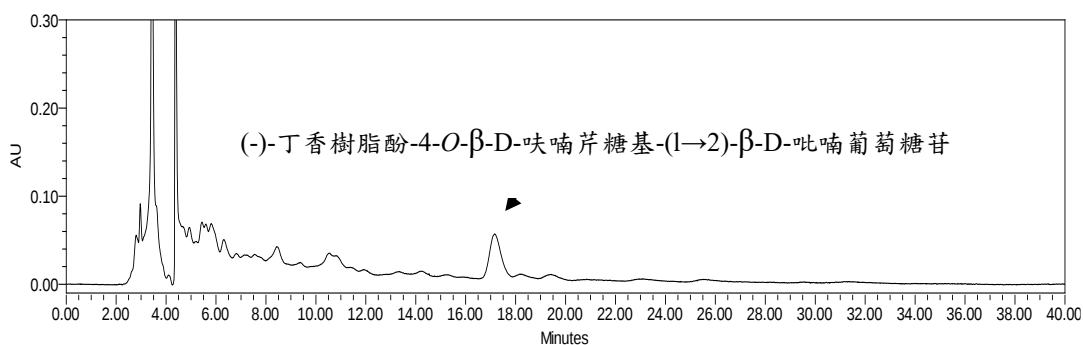
於滯留時間 17.17 分鐘處顯示(-)-丁香樹脂酚-4-*O*- β -D-呋喃芹糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-*O*- β -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside)標準品的波峰(圖一)。



圖一、(-)-丁香樹脂酚-4-*O*- β -D-呋喃芹糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-*O*- β -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside)標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售合歡皮檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 17.18 分鐘顯示合歡皮檢品中(-)-丁香樹脂酚-4-*O*- β -D-呋喃芹糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-*O*- β -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside)的波峰(圖二)。分離率為 $R > 1.59$ ，托尾因子為 $T = 1.12$ ，均在系統適用性要求內。



圖二、市售合歡皮檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒開發

以 75% 甲醇為溶媒時，每克藥材重量所得(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)的波峰面積最大，顯示 75% 甲醇為最佳萃取溶媒。

表一、不同溶媒萃取比較

溶媒	(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)波峰面積	最佳萃取
甲醇	643692	
75% 甲醇	1576094	√
50% 甲醇	1417137	
乙醇	127612	
75% 乙醇	1134524	
50% 乙醇	1482638	

(四) 最佳萃取次數評估

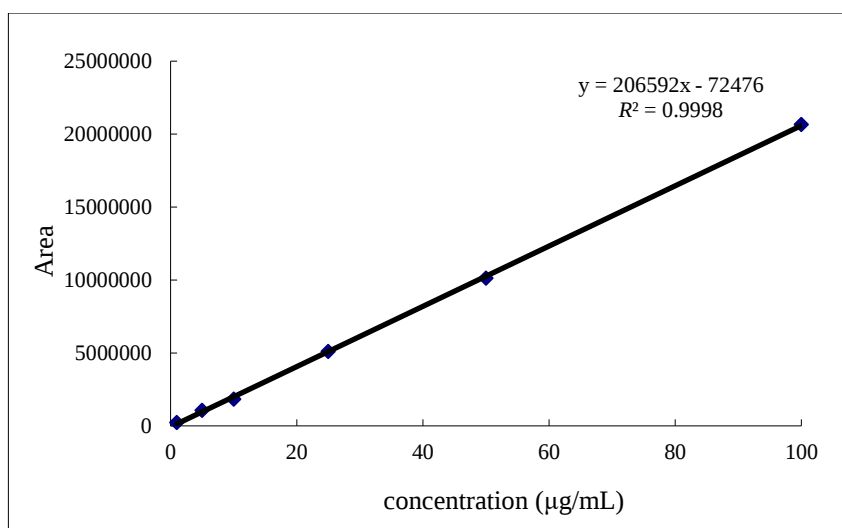
結果顯示萃取兩次基本上已將(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)萃取完全(>98%)

表二、合歡皮檢品萃取次數評估

75% 甲醇萃取次數	(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)波峰面積
第一次	1548201
第二次	184252
第三次	21172
第四次	N.D.

(五) 標準品(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)檢量線

經不同濃度(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside) (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 $y = 206592x - 72476$ ， $R^2 = 0.9998$ ，顯示濃度在 1.0–100 μg/mL 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、(-)-丁香樹脂酚-4-*O*-β-*D*-呋喃芹糖基-(1→2)-β-*D*-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-*O*-β-*D*-apiofuranosyl-(1→2)-β-*D*-glucopyranoside)之檢量線圖

表三、(-)-丁香樹脂酚-4-*O*-β-*D*-呋喃芹糖基-(1→2)-β-*D*-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-*O*-β-*D*-apiofuranosyl-(1→2)-β-*D*-glucopyranoside)之檢量線方程式

對照標準品	濃度(μg/mL)	線性回歸方程式	R^2
(-)-丁香樹脂酚-4- <i>O</i> -β- <i>D</i> -呋喃芹糖基-(1→2)-β- <i>D</i> -吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4- <i>O</i> -β- <i>D</i> -apiofuranosyl-(1→2)-β- <i>D</i> -glucopyranoside)	1.0–100	$y = 206592x - 72476$	0.9998

(六) 再現性與精確度試驗

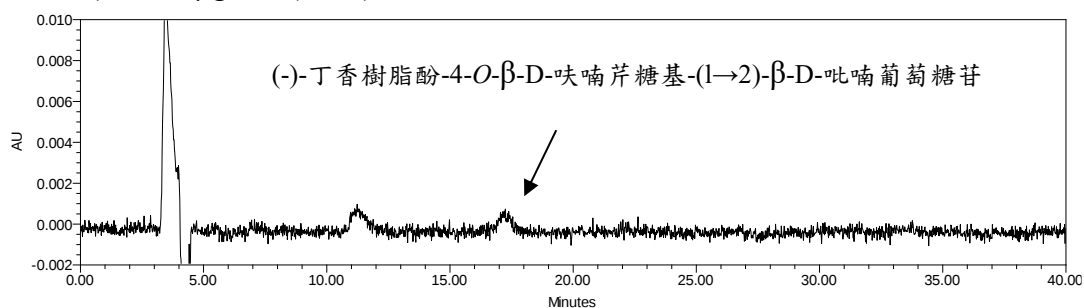
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精確度良好，(-)-丁香樹脂酚-4-*O*-β-*D*-呋喃芹糖基-(1→2)-β-*D*-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-*O*-β-*D*-apiofuranosyl-(1→2)-β-*D*-glucopyranoside)精確度之相對標準差為 1.21%，再現性之相對標準差為 1.64%，均在系統適用性要求內。

(七) 穩定性試驗

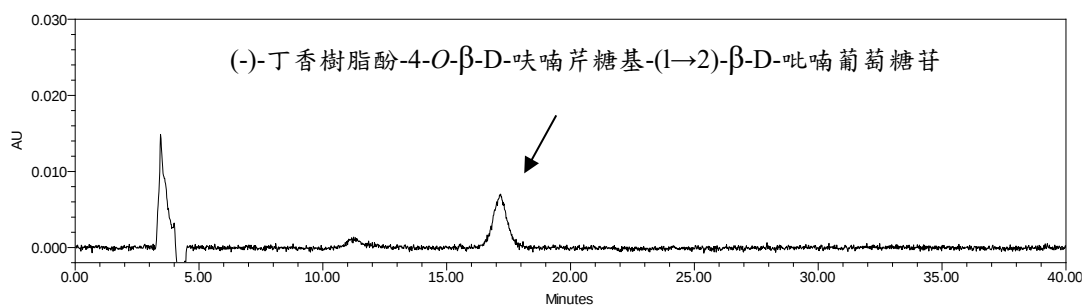
由結果可以得知(-)-丁香樹脂酚-4-*O*-β-*D*-呋喃芹糖基-(1→2)-β-*D*-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-*O*-β-*D*-apiofuranosyl-(1→2)-β-*D*-glucopyranoside)在 24 小時內穩定性，相對標準差為 1.31%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside) 偵測極限(limit of detection, LOD)為 0.2 μg/mL (圖四)，定量極限(limit of quantitation, LOQ)為 1.0 μg/mL (圖五)。



圖四、(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)之 LOD 層析圖



圖五、(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)之 LOQ 層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)	
	濃度	R.S.D. (%)
精確度 (n=5)	25 μg/mL	1.21
再現性 (n=5)	檢品溶液(No.1)	1.64
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.1)	1.31
偵測極限 (n=1)	0.2 μg/mL	-

定量極 限 (n=1)	1.0 µg/mL	-
-------------------	-----------	---

(九) 添加回收率試驗

添加(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside) 平均回收率 98.80%，相對標準偏差 2.31%。

表五、(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)添加回收率

編號	藥材稱重(g) (No. 1)	含有量 (mg)	加入量 (mg)	測得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	R.S.D. (%)
1	0.2108	0.068	0.05	0.118	100.0	98.80	2.31
2	0.2036	0.068	0.05	0.117	98.0		
3	0.2111	0.068	0.05	0.119	102.0		
4	0.2020	0.068	0.05	0.116	96.0		
5	0.2007	0.068	0.05	0.117	98.0		

(十) 台灣市售合歡皮含量測定

10 批合歡皮藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)含量為 0.022–0.044，建議合歡皮藥材指標成分(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)的含量不得少於 0.03%。理論板數按(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷波峰計算應不低於 3000 (實際值為 6500)。

表六、台灣市售合歡皮檢品之(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)含量

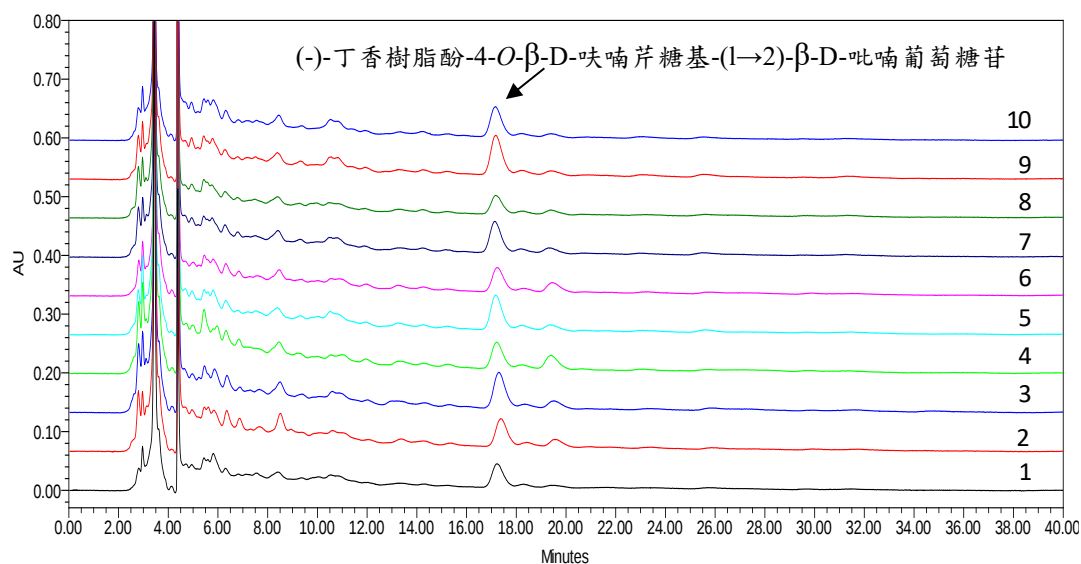
中藥材編號(No.)	(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷含量(%)	中藥材編號(No.)
1 (NF)	0.034	6 (SC)
2 (NJ)	0.044	7 (SE)
3 (NN)	0.022	8 (SG)
4 (NR)	0.035	9 (SJ)
5 (CG)	0.027	10 (SU)

(十一) 市售合歡皮藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取十批市售合歡皮檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：Cosmosil 5C18-AR Column (250 x 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 204 nm
3. 流速：0.8 mL/min
4. 管柱溫度：35 $^{\circ}$ C
5. 注入量：20 μ L
6. 移動相：

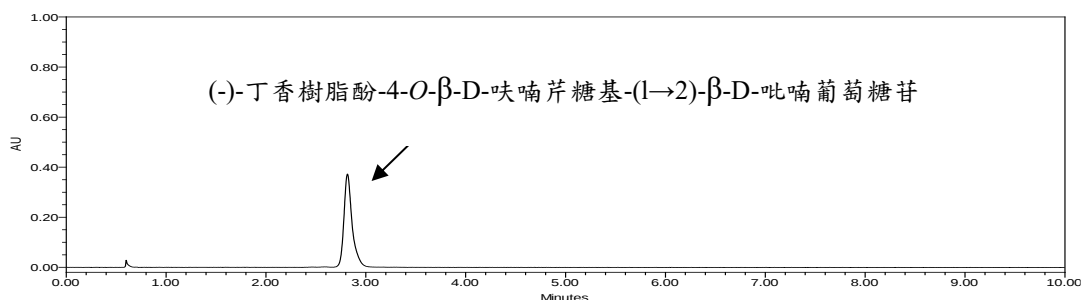
時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	18	82
40	18	82



圖六、10 批合歡皮藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 標準品(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷
((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)之
UPLC 層析

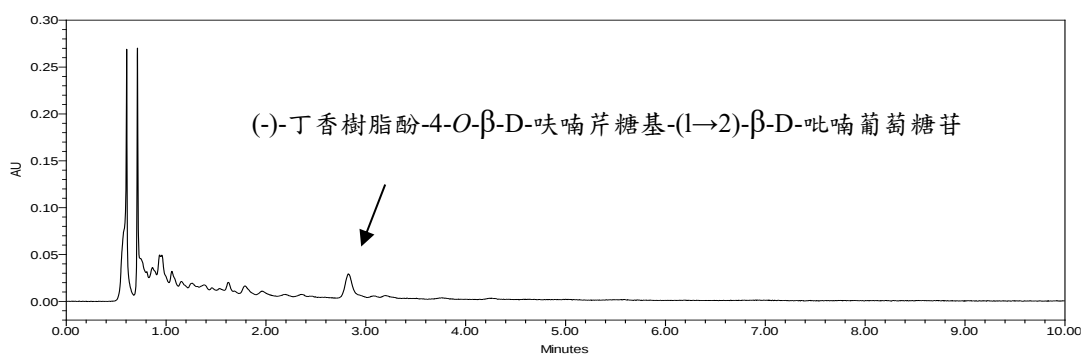
於滯留時間 2.81 分鐘處顯示(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-
(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-
D-glucopyranoside)標準品的波峰(圖七)。



圖七、(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-
Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)標準品溶液之
UPLC 層析圖

(十三) 市售合歡皮檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 2.82 分鐘顯示合歡皮檢品中(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃
芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-
(1→2)-β-D-glucopyranoside)的波峰(圖八)。

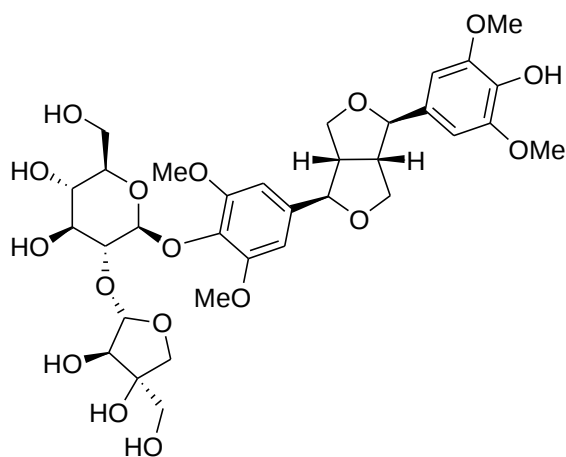


圖八、市售合歡皮檢品之 UPLC 層析圖

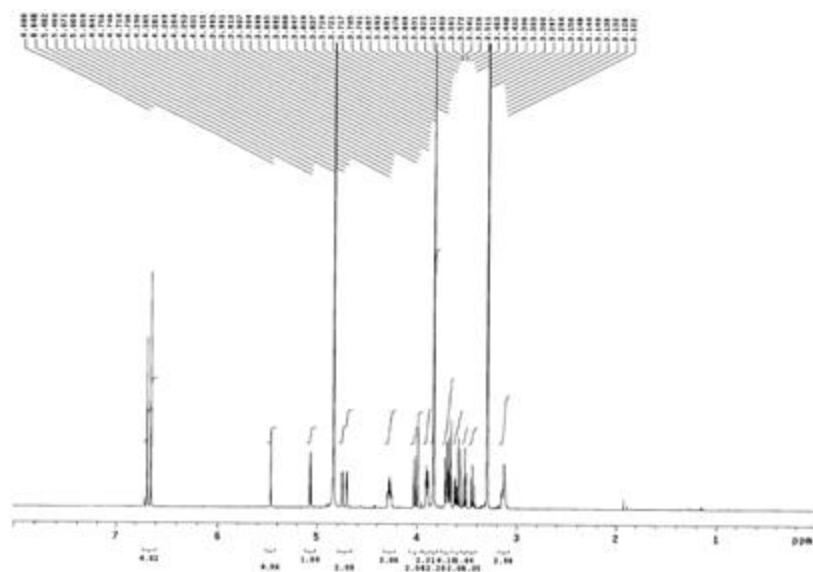
(十四) (-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)的分子式與分子量

分子式：C₃₃H₄₄O₁₇；Mol. Wt.：712.69；mp：118–120 °C；白色固體。

(十五) (-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside) 的 結構

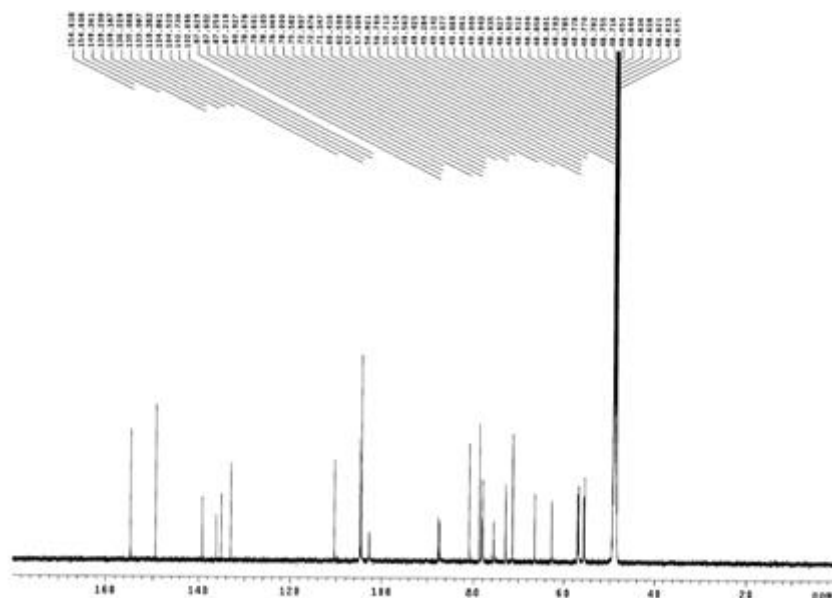


(十六) (-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside) 的 ^1H NMR 圖譜



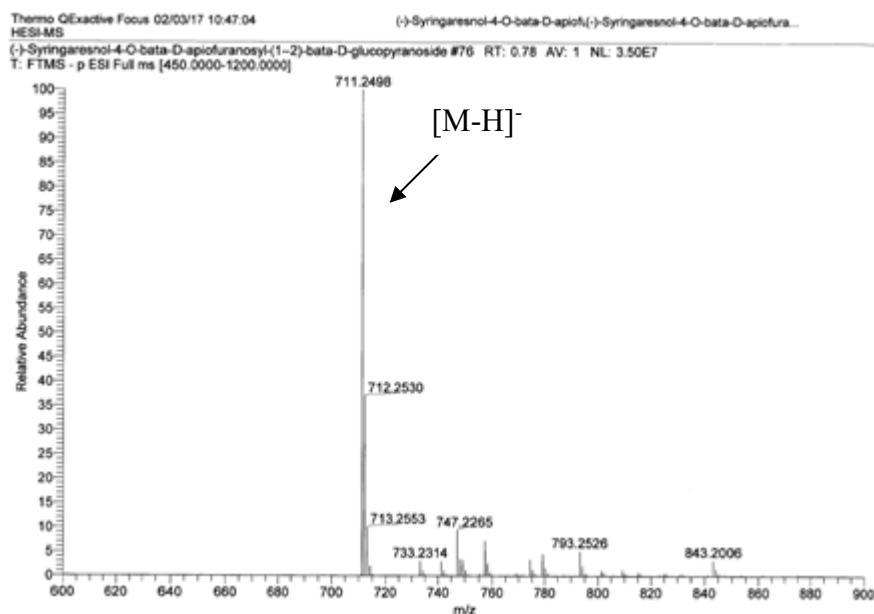
圖九、(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)的 ^1H NMR 圖譜(CD_3OD)

(十七) (-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside) 的 ^{13}C NMR 圖譜



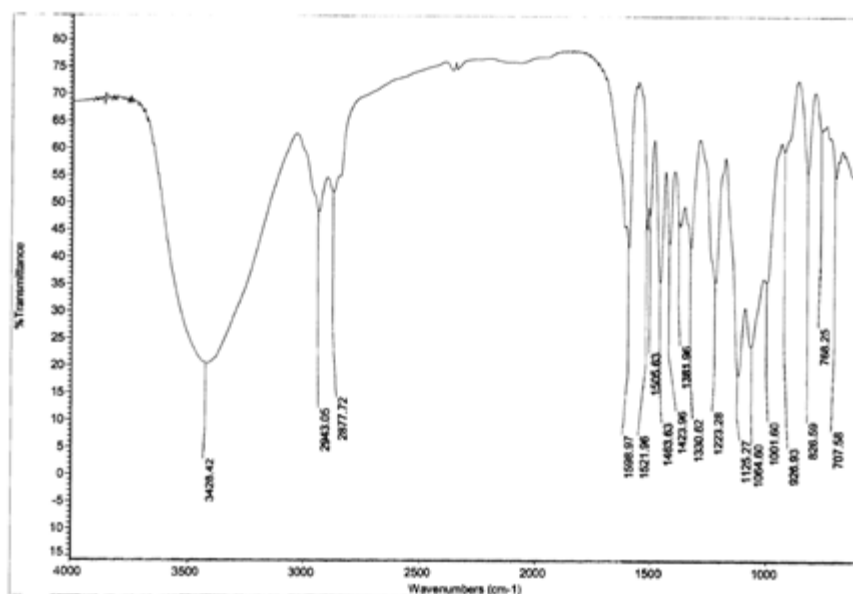
圖十、(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)的 ^{13}C NMR 圖譜(CD_3OD)

(十八) (-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside) 的 ESI-MS 圖譜



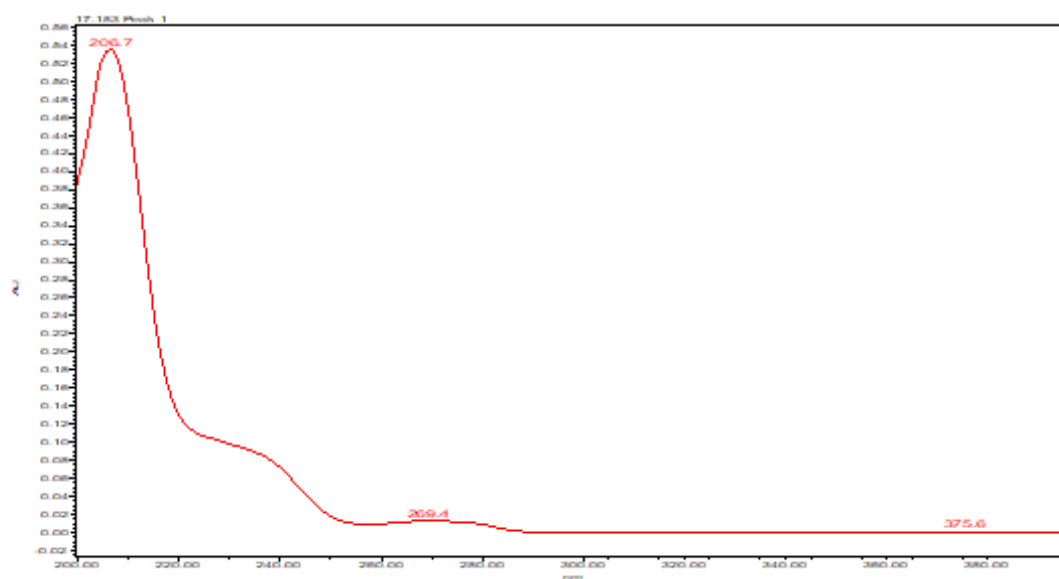
圖十一、(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)的 ESI-MS 圖

(十九) (-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside) 的 FTIR 圖譜



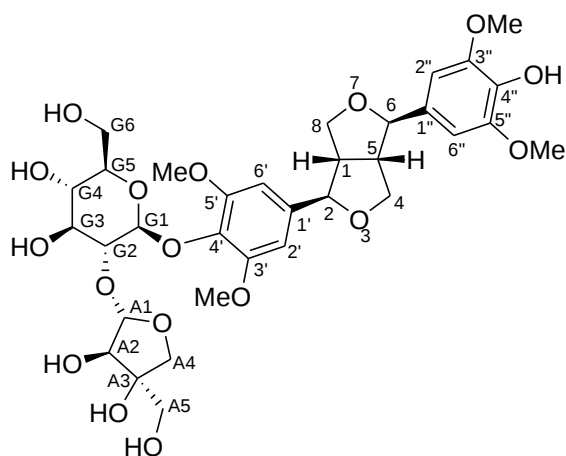
圖十二、(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)的 FTIR 圖譜

(二十) (-)-丁香樹脂酚-4-*O*-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-*O*-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside) 的 UV 圖譜



圖十三、(-)-丁香樹脂酚-4-*O*-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-*O*-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)的 UV 圖譜

(二十一) (-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)的氫、碳化學位移



表七、(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)的氫、碳化學位移(CD₃OD)^a

position	δ _H (600 MHz)	δ _C (150 MHz)
1	3.12–3.16 (m)	55.5*
2	4.75 (d, 4.8)	87.2
4	3.89–3.91 (m), 4.25–4.30 (m)	72.9
5	3.12–3.16 (m)	55.7*
6	4.71 (d, 4.8)	87.6
8	3.89–3.91 (m), 4.25–4.30 (m)	72.9
1'	-	139.2
2' and 6'	6.69 (s)	104.9
3' and 5'	-	154.6
4'	-	135.1
1''	-	133.1
2'' and 6''	6.65 (s)	104.5
3'' and 5''	-	149.4
4''	-	136.2
3'-OMe and 5'-OMe	3.84 (s)	56.8 [#]
3''-OMe and 5''-OMe	3.84 (s)	57.0 [#]
G1	5.07 (d, 7.2)	102.7
G2	3.68–3.72 (m)	78.7 [†]
G3	3.45 (t, 9.0)	71.3

G4	3.53 (t, 9.0)	78.6 [†]
G5	3.12–3.16 (m)	78.1
G6	3.63 (dd, 12.0, 4.8), 3.68–3.72 (m)	62.6
A1	5.46 (d, 1.2)	110.4
A2	3.99 (d, 1.2)	78.0
A3	-	80.9
A4	3.67 (d, 9.6), 4.02 (9.6)	75.6
A5	3.58 (d, 11.4), 3.71 (d, 11.4)	66.4

^a(Multiplicity, *J* in Hz) in ppm. *,#,[†]interchangeable

合歡皮

生藥名：ALBIZIAE CORTEX

英文名：Silktree Albizzia Bark

基 原：豆科 Leguminosae 植物合歡 *Albizia julibrissin* (L.) Durazz. 的乾燥樹皮。

一、方法

- (一) 檢品溶液 **【萃取方法 1】**(臺灣中藥典第二版 2013；中華人民共和國藥典 2015)
——取本品粉末 1.0 g，加 50% 甲醇 10 mL，浸泡 1 小時，超音波處理 30 分鐘，過濾，濾液濃縮至乾，殘渣加水 5 mL 使之溶解，水溶液用正丁醇振搖萃取 2 次，每次 5 mL，棄水層液，合併正丁醇層液，濃縮至乾，殘渣加甲醇 0.5 mL 使之溶解，作為檢品溶液。
【萃取方法 2】(香港中藥材標準第六冊)
——取本品粉末 1.0 g，加 50% 乙醇 10 mL，超音波處理 30 分鐘，過濾，濾液濃縮至乾，殘渣加 50% 乙醇 0.5 mL 使之溶解，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(-)-丁香樹脂酚-4-*O*-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷 ((-)-Syringaresnol-4-*O*-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside) 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】**(修飾臺灣中藥典第二版 2013；修飾中華人民共和國藥典 2015)
——二氯甲烷：甲醇：水 (13：5：2) 混合後，取下層液 10 mL 與 甲酸 0.1 mL 比例混合
【展開劑 2】(香港中藥材標準第六冊) ✓
——二氯甲烷：甲醇：水 (7：3：1) 混合後，取下層液 10 mL 與 甲酸 0.1 mL 比例混合
- (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 °C 加熱至條帶顯色清晰，於可見光下檢視。

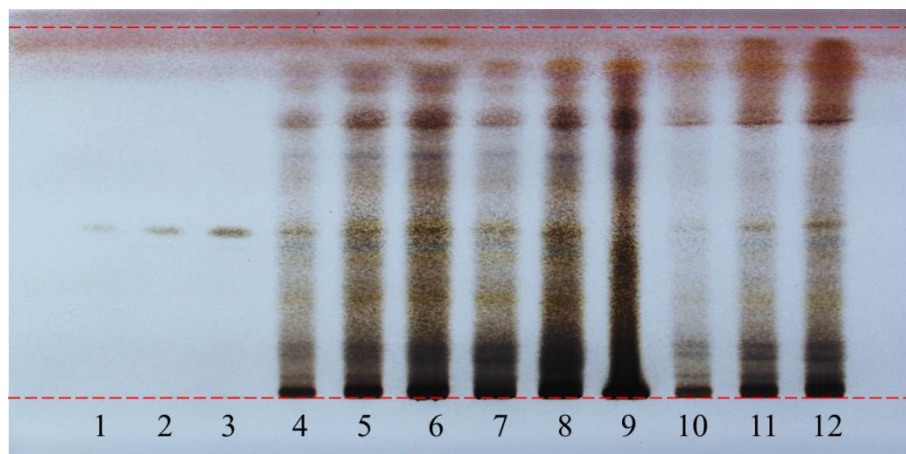
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：106/03/09

相對溼度(RH)：42%

溫度(RT)：23 °C

【展開劑 2】(香港中藥材標準第六冊)——二氯甲烷：甲醇：水 (7：3：1)混合後，取下層液 10 mL 與甲酸 0.1 mL 比例混合



編號	名稱	點注量
1, 2, 3	(-)-丁香樹脂酚-4- <i>O</i> -β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷 ((-)-Syringaresnol-4- <i>O</i> -β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside) (0.2 mg/mL)	1, 2, 5 μL
4, 5, 6	檢品溶液 10 【萃取方法 1】	2, 5, 8 μL
7, 8, 9	檢品溶液 10 【萃取方法 2】	2, 5, 8 μL
10, 11, 12	檢品溶液 10 【萃取方法 3】	2, 5, 8 μL

建議萃法：3 種萃法之檢品溶液中皆有檢出(-)-丁香樹脂酚-4-*O*-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷，而由於製備方法較簡便且快速，故選擇【萃取方法 3】。

建議點注量：(-)-丁香樹脂酚-4-*O*-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-*O*-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)標準品溶液 2 μL，檢品溶液【萃取方法 3】5 μL。

三、溶媒系統選擇

實驗日期：106/03/10

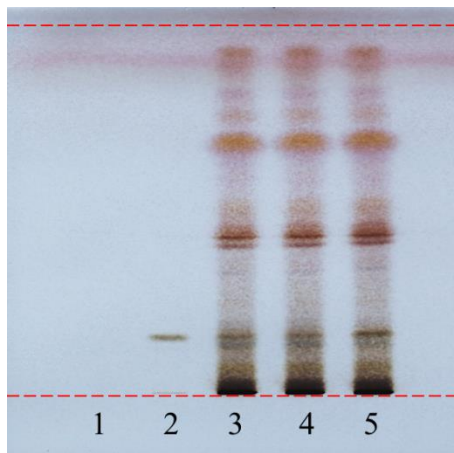
相對溼度(RH)：53%

溫度(RT)：23 °C

【展開劑 1】(修飾臺灣中藥典第二版 2013；修飾中華人民共和國藥典 2015)

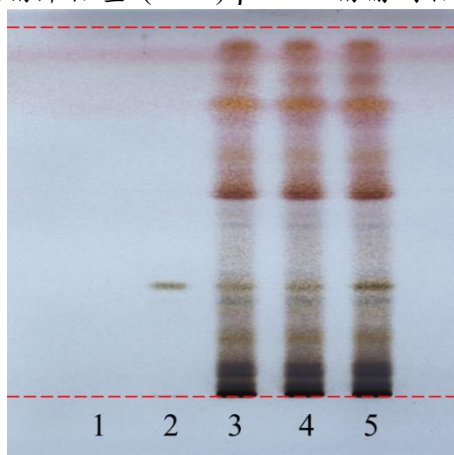
——二氯甲烷：甲醇：水 (13：5：2)混合後，取下層液 10 mL 與甲酸 0.1 mL 比例混合

【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC 10%硫酸乙醇呈色後可見光檢出 ((-)-丁香樹脂酚-4-*O*-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷 R_f 值為 0.15； R_f 值 < 0.2)



【展開劑 2】(香港中藥材標準第六冊)——二氯甲烷：甲醇：水 (7：3：1)混合後，取下層液 10 mL 與甲酸 0.1 mL 比例混合

【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC 10%硫酸乙醇呈色後可見光檢出 ((-)-丁香樹脂酚-4-*O*-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷 R_f 值為 0.29)



1：Blank

2：((-)-丁香樹脂酚-4-*O*-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-*O*-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)

3，4：檢品溶液 10

5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 3】方式，2 種展開劑展開皆可從檢品溶液中分離與檢出((-)-丁香樹脂酚-4-*O*-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷，而由於指標成分 R_f 值較趨近於中間，故採用香港中藥材標準第六冊之【展開劑 2】。

四、觀察方式選擇

實驗日期：106/03/10

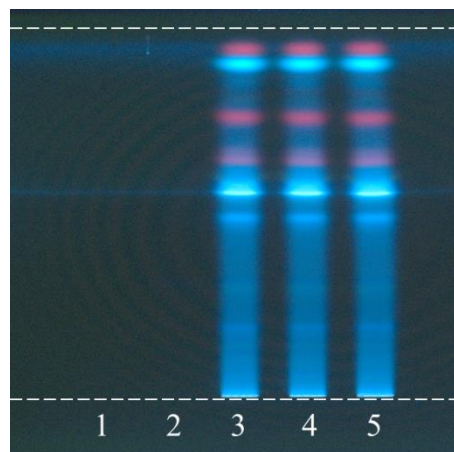
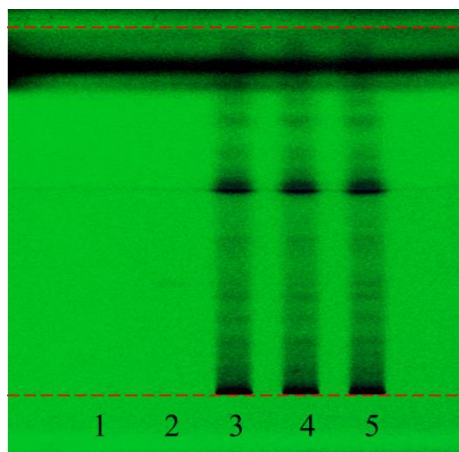
相對溼度(RH)：53%

溫度(RT)：23 °C

【展開劑 2】(香港中藥材標準第六冊)——二氯甲烷：甲醇：水 (7：3：1)混合後，取下層液 10 mL 與甲酸 0.1 mL 比例混合

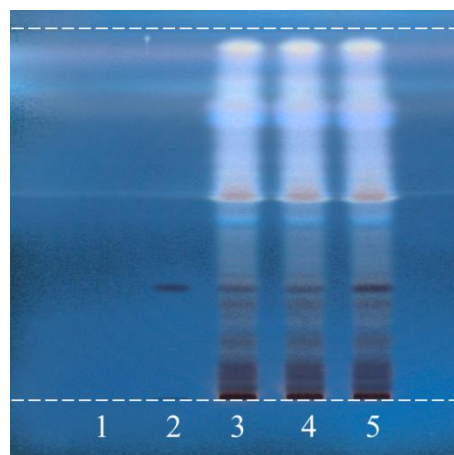
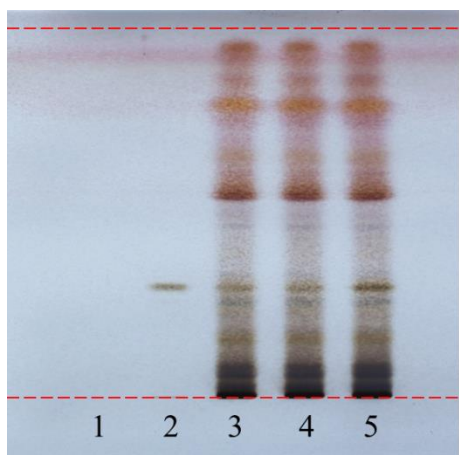
【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 紫外光(254 nm)檢出

【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 呈色/可見光檢出✓

【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 呈色/紫外光(365 nm)檢出



1：Blank

2：(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)

3，4：檢品溶液 10

5：Spike

建議觀察方式：經 10%硫酸乙醇呈色後，於可見光下檢視較其他觀察方式有較多明顯之條帶及(-)-丁香樹脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)標準品斑點。

五、十批樣品檢測

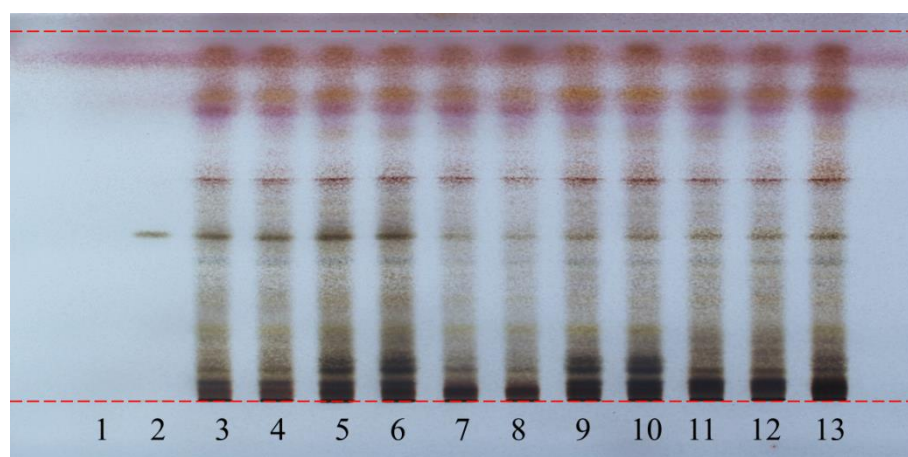
實驗日期：106/03/13

相對溼度(RH)：64%

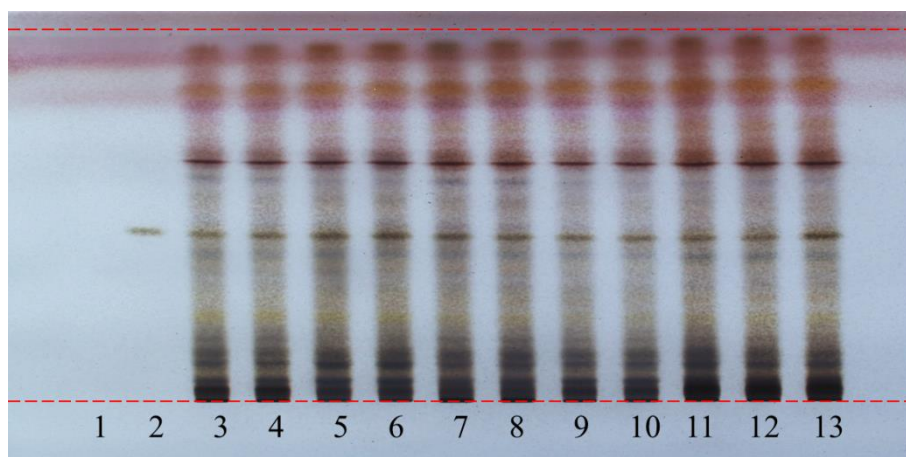
溫度(RT)：21 °C

【展開劑 2】(香港中藥材標準第六冊)——二氯甲烷：甲醇：水 (7：3：1)混合後，取下層液 10 mL 與甲酸 0.1 mL 比例混合

【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 10%硫酸乙醇呈色後可見光檢出



1	Blank
2	(-)-丁香樹脂酚-4- <i>O</i> -β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4- <i>O</i> -β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside) (0.2 mg/mL)
3, 4	檢品溶液 1 (NF)
5, 6	檢品溶液 2 (NJ)
7, 8	檢品溶液 3 (NN)
9, 10	檢品溶液 4 (NR)
11, 12	檢品溶液 5 (CG-1)
13	Spike (檢品溶液 10)



1	Blank
2	(-)-丁香樹脂酚-4- <i>O</i> -β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4- <i>O</i> -β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside) (0.2 mg/mL)
3, 4	檢品溶液 6 (SC)
5, 6	檢品溶液 7 (SE)
7, 8	檢品溶液 8 (SG)
9, 10	檢品溶液 9 (SJ)
11, 12	檢品溶液 10 (SU)
13	Spike (檢品溶液 10)

結論與建議：以自行開發之【萃取方法 3】方式，並以香港中藥材標準第六冊之【展開劑 2】分離與檢出(-)-丁香樹脂酚-4-*O*-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷((-)-Syringaresnol-4-*O*-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)較佳，以 10%硫酸乙醇顯色後，於可見光下檢視較佳。