

地骨皮

(LYCH RADICIS CORTEX)

地骨皮 MI	3
一、藥材採購及鑑定	3
二、藥材性狀描述（圖1）	3
三、藥材組織顯微鑑別（圖2）	3
四、藥材粉末顯微鑑別（圖3）	3
地骨皮 HPLC（藥材）	8
一、材料	8
二、儀器及層析管柱	8
三、實驗藥品及試劑來源	8
四、方法	8
五、結果	11
地骨皮 TLC（藥材）	21
一、方法	21
二、萃法選擇及濃度測試	23
三、溶媒系統選擇	25
四、觀察方式選擇	29
五、十批地骨皮藥材樣品檢測	31

地骨皮（目錄續）

地骨皮 HPLC （飲片）	33
一、材料	33
二、儀器及層析管柱	33
三、實驗藥品及試劑來源	33
四、方法	33
五、結果	36
 地骨皮 TLC （飲片）	 40
一、方法	40
二、萃法選擇及濃度測試	42
三、溶媒系統選擇	44
四、觀察方式選擇	48
五、十批地骨皮飲片樣品檢測	50

地骨皮

(LYCII RADICIS 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寧夏枸杞之乾燥根皮。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：地骨皮

生藥名：LYCII RADICIS CORTEX

英文名：Wolfberry Rootbark

基原：本品為茄科 Solanaceae 植物寧夏枸杞 *Lycium barbarum* L. 之乾燥根皮。

採收加工：於春、秋季採挖根部，洗淨，剝取根皮，乾燥後即得。

藥材性狀：本品呈筒狀、槽狀或為不規則捲片，直徑 0.5~2.0 cm，厚 1~3 mm。

外表面土黃色或灰黃色，外皮較粗糙，有不規則縱裂紋，易成鱗片狀剝落；內表面黃白色或灰黃色，有細縱紋。質輕脆，易折斷，折斷面不平坦，斷面分內外 2 層，外層（栓皮層）較厚，土黃色；內層灰白色。氣微，味微甜而後苦。

生長分佈：落葉灌木。喜陽光充足環境，耐旱、耐鹽鹼、耐寒，忌積水，適應性強，均溫 5~20 °C 地區均可栽培。以排水良好、深厚、肥沃的砂質壤土為宜。花期 5~10 月，果期 6~11 月。藥材主產於中國山西、寧夏、甘肅、青海、新疆、河北、山東、河南等地。

三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2)

1. 栓皮層厚，有 2~3 條木栓組織帶，最內的木栓層為完整的環帶，外面的落皮層則交錯連接。
2. 皮層窄，細胞長圓形，有裂隙。
3. 韌皮部約佔根皮厚度之半，髓線寬 1~2 列細胞。
4. 薄壁細胞含澱粉粒，有的含草酸鈣砂晶。
5. 纖維單個散在或少數成束。

四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3)

1. 本品粉末米黃色。
2. 草酸鈣砂晶隨處散在，有的薄壁細胞充滿砂晶，形成砂晶囊。偏光顯

微鏡下成藍色或亮白色。

3. 纖維常與髓線細胞連接。梭形或紡錘形，直徑 $17\sim48\text{ }\mu\text{m}$ ，壁厚 $3\sim11\text{ }\mu\text{m}$ ，木質化或微木質化，具稀疏斜紋孔，有的胞腔內含黃棕色物。
4. 澱粉粒單粒類圓形或橢圓形，直徑 $5\sim22\text{ }\mu\text{m}$ ；複粒由 $2\sim8$ 分粒組成。偏光顯微鏡下呈黑十字。
5. 木栓細胞棕色或淡棕色，細胞呈多角形。

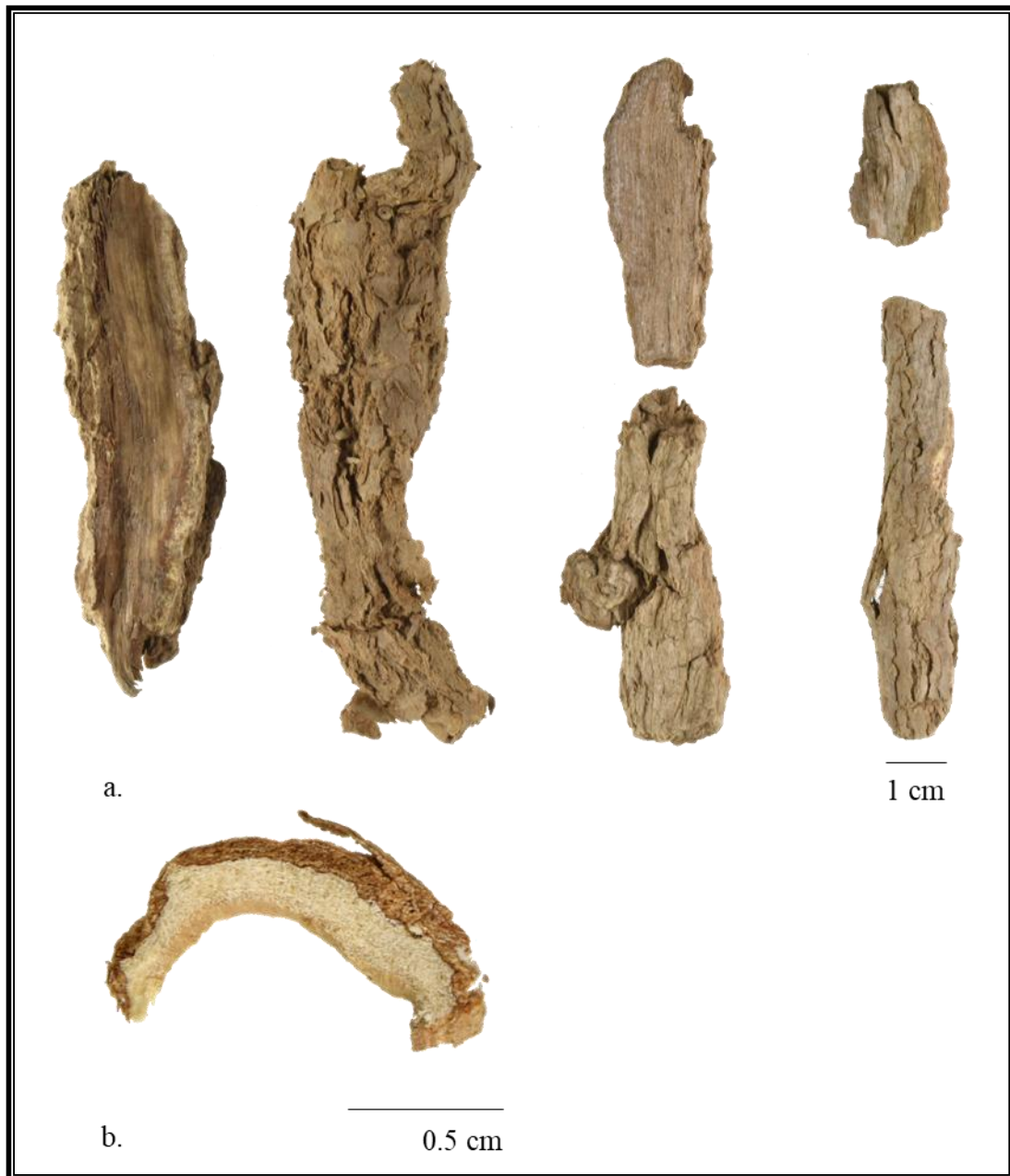


圖 1 地骨皮藥材圖

a.藥材圖 b.藥材橫切面圖

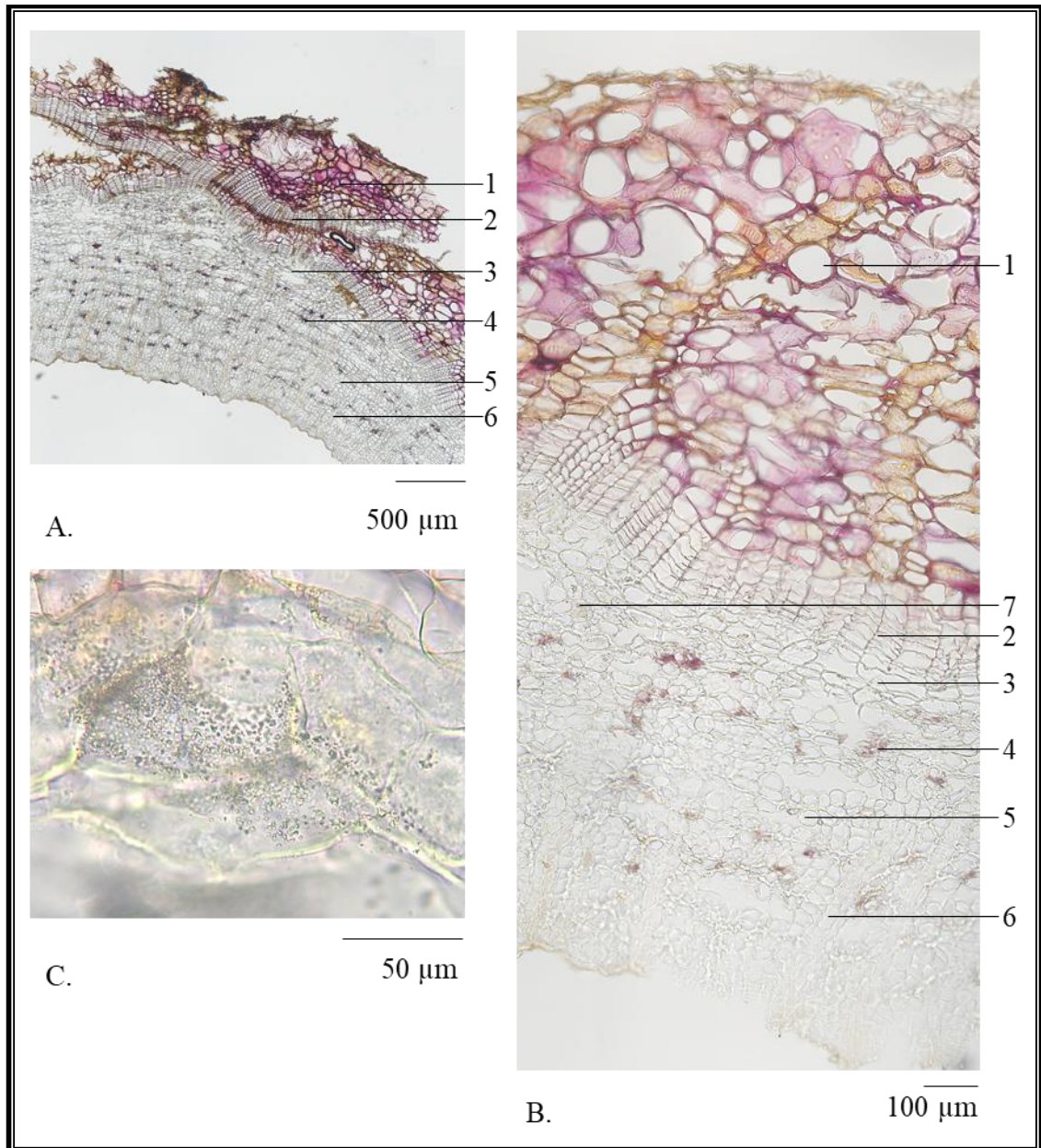


圖 2 地骨皮橫切面顯微特徵圖

A.橫切面圖 B.橫切面放大圖 C.草酸鈣砂晶

1.落皮層 2.木栓層 3.皮層 4.纖維 5.韌皮部 6.髓線 7.草酸鈣砂晶

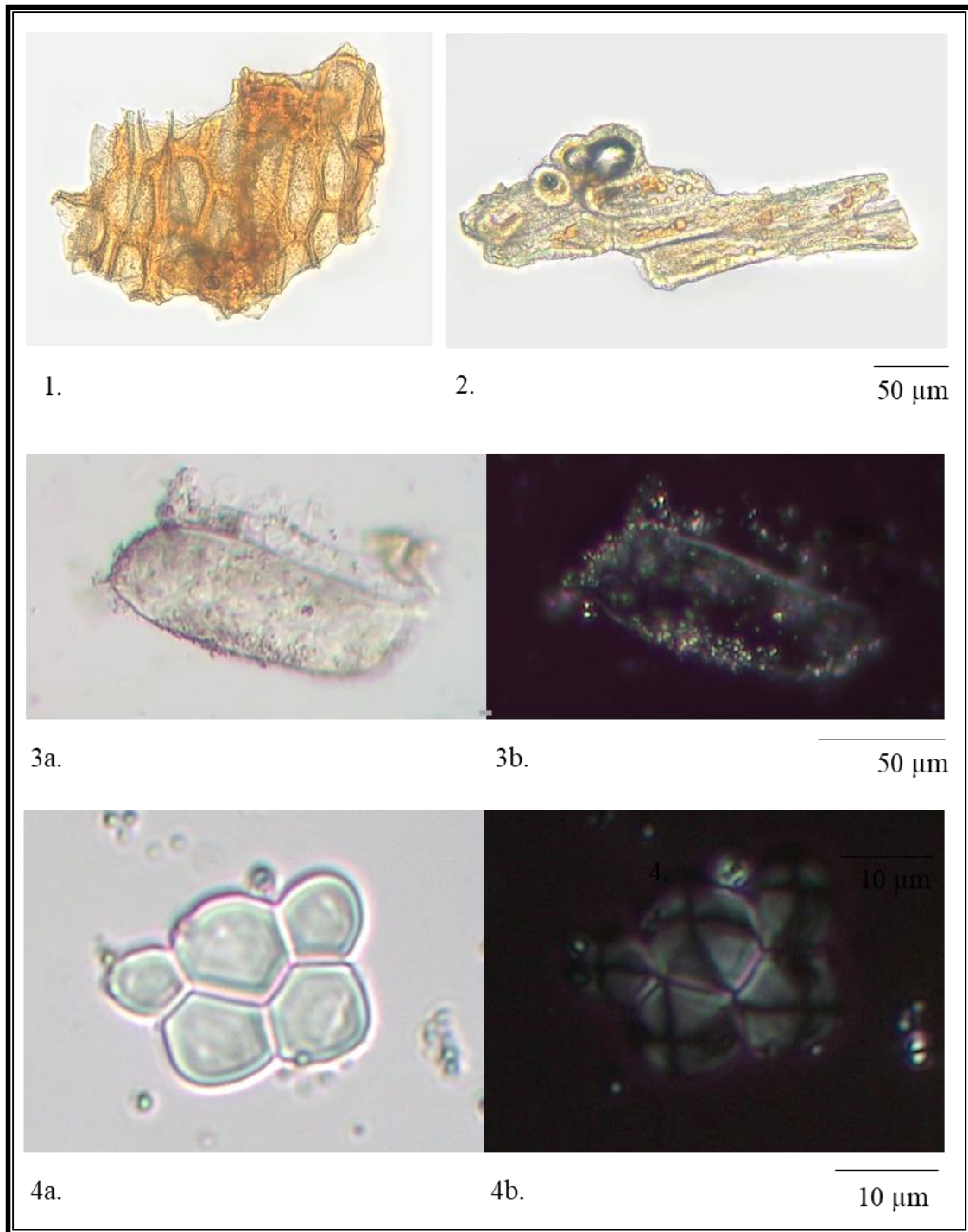


圖 3 地骨皮粉末顯微特徵圖

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. 薄壁細胞內含草酸鈣砂晶 4. 澱粉粒複粒

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。122~123 頁。
2. 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(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。523~533 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。567~574 頁。
4. 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。238~239 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。228 頁。
6. 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。128~129 頁。
7. 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。173 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。288~289 頁。
9. 黃璐琦(總主編)(2020)。新編中國藥材學第二卷。中國醫藥科技出版社。106~110 頁。
10. 張繼(主編)(2021)。中國中藥材及飲片真偽鑑別圖典第三冊。廣東科技出版社。314~316 頁。
11. 王滿恩、趙昌(主編)(2019)。飲片驗收經驗。山西科學技術出版社。213~214 頁。
12. 中國藥品生物製品檢定所、廣東省藥品檢驗所(1997)。中國中藥材真偽鑑別圖典 3。廣東科技出版社。199 頁。
13. 徐國鈞、徐珞珊(主編)(1999)。常用中草藥品種整理和質量研究第三冊。福建科學技術出版社。656~672 頁。

地骨皮(LYCH RADICIS CORTEX)

一、材料

購置於臺灣各地中藥店地骨皮藥材共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Waters e2695 Separation Module，包含 Waters 2998、Photodiode Array Detector；層析管柱 Agilent ZORBAX SB-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)購置於永定科技有限公司；三氟乙酸購置於 Merck。

(二) 對照標準品

地骨皮乙素(Kukoamine B)購置於普思生物科技有限公司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

取本品粉末 7 份，每份準確稱取約 0.2 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、甲醇-0.5%乙酸溶液(1:1)的混合液各 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 4000 × 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, PTFE 0.45 μm)，即得。每針 10 μL 注入 HPLC，以所測得每克重量之地骨皮乙素最大波峰面積為最佳地骨皮藥材萃取溶媒。

(二) 最佳萃取條件評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網) 2 份，每份準確稱取 0.2 g，1 份置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇-0.5%乙酸溶液(1:1)的混合液 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 4000 × g)；另取 1 份置 100 mL 圓底瓶中，準確加入甲醇-0.5%乙酸溶液(1:1)的混合液 25 mL，加熱迴流 30 分鐘，以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 25 mL 之容量瓶中，加甲醇-0.5%乙酸溶液(1:1)的混合液至刻度，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地骨皮乙素最大波峰面積為最佳地骨皮藥材萃取條件。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取對照標準品地骨皮乙素 4.0 mg，加 10 mL 的甲醇-0.5%乙酸溶液(1:1)的混合液製成每 1 mL 含地骨皮乙素 400 μg 的對照標準品儲備溶液，並以甲醇-0.5%乙酸溶液(1:1)的混合液稀釋至 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 0.2 g，置 100 mL 圓底瓶中，準確加入甲醇-0.5%乙酸溶液(1:1)的混合液 25 mL，加熱迴流 30 分鐘，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, PTFE 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地骨皮乙素的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取地骨皮乙素對照標準品儲備溶液適量(400 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，以甲醇稀釋成含地骨皮乙素分別為 200、100、40、20、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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

以地骨皮乙素為 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以地骨皮乙素的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售地骨皮藥材粉末，依地骨皮藥材檢品溶液製備方法平行製備 5 份地骨皮藥材檢品溶液，進樣測定，以地骨皮乙素的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售地骨皮藥材粉末，依地骨皮藥材檢品溶液製備方法製備地骨皮藥材檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，以地骨皮乙素的含量為指標，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

取已知地骨皮乙素含量的地骨皮藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.1 g，分別加入 2.0 mg 的地骨皮乙素，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 SB-C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 280 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%三氟乙酸(v/v, %)
0	22	78
30	22	78

(十二) 臺灣市售地骨皮藥材含量測定

取 10 批市售地骨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 3 針注入 HPLC，所得平均波峰面積依附錄 I 公式計算樣品地骨皮乙素的百分比含量。

(十三) 地骨皮檢品之 UPLC 分析條件

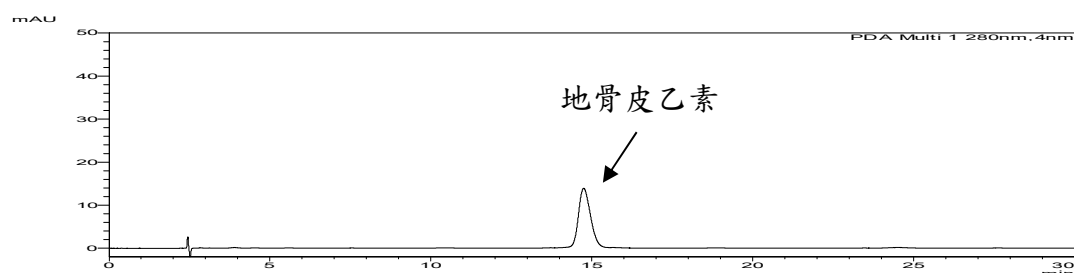
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μ m)
2. 檢測波長：UV 280 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μ L
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	0.1%三氟乙酸(v/v, %)
0	22	78
8	22	78

五、結果

(一) 對照標準品地骨皮乙素之 HPLC 層析

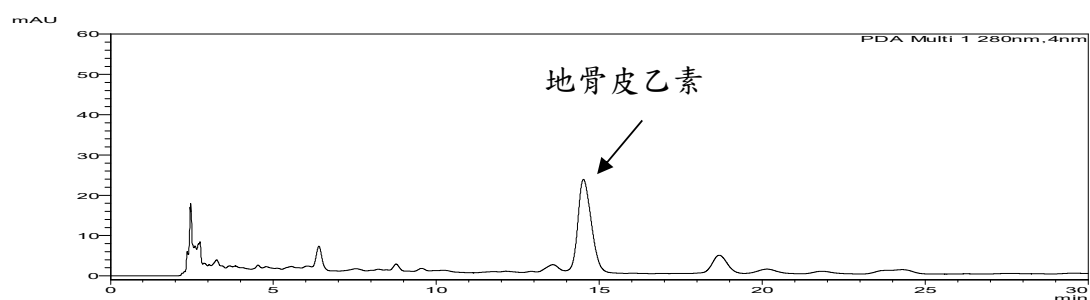
於滯留時間 14.7 分鐘處顯示地骨皮乙素對照標準品波峰(圖一)。



圖一、地骨皮乙素對照標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售地骨皮藥材檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 14.5 分鐘處顯示地骨皮藥材檢品中地骨皮乙素波峰(圖二)。地骨皮乙素分離率(R)為 2.62，拖尾因子(T)為 1.17，均在系統適用性要求內。



圖二、市售地骨皮藥材檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒評估

以甲醇-0.5%乙酸溶液(1:1)的混合液為溶媒時，每克藥材重量所得地骨皮乙素的波峰面積最大，顯示甲醇-0.5%乙酸溶液(1:1)的混合液為最佳萃取溶媒。

表一、不同萃取溶媒評估

溶媒	地骨皮乙素波峰面積	最佳萃取
甲醇	537717	
75% 甲醇	581043	
50% 甲醇	667497	
乙醇	136278	
75% 乙醇	433510	
50% 乙醇	189360	
甲醇-0.5%乙酸溶液(1:1)的混合液	2053827	√

(四) 最佳萃取條件評估

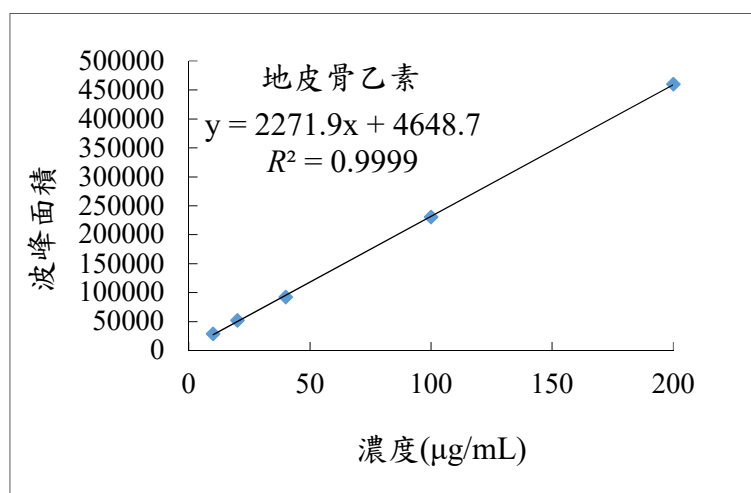
以加熱迴流 30 分鐘時，每克藥材重量所得地骨皮乙素的波峰面積最大，顯示加熱迴流 30 分鐘為最佳萃取條件。

表二、地骨皮藥材檢品萃取條件評估

條件	地骨皮乙素波峰面積	最佳萃取
超音波振盪 30 分鐘	2173766	
加熱迴流 30 分鐘	3434390	√

(五) 對照標準品地骨皮乙素檢量線

經不同濃度地骨皮乙素(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 $y = 2271.9x + 4648.7$ ， $R^2 = 0.9999$ ，顯示濃度在 10–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、地骨皮乙素之檢量線圖

表三、地骨皮乙素之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
地骨皮乙素	10–200	$y = 2271.9x + 4648.7$	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，地骨皮乙素精密度之相對標準差為 0.06%，在系統適用性要求內。

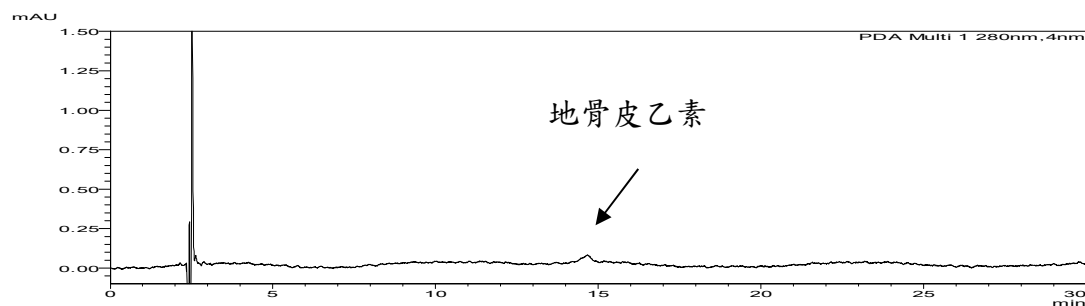
(七) 重複性與穩定性試驗

實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，地骨皮乙素重複性之相對標準差為 0.85%，在系統適用性要求內。地骨皮乙素在 24 小時內

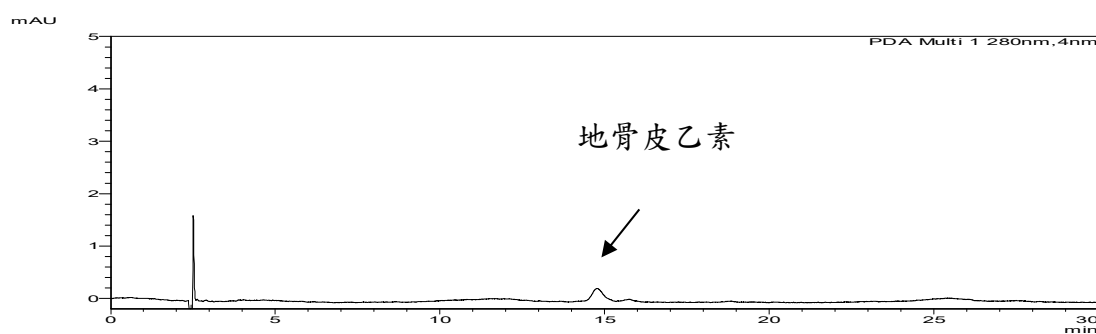
穩定，穩定性相對標準差為 0.15%，變化差異小，若所有樣品分析都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

地骨皮乙素偵測極限為 0.5 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 3.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、地骨皮乙素之偵測極限層析圖



圖五、地骨皮乙素之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	地骨皮乙素	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	20 $\mu\text{g/mL}$	0.06
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.5)	0.85
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.5)	0.15
偵測極限 (n=1)	0.5 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=1)	3.0 $\mu\text{g/mL}$	-

(九) 添加回收率試驗

地骨皮乙素平均添加回收率為 94.6%，相對標準偏差為 1.21% (表五)。

表五、地骨皮乙素添加回收率

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	0.1006	2.4607	2.0	4.3693	95.43	94.6	1.21
2	0.1002	2.4509	2.0	4.3165	93.28		
3	0.1004	2.4558	2.0	4.3442	94.42		
4	0.1009	2.4680	2.0	4.3895	96.08		
5	0.1002	2.4509	2.0	4.3275	93.83		

(十) 臺灣市售地骨皮藥材含量測定

10 批地骨皮藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，地骨皮乙素的含量為 0.751–6.017%。建議地骨皮藥材指標成分地骨皮乙素的含量不得少於 1.0%。理論板數按地骨皮乙素波峰計算應不低於 3000 (實際值為 5977)。

表六、臺灣市售地骨皮藥材檢品之地骨皮乙素的含量

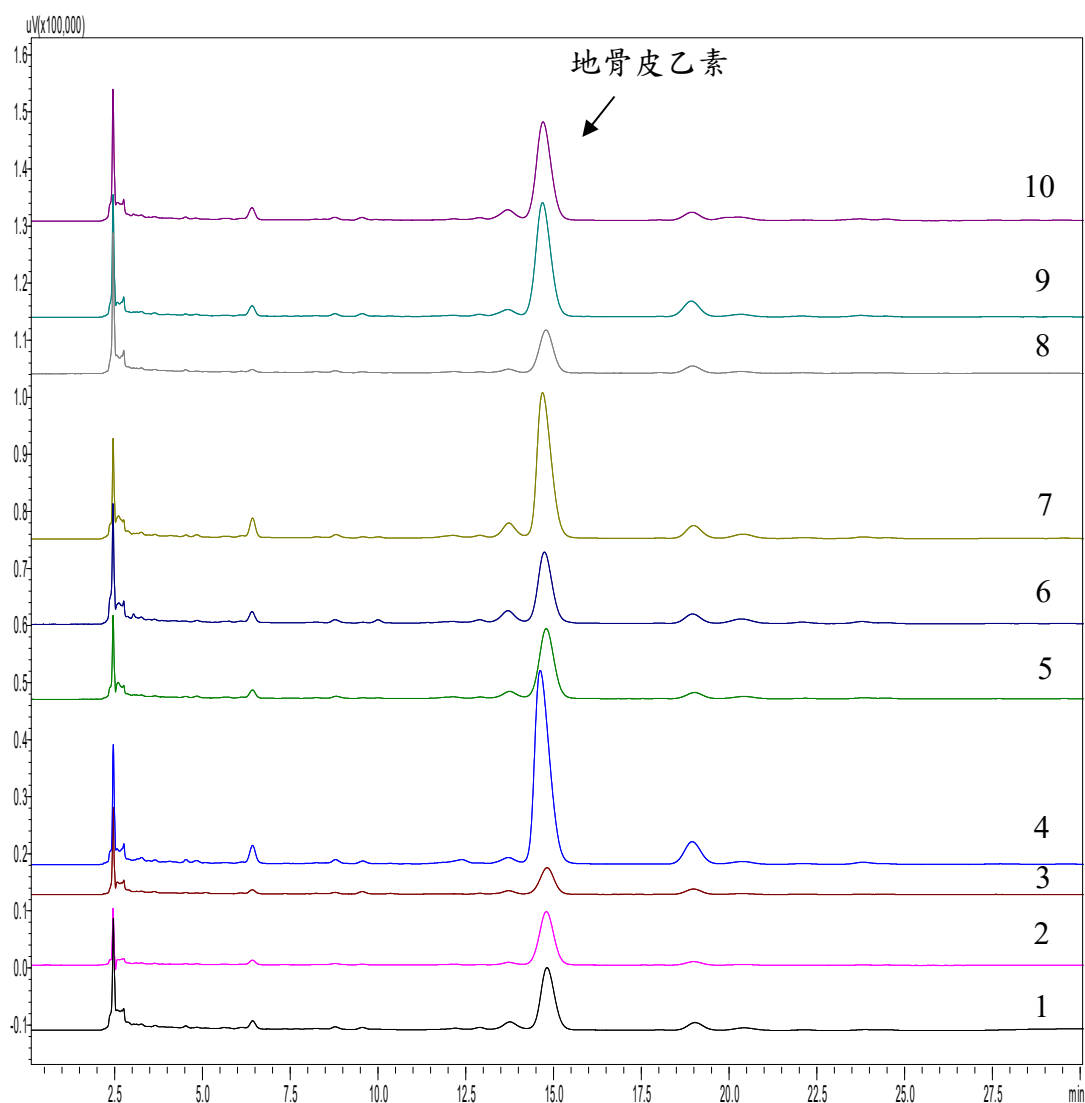
藥材編號 (No.)	地骨皮乙素含量 (%)	藥材編號 (No.)	地骨皮乙素含量 (%)
1 (NC)	1.789	6 (SK1)	2.099
2 (NO)	1.625	7 (SK2)	4.256
3 (NRB)	0.751	8 (SUA)	1.243
4 (CA2)	6.017	9 (SUB2)	3.551
5 (CE)	2.162	10 (SUC2)	3.031
平均值±S.D.	2.652±1.591		

(十一) 地骨皮藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售地骨皮藥材檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：Agilent ZORBAX SB-C18 Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 280 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：

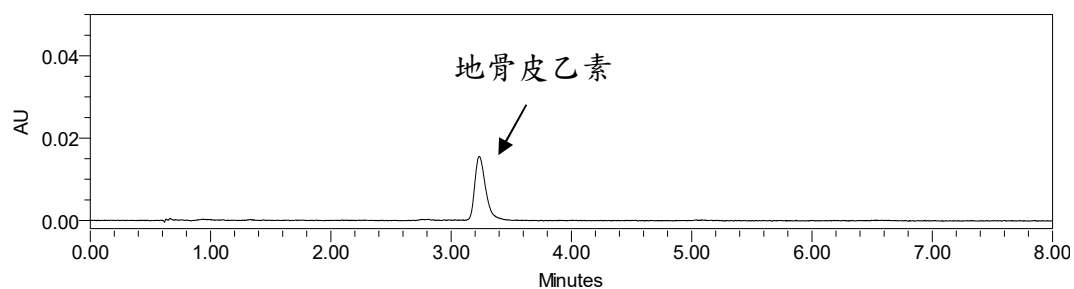
時間(min)	甲醇(%)	0.1%三氟乙酸(v/v, %)
0	22	78
30	22	78



圖六、10 批地骨皮藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 對照標準品地骨皮乙素之 UPLC 層析

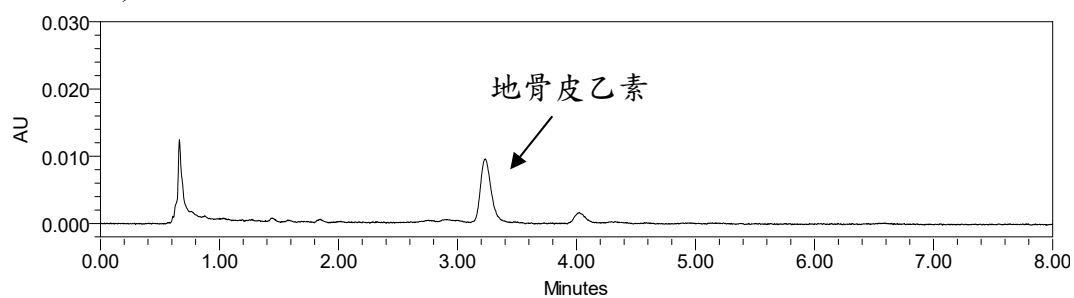
於滯留時間 3.23 分鐘處顯示地骨皮乙素對照標準品波峰(圖七)。



圖七、地骨皮乙素對照標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售地骨皮藥材檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 3.23 分鐘處顯示地骨皮藥材檢品中地骨皮乙素波峰(圖八)。

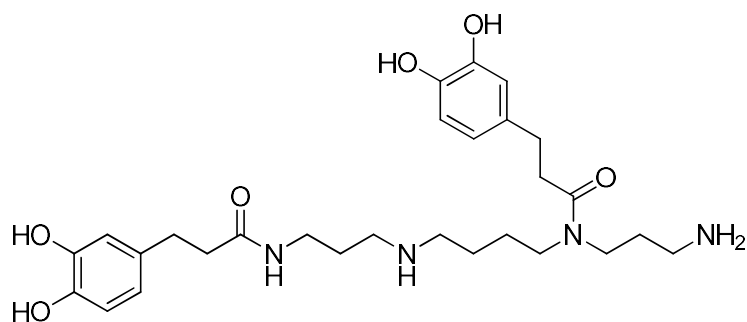


圖八、市售地骨皮藥材檢品之 UPLC 層析圖

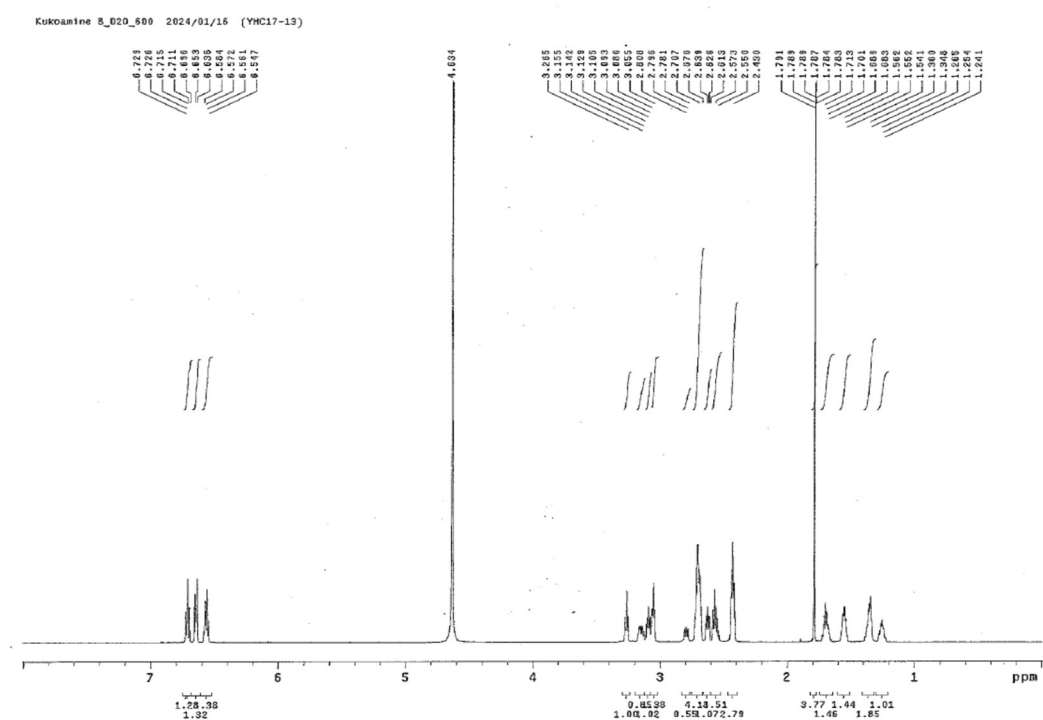
(十四) 地骨皮乙素的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{28}H_{42}N_4O_6$ ；分子量：530.6；熔點： $59^{\circ}C$ ；白色粉末。

(十五) 地骨皮乙素的結構

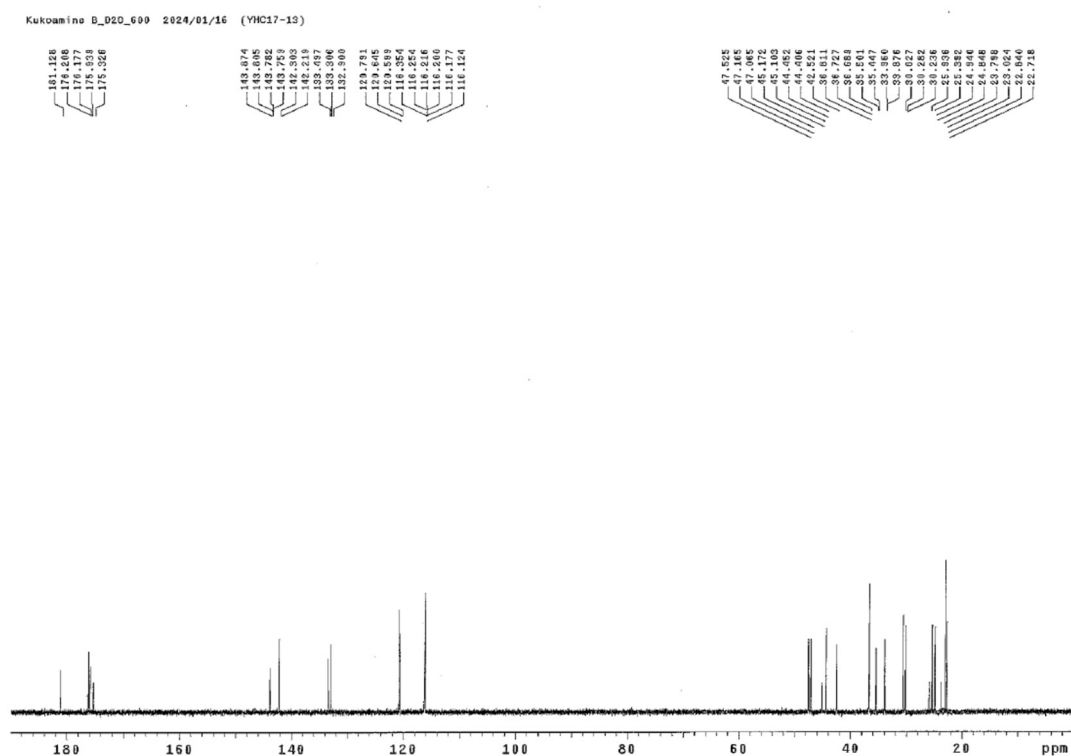


(十六) 地骨皮乙素的 ^1H NMR 圖譜



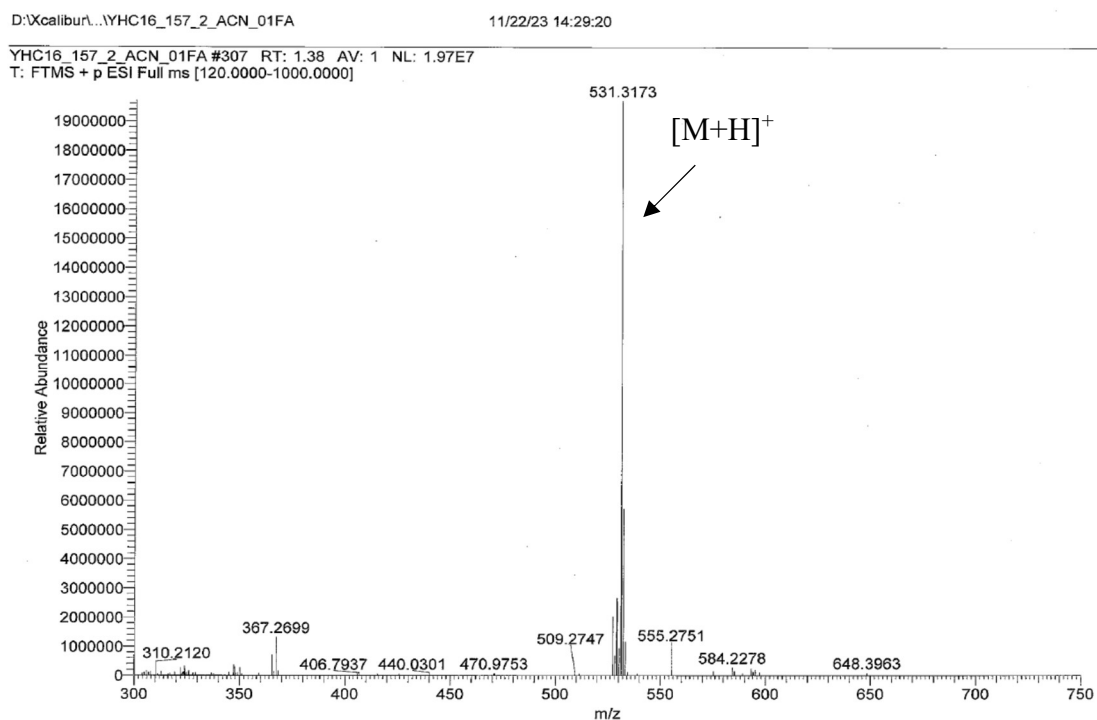
圖九、地骨皮乙素的 ^1H NMR 圖譜(D_2O)

(十七) 地骨皮乙素的 ^{13}C NMR 圖譜



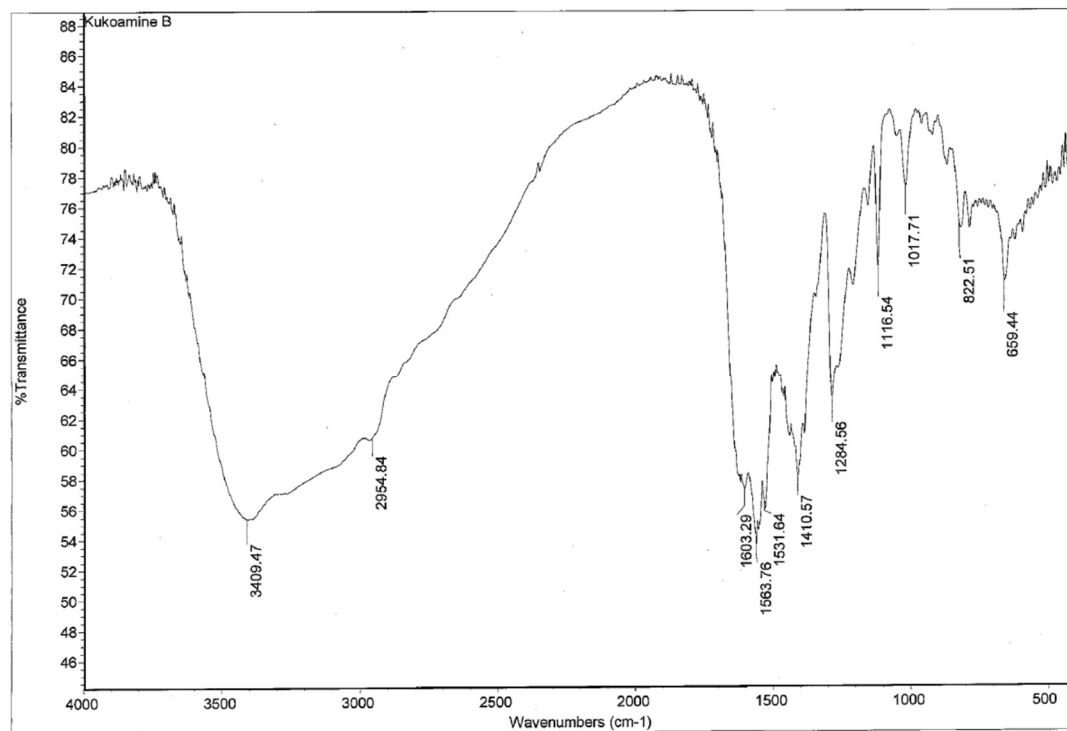
圖十、地骨皮乙素的 ^{13}C NMR 圖譜(D_2O)

(十八) 地骨皮乙素的 ESI-MS 圖譜



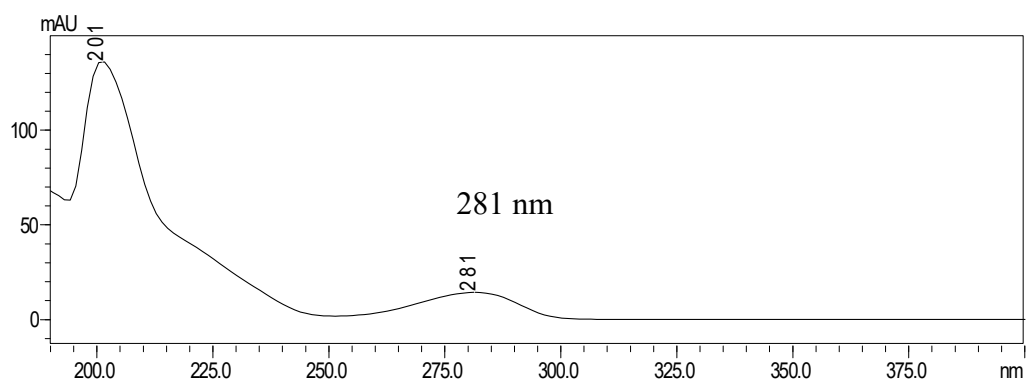
圖十一、地骨皮乙素的 ESI-MS 圖譜

(十九) 地骨皮乙素的 FTIR 圖譜



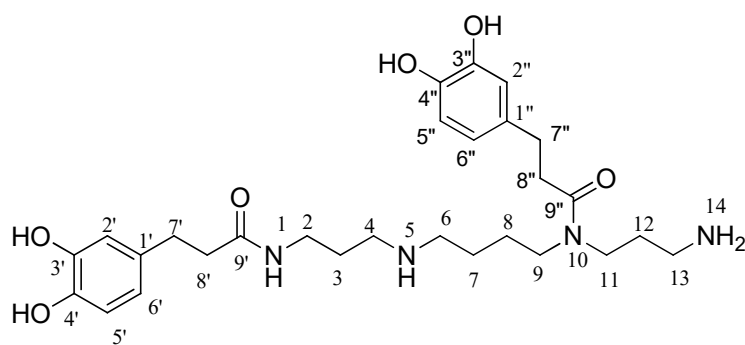
圖十二、地骨皮乙素的 FTIR 圖譜

(二十) 地骨皮乙素的 UV 圖譜



圖十三、地骨皮乙素的 UV 圖譜

(二十一) 地骨皮乙素的氫、碳化學位移



地骨皮乙素

表七、地骨皮乙素氫、碳化學位移(D₂O)

position	δ_H (600 MHz) ^a	δ_C (150 MHz)
2	3.06 (t, 6.6)	36.4
3	1.53–1.56 (m)	25.4
4	2.43 (t, 6.6)	44.4
6	2.67–2.73 (m)	47.2
7	1.35–1.39 (m)	22.8
8	1.23–1.28 (m)	24.9
9	3.09 (t, 7.2)	47.5
11	3.27 (t, 7.2)	42.5
12	1.66–1.73 (m)	24.8
13	2.67–2.73 (m)	36.7
1'	-	133.5
2'	6.64 (s)	116.2
3'	-	143.8

4'	-	142.2
5'	6.70–6.73 (m)	116.1
6'	6.55–6.58 (m)	120.6
7'	2.67–2.73 (m)	30.6
8'	2.57 (t, 6.0)	36.7
9'	-	176.2
1''	-	132.9
2''	6.64–6.65 (m)	116.2
3''	-	143.9
4''	-	142.3
5''	6.70–6.73 (m)	116.1
6''	6.55–6.58 (m)	120.8
7''	2.67–2.73 (m)	30.2
8''	2.43 (t, 6.6)	34.0
9''	-	175.9

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

地骨皮

生藥名：LYCII RADICIS CORTEX

英文名：Wolfberry Rootbark

基 原：本品為茄科 Solanaceae 植物枸杞 *Lycium chinense* Mill. 或寧夏枸杞 *Lycium barbarum* L. 之乾燥根皮。

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，加甲醇 5 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，濾液蒸乾，殘渣加甲醇 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》

——取本品粉末 1.5 g，加甲醇 15 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，濾液蒸乾，殘渣加甲醇 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 3】《香港中藥材標準第六冊》

——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 20 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，濾液蒸乾，殘渣加甲醇 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 4】(自行開發) ✓

——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 5 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 取東莨菪素(Scopoletin)和東莨菪苷(Scopolin)對照標準品，加甲醇製成每 1 mL 各含 0.1 mg 的溶液，另取地骨皮乙素(Kukoamine B)，加甲醇製成每 1 mL 含 1.0 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》

——正丁醇：無水乙酸：水 (7：1：2)

【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》

——甲苯：丙酮：甲酸 (10：1：0.1)

【展開劑 3】修飾《香港中藥材標準第六冊》

——正己烷：乙酸乙酯：無水乙酸 (5：6：0.2)

【展開劑 4】(自行開發 1) ✓

——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (5：3：1)

【展開劑 5】(自行開發 2) ✓

——正丁醇：甲酸：水 (4：1：1)

(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 (1) 風乾後，置於紫外光(365 nm)下檢視之。
- (2) 風乾後，以碘化鉍鉀試液(Dragendorff Reagent)和亞硝酸鈉-乙醇試液(NaNO_2 -EtOH TS)噴霧後，晾乾，置於可見光下檢視。

二、萃法選擇及濃度測試

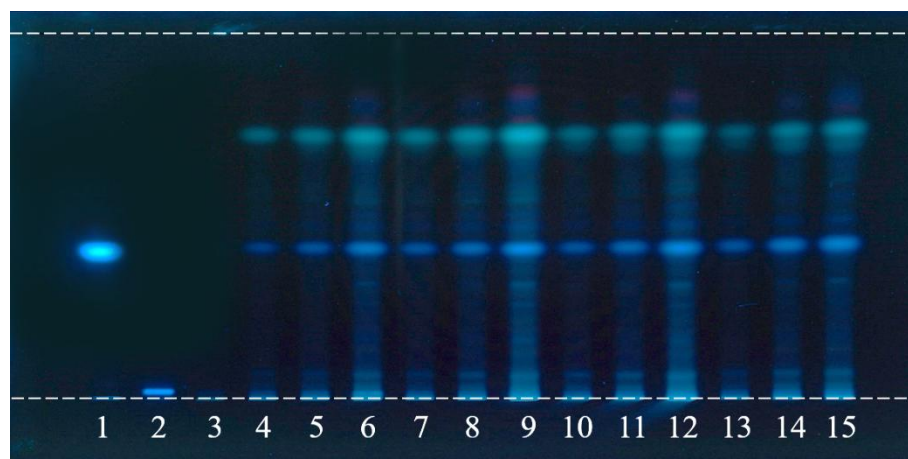
實驗日期：113/03/05

相對溼度(RH)：54%

溫度(RT)：23.1 °C

【展開劑 4】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (5：3：1)

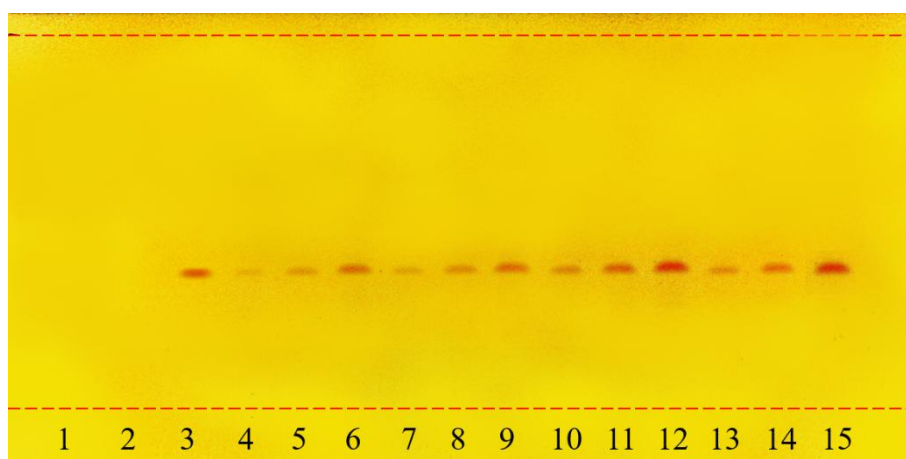
——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



編號	名稱	點注量
1	東莨菪素(0.1 mg/mL)	2 μ L
2	東莨菪苷(0.1 mg/mL)	2 μ L
3	地骨皮乙素(1.0 mg/mL)	2 μ L
4, 5, 6	檢品溶液 5 【萃取方法 1】	1, 2, 5 μ L
7, 8, 9	檢品溶液 5 【萃取方法 2】	1, 2, 5 μ L
10, 11, 12	檢品溶液 5 【萃取方法 3】	1, 2, 5 μ L
13, 14, 15	檢品溶液 5 【萃取方法 4】	2, 5, 8 μ L

【展開劑 5】(自行開發)——正丁醇：甲酸：水 (4：1：1)

——HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出



編號	名稱	點注量
1	東莨菪素(0.1 mg/mL)	2 μ L
2	東莨菪苷(0.1 mg/mL)	2 μ L
3	地骨皮乙素(1.0 mg/mL)	2 μ L
4, 5, 6	檢品溶液 5【萃取方法 1】	1, 2, 5 μ L
7, 8, 9	檢品溶液 5【萃取方法 2】	1, 2, 5 μ L
10, 11, 12	檢品溶液 5【萃取方法 3】	1, 2, 5 μ L
13, 14, 15	檢品溶液 5【萃取方法 4】	2, 5, 8 μ L

建議萃法：四種萃取方法，檢品溶液中皆可分離與檢出東莨菪素，東莨菪苷和地骨皮乙素，因萃取方法簡單且濃度適中，故採用自行開發之【萃取方法 4】。建議點注量：東莨菪素 2 μ L，東莨菪苷 2 μ L，地骨皮乙素 5 μ L，檢品溶液【萃取方法 4】5 μ L。

三、溶媒系統選擇

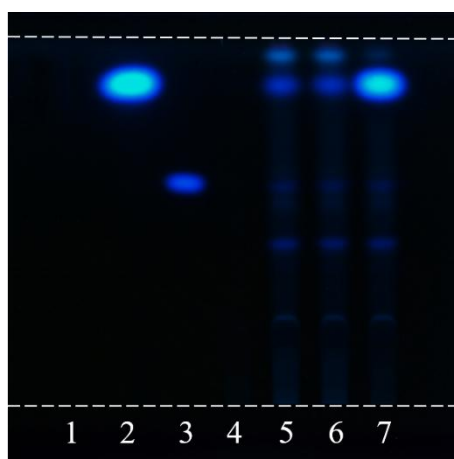
實驗日期：113/03/05

相對溼度(RH)：54%

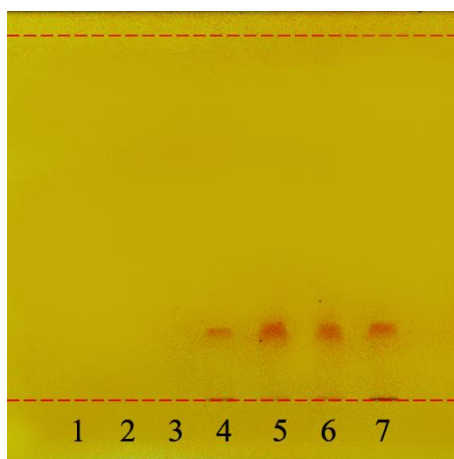
溫度(RT)：23.1 °C

【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——正丁醇：無水乙酸：水 (7：1：2)

【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(東莨菪素 R_f 值 >0.9 ，東莨菪苷 R_f 值為 0.67)

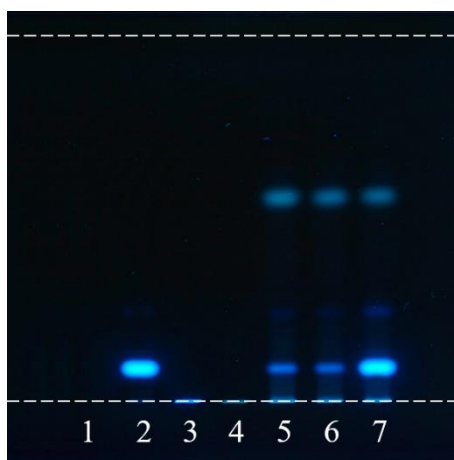


【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出(地骨皮乙素 R_f 值為 0.18)

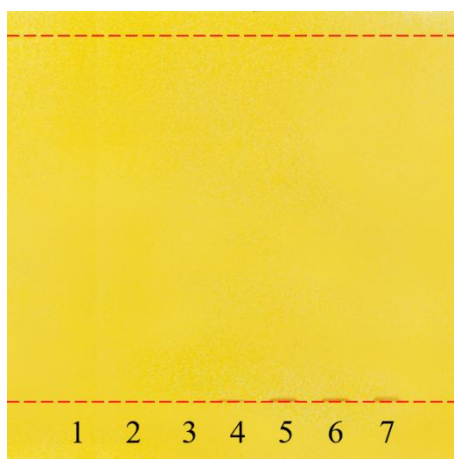


【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》——甲苯：丙酮：甲酸 (10：1：0.1)

【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出
(東莨菪素 R_f 值 <0.1 ，東莨菪苷 R_f 值為 0)

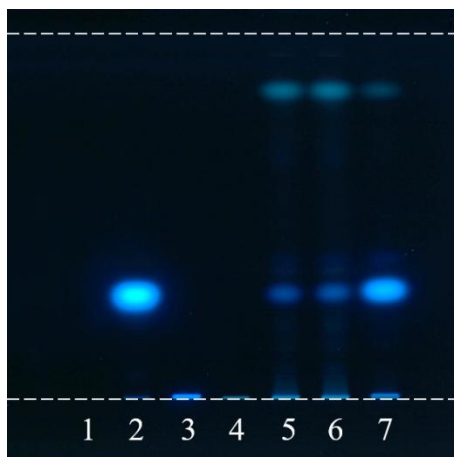


【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出(地骨皮乙素 R_f 值為 0)

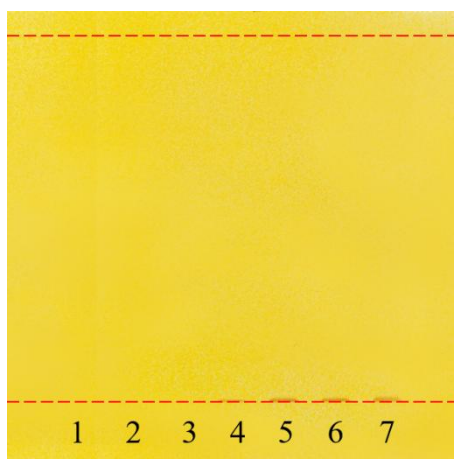


【展開劑 3】修飾《香港中藥材標準第六冊》——正己烷：乙酸乙酯：無水乙酸 (5：6：0.2)

【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(東莨菪素 R_f 值為 0.28，東莨菪苷 R_f 值為 0)

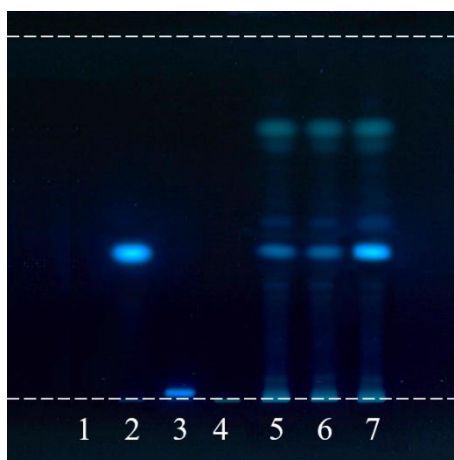


【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出(地骨皮乙素 R_f 值為 0)



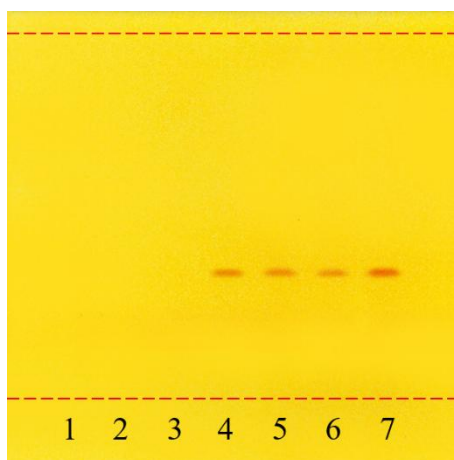
【展開劑 4】(自行開發 1)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (5：3：1) ✓

【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(東莨菪素 R_f 值為 0.48，東莨菪苷 R_f 值<0.1)



【展開劑 5】(自行開發 2)——正丁醇：甲酸：水 (4：1：1) ✓

【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出(地骨皮乙素 R_f 值為 0.38)



1：Blank
2：東莨菪素
3：東莨菪苷

4：地骨皮乙素
5，6：檢品溶液
7：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 4】方式，以自行開發之【展開劑 4】，【展開劑 5】展開，分離佳， R_f 值適中，因 3 個對照標準品極性差異大，故採用不同展開溶媒展開。東莨菪素，採用【展開劑 4】。地骨皮乙素，採用【展開劑 5】。東莨菪苷因檢品含量極低，薄層分析無法清楚觀察，故建議不採用。

四、觀察方式選擇

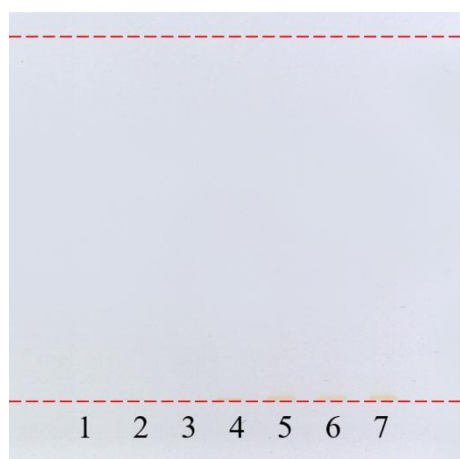
實驗日期：113/03/05

相對溼度(RH)：54%

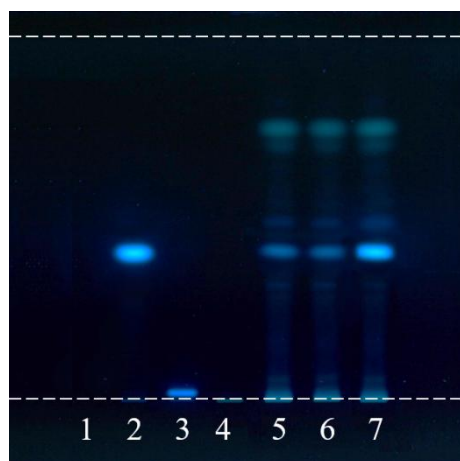
溫度(RT)：23.1 °C

【展開劑 4】(自行開發 1)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (5：3：1)

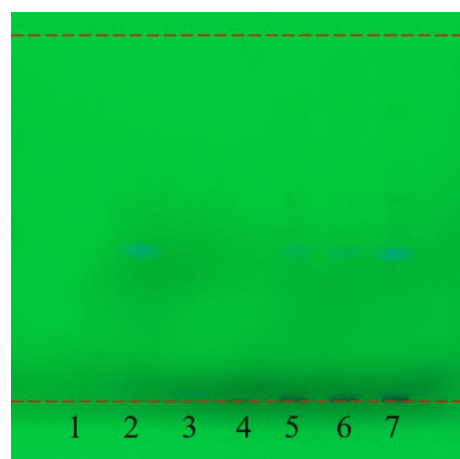
【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC 可見光檢出



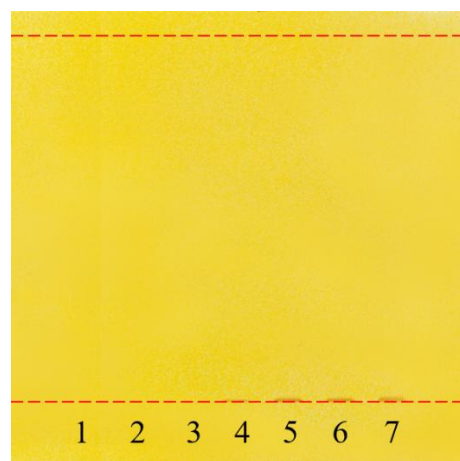
【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC 紫外光(365 nm)檢出✓



【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC 紫外光(254 nm)檢出

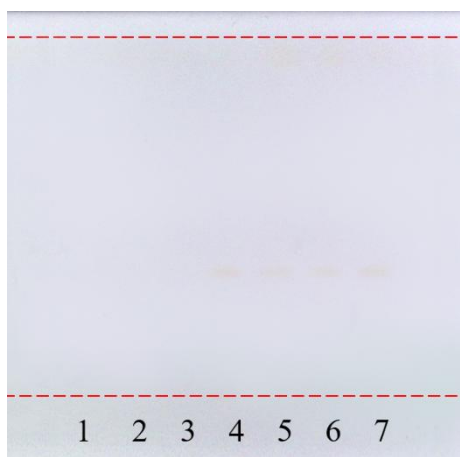


【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出



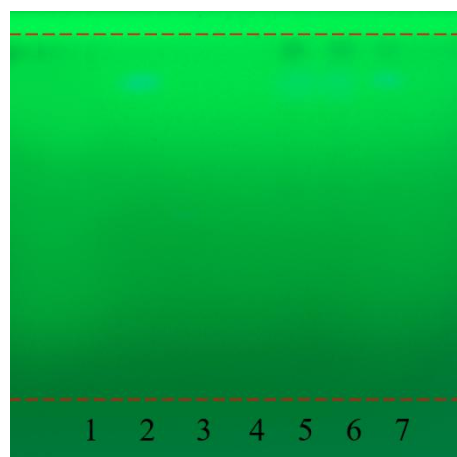
【展開劑 5】(自行開發 2)——正丁醇：甲酸：水 (4：1：1)

【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC 可見光檢出

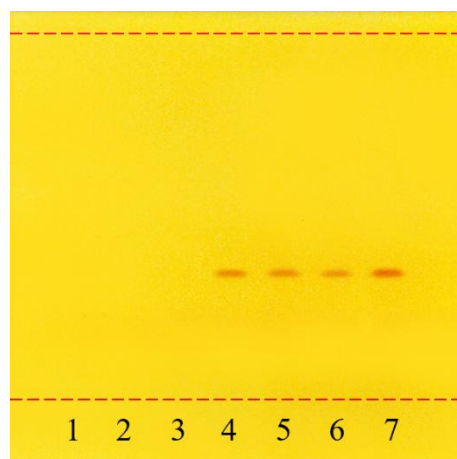
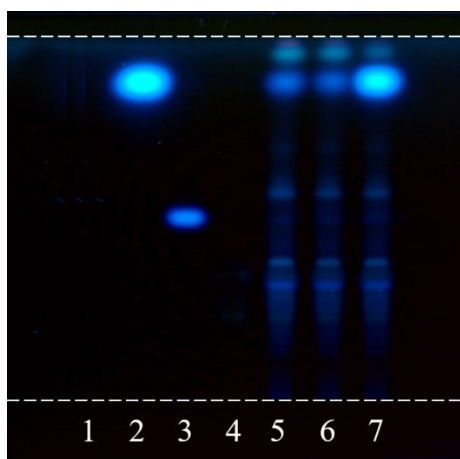


【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC 紫外光(254 nm)檢出

【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出✓



1：Blank
2：東莨菪素
3：東莨菪苷

4：地骨皮乙素
5，6：檢品溶液 5
7：Spike

建議觀察方式：東莨菪素，於紫外光(365 nm)檢視，有較明顯分離之條帶。地骨皮乙素，碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後，於可見光檢視，有較明顯分離之條帶。

五、十批地骨皮藥材樣品檢測

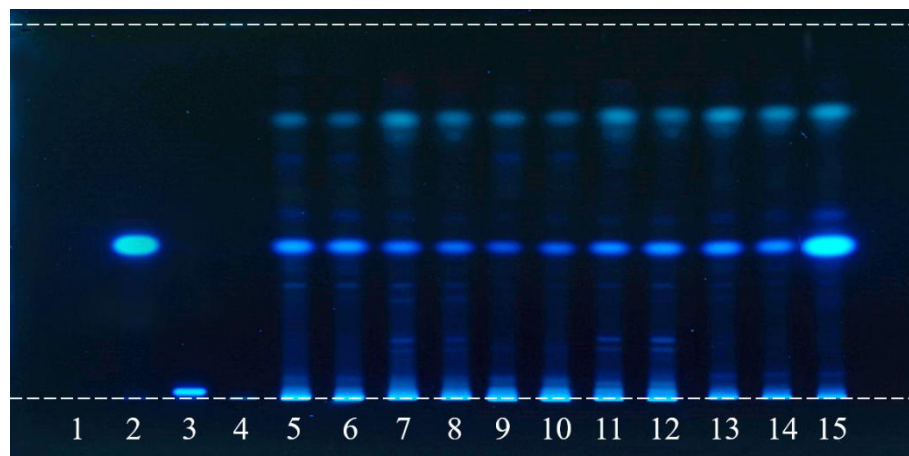
實驗日期：113/03/05

相對溼度(RH)：54%

溫度(RT)：23.1 °C

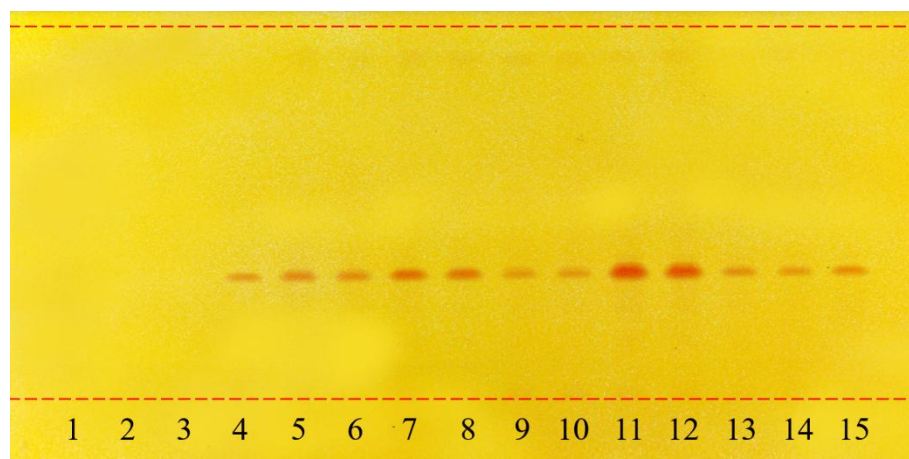
【展開劑 4】(自行開發 1)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (5：3：1)

【萃取方法 4】(自行開發) —HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



【展開劑 5】(自行開發 2)——正丁醇：甲酸：水 (4：1：1)

【萃取方法 4】(自行開發) —HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出



1	Blank	7, 8	檢品溶液 2 (NO)
2	東莨菪素(0.1 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 3 (NRB)
3	東莨菪苷(0.1 mg/mL)	11, 12	檢品溶液 4 (CA2)
4	地骨皮乙素(1.0 mg/mL)	13, 14	檢品溶液 5 (CE)
5, 6	檢品溶液 1 (NC)	15	Spike (檢品溶液 5)

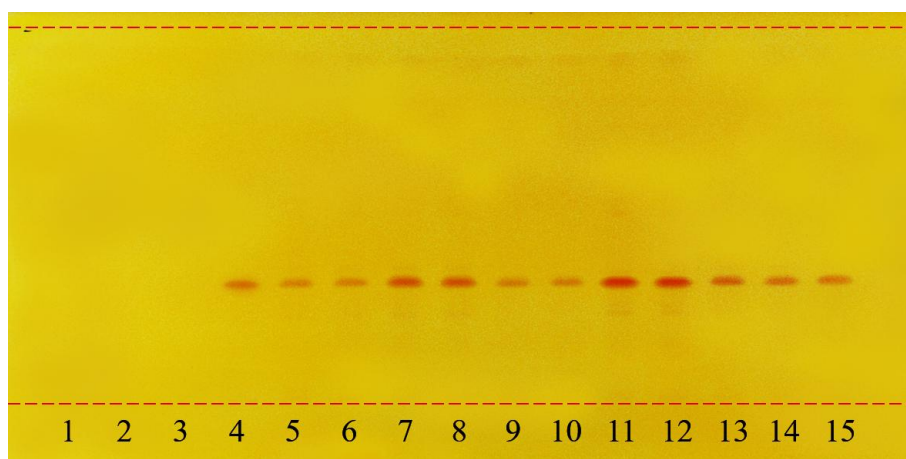
【展開劑 4】(自行開發 1)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (5：3：1)

【萃取方法 4】(自行開發)–HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



【展開劑 5】(自行開發 2)——正丁醇：甲酸：水 (4：1：1)

【萃取方法 4】(自行開發)–HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉–乙醇試液顯色後可見光檢出



1	Blank	7, 8	檢品溶液 7 (SK2)
2	東莨菪素(0.1 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 8 (SUA)
3	東莨菪苷(0.1 mg/mL)	11, 12	檢品溶液 9 (SUB2)
4	地骨皮乙素(1.0 mg/mL)	13, 14	檢品溶液 10 (SUC2)
5, 6	檢品溶液 6 (SK1)	15	Spike (檢品溶液 5)

結論與建議：以【萃取方法 4】方式及自行開發之【展開劑 4】分離與檢出東莨菪素較佳，於紫外光(365 nm)檢視較佳。以【展開劑 5】分離與檢出地骨皮乙素較佳，以碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉–乙醇試液顯色後於可見光檢視較佳。

地骨皮飲片(LYCH RADICIS CORTEX)

一、材料

購置於臺灣各地中藥店地骨皮飲片共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Shimadzu LC-2040C 3D, 包含 Quaternary pump、Autosampler、Thermostatted column compartment、Diode-Array Detector; 層析管柱 Agilent ZORBAX SB-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、Sampler 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)購置於永定科技有限公司; 三氟乙酸購置於 Merck。

(二) 對照標準品

地骨皮乙素(Kukoamine B)購置於普思生物科技有限公司, 純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取條件評估

地骨皮飲片最佳萃取條件同地骨皮藥材。

(二) 最佳萃取時間評估

地骨皮飲片最佳萃取時間同地骨皮藥材。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取對照標準品地骨皮乙素 4.0 mg, 加 10 mL 的甲醇-0.5%乙酸溶液(1:1)的混合液製成每 1 mL 含地骨皮乙素 400 μg 的對照標準品儲備溶液, 並以甲醇-0.5%乙酸溶液(1:1)的混合液稀釋至 20 μg/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 0.2 g, 置 100 mL 圓底瓶中, 準確加入甲醇-0.5%乙酸溶液(1:1)的混合液 25 mL, 加熱迴流 30 分鐘, 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, PTFE 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，用標準曲線分別計算溶液中地骨皮乙素的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取地骨皮乙素對照標準品儲備溶液適量(400 $\mu\text{g/mL}$)，以甲醇稀釋成含地骨皮乙素分別為 200、100、40、20、10 $\mu\text{g/mL}$ 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

以地骨皮乙素為 20 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以地骨皮乙素的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售地骨皮飲片粉末，依地骨皮飲片檢品溶液製備方法平行製備 5 份地骨皮飲片檢品溶液，進樣測定，以地骨皮乙素的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售地骨皮飲片粉末，依地骨皮飲片檢品溶液製備方法製備地骨皮飲片檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以地骨皮乙素的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(九) 偵測極限與定量極限試驗

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

取已知地骨皮乙素含量的地骨皮飲片粉末 5 份，每份準確稱取約 0.1 g，分別加入 2.0 mg 的地骨皮乙素，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 SB-C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 280 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	0.1%三氟乙酸(v/v, %)
0	22	78
30	22	78

(十二) 臺灣市售地骨皮飲片含量測定

取 10 批市售地骨皮飲片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 公式計算樣品地骨皮乙素的百分含量。

(十三) 地骨皮飲片檢品之 UPLC 層析條件

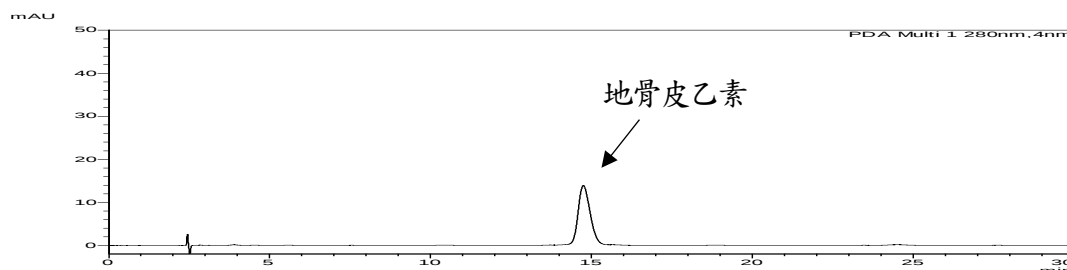
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 280 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	0.1%三氟乙酸(v/v, %)
0	22	78
8	22	78

五、結果

(一) 對照標準品地骨皮乙素之 HPLC 層析

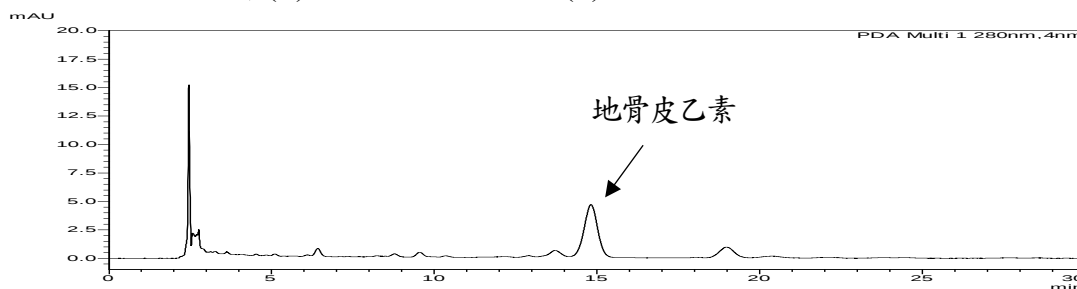
於滯留時間 14.7 分鐘處顯示地骨皮乙素對照標準品波峰(圖一)。



圖一、地骨皮乙素對照標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售地骨皮飲片檢品之 HPLC 層析

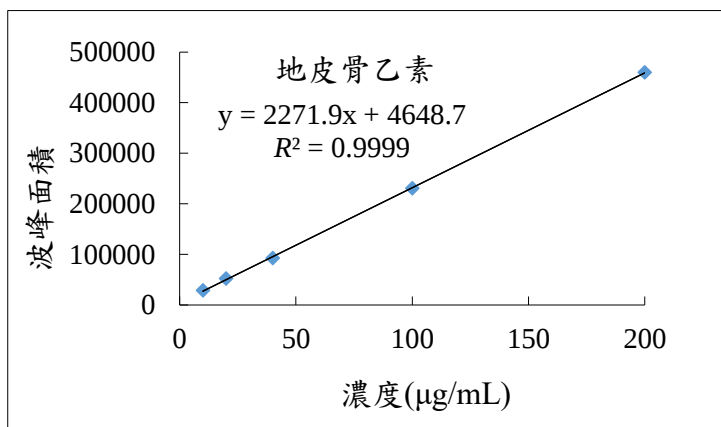
於滯留時間 14.8 分鐘處顯示地骨皮檢品中地骨皮乙素波峰(圖二)。地骨皮乙素分離率(R)為 1.66，拖尾因子(T)為 1.01，均在系統適用性要求內。



圖二、市售地骨皮飲片檢品之 HPLC 層析圖

(三) 對照標準品地骨皮乙素檢量線

經不同濃度地骨皮乙素(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 $y = 2271.9x + 4648.7$ ， $R^2 = 0.9999$ ，顯示濃度在 10–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、地骨皮乙素之檢量線圖

表三、地骨皮乙素之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
地骨皮乙素	10–200	$y = 2271.9x + 4648.7$	0.9999

(四) 精密度試驗

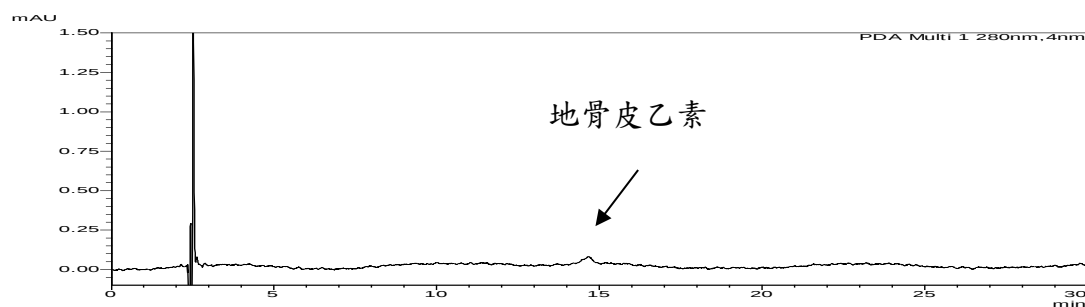
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，地骨皮乙素精密度之相對標準差為 0.06%，在系統適用性要求內。

(五) 重複性與穩定性試驗

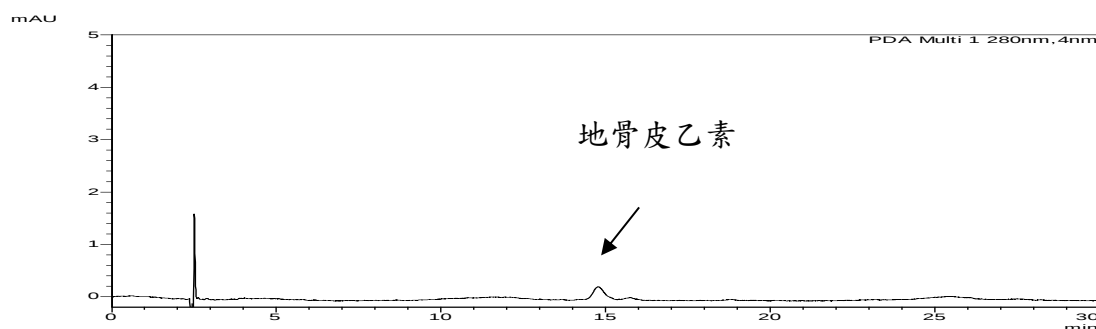
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，地骨皮乙素重複性之相對標準差為 0.66%，在系統適用性要求內。地骨皮乙素在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準為 0.12%，變化差異小，若所有樣品分析都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(六) 偵測極限與定量極限試驗

地骨皮乙素偵測極限為 0.5 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 3.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、地骨皮乙素之偵測極限層析圖



圖五、地骨皮乙素之定量極限層析圖

表二、各項檢驗分析

檢測項目	地骨皮乙素	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	20 µg/mL	0.06
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.9)	0.66
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.9)	0.12
偵測極限 (n=3)	0.5 µg/mL	-
定量極限 (n=3)	3.0 µg/mL	-

(七) 添加回收率試驗

地骨皮乙素平均添加回收率為 94.8%，相對標準偏差為 1.57%。

表三、地骨皮乙素添加回收率

編號	飲片稱重 (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	0.1009	2.1931	2.0	4.2133	96.51	94.79	1.57
2	0.1003	2.1801	2.0	4.0365	92.82		
3	0.1004	2.1822	2.0	4.0888	95.33		
4	0.1008	2.1909	2.0	4.1022	95.57		
5	0.1003	2.1801	2.0	4.0545	93.72		

(八) 臺灣市售地骨皮飲片含量測定

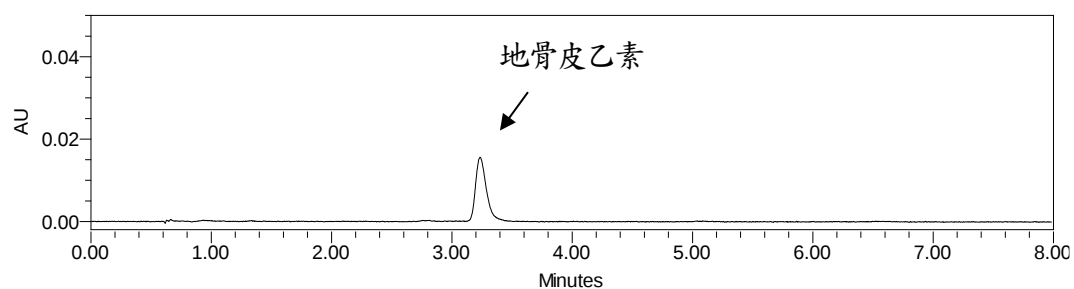
10 批地骨皮飲片之含量測定結果(乾燥品)如表四所示，地骨皮乙素的含量為 0.790–4.707%，建議地骨皮飲片指標成分地骨皮乙素的含量不得少於 0.5%。理論板數按地骨皮乙素波峰計算應不低於 4000 (實際值為 6216)。

表四、臺灣市售地骨皮飲片檢品之地骨皮乙素的含量

飲片編號 (No.)	地骨皮乙素含量 (%)	藥材編號 (No.)	地骨皮乙素含量 (%)
1 (NFA)	2.134	6 (CH)	2.466
2 (NFB)	0.859	7 (SA)	0.892
3 (NRA)	0.790	8 (SJ)	1.410
4 (NWB)	4.707	9 (SK3)	2.684
5 (CA)	2.953	10 (SUA2)	1.037
平均值±S.D.	1.993±1.256		

(九) 對照標準品地骨皮乙素之 UPLC 層析

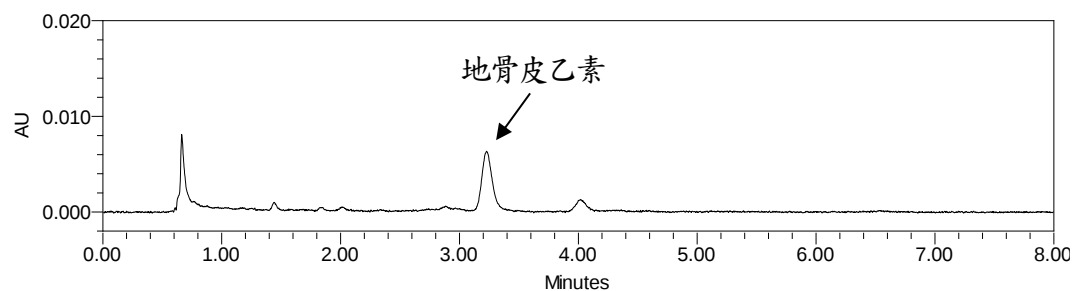
於滯留時間 3.23 分鐘處顯示地骨皮乙素對照標準品的波峰(圖六)。



圖六、地骨皮乙素對照標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十) 市售地骨皮飲片檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 3.22 分鐘處顯示地骨皮飲片檢品中地骨皮乙素的波峰(圖七)。



圖七、市售地骨皮飲片檢品之 UPLC 層析圖

地骨皮(飲片)

生藥名：LYCII RADICIS CORTEX

英文名：Wolfberry Rootbark

基 原：本品為茄科 Solanaceae 植物枸杞 *Lycium chinense* Mill. 或寧夏枸杞 *Lycium barbarum* L. 之乾燥根皮。

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，加甲醇 5 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，濾液蒸乾，殘渣加甲醇 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》

——取本品粉末 1.5 g，加甲醇 15 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，濾液蒸乾，殘渣加甲醇 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 3】《香港中藥材標準第六冊》

——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 20 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，濾液蒸乾，殘渣加甲醇 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 4】(自行開發) ✓

——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 5 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 取東莨菪素(Scopoletin)和東莨菪苷(Scopolin)對照標準品，加甲醇製成每 1 mL 各含 0.1 mg 的溶液，另取地骨皮乙素(Kukoamine B)，加甲醇製成每 1 mL 含 1.0 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》

——正丁醇：無水乙酸：水 (7：1：2)

【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》

——甲苯：丙酮：甲酸 (10：1：0.1)

【展開劑 3】《香港中藥材標準第六冊》

——正己烷：乙酸乙酯：無水乙酸 (5：6：0.2)

【展開劑 4】(自行開發 1) ✓

——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (5：3：1)

【展開劑 5】(自行開發 2) ✓

——正丁醇：甲酸：水 (4：1：1)

(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 (1) 風乾後，置於紫外光(365 nm)下檢視之。

(2) 風乾後，以碘化鉍鉀試液(Dragendorff Reagent)和亞硝酸鈉-乙醇試液(NaNO_2 -EtOH TS)噴霧後，晾乾，置於可見光下檢視。

二、萃法選擇及濃度測試

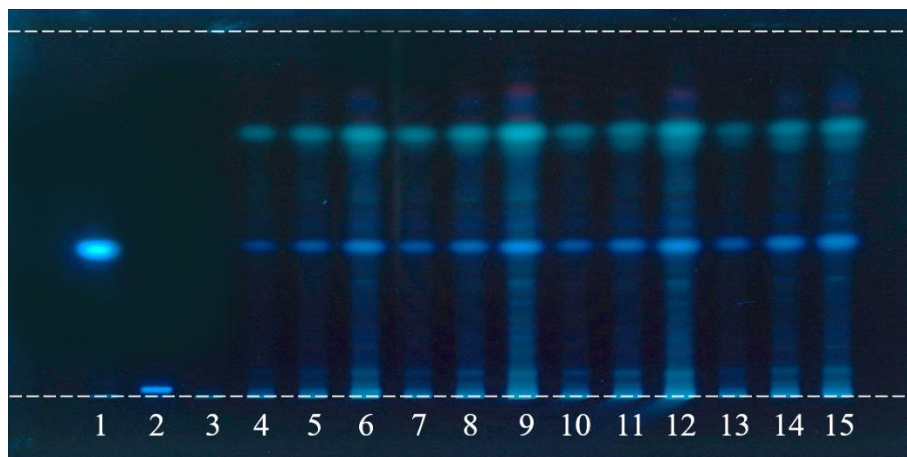
實驗日期：113/03/05

相對溼度(RH)：54%

溫度(RT)：23.1 °C

【展開劑 4】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (5：3：1)

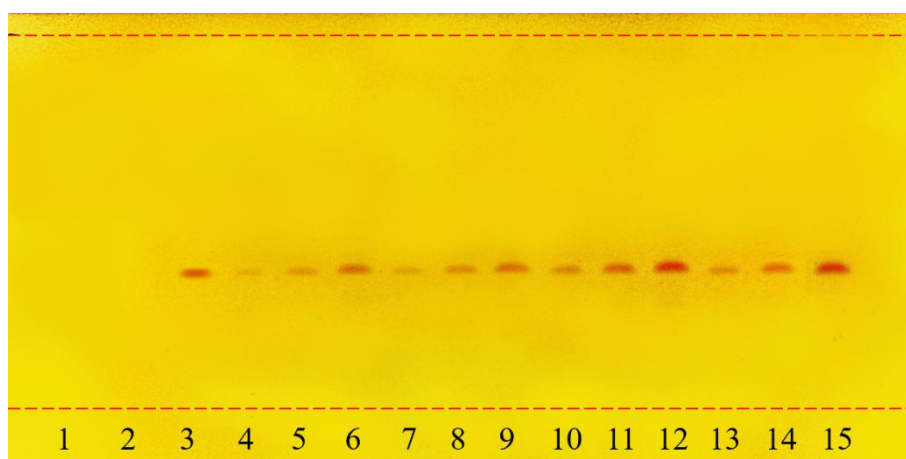
——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



編號	名稱	點注量
1	東莨菪素(0.1 mg/mL)	2 μ L
2	東莨菪苷(0.1 mg/mL)	2 μ L
3	地骨皮乙素(1.0 mg/mL)	2 μ L
4，5，6	檢品溶液 5【萃取方法 1】	1，2，5 μ L
7，8，9	檢品溶液 5【萃取方法 2】	1，2，5 μ L
10，11，12	檢品溶液 5【萃取方法 3】	1，2，5 μ L
13，14，15	檢品溶液 5【萃取方法 4】	2，5，8 μ L

【展開劑 5】(自行開發)——正丁醇：甲酸：水 (4：1：1)

——HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出



編號	名稱	點注量
1	東莨菪素(0.1 mg/mL)	2 μ L
2	東莨菪苷(0.1 mg/mL)	2 μ L
3	地骨皮乙素(1.0 mg/mL)	2 μ L
4, 5, 6	檢品溶液 5 【萃取方法 1】	1, 2, 5 μ L
7, 8, 9	檢品溶液 5 【萃取方法 2】	1, 2, 5 μ L
10, 11, 12	檢品溶液 5 【萃取方法 3】	1, 2, 5 μ L
13, 14, 15	檢品溶液 5 【萃取方法 4】	2, 5, 8 μ L

建議萃法：四種萃取方法，檢品溶液中皆可分離與檢出東莨菪素，東莨菪苷和地骨皮乙素，因萃取方法簡單且濃度適中，故採用自行開發之【萃取方法 4】。建議點注量：東莨菪素 2 μ L，東莨菪苷 2 μ L，地骨皮乙素 5 μ L，檢品溶液【萃取方法 4】5 μ L。

三、溶媒系統選擇

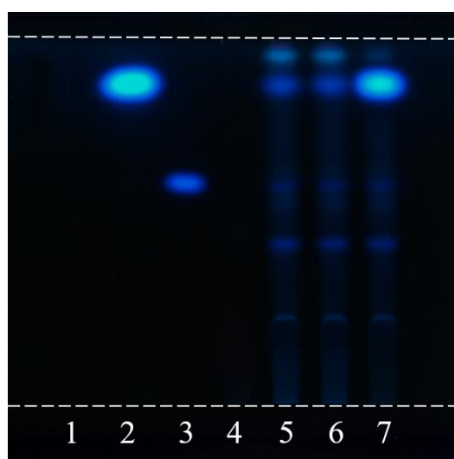
實驗日期：113/03/05

相對溼度(RH)：54%

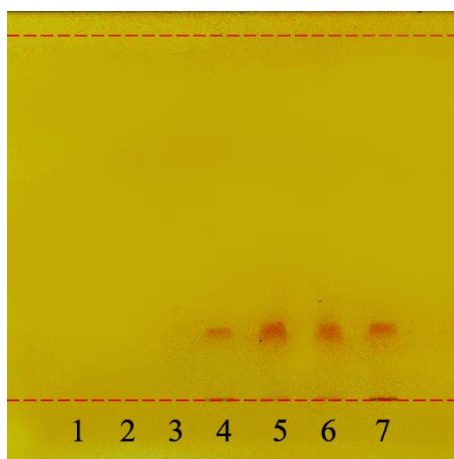
溫度(RT)：23.1 °C

【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——正丁醇：無水乙酸：水 (7：1：2)

【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(東莨菪素 R_f 值 >0.9 ，東莨菪苷 R_f 值為 0.67)

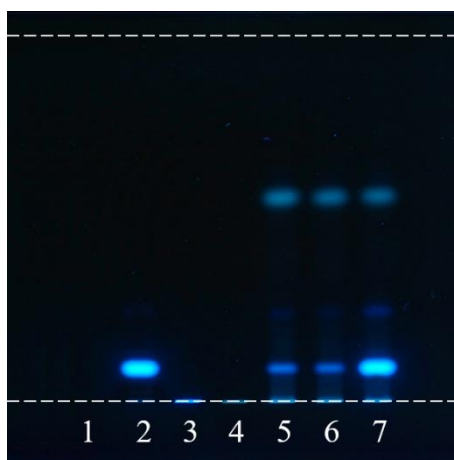


【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出(地骨皮乙素 R_f 值為 0.18)

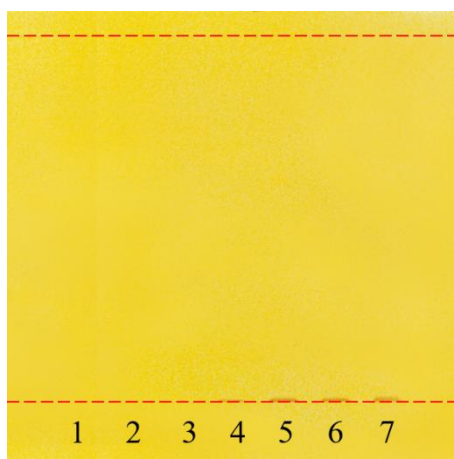


【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》——甲苯：丙酮：甲酸 (10：1：0.1)

【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出
(東莨菪素 R_f 值 < 0.1，東莨菪苷 R_f 值為 0)

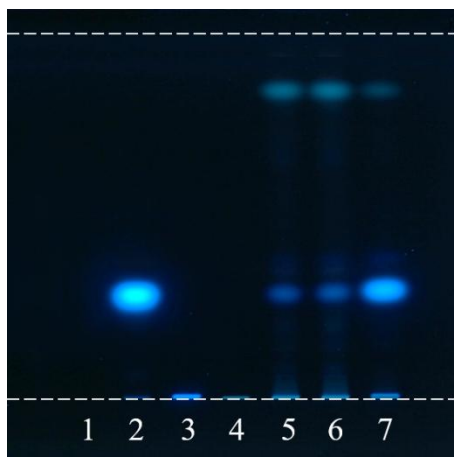


【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出(地骨皮乙素 R_f 值為 0)

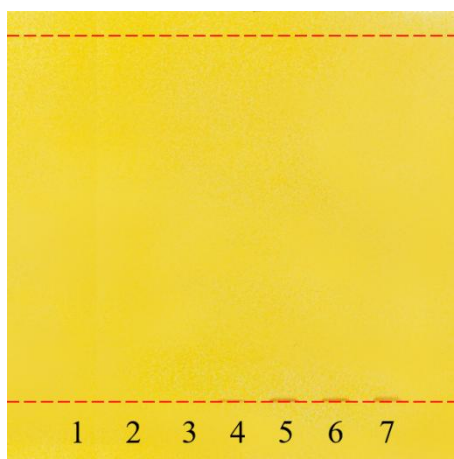


【展開劑 3】《香港中藥材標準第六冊》——正己烷：乙酸乙酯：無水乙酸 (5：6：0.2)

【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(東莨菪素 R_f 值為 0.28，東莨菪苷 R_f 值為 0)

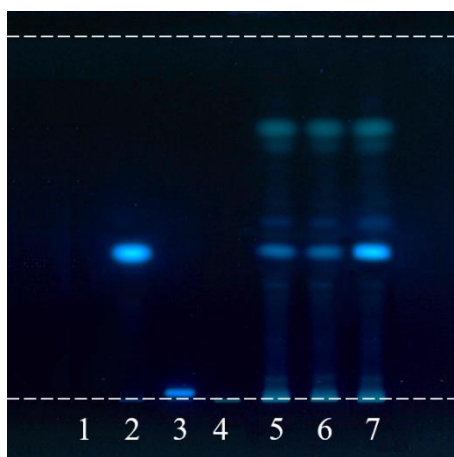


【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出(地骨皮乙素 R_f 值為 0)



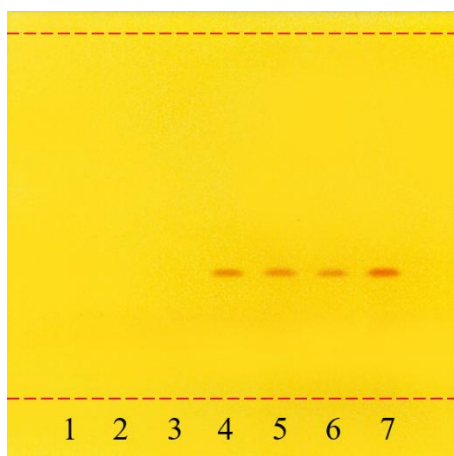
【展開劑 4】(自行開發 1)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (5：3：1) ✓

【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(東莨菪素 R_f 值為 0.48，東莨菪苷 R_f 值<0.1)



【展開劑 5】(自行開發 2)——正丁醇：甲酸：水 (4：1：1) ✓

【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出(地骨皮乙素 R_f 值為 0.38)



1：Blank
2：東莨菪素
3：東莨菪苷

4：地骨皮乙素
5，6：檢品溶液
7：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 4】方式，以自行開發之【展開劑 4】，【展開劑 5】展開，分離佳， R_f 值適中，因三個對照標準品極性差異大，故採用不同展開溶媒展開。東莨菪素，採用【展開劑 4】。地骨皮乙素，採用【展開劑 5】。東莨菪苷因檢品含量極低，薄層分析無法清楚觀察，故建議不採用。

四、觀察方式選擇

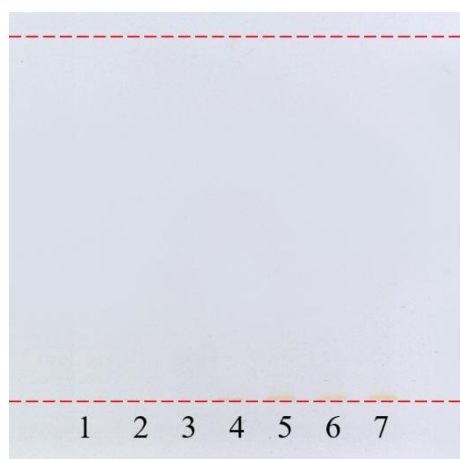
實驗日期：113/03/05

相對溼度(RH)：54%

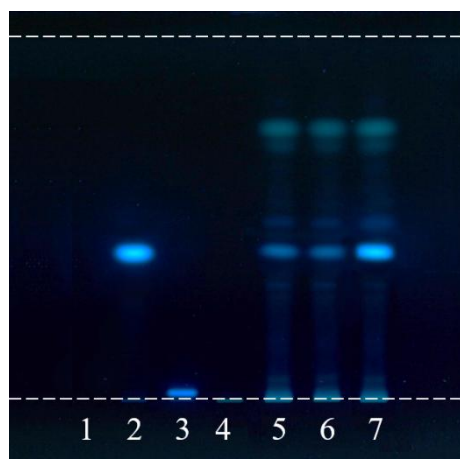
溫度(RT)：23.1 °C

【展開劑 4】(自行開發 1)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (5：3：1)

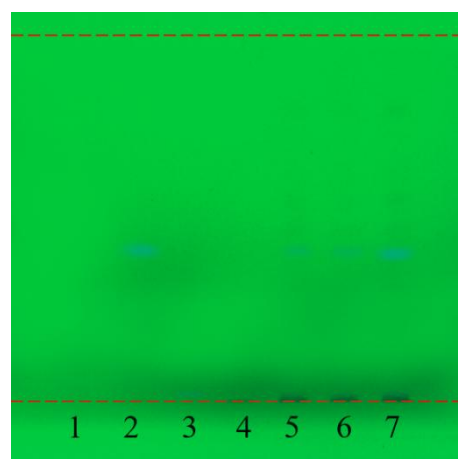
【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC 可
見光檢出



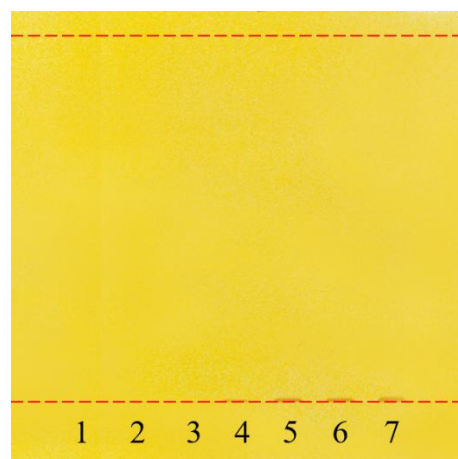
【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC 紫
外光(365 nm)檢出✓



【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC 紫
外光(254 nm)檢出

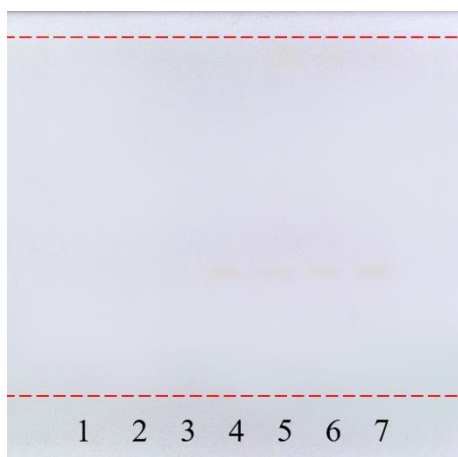


【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC
碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液
顯色後可見光檢出



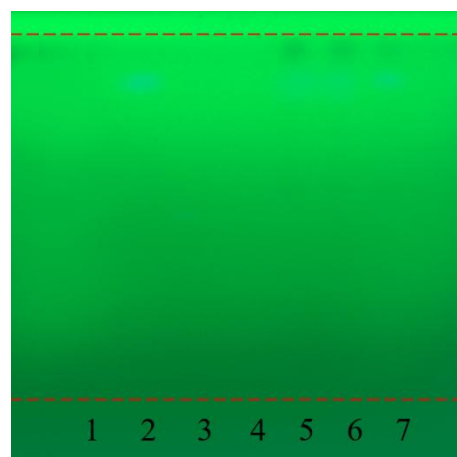
【展開劑 5】(自行開發 2)——正丁醇：甲酸：水 (4：1：1)

【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC 可見光檢出

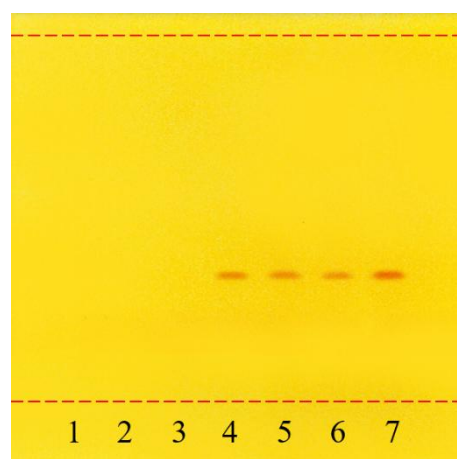
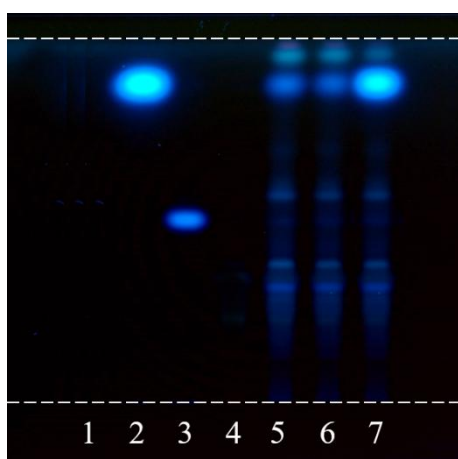


【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC 紫外光(254 nm)檢出

【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出✓



1：Blank
2：東莨菪素
3：東莨菪苷

4：地骨皮乙素
5，6：檢品溶液 5
7：Spike

建議觀察方式：東莨菪素，於紫外光(365 nm)檢視，有較明顯分離之條帶。地骨皮乙素，碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後，於可見光檢視，有較明顯分離之條帶。

五、十批地骨皮飲片樣品檢測

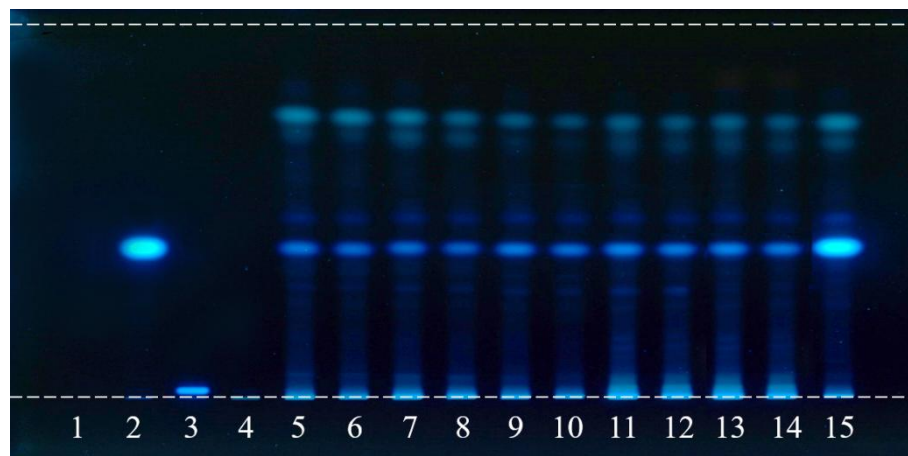
實驗日期：113/03/05

相對溼度(RH)：54%

溫度(RT)：23.1 °C

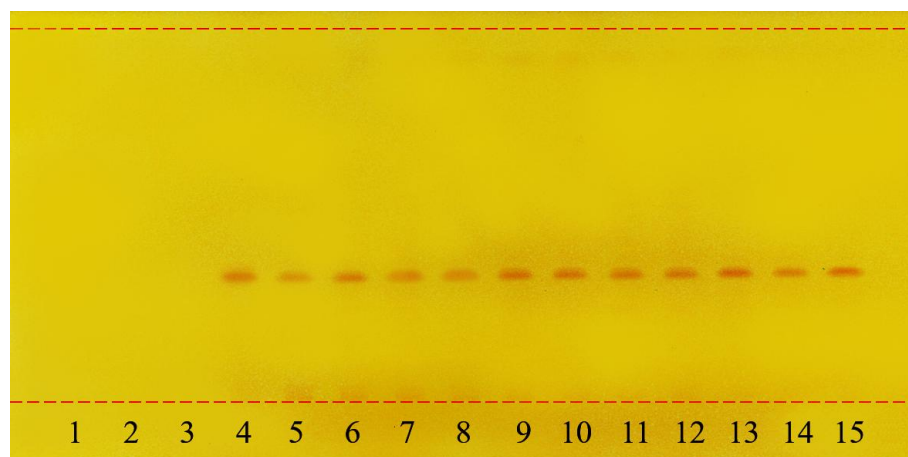
【展開劑 4】(自行開發 1)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (5：3：1)

【萃取方法 4】(自行開發) —HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



【展開劑 5】(自行開發 2)——正丁醇：甲酸：水 (4：1：1)

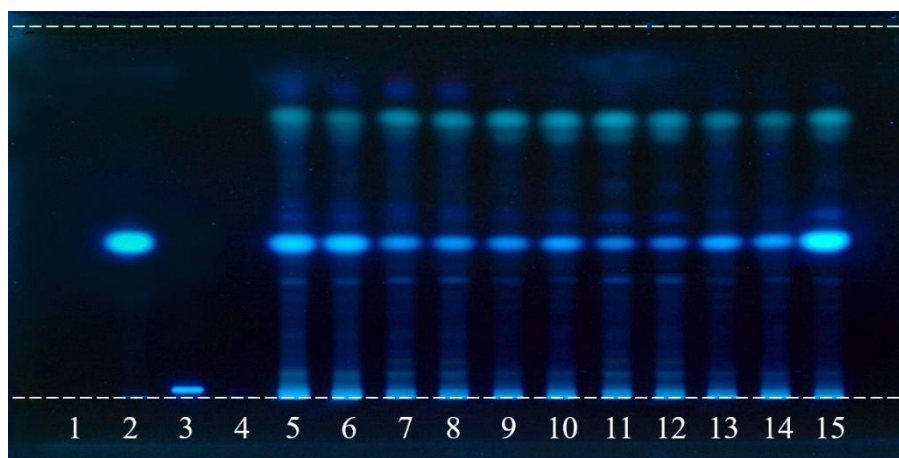
【萃取方法 4】(自行開發) —HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出



1	Blank	7, 8	檢品溶液 2 (NFB)
2	東莨菪素(0.1 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 3 (NRA)
3	東莨菪苷(0.1 mg/mL)	11, 12	檢品溶液 4 (NWB)
4	地骨皮乙素(1.0 mg/mL)	13, 14	檢品溶液 5 (CA)
5, 6	檢品溶液 1 (NFA)	15	Spike (檢品溶液 5)

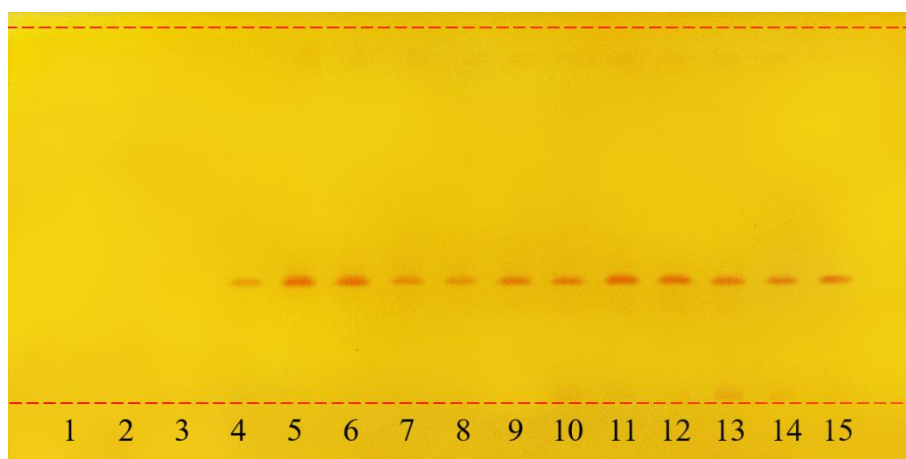
【展開劑 4】(自行開發 1)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (5：3：1)

【萃取方法 4】(自行開發)–HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



【展開劑 5】(自行開發 2)——正丁醇：甲酸：水 (4：1：1)

【萃取方法 4】(自行開發)–HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉–乙醇試液顯色後可見光檢出



1	Blank	7, 8	檢品溶液 7 (SA)
2	東莨菪素(0.1 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 8 (SJ)
3	東莨菪苷(0.1 mg/mL)	11, 12	檢品溶液 9 (SK3)
4	地骨皮乙素(1.0 mg/mL)	13, 14	檢品溶液 10 (SUA2)
5, 6	檢品溶液 6 (CH)	15	Spike (檢品溶液 5)

結論與建議：以【萃取方法 4】方式及自行開發 1 之【展開劑 4】分離與檢出東莨菪素較佳，於紫外光(365 nm)檢視較佳。以【展開劑 5】分離與檢出地骨皮乙素較佳，以碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉–乙醇試液顯色後於可見光檢視較佳。