

地黃

(REHMANNIAE RADIX)

地黃 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
地黃 HPLC（藥材）	9
一、材料	9
二、儀器及層析管柱	9
三、實驗藥品及試劑來源	9
四、方法	9
五、結果	13
地黃 TLC（藥材）	29
一、方法	29
二、萃法選擇及濃度測試	31
三、溶媒系統選擇	32
四、觀察方式選擇	34
五、十批地黃藥材樣品檢測	36

地黃（目錄續）

地黃 HPLC（飲片）	38
一、材料	38
二、儀器及層析管柱	38
三、實驗藥品及試劑來源	38
四、方法	38
五、結果	42
地黃 TLC（飲片）	48
一、方法	48
二、萃法選擇及濃度測試	50
三、溶媒系統選擇	51
四、觀察方式選擇	53
五、十批地黃飲片樣品檢測	55

地黃 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地黃之乾燥塊根。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：地黃

生藥名：REHMANNIAE RADIX

英文名：Rehmannia Root

基原：本品為玄參科 Scrophulariaceae 植物地黃 *Rehmannia glutinosa* Libosch.之乾燥塊根。乾燥者習稱「生地黃」。

採收加工：於秋季採挖，去除蘆頭、鬚根及泥沙後緩緩烘至塊根變軟、內部發黑，取出堆放發汗後再烘乾即得。

藥材性狀：本品呈不規則的團塊或長圓形，中間膨大，兩端稍細，長 6~12 cm，直徑 3~6 cm。有的細小，長條形，稍扁而扭曲。表面灰黑色或灰棕色，極皺縮，具不規則的橫曲紋。質重，質較軟而韌，不易折斷，斷面灰黑色、棕黑色或烏黑色，有光澤，具黏性，偶可見不甚明顯的菊花心，無臭，味微甜。

飲片性狀：本品呈不規則或圓形厚片。表皮黑色或棕黑色，極皺縮，具不規則的橫曲紋。質重，質較軟而韌，不易折斷，切面烏黑色，有光澤，黏性較大，無臭，味微甜。

生長分佈：多年生草本。喜陽光充足環境，耐寒，忌積水，以排水良好、深厚、肥沃的砂質壤土為宜。忌連作，宜與禾本科植物輪作。花期 4~5 月，果期 5~7 月，藥材主產於中國河南，河北、遼寧、浙江、山東等地亦產。

三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2)

1. 木栓層為數列長方形切向延長的細胞。
2. 皮層薄壁細胞排列疏鬆，散有多數分泌細胞，內含橙黃色或橙紅色油狀物。
3. 韌皮部較寬，分泌細胞較少。
4. 形成層成環。
5. 木質部導管稀疏，單個散在或數個成群，呈放射狀排列。
6. 髓線寬廣，由十數列細胞組成。

四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3)

1. 本品粉末棕黃色。

2. 木栓細胞一般為棕黑色。
3. 薄壁細胞中常含有棕色類圓形核狀物。
4. 分泌細胞含橙黃色油滴或橙黃色顆粒狀物。
5. 導管多為網紋導管，偶可見有緣孔紋導管及螺紋導管。



圖 1A 地黃藥材圖

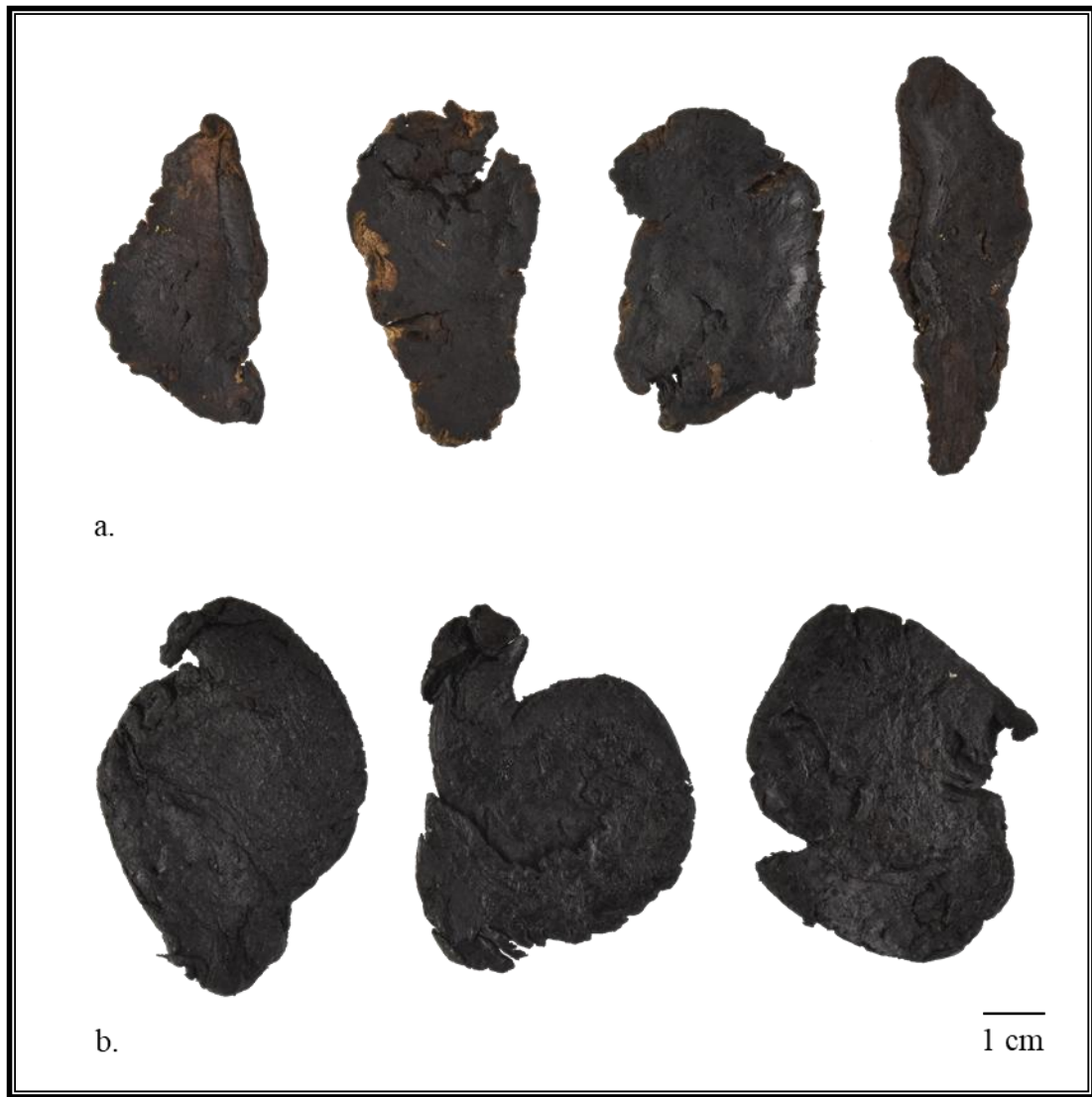


圖 1B 地黃飲片圖

a.生地黃 b.熟地黃

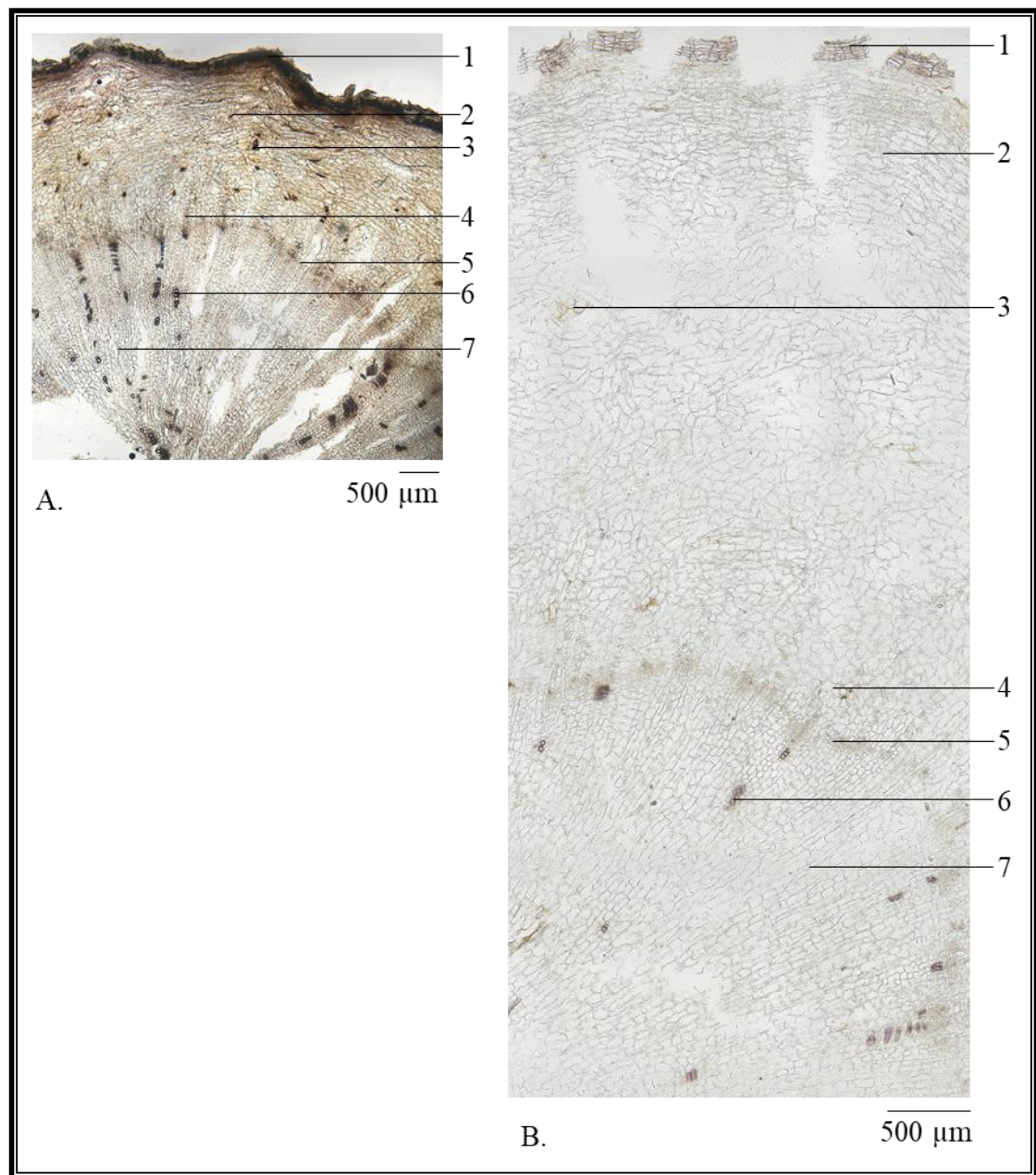


圖 2 地黃橫切面顯微特徵圖

A.橫切面圖 B.橫切面放大圖

1.木栓層 2.皮層 3.分泌細胞 4.韌皮部 5.形成層 6.導管 7.髓線

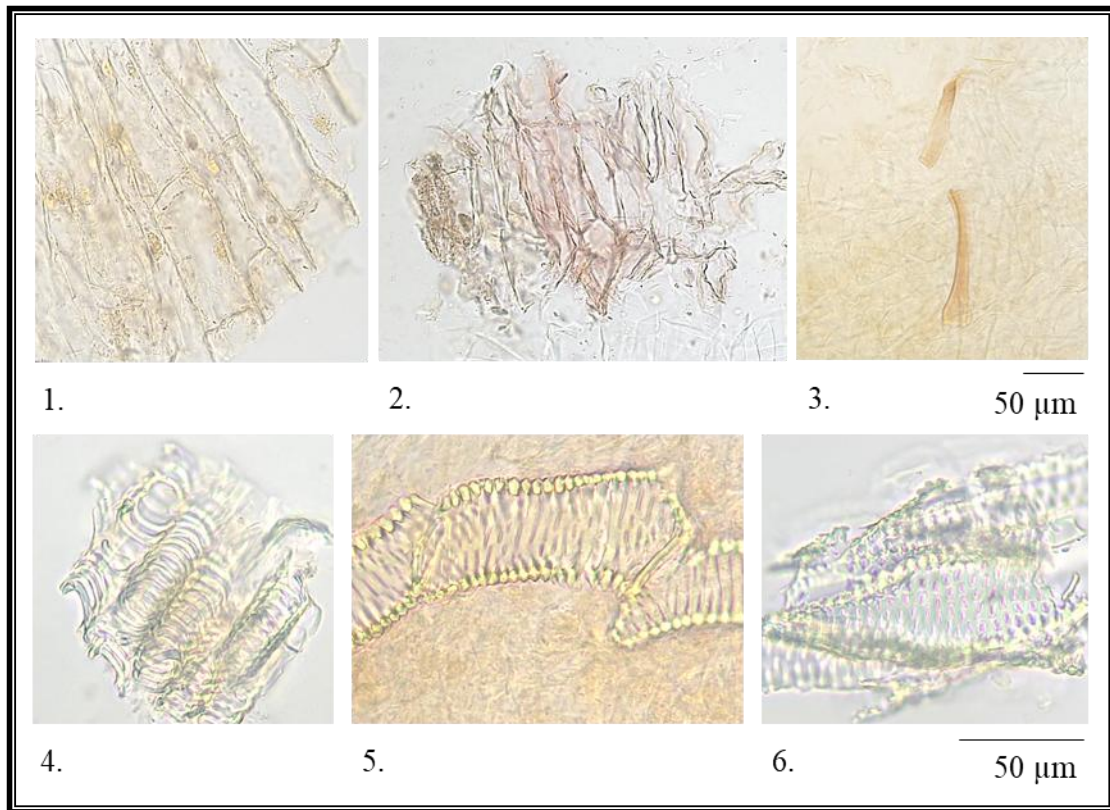


圖 3 地黃粉末顯微特徵圖

- 1.薄壁細胞 2.木栓細胞 3.分泌細胞 4.螺紋導管 5.網紋導管
6.有緣孔紋導管

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。123~124 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(2011)。香港中藥材標準第三冊。香港：香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部。233~242 頁。
3. 肖培根(主編)(2001)。新編中藥志第一卷。北京：化學工業出版社。390~404 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。96~97 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。229~230 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。129~130 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。174 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。137~138 頁。
9. 黃璐琦(總主編)(2020)。新編中國藥材學第四卷。中國醫藥科技出版社。108~111 頁。
10. 張繼(主編)(2021)。中國中藥材及飲片真偽鑑別圖典第二冊。廣東科技出版社。145~146 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。214~217 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。97~98 頁。
13. 樓之岑、秦波(主編)(1995)。常用中藥材品種整理和質量研究第二冊。北京大學醫學出版社。839~882 頁。

地黃(REHMANNIA ROOT)

一、材料

購置於臺灣各地中藥店地黃藥材共 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 COSMOSIL 5C₁₈-AR-II 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 Duksan Pure Chemicals Co., Ltd；磷酸(85%)購置於台灣默克有限公司。

(二) 對照標準品

梓醇(Catalpol)、地黃苷 D (Rehmannioside D)購置於普思生物科技公司，純度皆 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

取本品經減壓乾燥後製成的粗粉末 7 份，每份準確稱取約 0.5g，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇、50%甲醇、25%甲醇、乙醇、50%乙醇、25%乙醇及水各 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梓醇及地黃苷 D 最大波峰面積為最佳地黃藥材萃取溶媒。

(二) 最佳萃取條件評估

準確稱取本品經減壓乾燥後製成的粗粉末 3 份，每份準確稱取約 0.5 g，其中 1 份置於 50 mL 離心管中，2 份分別置於 100 mL 圓底瓶中，準確加入 25%甲醇 25 mL，1 份離心管以超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，離心 10 分鐘(約 4000 × g)、另外 2 份圓底瓶以加熱迴流 30 分鐘及

60 分鐘處理，以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 25 mL 之容量瓶中，加 25% 甲醇至刻度，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梓醇及地黃苷 D 最大波峰面積為最佳地黃藥材萃取條件。

(三) 對照標準品溶液

1. 準確稱取對照標準品梓醇 2.0 mg，加 10 mL 的 25% 甲醇製成每 1 mL 含梓醇 200 μg 的對照標準品儲備溶液，並以 25% 甲醇稀釋至梓醇 50 $\mu\text{g/mL}$ 製成對照標準品溶液。
2. 準確稱取對照標準品地黃苷 D 2.0 mg，加 10 mL 的 25% 甲醇製成每 1 mL 含地黃苷 D 200 μg 的對照標準品儲備溶液，並以 25% 甲醇稀釋至地黃苷 D 25 $\mu\text{g/mL}$ 製成對照標準品溶液。

(四) 檢品溶液

準確稱取本品經減壓乾燥後製成的粗粉末約 0.5 g，置 100 mL 圓底瓶中，準確加入 25% 甲醇 25 mL，加熱迴流 30 分鐘，冷卻後以 No. 1 濾紙過濾，取濾液移入 25 mL 之容量瓶中，加 25% 甲醇至刻度，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梓醇及地黃苷 D 的含量，即得。

(六) 檢量線

1. 準確吸取梓醇對照標準品儲備溶液適量(200 $\mu\text{g/mL}$)，以 25% 甲醇稀釋成含梓醇分別為 200、100、50、25、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 。
2. 準確吸取地黃苷 D 對照標準品儲備溶液適量(200 $\mu\text{g/mL}$)，以 25% 甲醇稀釋成含地黃苷 D 分別為 200、100、50、25、5.0 $\mu\text{g/mL}$ 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

1. 以梓醇為 50 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以梓醇的波峰面積為指標，求出相對標準差。

2. 以地黃苷 D 為 25 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以地黃苷 D 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：取同一批市售地黃藥材粉末，依地黃藥材檢品溶液製備方法平行製備 5 份地黃藥材檢品溶液，進樣測定，以梓醇及地黃苷 D 的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售地黃藥材粉末，依地黃藥材檢品溶液製備方法製備地黃藥材檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，以梓醇及地黃苷 D 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

1. 取已知梓醇含量的地黃藥材粉末各 5 份，每份準確稱取約 0.1 g，分別加入 6.0 mL 的梓醇溶液(100 µg/mL)，並按檢品溶液製備方法操作測定。
2. 取已知地黃苷 D 含量的地黃藥材粉末各 5 份，每份準確稱取約 0.1 g，分別加入 13.0 mL 的地黃苷 D 溶液(10 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-II Column (250 × 4.6 mm, 5 µm)
2. 檢測波長：UV 210 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%磷酸(v/v, %)
0	1	99
12	1	99
15	4	96
20	20	80
30	20	80

(十二) 臺灣市售地黃藥材含量測定

取各 10 批市售地黃藥材依檢品溶液製備方法製備檢品溶液，各取 10 μL 連續 3 針注入 HPLC，所得平均波峰面積依附錄 I 公式計算樣品梓醇及地黃苷 D 的百分比含量。

(十三) 地黃檢品之 UPLC 分析條件

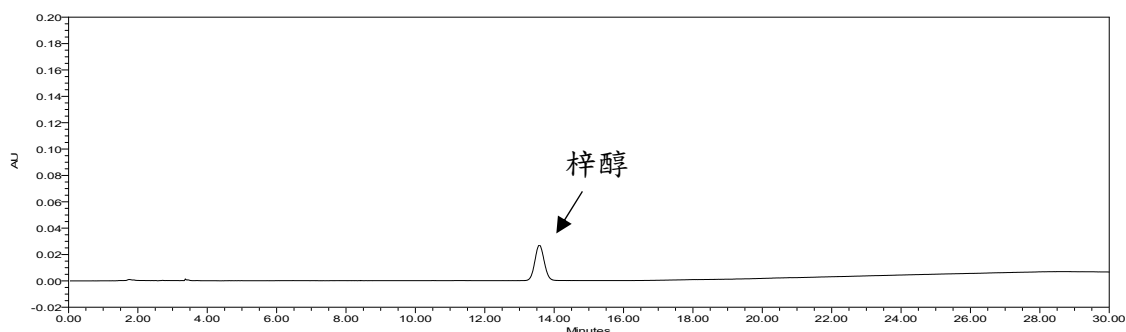
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 210 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	1	99
3	1	99
4	4	96
6	20	80
8	20	80

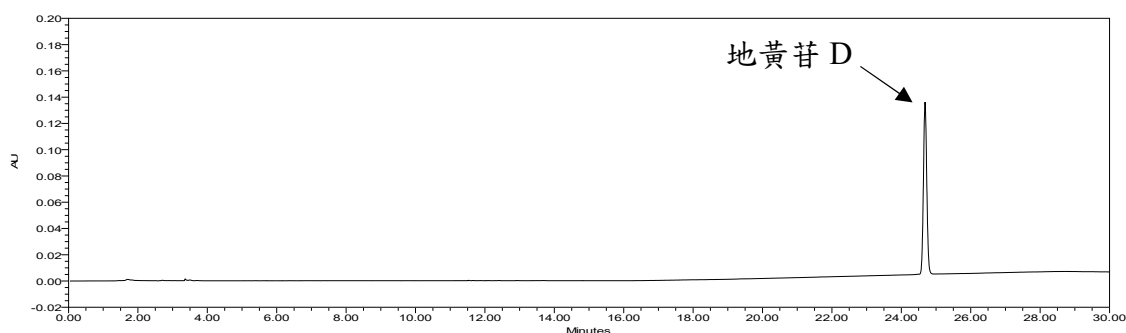
五、結果

(一) 對照標準品梓醇及地黃苷 D 之 HPLC 層析

於滯留時間 13.6 分鐘處顯示梓醇對照標準品波峰(圖一)；於滯留時間 24.7 分鐘處顯示地黃苷 D 對照標準品波峰(圖二)。



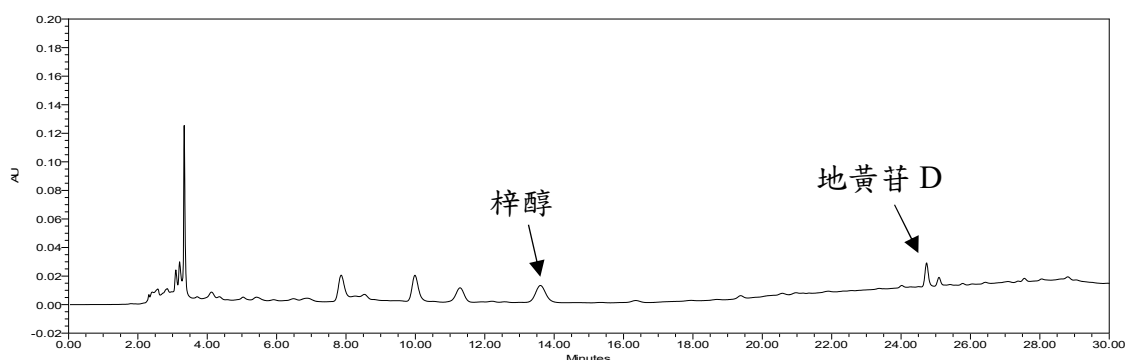
圖一、梓醇對照標準品溶液之 HPLC 層析圖



圖二、地黃苷 D 對照標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售地黃藥材檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 13.6 分鐘及 24.7 分鐘處顯示地黃藥材檢品中梓醇及地黃苷 D 之波峰(圖三)。梓醇分離率(R)為 3.5，拖尾因子(T)為 1.1；地黃苷 D 分離率(R)為 1.5，拖尾因子(T)為 1.2，均在系統適用性要求內。



圖三、市售地黃藥材檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒評估

以 25% 甲醇溶液為溶媒時，每克藥材重量所得梓醇及地黃苷 D 的波峰面積最大，顯示 25% 甲醇溶液為最佳萃取溶媒(表一)。

表一、不同萃取溶媒評估

溶媒	梓醇波峰面積	地黃苷 D 波峰面積	最佳萃取
甲醇	200642	93536	
50% 甲醇	178864	139561	
25% 甲醇	687527	139694	√
乙醇	18013	4571	
50% 乙醇	121517	90478	
25% 乙醇	205056	120696	
水	529877	104834	

(四) 最佳萃取條件評估

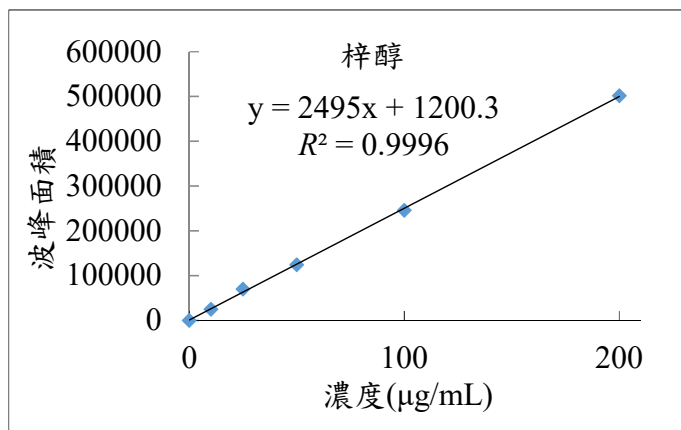
結果顯示經由加熱迴流方式有較佳的萃取率，且加熱迴流 30 分鐘與 60 分鐘差異不大，故選擇使用加熱迴流 30 分鐘(表二)。

表二、地黃藥材檢品萃取條件評估

25% 甲醇	梓醇波峰面積	地黃苷 D 波峰面積	最佳萃取
超音波振盪 30 分鐘	536938	114346	
加熱迴流 30 分鐘	686197	130574	√
加熱迴流 60 分鐘	688072	130846	

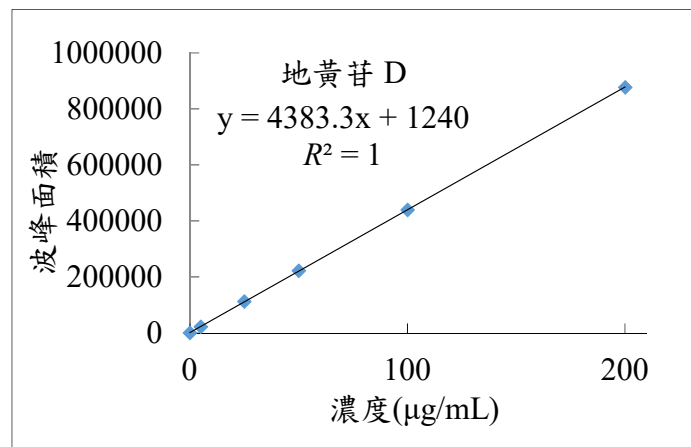
(五) 對照標準品梓醇檢量線

1. 經不同濃度梓醇(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 $y = 2495x + 1200.3$ ， $R^2 = 0.9996$ ，顯示濃度在 10–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖四)。



圖四、梓醇之檢量線圖

2. 經不同濃度地黃苷 D(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 $y = 4383.3x + 1240$ ， $R^2 = 1.0000$ ，顯示濃度在 5.0–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖五)。



圖五、地黃苷 D 之檢量線圖

表三、梓醇之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
梓醇	10–200	$y = 2495x + 1200.3$	0.9996
地黃苷 D	5.0–200	$y = 4383.3x + 1240$	1.0000

(六) 精密度試驗

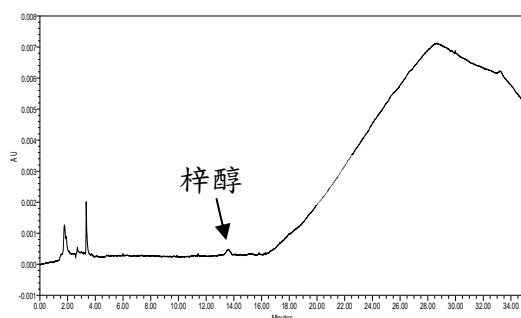
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，梓醇及地黃苷 D 精密度之相對標準差分別為 0.29% 及 0.21%，均在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

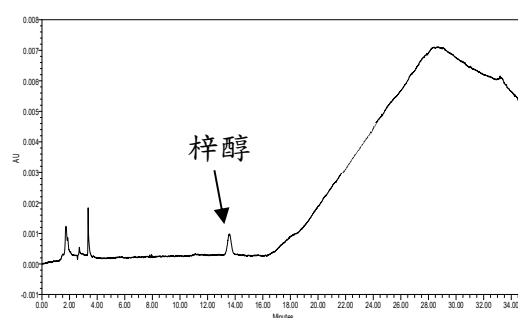
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，梓醇與地黃苷 D 重複性之相對標準差分別為 1.21% 及 2.67%，均在系統適用性要求內。梓醇與地黃苷 D 在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差分別為 0.14% 及 0.19%，變化差異小，若所有樣品分析都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

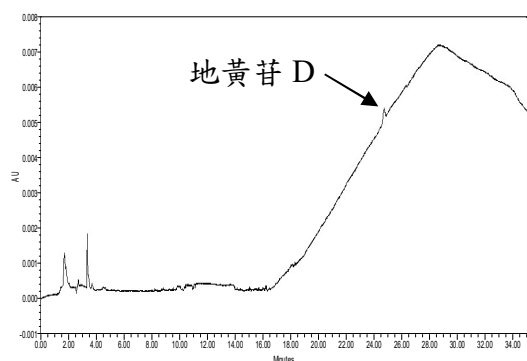
梓醇偵測極限為 1.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖六)，定量極限為 5.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖七)。地黃苷 D 偵測極限為 0.5 $\mu\text{g/mL}$ (圖八)，定量極限為 1.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖九)。



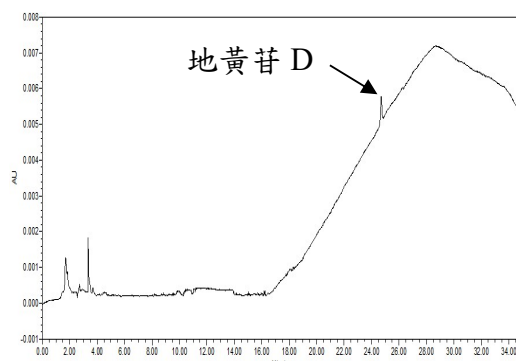
圖六、梓醇之偵測極限層析圖



圖七、梓醇之定量極限層析圖



圖八、地黃苷 D 之偵測極限層析圖



圖九、地黃苷 D 之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	梓醇		地黃苷 D	
	濃度	R.S.D. (%)	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	50 µg/mL	0.29	25 µg/mL	0.21
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.5)	1.21	檢品溶液(No.5)	2.67
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.5)	0.14	檢品溶液(No.5)	0.19
偵測極限 (n=1)	1.0 µg/mL	-	0.5 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	5.0 µg/mL	-	1.0 µg/mL	-

(九) 添加回收率試驗

梓醇平均添加回收率為 103.3%，相對標準偏差為 2.41%(表五)。地黃苷 D 平均添加回收率為 95.2%，相對標準偏差為 4.19%(表六)。

表五、梓醇添加回收率

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	0.6481	0.60	1.2766	104.76	103.3	2.41
2	0.1008	0.6494	0.60	1.2888	106.58		
3	0.1002	0.6455	0.60	1.2583	102.14		
4	0.1002	0.6455	0.60	1.2631	102.94		
5	0.1005	0.6474	0.60	1.2478	100.06		

表六、地黃苷 D 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	0.1441	0.13	0.2646	92.67	95.2	4.19
2	0.1008	0.1444	0.13	0.2763	101.46		
3	0.1002	0.1436	0.13	0.2652	93.60		
4	0.1002	0.1436	0.13	0.2626	91.59		
5	0.1005	0.1440	0.13	0.2698	96.80		

(十) 臺灣市售地黃藥材含量測定

10 批地黃藥材之含量測定結果(乾燥品)如表七所示，梓醇的含量為 0.228–1.421%，地黃苷 D 的含量為 0.114–0.165%。建議地黃藥材指標成分梓醇含量不得少於 0.2%；地黃苷 D 的含量不得少於 0.1%。理論板數按梓醇波峰計算應不低於 5000 (實際值為 13090)；理論板數按地黃苷 D 波峰計算應不低於 5000 (實際值為 95570)。

表七、臺灣市售地黃藥材檢品之梓醇的含量

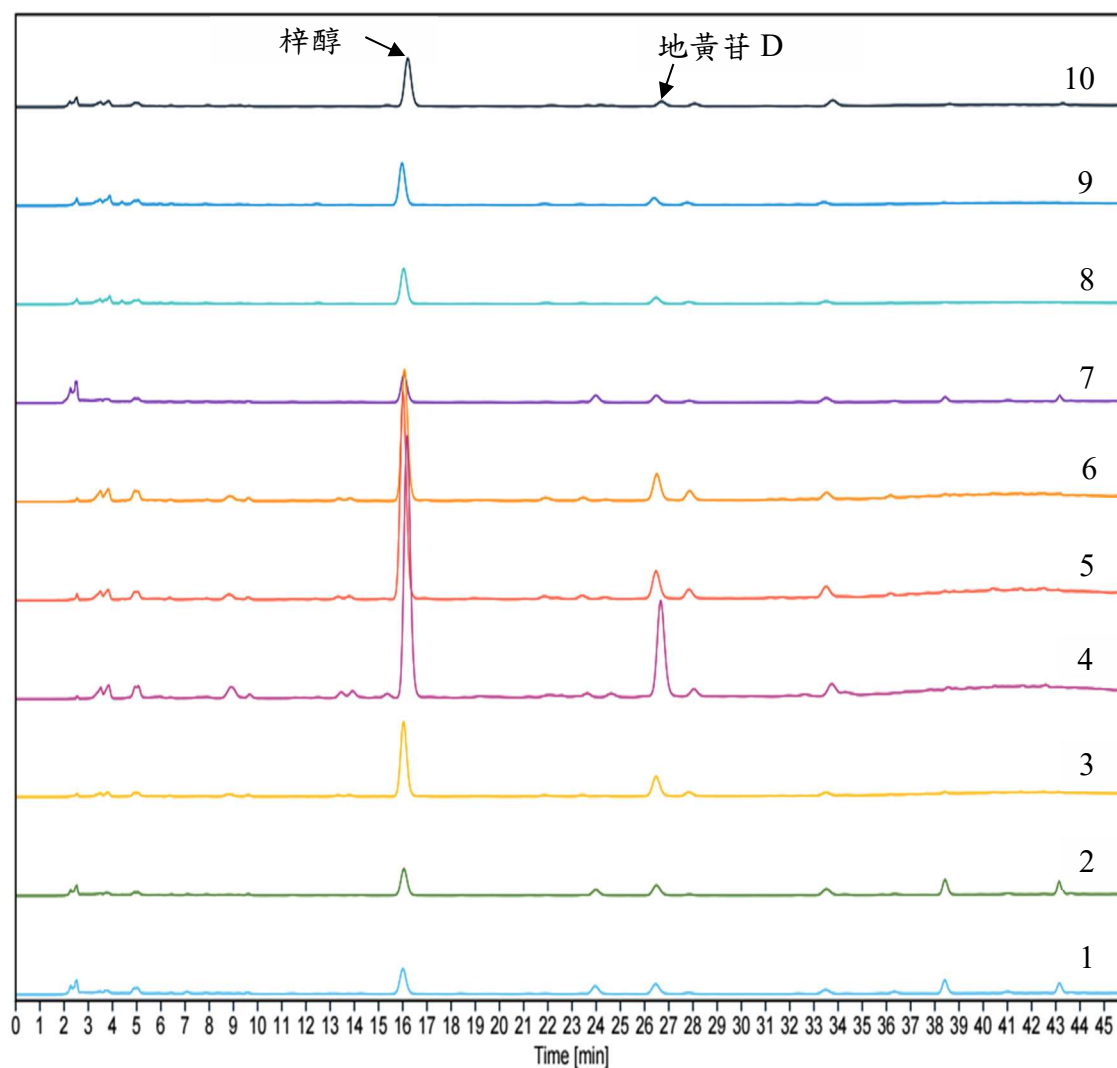
藥材編號(No.)	梓醇含量(%)	地黃苷 D 含量(%)	總含量(%)
1 (NCB-1)	0.228	0.114	0.342
2 (NRA)	0.527	0.141	0.668
3 (NRB)	0.282	0.121	0.403
4 (CA-1)	0.680	0.130	0.810
5 (CA-2)	0.710	0.144	0.854
6 (CE)	0.875	0.165	1.040
7 (CH-1)	0.736	0.122	0.859
8 (SK1-A)	0.309	0.126	0.435
9 (SK3-A)	1.421	0.143	1.564
10 (SK4-A)	1.198	0.159	1.357
平均值±S.D.	0.697±0.392	0.137±0.017	0.833±0.404

(十一) 地黃藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

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

1. 層析管：COSMOSIL 5C₁₈-AR-II Packed Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 210 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：

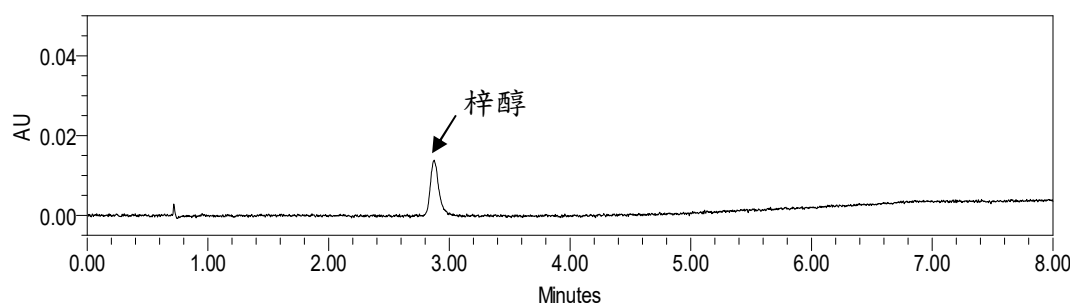
時間(min)	甲醇(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	1	99
12	1	99
15	4	96
20	20	80
30	20	80



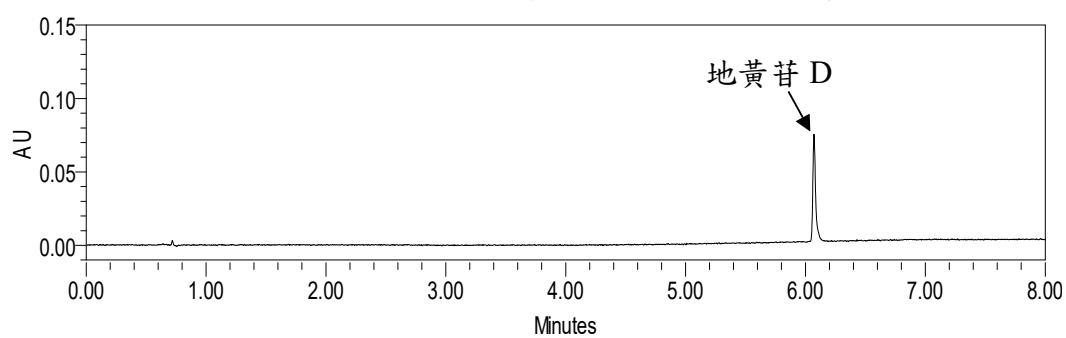
圖十、10 批地黃藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 對照標準品之 UPLC 層析

於滯留時間 2.87 分鐘處顯示梓醇對照標準品波峰(圖十一)；於滯留時間 6.07 分鐘處顯示地黃苷 D 對照標準品波峰(圖十二)。



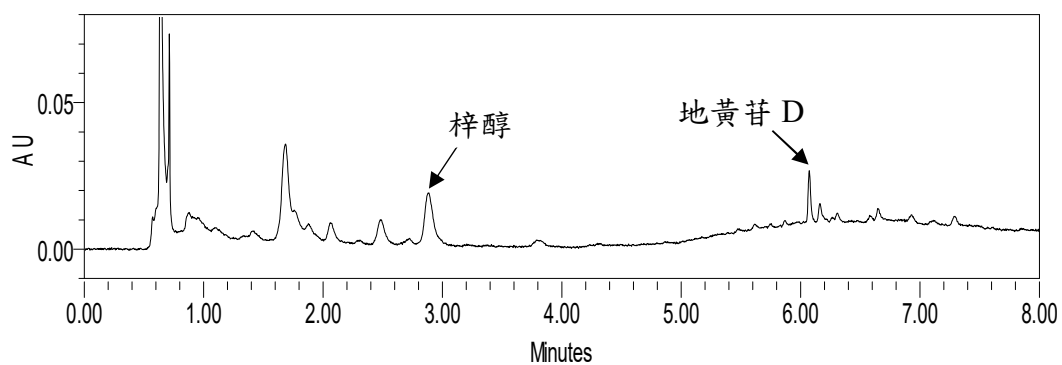
圖十一、梓醇對照標準品溶液之 UPLC 層析圖



圖十二、地黃苷 D 對照標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售地黃藥材檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 2.88 及 6.07 分鐘處顯示梓醇對照標準品波峰(圖十三)。

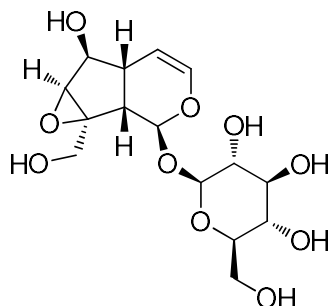


圖十三、市售地黃藥材檢品之 UPLC 層析圖

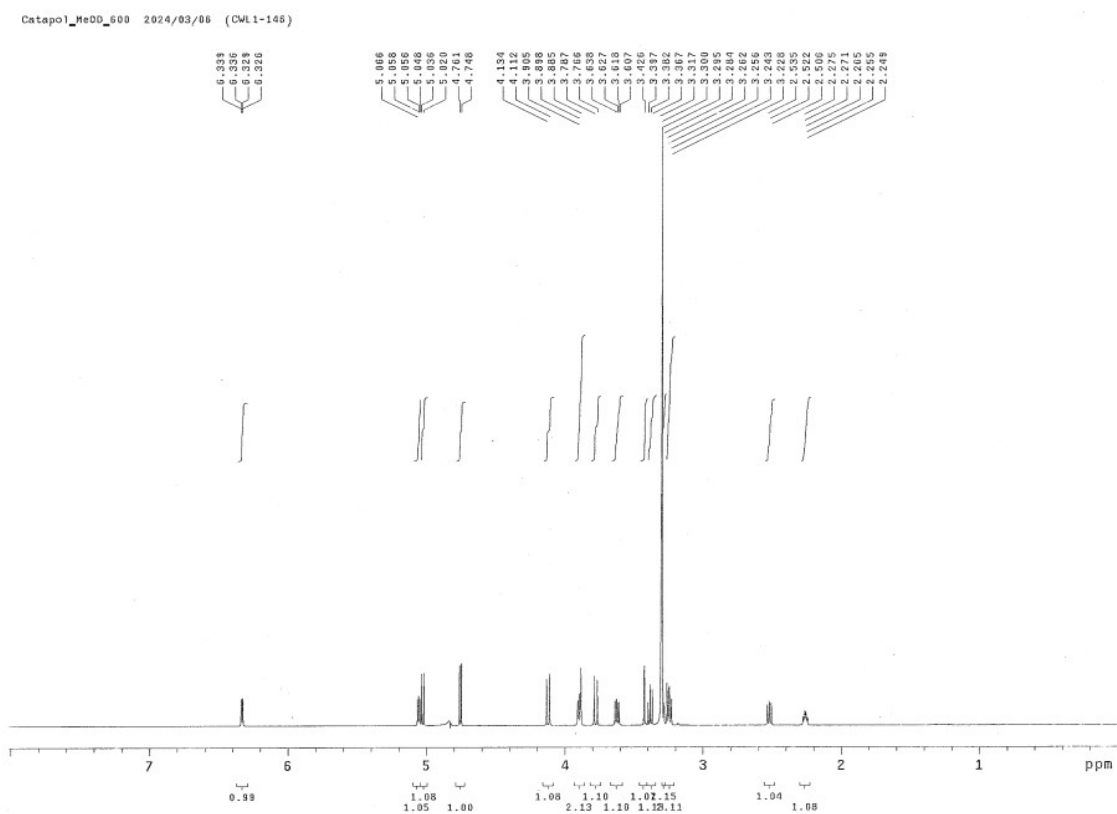
(十四) 梓醇的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{15}H_{22}O_{10}$ ；分子量：362.3；熔點：203–205 °C；白色結晶固體。

(十五) 梓醇的結構

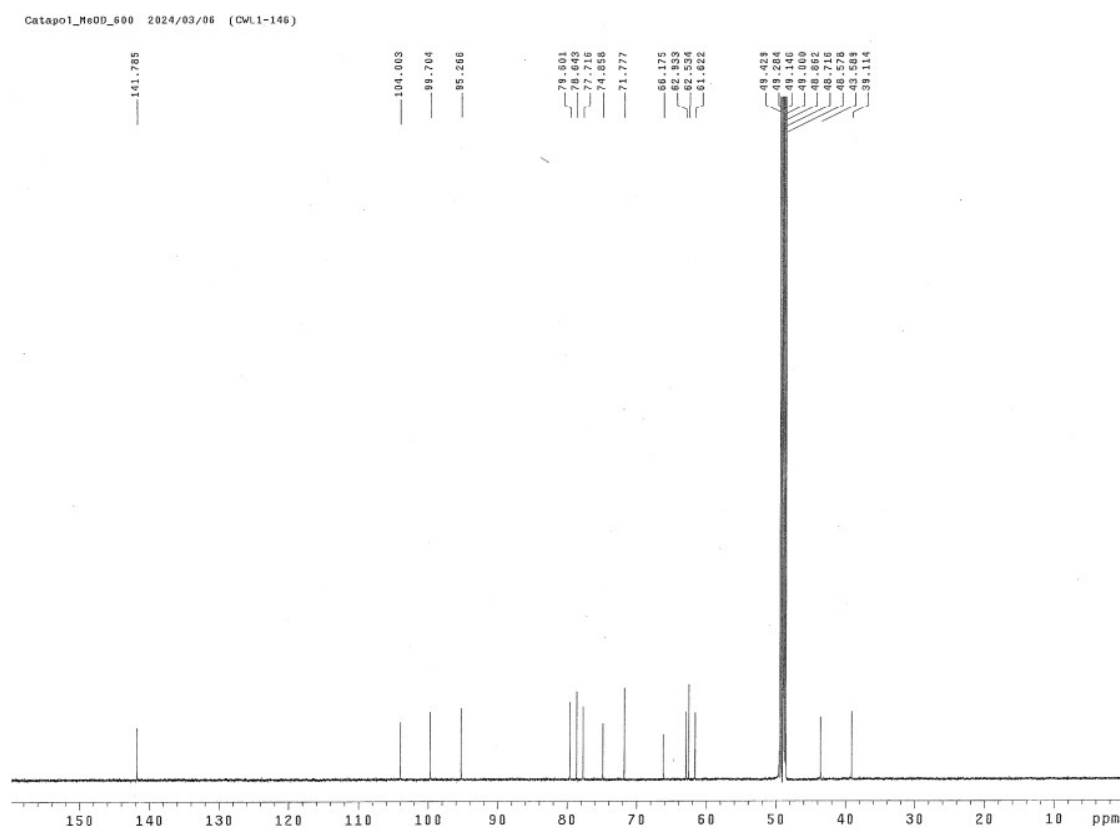


(十六) 梓醇的 1H NMR 圖譜



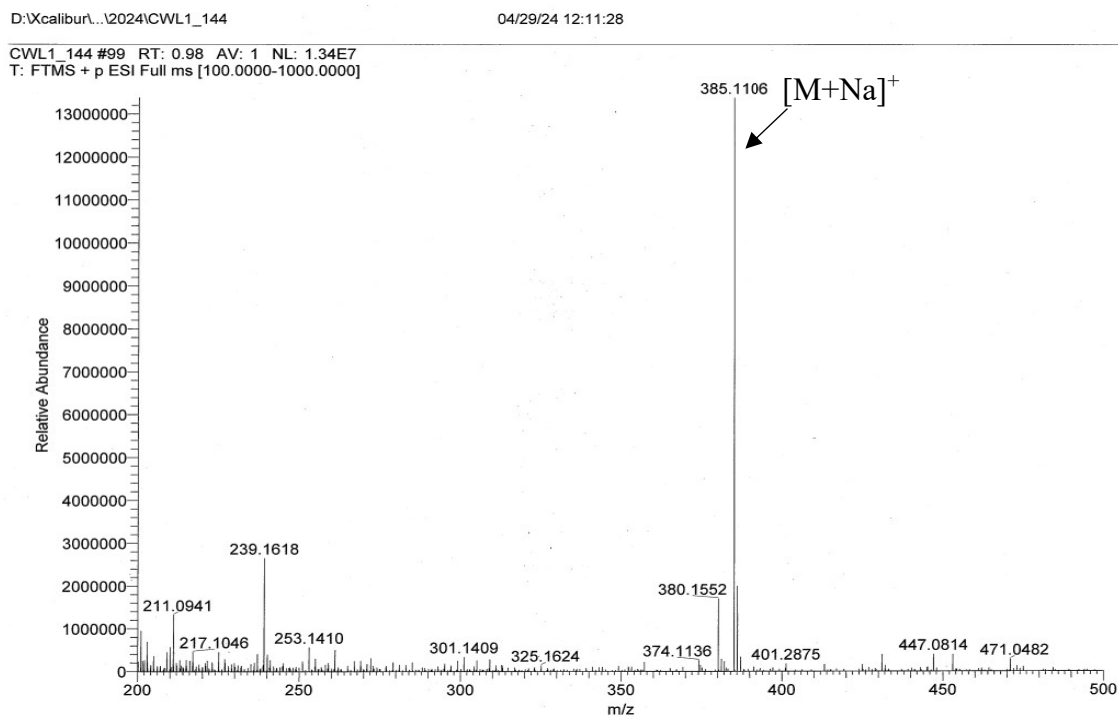
圖十四、梓醇的 1H NMR 圖譜(CD_3OD)

(十七) 梓醇的 ^{13}C NMR 圖譜



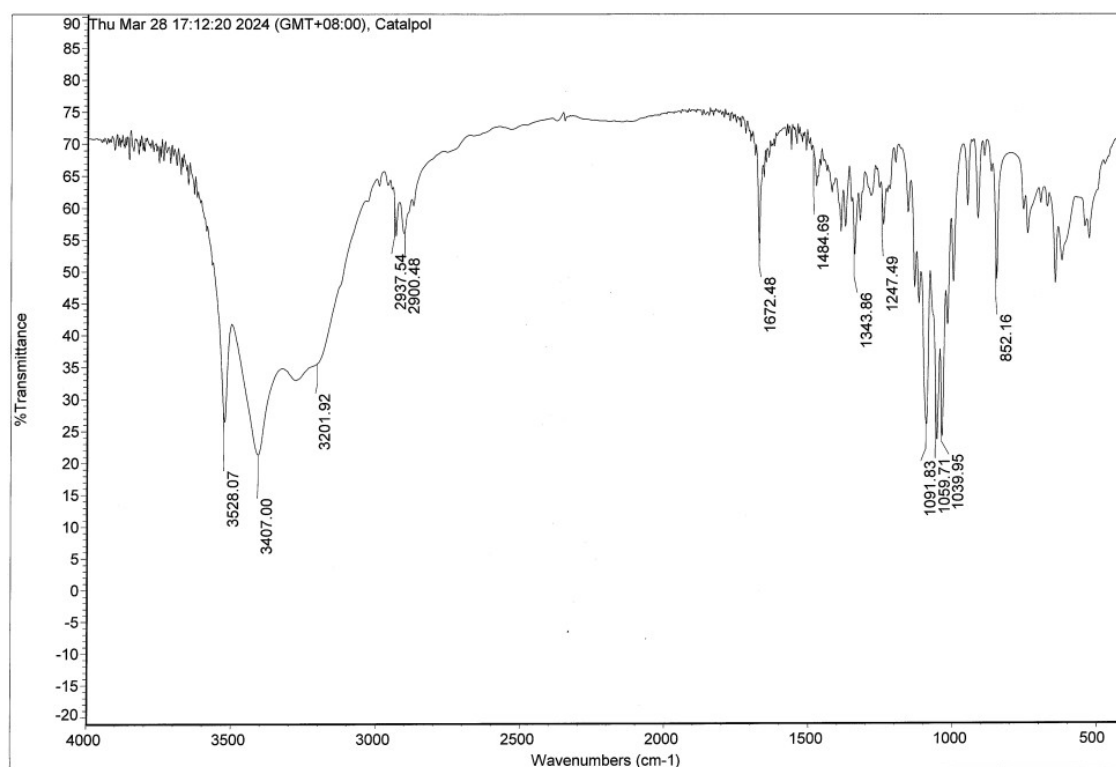
圖十五、梓醇的 ^{13}C NMR 圖譜(CD_3OD)

(十八) 梓醇的 ESI-MS 圖譜



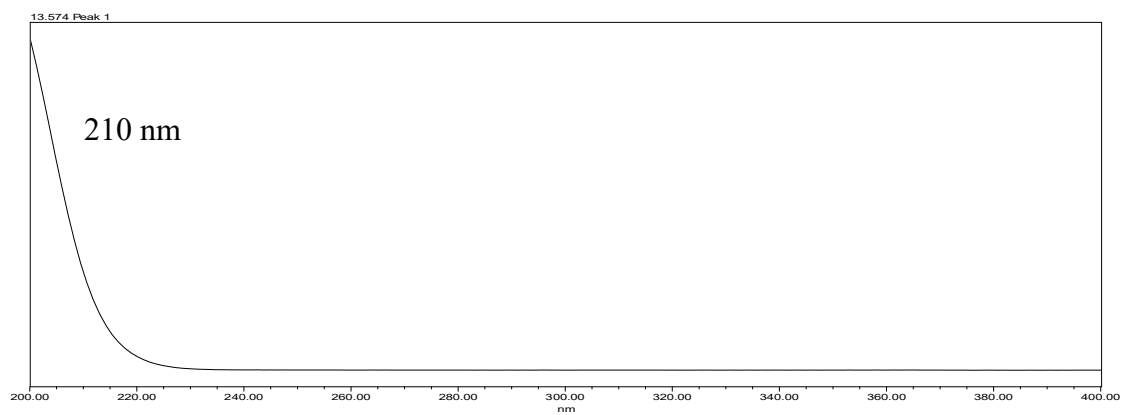
圖十六、梓醇的 ESI-MS 圖譜

(十九) 梓醇的 FTIR 圖譜



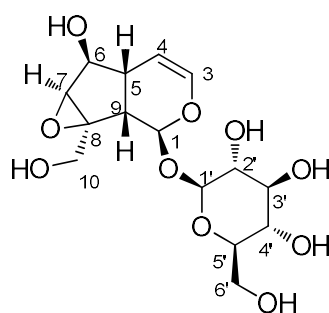
圖十七、梓醇的 FTIR 圖譜

(二十) 梓醇的 UV 圖譜



圖十八、梓醇的 UV 圖譜

(二十一) 梓醇的氫、碳化學位移



梓醇

表八、梓醇的氫、碳化學位移(CD₃OD)

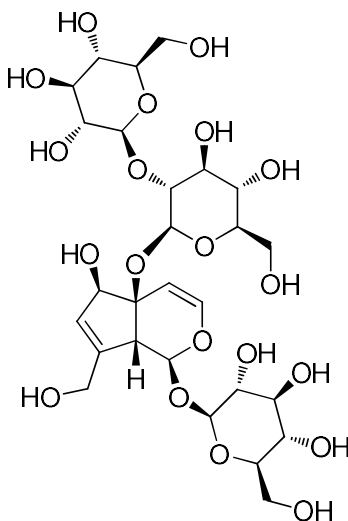
position	δ_H (600 MHz) ^a	δ_C (150 MHz)
1	5.03 (d, 9.6)	95.3
3	6.33 (dd, 6.0, 1.8)	141.8
4	5.06 (dd, 6.0, 4.8)	104.0
5	2.24–2.28 (m)	39.1
6	3.89 (d, 1.8)	79.6
7	3.43 (s)	62.5
8	-	66.2
9	2.52 (dd, 9.6, 1.8)	43.6
10	3.78 (d, 12.6), 4.12 (d, 12.6)	61.6
1'	4.75 (d, 7.8)	99.7
2'	3.23–3.25 (m)	74.9
3'	3.37 (t, 7.2)	77.7
4'	3.24–3.26 (m)	71.8
5'	3.28–3.30 (m)	78.6
6'	3.62 (dd, 12.0, 6.6), 3.90 (dd, 12.0, 1.8)	62.9

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

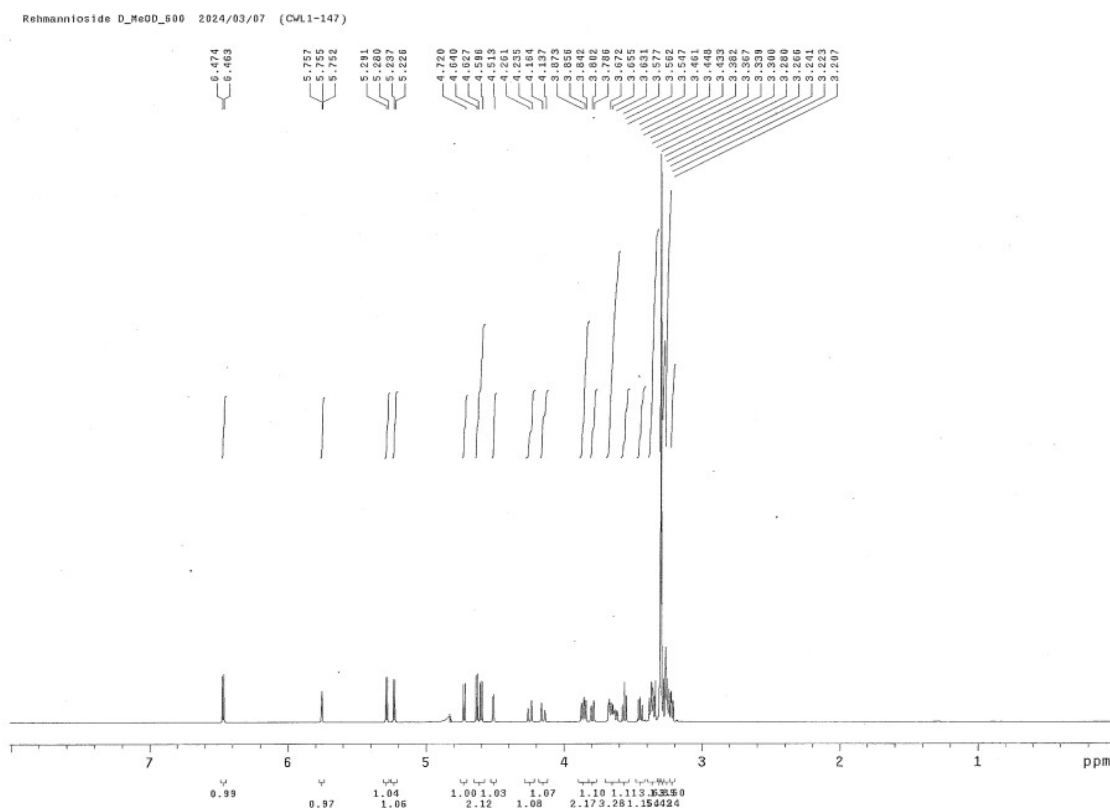
(二十二) 地黃苷 D 的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{27}H_{42}O_{20}$ ；分子量：686.6；熔點：207–209 °C；白色結晶粉末。

(二十三) 地黃苷 D 的結構

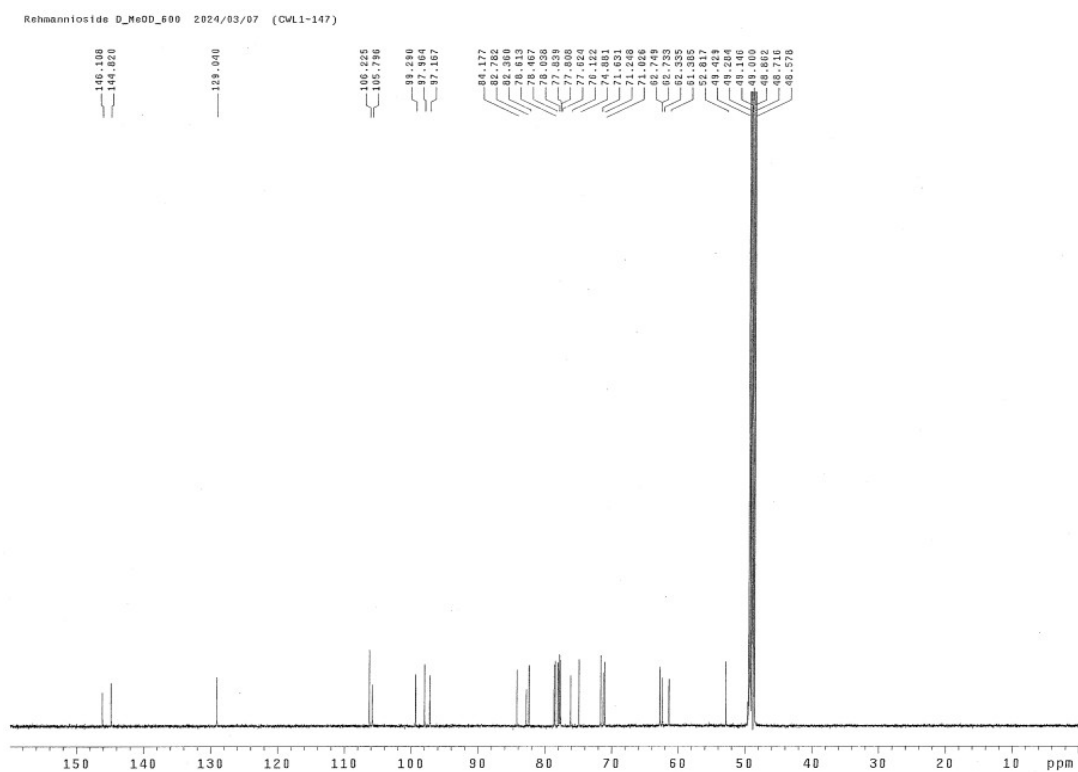


(二十四) 地黃苷 D 的 1H NMR 圖譜



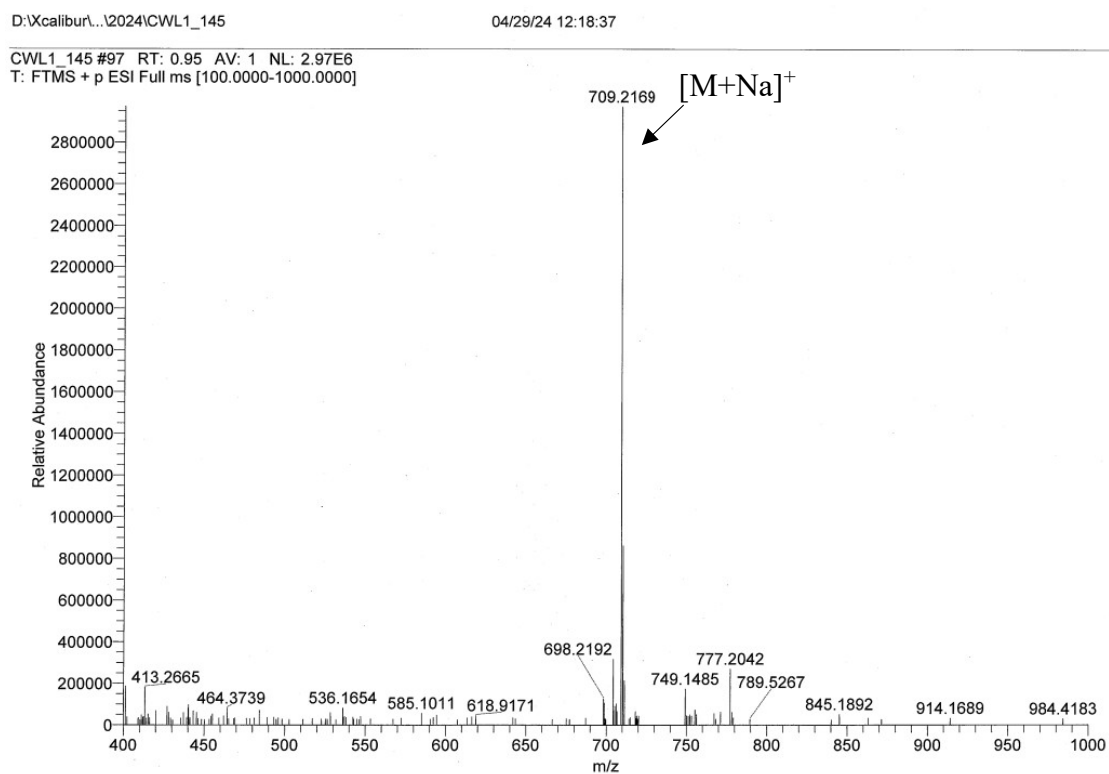
圖十九、地黃苷 D 的 1H NMR 圖譜(CD_3OD)

(二十五) 地黃苷 D 的 ^{13}C NMR 圖譜



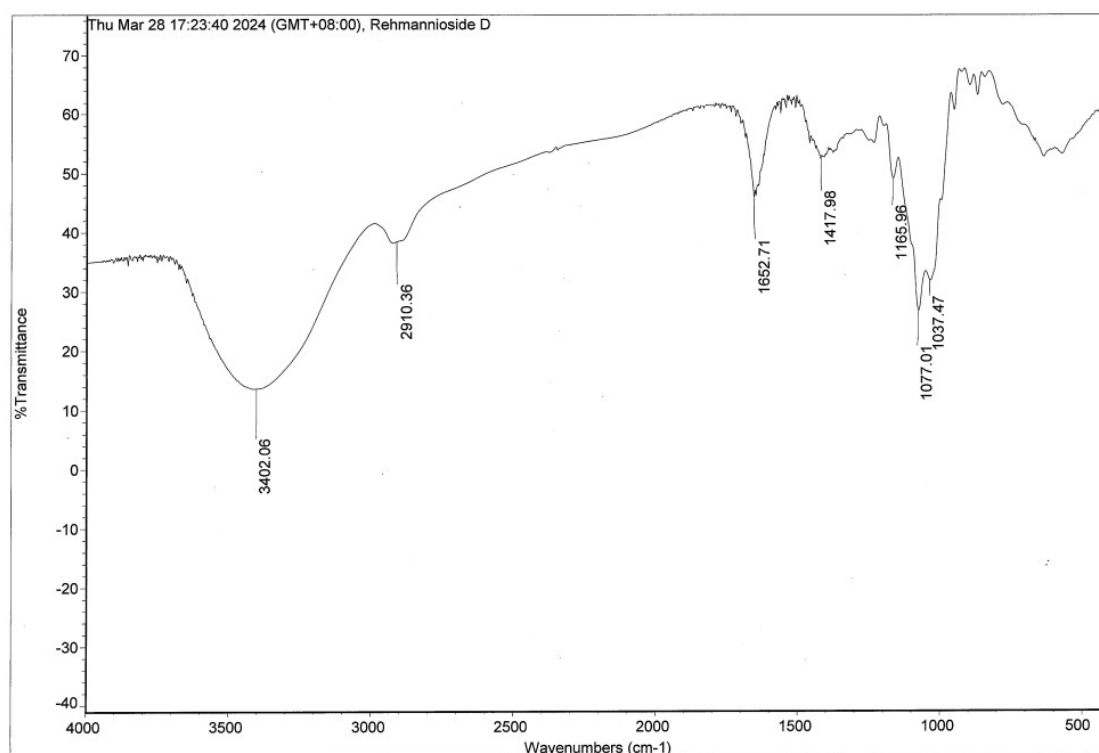
圖二十、地黃苷 D 的 ^{13}C NMR 圖譜(CD_3OD)

(二十六) 地黃苷 D 的 ESI-MS 圖譜



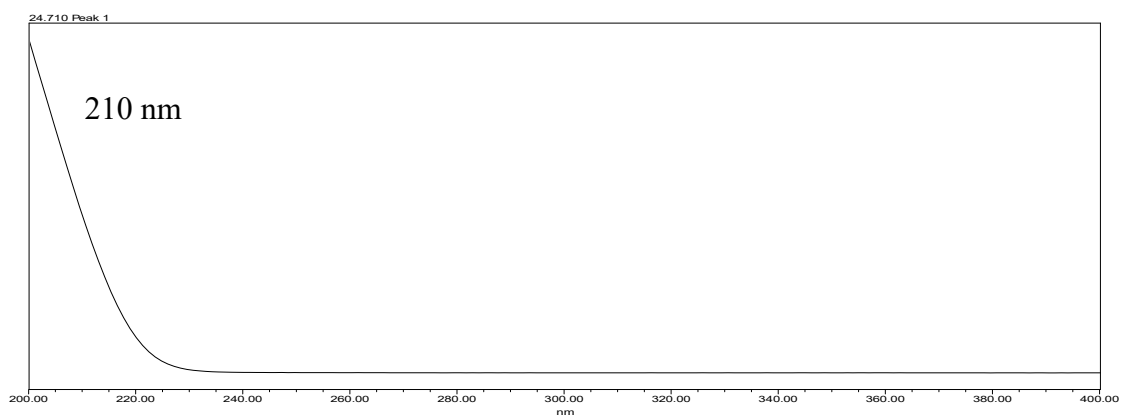
圖二十一、地黃苷 D 的 ESI-MS 圖譜

(二十七) 地黃苷 D 的 FTIR 圖譜



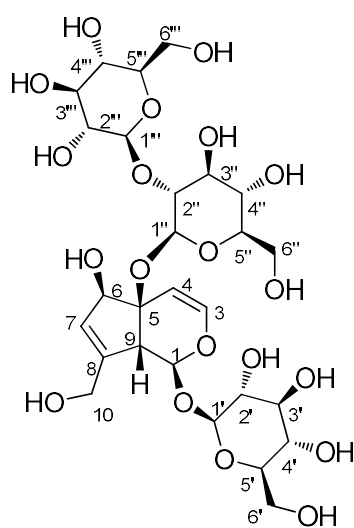
圖二十二、地黃苷 D 的 FTIR 圖譜

(二十八) 地黃苷 D 的 UV 圖譜



圖二十三、地黃苷 D 的 UV 圖譜

(二十九) 地黃苷 D 的氫、碳化學位移



地黃苷 D

表七、地黃苷 D 的氫、碳化學位移(CD₃OD)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	5.29 (d, 6.6)	97.2
3	6.47 (d, 6.6)	144.8
4	5.23 (d, 6.6)	105.8
5	-	82.8
6	4.51 (d, 0.6)	82.4
7	5.76 (t, 1.2)	129.0
8	-	146.1
9	3.28–3.30 (m)	52.8
10	4.15 (d, 15.6), 4.25 (d, 15.6)	61.4
1'	4.63 (d, 7.8)	99.3
2'	3.21–3.24 (m)	76.1
3'	3.25–3.27 (m)	78.6
4'	3.28–3.30 (m)	71.3
5'	3.34–3.38 (m)	77.8
6'	3.65–3.68 (m), 3.84–3.88 (m)	62.8*
1''	4.73 (d, 7.8)	98.0
2''	3.45 (dd, 9.0, 7.8)	84.2
3''	3.56 (t, 9.0)	78.0
4''	3.34–3.38 (m)	71.0
5''	3.34–3.38 (m)	77.8
6''	3.79 (dd, 12.0, 2.4), 3.65–3.68 (m)	62.3
1'''	4.60 (d, 7.8)	106.2
2'''	3.21–3.24 (m)	74.9
3'''	3.25–3.27 (m)	78.5
4'''	3.25–3.27 (m)	71.6

5''	3.25–3.27 (m)	77.6
6''	3.61–3.64 (m), 3.84–3.88 (m)	62.7*

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

地黃

生藥名：REHMANNIAE RADIX

英文名：Rehmannia Root

基 原：本品為玄參科 Scrophulariaceae 植物地黃 *Rehmannia glutinosa* Libosch.之新鮮或乾燥塊根。

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 80% 甲醇 50 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，濾液蒸乾，殘渣加水 5 mL 使之溶解，用水飽和的正丁醇振搖萃取 4 次，每次 10 mL，合併正丁醇溶液，蒸乾，殘渣加甲醇 2 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 2.0 g，加甲醇 20 mL，加熱迴流 1 小時，放冷，過濾，蒸乾，殘渣加甲醇 5 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 3】《香港中藥材標準第三冊》

—取本品粉末 5.0 g，加甲醇 100 mL，振搖 30 分鐘，過濾，濾液蒸乾，殘渣加水 20 mL 使之溶解，用乙酸乙酯振搖萃取 3 次，每次 20 mL，合併乙酸乙酯溶液，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 50% 甲醇 10 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，作為檢品溶液。

(二) 對照標準品 取梓醇(Catalpol)，地黃苷 D (Rehmannioside D)，毛蕊花糖
溶 液 苷(Verbascoside)對照標準品，加甲醇製成每 1 mL 各含 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》

—乙酸乙酯：甲醇：甲酸 (16：0.5：2)

【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》

—三氯甲烷：甲醇：水 (14：6：1)

【展開劑 3】《香港中藥材標準第三冊》

—二氯甲烷：甲醇 (26：14)

【展開劑 4】(自行開發)✓

—正丁醇：甲酸：水 (4：2：1)

(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 以 10%硫酸乙醇試液($\text{H}_2\text{SO}_4/\text{EtOH TS}$)噴霧後，105 °C加熱至條帶顯色清晰，於紫外光(365nm)下檢視。

二、萃法選擇及濃度測試

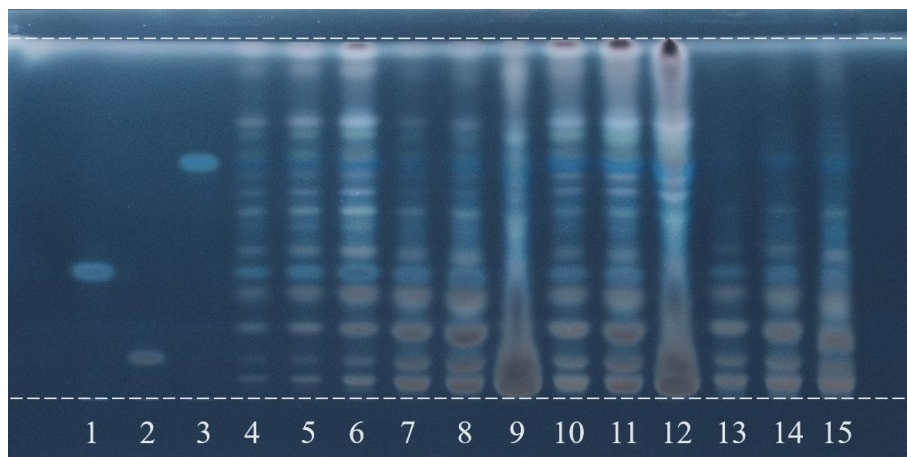
實驗日期：113/05/07

相對溼度(RH)：57%

溫度(RT)：23.5 °C

【展開劑 4】(自行開發)——正丁醇：甲酸：水 (4：2：1)

——HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出



編號	名稱	點注量
1	梓醇(1.0 mg/mL)	2 μ L
2	地黃苷 D (1.0 mg/mL)	2 μ L
3	毛蕊花糖苷(1.0 mg/mL)	2 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
13, 14, 15	檢品溶液 4 【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梓醇，地黃苷 D 及毛蕊花糖苷，因萃取方法簡便，故採用自行開發之【萃取方法 4】。

建議點注量：梓醇 2 μ L，地黃苷 D 2 μ L，毛蕊花糖苷 2 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：113/05/07

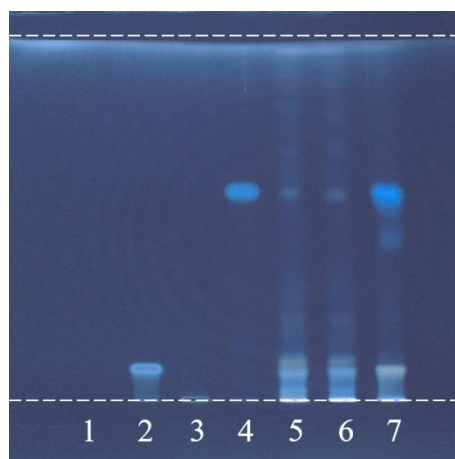
相對溼度(RH)：57%

溫度(RT)：23.5 °C

【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版 2021》《中華人民共和國藥典 2020》——乙酸

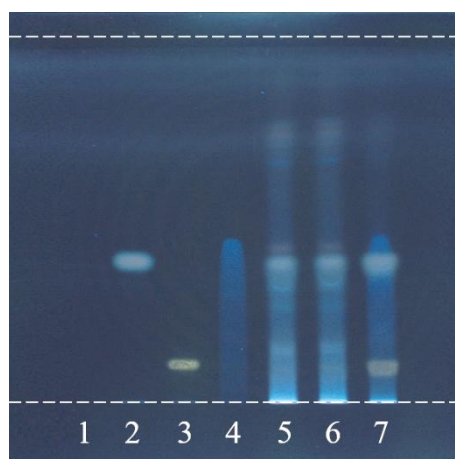
乙酯：甲醇：甲酸 (16：0.5：2)

【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出(梓醇 R_f 值 <0.1 ，地黃苷 D R_f 值為 0，毛蕊花糖苷 R_f 值為 0.45)



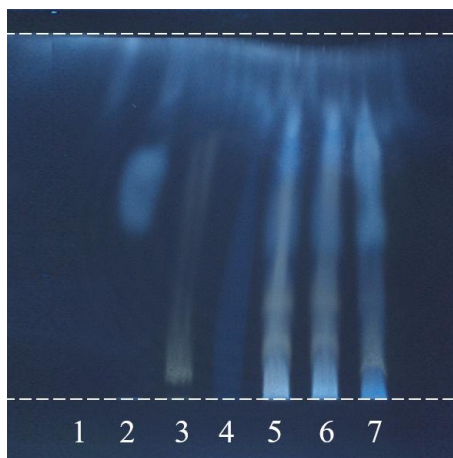
【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》——三氯甲烷：甲醇：水 (14：6：1)

【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出(梓醇 R_f 值為 0.39，地黃苷 D R_f 值為 0.17，毛蕊花糖苷 R_f 值為 0.46)



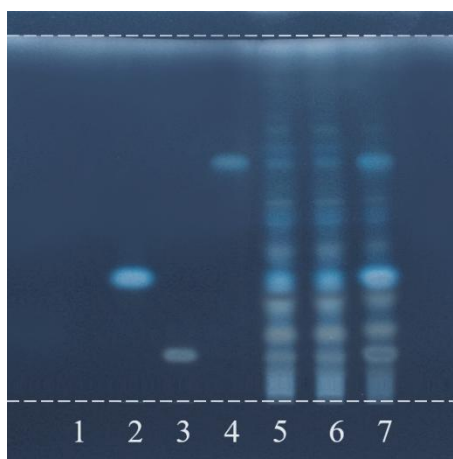
【展開劑 3】《香港中藥材標準第三冊》——二氯甲烷：甲醇 (26：14)

【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出(梓醇 R_f 值無法判斷，地黃苷 D R_f 值無法判斷，毛蕊花糖苷 R_f 值無法判斷)



【展開劑 4】(自行開發)——正丁醇：甲酸：水 (4：2：1)

【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出(梓醇 R_f 值為 0.37，地黃苷 D R_f 值為 0.15，毛蕊花糖苷 R_f 值為 0.65)



- | | |
|---------|----------|
| 1：Blank | 4：毛蕊花糖苷 |
| 2：梓醇 | 5：檢品溶液 4 |
| 3：地黃苷 D | 6：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，顯示梓醇，地黃苷 D 及毛蕊花糖苷的 R_f 值適中，分離佳，故採用【展開劑 4】。

四、觀察方式選擇

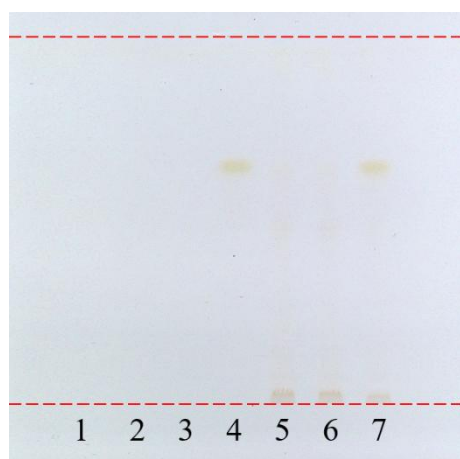
實驗日期：113/05/07

相對溼度(RH)：57%

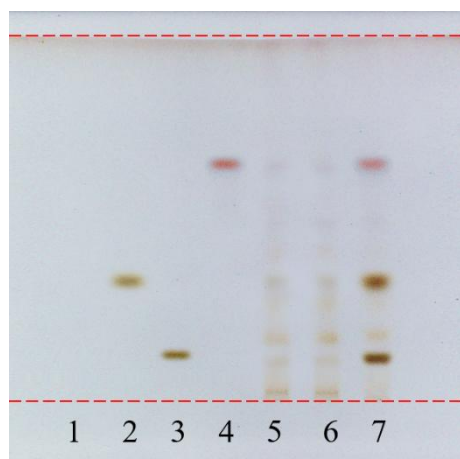
溫度(RT)：23.5 °C

【展開劑 4】(自行開發)——正丁醇：甲酸：水 (4：2：1)

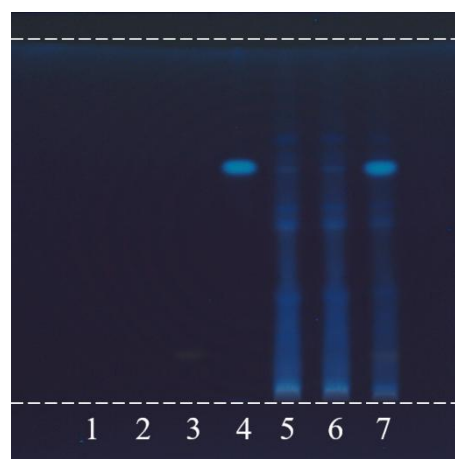
【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC 可
見光檢出



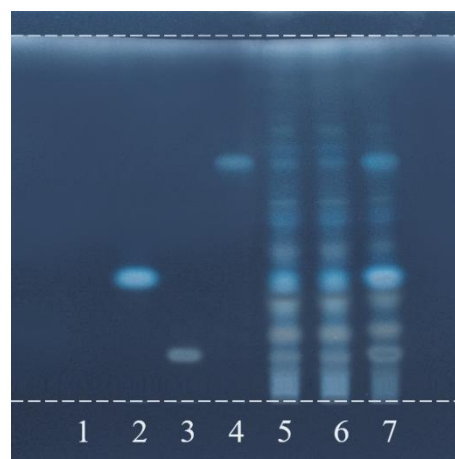
【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC
10%硫酸/乙醇顯色後可見光檢出



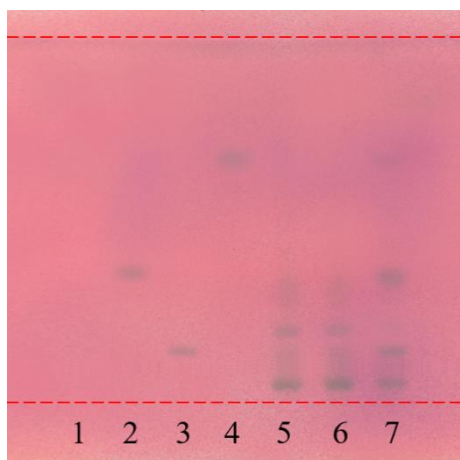
【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC 紫
外光(365 nm)檢出



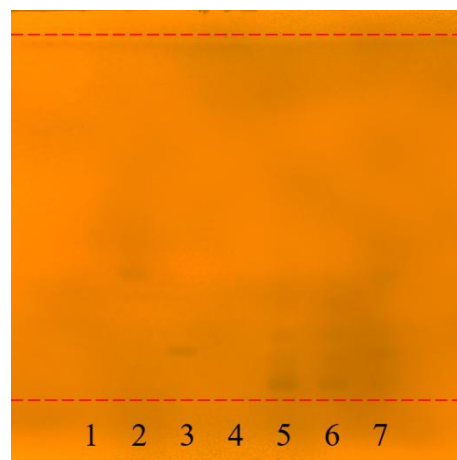
【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC
10%硫酸/乙醇顯色後紫外光(365 nm)
檢出✓



【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC 茴
香醛-硫酸試液顯色後可見光檢出



【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC 茴
香醛-硫酸試液顯色後可見光檢出



- | | |
|---------|----------|
| 1：Blank | 4：毛蕊花糖苷 |
| 2：梓醇 | 5：檢品溶液 4 |
| 3：地黃苷 D | 6：Spike |

建議觀察方式：以 10%硫酸/乙醇試液顯色後於紫外光(365 nm)檢視下，有較明顯分離之條帶。

五、十批地黃藥材樣品檢測

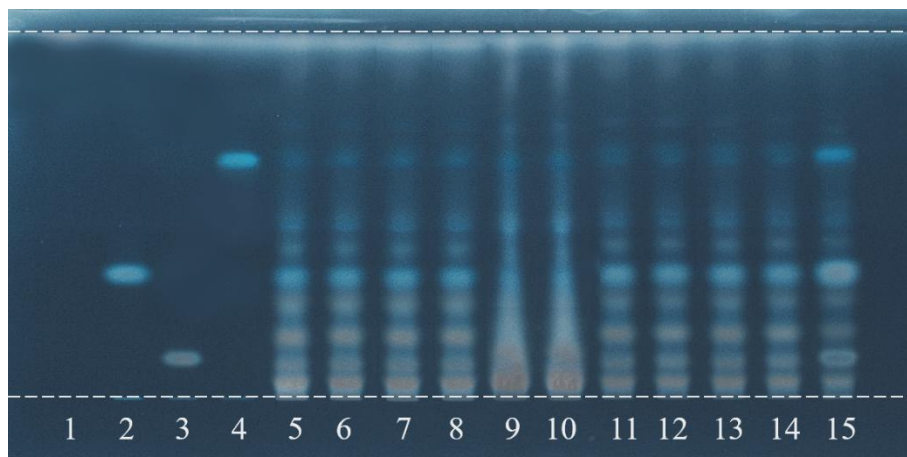
實驗日期：113/05/07

相對溼度(RH)：57%

溫度(RT)：23.5 °C

【展開劑 4】(自行開發)——正丁醇：甲酸：水 (4：2：1)

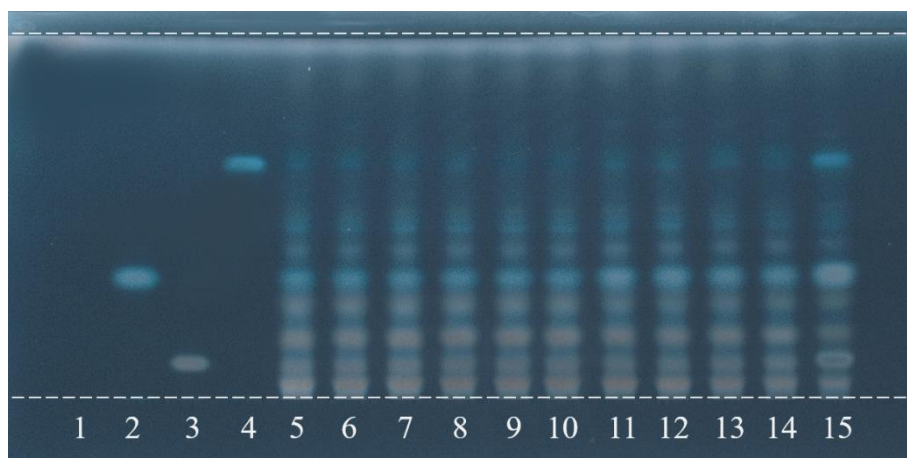
【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出



1	Blank	7, 8	檢品溶液 2 (NRA)
2	梓醇(1.0 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 3 (SK3A)
3	地黃苷 D (1.0 mg/mL)	11, 12	檢品溶液 4 (CA1)
4	毛蕊花糖苷(1.0 mg/mL)	13, 14	檢品溶液 5 (CA2)
5, 6	檢品溶液 1 (NCB-1)	15	Spike (檢品溶液 4)

【展開劑 4】(自行開發)——正丁醇：甲酸：水 (4：2：1)

【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出



1	Blank	7, 8	檢品溶液 7 (CE)
2	梓醇(1.0 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 8 (CH1)
3	地黃苷 D (1.0 mg/mL)	11, 12	檢品溶液 9 (SK1A)
4	毛蕊花糖苷(1.0 mg/mL)	13, 14	檢品溶液 10 (SK4A)
5, 6	檢品溶液 6 (NRB)	15	Spike (檢品溶液 4)

結論與建議：以【萃取方法 4】及【展開劑 4】方式，顯示分離與檢出梓醇，地黃苷 D 及毛蕊花糖苷的效果較佳，以 10%硫酸/乙醇試液顯色，於紫外光(365 nm)下檢視較佳。

地黃飲片(REHMANNIA ROOT)

一、材料

購置於臺灣各地中藥店地黃飲片共 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 COSMOSIL 5C₁₈-AR-II 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 × 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 Duksan Pure Chemicals Co., Ltd；磷酸(85%)購置於台灣默克有限公司。

(二) 對照標準品

梓醇(Catalpol)、地黃苷 D (Rehmannioside D)購置於普思生物科技公司，純度皆 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

地黃飲片萃取溶媒同地黃藥材。

(二) 最佳萃取次數評估

地黃飲片最佳萃取次數同地黃藥材。

(三) 對照標準品溶液

1. 準確稱取對照標準品梓醇 2.0 mg，加 10 mL 的 25%甲醇製成每 1 mL 含梓醇 200 μg 的對照標準品儲備溶液，並以 25%甲醇稀釋至梓醇 50 μg/mL 製成對照標準品溶液。
2. 準確稱取對照標準品地黃苷 D 2.0 mg，加 10 mL 的 25%甲醇製成每 1 mL 含地黃苷 D 200 μg 的對照標準品儲備溶液，並以 25%甲醇稀釋至地黃苷 D 25 μg/mL 製成對照標準品溶液。

(四) 檢品溶液

準確稱取本品經減壓乾燥後製成的粗粉末約 0.5 g，置 100 mL 圓底瓶中，準確加入 25% 甲醇 25 mL，加熱迴流 30 分鐘，冷卻後以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 25 mL 之容量瓶中，加 25% 甲醇至刻度，搖勻再過濾 (Syringe filter, PTFE 0.45 μ m)，即得。

(五) 測定法

準確吸取對照標準品溶液、檢品溶液 10 μ L，注入 HPLC，測定，用標準曲線計算溶液中梓醇及地黃苷 D 的含量，即得。

(六) 檢量線

1. 準確吸取梓醇對照標準品儲備溶液適量(200 μ g/mL)，以 25% 甲醇稀釋成含梓醇分別為 200、100、50、25、10 μ g/mL 的對照標準品溶液。以上溶液各取 10 μ L 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 。
2. 準確吸取地黃苷 D 對照標準品儲備溶液適量(200 μ g/mL)，以 25% 甲醇稀釋成含地黃苷 D 分別為 200、100、50、25、5.0 μ g/mL 的對照標準品溶液。以上溶液各取 10 μ L 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

1. 以梓醇為 50 μ g/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以梓醇的波峰面積為指標，求出相對標準差。
2. 以地黃苷 D 為 25 μ g/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以地黃苷 D 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：取同一批市售地黃飲片粉末，依地黃飲片檢品溶液製備方法平行製備 5 份地黃飲片檢品溶液，進樣測定，以梓醇及地黃苷 D 的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售地黃飲片粉末，依地黃飲片檢品溶液製備方法製備地黃飲片檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，以梓醇及地黃苷 D 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 $\geq 3:1$ 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 $\geq 10:1$ 時之濃度，作為定量極限估計值。

(十) 添加回收率試驗

1. 取已知梓醇含量的地黃飲片粉末各 5 份，每份準確稱取約 0.1 g，分別加入 5.0 mL 的梓醇溶液(10 $\mu\text{g/mL}$)，並按檢品溶液製備方法操作測定。
2. 取已知地黃苷 D 含量的地黃飲片粉末各 5 份，每份準確稱取約 0.1 g，分別加入 6.0 mL 的地黃苷 D 溶液(10 $\mu\text{g/mL}$)，並按檢品溶液製備方法操作測定。

(十) HPLC 分析條件

1. 層析管：COSMOSIL 5C₁₈-AR-II Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 210 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)	甲醇(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	1	99
12	1	99
15	4	96
20	20	80
30	20	80

(十二) 臺灣市售地黃飲片含量測定

取 10 批市售地黃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 公式計算樣品梓醇及地黃苷 D 的百分比含量。

(十三) 地黃飲片檢品之 UPLC 層析條件

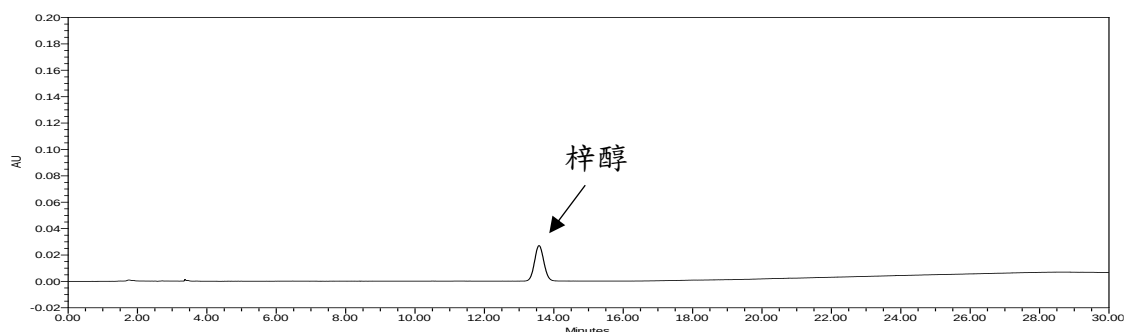
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 210 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	甲 醇(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	1	99
3	1	99
4	4	96
6	20	80
8	20	80

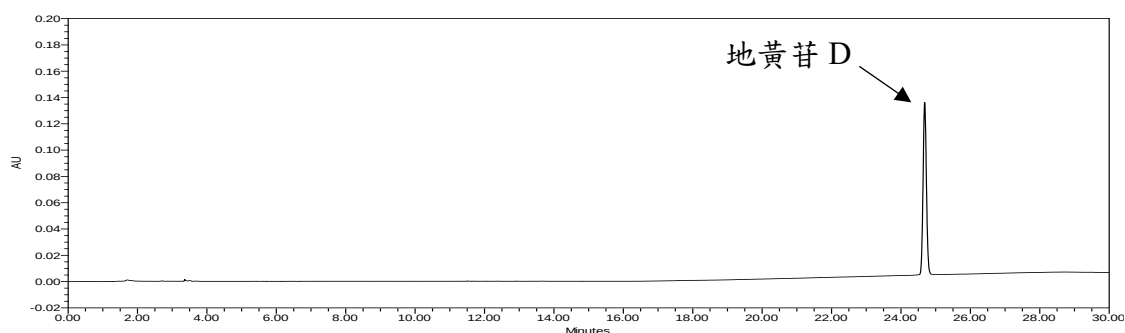
五、結果

(一) 對照標準品梓醇與地黃苷 D 之 HPLC 層析

於滯留時間 13.6 分鐘處顯示梓醇對照標準品波峰(圖一)，於滯留時間 24.7 分鐘處顯示地黃苷 D 對照標準品波峰(圖二)。



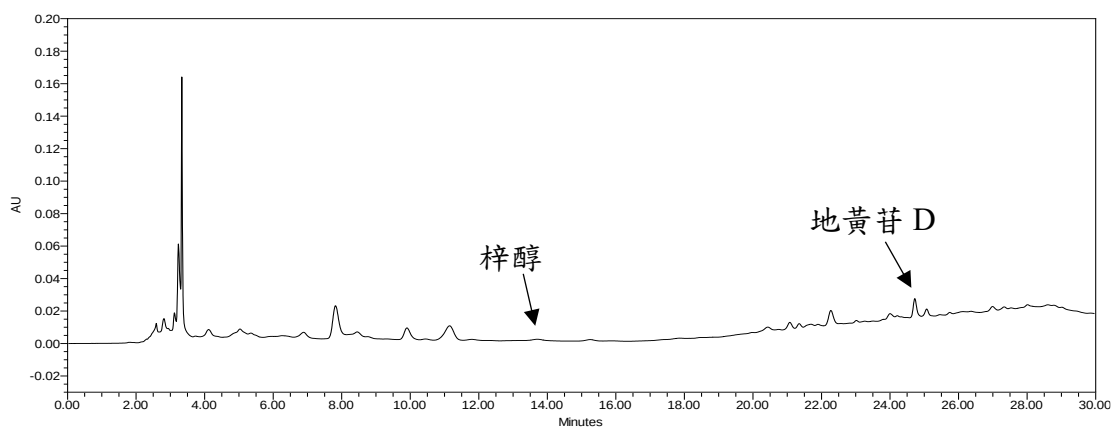
圖一、梓醇對照標準品溶液之 HPLC 層析圖



圖二、地黃苷 D 對照標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售地黃飲片檢品之 HPLC 層析

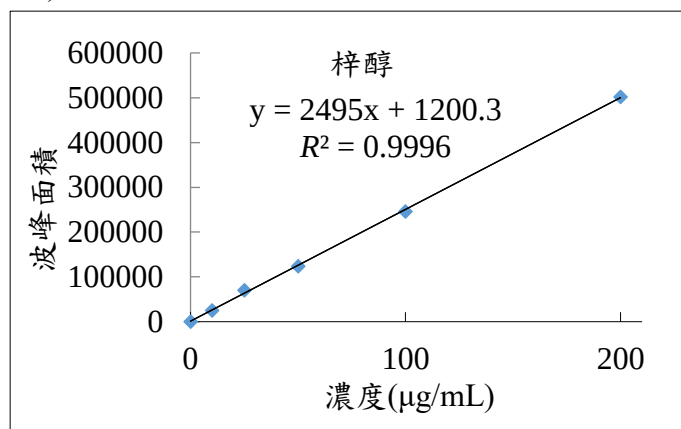
於滯留時間 13.7 分鐘及 24.7 分鐘處顯示地黃飲片檢品中梓醇及地黃苷 D 之波峰(圖三)。梓醇分離率(R)為 4.0，拖尾因子(T)為 1.1；地黃苷 D 分離率(R)為 4.0，拖尾因子(T)為 1.1，均在系統適用性要求內。



圖三、市售地黃飲片檢品之 HPLC 層析圖

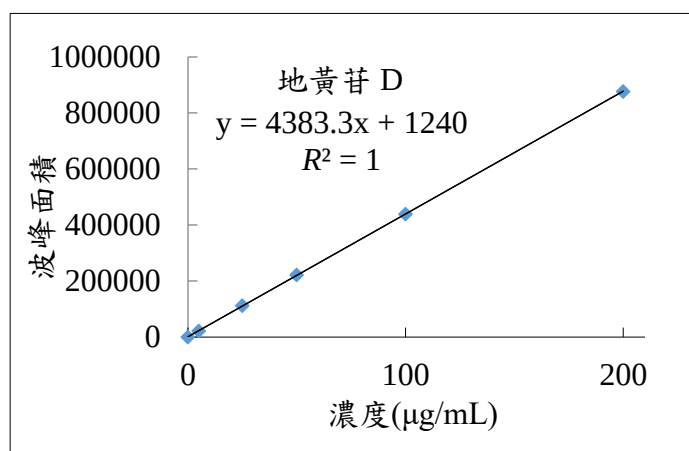
(三) 對照標準品梓醇與地黃苷 D 之檢量線

1. 經不同濃度梓醇(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 $y = 2495x + 1200.3$ ， $R^2 = 0.9996$ ，顯示濃度在 10–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖四)。



圖四、梓醇之檢量線圖

2. 經不同濃度地黃苷 D(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 $y = 4383.3x + 1240$ ， $R^2 = 1.0000$ ，顯示濃度在 5.0–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖五)。



圖五、地黃苷 D 之檢量線圖

表三、梓醇之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
梓醇	10–200	$y = 2495x + 1200.3$	0.9996
地黃苷 D	5.0–200	$y = 4383.3x + 1240$	1.0000

(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，梓醇及地黃苷 D 精

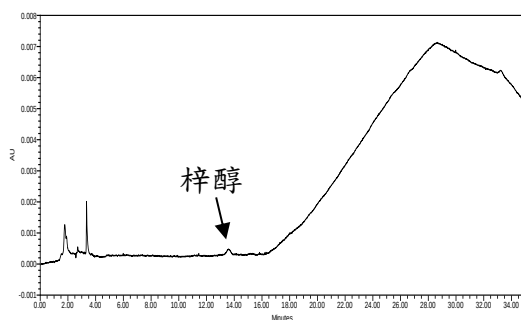
密度之相對標準差分別為 0.29% 及 0.21%，均在系統適用性要求內。

(五) 重複性與穩定性試驗

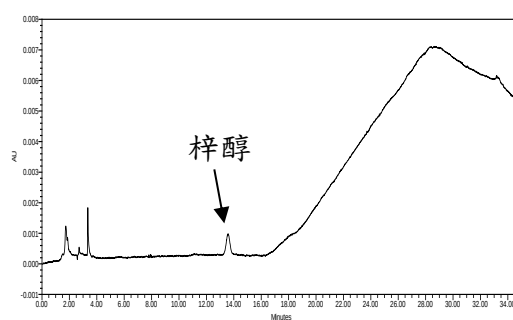
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，梓醇與地黃苷 D 重複性之相對標準差分別為 2.62% 及 0.56%，均在系統適用性要求內。梓醇與地黃苷 D 在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差分別為 2.90% 及 1.49%，變化差異小，若所有樣品分析都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(六) 偵測極限與定量極限試驗

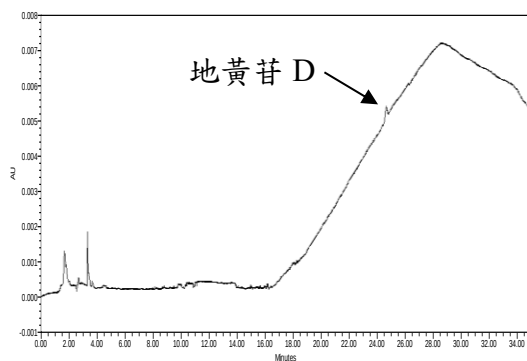
梓醇偵測極限為 0.05 $\mu\text{g/mL}$ (圖六)，定量極限為 0.10 $\mu\text{g/mL}$ (圖七)。地黃苷 D 偵測極限為 0.05 $\mu\text{g/mL}$ (圖八)，定量極限為 0.10 $\mu\text{g/mL}$ (圖九)。



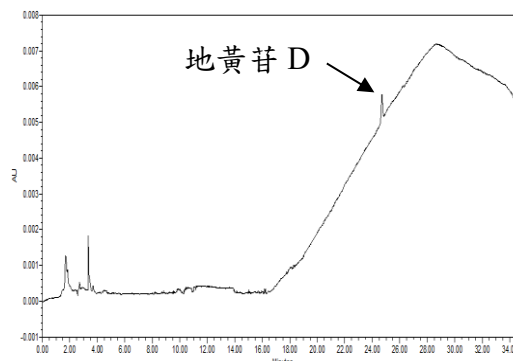
圖六、梓醇之偵測極限層析圖



圖七、梓醇之定量極限層析圖



圖八、地黃苷 D 之偵測極限層析圖



圖九、地黃苷 D 之定量極限層析圖

表二、各項檢驗分析

檢測項目	梓醇		地黃苷 D	
	濃度	R.S.D. (%)	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	50 µg/mL	0.29	25 µg/mL	0.21
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.3)	2.62	檢品溶液(No.3)	0.56
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.3)	2.90	檢品溶液(No.3)	1.49
偵測極限 (n=1)	0.05 µg/mL	-	0.05 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	0.10 µg/mL	-	0.10 µg/mL	-

(七) 添加回收率試驗

梓醇平均添加回收率為 102.3%，相對標準偏差為 3.14% (表三)。地黃苷 D 平均添加回收率為 90.5%，相對標準偏差為 3.21% (表四)。

表三、梓醇添加回收率

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	0.1031	0.0746	0.05	0.1276	106.09	102.3	3.14
2	0.1030	0.0745	0.05	0.1262	103.43		
3	0.0997	0.0721	0.05	0.1220	99.83		
4	0.1030	0.0745	0.05	0.1264	103.75		
5	0.0997	0.0721	0.05	0.1212	98.14		

表四、地黃苷 D 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	0.1031	0.0678	0.06	0.1200	87.00	90.5	3.21
2	0.1030	0.0677	0.06	0.1245	94.67		
3	0.0997	0.0656	0.06	0.1189	88.84		
4	0.1030	0.0677	0.06	0.1220	90.38		
5	0.0997	0.0656	0.06	0.1206	91.65		

(八) 臺灣市售地黃飲片含量測定

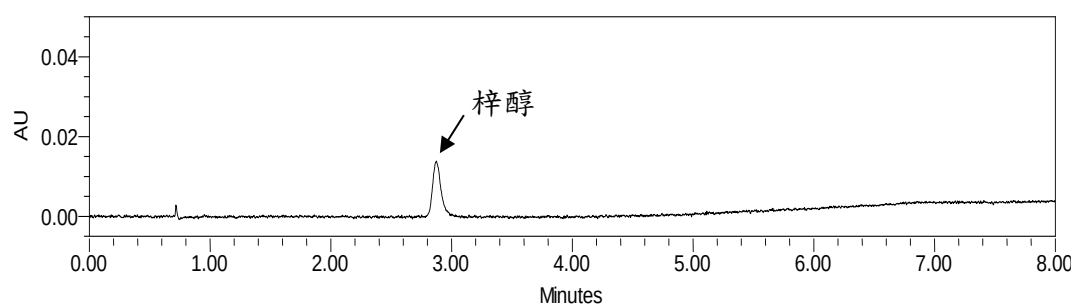
10 批地黃飲片之含量測定結果(乾燥品)如表五所示，梓醇的含量為 0.050–0.089%，地黃苷 D 的含量為 0.042–0.095%。建議地黃飲片指標成分梓醇含量不得少於 0.04%；地黃苷 D 的含量不得少於 0.04%。理論板數按梓醇波峰計算應不低於 5000 (實際值為 12870)，按地黃苷 D 波峰計算應不低於 5000 (實際值為 240320)。

表五、臺灣市售地黃飲片檢品之梓醇與地黃苷 D 的含量

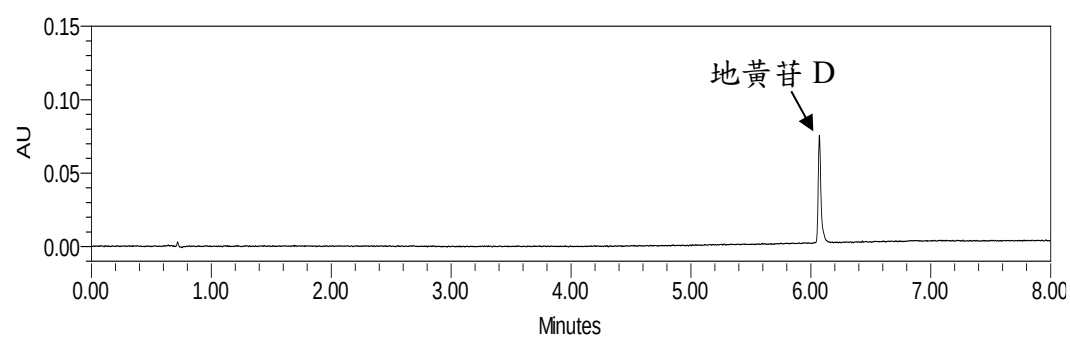
飲片編號 (No.)	梓醇 含量(%)	地黃苷 D 含量(%)	梓醇與地黃苷 D 總含量(%)
1 (NWB-1)	0.062	0.087	0.149
2 (NWB-2)	0.050	0.095	0.145
3 (NX-1)	0.067	0.087	0.154
4 (NX-3)	0.067	0.087	0.154
5 (CA3)	0.089	0.063	0.153
6 (CB2)	0.059	0.065	0.124
7 (CE)	0.059	0.064	0.123
8 (SK1-B)	0.064	0.042	0.105
9 (SK2-B)	0.060	0.052	0.112
10 (SK3-B)	0.055	0.066	0.121
平均值±S.D.	0.063±0.011	0.071±0.017	0.134±0.019

(九) 對照標準品梓醇與地黃苷 D 之 UPLC 層析

於滯留時間 2.87 分鐘處顯示梓醇對照標準品波峰(圖十一)；於滯留時間 6.07 分鐘處顯示地黃苷 D 對照標準品波峰(圖十二)。



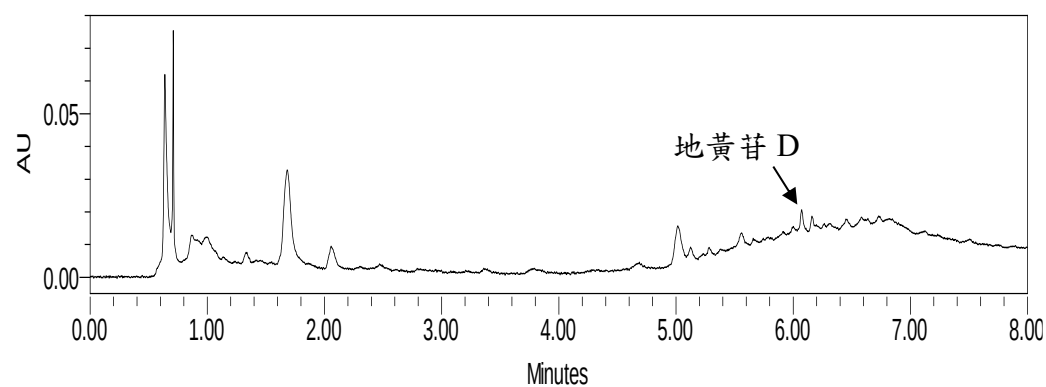
圖十一、梓醇對照標準品溶液之 UPLC 層析圖



圖十二、地黃苷 D 對照標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十) 市售地黃飲片檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 6.07 分鐘處分別顯示地黃飲片檢品中地黃苷 D 波峰(圖十三)。



圖十三、市售地黃飲片檢品之 UPLC 層析圖

地黃飲片

生藥名：REHMANNIAE RADIX

英文名：Rehmannia Root

基 原：本品為玄參科 Scrophulariaceae 植物地黃 *Rehmannia glutinosa* Libosch.之新鮮或乾燥塊根。

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 80% 甲醇 50 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，濾液蒸乾，殘渣加水 5 mL 使之溶解，用水飽和的正丁醇振搖萃取 4 次，每次 10 mL，合併正丁醇溶液，蒸乾，殘渣加甲醇 2 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 2.0 g，加甲醇 20 mL，加熱迴流 1 小時，放冷，過濾，蒸乾，殘渣加甲醇 5 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 3】《香港中藥材標準第三冊》

—取本品粉末 5.0 g，加甲醇 100 mL，振搖 30 分鐘，過濾，濾液蒸乾，殘渣加水 20 mL 使之溶解，用乙酸乙酯振搖萃取 3 次，每次 20 mL，合併乙酸乙酯溶液，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 50% 甲醇 20 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，作為檢品溶液。

(二) 對照標準品 取梓醇(Catalpol)，地黃苷 D (Rehmannioside D)，毛蕊花糖
溶 液 苷(Verbascoside)對照標準品，加甲醇製成每 1 mL 各含 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》

—乙酸乙酯：甲醇：甲酸 (16：0.5：2)

【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》

—三氯甲烷：甲醇：水 (14：6：1)

【展開劑 3】《香港中藥材標準第三冊》

—二氯甲烷：甲醇 (26：14)

【展開劑 4】(自行開發)✓

—正丁醇：甲酸：水 (4：2：1)

(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 以 10%硫酸乙醇試液($\text{H}_2\text{SO}_4/\text{EtOH TS}$)噴霧後，105 °C加熱至條帶顯色清晰，於紫外光(365nm)下檢視。

二、萃法選擇及濃度測試

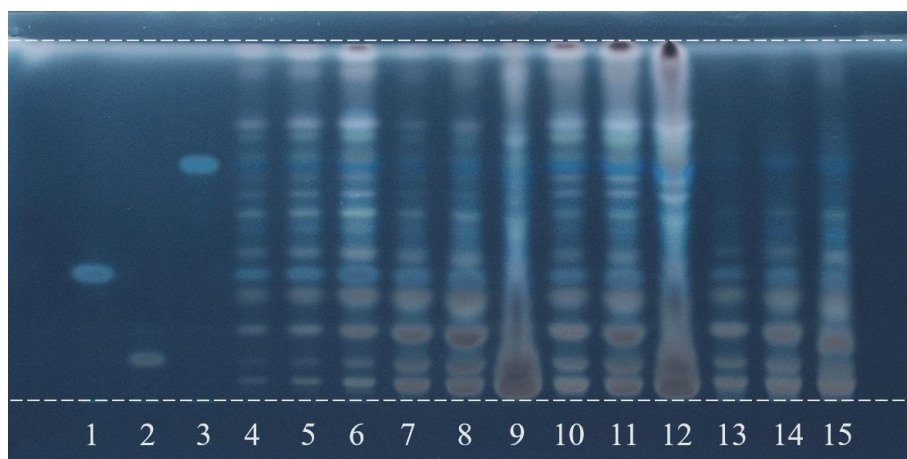
實驗日期：113/05/07

相對溼度(RH)：57%

溫度(RT)：23.5 °C

【展開劑 4】(自行開發)——正丁醇：甲酸：水 (4：2：1)

——HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出



編號	名稱	點注量
1	梓醇(1.0 mg/mL)	2 μ L
2	地黃苷 D (1.0 mg/mL)	2 μ L
3	毛蕊花糖苷(1.0 mg/mL)	2 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
13, 14, 15	檢品溶液 4 【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梓醇，地黃苷 D 及毛蕊花糖苷，因粹取方法簡便，故採用自行開發之【萃取方法 4】。

建議點注量：梓醇 2 μ L，地黃苷 D 2 μ L，毛蕊花糖苷 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 4】5 μ L。

三、溶媒系統選擇

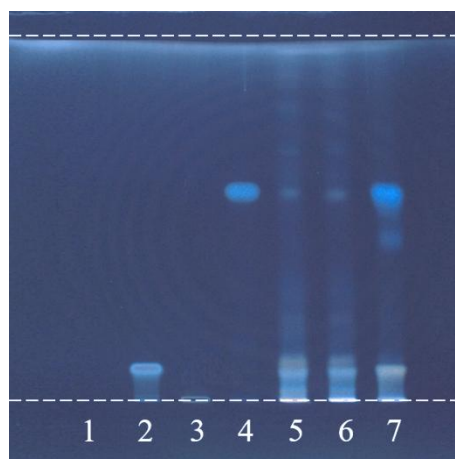
實驗日期：113/05/07

相對溼度(RH)：57%

溫度(RT)：23.5 °C

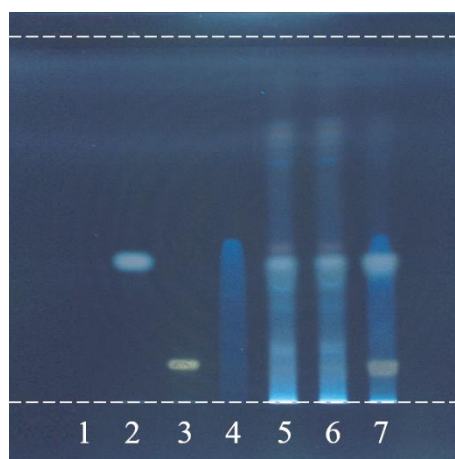
【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版 2021》《中華人民共和國藥典 2020》——乙酸乙酯：甲醇：甲酸 (16：0.5：2)

【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出(梓醇 R_f 值 <0.1 ，地黃苷 D R_f 值為 0，毛蕊花糖苷 R_f 值為 0.45)



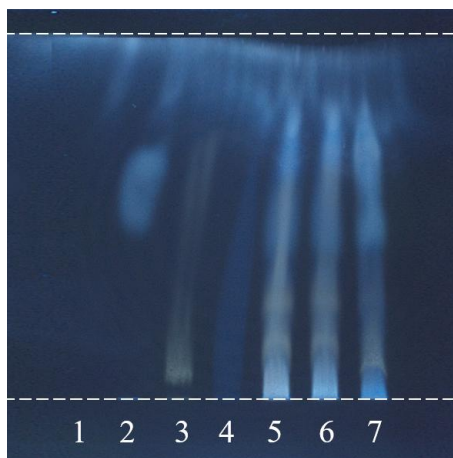
【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》——三氯甲烷：甲醇：水 (14：6：1)

【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出(梓醇 R_f 值為 0.39，地黃苷 D R_f 值為 0.17，毛蕊花糖苷 R_f 值為 0.46)



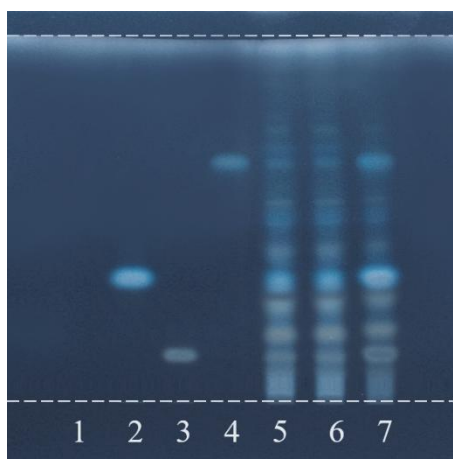
【展開劑 3】《香港中藥材標準第三冊》——二氯甲烷：甲醇 (26：14)

【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出(梓醇 R_f 值無法判斷，地黃苷 D R_f 值無法判斷，毛蕊花糖苷 R_f 值無法判斷)



【展開劑 4】(自行開發)——正丁醇：甲酸：水 (4：2：1)

【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出(梓醇 R_f 值為 0.37，地黃苷 D R_f 值為 0.15，毛蕊花糖苷 R_f 值為 0.65)



- | | |
|---------|----------|
| 1：Blank | 4：毛蕊花糖苷 |
| 2：梓醇 | 5：檢品溶液 4 |
| 3：地黃苷 D | 6：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，顯示梓醇，地黃苷 D 及毛蕊花糖苷的 R_f 值適中，分離佳，故採用【展開劑 4】。

四、觀察方式選擇

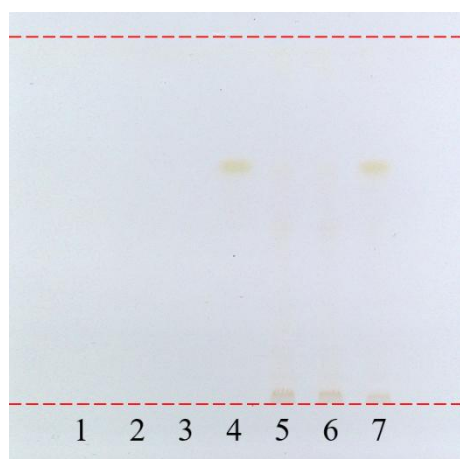
實驗日期：113/05/07

相對溼度(RH)：57%

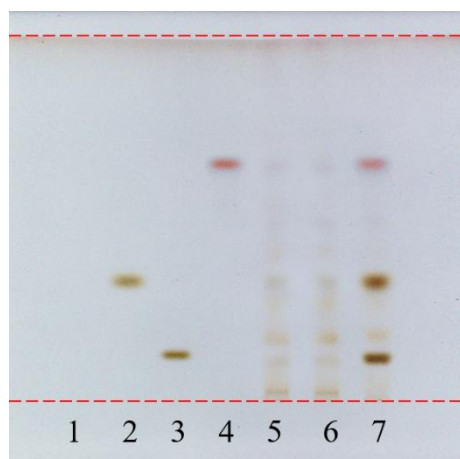
溫度(RT)：23.5 °C

【展開劑 4】(自行開發)——正丁醇：甲酸：水 (4：2：1)

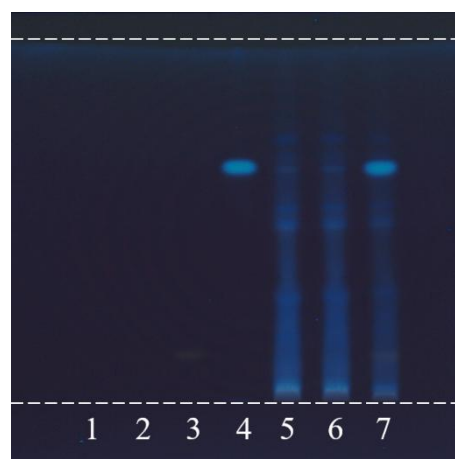
【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC 可
見光檢出



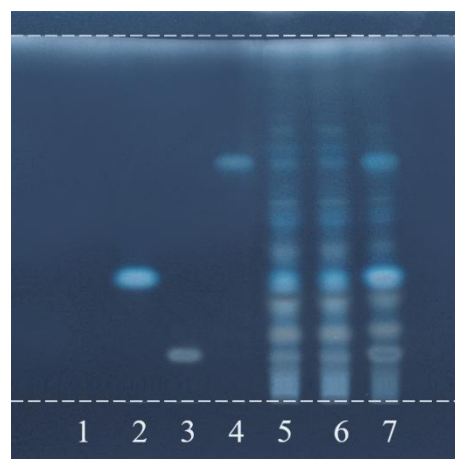
【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC
10%硫酸/乙醇顯色後可見光檢出



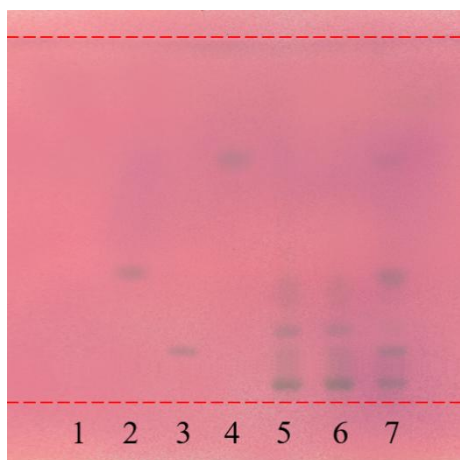
【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC 紫
外光(365 nm)檢出



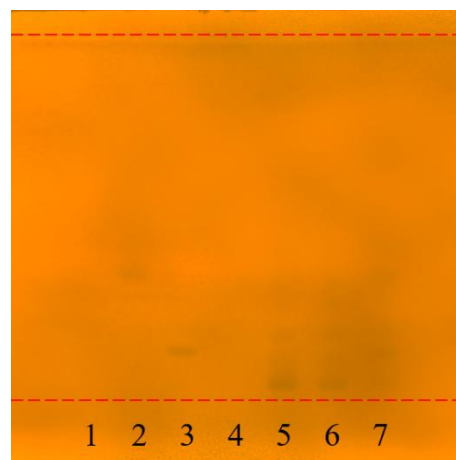
【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC
10%硫酸/乙醇顯色後紫外光(365 nm)
檢出✓



【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC 茴
香醛-硫酸試液顯色後可見光檢出



【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC 茴
香醛-硫酸試液顯色後可見光檢出



- | | |
|---------|----------|
| 1：Blank | 4：毛蕊花糖苷 |
| 2：梓醇 | 5：檢品溶液 4 |
| 3：地黃苷 D | 6：Spike |

建議觀察方式：以 10%硫酸/乙醇試液顯色後於紫外光(365 nm)檢視下，有較明顯分離之條帶。

五、十批地黃飲片樣品檢測

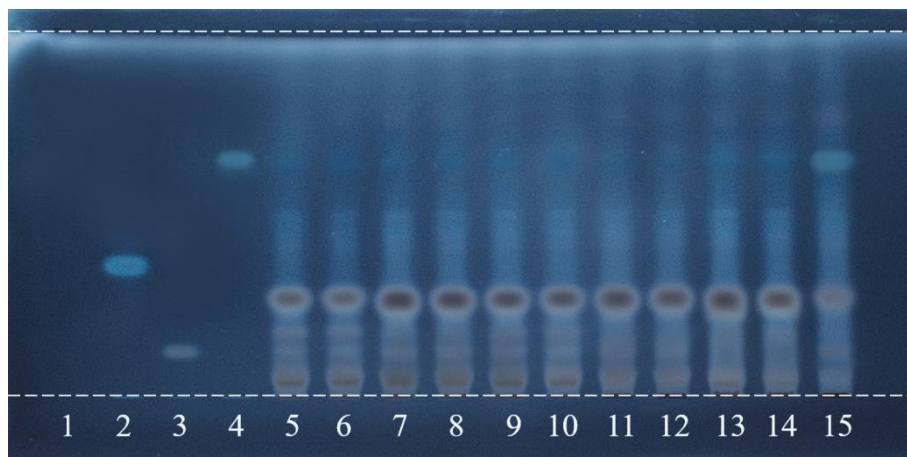
實驗日期：113/05/07

相對溼度(RH)：57%

溫度(RT)：23.5 °C

【展開劑 4】(自行開發)——正丁醇：甲酸：水 (4：2：1)

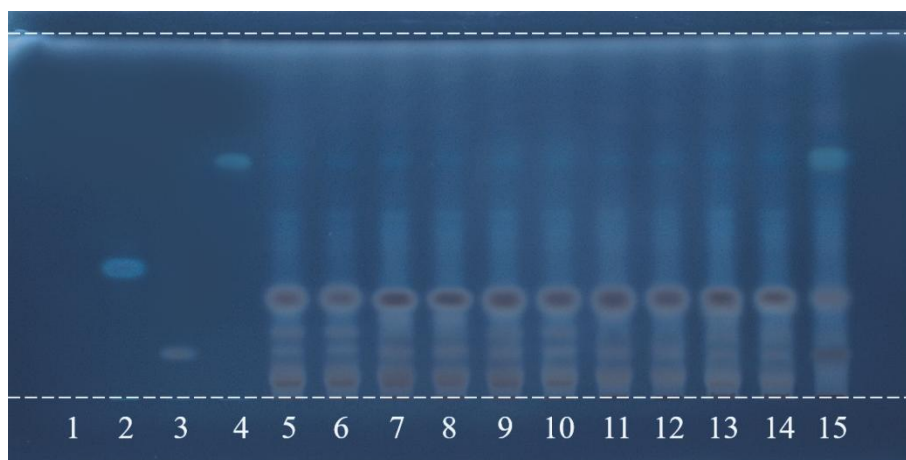
【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出



1	Blank	7，8	檢品溶液 2 (NEB2)
2	梓醇(1.0 mg/mL)	9，10	檢品溶液 3 (NX1)
3	地黃苷 D (1.0 mg/mL)	11，12	檢品溶液 4 (NX3)
4	毛蕊花糖苷(1.0 mg/mL)	13，14	檢品溶液 5 (CA3)
5，6	檢品溶液 1 (NWB1)	15	Spike (檢品溶液 4)

【展開劑 4】(自行開發)——正丁醇：甲酸：水 (4：2：1)

【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出



1	Blank	7, 8	檢品溶液 7 (CE)
2	梓醇(1.0 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 8 (SK1B)
3	地黃苷 D (1.0 mg/mL)	11, 12	檢品溶液 9 (SK2B)
4	毛蕊花糖苷(1.0 mg/mL)	13, 14	檢品溶液 10 (SK3B)
5, 6	檢品溶液 6 (CB2)	15	Spike (檢品溶液 4)

結論與建議：以【萃取方法 4】及【展開劑 4】方式，顯示分離與檢出梓醇，地黃苷 D 及毛蕊花糖苷的效果較佳，以 10%硫酸/乙醇試液顯色，於紫外光(365 nm)下檢視較佳。