

肉蓯蓉

(CISTANCHIS HERBA)

肉蓯蓉 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）	4
四、藥材粉末顯微鑑別（圖3）	4
肉蓯蓉 HPLC （藥材）	13
一、材料	13
二、儀器及層析管柱	13
三、實驗藥品及試劑來源	13
四、方法	13
五、結果	17
肉蓯蓉 TLC （藥材）	34
一、方法	34
二、萃取選擇及濃度測試	35
三、溶媒系統選擇	36
四、觀察方式選擇	40
五、十批肉蓯蓉藥材樣品檢測	41

肉蓯蓉（目錄續）

肉蓯蓉 HPLC （飲片）	43
一、材料	43
二、儀器及層析管柱	43
三、實驗藥品及試劑來源	43
四、方法	43
五、結果	47
肉蓯蓉 TLC （飲片）	53
一、方法	53
二、萃法選擇及濃度測試	54
三、溶媒系統選擇	55
四、觀察方式選擇	59
五、十批肉蓯蓉飲片樣品檢測	60

肉蓯蓉 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肉蓯蓉及管花肉蓯蓉的乾燥肉質莖。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：肉蓯蓉

生藥名：CISTANCHIS HERBA

英文名：Desert-living Cistanche

基原：本品為列當科 Orobanchaceae 植物肉蓯蓉 *Cistanche deserticola* Y.C.Ma 或管花肉蓯蓉 *Cistanche tubulosa* (Schenk) Wight 之乾燥肉質莖。

採收加工：春季苗剛出土時或秋季凍土之前採挖，除去莖尖。切段，曬乾。

藥材性狀：(1)肉蓯蓉：本品呈稍扁圓柱狀，略彎曲，長 3~15 cm，直徑 3~6 cm。表面呈棕褐色至灰棕色，有縱溝，密被肥厚的肉質鱗葉，呈覆瓦狀排列，上部鱗葉披針形，中下部鱗葉寬卵形至三角狀卵形，通常可見鱗葉脫落後留下的痕跡。質堅，有韌性，不易折斷。斷面灰黃色至棕黑色，維管束呈深波狀環形排列。氣微弱，味微甜、微苦。

(2)管花肉蓯蓉：本品呈類紡錘形、扁紡錘形或扁柱形，稍彎曲，長 5~25 cm，直徑 2.5~9.0 cm。表面棕褐色至黑褐色。鱗葉上部披針形或三角狀披針形，下部三角形，基部寬闊，多數斷落留下極密的葉基痕。質堅硬，難折斷。斷面顆粒狀，灰棕色至灰褐色，散生點狀維管束。

飲片性狀：(1)肉蓯蓉：呈不規則的厚片，表面棕褐色或灰棕色。有的可見肉質鱗葉。切面有淡棕色或棕黃色點狀維管束，排列成波狀環紋。(2)管花肉蓯蓉：呈不規則厚片，質堅硬，表面棕褐色至黑褐色，切面散生點狀維管束。

生長分佈：多年生肉質寄生草本。肉蓯蓉植株高 20~200 cm，少數達 300 cm，肉質莖地下生。生於有藜科植物梭梭或白梭梭分布的荒漠地區，寄生於梭梭或白梭梭的根部。花期 4~6 月，果期 5~8 月；管花肉蓯蓉植株高 20~150 cm，部分可達 200 cm 以上，地上部分高 30~70 cm，部分可高達 120 cm，肉質莖地下生。生於有檉柳科檉柳屬植物分布的荒漠地區，寄生於檉柳屬植物的根部。花期 4~6 月，果期 6~8 月。喜乾旱透氣的砂質土壤，水分過多易腐爛。肉蓯蓉藥材主產於中國內蒙古、甘肅、新疆北部、寧夏等地；管花肉蓯蓉藥材主產於中國新疆南部。

三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2)

(1)肉蓯蓉：

1. 有時可見連接在莖外側之鱗葉。
2. 表皮細胞 1 列，呈方形、類長方形或類橢圓形，外被角質層。
3. 皮層由數十列薄壁細胞組成，類長方形或多角形，排列緊密，外側數層細胞胞腔內含淡黃色色素。散有葉跡維管束。
4. 並立型維管束呈深波狀環形排列，每個維管束呈菱形或倒卵形，韌皮部外側具維管束鞘，向外延伸排列成尖尾狀。形成層不明顯。木質部導管多成群。
5. 髓線明顯，髓部呈多角形，有時中央破碎成空洞。

(2)管花肉蓯蓉：

1. 表皮細胞 1 列，呈扁平類長方形、類橢圓形，外被角質層，有些部位表皮細胞和角質層脫落。
2. 後生皮層由數列栓化細胞組成，皮層窄。
3. 並立型維管束散生，每個維管束呈卵圓狀，最外側維管束單個散生，內側常 3~6 個成簇排列成梅花形，韌皮部向內，木質部向外。
4. 髓部不明顯

四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3)

(1)肉蓯蓉：

1. 本品粉末深棕色。
2. 澱粉粒單粒或複粒，多單粒，類圓形、卵形至橢圓形，直徑 15~30 μm ；複粒多為 2~3 分粒，臍點點狀、人字狀或裂縫狀。偏光顯微鏡下呈黑十字狀。
3. 導管以網紋導管為主，少數為螺紋導管，網紋導管直徑 20~35 μm ，螺紋導管直徑 10~20 μm 。
4. 偶可見纖維，長梭形，直徑約 9~25 μm 。偏光顯微鏡下呈亮黃白色至多彩色。

(2)管花肉蓯蓉：

1. 本品粉末深棕色。
2. 澱粉粒多，單粒或複粒，類圓形、卵形至橢圓形，直徑 5~45 μm ；複粒多為 2~3 分粒，臍點點狀、人字狀或裂縫狀，層紋不明顯。偏光顯微鏡下呈黑十字狀。
3. 導管以網紋導管為主，少數為螺紋導管，網紋導管直徑 20~40 μm ，螺紋導管直徑 15~20 μm 。

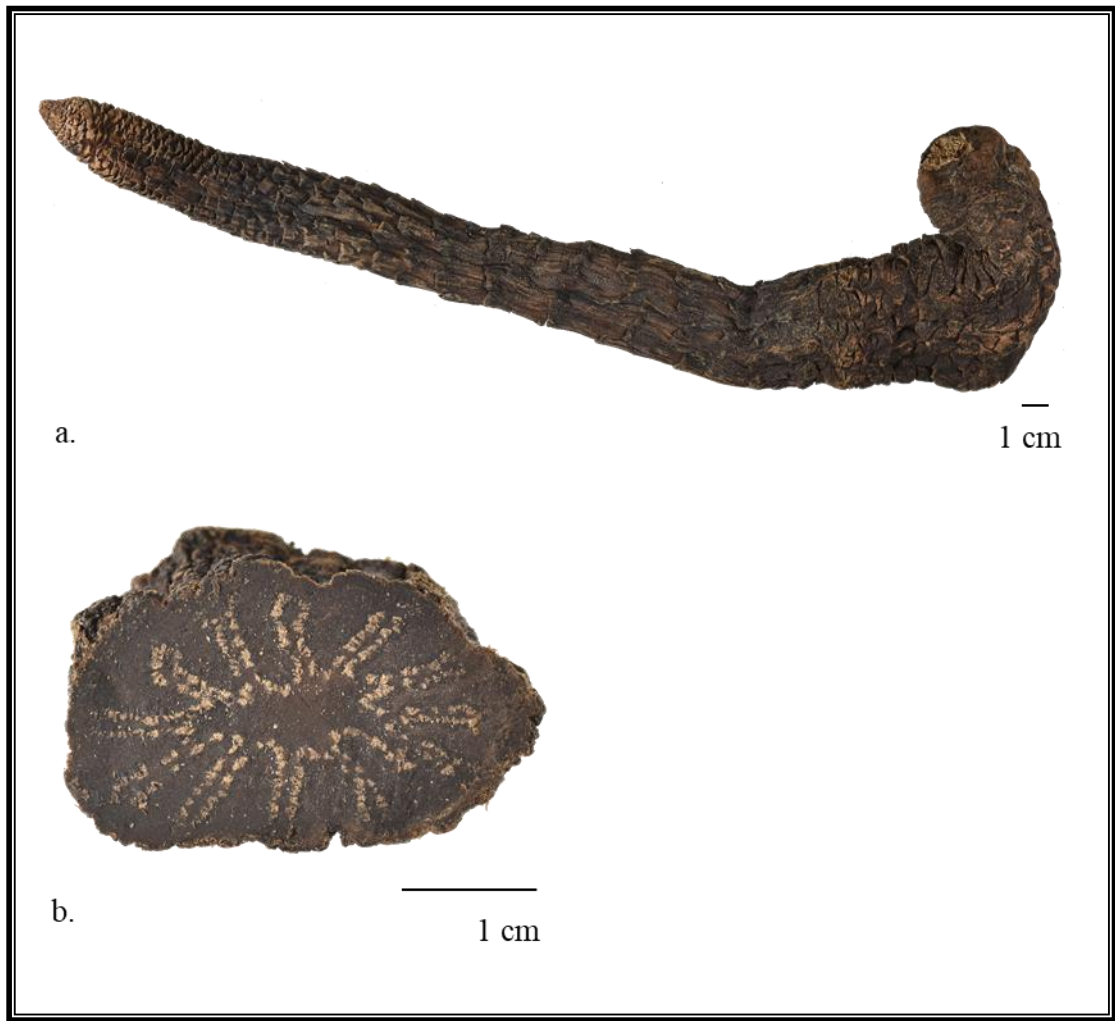


圖 1A 肉蓯蓉藥材圖

a.藥材圖 b.藥材橫切面圖



圖 1B 管花肉蓯蓉藥材圖

a. 藥材圖 b. 藥材橫切面圖



圖 1C 肉蓯蓉飲片圖



圖 1D 管花肉蓯蓉飲片圖

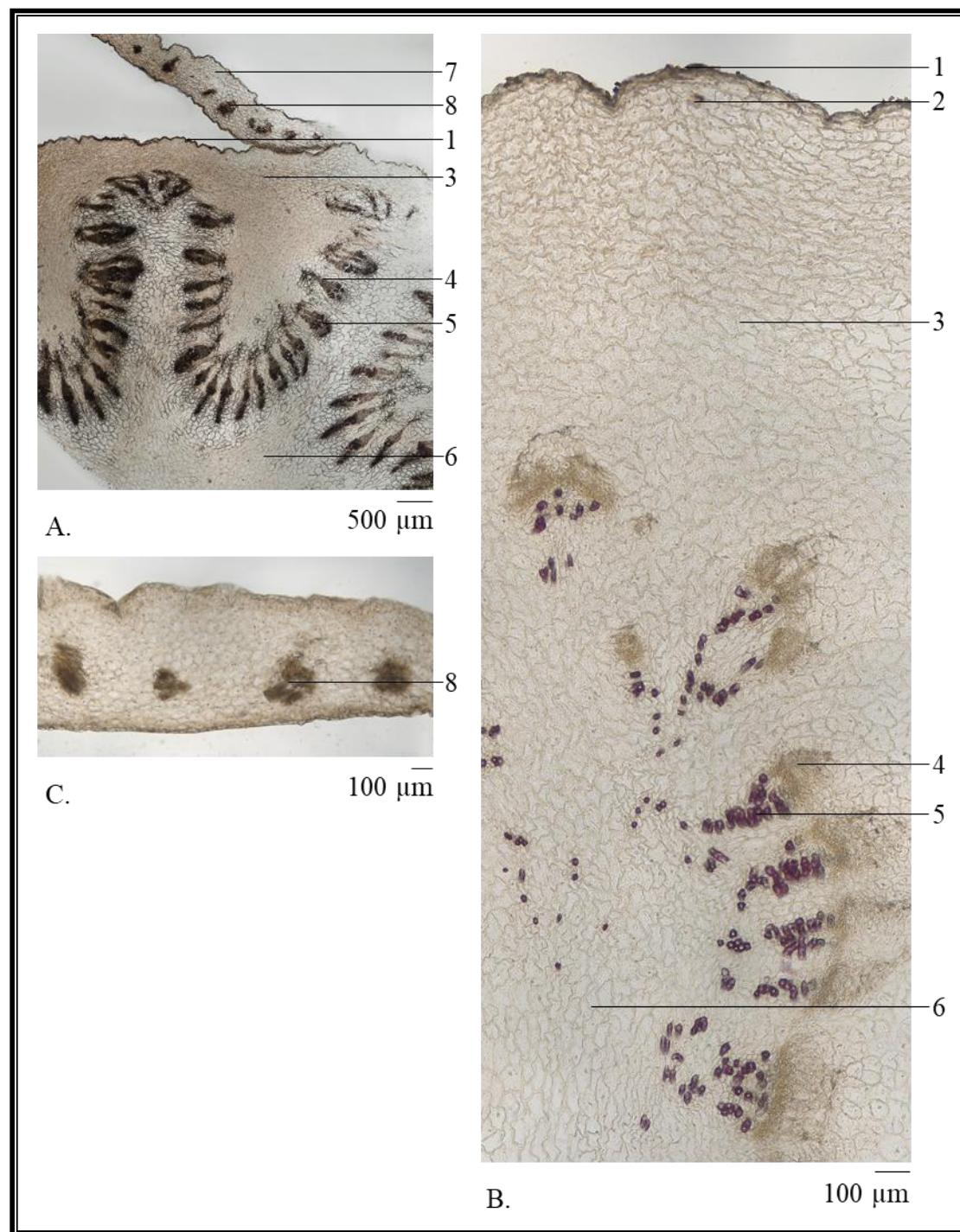


圖 2A 肉蓯蓉橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖 C.鱗葉

1.表皮 2.葉跡維管束 3.皮層 4.韌皮部 5.木質部 6.髓 7.鱗葉 8.葉維管束

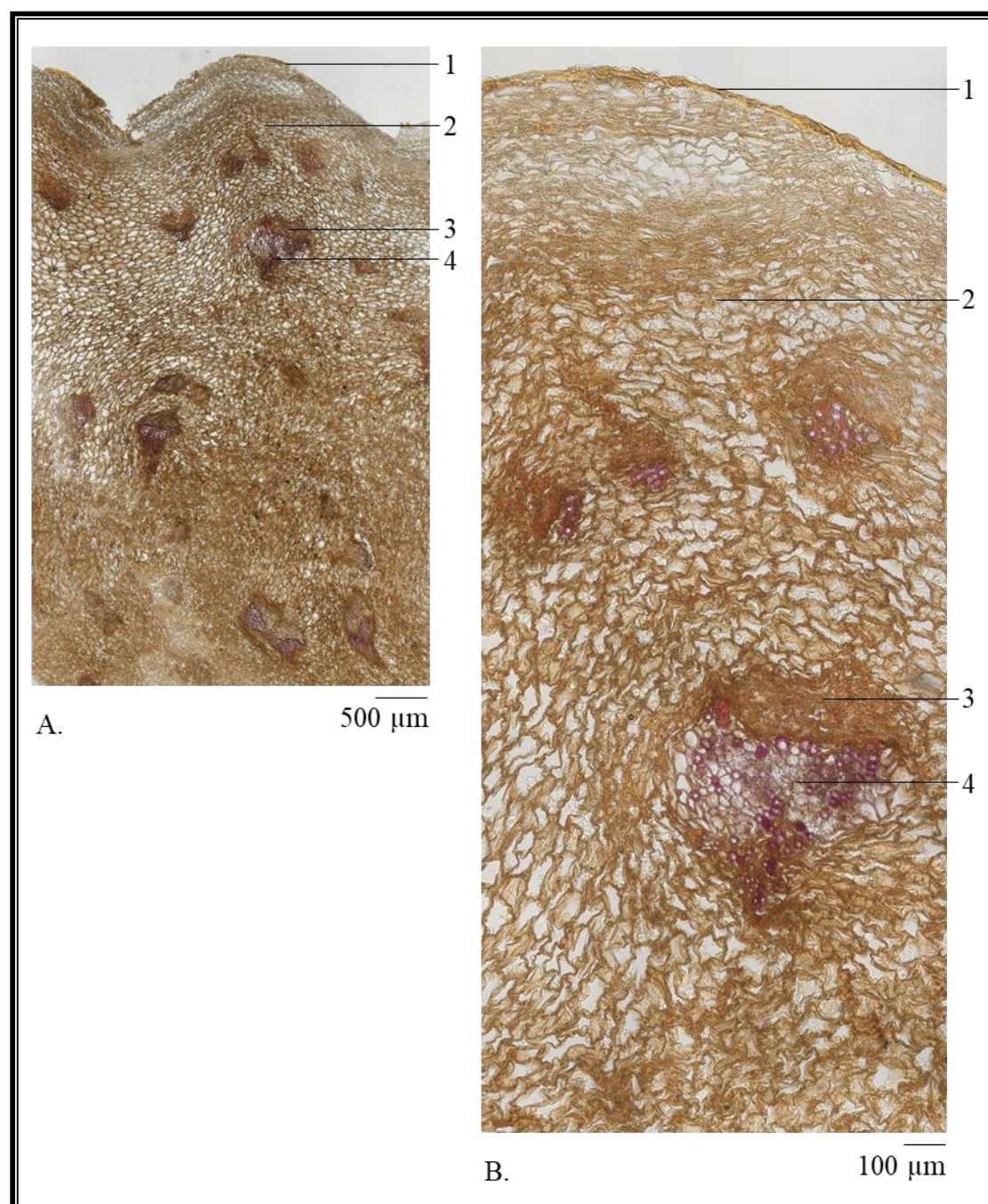


圖 2B 管花肉蓯蓉橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖

1.表皮 2.皮層 3.韌皮部 4.木質部

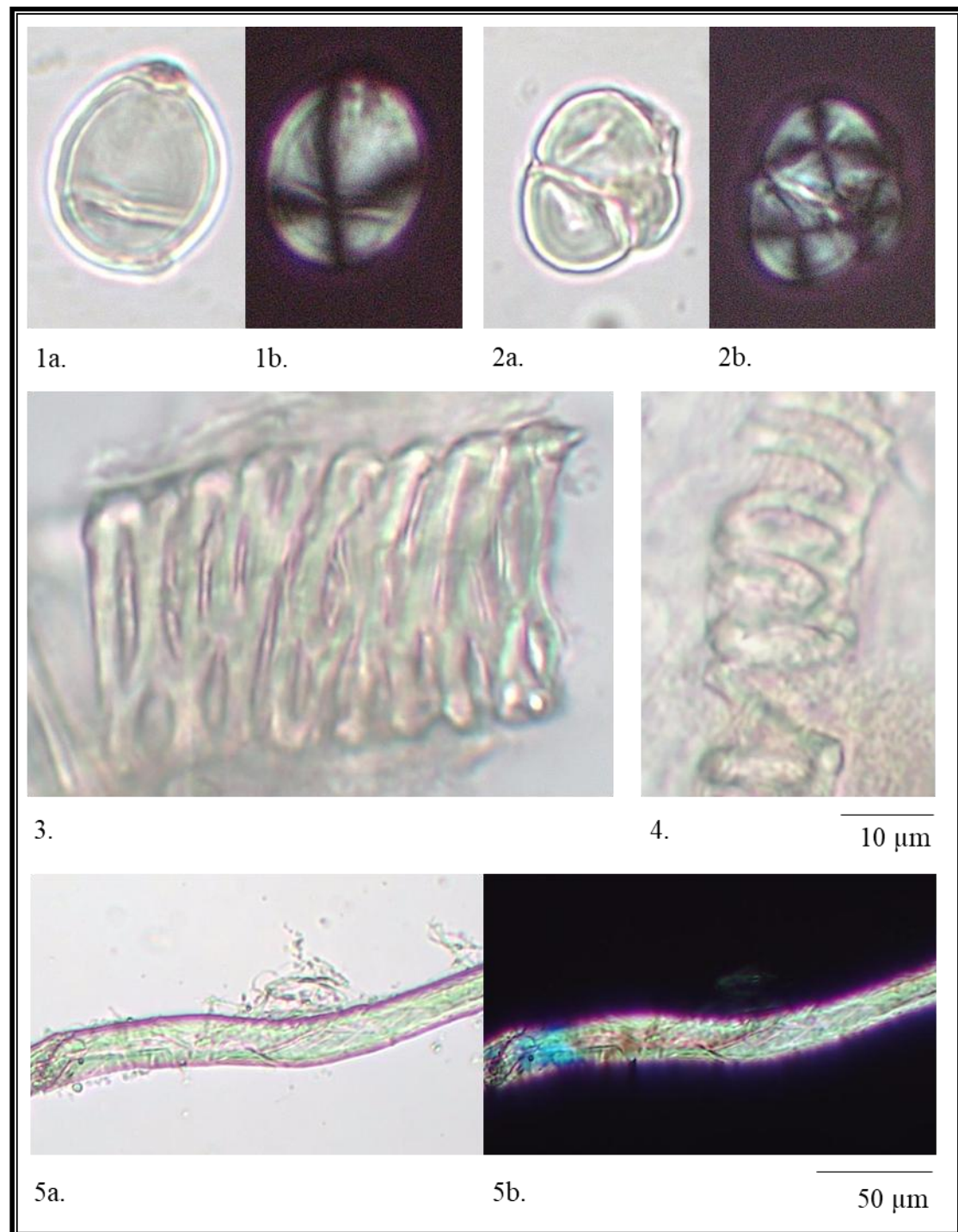


圖 3A 肉蓯蓉粉末顯微特徵圖

a. 光學顯微鏡下特徵 b. 偏光顯微鏡下特徵

1. 澱粉粒(單粒) 2. 澱粉粒(複粒) 3. 網紋導管 4. 螺旋導管 5. 纖維

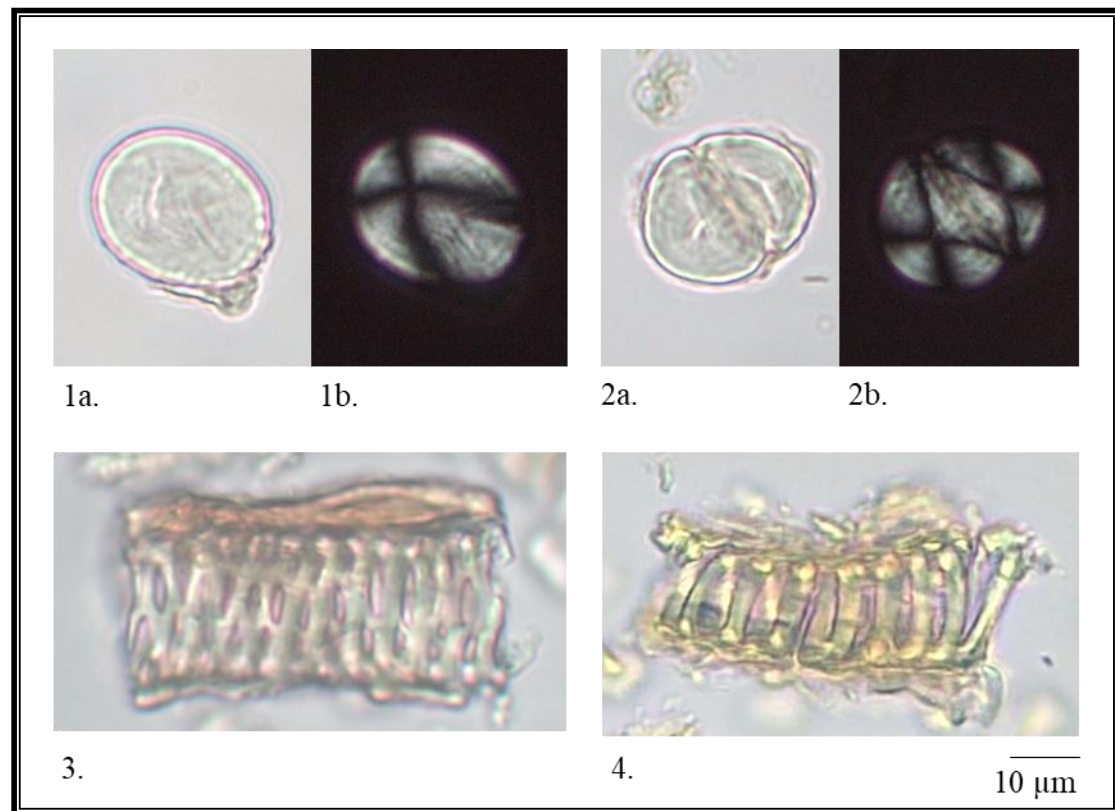


圖 3B 管花肉蓯蓉粉末顯微特徵圖

a.光學顯微鏡下特徵 b.偏光顯微鏡下特徵

1.澱粉粒(單粒) 2.澱粉粒(複粒) 3.網紋導管 4.螺旋導管

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。134~135 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(2012)。香港中藥材標準第四冊。香港：香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部。72~77 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。107~114 頁。
4. 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。140~141 頁。
5. 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。568~569 頁。
6. 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。249~250 頁。
7. 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。414~415 頁。
8. 任仁安(主編)(1986)。中藥鑑定學。上海科學技術出版社。484~485 頁。
9. 王滿恩、趙昌(主編)(2019)。飲片驗收經驗。山西科學技術出版社。233~235 頁。
10. 張繼(主編)(2022)。中國中藥材及飲片真偽鑑別圖典第四冊。廣東科技出版社。245~251 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。1~52 頁。
12. 黃璐琦、姚霞(主編)(2020)。新編中國藥材學第二卷。中國醫藥科技出版社。132~138 頁。
13. 陳代賢、郭秋月(主編)(2017)。中藥真偽質量快速影像檢定(下冊)。北京人民衛生出版社。320~333 頁。

肉蓯蓉(CISTANCHIS HERBA)

一、材料

購置於臺灣各地中藥店肉蓯蓉藥材共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Agilent 1260 Infinity II，包含 Quaternary pump、Autosampler、Thermostatted column compartment、Diode-Array Detector；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

甲醇(HPLC grade)購置於 Duksan Pure Chemicals Co., Ltd；甲酸購置於台灣默克有限公司。

(二) 對照標準品

松果菊苷(Echinacoside)、毛蕊花糖苷(Verbascoside)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

取本品粉末 6 份，每份準確稱取約 1.0 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%乙醇各 40 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 50 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松果菊苷及毛蕊花糖苷最大波峰面積為最佳肉蓯蓉藥材萃取溶媒。

(二) 最佳萃取次數評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 1.0 g，置 50 mL 離心管中，準確加入 50%甲醇 40 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 50 mL 之容量瓶

中，加 50% 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，殘渣部分重複上述方法多次萃取、進樣，直到松果菊苷及毛蕊花糖苷被萃取完全，並選出最佳萃取次數。

(三) 對照標準品溶液

1. 準確稱取對照標準品松果菊苷 8.0mg，加 10 mL 的 50% 甲醇製成每 1 mL 含松果菊苷 800 μg 的對照標準品儲備溶液，並以 50% 甲醇稀釋至松果菊苷 50 $\mu\text{g/mL}$ 製成對照標準品溶液。
2. 準確稱取對照標準品毛蕊花糖苷 2.0mg，加 10 mL 的 50% 甲醇製成每 1 mL 含毛蕊花糖苷 200 μg 的對照標準品儲備溶液，並以 50% 甲醇稀釋至毛蕊花糖苷 50 $\mu\text{g/mL}$ 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 1.0 g，置 50 mL 離心管中，準確加入 50% 甲醇 40 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 $\times g$)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 50 mL 之容量瓶中，加 50% 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松果菊苷及毛蕊花糖苷的含量，即得。

(六) 檢量線

1. 準確吸取松果菊苷對照標準品儲備溶液適量(800 $\mu\text{g/mL}$)，以甲醇稀釋成含松果菊苷分別為 800、400、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. 準確吸取毛蕊花糖苷對照標準品儲備溶液適量(200 $\mu\text{g/mL}$)，以甲醇稀釋成含松果菊苷分別為 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 。

(七) 精密度試驗

1. 以松果菊苷為 50 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以松果菊苷的波峰面積為指標，求出相對標準差。

2. 以毛蕊花糖苷為 50 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以毛蕊花糖苷的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售肉蓯蓉藥材粉末，依肉蓯蓉藥材檢品溶液製備方法平行製備 5 份肉蓯蓉藥材檢品溶液，進樣測定，以松果菊苷及毛蕊花糖苷的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售肉蓯蓉藥材粉末，依肉蓯蓉藥材檢品溶液製備方法製備肉蓯蓉藥材檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，以松果菊苷及毛蕊花糖苷的含量為指標，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. 取已知松果菊苷含量的肉蓯蓉藥材粉末各 5 份，每份準確稱取約 0.2 g，分別加入松果菊苷 1.2 mg，並按檢品溶液製備方法操作測定。
2. 取已知毛蕊花糖苷含量的肉蓯蓉藥材粉末各 5 份，每份準確稱取約 0.2 g，分別加入 2.5 mL 的毛蕊花糖苷溶液(100 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：Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 µm)
2. 檢測波長：UV 330 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%甲酸(v/v, %)
0	25	75
30	35	65
45	50	50

(十二) 臺灣市售肉蓯蓉藥材含量測定

取各 10 批市售肉蓯蓉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 公式計算樣品松果菊苷及毛蕊花糖苷的百分比含量。

(十三) 肉蓯蓉檢品之 UPLC 分析條件

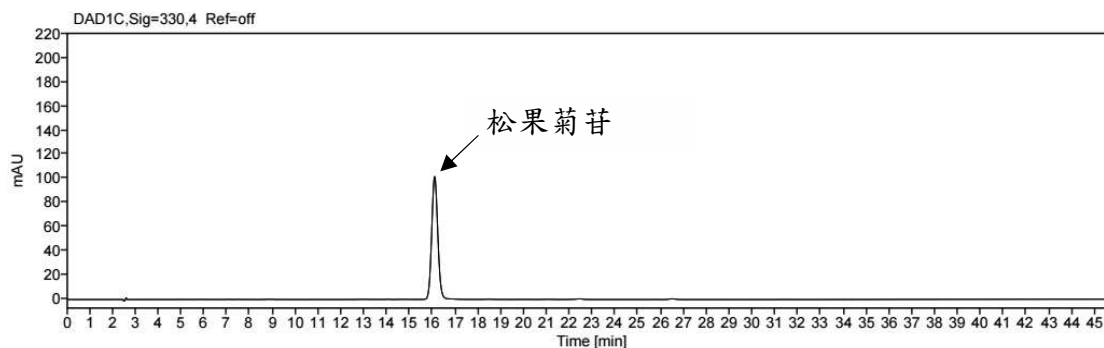
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 330 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	0.1% 甲酸(v/v, %)
0	25	75
6	35	65
11	50	50

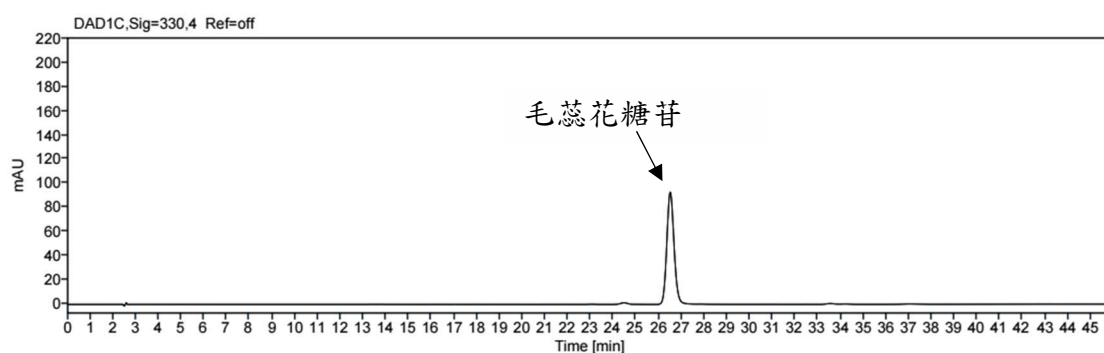
五、結果

(一) 對照標準品松果菊苷及毛蕊花糖苷之 HPLC 層析

於滯留時間 16.1 分鐘處顯示松果菊苷對照標準品波峰(圖一)，於滯留時間 26.5 分鐘處顯示毛蕊花糖苷對照標準品波峰(圖二)。



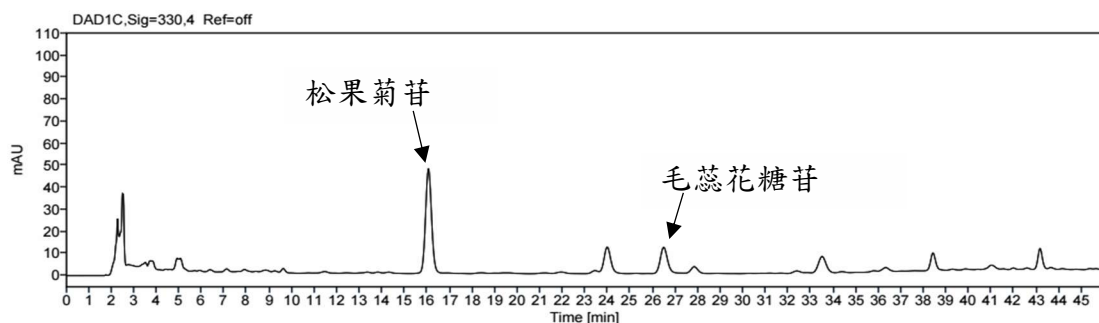
圖一、松果菊苷對照標準品溶液之 HPLC 層析圖



圖二、毛蕊花糖苷對照標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售肉蓯蓉藥材檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 16.1 分鐘及 26.5 分鐘處顯示肉蓯蓉藥材檢品中松果菊苷及毛蕊花糖苷之波峰(圖三)。松果菊苷分離率(R)為 16，拖尾因子(T)為 1.1；毛蕊花糖苷分離率(R)為 4.4，拖尾因子(T)為 1.1，均在系統適用性要求內。



圖三、市售肉蓯蓉藥材檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒評估

以 50% 甲醇溶液為溶媒時，每克藥材重量所得松果菊苷及毛蕊花糖苷的波峰面積最大，顯示 50% 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	松果菊苷波峰面積	毛蕊花糖苷波峰面積	最佳萃取
甲醇	73.96	131.60	
75% 甲醇	222.32	135.03	
50% 甲醇	226.81	141.12	√
乙醇	9.39	22.45	
75% 乙醇	56.50	89.16	
50% 乙醇	90.21	102.76	

(四) 最佳萃取次數評估

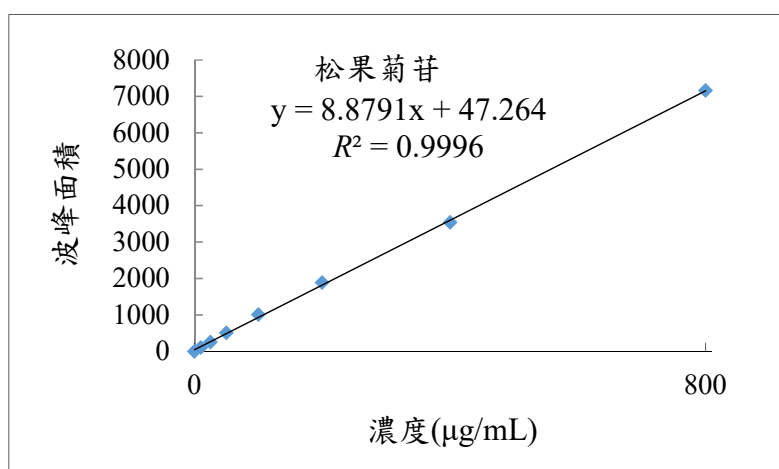
結果顯示經由 1 次萃取，基本上已將松果菊苷及毛蕊花糖苷萃取完全(萃取率皆大於 98%)(表二)。

表二、肉蓯蓉藥材檢品萃取次數評估

50% 甲醇	松果菊苷波峰面積	毛蕊花糖苷波峰面積
第 1 次	1437.4	681.8
第 2 次	32.8	6.37
第 3 次	N.D.	N.D.

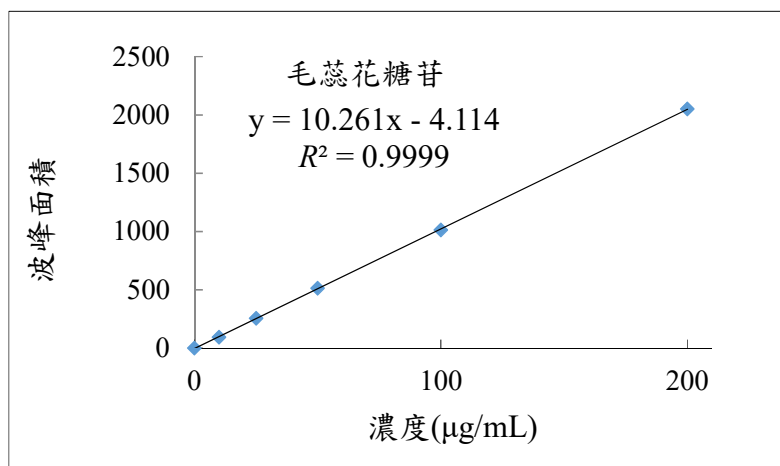
(五) 對照標準品松果菊苷檢量線

1. 經不同濃度松果菊苷(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 $y = 8.8791x + 47.264$ ， $R^2 = 0.9996$ ，顯示濃度在 10–800 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖四)。



圖四、松果菊苷之檢量線圖

2. 經不同濃度毛蕊花糖苷(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 $y = 10.261x - 4.114$ ， $R^2 = 0.9999$ ，顯示濃度在 10–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖五)。



圖五、毛蕊花糖苷之檢量線圖

表三、松果菊苷之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
松果菊苷	10–800	$y = 8.8791x + 47.264$	0.9996
毛蕊花糖苷	10–200	$y = 10.261x - 4.114$	0.9999

(六) 精密度試驗

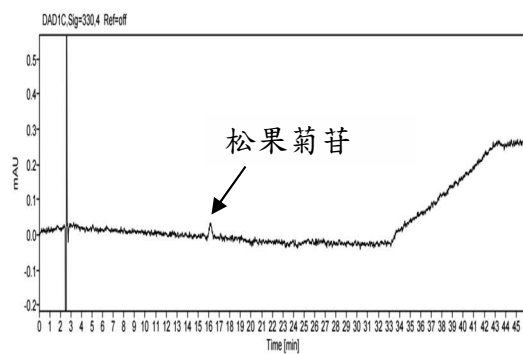
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，松果菊苷及毛蕊花糖苷精密度之相對標準差分別為 0.18%及 0.17%，均在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

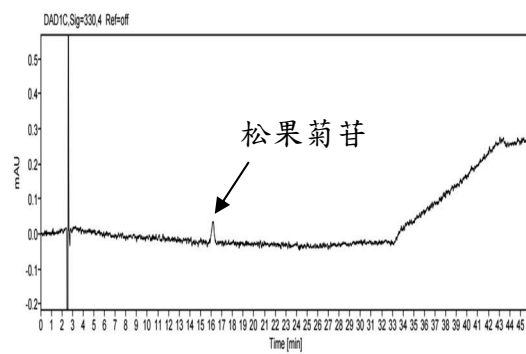
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，松果菊苷與毛蕊花糖苷重複性之相對標準差分別為 1.21%及 2.67%，均在系統適用性要求內。松果菊苷與毛蕊花糖苷在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差分別為 0.14%及 0.19%，變化差異小，若所有樣品分析都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

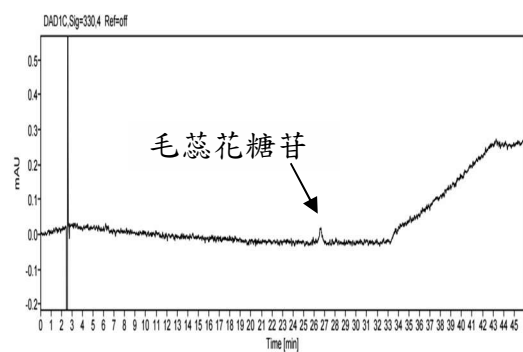
松果菊苷偵測極限為 0.05 $\mu\text{g/mL}$ (圖六)，定量極限為 0.10 $\mu\text{g/mL}$ (圖七)。毛蕊花糖苷偵測極限為 0.05 $\mu\text{g/mL}$ (圖八)，定量極限為 0.10 $\mu\text{g/mL}$ (圖九)。



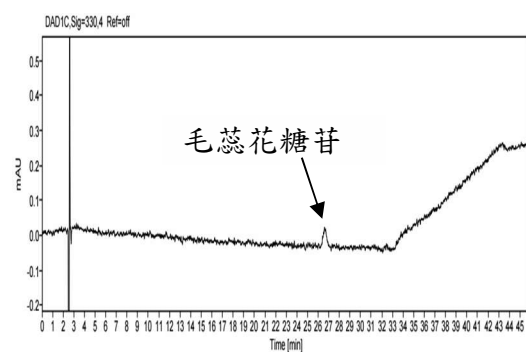
圖六、松果菊苷之偵測極限層析圖



圖七、松果菊苷之定量極限層析圖



圖八、毛蕊花糖苷之偵測極限層析圖



圖九、毛蕊花糖苷之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	松果菊苷		毛蕊花糖苷	
	濃度	R.S.D. (%)	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	50 µg/mL	0.18	50 µg/mL	0.17
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.8)	1.21	檢品溶液(No.8)	2.67
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.8)	0.14	檢品溶液(No.8)	0.19
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	-

(九) 添加回收率試驗

松果菊苷平均添加回收率為 94.1%，相對標準偏差為 0.80% (表五)。

毛蕊花糖苷平均添加回收率為 100.1%，相對標準偏差為 3.29% (表六)。

表五、松果菊苷添加回收率

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	0.2003	1.3200	1.2	2.4623	95.19	94.1	0.80
2	0.2003	1.3200	1.2	2.4471	93.92		
3	0.2002	1.3194	1.2	2.4464	93.92		
4	0.2003	1.3200	1.2	2.4523	94.36		
5	0.2000	1.3181	1.2	2.4357	93.14		

表六、毛蕊花糖苷添加回收率

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	0.2003	0.3815	0.25	0.6202	95.49	100.1	3.29
2	0.2003	0.3815	0.25	0.6308	99.74		
3	0.2002	0.3813	0.25	0.6430	104.69		
4	0.2003	0.3815	0.25	0.6304	99.56		
5	0.2000	0.3809	0.25	0.6331	100.88		

(十) 臺灣市售肉蓯蓉藥材含量測定

10 批肉蓯蓉藥材之含量測定結果(乾燥品)如表七所示，松果菊苷的含量為 0.511–5.131%，毛蕊花糖苷的含量為 0.112–1.970%。松果菊苷與毛蕊花糖苷的總含量為 0.685–7.101%，建議肉蓯蓉藥材指標成分松果菊苷與毛蕊花糖苷的總含量不得少於 0.3%；建議管花肉蓯蓉藥材指標成分松果菊苷與毛蕊花糖苷的總含量不得少於 1.5%。理論板數按松果菊苷波峰計算應不低於 8000 (實際值為 16870)；理論板數按毛蕊花糖苷波峰計算應不低於 8000 (實際值為 32620)。

表七、臺灣市售肉蓯蓉藥材檢品之松果菊苷的含量

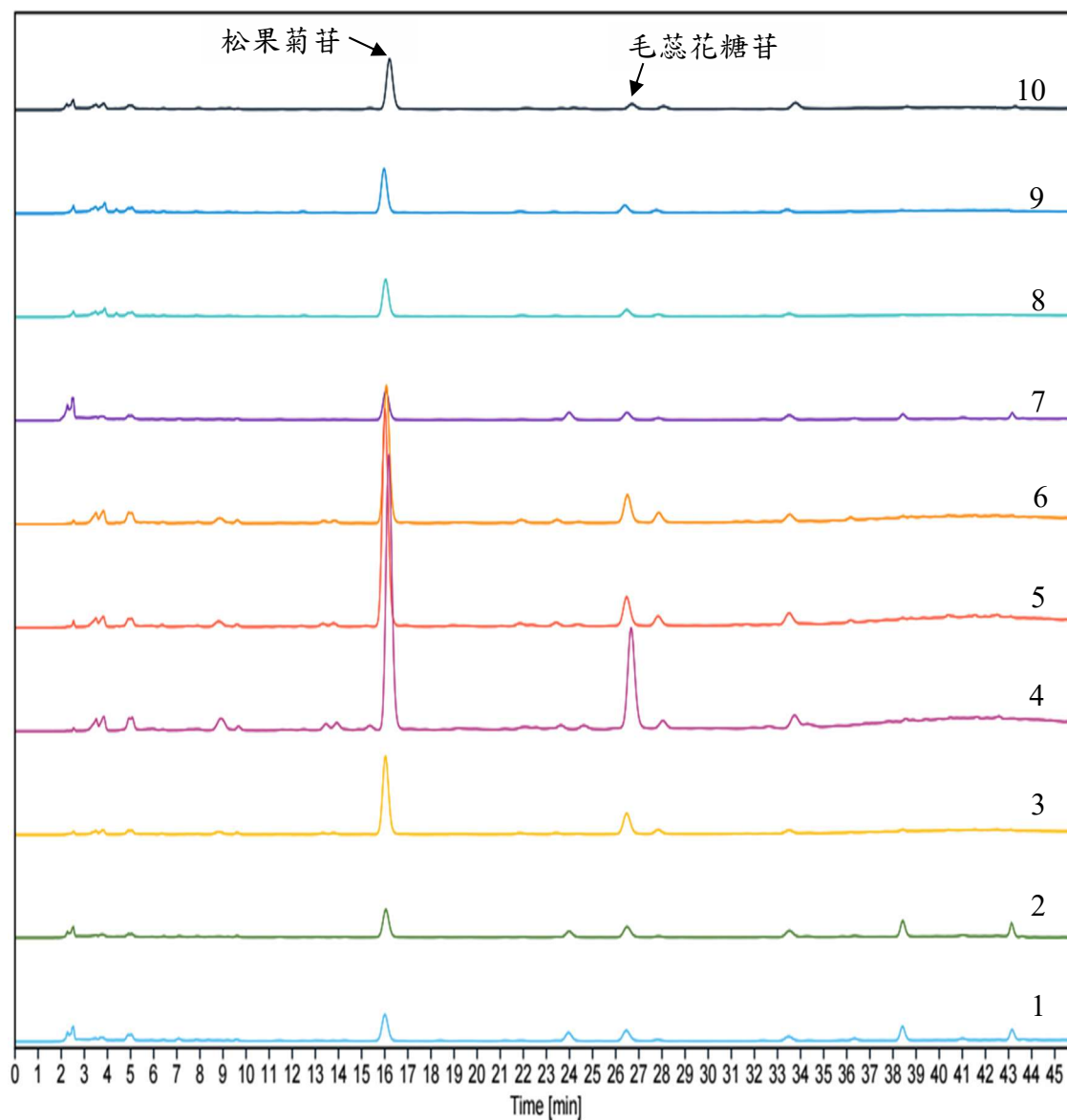
藥材編號 (No.)	松果菊苷 含量(%)	毛蕊花糖苷 含量(%)	松果菊苷與毛蕊花糖苷 總含量(%)
1 (ND)	0.511	0.219	0.729
2 (NJ)	0.535	0.209	0.744
3 (NRA)	1.438	0.409	1.847
4 (CA1)	5.131	1.970	7.101
5 (CE)	4.092	0.586	4.678
6 (SK1)	2.561	0.553	3.114
7 (SGA)	0.536	0.149	0.685
8 (SU2B)	0.691	0.136	0.826
9 (SUB)	0.833	0.150	0.983
10 (SUC)	1.031	0.112	1.144
平均值±S.D.	1.736±1.654	0.449±0.562	2.185±2.165

(十一) 肉蓯蓉藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售肉蓯蓉藥材檢品溶液各 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 330 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：

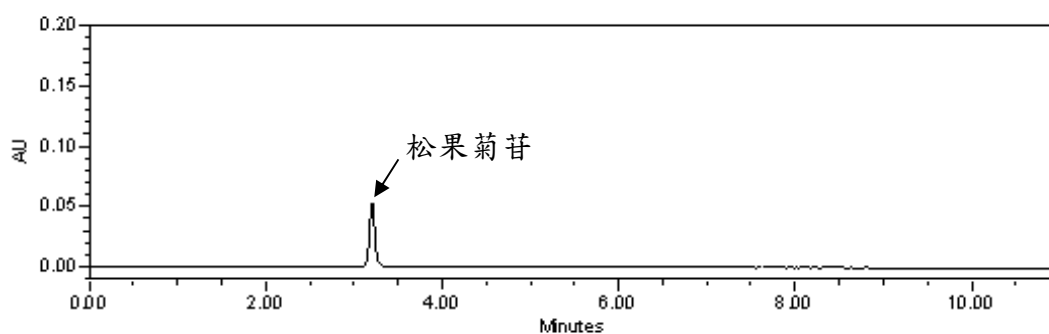
時間(min)	甲醇(%)	0.1%甲酸(v/v, %)
0	25	75
30	35	65
45	50	50



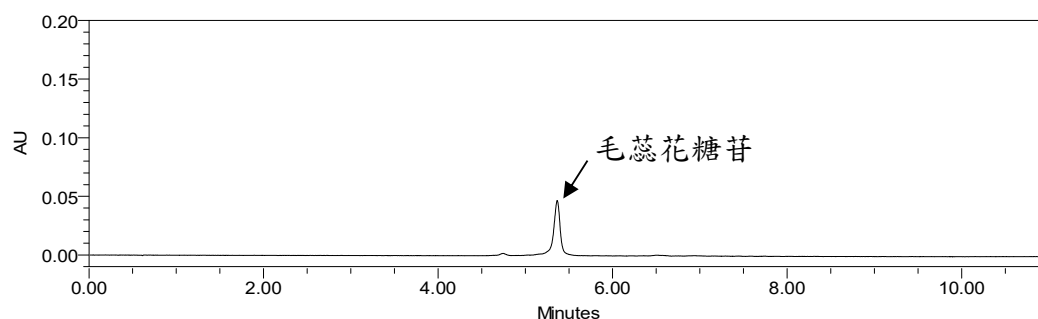
圖十、10 批肉蓯蓉藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 對照標準品之 UPLC 層析

於滯留時間 3.20 分鐘處顯示松果菊苷對照標準品波峰(圖十一)；於滯留時間 5.36 分鐘處顯示毛蕊花糖苷對照標準品波峰(圖十二)。



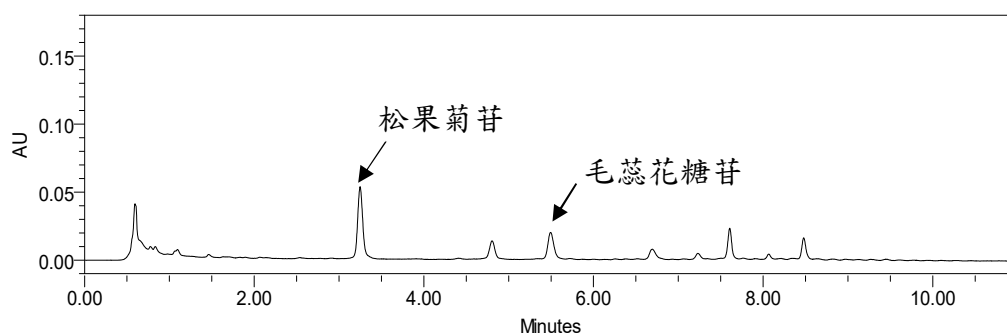
圖十一、松果菊苷對照標準品溶液之 UPLC 層析圖



圖十二、毛蕊花糖苷對照標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售肉蓯蓉藥材檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 3.25 及 5.49 分鐘處顯示松果菊苷對照標準品波峰(圖十三)。

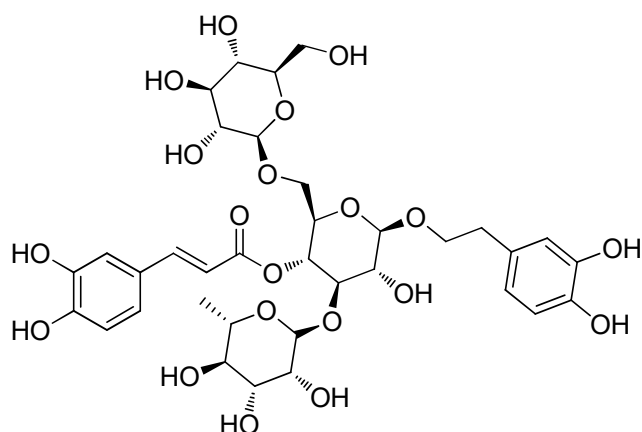
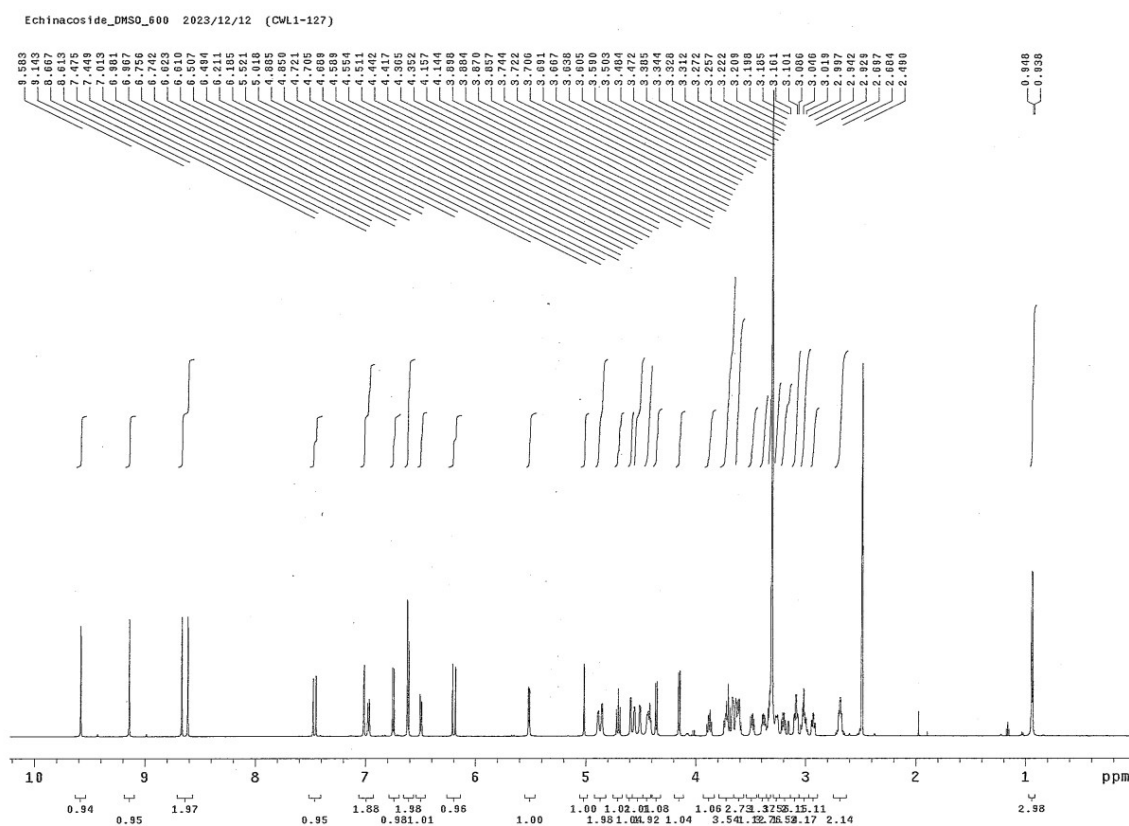


圖十三、市售肉蓯蓉藥材檢品之 UPLC 層析圖

(十四) 松果菊苷的分子式、分子量與熔點

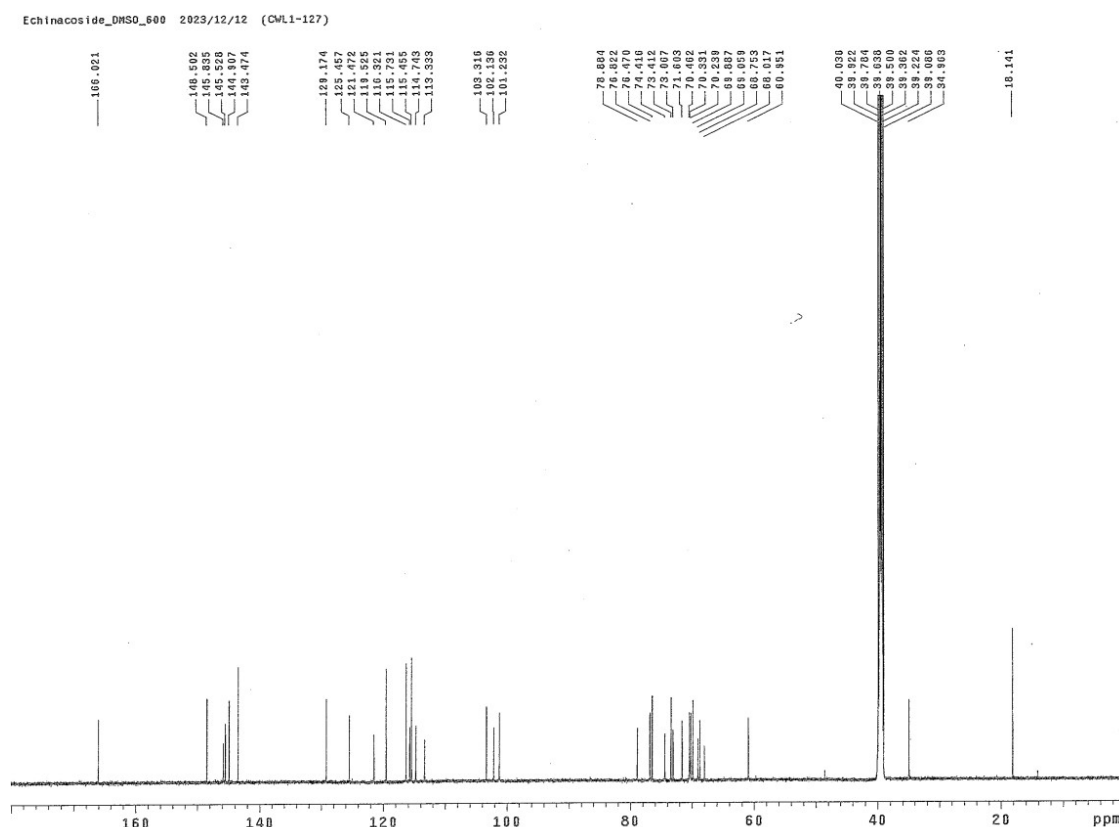
分子式：C₃₅H₄₆O₂₀；分子量：786.7；熔點：225–227 °C；白色結晶固體。

(十五) 松果菊苷的結構

(十六) 松果菊苷的 ^1H NMR 圖譜

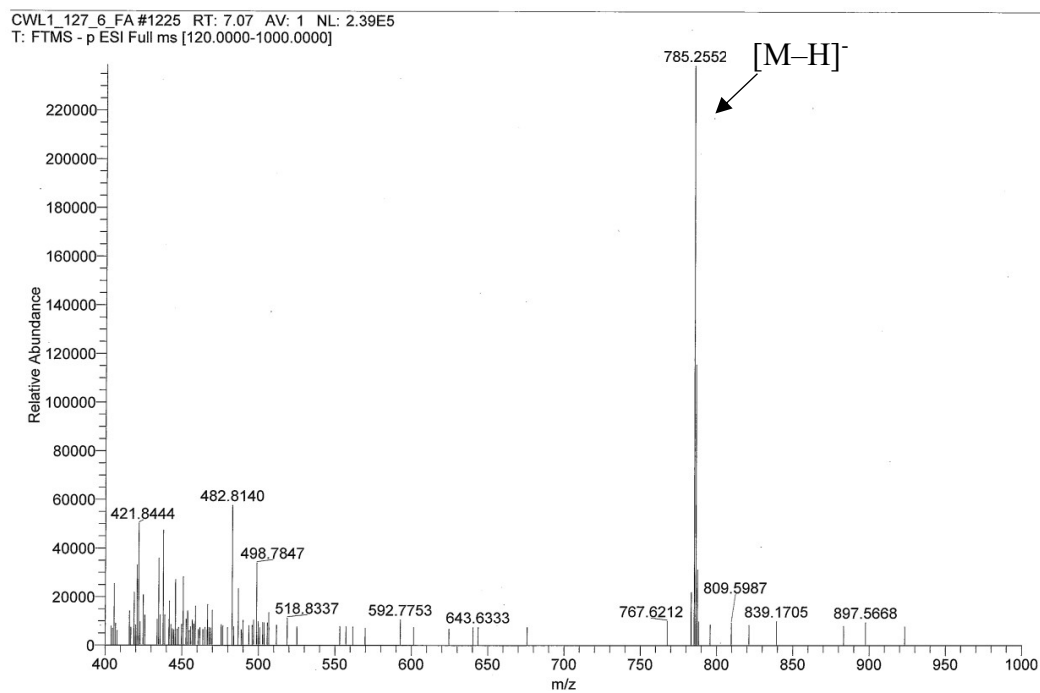
圖十四、松果菊苷的 ^1H NMR 圖譜(DMSO- d_6)

(十七) 松果菊苷的 ^{13}C NMR 圖譜



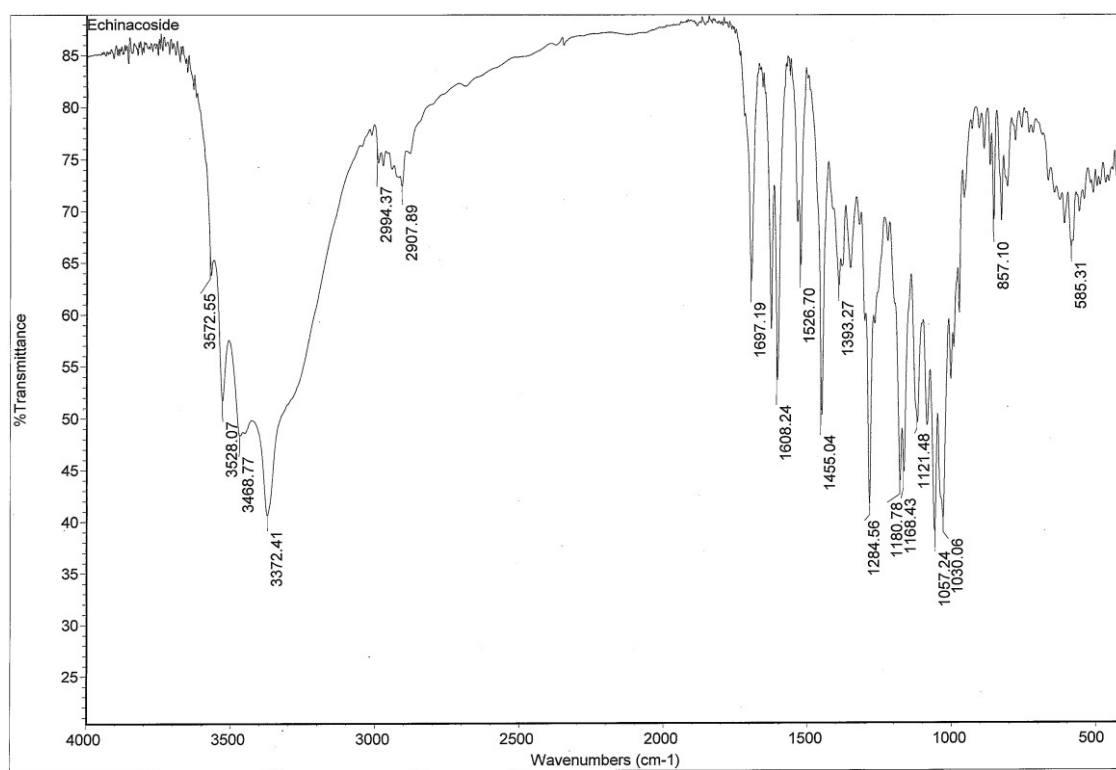
圖十五、松果菊苷的 ^{13}C NMR 圖譜(DMSO- d_6)

(十八) 松果菊苷的 ESI-MS 圖譜



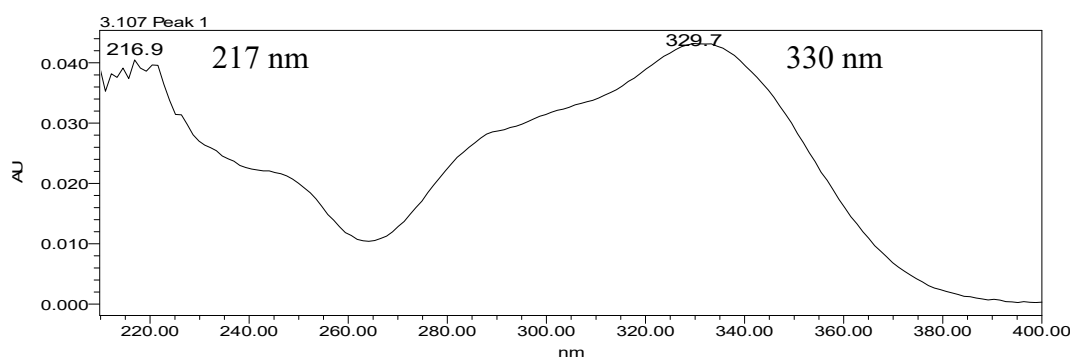
圖十六、松果菊苷的 ESI-MS 圖譜

(十九) 松果菊苷的 FTIR 圖譜



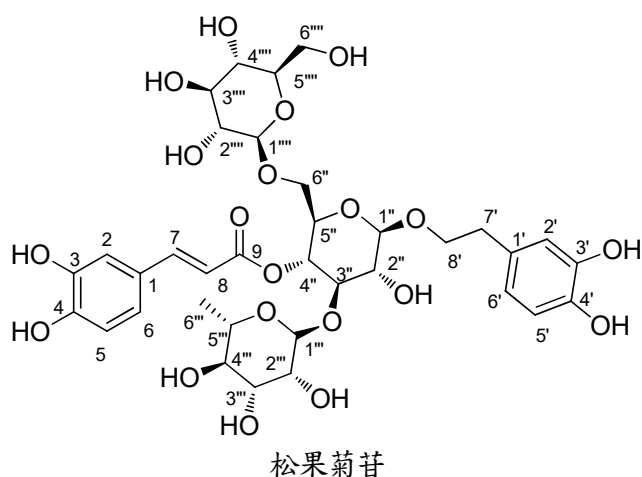
圖十七、松果菊苷的 FTIR 圖譜

(二十) 松果菊苷的 UV 圖譜



圖十八、松果菊苷的 UV 圖譜

(二十一) 松果菊苷的氫、碳化學位移



表八、松果菊苷的氫、碳化學位移(DMSO-*d*₆)

position	δ_H (600 MHz) ^a	δ_C (150 MHz)
1	-	125.5
2	7.01 (d, 2.4)	114.7
3	-	145.5
4	-	148.5
5	6.75 (d, 8.4)	115.7
6	6.97 (dd, 8.4, 2.4)	121.5
7	7.46 (d, 15.6)	145.8
8	6.29 (d, 15.6)	113.3
9	-	166.0
1'	-	129.2
2'	6.62 (d, 1.8)	116.3
3'	-	44.9
4'	-	143.5
5'	6.62 (d, 7.8)	115.5
6'	6.50 (dd, 7.8, 1.8)	119.5
7'	2.70–2.74 (m)	35.0
8'	3.59–3.64 (m), 3.86–3.90 (m)	70.2
1''	4.36 (d, 7.8)	102.1
2''	3.19–3.22 (m)	74.4
3''	3.71–3.75 (m)	78.9
4''	4.71 (t, 9.6)	69.1
5''	3.71–3.75 (m)	73.1
6''	3.46–3.50 (m), 3.64–3.71 (m)	68.0
1'''	5.02 (d, 1.2)	101.2
2'''	3.65–3.68 (m)	70.5
3'''	3.30–3.34 (m)	68.8
4'''	3.25–3.28 (m)	70.3

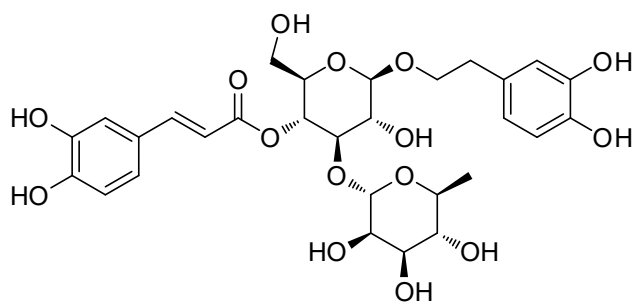
5'''	3.08–3.12 (m)	71.6
6'''	0.94 (d, 6.0)	18.1
1'''	4.15 (d, 7.8)	103.3
2'''	2.91–2.95 (m)	73.4
3'''	3.08–3.12 (m)	76.5
4'''	2.98–3.04 (m)	69.9
5'''	2.98–3.04 (m)	76.8
6'''	3.35–3.39 (m), 3.62–3.67 (m)	61.0
3-OH	9.14 (s)	-
4-OH	9.58 (s)	-
3'-OH	8.67 (s)	-
4'-OH	8.61 (s)	-
2''-OH	5.52 (d, 5.4)	-
2'''-OH	4.56 (d, 3.6)	-
3'''-OH	4.43 (d, 2.4)	-
4'''-OH	4.51 (d, 4.2)	-
2''''-OH	4.59 (d, 3.6)	-
3''''-OH	4.89 (d, 4.2)	-
4''''-OH	4.85 (d, 4.8)	-
6''''-OH	4.42 (t, 5.4)	-

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

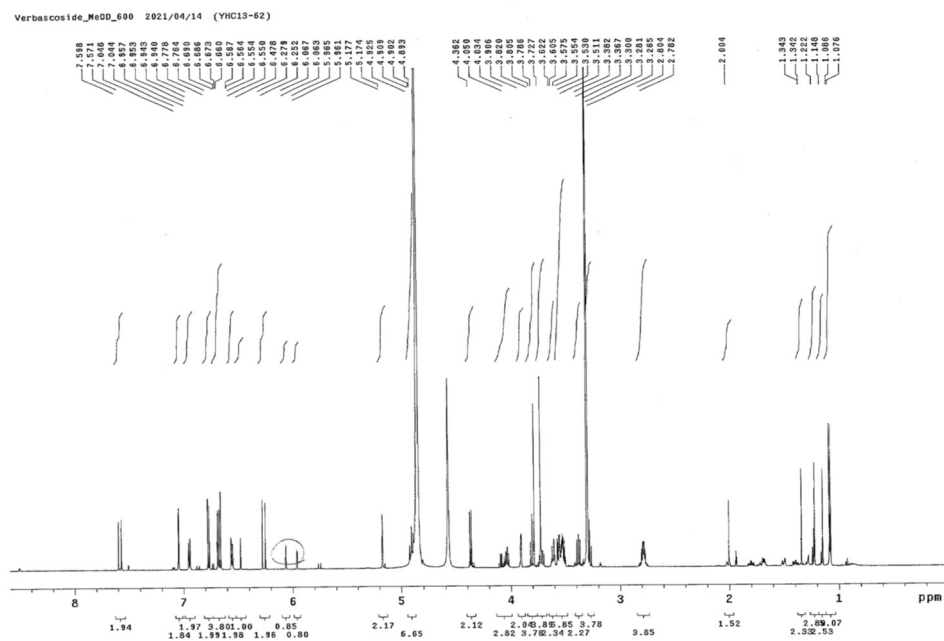
(二十二) 毛蕊花糖苷的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{29}H_{36}O_{15}$ ；分子量：624.6；熔點：142–144 °C；白色粉末。

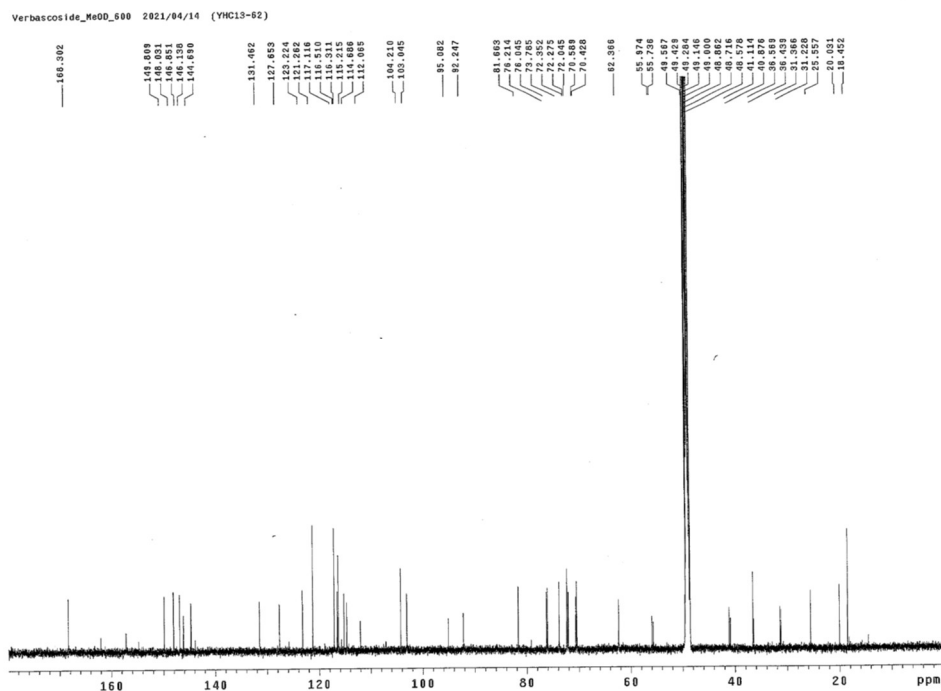
(二十三) 毛蕊花糖苷的結構



(二十四) 毛蕊花糖苷的 1H NMR 圖譜

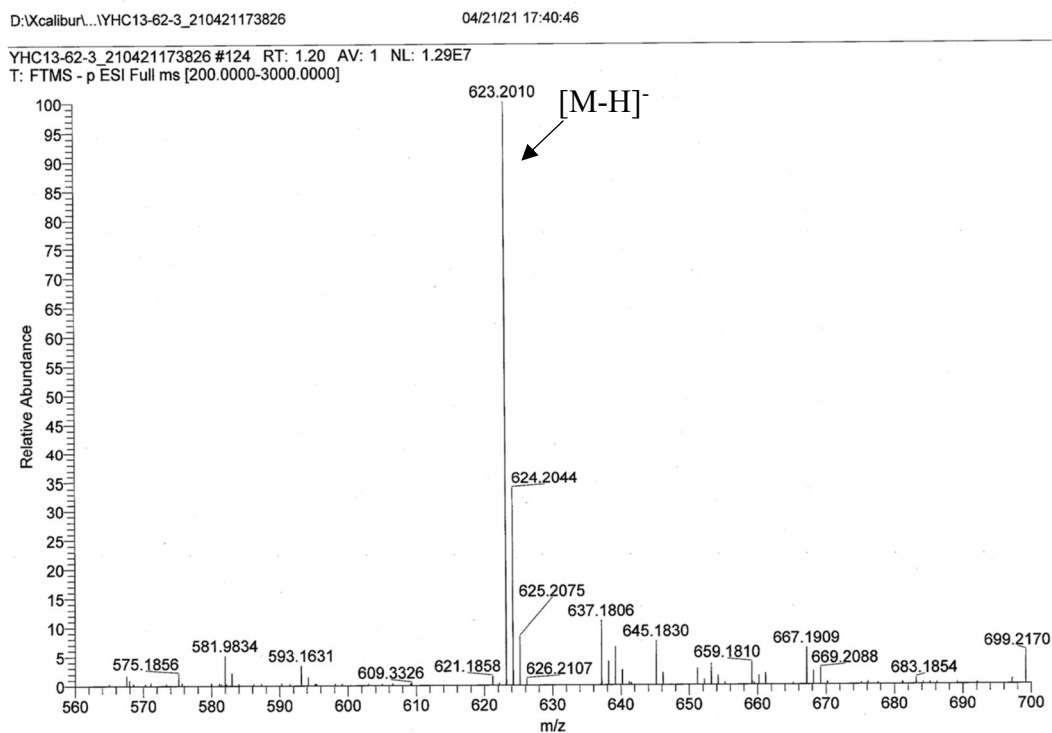


圖十九、毛蕊花糖苷的 1H NMR 圖譜(CD_3OD)

(二十五) 毛蕊花糖苷的 ^{13}C NMR 圖譜

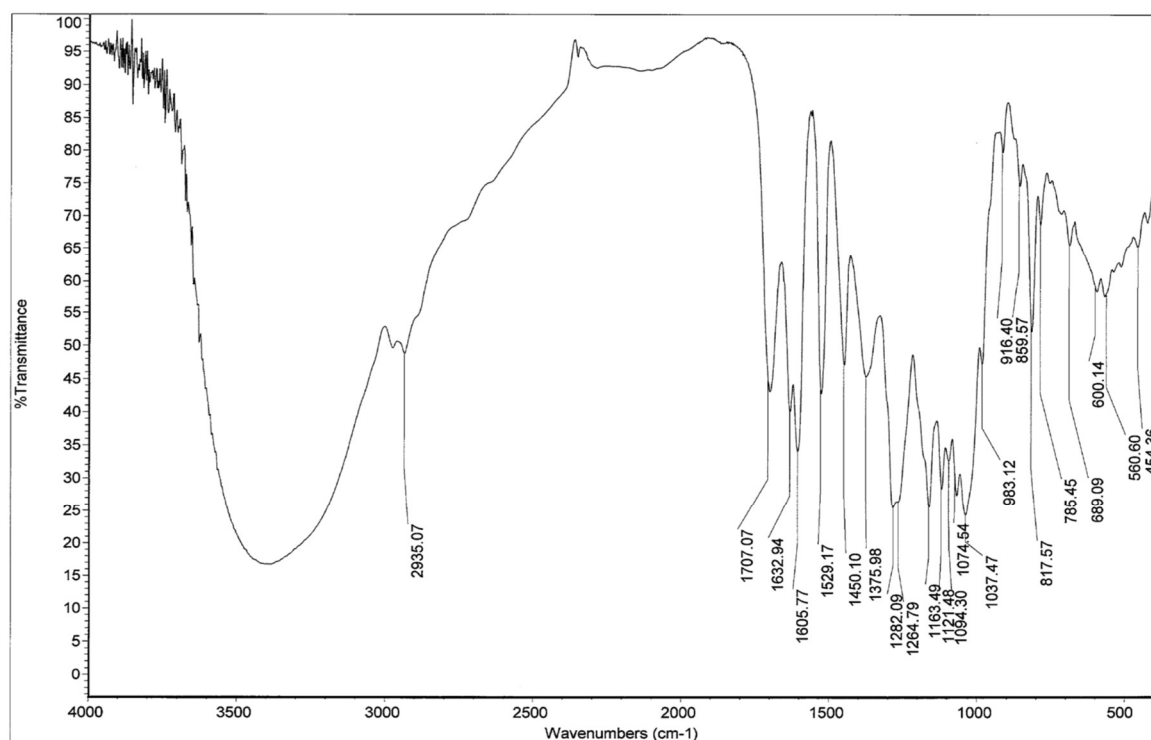
圖二十、毛蕊花糖苷的 ^{13}C NMR 圖譜(CD_3OD)

(二十六) 毛蕊花糖苷的 ESI-MS 圖譜



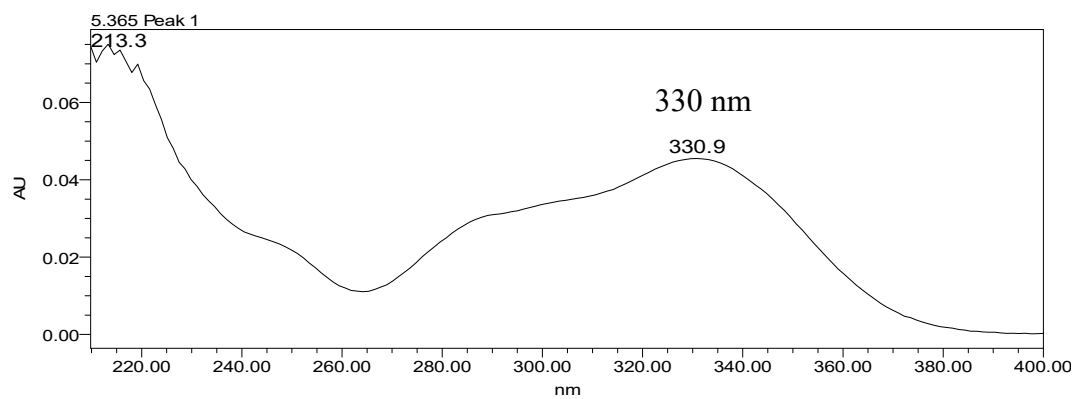
圖二十一、毛蕊花糖苷的 ESI-MS 圖譜

(二十七) 毛蕊花糖苷的 FTIR 圖譜



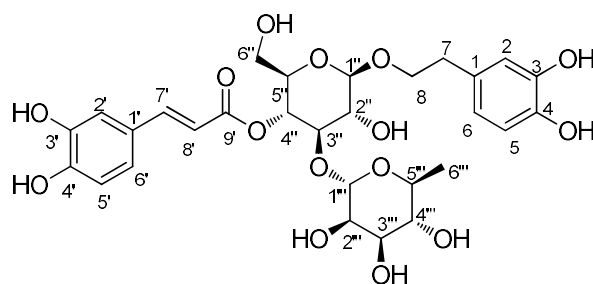
圖二十二、毛蕊花糖苷的 FTIR 圖譜

(二十八) 毛蕊花糖苷的 UV 圖譜



圖二十三、毛蕊花糖苷的 UV 圖譜

(二十九) 毛蕊花糖苷的氫、碳化學位移



毛蕊花糖苷

表七、毛蕊花糖苷的氫、碳化學位移(CD₃OD)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	-	131.5
2	6.69 (d, 2.4)	117.1
3	-	146.1
4	-	144.7
5	6.67 (d, 8.4)	116.3
6	6.56 (dd, 8.4, 2.4)	121.3
7	2.77–2.81 (m)	36.6
8	3.70–3.74 (m), 4.02–4.04 (m)	72.3
1'	-	127.7
2'	7.05 (d, 2.4)	115.2
3'	-	146.9
4'	-	149.8
5'	6.77 (d, 8.4)	116.5
6'	6.95 (dd, 8.4, 2.4)	123.2
7'	7.58 (d, 16.2)	148.0
8'	6.27 (d, 16.2)	114.7
9'	-	168.3
1''	4.37 (d, 8.4)	104.2
2''	3.37–3.40 (m)	76.2
3''	3.81 (t, 9.0)	81.7
4''	4.91 (t, 9.0)	70.6
5''	3.50–3.55 (m)	76.0
6''	3.50–3.55 (m), 3.60–3.63 (m)	62.4
1'''	5.18 (d, 1.8)	103.0
2'''	3.90–3.92 (m)	72.4
3'''	3.55–3.58 (m)	72.0
4'''	3.28 (t, 9.0)	73.8
5'''	3.55–3.58 (m)	70.4
6'''	1.08 (d, 6.0)	18.5

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

肉蓯蓉

生藥名：CISTANCHES HERBA

英文名：Desert-living Cistanche

基 原：本品為列當科 Orobanchaceae 植物肉蓯蓉 *Cistanche deserticola* Y.C.Ma 或管花肉蓯蓉 *Cistanche tubulosa* (Schenk) Wight 之乾燥肉質莖。

一、方法

(一) 檢 品 溶 液 【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》《中華人民共和國藥典 2020》

——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 20 mL，超音波振盪 15 分鐘，過濾，濾液蒸乾，殘渣加甲醇 2 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 2】《香港中藥材標準第四冊》

——取本品粉末 1.0 g，加 50% 甲醇 20 mL，超音波振盪 15 分鐘，過濾，濾液蒸乾，殘渣加乙醇 2 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 50% 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 溶 液 取松果菊苷(Echinacoside)和毛蕊花糖苷(Verbascoside)對照標準品，分別加甲醇製成每 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》

——二氯甲烷：甲醇：水 (26：14：5) 下層溶液

【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》

——甲醇：無水乙酸：水 (2：1：7)

【展開劑 3】《香港中藥材標準第四冊》

——甲醇：甲酸：水 (2：1：8)

【展開劑 4】(自行開發) ✓

——乙酸乙酯：甲醇：甲酸：水 (12：2：1：1)

(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(254 nm)及紫外光(365 nm)下檢視之。

二、萃法選擇及濃度測試

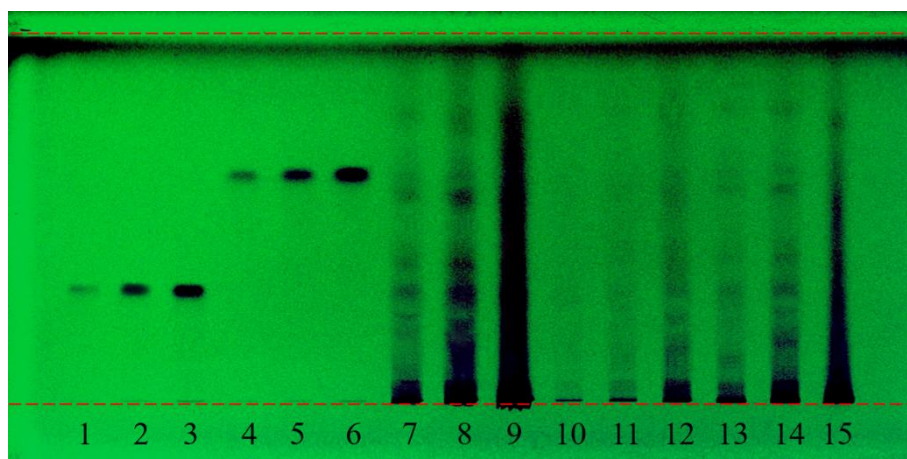
實驗日期：113/01/11

相對溼度(RH)：52%

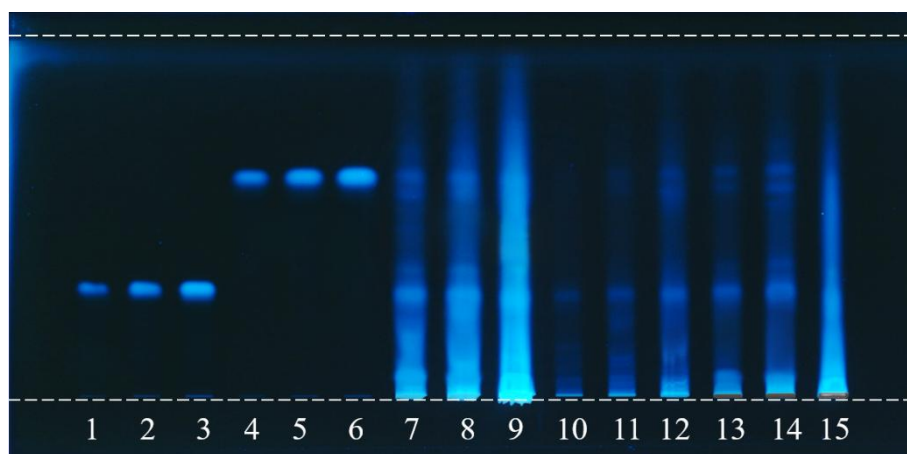
溫度(RT)：22.3°C

【展開劑 4】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：甲酸：水 (12：2：1：1)

——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



編號	名稱	點注量
1, 2, 3	松果菊苷(1.0 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
4, 5, 6	毛蕊花糖苷(1.0 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
7, 8, 9	檢品溶液 7【萃取方法 1】	1, 2, 5 μ L
10, 11, 12	檢品溶液 7【萃取方法 2】	1, 2, 5 μ L
13, 14, 15	檢品溶液 7【萃取方法 3】	2, 5, 8 μ L

建議萃法：三種萃取方法，檢品溶液中皆可分離與檢出松果菊苷和毛蕊花糖苷，因操作簡易且濃度適中，故採用自行開發之【萃取方法 3】。

建議點注量：松果菊苷 2 μ L，毛蕊花糖苷 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 3】5 μ L。

三、溶媒系統選擇

實驗日期：113/01/11

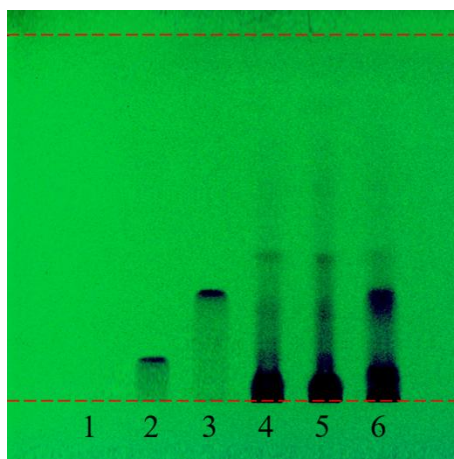
相對溼度(RH)：52%

溫度(RT)：22.3°C

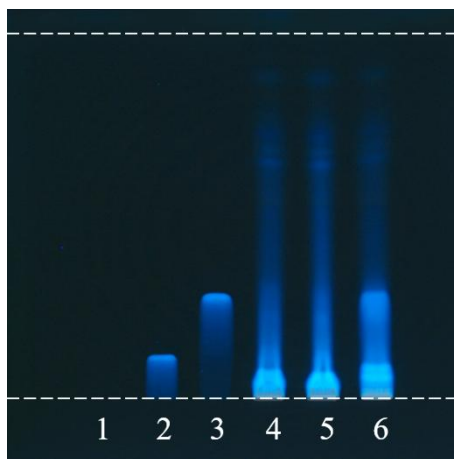
【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——二氯甲烷：甲醇：水 (26：14：5)

下層溶液

【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(松果菊苷 R_f 值 <0.3 ，毛蕊花糖苷 R_f 值 <0.3)

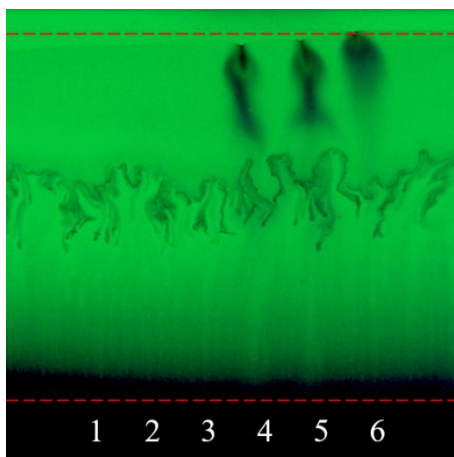


【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(松果菊苷 R_f 值 <0.3 ，毛蕊花糖苷 R_f 值 <0.3)

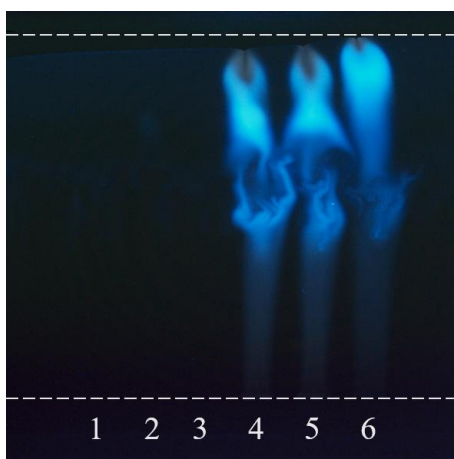


【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》——甲醇：無水乙酸：水 (2：1：7)

【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(松果菊苷 R_f 值無法判斷，毛蕊花糖苷 R_f 值無法判斷)

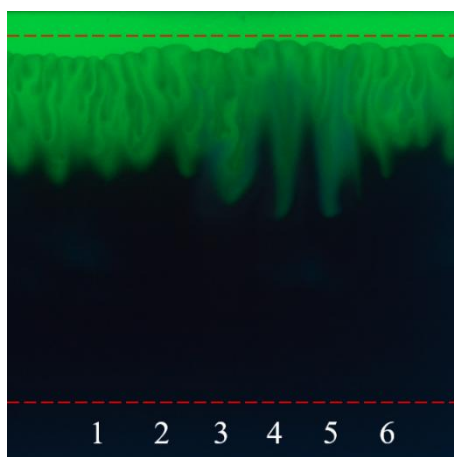


【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(松果菊苷 R_f 值無法判斷，毛蕊花糖苷 R_f 值無法判斷)

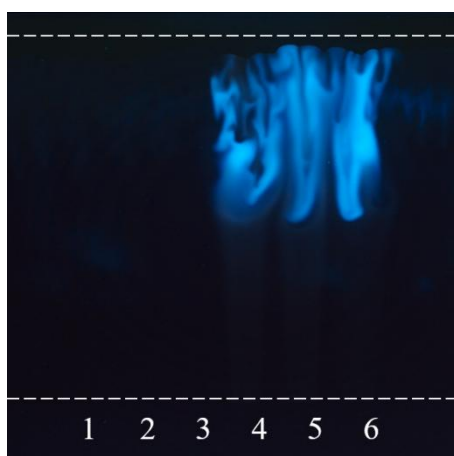


【展開劑3】《香港中藥材標準第四冊》——甲醇：甲酸：水 (2：1：8)

【萃取方法3】(自行開發)——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(松果菊苷 R_f 值無法判斷，毛蕊花糖苷 R_f 值無法判斷)

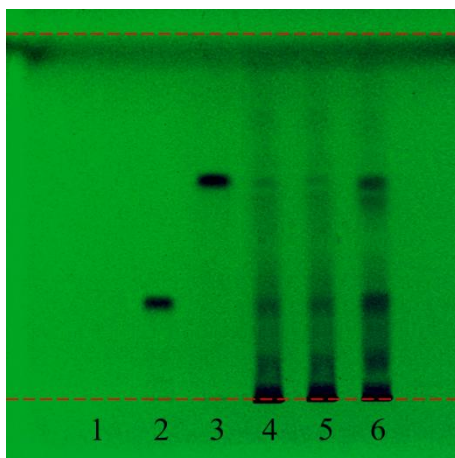


【萃取方法3】(自行開發)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(松果菊苷 R_f 值無法判斷，毛蕊花糖苷 R_f 值無法判斷)

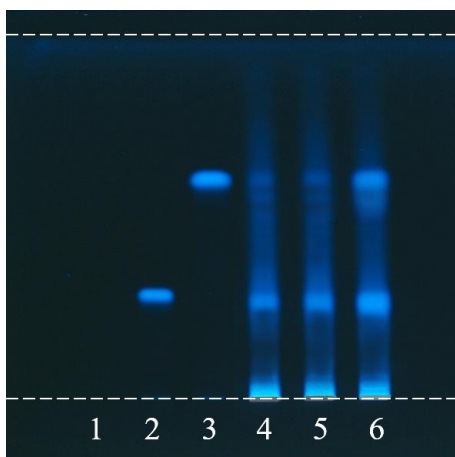


【展開劑 4】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：甲酸：水 (12：2：1：1)✓

【萃取方法 3】(自行開發)—— HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(松果菊苷 R_f 值為 0.29，毛蕊花糖苷 R_f 值為 0.60)



【萃取方法 3】(自行開發)—— HPTLC 紫外光(365nm)檢出(松果菊苷 R_f 值為 0.29，毛蕊花糖苷 R_f 值為 0.60)



1：Blank	4，5：檢品溶液 7
2：松果菊苷	6：Spike
3：毛蕊花糖苷	

建議溶媒系統：以自行開發之【萃取方法 3】方式，以自行開發【展開劑 4】展開，顯示的松果菊苷和毛蕊花糖苷 R_f 值適中，分離佳沒有托尾，且沒有使用含氯溶媒，故採用【展開劑 4】。

四、觀察方式選擇

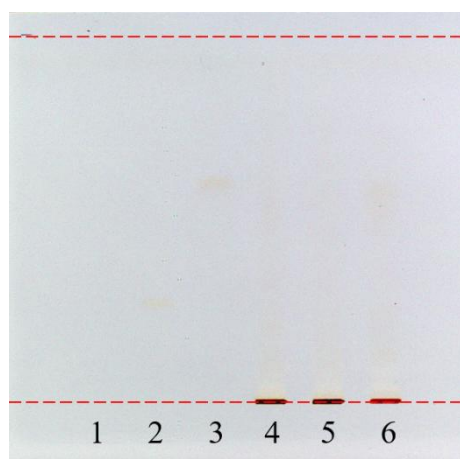
實驗日期：113/01/11

相對溼度(RH)：52%

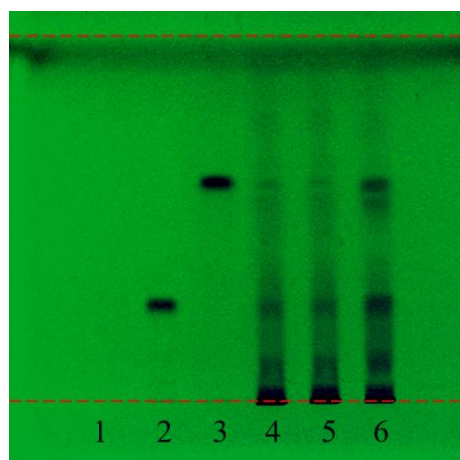
溫度(RT)：22.3°C

【展開劑 4】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：甲酸：水 (12：2：1：1)

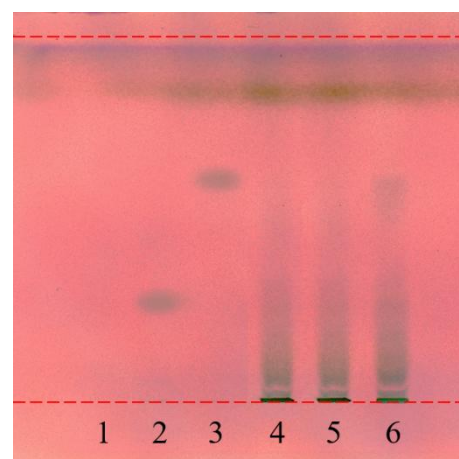
【萃取方法 3】(自行開發)—HPTLC 可
見光檢出



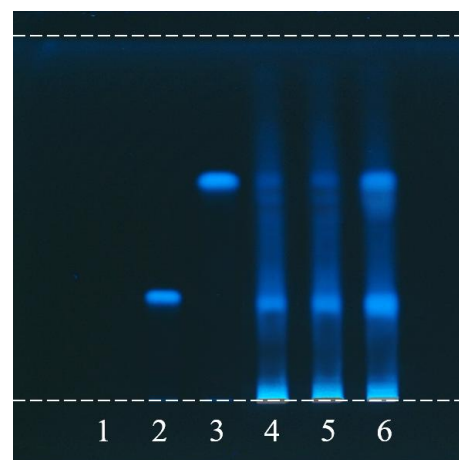
【萃取方法 3】(自行開發)—HPTLC 紫
外光(254 nm)檢出✓



【萃取方法 3】(自行開發)—HPTLC 茴
香醛/硫酸試液顯色後可見光檢出



【萃取方法 3】(自行開發)—HPTLC 紫
外光(365 nm)檢出✓



1：Blank

2：松果菊苷

3：毛蕊花糖苷

4，5：檢品溶液 7

6：Spike

建議觀察方式：於紫外光(254 nm)及紫外光(365 nm)檢視，有較明顯分離之條帶。

五、十批肉蓯蓉藥材樣品檢測

實驗日期：113/01/11

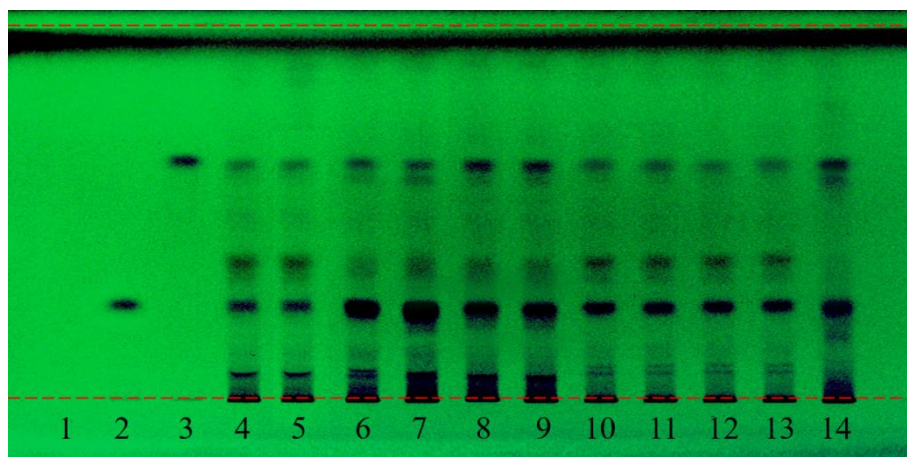
相對溼度(RH)：52%

溫度(RT)：22.3°C

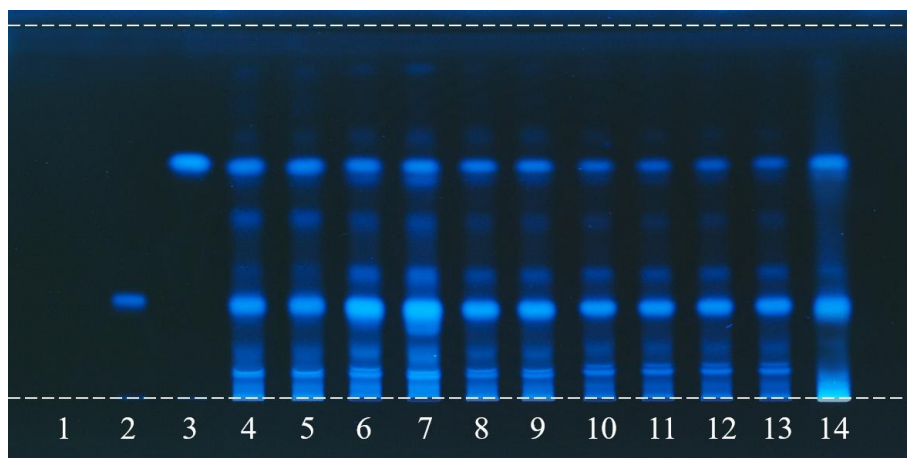
【展開劑 4】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：甲酸：水 (12：2：1：1)

【萃取方法 3】(自行開發)—HPTLC

(1) 紫外光(254 nm)檢出



(2) 紫外光(365 nm)檢出

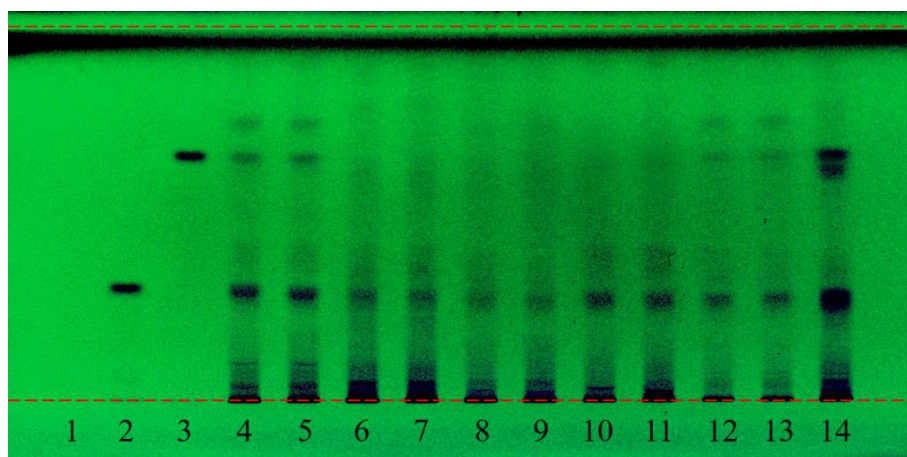


1	Blank	8, 9	檢品溶液 3 (CE)
2	松果菊苷(1.0 mg/mL)	10, 11	檢品溶液 4 (SK1)
3	毛蕊花糖苷(1.0 mg/mL)	12, 13	檢品溶液 5 (SUB)
4, 5	檢品溶液 1 (NRA)	14	Spike (檢品溶液 7)
6, 7	檢品溶液 2 (CA1)		

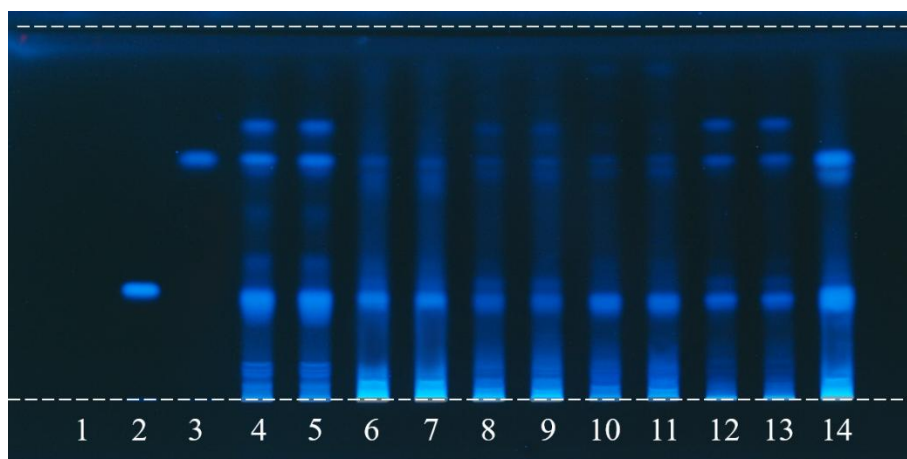
【展開劑 4】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：甲酸：水 (12：2：1：1)

【萃取方法 3】(自行開發)—HPTLC

(1) 紫外光(254 nm)檢出



(2) 紫外光(365 nm)檢出



1	Blank	8, 9	檢品溶液 8 (SGA)
2	松果菊苷(1.0 mg/mL)	10, 11	檢品溶液 9 (SUC)
3	毛蕊花糖苷(1.0 mg/mL)	12, 13	檢品溶液 10 (SU2)
4, 5	檢品溶液 6 (ND)	14	Spike (檢品溶液 7)
6, 7	檢品溶液 7 (NJ)		

*檢品 1~5 為管花肉蓯蓉，6~10 為肉蓯蓉。

結論與建議：以【萃取方法 3】方式及【展開劑 4】分離與檢出松果菊苷及毛蕊花糖苷較佳，以紫外光(254 nm)及紫外光(365 nm)下檢視較佳。

肉蓯蓉飲片(CISTANCHIS HERBA)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店肉蓯蓉飲片共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Agilent 1260 Infinity II，包含 Quaternary pump、Autosampler、Thermostatted column compartment、Diode-Array Detector；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 × 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；甲酸購置於台灣默克有限公司。

(二) 對照標準品

松果菊苷(Echinacoside)、毛蕊花糖苷(Verbascoside)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

肉蓯蓉飲片萃取溶媒同肉蓯蓉藥材。

(二) 最佳萃取次數評估

肉蓯蓉飲片最佳萃取次數同肉蓯蓉藥材。

(三) 對照標準品溶液

1. 準確稱取對照標準品松果菊苷 8.0 mg，加 10 mL 的 50%甲醇製成每 1 mL 含松果菊苷 800 μg 的對照標準品儲備溶液，並以 50%甲醇稀釋至松果菊苷 50 μg/mL 製成對照標準品溶液。
2. 準確稱取對照標準品毛蕊花糖苷 2.0 mg，加 10 mL 的 50%甲醇製成每 1 mL 含毛蕊花糖苷 200 μg 的對照標準品儲備溶液，並以 50%甲醇稀釋至毛蕊花糖苷 50 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 No.20 篩網)約 1.0 g，置 50 mL 離心管中，準確加入 50% 甲醇 40 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 $4000 \times g$)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 50 mL 之容量瓶中，加 50% 甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 μm)，即得。

(五) 測定法

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松果菊苷及毛蕊花糖苷的含量，即得。

(六) 檢量線

1. 準確吸取松果菊苷對照標準品儲備溶液適量(800 $\mu\text{g/mL}$)，以甲醇稀釋成含松果菊苷分別為 800、400、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. 準確吸取毛蕊花糖苷對照標準品儲備溶液適量(200 $\mu\text{g/mL}$)，以甲醇稀釋成含毛蕊花糖苷分別為 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 。

(七) 精密度試驗

1. 以松果菊苷為 50 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以松果菊苷的波峰面積為指標，求出相對標準差。
2. 以毛蕊花糖苷為 50 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以毛蕊花糖苷的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售肉蓯蓉飲片粉末，依肉蓯蓉飲片檢品溶液製備方法平行製備 5 份肉蓯蓉飲片檢品溶液，進樣測定，以松果菊苷及毛蕊花糖苷的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售肉蓯蓉飲片粉末，依肉蓯蓉飲片檢品溶液製備方法製備肉蓯蓉飲片檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，以松果菊苷及毛蕊花糖苷的含量為指標，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. 取已知松果菊苷含量的肉蓯蓉飲片粉末 5 份，每份準確稱取約 0.2 g，分別加入 1 mL 的松果菊苷溶液(400 $\mu\text{g/mL}$)，並按檢品溶液製備方法操作測定。
2. 取已知毛蕊花糖苷含量的肉蓯蓉飲片粉末 5 份，每份準確稱取約 0.2 g，分別加入 1 mL 的毛蕊花糖苷溶液(100 $\mu\text{g/mL}$)，並按檢品溶液製備方法操作測定。

(十) HPLC 分析條件

1. 層析管：Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 330 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%甲酸(v/v, %)
0	25	75
35	35	65
45	50	50

(十二) 臺灣市售肉蓯蓉飲片含量測定

取 10 批市售肉蓯蓉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 公式計算樣品松果菊苷及毛蕊花糖苷的百分比含量。

(十三) 肉蓯蓉飲片檢品之 UPLC 層析條件

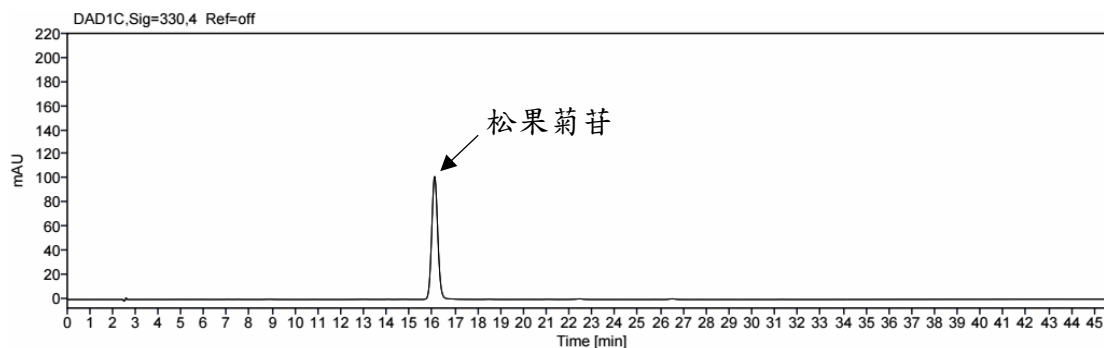
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μ m)
2. 檢測波長：UV 330 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μ L
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	0.1% 甲酸(v/v, %)
0	25	75
6	35	65
9	50	50

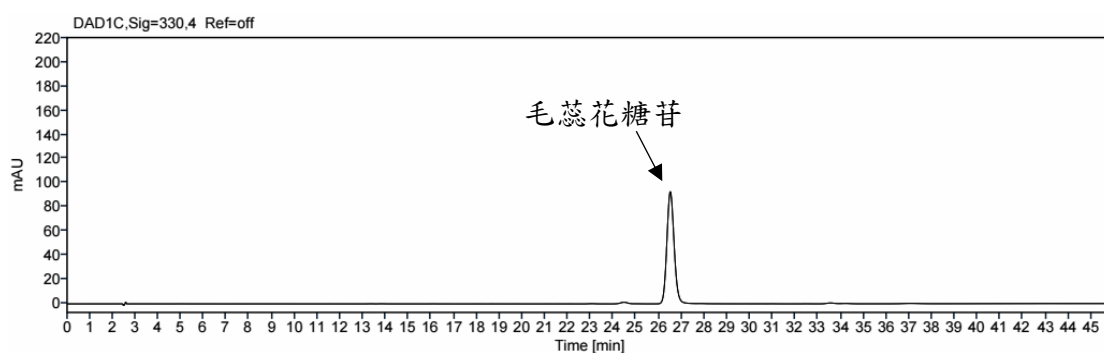
五、結果

(一) 對照標準品松果菊苷與毛蕊花糖苷之 HPLC 層析

於滯留時間 16.1 分鐘處顯示松果菊苷對照標準品波峰(圖一)，於滯留時間 26.5 分鐘處顯示毛蕊花糖苷對照標準品波峰(圖二)。



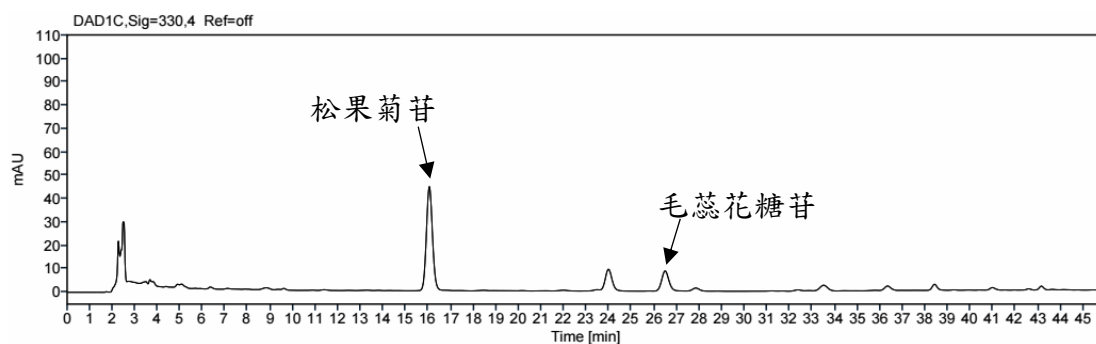
圖一、松果菊苷對照標準品溶液之 HPLC 層析圖



圖二、毛蕊花糖苷對照標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售肉蓯蓉飲片檢品之 HPLC 層析

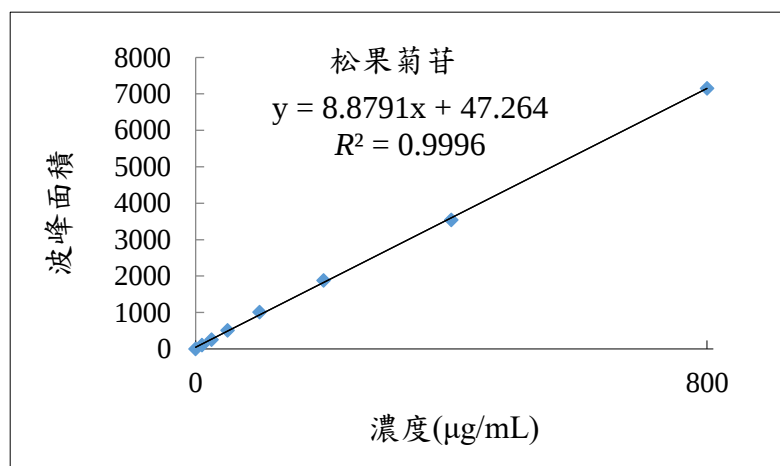
於滯留時間 16.0 分鐘及 26.5 分鐘處顯示肉蓯蓉飲片檢品中松果菊苷及毛蕊花糖苷之波峰(圖三)。松果菊苷分離率(R)為 34，拖尾因子(T)為 1.1；毛蕊花糖苷分離率(R)為 4.4，拖尾因子(T)為 1.1，均在系統適用性要求內。



圖三、市售肉蓯蓉飲片檢品之 HPLC 層析圖

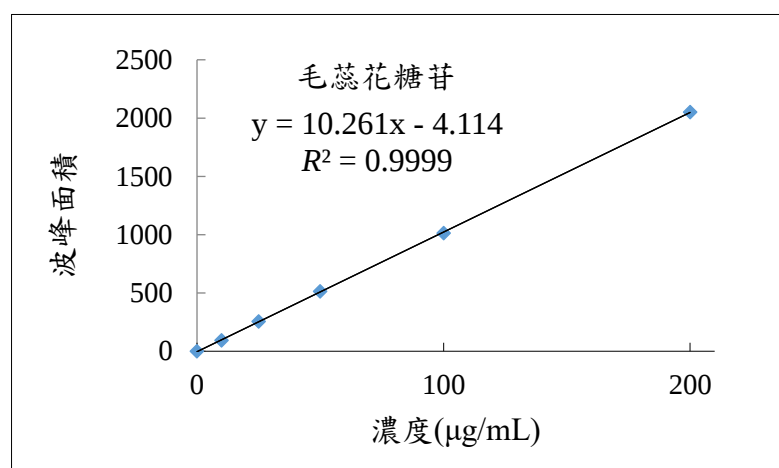
(三) 對照標準品松果菊苷與毛蕊花糖苷之檢量線

1. 經不同濃度松果菊苷(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 $y = 8.8791x + 47.264$ ， $R^2 = 0.9996$ ，顯示濃度在 10–800 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖四)。



圖四、松果菊苷之檢量線圖

2. 經不同濃度毛蕊花糖苷(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 $y = 10.261x - 4.114$ ， $R^2 = 0.9999$ ，顯示濃度在 10–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖五)。



圖五、毛蕊花糖苷之檢量線圖

表一、松果菊苷與毛蕊花糖苷之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
松果菊苷	10–800	$y = 8.8791x + 47.264$	0.9996
毛蕊花糖苷	10–200	$y = 10.261x - 4.114$	0.9999

(四) 精密度試驗

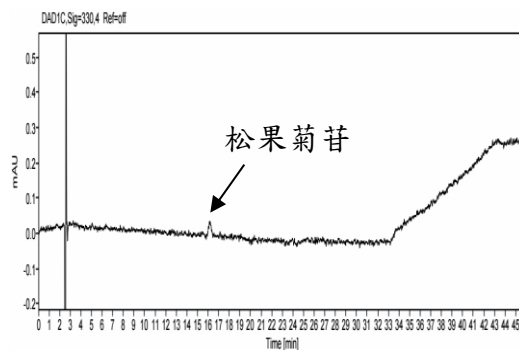
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，松果菊苷與毛蕊花糖苷精密度之相對標準差分別為 0.18%與 0.16%，均在系統適用性要求內。

(五) 重複性與穩定性試驗

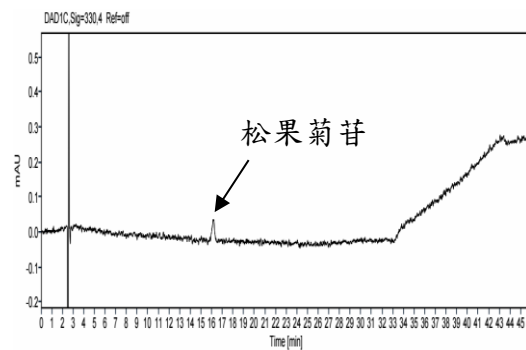
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，松果菊苷與毛蕊花糖苷重複性之相對標準差分別為 1.07%及 2.22%，均在系統適用性要求內。松果菊苷與毛蕊花糖苷在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差分別為 0.12%及 0.19%，變化差異小，若所有樣品分析都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(六) 偵測極限與定量極限試驗

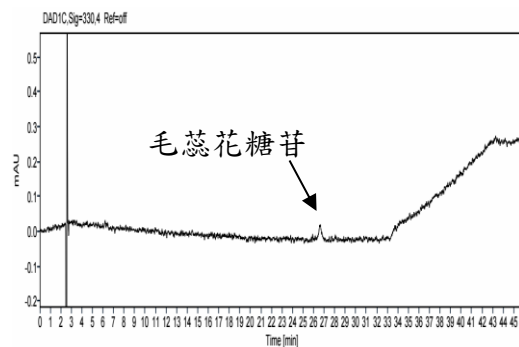
松果菊苷偵測極限為 0.05 $\mu\text{g/mL}$ (圖六)，定量極限為 0.10 $\mu\text{g/mL}$ (圖七)。
毛蕊花糖苷偵測極限為 0.05 $\mu\text{g/mL}$ (圖八)，定量極限為 0.10 $\mu\text{g/mL}$ (圖九)。



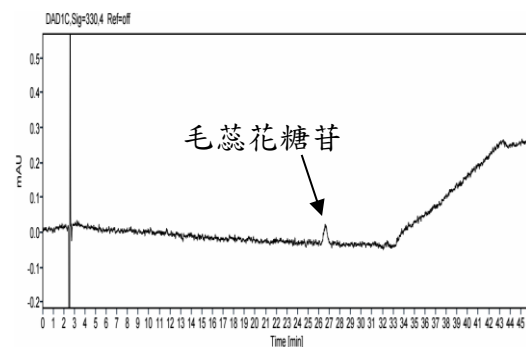
圖六、松果菊苷之偵測極限層析圖



圖七、松果菊苷之定量極限層析圖



圖八、毛蕊花糖苷之偵測極限層析圖



圖九、毛蕊花糖苷之定量極限層析圖

表二、各項檢驗分析

檢測項目	松果菊苷		毛蕊花糖苷	
	濃度	R.S.D. (%)	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	50 µg/mL	0.18	50 µg/mL	0.16
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.5)	1.07	檢品溶液(No.5)	2.22
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.5)	0.12	檢品溶液(No.5)	0.19
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

松果菊苷平均添加回收率為 97.9%，相對標準偏差為 2.19% (表三)。毛蕊花糖苷平均添加回收率為 90.5%，相對標準偏差為 2.32% (表四)。

表三、松果菊苷添加回收率

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	0.2004	0.4938	0.4	0.8936	99.95	97.9	2.19
2	0.2005	0.4940	0.4	0.8947	100.17		
3	0.2002	0.4933	0.4	0.8812	96.98		
4	0.2002	0.4933	0.4	0.8740	95.18		
5	0.2004	0.4938	0.4	0.8821	97.08		

表四、毛蕊花糖苷添加回收率

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	0.2004	0.1681	0.1	0.2576	89.51	90.5	2.32
2	0.2005	0.1682	0.1	0.2624	94.16		
3	0.2002	0.1680	0.1	0.2571	89.10		
4	0.2002	0.1680	0.1	0.2585	90.51		
5	0.2004	0.1681	0.1	0.2575	89.37		

(八) 臺灣市售肉蓯蓉飲片含量測定

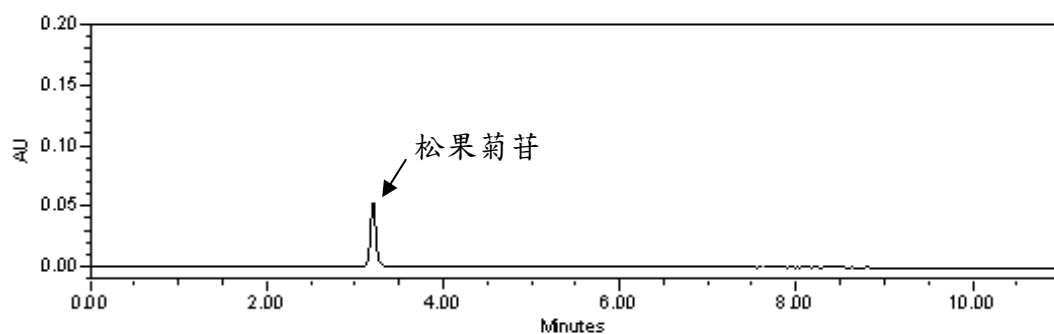
10 批肉蓯蓉飲片之含量測定結果(乾燥品)如表五所示，松果菊苷的含量為 0.083–0.805%，毛蕊花糖苷的含量為 0.018–0.204%。松果菊苷與毛蕊花糖苷的總含量為 0.102–0.931%，建議肉蓯蓉飲片指標成分松果菊苷與毛蕊花糖苷的總含量不得少於 0.5%。理論板數按松果菊苷波峰計算應不低於 5000 (實際值為 16880)，按毛蕊花糖苷波峰計算應不低於 5000 (實際值為 32640)。

表五、臺灣市售肉蓯蓉飲片檢品之松果菊苷與毛蕊花糖苷的含量

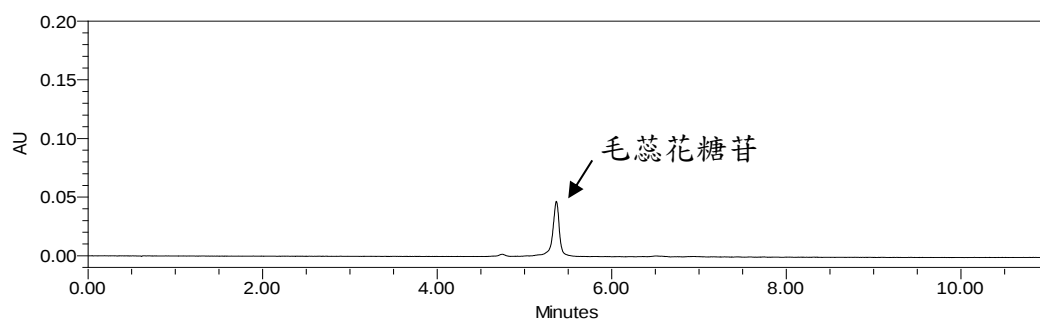
飲片編號 (No.)	松果菊苷 含量(%)	毛蕊花糖苷 含量(%)	松果菊苷與毛蕊花糖苷 總含量(%)
1 (NE)	0.509	0.109	0.618
2 (NF)	0.210	0.073	0.283
3 (NH)	0.390	0.096	0.486
4 (NRB)	0.635	0.296	0.931
5 (CB)	0.250	0.065	0.316
6 (SGB)	0.805	0.136	0.941
7 (SU2A)	0.242	0.038	0.280
8 (SU2D)	0.548	0.204	0.752
9 (SUA)	0.084	0.018	0.102
10 (SK3)	0.083	0.069	0.152
平均值±S.D.	0.366±0.252	0.110±0.084	0.476±0.319

(九) 對照標準品松果菊苷與毛蕊花糖苷之 UPLC 層析

於滯留時間 3.20 分鐘處顯示松果菊苷對照標準品波峰(圖十)；於滯留時間 5.36 分鐘處顯示毛蕊花糖苷對照標準品波峰(圖十一)。



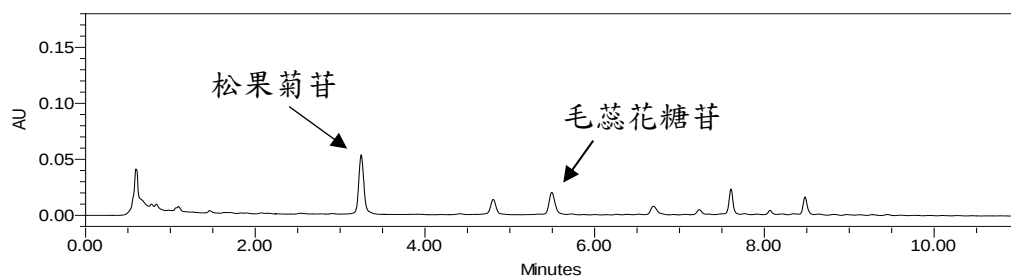
圖十、松果菊苷對照標準品溶液之 UPLC 層析圖



圖十一、毛蕊花糖苷對照標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十) 市售肉蓯蓉飲片檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 3.25、5.49 分鐘處分別顯示肉蓯蓉飲片檢品中松果菊苷與毛蕊花糖苷波峰(圖十二)。



圖十二、市售肉蓯蓉飲片檢品之 UPLC 層析圖

肉蓯蓉

生藥名：CISTANCHES HERBA

英文名：Desert-living Cistanche

基 原：本品為列當科 Orobanchaceae 植物肉蓯蓉 *Cistanche deserticola* Y.C.Ma 或管花肉蓯蓉 *Cistanche tubulosa* (Schenk) Wight 之乾燥肉質莖。

一、方法

(一) 檢 品 溶 液 【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》《中華人民共和國藥典 2020》

——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 20 mL，超音波振盪 15 分鐘，過濾，濾液蒸乾，殘渣加甲醇 2 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 2】《香港中藥材標準第四冊》

——取本品粉末 1.0 g，加 50% 甲醇 20 mL，超音波振盪 15 分鐘，過濾，濾液蒸乾，殘渣加乙醇 2 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 50% 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 溶 液 取松果菊苷(Echinacoside)和毛蕊花糖苷(Verbascoside)對照標準品，分別加甲醇製成每 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》

——二氯甲烷：甲醇：水 (26：14：5) 下層溶液

【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》

——甲醇：無水乙酸：水 (2：1：7)

【展開劑 3】《香港中藥材標準第四冊》

——甲醇：甲酸：水 (2：1：8)

【展開劑 4】(自行開發) ✓

——乙酸乙酯：甲醇：甲酸：水 (12：2：1：1)

(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(254 nm)及紫外光(365 nm)下檢視之。

二、萃法選擇及濃度測試

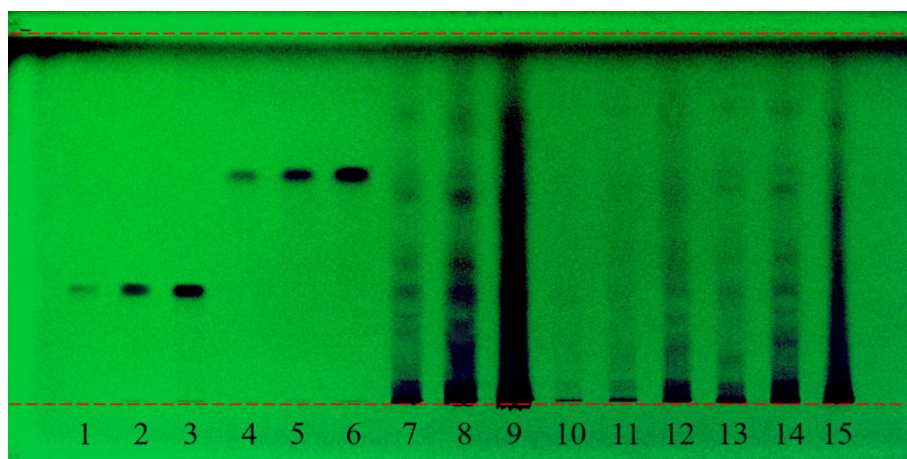
實驗日期：113/01/11

相對溼度(RH)：52%

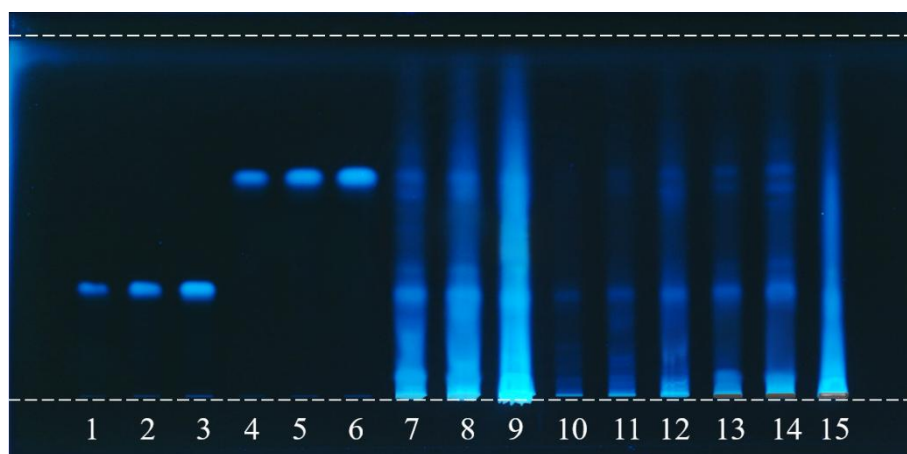
溫度(RT)：22.3°C

【展開劑 4】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：甲酸：水 (12：2：1：1)

——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



編號	名稱	點注量
1, 2, 3	松果菊苷(1.0 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
4, 5, 6	毛蕊花糖苷(1.0 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
7, 8, 9	檢品溶液 1【萃取方法 1】	1, 2, 5 μ L
10, 11, 12	檢品溶液 1【萃取方法 2】	1, 2, 5 μ L
13, 14, 15	檢品溶液 1【萃取方法 3】	2, 5, 8 μ L

建議萃法：三種萃取方法，檢品溶液中皆可分離與檢出松果菊苷和毛蕊花糖苷，因操作簡單且濃度適中，故採用自行開發之【萃取方法 3】。

建議點注量：松果菊苷 2 μ L，毛蕊花糖苷 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 3】5 μ L。

三、溶媒系統選擇

實驗日期：113/01/11

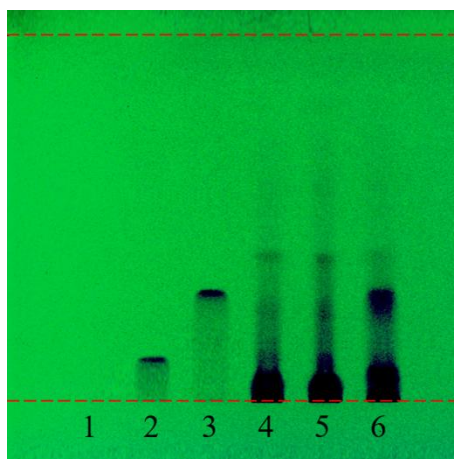
相對溼度(RH)：52%

溫度(RT)：22.3°C

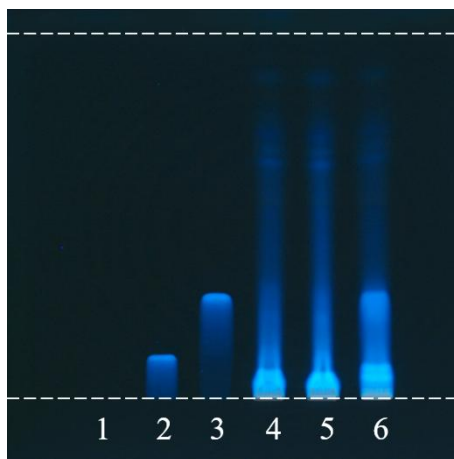
【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——二氯甲烷：甲醇：水 (26：14：5)

下層溶液

【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(松果菊苷 R_f 值 <0.3 ，毛蕊花糖苷 R_f 值 <0.3)

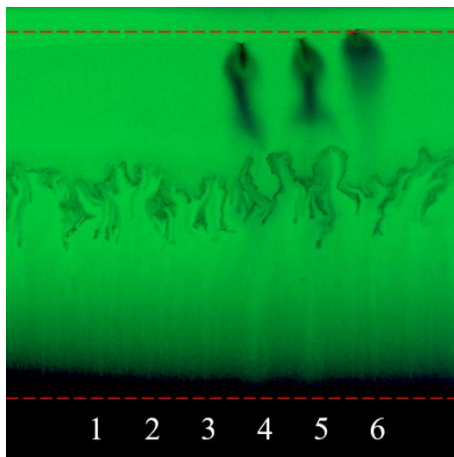


【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(松果菊苷 R_f 值 <0.3 ，毛蕊花糖苷 R_f 值 <0.3)

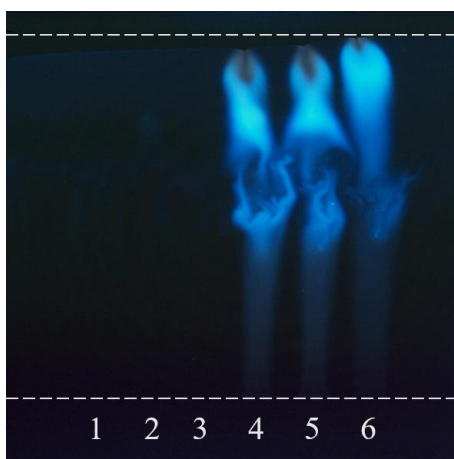


【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》——甲醇：無水乙酸：水 (2：1：7)

【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(松果菊苷 R_f 值無法判斷，毛蕊花糖苷 R_f 值無法判斷)

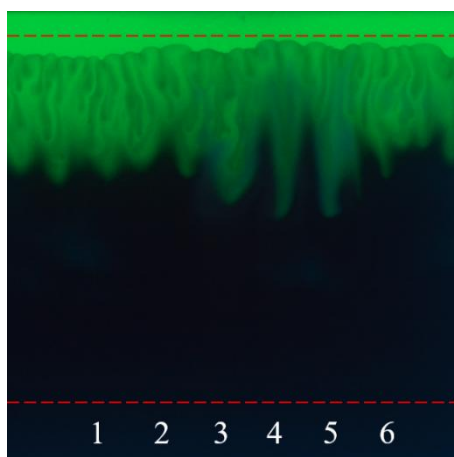


【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(松果菊苷 R_f 值無法判斷，毛蕊花糖苷 R_f 值無法判斷)

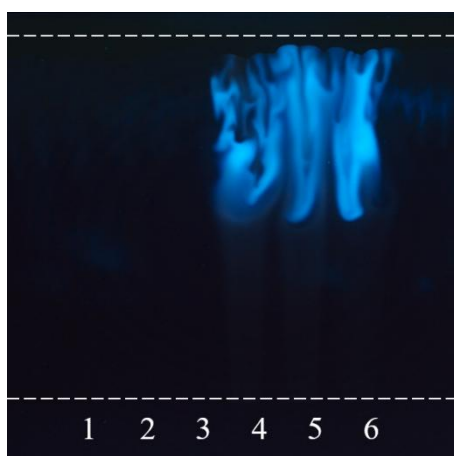


【展開劑3】《香港中藥材標準第四冊》——甲醇：甲酸：水 (2：1：8)

【萃取方法3】(自行開發)——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(松果菊苷 R_f 值無法判斷，毛蕊花糖苷 R_f 值無法判斷)

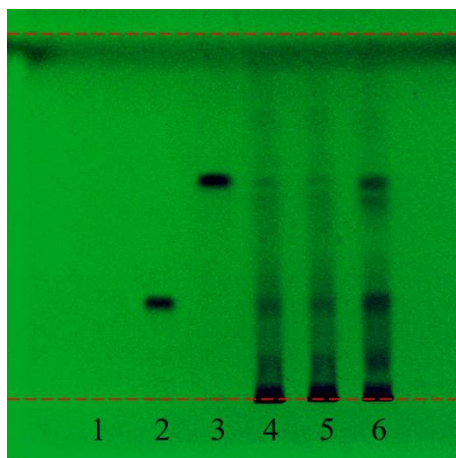


【萃取方法3】(自行開發)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(松果菊苷 R_f 值無法判斷，毛蕊花糖苷 R_f 值無法判斷)

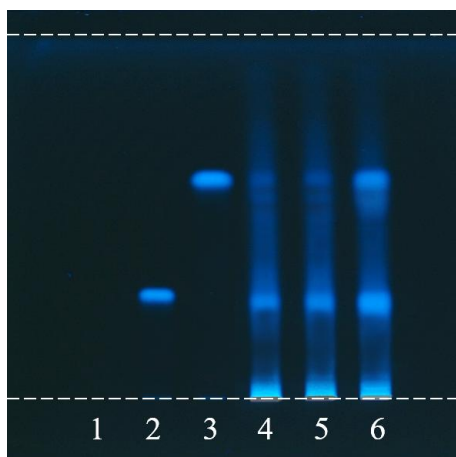


【展開劑 4】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：甲酸：水 (12：2：1：1)✓

【萃取方法 3】(自行開發)—— HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(松果菊苷 R_f 值為 0.29，毛蕊花糖苷 R_f 值為 0.60)



【萃取方法 3】(自行開發)—— HPTLC 紫外光(365nm)檢出(松果菊苷 R_f 值為 0.29，毛蕊花糖苷 R_f 值為 0.60)



1：Blank	4，5：檢品溶液 1
2：松果菊苷	6：Spike
3：毛蕊花糖苷	

建議溶媒系統：以自行開發之【萃取方法 3】方式，以自行開發【展開劑 4】展開，顯示的松果菊苷和毛蕊花糖苷 R_f 值適中，分離佳沒有托尾，且沒有使用含氯溶媒，故採用【展開劑 4】。

四、觀察方式選擇

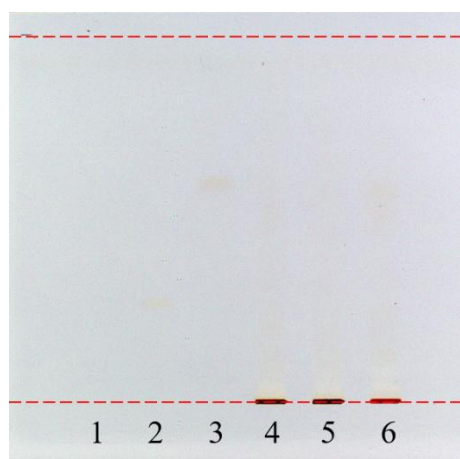
實驗日期：113/01/11

相對溼度(RH)：52%

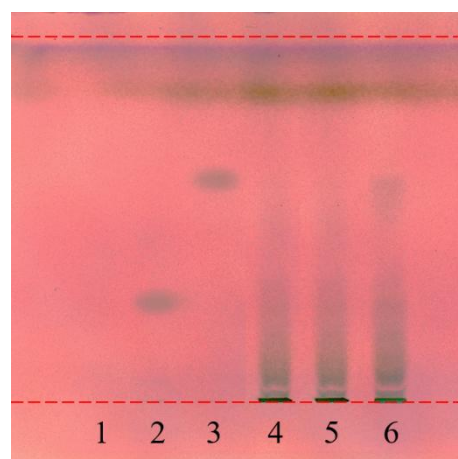
溫度(RT)：22.3°C

【展開劑 4】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：甲酸：水 (12：2：1：1)

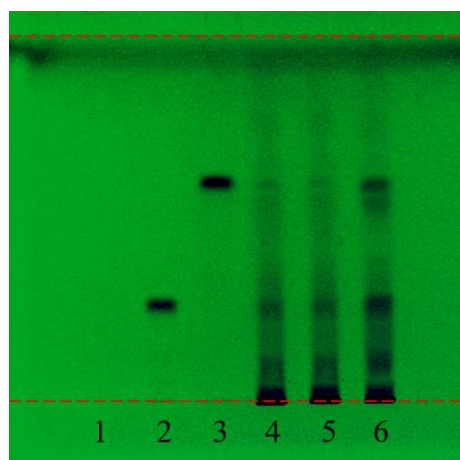
【萃取方法 3】(自行開發)—HPTLC 可
見光檢出



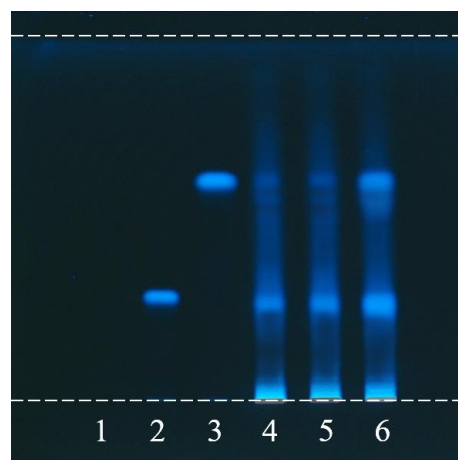
【萃取方法 3】(自行開發)—HPTLC 茴
香醛/硫酸試液顯色後可見光檢出



【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✓



1：Blank

4，5：檢品溶液 1

2：松果菊苷

6：Spike

3：毛蕊花糖苷

建議觀察方式：於紫外光(254 nm)及紫外光(365 nm)檢視，有較明顯分離之條帶。

五、十批肉蓯蓉飲片樣品檢測

實驗日期：113/01/11

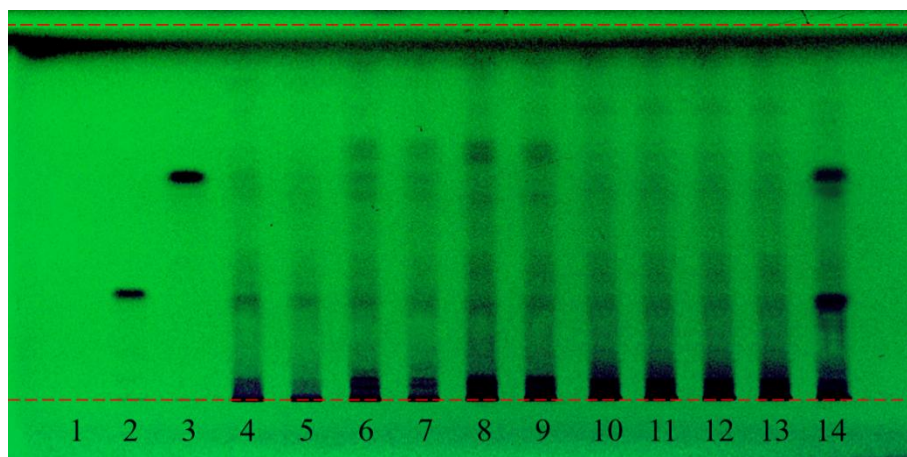
相對溼度(RH)：52%

溫度(RT)：22.3°C

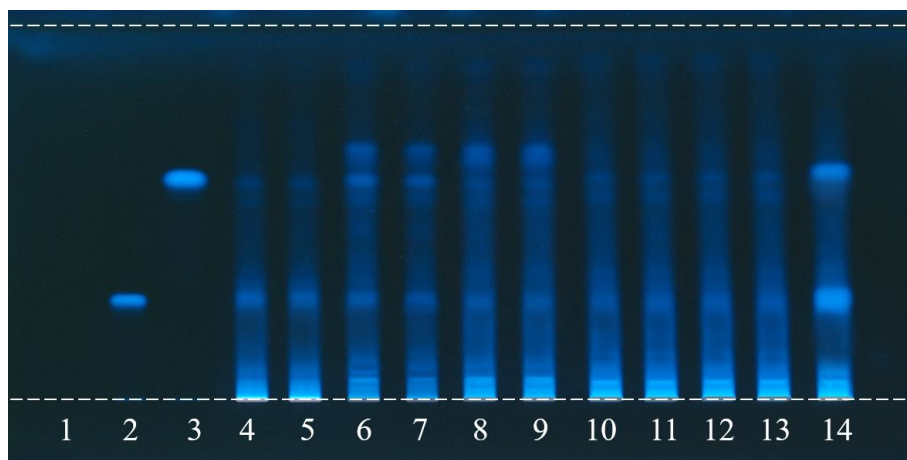
【展開劑 4】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：甲酸：水 (12：2：1：1)

【萃取方法 3】(自行開發)—HPTLC

(1) 紫外光(254 nm)檢出



(2) 紫外光(365 nm)檢出

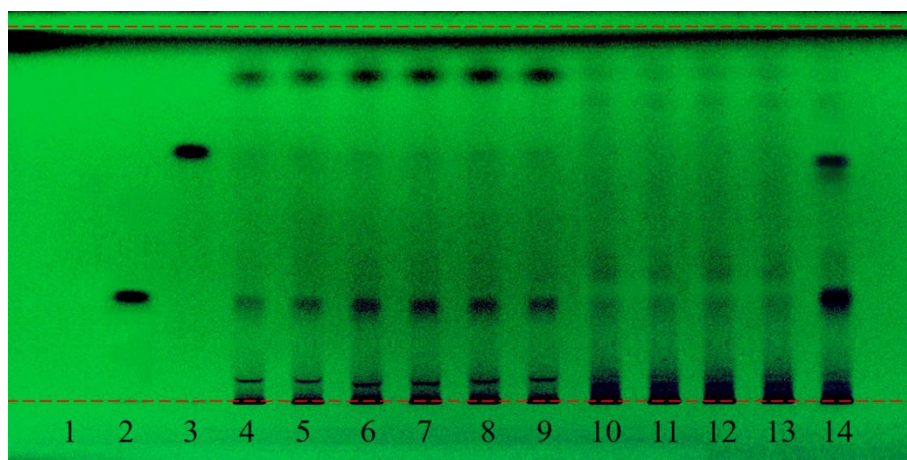


1	Blank	8，9	檢品溶液 3 (NH)
2	松果菊苷(1.0 mg/mL)	10，11	檢品溶液 4 (NRB)
3	毛蕊花糖苷(1.0 mg/mL)	12，13	檢品溶液 5 (CB)
4，5	檢品溶液 1 (NE)	14	Spike (檢品溶液 1)
6，7	檢品溶液 2 (NF)		

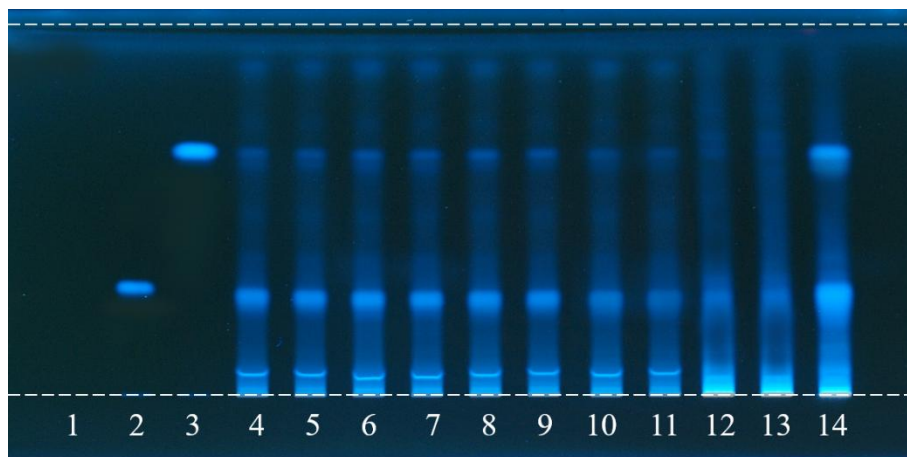
【展開劑 4】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：甲酸：水 (12：2：1：1)

【萃取方法 3】(自行開發)—HPTLC

(1) 紫外光(254 nm)檢出



(2) 紫外光(365 nm)檢出



1	Blank	8, 9	檢品溶液 8 (SU2D)
2	松果菊苷(1.0 mg/mL)	10, 11	檢品溶液 9 (SK3)
3	毛蕊花糖苷(1.0 mg/mL)	12, 13	檢品溶液 10 (SUA)
4, 5	檢品溶液 6 (SGB)	14	Spike (檢品溶液 1)
6, 7	檢品溶液 7 (SU2A)		

*檢品 1~10 皆為肉蓯蓉。

結論與建議：以【萃取方法 3】方式及【展開劑 4】分離與檢出松果菊苷及毛蕊花糖苷較佳，以紫外光(254 nm)及紫外光(365 nm)下檢視較佳。