

杜仲

(EUCOMMIAE CORTEX)

杜仲 MI

一、藥材採購及鑑定.....	2
二、藥材性狀描述 (圖 1).....	2
三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2).....	2
四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3).....	3

杜仲 藥材 HPLC

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

杜仲 飲片 HPLC

一、材料.....	22
二、儀器及層析管柱.....	22
三、實驗藥品及試劑來源.....	22
四、方法.....	22
五、結果.....	25

杜仲 TLC

一、方法.....	30
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、十批杜仲樣品檢測.....	35
六、十批炒杜仲飲片樣品檢測.....	37

杜仲

(EUCOMMIAE 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杜仲的乾燥樹皮。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：杜仲

生藥名：EUCOMMIAE CORTEX

英文名：Eucommia Bark

基原：本品為杜仲科 Eucommiaceae 植物杜仲 *Eucommia ulmoides* Oliv. 之乾燥樹皮。

採收加工：將栽培 10~20 年的杜仲，春季 4~6 月時用半環剝法剝取局部樹皮。剝下的樹皮用開水浸泡，將皮展平，把樹皮內面相對疊平、壓緊，四周上、下用稻草包住，堆置使其「發汗」，經 1 個星期後，內皮成暗紫色，取出，曬乾，刮去粗皮，洗淨，修切整齊，曬乾，貯藏。

藥材性狀：本藥材為切成片狀或條狀的乾燥樹皮。原乾燥樹皮為扁平的板塊狀、捲筒狀或兩邊稍向內卷的塊片，大小厚薄不一，約 2~7 mm。未刮去粗皮者的外表面淡棕色或灰褐色，平坦或粗糙，有明顯的縱皺紋或不規則縱裂槽紋，並可見斜方形的橫裂皮孔，有時可見灰綠色地衣斑。已削去粗皮者的外表面較平坦為淡棕色，內表面光滑為暗紫色。質脆易折斷，折斷面粗糙有細密具伸縮性的銀白色絲狀物相連。氣微，味稍苦，嚼之有膠狀殘餘物。

飲片性狀：本品飲片為炒杜仲，色黑，未刮去栓皮者可見明顯縱裂槽紋，折斷時膠絲彈性較差。氣微，味稍苦，嚼之有膠狀殘餘物。

生長分佈：多年生落葉喬木，可高達 20 m。花期 4 月，果期 9~10 月。喜溫暖濕潤氣候，耐寒性較強。以陽光充足，土層深厚肥沃、富含腐殖質的砂質壤土、黏質壤土栽培為宜。產於中國中部及西南部，為中國的特有種。藥材主產貴州、陝西、湖北、四川及河南等地。

三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2)

1. 木栓層外可見落皮層。
2. 木栓層由數列細胞組成，排列整齊，壁厚，木化。
3. 皮層細胞形狀不規則。

4. 韌皮部有 5~7 條橫向排列的石細胞環帶，每一環帶為 3~5 列石細胞，並伴有少數纖維。
5. 石細胞成群，壁厚，木化，胞腔小，可見環狀層紋。
6. 不規則的白色橡膠絲團塊散在。

四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3)

1. 本品粉末為棕色。
2. 木栓細胞成群或單個散在，表面觀多角形，壁不均勻增厚，木化，有明顯的細小紋孔；側面觀長方形，壁一面薄，三面增厚、孔溝明顯。
3. 石細胞甚多，大多成群，類長方形、類圓形、長條形或不規則形，壁厚，孔溝明顯，有的胞腔中含有膠絲團塊。偏光顯微鏡下呈多彩狀。
4. 橡膠絲成條或扭曲成團。偏光顯微鏡下呈亮青色。
5. 可見篩管，側壁上呈類圓形。

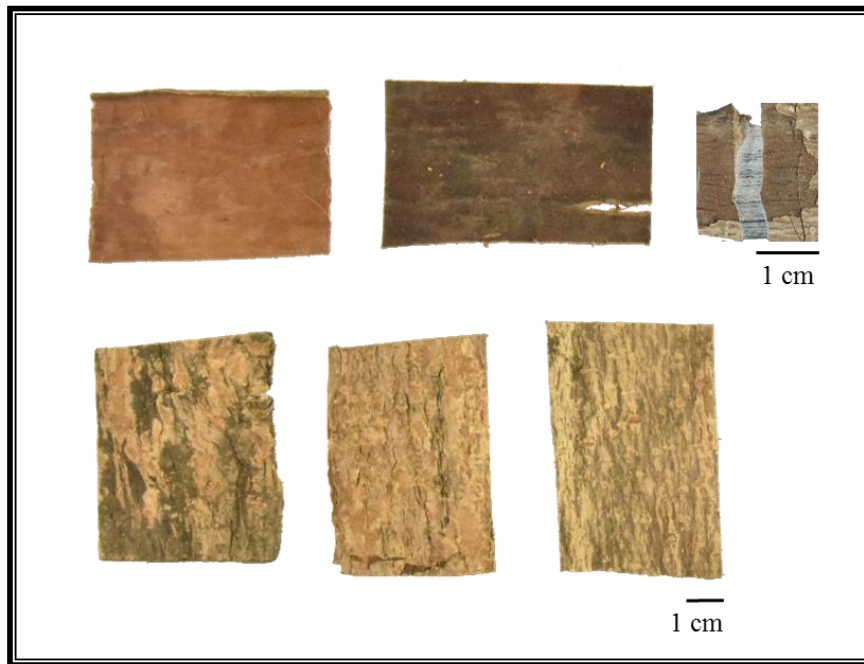


圖 1A 杜仲藥材圖



圖 1B 杜仲飲片藥材圖(炒杜仲)

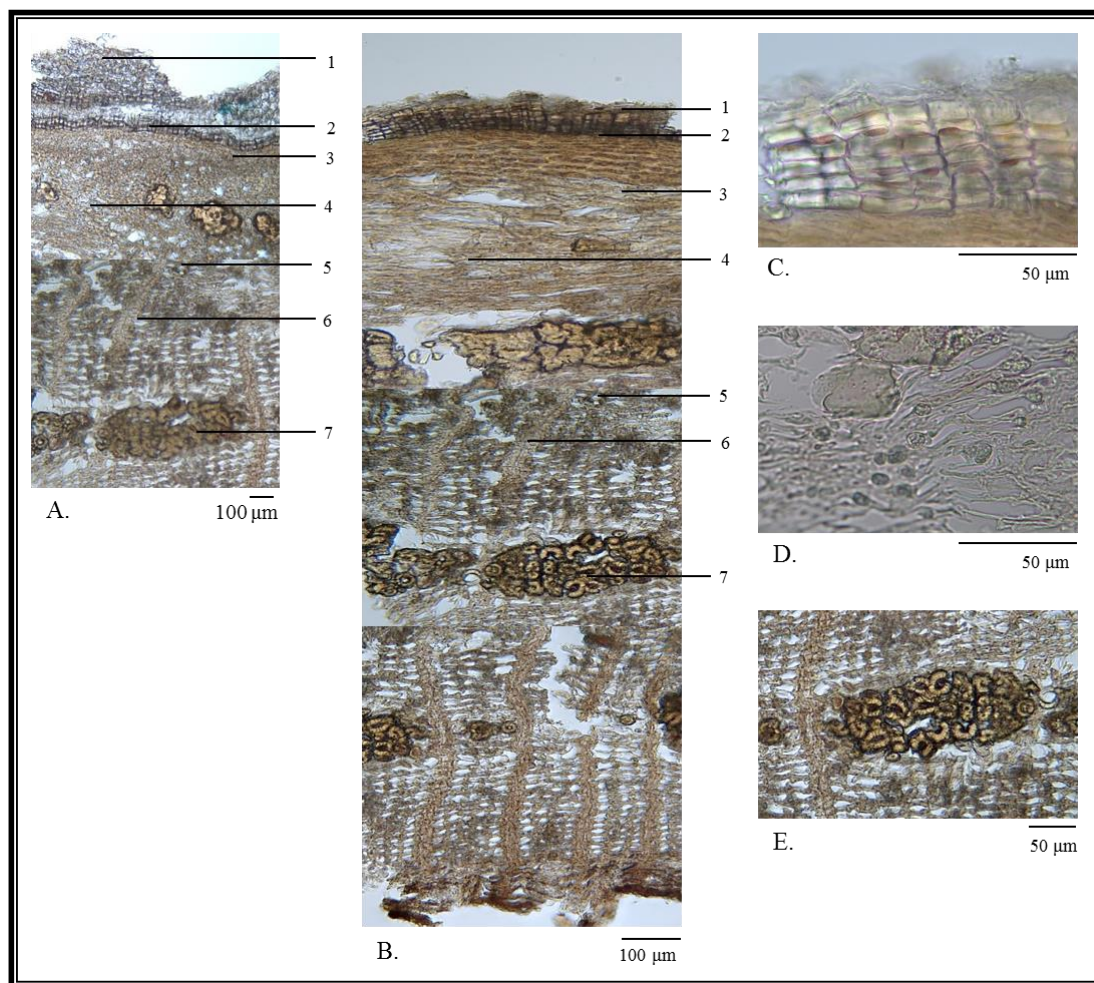


圖 2 杜仲橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖 C.木栓層 D.橡膠團塊 E.石細胞群

1.落皮層 2.木栓層 3.皮層 4.橡膠團塊 5.韌皮部 6.韌皮射線 7.石細胞群

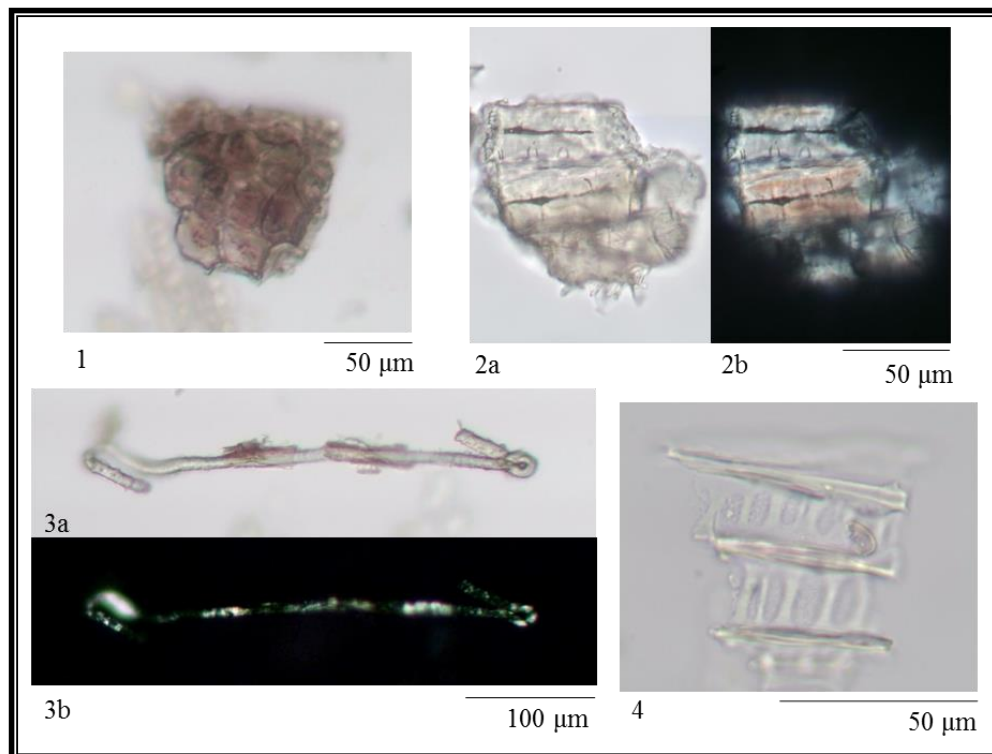


圖 3 杜仲粉末顯微特徵圖

a.光學顯微鏡下特徵 b.偏光顯微鏡下特徵

1.木栓細胞 2.石細胞 3.橡膠絲 4.篩管

參考文獻

1. 衛生福利部臺灣中藥典第三版編輯工作小組編纂(2018)。臺灣中藥典第三版。台北市：衛生福利部。152~153 頁。
2. 張永勳、何玉玲等編輯(2009)。中藥彩色圖鑑。台北：行政院衛生署中醫藥委員會。83 頁。
3. 張永勳、何玉玲總編輯(2013)。台灣中藥典圖鑑。台北：衛生福利部。110 頁。
4. 肖培根等編輯(2001)。新編中藥志第三卷。北京：化學工業出版社。595~600 頁。
5. 徐國鈞、何宏賢、徐珞珊、金蓉鸞等編輯(1996)。中國藥材學上冊。北京：中國醫藥科技出版社。795~798 頁。
6. 國家中醫藥管理局《中華本草》編委會編輯(1999)。中華本草第二冊。上海：上海科學技術出版社。458~463 頁。
7. 國家藥典委員會編輯(2009)。中華人民共和國藥典中藥材顯微鑑別彩色圖鑑。北京：人民衛生出版社。226 頁。
8. 國家藥典委員會編輯(2010)。中華人民共和國藥典 2010 年版一部。北京：中國醫藥科技出版社。154 頁。
9. 中國藥品生物製品檢定所、廣東省藥品檢驗所編著(2011)。中國中藥材真偽鑑別圖典 1：常用貴重藥材、進口藥材分冊。廣東：廣東科技出版社。68~69 頁。
10. 中華人民共和國香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部編製(2005)。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。29~38 頁。
11. 趙中振、陳虎彪等編著(2010)。常用中藥材鑑別圖典。香港：萬里機構·萬里書店。235 頁。
12. 趙中振、陳虎彪編著(2016)。中藥顯微鑑定圖典。福州：海峽出版發行集團·福建科學技術出版社。244~245 頁。

杜仲(EUCOMMIAE CORTEX)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店杜仲藥材共 13 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Waters 2695 Separation Module，包含 Waters 2996、Photodiode Array Detector；層析管柱 COSMOSIL 5C₁₈-AR-II Column (250 x 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(99.9%)和乙腈(99.9%)購自於 Merck；乙醇(95%)購自於大欣酒精有限公司；甲醇(HPLC grade)購自於 Duksan Pure Chemicals Co., Ltd。

(二) 標準品

標準品松酯醇二葡萄糖苷(Pinoresinol diglucoside)購自普思生物科技股份有限公司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

取本品粉末 6 份，每份準確稱取 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 25 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，冷卻後，以 No. 1 濾紙過濾，取濾液，搖勻再過濾(Syringe filter, 0.22 μm)，即得。每針 10 μL 注入高效能液相層析儀(HPLC)，以所測得每克重量之標準品松酯醇二葡萄糖苷最大波峰面積為最佳杜仲萃取溶媒。

(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%乙醇 25 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，冷卻後，以 No.1 濾紙過濾，取濾液轉移至 25 mL 定量瓶中，加 50%乙醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, 0.22 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，直到指標成分被萃取完全，並選出最佳萃取次數。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品松酯醇二葡萄糖苷 1.0 mg，加 1 mL 的 50%乙醇製成每 1 mL 含松酯醇二葡萄糖苷 1000 µg 的標準品儲備溶液，並以 50%乙醇稀釋至 40 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 1.0 g，置 50 mL 離心管中，準確加入 50%乙醇 25 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，以 No.1 濾紙過濾。取濾液，殘渣部分重複提取 2 次，合併濾液，減壓濃縮至少量，轉移至 25 mL 之定量瓶中，加 50%乙醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, 0.22 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酯醇二葡萄糖苷的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取松酯醇二葡萄糖苷標準品儲備溶液適量(1000 µg/mL)，以 50%乙醇稀釋製成含松酯醇二葡萄糖苷分別為 200、100、40、20、10 µg/mL 的標準品溶液。以上溶液各取 10 µL 分別注入 HPLC 進行定量分析，利用標準品之波峰面積(y 軸)和標準品之濃度(x 軸)進行線性回歸，並求得檢量線之方程式 $y = ax + b$ 與相關係數 R^2 。

(七) 精密度試驗

以松酯醇二葡萄糖苷濃度為 40 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以松酯醇二葡萄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：取同一批市售杜仲藥材粉末，依杜仲檢品溶液製備方法平行製備 5 份杜仲檢品溶液，進樣測定，以松酯醇二葡萄糖苷的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售杜仲藥材粉末，依杜仲檢品溶液製備方法製備杜仲檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以松酯醇二葡萄糖苷的波峰面積為指標，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 Quantitation, LOQ)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比為 $\geq 10:1$ 時之濃度，作為定量極限估計值。

(十) 添加回收率試驗

取已知松酯醇二葡萄糖苷含量的杜仲藥材粉末 5 份，每份準確稱取各約 0.2 g，分別加入 1 mL 的松酯醇二葡萄糖苷溶液(200 $\mu\text{g/mL}$)，並按檢品溶液製備方法操作測定。

(十一) HPLC 分析條件

1. 層析管：COSMOSIL 5C₁₈-AR-II Column (250 x 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 226 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)	乙腈(%)	水(%)
0	10	90
30	20	80
60	40	60

(十二) 臺灣市售杜仲藥材含量測定

取 10 批市售杜仲藥材依檢品溶液製備方法製備檢品溶液，取各 10 μL 連續 3 針注入 HPLC，所得平均波峰面積依附錄 I 公式計算樣品松酯醇二葡萄糖苷的百分含量。

(十三) 杜仲檢品之 UPLC 層析條件

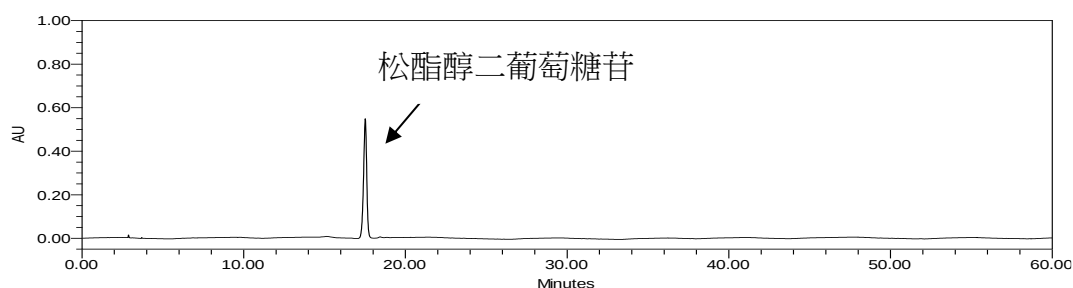
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 226nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	水(%)
0	10	90
2	10	90
6	20	80
10	40	60

五、結果

(一) 標準品松酯醇二葡萄糖苷之 HPLC 層析

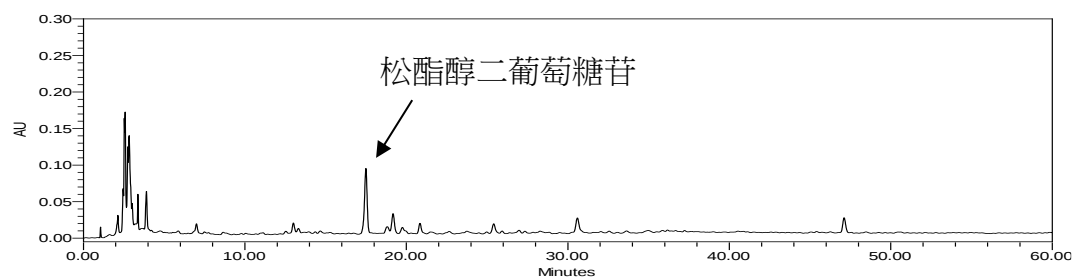
於滯留時間 17.51 分鐘處顯示松酯醇二葡萄糖苷標準品波峰(圖一)。



圖一、松酯醇二葡萄糖苷標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售杜仲檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 17.49 分鐘處顯示杜仲檢品中松酯醇二葡萄糖苷波峰(圖二)。分離率(R)為 1.66，托尾因子(T)為 1.14，均在系統適用性要求內。



圖二、市售杜仲檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒評估

以 50%乙醇為溶媒時，每克藥材重量所得松酯醇二葡萄糖苷的波峰面積最大，顯示 50%乙醇為最佳萃取溶媒。

表一、不同溶媒萃取比較

溶媒	波峰面積(mAU)	最佳萃取
甲醇	396761	
75%甲醇	628701	
50%甲醇	675702	
乙醇	116562	
75%乙醇	576734	

50%乙醇	708503	√
-------	--------	---

(四) 最佳萃取次數評估

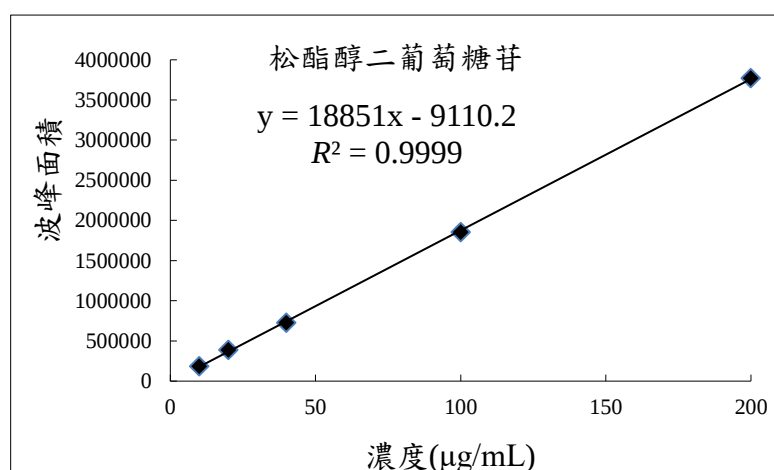
結果顯示萃取 3 次基本上已將松酯醇二葡萄糖苷萃取完全(萃取率約 99%)。

表二、杜仲檢品萃取次數評估

50%乙醇萃取次數	波峰面積
第 1 次	722695
第 2 次	166820
第 3 次	31731
第 4 次	1584
第 5 次	N.D.

(五) 標準品松酯醇二葡萄糖苷檢量線

經不同濃度松酯醇二葡萄糖苷(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 $y = 18851x - 9110.2$ ， $R^2 = 0.9999$ ，顯示濃度在 10–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、松酯醇二葡萄糖苷之檢量線圖

表三、松酯醇二葡萄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
松酯醇二葡萄糖苷	10–200	$y = 18851x - 9110.2$	0.9999

(六) 精密度試驗

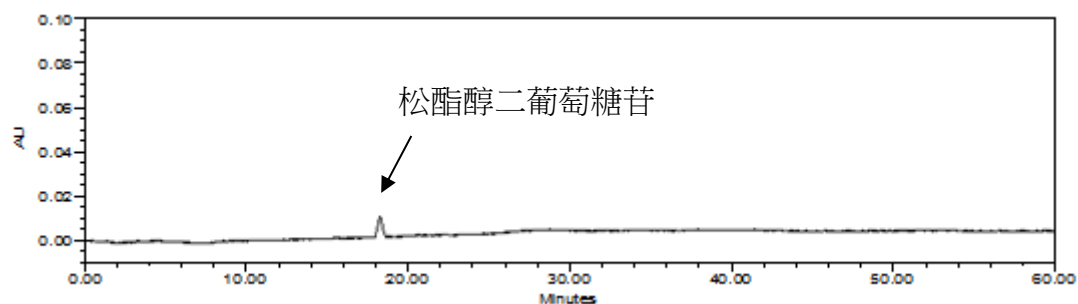
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，松酯醇二葡萄糖苷精密度之相對標準差為 1.15 %，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

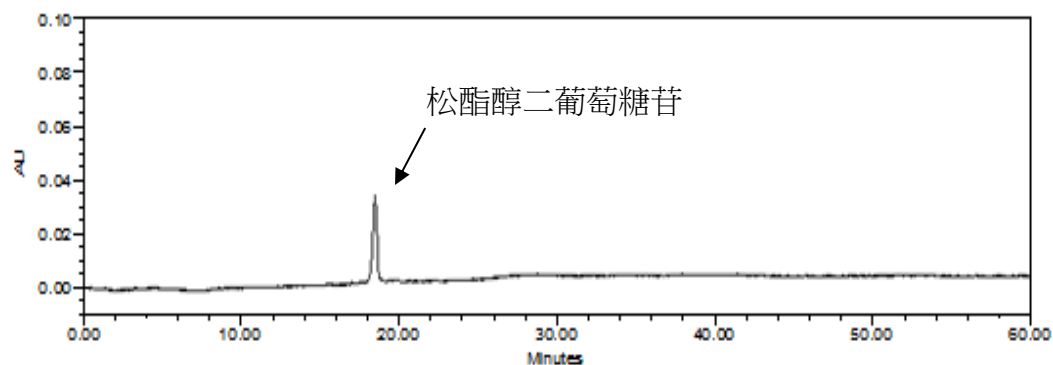
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，松酯醇二葡萄糖苷重複性之相對標準差為 3.12%，在系統適用性要求內。松酯醇二葡萄糖苷在 24 小時內穩定，相對標準差為 2.61%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

松酯醇二葡萄糖苷偵測極限為 2.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 5.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、松酯醇二葡萄糖苷之偵測極限層析圖



圖五、松酯醇二葡萄糖苷之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	松酯醇二葡萄糖苷	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	40 $\mu\text{g/mL}$	1.15
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.2)	3.12
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.2)	2.61
偵測極限 (n=3)	2.0 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=3)	5.0 $\mu\text{g/mL}$	-

(九) 添加回收率試驗

松酯醇二葡萄糖苷平均添加回收率為 98.6%，相對標準偏差為 0.26%。

表五、松酯醇二葡萄糖苷添加回收率

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	0.2	0.201	0.20	0.3977	98.35	98.57	0.26
2	0.2	0.201	0.20	0.3984	98.70		
3	0.2	0.201	0.20	0.3976	98.30		
4	0.2	0.201	0.20	0.3981	98.55		
5	0.2	0.201	0.20	0.3989	98.95		

(十) 臺灣市售杜仲含量測定

13 批杜仲藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，松酯醇二葡萄糖苷含量為 0.084–0.263%。建議杜仲藥材指標成分松酯醇二葡萄糖苷的含量不得少於 0.10%。理論板數按松酯醇二葡萄糖苷波峰計算應不低於 10000 (實際值為 76000)。

表六、臺灣市售杜仲檢品之松酯醇二葡萄糖苷含量

藥材編號(No.)	松酯醇二葡萄糖苷含量(%)
1 (NFB)	0.125
2 (NFC)	0.103
3 (NFD)	0.104
4 (NFE)	0.110
5 (CAA)	0.090
6 (CAB)	0.098
7 (SAA)	0.167
8 (SA-1)	0.158
9 (SA-2)	0.125
10 (SU)	0.122
11 (NSCH)	0.135
12 (NKOD)	0.263
13 (SCSZ)	0.084
平均值±S.D.	0.129±0.047

(十一) 杜仲藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售杜仲藥材檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：COSMOSIL 5C₁₈-AR-II Column (250 x 4.6 mm, 5 μ m)

2. 檢測波長：UV 226 nm

3. 流速：1.0 mL/min

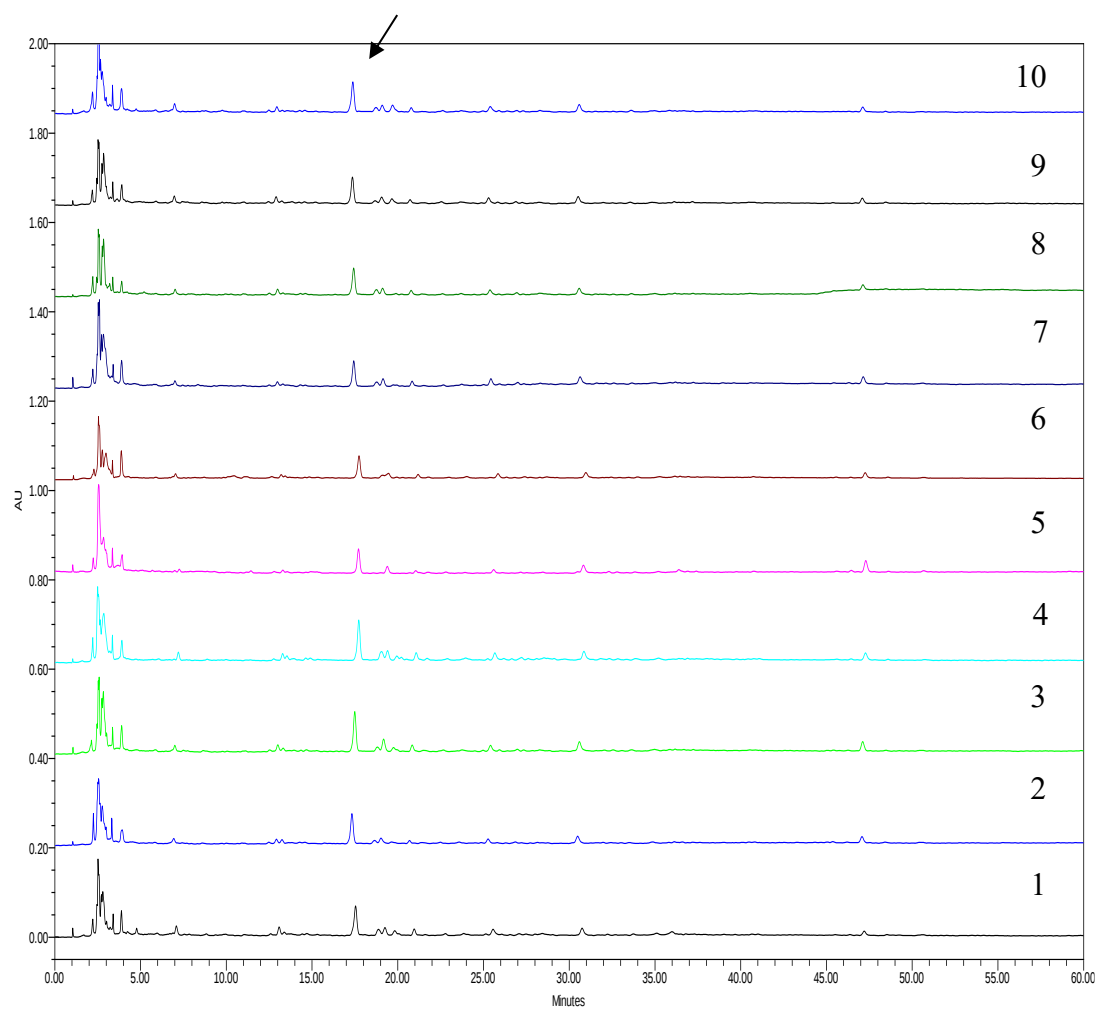
4. 管柱溫度：35 $^{\circ}$ C

5. 注入量：10 μ L

6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	水(%)
0	10	90
30	20	80
60	40	60

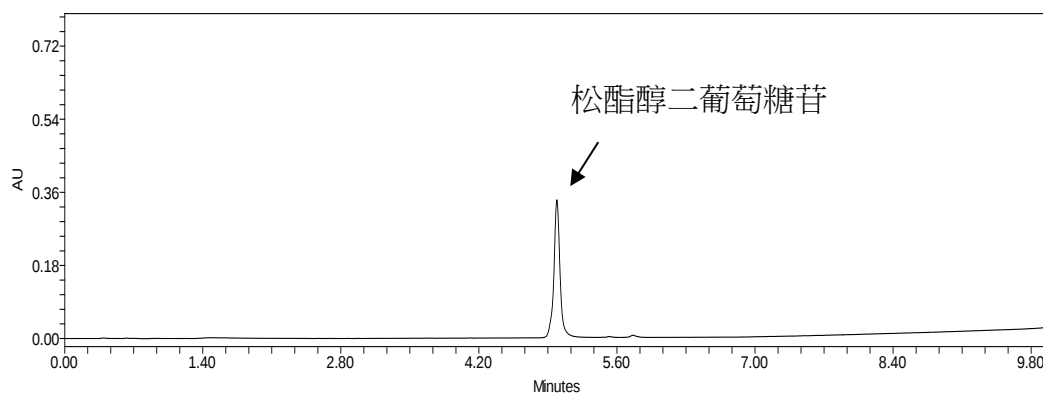
松酯醇二葡萄糖苷



圖六、10 批杜仲藥材之 HPLC 層析圖

(十二) 標準品松酯醇二葡萄糖苷之 UPLC 層析

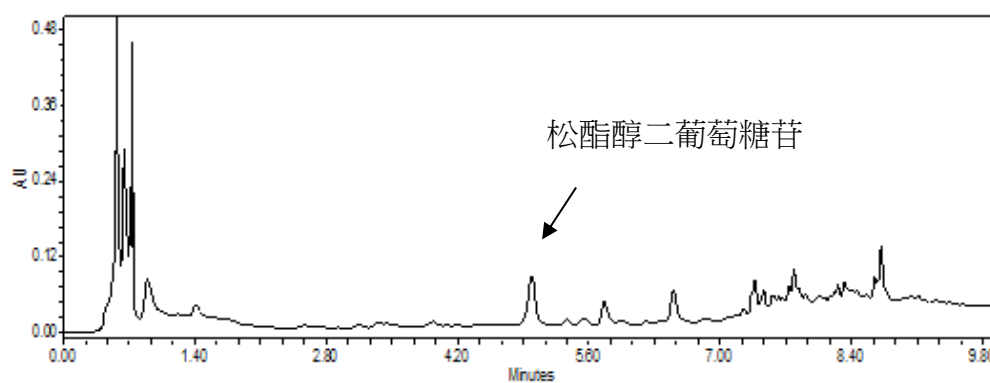
於滯留時間 4.99 分鐘處顯示松酯醇二葡萄糖苷標準品波峰(圖七)。



圖七、松酯醇二葡萄糖苷標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售杜仲檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 4.99 分鐘處顯示杜仲檢品中松酯醇二葡萄糖苷波峰(圖八)。

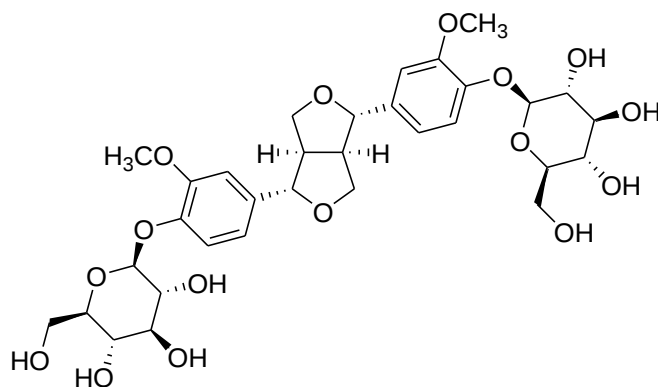


圖八、市售杜仲檢品之 UPLC 層析圖

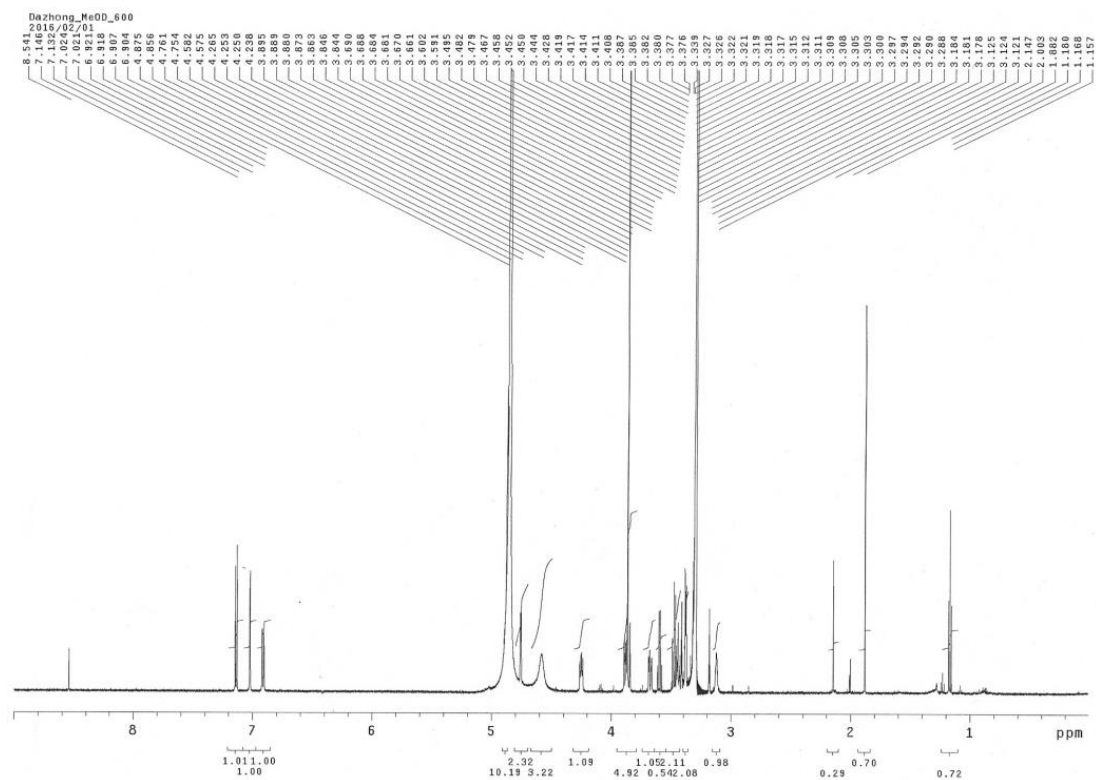
(十四) 松酯醇二葡萄糖苷的分子式、分子量與熔點

分子式：C₃₂H₄₂O₁₆；分子量：682.67；熔點：250–251 °C；白色固體

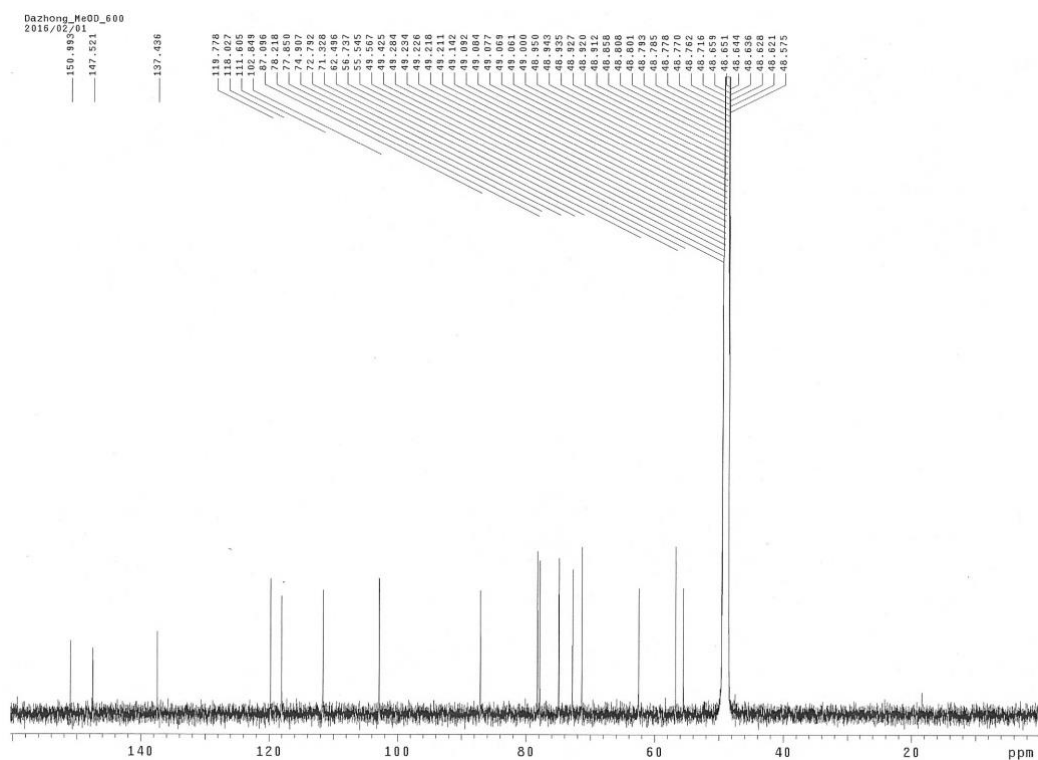
(十五) 松酯醇二葡萄糖苷的結構



(十六) 松酯醇二葡萄糖苷 ^1H NMR 圖譜

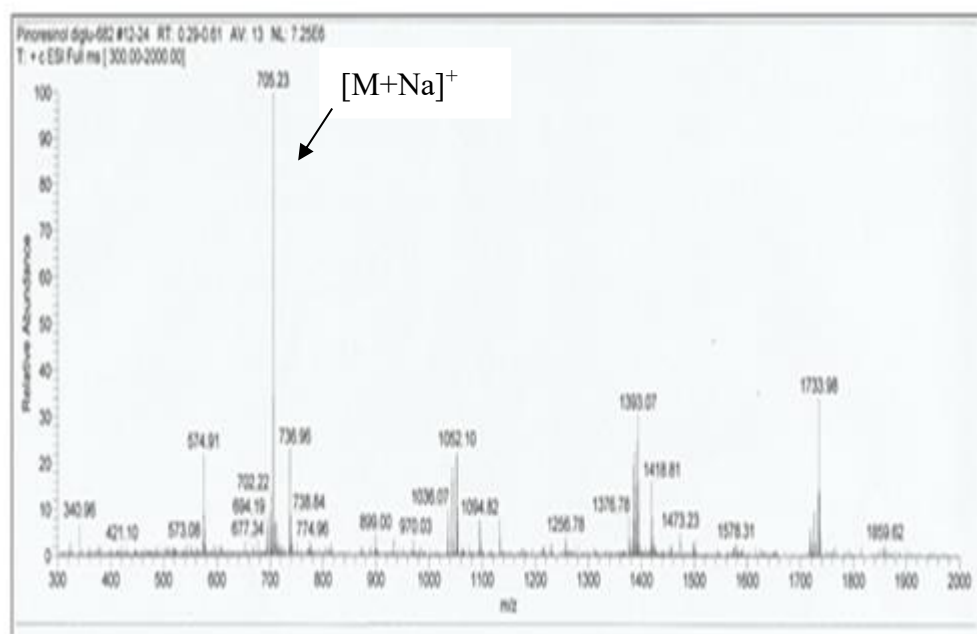


圖九、松酯醇二葡萄糖苷的 ^1H NMR 圖譜(CD_3OD)

(十七) 松酯醇二葡萄糖苷 ^{13}C NMR 圖譜

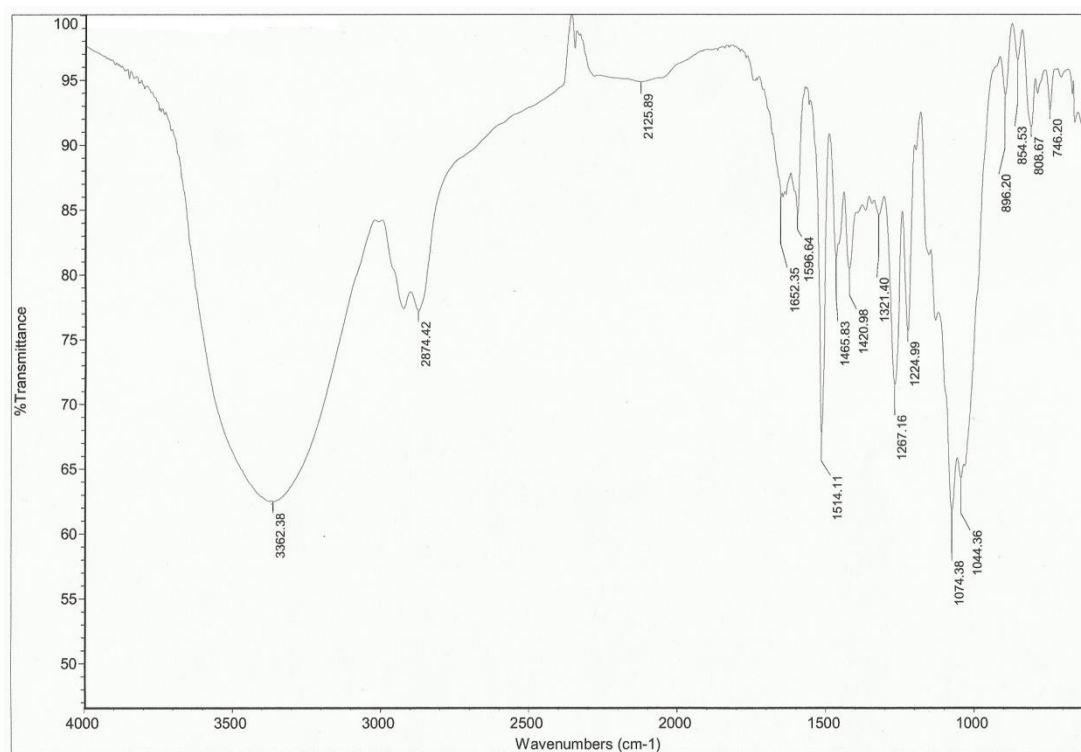
圖十、松酯醇二葡萄糖苷的 ^{13}C NMR 圖譜(CD_3OD)

(十八) 松酯醇二葡萄糖苷 ESI-MS 圖譜



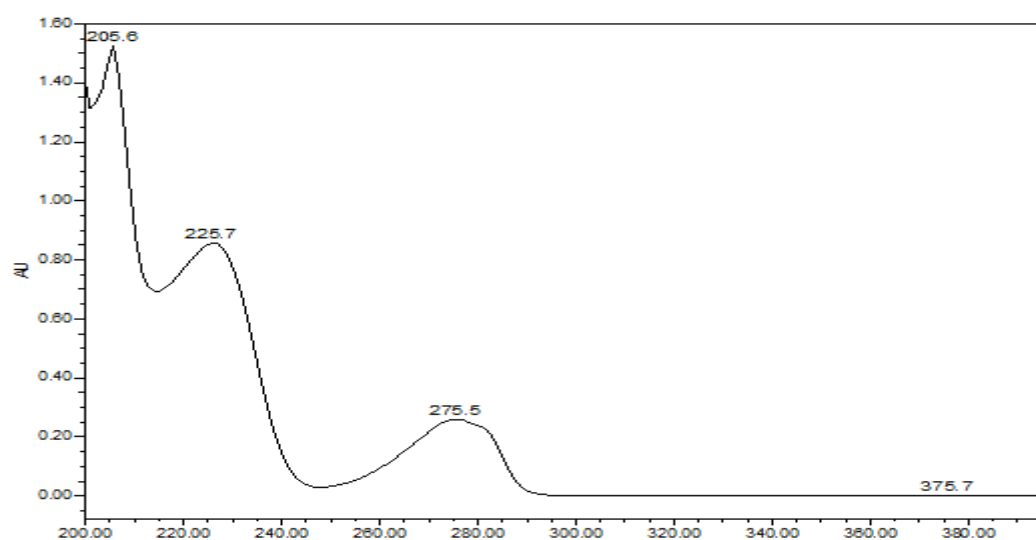
圖十一、松酯醇二葡萄糖苷的 ESI-MS 圖譜

(十九) 松酯醇二葡萄糖苷的 FTIR 圖譜



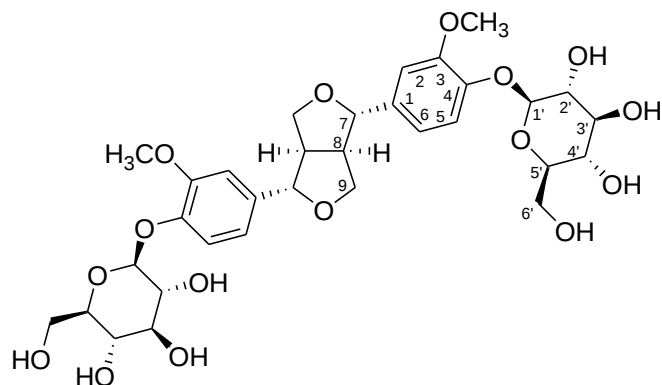
圖十二、松酯醇二葡萄糖苷的 FTIR 圖譜

(二十) 松酯醇二葡萄糖苷的 UV 圖譜



圖十三、松酯醇二葡萄糖苷的 UV 圖譜

(二十一) 松酯醇二葡萄糖苷氫、碳化學位移



松酯醇二葡萄糖苷

表七、松酯醇二葡萄糖苷氫、碳化學位移(CD₃OD)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	-	137.4
2	7.02 (d, 1.8)	111.6
3	-	151.0
4	-	147.5
5	7.14 (d, 8.4)	118.0
6	6.91 (dd, 8.4, 1.8)	119.8
7	4.76 (d, 4.2)	87.1
8	3.10–3.14 (m)	55.5
9	3.88 (dd, 9.0, 3.6), 4.24–4.26 (m)	72.8
OCH ₃	3.86 (s)	56.7
1'	4.87 (d, 7.2)	102.8
2'	3.46–3.50 (m)	74.9
3'	3.43–3.46 (m)	77.9
4'	3.37–3.40 (m)	71.3
5'	3.37–3.40 (m)	78.2
6'	3.66–3.69 (m), 3.84–3.86 (m)	62.5

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

炒杜仲(EUCOMMIAE CORTEX)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店炒杜仲飲片藥材共 12 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Waters 2695 Separation Module，包含 Waters 2996、Photodiode Array Detector；層析管柱 COSMOSIL 5C₁₈-AR-II Column (250 x 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(99.9%)和乙腈(99.9%)購自於 Merck；乙醇(95%)購自於大欣酒精有限公司；甲醇(HPLC grade)購自於 Duksan Pure Chemicals Co., Ltd。

(二) 標準品

標準品松酯醇二葡萄糖苷(Pinoresinol diglucoside)購自普思生物科技股份有限公司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

炒杜仲飲片最佳萃取溶媒同杜仲藥材。

(二) 最佳萃取次數評估

炒杜仲飲片最佳萃取次數同杜仲藥材。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品松酯醇二葡萄糖苷 1.0 mg，加 1 mL 的 50%乙醇製成每 1 mL 含松酯醇二葡萄糖苷 1000 μg 的標準品儲備溶液，並以 50%乙醇稀釋至 40 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 1.0 g，置 50 mL 離心管中，準確加入 50%乙醇 25 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，以 No.1 濾紙過濾。取濾液，殘渣部分重複提取 2 次，合併濾液，

減壓濃縮至少量，轉移至 25 mL 之定量瓶中，加 50%乙醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, 0.22 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酯醇二葡萄糖苷的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取松酯醇二葡萄糖苷標準品儲備溶液適量(1000 $\mu\text{g/mL}$)，以 50%乙醇稀釋製成含松酯醇二葡萄糖苷分別為 200、100、40、20、10 $\mu\text{g/mL}$ 的標準品溶液。以上溶液各取 10 μL 分別注入 HPLC 進行定量分析，利用標準品之波峰面積(y 軸)和標準品之濃度(x 軸)進行線性回歸，並求得檢量線之方程式 $y = ax + b$ 與相關係數 R^2 。

(七) 精密度試驗

以松酯醇二葡萄糖苷濃度為 40 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以松酯醇二葡萄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：取同一批市售炒杜仲飲片粉末，依炒杜仲飲片檢品溶液製備方法平行製備 5 份杜仲檢品溶液，進樣測定，以松酯醇二葡萄糖苷的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售炒杜仲飲片粉末，依炒杜仲飲片檢品溶液製備方法製備杜仲檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以松酯醇二葡萄糖苷的波峰面積為指標，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 Quantitation, LOQ)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比為 $\geq 10:1$ 時之濃度，作為定量極限估計值。

(十) 添加回收率試驗

取已知松酯醇二葡萄糖苷含量的炒杜仲飲片粉末 5 份，每份準確稱取各約 0.5 g，分別加入 1 mL 的松酯醇二葡萄糖苷溶液(500 $\mu\text{g/mL}$)，並按檢品溶液製備方法操作測定。

(十一) HPLC 分析條件

1. 層析管：COSMOSIL 5C₁₈-AR-II Column (250 x 4.6 mm, 5 µm)
2. 檢測波長：UV 226 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)	乙腈(%)	水(%)
0	10	90
30	20	80
60	40	60

(十二) 臺灣市售炒杜仲飲片含量測定

取 10 批市售炒杜仲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 公式計算樣品松酯醇二葡萄糖苷的百分含量。

(十三) 杜仲檢品之 UPLC 層析條件

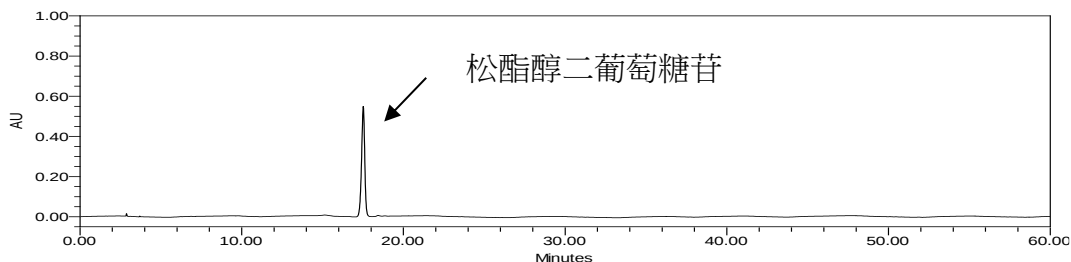
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 µm)
2. 檢測波長：UV 226nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 µL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	水(%)
0	10	90
2	10	90
6	20	80
10	40	60

五、結果

(一) 標準品松酯醇二葡萄糖苷之 HPLC 層析

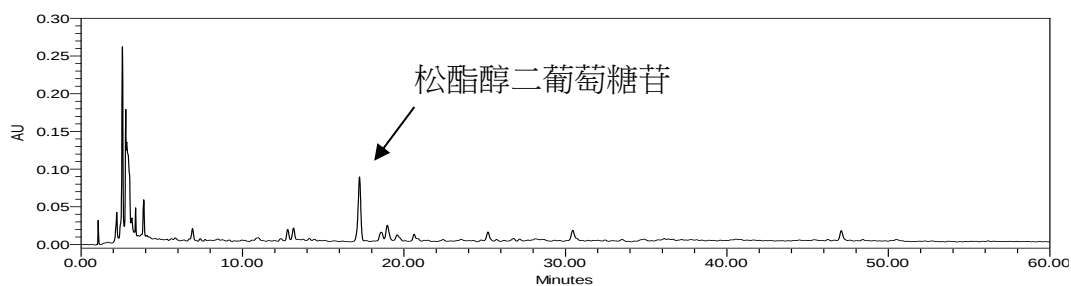
於滯留時間 17.51 分鐘處顯示松酯醇二葡萄糖苷標準品波峰(圖一)。



圖一、松酯醇二葡萄糖苷標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售炒杜仲飲片檢品之 HPLC 層析

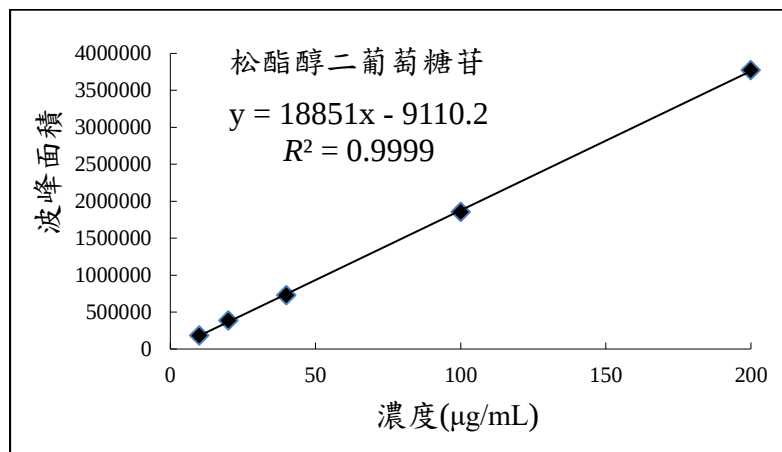
於滯留時間 17.24 分鐘處顯示炒杜仲飲片檢品中松酯醇二葡萄糖苷波峰(圖二)。分離率(R)為 1.91，托尾因子(T)為 1.12，均在系統適用性要求內。



圖二、市售炒杜仲飲片檢品之 HPLC 層析圖

(三) 標準品松酯醇二葡萄糖苷檢量線

經不同濃度松酯醇二葡萄糖苷 (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 $y = 18851x - 9110.2$ ， $R^2 = 0.9999$ ，顯示濃度在 10–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、松酯醇二葡萄糖苷之檢量線圖

表一、松酯醇二葡萄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
松酯醇二葡萄糖苷	10–200	$y = 18851x - 9110.2$	0.9999

(四) 精密度試驗

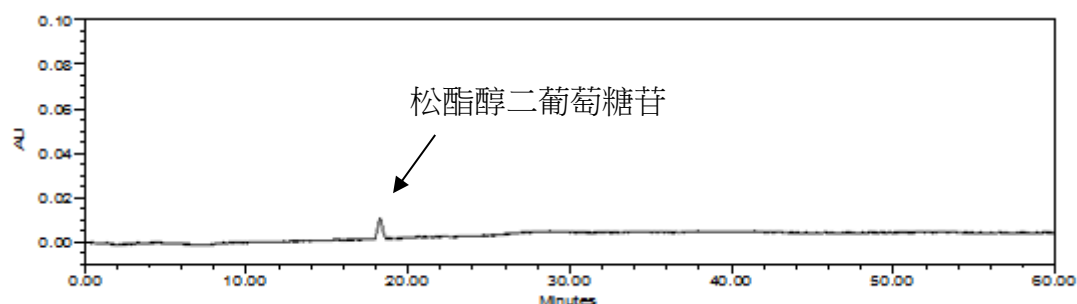
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，松酯醇二葡萄糖苷精密度之相對標準差為 1.15 %，在系統適用性要求內。

(五) 重複性與穩定性試驗

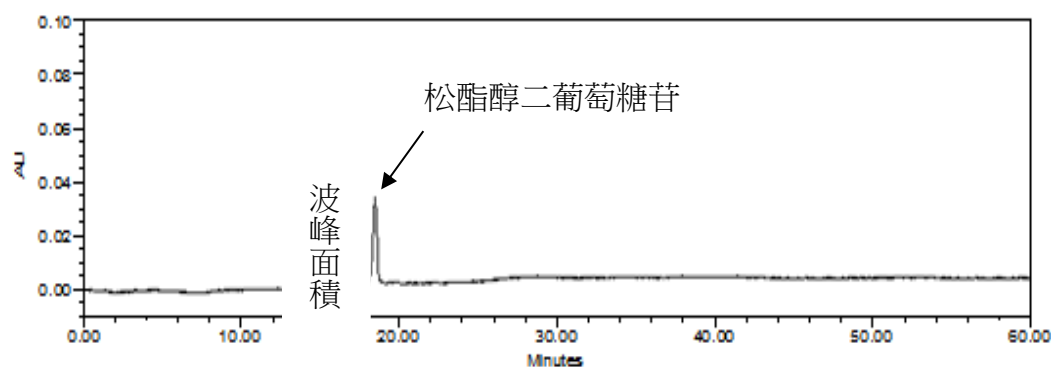
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，松酯醇二葡萄糖苷重複性之相對標準差為 2.28%，在系統適用性要求內。松酯醇二葡萄糖苷在 24 小時內穩定，相對標準差為 3.06%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(六) 偵測極限與定量極限試驗

松酯醇二葡萄糖苷偵測極限為 2.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 5.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、松酯醇二葡萄糖苷之偵測極限層析圖



圖五、松酯醇二葡萄糖苷之定量極限層析圖

表二、各項檢驗分析

檢測項目	松酯醇二葡萄糖苷	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	40 µg/mL	1.15
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.7)	2.28
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.7)	3.06
偵測極限 (n=3)	2.0 µg/mL	-
定量極限 (n=3)	5.0 µg/mL	-

(七) 添加回收率試驗

松酯醇二葡萄糖苷平均添加回收率為 98.0%，相對標準偏差為 0.75%。

表三、松酯醇二葡萄糖苷添加回收率

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	0.5	0.468	0.50	0.958	97.92	98.04	0.75
2	0.5	0.468	0.50	0.961	98.63		
3	0.5	0.468	0.50	0.956	97.46		
4	0.5	0.468	0.50	0.955	97.24		
5	0.5	0.468	0.50	0.963	98.96		

(八) 臺灣市售炒杜仲飲片含量測定

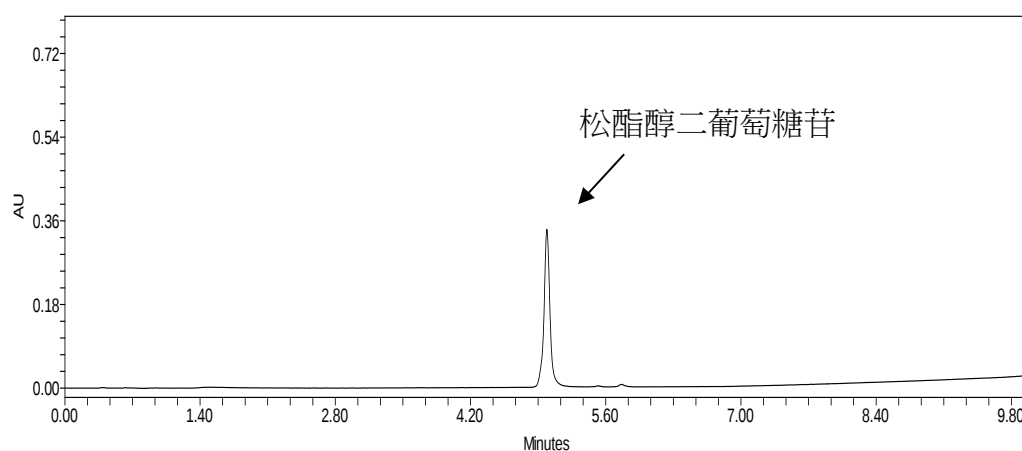
12 批炒杜仲飲片之含量測定結果(乾燥品)如表四所示，其中 2 批的松酯醇二葡萄糖苷含量小於 0.01%，其餘 10 批的松酯醇二葡萄糖苷含量為 0.052–0.210%。建議炒杜仲飲片指標成分松酯醇二葡萄糖苷的含量不得少於 0.05%。理論板數按松酯醇二葡萄糖苷波峰計算應不低於 10000 (實際值為 90000)。

表四、臺灣市售炒杜仲飲片檢品之松酯醇二葡萄糖苷含量

藥材編號(No.)	松酯醇二葡萄糖苷含量(%)
1 (NC)	0.080
2 (NFA)	0.160
3 (NFB)	0.052
4 (NJ-1)	0.052
5 (NJ-2)	0.124
6 (CA)	0.210
7 (SC-1)	0.072
8 (SC-2)	0.067
9 (SJ)	0.058
10 (SU)	0.052
11 (NKOD)	< 0.01
12 (NSTP)	< 0.01
平均值±S.D.	0.0927±0.0545

(九) 標準品松酯醇二葡萄糖苷之 UPLC 層析

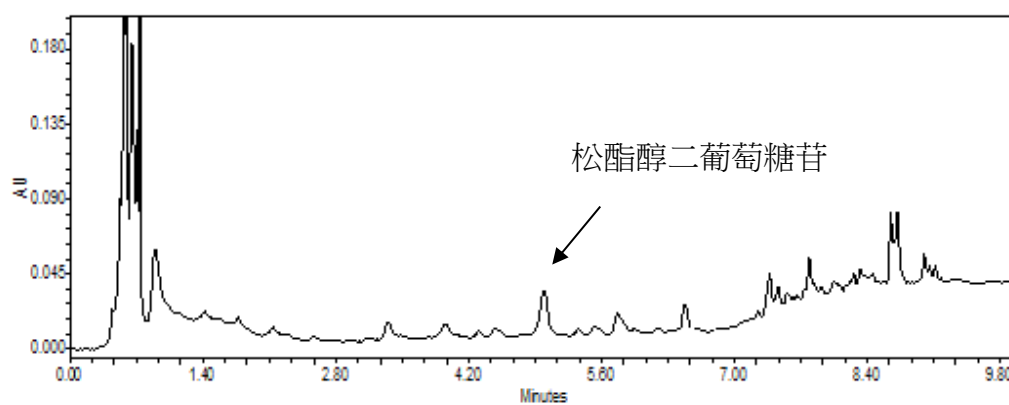
於滯留時間 4.98 分鐘處顯示松酯醇二葡萄糖苷標準品波峰(圖七)。



圖六、松酯醇二葡萄糖苷標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十) 市售炒杜仲飲片檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 4.97 分鐘處顯示炒杜仲飲片檢品中松酯醇二葡萄糖苷波峰(圖八)。



圖七、市售炒杜仲飲片檢品之 UPLC 層析圖

杜仲

生藥名：EUCOMMIAE CORTEX

英文名：Eucommia Bark

基 原：本品為杜仲科 Eucommiaceae 植物杜仲 *Eucommia ulmoides* Oliv.之乾燥樹皮。

一、方法

- (一) 檢 品 溶 液 **【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版 2018) ✓**
——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 5 mL，超音波處理 30 分鐘，過濾，取濾液作為檢品溶液。
- (二) 對照標準品 溶 液 取松脂醇二葡萄糖苷(Pinoresinol diglucoside)對照標準品，加甲醇製成每 1 mL 含 0.2 mg 的溶液，作為對照標準品溶液。
- (三) 薄 層 板 HPTLC silica gel 60 F₂₅₄，10 cm × 10 cm、20 cm × 10 cm
- (四) 展 開 劑 **【展開劑 1】(自行展開 1) ✓**
——正丁醇：冰乙酸：水 (7：1：2)
【展開劑 2】(自行展開 2)
——乙酸乙酯：甲醇：水 (8：2：1)
- (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(H₂SO₄/EtOH TS)噴霧後，105 °C加熱至條帶顯色清晰，於可見光及主波長 365 nm 之紫外燈照射下檢視。

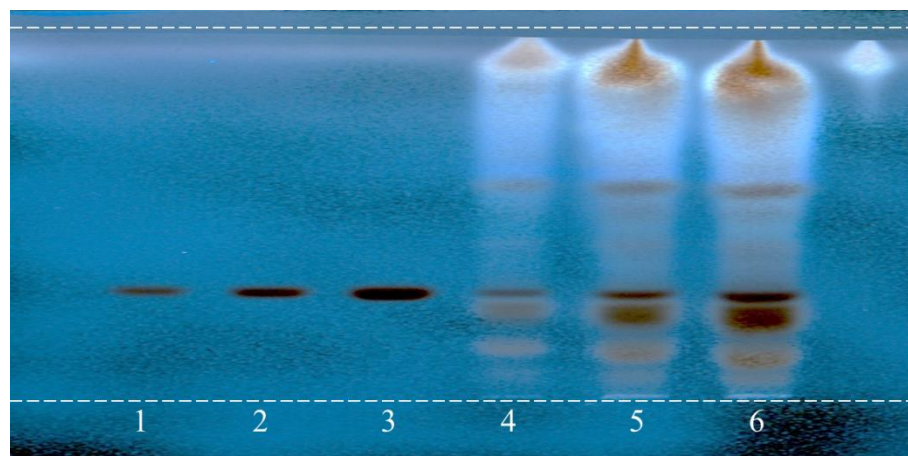
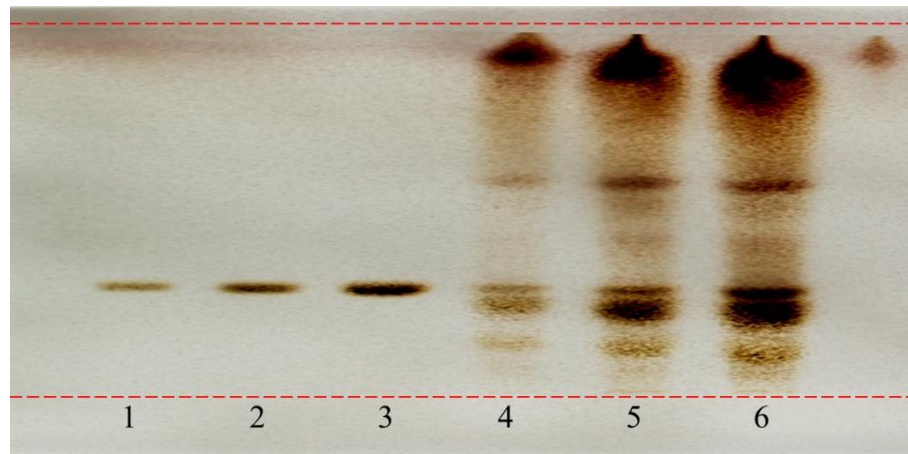
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：108/11/21

相對溼度(RH)：54%

溫度(RT)：26 °C

【展開劑 1】 (自行展開)——正丁醇：冰乙酸：水 (7：1：2)



編號	名稱	點注量
1, 2, 3	松脂醇二葡萄糖苷(0.2 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
4, 5, 6	檢品溶液 8 【萃取方法 1】	2, 5, 8 μ L

建議萃法：繼續支持臺灣中藥典第三版【萃取方法 1】

建議點注量：松脂醇二葡萄糖苷(Pinoresinol diglucoside)標準品溶液 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 1】5 μ L。

三、溶媒系統選擇

實驗日期：108/11/29

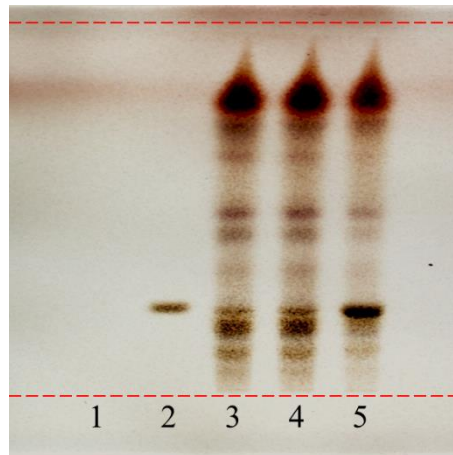
相對溼度(RH)：40%

溫度(RT)：25 °C

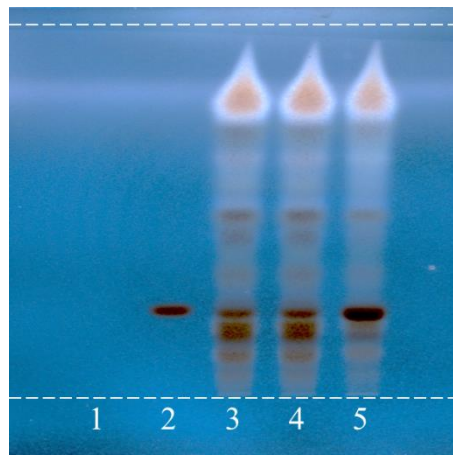
【展開劑 1】 (自行展開 1)——正丁醇：冰乙酸：水 (7：1：2) ✓

【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第三版 2018) —— HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色(松脂醇二葡萄糖苷 R_f 值為 0.22)

(1) 10%硫酸/乙醇顯色後可見光檢出



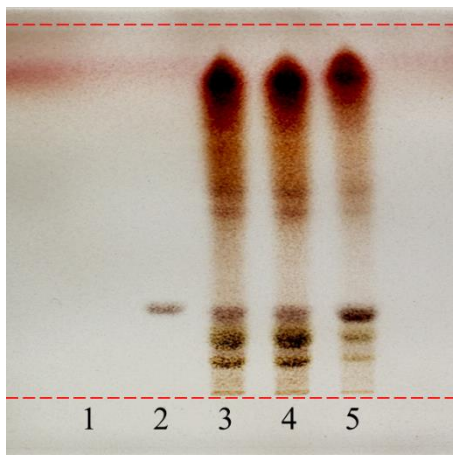
(2) 10%硫酸/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出



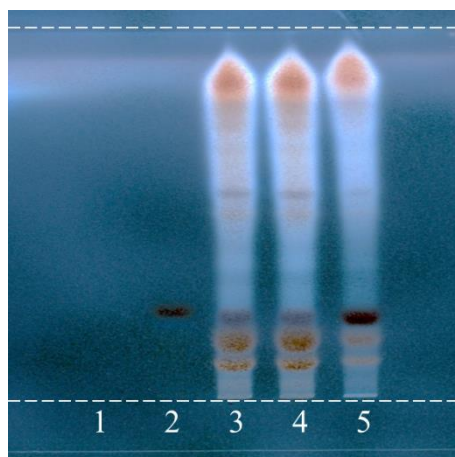
【展開劑 2】（自行展開 2）——乙酸乙酯：甲醇：水（8：2：1）

【萃取方法 1】（臺灣中藥典第三版 2018）—— HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色(松脂醇二葡萄糖苷 R_f 值為 0.23)

(1) 10%硫酸/乙醇顯色後可見光檢出



(2) 10%硫酸/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出



1：Blank

2：松脂醇二葡萄糖苷

3，4：檢品溶液 8

5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 1】方式，2 種展開劑展開皆可從檢品溶液中分離與檢出松脂醇二葡萄糖苷，而由於分離效果較佳，故採用自行展開 1 之【展開劑 1】。

四、觀察方式選擇

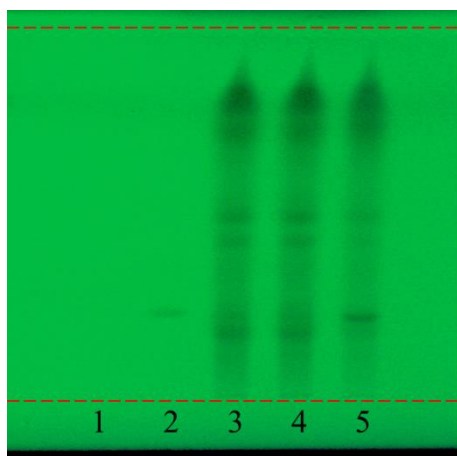
實驗日期：108/11/29

相對溼度(RH)：40%

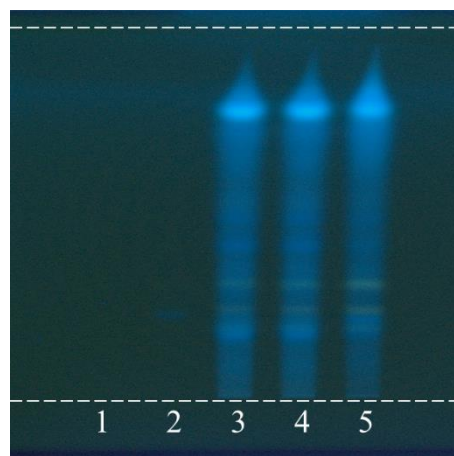
溫度(RT)：25 °C

【展開劑 1】 (自行展開 1)——正丁醇：冰乙酸：水 (7：1：2)

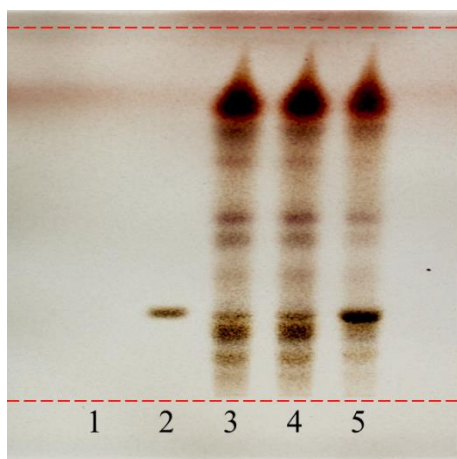
【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第三版 2018) — HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



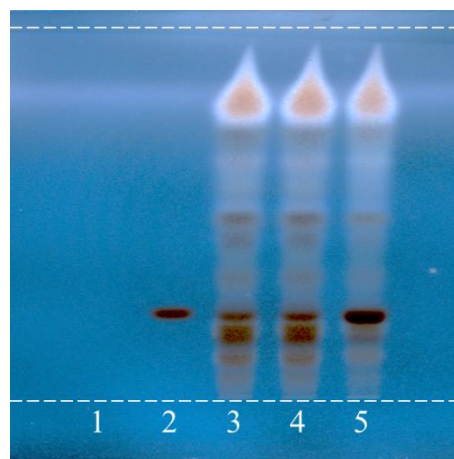
【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第三版 2018) — HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第三版 2018) — HPTLC 呈色/可見光檢出✓



【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第三版 2018) — HPTLC 呈色/紫外光(365 nm)檢出✓



1：Blank

2：松脂醇二葡萄糖苷

3，4：檢品溶液 8

5：Spike

建議觀察方式：經 10%硫酸/乙醇顯色後，於可見光及紫外光(365 nm)檢視皆較其他觀察方式有明顯之松脂醇二葡萄糖苷標準品斑點。

五、十批杜仲樣品檢測

實驗日期：108/11/29

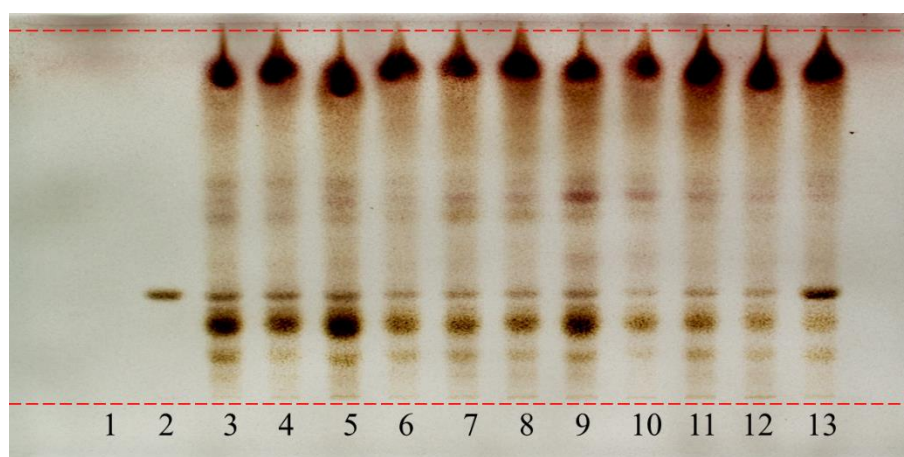
相對溼度(RH)：40%

溫度(RT)：25 °C

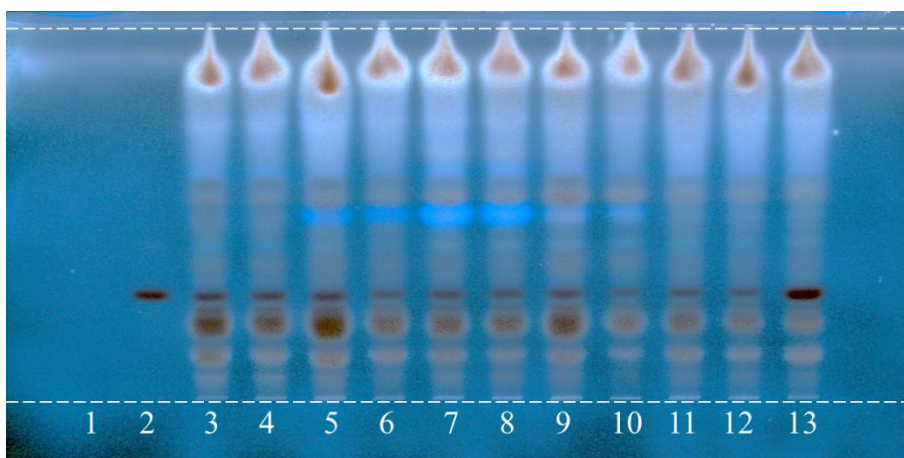
【展開劑 1】 (自行展開 1)——正丁醇：冰乙酸：水 (7：1：2)

【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色

(1) 10%硫酸/乙醇顯色後可見光檢出



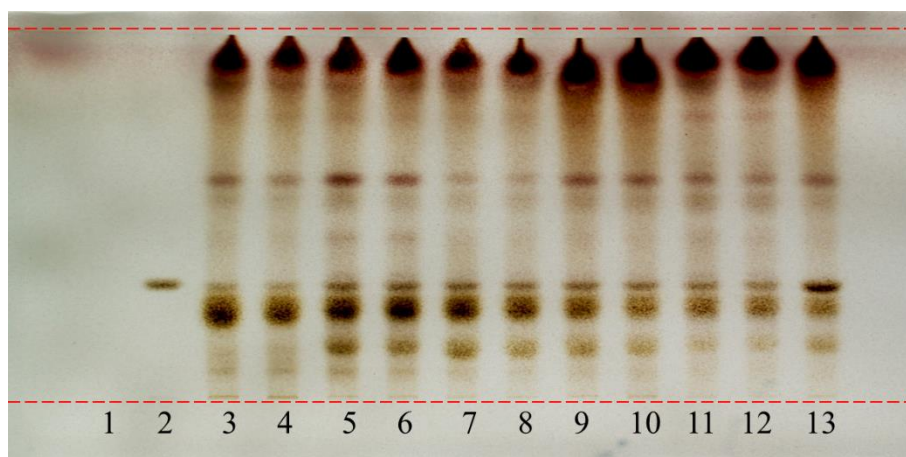
(2) 10%硫酸/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出



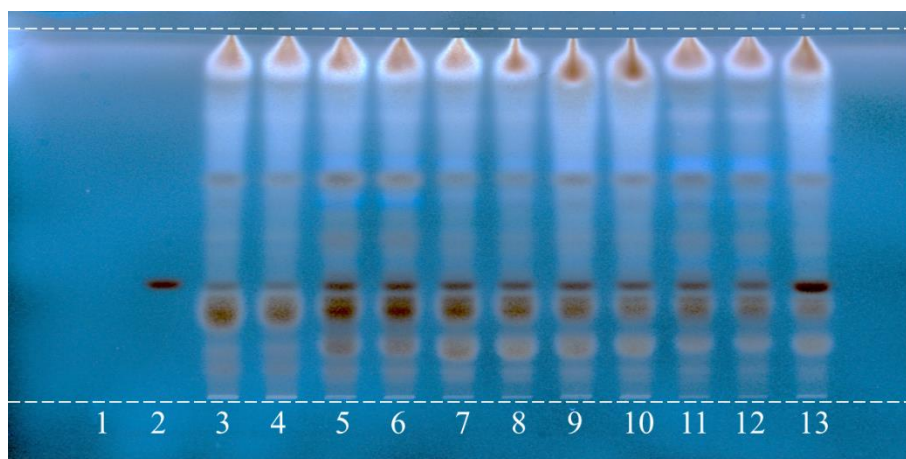
1	Blank
2	松脂醇二葡萄糖苷(0.2 mg/mL)
3, 4	檢品溶液 1 (NFB)
5, 6	檢品溶液 2 (NFC)
7, 8	檢品溶液 3 (NFD)
9, 10	檢品溶液 4 (NFE)
11, 12	檢品溶液 5 (CAA)
13	Spike (檢品溶液 8)

【展開劑 1】（自行展開 1）——正丁醇：冰乙酸：水（7：1：2）

【萃取方法 1】（臺灣中藥典第三版 2018）——HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色
 (1) 10%硫酸/乙醇顯色後可見光檢出



(2) 10%硫酸/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	松脂醇二葡萄糖苷(0.2 mg/mL)
3, 4	檢品溶液 6 (CAB)
5, 6	檢品溶液 7 (SAA)
7, 8	檢品溶液 8 (SA-1)
9, 10	檢品溶液 9 (SA-2)
11, 12	檢品溶液 10 (SU)
13	Spike (檢品溶液 8)

結論與建議：以臺灣中藥典第三版之【萃取方法 1】方式，並以自行展開 1 之【展開劑 1】分離與檢出松脂醇二葡萄糖苷較佳，以 10%硫酸/乙醇顯色後，於可見光及紫外光(365 nm)下檢視皆可。

炒杜仲(飲片)

六、十批炒杜仲飲片樣品檢測

實驗日期：108/11/29

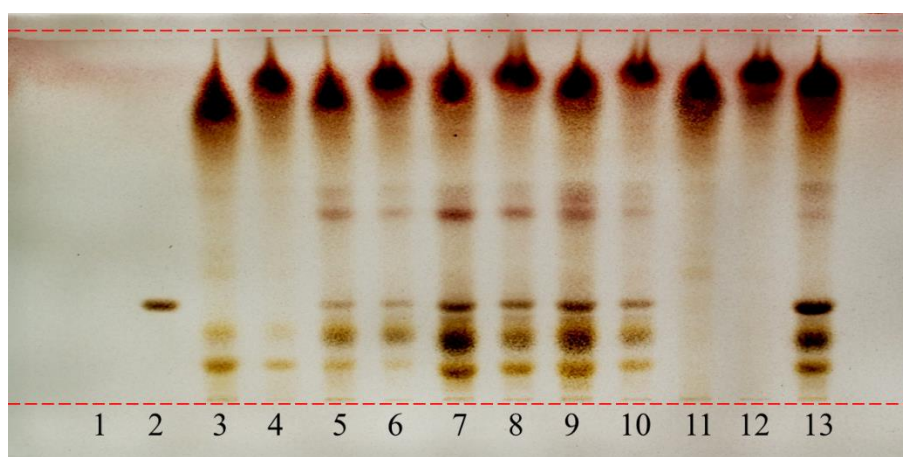
相對溼度(RH)：40%

溫度(RT)：25 °C

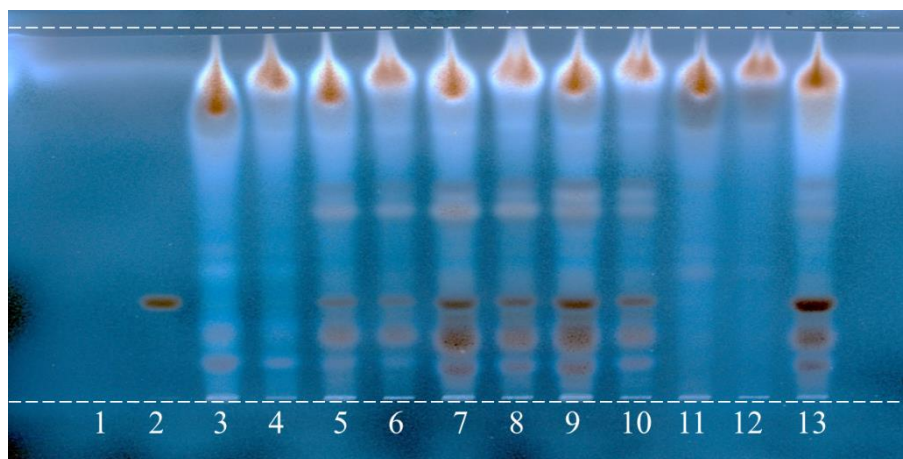
【展開劑 1】 (自行展開 1)——正丁醇：冰乙酸：水 (7：1：2)

【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色

(1) 10%硫酸/乙醇顯色後可見光檢出



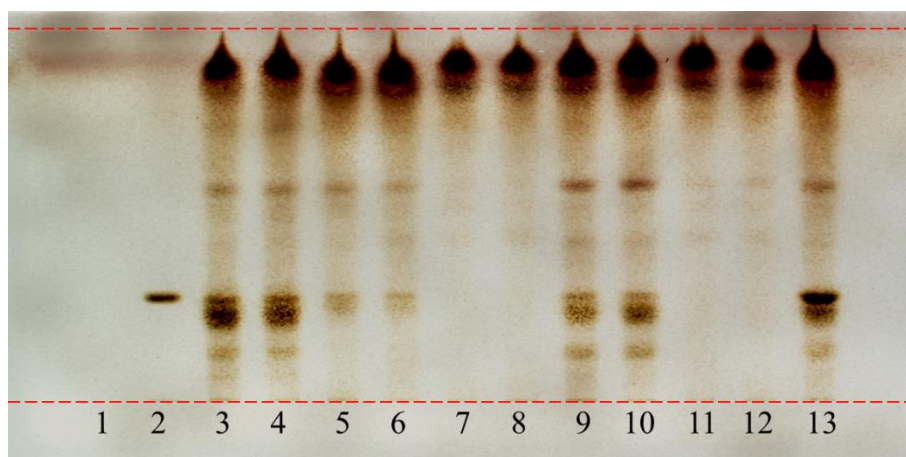
(2) 10%硫酸/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出



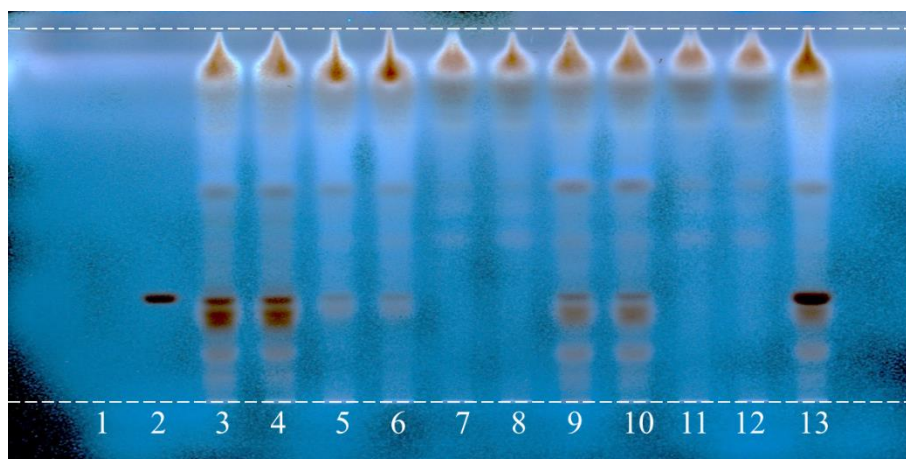
1	Blank
2	松脂醇二葡萄糖苷(0.2 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 1 (CA)
5 , 6	檢品溶液 2 (NFA)
7 , 8	檢品溶液 3 (NFB)
9 , 10	檢品溶液 4 (SU)
11 , 12	檢品溶液 5 (NC)
13	Spike (檢品溶液 3)

【展開劑 1】（自行展開 1）——正丁醇：冰乙酸：水（7：1：2）

【萃取方法 1】（臺灣中藥典第三版 2018）——HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色
(1) 10%硫酸/乙醇顯色後可見光檢出



(2) 10%硫酸/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	松脂醇二葡萄糖苷(0.2 mg/mL)
3，4	檢品溶液 6 (NJ-1)
5，6	檢品溶液 7 (NJ-2)
7，8	檢品溶液 8 (SC-1)
9，10	檢品溶液 9 (SC-2)
11，12	檢品溶液 10 (SJ)
13	Spike (檢品溶液 3)

結論與建議：飲片鑑別同藥材。