

沙苑蒺藜

(ASTRAGALI COMPLANATI SEMEN)

沙苑蒺藜 MI	2
一、形態	2
二、顯微	3
沙苑蒺藜 HPLC	4
一、材料	4
二、儀器及層析管柱	4
三、實驗藥品及試劑來源	4
四、方法	4
五、結果	8
沙苑蒺藜 TLC	19
一、方法	19
二、萃法選擇及濃度測試	20
三、溶媒系統選擇	21
四、觀察方式選擇	22
五、十家樣品檢測	23

沙苑子

一、形態

本品為豆科(Fabaceae)植物扁莖黃芪 *Astragalus complanatus* R. Br. 乾燥的種子，外型為扁腎狀，直徑 1~2mm，表面光滑，褐綠色或灰褐色。邊緣一側凹處具圓形種臍。種皮堅硬，不易破碎。胚根彎曲。無臭，味淡，嚼之有豆腥味。

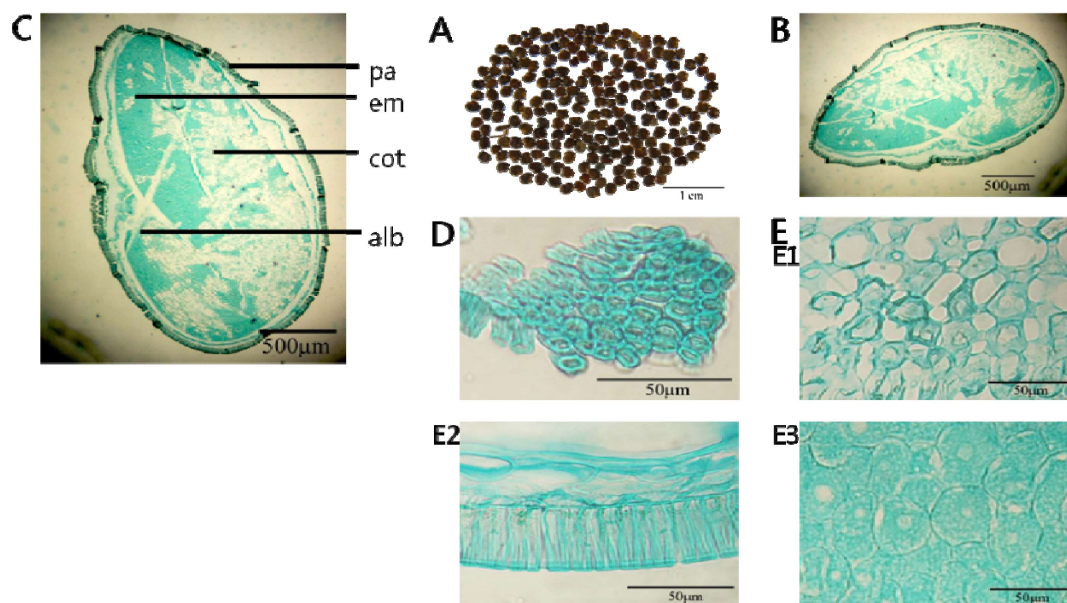


二、顯微

本品埋蠟切片，表皮柵狀組織外被有角質層，徑向長35~50μm，壁自內向外漸漸增厚，上端具有縱向紋理，細胞腔呈裂縫狀。細胞壁上略有放射狀的紋理。

NI-4601

沙苑子 *Astragalus complanatus* R.Br



A: 藥材圖
B: 略圖
C: 組織圖
D: 表面切

E: 組織要素
E1: 胚乳細胞
E2: 糊狀細胞
E3: 胚細胞

略字解

pa: 糊狀細胞
em: 胚

cot: 子葉
alb: 胚乳

沙苑子 (Astragali Complanati Semen)

一、材料

購自於台灣各地中藥店沙苑子藥材共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Shimadzu SCL 10Avp system controller, SPD-10Avp UV-Vis detector, LC-20AT pump, and Biotech 2003 degasser；層析管柱 COSMOSIL AR-II C₁₈ Column (250 x 4.6 mm, 5 μm)。

(二) UPLC 儀器及層析管柱

Agilent 1200 Infinity Series UPLC: 1290 DAD, 1290 TCC, 1290 Sampler, 1290 Thermostat, 1290 Bin Pump；層析管柱 Agilent Poroshell EC-C₁₈ plus Column (150 x 3.0 mm, 2.7 μm)

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

甲醇(99.9%)購自於 Mallinckrodt Baker. Inc.；甲酸(98–100%)購自於 Merck；磷酸(85%)購自於 Tedia；乙腈(99.9%)和乙醇(95%)皆購自於景明化工。

(二) 標準品

沙苑子苷(Complanatuside)自行製備，純度在 98%以上。

四、方法

(一) 萃取溶媒開發

取本品粉末五份，每份精確稱定 0.5 g，置 50 mL 離心管中稱定重量，加入 40% 甲醇、80% 乙醇、60% 乙醇、40% 乙醇、水各 23 mL，超音波震盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，再稱定重量，用各溶劑補足 25 mL 對應溶媒所缺失的重量。各提取液離心(3000 rpm, 15 分鐘)，過濾(Syringe filter, 0.45 μm)，取濾液，即得。每針 20 μL 注入高效能液相層析儀(HPLC)，以所測得每克重量之標準品沙苑子苷(Complanatuside)最大峰面積為沙苑子最佳萃取溶媒。

(二) 萃取次數考察

取本品粉末約 0.5 g，精確稱定，置 50 mL 離心管中，精確加入 40% 乙醇 25 mL，超音波震盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，離心(3000 rpm, 15 分鐘)，取上清液，過濾(Syringe filter, 0.45 μm)，取濾液，即得。每針 20 μL 注入 HPLC，殘渣部分重複上述方法再次萃取、進樣，

直到指標成分被萃取完全，並選出最佳萃取次數。

(三) 對照標準品溶液

取沙苑子苷(Complanatuside)精確稱定 15 mg，加 100 mL 的 40% 乙醇製成每 1 mL 含沙苑子苷(Complanatuside) 150 µg 的標準品儲備溶液。並以 40% 乙醇稀釋至 15 µg/mL 製成對照標準品溶液。

(四) 檢品溶液

取本品粉末 0.5 g，精確稱定，置 50 mL 離心管中，精確加入 40% 乙醇 25 mL，超音波震盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘。將提取液離心(3000 rpm, 15 分鐘)，取上清液過濾(Syringe filter, 0.45 µm)，取濾液，即得。

(五) 測定法

分別精確吸取標準品溶液(15 µg/mL)、檢品溶液 20 µL，注入 HPLC，測定，用標準曲線計算溶液中沙苑子苷(Complanatuside)的含量，即得。

(六) 檢量線

精確吸取沙苑子苷(Complanatuside)標準品儲備溶液適量(152 µg/mL)，以 40% 乙醇稀釋製成含沙苑子苷(Complanatuside)分別為 60 µg/mL、30 µg/mL、15 µg/mL、7.5 µg/mL、3.75 µg/mL 的標準品溶液。以上溶液各取 20 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) 精確度試驗

以沙苑子苷(Complanatuside)濃度為 15 µg/mL 之標準品液連續進樣五針，以沙苑子苷(Complanatuside)波峰面積為指標，求出相對標準偏差。

(八) 再現性與穩定性試驗

1. 再現性：取同一批市售沙苑子粉末，依沙苑子檢品溶液製備方法平行製備五份沙苑子檢品溶液，進樣測定，以沙苑子苷(Complanatuside)波峰面積為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取一批市售沙苑子粉末，依沙苑子檢品溶液製備方法製備一份沙苑子檢品溶液，分別在 0、4、8、24 小時進樣測定，以沙苑子苷(Complanatuside)波峰面積為指標，求出相對標準差。

(九) 偵測極限與定量極限試驗

偵測極限(limit of detection, LOD)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比為 $\geq 3:1$ 時之濃度，作為偵測極限估計值；定量極限(limit of quantitation, LOQ)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比為 $\geq 10:1$ 時之濃度，作為定量極限估計值。

(十) 添加回收率試驗

取已知沙苑子苷(Complanatuside)含量的藥材粉末約 0.5 g，精確稱定 5 份，分別置 50 mL 離心管中并稱定重量，再分別精確加入 150 $\mu\text{g/mL}$ 沙苑子苷(Complanatuside) 2.5 mL，再精確加入 40%乙醇 22.5 mL，並按檢品溶液製作方法操作、測定。

(十一) HPLC 分析條件

1. 層析管：COSMOSIL AR-II C₁₈ Column (250 x 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 266 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：25 $^{\circ}\text{C}$
5. 注入量：20 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈	0.1%磷酸(%, v/v)
0	21	79
17	21	79
17.1	100	0
22	100	0
22.1	21	79
35	21	79

(十二) 臺灣市售沙苑子含量測定

取十批市售沙苑子藥材依檢品溶液製備方法製備檢品溶液，取各 20 μL 連續三針注入 HPLC，所得平均波峰面積依附錄 I 公式計算樣品沙苑子苷(Complanatuside)的百分含量。

(十三) 臺灣市售沙苑子 HPLC 指紋圖譜的建立

1. 層析管：COSMOSIL AR-II C₁₈ Column (250 x 4.6 mm, 5 µm)
2. 檢測波長：UV 254 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：室溫
5. 注入量：20 µL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈+0.1%甲酸(%, v/v)	0.1%甲酸(%, v/v,)
0	15	85
10	15	85
70	28.8	71.2
80	38	62
90	100	0
95	100	0
95.1	15	85
108	15	85

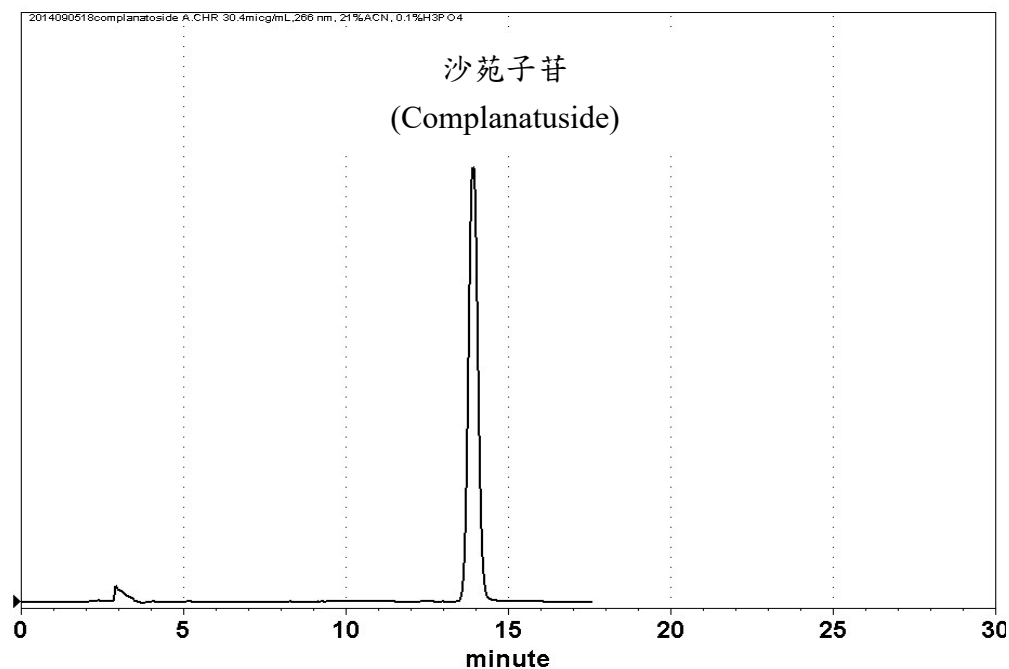
(十四) UPLC 分析條件

1. 層析管：Agilent Poroshell EC-C₁₈ plus Column (150 x 3.0 mm, 2.7 µm)
2. 檢測波長：UV 266 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：室溫
5. 注入量：3.0 µL
6. 移動相：21%乙腈 in 0.1% 磷酸水溶液

五、結果

(一) 標準品沙苑子苷(Complanatuside)之 HPLC 層析

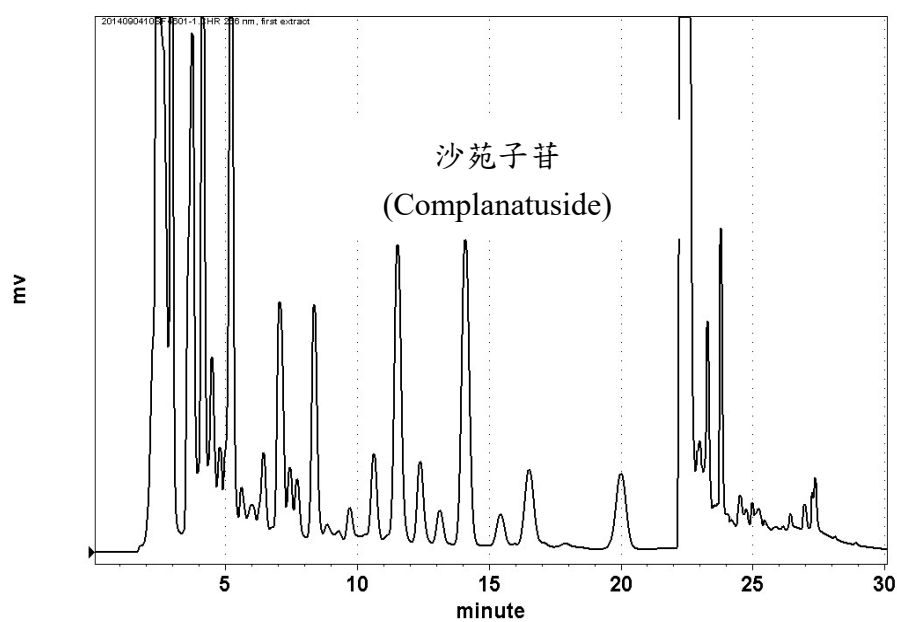
於滯留時間 13.9 分鐘處顯示沙苑子苷(Complanatuside)標準品波峰(圖一)。



圖一 沙苑子苷(Complanatuside)標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售沙苑子檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 13.9 分鐘處顯示沙苑子檢品中沙苑子苷(Complanatuside)波峰。分離率為 $R > 2.20$ ，托尾因子為 $T = 1.060$ ，均在系統適用性要求內。



圖二 市售沙苑子檢品之 HPLC 層析圖

(三) 萃取溶媒開發

以 40%乙醇為溶媒時，每克藥材重量所得沙苑子苷(Complanatuside)的波峰面積最大，顯示 40%乙醇為最佳萃取溶媒。

表一、不同溶媒萃取比較

溶媒	Complanatuside 相對含量	最佳萃取
40%乙醇	1	√
60%乙醇	0.9	
80%乙醇	0.7	
H ₂ O	0.5	
40%甲醇	0.8	

(四) 萃取次數考察

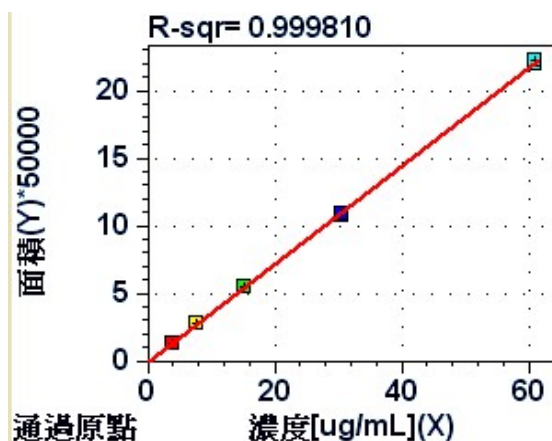
結果顯示萃取一次基本上已將沙苑子苷(Complanatuside)萃取完全(萃取率大於 99%)。

表二、沙苑子檢品萃取次數考察

40%乙醇萃取次數	沙苑子苷(Complanatuside)波峰面積
第一次	454995
第二次	2319
第三次	N.D.

(五) 標準品沙苑子苷(Complanatuside)檢量線

不同濃度沙苑子苷(Complanatuside) (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： $y = 18221.25x - 3915.11$ ， $R^2 = 0.9998$ ，顯示濃度在 4.0–60 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、沙苑子苷(Complanatuside)之檢量線圖

表三、沙苑子苷(Complanatuside)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
沙苑子苷 (Complanatuside)	4.0–60	$y = 18221.25x - 3915.11$	0.9998

(六) 精確度與再現性試驗

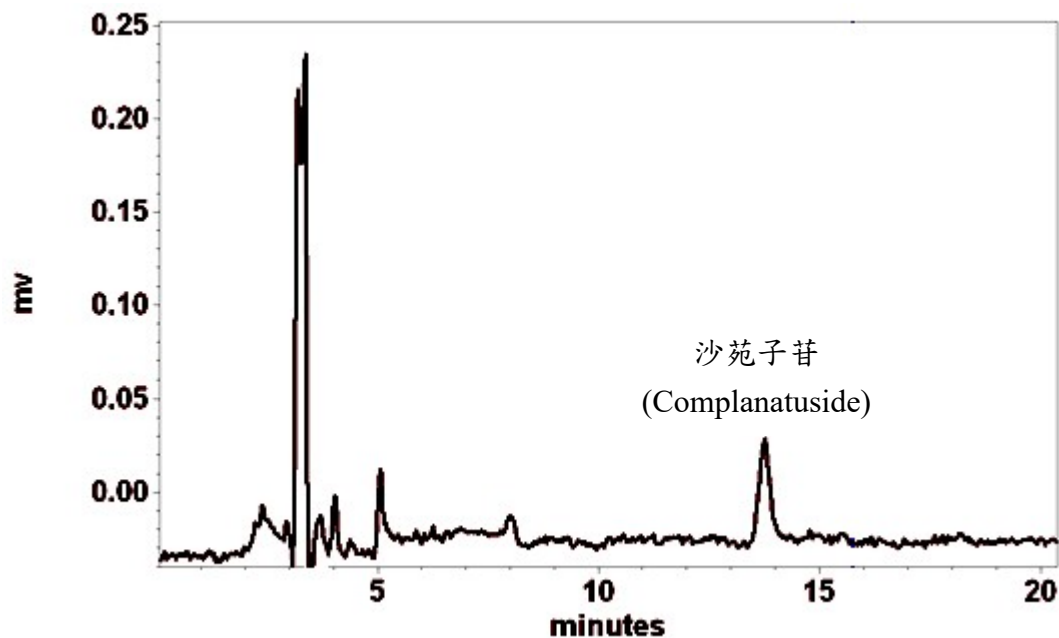
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精確度良好，沙苑子苷(Complanatuside)精密度之相對標準差為 1.35%，再現性之相對標準差為 4.25%，均在系統適用性要求內。

(七) 穩定性試驗

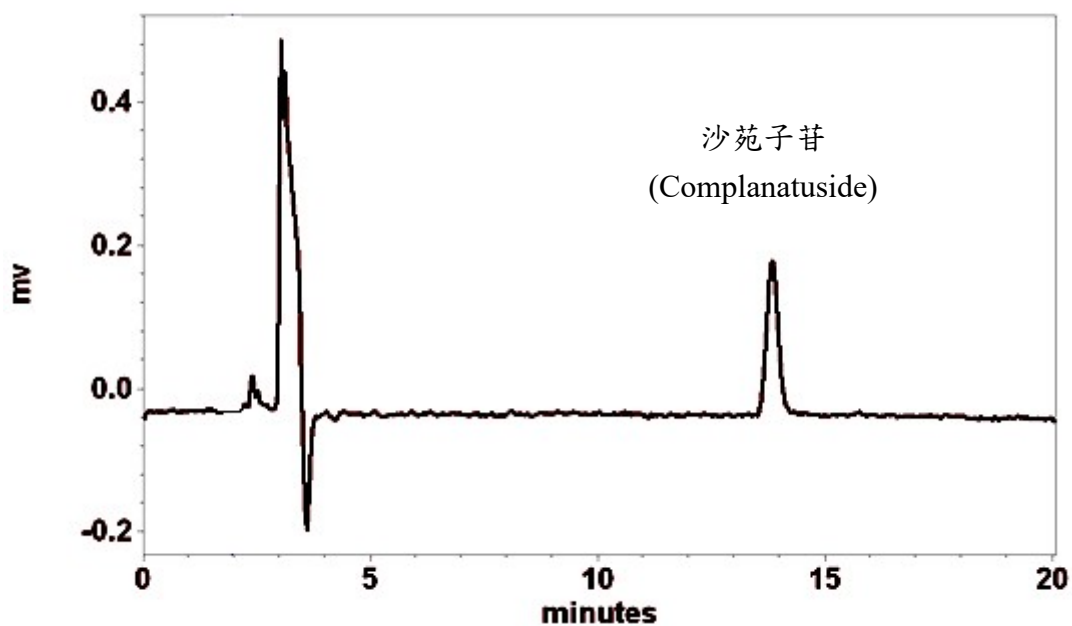
由結果可以得知，沙苑子苷(Complanatuside)在 24 小時內穩定，相對標準差為 1.04%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

沙苑子苷(Complanatuside) (Limit of Detection, LOD)為 0.19 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限(Limit of Quantitation, LOQ)為 0.038 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、沙苑子苷(Complanatuside)之 LOD 層析圖



圖五、沙苑子苷(Complanatuside)之 LOQ 層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	沙苑子苷(Complanatuside)	
	濃度	R.S.D. (%)
精確度 (n=5)	15 µg/mL	1.35
再現性 (n=5)	檢品溶液(No.4)	4.25
穩定性 (n=4)	檢品溶液(No.4)	1.04
偵測極限 (n=1)	0.038 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	0.19 µg/mL	-

(九) 添加回收率試驗

添加沙苑子苷(Complanatuside)平均回收率 102.9%，相對標準偏差 3.94%。

表五、沙苑子苷(Complanatuside)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	0.5001	0.6001	0.389	1.0051	104.12	102.93	3.30
2	0.5005	0.6006	0.389	0.9870	99.34		
3	0.5006	0.6013	0.389	0.9983	102.07		
4	0.5002	0.6002	0.389	0.9930	100.99		
5	0.5001	0.6001	0.389	1.0208	108.14		

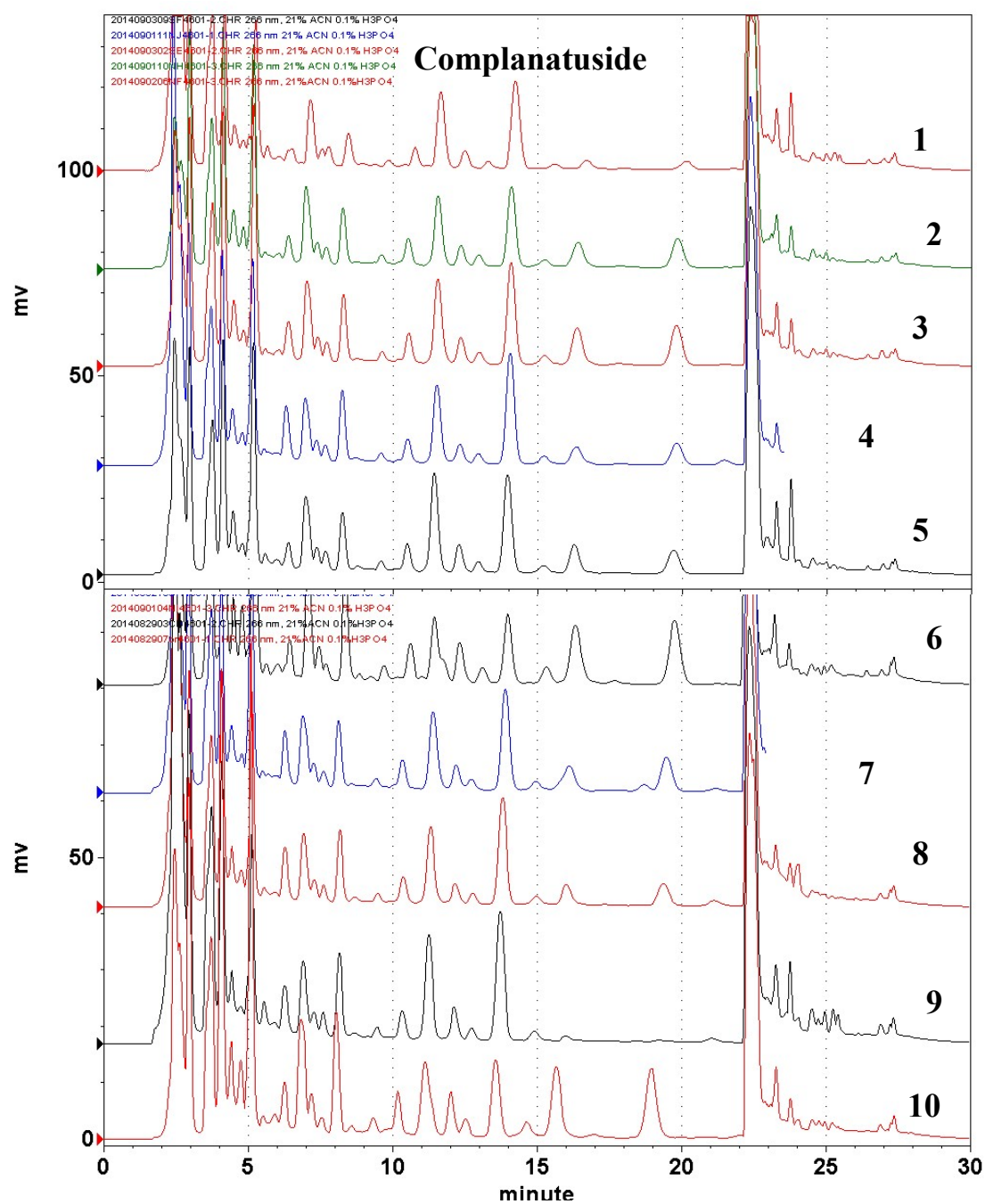
(十) 台灣市售沙苑子含量測定

10 批沙苑子藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，沙苑子苷(Complanatuside)的含量為 0.062–0.134%。建議沙苑子藥材指標成分沙苑子苷(Complanatuside)的含量不得少於 0.06%。理論板數按沙苑子苷(Complanatuside)波峰計算應不低於 6000 (實際值為 13000)。

表六、台灣市售沙苑子檢品之沙苑子苷(Complanatuside)含量

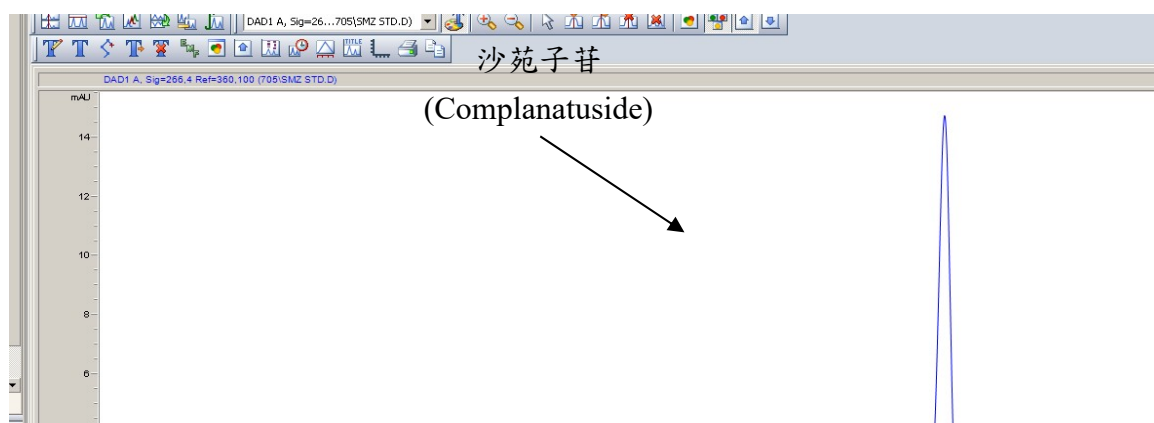
中藥店編號 (No.)	沙苑子苷(Complanatuside) 含量(%)	中藥店編號 (No.)	沙苑子苷(Complanatuside) 含量(%)
1(NF)	0.106 ± 0.004	6(TS)	0.062 ± 0.002
2(NH)	0.098 ± 0.001	7(SH)	0.109 ± 0.003
3(SE)	0.115 ± 0.004	8(N)I	0.095 ± 0.002
4(NJ)	0.134 ± 0.002	9(CD)	0.116 ± 0.006
5(SF)	0.120 ± 0.002	10(OR)	0.062 ± 0.002

(十一) 10 批市售沙苑子藥材之 HPLC 層析圖



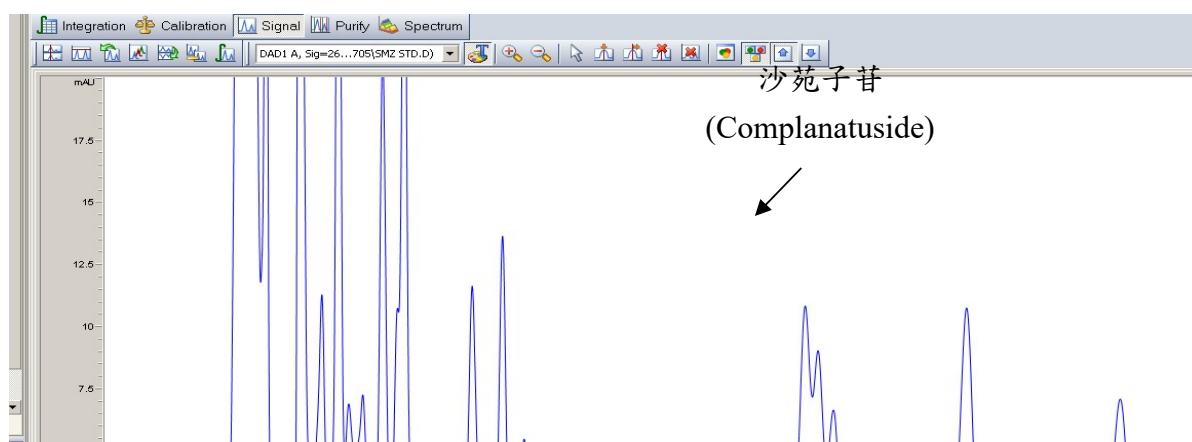
圖六、10 批沙苑子藥材之 HPLC 層析圖

(十二) 標準品沙苑子苷(Complanatuside)及市售沙苑子之 UPLC 層析



圖七、沙苑子苷(Complanatuside)標準品之 UPLC 層析圖(UV 266 nm)

(十三) 市售沙苑子之 UPLC 層析

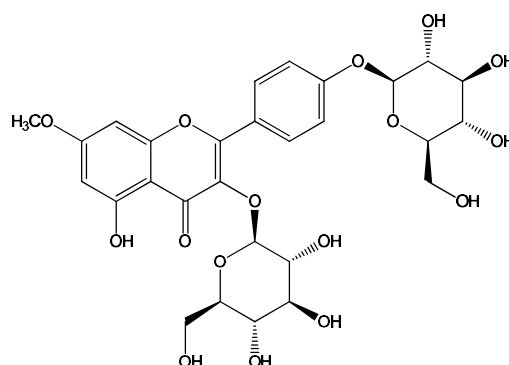


圖八、市售沙苑子之 UPLC 層析圖(UV 266 nm)

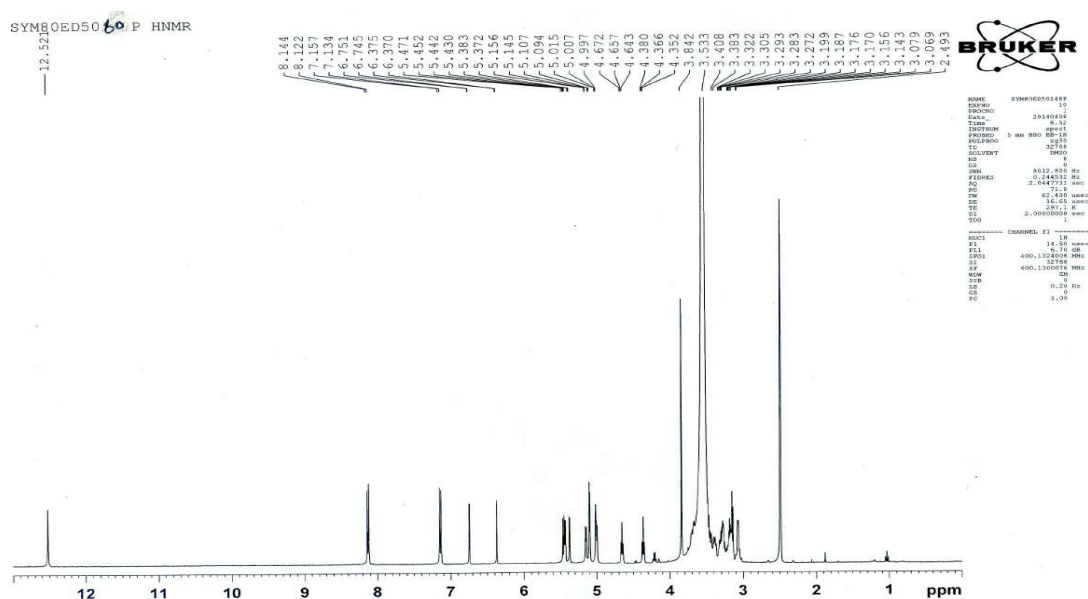
(十四) 沙苑子苷(Complanatuside)的分子式、分子量與熔點

分子式: $C_{28}H_{32}O_{16}$; Mol. Wt.: 624.2; mp: 270–272 °C

(十五) 沙苑子苷(Complanatuside)的結構

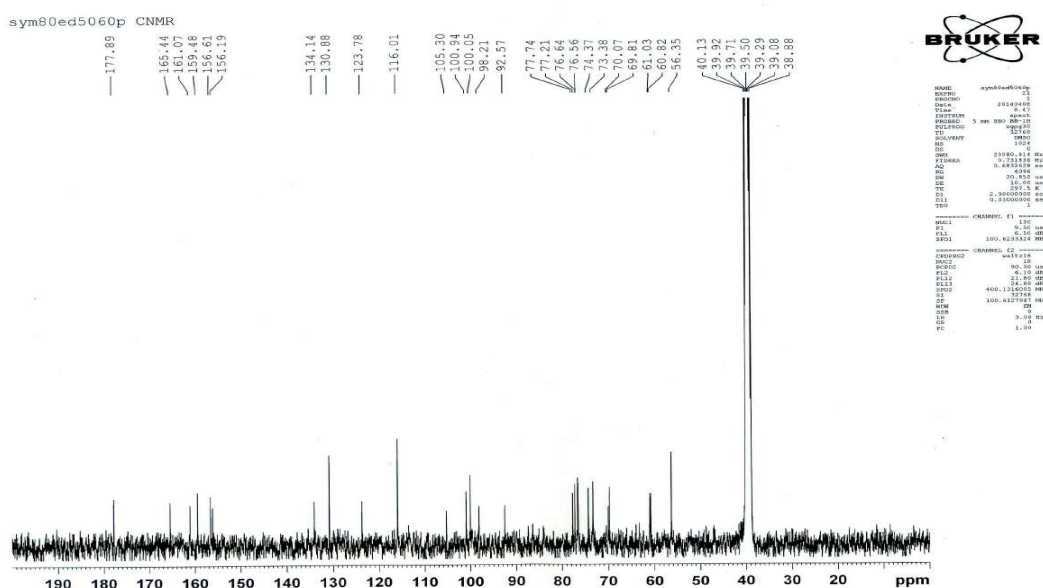


(十六) 沙苑子苷(Complanatuside)的 ^1H NMR 圖譜



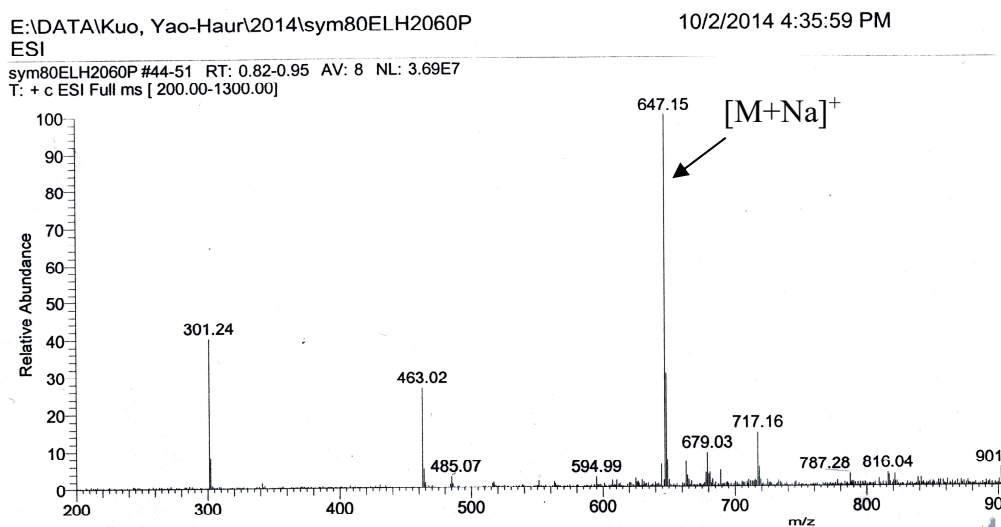
圖九、沙苑子苷(Complanatuside)的 ^1H NMR 圖譜(DMSO- d_6)

(十七) 沙苑子苷(Complanatuside)的 ^{13}C NMR 圖譜



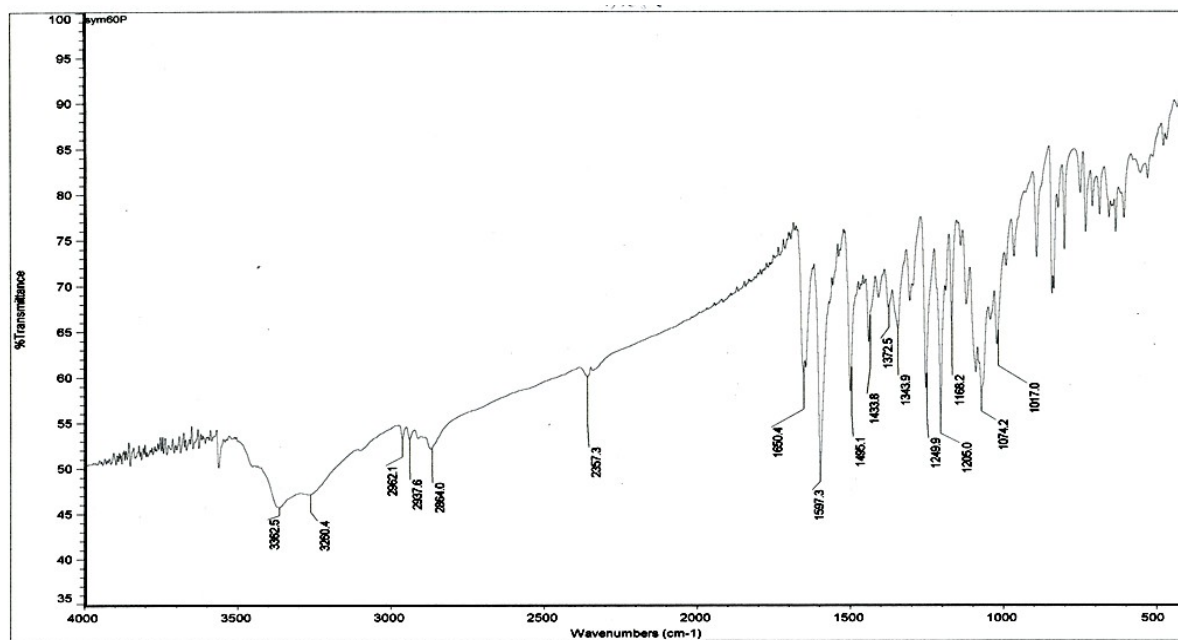
圖十、沙苑子苷(Complanatuside)的 ^{13}C NMR 圖譜(DMSO- d_6)

(十八) 沙苑子苷(Complanatuside)的 ESI-MS 圖譜



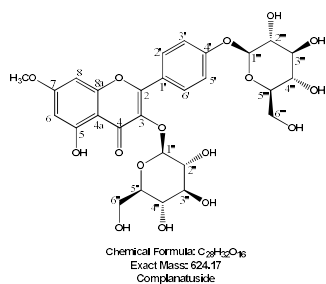
圖十一、沙苑子苷(Complanatuside)的 ESI-MS 圖譜

(十九) 沙苑子苷(Complanatuside)的 FTIR 圖譜



圖十二、沙苑子苷(Complanatuside)的 FTIR 圖譜

(二十) 沙苑子苷(Complanatuside)的氫、碳化學位移



表七、沙苑子苷(complanatuside)的氫、碳化學位移(DMSO-*d*₆)^a

position	δ _H (400 MHz)	δ _C (100 MHz)
2	-	156.6
3	-	134.2
4	-	177.9
4a	-	105.3
5	-	161.1
6	6.37 (d, 2.0)	98.2
7	-	165.5
8	6.75 (d, 2.0)	92.6
8a	-	156.2
1'	-	123.8
2'	8.13 (d, 8.8)	130.9
3'	7.14 (d, 8.8)	116.0
4'	-	159.5
5'	7.14 (d, 8.8)	116.0
6'	8.13 (d, 8.8)	130.9
1''	5.46 (d, 7.2)	101.0
2''	3.05–3.71	74.4
3''	3.05–3.71	77.7
4''	3.05–3.71	70.1
5''	3.05–3.71	76.7
6''	3.05–3.71	61.0
1'''	5.00 (d, 7.2)	100.1
2'''	3.05–3.71	73.4
3'''	3.05–3.71	77.2
4'''	3.05–3.71	69.8
5'''	3.05–3.71	76.6
6'''	3.05–3.71	60.8
OCH ₃	3.84 (s, 3H)	56.4

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

附錄 I、定量濃度及百分含量計算

用標準品的波峰面積與溶液中相應濃度($\mu\text{g/mL}$)作圖，進行線性迴歸分析得斜率與截距。

按下列公式計算溶液中待測成分的濃度：

$$A = \frac{I - b}{m}$$

其中

A：待測成分濃度($\mu\text{g/mL}$)

I：檢品中待測成分之波峰面積

b：檢量線的 y 軸截距

m：檢量線的斜率

$$C = \frac{A \times D \times V}{1000 W} \times 100\%$$

按下列公式計算樣品中待測成分的百分含量

其中

C：待測成分含量(%)

A：檢品濃度($\mu\text{g/mL}$)

D：稀釋倍數

V：定容體積(mL)

W：藥材重(mg)

沙苑子

中文名：沙苑子

生藥拉丁名：ASTRAGALI COMPLANATI SEMEN

英文名：Flasem Milkvetch Seed

基 原：本品為豆科 Leguminosae 植物扁莖黃耆 *Astragalus complanatus* R. Br.之乾燥種子。秋末冬初帶有果梗的果實成熟尚未開裂時採割，曬乾，打下種子，除去雜質，曬乾。

一、方法

- (一) 檢 品 溶 液 **【萃取方法 1】(香港中藥材標準第六冊)**
——取本品粉末 2.0 g，加甲醇 30 mL，超音波處理 30 分鐘，過濾，取濾液作為檢品溶液。
【萃取方法 2】(修飾香港中藥材標準第六冊) ✓
——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 取沙苑子苷(Complanatoside)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】(香港中藥材標準第六冊)**
——乙酸乙酯：乙醇：甲酸：水 (5：1：1：0.5)
【展開劑 2】(自行開發) ✓
——乙酸乙酯：甲酸：水 (4：1：1)
- (五) 展 開 槽 10 cm × 10 cm、20 cm × 10 cm
- (六) 展 開 展開槽預先平衡 15 分鐘，上行展開，展開距離 8 cm。
- (七) 顯色&檢視 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。

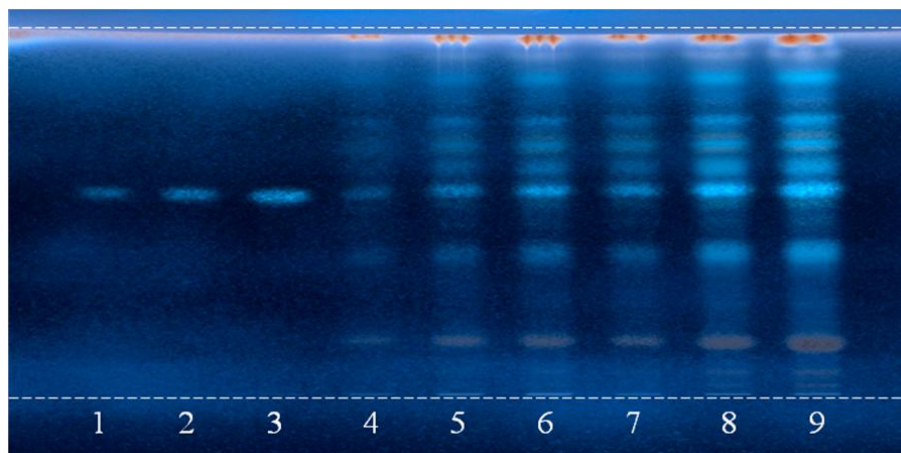
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：105/10/03

相對溼度(RH)：65%

溫度(RT)：28 °C

【展開劑 2】 (自行開發)——乙酸乙酯：甲酸：水 (4：1：1)



編號	名稱	含量
1, 2, 3	沙苑子苷(Complanatoside) (0.2 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
4, 5, 6	檢品溶液 1 【萃取方法 1】	2, 5, 8 μ L
7, 8, 9	檢品溶液 1 【萃取方法 2】	2, 5, 8 μ L

建議萃法：2 種萃法之檢品溶液中皆有分離與檢出標準品沙苑子苷 A，但由於修飾香港中藥材標準第六冊之【萃取方法 2】所使用的萃取溶劑量較低，且最適點片量可較低，故選擇【萃取方法 2】。

建議點注量：沙苑子苷(Complanatoside)標準品溶液 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 2】2 μ L。

三、溶媒系統選擇

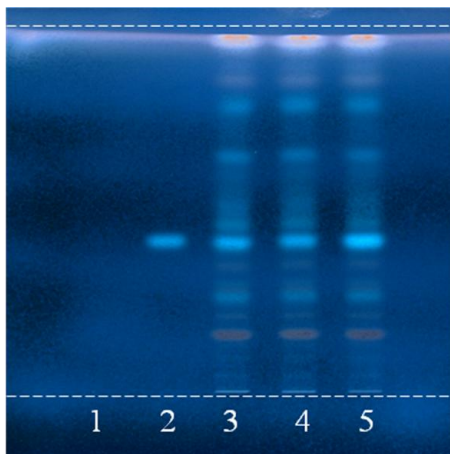
實驗日期：105/10/04

相對溼度(RH)：60%

溫度(RT)：27 °C

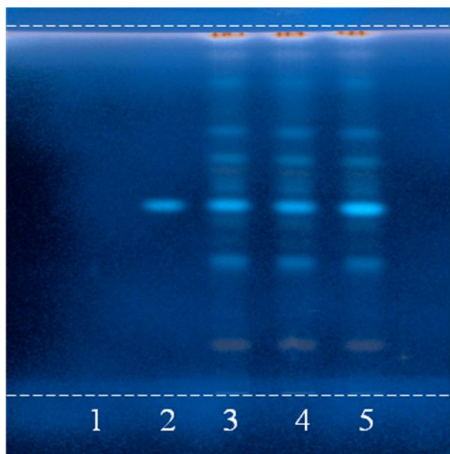
【展開劑 1】 (香港中藥材標準第六冊)——乙酸乙酯：乙醇：甲酸：水 (5：1：1：0.5)

【萃取方法 2】 (修飾香港中藥材標準第六冊) —— HPTLC 10%硫酸乙醇呈色後
紫外光(365 nm)檢出 (沙苑子苷 R_f 值為 0.41)



【展開劑 2】 (自行開發)——乙酸乙酯：甲酸：水 (4：1：1)

【萃取方法 2】 (修飾香港中藥材標準第六冊) —— HPTLC 10%硫酸乙醇呈色後
紫外光(365 nm)檢出 (沙苑子苷 R_f 值為 0.51)



1：Blank

2：沙苑子苷(Complanatoside)

3，4：檢品溶液 1

5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 2】方式，2 種展開劑展開皆可從檢品溶液中分離與檢出沙苑子苷 A，而由於指標成分 R_f 值較趨近於中間，且使用溶劑較簡便，故採用自行開發之【展開劑 2】。

四、觀察方式選擇

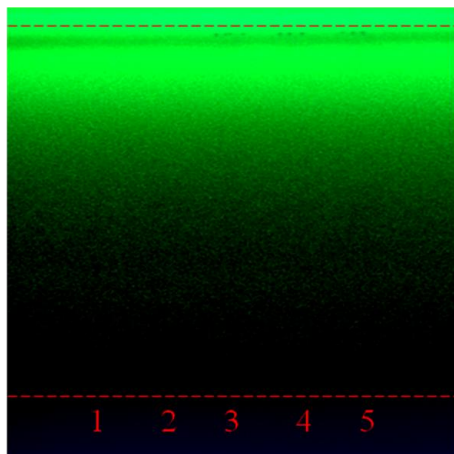
實驗日期：105/10/04

相對溼度(RH)：60%

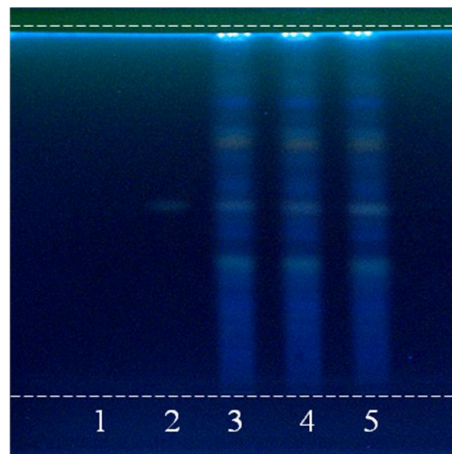
溫度(RT)：27 °C

【展開劑 2】 (自行開發)——乙酸乙酯：甲酸：水 (4：1：1)

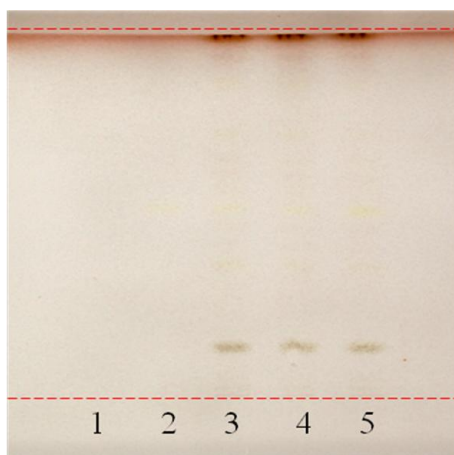
【萃取方法 2】 (修飾香港中藥材標準第六冊) — HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



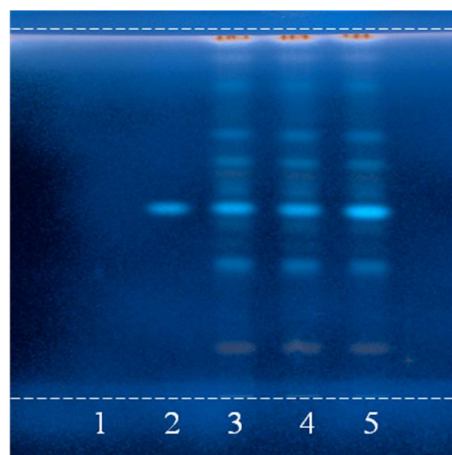
【萃取方法 2】 (修飾香港中藥材標準第六冊) — HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



【萃取方法 2】 (修飾香港中藥材標準第六冊) — HPTLC 呈色/可見光檢出



【萃取方法 2】 (修飾香港中藥材標準第六冊) — HPTLC 呈色/紫外光(365 nm)檢出



1：Blank

2：沙苑子苷(Complanatoside)

3，4：檢品溶液 1

5：Spike

建議觀察方式：經 10%硫酸乙醇呈色後，於紫外光(365 nm)檢視較其他觀察方式有明顯之沙苑子苷(Complanatoside)標準品斑點。

五、十家樣品檢測

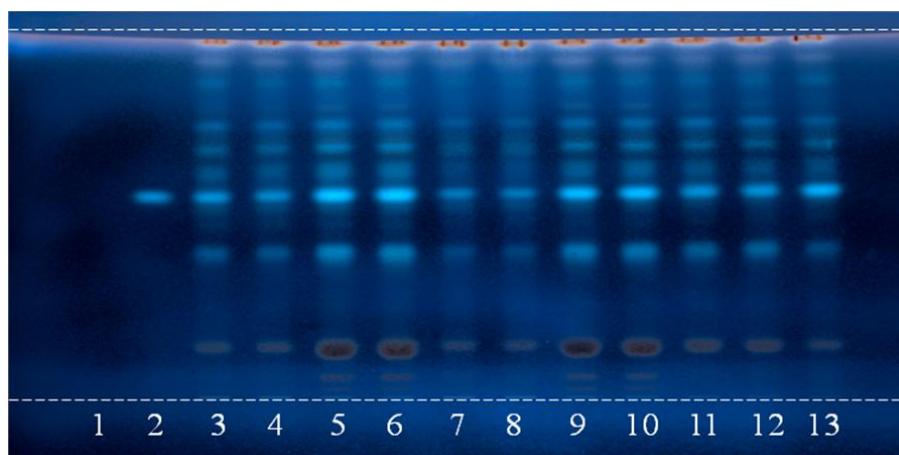
實驗日期：105/10/05

相對溼度(RH)：61%

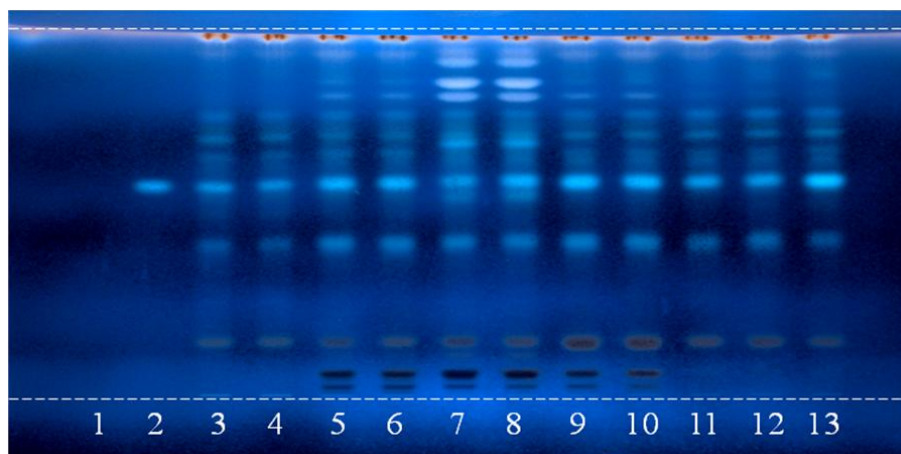
溫度(RT)：26 °C

【展開劑 2】(自行開發)——乙酸乙酯：甲酸：水 (4：1：1)

【萃取方法 2】(修飾香港中藥材標準第六冊)——HPTLC 10%硫酸乙醇呈色後
紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	沙苑子苷(Complanatoside) (0.2 mg/mL)
3, 4	檢品溶液 1 (NC)
5, 6	檢品溶液 2 (NS)
7, 8	檢品溶液 3 (CB1)
9, 10	檢品溶液 4 (CE)
11, 12	檢品溶液 5 (SA)
13	Spike (檢品溶液 1)



1	Blank
2	沙苑子苷(Complanatoside) (0.2 mg/mL)
3, 4	檢品溶液 6 (CB2)
5, 6	檢品溶液 7 (ST)
7, 8	檢品溶液 8 (TS1)
9, 10	檢品溶液 9 (TS2)
11, 12	檢品溶液 10 (TS3)
13	Spike (檢品溶液 1)

結論與建議：以修飾香港中藥材標準第六冊之【萃取方法 2】方式，並以自行開發之【展開劑 2】分離與檢出沙苑子苷(Complanatoside)，使用溶劑較簡便，並以 10%硫酸乙醇顯色後，於紫外光(365 nm)下檢視較佳。