

延胡索

(CORYDALIS RHIZOMA)

延胡索 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

延胡索 藥材 HPLC

一、材料.....	6
二、儀器及層析管柱.....	6
三、實驗藥品及試劑來源.....	6
四、方法.....	6
五、結果.....	10

延胡索 飲片 HPLC

一、材料.....	20
二、儀器及層析管柱.....	20
三、實驗藥品及試劑來源.....	20
四、方法.....	20

延胡索 TLC

一、方法.....	28
二、萃法選擇及濃度測試.....	29
三、溶媒系統選擇.....	30
四、觀察方式選擇.....	31
五、十批延胡索藥材樣品檢測.....	32
六、十批延胡索飲片樣品檢測.....	34

延胡索

(CORYDALIS RHIZOMA)

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延胡索的乾燥塊莖。

二、藥材性狀描述(圖 1)

藥材名：延胡索

生藥名：CORYDALIS RHIZOMA

英文名：Corydalis Tuber

基原：罂粟科 Papaveraceae 植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 的乾燥塊莖。

採收加工：夏初莖葉枯萎時採挖，除去鬚根，洗淨，置沸水中煮至恰無白心時，取出，乾燥。

藥材性狀：本品呈不規則的扁球形，直徑 0.5~1.5 cm。表面黃色或黃褐色，有不規則網狀皺紋。頂端有略凹陷的莖痕，底部常有疙瘩狀凸起。質硬而脆，斷面黃色，角質樣，有蠟樣光澤。氣微，味苦。

生長分佈：多年生草本，高 9~20 cm，全株無毛。塊莖扁球形，直徑 7~15 mm，上部略凹陷，下部生鬚根，有時縱裂成數瓣，斷面深黃色。花期 3~4 月，果期 4~5 月。生於山地林下，或為栽培。分佈於中國河北、山東、江蘇、浙江等地。主產於浙江。

三、藥材組織顯微鑑別(圖 2)

1. 表皮偶有殘存。
2. 皮層寬廣，有數列扁平細胞，外側部分有 2~3 列厚壁細胞。
3. 乳管斷續排列成數環圈。
4. 韌皮部窄；形成層不明顯。
5. 導管細小，2~7 個成束，斷續排列成環。
6. 中央有髓。
7. 薄壁細胞充滿澱粉粒和糊化的澱粉粒團塊。



圖 1 延胡索藥材圖

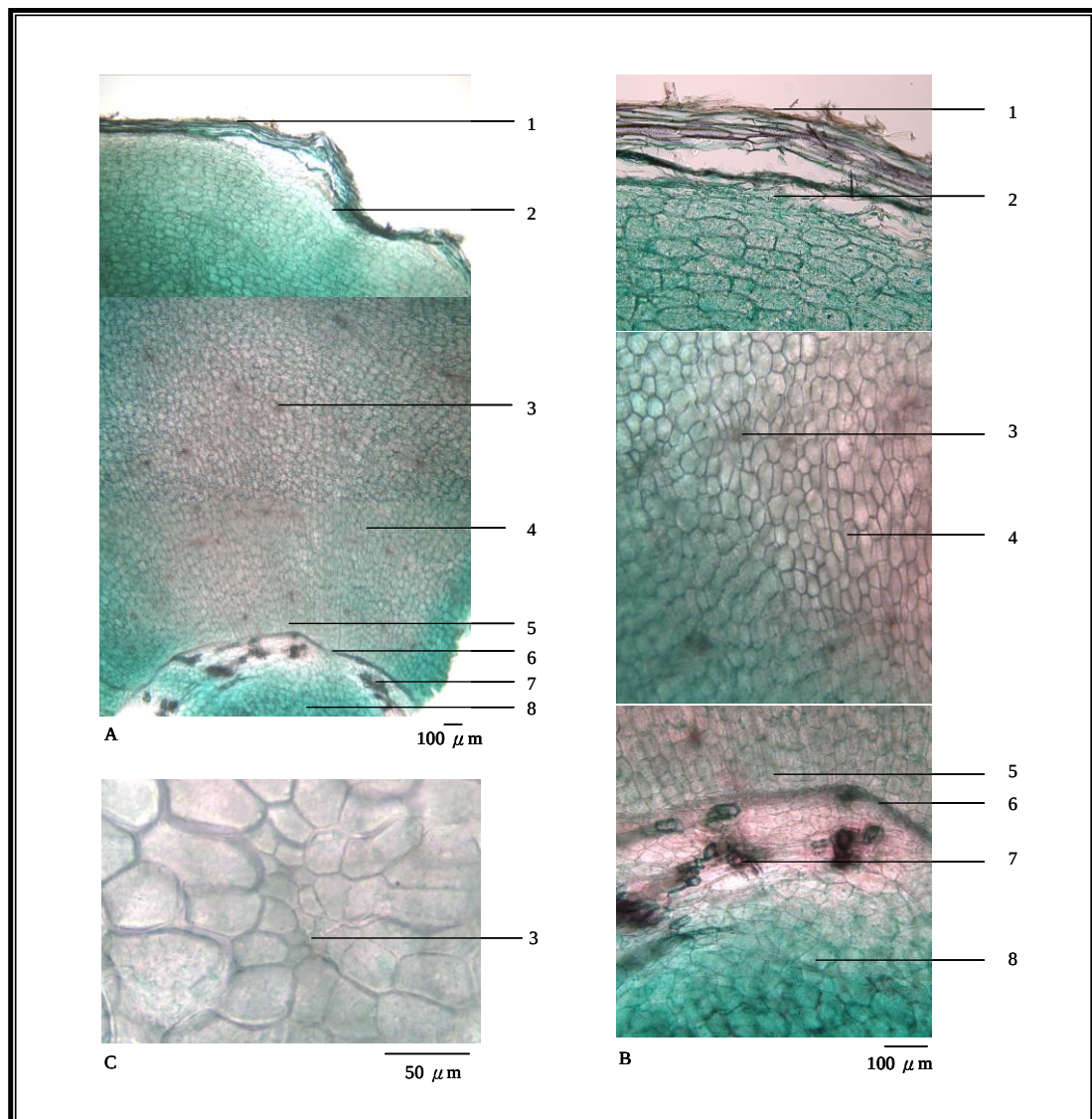


圖 2 延胡索橫切面顯微特徵圖

A.橫切面圖 B.橫切面放大圖 C.乳管

1.表皮 2.扁平細胞 3.乳管 4.皮層 5.韌皮部 6.形成層 7.木質部 8.髓

參考文獻

1. 行政院衛生署中華藥典中藥集編修小組編輯(2004)。中華中藥典第一版。台北市：行政院衛生署。134 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。167-168 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。131 頁。
4. 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)。香港中藥材標準第四冊。香港：香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部。112-121 頁。
5. 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。196 頁。
6. 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。139 頁。
7. 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。108-109 頁。

延胡索(CORYDALIS RHIZOMA)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店延胡索藥材共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Shimadzu LC-2040C 3D，包含 Quaternary pump、Autosampler、Thermostatted column compartment、Diode-Array Detector；層析管柱 Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)。

(二) UPLC 儀器及層析管柱

Waters AcQuity Ultra Performance LC，包含 Binary Solvent Manager、Sampler Manager、PDA Detector；層析管柱 Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 × 2.1 mm, 1.7 μm)。

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

乙腈(99.9%)購自於 Sigma-Aldrich；乙醇(95%)購自於國韶實業有限公司；甲醇(HPLC grade)購自於 Merck；三乙胺(100%)購自於 Sigma-Aldrich；磷酸(85%)購自於 Sigma-Aldrich。

(二) 標準品

標準品硝酸去氫延胡索鹼(Dehydrocorydaline nitrate)購自於昇漢科技有限公司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

取本品粉末 7 份，每份準確稱取 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、水各 20 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 5000 × g)，取上清液，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μm)，即得。另取本品粉末 1 份，準確稱取 1.0 g，置 50 mL 圓底瓶中，準確加入 50%乙醇 20 mL，加熱迴流，冷卻後，以 No.2 濾紙過濾，取濾液，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 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硝酸去氫延胡索鹼最大波峰面積為最佳延胡索萃取溶媒。

(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 75%甲醇 10 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 $5000 \times g$)，取上清液轉移至 10 mL 之定量瓶中，加 75% 甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 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

準確稱取標準品硝酸去氫延胡索鹼 1.0 mg，加 1.0 mL 的 75% 甲醇製成每 1.0 mL 含硝酸去氫延胡索鹼 1000 μg 的標準品儲備溶液，並以 75% 甲醇稀釋至 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 製成對照標準品溶液。

(四) 檢品溶液

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 1.0 g，置 50 mL 離心管中，準確加入 75% 甲醇 10 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 $5000 \times g$)，取上清液，殘渣部分重複提取 1 次，合併上清液，轉移至 20 mL 之定量瓶中，加 75% 甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μm)，即得。

(五) 測定法

分別準確吸取硝酸去氫延胡索鹼對照標準品溶液、檢品溶液 10 μL ，注入 HPLC，測定，用標準曲線分別計算溶液中硝酸去氫延胡索鹼的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取硝酸去氫延胡索鹼標準品儲備溶液適量(1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，以 75% 甲醇稀釋成含硝酸去氫延胡索鹼分別為 200、100、50、20、10、5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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

以硝酸去氫延胡索鹼濃度為 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以硝酸去氫延胡索鹼的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性:取同一批市售延胡索粉末，依延胡索檢品溶液製備方法平行製備 5 份延胡索檢品溶液，進樣測定，以硝酸去氫延胡索鹼的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性:取同一批市售延胡索粉末，依延胡索檢品溶液製備方法製備延胡索

檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以硝酸去氫延胡索鹼的波峰面積為指標，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

取已知硝酸去氫延胡索鹼含量的延胡索藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.5 g，分別加入 0.5 mL 的硝酸去氫延胡索鹼溶液(1000 $\mu\text{g/mL}$)，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：Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18 Column (250 $\times$ 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：35 $^{\circ}\text{C}$
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸*(v/v, %)
0	20	80
22	28	72
30	60	40

*用三乙胺調pH值至6

(十二) 臺灣市售延胡索含量測定

取 10 批市售延胡索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 公式計算樣品硝酸去氫延胡索鹼的百分含量。

(十三) 延胡索檢品之 UPLC 層析條件

1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 × 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 266 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：

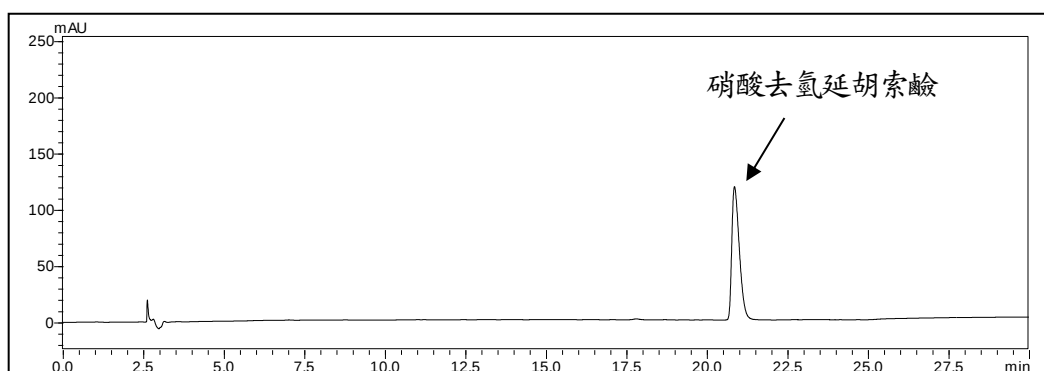
時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸*(v/v, %)
0	20	80
3	28	72
5	50	50
8	80	20
10	100	0

*用三乙胺調pH值至6

五、結果

(一) 標準品硝酸去氫延胡索鹼之 HPLC 層析

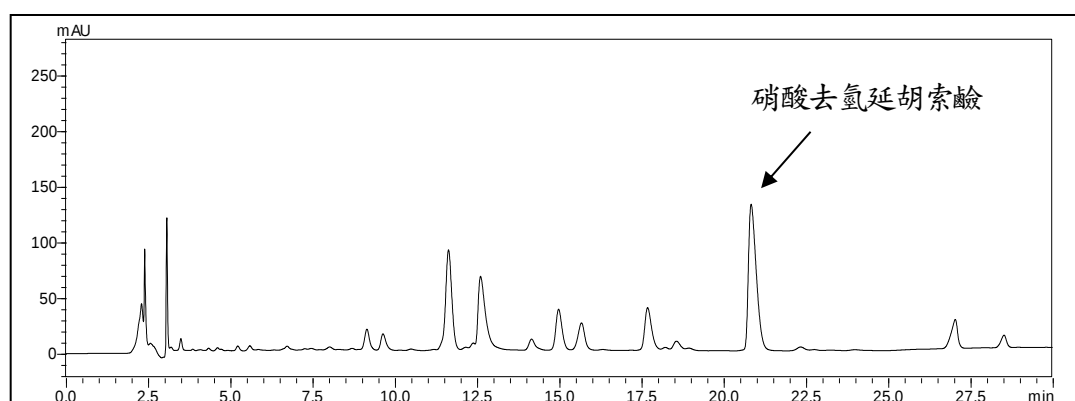
於滯留時間 20.86 分鐘處顯示硝酸去氫延胡索鹼標準品波峰(圖一)。



圖一、硝酸去氫延胡索鹼標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售延胡索檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 20.84 分鐘處顯示延胡索檢品中硝酸去氫延胡索鹼波峰(圖二)。分離率(R)為 3.24，托尾因子(T)為 1.09，均在系統適用性要求內。



圖二、市售延胡索檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒評估

以 75% 甲醇為溶媒時，每克藥材重量所得硝酸去氫延胡索鹼的波峰面積最大，顯示 75% 甲醇為最佳萃取溶媒。

表一、不同溶媒萃取比較

溶媒	硝酸去氫延胡索鹼波峰面積(mAU)	最佳萃取
甲醇	843743	
75% 甲醇	1757701	√
50% 甲醇	1595612	
乙醇	389336	
75% 乙醇	1649778	
50% 乙醇	1469778	
水	887807	
50% 乙醇加熱迴流	1601854	

(四) 最佳萃取次數評估

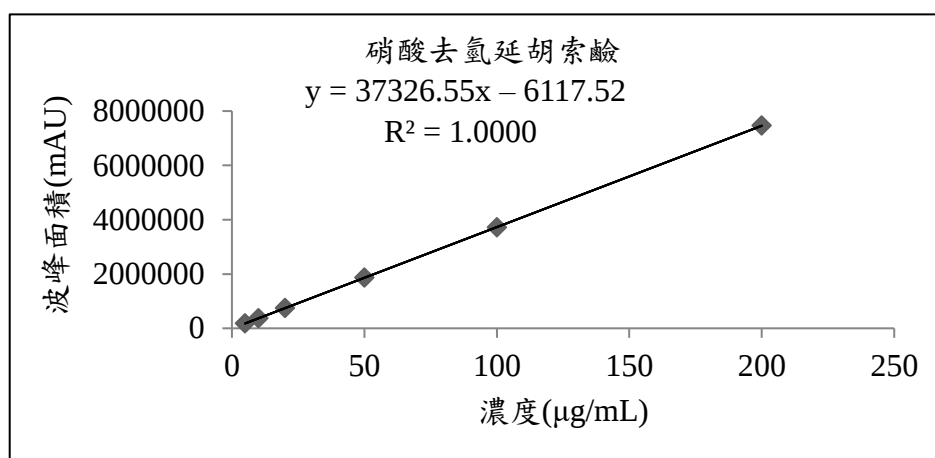
結果顯示萃取 2 次基本上已將硝酸去氫延胡索鹼萃取完全(萃取率大於 98%)。

表二、延胡索檢品萃取次數評估

75% 甲醇萃取次數	硝酸去氫延胡索鹼波峰面積(mAU)
第 1 次	4063004
第 2 次	603243
第 3 次	92031
第 4 次	1306

(五) 標準品硝酸去氫延胡索鹼檢量線

經不同濃度硝酸去氫延胡索鹼(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 $y = 37326.55x - 6117.52$ ， $R^2 = 1.0000$ ，顯示濃度在 5.0–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、硝酸去氫延胡索鹼之檢量線圖

表三、硝酸去氫延胡索鹼之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
硝酸去氫延胡索鹼	5.0–200	$y = 37326.55x - 6117.52$	1.0000

(六) 精密度試驗

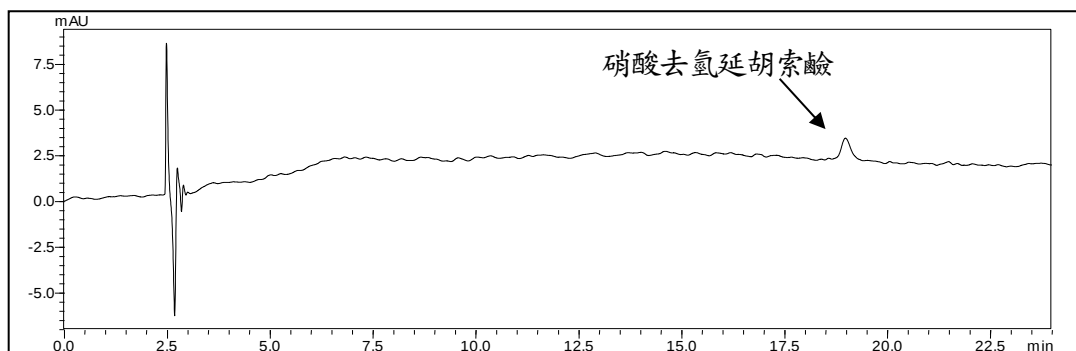
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，硝酸去氫延胡索鹼精密度之相對標準差為 0.15%，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

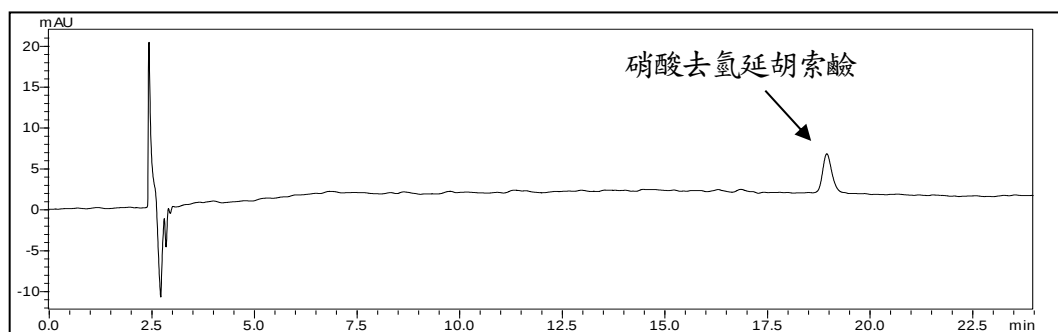
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，硝酸去氫延胡索鹼重複性之相對標準差為 1.86%，在系統適用性要求內。硝酸去氫延胡索鹼在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差為 1.82%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

硝酸去氫延胡索鹼偵測極限為 $0.5 \mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 $2.0 \mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、硝酸去氫延胡索鹼之偵測極限層析圖



圖五、硝酸去氫延胡索鹼之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	硝酸去氫延胡索鹼	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	50 µg/mL	0.15
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.1)	1.86
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.1)	1.82
偵測極限 (n=3)	0.5 µg/mL	-
定量極限 (n=3)	2.0 µg/mL	-

(九) 添加回收率試驗

硝酸去氫延胡索鹼平均添加回收率為 94.4%，相對標準偏差為 1.45%。

表五、硝酸去氫延胡索鹼添加回收率

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	0.46	0.5	0.936	95.20	94.36	1.45
2	0.5	0.46	0.5	0.929	93.80		
3	0.5	0.46	0.5	0.933	94.60		
4	0.5	0.46	0.5	0.940	96.00		
5	0.5	0.46	0.5	0.921	92.20		

(十) 臺灣市售延胡索含量測定

10 批延胡索藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，硝酸去氫延胡索鹼的百分含量乘以換算系數 0.855，0.855 是去氫延胡索鹼和硝酸去氫延胡索鹼的摩爾質量比例。去氫延胡索鹼的含量為 0.108–0.193%。建議延胡索藥材指標成分去氫延胡索鹼的含量不得少於 0.07%。理論板數按去氫延胡索鹼波峰計算應不低於 8000 (實際值為 36011)。

表六、臺灣市售延胡索檢品之硝酸去氫延胡索鹼的含量

藥材編號(No.)	去氫延胡索鹼含量(%)	藥材編號(No.)	去氫延胡索鹼含量(%)
1 (NF)	0.133	6 (SG)	0.114
2 (NJ)	0.133	7 (SJ)	0.176
3 (NC)	0.108	8 (SE)	0.180
4 (SR)	0.193	9 (CD)	0.139
5 (SC)	0.192	10 (CA)	0.149

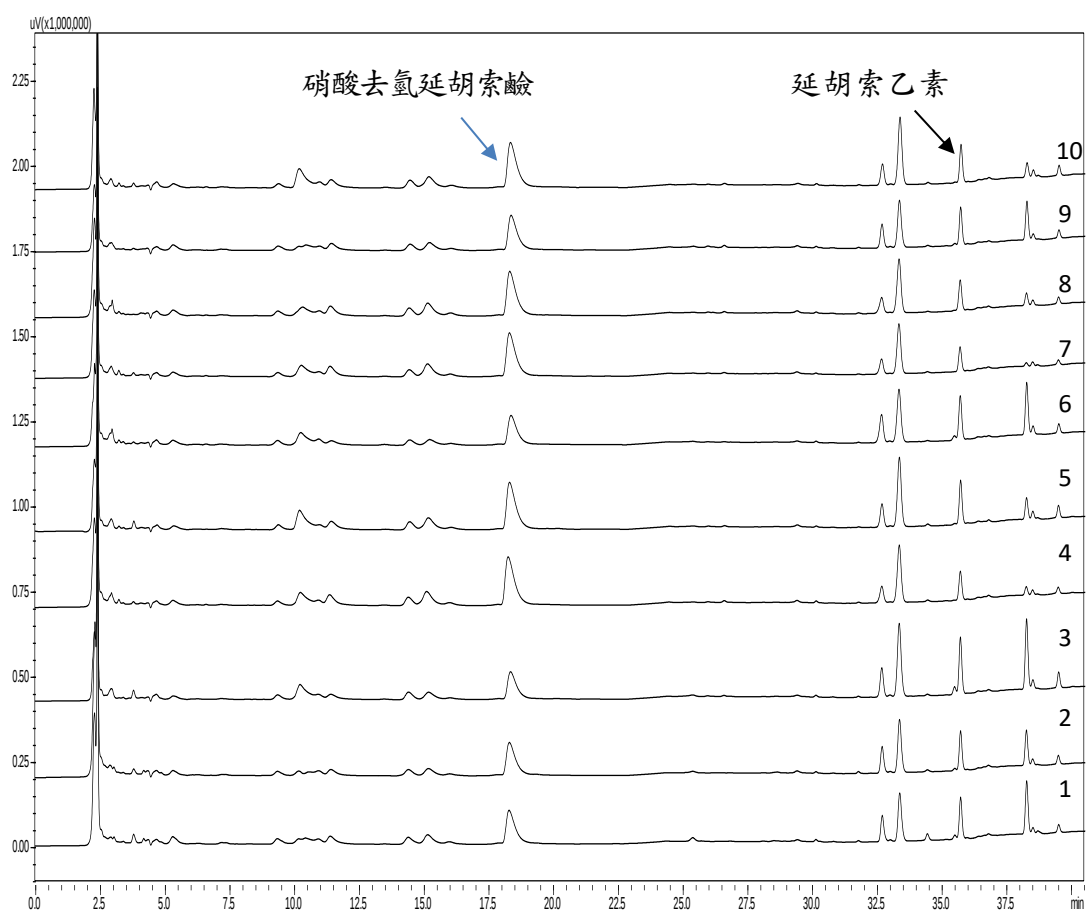
(十一) 延胡索藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售延胡索檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18 Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 220 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	35	65
20	42	58
40	90	10

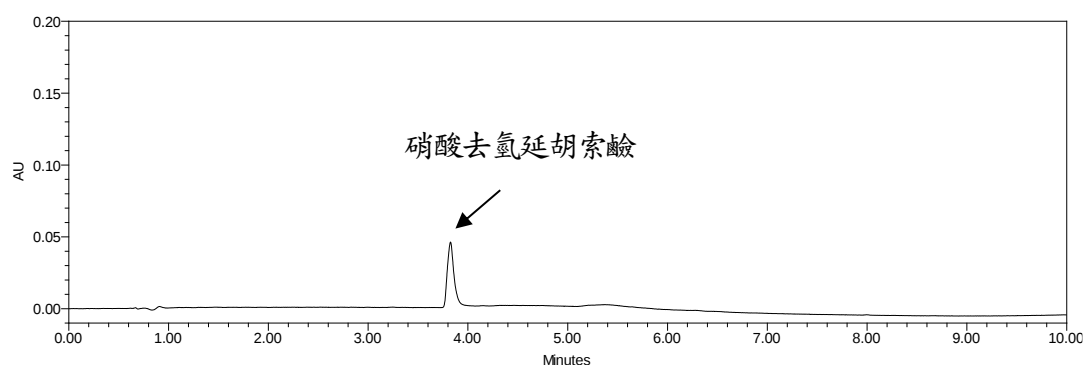
*用三乙胺調pH值至6



圖六、10 批延胡索藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 標準品硝酸去氫延胡索鹼之 UPLC 層析

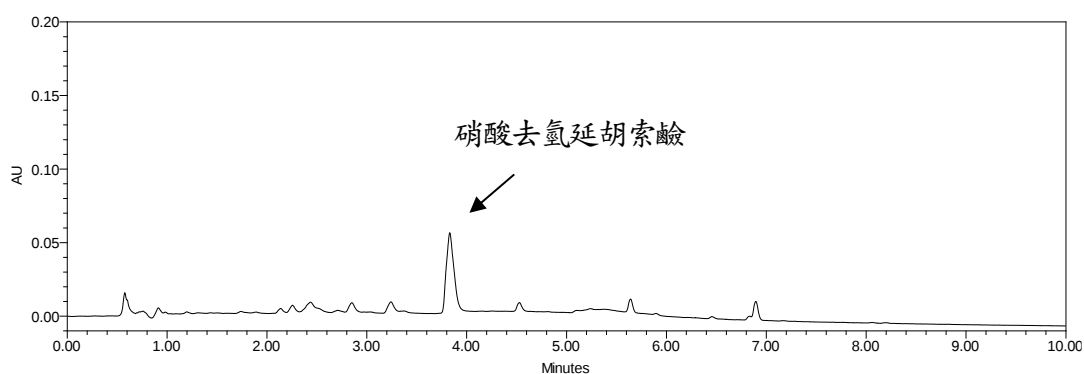
於滯留時間 3.83 分鐘處顯示硝酸去氫延胡索鹼標準品的波峰(圖七)。



圖七、硝酸去氫延胡索鹼標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售延胡索檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 3.83 分鐘處顯示延胡索檢品中硝酸去氫延胡索鹼的波峰(圖八)。

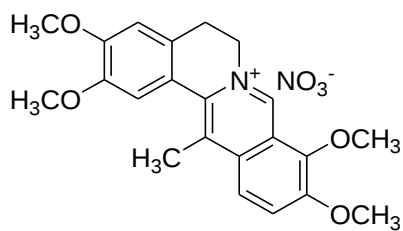


圖八、市售延胡索檢品之 UPLC 層析圖

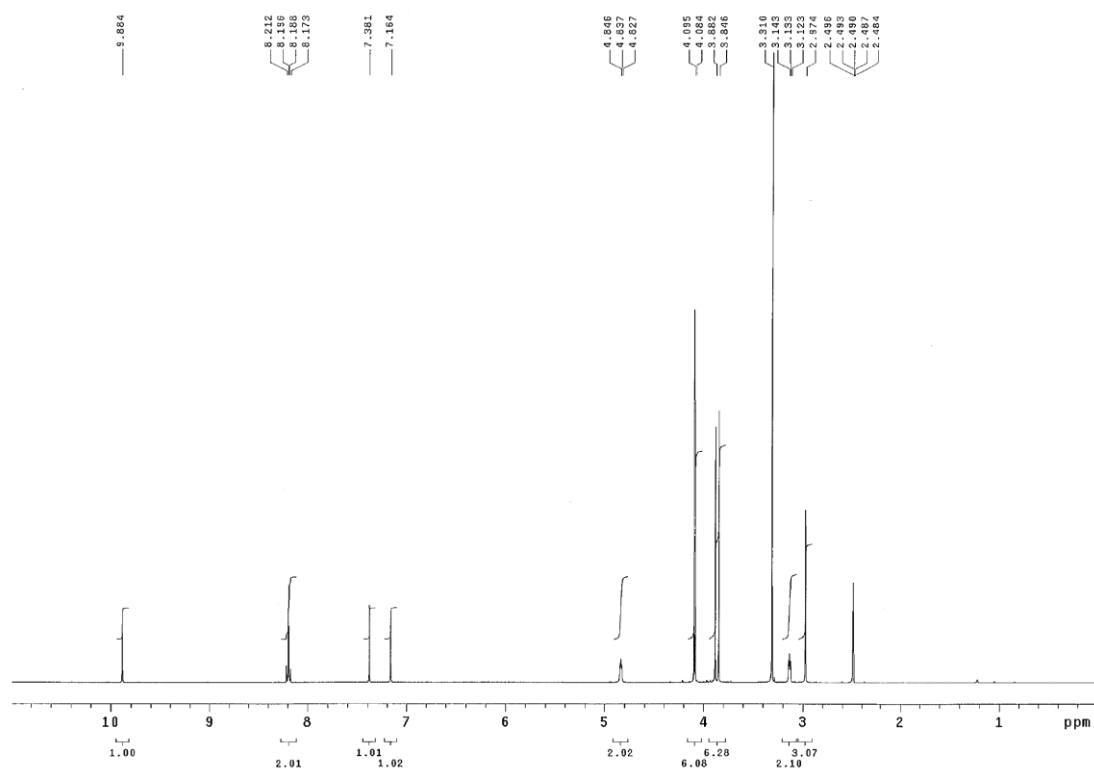
(十四) 硝酸去氫延胡索鹼的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{22}H_{24}N_2O_7$ ；分子量：428.4；熔點：170–173 °C；黃色粉末。

(十五) 硝酸去氫延胡索鹼的結構

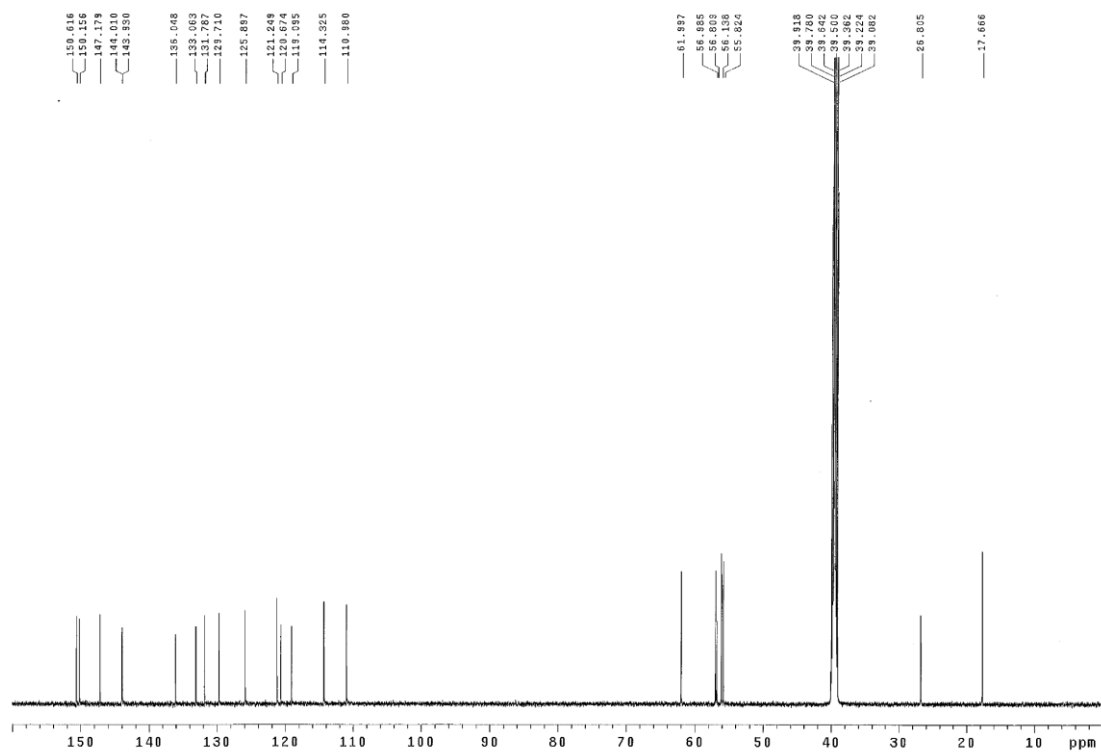


(十六) 硝酸去氫延胡索鹼的 ^1H NMR 圖譜



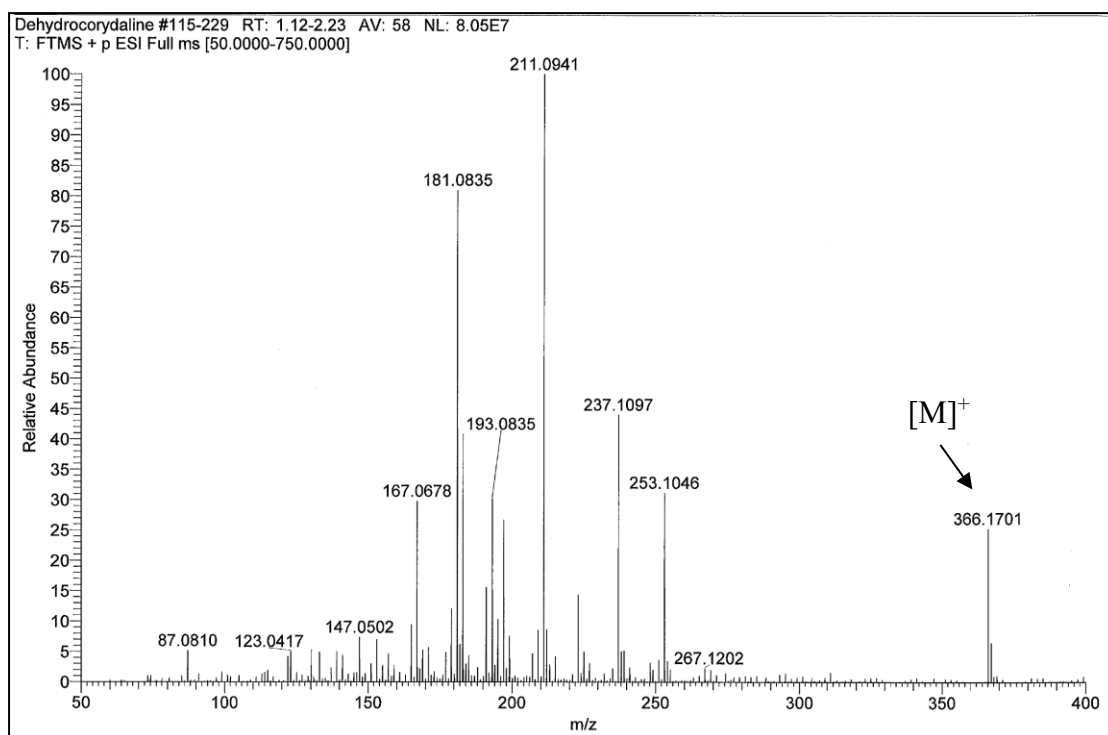
圖九、硝酸去氫延胡索鹼的 ^1H NMR 圖譜($\text{DMSO}-d_6$)

(十七) 硝酸去氫延胡索鹼的 ^{13}C NMR 圖譜



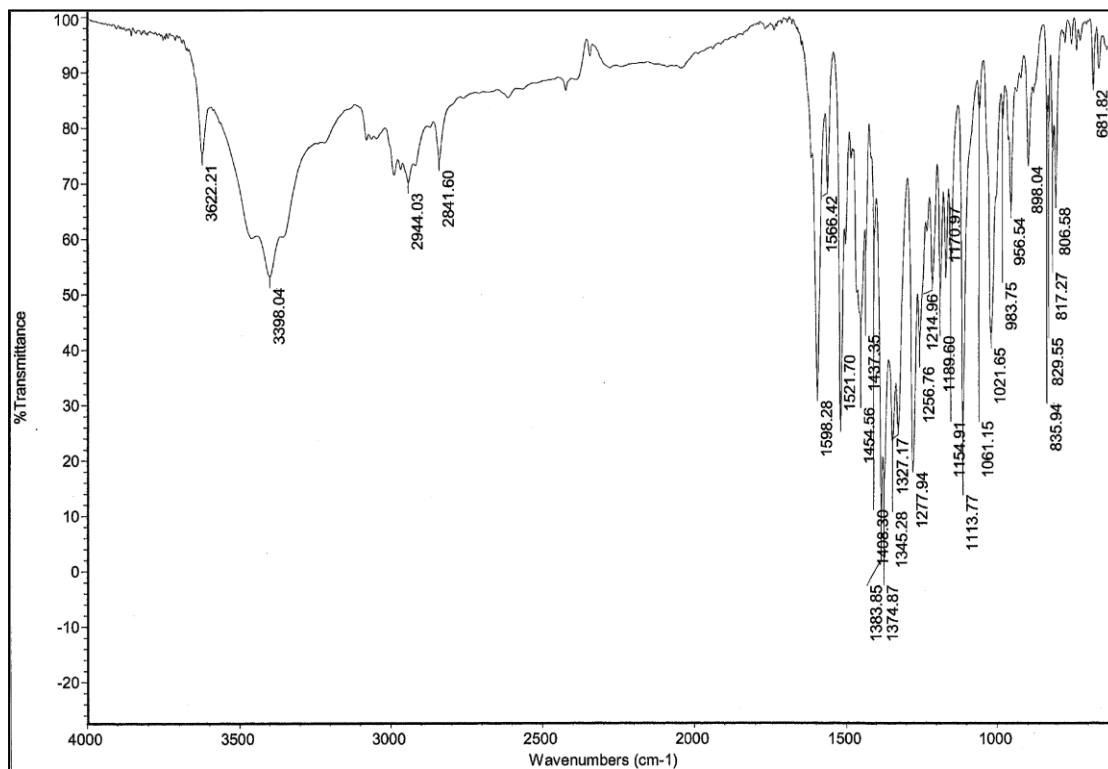
圖十、硝酸去氫延胡索鹼的 ^{13}C NMR 圖譜($\text{DMSO}-d_6$)

(十八) 硝酸去氫延胡索鹼的 ESI-MS 圖譜



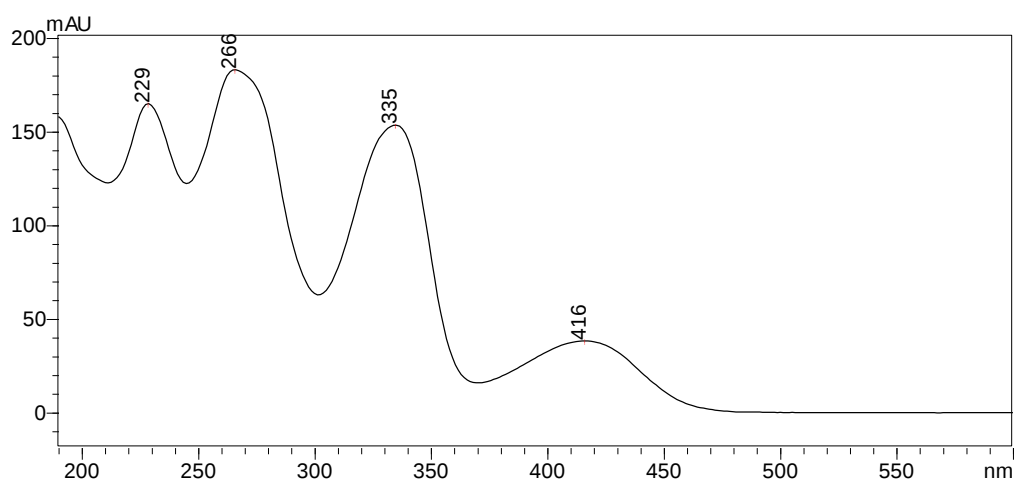
圖十一、硝酸去氫延胡索鹼的 ESI-MS 圖譜

(十九) 硝酸去氫延胡索鹼的 FTIR 圖譜



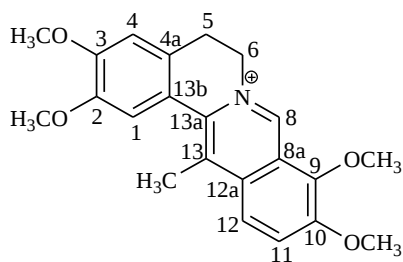
圖十二、硝酸去氫延胡索鹼的 FTIR 圖譜

(二十) 硝酸去氫延胡索鹼的 UV 圖譜



圖十三、硝酸去氫延胡索鹼的 UV 圖譜

(二十一) 硝酸去氫延胡索鹼的氫、碳化學位移



硝酸去氫延胡索鹼

表七、硝酸去氫延胡索鹼的氫、碳化學位移(DMSO-*d*₆)^a

position	δ_{H} (600 MHz)	δ_{C} (150 MHz)
1	7.38 (s)	114.3
2	-	147.2
3	-	150.6
4	7.16 (s)	111.0
4a	-	131.8
5	3.13 (t, 6.0)	26.8
6	4.84 (t, 6.0)	56.8
8	9.88 (s)	143.9
8a	-	120.7
9	-	144.0
10	-	150.2
11	8.20 (d, 9.0)	125.9
12	8.17 (d, 9.0)	121.2
12a	-	133.1
13	-	129.7
13a	-	136.0
13b	-	119.1
13-CH ₃	2.97 (s)	17.7
2-OCH ₃	3.85 (s)	56.1
3-OCH ₃	3.88 (s)	55.8
9-OCH ₃	4.10 (s)	62.0
10-OCH ₃	4.08 (s)	57.0

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

延胡索飲片(CORYDALIS RHIZOMA)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店延胡索飲片共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Shimadzu LC-2040C 3D，包含 Quaternary pump、Autosampler、Thermostatted column compartment、Diode-Array Detector；層析管柱 Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)。

(二) UPLC 儀器及層析管柱

Waters AcQuity Ultra Performance LC，包含 Binary Solvent Manager、Sampler Manager、PDA Detector；層析管柱 Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 × 2.1 mm, 1.7 μm)。

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

乙腈(99.9%)購自於 Sigma-Aldrich；乙醇(95%)購自於國韶實業有限公司；甲醇(HPLC grade)購自於 Merck；三乙胺(100%)購自於 Sigma-Aldrich；磷酸(85%)購自於 Sigma-Aldrich。

(二) 標準品

標準品硝酸去氫延胡索鹼(Dehydrocorydaline nitrate)購自於昇漢科技有限公司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

延胡索飲片最佳萃取溶媒同延胡索藥材。

(二) 最佳萃取次數評估

延胡索飲片最佳萃取次數同延胡索藥材。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品硝酸去氫延胡索鹼 1.0 mg，加 1.0 mL 的 75%甲醇製成每 1.0 mL 含硝酸去氫延胡索鹼 1000 μg 的標準品儲備溶液，並以 75%甲醇稀釋至 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(過第 20 號篩網)約 1.0 g，置 50 mL 離心管中，準確加入 75%甲醇 10 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 $5000 \times g$)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液，殘渣部分重複提取 1 次，合併濾液，轉移至 20 mL 之定量瓶中，加 75% 甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μm)，即得。

(五) 測定法

分別準確吸取硝酸去氫延胡索鹼對照標準品溶液、檢品溶液 10 μL ，注入 HPLC，測定，用標準曲線分別計算溶液中硝酸去氫延胡索鹼的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取硝酸去氫延胡索鹼標準品儲備溶液適量(1000 $\mu\text{g/mL}$)，以 75% 甲醇稀釋成含硝酸去氫延胡索鹼分別為 200、100、50、20、10、5.0 $\mu\text{g/mL}$ 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

以硝酸去氫延胡索鹼濃度為 50 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以硝酸去氫延胡索鹼的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

- 一、重複性：取同一批市售延胡索飲片粉末，依延胡索飲片檢品溶液製備方法平行製備 5 份延胡索飲片檢品溶液，進樣測定，以硝酸去氫延胡索鹼的含量(%)為指標，求出相對標準差。
- 二、穩定性：取同一批市售延胡索飲片粉末，依延胡索飲片檢品溶液製備方法製備延胡索飲片檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以硝酸去氫延胡索鹼的波峰面積為指標，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

取已知硝酸去氫延胡索鹼含量的延胡索飲片粉末 5 份，每份準確稱取約 1.0 g，分別加入 1 mL 的硝酸去氫延胡索鹼溶液(1000 $\mu\text{g/mL}$)，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：Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18 Column (250 × 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：35 °C
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：

三、 時間(min)	四、 乙腈(%)	五、 0.1%磷酸*(v/v, %)
六、 0	七、 20	八、 80
九、 22	十、 28	十一、 72
十二、 30	十三、 60	十四、 40

*用三乙胺調pH值至6

(十二) 臺灣市售延胡索飲片含量測定

取 10 批市售延胡索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 公式計算樣品硝酸去氫延胡索鹼的百分含量。

(十三) 延胡索飲片檢品之 UPLC 層析條件

1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 × 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 266 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：

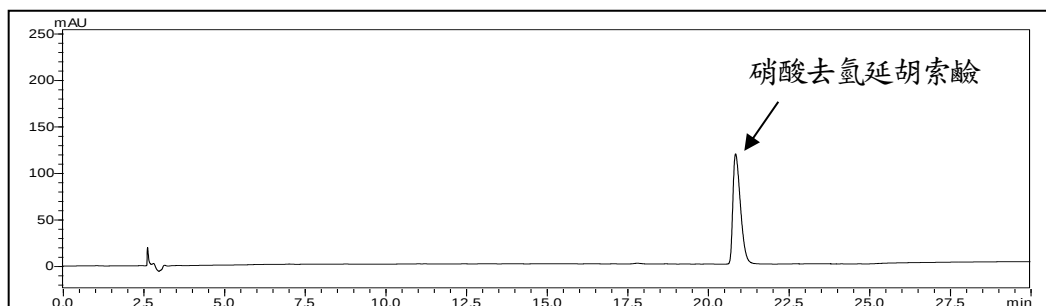
十五、 時間(min)	十六、 乙腈(%)	十七、 0.1%磷酸*(v/v, %)
十八、 0	十九、 20	二十、 80
二十一、 3	二十二、 28	二十三、 72
二十四、 5	二十五、 50	二十六、 50
二十七、 8	二十八、 80	二十九、 20
三十、 10	三十一、 100	三十二、 0

*用三乙胺調pH值至6

五、結果

(一) 標準品硝酸去氫延胡索鹼之 HPLC 層析

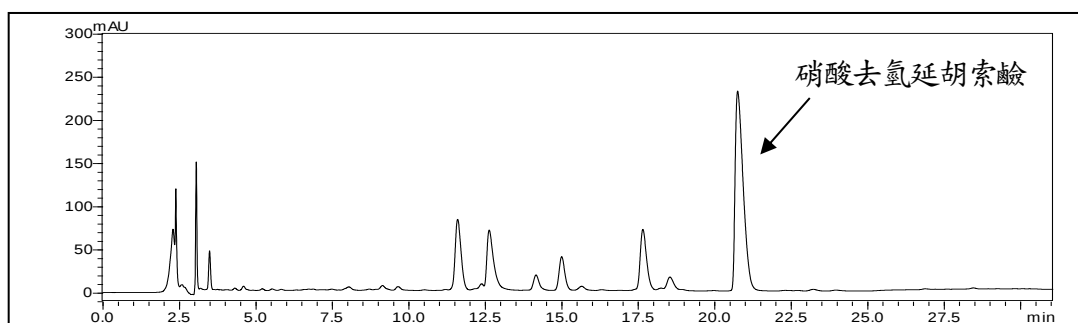
於滯留時間 20.86 分鐘處顯示硝酸去氫延胡索鹼標準品波峰(圖一)。



圖一、硝酸去氫延胡索鹼標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售延胡索飲片檢品之 HPLC 層析

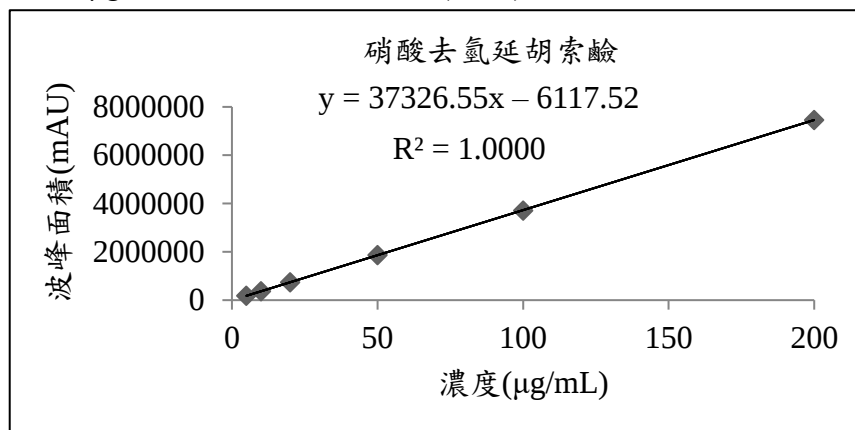
於滯留時間 20.76 分鐘處顯示延胡索飲片檢品中硝酸去氫延胡索鹼波峰(圖二)。分離率(R)為 2.64，托尾因子(T)為 1.12，均在系統適用性要求內。



圖二、市售延胡索飲片檢品之 HPLC 層析圖

(三) 標準品硝酸去氫延胡索鹼檢量線

經不同濃度硝酸去氫延胡索鹼(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 $y = 37326.55x - 6117.52$ ， $R^2 = 1.0000$ ，顯示濃度在 5.0–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、硝酸去氫延胡索鹼之檢量線圖

表三、硝酸去氫延胡索鹼之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
硝酸去氫延胡索鹼	5.0–200	$y = 37326.55x - 6117.52$	1.0000

(四) 精密度試驗

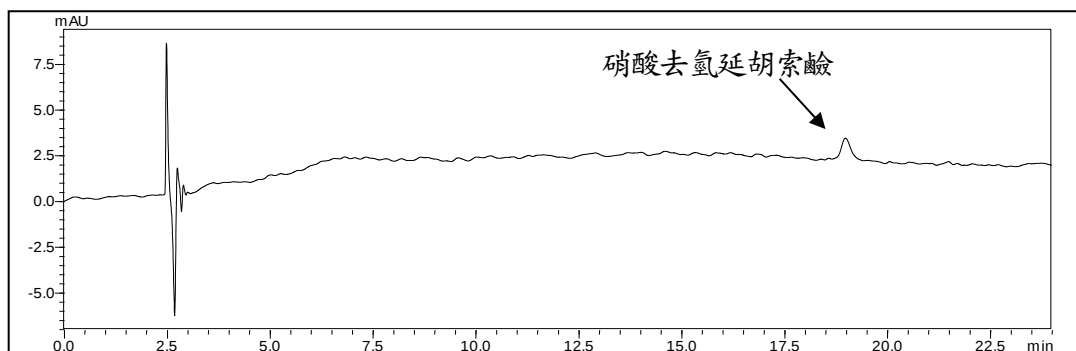
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，硝酸去氫延胡索鹼精密度之相對標準差為 0.15%，在系統適用性要求內。

(五) 重複性與穩定性試驗

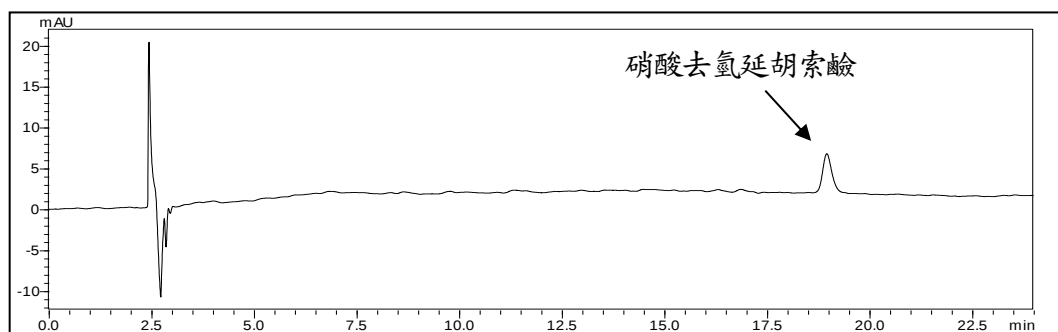
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，硝酸去氫延胡索鹼重複性之相對標準差為 0.39%，在系統適用性要求內。硝酸去氫延胡索鹼在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差為 0.50%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(六) 偵測極限與定量極限試驗

硝酸去氫延胡索鹼偵測極限為 0.5 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 2.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、硝酸去氫延胡索鹼之偵測極限層析圖



圖五、硝酸去氫延胡索鹼之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	硝酸去氫延胡索鹼	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	50 µg/mL	0.15
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.4)	0.39
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.4)	0.50
偵測極限 (n=3)	0.5 µg/mL	-
定量極限 (n=3)	2.0 µg/mL	-

(七) 添加回收率試驗

硝酸去氫延胡索鹼平均添加回收率為 96.00%，相對標準偏差為 1.58%。

表五、硝酸去氫延胡索鹼添加回收率

三十三、 號	三十四、 材稱重 (g)	三十五、 藥有量 (mg)	三十六、 入量 (mg)	三十七、 得量(mg)	三十八、 收率(%)	三十九、 均回收率 (%)	四十、 .S.D. (%)
四十一	四十二、 .0	四十三、 .33	四十四、 1	四十五、 .28	四十六、 5.00		
四十九	五十、 .0	五十一、 .33	五十二、 1	五十三、 .31	五十四、 8.00		
五十五	五十六、 .0	五十七、 .33	五十八、 1	五十九、 .27	六十、 4.00	四十七、 6.00	四十八、 .58
六十一	六十二、 .0	六十三、 .33	六十四、 1	六十五、 .29	六十六、 6.00		
六十七	六十八、 .0	六十九、 .33	七十、 1	七十一、 .30	七十二、 7.00		

(八) 臺灣市售延胡索飲片含量測定

10 批延胡索飲片之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，硝酸去氫延胡索鹼的百分含量乘以換算系數 0.855，0.855 是去氫延胡索鹼和硝酸去氫延胡索鹼的摩爾質量比例。去氫延胡索鹼的含量為 0.107–0.193%。建議延胡索飲片指標成分去氫延胡索鹼的含量不得少於 0.07%。理論板數按去氫延胡索鹼波峰計算應不低於 8000 (實際值為 3600)。

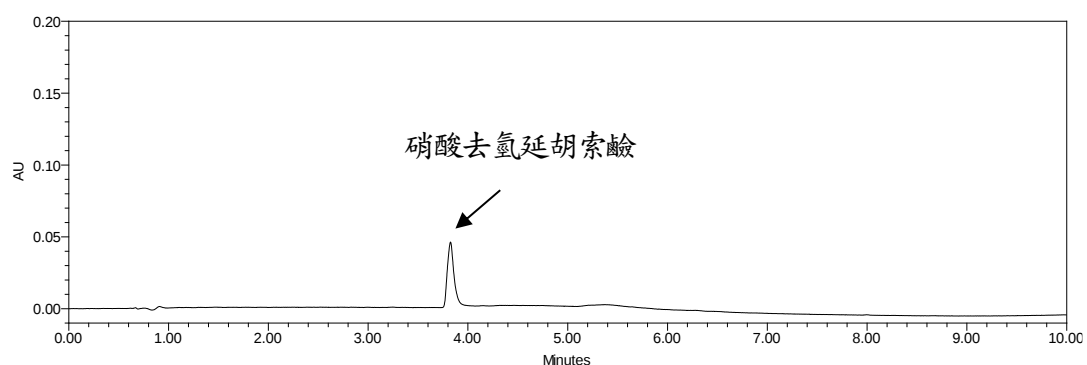
表六、臺灣市售延胡索飲片檢品之硝酸去氫延胡索鹼的含量

藥材編號(No.)	去氫延胡索鹼含量(%)	藥材編號(No.)	去氫延胡索鹼含量(%)
1 (NA)	0.146	6 (NI)	0.190

2 (NB)	0.137	7 (SA)	0.187
3 (ND)	0.107	8 (SF)	0.115
4 (NG)	0.130	9 (SS)	0.181
5 (NH)	0.128	10 (SU)	0.193

(九) 標準品硝酸去氫延胡索鹼之 UPLC 層析

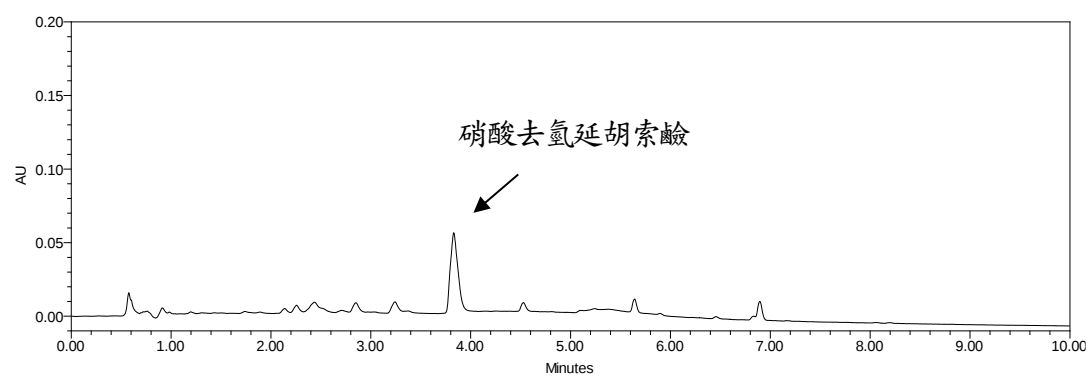
於滯留時間 3.83 分鐘處顯示硝酸去氫延胡索鹼標準品的波峰(圖七)。



圖七、硝酸去氫延胡索鹼標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售延胡索飲片檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 3.82 分鐘處顯示延胡索飲片檢品中硝酸去氫延胡索鹼的波峰(圖八)。



圖八、市售延胡索飲片檢品之 UPLC 層析圖

延胡索

生藥名：CORYDALIS RHIZOMA

英文名：Corydalis Tuber

基 原：本品為罂粟科 Papaveraceae 植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 之乾燥塊莖。

一、方法

- (一) 檢 品 溶 液 【萃取方法 1】(臺灣中藥典第二版 2013)
——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 10 mL，加熱迴流 30 分鐘，待冷卻後過濾，定容至 10 mL，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 70%乙醇 10 mL，超音波振盪 10 分鐘，過濾，取濾液作為檢品溶液。
【萃取方法 3】(自行開發)
——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 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 取延胡索乙素(Tetrahydropalmatine)對照標準品，加 70%乙醇製成每 1 mL 含 0.1 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】(臺灣中藥典第二版 2013)
——甲苯：丙酮 (9：2)
【展開劑 2】(修飾香港中藥材標準第四冊) ✓
——正己烷：乙酸乙酯：甲醇 (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 於主波長 365 nm 之紫外燈照射下檢視。

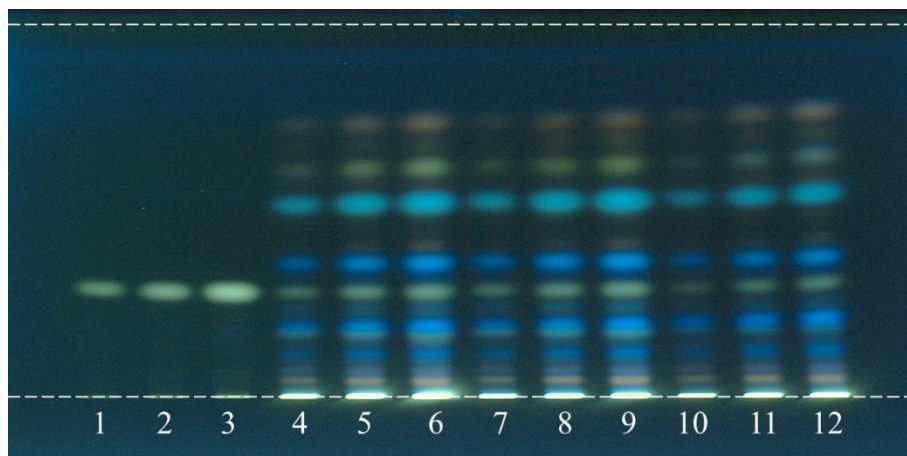
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：106/11/13

相對溼度(RH)：63%

溫度(RT)：25 °C

【展開劑 2】 (修飾香港中藥材標準第四冊)——正己烷：乙酸乙酯：甲醇 (8：2：1)



編號	名稱	點注量
1, 2, 3	延胡索乙素(0.1 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
4, 5, 6	檢品溶液 2 【萃取方法 1】	2, 5, 8 μ L
7, 8, 9	檢品溶液 2 【萃取方法 2】	2, 5, 8 μ L
10, 11, 12	檢品溶液 2 【萃取方法 3】	2, 5, 8 μ L

建議萃法：3 種萃法之檢品溶液中皆有分離與檢出標準品延胡索乙素，而由於製備方法較簡便且快速，故選擇【萃取方法 2】。

建議點注量：延胡索乙素標準品溶液 1 μ L，檢品溶液【萃取方法 2】5 μ L。

三、溶媒系統選擇

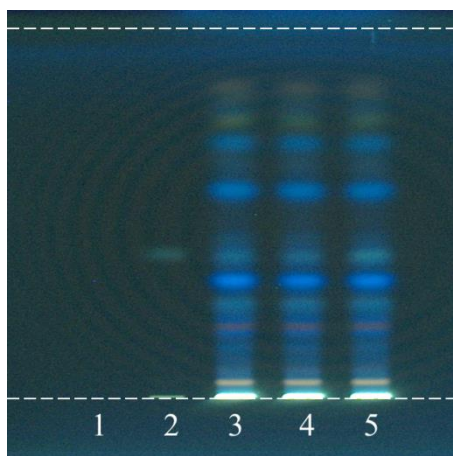
實驗日期：106/11/13

相對溼度(RH)：63%

溫度(RT)：25 °C

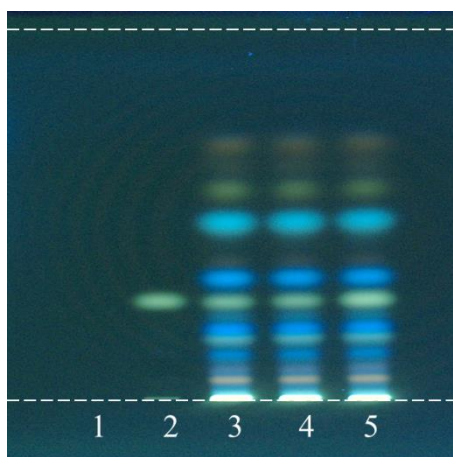
【展開劑 1】 (臺灣中藥典第二版 2013)——甲苯：丙酮 (9：2)

【萃取方法 2】 (香港中藥材標準第四冊)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(延胡索乙素 R_f 值為 0.38)



【展開劑 2】 (修飾香港中藥材標準第四冊)——正己烷：乙酸乙酯：甲醇 (8：2：1)

【萃取方法 2】 (香港中藥材標準第四冊)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(延胡索乙素 R_f 值為 0.26)



1：Blank

2：延胡索乙素

3，4：檢品溶液 2

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延胡索乙素，而由於指標成分條帶顯示較清楚，故採用修飾香港中藥材標準第四冊之【展開劑 2】。

四、觀察方式選擇

實驗日期：106/11/13

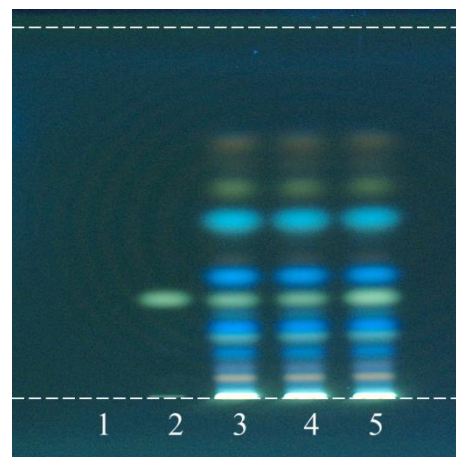
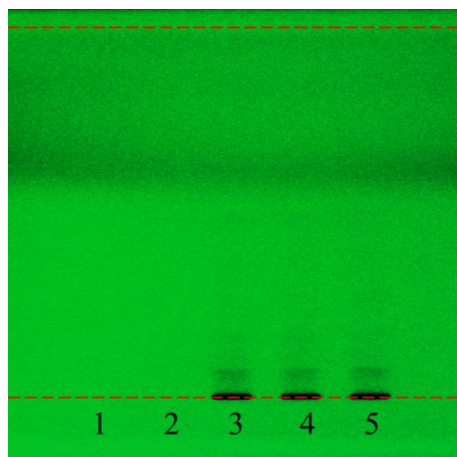
相對溼度(RH)：63%

溫度(RT)：25 °C

【展開劑 2】(修飾香港中藥材標準第四冊)——正己烷：乙酸乙酯：甲醇 (8：2：1)

【萃取方法 2】(香港中藥材標準第四冊) — HPTLC 紫外光(254 nm)檢出

【萃取方法 2】(香港中藥材標準第四冊) — HPTLC 紫外光(365 nm)檢出✓



1：Blank

2：延胡索乙素

3，4：檢品溶液 2

5：Spike

建議觀察方式：於紫外光(365 nm)下顯示出較紫外光(254 nm)有較多明顯之條帶及延胡索乙素標準品斑點。

五、十批延胡索藥材樣品檢測

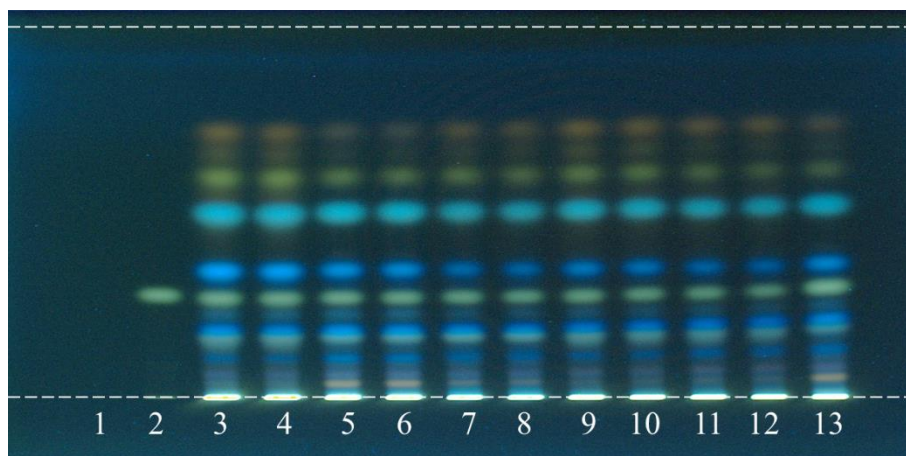
實驗日期：106/11/14

相對溼度(RH)：67%

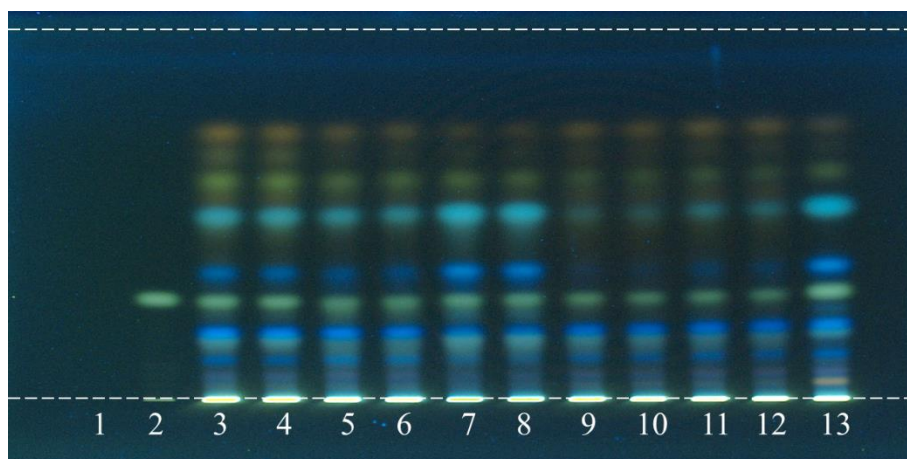
溫度(RT)：24 °C

【展開劑 2】 (修飾香港中藥材標準第四冊)——正己烷：乙酸乙酯：甲醇 (8：2：1)

【萃取方法 2】 (香港中藥材標準第四冊) — HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	延胡索乙素(0.1 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 1 (NC)
5 , 6	檢品溶液 2 (NF)
7 , 8	檢品溶液 3 (NJ)
9 , 10	檢品溶液 4 (CA)
11 , 12	檢品溶液 5 (CD)
13	Spike (檢品溶液 2)



1	Blank
2	延胡索乙素(0.1 mg/mL)
3, 4	檢品溶液 6 (SC)
5, 6	檢品溶液 7 (SE)
7, 8	檢品溶液 8 (SG)
9, 10	檢品溶液 9 (SJ)
11, 12	檢品溶液 10 (SR)
13	Spike (檢品溶液 2)

結論與建議：以香港中藥材標準第四冊之【萃取方法 2】方式，並以修飾香港中藥材標準第四冊之【展開劑 2】分離與檢出延胡索乙素條帶顯示較清楚，於紫外光(365 nm)下檢視較佳。原香港中藥材標準第四冊之【展開劑】為石油醚(60–80 °C)：乙酸乙酯：異丙醇 (8：2：1)。

延胡索(飲片)

六、十批延胡索飲片樣品檢測

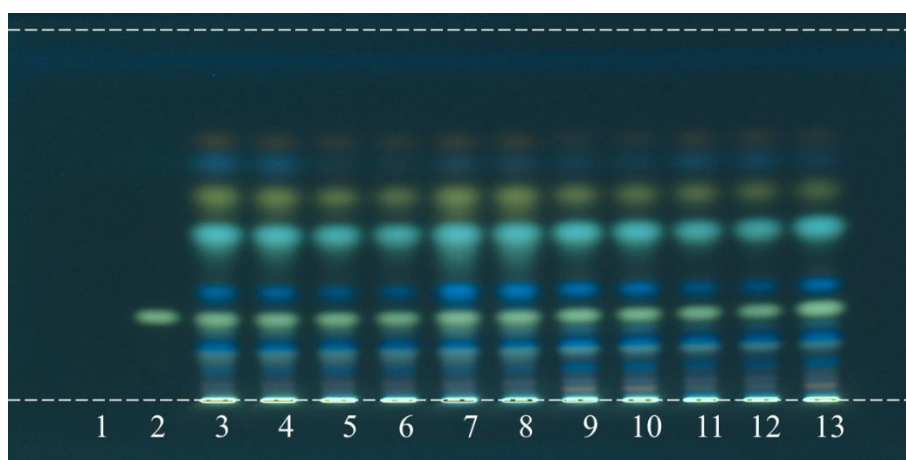
實驗日期：107/06/05

相對溼度(RH)：62%

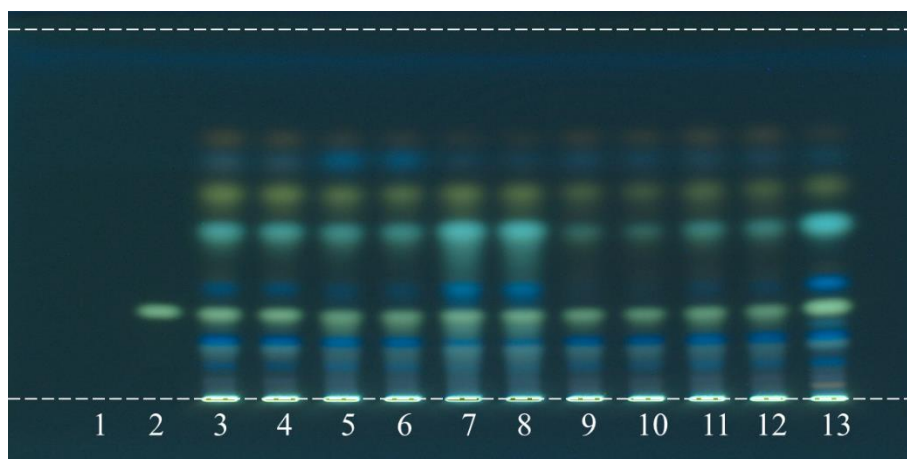
溫度(RT)：26 °C

【展開劑 2】 (修飾香港中藥材標準第四冊)——正己烷：乙酸乙酯：甲醇 (8：2：1)

【萃取方法 2】 (香港中藥材標準第四冊) — HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	延胡索乙素(0.1 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 1 (NA)
5 , 6	檢品溶液 2 (NB)
7 , 8	檢品溶液 3 (ND)
9 , 10	檢品溶液 4 (NG)
11 , 12	檢品溶液 5 (NH)
13	Spike (檢品溶液 4)



1	Blank
2	延胡索乙素(0.1 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 6 (NI)
5 , 6	檢品溶液 7 (SA)
7 , 8	檢品溶液 8 (SF)
9 , 10	檢品溶液 9 (SS)
11 , 12	檢品溶液 10 (SU)
13	Spike (檢品溶液 4)

結論與建議：飲片鑑別同藥材。