

青黛

(INDIGO NATURALIS)

青黛 MI	2
一、藥材採購及鑑定	2
二、藥材性狀描述（圖1）	2
青黛 HPLC（藥材）	6
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
青黛 TLC（藥材）	27
一、方法	27
二、萃法選擇及濃度測試	28
三、溶媒系統選擇	29
四、觀察方式選擇	30
五、十批青黛藥材樣品檢測	31

青黛 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馬藍、蓼科或菰藍之葉或莖葉經加工製得乾燥粉末或團塊。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：青黛

生藥名：INDIGO NATURALIS

英文名：Natural Indigo

基原：本品為爵床科 Acanthaceae 植物馬藍 *Strobilanthes cusia* (Nees) Kuntze、蓼科 Polygonaceae 植物蓼藍 *Polygonum tinctorium* W.T.Aiton 或十字花科 Cruciferae 植物菰藍 *Isatis tinctoria* L. (*Isatis indigotica* Fortune)之葉或莖葉經加工製得乾燥粉末或團塊。

採收加工：於夏、秋採收莖葉，清洗後加水浸泡 2~3 天，待葉片能從枝條上脫落時撈出，加入石灰，充分攪拌，沉澱後倒掉上清液，再加入適量清水，攪打至起泡，撈起浮沫，晾乾即得。

藥材性狀：本品呈為淺藍色至灰藍色極細粉末，或呈不規則多孔性的團塊，用手搓擦即成細末，質輕，易飛揚。具微草腥味，味淡。體輕、能浮於水面、以火燃燒會產生紫紅色煙霧。

生長分佈：馬藍為多年生草本，喜溫暖潮濕的環境，不喜陽光直射，多生長在低海拔山區之陰濕地，以水資源豐富、深厚、肥沃之地為宜。花期 9~11 月。分佈於臺灣、中國四川、福建、廣東、浙江等地。蓼藍為一年生草本植物，喜溫暖濕潤的氣候，對土壤要求不嚴，以排水良好、富含腐殖質的壤土為宜。花期 7~9 月，果期 8~10 月。分佈於日本、韓國、及中國遼寧、河北、山東、陝西等地。菰藍為二年生草本植物，對氣候及土壤適應性強，耐寒、忌積水，以陽光充足、土層深厚、疏鬆肥沃、排水良好的砂質土壤為宜。花期 4~6 月，果期 5~7 月。遍佈世界各地之溫帶地區，如美國、歐洲各地、日本、韓國、中國山東、遼寧、黑龍江、河北、江蘇、陝西、湖北、廣東、四川等地。



圖 1A 青黛藥材圖

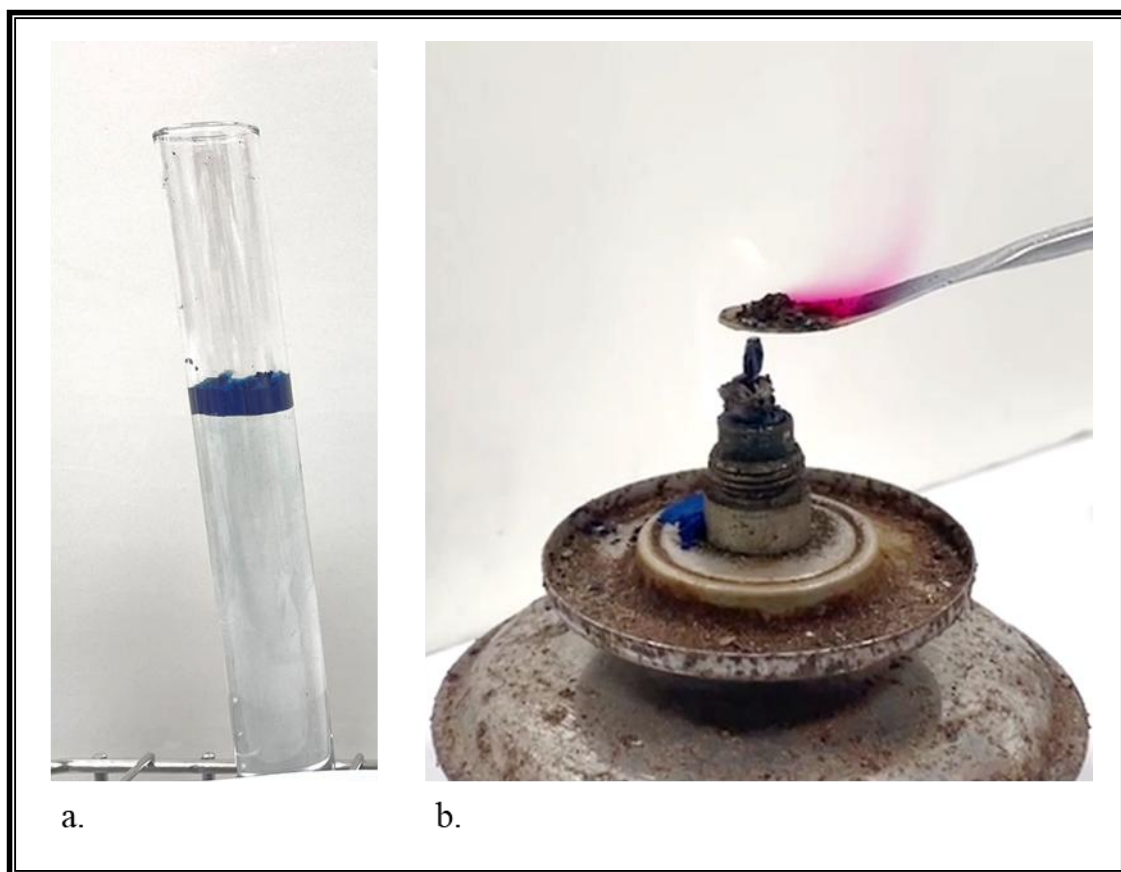


圖 1B 青黛水火試示意圖

a.置水中浮於水上 b.燃燒後有紫紅色煙霧

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。194~195 頁。
2. 張永勳、何玉玲(總編輯)(2013)。臺灣中藥典圖鑑。台北市：衛生福利部。145~146 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。942~945 頁。
4. 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。355 頁。
5. 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。208~209 頁。
6. 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。295~296 頁。
7. 黃璐琦(總主編)(2020)。新編中國藥材學第一卷。中國醫藥科技出版社。182~184 頁。
8. 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。413 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。339 頁。
10. 石岩、魏鋒、馬雙成(2019)。關於青黛來源、製法及質量問題的探討。中國中藥雜誌，44(3)，608~613。
11. 周世玉、鵬善貴、劉莉(2011)。青黛與其劣質品偽製品的鑑別研究。現代醫藥衛生，27(4)，495~496。

青黛(INDIGO NATURALIS)

一、材料

購置於臺灣各地中藥店青黛藥材共 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、column compartment、PDA Detector；層析管柱 Agilent ZORBAX SB-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) 購置於永定科技有限公司。

(二) 對照標準品

靛藍(Indigo) 購置於成都埃法生物科技有限公司、靛玉紅(Indirubin)購置於京辰生物科技有限公司，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 25 mg，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇、75%甲醇、乙醇、75%乙醇各 25 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，離心 10 分鐘(約 4000 × g)，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靛藍及靛玉紅最大波峰面積為最佳青黛藥材萃取溶媒。

(二) 最佳萃取次數評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 25 mg，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇 25 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，離心 10 分鐘(約 4000 × g)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 25 mL 之容量瓶中，加甲醇至刻度，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，直到靛藍及靛玉紅被萃取完全，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靛藍 2.0 mg，加 50 mL 的甲醇製成每 1 mL 含靛藍 40 μg 的對照標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至靛藍 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 製成對照標準品溶液。
2. 準確稱取對照標準品靛玉紅 2.0 mg，加 100 mL 的甲醇製成每 1 mL 靛玉紅 20 μg 的對照標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋靛玉紅 5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 製成對照標準品溶液。

(四) 檢品溶液

準確稱取本品粉末(過 No.20 篩網)約 25 mg，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇 25 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，離心 10 分鐘(約 $4000 \times g$)，以 No.1 濾紙過濾，殘渣部分重複提取 1 次，合併濾液，移入 50 mL 之容量瓶中，加甲醇至刻度，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靛藍及靛玉紅的含量，即得。

(六) 檢量線

1. 準確吸取靛藍對照標準品儲備溶液適量(40 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，以甲醇稀釋成含靛藍分別為 40、20、10、5.0、2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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. 準確吸取靛玉紅對照標準品儲備溶液適量(20 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，以甲醇稀釋成含靛玉紅分別為 20、10、5.0、1.0、0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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. 以靛藍為 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以靛藍的波峰面積為指標，求出相對標準差。
2. 以靛玉紅為 5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以靛玉紅的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售青黛藥材粉末，依青黛藥材檢品溶液製備方法平行製備 5 份青黛藥材檢品溶液，進樣測定，以靛藍及靛玉紅的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售青黛藥材粉末，依青黛藥材檢品溶液製備方法製備青黛藥材檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以靛藍及靛玉紅的含量為指標，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. 取已知靛藍含量的青黛粉末 5 份，每份準確稱取約 25 mg，分別加入靛藍 1.1 mg，並按檢品溶液製備方法操作測定。
2. 取已知靛玉紅含量的青黛藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 25 mg，分別加入靛玉紅 1.0 mL 的靛玉紅溶液 (50 $\mu\text{g/mL}$)，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 SB-C18 Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：Vis 606 nm、UV 292 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(%)	水(%)
0	70	30
30	70	30

(十二) 臺灣市售青黛藥材含量測定

取 10 批市售青黛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 公式計算樣品靛藍及靛玉紅的百分比含量。

(十三) 青黛檢品之 UPLC 分析條件

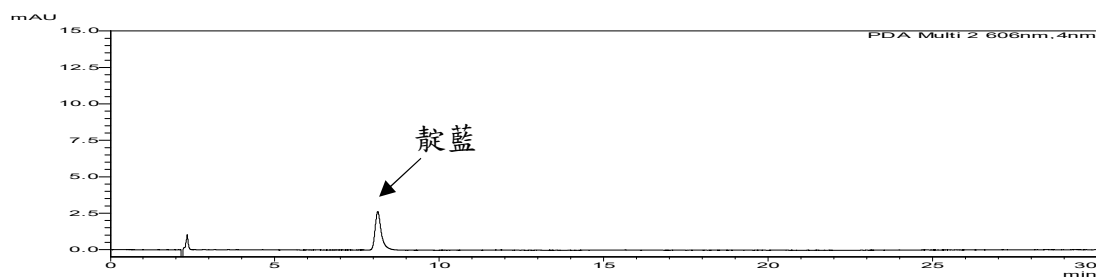
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 × 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：Vis 606 nm、UV 292 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	甲 醇(%)	水(%)
0	70	30
10	70	30

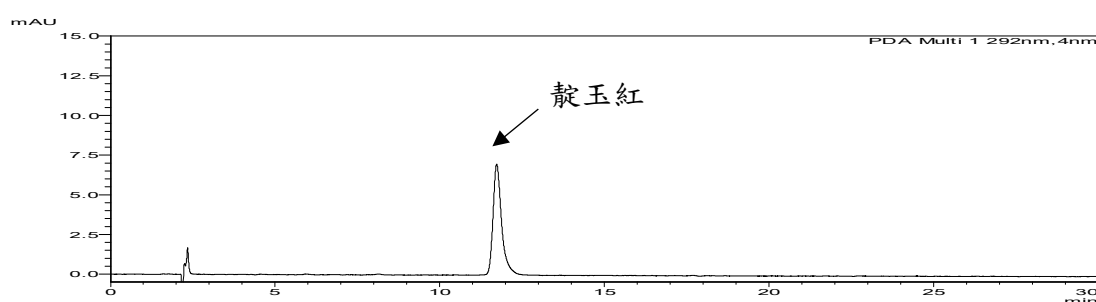
五、結果

(一) 對照標準品靛藍與靛玉紅之 HPLC 層析

於滯留時間 8.13 分鐘處顯示靛藍對照標準品波峰(圖一)，於滯留時間 11.73 分鐘處顯示靛玉紅對照標準品波峰(圖二)。



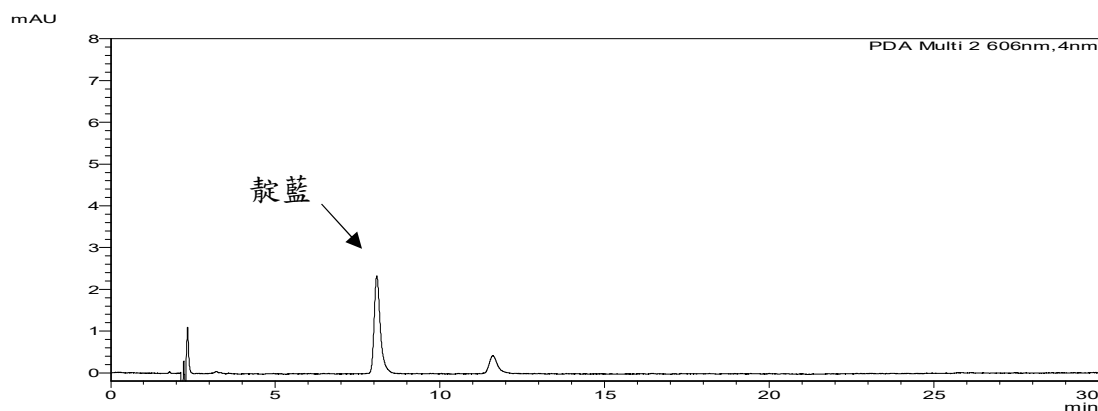
圖一、靛藍對照標準品溶液之 HPLC 層析圖(606 nm)



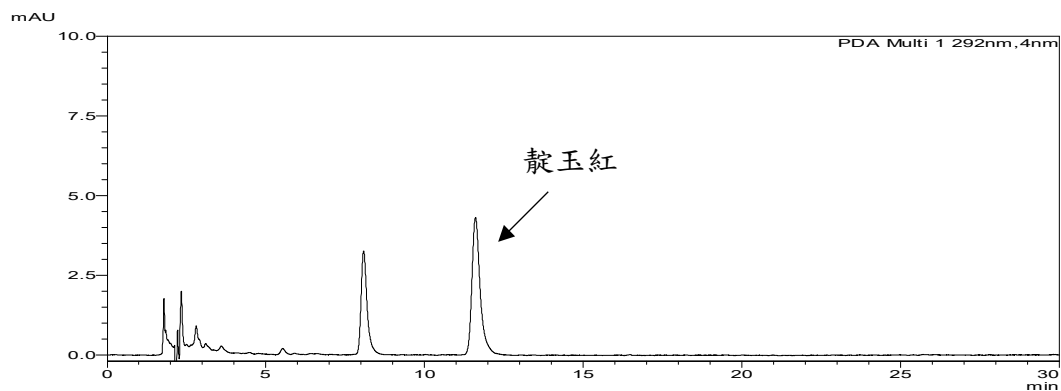
圖二、靛玉紅對照標準品溶液之 HPLC 層析圖(292 nm)

(二) 市售青黛藥材檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 8.08 與 11.61 分鐘處分別顯示青黛藥材檢品中靛藍與靛玉紅波峰(圖三、圖四)。靛藍分離率(R)為 9.64，拖尾因子(T)為 1.03；靛玉紅分離率(R)9.28，拖尾因子(T)為 1.08，均在系統適用性要求內。



圖三、市售青黛藥材檢品之 HPLC 層析圖(606 nm)



圖四、市售青黛藥材檢品之 HPLC 層析圖(292 nm)

(三) 最佳萃取次數評估

以甲醇溶液為溶媒時，每克藥材重量所得靛藍與靛玉紅的波峰面積最大，顯示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	靛藍波峰面積	靛玉紅波峰面積	最佳萃取
甲醇	40892	102107	√
75% 甲醇	15148	54830	
50% 甲醇	3879	25031	
乙醇	36809	78848	
75% 乙醇	28350	66669	
50% 乙醇	4205	47588	

(四) 最佳萃取次數評估

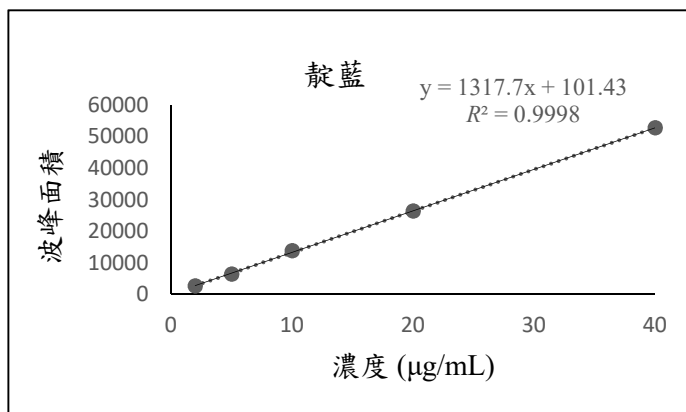
結果顯示萃取 2 次基本上已將靛玉紅萃取完全(萃取率大於 98%) (表二)。靛藍並不會因為萃取次數而影響靛藍波峰面積，所以，依靛玉紅萃取次數為主。

表二、青黛藥材檢品萃取次數評估

甲醇	靛藍波峰面積	靛玉紅波峰面積
第 1 次	37758	90123
第 2 次	31315	13062
第 3 次	27183	2052
第 4 次	26657	N.D.

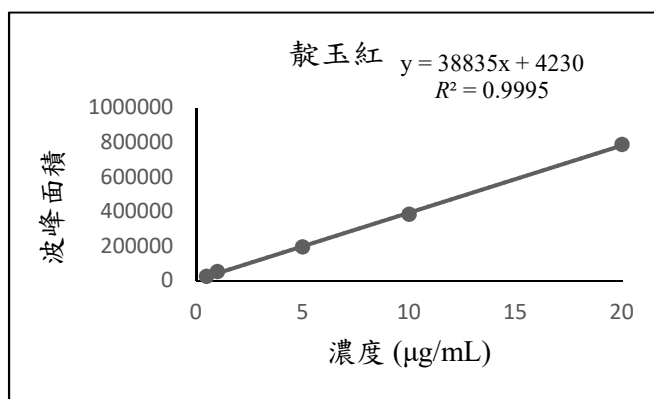
(五) 對照標準品靛藍與靛玉紅檢量線

1. 經不同濃度靛藍(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 $y = 1317.7x + 101.43$ ， $R^2 = 0.9998$ ，顯示濃度在 2.0–40 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖五)。



圖五、靛藍之檢量線圖

2. 經不同濃度靛玉紅(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 $y = 38835x + 4230$ ， $R^2 = 0.9995$ ，顯示濃度在 0.5–20 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖六)。



圖六、靛玉紅之檢量線圖

表三、靛藍與靛玉紅之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
靛藍	2.0–40	$y = 1317.7x + 101.43$	0.9998
靛玉紅	0.5–20	$y = 38835x + 4230$	0.9995

(六) 精密度試驗

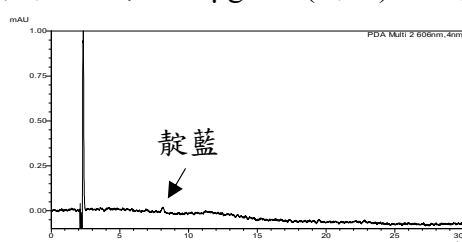
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，靛藍與靛玉紅精密度之相對標準差分別為 0.76%與 0.25%，均在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

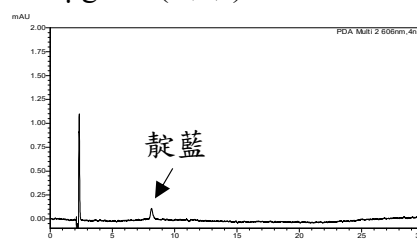
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，靛藍與靛玉紅重複性之相對標準差分別為 1.94% 及 1.82%，均在系統適用性要求內。靛藍與靛玉紅在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差分別為 1.05% 及 0.51%，變化差異小，若所有樣品分析都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

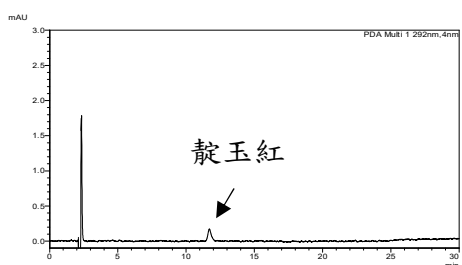
靛藍偵測極限為 0.5 $\mu\text{g/mL}$ (圖七)，定量極限為 1.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖八)。靛玉紅偵測極限為 0.01 $\mu\text{g/mL}$ (圖九)，定量極限為 0.05 $\mu\text{g/mL}$ (圖十)。



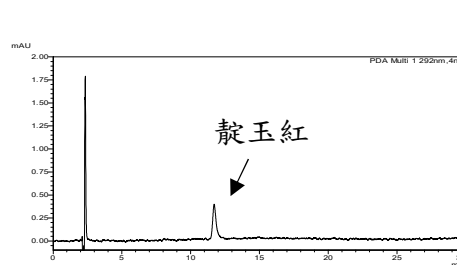
圖七、靛藍之偵測極限層析圖



圖八、靛藍之定量極限層析圖



圖九、靛玉紅之偵測極限層析圖



圖十、靛玉紅之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	靛藍		靛玉紅	
	濃度	R.S.D. (%)	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	10 $\mu\text{g/mL}$	0.76	5.0 $\mu\text{g/mL}$	0.25
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.9)	1.94	檢品溶液(No.9)	1.82
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.9)	1.05	檢品溶液(No.9)	0.51
偵測極限 (n=1)	0.5 $\mu\text{g/mL}$	-	0.01 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=1)	1.0 $\mu\text{g/mL}$	-	0.05 $\mu\text{g/mL}$	-

(九) 添加回收率試驗

靛藍平均添加回收率為 94.75%，相對標準偏差為 1.73% (表五)。靛玉紅平均添加回收率為 95.4%，相對標準偏差為 2.50% (表六)。

表五、靛藍添加回收率

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	0.0250	1.1129	1.1	2.1700	96.10	94.8	1.73
2	0.0248	1.1040	1.1	2.1592	95.93		
3	0.0254	1.1307	1.1	2.1756	94.99		
4	0.0248	1.1040	1.1	2.1461	94.74		
5	0.0248	1.1040	1.1	2.1162	92.02		

表六、靛玉紅添加回收率

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	0.0250	0.0452	0.05	0.0916	92.80	95.4	2.50
2	0.0248	0.0448	0.05	0.0939	98.20		
3	0.0254	0.0459	0.05	0.0945	97.20		
4	0.0248	0.0448	0.05	0.0914	93.20		
5	0.0248	0.0448	0.05	0.0926	95.60		

(十) 臺灣市售青黛藥材含量測定

10 批青黛藥材之含量測定結果(乾燥品)如表七所示，靛藍的含量 4.136–6.524%，靛玉紅的含量為 0.088–0.265%。靛藍與靛玉紅的總含量 4.224–6.727%，建議青黛藥材指標成分靛藍含量不得少於 2.0%；靛玉紅的含量不得少於 0.13%。理論板數按靛藍波峰計算應不低於 5000 (實際值為 12526)，按靛玉紅波峰計算應不低 5000 (實際值為 11139)。

表七、臺灣市售青黛藥材檢品之靛藍與靛玉紅的含量

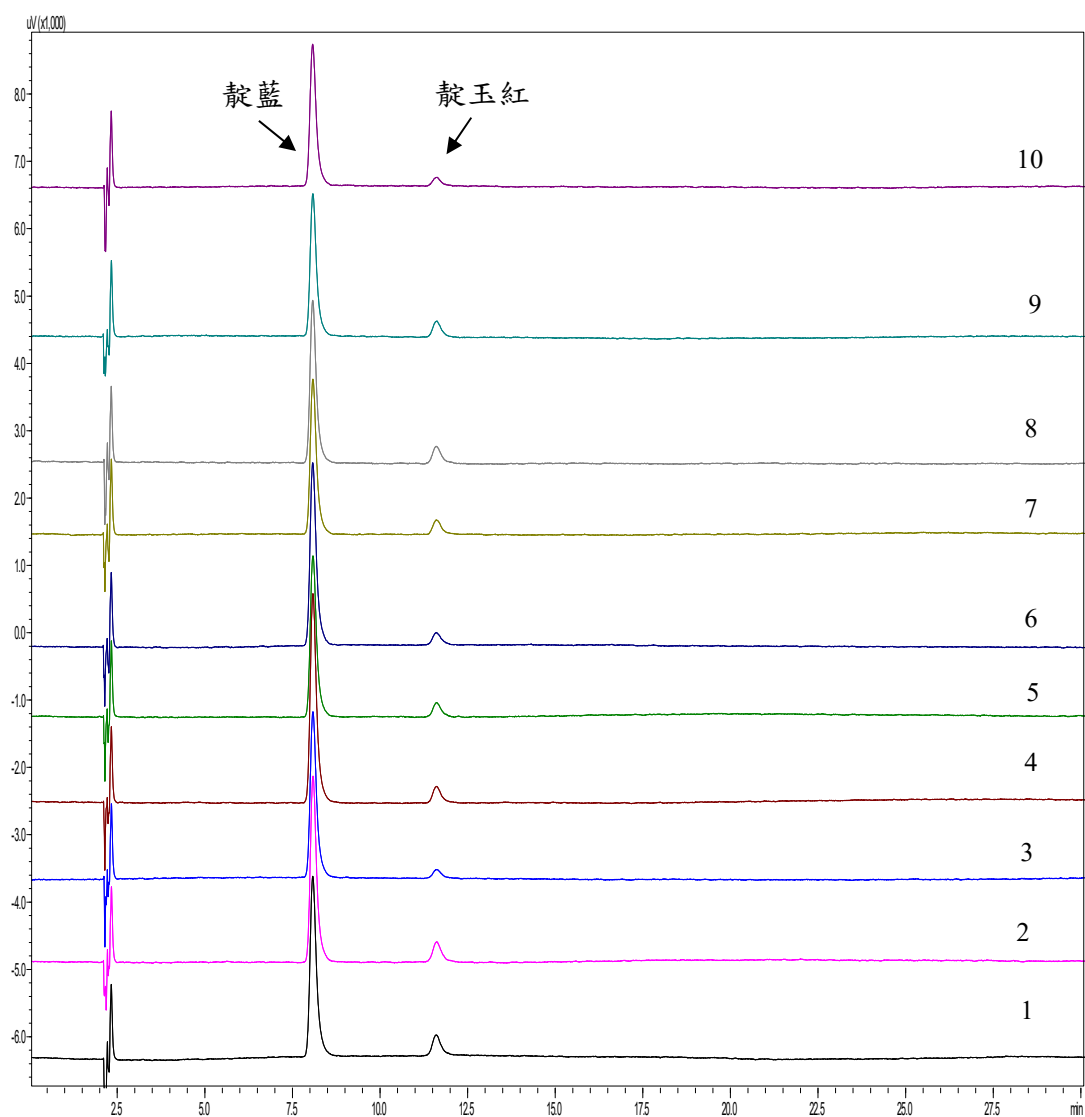
藥材編號 (No.)	靛藍含量 (%)	靛玉紅含量 (%)	靛藍與靛玉紅總含量 (%)
1 (NWB)	5.440	0.265	5.705
2 (NX)	5.613	0.252	5.865
3 (CA)	5.080	0.092	5.172
4 (CB3)	6.524	0.203	6.727
5 (CE)	4.913	0.181	5.094
6 (CH)	5.455	0.144	5.599
7 (SK1)	4.693	0.179	4.872
8 (SK2)	4.716	0.212	4.928
9 (SK3)	4.428	0.201	4.629
10 (SK4)	4.136	0.088	4.224
平均值±S.D.	5.100±0.688	0.182±0.060	5.282±0.714

(十一) 青黛藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

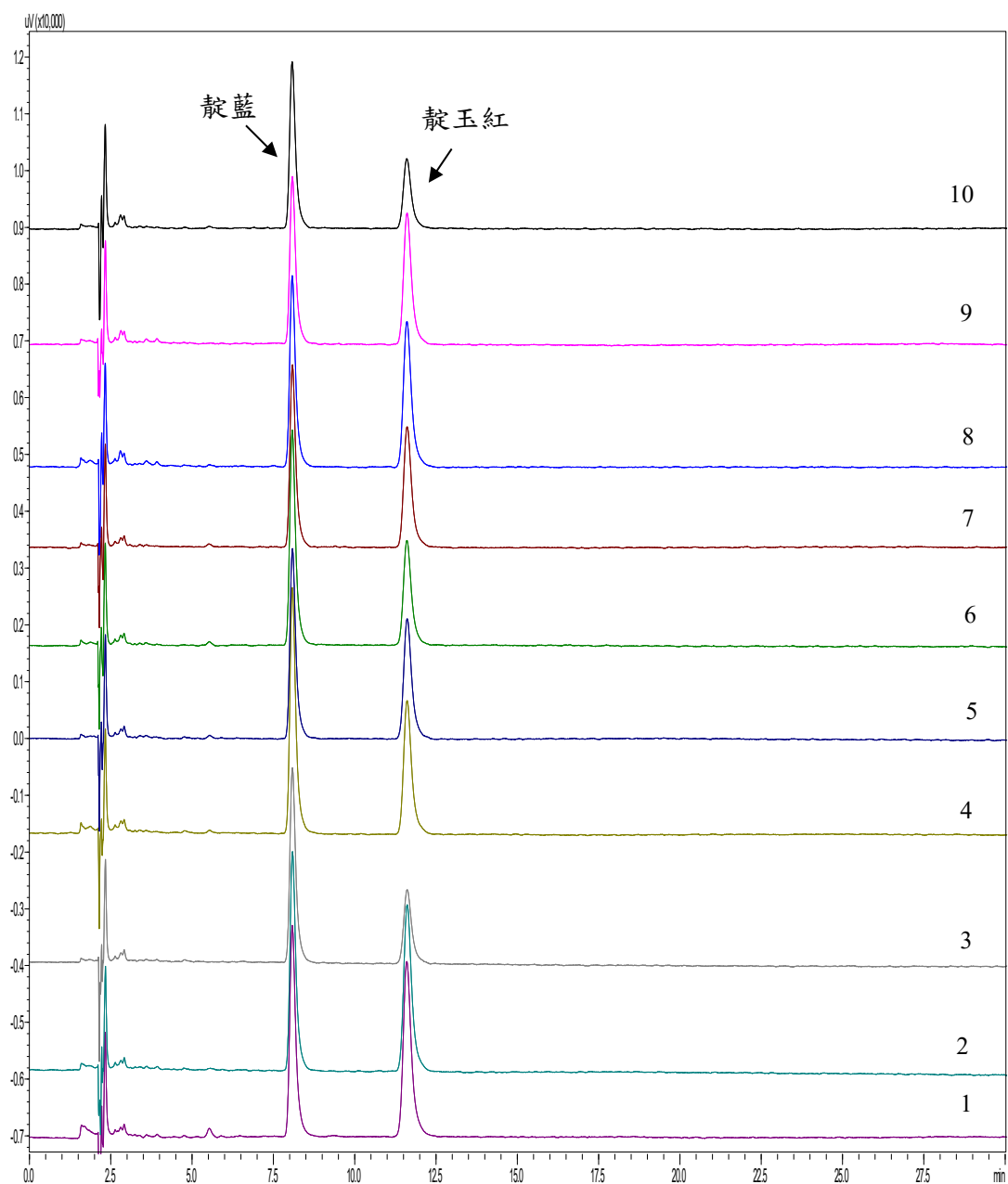
取 10 批市售青黛藥材檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：Agilent ZORBAX SB-C18 Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 606 nm、UV 292 nm
3. 流速：1 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(%)	水(%)
0	70	30
40	70	30



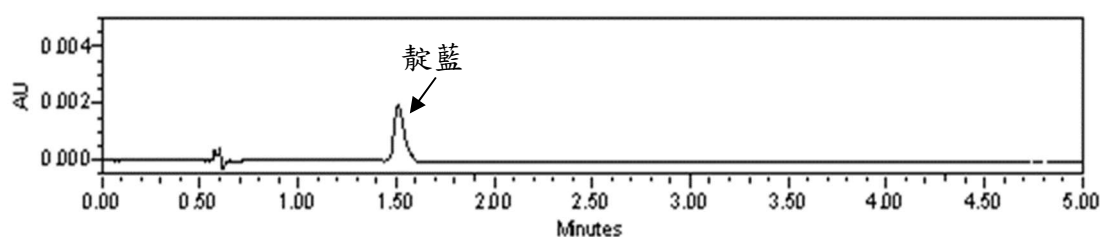
圖十一、10 批青黛藥材之 HPLC 指紋圖譜(606 nm)



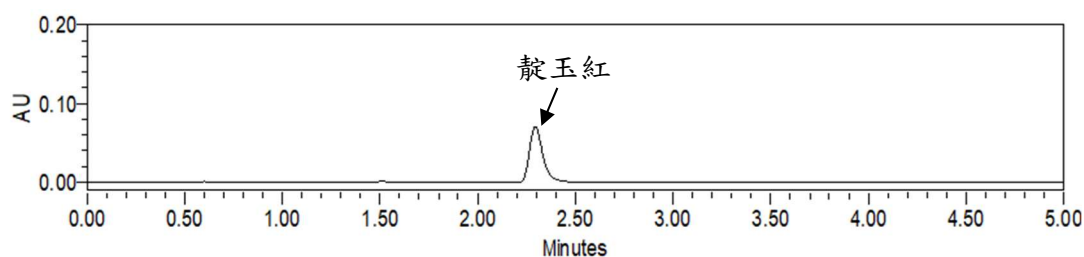
圖十二、10 批青黛藥材之 HPLC 指紋圖譜(292 nm)

(十二) 對照標準品靛藍與靛玉紅之 UPLC 層析

於滯留時間 1.51 分鐘處顯示靛藍對照標準品波峰(圖十三)，於滯留時間 2.29 分鐘處顯示靛玉紅對照標準品波峰(圖十四)。



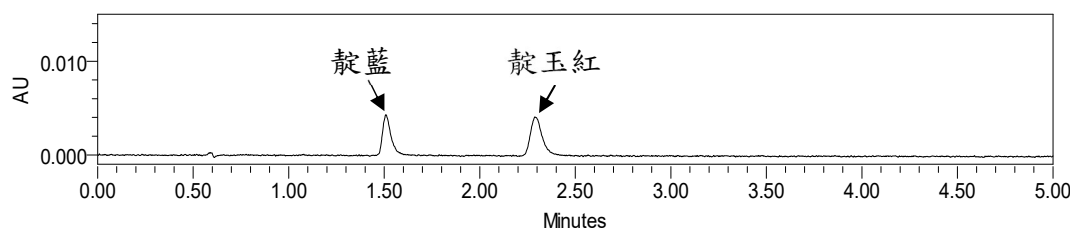
圖十三、靛藍對照標準品溶液之 UPLC 層析圖(606 nm)



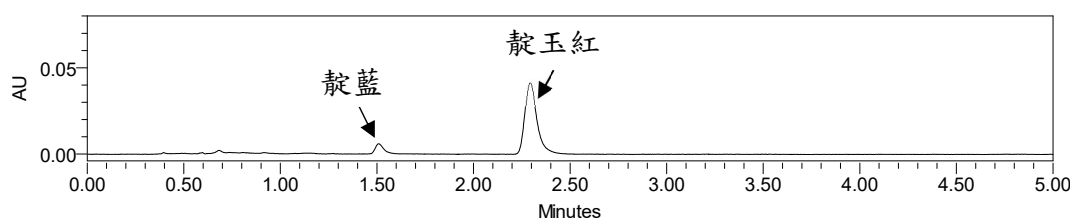
圖十四、靛玉紅對照標準品溶液之 UPLC 層析圖(292 nm)

(十三) 市售青黛藥材檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 1.51 及 2.29 分鐘處分別顯示青黛藥材檢品中靛藍與靛玉紅波峰(圖十五)、(圖十六)。



圖十五、市售青黛藥材檢品之 UPLC 層析圖(606 nm)

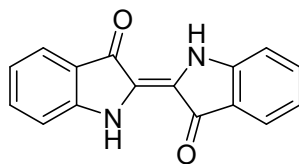


圖十六、市售青黛藥材檢品之 UPLC 層析圖(292 nm)

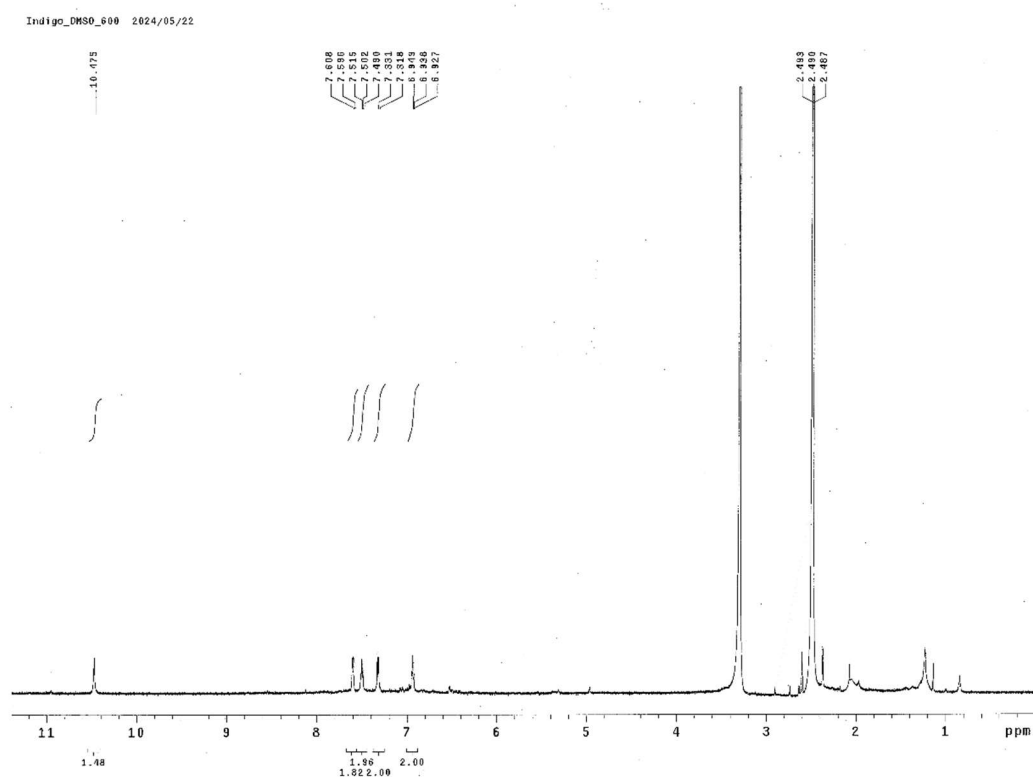
(十四) 靛藍的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{16}H_{10}N_2O_2$ ；分子量：262.3；熔點： $>300\text{ }^{\circ}\text{C}$ ；藍色結晶粉末。

(十五) 靛藍的結構

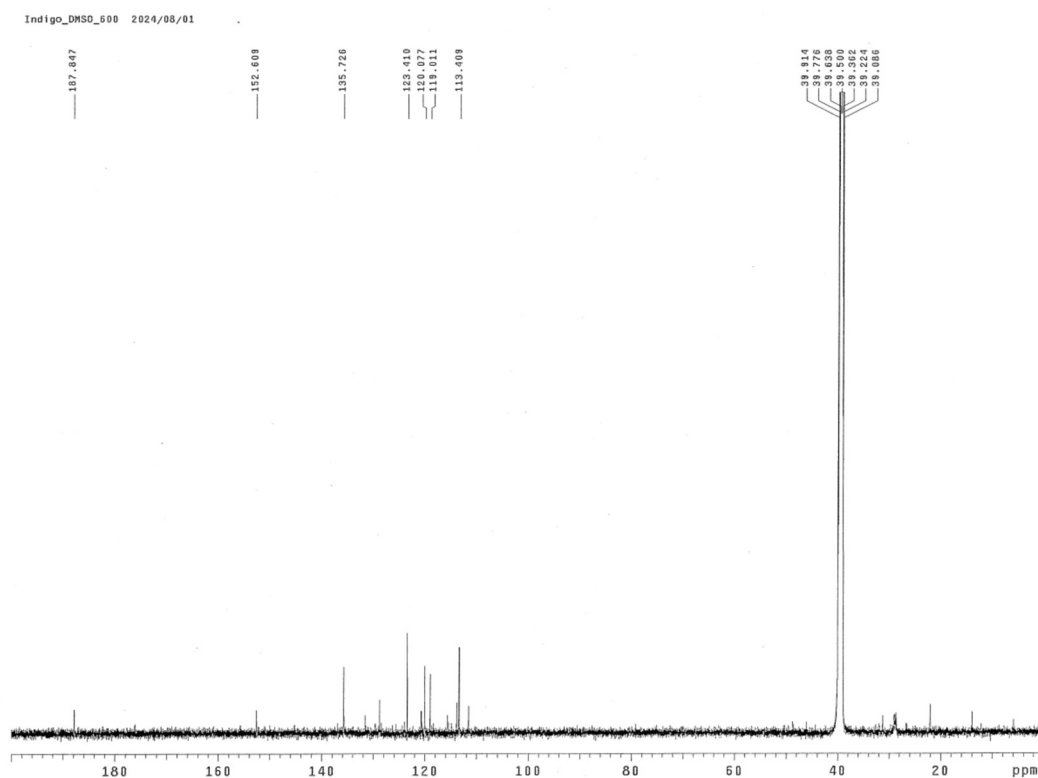


(十六) 靛藍的 ^1H NMR 圖譜



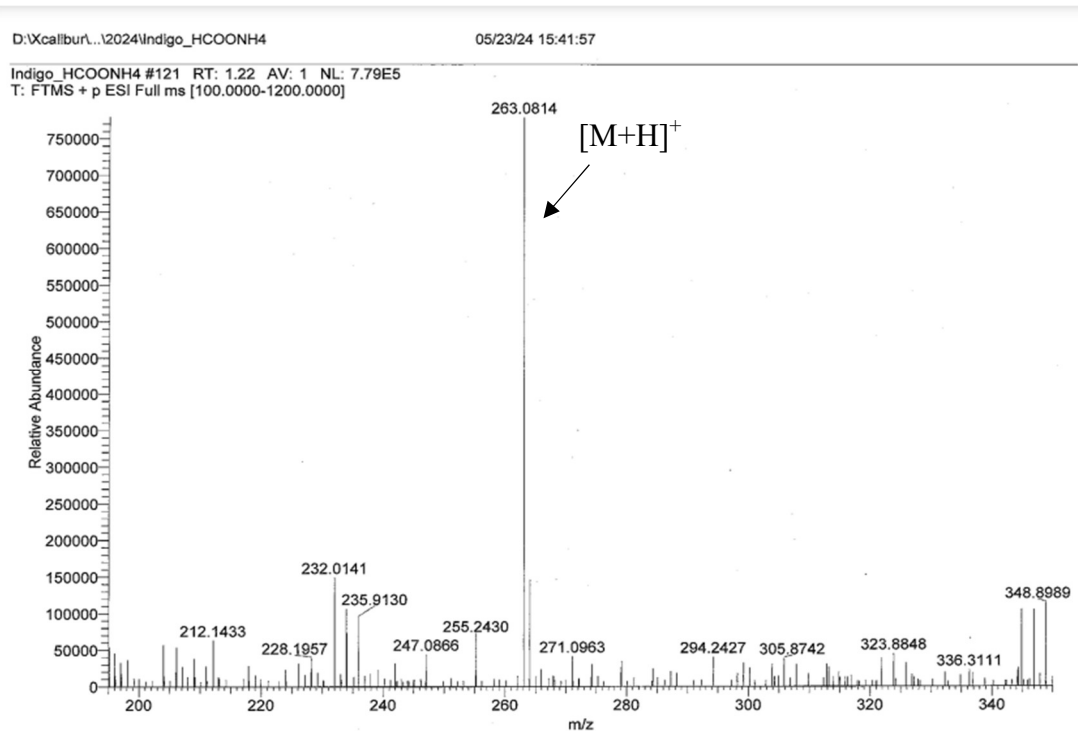
圖十七、靛藍的 ^1H NMR 圖譜(DMSO- d_6)

(十七) 靛藍的 ^{13}C NMR 圖譜



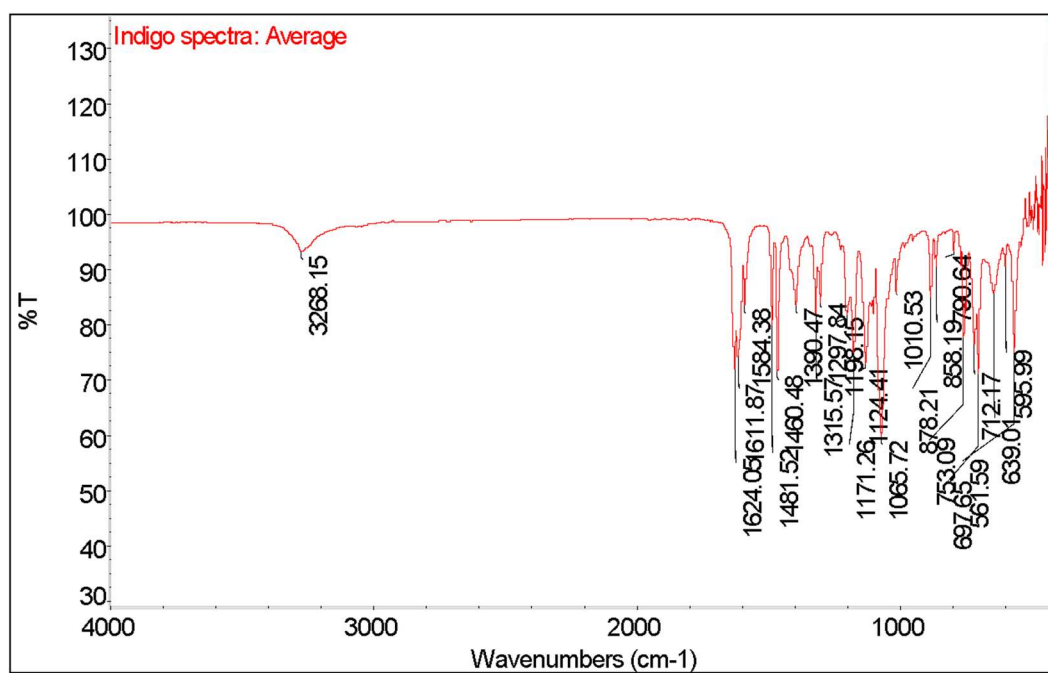
圖十八、靛藍的 ^{13}C NMR 圖譜(DMSO- d_6)

(十八) 靛藍的 ESI-MS 圖譜



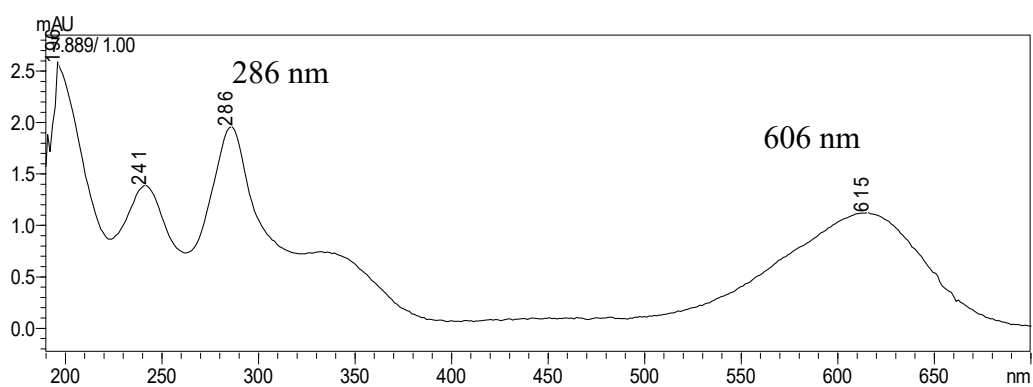
圖十九、靛藍的 ESI-MS 圖譜

(十九) 靛藍的 FTIR 圖譜



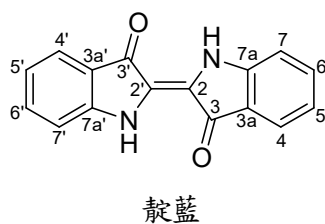
圖二十、靛藍的 FTIR 圖譜

(二十) 靛藍的 UV 圖譜



圖二十一、靛藍的 UV 圖譜

(二十一) 靛藍的氫、碳化學位移



表八、靛藍的氫、碳化學位移(DMSO-*d*₆)^a

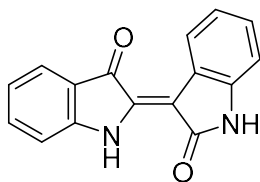
position	δ_{H} (600 MHz)	δ_{C} (150 MHz)
2,2'	-	120.1
3,3'	-	187.8
3a,3a'	-	128.5
4,4'	7.65 (d, 7.2)	123.4
5,5'	6.95 (dd, 7.5, 7.2)	119.0
6,6'	7.50 (dd, 7.5, 7.2)	135.7
7,7'	7.37 (d, 7.5)	113.4
7a,7a'	-	152.6

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

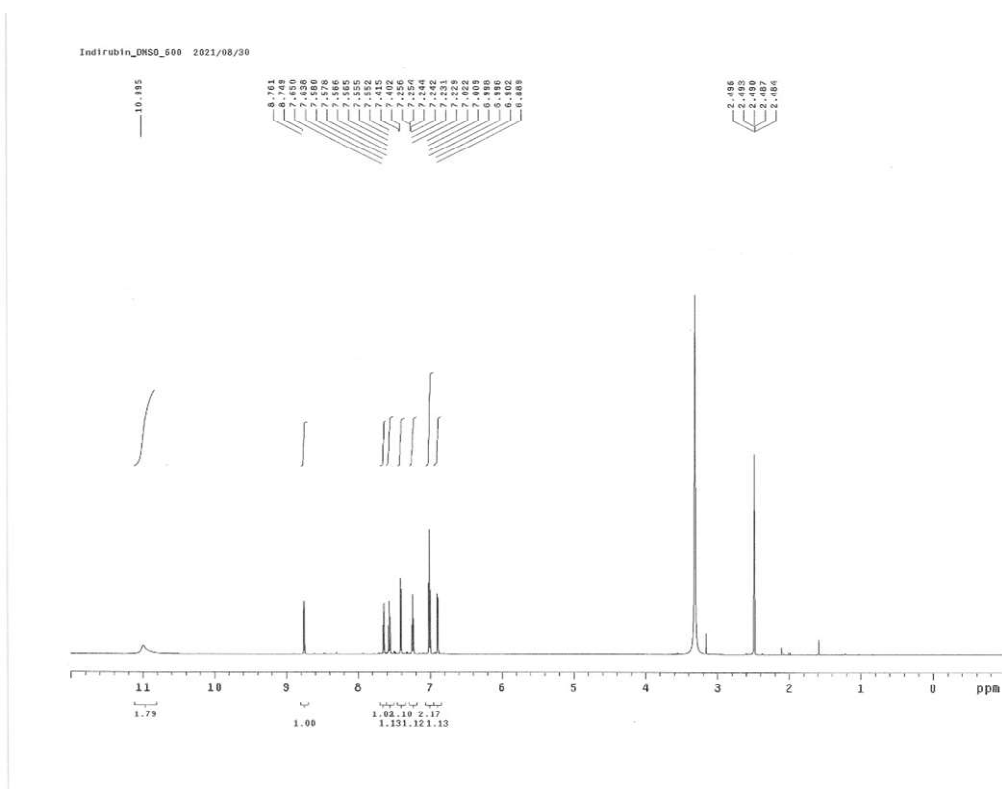
(二十二) 靛玉紅的分子式、分子量與熔點

分子式： $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$ ；分子量：262.3；熔點： $>300\text{ }^\circ\text{C}$ ；紅色固體。

(二十三) 靛玉紅的結構

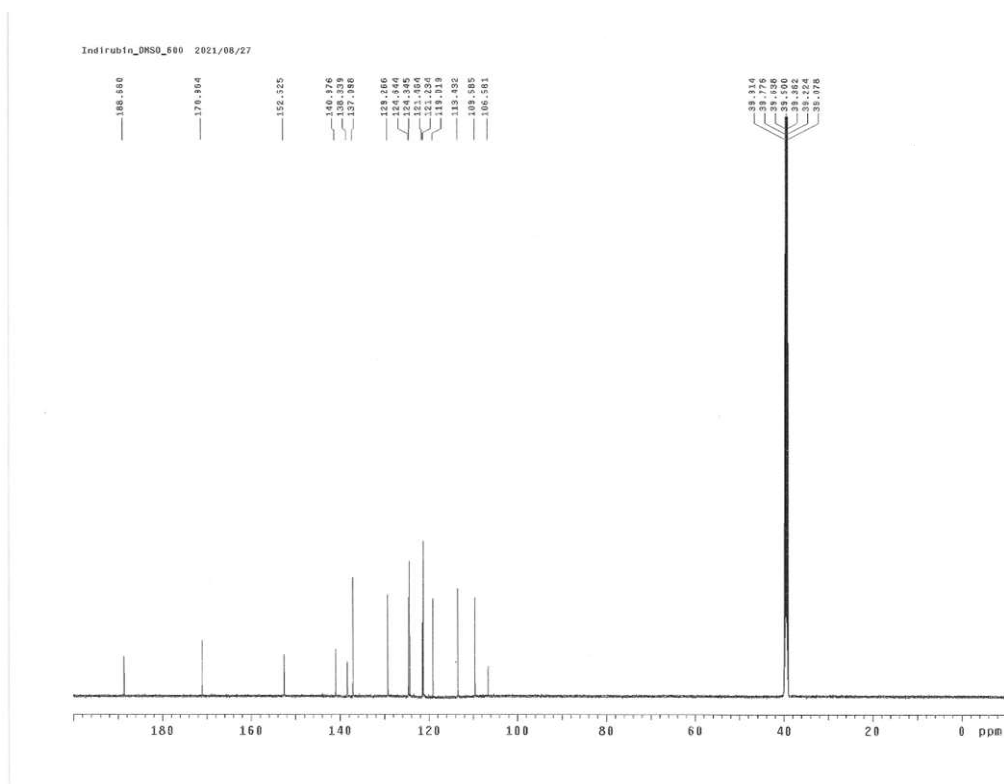


(二十四) 靛玉紅 ^1H NMR 圖譜



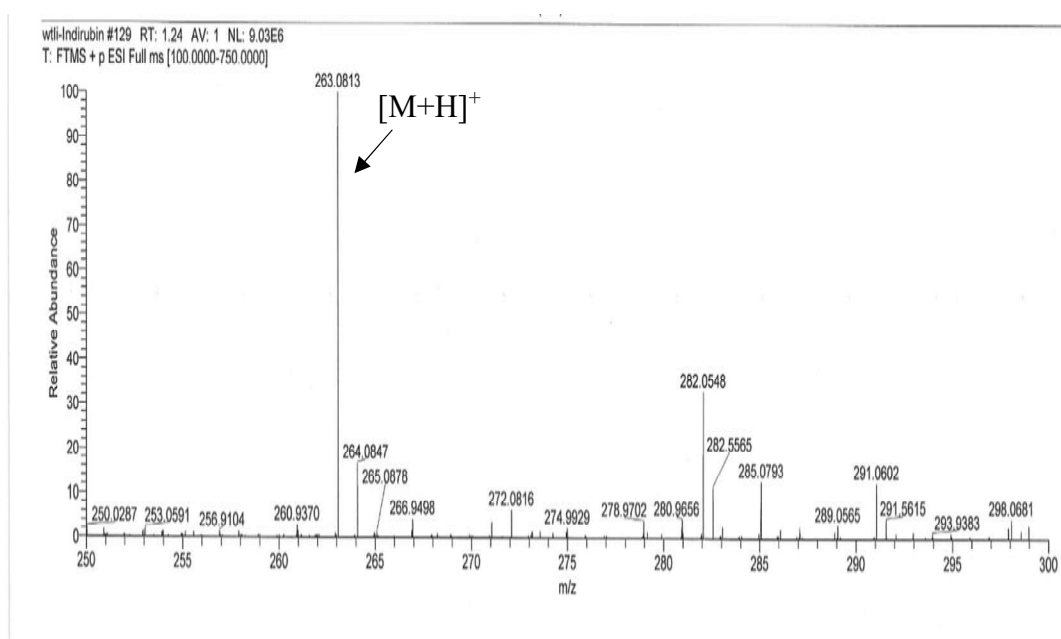
圖二十二、靛玉紅的 ^1H NMR 圖譜(DMSO- d_6)

(二十五) 靛玉紅 ^{13}C NMR 圖譜



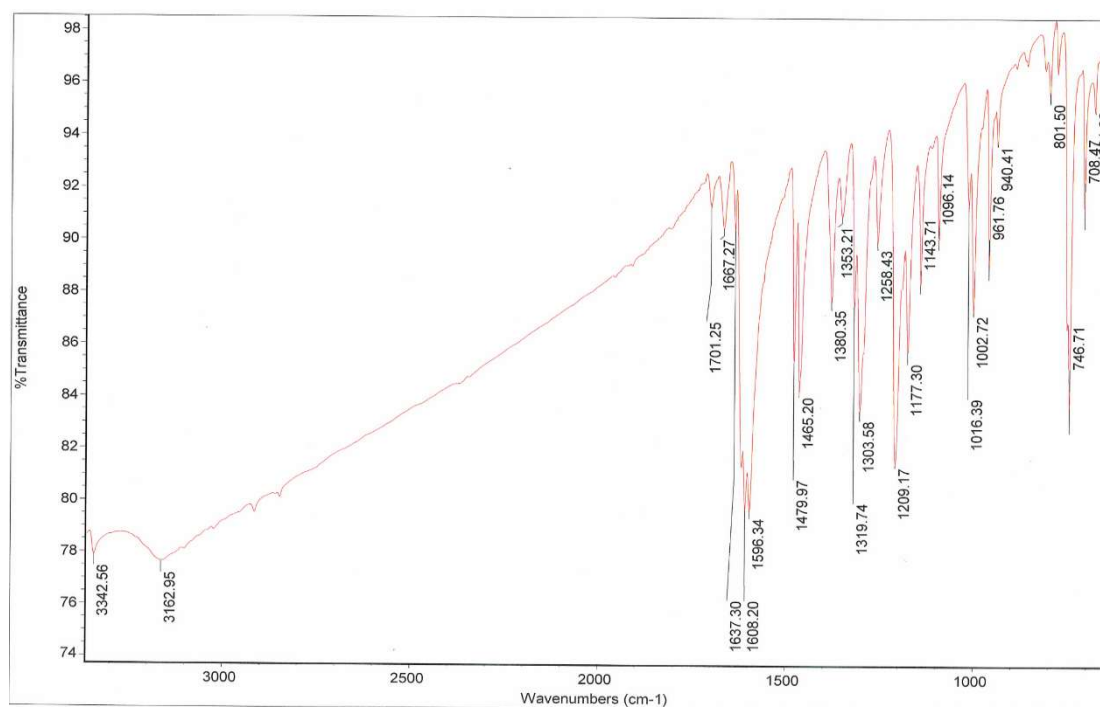
圖二十三、靛玉紅的 ^{13}C NMR 圖譜(DMSO- d_6)

(二十六) 靛玉紅 ESI-MS 圖譜



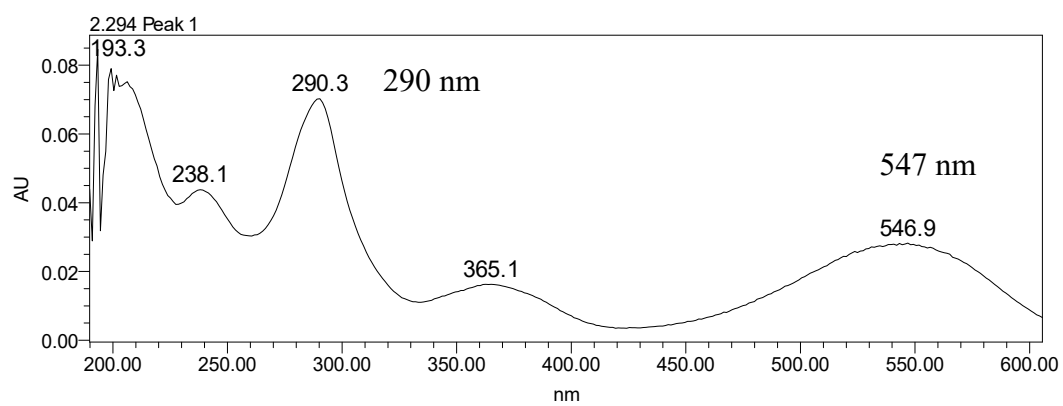
圖二十四、靛玉紅的 ESI-MS 圖譜

(二十七) 靛玉紅的 FTIR 圖譜



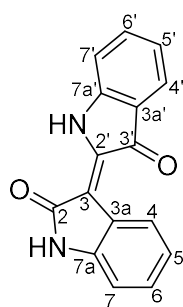
圖二十五、靛玉紅的 FTIR 圖譜

(二十八) 靛玉紅的 UV 圖譜



圖二十六、靛玉紅的 UV 圖譜

(二十九) 靛玉紅的氫、碳化學位移



靛玉紅

表九、靛玉紅的氫、碳化學位移(DMSO- d_6)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
2	-	140.9
3	-	188.7
3a	-	121.5
4	7.65 (d, 7.6)	124.3
5	7.01 (dd, 7.6, 8.0)	121.2*
6	7.57 (t, 8.0)	137.1
7	7.41 (d, 8.0)	113.4
7a	-	152.5
2'	-	171.0
3'	-	106.6
3a'	-	119.0
4'	8.76 (d, 7.7)	124.6
5'	7.01 (dd, 7.6, 7.7)	121.2*
6'	7.25 (t, 7.6)	129.3
7'	6.89 (d, 7.6)	109.6
7a'	-	138.3

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

青黛

生藥名：NATURALIS INDIGO

英文名：Natural Indigo

基 原：本品為爵床科 Acanthaceae 植物馬藍 *Strobilanthes cusia* (Need) Kuntze、
蓼科 Polygonaceae 植物蓼藍 *Polygonum tinctorium* W.T.Aiton 或十字花
科 Cruciferae 植物菘藍 *Isatis indigotica* Fortune 之葉或莖葉經加工製得
乾燥粉末或團塊。

一、方法

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

——取本品粉末 50 mg，加二氯甲烷 5 mL，超音波振盪 10 分鐘，過濾，取濾液作為檢品溶液。

【萃取方法 2】(自行開發 1)

——取本品粉末 50 mg，加甲醇 5 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 2) ✓

——取本品粉末 0.5 g，加甲醇 5 mL，超音波振盪 10 分鐘，過濾，取濾液作為檢品溶液。

(二) 對照標準品 溶 液 取靛藍(Indigo)，靛玉紅(Indirubin)對照標準品，分別加甲醇製成每 1 mL 含 1.0 mg 的飽和溶液，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》，修飾《中華人民共和國藥典 2020》

——甲苯：二氯甲烷：丙酮 (5：4：1)

【展開劑 2】(自行開發) ✓

——正己烷：乙酸乙酯 (5：3)

(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，於可見光照射下檢視之。

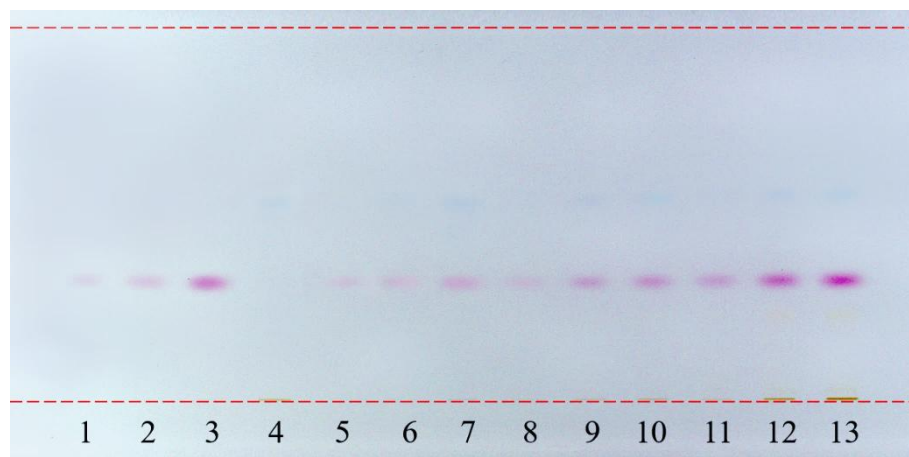
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：113/08/08

相對溼度(RH)：63%

溫度(RT)：24.5 °C

【展開劑 2】(自行開發)——正己烷：乙酸乙酯 (5：3)



編號	名稱	點注量
1, 2, 3	靛玉紅(1.0 mg/mL)	2, 5, 8 μ L
4	靛藍(1.0 mg/mL)	20 μ L
5, 6, 7	檢品溶液 3【萃取方法 1】	2, 5, 8 μ L
8, 9, 10	檢品溶液 3【萃取方法 2】	2, 5, 8 μ L
11, 12, 13	檢品溶液 3【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靛玉紅與靛藍，因濃度最多，故採用【萃取方法 3】。

建議點注量：靛玉紅 8 μ L，靛藍 20 μ L，檢品溶液【萃取方法 3】8 μ L。

三、溶媒系統選擇

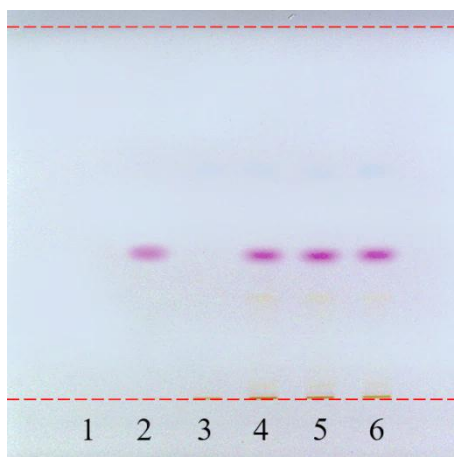
實驗日期：113/08/08

相對溼度(RH)：63%

溫度(RT)：24.5 °C

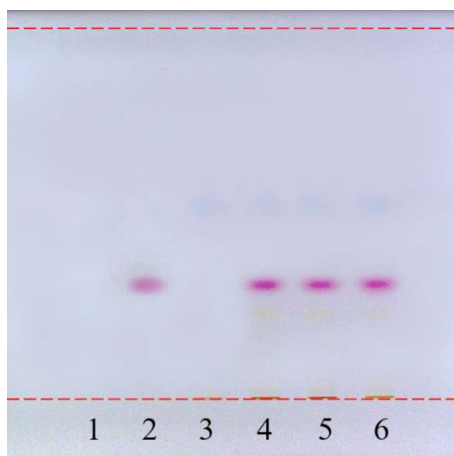
【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版》，修飾《中華人民共和國藥典 2020》——甲
苯：二氯甲烷：丙酮 (5：4：1)

【萃取方法 3】(自行開發 2)——HPTLC 可見光檢出(靛玉紅 R_f 值為 0.38，靛藍
 R_f 值為 0.62)



【展開劑 2】(自行開發)——正己烷：乙酸乙酯 (5：3) ✓

【萃取方法 3】(自行開發 2)——HPTLC 可見光檢出(靛玉紅 R_f 值為 0.34，靛藍
 R_f 值為 0.52)



1：Blank

2：靛玉紅

3：靛藍

4，5：檢品溶液 3

6：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 3】方式，以自行開發之【展開劑 2】展開靛玉紅，靛藍之 R_f 值適中，配製簡單，且無使用含氯溶媒，故採用【展開劑 2】。

四、觀察方式選擇

實驗日期：113/08/08

相對溼度(RH)：63%

溫度(RT)：24.5 °C

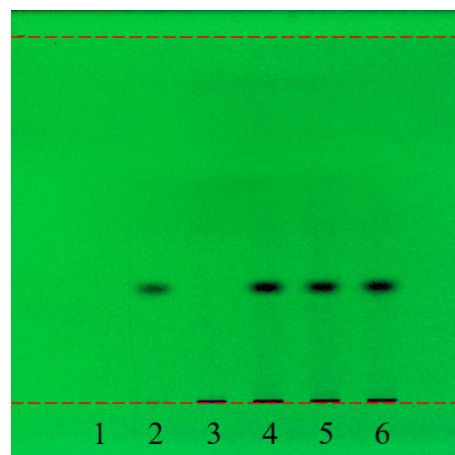
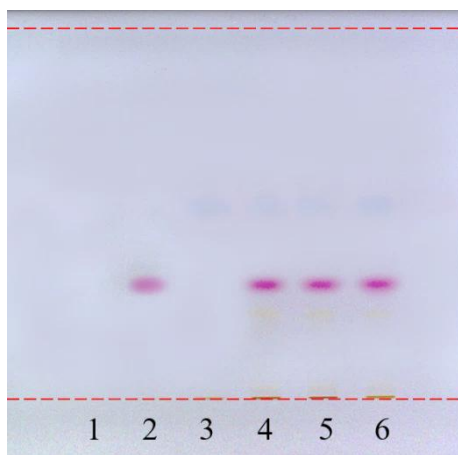
【展開劑 2】(自行開發)——正己烷：乙酸乙酯 (5：3)

【萃取方法 3】(自行開發 2) —HPTLC

可見光檢出✓

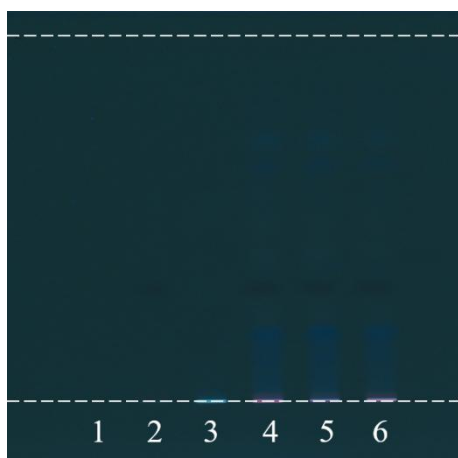
【萃取方法 3】(自行開發 2) —HPTLC

紫外光(254 nm)檢出



【萃取方法 3】(自行開發 2) —HPTLC

紫外光(365 nm)檢出



1：Blank

2：靛玉紅

3：靛藍

4，5：檢品溶液 3

6：Spike

建議觀察方式：於可見光下觀察有較明顯分離之條帶。

五、十批青黛藥材樣品檢測

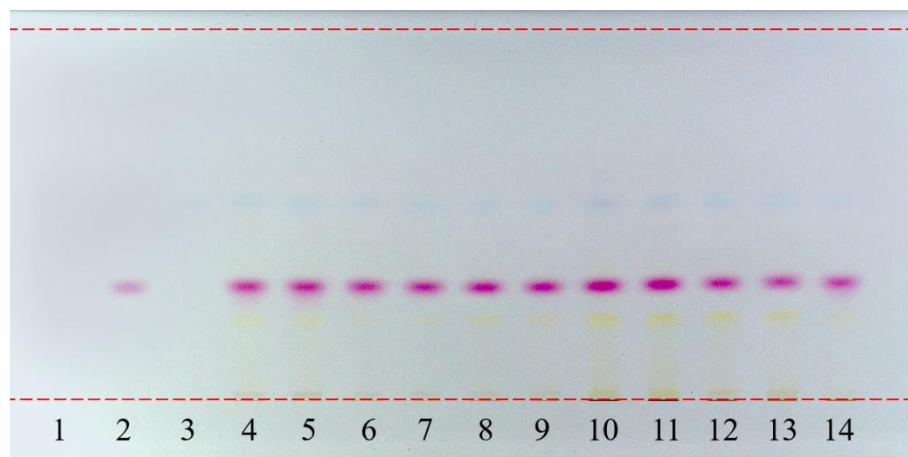
實驗日期：113/08/08

相對溼度(RH)：63%

溫度(RT)：24.5 °C

【展開劑 2】(自行開發)——正己烷：乙酸乙酯 (5：3)

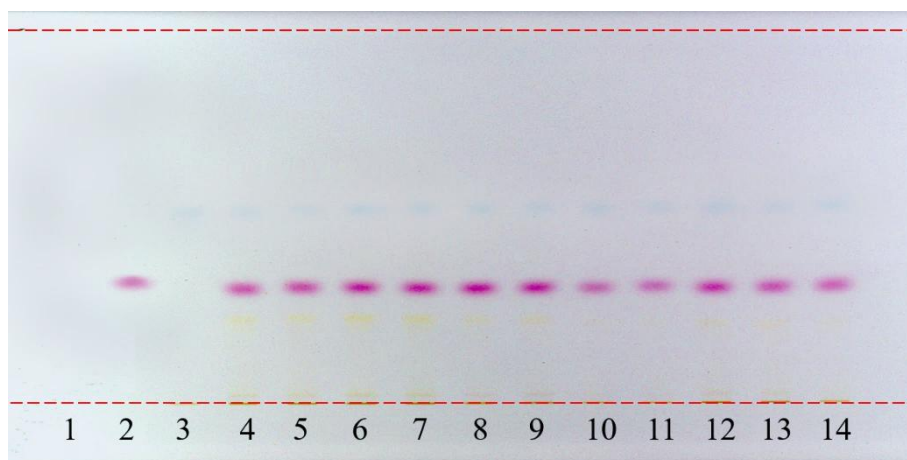
【萃取方法 3】(自行開發 2) —HPTLC 可見光檢出



1	Blank	8, 9	檢品溶液 3 (CA)
2	靛玉紅(1.0 mg/mL)	10, 11	檢品溶液 4 (CB3)
3	靛藍(1.0 mg/mL)	12, 13	檢品溶液 5 (CE)
4, 5	檢品溶液 1 (NWB)	14	Spike (檢品溶液 3)
6, 7	檢品溶液 2 (NX)		

【展開劑 2】(自行開發)——正己烷：乙酸乙酯 (5：3)

【萃取方法 3】(自行開發 2)—HPTLC 可見光檢出



1	Blank	8, 9	檢品溶液 8 (SK2)
2	靛玉紅(1.0 mg/mL)	10, 11	檢品溶液 9 (SK3)
3	靛藍(1.0 mg/mL)	12, 13	檢品溶液 10 (SK4)
4, 5	檢品溶液 6 (CH)	14	Spike (檢品溶液 3)
6, 7	檢品溶液 7 (SK1)		

結論與建議：以自行開發之【萃取方法 3】方式及自行開發之【展開劑 2】分離與檢出靛玉紅，靛藍較佳，於可見光下檢視較佳。