

胡黃連

(NEOPICRORHIZAE RHIZOMA)

胡黃連 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）	3
四、藥材粉末顯微鑑別（圖3）	3
胡黃連 HPLC（藥材）	8
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	12
胡黃連 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、十批胡黃連藥材樣品檢測	31

胡黃連（目錄續）

胡黃連 HPLC（飲片）	33
一、材料	33
二、儀器及層析管柱	33
三、實驗藥品及試劑來源	33
四、方法	33
五、結果	37
胡黃連 TLC（飲片）	44
一、方法	44
二、萃法選擇及濃度測試	45
三、溶媒系統選擇	46
四、觀察方式選擇	47
五、十批胡黃連飲片樣品檢測	48

胡黃連 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胡黃連的乾燥根莖。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：胡黃連

生藥名：NEOPICRORHIZAE RHIZOMA

英文名：Figwortflower Neopicrorhiza Rhizome

基原：本品為玄參科 Scrophulariaceae 植物胡黃連 *Neopicrorhiza scrophulariiflora* (Pennell) D.Y.Hong 之乾燥根莖。

採收加工：秋季地上部枯萎後採挖，除去鬚根和泥沙，曬乾。

藥材性狀：本品已切成 3~7 cm 的小段，藥材呈圓柱形，略彎曲，少有分枝，直徑 0.3~1.2 cm。表面灰棕色，粗糙，栓皮脫落處可見內部黑褐色皮層。節間短，形成較密的環狀紋，具稍隆起的芽痕及疣狀突起的細根殘基。上端密被暗灰棕色鱗片狀的葉柄殘基。體輕，質硬而脆，易折斷，斷面略平坦，外皮灰褐色，皮層棕褐色，木質部有 4~10 個類白色點狀維管束排列成放射狀環，中央髓部灰黑色。氣微，味極苦。

生長分佈：多年生草本，喜陽光及涼爽濕潤的氣候，一般生長於溫帶地區 3000 m 以上高山，以深厚的腐植質壤土為宜。花期 7~8 月，果期 8~9 月。藥材主產於中國西藏及雲南。

三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2)

1. 表皮細胞 1 列，較粗根莖的表皮常已脫落。
2. 木栓層由數層至 10 數層細胞組成，細胞方形或長方形。
3. 外側皮層有數列細胞細胞壁增厚。
4. 皮層細胞為長橢圓形、矩形或切向延長，部分細胞內含棕色物質。
5. 皮層間常可見通氣組織。
6. 內皮層細胞 1 列，長方形。
7. 韌皮部由十餘列的多角形或長橢圓形細胞組成。
8. 木質部由導管、纖維、薄壁細胞組成多成群。
9. 髓線由數列至 9 列細胞組成。
10. 髓部為近圓形或多角形之細胞。

四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3)

1. 本品粉末為棕色。

2. 木栓細胞黃棕色，表面多角形至不規則形，側面矩形。
3. 薄壁細胞長卵形或不規則形，壁薄或連珠狀增厚，細胞間隙明顯，孔紋清晰可見。
4. 導管多網紋導管，直徑 $8\sim 28\text{ }\mu\text{m}$ 。

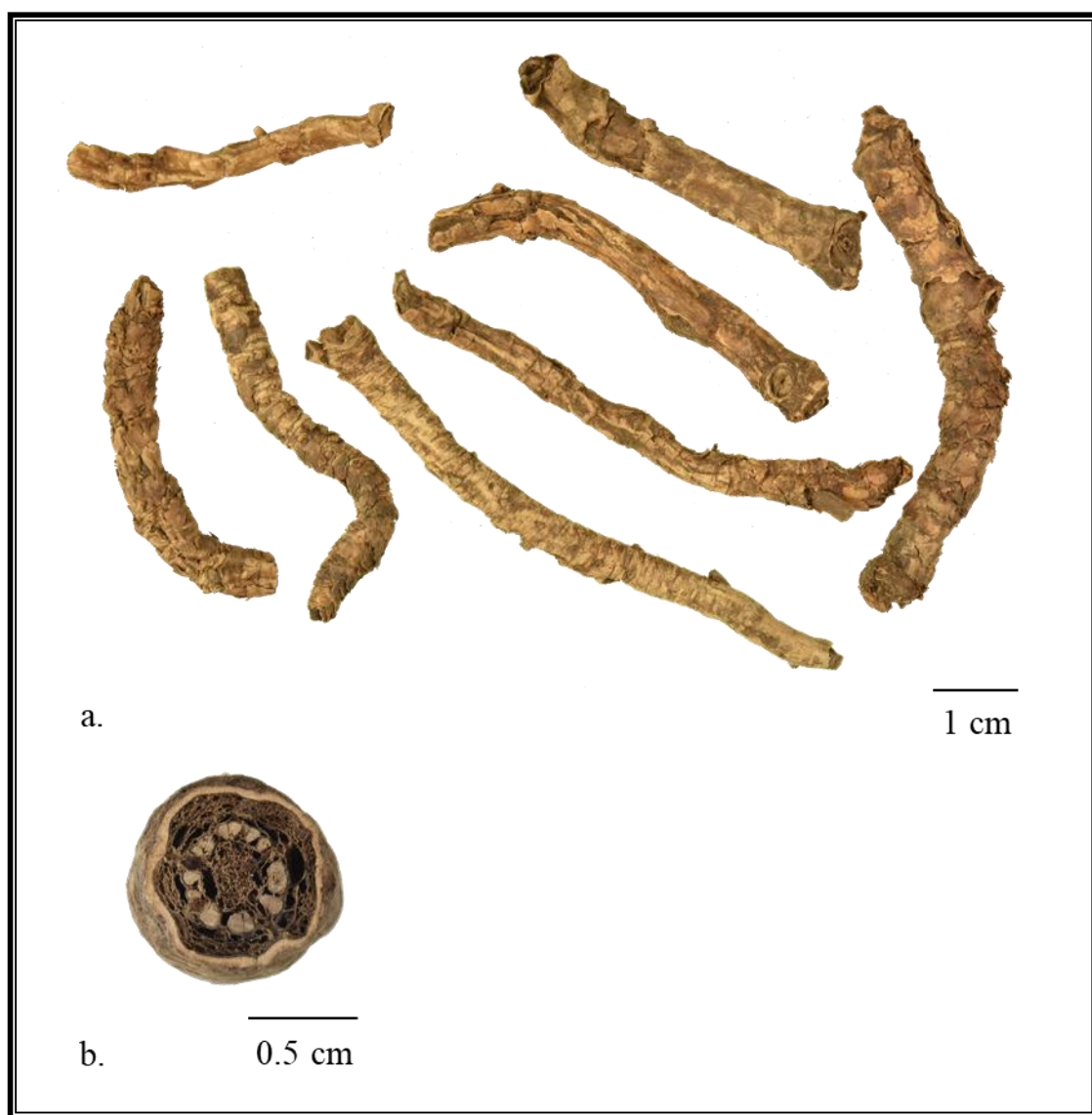


圖 1 胡黃連藥材圖

a. 藥材圖 b. 藥材橫切面圖

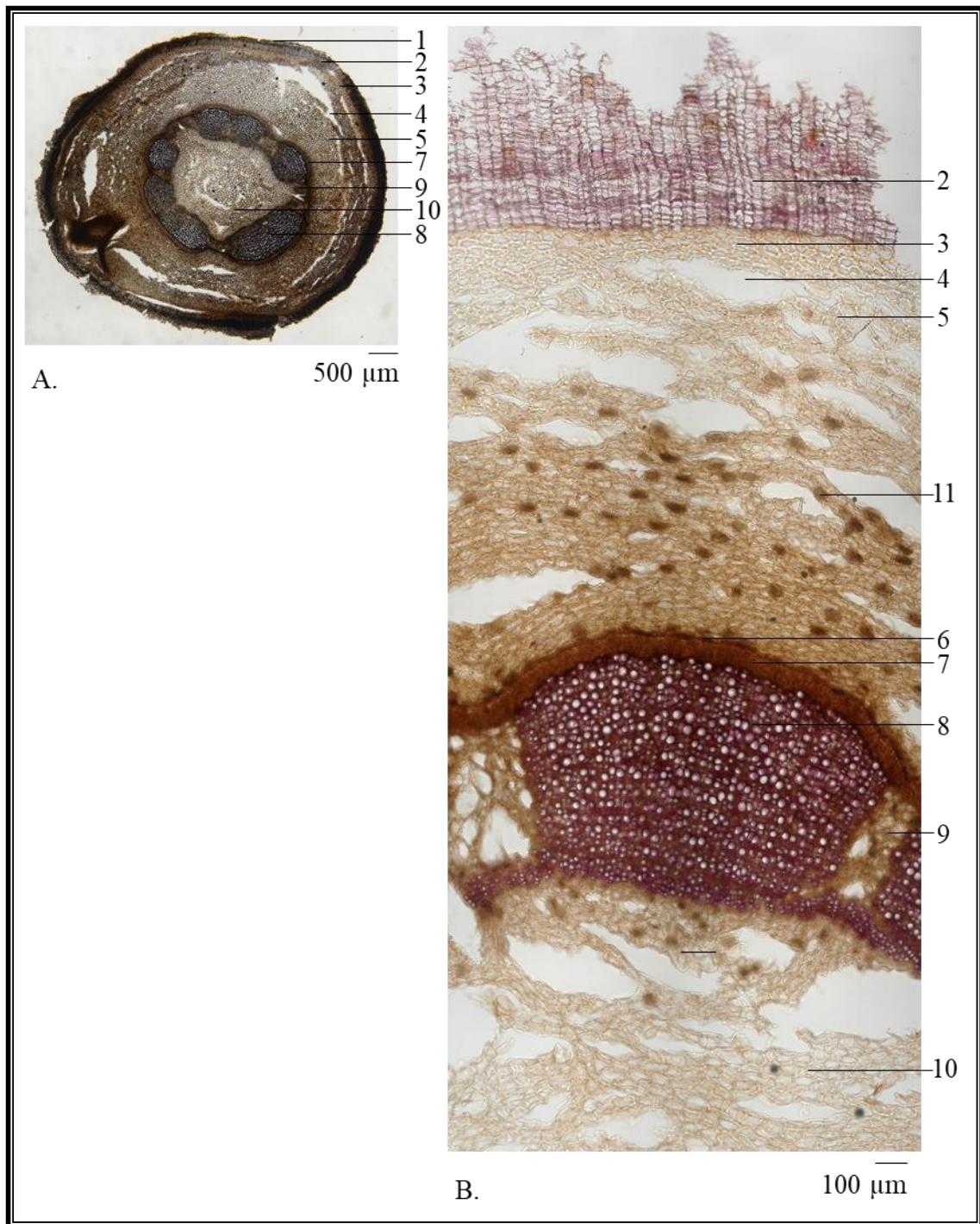


圖 2 胡黃連根莖橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖

- 1.表皮 2.栓皮層 3.外側皮層 4.通氣組織 5.皮層 6.內皮層 7.韌皮部
8.木質部 9.髓線 10.髓 11.細胞棕色物質

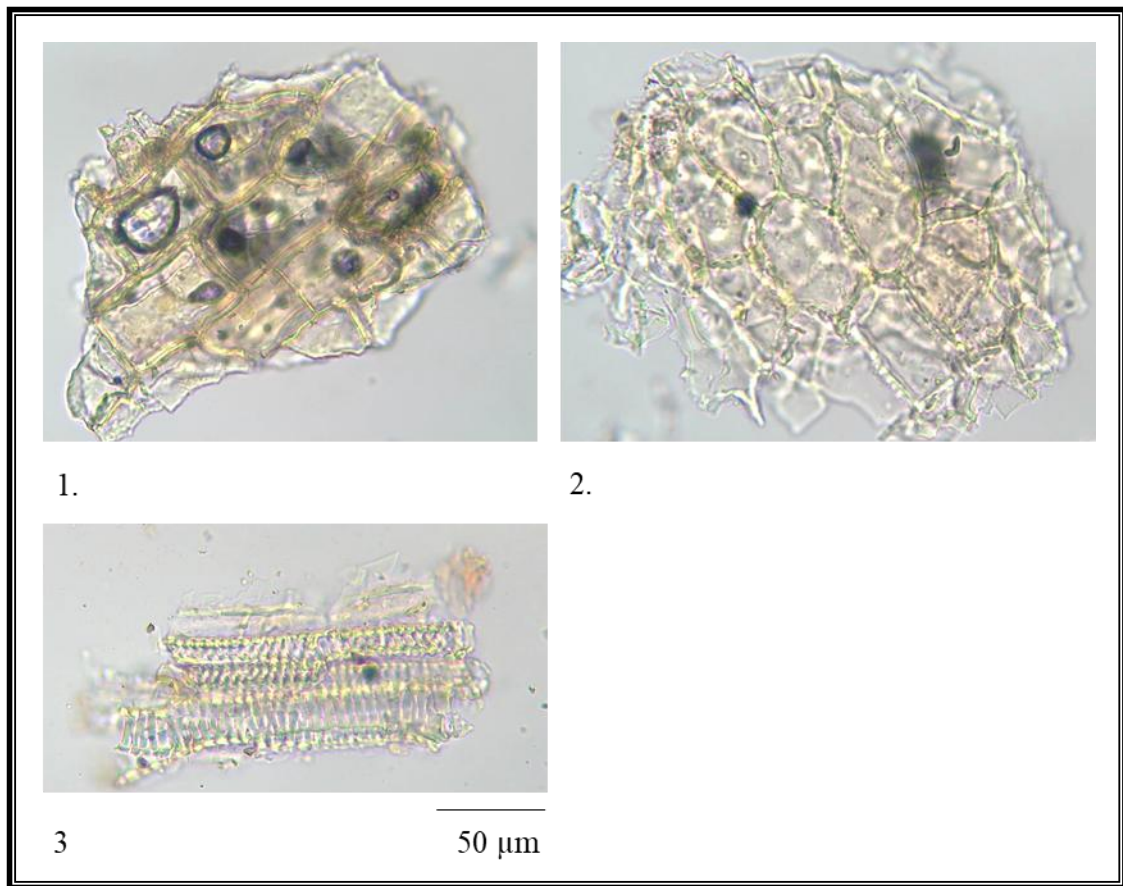


圖 3 胡黃連粉末顯微特徵圖

1.木栓細胞 2.薄壁細胞壁成連珠狀增厚 3.網紋導管

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。221~222 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(2013)。香港中藥材標準第六冊。香港：香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部。585~595 頁。
3. 肖培根(主編)(2001)。新編中藥志第一卷。北京：化學工業出版社。661~665 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。253~254 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。139 頁。
6. 任仁安(主編)(1986)。中藥鑑定學。上海科學技術出版社。173~174 頁。
7. 王滿恩、趙昌(主編)(2019)。飲片驗收經驗。山西科學技術出版社。407~408 頁。
8. 張繼(主編)(2021)。中國中藥材及飲片真偽鑑別圖典第一冊。廣東科技出版社。54 頁。
9. 張繼、陳德昌、林惠蓉、陸惠文(主編)(1995)。中國中藥材真偽鑑別圖典 1。廣東科技出版社。35 頁。
10. 黃璐琦(總主編)(2020)。新編中國藥材學第七卷。中國醫藥科技出版社。284~287 頁。

胡黃連(NEOPICRORHIZAE RHIZOMA)

一、材料

購置於臺灣各地中藥店胡黃連藥材共 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 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 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; 乙腈(HPLC grade)購置於永定科技有限公司。

(二) 對照標準品

胡黃連苷 I (Picroside I)、胡黃連苷 II (Picroside II)購置於普思生物科技公司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

取本品粉末 6 份，每份準確稱取約 0.1 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，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胡黃連苷 I 及胡黃連苷 II 最大波峰面積為最佳胡黃連藥材萃取溶媒。

(二) 最佳萃取次數評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 0.1 g，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，直到胡黃連苷 I 及胡黃連苷 II 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胡黃連苷 I 2.0 mg，加 10 mL 的甲醇製成每 1 mL 含胡黃連苷 I 200 μg 的對照標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至胡黃連苷 I 25 $\mu\text{g/mL}$ 製成對照標準品溶液。
2. 準確稱取對照標準品胡黃連苷 II 2.0 mg，加 10 mL 的甲醇製成每 1 mL 胡黃連苷 II 200 μg 的對照標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至胡黃連苷 II 25 $\mu\text{g/mL}$ 製成對照標準品溶液。

(四) 檢品溶液

準確稱取本品粉末(過 No.20 篩網)約 0.1 g，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，取濾液。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中胡黃連的含量，即得。

(六) 檢量線

1. 準確吸取胡黃連苷 I 對照標準品儲備液適量(200 $\mu\text{g/mL}$)，以甲醇稀釋成含胡黃連苷 I 分別為 200、100、50、25、10、5.0、1.0 $\mu\text{g/mL}$ 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. 準確吸取胡黃連苷 II 對照標準品儲備液適量(200 $\mu\text{g/mL}$)，以甲醇稀釋成含胡黃連苷 II 分別為 200、100、50、25、10、5.0、1.0 $\mu\text{g/mL}$ 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. 以胡黃連苷 I 為 25 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以胡黃連苷 I 的波峰面積為指標，求出相對標準差。

2. 以胡黃連苷 II 為 25 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以胡黃連苷 II 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：取同一批市售胡黃連藥材粉末，依胡黃連藥材檢品溶液製備方法平行製備 5 份胡黃連藥材檢品溶液，進樣測定，以胡黃連苷 I 及胡黃連苷 II 的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售胡黃連藥材粉末，依胡黃連藥材檢品溶液製備方法製備胡黃連藥材檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，以胡黃連苷 I 及胡黃連苷 II 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. 取已知胡黃連苷 I 含量的胡黃連藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.05 g，分別加入胡黃連苷 I 0.8 mg，並按檢品溶液製備方法操作測定。
2. 取已知胡黃連苷 II 含量的胡黃連藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.05 g，分別加入胡黃連苷 II 2.0 mg，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 × 4.6 mm, 5 µm)
2. 檢測波長：UV 275 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	13	87
20	15	85
30	17	83
45	20	80
50	100	0

(十二) 臺灣市售胡黃連藥材含量測定

取 10 批市售胡黃連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 公式計算樣品胡黃連苷 I 及胡黃連苷 II 的百分比含量。

(十三) 胡黃連檢品之 UPLC 分析條件

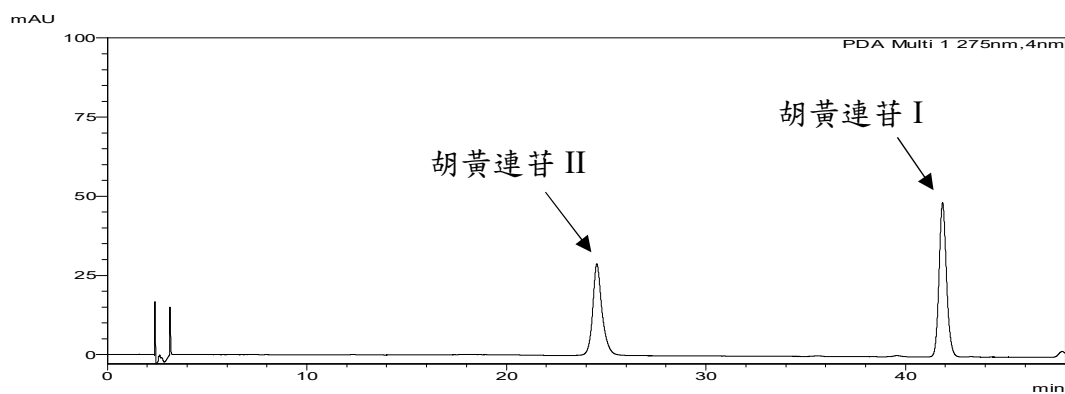
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 275 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	水(%)
0	13	87
5	15	85
7	17	83
10	20	80
13	100	0

五、結果

(一) 對照標準品胡黃連苷 I 與胡黃連苷 II 之 HPLC 層析

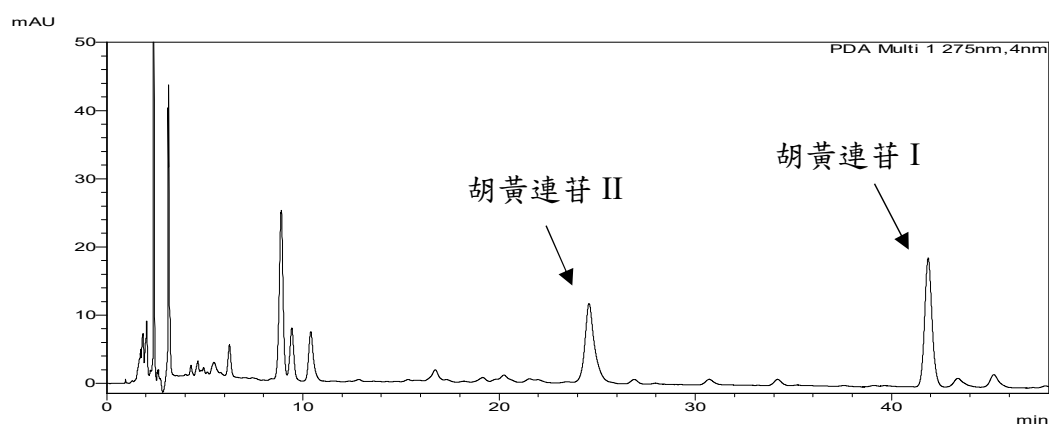
於滯留時間 24.6 及 41.9 分鐘處顯示胡黃連苷 II 及胡黃連苷 I 對照標準品波峰(圖一)。



圖一、胡黃連苷 I 及胡黃連苷 II 對照標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售胡黃連藥材檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 24.6 與 41.9 分鐘處顯示胡黃連藥材檢品中胡黃連苷 II 與胡黃連苷 I 波峰(圖二)。胡黃連苷 I 分離率(R)為 5.5，拖尾因子(T)為 1.1；胡黃連苷 II 分離率(R) 11.3，拖尾因子(T)為 1.0，均在系統適用性要求內。



圖二、市售胡黃連藥材檢品之 HPLC 層析圖

表一、胡黃連苷 I 與胡黃連苷 II 之分離率與拖尾因子

	胡黃連苷 I	胡黃連苷 II
分離率	5.5	11.3
拖尾因子	1.1	1.0

(三) 最佳萃取溶媒評估

以甲醇溶液為溶媒時，每克藥材重量所得胡黃連苷 I 與胡黃連苷 II 的波峰面積相對較高，顯示甲醇溶液為最佳萃取溶媒(表二)。

表二、不同萃取溶媒評估

溶媒	胡黃連苷 I 波峰面積	胡黃連苷 II 波峰面積	最佳萃取
甲醇	1803563	1846180	√
75% 甲醇	1745713	1939925	
50% 甲醇	1778612	1909041	
乙醇	1677260	1195044	
75% 乙醇	1747108	1840127	
50% 乙醇	1803927	1825326	

(四) 最佳萃取次數評估

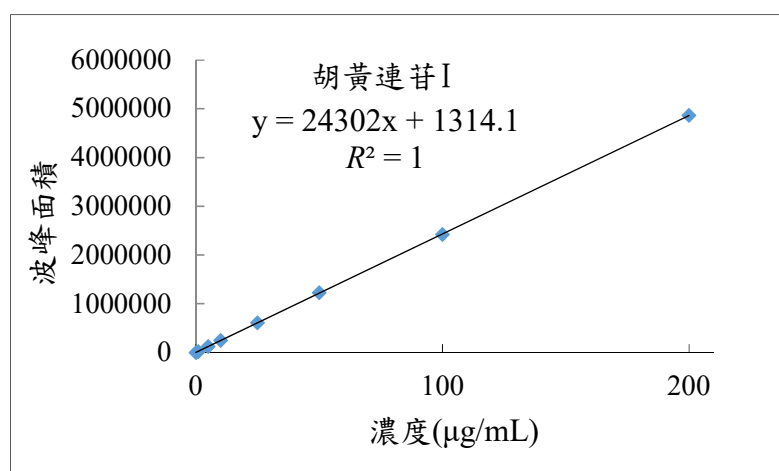
結果顯示萃取 2 次基本上已將胡黃連苷 I 與胡黃連苷 II 萃取完全(萃取率皆大於 98%)(表三)。

表三、胡黃連藥材檢品萃取次數評估

甲醇	胡黃連苷 I 波峰面積	胡黃連苷 II 波峰面積
第 1 次	1461400	1181298
第 2 次	81668	83223
第 3 次	13619	22293
第 4 次	N.D.	N.D.

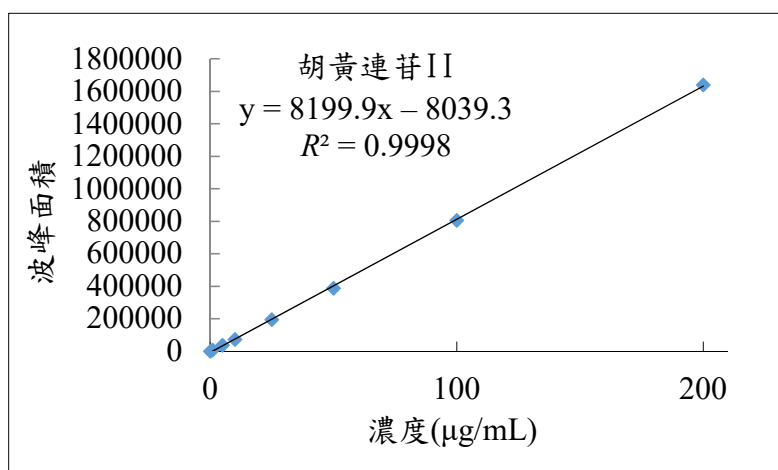
(五) 對照標準品胡黃連苷 I 與胡黃連苷 II 檢量線

1. 經不同濃度胡黃連苷 I (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 $y = 24302x + 1314.1$ ， $R^2 = 1.0000$ ，顯示濃度在 1.0–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、胡黃連苷 I 之檢量線圖

2. 經不同濃度胡黃連苷 II (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 $y = 8199.9x - 8039.3$ ， $R^2 = 0.9998$ ，顯示濃度在 1.0–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖四)。



圖四、胡黃連苷 II 之檢量線圖

表四、胡黃連苷 I 與胡黃連苷 II 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
胡黃連苷 I	1.0–200	$y = 24302x + 1314.1$	1.0000
胡黃連苷 II	1.0–200	$y = 8199.9x - 8039.3$	0.9998

(六) 精密度試驗

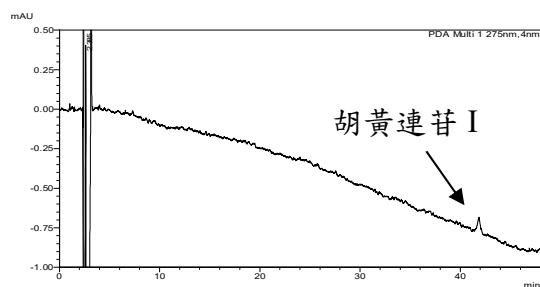
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，胡黃連苷 I 與胡黃連苷 II 精密度之相對標準差分別為 0.20%與 0.10%，均在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

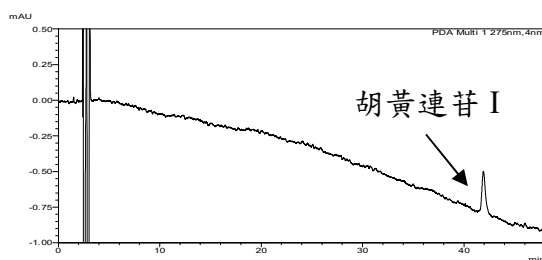
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，胡黃連苷 I 與胡黃連苷 II 重複性之相對標準差分別為 1.13%及 0.99%，均在系統適用性要求內。胡黃連苷 I 與胡黃連苷 II 在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差分別為 0.80%及 1.09%，變化差異小，若所有樣品分析都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

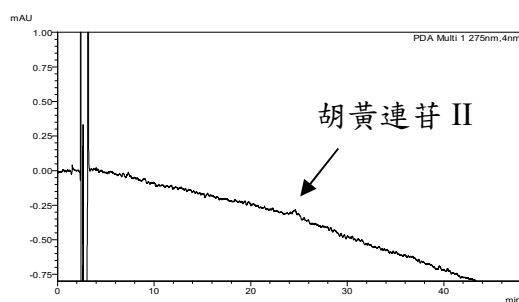
胡黃連苷 I 偵測極限為 0.10 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)，定量極限為 0.25 $\mu\text{g/mL}$ (圖六)。胡黃連苷 II 偵測極限為 0.30 $\mu\text{g/mL}$ (圖七)，定量極限為 1.00 $\mu\text{g/mL}$ (圖八)。



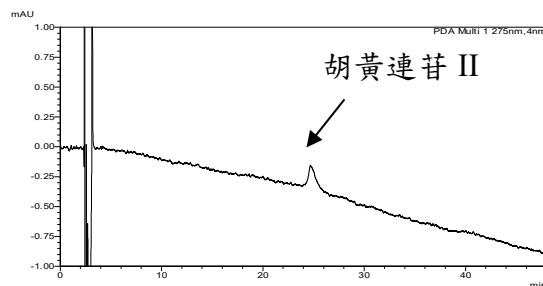
圖五、胡黃連苷 I 之偵測極限層析圖



圖六、胡黃連苷 I 之定量極限層析圖



圖七、胡黃連苷 II 之偵測極限層析圖



圖八、胡黃連苷 II 之定量極限層析圖

表五、各項檢驗分析

檢測項目	胡黃連苷 I		胡黃連苷 II	
	濃度	R.S.D. (%)	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	25 µg/mL	0.20	25 µg/mL	0.10
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.7)	1.13	檢品溶液(No.7)	0.99
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.7)	0.80	檢品溶液(No.7)	1.09
偵測極限 (n=1)	0.10 µg/mL	-	0.30 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	0.25 µg/mL	-	1.00 µg/mL	-

(九) 添加回收率試驗

胡黃連苷 I 平均添加回收率為 97.1%，相對標準偏差為 3.41% (表六)。

胡黃連苷 II 平均添加回收率為 91.4%，相對標準偏差為 3.6% (表七)。

表六、胡黃連苷 I 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	0.0502	0.8831	0.8	1.5975	94.92	97.1	3.41
2	0.0501	0.8385	0.8	1.5803	92.73		
3	0.0500	0.8380	0.8	1.6343	99.39		
4	0.0501	0.8385	0.8	1.6191	97.58		
5	0.0500	0.8380	0.8	1.6462	100.81		

表七、胡黃連苷 II 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	0.0502	2.6128	2.0	4.3789	88.31	91.4	3.60
2	0.0501	2.6181	2.0	4.5369	95.94		
3	0.0500	2.6286	2.0	4.4638	91.76		
4	0.0501	2.6181	2.0	4.3817	88.18		
5	0.0500	2.6495	2.0	4.5100	93.02		

(十) 臺灣市售胡黃連藥材含量測定

10 批胡黃連藥材之含量測定結果(乾燥品)如表八所示，胡黃連苷 I 的含量為 1.277–2.009%，胡黃連苷 II 的含量為 2.884–5.461%。胡黃連苷 I 與胡黃連苷 II 的總含量為 4.161–7.348%，建議胡黃連藥材指標成分胡黃連苷 I 與胡黃連苷 II 的總含量不得少於 2.43%。理論板數按胡黃連苷 I 波峰計算應不低於 8000 (實際值為 62000)，按胡黃連苷 II 波峰計算應不低於 8000 (實際值為 11760)。

表八、臺灣市售胡黃連藥材檢品之胡黃連苷 I 與胡黃連苷 II 的含量

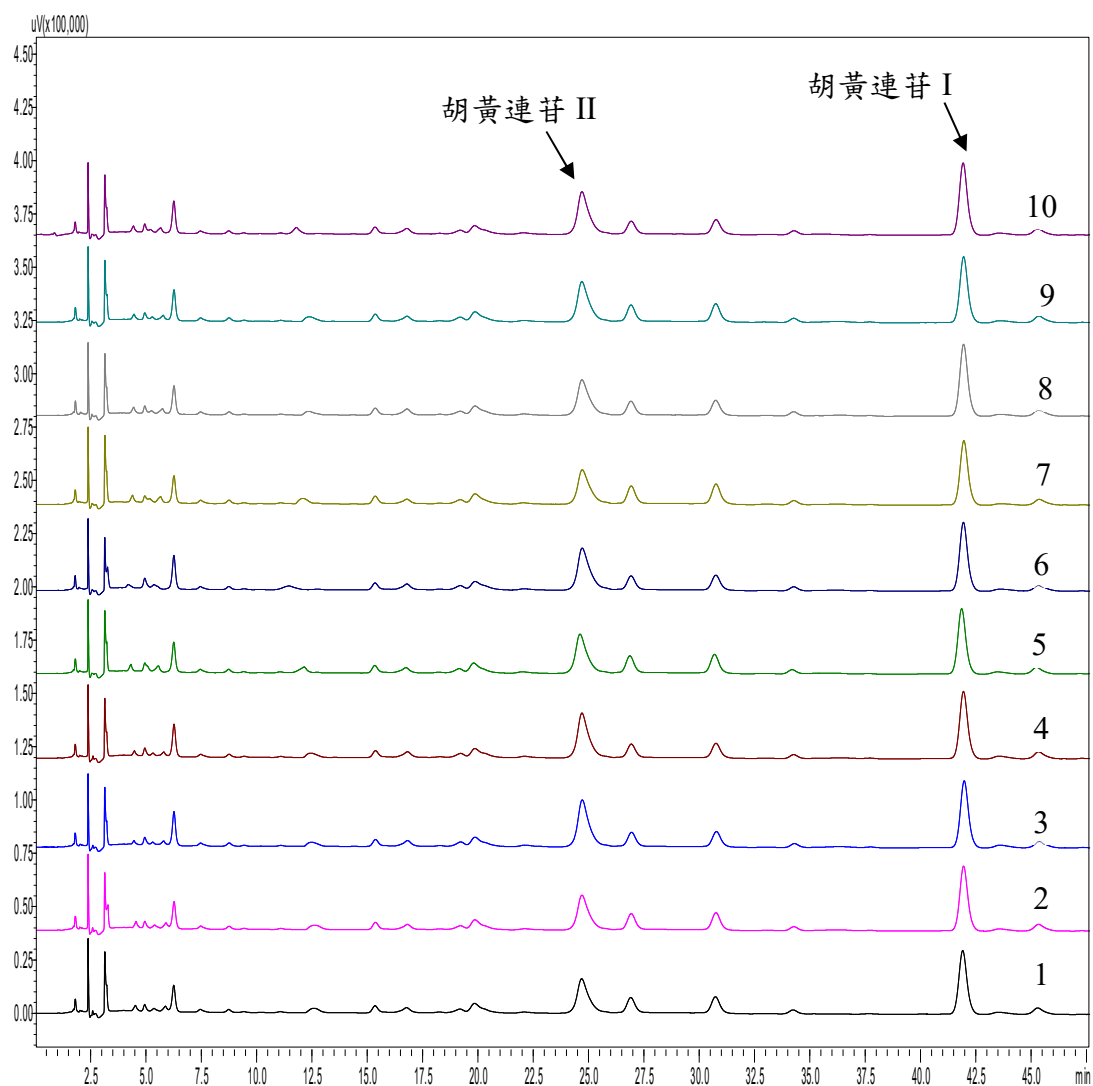
藥材編號 (No.)	胡黃連苷 I 含量(%)	胡黃連苷 II 含量(%)	胡黃連苷 I 與胡黃連苷 II 總含量(%)
1 (NC)	1.771	4.002	5.773
2 (NE)	1.782	4.068	5.850
3 (NF)	1.887	5.461	7.348
4 (NRA)	1.891	5.191	7.083
5 (CA)	1.277	2.884	4.161
6 (CB)	1.925	5.184	7.109
7 (CE1)	1.771	4.226	5.997
8 (SA)	1.991	4.302	6.293
9 (SC)	1.831	4.825	6.656
10 (SK3)	2.009	5.042	7.051
平均值±S.D.	1.814±0.207	4.519±0.776	6.332±0.954

(十一) 胡黃連藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售胡黃連藥材檢品溶液各 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 275 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：

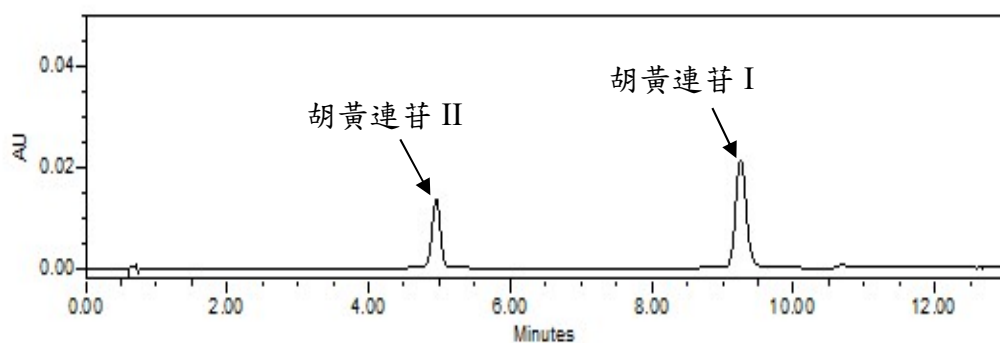
時間(min)	乙腈(%)	水(%)
0	13	87
20	15	85
30	17	83
45	20	80
50	100	0



圖九、10 批胡黃連藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 對照標準品胡黃連苷 I 與胡黃連苷 II 之 UPLC 層析

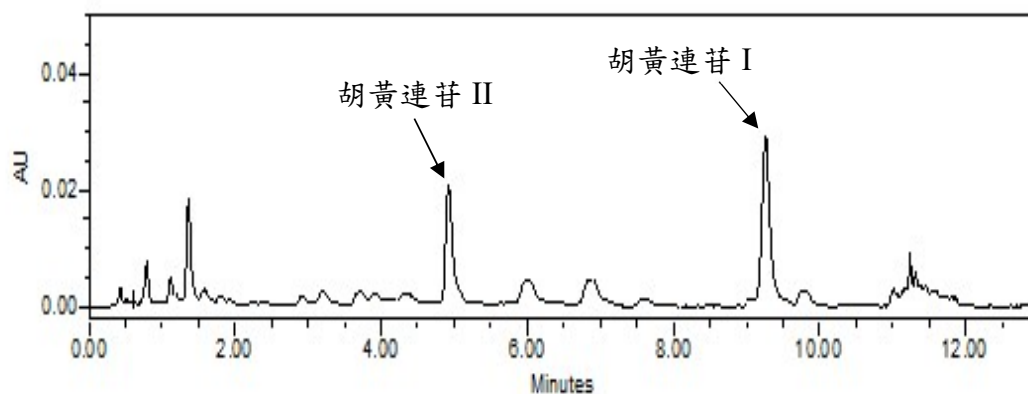
於滯留時間 4.97 及 9.28 分鐘處顯示胡黃連苷 II 及胡黃連苷 I 對照標準品波峰(圖十)。



圖十、胡黃連苷 I 及胡黃連苷 II 對照標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售胡黃連藥材檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 4.98 及 9.31 分鐘處分別顯示胡黃連藥材檢品中胡黃連苷 II 與胡黃連苷 I 波峰(圖十一)。

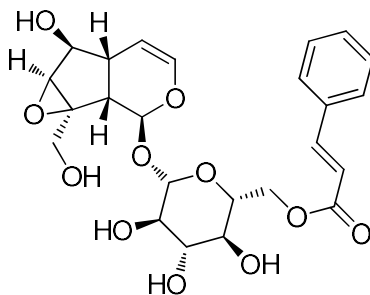


圖十一、市售胡黃連藥材檢品之 UPLC 層析圖

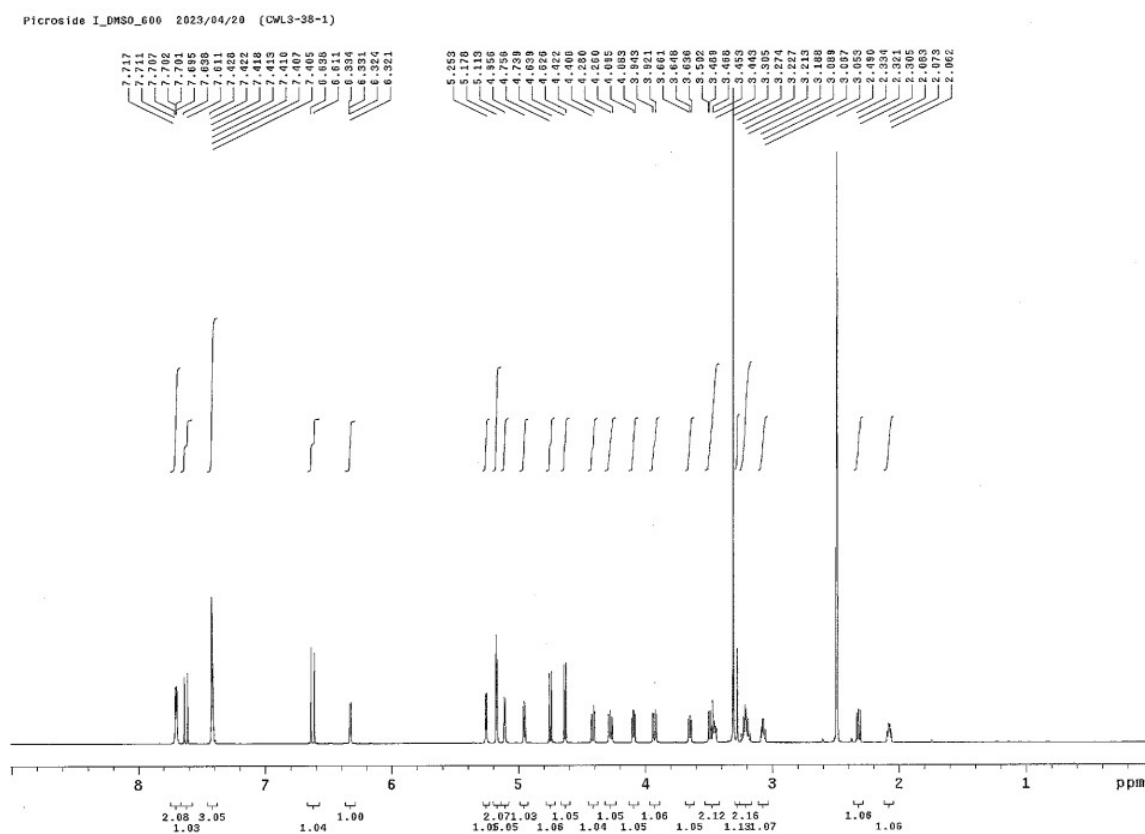
(十四) 胡黃連苷 I 的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{24}H_{28}O_{11}$ ；分子量：492.47；熔點：76–77 °C；白色粉末。

(十五) 胡黃連苷 I 的結構

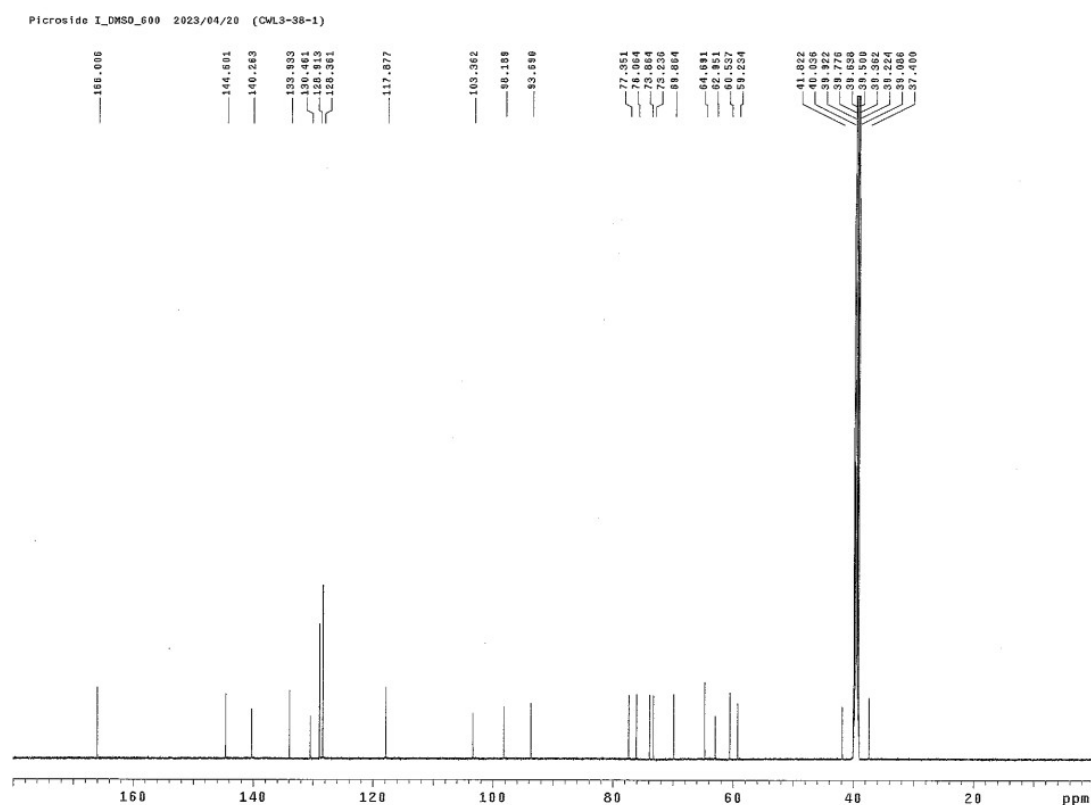


(十六) 胡黃連苷 I 的 1H NMR 圖譜



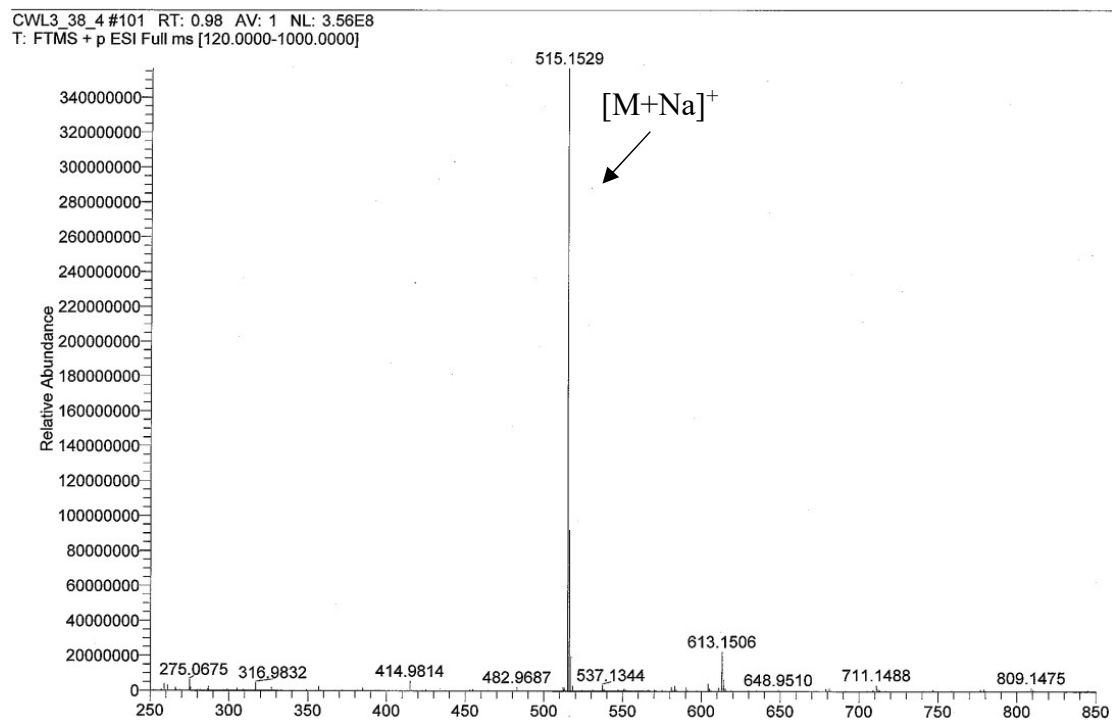
圖十二、胡黃連苷 I 的 1H NMR 圖譜(DMSO- d_6)

(十七) 胡黃連苷 I 的 ^{13}C NMR 圖譜



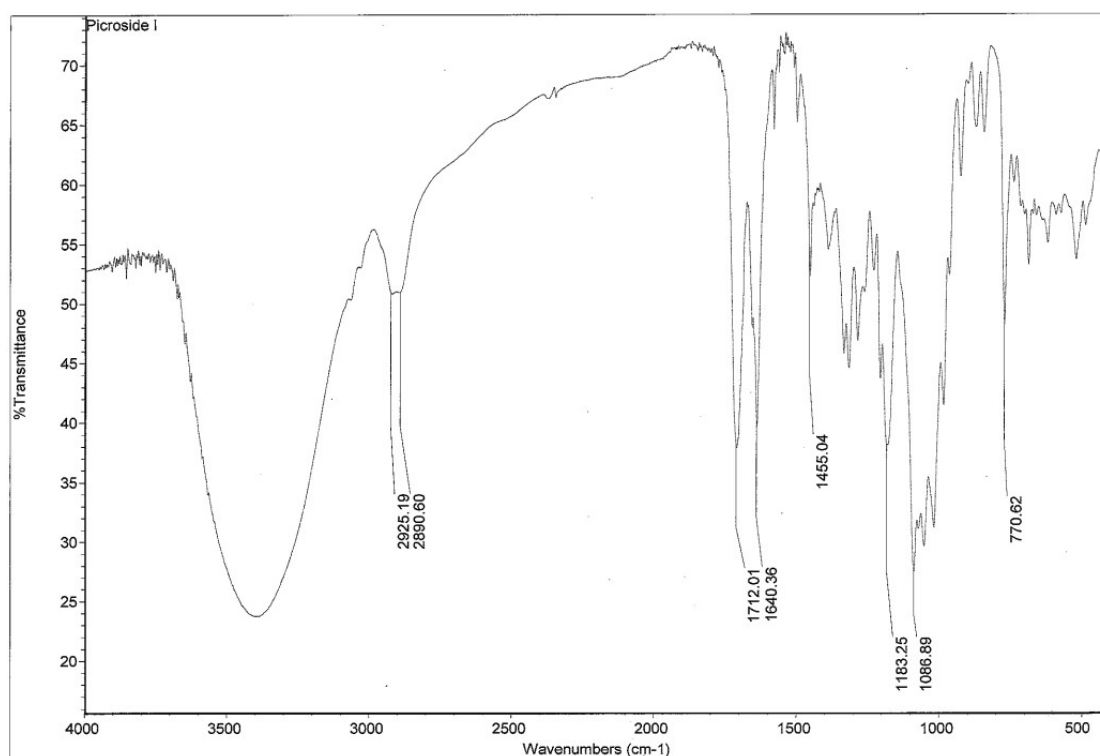
圖十三、胡黃連苷 I 的 ^{13}C NMR 圖譜(DMSO- d_6)

(十八) 胡黃連苷 I 的 ESI-MS 圖譜



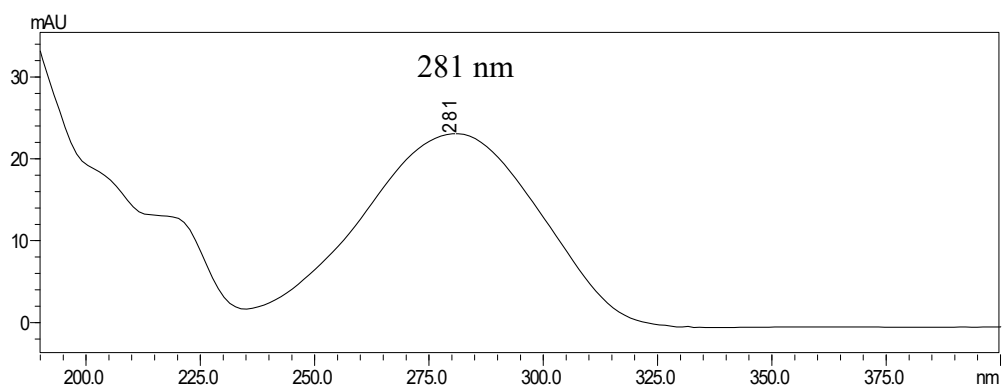
圖十四、胡黃連苷 I 的 ESI-MS 圖譜

(十九) 胡黃連苷 I 的 FTIR 圖譜



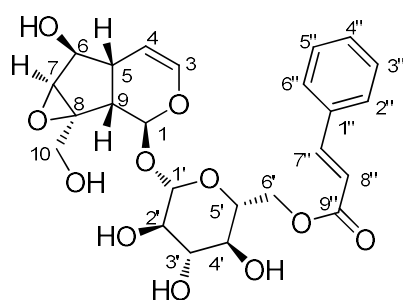
圖十五、胡黃連苷 I 的 FTIR 圖譜

(二十) 胡黃連苷 I 的 UV 圖譜



圖十六、胡黃連苷 I 的 UV 圖譜

(二十一) 胡黃連苷 I 的氫、碳化學位移



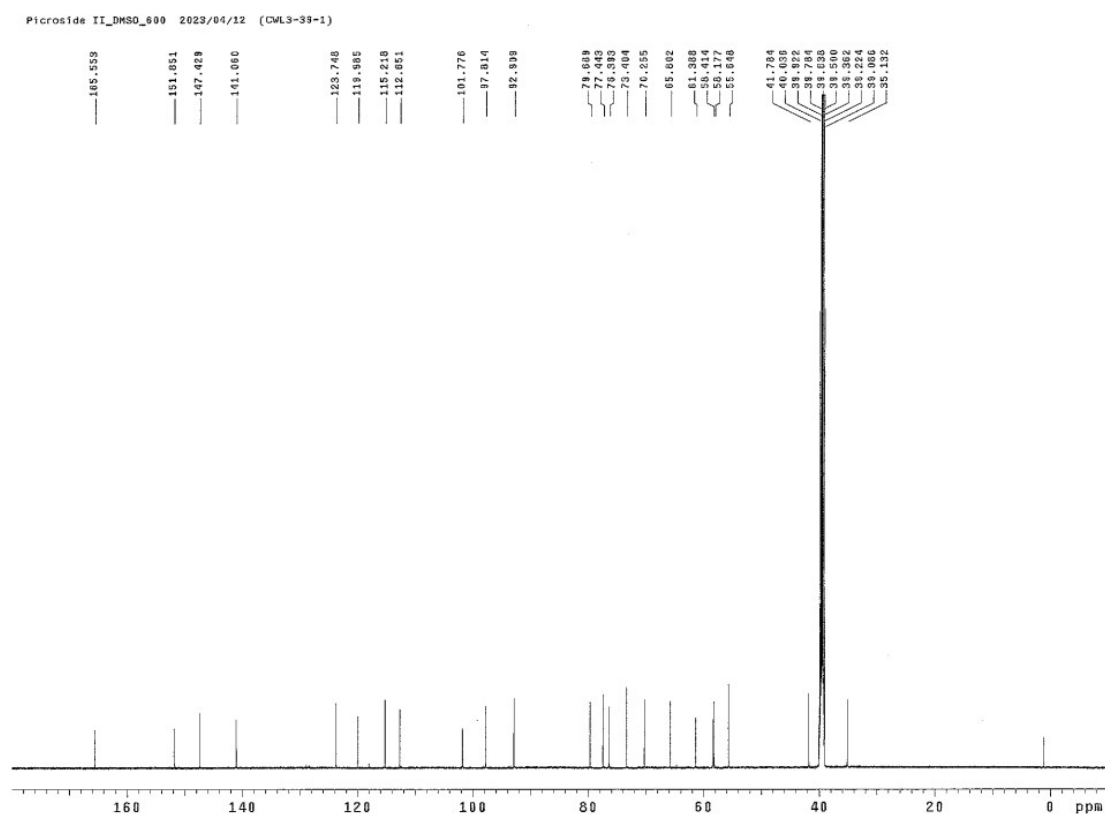
胡黃連苷 I

表九、胡黃連苷 I 的氫、碳化學位移(DMSO-*d*₆)

position	δ_H (600 MHz) ^a	δ_C (150 MHz)
1	4.75 (d, 7.2)	93.7
3	6.33 (dd, 6.0, 1.8)	140.3
4	4.96 (dd, 6.0, 4.8)	103.4
5	2.06–2.10 (m)	37.4
6	3.64–3.66 (m)	77.4
7	3.27 (s)	60.5
8	-	64.7
9	2.32 (dd, 9.6, 7.2)	41.8
10	3.48 (dd, 13.2, 7.8)	59.2
1'	4.63 (d, 7.2)	98.2
2'	3.05–3.09 (m)	73.2
3'	3.17–3.24 (m)	69.9
4'	3.17–3.20 (m)	76.1
5'	3.44–3.47 (m)	73.9
6'	4.28 (dd, 12.0, 6.0), 4.41 (dd, 12.0, 2.4)	63.0
1''	-	133.9
2'',6''	7.70–7.71 (m)	128.4
3'',5''	7.41–7.43 (m)	128.9
4''	7.41–7.43 (m)	130.5
7''	7.62 (d, 16.2)	144.6
8''	6.62 (d, 16.2)	117.9
9''	-	166.0
10-OH	4.09 (dd, 7.8, 5.4)	-
2'-OH	5.18 (d, 6.0)	-
3'-OH	5.11 (d, 4.8)	-
4'-OH	5.26 (d, 5.4)	-

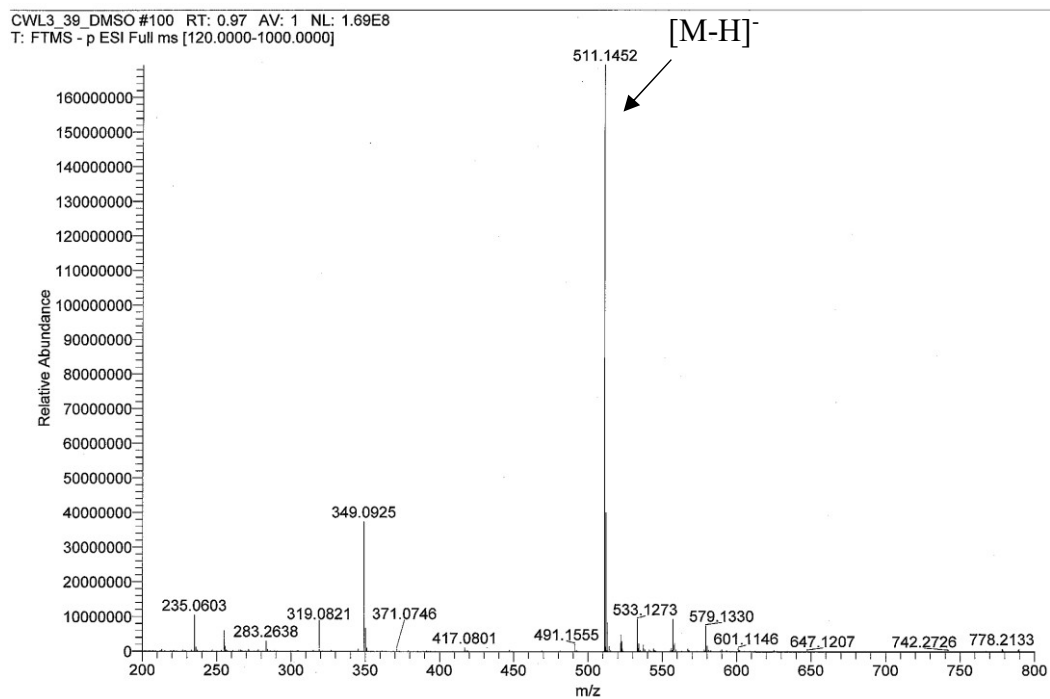
^a(Multiplicity, *J* in Hz) in ppm.

(二十五) 胡黃連苷 II 的 ^{13}C NMR 圖譜



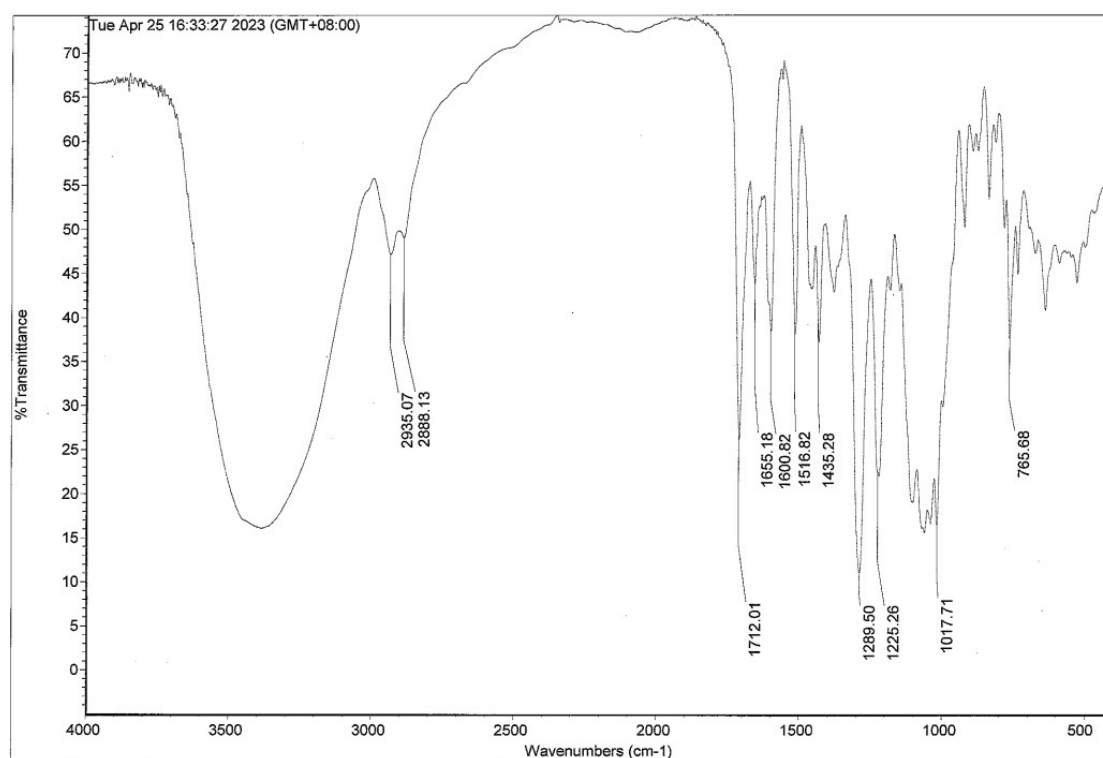
圖十八、胡黃連苷 II 的 ^{13}C NMR 圖譜(DMSO- d_6)

(二十六) 胡黃連苷 II 的 ESI-MS 圖譜



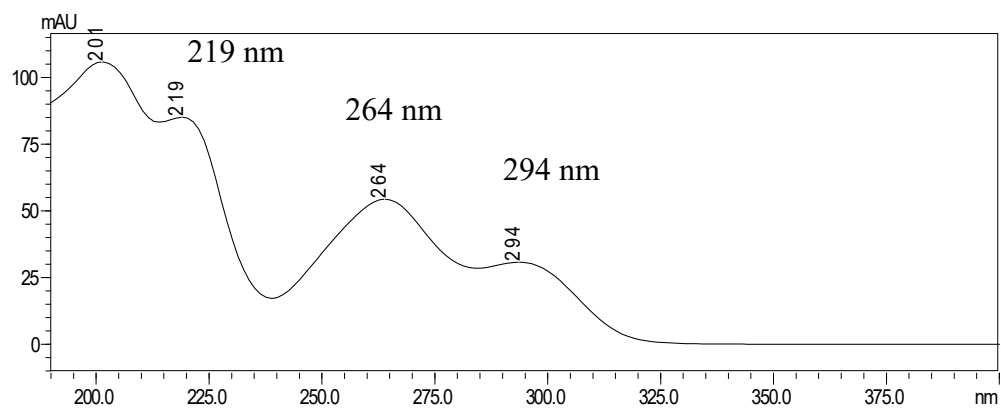
圖十九、胡黃連苷 II 的 ESI-MS 圖譜

(二十七) 胡黃連苷 II 的 FTIR 圖譜



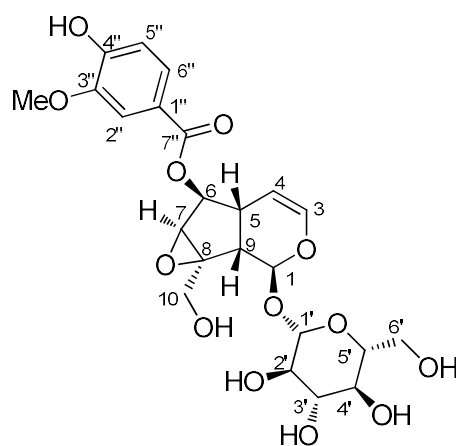
圖二十、胡黃連苷 II 的 FTIR 圖譜

(二十八) 胡黃連苷 II 的 UV 圖譜



圖二十一、胡黃連苷 II 的 UV 圖譜

(二十九) 胡黃連苷 II 的氫、碳化學位移



胡黃連苷 II

表十、胡黃連苷 II 的氫、碳化學位移(DMSO-*d*₆)

position	δ_H (600 MHz) ^a	δ_C (150 MHz)
1	5.10 (dd, 7.2, 2.4)	92.9
3	6.42 (dd, 6.0, 1.8)	141.1
4	4.96 (dd, 6.0, 4.2)	101.8
5	3.00–3.06 (m)	35.1
6	5.05 (dd, 8.4, 1.2)	79.7
7	3.69–3.74 (m)	58.2
8	-	65.8
9	2.47 (dd, 2.4)	41.8
10	3.69–3.73 (m), 3.91 (dd, 13.2, 5.4)	58.4
1'	4.61 (d, 7.8)	97.8
2'	3.00–3.06 (m)	73.4
3'	3.14–3.20 (m)	76.4
4'	3.00–3.06 (m)	70.3
5'	3.14–3.20 (m)	77.4
6'	3.40–3.44 (m), 3.69–3.74 (m)	61.4
1''	-	120.0
2''	7.46 (d, 1.8)	112.7
3''	-	147.4
4''	-	151.9
5''	6.88 (d, 8.4)	115.2
6''	7.51 (dd, 8.4, 1.8)	123.7
7''	-	165.6
3''-OMe	3.82 (s)	55.7
10-OH	4.30 (dd, 7.2, 5.4)	-
6'-OH	4.54 (dd, 7.2, 4.8)	-

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

胡黃連

生藥名：NEOPICRORHIZAE RHIZOMA

英文名：Figwortflower Neopicrorhiza Rhizome

基 原：本品為玄參科 Scrophulariaceae 植物胡黃連 *Neopicrorhiza scrophulariiflora* (Pennell) D.Y.Hong 之乾燥根莖。

一、方法

(一) 檢品溶液 【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》《香港中藥材標準第六冊》

——取本品粉末 1.0 g，加乙醇 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 2】(自行開發) ✓

——取本品粉末 0.5 g，加乙醇 10 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 取胡黃連苷 I (Picroside I) 和胡黃連苷 II (Picroside II) 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》

——乙酸乙酯：乙醇：無水乙酸 (6：3：0.2)

【展開劑 2】《香港中藥材標準第六冊》✓

——乙酸乙酯：乙醇：無水乙酸 (6：1：0.2)

(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)下檢視。

二、萃法選擇及濃度測試

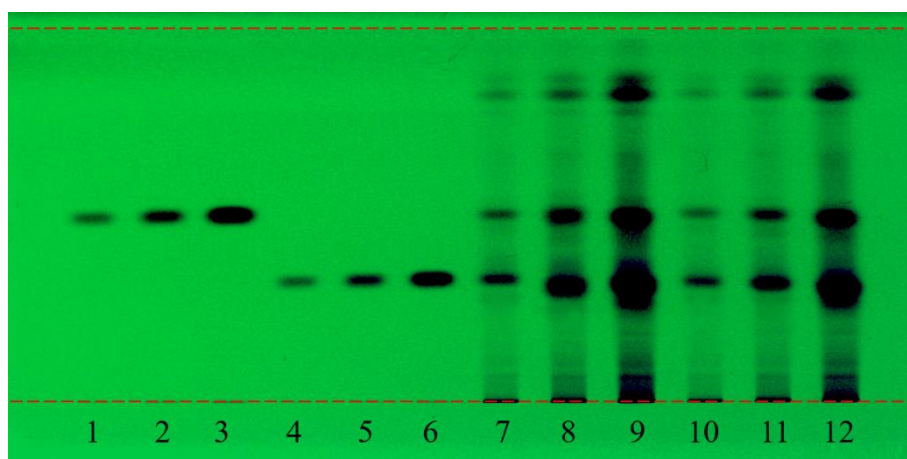
實驗日期：112/05/16

相對溼度(RH)：67%

溫度(RT)：24.7 °C

【展開劑 2】《香港中藥材標準第六冊》——乙酸乙酯：乙醇：無水乙酸 (6：1：0.2)

——HPTLC 紫外光(254nm)檢出



編號	名稱	點注量
1, 2, 3	胡黃連苷 I (1.0 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
4, 5, 6	胡黃連苷 II (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

建議萃法：兩種萃取方法，檢品溶液中皆可分離與檢出胡黃連苷 I 和胡黃連苷 II，因濃度適中，故採用自行開發之【萃取方法 2】。

建議點注量：胡黃連苷 I 2 μ L，胡黃連苷 II 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 2】2 μ L。

三、溶媒系統選擇

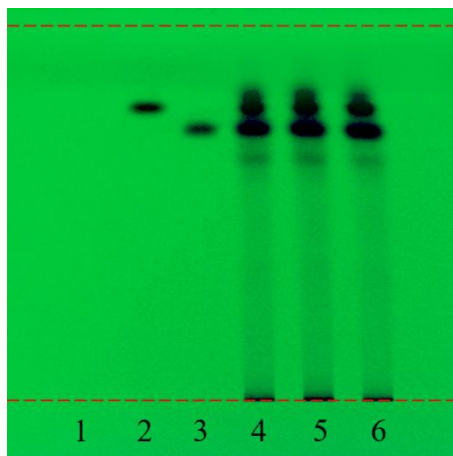
實驗日期：112/05/16

相對溼度(RH)：67%

溫度(RT)：24.7 °C

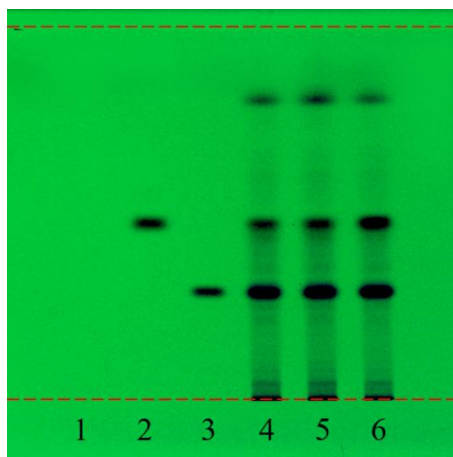
【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——乙酸乙酯：乙醇：無水乙酸 (6：3：0.2)

【萃取方法 2】(自行開發)——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(胡黃連苷 I R_f 值為 0.87，胡黃連苷 II R_f 值為 0.78)



【展開劑 2】《香港中藥材標準第六冊》——乙酸乙酯：乙醇：無水乙酸 (6：1：0.2) ✓

【萃取方法 2】(自行開發)——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(胡黃連苷 I R_f 值為 0.50，胡黃連苷 II R_f 值為 0.31)



1：Blank

2：胡黃連苷 I

6：Spike

3：胡黃連苷 II

4，5：檢品溶液 7

建議溶媒系統：以【萃取方法 2】方式，以香港中藥材標準【展開劑 2】展開，顯示胡黃連苷 I 及胡黃連苷 II 的 R_f 值適中，且分離佳，故採用【展開劑 2】。

四、觀察方式選擇

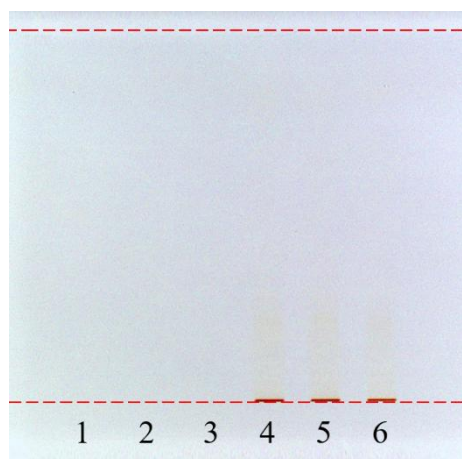
實驗日期：112/05/16

相對溼度(RH)：67%

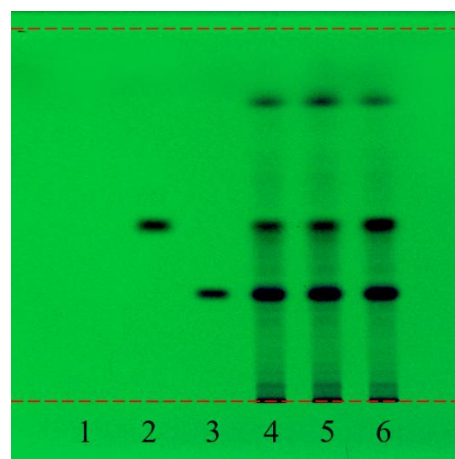
溫度(RT)：24.7 °C

【展開劑 2】《香港中藥材標準第六冊》——乙酸乙酯：乙醇：無水乙酸 (6：1：0.2)

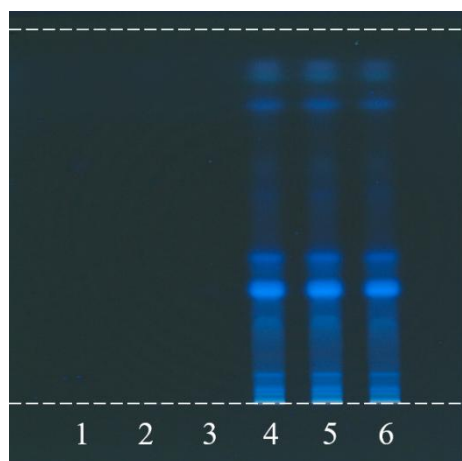
【萃取方法 2】(自行開發)－HPTLC 可見光檢出



【萃取方法 2】(自行開發)－HPTLC 紫外光(254 nm)檢出✓



【萃取方法 2】(自行開發)－HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



- | | |
|-----------|------------|
| 1：Blank | 4，5：檢品溶液 7 |
| 2：胡黃連苷 I | 6：Spike |
| 3：胡黃連苷 II | |

建議觀察方式：於紫外光(254 nm)檢視下，顯示有明顯分離之條帶。

五、十批胡黃連藥材樣品檢測

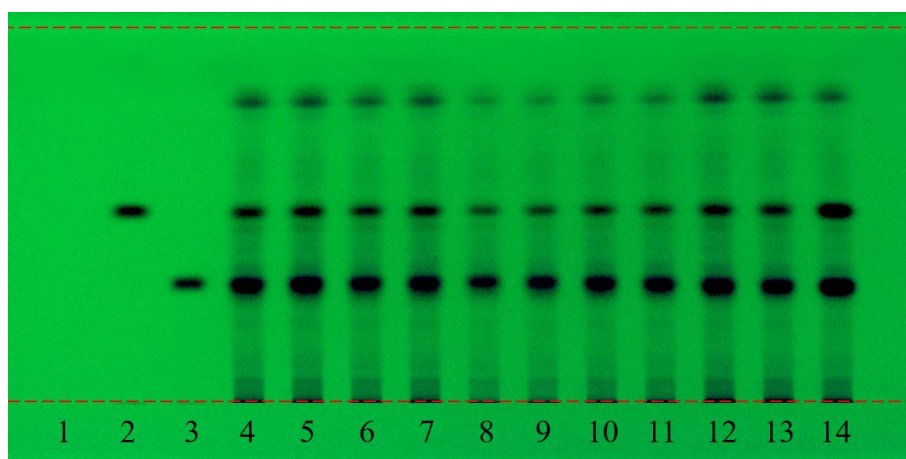
實驗日期：112/05/16

相對溼度(RH)：67%

溫度(RT)：24.7 °C

【展開劑 2】《香港中藥材標準第六冊》——乙酸乙酯：乙醇：無水乙酸 (6：1：0.2)

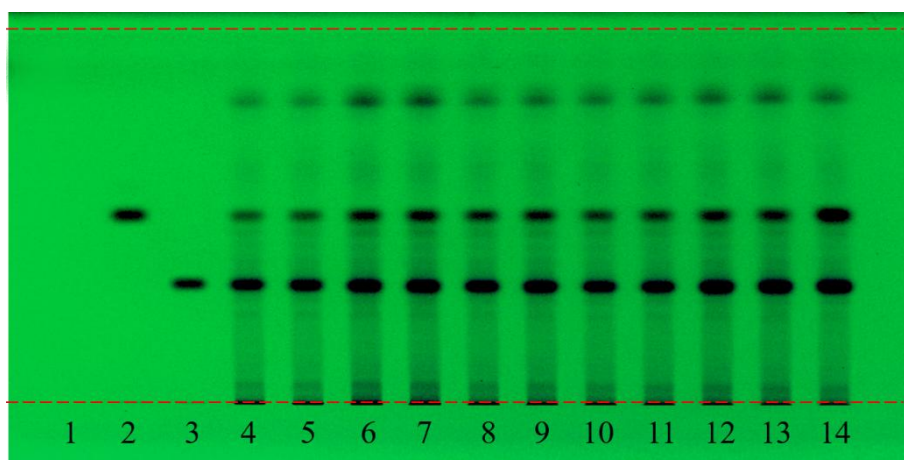
【萃取方法 2】(自行開發)－HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



1	Blank	8, 9	檢品溶液 3 (NF)
2	胡黃連苷 I (1.0 mg/mL)	10, 11	檢品溶液 4 (NRA)
3	胡黃連苷 II (1.0 mg/mL)	12, 13	檢品溶液 5 (CA)
4, 5	檢品溶液 1 (NC)	14	Spike (檢品溶液 7)
6, 7	檢品溶液 2 (NE)		

【展開劑 2】《香港中藥材標準第六冊》——乙酸乙酯：乙醇：無水乙酸 (6：1：0.2)

【萃取方法 2】(自行開發)－HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



1	Blank	8, 9	檢品溶液 8 (SA)
2	胡黃連苷 I (1.0 mg/mL)	10, 11	檢品溶液 9 (SC)
3	胡黃連苷 II (1.0 mg/mL)	12, 13	檢品溶液 10 (SK3)
4, 5	檢品溶液 6 (CB)	14	Spike (檢品溶液 7)
6, 7	檢品溶液 7 (CE1)		

結論與建議：以【萃取方法 2】方式及香港中藥材標準之【展開劑 2】分離與檢出胡黃連苷 I 和胡黃連苷 II 較佳，以紫外光(254 nm)下檢視較佳。

胡黃連飲片(NEOPICRORHIZAE RHIZOMA)

一、材料

購置於臺灣各地中藥店胡黃連飲片共 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 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 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; 乙腈(HPLC grade)購置於永定科技有限公司。

(二) 對照標準品

胡黃連苷 I(Picroside I)、胡黃連苷 II(Picroside II)購置於普思生物科技公司, 純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

胡黃連飲片最佳萃取溶媒同胡黃連藥材。

(二) 最佳萃取次數評估

胡黃連飲片最佳萃取次數同胡黃連藥材。

(三) 對照標準品溶液

1. 準確稱取對照標準品胡黃連苷 I 2.0 mg, 加 10 mL 的甲醇製成每 1 mL 含胡黃連苷 I 200 μg 的對照標準品儲備溶液, 並以甲醇稀釋至胡黃連苷 I 25 μg/mL 製成對照標準品溶液。
2. 準確稱取對照標準品胡黃連苷 II 2.0 mg, 加 10 mL 的甲醇製成每 1 mL 含胡黃連苷 II 200 μg 的對照標準品儲備溶液, 並以甲醇稀釋至胡黃連苷 II 25 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 0.1 g，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，取濾液。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中胡黃連的含量，即得。

(六) 檢量線

1. 準確吸取胡黃連苷 I 對照標準品儲備液適量(200 $\mu\text{g/mL}$)，以甲醇稀釋成含胡黃連苷 I 分別為 200、100、50、25、10、5.0、1.0 $\mu\text{g/mL}$ 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. 準確吸取胡黃連苷 II 對照標準品儲備液適量(200 $\mu\text{g/mL}$)，以甲醇稀釋成含胡黃連苷 II 分別為 200、100、50、25、10、5.0、1.0 $\mu\text{g/mL}$ 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. 以胡黃連苷 I 為 25 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以胡黃連苷 I 的波峰面積為指標，求出相對標準差。
2. 以胡黃連苷 II 為 25 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以胡黃連苷 II 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：取同一批市售胡黃連飲片粉末，依胡黃連飲片檢品溶液製備方法平行製備 5 份胡黃連飲片檢品溶液，進樣測定，以胡黃連苷 I 及胡黃連苷 II 的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售胡黃連飲片粉末，依胡黃連飲片檢品溶液製備方法製備胡黃連飲片檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，以胡黃連苷 I 及胡黃連苷 II 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. 取已知胡黃連苷 I 含量的胡黃連飲片粉末 5 份，每份準確稱取約 0.05 g，分別加入胡黃連苷 I 0.8 mg，並按檢品溶液製備方法操作測定。
2. 取已知胡黃連苷 II 含量的胡黃連飲片粉末 5 份，每份準確稱取約 0.05 g，分別加入胡黃連苷 II 2.0 mg，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 × 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 275 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：10 μ L
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	水(%)
0	13	87
20	15	85
30	17	83
45	20	80
50	100	0

(十二) 臺灣市售胡黃連飲片含量測定

取 10 批市售胡黃連飲片及 10 批市售胡黃連飲片依檢品溶液製備方法製備檢品溶液，取各 10 μ L 連續 3 針注入 HPLC，所得平均波峰面積依附錄 I 公式計算樣品胡黃連苷 I 及胡黃連苷 II 的百分比含量。

(十三) 胡黃連檢品之 UPLC 分析條件

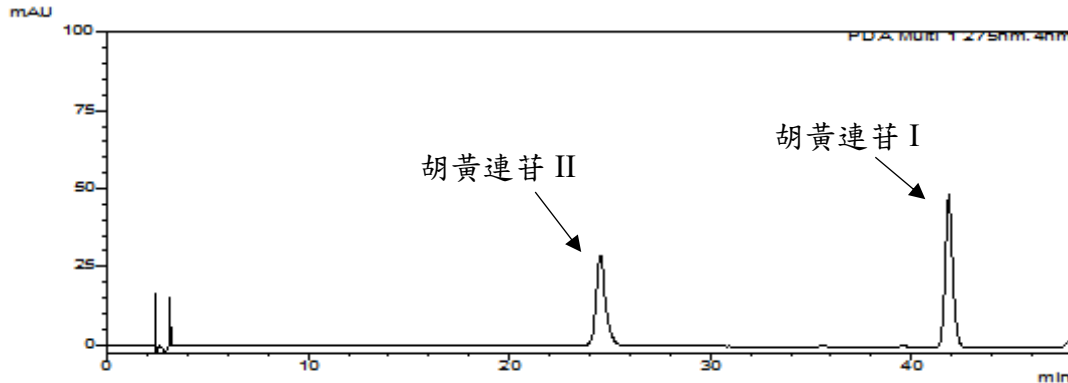
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 µm)
2. 檢測波長：UV 275 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 µL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	水(%)
0	13	87
5	15	85
7	17	83
10	20	80
13	100	0

五、結果

(一) 對照標準品胡黃連苷 I 與胡黃連苷 II 之 HPLC 層析

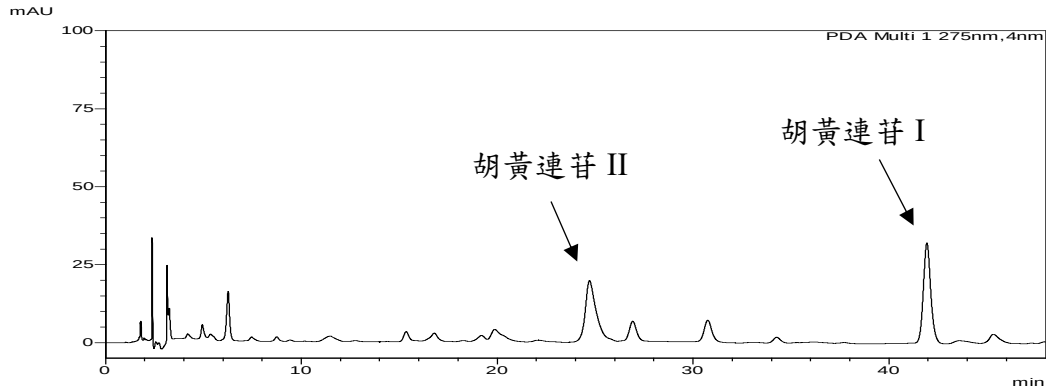
於滯留時間 24.6 及 41.9 分鐘處顯示胡黃連苷 II 及胡黃連苷 I 對照標準品波峰(圖一)。



圖一、胡黃連苷 I 與胡黃連苷 II 對照標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售胡黃連飲片檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 24.7 與 41.9 分鐘處顯示胡黃連飲片檢品中胡黃連苷 II 與胡黃連苷 I 波峰(圖二)。胡黃連苷 I 分離率(R)為 5.5，拖尾因子(T)為 1.1；胡黃連苷 II 分離率(R) 11.3，拖尾因子(T)為 1.0，均在系統適用性要求內。



圖二、市售胡黃連飲片檢品之 HPLC 層析圖

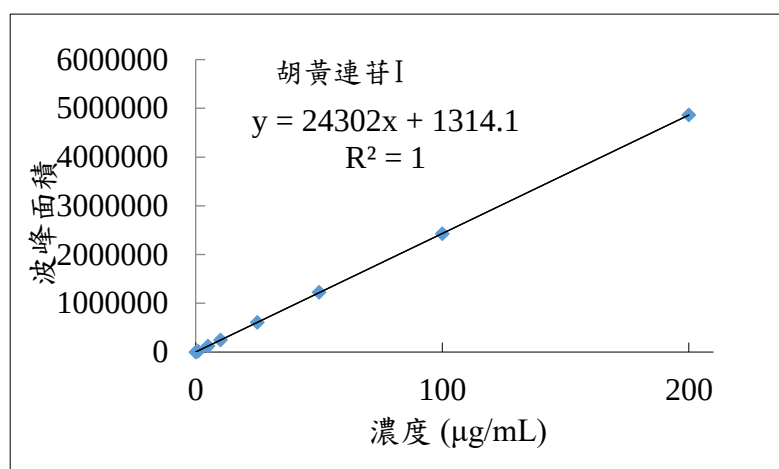
表一、胡黃連苷 I 與胡黃連苷 II 之分離率與拖尾因子

	胡黃連苷 I	胡黃連苷 II
分離率	5.5	11.3
拖尾因子	1.1	1.0

(三) 對照標準品胡黃連苷 I 與胡黃連苷 II 檢量線

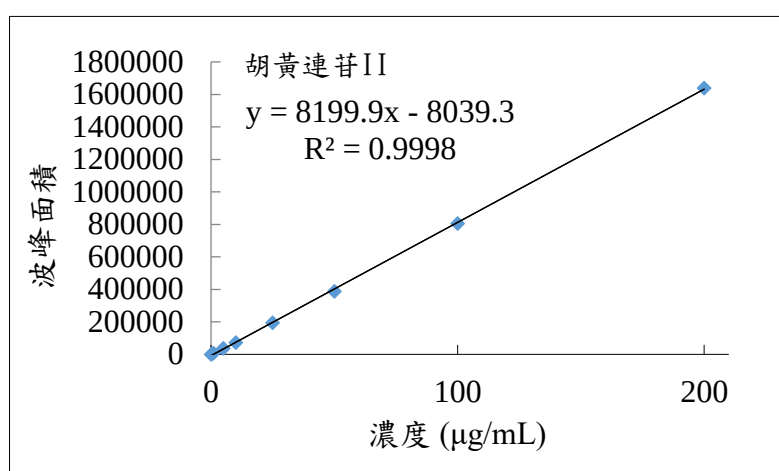
1. 經不同濃度胡黃連苷 I (x)對各自層析波峰面積的反應值(y)所得到的檢量線方程式為 $y = 24302x + 1314.1$ ， $R^2 = 1.0000$ ，顯示濃度在 1.0–200 $\mu\text{g/mL}$

有良好的線性關係(圖三)。



圖三、胡黃連苷 I 之檢量線圖

2. 經不同濃度胡黃連苷 II (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 $y = 8199.9x - 8039.3$ ， $R^2 = 0.9998$ ，顯示濃度在 1.0–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖四)。



圖四、胡黃連苷 II 之檢量線圖

表二、胡黃連苷 I 與胡黃連苷 II 之檢量線方程式

對照標準品	濃度(μg/mL)	線性回歸方程式	R^2
胡黃連苷 I	1.0–200	$y = 24302x + 1314.1$	1.0000
胡黃連苷 II	1.0–200	$y = 8199.9x - 8039.3$	0.9998

(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，胡黃連苷 I 與胡

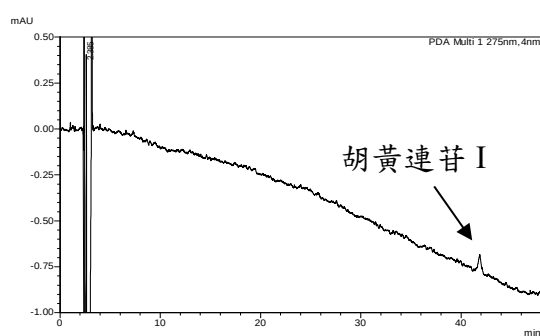
黃連苷 II 精密度之相對標準差分別為 0.20%與 0.10%，均在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

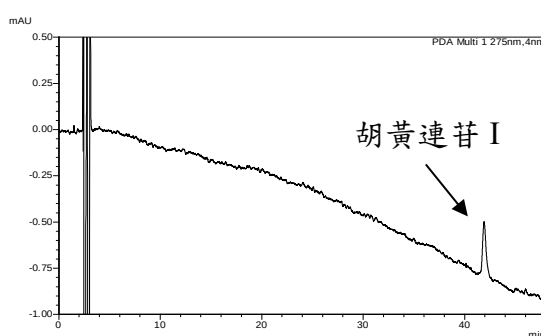
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，胡黃連苷 I 與胡黃連苷 II 重複性之相對標準差分別為 0.86%及 0.56%，均在系統適用性要求內。胡黃連苷 I 與胡黃連苷 II 在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差分別為 0.10%及 1.49%，變化差異小，若所有樣品分析都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

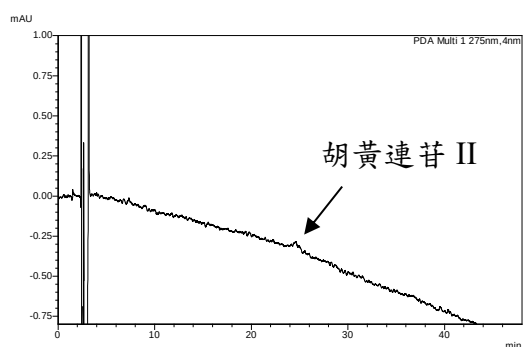
胡黃連苷 I 偵測極限為 0.10 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)，定量極限為 0.25 $\mu\text{g/mL}$ (圖六)。胡黃連苷 II 偵測極限為 0.30 $\mu\text{g/mL}$ (圖七)，定量極限為 1.00 $\mu\text{g/mL}$ (圖八)。



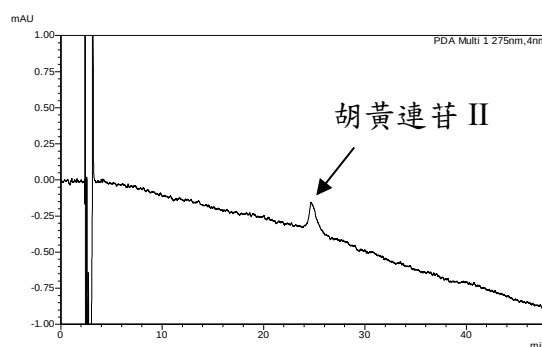
圖五、胡黃連苷 I 之偵測極限層析圖



圖六、胡黃連苷 I 之定量極限層析圖



圖七、胡黃連苷 II 之偵測極限層析圖



圖八、胡黃連苷 II 之定量極限層析圖

表三、各項檢驗分析

檢測項目	胡黃連苷 I		胡黃連苷 II	
	濃度	R.S.D. (%)	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	25 µg/mL	0.20	25 µg/mL	0.10
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.5)	0.86	檢品溶液(No.5)	0.56
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.5)	0.10	檢品溶液(No.5)	1.49
偵測極限 (n=1)	0.10 µg/mL	-	0.30 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	0.25 µg/mL	-	1.00 µg/mL	-

(九) 添加回收率試驗

胡黃連苷 I 平均添加回收率為 91.9%，相對標準偏差為 3.64% (表四)。

胡黃連苷 II 平均添加回收率為 85.4%，相對標準偏差為 8.05% (表五)。

表四、胡黃連苷 I 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	0.0500	0.8381	0.8	1.5675	91.17	91.9	3.64
2	0.0501	0.8398	0.8	1.5375	87.22		
3	0.0503	0.8432	0.8	1.5986	94.43		
4	0.0501	0.8398	0.8	1.6063	95.82		
5	0.0507	0.8499	0.8	1.5785	91.08		

表五、胡黃連苷 II 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	0.0500	2.6128	2.0	4.3789	88.31	85.4	8.05
2	0.0501	2.6181	2.0	4.5369	95.94		
3	0.0503	2.6286	2.0	4.2810	82.62		
4	0.0501	2.6181	2.0	4.1988	79.03		
5	0.0507	2.6495	2.0	4.2659	80.82		

(十) 臺灣市售胡黃連飲片含量測定

10 批胡黃連飲片之含量測定結果(乾燥品)如表七所示，胡黃連苷 I 的含量為 1.157–2.117%，胡黃連苷 II 的含量為 2.825–6.291%。胡黃連苷 I 與胡黃連苷 II 的總含量為 3.982–7.067%，建議胡黃連飲片指標成分胡黃連苷 I 與胡黃連苷 II 的總含量不得少於 4.5%。理論板數按胡黃連苷 I 波峰計算應不低於 8000 (實際值為 62630)，按胡黃連苷 II 波峰計算應不低於 8000 (實際值為 12460)。

表七、臺灣市售胡黃連飲片檢品之胡黃連苷 I 與胡黃連苷 II 的含量

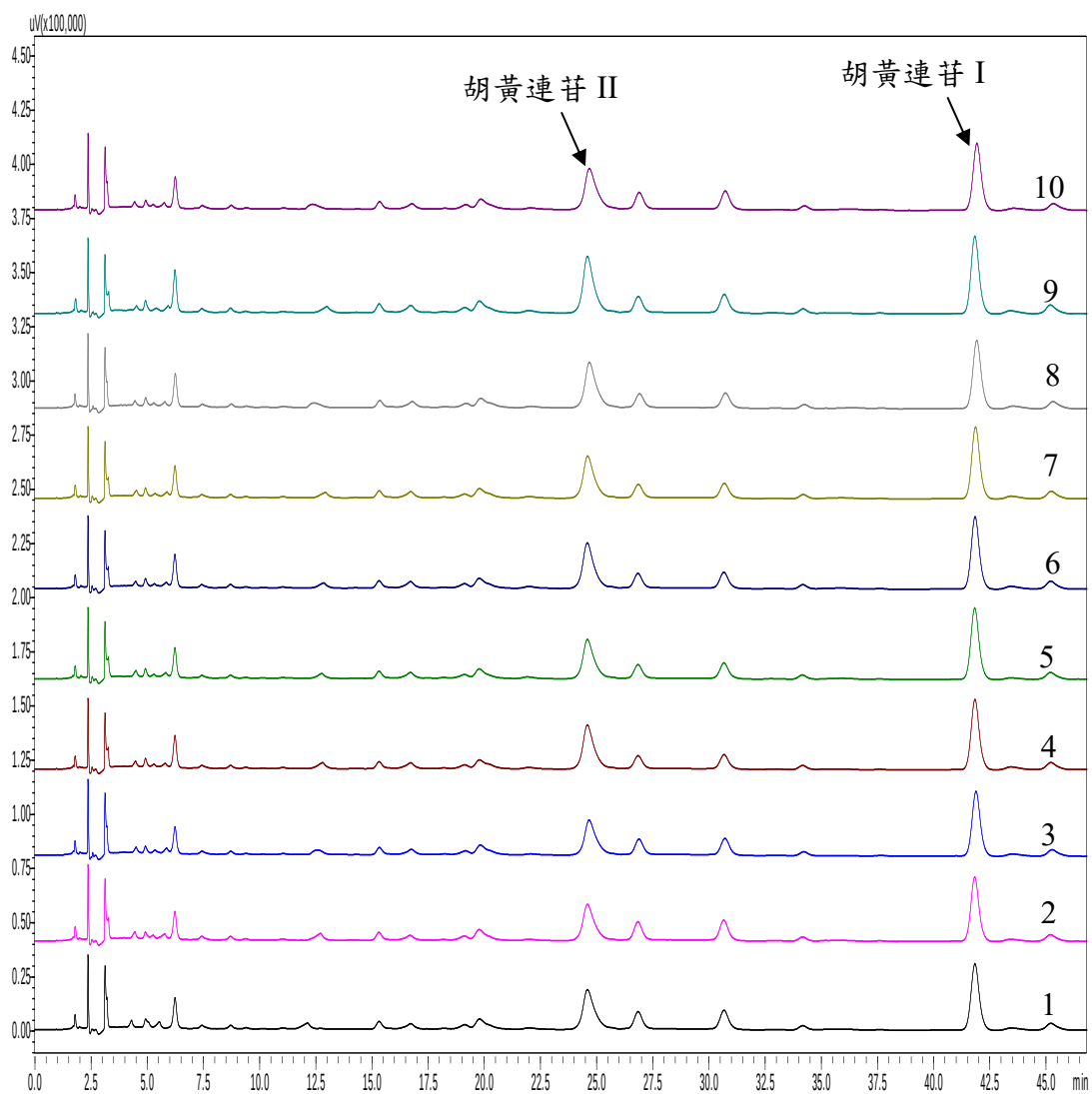
飲片編號 (No.)	胡黃連苷 I 含量(%)	胡黃連苷 II 含量(%)	胡黃連苷 I 與胡黃連苷 II 總含量(%)
1 (NA)	1.810	4.619	6.429
2 (NC)	1.732	4.151	5.883
3 (ND)	1.518	3.531	5.049
4 (NJ)	1.925	4.989	6.914
5 (CE2)	1.937	4.444	6.381
6 (CH)	1.974	5.093	7.067
7 (SB)	1.959	4.750	6.709
8 (SGA)	1.556	3.774	5.330
9 (SK2)	2.117	6.291	8.408
10 (SUD)	1.157	2.825	3.982
平均值±S.D.	1.769±1.117	4.447±0.957	6.215±1.228

(十一) 胡黃連飲片之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售胡黃連飲片檢品溶液各 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 275 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：

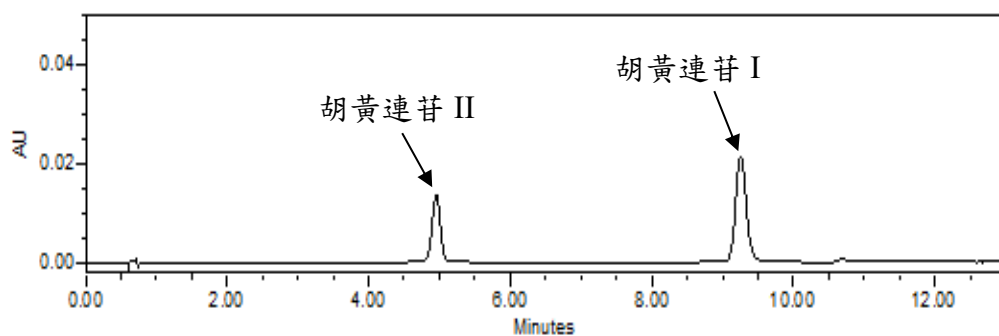
時間(min)	乙腈(%)	水(%)
0	13	87
20	15	85
30	17	83
45	20	80
50	100	0



圖九、10 批胡黃連飲片之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 對照標準品胡黃連苷 I 與胡黃連苷 II 之 UPLC 層析

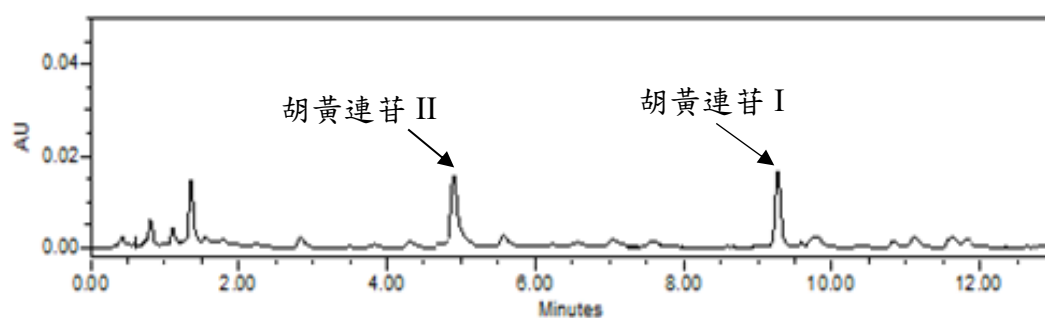
於滯留時間 9.28 及 4.97 分鐘處顯示胡黃連苷 I 及胡黃連苷 II 對照標準品波峰(圖十)。



圖十、胡黃連苷 I 及胡黃連苷 II 對照標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售胡黃連飲片檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 9.28、4.96 分鐘處分別顯示胡黃連飲片檢品中胡黃連苷 I 與胡黃連苷 II 波峰(圖十一)。



圖十一、市售胡黃連飲片檢品之 UPLC 層析圖

胡黃連

生藥名：NEOPICRORHIZAE RHIZOMA

英文名：Figwortflower Neopicrorhiza Rhizome

基 原：本品為玄參科 Scrophulariaceae 植物胡黃連 *Neopicrorhiza scrophulariiflora* (Pennell) D.Y.Hong 之乾燥根莖。

一、方法

(一) 檢品溶液 【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》《香港中藥材標準第六冊》

——取本品粉末 1.0 g，加乙醇 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 2】(自行開發) ✓

——取本品粉末 0.5 g，加乙醇 10 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 取胡黃連苷 I (Picroside I) 和胡黃連苷 II (Picroside II) 對照標準品，分別加甲醇製成每 1 mL 各含 1.0mg 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》

——乙酸乙酯：乙醇：無水乙酸 (6：3：0.2)

【展開劑 2】《香港中藥材標準第六冊》✓

——乙酸乙酯：乙醇：無水乙酸 (6：1：0.2)

(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)下檢視。

二、萃法選擇及濃度測試

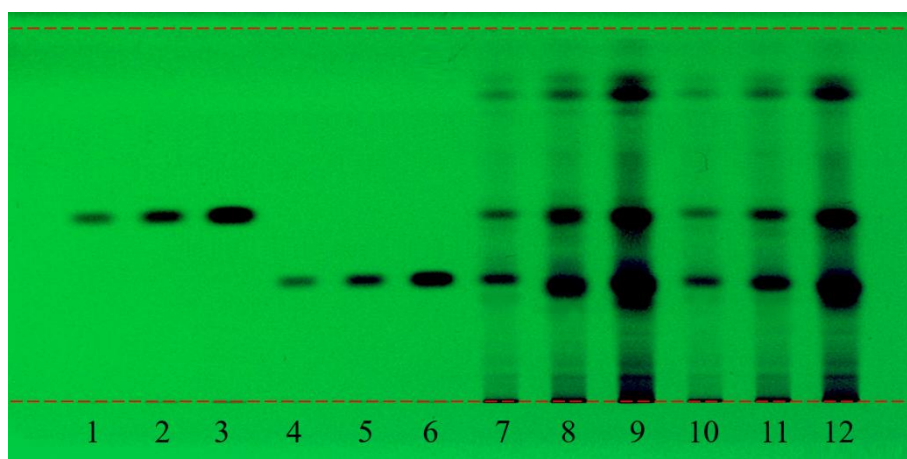
實驗日期：112/05/16

相對溼度(RH)：67%

溫度(RT)：24.7 °C

【展開劑 2】《香港中藥材標準第六冊》——乙酸乙酯：乙醇：無水乙酸 (6：1：0.2)

——HPTLC 紫外光(254nm)檢出



編號	名稱	點注量
1, 2, 3	胡黃連苷 I (1.0 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
4, 5, 6	胡黃連苷 II (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

建議萃法：兩種萃取方法，檢品溶液中皆可分離與檢出胡黃連苷 I 和胡黃連苷 II，因濃度適中，故採用自行開發之【萃取方法 2】。

建議點注量：胡黃連苷 I 2 μ L，胡黃連苷 II 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 2】2 μ L。

三、溶媒系統選擇

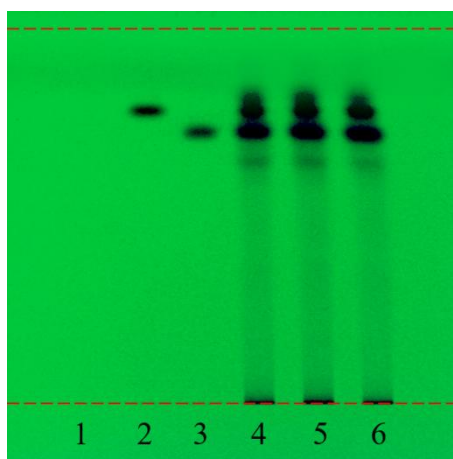
實驗日期：112/05/16

相對溼度(RH)：67%

溫度(RT)：24.7 °C

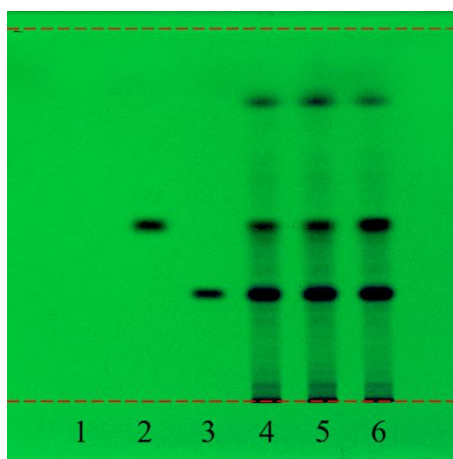
【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——乙酸乙酯：乙醇：無水乙酸 (6：3：0.2)

【萃取方法 2】(自行開發)——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(胡黃連苷 I R_f 值為 0.87，胡黃連苷 II R_f 值為 0.78)



【展開劑 2】《香港中藥材標準第六冊》——乙酸乙酯：乙醇：無水乙酸 (6：1：0.2) ✓

【萃取方法 2】(自行開發)——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(胡黃連苷 I R_f 值為 0.50，胡黃連苷 II R_f 值為 0.31)



1：Blank

2：胡黃連苷 I

6：Spike

3：胡黃連苷 II

4，5：檢品溶液 7

建議溶媒系統：以【萃取方法 2】方式，以香港中藥材標準【展開劑 2】展開，顯示胡黃連苷 I 及胡黃連苷 II 的 R_f 值適中，且分離佳，故採用【展開劑 2】。

四、觀察方式選擇

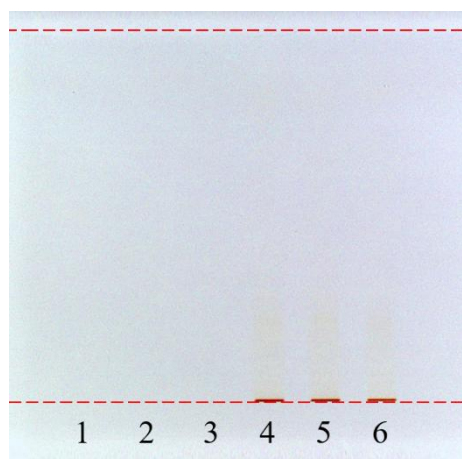
實驗日期：112/05/16

相對溼度(RH)：67%

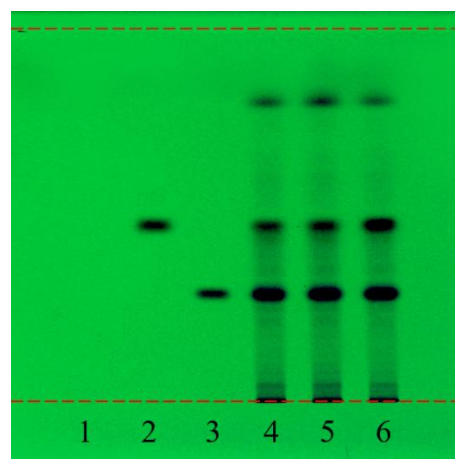
溫度(RT)：24.7 °C

【展開劑 2】《香港中藥材標準第六冊》——乙酸乙酯：乙醇：無水乙酸 (6：1：0.2)

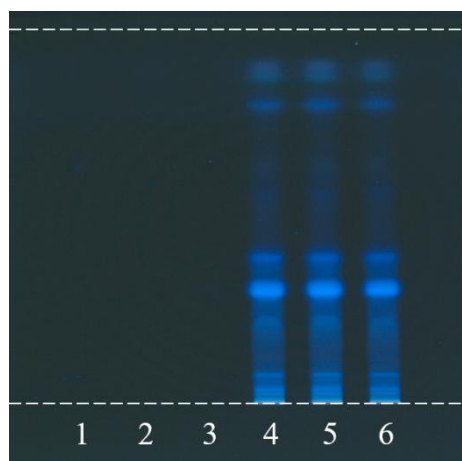
【萃取方法 2】(自行開發)－HPTLC 可見光檢出



【萃取方法 2】(自行開發)－HPTLC 紫外光(254 nm)檢出✓



【萃取方法 2】(自行開發)－HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



1：Blank

4，5：檢品溶液 7

2：胡黃連苷 I

6：Spike

3：胡黃連苷 II

建議觀察方式：於紫外光(254 nm)檢視下，顯示有明顯分離之條帶。

五、十批胡黃連飲片樣品檢測

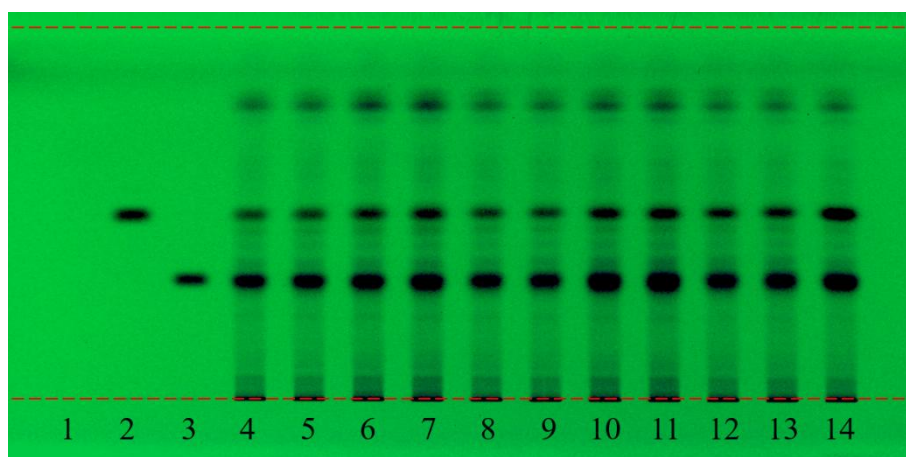
實驗日期：112/05/16

相對溼度(RH)：67%

溫度(RT)：24.7 °C

【展開劑 2】《香港中藥材標準第六冊》——乙酸乙酯：乙醇：無水乙酸 (6：1：0.2)

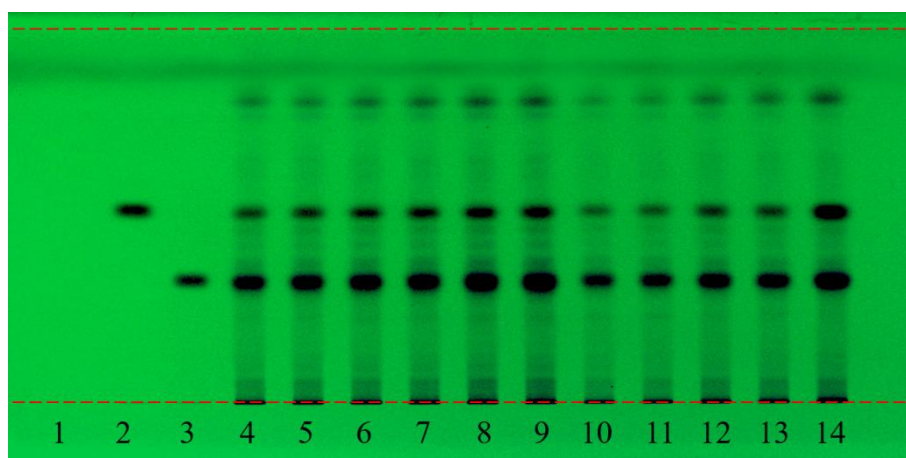
【萃取方法 2】(自行開發)－HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



1	Blank	8, 9	檢品溶液 3 (ND)
2	胡黃連苷 I (1.0 mg/mL)	10, 11	檢品溶液 4 (NJ)
3	胡黃連苷 II (1.0 mg/mL)	12, 13	檢品溶液 5 (CE2)
4, 5	檢品溶液 1 (NA)	14	Spike (檢品溶液 7)
6, 7	檢品溶液 2 (NC)		

【展開劑 2】《香港中藥材標準第六冊》——乙酸乙酯：乙醇：無水乙酸 (6：1：0.2)

【萃取方法 2】(自行開發)－HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



1	Blank	8, 9	檢品溶液 8 (SGA)
2	胡黃連苷 I (1.0 mg/mL)	10, 11	檢品溶液 9 (SK2)
3	胡黃連苷 II (1.0 mg/mL)	12, 13	檢品溶液 10 (SUD)
4, 5	檢品溶液 6 (CH)	14	Spike (檢品溶液 7)
6, 7	檢品溶液 7 (SB)		

結論與建議：以【萃取方法 2】方式及香港中藥材標準之【展開劑 2】分離與檢出胡黃連苷 I 和胡黃連苷 II 較佳，以紫外光(254 nm)下檢視較佳。