

胡蘆巴

(TRIGONELLAE SEMEN)

胡蘆巴 MI	2
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
胡蘆巴 HPLC（藥材）	7
一、材料	7
二、儀器及層析管柱	7
三、實驗藥品及試劑來源	7
四、方法	7
五、結果	10
胡蘆巴 TLC（藥材）	19
一、方法	19
二、萃法選擇及濃度測試	21
三、溶媒系統選擇	22
四、觀察方式選擇	25
五、十批胡蘆巴藥材樣品檢測	26

胡蘆巴

(TRIGONELLAE SEMEN)

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蘆巴的乾燥成熟種子。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：胡蘆巴

生藥名：TRIGONELLAE SEMEN

英文名：Common Fenugreek Seed

基原：本品為豆科 Leguminosae 植物胡蘆巴 *Trigonella foenum-graecum* L. 之乾燥成熟種子。

採收加工：夏季果實成熟時採割植株，曬乾，打下種子，除去雜質。

藥材性狀：本品呈斜方形或矩形，長 3~4 mm，寬 2~3 mm，厚約 2 mm。表面黃綠色、黃棕色至棕色，平滑，兩側各具一深斜溝，兩溝相交處有點狀種臍，質堅硬，不易破碎，種皮薄，胚乳呈半透明狀，具黏性，子葉 2 枚，淡黃色，胚根彎曲，肥大而長。氣香，味微苦。

生長分佈：一年生草本。喜溫暖氣候，耐旱性較強，以肥沃疏鬆的砂質壤土為宜。花期 4~7 月，果期 7~9 月。藥材主產於安徽、四川及內蒙古黃河河套地區。

三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2)

1. 種皮最外為 1 列柵狀細胞，外被角質層，柵狀細胞先端尖，壁厚，層紋明顯，微木質化，其外側有光輝帶，胞腔內常有棕黃內含物。
2. 向內為 1 列支持細胞，呈啞鈴狀，上窄下寬，有大型細胞間隙，具明顯條狀紋理。
3. 支持細胞向內為 3~4 列薄壁細胞。
4. 胚乳最外為 1 列糊粉層，細胞類方形，內含棕色物質，其餘的胚乳細胞較大，類圓形，初生壁薄，次生壁極厚，黏液化，胚乳內含有大量的黏液細胞。
5. 子葉細胞較小，呈多角形或長多角形，細胞內含糊粉粒及脂肪油滴。
6. 胚根細胞類多角形至類圓形。

四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3)

1. 本品粉末淡黃色至淡黃灰色。
2. 子葉細胞多角形或長多角形，含糊粉粒及脂肪油滴。
3. 種皮柵狀細胞側面觀呈一行，先端尖，外被角質層，壁厚，層紋明顯，具一條光輝帶；頂面觀類多角形，壁較厚，胞腔較小，可見細密孔溝；底面觀胞腔較大。
4. 支持細胞碎片常與種皮柵狀細胞相連，側面觀略呈啞鈴狀，上端稍窄，下端較寬，具明顯條狀紋理；底面觀呈類圓形或六角形，有密集的放射狀紋理，似菊花紋狀，胞腔明顯。
5. 糊粉層細胞表面觀呈不規則形，細胞內富含糊粉粒。

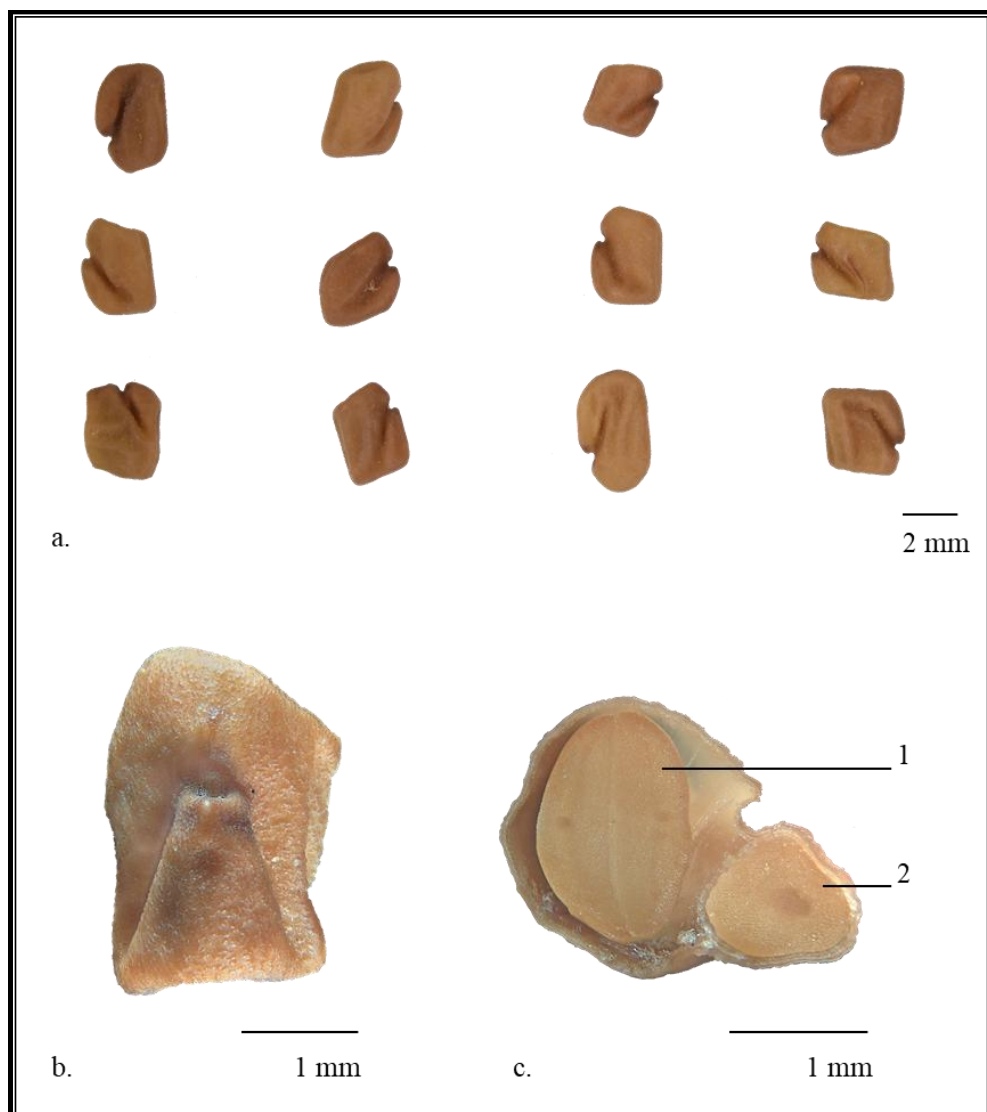


圖 1 胡蘆巴藥材圖

a.藥材圖 b.藥材腹面放大圖 c.藥材橫切面圖(1.子葉 2.胚根)

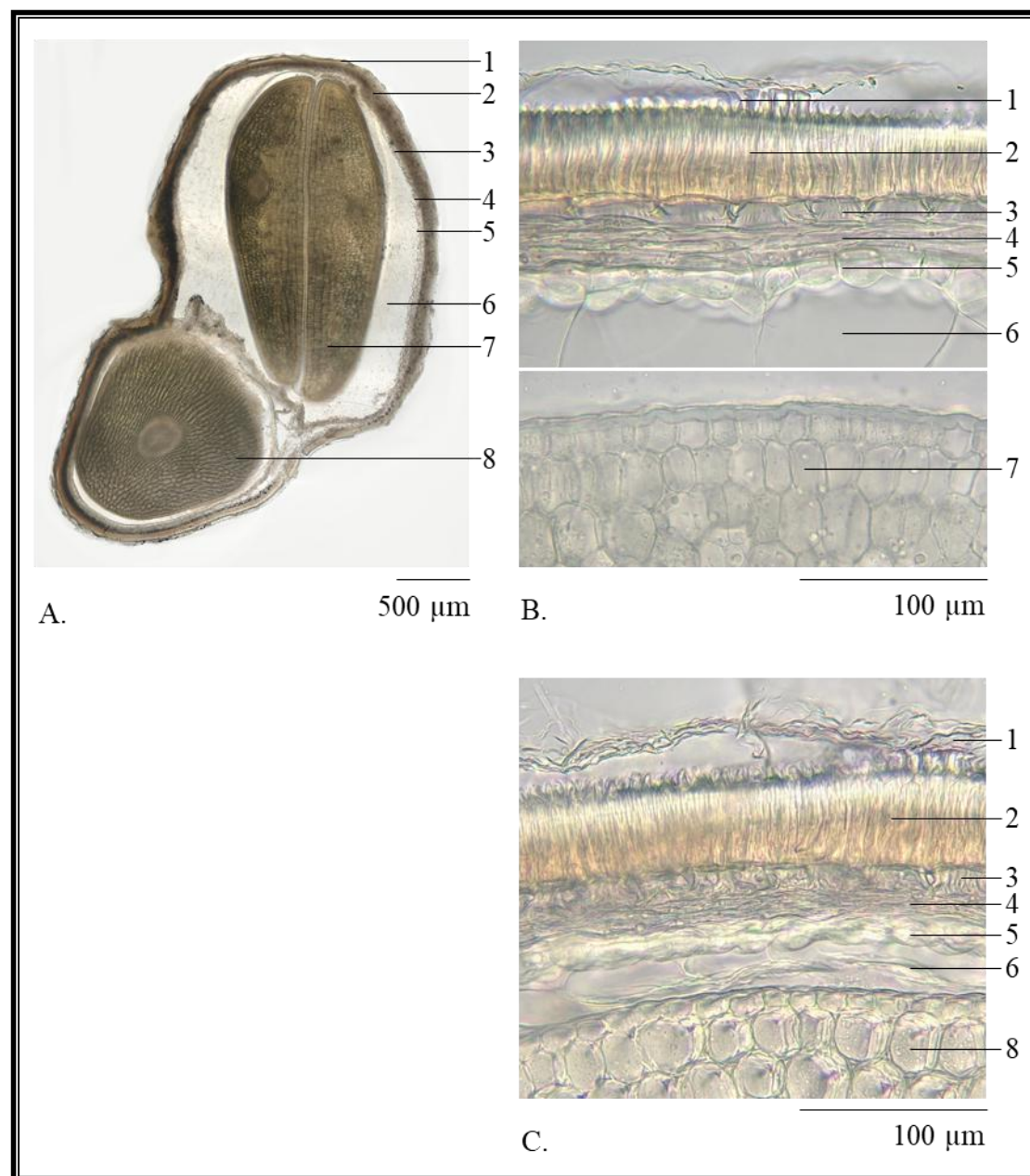


圖 2 胡蘆巴橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.子葉部分橫切面放大圖 C.胚根部分橫切面放大圖

1.角質層 2.種皮 3.支持細胞 4.薄壁細胞 5.糊粉層 6.胚乳 7.子葉細胞
8.胚根

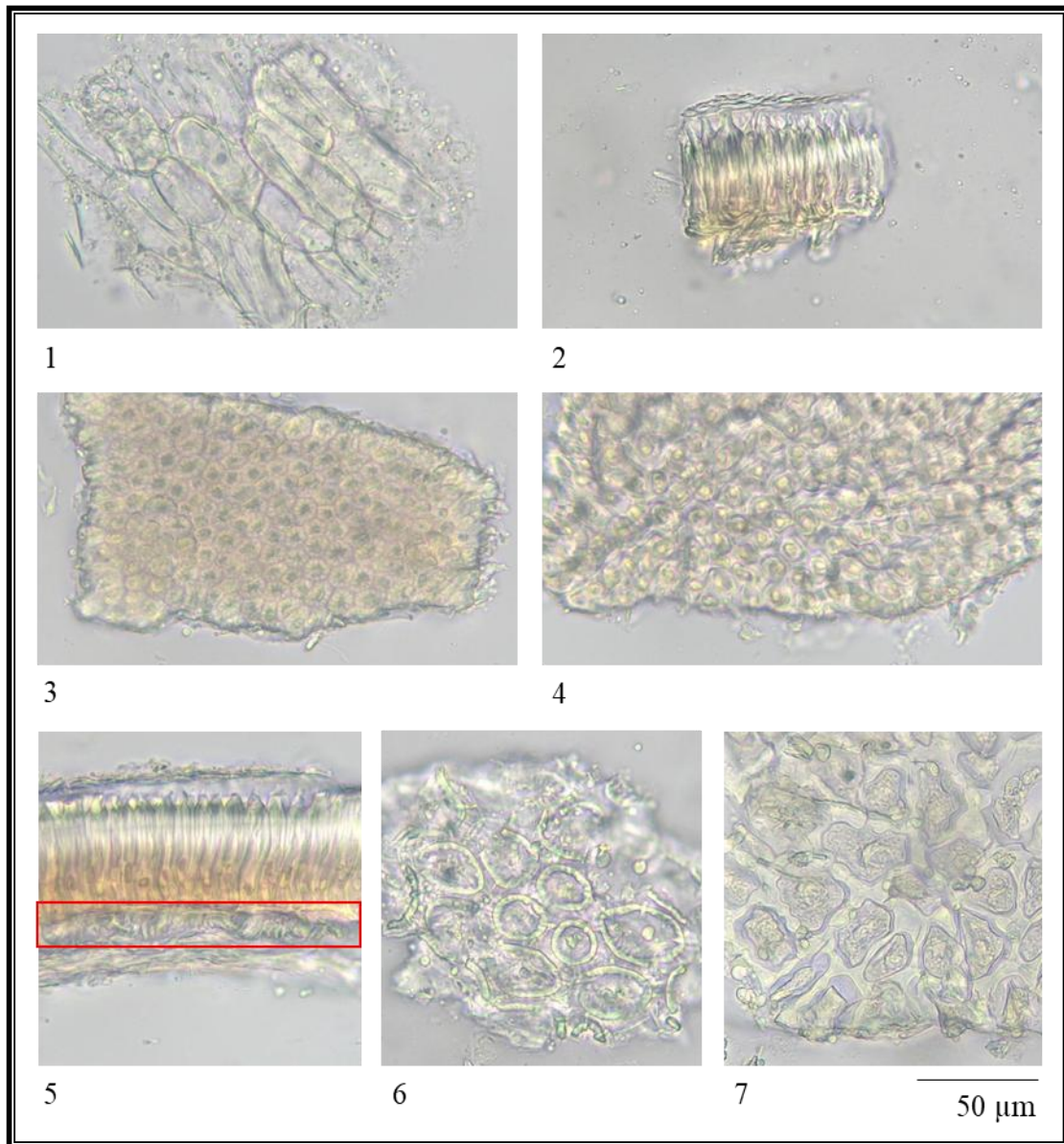


圖 3 胡蘆巴粉末顯微特徵圖

- 1.子葉細胞 2.種皮柵狀細胞(側面觀) 3.種皮柵狀細胞(頂面觀)
- 4.種皮柵狀細胞(底面觀) 5.支持細胞(側面觀) 6.支持細胞(底面觀)
- 7.糊粉層細胞

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。222~223 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)。香港中藥材標準第五冊。香港：香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部。420~423 頁。
3. 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 頁。
4. 肖培根(主編)(2002)。新編中藥志第二卷。北京：化學工業出版社。420~423 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。390 頁。
6. 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。435 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 頁。
8. 吳啟南、李萍(主編)(2020)。新編中國藥材學第五卷。中國醫藥科技出版社。262~263 頁。
9. 中國藥品生物製品檢定所、廣東省藥品檢驗所(1997)。中國中藥材真偽鑑別圖典 3。廣東科技出版社。127 頁。

胡蘆巴(TRIGONELLAE SEMEN)

一、材料

購置於臺灣各地中藥店胡蘆巴藥材共 10 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 2998、Photodiode Array Detector；層析管柱 Agilent ZORBAX Eclipse Plus 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)購置於永定科技有限公司；乙酸購置於 Merck；十二烷基磺酸鈉購置於友和貿易有限公司。

(二) 對照標準品

胡蘆巴鹼(Trigonelline)購置於普思生物科技有限公司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

取本品粉末 6 份，每份準確稱取約 0.2 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 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 × g)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 10 mL 之容量瓶中，加溶媒至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PVDF 0.45 μm)，即得。每針 10 μL 注入 HPLC，以所測得每克重量之胡蘆巴鹼最大波峰面積為最佳胡蘆巴藥材萃取溶媒。

(二) 最佳萃取次數評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 0.2 g，置 50 mL 離心管中，準確加入 50%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 × g)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 10 mL 之容量瓶中，加 50%甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PVDF 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，直到胡蘆巴鹼被萃取完全，並選出最佳萃取次數。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取對照標準品胡蘆巴鹼 6.0 mg，加 10 mL 的 50% 甲醇製成每 1 mL 含胡蘆巴鹼 600 μg 的對照標準品儲備溶液，並以 50% 甲醇稀釋至 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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 0.2 g，置 50 mL 離心管中，加入 50% 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，移入至 25 mL 之容量瓶中，加 50% 甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PVDF 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蘆巴鹼的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取胡蘆巴鹼對照標準品儲備溶液適量(600 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，以 50% 甲醇稀釋成含胡蘆巴鹼分別為 300、150、100、60、30、15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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

以胡蘆巴鹼為 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以胡蘆巴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：取同一批市售胡蘆巴藥材粉末，依胡蘆巴藥材檢品溶液製備方法平行製備 5 份胡蘆巴藥材檢品溶液，進樣測定，以胡蘆巴鹼的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售胡蘆巴藥材粉末，依胡蘆巴藥材檢品溶液製備方法製備胡蘆巴藥材檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，以胡蘆巴鹼的含量為指標，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

取已知胡蘆巴鹼含量的胡蘆巴藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.2 g，分別加入胡蘆巴鹼 1.0 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 Eclipse Plus Column (250 × 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 265 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)	甲醇(%)	0.1%乙酸含 0.05%十二烷基磺酸鈉(v/v, %)*
0	25	75
20	25	75

*取 1 mL 乙酸及 0.5 g 十二烷基磺酸鈉加水至 1000 mL

(十二) 臺灣市售胡蘆巴藥材含量測定

取 10 批市售胡蘆巴藥材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 公式計算樣品胡蘆巴鹼的百分比含量。

(十三) 胡蘆巴藥材檢品之 UPLC 分析條件

1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μ m)
2. 檢測波長：UV 265 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μ L
6. 移動相：

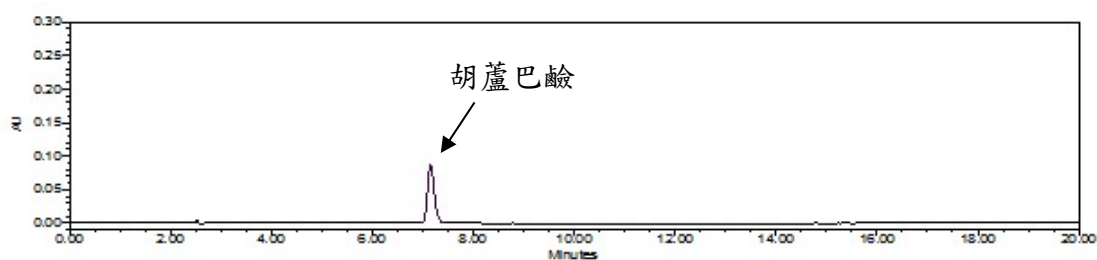
時間(min)	甲醇(%)	0.1%乙酸含 0.05%十二烷基磺酸鈉(v/v, %)*
0	25	75
8	25	75

*取 1 mL 乙酸及 0.5 g 十二烷基磺酸鈉加水至 1000 mL

五、結果

(一) 對照標準品胡蘆巴鹼之 HPLC 層析

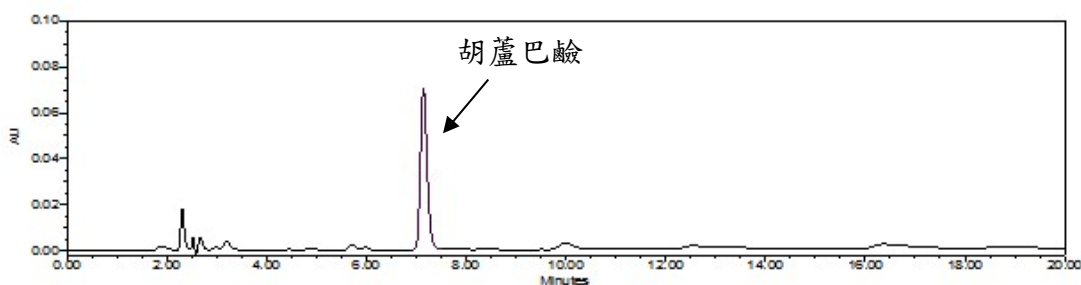
於滯留時間 7.15 分鐘處顯示胡蘆巴鹼對照標準品波峰(圖一)。



圖一、胡蘆巴鹼對照標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售胡蘆巴藥材檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 7.14 分鐘處顯示胡蘆巴藥材檢品中胡蘆巴鹼波峰(圖二)。
胡蘆巴鹼分離率(R)為 4.99, 拖尾因子(T)為 1.19, 均在系統適用性要求內。



圖二、市售胡蘆巴藥材檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒評估

以 50% 甲醇溶液為溶媒時, 每克藥材重量所得胡蘆巴鹼的波峰面積最大, 顯示 50% 甲醇溶液為最佳萃取溶媒。

表一、不同萃取溶媒評估

溶媒	胡蘆巴鹼波峰面積	最佳萃取
甲醇	1058407	
75% 甲醇	1365367	
50% 甲醇	1900563	√
乙醇	684676	
75% 乙醇	1722109	
50% 乙醇	1644598	

(四) 最佳萃取次數評估

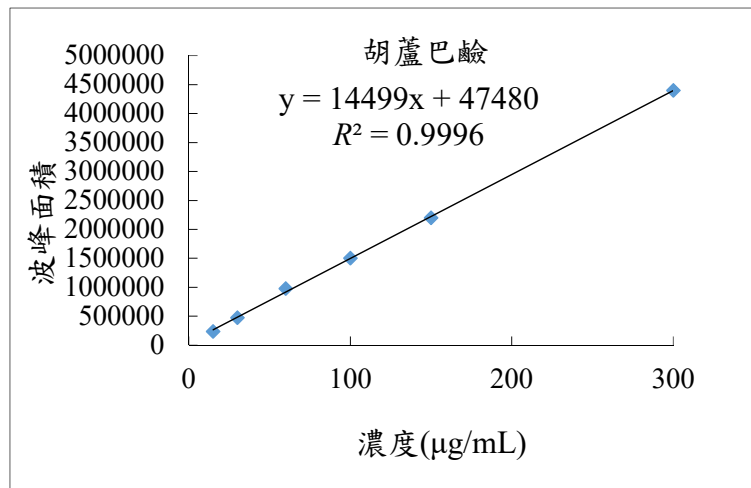
結果顯示萃取 2 次基本上已將胡蘆巴鹼萃取完全(萃取率大於 98%)。

表二、胡蘆巴鹼藥材檢品萃取次數評估

50%甲醇	胡蘆巴鹼波峰面積
第 1 次	1156731
第 2 次	297262
第 3 次	20861
第 4 次	7350
第 5 次	N.D

(五) 對照標準品胡蘆巴鹼檢量線

經不同濃度胡蘆巴鹼(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 $y = 14499x + 47480$ ， $R^2 = 0.9996$ ，顯示濃度在 15–300 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、胡蘆巴鹼之檢量線圖

表三、胡蘆巴鹼之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
胡蘆巴鹼	15–300	$y = 14499x + 47480$	0.9996

(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，胡蘆巴鹼精密度之相對標準差為 0.05%，在系統適用性要求內。

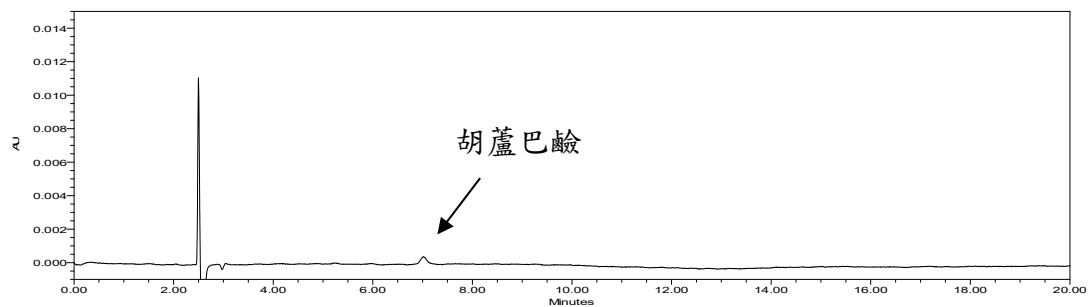
(七) 重複性與穩定性試驗

實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，胡蘆巴鹼重複性之相對標準差為 1.15%，在系統適用性要求內。胡蘆巴鹼在 24 小時內穩

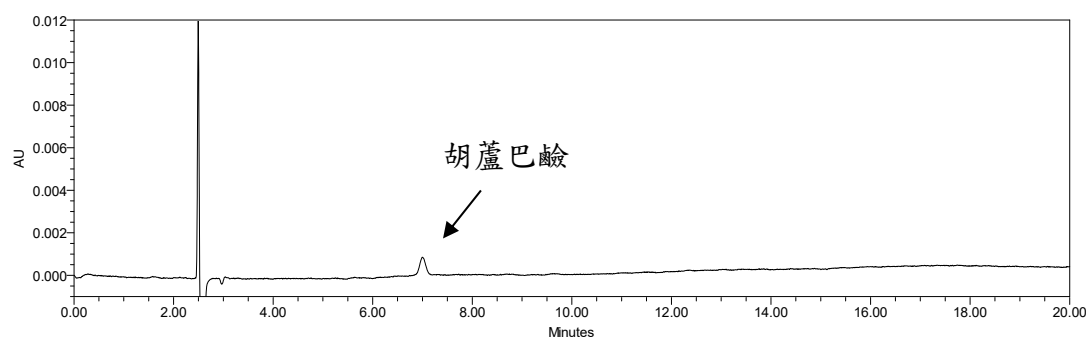
定，穩定性相對標準差為 0.22%，變化差異小，若所有樣品分析都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

胡蘆巴鹼偵測極限為 0.25 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 0.5 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、胡蘆巴鹼之偵測極限層析圖



圖五、胡蘆巴鹼之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	胡蘆巴鹼	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	30 $\mu\text{g/mL}$	0.05
重複性 (n=5)	檢品溶液(No. 10)	1.15
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No. 10)	0.22
偵測極限 (n=1)	0.25 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=1)	0.50 $\mu\text{g/mL}$	-

(九) 添加回收率試驗

胡蘆巴鹼平均添加回收率為 90.84%，相對標準偏差為 1.79% (表五)。

表五、胡蘆巴鹼添加回收率

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	0.1998	3.5282	1.0	4.4299	90.17	90.84	1.79
2	0.2002	3.5353	1.0	4.4689	93.36		
3	0.1996	3.5247	1.0	4.4303	90.56		
4	0.1996	3.5247	1.0	4.4364	91.17		
5	0.1996	3.5300	1.0	4.4195	88.95		

(十) 臺灣市售胡蘆巴藥材含量測定

10 批胡蘆巴藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，胡蘆巴鹼的含量為 0.506–0.568%。建議胡蘆巴藥材指標成分胡蘆巴鹼的含量不得少於 0.36%。理論板數按胡蘆巴鹼波峰計算應不低於 8000 (實際值為 13645)。

表六、臺灣市售胡蘆巴藥材檢品之胡蘆巴鹼的含量

藥材編號 (No.)	胡蘆巴鹼含量 (%)	藥材編號 (No.)	胡蘆巴鹼含量 (%)
1 (NC)	0.551	6 (CA)	0.523
2 (NH)	0.512	7 (CE)	0.518
3 (NFA)	0.567	8 (CH)	0.557
4 (NWB)	0.568	9 (SK2)	0.542
5 (NWD)	0.550	10 (SK4)	0.506
平均值±S.D.	0.539±0.023		

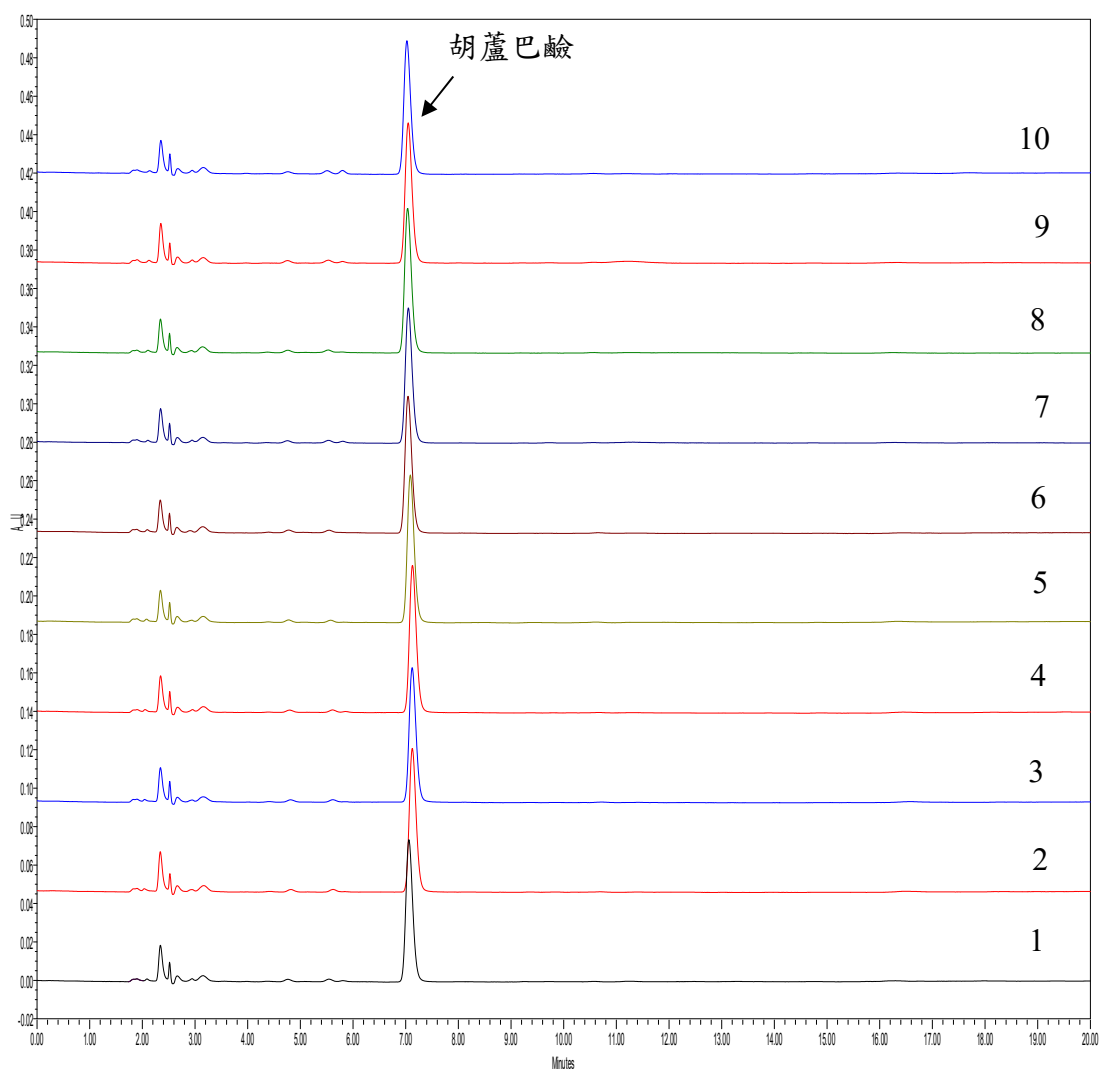
(十一) 胡蘆巴藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售胡蘆巴藥材檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：Agilent ZORBAX Eclipse Plus Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 265 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%乙酸含 0.05%十二烷基磺酸鈉(v/v, %)*
0	25	75
8	25	75

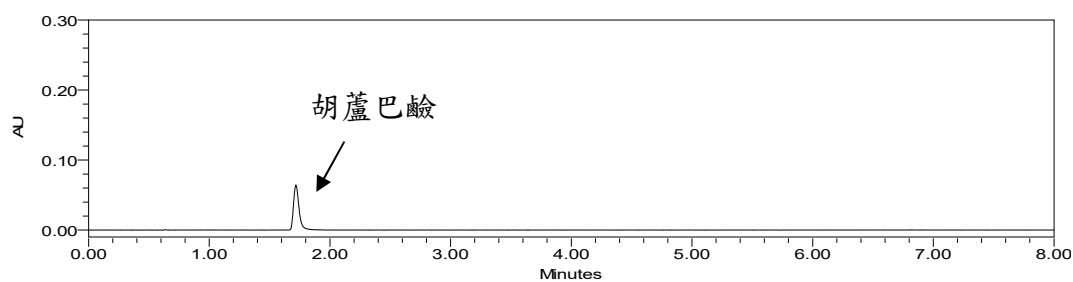
*取 1 mL 乙酸及 0.5 g 十二烷基磺酸鈉加水至 1000 mL



圖六、10 批胡蘆巴藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 對照標準品胡蘆巴鹼之 UPLC 層析

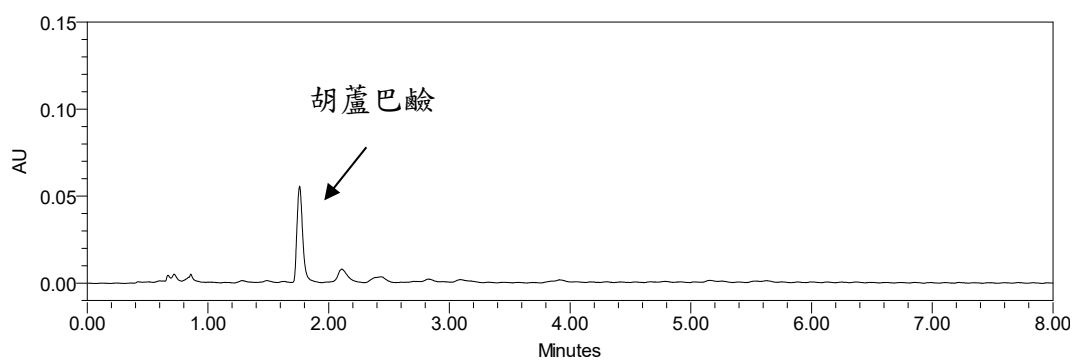
於滯留時間 1.71 分鐘處顯示胡蘆巴鹼對照標準品波峰(圖七)。



圖七、胡蘆巴鹼對照標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售胡蘆巴藥材檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 1.75 分鐘處顯示胡蘆巴藥材檢品中胡蘆巴鹼波峰(圖八)。

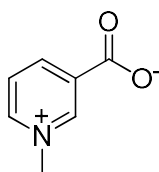


圖八、市售胡蘆巴藥材檢品之 UPLC 層析圖

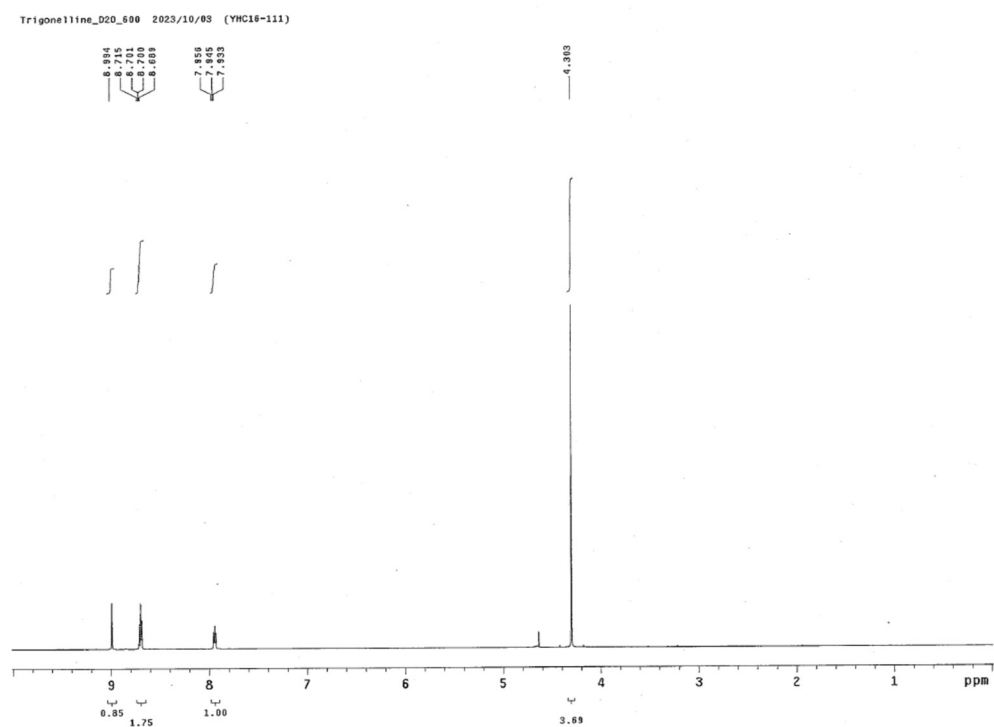
(十四) 胡蘆巴鹼的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_7H_7NO_2$ ；分子量：137.1；熔點：130 °C；白色粉末。

(十五) 胡蘆巴鹼的結構

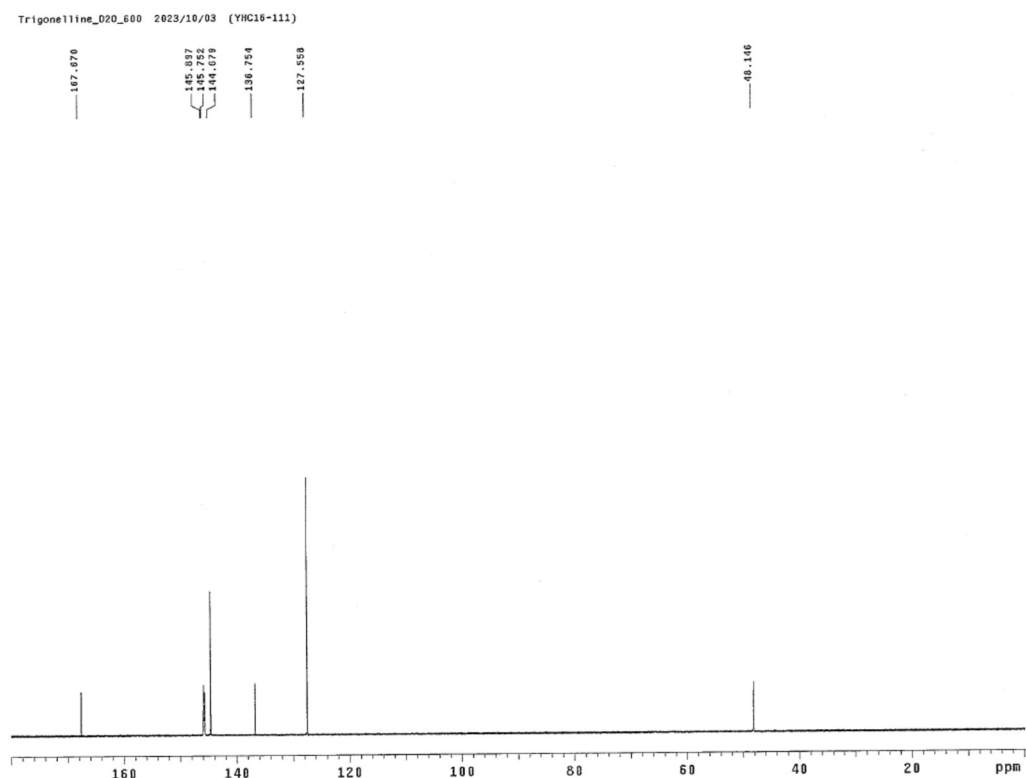


(十六) 胡蘆巴鹼的 ^1H NMR 圖譜



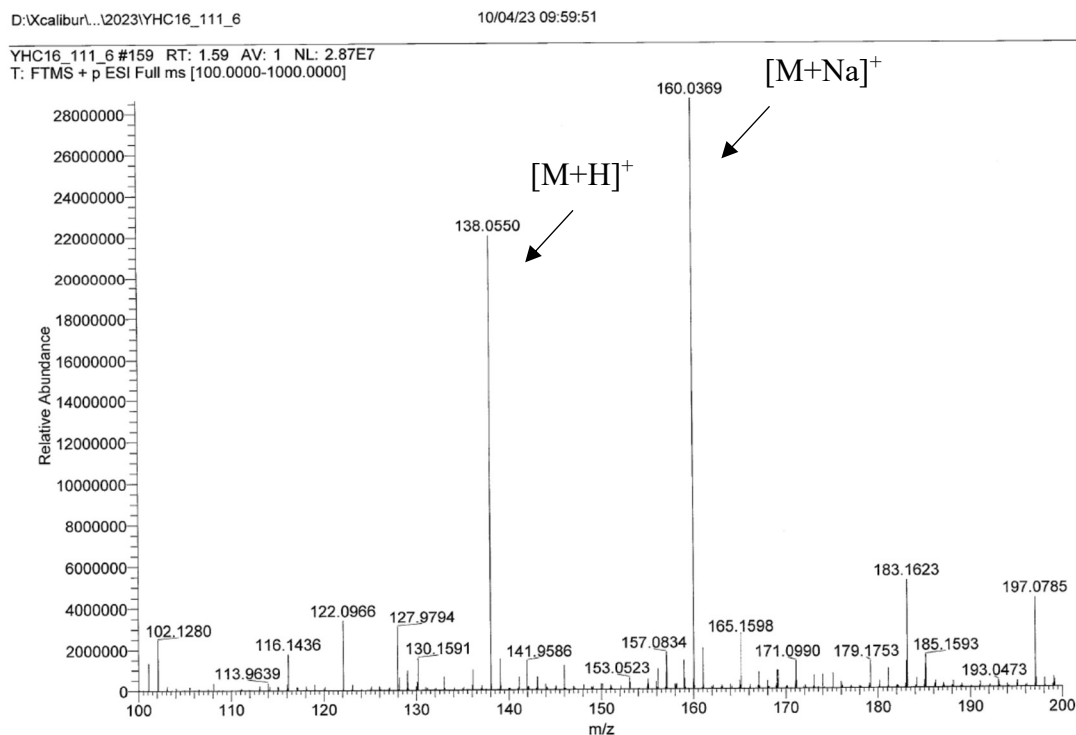
圖九、胡蘆巴鹼的 ^1H NMR 圖譜(D_2O)

(十七) 胡蘆巴鹼的 ^{13}C NMR 圖譜



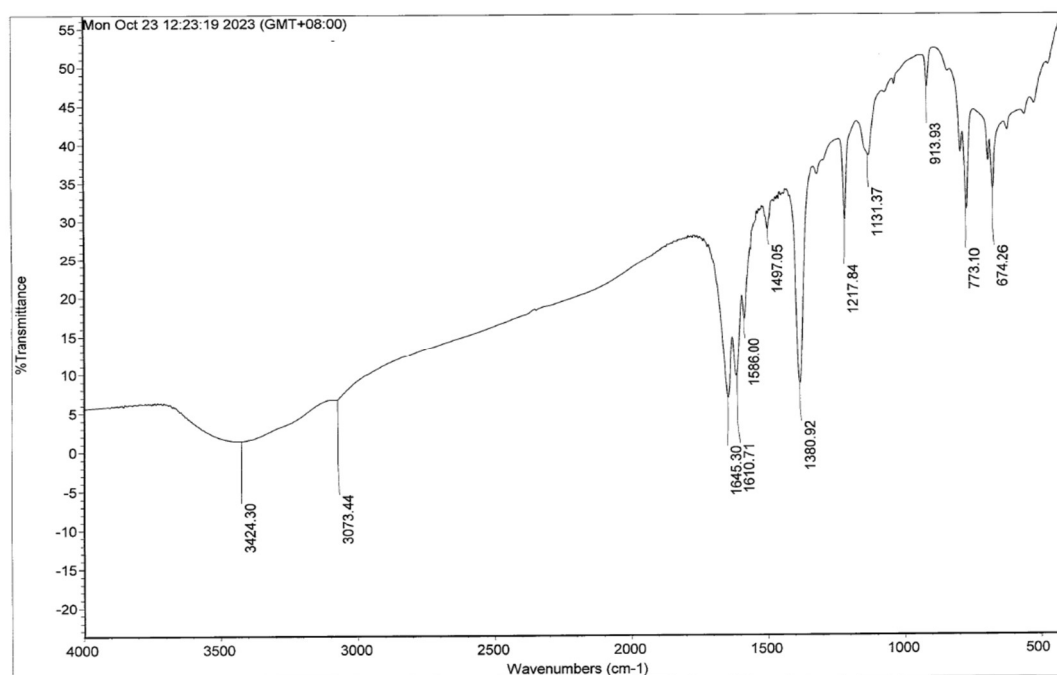
圖十、胡蘆巴鹼的 ^{13}C NMR 圖譜(D_2O)

(十八) 胡蘆巴鹼的 ESI-MS 圖譜



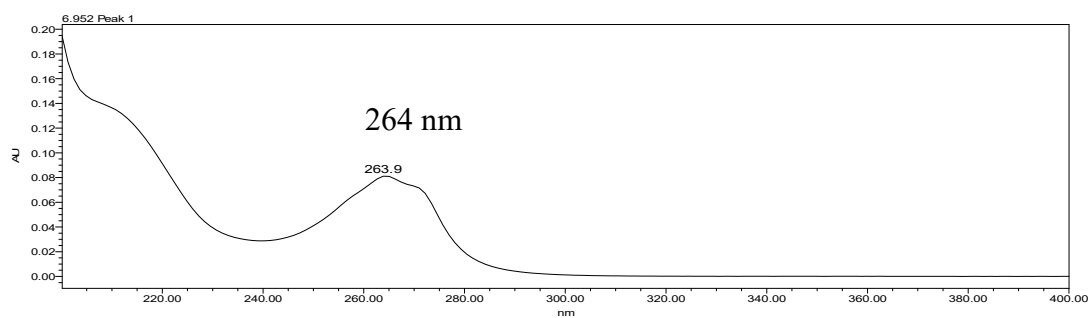
圖十一、胡蘆巴鹼的 ESI-MS 圖譜

(十九) 胡蘆巴鹼的 FTIR 圖譜



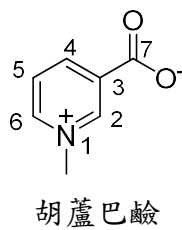
圖十二、胡蘆巴鹼的 FTIR 圖譜

(二十) 胡蘆巴鹼的 UV 圖譜



圖十三、胡蘆巴鹼的 UV 圖譜

(二十一) 胡蘆巴鹼的氫、碳化學位移



表七、胡蘆巴鹼氫、碳化學位移(D₂O)^a

position	δ_{H} (600 MHz)	δ_{C} (150 MHz)
2	8.99 (s)	145.8
3	-	136.8
4	8.70 (d, 7.2)	144.7
5	7.95 (d, 7.2)	127.6
6	8.71 (d, 7.2)	145.9
7	-	167.7
N-Me	4.30 (s)	48.1

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

胡蘆巴

生藥名：TRIGONELLAE SEMEN

英文名：Common Fenugreek seed

基 原：本品為豆科 Leguminosae 植物胡蘆巴 *Trigonella foenum-graecum* L.之乾燥成熟種子。

一、方法

(一) 檢品溶液 【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》

——取本品粉末 1.0 g，加乙醇 25 mL，加熱迴流 30 分鐘，過濾，濾液蒸乾，殘渣加乙醇 2 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》

——取本品粉末 1.0 g，加石油醚(30~60 °C) 30 mL，超音波振盪 30 分鐘，靜置，上清液過濾，殘渣揮乾，加甲醇 30 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，濾液蒸乾，殘渣加甲醇 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 3】《香港中藥材標準第五冊》

——取本品粉末 1.0 g，加石油醚(60~80 °C) 30 mL，超音波振盪 30 分鐘，靜置，上清液過濾，殘渣揮乾，加乙醇 30 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，濾液蒸乾，殘渣加乙醇 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 4】(自行開發)✓

——取本品粉末 1.0 g，加 50% 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 取胡蘆巴鹼(Trigonelline)對照標準品，加甲醇製成每 1 mL 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》

——丙酮：水 (1：1)

【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》《香港中藥材標準第五冊》

——乙酸乙酯：正丁醇：鹽酸 (1：8：3)

【展開劑 3】修飾《臺灣中藥典第四版 2021》✓

——丙酮：水 (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 風乾後，置於紫外光(254 nm)下檢視之，或以碘化鉍鉀試液(Dragendorff Reagent)-氯化鐵/乙醇試液(FeCl₃/EtOH TS)

(2：1)混合溶液噴霧後，風乾，於可見光照射下檢視之。

二、萃法選擇及濃度測試

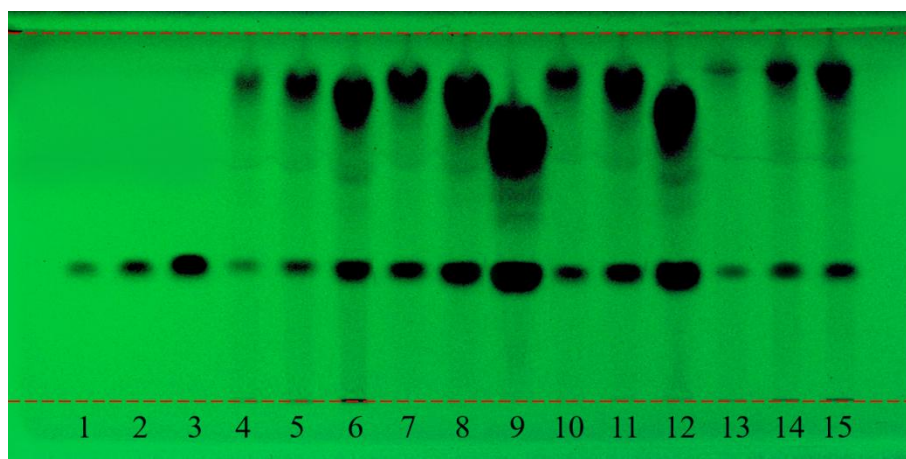
實驗日期：112/12/19

相對溼度(RH)：55%

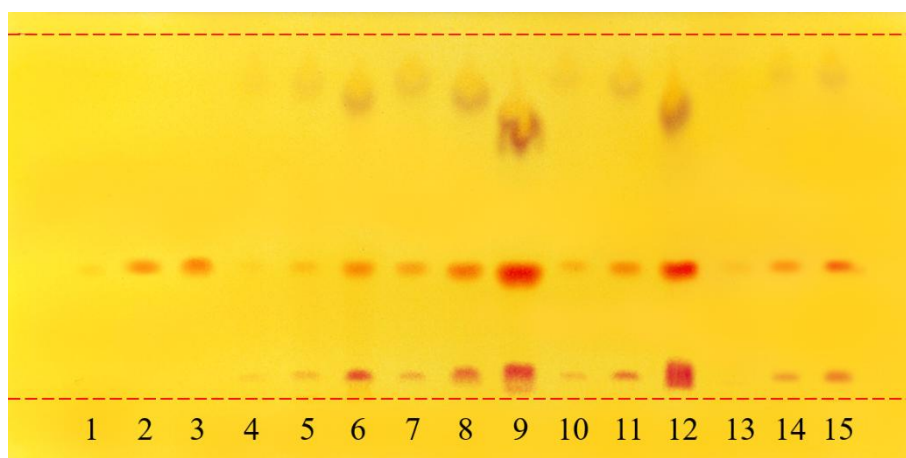
溫度(RT)：22.3°C

【展開劑3】修飾《臺灣中藥典第四版 2021》——丙酮：水 (2：1)

——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



——HPTLC 碘化鉍鉀試液-三氯化鐵試液(2：1)顯色後可見光檢出



編號	名稱	點注量
1，2，3	胡蘆巴鹼(1.0 mg/mL)	1，2，5 μ L
4，5，6	檢品溶液 9【萃取方法 1】	1，2，5 μ L
7，8，9	檢品溶液 9【萃取方法 2】	1，2，5 μ L
10，11，12	檢品溶液 9【萃取方法 3】	1，2，5 μ L
13，14，15	檢品溶液 9【萃取方法 4】	2，5，8 μ L

建議萃法：四種萃取方法，檢品溶液中皆可分離與檢出胡蘆巴鹼，因方法簡單濃度適中，故採用自行開發【萃取方法 4】。

建議點注量：胡蘆巴鹼 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 4】5 μ L。

三、溶媒系統選擇

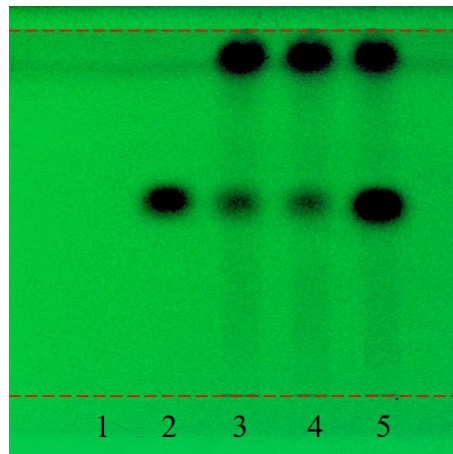
實驗日期：112/12/19

相對溼度(RH)：55%

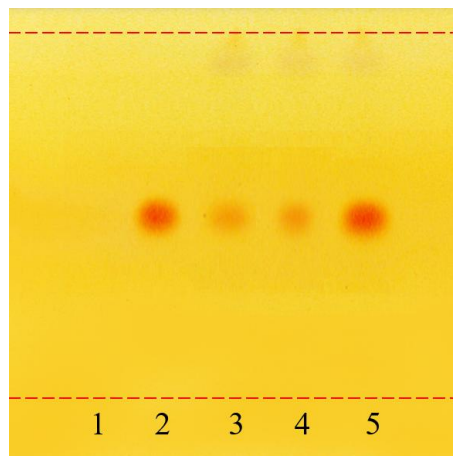
溫度(RT)：22.3°C

【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——丙酮：水 (1：1)

【萃取方法 2】《香港中藥材標準第六冊》——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(胡蘆巴鹼 R_f 值為 0.54)

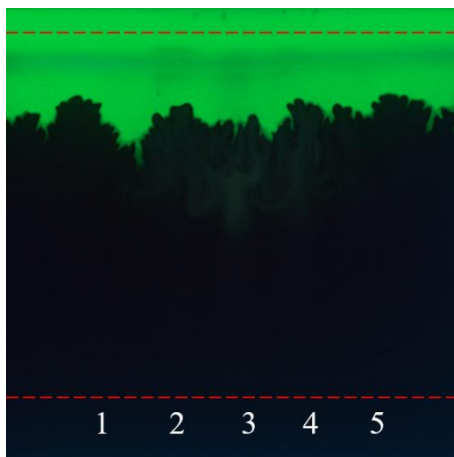


【萃取方法 2】《香港中藥材標準第六冊》——HPTLC 碘化鉍鉀試液-三氯化鐵試液(2：1)顯色後可見光檢出(胡蘆巴鹼 R_f 值為 0.54)

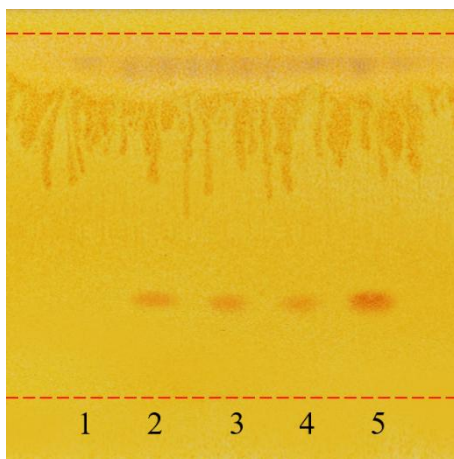


【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》《香港中藥材標準第五冊》——乙酸乙酯：正丁醇：鹽酸 (1：8：3)

【萃取方法 2】《香港中藥材標準第六冊》——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(胡蘆巴鹼 R_f 值無法判讀)

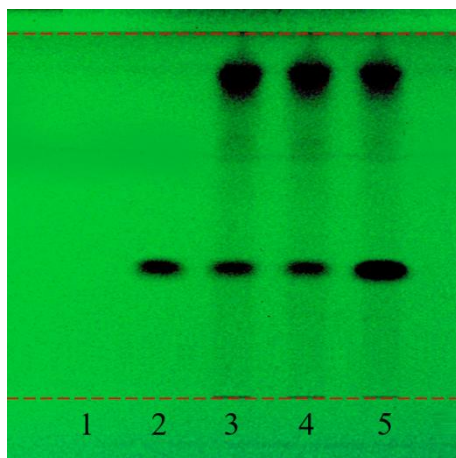


【萃取方法 2】《香港中藥材標準第六冊》——HPTLC 碘化鉍鉀試液-三氯化鐵試液(2：1)顯色後可見光檢出(胡蘆巴鹼 R_f 值 0.25)

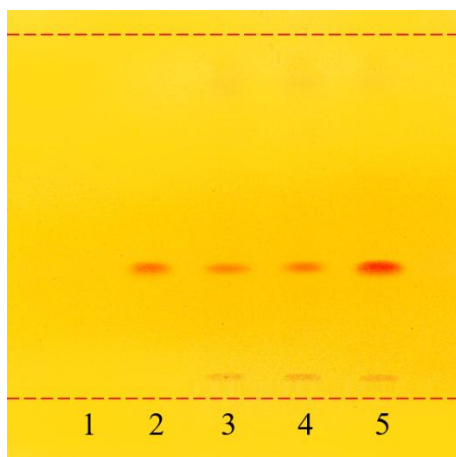


【展開劑3】修飾《臺灣中藥典第四版 2021》——丙酮：水 (2：1) ✓

【萃取方法2】《香港中藥材標準第六冊》——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(胡蘆巴鹼 R_f 值為 0.34)



【萃取方法2】《香港中藥材標準第六冊》——HPTLC 碘化鉍鉀試液-三氯化鐵試液(2：1)顯色後可見光檢出(胡蘆巴鹼 R_f 值為 0.34)



1：Blank

2：胡蘆巴鹼

3，4：檢品溶液 9

5：Spike

建議溶媒系統：以自行開發【萃取方法4】方式，以修飾《臺灣中藥典》之【展開劑3】展開，顯示胡蘆巴鹼的 R_f 值適中且分離佳，故採用【展開劑3】。

四、觀察方式選擇

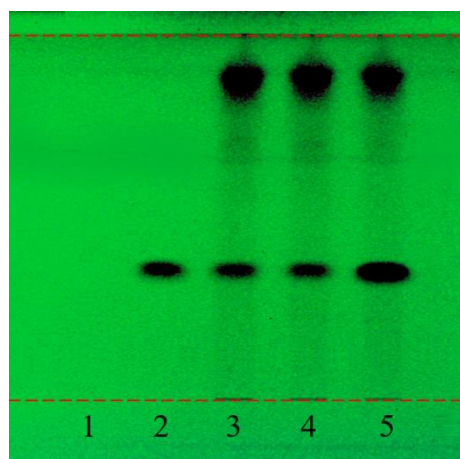
實驗日期：112/12/19

相對溼度(RH)：55%

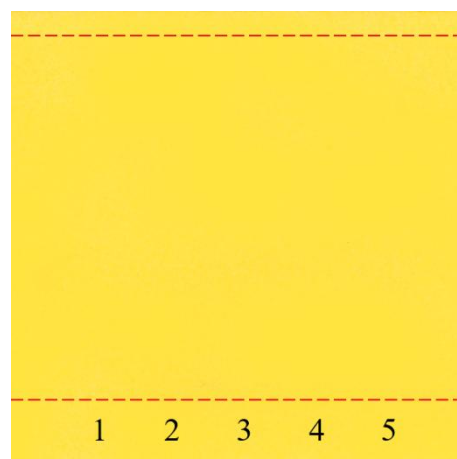
溫度(RT)：22.3°C

【展開劑 3】(自行開發)——丙酮：水 (2：1)

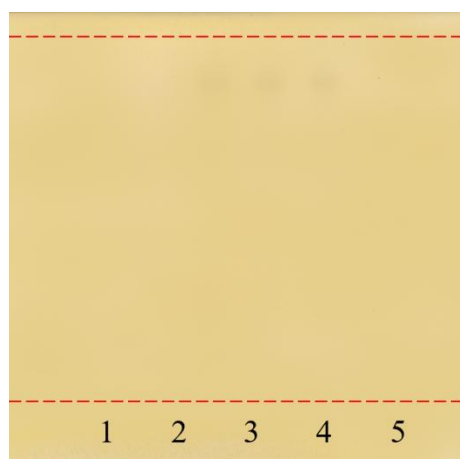
【萃取方法 2】《香港中藥材標準第六冊》—HPTLC 紫外光(254 nm)檢出✓



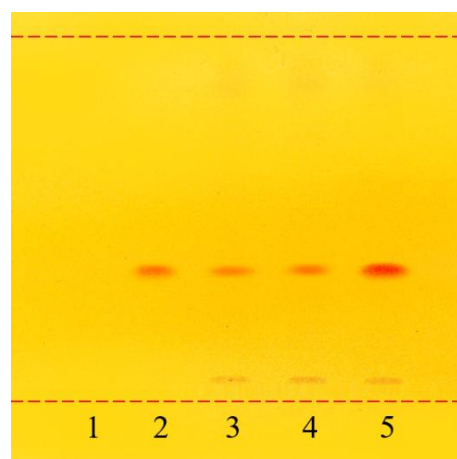
【萃取方法 2】《香港中藥材標準第六冊》—碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出



【萃取方法 2】《香港中藥材標準第六冊》—5%三氯化鐵/乙醇顯色後可見光檢出



【萃取方法 2】《香港中藥材標準第六冊》—HPTLC 碘化鉍鉀試液-三氯化鐵試液(2：1)顯色後可見光檢出✓



1：Blank

3，4：檢品溶液 9

2：胡蘆巴鹼

5：Spike

建議觀察方式：於紫外光(254 nm)下檢視或以碘化鉍鉀試液-三氯化鐵試液(2：1)顯色後，置於可見光下檢視，顯示有明顯分離之條帶。

五、十批胡蘆巴藥材樣品檢測

實驗日期：112/12/19

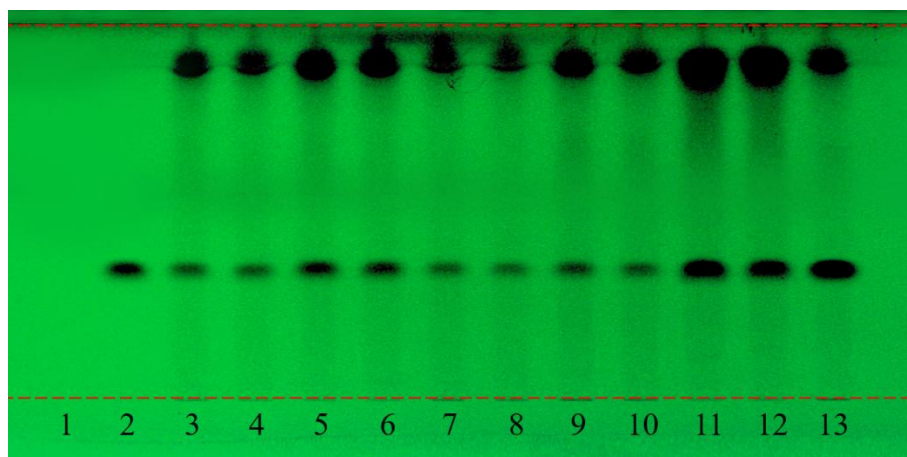
相對溼度(RH)：55%

溫度(RT)：22.3℃

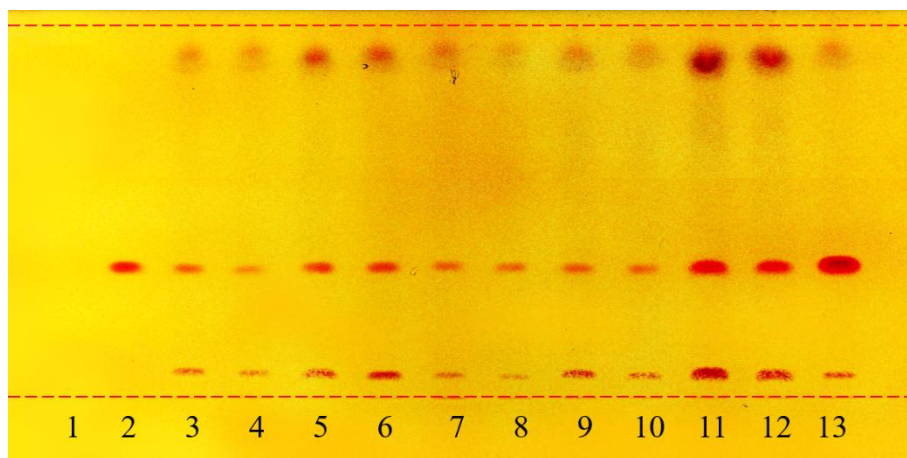
【展開劑3】(自行開發)——丙酮：水 (2：1)

【萃取方法2】《香港中藥材標準第六冊》—HPTLC

(1) 紫外光(254 nm)檢出



(2) 碘化鉍鉀試液-三氯化鐵試液(2：1)顯色後可見光檢出

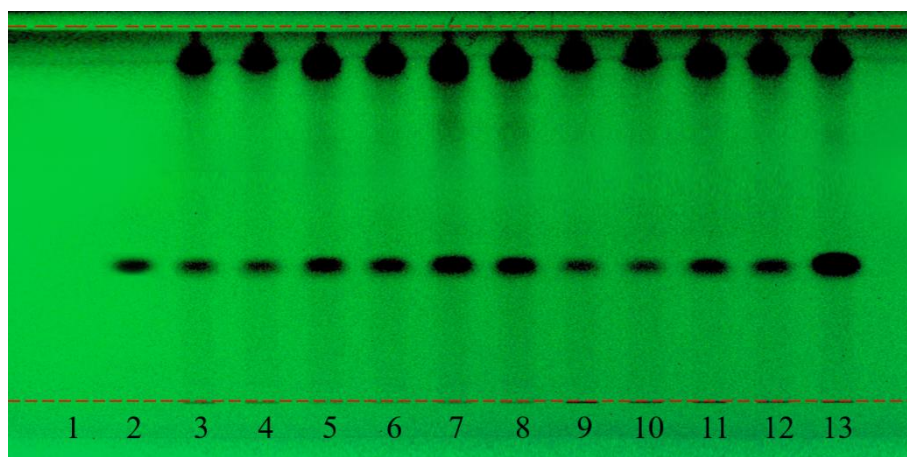


1	Blank	7, 8	檢品溶液 3 (NH)
2	胡蘆巴鹼(1.0 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 4 (NWB)
3, 4	檢品溶液 1 (NC)	11, 12	檢品溶液 5 (NWD)
5, 6	檢品溶液 2 (NFA)	13	Spike (檢品溶液 9)

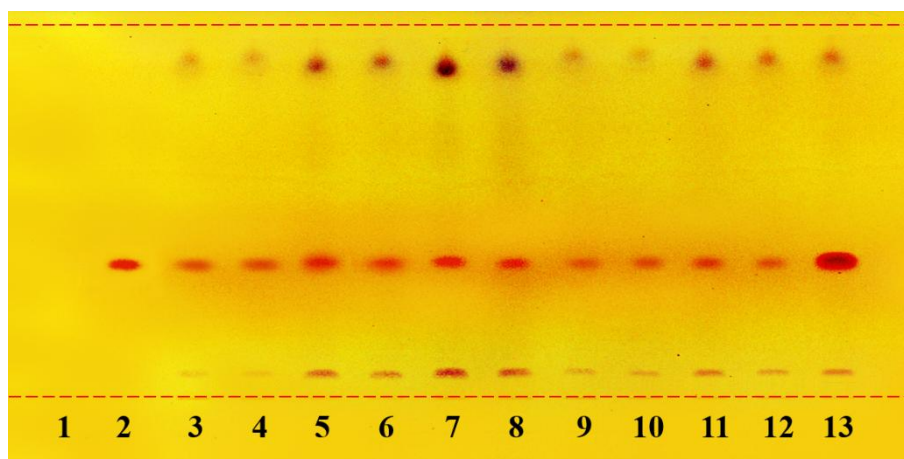
【展開劑 3】(自行開發)——丙酮：水 (2：1)

【萃取方法 2】《香港中藥材標準第六冊》—HPTLC

(1) 紫外光(254 nm)檢出



(2) 碘化鉍鉀試液-三氯化鐵試液(2：1)顯色後可見光檢出



1	Blank	7, 8	檢品溶液 8 (CH)
2	胡蘆巴鹼(1.0 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 9 (SK2)
3, 4	檢品溶液 6 (CA)	11, 12	檢品溶液 10 (SK4)
5, 6	檢品溶液 7 (CE)	13	Spike (檢品溶液 9)

結論與建議：以自行開發之【萃取方法 4】方式及修飾《臺灣中藥典》之【展開劑 4】分離與檢出胡蘆巴鹼較佳，以紫外光(254 nm)下檢視或以碘化鉍鉀試液-三氯化鐵試液(2：1)顯色後於可見光下檢視較佳。