

益母草

(LEONURI HERBA)

益母草 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
益母草 HPLC（藥材）（1）	9
一、材料	9
二、儀器及層析管柱	9
三、實驗藥品及試劑來源	9
四、方法	9
五、結果	13
益母草 HPLC（藥材）（2）	24
一、材料	24
二、儀器及層析管柱	24
三、實驗藥品及試劑來源	24
四、方法	24
五、結果	27
益母草 TLC	38
一、方法	38
二、萃法選擇及濃度測試	40
三、溶媒系統選擇	41
四、觀察方式選擇	43
五、十批益母草藥材樣品檢測	44

益母草

(LEONURI HERBA)

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益母草的乾燥地上部分。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：益母草

生藥名：LEONURI HERBA

英文名：Motherwort Herb

基原：本品為唇形科 Labiatae 植物益母草 *Leonurus japonicus* Houtt. 之乾燥地上部分。

採收加工：乾品夏季莖葉茂盛、花未開或初開時採割，曬乾，或切段曬乾。

藥材性狀：本品多已切成長短不一的段，莖呈方柱形，四面凹下成縱溝，有稀疏分枝，表面灰綠色或黃綠色，體輕，斷面中部有髓。葉對生，灰綠色，多皺縮、破碎，易脫落。完整者泡水展開後可見葉片多為羽狀深裂（多為 3 裂），裂片呈長圓狀菱形至卵圓形且裂片上再分裂，或裂片呈狹長，全緣或具少數鋸齒；少數葉片（近上部花序的苞葉）呈線形或線狀披針形，全緣或具少數鋸齒。莖葉均有細毛。花（商品通常已成果實）腋生，2、3 配列成輪繖花序，花萼筒狀，先端 5 尖裂，苞片成剛毛狀；花冠唇形，紅紫色或白色，下唇 3 裂，有濃紫色或白色線紋。子房 4 裂，成 4 室狀，每室含胚珠 1 枚。果實為小堅果，褐色，呈三稜狀，長 2~5 mm，表面平滑。氣微，味微苦。

生長分佈：一年生或二年生草本植物，生於海拔可高達 3400 公尺的多種環境，以向陽處為多，以土層深厚、富含腐植質的土壤及排水良好的砂質土壤為宜。花期 6~9 月，果期 9~10 月。藥材主產於河南、四川、江蘇、安徽、河北、浙江、山東、河北等地。

三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2)

莖：

1. 表皮細胞外壁較厚，角質化，有較多非腺毛和少數腺毛。
2. 四角處表皮下方為厚角組織。
3. 皮層薄壁細胞中含草酸鈣針晶及方晶。

4. 內皮層由一系列形體較大的扁平細胞組成。
5. 韌皮部窄，其外有少數中柱鞘纖維束，幼莖中較少或無。
6. 形成層不明顯。
7. 木質部於四角處較發達，導管直徑可達 40 μm 。木纖維強木質化。內側近髓處可見初生木質部。
8. 髓部細胞形大，含有小針晶和小方晶。

葉：

1. 表皮細胞外被角質層。
2. 上表皮細胞一行，壁薄，具有非腺毛和腺毛。
3. 柵狀組織為 1 層類長圓形細胞，不通過中脈。
4. 海綿組織由數列近圓形細胞組成，排列鬆散。
5. 柵狀組織及海綿組織薄壁細胞中含小針晶及小方晶。
6. 中脈維管束呈新月形或 U 形，韌皮部較窄，木質部較寬，導管呈徑向排列。
7. 厚角組織位於中脈上、下表皮內側，上表皮較少、下表皮較多。
8. 下表皮具有非腺毛、腺毛及腺鱗。

四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3)

1. 本品粉末淡綠棕色。
2. 葉表皮細胞壁呈波狀，下表皮有氣孔，主為直軸式，並有不定式的氣孔。
3. 非腺毛，極多，單細胞至 5 細胞，大多由 2 個細胞組成，略形彎曲，長可達 300 μm ，頂端的細胞特長，佔全長 2/3 以上。細胞壁頗厚，微呈壁疣，頂端處胞腔細窄，基部圍以 3~6 個略形隆起的表皮細胞。
4. 腺鱗頭部扁球形，由 4~8 個細胞組成，頂面觀類圓形或橢圓形，直徑約 55 μm ，柄極短。
5. 另外稀有腺頭 1~4 個細胞、直徑約 22 μm 、柄極短的腺毛。
6. 草酸鈣結晶偶見，極細小，含簇晶、針晶及方晶。
7. 導管，主要為有緣紋孔導管，也有階紋或螺紋導管，直徑 6~55 μm 。



圖 1 益母草藥材圖

a.藥材圖 b.葉展開圖 c.花 d.果實

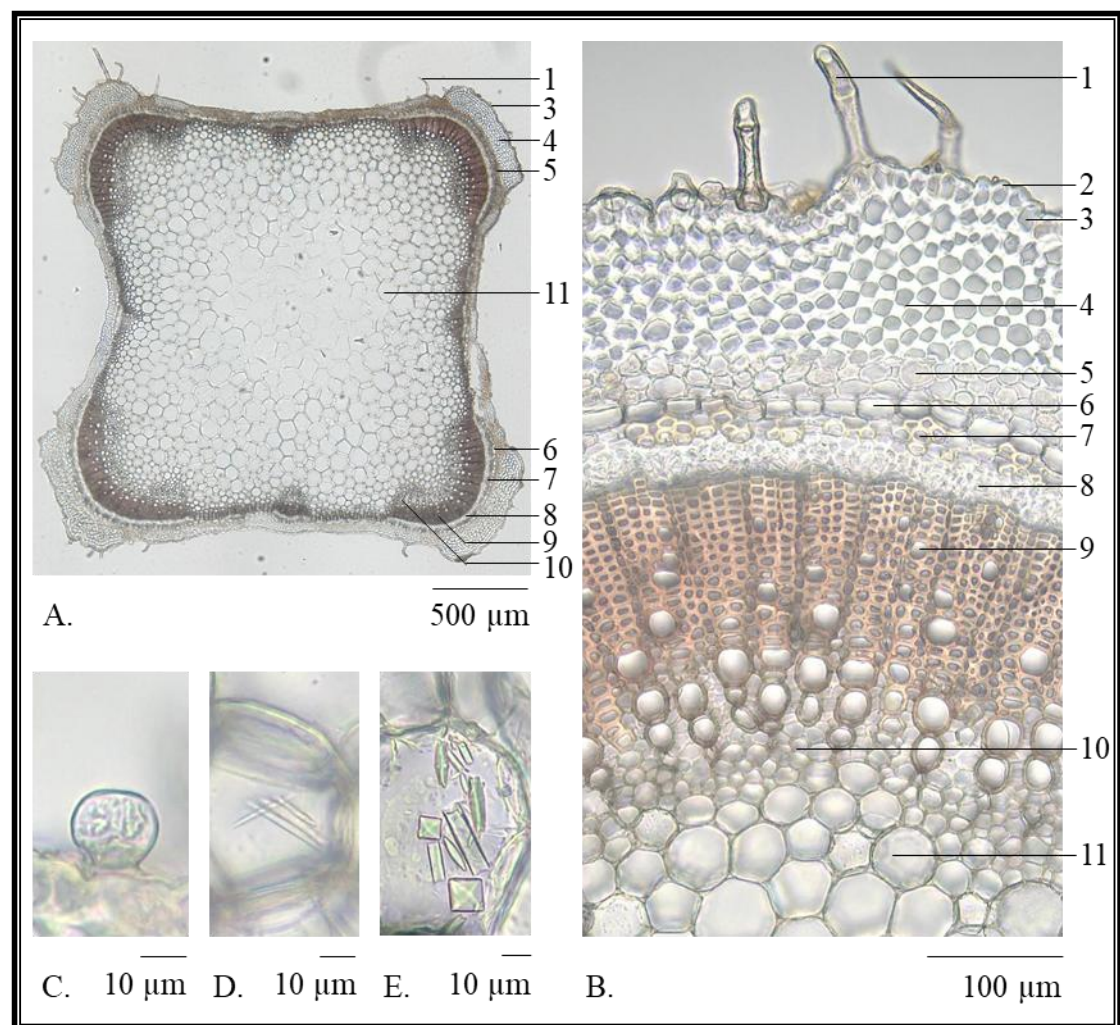


圖 2A 益母草莖橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖 C.腺毛 D.草酸鈣針晶 E.草酸鈣方晶

1.非腺毛 2.角質層 3.表皮細胞 4.厚角組織 5.皮層薄壁細胞 6.內皮層

7.中柱鞘纖維 8.韌皮部 9.木質部 10.初生木質部 11.髓

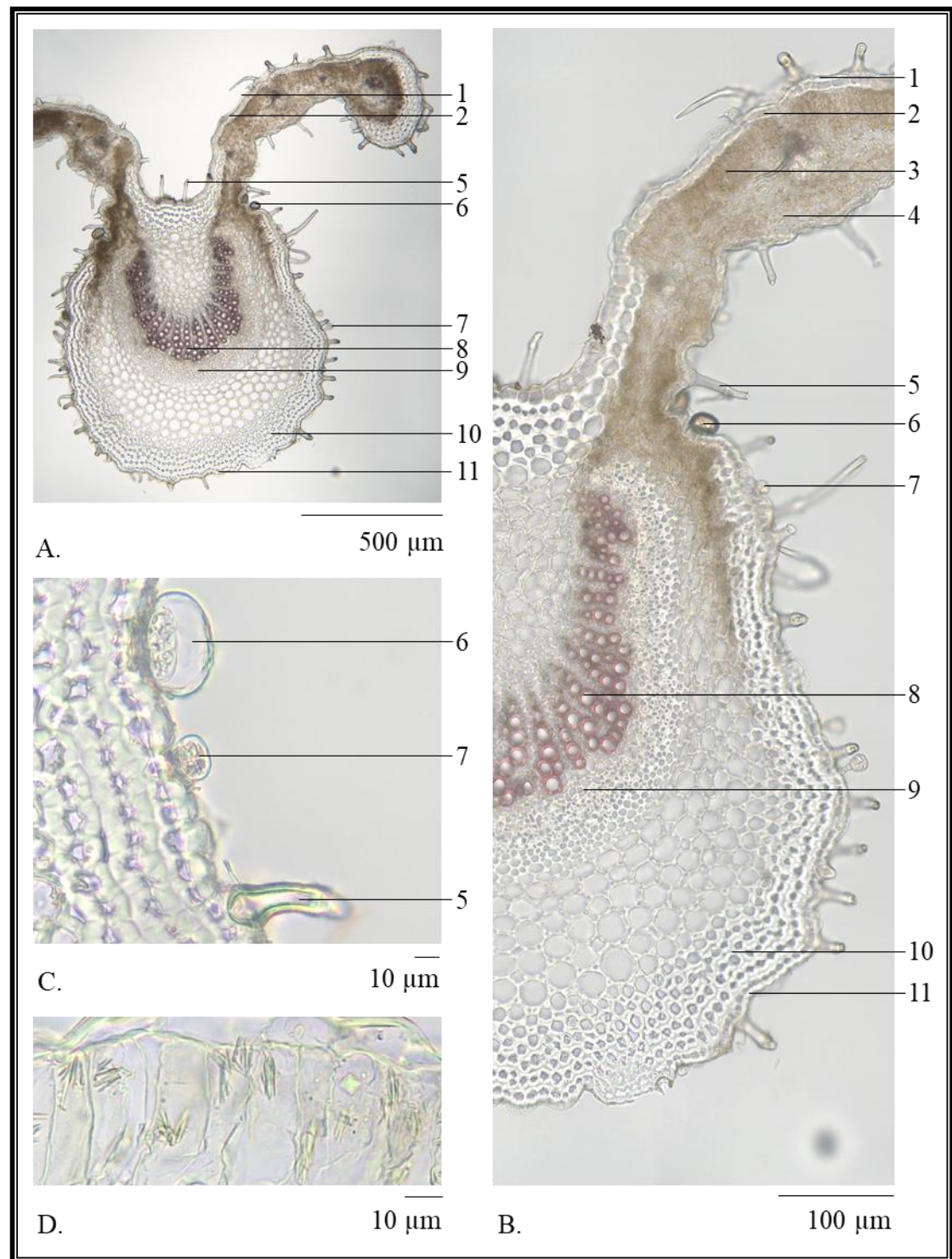


圖 2B 益母草葉橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖 C.非腺毛、腺鱗與腺毛 D.草酸鈣針晶及方晶

1.角質層 2.上表皮 3.柵狀組織 4.海綿組織 5.非腺毛 6.腺鱗 7.腺毛

8.木質部 9.韌皮部 10.厚角組織 11.下表皮

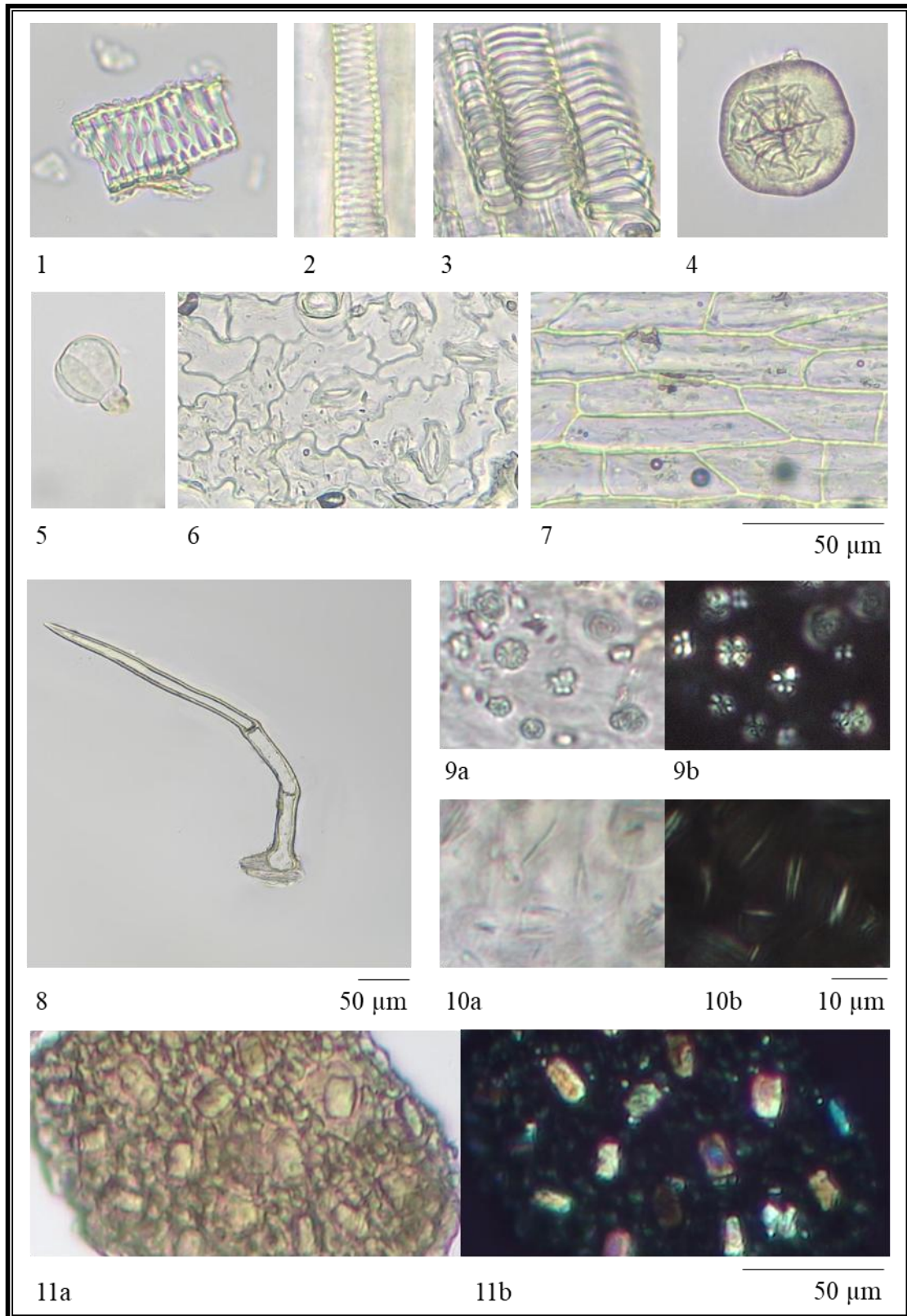


圖 3 益母草粉末顯微特徵圖

a. 光學顯微鏡下特徵 b. 偏光顯微鏡下特徵

1. 有緣紋孔導管 2. 階紋導管 3. 螺紋導管 4. 腺鱗 5. 腺毛 6. 葉表皮細胞
7. 莖表皮細胞 8. 非腺毛 9. 草酸鈣簇晶 10. 草酸鈣針晶 11. 草酸鈣方晶

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。臺北市：衛生福利部。259~260 頁。
2. 行政院衛生署中醫藥委員會(1999)。中藥材品質管制：組織型態學鑑定。臺北市：行政院衛生署中醫藥委員。157~158 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。302~303 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(2010)。香港中藥材標準第三冊。香港：香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部。121~126 頁。
5. 趙中振、陳虎彪(主編)(2016)。中藥顯微鑑定圖典。福建科學技術出版社。430~431 頁。
6. 肖培根(主編)(2002)。新編中藥志第三卷。北京：化學工業出版社。264~273 頁。
7. 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。549~550 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。323~325 頁。
9. 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。199~200 頁。
10. 樓之岑、秦波(主編)(1995)。常用中藥材品種整理和質量研究第一冊。北京醫科大學及中國協和醫科大學聯合出版社。527~556 頁。
11. 艾鐵民(主編)(2022)。中國藥典中藥材及原植物志。北京：中國醫藥科技出版社。546 頁。
12. 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。526~527 頁。
13. 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。199~201 頁。

益母草(LEONURI HERBA)

一、材料

購自於臺灣各地益母草藥材共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Hitachi Chromaster HPLC，包含 Quatary Pump 5160、Autosampler 5260、Column Oven 5310、DAD 5430；層析管柱 COSMOSIL 5C₁₈-MS-II Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)。

(二) UPLC 儀器及層析管柱

Hitachi Chromaster Ultra Rs UHPLC，包含 Binary Solvent Manager、Sample Manager、PDA Detector；層析管柱 Supelco TITAN C18 Column (100 × 2.1 mm, 1.9 μm)。

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

甲醇(HPLC grade)和乙腈(HPLC grade)購自於永定科技有限公司。甲酸胺(ammonium formate, ACS grade)購自於 Alfa Aesar。

(二) 標準品

鹽酸益母草鹼(Leonurine HCl) CAS No. 24735-18-0, 純度 99.41%，Lot No. 24101117, 普思生物科技有限公司(購於昇漢科技有限公司)。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

取本品粉末 6 份，每份準確稱定 1.0 g，置於 50 mL 離心管中，準確加入甲醇、70% 甲醇、50% 甲醇、乙醇、70% 乙醇、50% 乙醇各 25 mL，超音波振盪處理(功率 300W，頻率 40 kHz) 60 分鐘，離心 20 分鐘(約 6000 × g)，取上清液過濾(syringe filter, PTFE 0.22 μm)。每針 2 μL 注入高效液相層析儀(UHPLC)，以所測得進注量之益母草鹼最大波峰面積為最佳益母草萃取溶媒。

(二) 最佳萃取次數評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網) 1.0 g，置於 50 mL 離心管中，精確加入 50% 甲醇 25 mL。超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 60 分鐘，離心 20 分鐘(約 6000 × g)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 25 mL 之容量瓶中，加 50% 甲醇至刻度，搖勻再過濾 (Syringe filter, PTFE

0.22 μ m)，每針進樣 2 μ L 注入 UHPLC 分析。殘渣部分重複上述方法多次萃取、進樣，直到益母草鹼被萃取完全，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鹽酸益母草鹼 1.0 mg，加 1.0 mL 的甲醇製成每 1 mL 含鹽酸益母草鹼 1000 μ g 的對照標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至鹽酸益母草鹼 20 μ g/mL 製成對照標準品溶液。

(四) 檢品溶液

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 1.0 g，置 50 mL 離心管中，準確加入 50% 甲醇 25 mL，超音波振盪處理(功率 300W，頻率 40 kHz) 60 分鐘，離心 20 分鐘(約 6000 $\times$ g)，殘渣部分重複提取 1 次，合併濾液，移入 50 mL 之容量瓶中，加 50% 甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μ m)，即得。

(五) 測定法

準確吸取對照標準品溶液、檢品溶液 10 μ L，注入 HPLC，測定，用標準曲線計算檢品溶液中益母草鹼的含量。

(六) 檢量線

準確吸取鹽酸益母草鹼標準品儲備溶液(1000 μ g/mL)適量，以甲醇稀釋製成含鹽酸益母草鹼分別為 100、50、20、10、5、1.0 μ g/mL 的標準品溶液。以上溶液各取 10 μ L 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

以鹽酸益母草鹼濃度為 20 μ g/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以鹽酸益母草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：取同一批市售益母草藥材，依益母草藥材檢品溶液製備方法平行製備 5 份益母草檢品溶液，進樣測定，以益母草鹼的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售益母草藥材，依益母草藥材檢品溶液製備方法製備益母草藥草檢品溶液，分別在 0、2、4、6、8、24 小時進樣測定，以益母草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 $\geq 3:1$ 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 $\geq 10:1$ 時之濃度, 作為定量極限估計值。

(十) 添加回收率試驗

取已知益母草鹼含量的益母草藥材粉末 5 份, 每份準確稱取約 0.5 g, 分別加入 1.0 mL 的鹽酸益母草鹼溶液(250 $\mu\text{g/mL}$), 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: COSMOSIL 5C₁₈-MS-II Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長: UV 277 nm
3. 流速: 1.0 mL/min
4. 管柱溫度: 40°C
5. 注入量: 10 μL
6. 移動相:

時間(min)	0.1%甲酸和 2 mM 甲酸胺 混合 95%乙腈水溶液 (%)	0.1%甲酸和 2 mM 甲酸胺混合水 溶液 (%)
0	5	95
2	5	95
17	30	70
25	40	60
35	100	0

*取 1 ml 甲酸和 126.12 mg 甲酸胺加入 1000 mL 95%乙腈水溶液或 1000 mL 水, 分別配成 0.1%甲酸和 2 mM 甲酸胺混合 95%乙腈水溶液或 0.1%甲酸和 2 mM 甲酸胺混合水溶液; pH 值為 2.8。

(十二) 臺灣市售益母草含量測定

取 10 批市售益母草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 公式計算樣品益母草鹼的百分含量。

(十三) 益母草檢品之 UPLC 層析條件

1. 層析管：Supelco TITAN C18 Column (2.1 x 100 mm, 1.9 μ m)
2. 檢測波長：277 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：40°C
5. 注入量：2 μ L
6. 移動相：

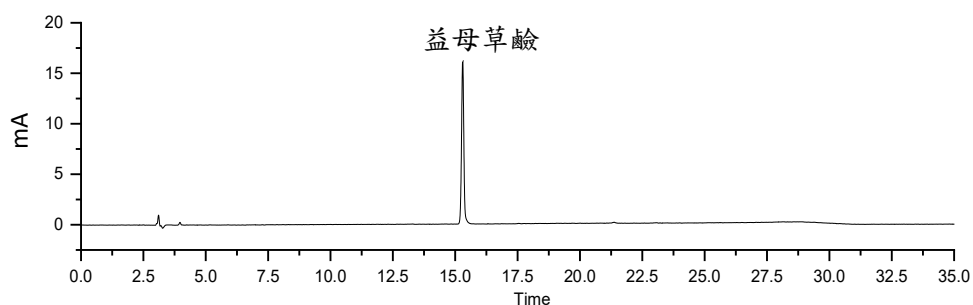
時間(min)	0.1%甲酸和 2 mM 甲酸胺 混合 95%乙腈水溶液 (%)	0.1%甲酸和 2 mM 甲酸胺 混合水溶液 (%)
0	10	90
0.5	10	90
6	30	70
9	40	60
12	100	0

*取 1 ml 甲酸和 126.12 mg 甲酸胺加入 1000 mL 95%乙腈水溶液或 1000 mL 水，分別配成 0.1%甲酸和 2 mM 甲酸胺混合 95%乙腈水溶液或 0.1%甲酸和 2 mM 甲酸胺混合水溶液；pH 值為 2.8。

五、結果

(一) 對照標準品鹽酸益母草鹼之 HPLC 層析

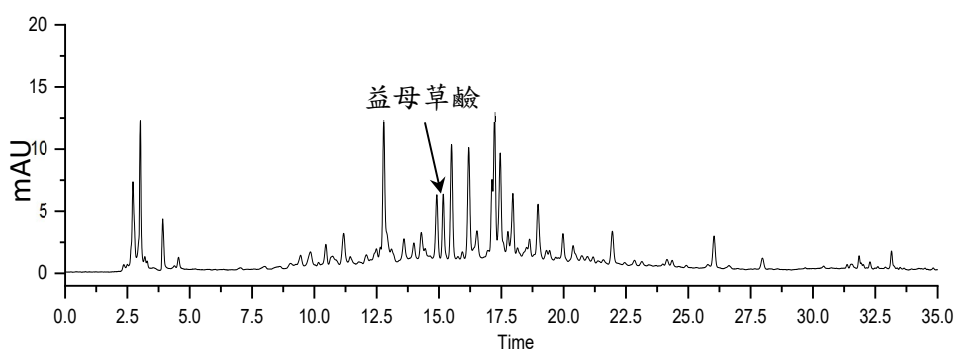
於滯留時間 15.2 分鐘處顯示鹽酸益母草鹼標準品波峰(圖一)。



圖一、鹽酸益母草鹼對照標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售益母草藥材檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 15.2 分鐘處顯示益母草藥材檢品中益母草鹼的波峰(圖二)。益母草鹼之分離率(R)為 1.55，拖尾因子(T)為 1.11，均在系統適用性要求內。



圖二、市售益母草藥材檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒評估

以 50% 甲醇為溶媒時，每單位進注量所得益母草鹼的波峰面積最高，顯示 50% 甲醇為最佳萃取溶媒(表一)。

表一、不同溶媒萃取比較

溶媒	波峰面積	最佳萃取
甲醇	150323.2	
70% 甲醇	151184.0	
50% 甲醇	173243.8	√
乙醇	40784.4	
70% 乙醇	97264.7	
50% 乙醇	129521.5	

(四) 最佳萃取次數評估

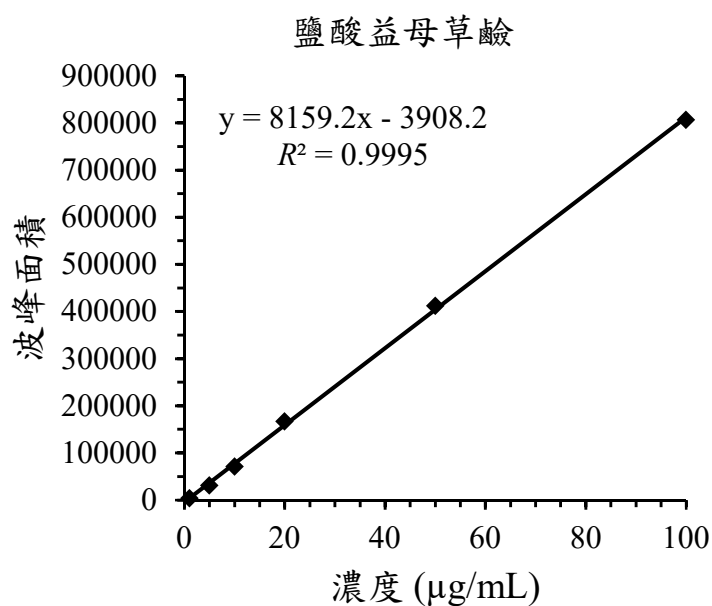
結果顯示萃取2次基本上已將益母草鹼萃取完全(萃取率皆大於98%)
(表二)。

表二、益母草藥材檢品萃取次數評估

50%甲醇萃取次數	益母草鹼波峰面積
第1次	143749.6
第2次	21246.2
第3次	3001.4
第4次	N.D.

(五) 對照標準品鹽酸益母草鹼檢量線

經不同濃度鹽酸益母草鹼(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 $y = 8159.2x - 3908.2$ ， $R^2 = 0.9995$ ，顯示濃度在 1.0–100 $\mu\text{g/mL}$ 有良好之線性關係(圖三)。



圖三、鹽酸益母草鹼之檢量線圖

表三、鹽酸益母草鹼之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
鹽酸益母草鹼	1.0 –100	$y = 8159.2x - 3908.2$	0.9995

(六) 精密度試驗

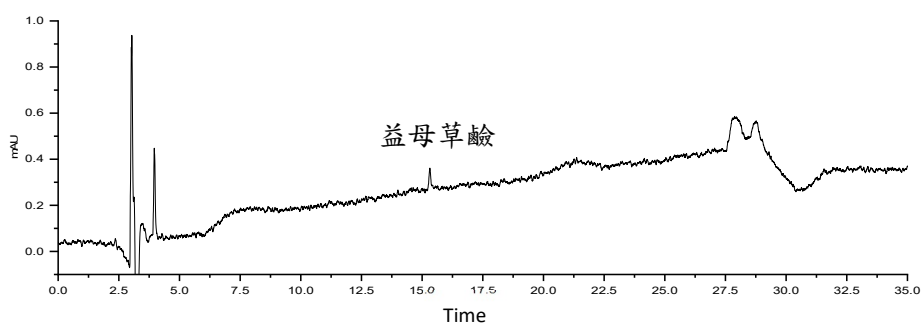
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，鹽酸益母草鹼精密度之相對標準差為 0.25%，均在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

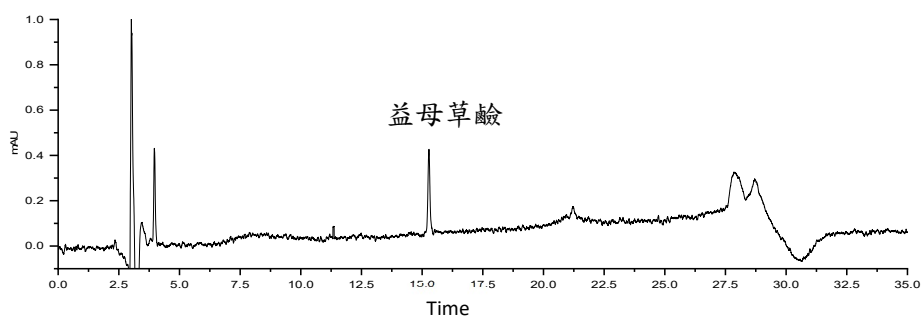
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，鹽酸益母草鹼之重複性試驗相對標準差為 3.42%，在系統適用性要求內。鹽酸益母草鹼在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差分別為 1.44%，變化差異小，若所有樣品分析都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

鹽酸益母草鹼偵測極限為 0.1 µg/mL(圖四)，定量極限為 0.5 µg/mL(圖五)。



圖四、鹽酸益母草鹼之偵測極限層析圖



圖五、鹽酸益母草鹼之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	鹽酸益母草鹼	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	20 µg/mL	0.25
重複性 (n=5)	檢品溶液(No. 7)	3.42
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No. 7)	1.44
偵測極限 (n=1)	0.1 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	0.5 µg/mL	-

(九) 添加回收率試驗

鹽酸益母草鹼平均添加回收率為 93.32%，相對標準偏差為 0.91% (表五)。

表五、鹽酸益母草鹼添加回收率

編號	藥材稱重 (g) (No. 7)	含有量 (mg)	加入量 (mg)	測得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收 率 (%)	R.S.D. (%)
1	0.5026	0.1012	0.25	0.3346	93.35	93.32	0.91
2	0.5016	0.1010	0.25	0.3314	92.16		
3	0.5033	0.1013	0.25	0.3381	94.17		
4	0.5026	0.1012	0.25	0.3315	92.11		
5	0.5019	0.1011	0.25	0.3367	94.27		

(十) 臺灣市售益母草藥材含量測定

10 批益母草藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，以鹽酸益母草鹼計其含量為 0.014–0.031%，益母草鹼的百分含量以鹽酸益母草鹼乘以換算係數 0.897 (益母草鹼/鹽酸益母草鹼莫爾質量比為 0.897)，益母草鹼的含量為 0.013–0.028%，建議益母草藥材指標成分益母草鹼的含量不得少於 0.05%。理論板數按益母草鹼波峰計算應不低於 6000 (實際值為 146560)。

表六、臺灣市售益母草藥材檢品之益母草鹼含量

藥材編號 (No.)	以鹽酸益母草鹼計 (%)	益母草鹼含量 (%)
1 (NRB)	0.017	0.015
2 (NC)	0.029	0.026
3 (NX)	0.014	0.013
4 (NWB)	0.031	0.028
5 (CH)	0.019	0.017
6 (CB)	0.020	0.018
7 (SUA)	0.022	0.020
8 (SCB)	0.021	0.019
9 (SK2)	0.018	0.016
10 (SK1)	0.027	0.024
平均值±S.D.	0.022±0.005	0.020±0.005

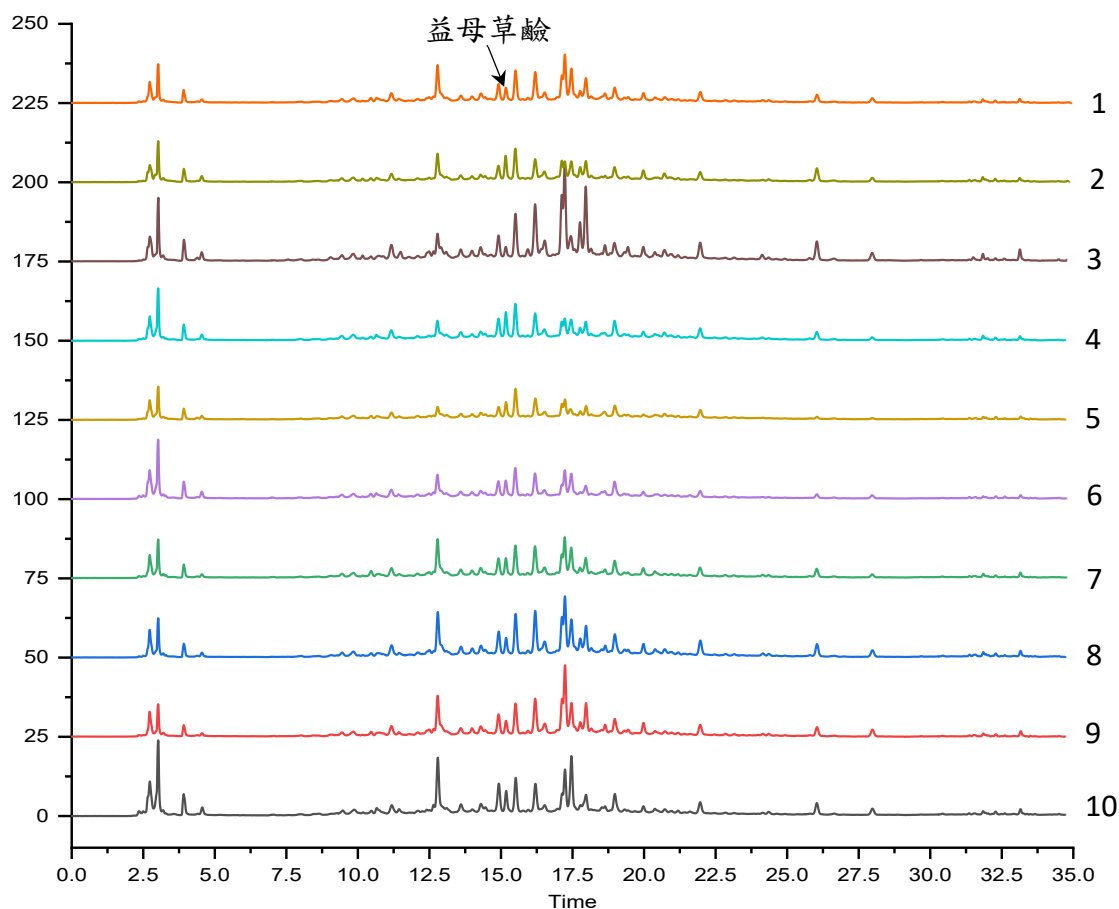
(十一) 益母草藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售益母草藥材檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：COSMOSIL 5C₁₈-MS-II Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：277 nm
3. 管柱溫度：40°C
4. 流速：1.0 mL/min
5. 注入量：10 μ L
6. 移動相：

時間(min)	0.1%甲酸和 2 mM 甲酸胺混合 95%乙腈水溶液 (%)	0.1%甲酸和 2 mM 甲酸胺混合水溶液 (%)
0	5	95
2	5	95
17	30	70
25	40	60
35	100	0

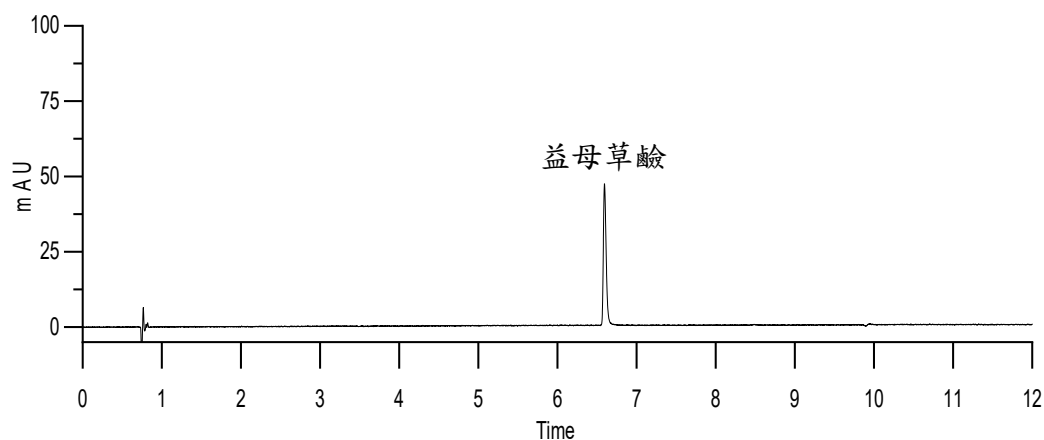
*取 1 ml 甲酸和 126.12 mg 甲酸胺加入 1000 mL 95%乙腈水溶液或 1000 mL 水，分別配成 0.1%甲酸和 2 mM 甲酸胺混合 95%乙腈水溶液或 0.1%甲酸和 2 mM 甲酸胺混合水溶液；pH 值為 2.8。



圖六、10 批益母草藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 對照標準品益母草鹼之 UPLC 層析圖譜

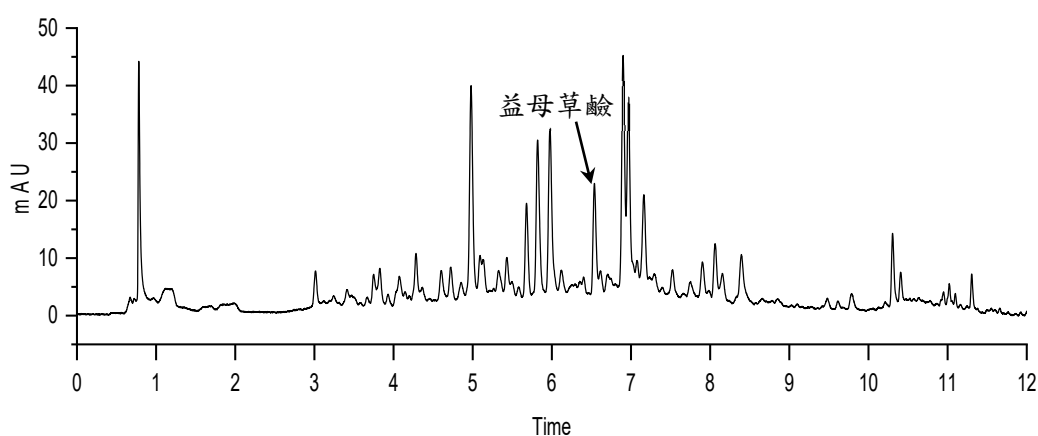
於滯留時間 6.53 分鐘處顯示益母草鹼對照標準品波峰(圖七)。



圖七、鹽酸益母草鹼標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售益母草藥材檢品之 UPLC 層析圖譜

於滯留時間 6.53 分鐘處顯示益母草藥材檢品中益母草鹼波峰(圖八)。

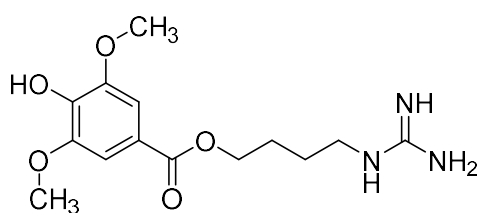


圖八、市售益母草藥材檢品之 UPLC 指紋圖譜

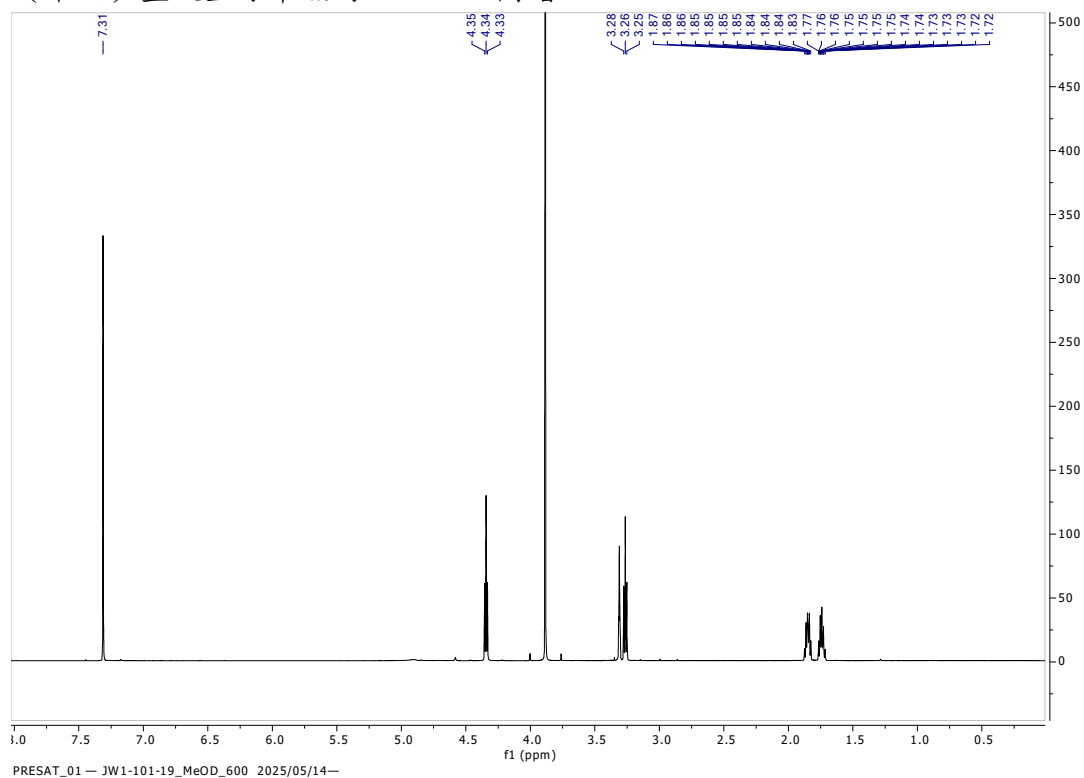
(十四) 益母草鹼的分子式、分子量與熔點

分子式: $C_{14}H_{21}N_3O_5$; 分子量: 311.3; 熔點: 229-230°C; 白色固體。

(十五) 益母草鹼的結構

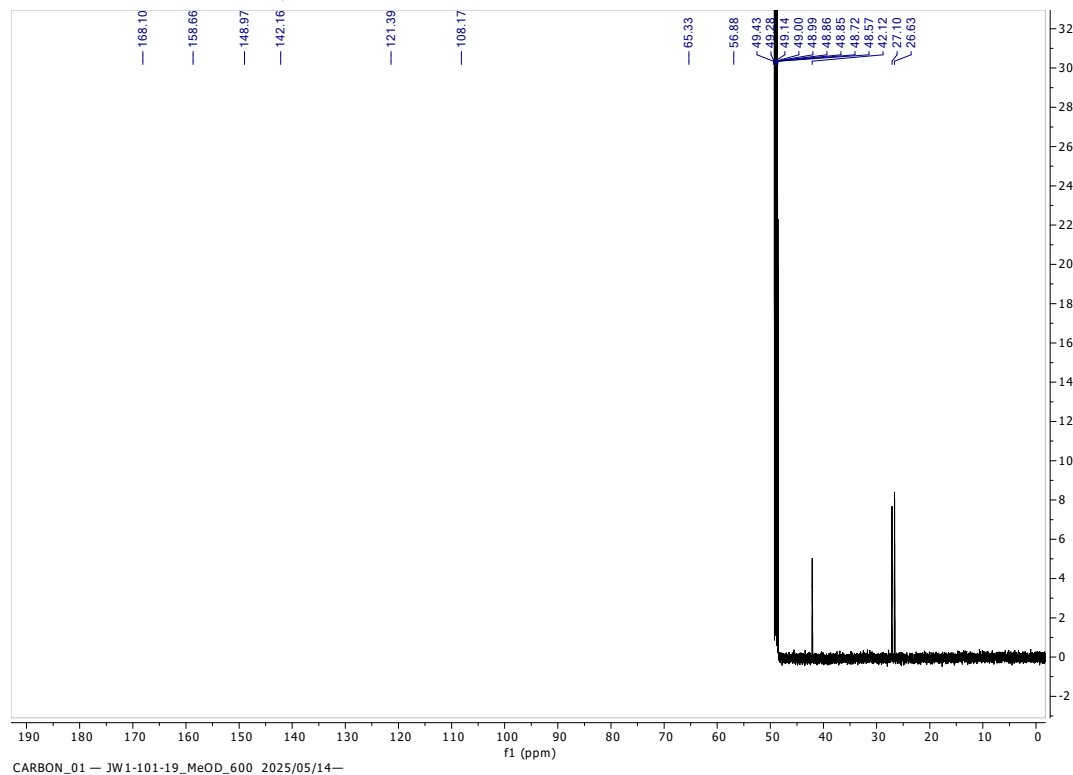


(十六) 鹽酸益母草鹼的 ^1H NMR 圖譜



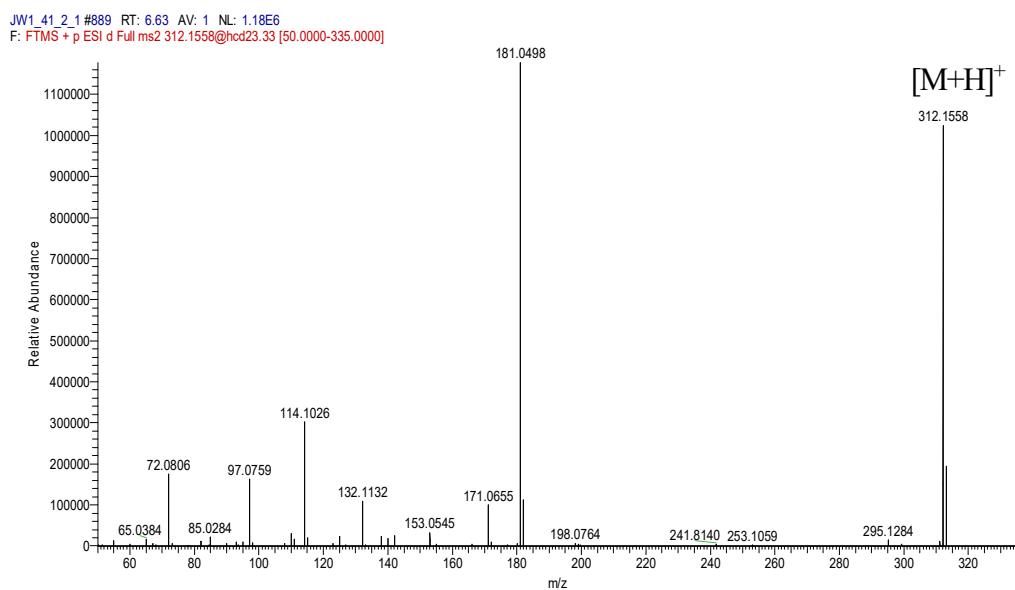
圖九、鹽酸益母草鹼的 ^1H NMR 圖譜(CD_3OD)

(十七) 鹽酸益母草鹼的 ^{13}C NMR 圖譜



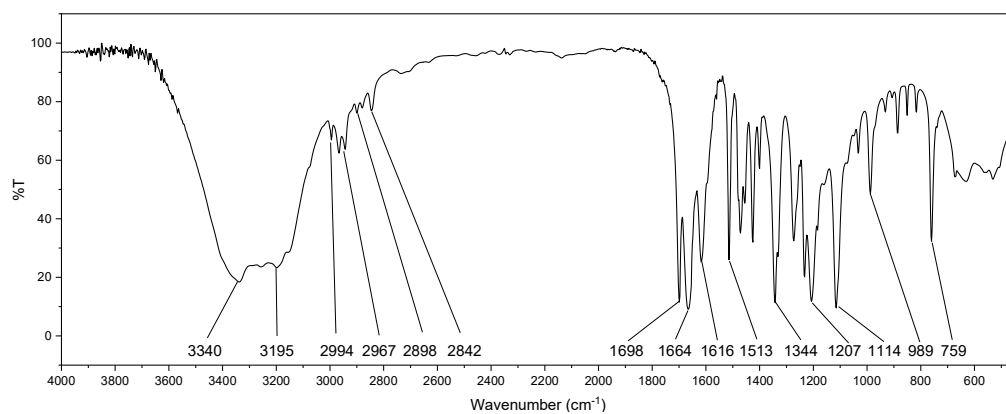
圖十、鹽酸益母草鹼的 ^{13}C NMR 圖譜(CD_3OD)

(十八) 益母草鹼的 ESI-MS² 圖譜



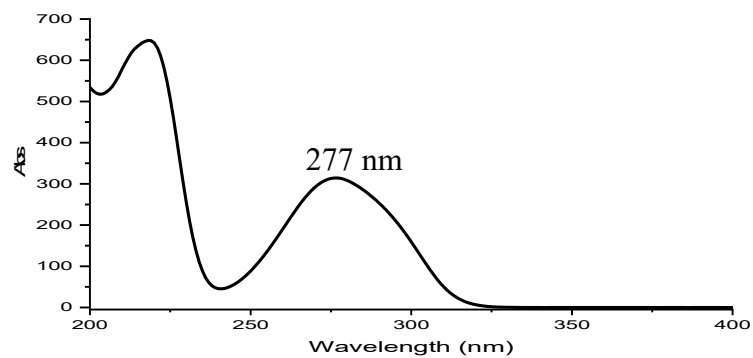
圖十一、益母草鹼的 ESI-MS² 圖譜

(十九) 鹽酸益母草鹼的 FTIR 圖譜



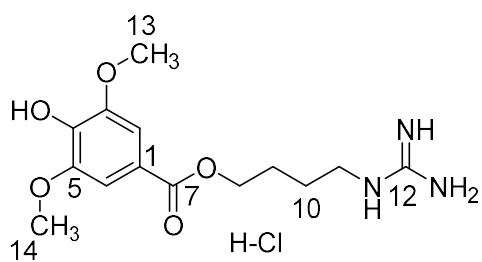
圖十二、鹽酸益母草鹼的 FTIR 圖譜

(二十) 鹽酸益母草鹼的 UV 圖譜



圖十三、鹽酸益母草鹼的 UV 圖譜

(二十一) 鹽酸益母草鹼的氫、碳化學位移



鹽酸益母草鹼

表七、鹽酸益母草鹼的氫、碳化學位移(CD₃OD)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1		121.38
2	7.31 (s, 1H)	108.17
3		148.97
4		142.17
5		148.97
6	7.31 (s, 1H)	108.17
7		168.1
8	4.34 (t, 6.4, 2H)	65.34
9	1.74 (m, 2H)	26.63
10	1.85 (m, 2H)	27.1
11	3.26 (t, 7.1, 2H)	42.12
12		158.66
13	3.88 (s, 3H)	56.88
14	3.88 (s, 3H)	56.88

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

各國藥典HPLC分析方法規範比較與建議

藥典	《臺灣中藥典》-IV	《中國藥典》2025版 一部	《香港中藥材標準》第三冊	自行研究
對照標準品	-	鹽酸水蘇鹼， 鹽酸益母草鹼	鹽酸水蘇鹼	鹽酸水蘇鹼， 鹽酸益母草鹼
含量限度	-	鹽 酸 水 蘇 鹼 0.5%， 鹽 酸 益 母 草 鹼 0.05%	-	建議 鹽酸水蘇鹼 0.5%， 鹽酸益母草鹼0.05%
檢品溶液製備	-	準確稱取本品粉末1g，置錐形瓶中，加入70%乙醇25ml，稱定重量，加熱回流2小時，放冷，再稱定重量，用70%乙醇補足減失的重量，搖勻，過濾。	-	準確稱取本品粉末1g，置50 mL離心管中，準確加入50%甲醇25 mL，超音波振盪處理60分鐘，離心20分鐘(6000 rpm)，殘渣部分重複提取1次，合併濾液，移入50 mL之容量瓶中，加50%甲醇至刻度，過濾。
色譜洗脫條件	-	乙腈-0.4%辛烷磺酸鈉的0.1%磷酸溶液(24:76)	-	0.1%甲酸和2 mM甲酸胺混合水溶液(A): 0.1%甲酸和2 mM甲酸胺混合95%乙腈水溶液(B) 0-2', 5 % (B) 2-17', 30 % (B) 17-25', 40 % (B) 25-35', 100% (B)
檢測方法	-	檢測波長 277 nm	-	檢測波長 277 nm
系統適用性	-	按鹽酸益母草鹼峰計算 ≥ 6000	-	按鹽酸益母草鹼峰計算 ≥ 6000 (實際值為146560)
	-	-	-	≥ 1.5
優缺點說明及建議	-	1. 檢品製備以70%乙醇加熱回流2小時。 2. 使用C18管柱與含0.4%辛烷磺酸鈉的0.1%磷酸溶液離子對溶劑。	-	1. 檢品製備採用50%甲醇超音波振盪萃取二次，萃取完全。且簡便。 2. 使用C18管柱，配合優化的層析條件可有效分離益母草鹼波峰之前

				後有2個具相似紫外吸收光譜的波峰，避免高估益母草鹼含量。
--	--	--	--	------------------------------

備註:

HPLC 層析圖顯示於益母草鹼 (leonurine) 波峰 ($R_t=15.2$) 前後有 2 個波峰具相似紫外吸收光譜的化合物 (Figure S1)，如 HPLC 衝提條件未最適化，則益母草鹼易與其後緊鄰之波峰共洗脫 (Figure S2)，而高估益母草鹼的含量。

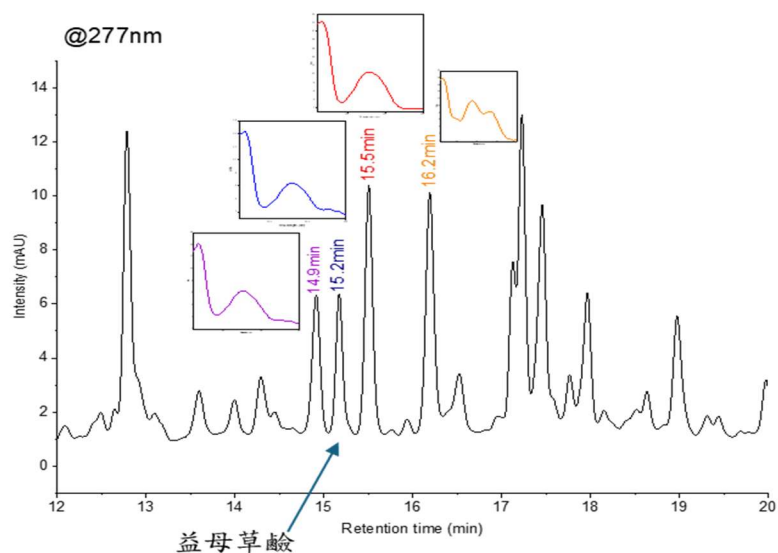


Figure S1. The optimized chromatogram for quantitative analysis of leonurine

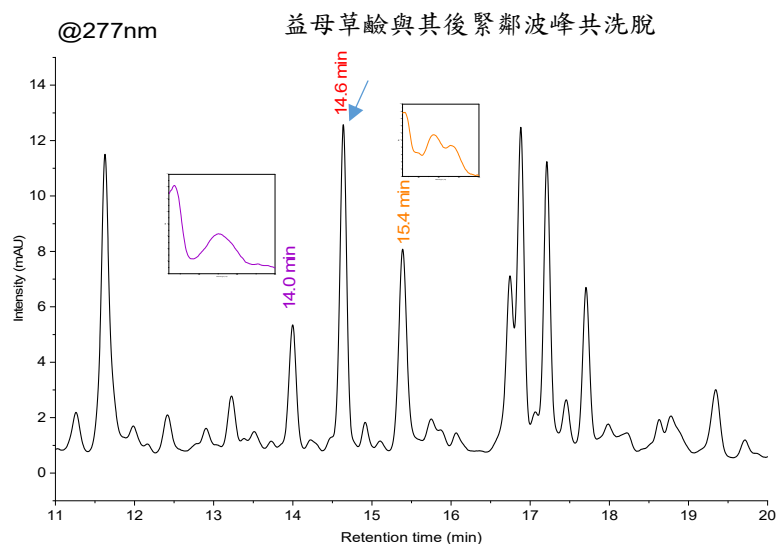


Figure S2. The chromatogram for quantitative analysis of leonurine

益母草(LEONURI HERBA)

一、材料

購自於臺灣各地益母草藥材共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Hitachi Chromaster HPLC，包含 Quatary Pump 5160、Autosampler 5260、Column Oven 5310、DAD 5430；層析管柱 Agilent Zobrax HILIC Plus Column (100 × 4.6 mm, 3.5 μm)。

(二) UPLC 儀器及層析管柱

Hitachi Chromaster Ultra Rs UHPLC，包含 Binary Solvent Manager、Sample Manager、PDA Detector；層析管柱 Agilent Zobrax HILIC Plus Column (100 × 2.1 mm, 1.8 μm)。

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

乙腈(HPLC grade)購自於永定科技有限公司。醋酸胺(ammonium acetate, ACS grade)購自於 Riedel-de Haen。

(二) 標準品

鹽酸水蘇鹼(Stachydrine HCl) CAS No.4136-37-2, 純度 99.83%, Lot No.25031902, 普思生物科技有限公司(購於昇漢科技有限公司)。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

取本品粉末 6 份，每份準確稱定 1.0 g，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇、70%甲醇、50%甲醇、乙醇、70%乙醇、50%乙醇各 25 mL，超音波振盪處理(功率 300W，頻率 40 kHz) 60 分鐘，離心 20 分鐘(約 6000 × g)，取上清液過濾(syringe filter, PTFE 0.22 μm)。每針 2 μL 注入高效液相層析儀(UHPLC)，以所測得進注量之鹽酸水蘇鹼最大波峰面積為最佳益母草萃取溶媒。

(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，精確加入 70%甲醇 25 mL。超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 60 分鐘，離心 20 分鐘(約 6000 × g)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 25 mL 之容量瓶中，加 70%甲醇至刻度，搖勻再過濾 (Syringe filter, PTFE 0.22 μm)，

每針進樣 2 μL 注入 UHPLC 分析。殘渣部分重複上述方法多次萃取、進樣，直到水蘇鹼被萃取完全，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鹽酸水蘇鹼 1.0 mg，加 1.0 mL 的甲醇製成每 1 mL 含鹽酸水蘇鹼 1000 μg 的對照標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至鹽酸水蘇鹼 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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 70% 甲醇 25 mL，超音波振盪處理(功率 300W，頻率 40 kHz) 60 分鐘，離心 20 分鐘(約 $6000 \times g$)，殘渣部分重複提取 1 次，合併濾液，移入 50 mL 之容量瓶中，加 70% 甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μm)，即得。

(五) 測定法

準確吸取對照標準品溶液、檢品溶液 10 μL ，注入 HPLC，測定，用標準曲線計算檢品溶液中水蘇鹼的含量。

(六) 檢量線

準確吸取鹽酸水蘇鹼標準品儲備溶液(1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$)適量，以甲醇稀釋製成含鹽酸水蘇鹼分別為 1000、800、600、500、400、200、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的標準品溶液。以上各稀釋及儲備溶液各取 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

以鹽酸水蘇鹼濃度為 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以鹽酸水蘇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：取同一批市售益母草藥材，依益母草藥材檢品溶液製備方法平行製備 5 份益母草藥材檢品溶液，進樣測定，以鹽酸水蘇鹼的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售益母草藥材，依益母草藥材檢品溶液製備方法製備益母草藥材檢品溶液，分別在 0、2、4、6、8、24 小時進樣測定，以鹽酸水蘇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 $\geq 3:1$ 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 $\geq 10:1$ 時之濃度, 作為定量極限估計值。

(十) 添加回收率試驗

取已知鹽酸水蘇鹼含量的益母草藥材粉末 5 份, 每份準確稱取約 0.1 g, 分別加入 1.0 mL 的鹽酸水蘇鹼溶液(500 $\mu\text{g/mL}$), 並按檢品溶液製備方法操作測定。

(十一) 益母草檢品之 HPLC 層析條件

1. 層析管: Agilent ZOBAX HILIC Plus (100 $\times$ 4.6 mm, 3.5 μm)
2. 檢測波長: 205 nm
3. 流速: 1.0 mL/min
4. 管柱溫度: 30 $^{\circ}\text{C}$
5. 注入量: 10 μL
6. 移動相:

時間(min)	乙腈(%)	10 mM 醋酸胺水溶液 (v/v, %)
0	80	20
15	80	20

*取 0.77 g 醋酸胺加入 1000 mL 水配成 10 mM 醋酸胺水溶液; pH 值為 6.3。

(十二) 臺灣市售益母草含量測定

取 10 批市售益母草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 公式計算樣品水蘇鹼的百分含量。

(十三) 益母草檢品之 UPLC 層析條件

1. 層析管: Agilent ZOBAX HILIC Plus (100 $\times$ 2.1 mm, 1.8 μm)
2. 檢測波長: 205 nm
3. 流速: 0.4 mL/min
4. 管柱溫度: 30 $^{\circ}\text{C}$
5. 注入量: 2 μL
6. 移動相:

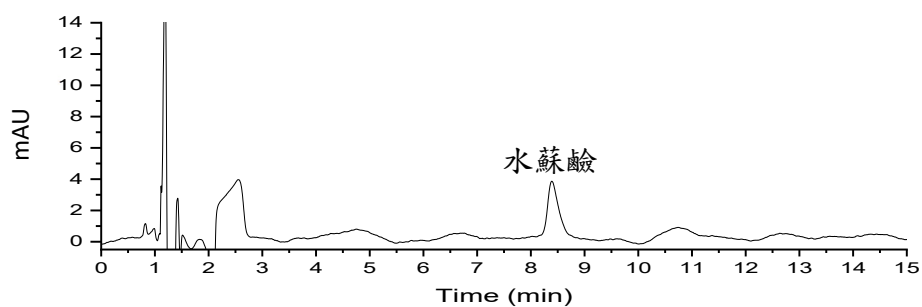
時間(min)	乙腈(%)	10 mM 醋酸胺水溶液 (v/v, %)
0	80	20
8	80	20

*取 0.77 g 醋酸胺加入 1000 mL 水配成 10 mM 醋酸胺水溶液; pH 值為 6.3。

五、結果

(一) 對照標準品鹽酸水蘇鹼之 HPLC 層析圖譜

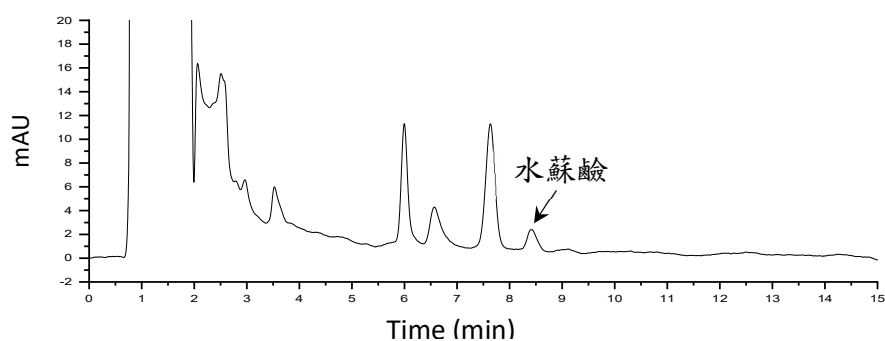
於滯留時間 8.28 分鐘處顯示鹽酸水蘇鹼標準品波峰(圖一)。



圖一、鹽酸水蘇鹼對照標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售益母草藥材檢品之 HPLC 層析圖譜

於滯留時間 8.28 分鐘顯示益母草檢品中水蘇鹼的波峰(圖二)。水蘇鹼之分離率(R)為 2.11，拖尾因子(T)為 1.13，均在系統適用性要求內。



圖二、市售益母草藥材檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒評估

以 70% 甲醇為溶媒時，每單位進注量所得水蘇鹼的波峰面積最高，顯示 70% 甲醇為最佳萃取溶媒(表一)。

表一、不同溶媒萃取比較

溶媒	波峰面積	最佳萃取
乙醇	32989.1	
70%乙醇	64725.3	
50%乙醇	27943.6	
甲醇	54978.7	
70%甲醇	66130.3	√
50%甲醇	59956.6	

(四) 最佳萃取次數評估

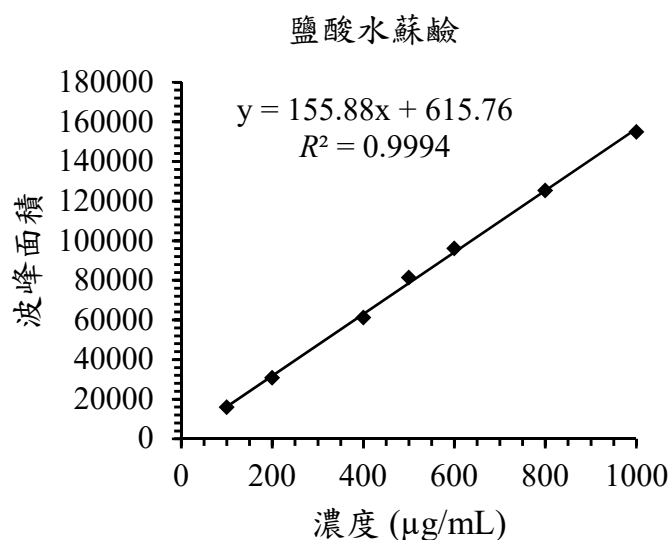
結果顯示萃取 2 次基本上已將水蘇鹼萃取完全(萃取率大於 98%) (表二)。

表二、益母草藥材檢品萃取次數評估

70% 甲醇萃取次數	水蘇鹼波峰面積
第 1 次	57160.7
第 2 次	10532.8
第 3 次	N.D.

(五) 標準品鹽酸水蘇鹼檢量線

經不同濃度鹽酸水蘇鹼(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 $y = 155.88x + 615.76$ ， $R^2 = 0.9994$ ，顯示濃度在 100 – 1000 $\mu\text{g/mL}$ 有良好之線性關係 (圖三)。



圖三、對照標準品鹽酸水蘇鹼之檢量線圖

表三、鹽酸水蘇鹼之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
鹽酸水蘇鹼	100 – 1000	$y = 155.88x + 615.76$	0.9994

(六) 精密度試驗

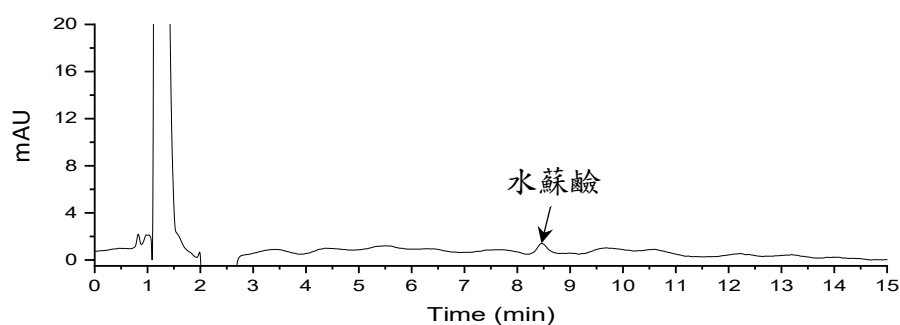
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，鹽酸水蘇鹼精密度之相對標準差為 2.67%，均在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

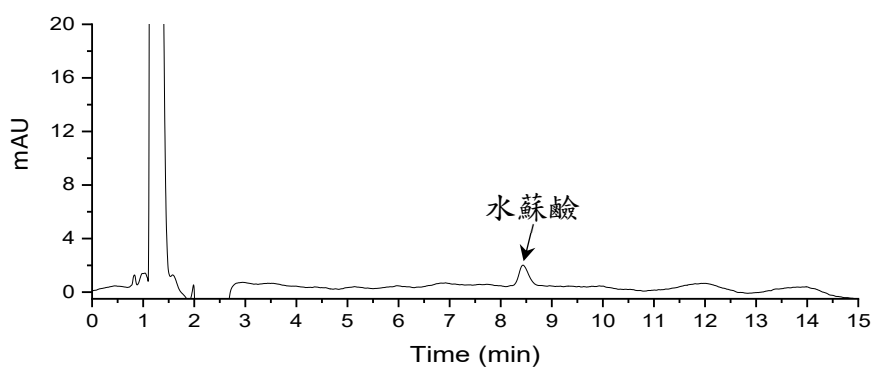
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，鹽酸水蘇鹼之重複性試驗相對標準差為 3.49%，在系統適用性要求內。鹽酸水蘇鹼在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差為 3.56%，變化差異小，若所有樣品分析都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

鹽酸水蘇鹼偵測極限為 50 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 100 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、鹽酸水蘇鹼之偵測極限層析圖



圖五、鹽酸水蘇鹼之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	鹽酸水蘇鹼	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	500 $\mu\text{g/mL}$	2.67
重複性 (n=5)	檢品溶液 (No. 7)	3.49
穩定性 (n=5)	檢品溶液 (No. 7)	3.56
偵測極限 (n=1)	50 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=1)	100 $\mu\text{g/mL}$	-

(九) 添加回收率試驗

鹽酸水蘇鹼平均添加回收率為 102.9 %，相對標準偏差為 1.80% (表五)。

表五、鹽酸水蘇鹼添加回收率

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	0.1002	0.9041	0.5	1.4176	102.69	102.88	1.80
2	0.1004	0.9059	0.5	1.4281	104.44		
3	0.1006	0.9077	0.5	1.4253	103.51		
4	0.1002	0.9041	0.5	1.4015	99.47		
5	0.1006	0.9077	0.5	1.4293	104.31		

(十) 臺灣市售益母草藥材含量測定

10 批益母草藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，以鹽酸水蘇鹼計其含量為 0.773–1.444%，水蘇鹼的百分含量以鹽酸水蘇鹼含量乘以換算系數 0.797 (水蘇鹼/鹽酸水蘇鹼莫爾質量比為 0.797)，水蘇鹼的含量為 0.616–1.151%，建議益母草藥材指標成分水蘇鹼的含量不得少於 0.5%。理論板數按鹽酸水蘇鹼波峰計算應不低於 5000 (實際值為 6142)。

表六、臺灣市售益母草藥材檢品之水蘇鹼含量

藥材編號 (No.)	以鹽酸水蘇鹼計 (%)	水蘇鹼含量 (%)
1 (NC)	1.417	1.129
2 (NRB)	0.935	0.745
3 (NWB)	1.133	0.903
4 (CH)	0.773	0.616
5 (CE)	1.111	0.886
6 (CB)	1.132	0.902
7 (SUD)	0.935	0.745
8 (SCB)	1.098	0.875
9 (SK2)	1.219	0.972
10 (SK1)	1.444	1.151
平均值±S.D.	1.120 ± 0.209	0.884±0.161

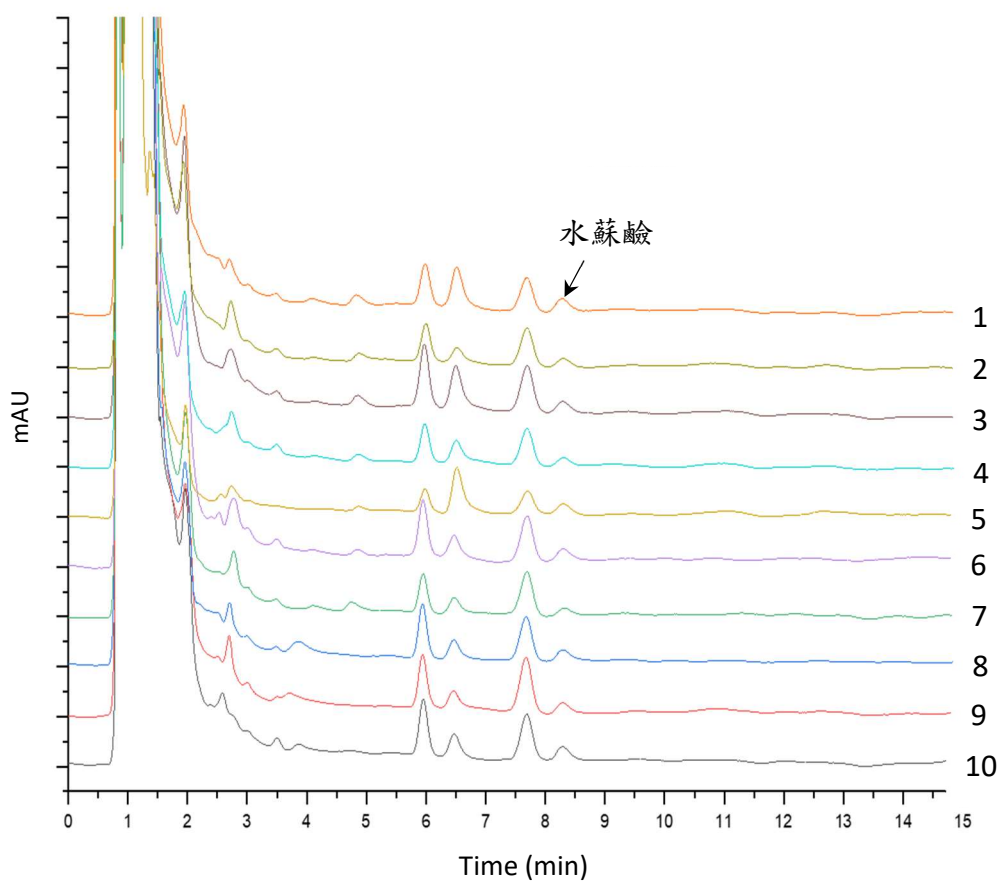
(十一) 益母草藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售益母草藥材檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：Agilent Zobrax HILIC Plus Column (100 $\times$ 4.6 mm, 3.5 μ m)
2. 檢測波長：205 nm
3. 管柱溫度：30 $^{\circ}$ C
4. 流速：1.0 mL/min
5. 注入量：10 μ L
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	10 mM 醋酸胺 in H ₂ O (v/v,%)
0	80	20
15	80	20

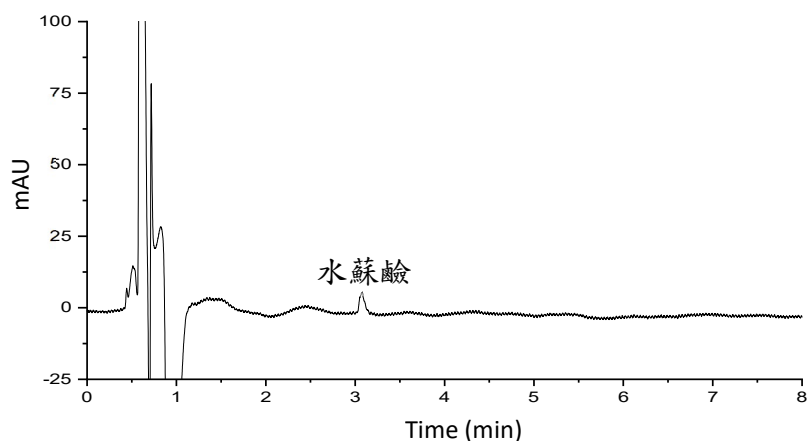
*取 0.77 g 醋酸胺加入 1000 mL 水配成 10 mM 醋酸胺水溶液；pH 值為 6.3。



圖六、10 批益母草藥材之 HPLC 指紋圖譜

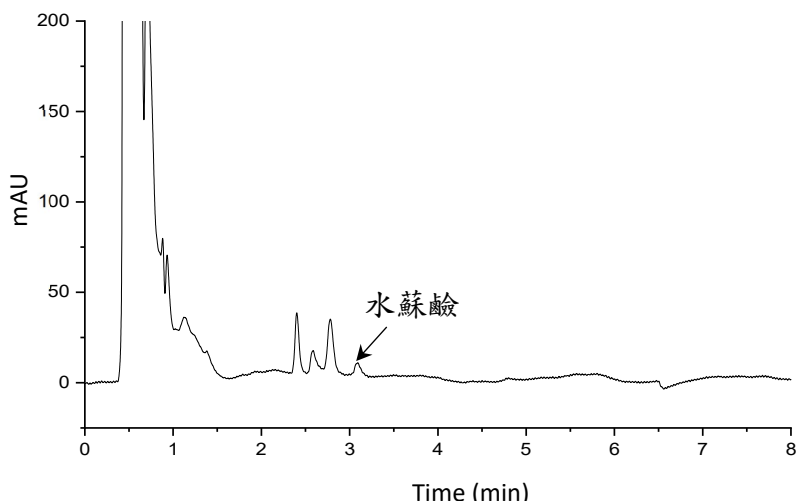
(十二) 對照標準品鹽酸水蘇鹼 UPLC 層析

於滯留時間 3.07 分鐘處顯示鹽酸水蘇鹼對照標準品波峰(圖七)。



圖七、鹽酸水蘇鹼對照標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售益母草藥材檢品之 UPLC 指紋圖譜 (圖八)

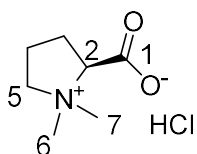


圖八、市售益母草藥材檢品之 UPLC 指紋圖譜

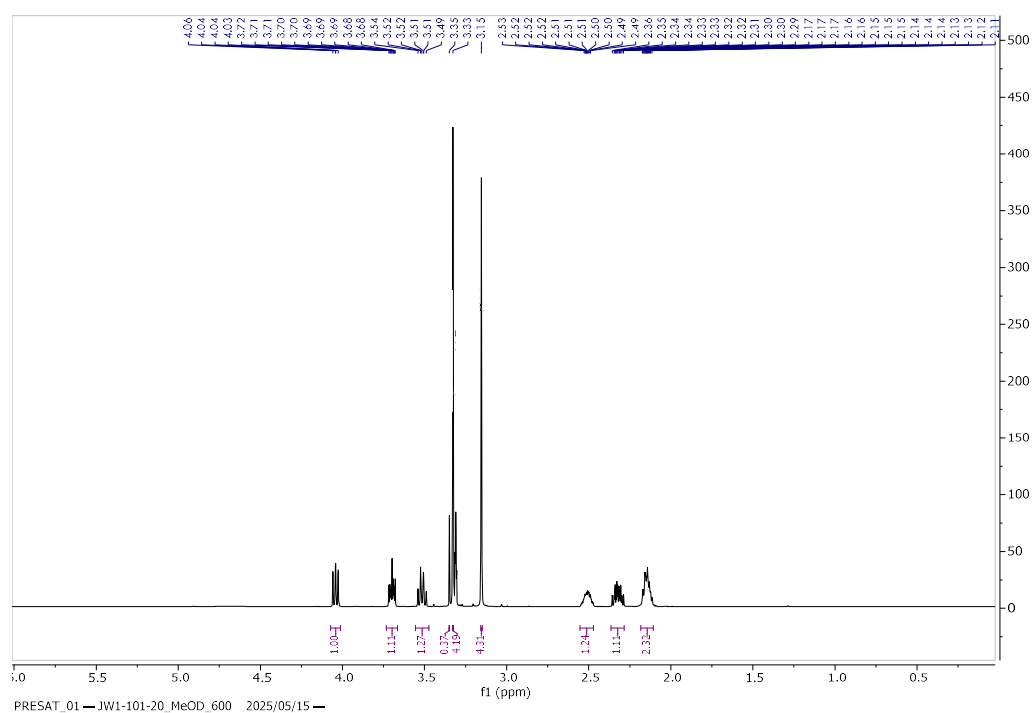
(十四) 水蘇鹼的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_7H_{13}NO_2$ ；分子量：143.2；熔點：233-235°C；白色粉末。

(十五) 鹽酸水蘇鹼的結構

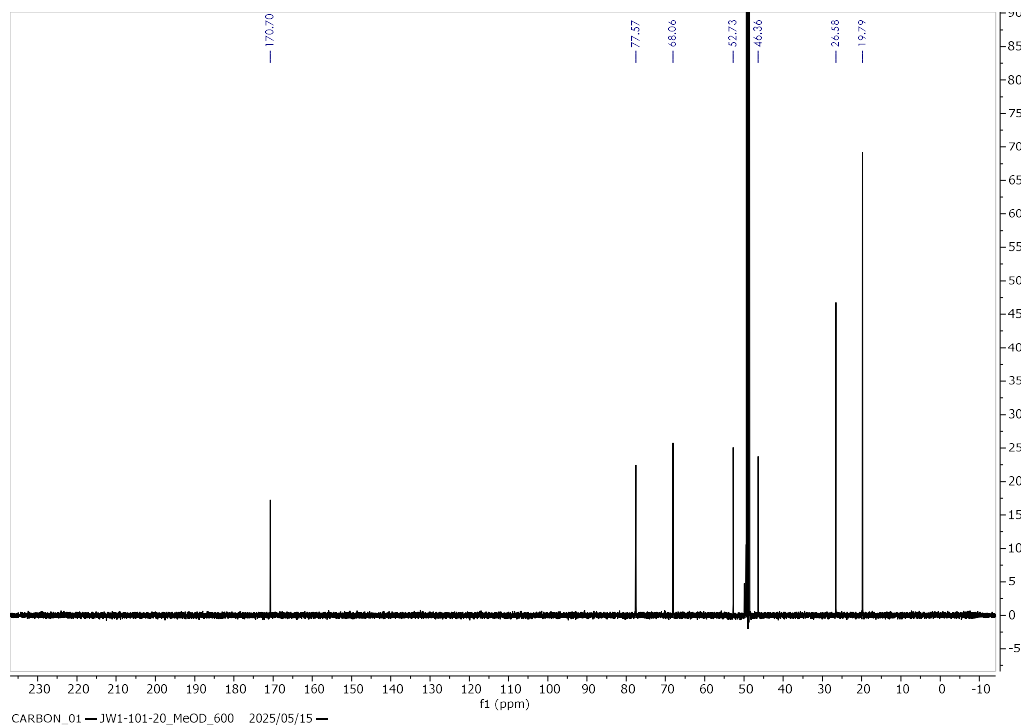


(十六) 鹽酸水蘇鹼的 ^1H NMR 圖譜



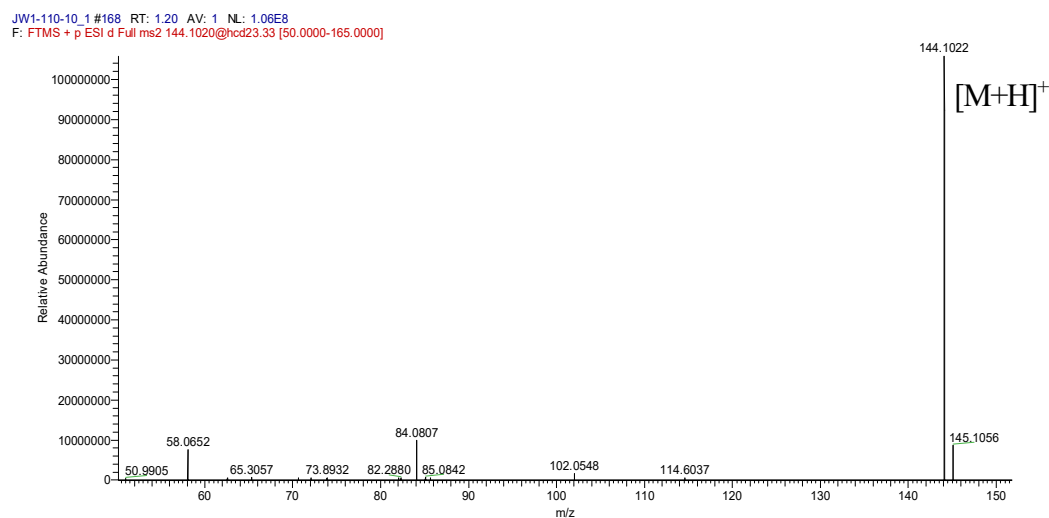
圖九、鹽酸水蘇鹼的 ^1H NMR 圖譜(CD_3OD)

(十七) 鹽酸水蘇鹼的 ^{13}C NMR 圖譜



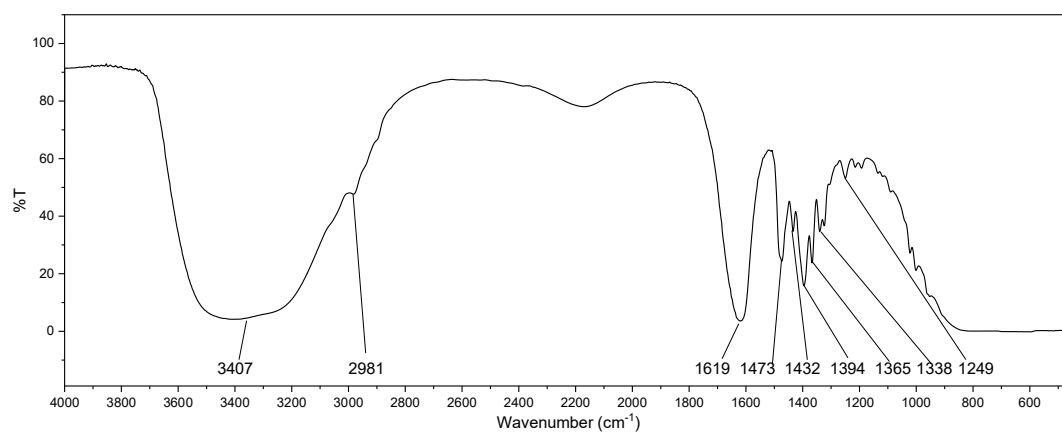
圖十、鹽酸水蘇鹼的 ^{13}C NMR 圖譜(CD_3OD)

(十八) 水蘇鹼的 ESI-MS² 圖譜



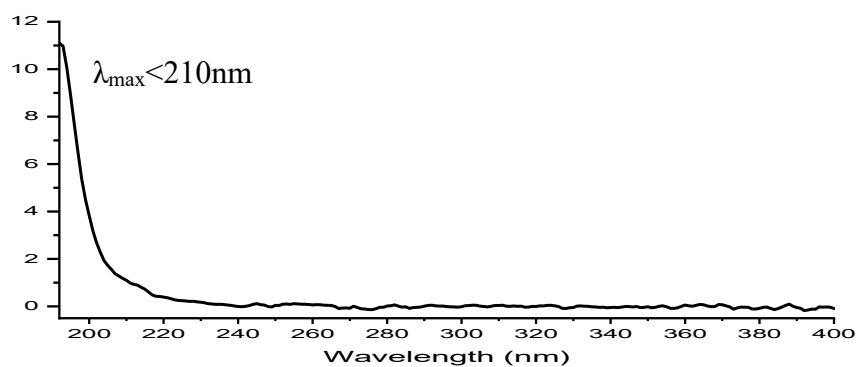
圖十一、水蘇鹼的 ESI-MS² 圖譜

(十九) 鹽酸水蘇鹼的 FTIR 圖譜



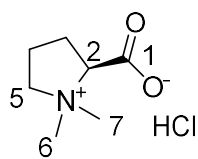
圖十二、鹽酸水蘇鹼的 FTIR 圖譜

(二十) 鹽酸水蘇鹼的 UV 圖譜



圖十三、鹽酸水蘇鹼的 UV 圖譜

(二十一) 鹽酸水蘇鹼的氫、碳化學位移



鹽酸水蘇鹼

表七、鹽酸水蘇鹼的氫、碳化學位移(CD₃OD)^a

Position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1 C	-	170.7
2 CH	4.04 (dd, 10.5, 8.7)	77.6
3 CH ₂	2.14 (m)	19.8
4 CH ₂	2.51 (m) 2.32 (m)	26.6
5 CH ₂	3.70 (ddd, 11.7, 7.5, 4.3) 3.51 (dd, 11.6, 9.6)	68.1
6 CH ₃	3.15 (s)	46.4
7 CH ₃	3.33 (s)	52.7

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

各國藥典HPLC分析方法規範比較與建議

藥典		《臺灣中藥典》 -IV	《中國藥典》 2025版 一部	《香港中藥材標準》 第三冊	自行研究
對照標準品		未收載	鹽酸水蘇鹼 鹽酸益母草鹼	鹽酸水蘇鹼	鹽酸水蘇鹼
含量限度			鹽酸水蘇鹼計 0.5%， 鹽酸益母草鹼 計 0.05%	水蘇鹼(以鹽酸水蘇 鹼計) 0.61%	建議 水蘇鹼 0.5%
檢品溶液製備			準確稱取本品 粉末約1g，置 錐形瓶中，加 入70%乙醇 25ml，稱定重 量，加熱回流2 小時，放冷， 再稱定重量， 用70%乙醇補 足減失的重 量，搖勻，過 濾。	本品粉末 0.5 g，置於 纖維素提取套管中， 纖維素提取套管置於 索氏提取器中。加無 水乙醇 300 mL 至 500-mL 圓底燒瓶 中，索氏提取 15 小 時，將提取液用減壓 濃縮至 5 mL。將濃縮 液置中性氧化鋁（70 -230 目，10 g）淨化 柱上。加無水乙醇 200 mL，收集洗脫液 減壓蒸乾，殘渣溶於 0.1% 乙酸-乙腈（2:8， v/v）的混合溶液，轉 移於10-mL量瓶中， 加 0.1% 乙酸-乙腈 （2:8，v/v）的混合溶 液至刻度。搖勻，過 濾。	準確稱取本品 粉末1.0 g，置 50 mL離心管 中，準確加入 70%甲醇25 mL，超音波振 盪處理60分 鐘，離心20分 鐘(6000 rpm)， 殘渣部分重複 提取1次，合併 濾液，移入50 mL之容量瓶 中，加70%甲 醇至刻度。
色譜洗脫條件			鹽酸水蘇鹼： 乙腈-0.2%冰醋 酸溶液（80:20）	乙腈-水（80：20，v/v） 混合溶液	10 mM 醋酸胺 水溶液-乙腈 （80:20，v/v）混 合溶液
檢測方法			蒸發光散射檢 測器	檢測波長 203 nm	檢測波長 205 nm
系統適用性	理論 塔板 數		按鹽酸水蘇鹼 峰計算≥6000	按鹽酸水蘇鹼峰計算 ≥3000	按鹽酸水蘇鹼 峰計算約6142
	分離 度		-	≥1.5	≥1.5
優缺點 說明及 建議			1. 檢品製備較 耗時。	1. 檢品製備步驟複 雜。 2. 使用C18管柱。	1. 檢品製備採 用 70%甲醇

		2. 使用丙基 醯 胺 (propyl amide) 管 柱。	(可能有誤)	超音波振盪 萃取二次， 萃取完全。 且簡便。 2. 使 用 HILIC 管 柱有效分 離水蘇鹼 與其鄰近 之波峰。為 較常用色 譜管柱。
--	--	--	---------------	--

益母草

生藥名：LEONURI HERBA

英文名：Motherwort Herb

基 原：本品為唇形科 Labiatae 植物益母草 *Leonurus japonicus* Houtt.之乾燥地上部分。

一、方法

(一) 檢品溶液 【萃取方法1】《臺灣中藥典》第四版

—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。

【萃取方法2】《中華人民共和國藥典》2025

—取本品粉末 1.0 g，加 70%乙醇 25 mL，加熱迴流 2 小時，放冷，過濾，取濾液 10 mL，用石油醚(60~90℃)振搖提取 2 次，每次 30mL，棄去石油醚，取下層溶液，蒸乾，殘渣加 70%乙醇 1 mL 使之溶解，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，蒸乾，殘渣加甲醇 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

(二) 對照標準品 溶 液 取鹽酸水蘇鹼(Stachydrine hydrochloride, CAS No. 4136-37-2 廠牌普思生物科技，批號 21122713)對照標準品，加甲醇製成每 1 mL 含 3.0 mg 的溶液，另取鹽酸益母草鹼(Leonurine hydrochloride, CAS No. 24735-18-0 廠牌普思生物科技，批號 24101117) 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

—正丙醇：甲醇：甲酸 (1：10：1)

【展開劑2】《中華人民共和國藥典》2025

—乙酸乙酯：無水乙醇：甲酸 (10：4：5)

【展開劑3】《香港中藥材標準》第三冊

—乙酸乙酯：正丁醇：鹽酸(0.5：8：2)

【展開劑4】(自行開發)✓

—正丁醇：甲酸：水(6：3：1)

(五) 展 開 槽 10 cm × 10 cm、20 cm × 10 cm CAMAG 雙槽展開槽

(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，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。

(八) Spike 配製 取採用最佳萃取方法之檢品溶液 3，與對照標準品溶液鹽酸水蘇鹼(1：1)混合，點注量 10 μ L。

二、萃法選擇及濃度測試

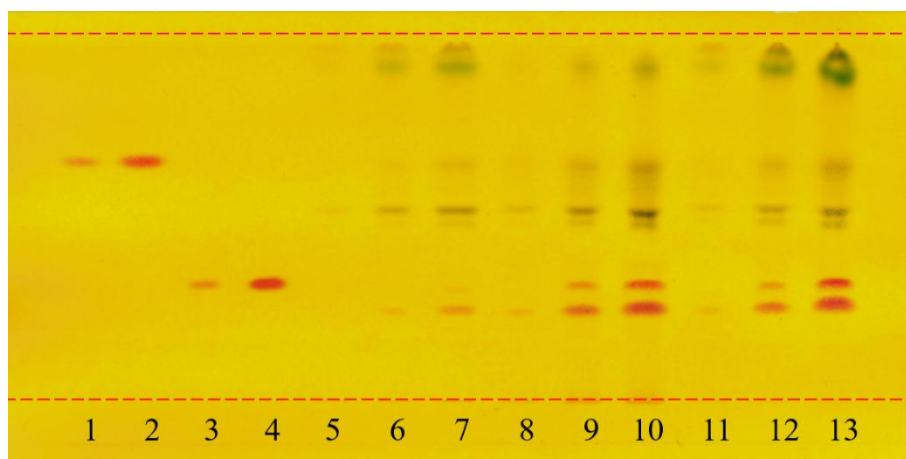
實驗日期：114/07/04

相對溼度(RH)：56%

溫度(RT)：25.8 °C

【展開劑 4】(自行開發)——正丁醇：甲酸：水 (6：3：1)

——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	鹽酸益母草鹼(1.0 mg/mL)	2, 5 μ L
3, 4	鹽酸水蘇鹼(3.0 mg/mL)	2, 5 μ L
5, 6, 7	檢品溶液 3 【萃取方法 1】	2, 5, 8 μ L
8, 8, 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：《香港中藥材標準》萃取法時間過長且繁瑣，故未使用也不採用。三種萃取方法，檢品溶液中皆可分離與檢出鹽酸水蘇鹼，因濃度適中，方法簡便，故採用自行開發【萃取方法 3】。

建議點注量：鹽酸益母草鹼 5 μ L，鹽酸水蘇鹼 5 μ L，檢品溶液【萃取方法 3】 5 μ L。

三、溶媒系統選擇

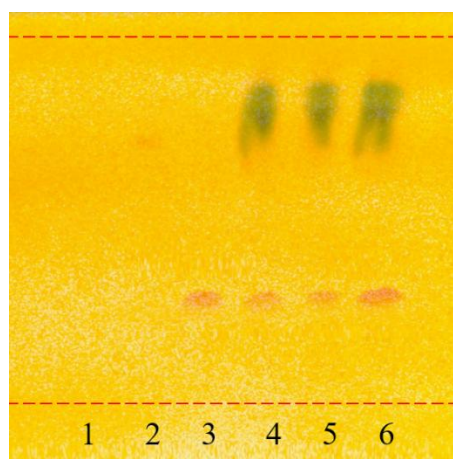
實驗日期：114/07/04

相對溼度(RH)：56%

溫度(RT)：25.8 °C

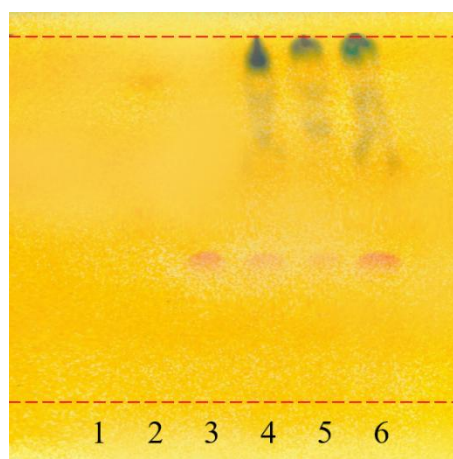
【展開劑 1】《臺灣中藥典》第四版——正丙醇：甲醇：甲酸 (1：10：1)

【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC 碘化鉍鉀試液-三氯化鐵試液(2：1)顯色後可見光檢出(鹽酸益母草鹼 R_f 值為 0.67，鹽酸水蘇鹼 R_f 值為 0.30)



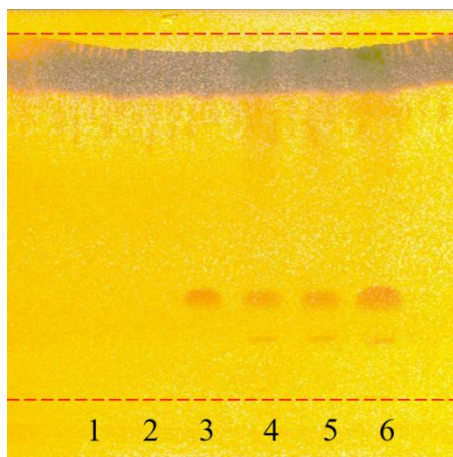
【展開劑 2】《中華人民共和國藥典》2025——乙酸乙酯：無水乙醇：甲酸 (10：4：5)

【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC 碘化鉍鉀試液-三氯化鐵試液(2：1)顯色後可見光檢出(鹽酸益母草鹼 R_f 值為 0.84，鹽酸水蘇鹼 R_f 值為 0.42)



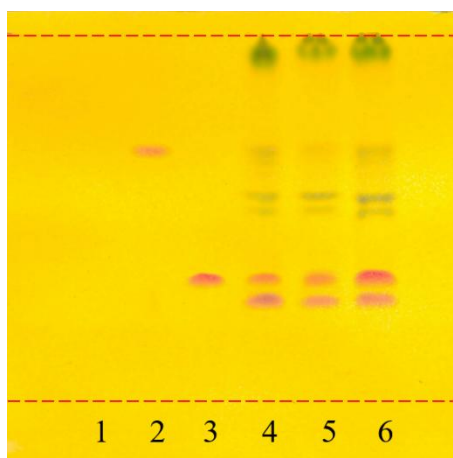
【展開劑 3】《香港中藥材標準》第三冊——乙酸乙酯：正丁醇：鹽酸(0.5：8：2)

【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC 碘化鉍鉀試液-三氯化鐵試液(2：1)顯色後可見光檢出(鹽酸益母草鹼 R_f 值無法辨識，鹽酸水蘇鹼 R_f 值為 0.31)



【展開劑 4】(自行開發)——正丁醇：甲酸：水(6：3：1) ✓

【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC 碘化鉍鉀試液-三氯化鐵試液(2：1)顯色後可見光檢出(鹽酸益母草鹼 R_f 值為 0.70，鹽酸水蘇鹼 R_f 值為 0.32)



- | | |
|----------|------------|
| 1：Blank | 4，5：檢品溶液 3 |
| 2：鹽酸益母草鹼 | 6：Spike |
| 3：鹽酸水蘇鹼 | |

建議溶媒系統：以【萃取方法 3】方式，以自行開發之【展開劑 4】展開，顯示鹽酸益母草鹼、鹽酸水蘇鹼的 R_f 值適中，分離佳，故採用【展開劑 4】。

四、觀察方式選擇

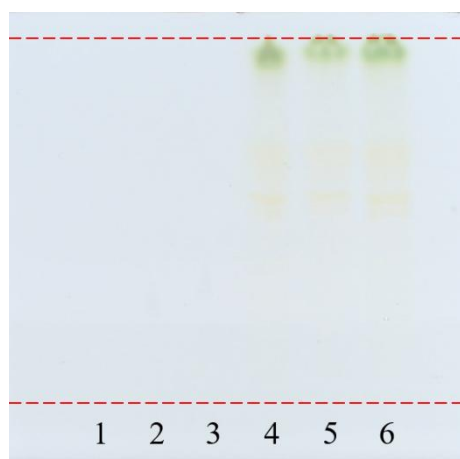
實驗日期：114/07/04

相對溼度(RH)：56%

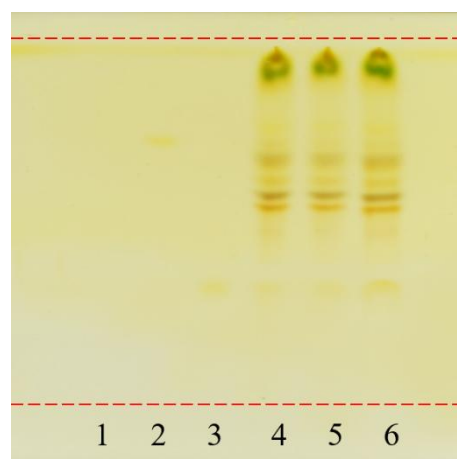
溫度(RT)：25.8 °C

【展開劑 4】(自行開發)——正丁醇：甲酸：水(6：3：1)

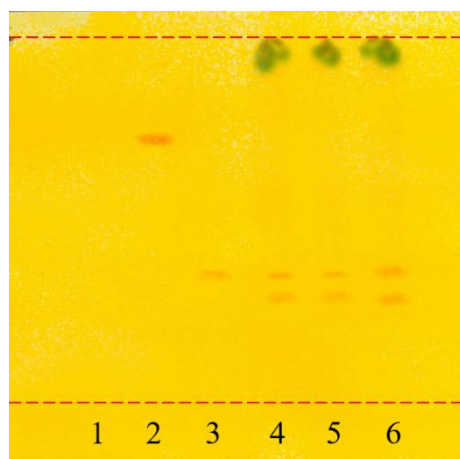
【萃取方法 3】(自行開發)—HPTLC 可見光檢出



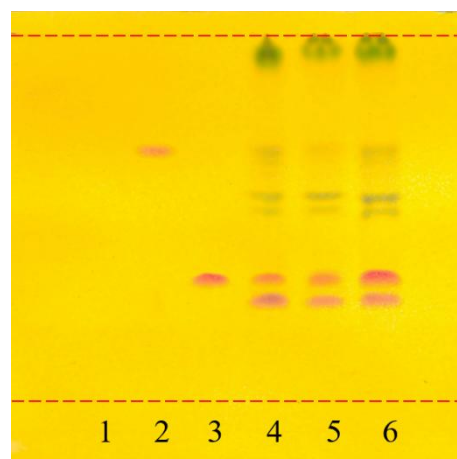
【萃取方法 3】(自行開發)—HPTLC 碘蒸氣熏顯色後可見光檢出



【萃取方法 3】(自行開發)—HPTLC 碘化鉍鉀試液顯色後可見光檢出



【萃取方法 3】(自行開發)—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

4，5：檢品溶液 3

2：鹽酸益母草鹼

6：Spike

3：鹽酸水蘇鹼

建議觀察方式：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，顯示有較多較明顯分離之條帶。

五、十批益母草藥材樣品檢測

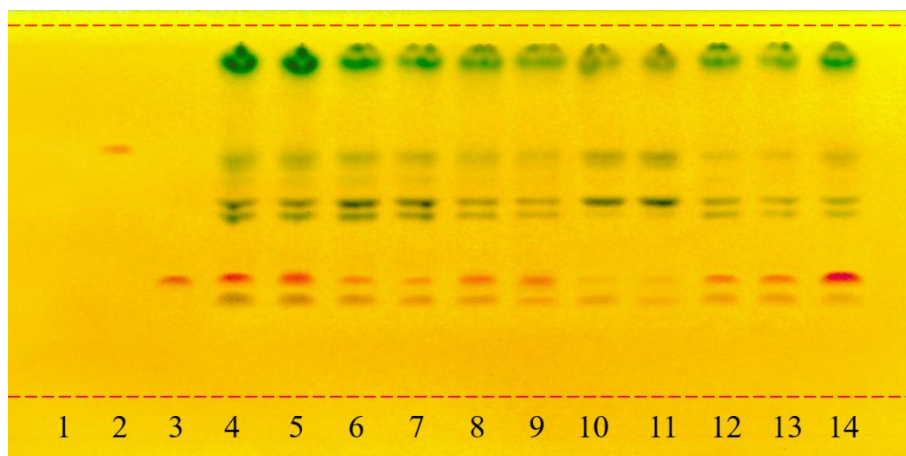
實驗日期：114/07/04

相對溼度(RH)：56%

溫度(RT)：25.8 °C

【展開劑 4】(自行開發)——正丁醇：甲酸：水(6：3：1)

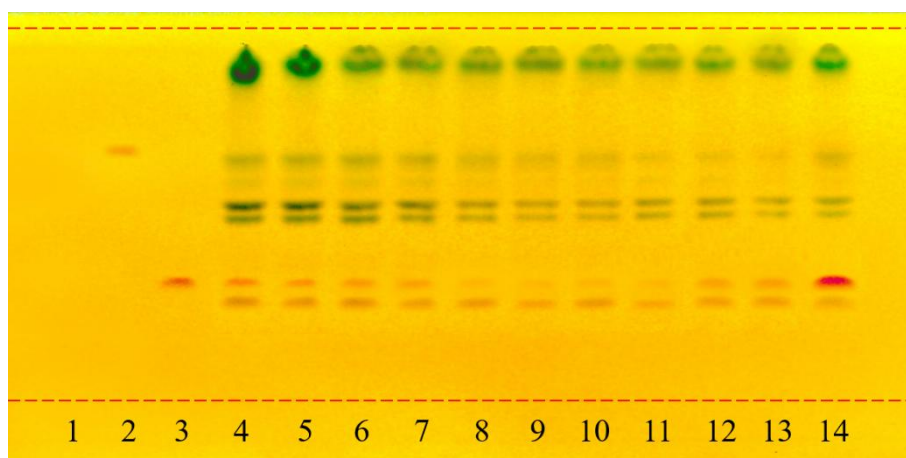
【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC 碘化鉍鉀試液-三氯化鐵試液(2：1)顯色後
可見光檢出



1	Blank	8, 9	檢品溶液 3 (NWB)
2	鹽酸益母草鹼(1.0 mg/mL)	10, 11	檢品溶液 4 (NX)
3	鹽酸水蘇鹼(3.0 mg/mL)	12, 13	檢品溶液 5 (CB)
4, 5	檢品溶液 1 (NC)	14	Spike (檢品溶液 3)
6, 7	檢品溶液 2 (NRB)		

【展開劑 4】(自行開發)——正丁醇：甲酸：水(6：3：1)

【萃取方法 3】(自行開發)—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	8, 9	檢品溶液 8 (SK1)
2	鹽酸益母草鹼(1.0 mg/mL)	10, 11	檢品溶液 9 (SK2)
3	鹽酸水蘇鹼(3.0 mg/mL)	12, 13	檢品溶液 10 (SUA)
4, 5	檢品溶液 6 (CH)	14	Spike (檢品溶液 3)
6, 7	檢品溶液 7 (SCB)		

結論與建議：以【萃取方法 3】方式及自行開發之【展開劑 1】分離與檢出鹽酸水蘇鹼較佳，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。