

荊芥

(SCHIZONEPETAE HERBA)

荊芥 MI	2
一、形態	2
二、顯微	2
荊芥 HPLC	3
一、材料	3
二、儀器及層析管柱	3
三、實驗藥品及試劑來源	3
四、方法	3
五、結果	7
荊芥 TLC	15
一、方法	15
二、萃取選擇及濃度測試	16
三、溶媒系統選擇	17
四、觀察方式選擇	19
五、十家樣品檢測	21

荊芥 MI

一、形態:

本品為唇形科 Lamiaceae 植物荊芥 *Schizonepeta tenuifolia* Briq. 乾燥的花穗，穗狀輪傘花序呈細長圓柱形，長 3~15cm，直徑 0.7cm，花冠多已脫落，宿存花萼為吊鐘狀，外觀呈綠色至黃綠色，內有黑色小堅果。整株質地輕脆，氣芳香，味微澀而辛涼

二、顯微

本品橫切面，呈類圓形或類三角形，宿存花萼表皮細胞呈深波浪彎曲，可見腺鱗、腺毛及非腺毛。外果皮細胞具黏液，胞腔含棕色物質。



略字解

ep：表皮 epl：下表皮 epc：外果皮
enc：內果皮 v：導管

荊芥 (Schizonepetaea Herba)

一、材料

購自於北中南東各地中藥店荊芥藥材共 10 家。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Agilent 1100 series，包含 Degasser G1379A、QuatPump G1311A、Sampler G1329B、DAD G1315B；層析管柱：Zorbax SB-C₁₈ Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)。

(二) UPLC 儀器及層析管柱

Waters Acquith Ultra Performance LC，包含 Binary Solvent Manager、Sample Manager、PDA Detector；層析管柱 Waters Acquity UPLC BEH C18 (100 × 2.1 mm, 1.7 μm)。

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

甲醇 (99.9%) 購自於 Duksan Pure Chemicals；乙腈 (99.8%) 購自於 Mallinckrodt Baker Inc.。

(二) 標準品

胡薄荷酮(Pulegone)購自於 Sigma-Aldrich，純度在 97%以上。

四、方法

(一) 萃取次數考察

取本品粉末約 1.0 g，精確稱定，置 50 mL 三角錐形瓶中，精確加入甲醇 20 mL，超音波震盪處理(功率 200W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，放冷再稱定重量，用甲醇補足減少的重量，搖勻並以 No. 1 濾紙和 syringe filter (0.45 μm)分別過濾，取濾液，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，並選出最佳萃取次數。

(二) 對照標準品溶液

取標準品胡薄荷酮(Pulegone)精確稱定 10 mg，加 100 mL 的甲醇製成每 1 mL 含胡薄荷酮 100 μg 的標準品儲備溶液。

(三) 檢品溶液

取本品粉末約 0.5 g，精確稱定，置 50 mL 三角錐形瓶中，精確加入甲醇 12.5 mL，超音波震盪處理(功率 200W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，以 No. 1 濾紙過濾至 25 mL 之定量瓶中，殘渣部分重複提取一次，合併濾液，

加甲醇至刻度，搖勻再過濾(syringe filter, 0.45 μm)，取濾液，即得。

(四) 測定法

分別精確吸取標準品溶液、檢品溶液 10 μL ，注入 HPLC 測定，用標準曲線計算溶液中胡薄荷酮(Pulegone)的含量，即得。

(五) 檢量線

精確吸取胡薄荷酮(Pulegone)標準品儲備溶液適量(100 $\mu\text{g/mL}$)，以甲醇稀釋製成含胡薄荷酮(Pulegone)分別為 100、50.0、25.0、10.0、5.0、2.0 $\mu\text{g/mL}$ 的標準品溶液。以上溶液各取 10 μL 分別注入 HPLC 進行定量分析，利用標準品之波峰面積(y 軸)和標準品之濃度(x 軸)進行線性回歸，並求得檢量線之方程式 $y=ax+b$ 與相關係數 R^2 。

(六) 精密度試驗

以胡薄荷酮(Pulegone)濃度為 10.0 $\mu\text{g/mL}$ 之標準品儲備液連續進樣五針，以胡薄荷酮波峰面積為指標，求出相對標準差。

(七) 再現性與穩定性試驗

1. 再現性：取同一家市售荊芥粉末，依荊芥檢品溶液製備方法平行製備五份荊芥檢品溶液，進樣測定，以胡薄荷酮含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一家市售荊芥粉末，依荊芥檢品溶液製備方法製備荊芥檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以胡薄荷酮(Pulegone)波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

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；定量極限(limit of quantitation, LOQ)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比為 $\geq 10:1$ 時之濃度，作為定量極限估計值。

(九) 添加回收率試驗

取已知胡薄荷酮(Pulegone)含量的荊芥藥材粉末約 0.25 g，精確稱定五份，分別加入 1 mL 的胡薄荷酮(Pulegone)溶液(94 $\mu\text{g/mL}$)，並按檢品溶液製備方法操作測定。

(十) 臺灣市售荊芥胡薄荷酮(Pulegone)含量測定 HPLC 分析條件

1. 層析管：Zorbax SB-C₁₈ Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 254 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：室溫
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：甲醇-水(75:25)

(十一) 臺灣市售荊芥含量測定

取十家市售荊芥藥材依檢品溶液製備方法製備檢品溶液，取各 10 μL 連續三針注入 HPLC，所得平均波峰面積依附錄 I 公式計算樣品胡薄荷酮(Pulegone)的百分含量。

(十二) 臺灣市售荊芥 HPLC 指紋圖譜的建立

取十家市售荊芥檢品溶液各 10 μL 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：Zorbax SB-C₁₈ Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 254 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：室溫
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%, v/v)	水(%, v/v)
0	16	84
10	16	84
40	40	60
50	52	48
60	80	20

(十三) 荊芥檢品之 UPLC 層析條件

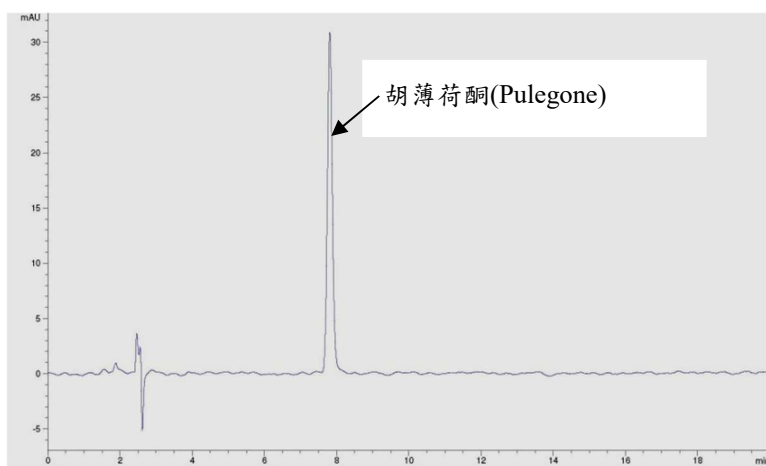
1. 層析管：Waters Acquity UPLC BEH C18 Column (100 × 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 254 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：25 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%, v/v)	水(%, v/v)
0	16	84
1	16	84
7	40	60
10	52	48
12	80	20
14	100	0

五、結果

(一) 標準品胡薄荷酮(Pulegone)之 HPLC 層析

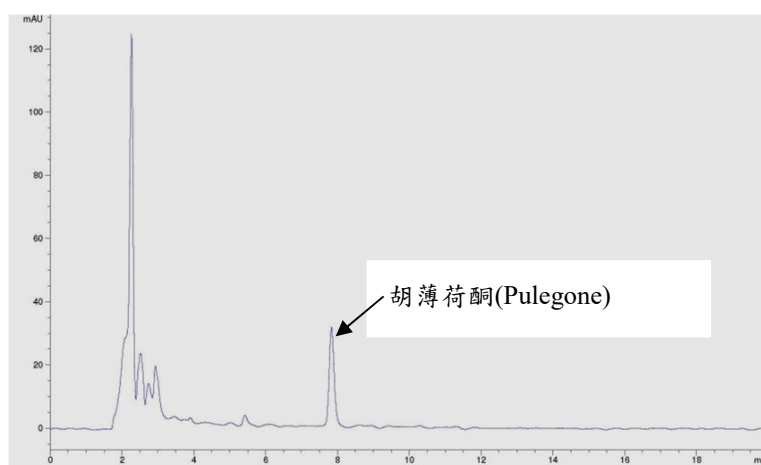
於滯留時間 7.81 分鐘處顯示胡薄荷酮(Pulegone)標準品波峰(圖一)。



圖一、胡薄荷酮(Pulegone)標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售荊芥檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 7.81 分鐘處顯示荊芥檢品中胡薄荷酮(Pulegone)波峰(圖二)。



圖二、市售荊芥檢品之 HPLC 層析圖

(三) 萃取次數考察

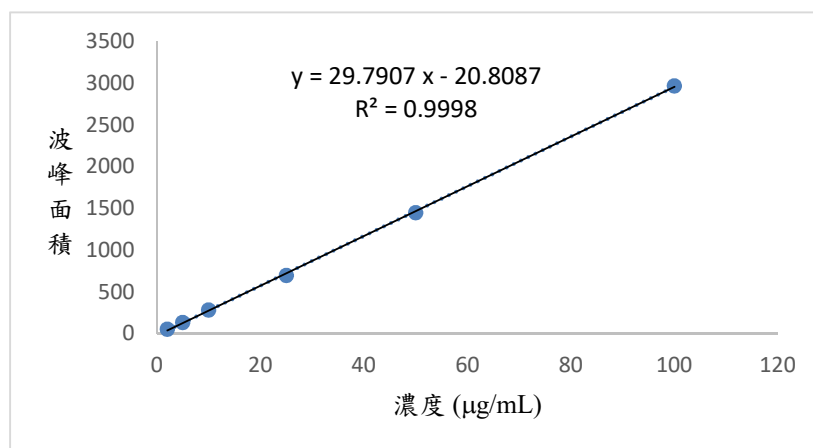
結果顯示萃取兩次基本上已將胡薄荷酮(Pulegone)萃取完全(>99%)。

表一、荊芥檢品萃取次數考察

甲醇萃取次數	波峰面積
第一次	70.71
第二次	17.13
第三次	0

(四) 標準品胡薄荷酮(Pulegone)檢量線

經不同濃度胡薄荷酮(Pulegone) (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： $y = 29.7907x - 20.8087$ ， $R^2 = 0.9998$ ，顯示濃度在 2.0—100 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三 胡薄荷酮(Pulegone)之檢量線圖

表二、胡薄荷酮之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
胡薄荷酮(Pulegone)	2.0—100	$y = 29.7907x - 20.8087$	0.9998

(五) 精密度與再現性試驗

實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，胡薄荷酮(Pulegone)精密度之相對標準差為 1.18%，再現性之相對標準差 0.79%，均在可接受的範圍以內。

(六) 穩定性試驗

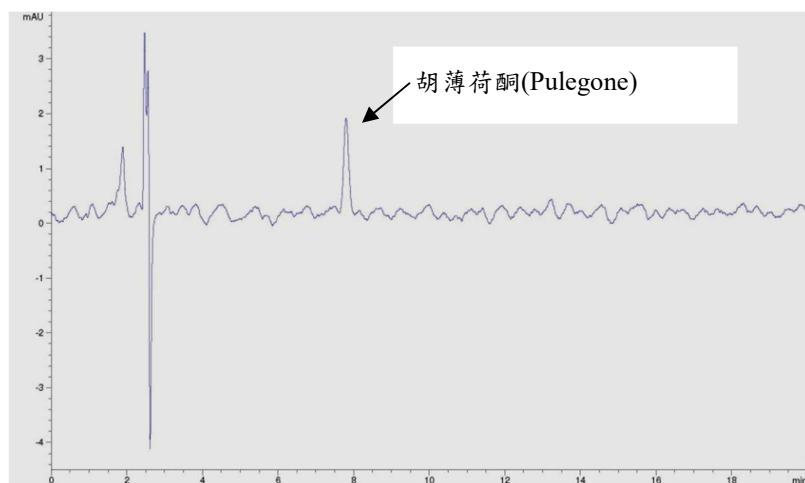
由結果可以得知，胡薄荷酮(Pulegone)在 24 小時內穩定，相對標準差為 1.60%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

表三、各項檢驗分析

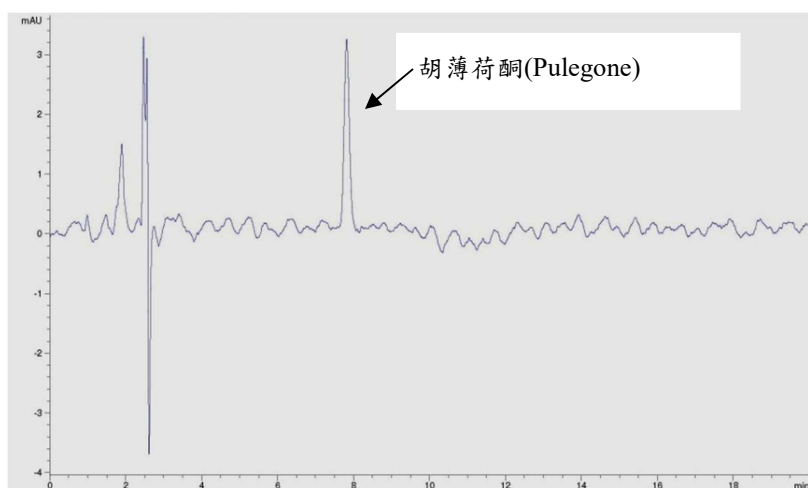
檢測項目	胡薄荷酮(Pulegone)	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	10.0 $\mu\text{g/mL}$	1.18
再現性 (n=5)	檢品溶液(No. 7)	0.79
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No. 7)	1.60
偵測極限 (n=1)	0.5 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=1)	1.0 $\mu\text{g/mL}$	-

(七) 偵測極限與定量極限試驗

胡薄荷酮(Pulegone)偵測極限(limit of detection, LOD)為 0.5 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限(limit of quantitation, LOQ)為 1.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、胡薄荷酮(Pulegone)之 LOD 層析圖



圖五、胡薄荷酮(Pulegone)之 LOQ 層析圖

(八) 添加回收率試驗

添加胡薄荷酮(Pulegone)平均回收率 95.4 %，相對標準偏差 2.62 %。

表四、胡薄荷酮(Pulegone)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	0.2505	0.120	0.094	0.2115	95.8	95.35	2.62
2	0.2496	0.120	0.094	0.2117	96.0		
3	0.2496	0.120	0.094	0.2093	93.5		
4	0.2503	0.120	0.094	0.2144	98.9		
5	0.2501	0.120	0.094	0.2084	92.5		

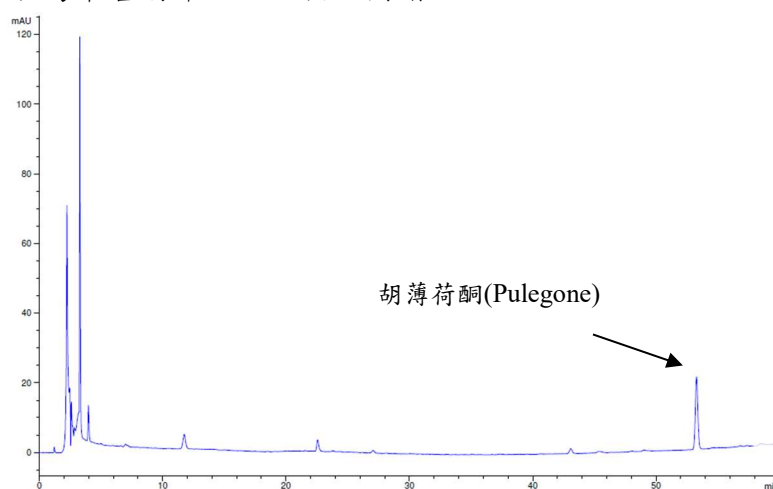
(九) 台灣市售荊芥含量測定

10 家荊芥藥材(乾燥品)之含量測定結果除了編號 2 和 8 的荊芥藥材胡薄荷酮(Pulegone)的含量偏低外，其餘 8 個藥材胡薄荷酮(Pulegone)的含量為 0.02—0.08%。

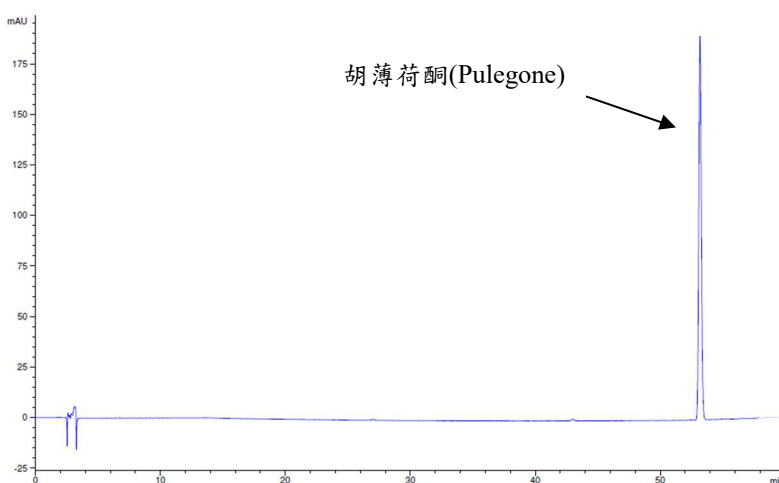
表五、台灣市售荊芥檢品之胡薄荷酮(Pulegone)含量

中藥店編號	胡薄荷酮(Pulegone)含量(%)	中藥店編號	胡薄荷酮(Pulegone)含量(%)
1	0.0274	6	0.0243
2	0.0173	7	0.0489
3	0.0226	8	0.0155
4	0.0289	9	0.0236
5	0.0764	10	0.0652

(十) 台灣市售荊芥 HPLC 指紋圖譜



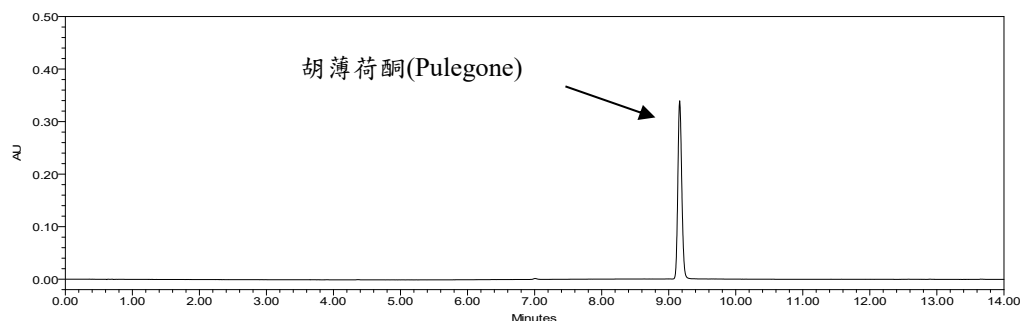
圖六、市售荊芥之 HPLC 指紋圖譜



圖七、胡薄荷酮(Pulegone)標準品溶液之 HPLC 層析圖

(十一) 標準品胡薄荷酮(Pulegone)之 UPLC 層析

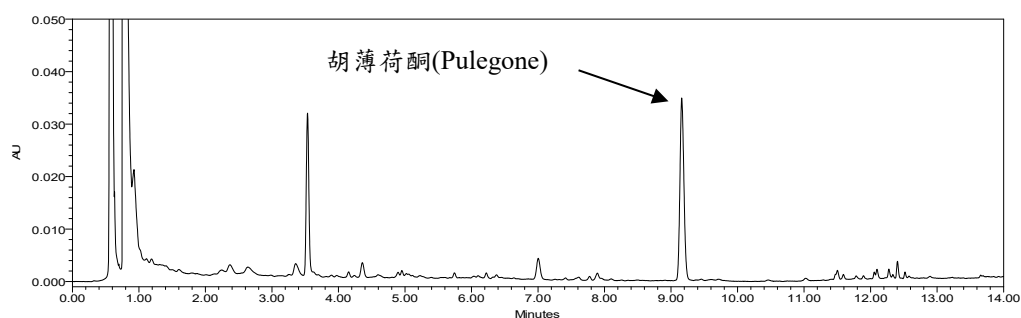
於滯留時間 9.16 分鐘處顯示胡薄荷酮標準品波峰(圖八)。



圖八、胡薄荷酮標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十二) 市售荊芥檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 9.16 分鐘處顯示荊芥檢品中胡薄荷酮波峰(圖九)。

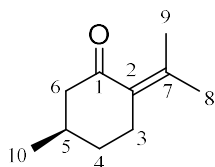


圖九、荊芥藥材之 UPLC 指紋圖譜

(十三) 胡薄荷酮(Pulegone)的分子式與分子量

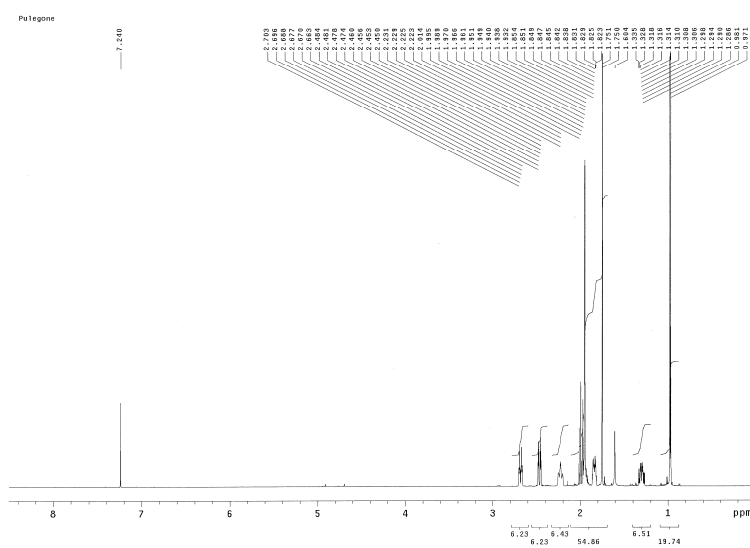
無色液體；分子式： $C_{10}H_{16}O$ Mol. Wt.: 152.24

(十四) 胡薄荷酮(Pulegone)的結構



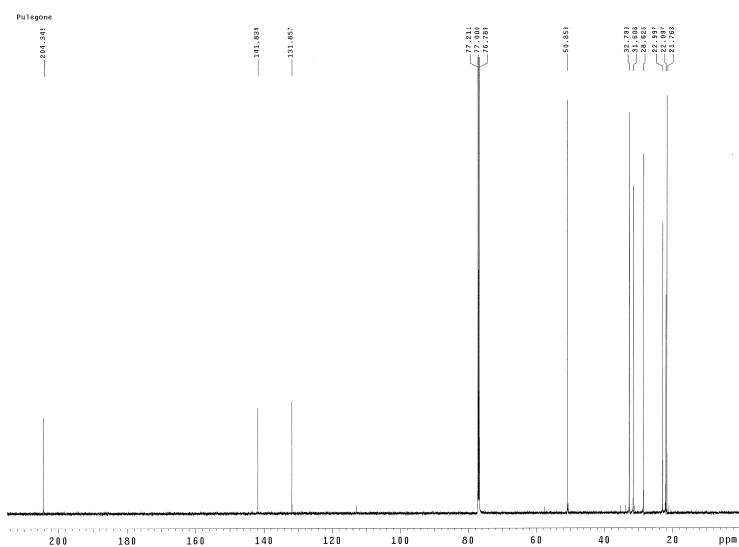
圖十、胡薄荷酮(Pulegone)之結構

(十五) 胡薄荷酮(Pulegone)的 ^1H NMR 圖譜



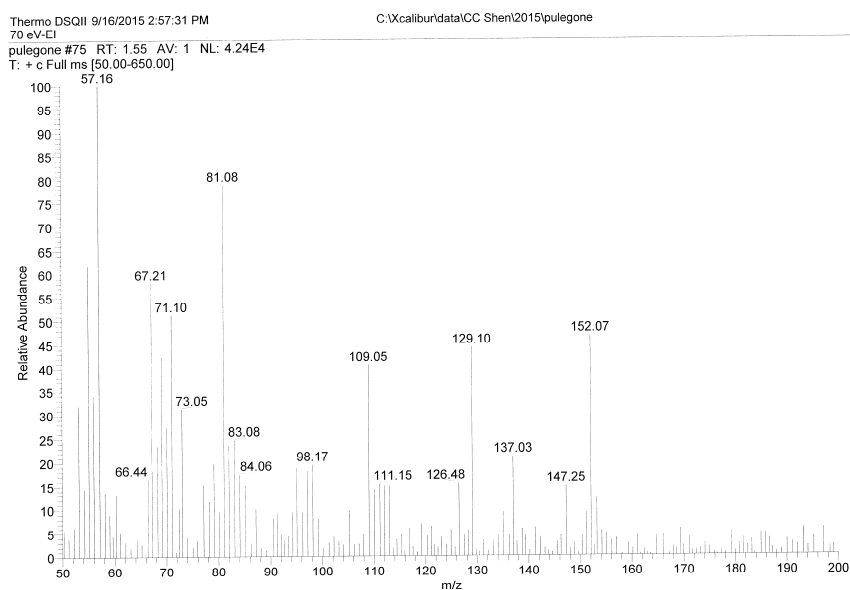
圖十一、胡薄荷酮(Pulegone)之 ^1H NMR 圖譜

(十六) 胡薄荷酮(Pulegone)的 ^{13}C NMR 圖譜



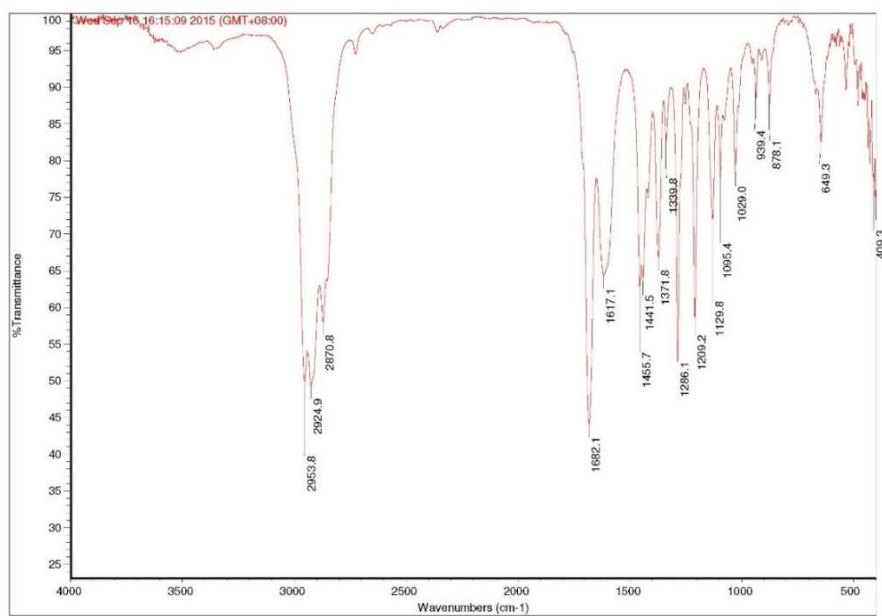
圖十二、胡薄荷酮(Pulegone)之 ^{13}C NMR 圖譜

(十七) 胡薄荷酮(Pulegone)的 EI-MS 圖譜



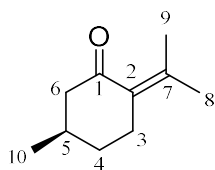
圖十三、胡薄荷酮(Pulegone)之 EI-MS 圖譜

(十八) 胡薄荷酮(Pulegone)的 FTIR 圖譜



圖十四、胡薄荷酮(Pulegone)之 FTIR 圖譜

(十九) 胡薄荷酮(Pulegone)之氫、碳化學位移



表六、胡薄荷酮(Pulegone)之氫、碳化學位移(in CDCl₃)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1		204.35
2		131.86
3	α : 2.23 (m) β : 2.68 (dt, 15.6, 4.2)	28.63
4	α : 1.84 (m) β : 1.30 (m)	32.80
5	1.96 (m)	31.61
6	α : 2.47 (ddd, 15.0, 3.8, 2.2) β : 1.99 (dd, 15.0, 11.4)	50.86
7		141.84
8	1.75 (s)	22.10
9	1.95 (s)	23.00
10	0.98 (d, 6.0)	21.76

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

荊芥

中文名：荊芥

生藥拉丁名：SCHIZONEPETAE HERBA

英文名：Schizonepeta Herb

基 原：本品為唇形科 Labiatae 植物荊芥 *Schizonepeta tenuifolia* Briq.之乾燥地上部分。

一、方法

- (一) 檢品溶液 **【萃取方法 1】(台灣中藥典第二版)**
——取藥材粉末 1.0 g，加入 10 mL 乙醇，加熱迴流 30 分鐘，濾紙過濾，作為檢品溶液。
【萃取方法 2】(中華人民共和國藥典 2010) ✓
——取藥材粉末 0.8 g，加入 20 mL 石油醚(60-80℃)，搖晃 24 小時，濾紙過濾，減壓濃縮，以 1.0 mL 石油醚(60-80℃)回容，作為檢品溶液。
【萃取方法 3】(香港中藥材標準第四冊)
——取藥材粉末 1.0 g，加入 20 mL 石油醚(60-80℃)，超音波震盪 15 分鐘，以濾紙過濾，得檢品溶液。
- (二) 對照標準品 取適量胡薄荷酮(Pulegone)對照品，加石油醚 (60-80℃)
- 溶 液 配製成每 1 mL 含 4.6 µg 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】(台灣中藥典第二版)**
——正己烷:乙酸乙酯 (7:3)
【展開劑 2】(中華人民共和國藥典 2010) ✓
——正己烷:乙酸乙酯 (17:3)
【展開劑 3】(香港中藥材標準第四冊)
——石油醚(60-80℃):乙酸乙酯 (37:3)
- (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 以茴香醛/硫酸試液，加熱後於可見光下檢視。

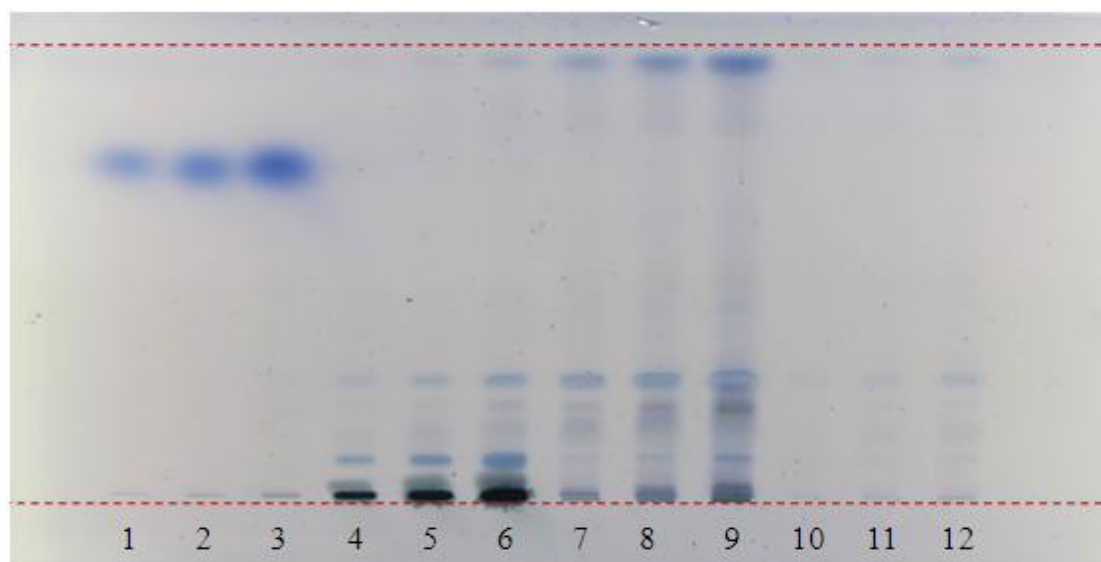
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：104/11/16

相對溼度(RH)：63%

溫度(RT)：24 °C

【展開劑 2】(中華人民共和國藥典 2010)——正己烷:乙酸乙酯(17:3)



編號	名稱	含量
1, 2, 3	胡薄荷酮(Pulegone) (4.6 µg /mL)	1, 2, 5 µL
4, 5, 6	NF Sample 【萃取方法 1】	5, 10, 20 µL
7, 8, 9	NF Sample 【萃取方法 2】	5, 10, 20 µL
10, 11, 12	NF Sample 【萃取方法 3】	5, 10, 20 µL

(一) 建議萃法：3 種萃取方法檢品溶液中皆無檢出胡薄荷酮標準品，其中【萃取方法 2】因斑點較多，因此較佳。

(二) 建議點注量：胡薄荷酮(Pulegone)標準品溶液 2 µL，【萃取方法 2】 10 µL

三、溶媒系統選擇

實驗日期：104/11/18

相對溼度(RH)：55%

溫度(RT)：25 °C

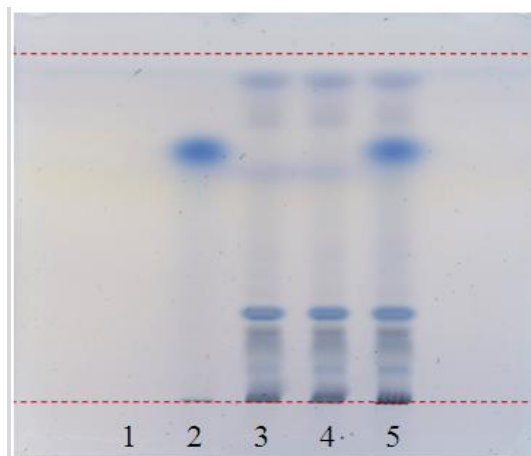
【展開劑 1】(台灣中藥典第二版)——正己烷:乙酸乙酯 (7:3)

【萃取方法 2】(中華人民共和國藥典 2010)——以茴香醛/硫酸試液，加熱後於可見光下檢視。



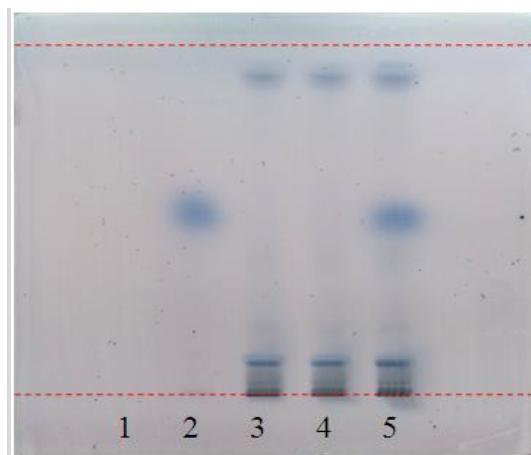
【展開劑 2】(中華人民共和國藥典 2010)——正己烷:乙酸乙酯 (17:3)

【萃取方法 2】(中華人民共和國藥典 2010)——以茴香醛/硫酸試液，加熱後於可見光下檢視。



【展開劑 3】(香港中藥材標準第四冊)——石油醚(60-80℃):乙酸乙酯 (37:3)

【萃取方法 2】(中華人民共和國藥典 2010)——以茴香醛/硫酸試液，加熱後於可見光下檢視。



1 : Blank

2 : 胡薄荷酮(Pulegone)

3, 4 : NF Sample

5 : Spike (NF Sample)

以中華人民共和國藥典 2010 萃取方式，採用中華人民共和國藥典 2010 之溶媒系統【展開劑 2】展開，其結果與經【展開劑 1】與【展開劑 3】比較：斑點 R_f 值較適中，分離效果亦佳。

四、觀察方式選擇

實驗日期：104/11/18

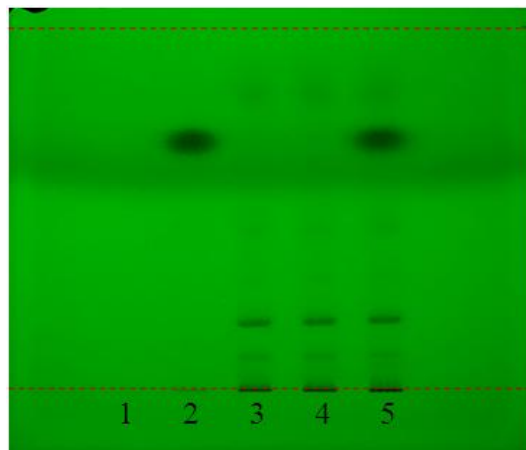
相對溼度(RH)：55%

溫度(RT)：26 °C

【展開劑 2】(中華人民共和國藥典 2010)——正己烷:乙酸乙酯(17:3)

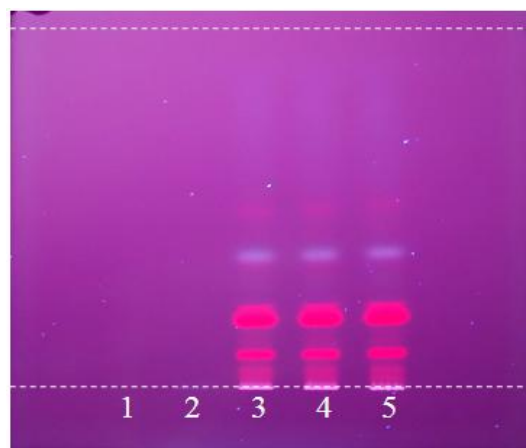
【萃取方法 2】(中華人民共和國藥典 2010)

TLC 紫外光(254 nm)檢出



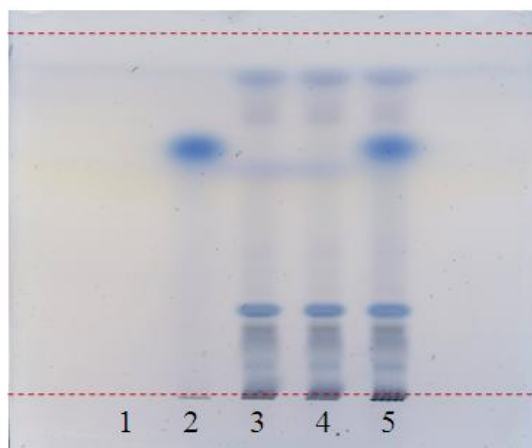
【萃取方法 2】(中華人民共和國藥典 2010)

TLC 紫外光(366 nm)檢出



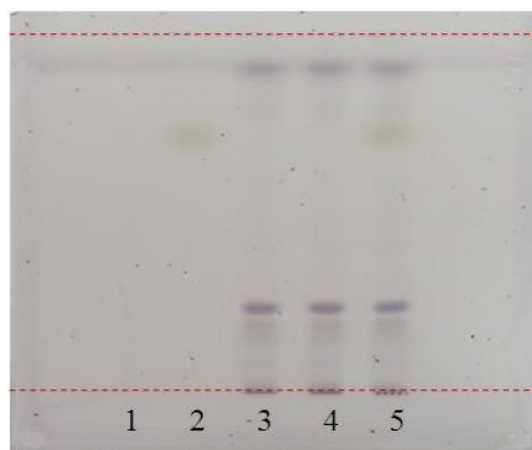
【萃取方法 2】(中華人民共和國藥典 2010)

TLC 茴香醛硫酸試液/可見光 檢出



【萃取方法 2】(中華人民共和國藥典 2010)

TLC 香莢蘭醛硫酸試液/可見光 檢出



1 : Blank

2 : 胡薄荷酮(Pulegone)

3, 4 : NF Sample

5 : Spike (NF Sample)

以【展開劑 2】(中華人民共和國藥典 2010)——正己烷:乙酸乙酯(17:3)展開下，於紫外光(254 nm)下檢出，顯示 1 個較明顯之成分斑點。經茴香醛硫酸試液呈色後在可見光下檢出，比較其他觀察方式的斑點數較多且清楚，因此經茴香醛硫酸試液呈色後在可見光下檢出即可。

五、十家樣品檢測：

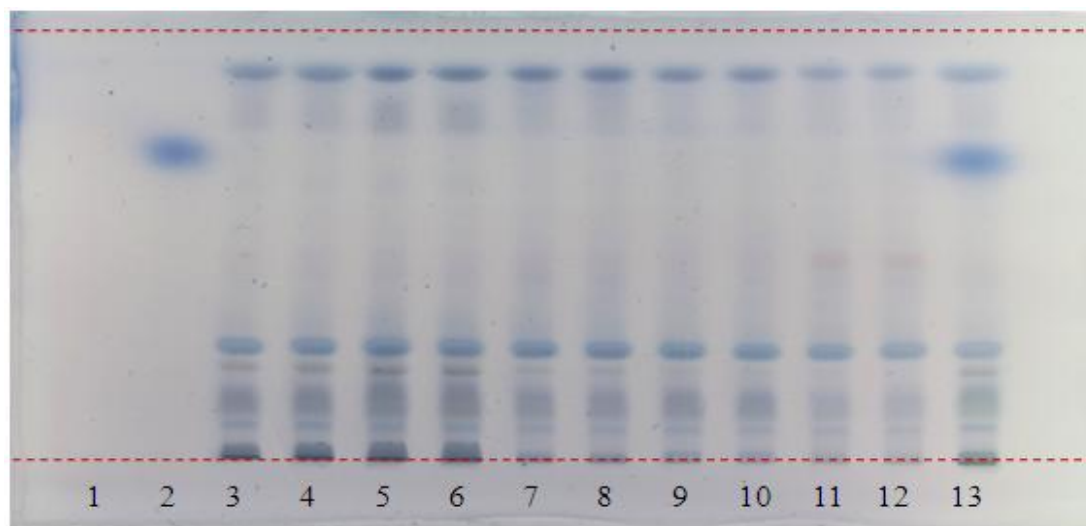
實驗日期：104/11/20

相對溼度(RH)：58%

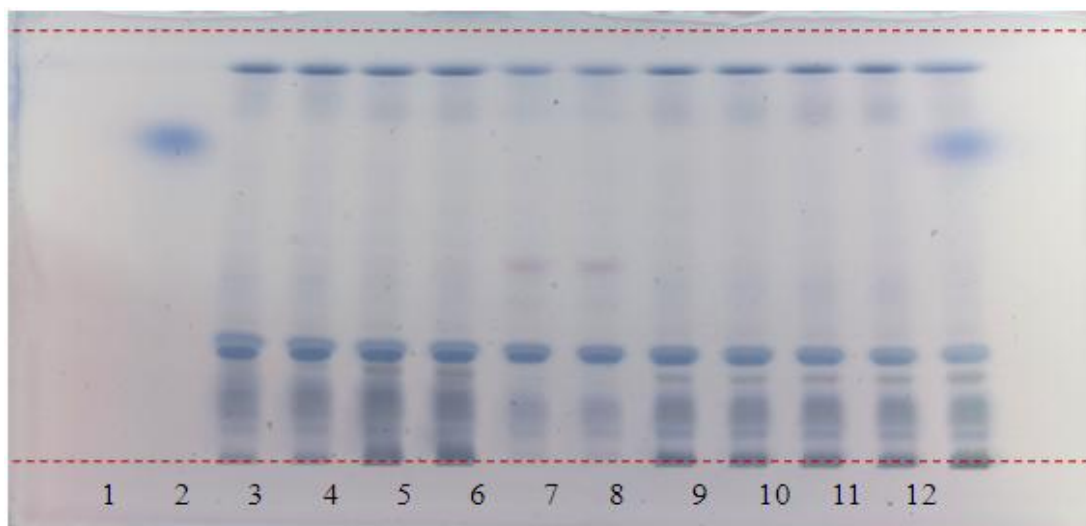
溫度(RT)：27 °C

【展開劑 2】(中華人民共和國藥典 2010)——正己烷:乙酸乙酯(17:3)

【萃取方法 2】(中華人民共和國藥典 2010)——以茴香醛/硫酸試液，加熱後於可見光下檢視。



1	Blank
2	胡薄荷酮(Pulegone)(4.6 µg/mL)
3 , 4	NF Sample
5 , 6	NJ Sample
7 , 8	NN Sample
9 , 10	NR Sample
11 , 12	CE Sample
13	Spike (NF Sample)



1	Blank
2	胡薄荷酮(Pulegone)(4.6 µg/mL)
3 , 4	SC Sample
5 , 6	SE Sample
7 , 8	SG Sample
9 , 10	SJ Sample
11 , 12	SQ Sample
13	Spike (NF Sample)

結論與建議：參考香港中藥材標準第四冊荊芥穗藥材指標成分為胡薄荷酮 (Pulegone)，然而 TLC 檢測荊芥藥材時，由於胡薄荷酮 (Pulegone) 量太少，因此並不適合為荊芥藥材之 TLC 鑑別指標成分，建議仍按照台灣中藥典第二版以荊芥對照藥材比對，展開劑與萃取方法選用中華人民共和國藥典 2010 版較佳。