

骨碎補

(DRYNARIAE RHIZOMA)

骨碎補 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
骨碎補 HPLC	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	11
骨碎補 TLC	22
一、方法	22
二、萃法選擇及濃度測試	23
三、溶媒系統選擇	24
四、觀察方式選擇	27
五、十批骨碎補藥材樣品檢測	28

骨碎補 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骨碎補的乾燥根莖。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：骨碎補

生藥名：DRYNARIAE RHIZOMA

英文名：Fortune's Drynaria Rhizome

基原：本品為水龍骨科 Polypodiaceae 植物槲蕨 *Drynaria roosii* Nakaike 之乾燥根莖。

採收加工：全年均可採挖，除去泥沙，乾燥，或再燎去茸毛（鱗葉）。

藥材性狀：本品多已縱切成片，完整者呈扁平長條狀，多彎曲，有分枝，長 5~15 cm，寬 1.0~1.5 cm，厚 0.2~0.5 cm。表面密被深棕色至暗棕色的小鱗葉，柔軟如毛，經火燎者呈棕褐色或暗褐色。根莖兩側及上表面均具突起或凹下的圓形葉痕，少數有葉柄殘基和鬚根殘留。體輕，質脆，易折斷，斷面紅棕色，維管束呈黃色點狀，排列成環。氣微，味淡，微澀。

飲片性狀：本品已縱切成片。表面呈棕褐色或暗褐色，有時可見殘存的鱗葉及突起或凹下的圓形葉痕，斷面紅棕色，維管束呈黃色點狀，排列成環。氣微，味淡，微澀。

生長分佈：多年生附生草本蕨類，高 20~40 公分，附生於樹幹和岩石上。喜溫暖、濕潤、通風、稍遮蔭的環境，生長處需有林木遮蔭且靠近溪溝水源，土壤一般偏鹼性。分布於中國、臺灣、越南、泰國等地；藥材主產於湖南、浙江、江西等地。

三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2)

1. 表皮細胞 1 列，類圓形或長圓形，外壁稍厚。
2. 鱗葉基部著生於表皮凹陷處，細胞 3~4 列，壁厚，內含紅棕色色素。
3. 皮層薄壁細胞類圓形或不規則波狀彎曲，含少量澱粉粒和黃棕色顆粒狀物。
4. 維管束外韌包圍型，15~25 個排列成扁圓形一環，各維管束外周有內皮層。
5. 內皮層一列，圍繞維管束，細胞切向延長，凱氏點不明顯，內皮層外側一列細胞的內壁稍增厚。
6. 韌皮部有的細胞壁增厚並充滿黃棕色分泌物。

7. 木質部假導管呈多角形，直徑 10~80 μm 。

四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3)

1. 本品粉末棕色。
2. 鱗葉碎片紅棕色或黃棕色，呈不規則形或長條形。
3. 皮層棕色，細胞類長方形或類多角形，可見孔溝。
4. 假導管呈黃色、黃棕色或無色，主為階紋，直徑 10~80 μm 。
5. 澱粉粒類圓形或長圓形，直徑 10~20 μm ，臍點短縫狀、點狀。偏光顯微鏡下呈黑十字。

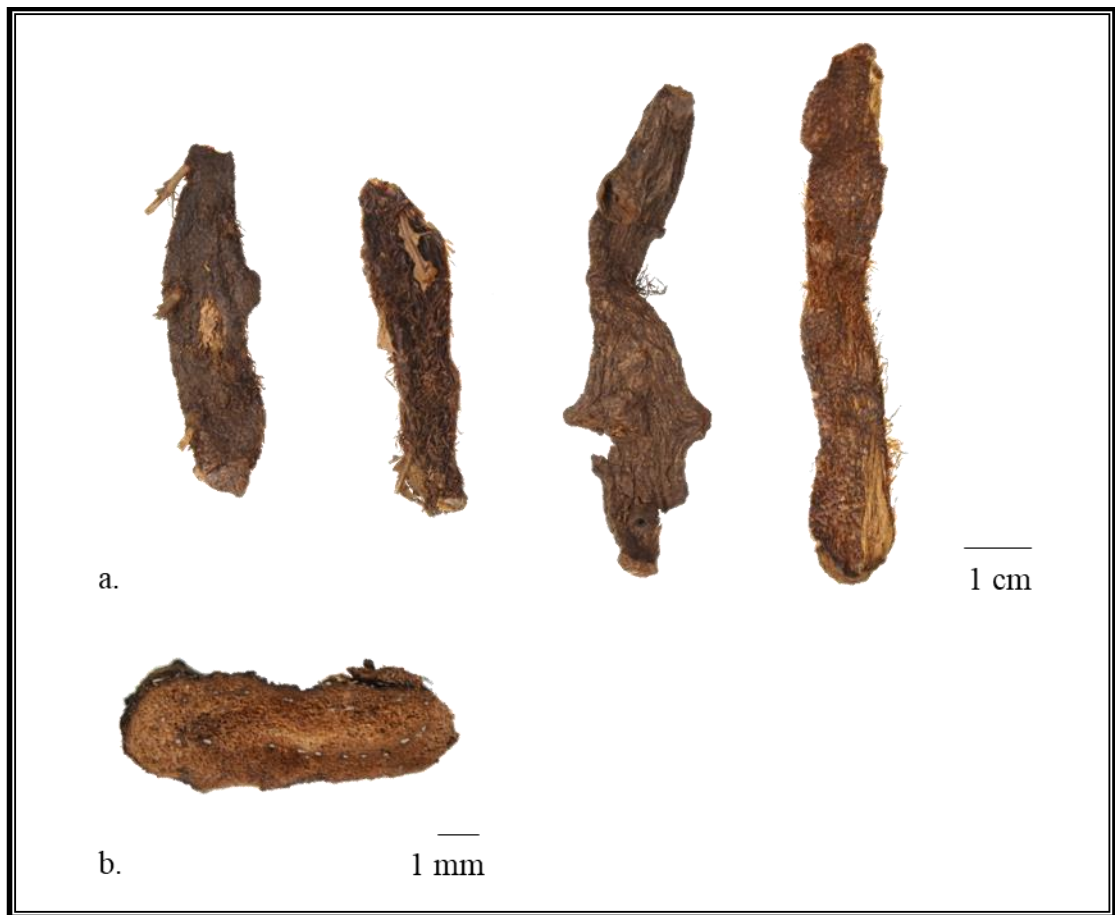


圖 1A 骨碎補藥材圖

a.藥材圖 b.藥材橫切面圖



圖 1B 骨碎補飲片圖

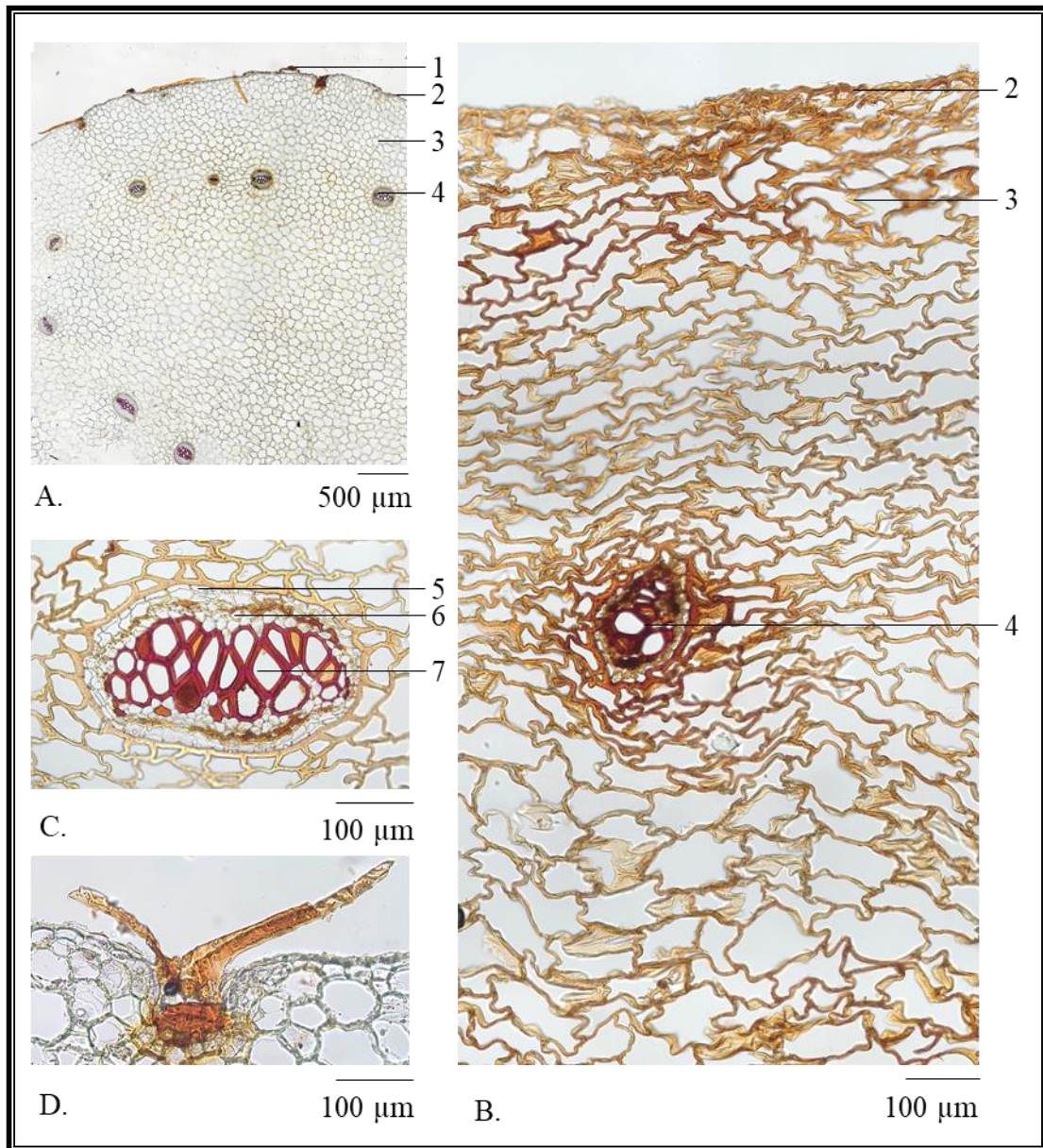


圖 2 骨碎補橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖 C.維管束 D.鱗葉

1.鱗葉 2.表皮 3.皮層 4.維管束 5.內皮層 6.韌皮部 7.木質部

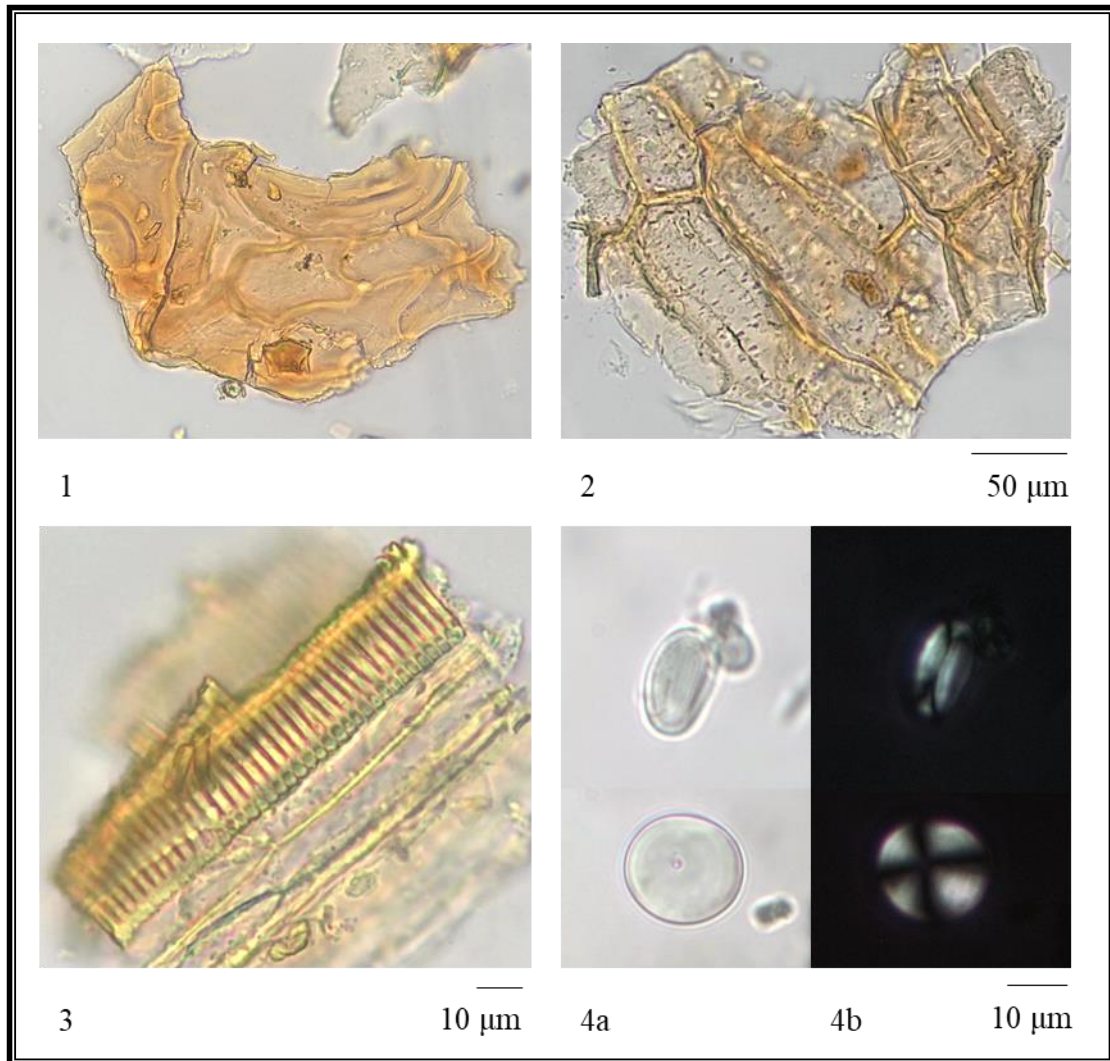


圖 3 骨碎補粉末顯微特徵圖

a. 光學顯微鏡下特徵 b. 偏光顯微鏡下特徵

1. 鱗葉碎片 2. 皮層細胞 3. 假導管 4. 澱粉粒

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。287~288 頁。
2. 張永勳、何玉鈴(主編)(2015)。臺灣市售易混淆中藥鑑別圖鑑。臺北市：衛生福利部。100~102 頁。
3. 中藥鑑別手冊編輯委員(1986)。中藥鑑別手冊。啟業書局。423~430 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(2015)。香港中藥材標準第七冊。香港：香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部。204~207 頁。
5. 肖培根(主編)(2001)。新編中藥志第一卷。北京：化學工業出版社。693~699 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。462~463 頁。
7. 國家藥典委員會編輯(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。267~268 頁。
8. 任仁安主編(1986)。中藥鑑定學。上海科學技術出版社。41~42 頁。
9. 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。229~230 頁。
10. 徐國鈞、徐珞珊(主編)(1994)。常用中藥材品種整理和質量研究第二冊。福建科學技術出版社。317~335 頁。
11. 陳代賢、郭秋月(主編)(2017)。中藥真偽質量快速影像檢定(下冊)。北京人民衛生出版社。587~596 頁。
12. 廣西壯族自治區藥品檢驗所(1992)。中藥材真偽鑑別圖鑑。廣西科學技術出版社。51 頁。
13. 張繼(主編)(2021)。中國中藥材及飲片真偽鑑別圖典第二冊。廣東科技出版社。256~259 頁。
14. 王滿恩、趙昌(主編)(2019)。飲片驗收經驗。山西科學技術出版社。437~439 頁。
15. 陳萬生、詹亞華、吳和珍(主編)(2020)。新編中國藥材學第四卷。中國醫藥科技出版社。207~210 頁。

骨碎補 HPLC

一、材料

購置於臺灣各地中藥店骨碎補藥材共 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 Eclipse Plus 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

乙腈(HPLC grade)、乙醇(95%)皆購置於永定科技有限公司。

(二) 對照標準品

柚皮苷(Naringin)來自於中藥司，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 0.25 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 20 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)；另取本品粉末 1 份，置 100 mL 圓底瓶中，準確加入 75%甲醇 20 mL，加熱迴流 30 分鐘，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 0.22 μm)，即得。每針 10 μL 注入 HPLC，以所測得每克重量之柚皮苷最大波峰面積為最佳骨碎補藥材萃取溶媒。

(二) 最佳萃取次數評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 0.25 g，置 50 mL 離心管中，準確加入 75%甲醇 20 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 75%甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 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，

直到柚皮苷被萃取完全，並選出最佳萃取次數。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品柚皮苷 2.0 mg，加 10 mL 的甲醇製成每 1 mL 含柚皮苷 200 µg 的對照標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 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(過第 20 號篩網)約 0.25 g，置 50 mL 離心管中，加入 75% 甲醇 20 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。殘渣部分重複提取 1 次，合併濾液，移入 50 mL 之容量瓶中，加 75% 甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 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柚皮苷的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取柚皮苷對照標準品儲備液適量(200 µg/mL)，以甲醇稀釋成含柚皮苷分別為 100、50、25、10、5.0 µg/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

以柚皮苷為 25 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以柚皮苷的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售骨碎補藥材粉末，依骨碎補藥材檢品溶液製備方法平行製備 5 份骨碎補藥材檢品溶液，進樣測定，以柚皮苷的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售骨碎補藥材粉末，依骨碎補藥材檢品溶液製備方法製備骨碎補藥材檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，以柚皮苷的含量為指標，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

取已知柚皮苷含量的骨碎補藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.25 g，分別加入柚皮苷 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 C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 283 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	20	80
20	20	80

(十二) 臺灣市售骨碎補藥材含量測定

取 10 批市售骨碎補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 公式計算樣品柚皮苷的百分比含量。

(十三) 骨碎補檢品之 UPLC 分析條件

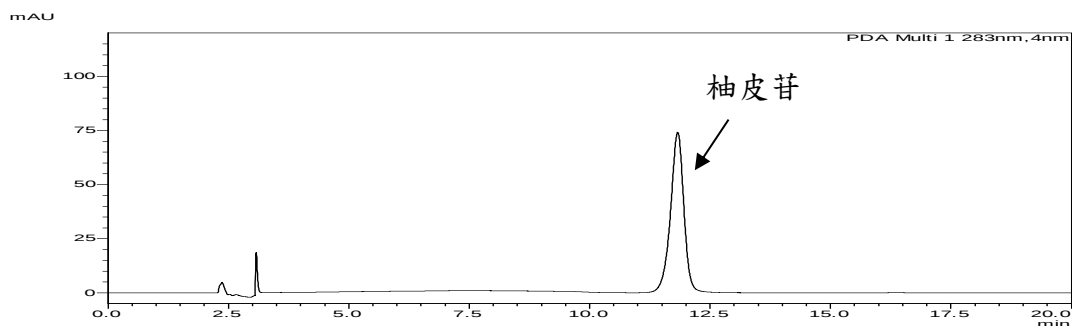
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μ m)
2. 檢測波長：UV 283 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μ L
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	水(%)
0	20	80
10	20	80

五、結果

(一) 對照標準品柚皮苷之 HPLC 層析

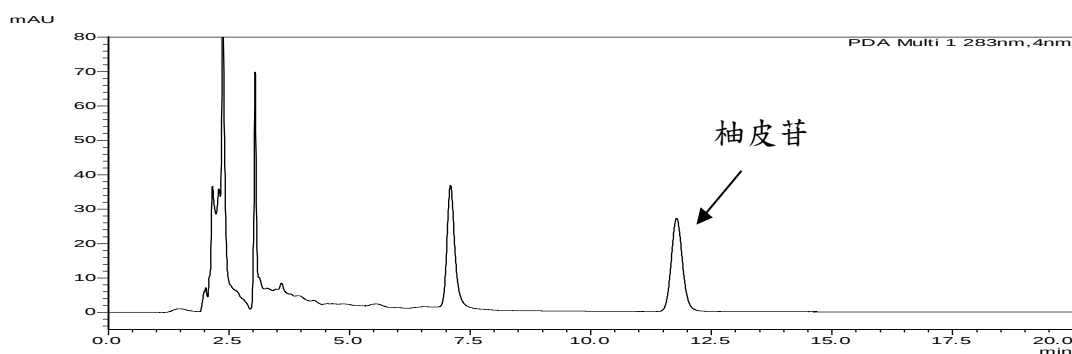
於滯留時間 11.8 分鐘處顯示柚皮苷對照標準品波峰(圖一)。



圖一、柚皮苷對照標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售骨碎補藥材檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 11.7 分鐘處顯示骨碎補藥材檢品中柚皮苷波峰(圖二)。柚皮苷分離率(R)為 13.3，拖尾因子(T)為 1.03，均在系統適用性要求內。



圖二、市售骨碎補藥材檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒評估

以 75% 甲醇溶液為溶媒時，每克藥材重量所得柚皮苷的波峰面積最大，顯示 75% 甲醇溶液為最佳萃取溶媒。

表一、不同萃取溶媒評估

溶媒	柚皮苷波峰面積	最佳萃取
甲醇	219380	
75% 甲醇	456749	√
50% 甲醇	377713	
乙醇	106639	
75% 乙醇	266218	
50% 乙醇	383661	
75% 甲醇加熱迴流 30 分鐘	432590	

(四) 最佳萃取次數評估

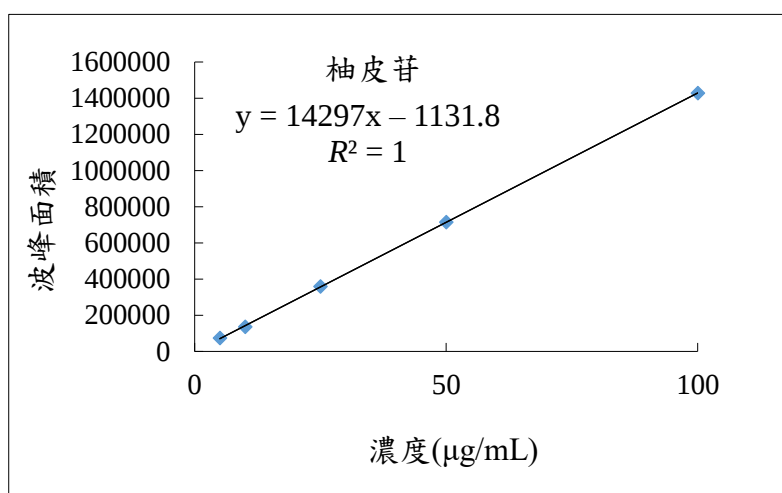
結果顯示萃取 2 次基本上已將柚皮苷萃取完全(萃取率大於 98%)。

表二、骨碎補藥材檢品萃取次數評估

75%甲醇萃取次數	柚皮苷波峰面積
第 1 次	446800
第 2 次	131212
第 3 次	10044
第 4 次	809
第 5 次	N.D

(五) 對照標準品柚皮苷檢量線

經不同濃度柚皮苷(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 $y = 14927x - 1131.8$ ， $R^2 = 1$ ，顯示濃度在 5.0–100 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、柚皮苷之檢量線圖

表三、柚皮苷之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
柚皮苷	5.0–100	$y = 14927x - 1131.8$	1

(六) 精密度試驗

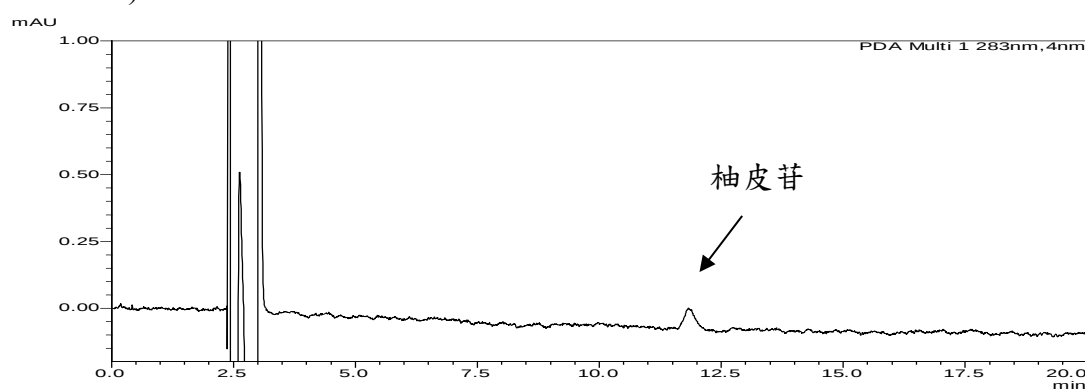
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，柚皮苷精密度之相對標準差為 0.14%，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

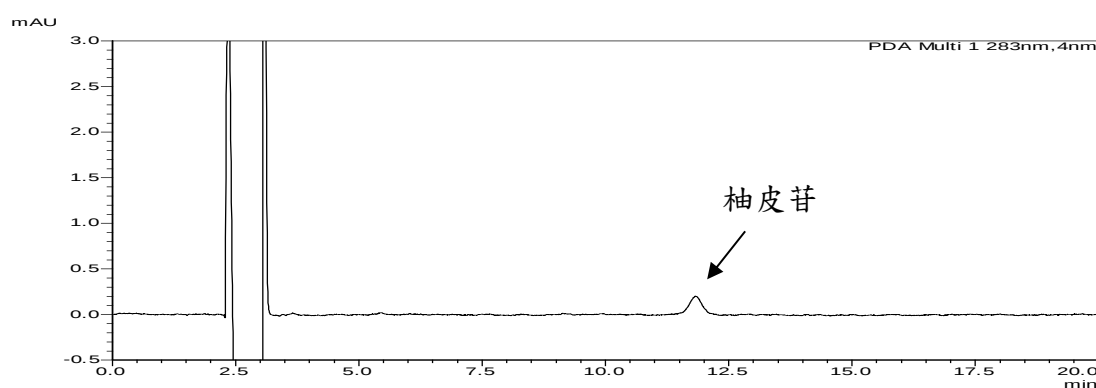
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，柚皮苷重複性之相對標準差為 1.22%，在系統適用性要求內。柚皮苷在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差為 0.19%，變化差異小，若所有樣品分析都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

柚皮苷偵測極限為 0.05 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 0.25 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、柚皮苷之偵測極限層析圖



圖五、柚皮苷之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	柚皮苷	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	25 $\mu\text{g/mL}$	0.14
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.5)	1.22
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.5)	0.19
偵測極限 (n=1)	0.05 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=1)	0.25 $\mu\text{g/mL}$	-

(九) 添加回收率試驗

柚皮苷平均添加回收率為 97.6%，相對標準偏差為 2.14% (表五)。

表五、柚皮苷添加回收率

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	0.2509	0.9439	1.0	1.9419	99.79	97.6	2.14
2	0.2505	0.9424	1.0	1.8853	94.29		
3	0.2503	0.9417	1.0	1.9302	98.85		
4	0.2500	0.9406	1.0	1.9201	97.95		
5	0.2503	0.9417	1.0	1.9157	97.40		

(十) 臺灣市售骨碎補藥材含量測定

10 批骨碎補藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，柚皮苷的含量為 0.188–1.029%。建議骨碎補藥材指標成分柚皮苷的含量不得少於 0.4%。理論板數按柚皮苷波峰計算應不低於 5000 (實際值為 12673)。

表六、臺灣市售骨碎補藥材檢品之柚皮苷的含量

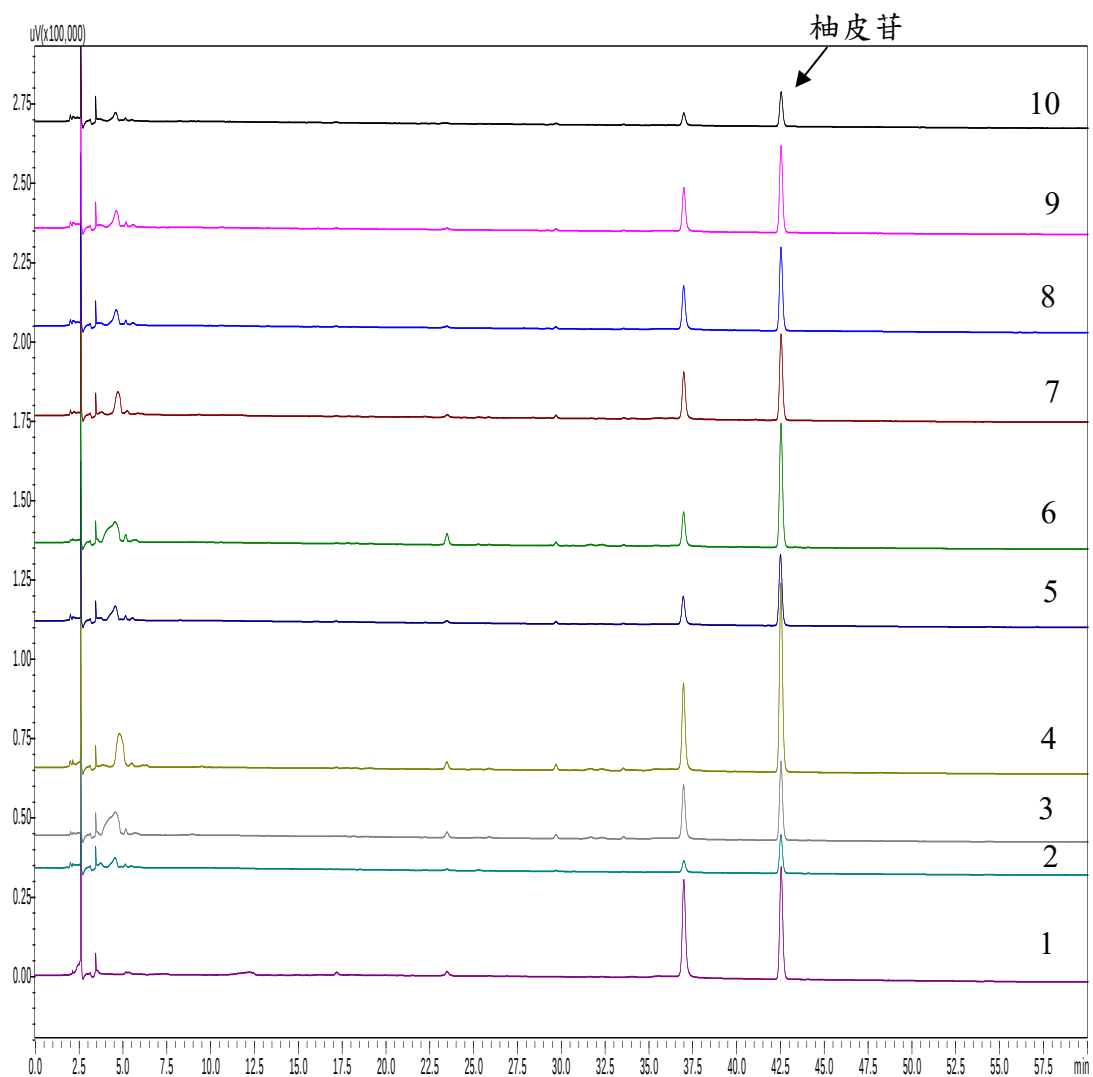
藥材編號 (No.)	柚皮苷含量 (%)	藥材編號 (No.)	柚皮苷含量 (%)
1 (NF)	0.612	6 (SAB)	0.675
2 (NO)	0.210	7 (SGA)	0.467
3 (CA)	0.431	8 (SK2)	0.454
4 (CB)	1.029	9 (SUA)	0.473
5 (CH)	0.388	10 (SUD)	0.188
平均值±S.D.	0.493±0.242		

(十一) 骨碎補藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售骨碎補藥材檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 283 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：

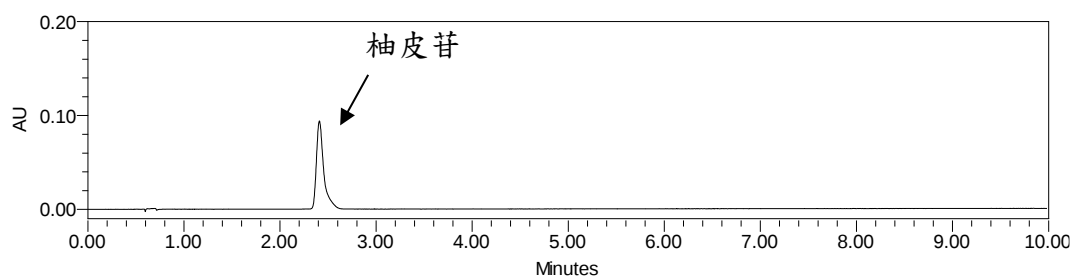
時間(min)	乙腈(%)	水(%)
0	5	95
5	5	95
15	10	90
50	25	75
60	25	75



圖六、10 批骨碎補藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 對照標準品柚皮苷之 UPLC 層析

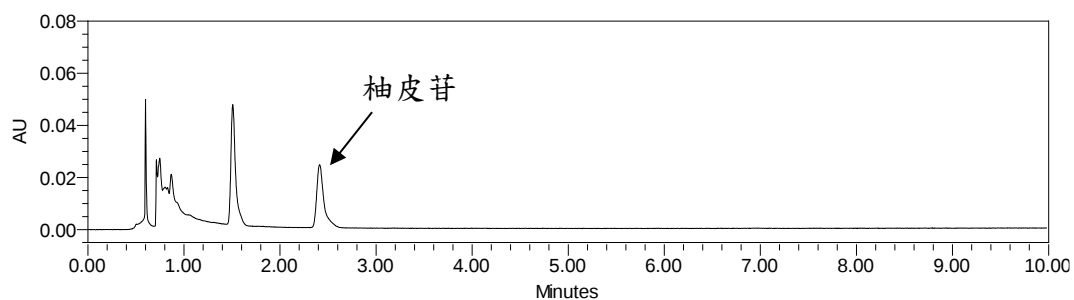
於滯留時間 2.41 分鐘處顯示柚皮苷對照標準品波峰(圖七)。



圖七、柚皮苷對照標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售骨碎補藥材檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 2.41 分鐘處顯示骨碎補藥材檢品中柚皮苷波峰(圖八)。

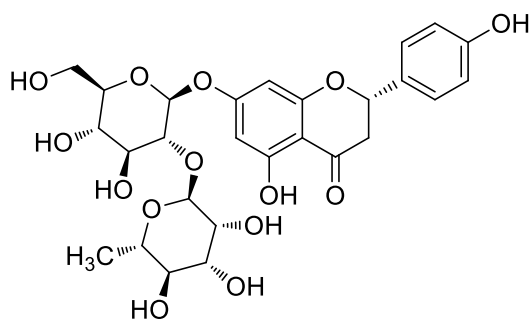


圖八、市售骨碎補藥材檢品之 UPLC 層析圖

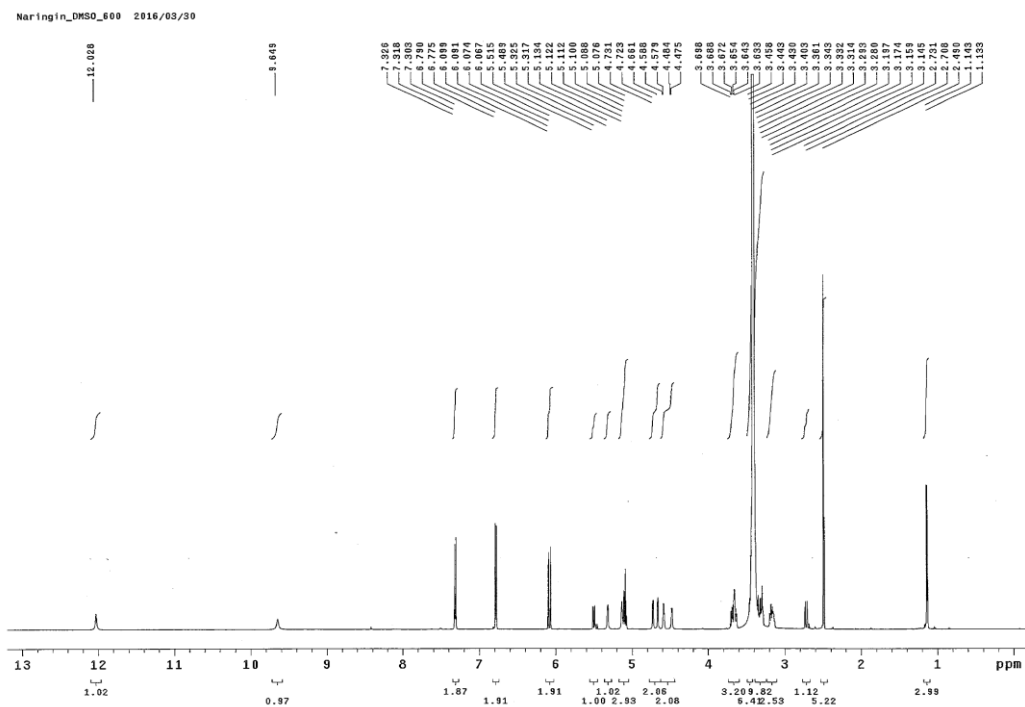
(十四) 柚皮苷的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{27}H_{32}O_{14}$ ；分子量：580.54；熔點：166–168 °C；淡黃色粉末。

(十五) 柚皮苷的結構

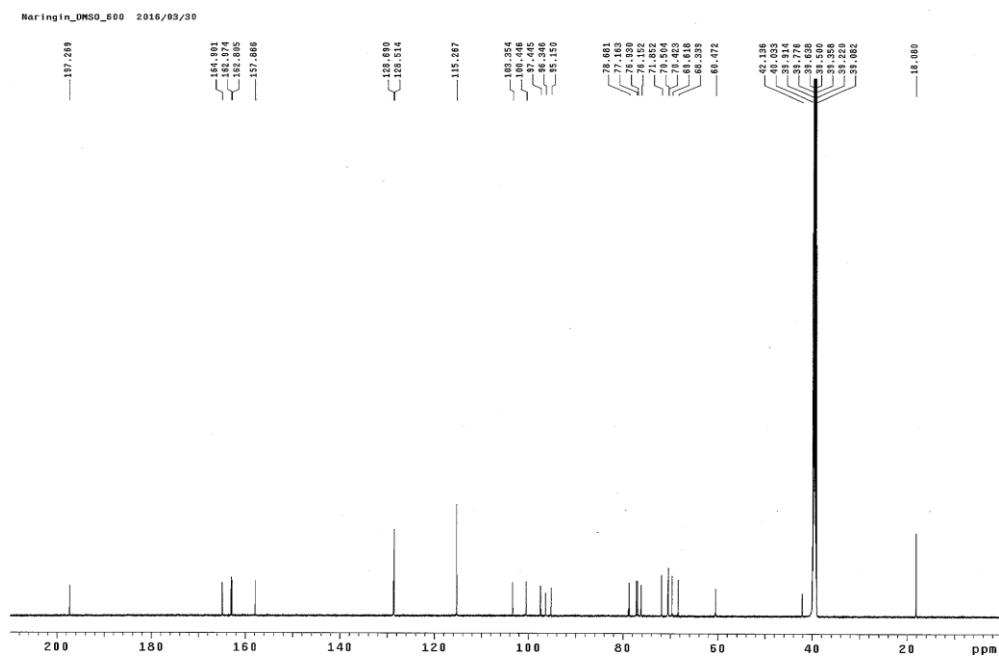


(十六) 柚皮苷的 ^1H NMR 圖譜



圖九、柚皮苷的 ^1H NMR 圖譜($\text{DMSO-}d_6$)

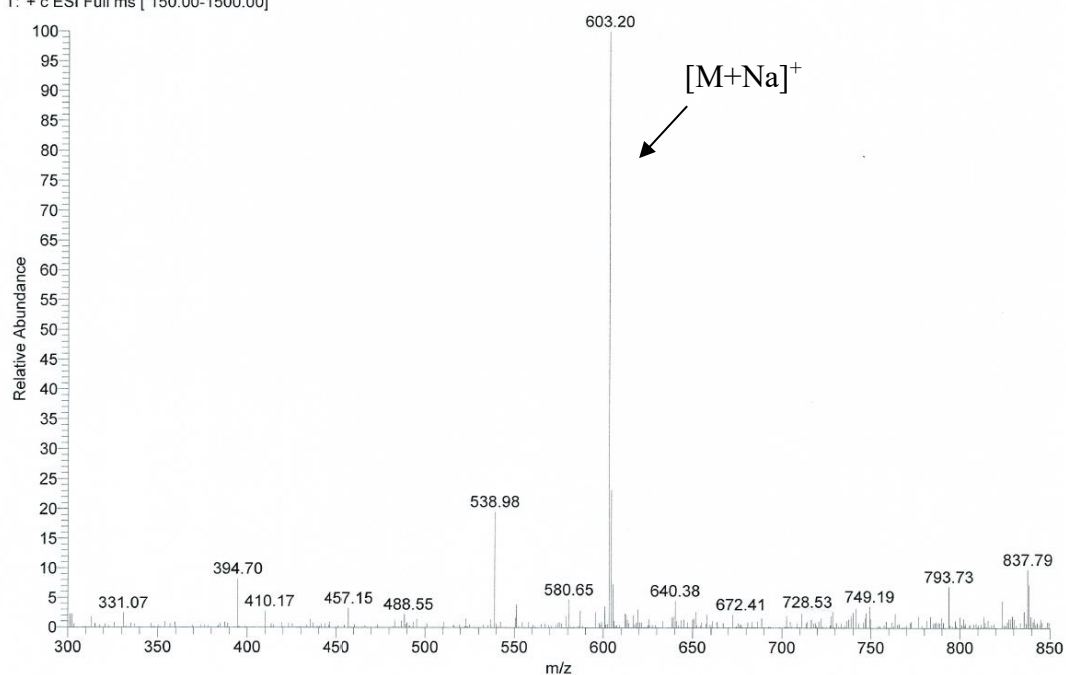
(十七) 柚皮苷的 ^{13}C NMR 圖譜



圖十、柚皮苷的 ^{13}C NMR 圖譜($\text{DMSO-}d_6$)

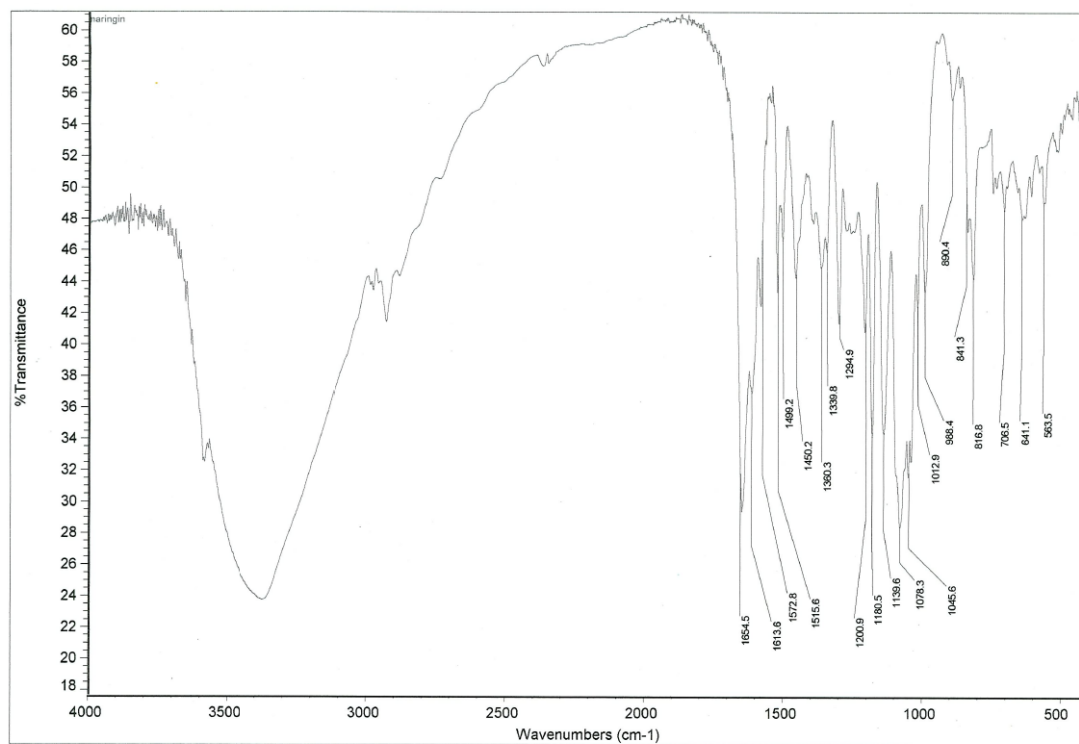
(十八) 柚皮苷的 ESI-MS 圖譜

YHC7-20 #19-26 RT: 0.58-0.78 AV: 8 NL: 2.07E5
T: + c ESI Full ms [150.00-1500.00]



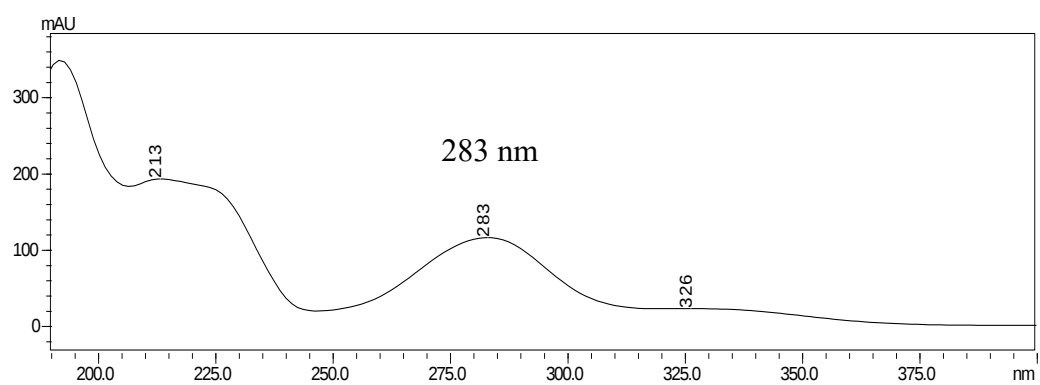
圖十一、柚皮苷的 ESI-MS 圖譜

(十九) 柚皮苷的 FTIR 圖譜



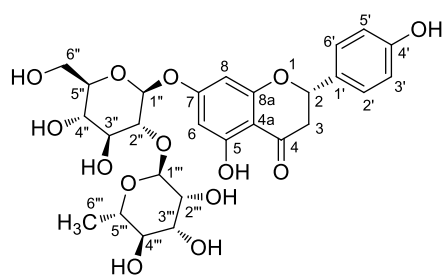
圖十二、柚皮苷的 FTIR 圖譜

(二十) 柚皮苷的 UV 圖譜



圖十三、柚皮苷的 UV 圖譜

(二十一) 柚皮苷的氫、碳化學位移



柚皮苷

表七、柚皮苷的氫、碳化學位移(DMSO- d_6)

position	δ_H (600 MHz) ^a	δ_C (150 MHz)
1	-	-
2	5.50 (dd, 13.2, 3.0)	78.7
3	2.72 (dd, 16.8, 3.0), 3.28–3.31 (m)	42.1
4	-	197.3
4a	-	103.3
5	-	163.0
6	6.07 (d, 2.4)	96.3
7	-	164.9
8	6.10 (d, 2.4)	95.2
8a	-	162.8
1'	-	128.7
2',6'	6.88(dd, 8.5, 2.0)	128.5
3',5'	6.94 (d, 8.5)	115.3
4'	-	157.9
1''	5.09 (d, 7.2)	97.4
2''	3.42–3.46 (m)	76.2
3''	3.14–3.18 (m)	69.6
4''	3.38–3.44 (m)	77.2
5''	3.38–3.44 (m)	76.9
6''	3.40–3.44 (m), 3.62–3.66 (m)	60.5
1'''	5.08 (d, 6.0)	100.4
2'''	3.64–3.68 (m)	70.4*
3'''	3.27–3.32 (m)	70.5*
4'''	3.16–3.20 (m)	71.9
5'''	3.66–3.70 (m)	68.3
6'''	1.14 (d, 6.0)	18.1
5-OH	12.0 (s)	-
4'-OH	9.65 (br s)	-

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

骨碎補 TLC

生藥名：DRYNARIAE RHIZOMA

英文名：Fortune's Drynaria Rhizome

基 原：本品為水龍骨科 Polypodiaceae 植物酸櫟蕨 *Drynaria roosii* Nakaike 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》《中華人民共和國藥典 2020》

——取本品粉末 0.5 g，加甲醇 30 mL，加熱迴流 1 小時，過濾，濃縮至乾，殘渣加甲醇 1 mL，使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 2】《香港中藥材標準第七冊》

——取本品粉末 0.5 g，加 70%乙醇 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 3】(自行開發)✓

——取本品粉末 0.5 g，加 75%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 溶 液 取柚皮苷(Naringin)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》《中華人民共和國藥典 2020》

——甲苯：乙酸乙酯：甲酸：水 (1：12：2.5：3)

【展開劑 2】《香港中藥材標準第七冊》

——乙酸乙酯：甲酸：水 (8：1：1)

【展開劑 3】(自行開發)✓

——乙酸乙酯：甲醇：水 (100：17：13)

(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，置於主波長 254 nm 之紫外燈照射下檢視，或以 5% 三氯化鋁試液(AlCl₃/EtOH TS)噴霧，風乾後，置於紫外光 (365 nm)下檢視。

二、萃法選擇及濃度測試

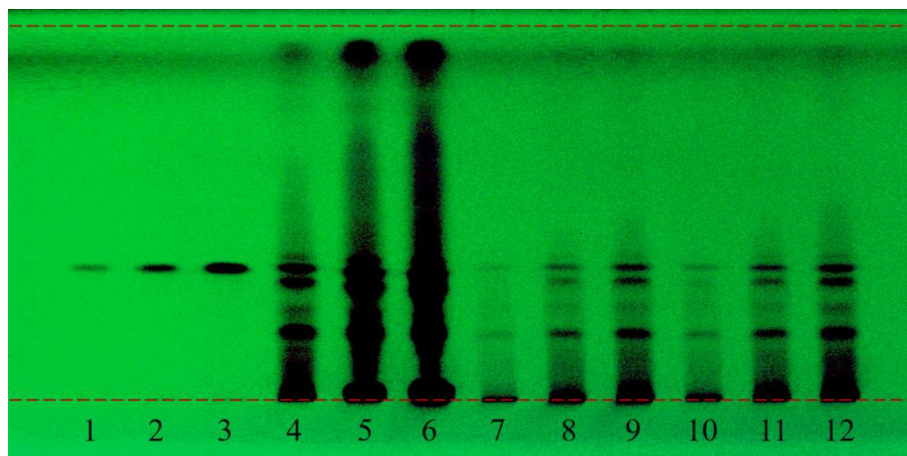
實驗日期：112/01/09

相對溼度(RH)：45%

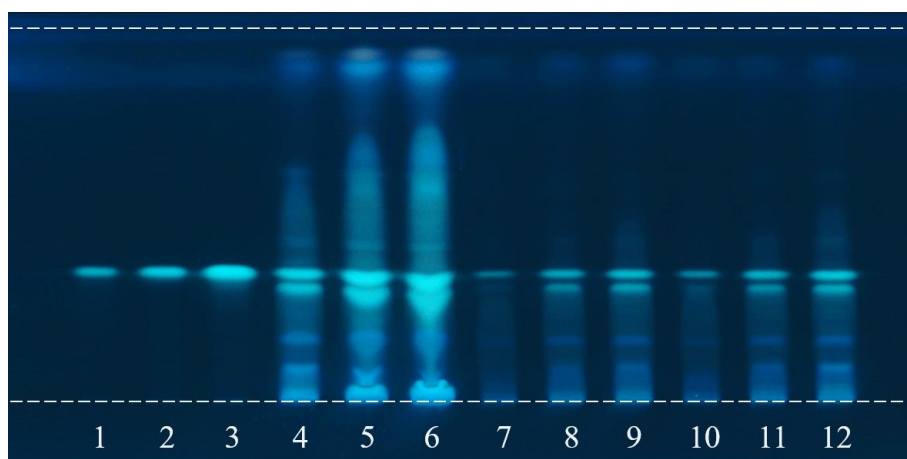
溫度(RT)：24.8 °C

【展開劑 3】(自行開發)—— 乙酸乙酯：甲醇：水 (100：17：13)

—— HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



—— HPTLC 5%三氯化鋁試液顯色後紫外光(365 nm)檢出



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

建議萃法：三種萃取方法，檢品溶液中皆可分離與檢出柚皮苷，因方法簡便，且濃度適中，故採用【萃取方法 3】。

建議點注量：柚皮苷 2 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：112/01/09

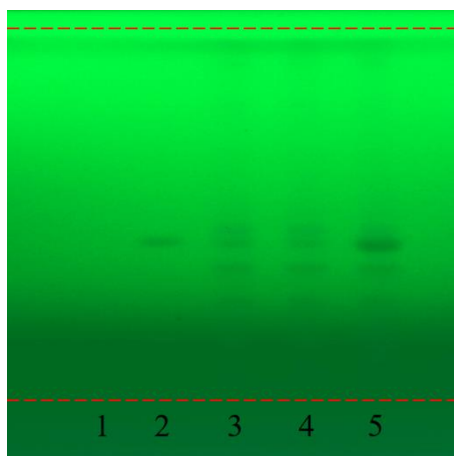
相對溼度(RH)：45%

溫度(RT)：24.8 °C

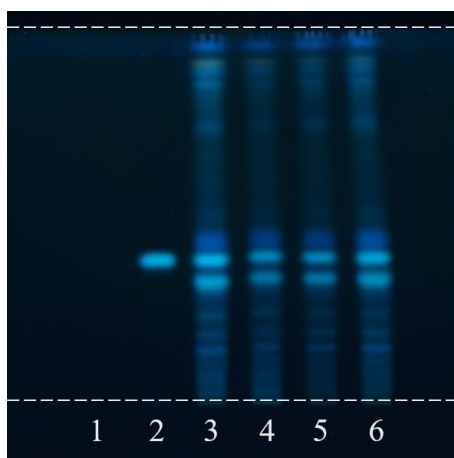
【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版 2021》《中華人民共和國藥典 2020》—— 甲

苯：乙酸乙酯：甲酸：水 (1：12：2.5：3)

【萃取方法 3】(自行開發)—— HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(柚皮苷 R_f 值為 0.41)

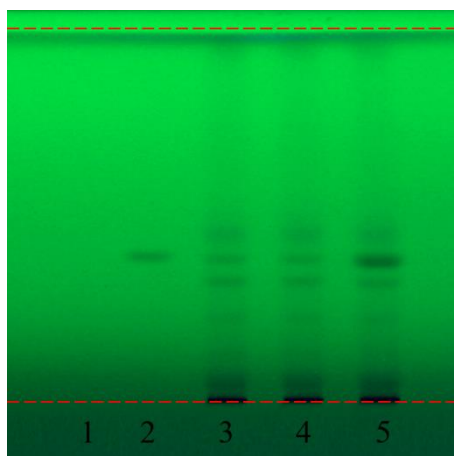


—— HPTLC 5%三氯化鋁試液顯色後紫外光(365 nm)檢出(柚皮苷 R_f 值為 0.41)

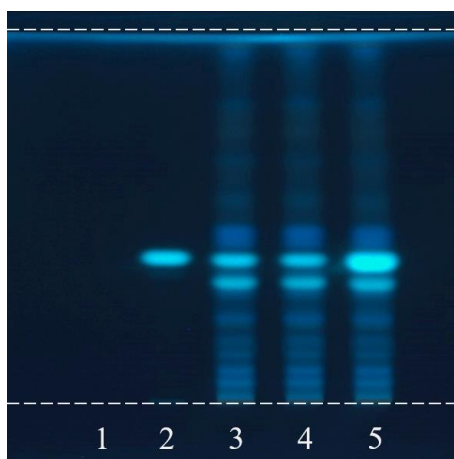


【展開劑 2】《香港中藥材標準第七冊》—— 乙酸乙酯：甲酸：水 (8：1：1)

【萃取方法 3】(自行開發)—— HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(柚皮苷 R_f 值為 0.38)

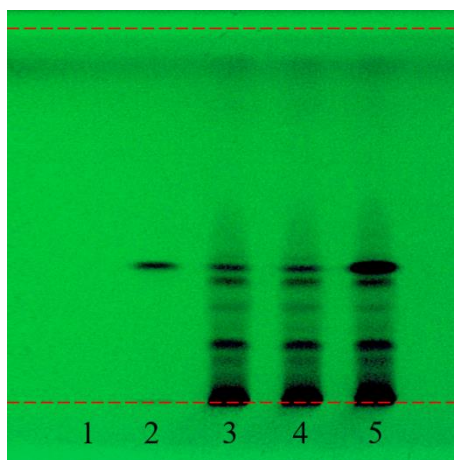


—— HPTLC 5%三氯化鋁試液顯色後紫外光(365 nm)檢出(柚皮苷 R_f 值為 0.38)

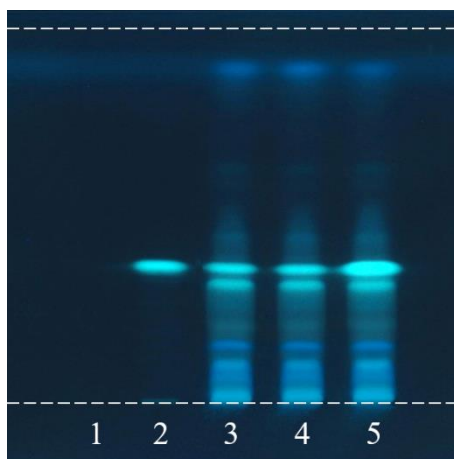


【展開劑 3】(自行開發) —— 乙酸乙酯：甲醇：水 (100：17：13) ✓

【萃取方法 3】(自行開發) —— HPTLC 紫外光(254 nm)檢出柚皮苷 R_f 值為 0.37)



—— HPTLC 5%三氯化鋁試液顯色後紫外光(365 nm)檢出(柚皮苷 R_f 值為 0.37)



1：Blank

2：柚皮苷

3，4：檢品溶液 7

5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 3】方式，3 種展開劑皆可分離柚皮苷，其中以自行開發之【展開劑 3】展開，可不用顯色直接於紫外光(254nm)下檢視柚皮苷，且條帶明顯，故採用【展開劑 3】。

四、觀察方式選擇

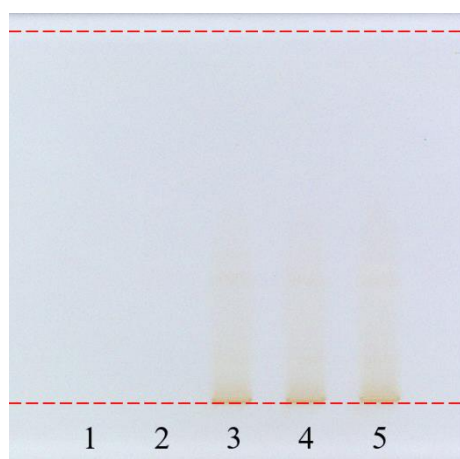
實驗日期：112/01/09

相對溼度(RH)：45%

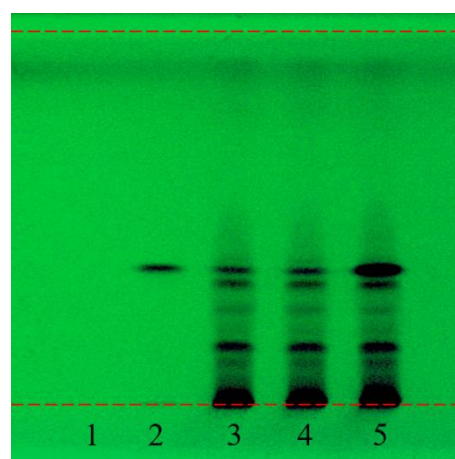
溫度(RT)：24.8 °C

【展開劑 3】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：水 (100：17：13)

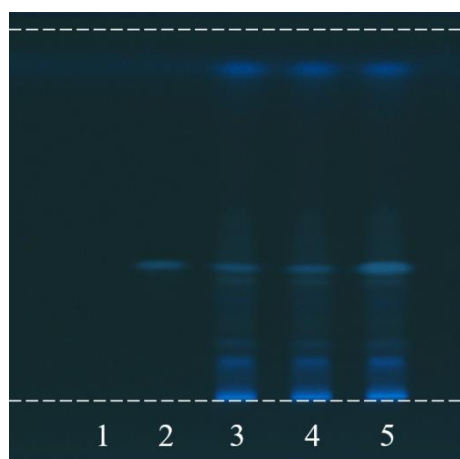
【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 可見光檢出



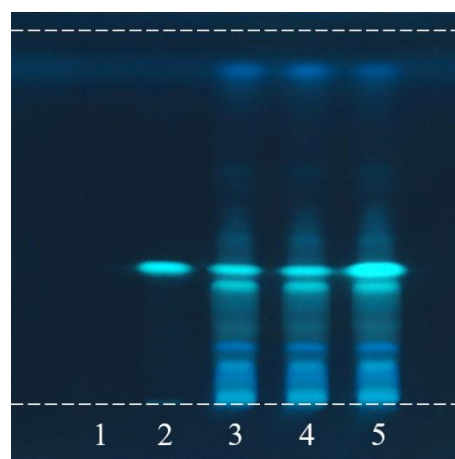
【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 紫外光(254 nm)檢出✓



【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 5%三氯化鋁試液顯色後紫外光(365 nm)檢出✓



1：Blank

2：柚皮苷

3，4：檢品溶液 7

5：Spike

建議觀察方式：於紫外光(254nm)下檢視或以 5%三氯化鋁試液顯色後於紫外光(365 nm)下檢視，顯示有較明顯分離之條帶。

五、十批骨碎補藥材樣品檢測

實驗日期：112/01/09

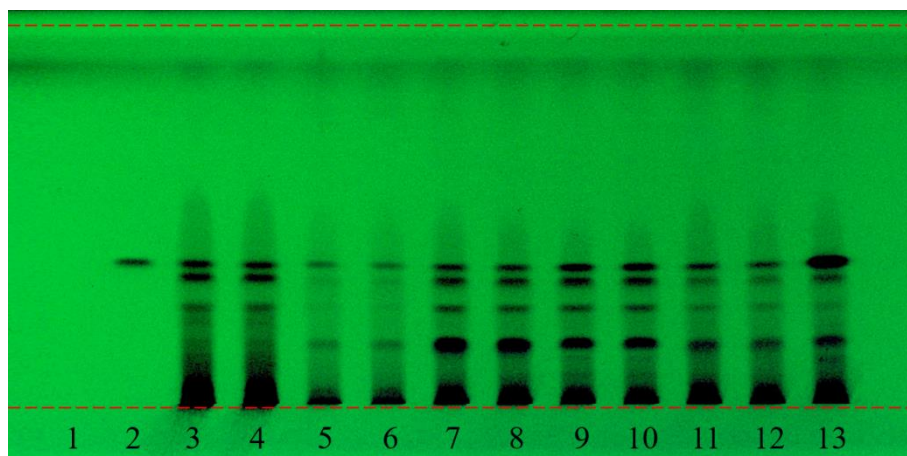
相對溼度(RH)：45%

溫度(RT)：24.8 °C

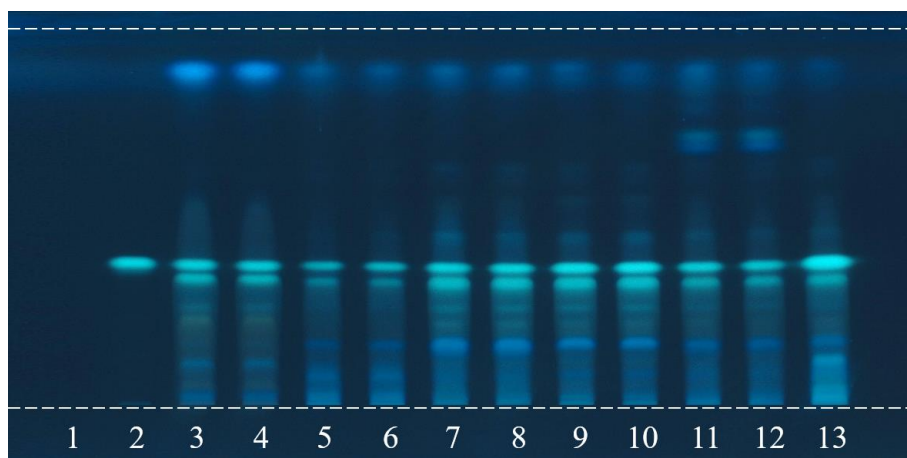
【展開劑 3】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：水 (100：17：13)

【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC

(1) 紫外光(254 nm)檢出



(2) 5%三氯化鋁試液顯色紫外光(365 nm)檢出

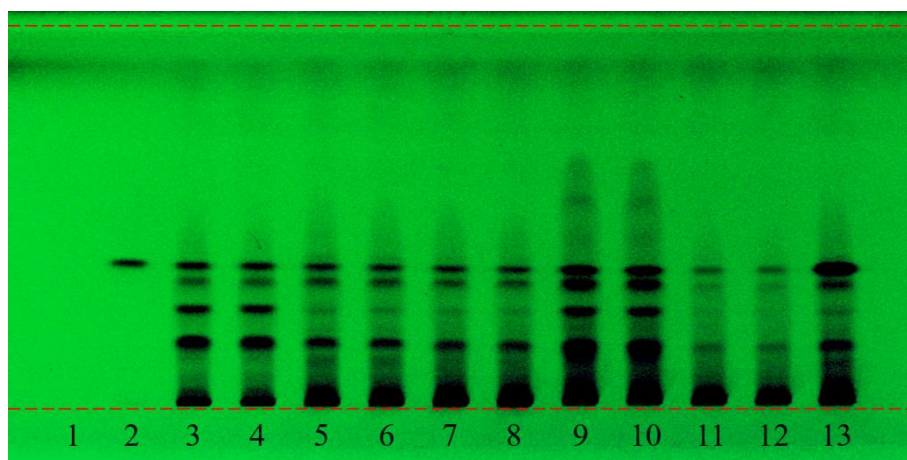


1	Blank	7, 8	檢品溶液 3 (CA)
2	柚皮苷(1.0 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 4 (CB)
3, 4	檢品溶液 1 (NF)	11, 12	檢品溶液 5 (CH)
5, 6	檢品溶液 2 (NO)	13	Spike (檢品溶液 7)

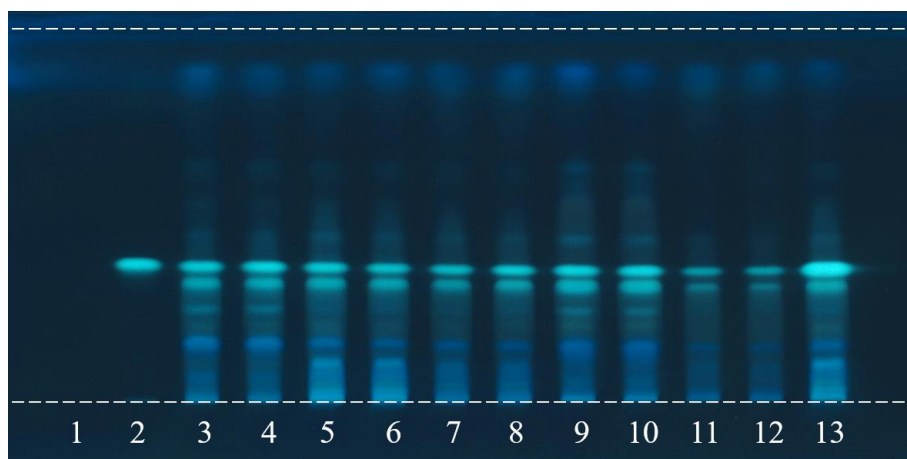
【展開劑 3】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：水 (100：17：13)

【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC

(1) 紫外光(254 nm)檢出



(2) 5%三氯化鋁試液顯色紫外光(365 nm)檢出



1	Blank	7, 8	檢品溶液 8 (SK2)
2	柚皮苷(1.0 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 9 (SUA)
3, 4	檢品溶液 6 (SAB)	11, 12	檢品溶液 10 (SUD)
5, 6	檢品溶液 7 (SGA)	13	Spike (檢品溶液 7)

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 3】分離與檢出柚皮苷較佳，於紫外光(254nm)下檢視或以 5%三氯化鋁試液顯色後於紫外光(365 nm)下檢視較佳。