

連翹

(FORSYTHIAE FRUCTUS)

連翹 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
連翹 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
連翹 TLC（藥材）	28
一、方法	28
二、萃法選擇及濃度測試	30
三、溶媒系統選擇	31
四、觀察方式選擇	33
五、十批連翹(老翹)藥材樣品檢測	34
六、十批連翹(青翹)藥材樣品檢測	36

連翹 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連翹的乾燥果實。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：連翹

生藥名：FORSYTHIAE FRUCTUS

英文名：Forsythia Fruit

基原：本品為木犀科 Oleaceae 植物連翹 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl 之乾燥果實。

採收加工：秋季 7~9 月果實初熟尚帶綠色時採收，除去雜質，蒸熟或煮熟，曬乾，為「青翹」；10~11 月果實熟透變黃，果殼裂開時採收，除去雜質，曬乾，為「老翹」。

藥材性狀：本品呈長卵形至卵形，長 1.5~2.5 cm，直徑 0.5~1.3 cm。「青翹」多不開裂。表面綠褐色，有不規則的縱皺紋及凸起的灰白色小斑點，兩面各有 1 條明顯的縱溝。頂端銳尖，基部有小果梗或已脫落。質硬。種子多數，表面黃綠色，細長，一側有翅。氣微香，味苦。「老翹」自頂端裂開或裂成兩瓣，表面黃棕色或紅棕色，有不規則的縱皺紋及凸起的灰白色小斑點，兩瓣表面各有 1 條明顯的縱溝。內表面多為淺黃棕色，平滑，具一縱膈。頂端銳尖，基部有小果梗或已脫落。質脆。種子棕色，多已脫落。氣微香，味苦。

生長分佈：落葉灌木。喜陽光；喜溫暖、濕潤氣候，也很耐寒；適應性強，耐乾旱瘠薄，怕澇。在中性、微酸或鹼性土壤，腐殖土及砂質礫土土壤中均能正常生長。花期 3~4 月，果期 7~9 月。藥材主產於山西省中南部、河南省西部和北部、河北省南部、陝西省秦嶺和晉陝黃土高原區域等地。

三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2)

1. 外果皮為 1 層表皮細胞，外壁及側壁增厚，被角質層。
2. 中果皮寬廣，由十數列薄壁細胞組成，其中散有維管束。
3. 內果皮為多列纖維夾雜石細胞，以及最內層為一系列細小扁平的薄壁細胞。石細胞長條形、類圓形、類多角形、圓三角形或類方形，壁厚薄不一，多切向排列成鑲嵌狀，並延伸至縱膈壁。

四、藥材粉末顯微鑑別（圖3）

1. 本品粉末淡黃棕色。
2. 外果皮細胞斷面觀類長方形，直徑 24~50 μm ，外壁角質增厚，厚 8~17 μm ，側壁亦增厚，有的作半球狀；表面觀類方形或類多角形，垂周壁厚，稍彎曲，外平周壁表面現不規則或網狀角質紋理，有些含有棕色物質。
3. 中果皮薄壁細胞棕黃色，呈圓多角形或較不規則，壁厚。
4. 纖維多成束，有的上下層縱橫交錯。短梭形或不規則形，邊緣不整齊或有凹凸，長 110~234 μm ，直徑 13~32 μm ，壁厚 5~10 μm ，木質化，紋孔較少，孔溝細，
5. 石細胞長條形、類圓形、類多角形、圓三角形或類方形，短徑 13~46 μm ，長徑 20~120 μm ，壁厚 3~20 μm ，有的壁一邊較薄，紋孔疏密不一，孔溝隱約可見。
6. 導管多為螺紋導管，直徑 10~17 μm 。



圖 1 連翹藥材圖

a.青翹 b.老翹 (1.種子 2.完全裂開之果實)

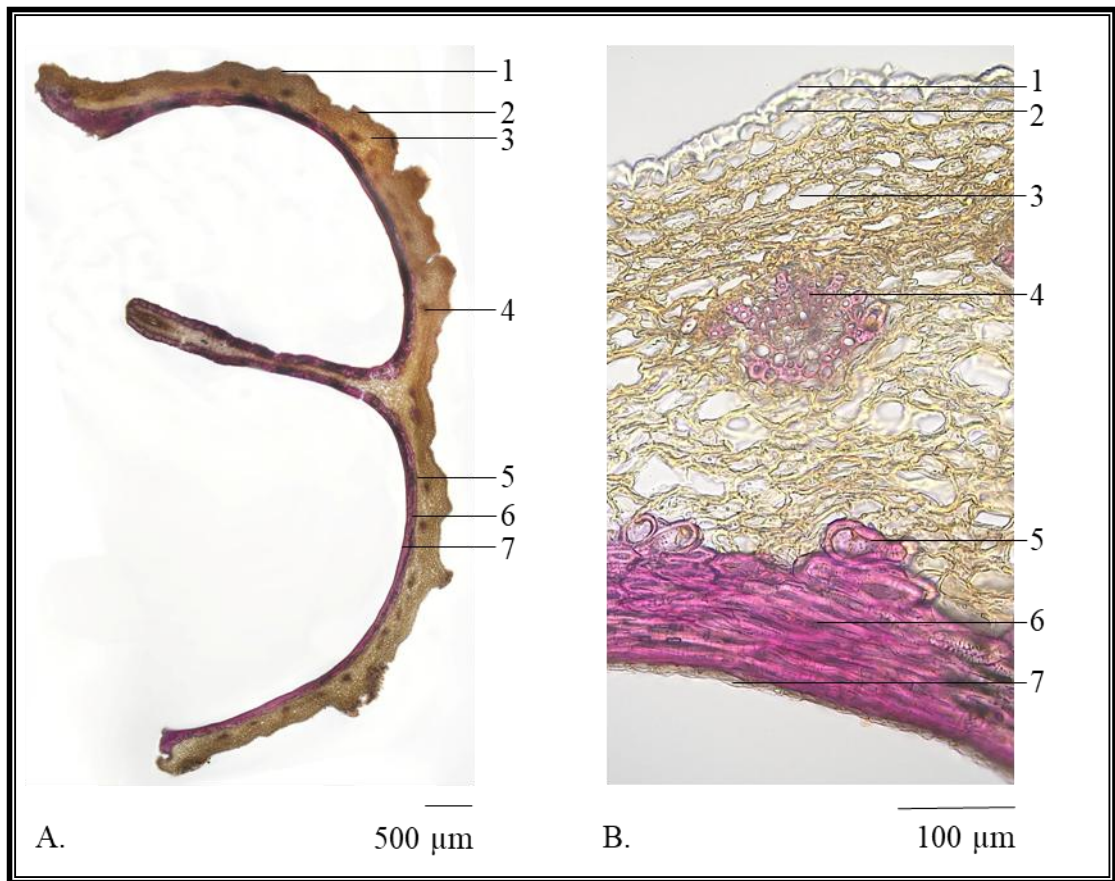


圖 2 連翹橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖

- 1.角質層 2.外果皮 3.中果皮 4.維管束 5.石細胞 6.纖維束
7.內果皮薄壁細胞

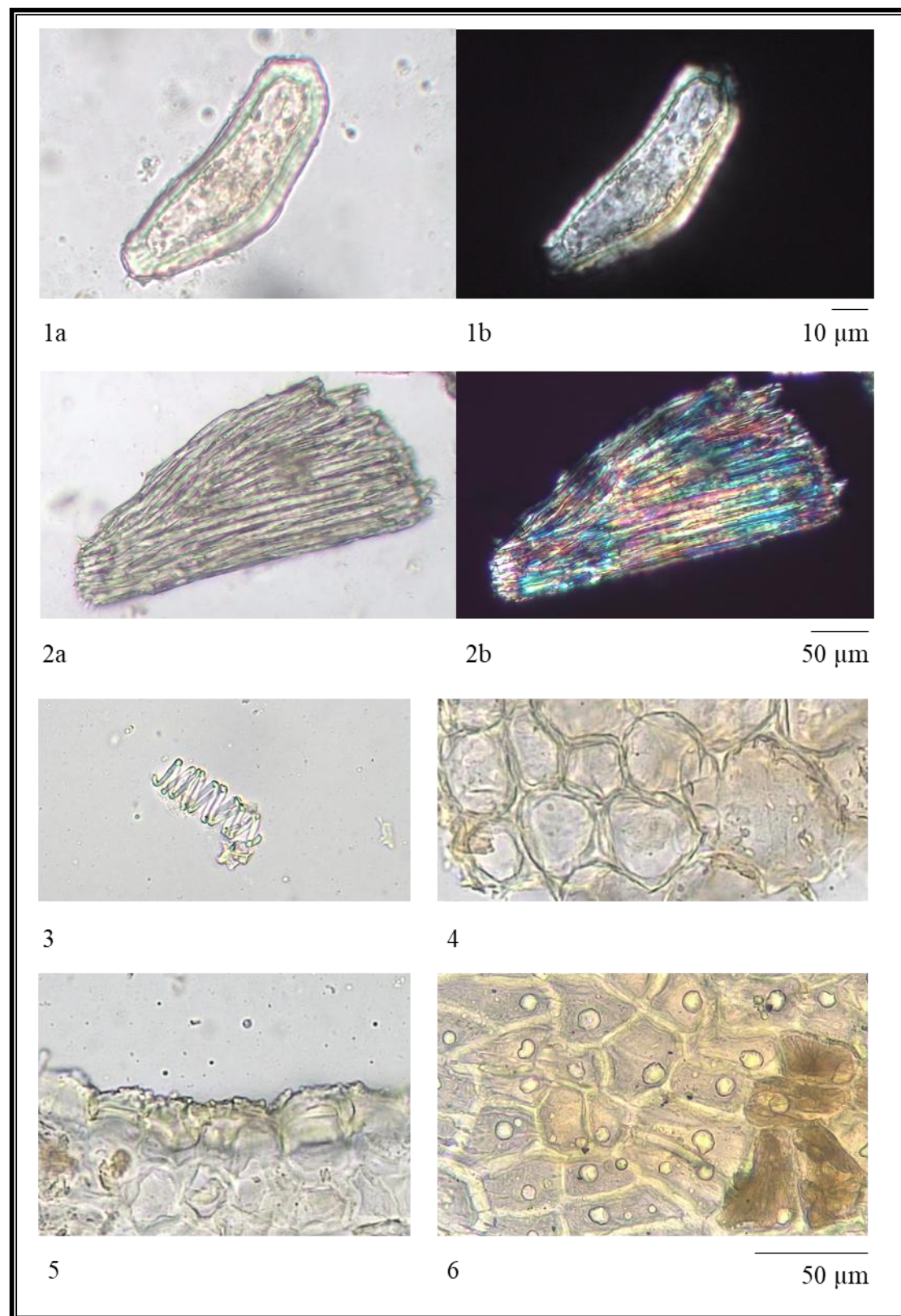


圖 3 連翹粉末顯微特徵圖

a. 光學顯微鏡下特徵 b. 偏光顯微鏡下特徵

1. 石細胞 2. 纖維 3. 螺旋導管 4. 中果皮細胞 5. 外果皮細胞(側面觀)

6. 外果皮(表面觀)

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。311~312 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。台北市：行政院衛生署中醫藥委員。89~90 頁。
3. 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。79~88 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。177~178 頁。
5. 肖培根(主編)(2002)。新編中藥志第二卷。北京：化學工業出版社。280~288 頁。
6. 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。444~445 頁。
7. 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。312 頁。
8. 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。346~347 頁。
9. 張繼(主編)(2021)。中國中藥材及飲片真偽鑑別圖典第三冊。廣東科技出版社。135~137 頁。
10. 王滿恩、趙昌(主編)(2019)。飲片驗收經驗。山西科學技術出版社。291~292 頁。
11. 屠鵬飛(主編)(2020)。新編中國藥材學第三卷。中國醫藥科技出版社。116~119 頁。
12. 徐國鈞、徐珞珊(主編)(1994)。常用中藥材品種整理和質量研究第一冊。福建科學技術出版社。722~742 頁。

連翹(FORSYTHIAE FRUCTUS)

一、材料

購置於臺灣各地中藥店連翹藥材共 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 Shim-pack GIST 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)購置於永定科技有限公司；磷酸(85%)購置於友和貿易股份有限公司。

(二) 對照標準品

連翹酯苷 A (Forsythoside A)及連翹苷(Phillyrin)購置於普思生物科技公司，純度皆 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 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 4000 × 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, PTFE 0.45 μm)，即得。每針 10 μL 注入 HPLC，以所測得每克重量之連翹酯苷 A 及連翹苷最大波峰面積為最佳連翹藥材萃取溶媒。

(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 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 4000 × g)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 10 mL 之

容量瓶中，加 75% 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，直到連翹酯苷 A 及連翹苷被萃取完全，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連翹酯苷 A 4.0 mg，加 10 mL 的甲醇製成每 1 mL 含連翹酯苷 A 400 μg 的對照標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至連翹酯苷 A 40 $\mu\text{g/mL}$ 製成對照標準品溶液。
2. 準確稱取對照標準品連翹苷 1.0 mg，加 1.0 mL 的甲醇製成每 1 mL 含連翹苷 1000 μg 的對照標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至連翹苷 9.0 $\mu\text{g/mL}$ 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 0.25 g，置 50 mL 離心管中，準確加入 75% 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 4000 $\times g$)，以 No.1 濾紙過濾，殘渣部分重複提取 1 次，合併濾液，移入 25 mL 之容量瓶中，加 75% 甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 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連翹的含量，即得。

(六) 檢量線

1. 準確吸取連翹酯苷 A 對照標準品儲備溶液適量(400 $\mu\text{g/mL}$)，以甲醇稀釋成含連翹酯苷 A 分別為 200、100、40、20、10 $\mu\text{g/mL}$ 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. 準確吸取連翹苷對照標準品儲備溶液適量(1000 $\mu\text{g/mL}$)，以甲醇稀釋成含連翹酯苷 A 分別為 50、30、9.0、3.0、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. 以連翹酯苷 A 為 40 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以連翹酯苷 A 的波峰面積為指標，求出相對標準差。

2. 以連翹苷為 9.0 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以連翹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：取同一批市售連翹藥材粉末，依連翹藥材檢品溶液製備方法平行製備 5 份連翹藥材檢品溶液，進樣測定，以連翹酯苷 A 及連翹苷的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售連翹藥材粉末，依連翹藥材檢品溶液製備方法製備連翹藥材檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，以連翹酯苷 A 及連翹苷的含量(%)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

1. 取已知連翹酯苷 A 含量的連翹藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.25 g，分別加入連翹酯苷 A 1.5 mg，並按檢品溶液製備方法操作測定。
2. 取已知連翹苷含量的連翹藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.25 g，分別加入連翹苷 0.2 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：Shim-pack GIST C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 µm)
2. 檢測波長：UV 277 nm
3. 流速：0.8 mL/min
4. 管柱溫度：30 °C
5. 注入量：10 µL
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	40	60
12	40	60
30	70	30

(十二) 臺灣市售連翹藥材含量測定

取 10 批市售連翹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 公式計算樣品連翹酯苷 A 及連翹苷的百分比含量。

(十三) 連翹檢品之 UPLC 分析條件

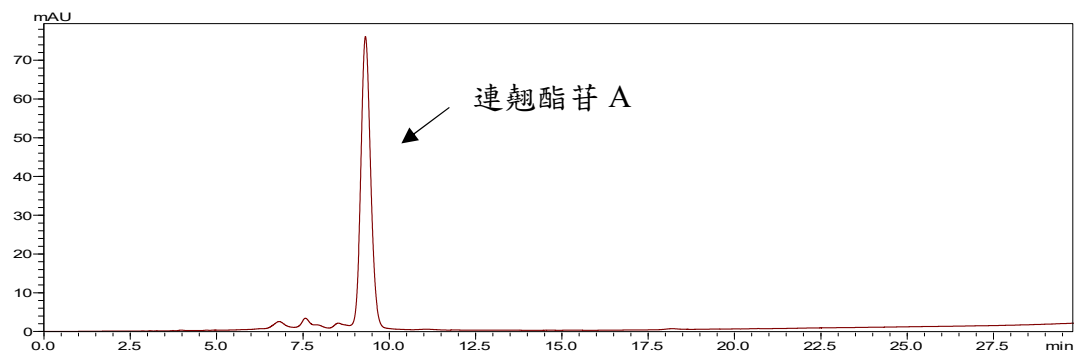
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μ m)
2. 檢測波長：UV 277 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μ L
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	40	60
3	40	60
8	70	30

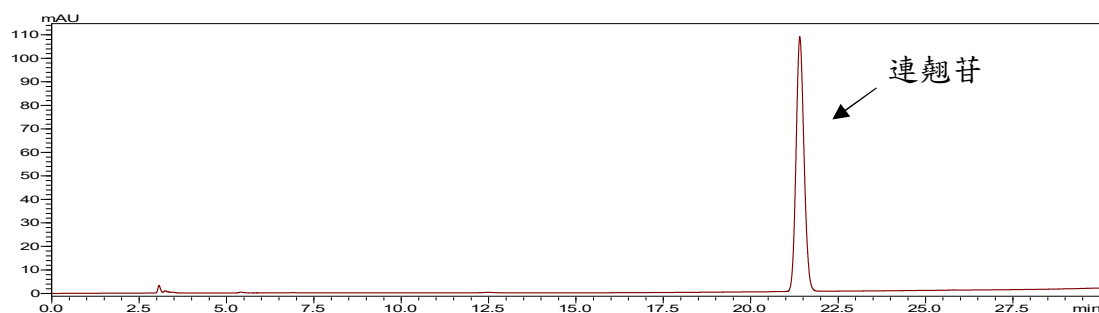
五、結果

(一) 對照標準品連翹酯苷 A 及連翹苷之 HPLC 層析

於滯留時間 9.3 分鐘處顯示連翹酯苷 A 對照標準品波峰(圖一)，於滯留時間 21.4 分鐘處顯示連翹苷對照標準品波峰(圖二)。



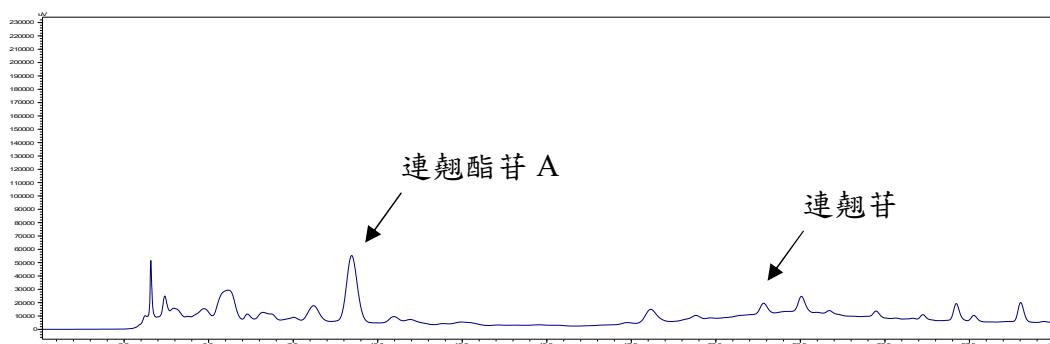
圖一、連翹酯苷 A 對照標準品溶液之 HPLC 層析圖



圖二、連翹苷對照標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售連翹藥材檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 9.3、21.4 分鐘處顯示連翹藥材檢品中連翹酯苷 A 及連翹苷波峰(圖三)。連翹酯苷 A 分離率(R)為 1.7，拖尾因子(T)為 1.1；連翹苷分離率(R)為 4.5，拖尾因子(T)為 1.1，均在系統適用性要求內。



圖三、市售連翹藥材檢品之 HPLC 層析

表一、連翹酯苷 A 及連翹苷之分離率與拖尾因子

	連翹酯苷 A	連翹苷
分離率	1.7	4.5
拖尾因子	1.1	1.1

(三) 最佳萃取溶媒評估

以 75% 甲醇溶液為溶媒時，每克藥材重量所得連翹酯苷 A 及連翹苷的波峰面積最大，顯示 75% 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	連翹酯苷 A 波峰面積	連翹苷波峰面積	最佳萃取
甲醇	481263	90766	
75% 甲醇	1192637	140885	√
50% 甲醇	752249	95185	
乙醇	84565	14779	
75% 乙醇	314497	124107	
50% 乙醇	744192	78057	

(四) 最佳萃取次數評估

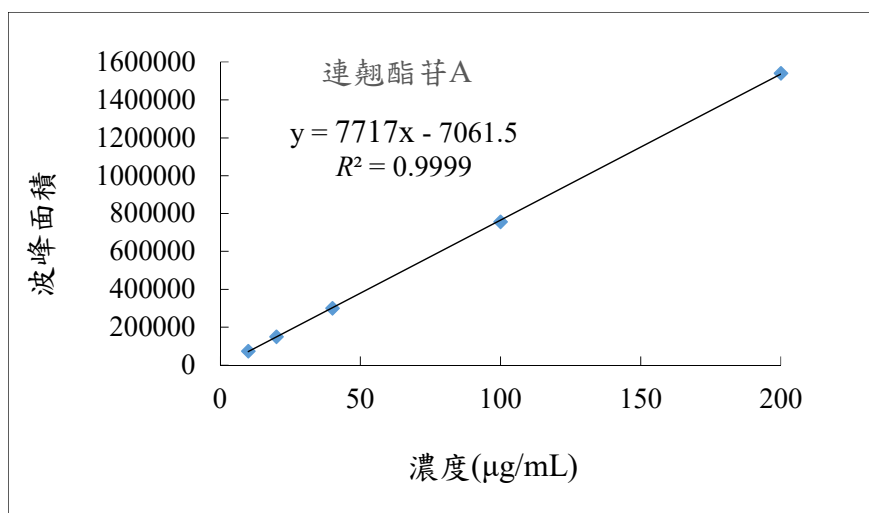
結果顯示萃取 2 次基本上已將連翹酯苷 A 及連翹苷萃取完全(萃取率大於 98%)(表三)。

表三、連翹藥材檢品萃取次數評估

75% 甲醇	連翹酯苷 A 波峰面積	連翹苷波峰面積
第 1 次	1172981	137280
第 2 次	139654	20971
第 3 次	17643	2294
第 4 次	N.D.	N.D.

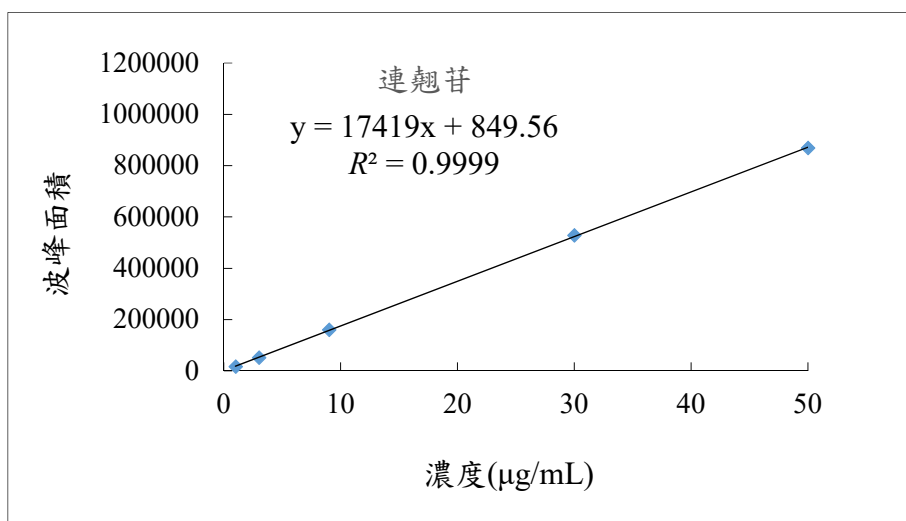
(五) 對照標準品連翹酯苷 A 及連翹苷檢量線

1. 經不同濃度連翹酯苷 A (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分別為 $y = 7717x - 7061.5$ ， $R^2 = 0.9999$ ，顯示濃度在 10–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖四)。



圖四、連翹酯苷 A 之檢量線圖

2. 經不同濃度連翹苷(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 $y = 17419x + 849.56$ ， $R^2 = 0.9999$ ，顯示濃度在 1.0–50 µg/mL 有良好的線性關係(圖五)。



圖五、連翹苷之檢量線圖

表四、連翹酯苷 A 及連翹苷之檢量線方程式

對照標準品	濃度(µg/mL)	線性回歸方程式	R^2
連翹酯苷 A	10–200	$y = 7717x - 7061.5$	0.9999
連翹苷	1.0–50	$y = 17419x + 849.56$	0.9999

(六) 精密度試驗

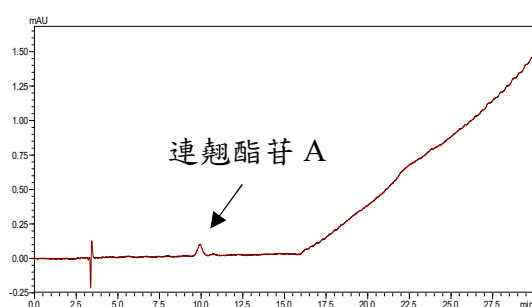
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，連翹酯苷 A 及連翹苷精密度之相對標準差分別為 0.07%與 0.50%，均在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

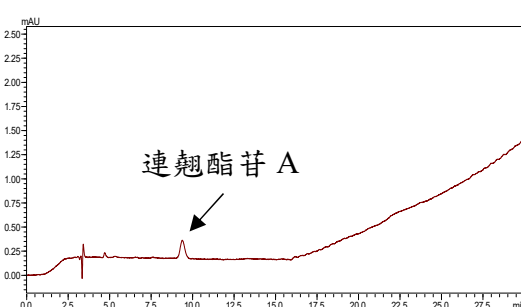
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，連翹酯苷 A 及連翹苷重複性之相對標準差分別為 0.38% 及 0.44%，均在系統適用性要求內。連翹酯苷 A 及連翹苷在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差分別為 0.53% 及 0.52%，變化差異小，若所有樣品分析都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

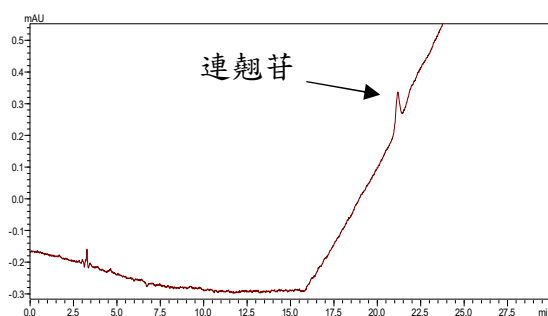
連翹酯苷 A 之偵測極限為 0.2 $\mu\text{g/mL}$ (圖六)和定量極限為 0.5 $\mu\text{g/mL}$ (圖七);連翹苷之偵測極限為 0.08 $\mu\text{g/mL}$ (圖八)和定量極限為 0.2 $\mu\text{g/mL}$ (圖九)。



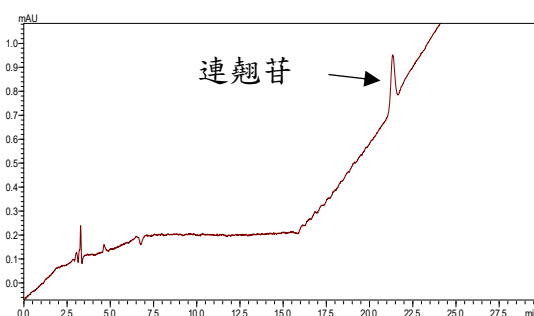
圖六、連翹酯苷 A 之偵測極限層析圖



圖七、連翹酯苷 A 定量極限層析圖



圖八、連翹苷之偵測極限層析圖



圖九、連翹苷之定量極限層析圖

表五、各項檢驗分析

檢測項目	連翹酯苷 A		連翹苷	
	濃度	R.S.D(%)	濃度	R.S.D(%)
精密度(n=5)	40 $\mu\text{g/mL}$	0.07	9.0 $\mu\text{g/mL}$	0.50
再現性(n=5)	檢品溶液(SK2)	0.38	檢品溶液(SK2)	0.44
穩定性(n=5)	檢品溶液(SK2)	0.53	檢品溶液(SK2)	0.52
偵測極限(n=1)	0.2 $\mu\text{g/mL}$	-	0.08 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限(n=1)	0.5 $\mu\text{g/mL}$	-	0.2 $\mu\text{g/mL}$	-

(九) 添加回收率試驗

連翹酯苷 A 平均添加回收率為 98.5%，相對標準偏差為 0.24% (表六)；
連翹苷平均添加回收率為 97.9%，相對標準偏差為 0.71% (表七)。

表六、連翹酯苷 A 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	0.2507	1.1149	1.5	2.5918	98.46	98.5	0.24
2	0.2507	1.1149	1.5	2.5904	98.37		
3	0.2507	1.1149	1.5	2.5941	98.61		
4	0.2508	1.1153	1.5	2.5888	98.23		
5	0.2508	1.1153	1.5	2.5980	98.84		

表七、連翹苷添加回收率

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	0.2507	0.0773	0.2	0.2739	98.32	97.9	0.71
2	0.2507	0.0753	0.2	0.2715	98.10		
3	0.2507	0.0753	0.2	0.2711	97.94		
4	0.2508	0.0753	0.2	0.2687	96.71		
5	0.2508	0.0753	0.2	0.2721	98.42		

(十) 臺灣市售連翹藥材含量測定

10 批老翹藥材之含量測定結果(乾燥品)如表八所示，連翹苷及連翹酯苷 A 的含量分別為 0.024–0.062%與 0.532–0.786%，建議老翹藥材指標成分連翹苷及連翹酯苷 A 的含量分別不得少於 0.03%與 0.25%。理論板數按連翹苷波峰計算應不低於 8000 (實際值為 34177)；10 批青翹藥材之含量測定結果(乾燥品)如表九所示，連翹苷及連翹酯苷 A 的含量分別為 0.202–0.497%與 4.481–15.448%，建議青翹藥材指標成分連翹苷及連翹酯苷 A 的含量分別不得少於 0.3%與 2.0%。理論板數按連翹苷波峰計算應不低於 8000 (實際值為 41268)。

表八、臺灣市售老翹藥材檢品之連翹苷及連翹酯苷 A 的含量

藥材編號 (No.)	連翹酯苷 A 含量 (%)	連翹苷含量 (%)
1 (NC)	0.542	0.027
2 (NF)	0.778	0.057
3 (NR1)	0.594	0.062
4 (NWB)	0.651	0.030
5 (CH)	0.574	0.032
6 (SC-A)	0.794	0.047
7 (SC-B)	0.532	0.024
8 (SK2)	0.661	0.036
9 (SK4)	0.786	0.058
10 (SU1-E)	0.609	0.033
平均值±S.D	0.652±0.10	0.041±0.01

表九、臺灣市售青翹藥材檢品之連翹苷及連翹酯苷 A 的含量

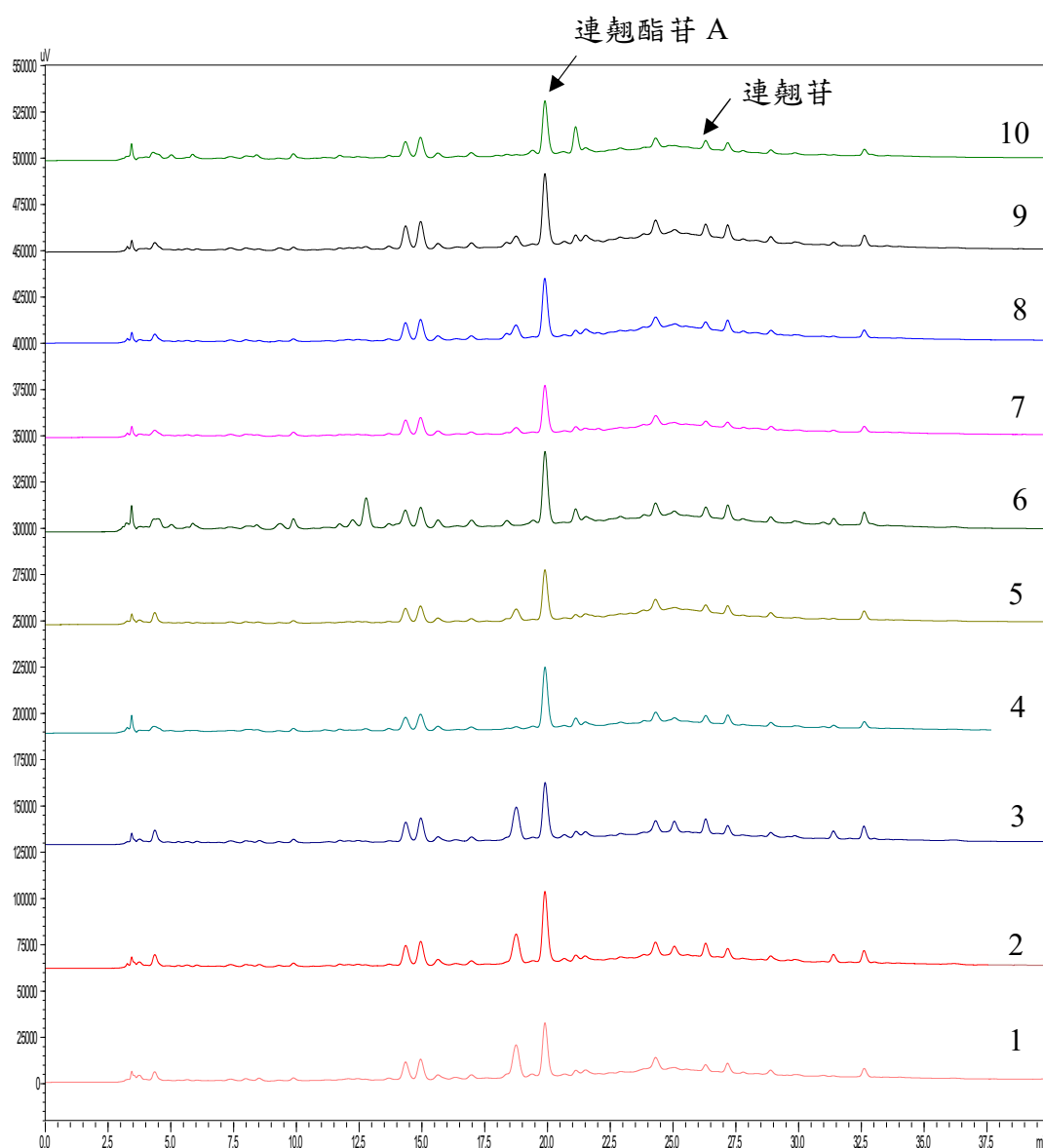
藥材編號 (No.)	連翹酯苷 A 含量 (%)	連翹苷含量 (%)
1 (NC)	11.111	0.477
2 (NO)	4.481	0.202
3 (NQ)	11.044	0.497
4 (NR2)	10.300	0.212
5 (NX)	10.776	0.337
6 (CA)	15.448	0.434
7 (CB)	12.712	0.390
8 (CE)	12.299	0.476
9 (CH)	9.940	0.404
10 (SUB)	6.866	0.285
平均值±S.D	10.498±3.04	0.371±0.11

(十一) 連翹藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售連翹藥材檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：Shim-pack GIST C18, Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 277 nm
3. 流速：0.8 mL/min
4. 管柱溫度：30 $^{\circ}$ C
5. 注入量：10 μ L
6. 移動相：

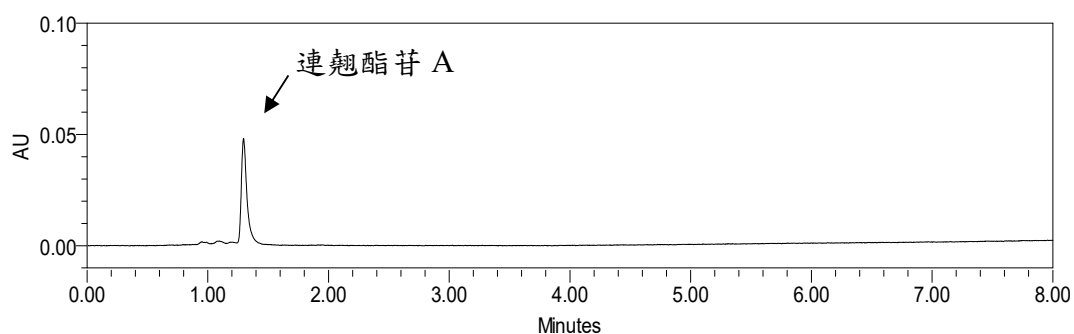
時間(min)	甲醇(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	25	75
15	40	60
30	65	35
40	65	35



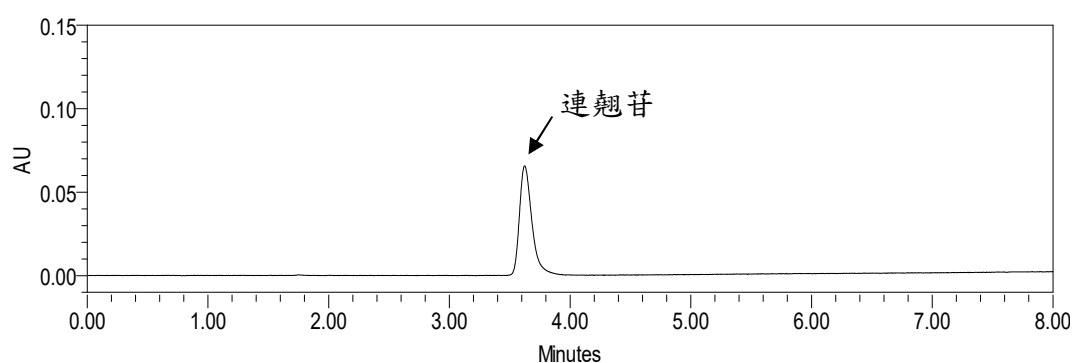
圖十、10 批連翹藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 對照標準品連翹酯苷 A 及連翹苷之 UPLC 層析

於滯留時間 1.29 分鐘處顯示連翹酯苷 A 對照標準品波峰(圖十一)
，於滯留時間 3.62 分鐘處顯示連翹苷對照標準品波峰(圖十二)。



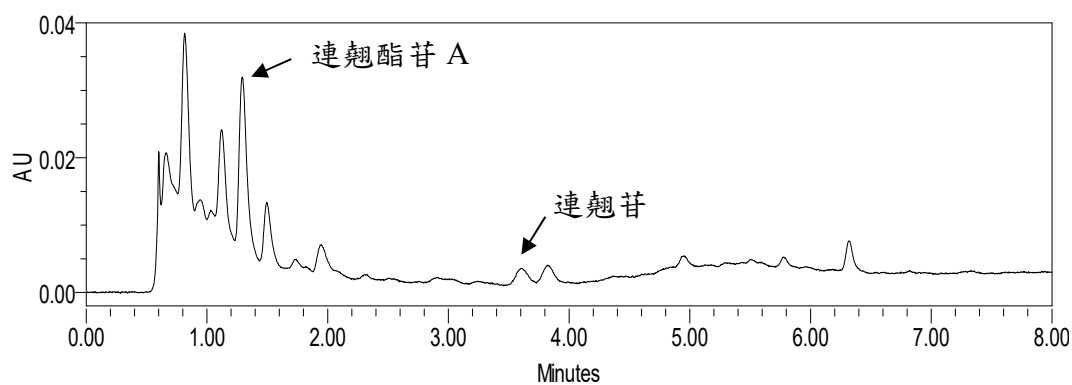
圖十一、連翹酯苷 A 對照標準品溶液之 UPLC 層析圖



圖十二、連翹苷對照標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售連翹藥材檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 1.29 與 3.60 分鐘處分別顯示連翹藥材檢品中連翹酯苷 A
及連翹苷波峰(圖十三)。

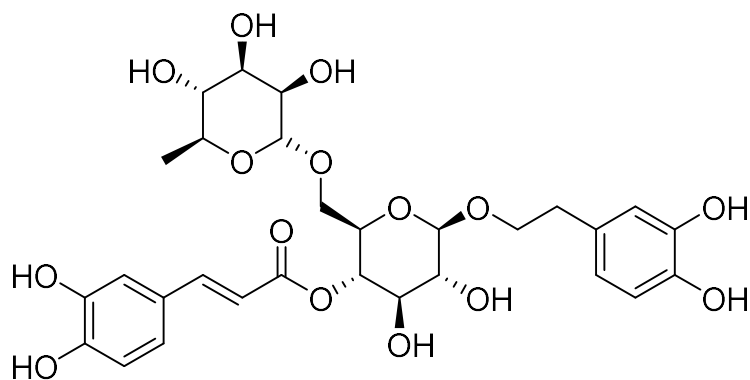


圖十三、市售連翹藥材檢品之 UPLC 層析圖

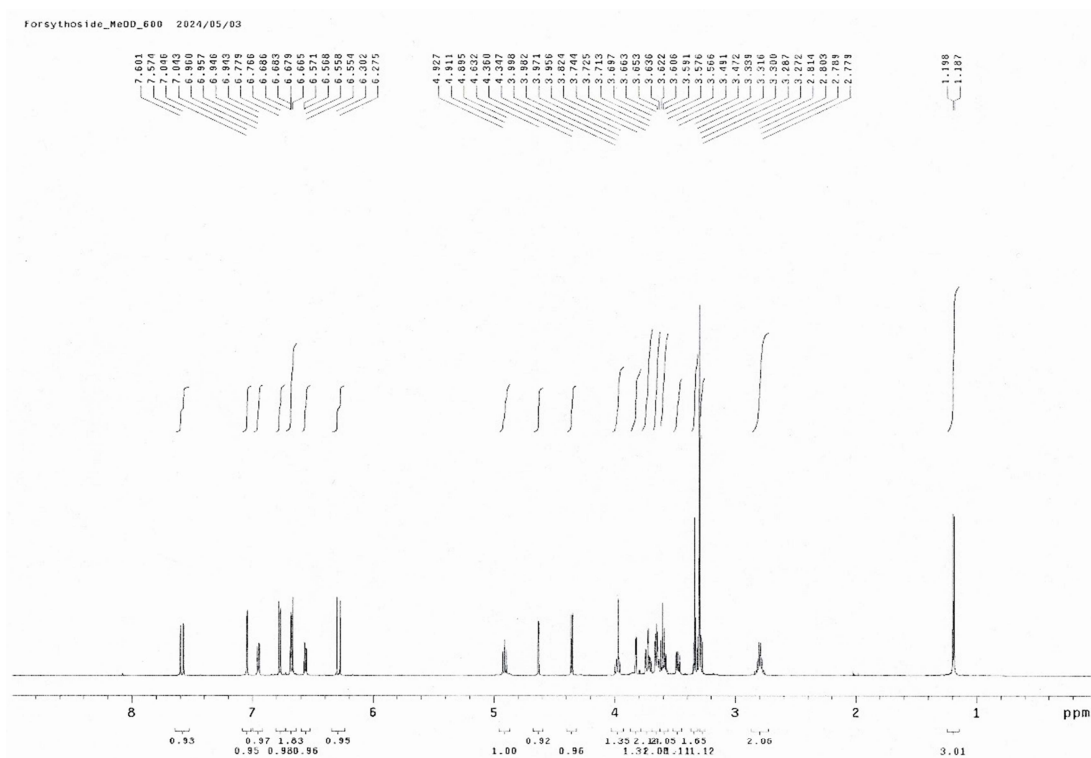
(十四) 連翹酯苷 A 的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{29}H_{36}O_{15}$ ；分子量：624.6；熔點：127 °C；白色結晶固體。

(十五) 連翹酯苷 A 的結構

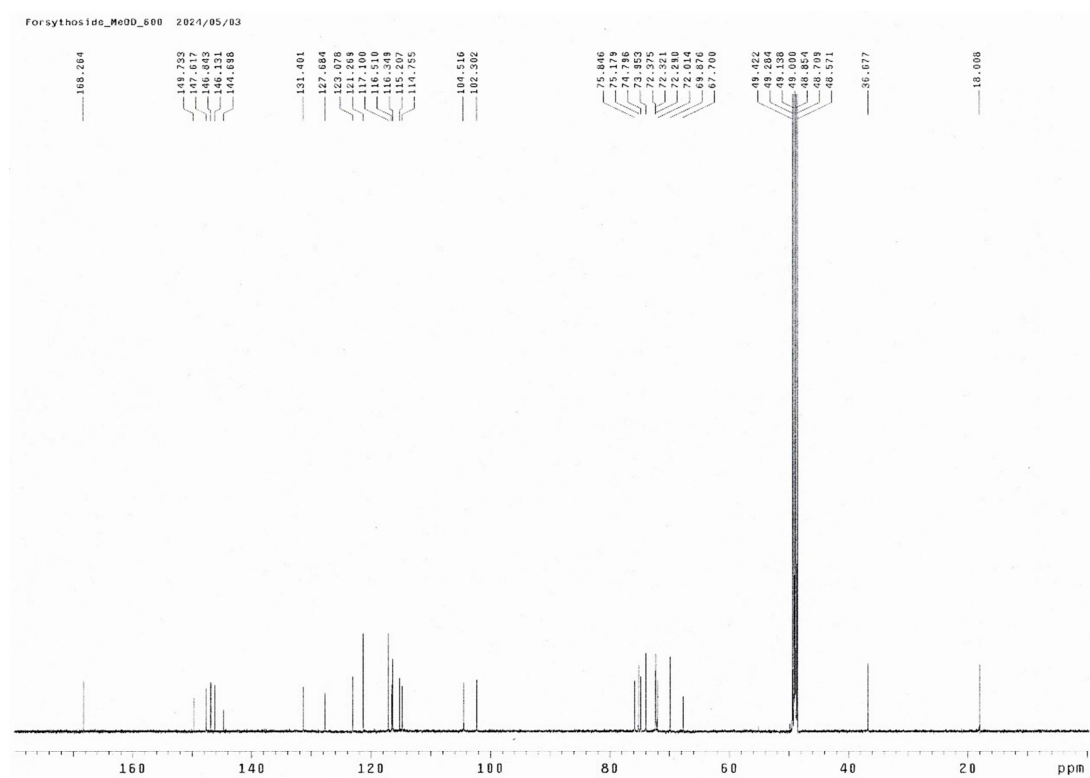


(十六) 連翹酯苷 A 的 1H NMR 圖譜



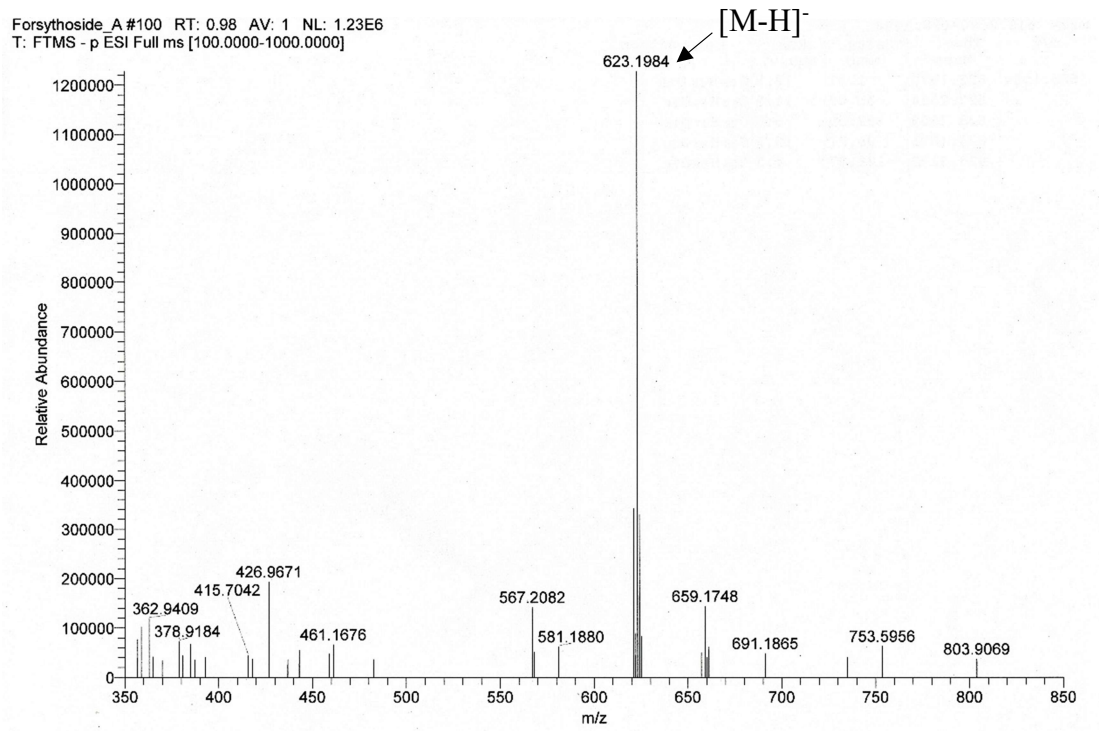
圖十四、連翹酯苷 A 的 1H NMR 圖譜(CD_3OD)

(十七) 連翹酯苷 A 的 ^{13}C NMR 圖譜



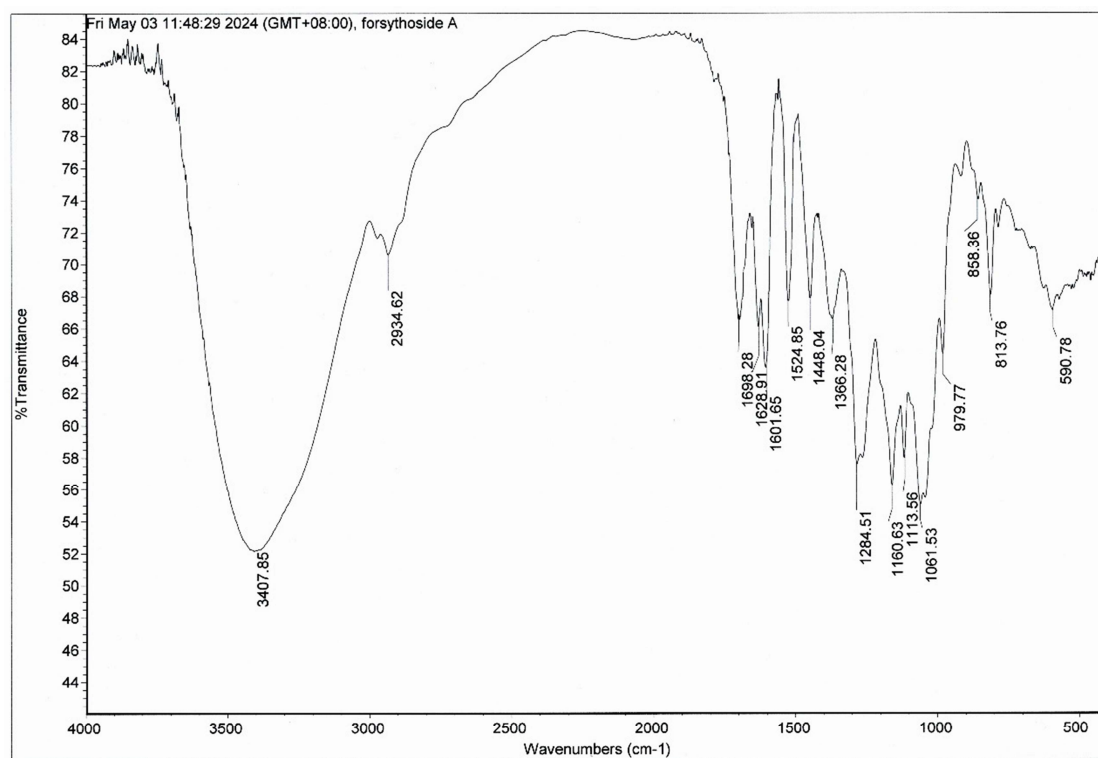
圖十五、連翹酯苷 A 的 ^{13}C NMR 圖譜(CD_3OD)

(十八) 連翹酯苷 A 的 ESI-MS 圖譜



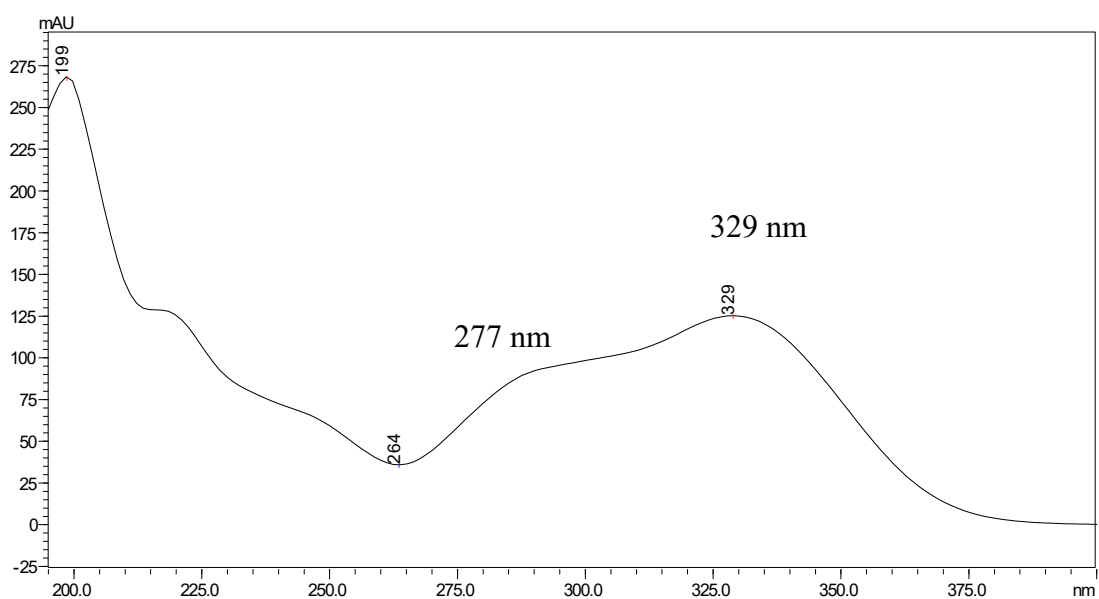
圖十六、連翹酯苷 A 的 ESI-MS 圖譜

(十九) 連翹酯苷 A 的 FTIR 圖譜



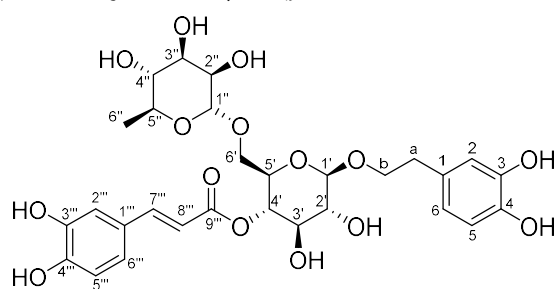
圖十七、連翹酯苷 A 的 FTIR 圖譜

(二十) 連翹酯苷 A 的 UV 圖譜



圖十八、連翹酯苷 A 的 UV 圖譜

(二十一) 連翹酯苷 A 的氫、碳化學位移



連翹酯苷 A

表十、連翹酯苷 A 的氫、碳化學位移(CD₃OD)

position	δ_H (600 MHz) ^a	δ_C (150 MHz)
1	-	131.4
2	6.68 (d, 1.8)	117.1
3	-	144.7
4	-	146.1
5	6.67 (d, 8.4)	116.3
6	6.56 (dd, 7.8, 1.8)	121.3
a	2.80 (m)	36.7
b	3.73 (m)	72.4
	3.98 (m)	
1'	4.35 (d, 7.8)	104.5
2'	3.28 (m)	75.2
3'	3.60 (m)	75.8
4'	4.91 (t, 9.6)	72.3
5'	3.65 (m)	74.8
6'a	3.74 (m)	67.7
6'b	3.48 (dd, 11.4, 6.0)	
1''	4.63 (d, 1.8)	102.3
2''	3.82 (dd, 3.6, 1.8)	72.0
3''	3.65 (m)	72.3
4''	3.33 (m)	74.0
5''	3.59 (m)	69.9
6''	1.19 (d, 6.6)	18.0
1'''	-	127.7
2'''	7.05 (d, 1.8)	115.2
3'''	-	146.8
4'''	-	149.7
5'''	6.77 (d, 7.8)	116.5
6'''	6.95 (dd, 8.4, 1.8)	123.1

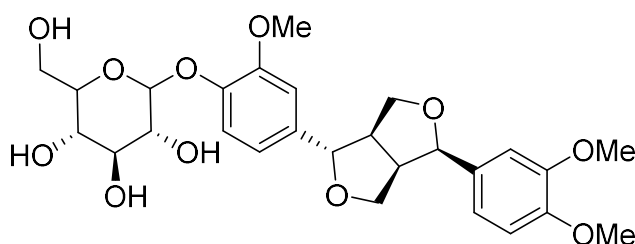
7'''	7.59 (d, 16.2)	147.6
8'''	6.29 (d, 16.2)	114.8
9'''	-	168.3

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

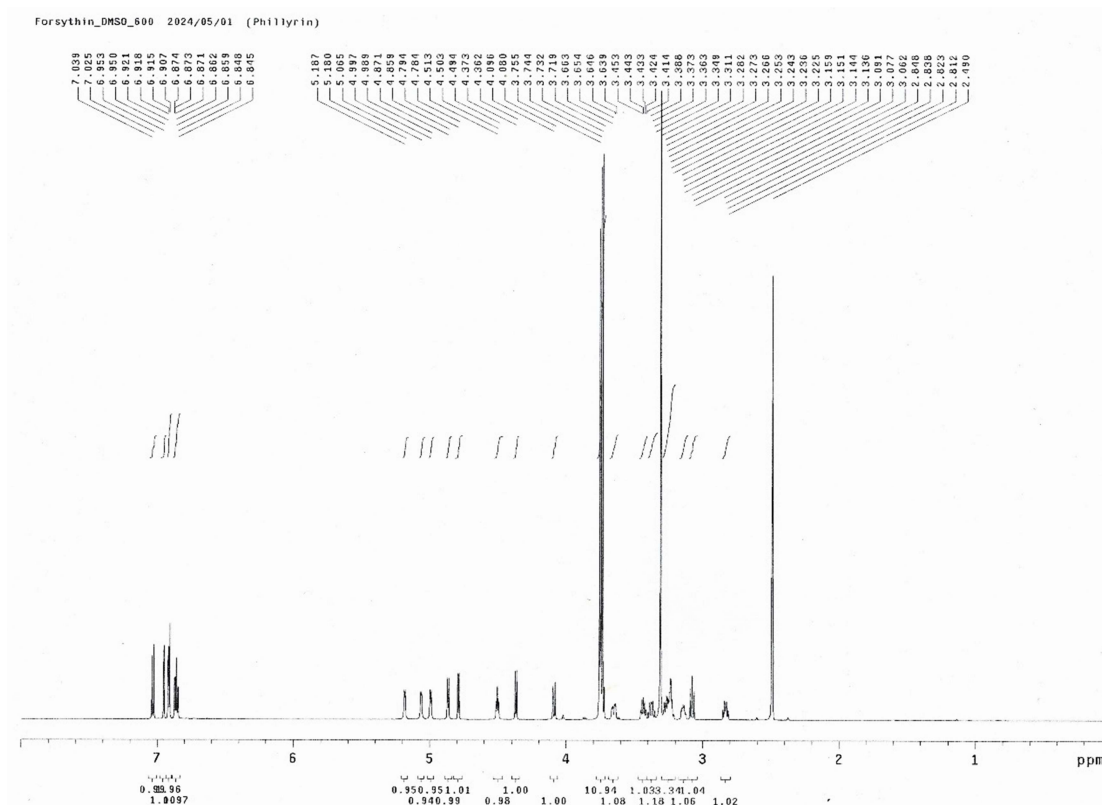
(二十二) 連翹苷的分子式、分子量與熔點

分子式：C₂₇H₃₄O₁₁；分子量：534.6；熔點：184–185 °C；白色結晶固體。

(二十三) 連翹苷的結構

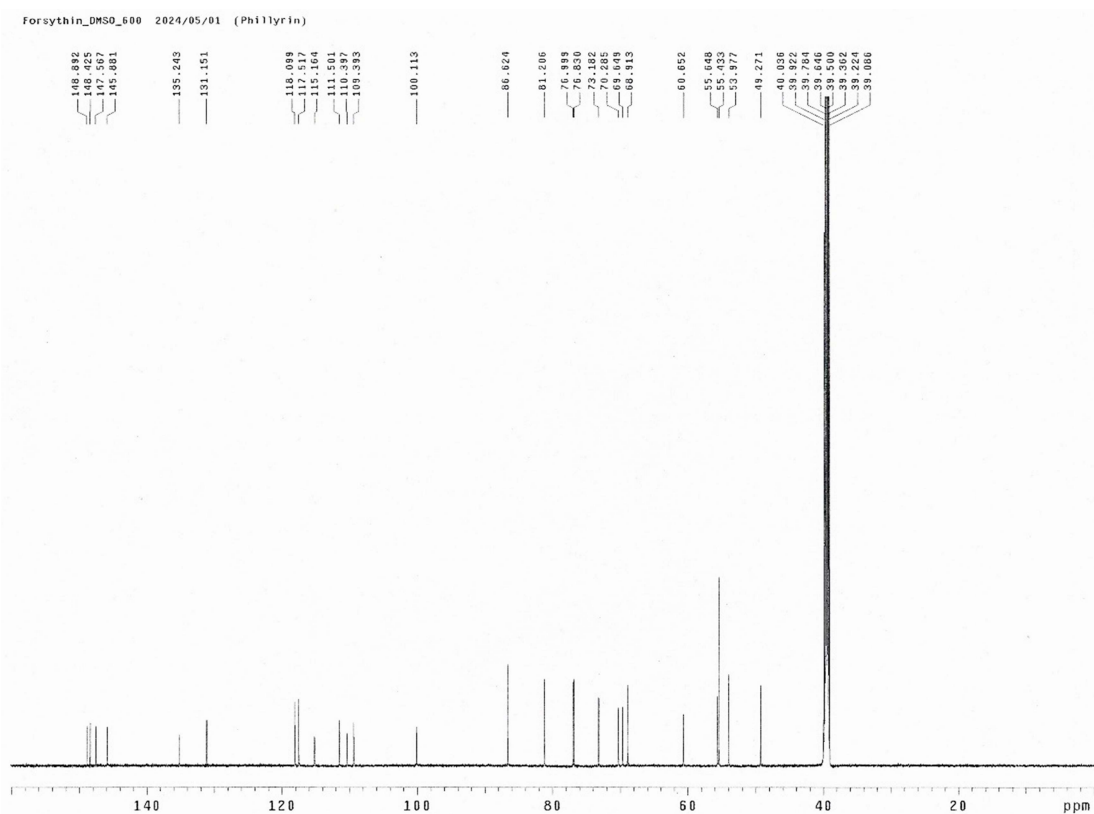


(二十四) 連翹苷的 ¹H NMR 圖譜



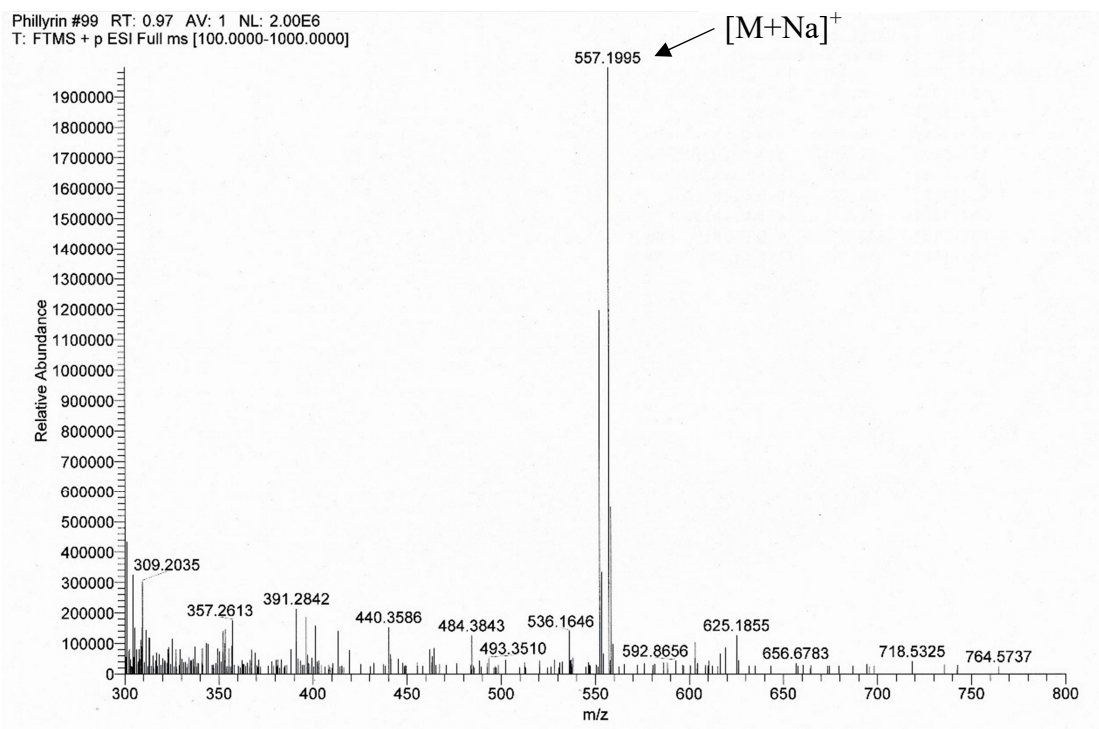
圖十九、連翹苷的 ¹H NMR 圖譜(DMSO-*d*₆)

(二十五) 連翹苷的 ^{13}C NMR 圖譜



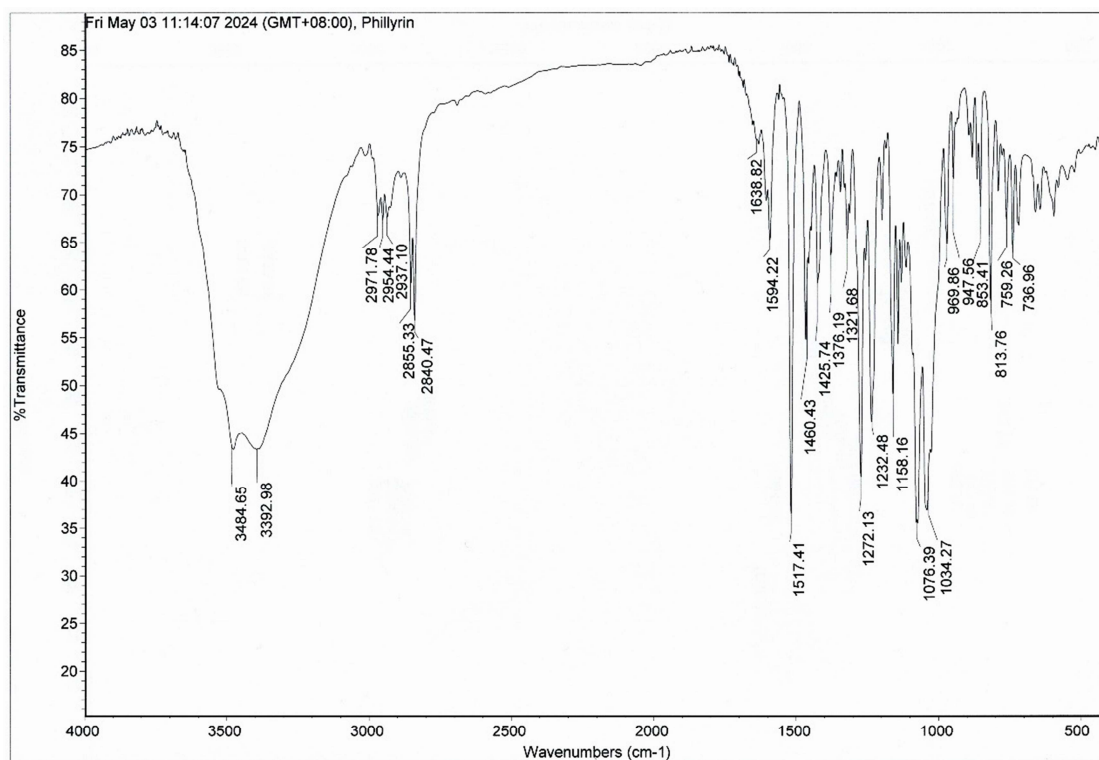
圖二十、連翹苷的 ^{13}C NMR 圖譜(DMSO- d_6)

(二十六) 連翹苷的 ESI-MS 圖譜



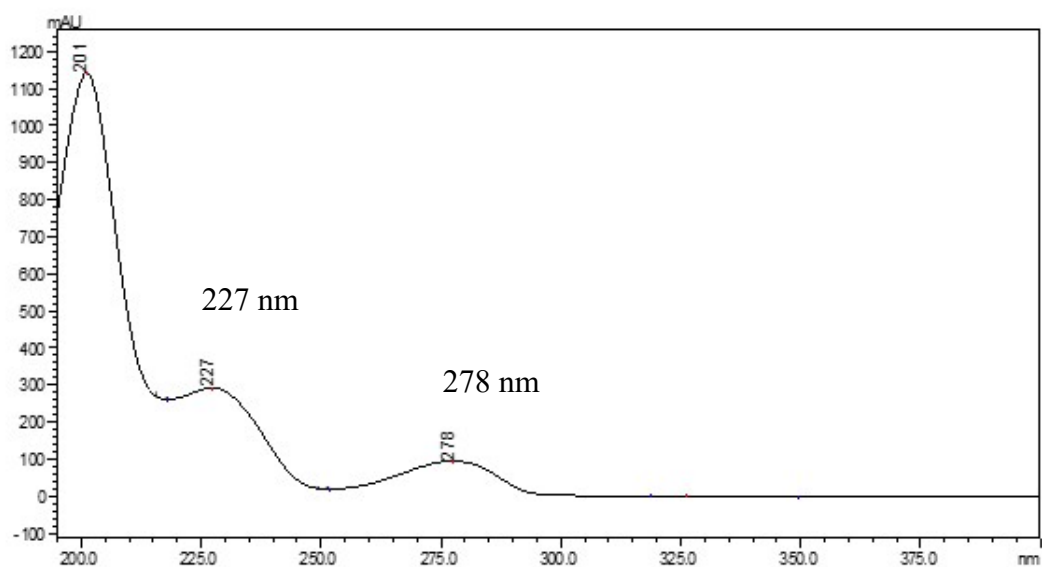
圖二十一、連翹苷的 ESI-MS 圖譜

(二十七) 連翹苷的 FTIR 圖譜



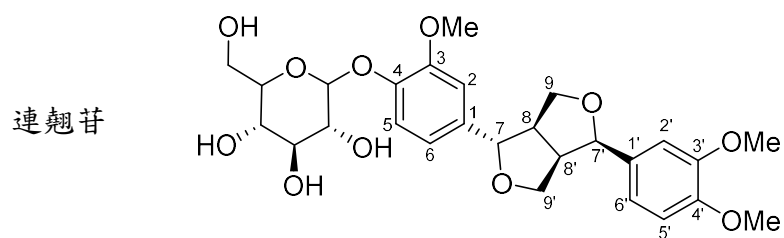
圖二十二、連翹苷的 FTIR 圖譜

(二十八) 連翹苷的 UV 圖譜



圖二十三、連翹苷的 UV 圖譜

(二十九) 連翹苷的氫、碳化學位移



表十一、連翹苷的氫、碳化學位移(DMSO- d_6)

position	δ_H (600 MHz) ^a	δ_C (150 MHz)
1	-	135.2
2	7.04–6.85 (m)	110.4
3	-	148.9
4	-	145.9
5	7.04–6.85 (m)	115.2
6	7.04–6.85 (m)	118.1
7	4.37 (d, 6.6)	86.6
8	2.83 (dd, 15.0, 6.6)	54.0
9a	4.09 (d, 9.6)	68.9
9b	3.67–3.06 (m)	
1'	-	131.2
2'	7.04–6.85 (m)	109.4
3'	-	148.4
4'	-	147.6
5'	7.04–6.85 (m)	111.5
6'	7.04–6.85 (m)	117.5
7'	4.79 (d, 6.0)	81.2
8'	3.67–3.06 (m)	49.3
9'a	3.67–3.06 (m)	69.6
9'b	3.67–3.06 (m)	
Glc 1	4.86 (d, 7.2)	100.1
Glc 2	3.67–3.06 (m)	73.2
Glc 3	3.67–3.06 (m)	76.8
Glc 4	3.67–3.06 (m)	70.3
Glc 5	3.67–3.06 (m)	77.0
Glc 6	3.67–3.06 (m)	60.7
3-OMe	3.76 (s)	55.6
3'-OMe	3.74 (s)	55.4
4'-OMe	3.73 (s)	55.4

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

連翹

生藥名：FORSYTHIAE FRUCTUS

英文名：Forsythia Fruit

基 原：本品為木犀科 Oleaceae 植物連翹 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl 之乾燥果實。果實初熟時採收者習稱青翹，熟透後採收者習稱老翹。

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，加甲醇 10 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 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℃)20 mL，超音波振盪 15 分鐘，過濾，濾液蒸乾，殘渣加乙醇 5 mL，作為檢品溶液。

【萃取方法 3】《香港中藥材標準第三冊》

——取本品粉末 3.0 g，加 50%乙醇 20 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，濾液蒸乾，殘渣加水 10 mL，用正己烷：乙酸乙酯 (1：1)振搖提取三次，每次 10 mL，棄上層溶液，水層用乙酸乙酯提取三次，每次 15 mL，合併乙酸乙酯提取液，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 取連翹酯苷 A (Forstythoside A)，連翹苷(Phillyrin)對照標準品，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》

——二氯甲烷：甲醇 (4：1)

【展開劑 2】修飾《中華人民共和國藥典 2020》

——環己烷：乙酸乙酯：甲酸 (15：10：0.25)

【展開劑 3】《香港中藥材標準第三冊》

——二氯甲烷：乙醇：無水乙酸 (8：1：0.5)

【展開劑 4】(自行開發)✓

——乙酸乙酯：甲酸：水 (10：1：1)

(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 以 10%硫酸乙醇試液($\text{H}_2\text{SO}_4/\text{EtOH TS}$)噴霧後，105 °C加熱至條帶顯色清晰，置於可見光下檢視。

二、萃法選擇及濃度測試

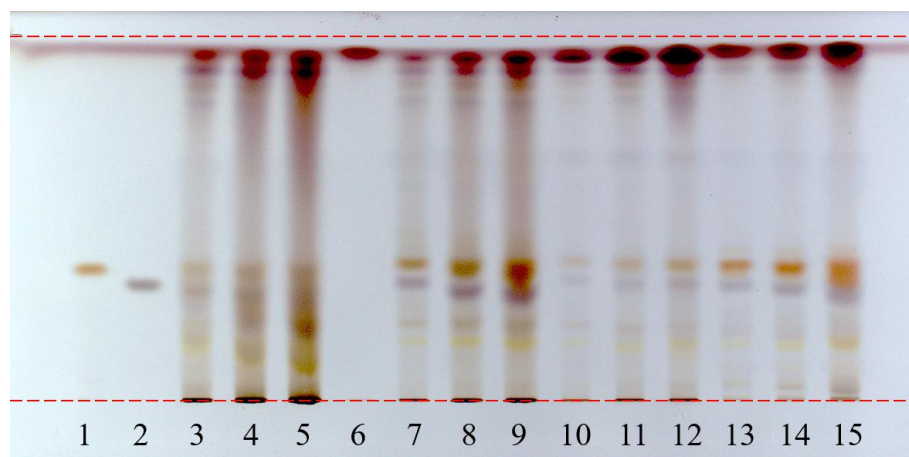
實驗日期：113/05/21

相對溼度(RH)：65%

溫度(RT)：23.7 °C

【展開劑 4】(自行開發)——乙酸乙酯：甲酸：水 (10：1：1)

——HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後可見光檢出



編號	名稱	點注量
1	連翹酯苷 A (1.0 mg/mL)	2 μ L
2	連翹苷(1.0 mg/mL)	2 μ L
3, 4, 5	檢品溶液 9【萃取方法 1】	2, 5, 8 μ L
6	檢品溶液 9【萃取方法 2】	8 μ L
7, 8, 9	檢品溶液 9【萃取方法 3】	2, 5, 8 μ L
10, 11, 12	檢品溶液 9【萃取方法 4】 老翹	2, 5, 8 μ L
13, 14, 15	檢品溶液 8【萃取方法 4】 青翹	1, 2, 5 μ L

建議萃法：四種萃取方法，檢品溶液中皆可分離與檢出連翹酯苷 A 及連翹苷，因萃取方法簡單，且濃度適中，故採用自行開發之【萃取方法 4】。

建議點注量：連翹酯苷 A 2 μ L，連翹苷 2 μ L，檢品溶液老翹【萃取方法 4】8 μ L，檢品溶液青翹【萃取方法 4】2 μ L。

三、溶媒系統選擇

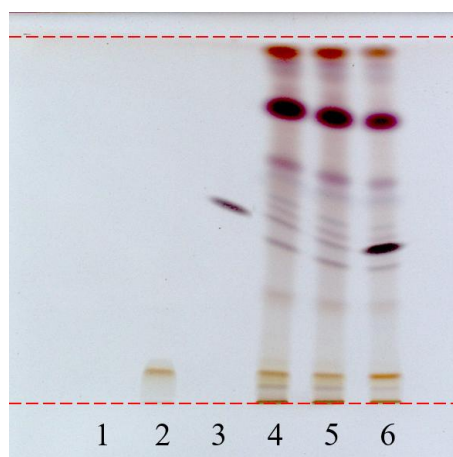
實驗日期：113/05/21

相對溼度(RH)：65%

溫度(RT)：23.7 °C

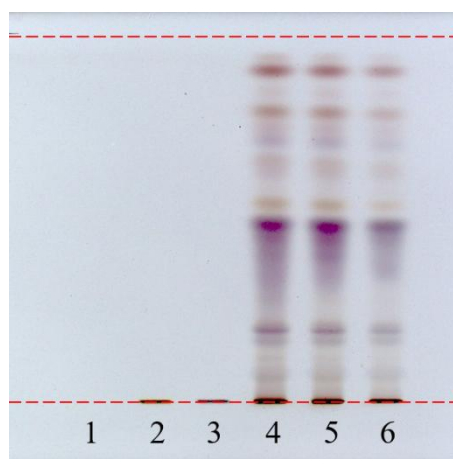
【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——二氯甲烷：甲醇 (4：1)

【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後可見光檢出(連翹酯苷 A R_f 值 < 0.1，連翹苷 R_f 值為 0.52)



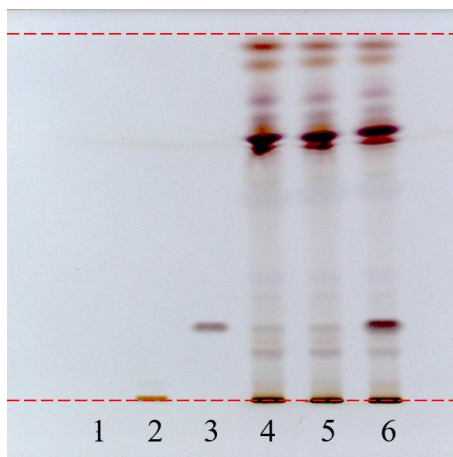
【展開劑 2】修飾《中華人民共和國藥典 2020》——環己烷：乙酸乙酯：甲酸 (15：10：0.25)

【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後可見光檢出(連翹酯苷 A R_f 值為 0，連翹苷 R_f 值為 0)



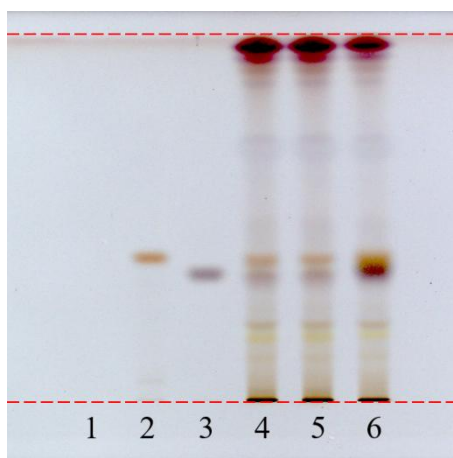
【展開劑 3】《香港中藥材標準第三冊》——二氯甲烷：乙醇：無水乙酸 (8：1：0.5)

【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後可見光檢出(連翹酯苷 A R_f 值為 0，連翹苷 R_f 值為 0.20)



【展開劑 4】(自行開發)——乙酸乙酯：甲酸：水 (10：1：1)

【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後可見光檢出(連翹酯苷 A R_f 值為 0.4，連翹苷 R_f 值為 0.34)



1：Blank
2：連翹酯苷 A
3：連翹苷

4，5：檢品溶液 9
6：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 4】方式，以自行開發之【展開劑 4】展開，顯示連翹酯苷 A 及連翹苷的 R_f 值適中，分離佳，故採用【展開劑 4】。

四、觀察方式選擇

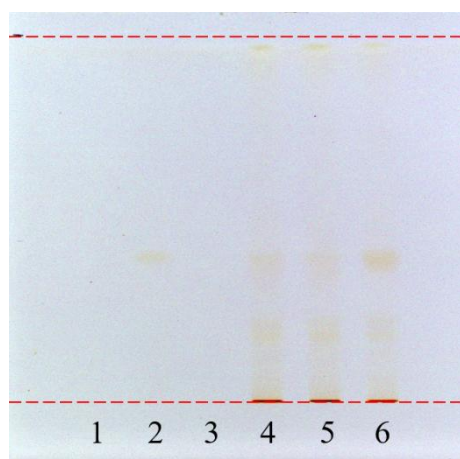
實驗日期：113/05/21

相對溼度(RH)：65%

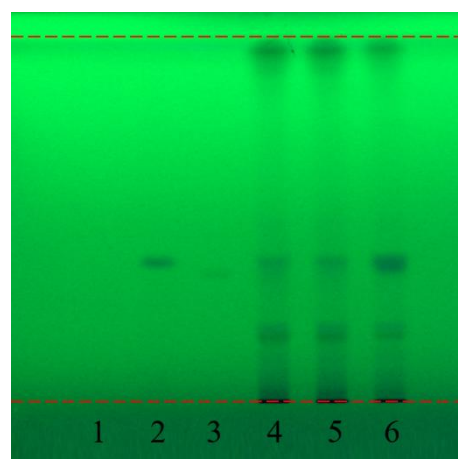
溫度(RT)：23.7 °C

【展開劑 4】(自行開發)——乙酸乙酯：甲酸：水 (10：1：1)

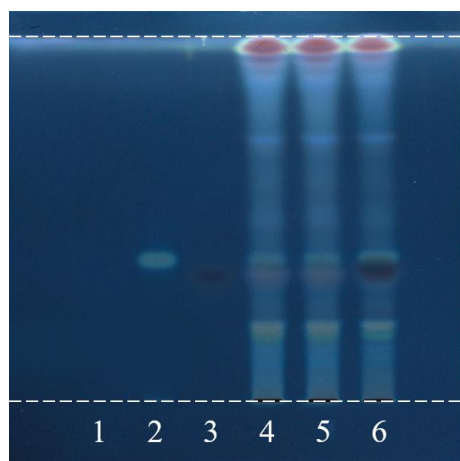
【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC 可
見光檢出



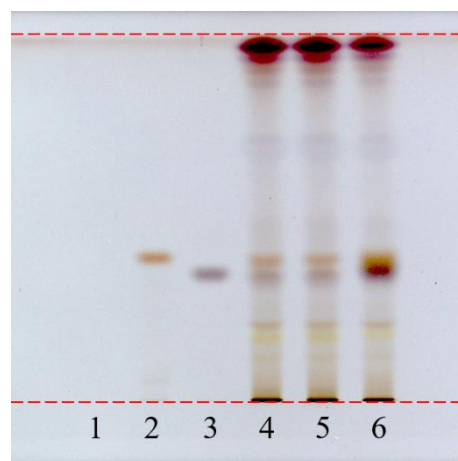
【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC 紫
外光(254 nm)檢出



【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC
10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光
(365 nm)檢出



【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC
10%硫酸/乙醇試液顯色後可見光檢
出✓



1：Blank

4，5：檢品溶液 9

2：連翹酯苷 A

6：Spike

3：連翹苷

建議觀察方式：以 10%硫酸/乙醇試液顯色後於可見光檢視下，有較明顯分離之條帶。

五、十批連翹(老翹)藥材樣品檢測

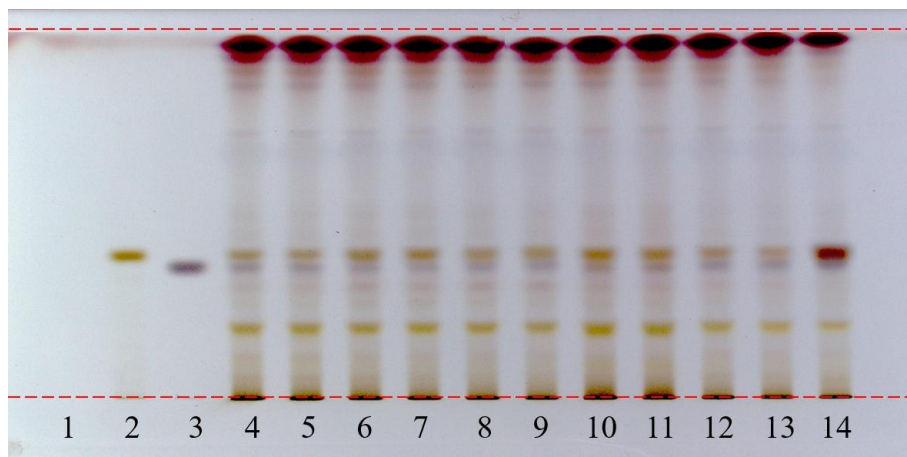
實驗日期：113/05/21

相對溼度(RH)：65%

溫度(RT)：23.7 °C

【展開劑 4】(自行開發)——乙酸乙酯：甲酸：水 (10：1：1)

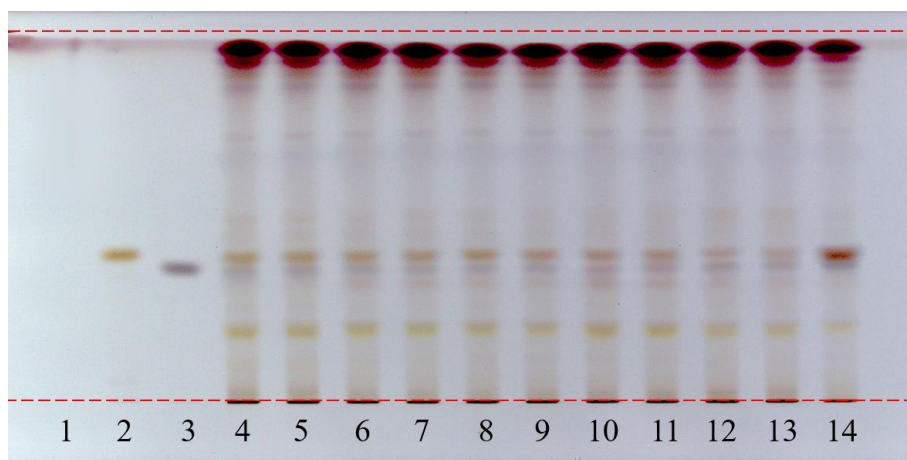
【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後可見光檢出



1	Blank	8, 9	檢品溶液 3 (NQ)
2	連翹酯苷 A (1.0 mg/mL)	10, 11	檢品溶液 4 (NR)
3	連翹苷(1.0 mg/mL)	12, 13	檢品溶液 5 (NX)
4, 5	檢品溶液 1 (NC)	14	Spike (檢品溶液 9)
6, 7	檢品溶液 2 (NO)		

【展開劑 4】(自行開發)——乙酸乙酯：甲酸：水 (10：1：1)

【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後可見光檢出



1	Blank	8, 9	檢品溶液 8 (CE)
2	連翹酯苷 A (1.0 mg/mL)	10, 11	檢品溶液 9 (CH)
3	連翹苷 (1.0 mg/mL)	12, 13	檢品溶液 10 (SUB)
4, 5	檢品溶液 6 (CA)	14	Spike (檢品溶液 9)
6, 7	檢品溶液 7 (CB)		

六、十批連翹(青翹)藥材樣品檢測

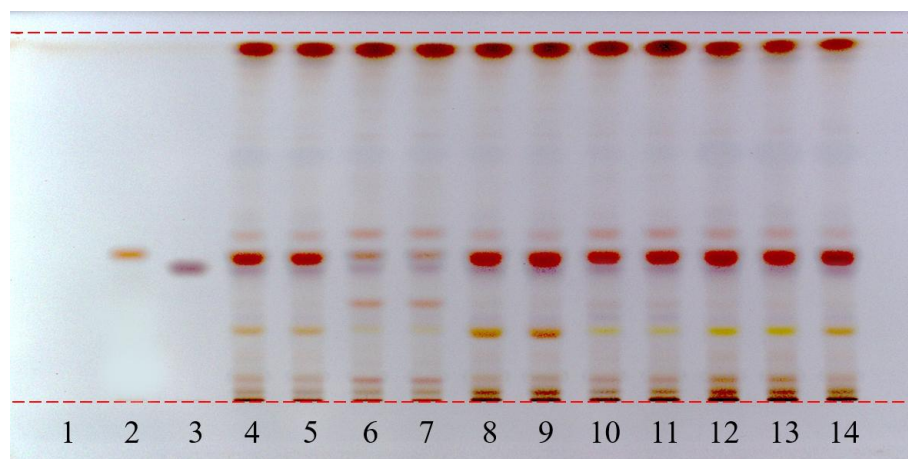
實驗日期：113/05/21

相對溼度(RH)：65%

溫度(RT)：23.7 °C

【展開劑 4】(自行開發)——乙酸乙酯：甲酸：水 (10：1：1)

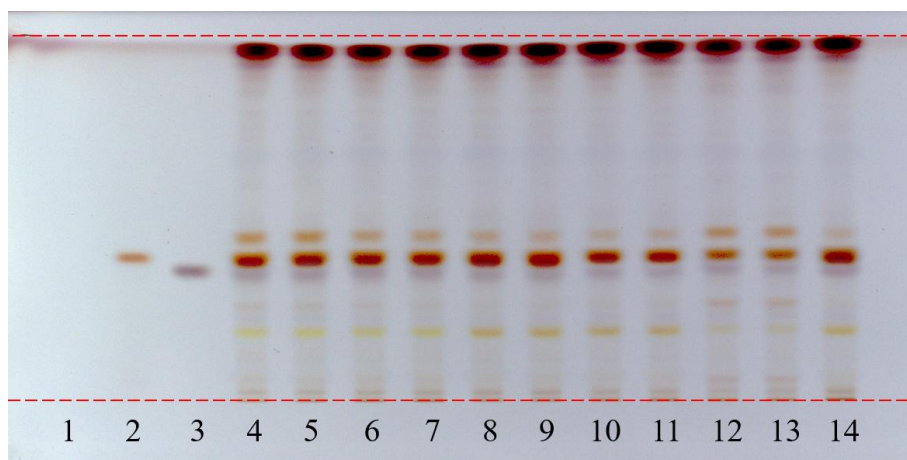
【萃取方法 4】(自行開發)——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後可見光檢出



1	Blank	8, 9	檢品溶液 3 (NR1)
2	連翹酯苷 A (1.0 mg/mL)	10, 11	檢品溶液 4 (NWB)
3	連翹苷 (1.0 mg/mL)	12, 13	檢品溶液 5 (CH)
4, 5	檢品溶液 1 (NC)	14	Spike (檢品溶液 8)
6, 7	檢品溶液 2 (NF)		

【展開劑 4】(自行開發)——乙酸乙酯：甲酸：水 (10：1：1)

【萃取方法 4】(自行開發)—HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後可見光檢出



1	Blank	8, 9	檢品溶液 8 (SK2)
2	連翹酯苷 A (1.0 mg/mL)	10, 11	檢品溶液 9 (SK4)
3	連翹苷 (1.0 mg/mL)	12, 13	檢品溶液 10 (SU1E)
4, 5	檢品溶液 6 (SCA)	14	Spike (檢品溶液 8)
6, 7	檢品溶液 7 (SCB)		

結論與建議：以【萃取方法 4】方式及自行開發之【展開劑 4】分離與檢出連翹酯苷 A 與連翹苷較佳，以 10%硫酸/乙醇試液顯色，於可見光下檢視較佳。