

魚腥草

(HOUTTUYNIAE HERBA)

魚腥草 MI	2
一、形態	2
二、顯微	2
魚腥草 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	6
魚腥草 TLC	16
一、方法	16
二、萃法選擇及濃度測試	17
三、溶媒系統選擇	18
四、觀察方式選擇	19
五、十批樣品檢測	20

魚腥草 MI

一、形態：

本品為三白草科 Saururaceae 植物蕺菜 *Houttuynia cordata* Thunb. 開花時期之乾燥地上部。本品莖呈扁圓柱形，多扭曲。表面棕黃色，具數條縱棱，節明顯，下部節上有殘存鬚根。質脆，易折斷。葉互生，葉片卷折皺縮，展平後呈心形。先端漸尖，全緣。上表面暗黃綠色至暗棕色，下表面灰綠色或棕灰色；葉柄細長，基部與托葉合生成鞘狀。穗狀花序頂生，呈黃棕色。搓碎有魚腥氣，味微澀。

二、顯微

本品葉片橫切面，上下表皮細胞呈不規則多角形，有密集的波狀紋理，氣孔不定式，副衛細胞 4-5 個；油細胞呈類圓形，散落在四處，周圍可見數個表皮細胞呈放射狀排列。腺毛無柄，細胞內含淡棕色物，頂部細胞的分泌物呈皺縮團狀或消失不見，偶見小簇晶。上表皮的葉脈處非腺毛有數個細胞，表面有條狀紋理。下表皮的非腺毛較多，有氣孔。



略字解

ep: 表皮細胞

oc: 油細胞

v: 導管

cx: 皮部

epl: 下表皮細胞

魚腥草 (Houttuyniae Herba)

一、材料

購自於北中南東各地中藥店魚腥草藥材共 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 Cosmosil AR-II C₁₈ Column (250 x 4.6 mm, 5 μm)。

(二) UPLC 儀器及層析管柱

Agilent 1290 Infinity Series, 包含 TCC G1316、Thermostat G1330B、Bin pump G4220A、Sampler G4226A、DAD G4212A; 層析管柱 Poroshell 120 EC-C₁₈ (100 x 4.6 mm, 2.7 μm)。

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

甲醇(99.9%)購自於 Mallinckrodt Baker. Inc.; 乙腈(99.9%)購自於景明化工。

(二) 標準品

槲皮苷(Quercitrin)購自於廣翊有限公司, 純度在 98%以上。

四、方法

(一) 對照標準品溶液

取標準品槲皮苷(Quercitrin)精確稱定 1.0 mg, 加 1 mL 的 70% 甲醇製成每 1 mL 含槲皮苷(Quercitrin) 1000 μg 的標準品儲備溶液

(二) 檢品溶液

取本品粉末(過第 60 號篩網)約 0.5 g, 精確稱定, 置 50 mL 錐形瓶中, 精確加入 70% 甲醇 15 mL, 超音波震盪處理(功率 200 W, 頻率 40 kHz) 20 分鐘, 以 No. 2 濾紙過濾至 50 mL 之定量瓶中, 殘渣部分重複提取二次, 合併濾液, 加 70% 甲醇至刻度, 搖勻再過濾(Syringe filter, 0.45 μm), 取濾液, 即得。

(三) 測定法

分別精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槲皮苷(Quercitrin)的含量, 即得。

(四) 檢量線

精確吸取槲皮苷(Quercitrin)標準品儲備溶液適量(1000 µg/mL)，以70%甲醇稀釋製成含槲皮苷(Quercitrin)分別為500 µg/mL、250 µg/mL、125 µg/mL、100 µg/mL、75 µg/mL、50 µg/mL、25 µg/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 。

(五) 精密度試驗

以槲皮苷(Quercitrin)濃度為50 µg/mL之標準品儲備液分別連續進樣五針，以槲皮苷(Quercitrin)的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(六) 再現性與穩定性試驗

1. 再現性：取同一家市售魚腥草粉末，依魚腥草檢品溶液製備方法平行製備五份魚腥草檢品溶液，進樣測定，以槲皮苷(Quercitrin)的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一家市售魚腥草粉末，依魚腥草檢品溶液製備方法製備魚腥草檢品溶液，分別在0、2、4、8、16、24小時進樣測定，以槲皮苷(Quercitrin)的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(七) 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。

(八) 添加回收率試驗

取已知槲皮苷(Quercitrin)含量的魚腥草藥材粉末約0.25 g，精確稱定五份，分別加入約1.0 mg的槲皮苷(Quercitrin)，並按檢品溶液製備方法操作測定。

(九) HPLC 分析條件

1. 層析管：Cosmosil AR-II C₁₈ Column (250 x 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)	0.2%醋酸(%, v/v)
0	10	90
15	20	80
20	20	80
30	90	10
33	90	10
35	10	90
40	10	90

(十) 臺灣市售魚腥草含量測定

取十家市售魚腥草藥材依檢品溶液製備方法製備檢品溶液，各取 10 μL 連續三針注入 HPLC 分析，所得平均波峰面積依附錄 I 公式計算樣品槲皮苷(Quercitrin)的百分含量。

(十一) UPLC 分析條件

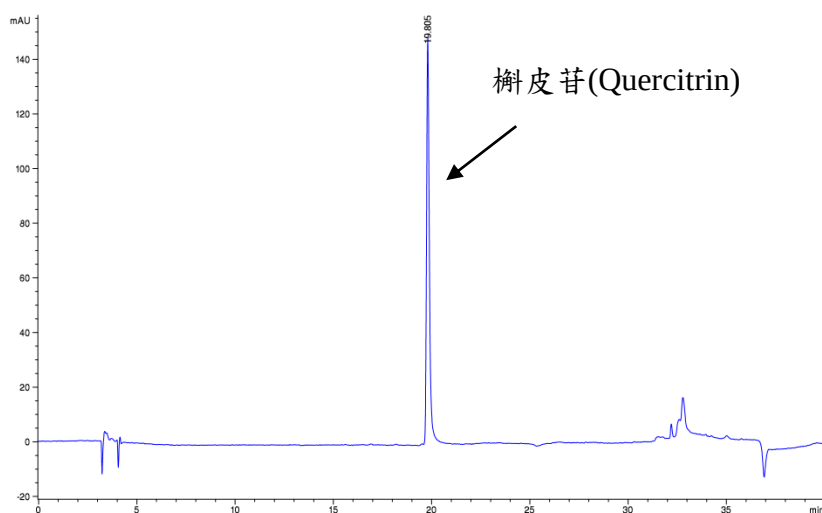
1. 層析管：Agilent Poroshell 120 EC-C18 (100 x 4.6 mm, 2.7 μm)
2. 檢測波長：UV 254 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：25 °C
5. 注入量：2.0 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%, v/v)	三次水(%, v/v)
0	10	90
3	20	80
6	40	60
8	90	10
9	10	90
10	10	90

五、結果

(一) 標準品槲皮苷(Quercitrin)之 HPLC 層析

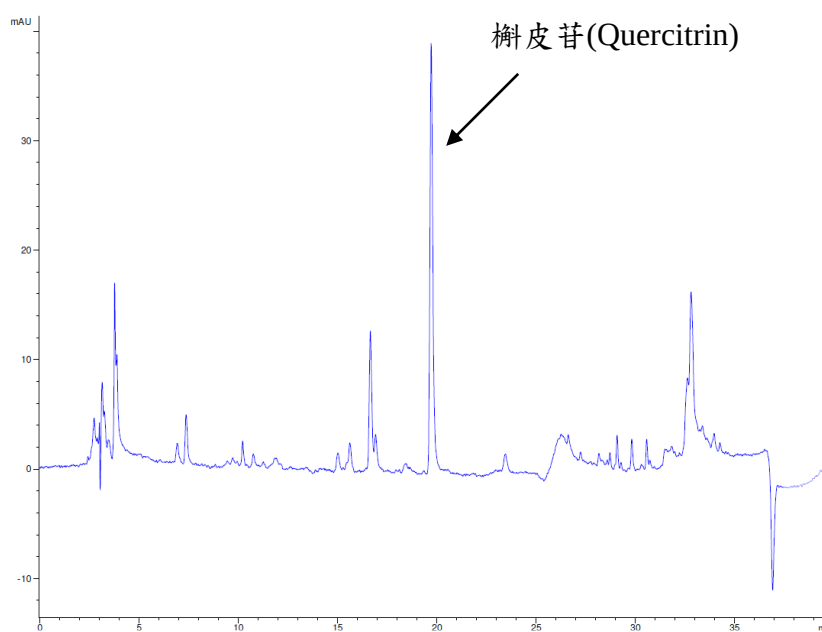
於滯留時間 19.8 分鐘處顯示槲皮苷(Quercitrin)標準品的波峰。



圖一、槲皮苷(Quercitrin)標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售魚腥草檢品之 HPLC 層析

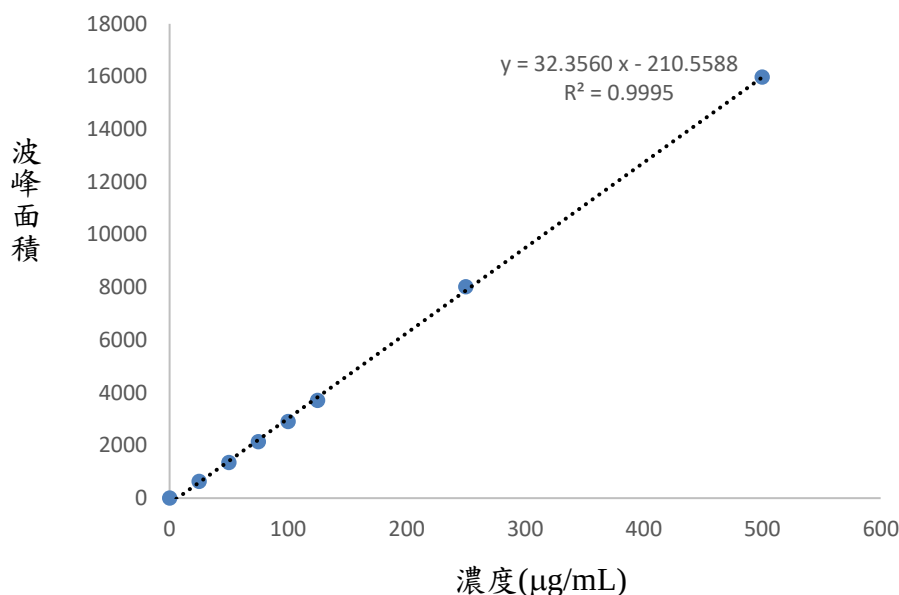
於滯留時間 19.7 分鐘顯示魚腥草檢品中槲皮苷(Quercitrin)的波峰。



圖二、市售魚腥草檢品之 HPLC 層析圖

(三) 標準品槲皮苷(Quercitrin)檢量線

經不同槲皮苷(Quercitrin) (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： $y = 32.356x - 210.5588$ ， $R^2 = 0.9995$ ，顯示濃度在 25—500 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係



圖三、槲皮苷(Quercitrin)之檢量線圖

表一、槲皮苷(Quercitrin)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
槲皮苷(Quercitrin)	5—500	$y = 32.356x - 210.5588$	0.9995

(四) 再現性與精密度試驗

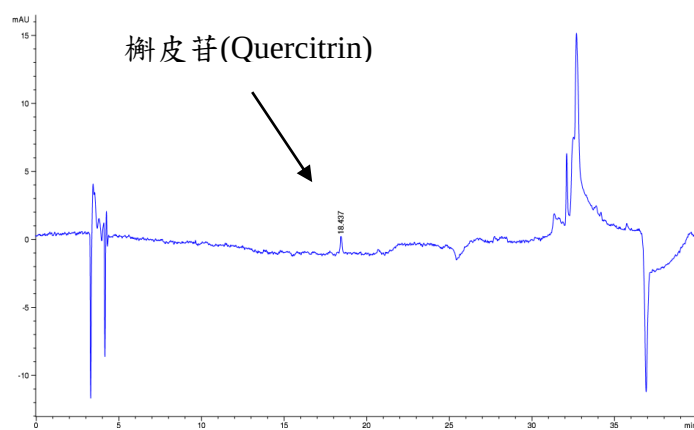
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，槲皮苷(Quercitrin)精密度之相對標準差為 1.00%，再現性之相對標準差為 1.03%，均在可接受的範圍以內。

(五) 穩定性試驗

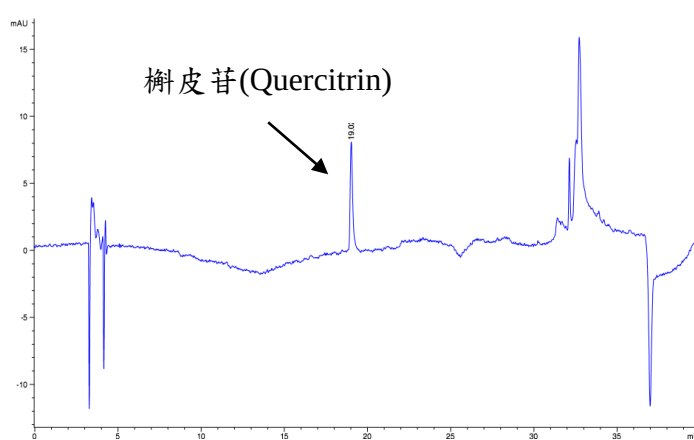
由結果可以得知槲皮苷(Quercitrin)在 24 小時內穩定性，相對標準差分別為 2.43%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(六) 偵測極限與定量極限試驗

槲皮苷(Quercitrin)偵測極限(limit of detection, LOD)為 1.5 $\mu\text{g/mL}$ ，定量極限(limit of quantitation, LOQ)為 3.0 $\mu\text{g/mL}$



圖四、櫟皮苷(Quercitrin)之 LOD 層析圖



圖五、櫟皮苷(Quercitrin)之 LOQ 層析圖

表二、各項檢驗分析

檢測項目	櫟皮苷(Quercitrin)	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	50 µg/mL	1.00
再現性 (n=5)	檢品溶液(No.1)	1.03
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.1)	2.24
偵測極限 (n=1)	1.5 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	3.0 µg/mL	-

(七) 添加回收率試驗

添加槲皮苷(Quercitrin) 平均回收率 101.3%，相對標準偏差 3.04%

表三、槲皮苷(Quercitrin)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. (%)
槲皮苷 (Quercitrin)	1	0.2501	1.42	1.1	2.54	101.8	101.3	3.04
	2	0.2514	1.43	1.1	2.56	102.7		
	3	0.2513	1.43	1.0	2.39	96.0		
	4	0.2512	1.43	1.0	2.47	104.0		
	5	0.2510	1.43	1.1	2.55	101.8		

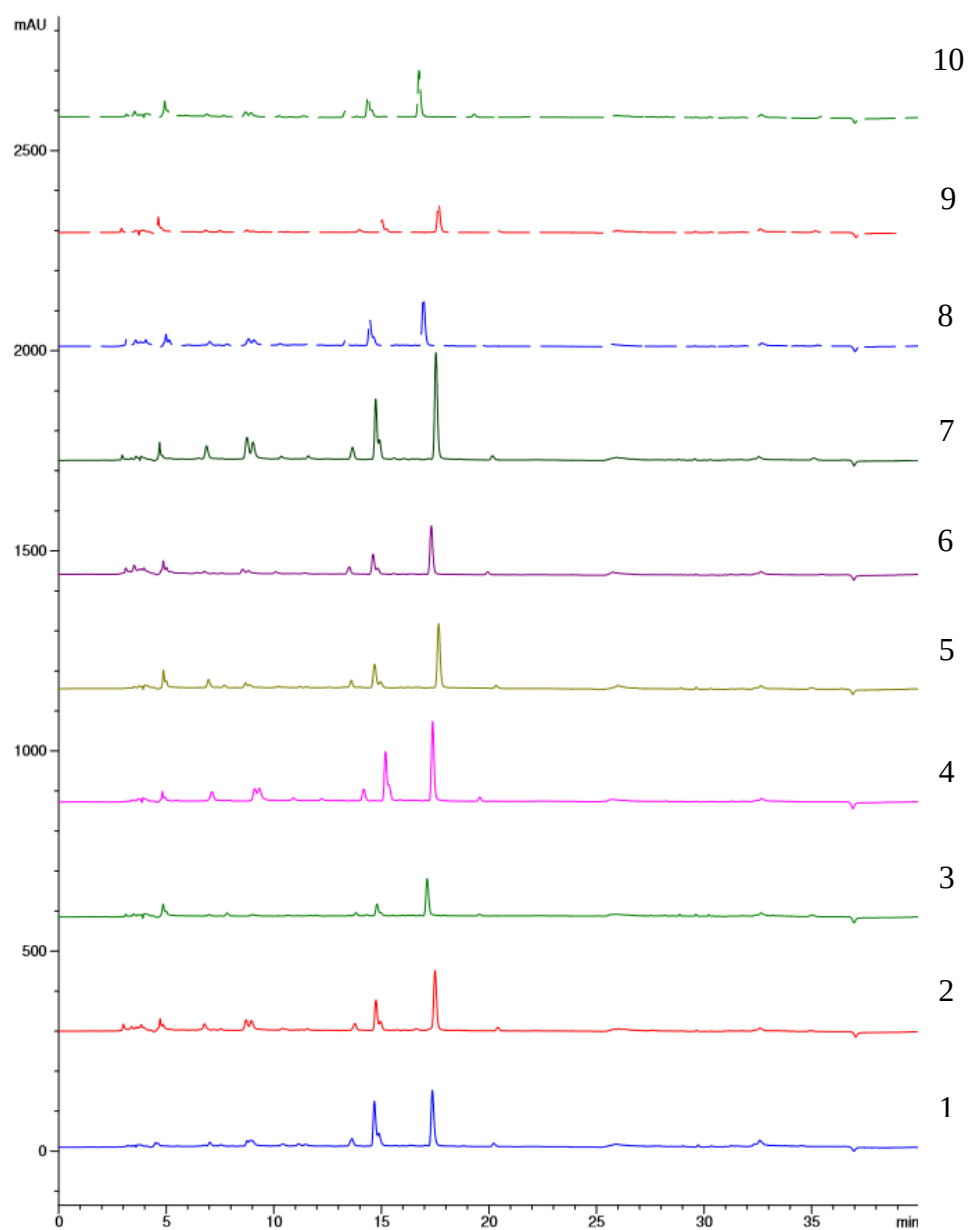
(八) 台灣市售魚腥草含量測定

10 家魚腥草藥材之含量測定結果如表四所示。香港藥典規範槲皮苷(Quercitrin)不得低於 0.17%，此 10 家魚腥草藥材之槲皮苷(Quercitrin)含量測定結果顯示範圍在 0.272—0.851%，全部十個藥材槲皮苷(Quercitrin)的含量皆符合香港藥典規範。

表四、台灣市售魚腥草檢品之槲皮苷(Quercitrin)含量

中藥店編號 (No.)	槲皮苷(Quercitrin)含量 (%)	中藥店編號 (No.)	槲皮苷(Quercitrin)含量 (%)
1(NJ)	0.475	6(SC)	0.417
2(SL)	0.535	7(CD)	0.851
3(NF)	0.319	8(NN)	0.446
4(SJ)	0.590	9(SQ)	0.272
5(NQ)	0.543	10(SE)	0.409

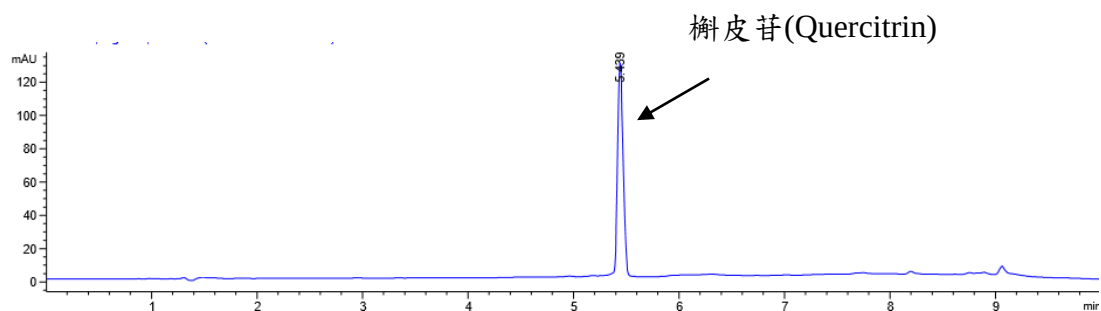
(九) 台灣 10 家市售魚腥草藥材之 HPLC 層析



圖六、10 家魚腥草藥材之 HPLC 層析圖

(十) 標準品槲皮苷(Quercitrin)之 UPLC 層析

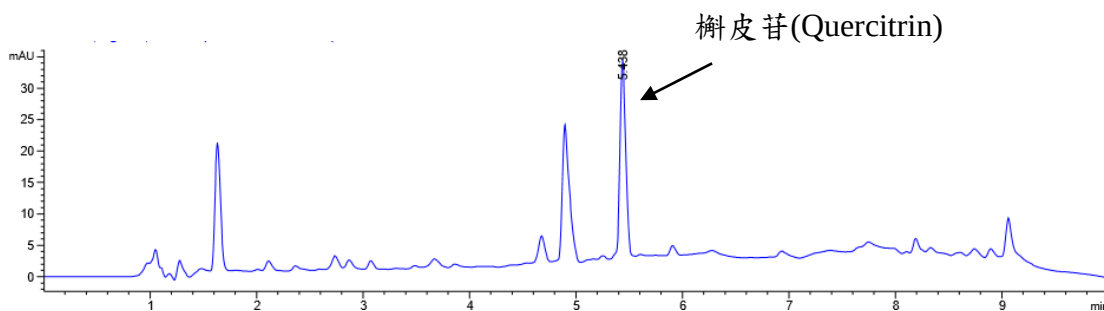
於滯留時間 5.4 分鐘處顯示槲皮苷(Quercitrin)標準品的波峰。



圖七、槲皮苷(Quercitrin)標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十一) 市售魚腥草檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 5.4 分鐘顯示槲皮苷(Quercitrin)的波峰。

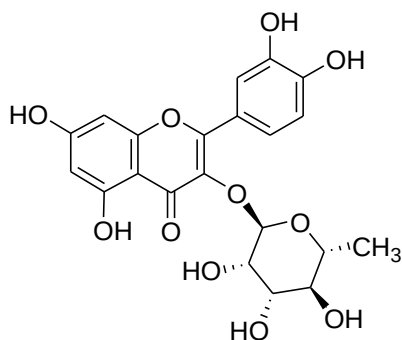


圖八、市售魚腥草檢品之 UPLC 層析圖

(十二) 槲皮苷(Quercitrin)的分子式、分子量與熔點

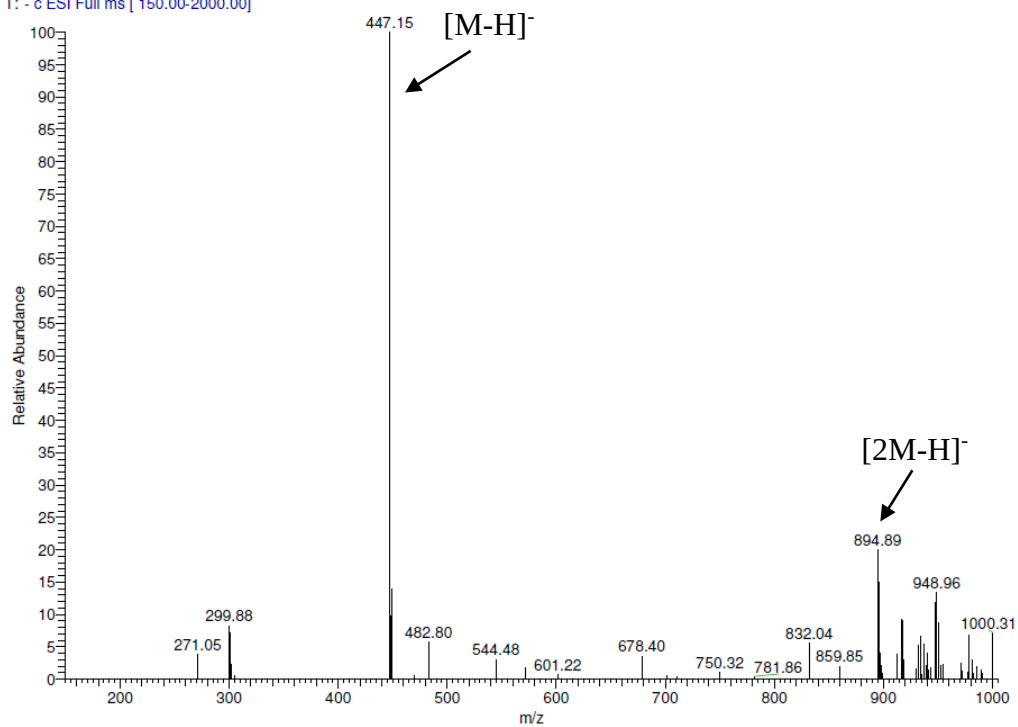
槲皮苷(Quercitrin)：yellow solid; $C_{21}H_{20}O_{11}$; Mol. Wt.:448.4; mp: 190—191 °C

(十三) 槲皮苷(Quercitrin)的結構



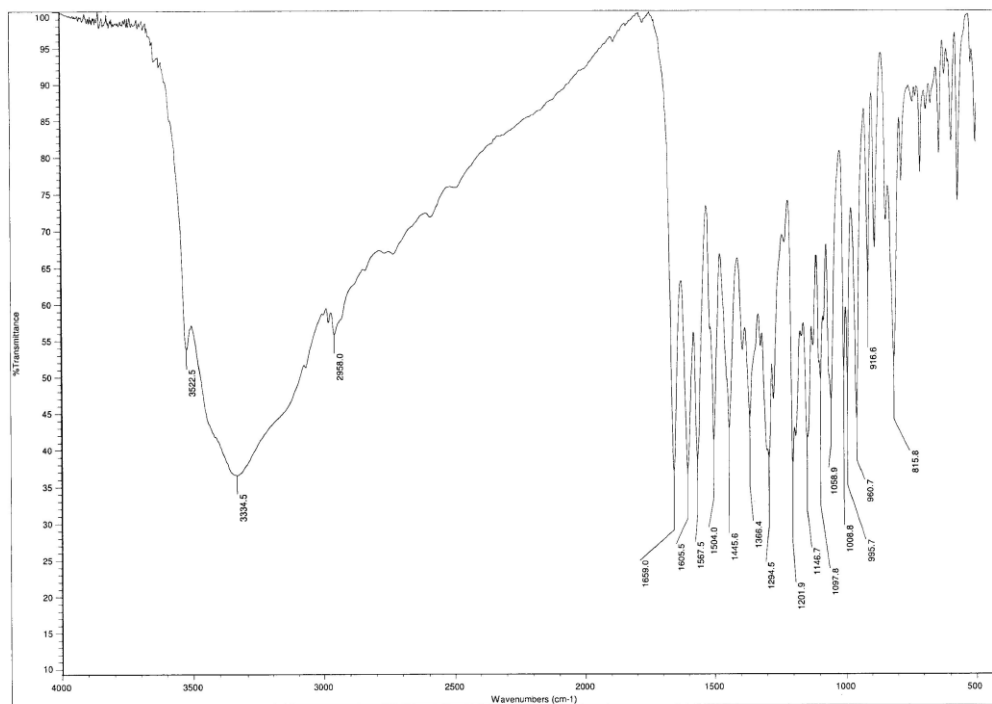
(十六) 槲皮苷(Quercitrin)的 ESI-MS 圖譜

Quercitrin #94 RT: 2.60 AV: 1 NL: 2.00E6
T: - c ESI Full ms [150.00-2000.00]



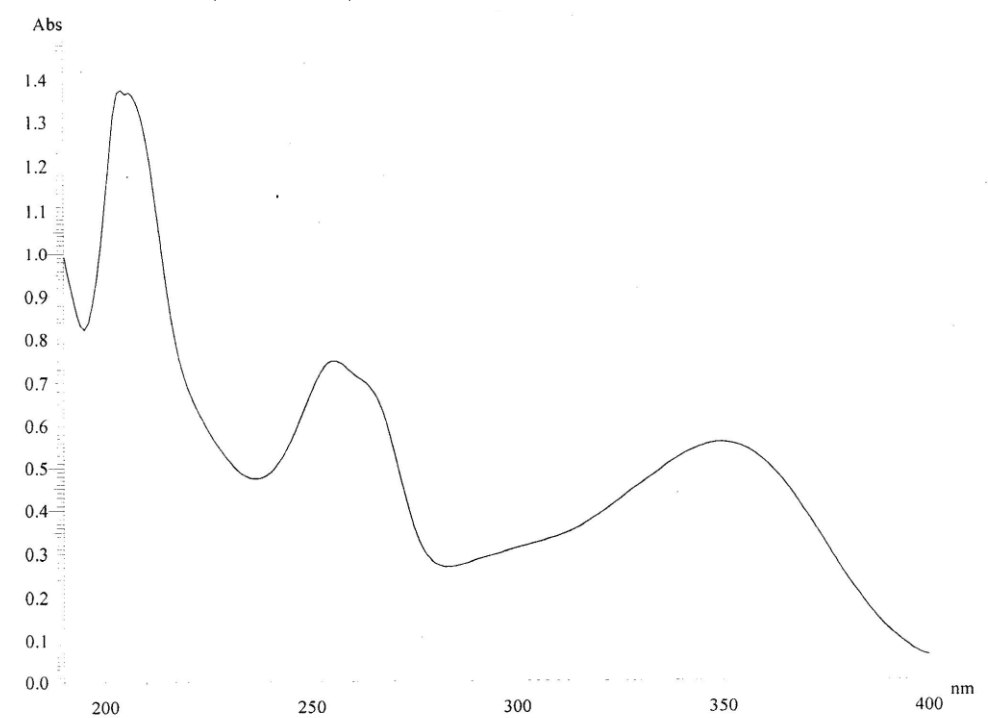
圖十一、槲皮苷(Quercitrin)的 ESI-MS 圖譜

(十七) 槲皮苷(Quercitrin)的 FTIR 圖譜



圖十二、槲皮苷(Quercitrin)的 FTIR 圖譜

(十八) 槲皮苷(Quercitrin)的 UV 圖譜



Sample: Q
 File name: Q.UDS
 Run Date: 11:55:15, 05/08/2015
 Operator: Empower
 Comment:

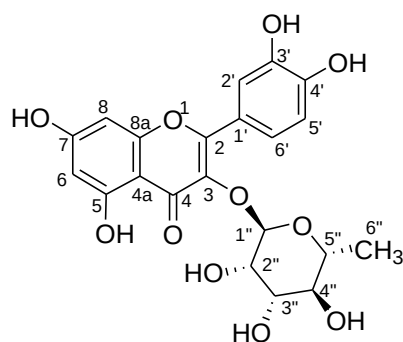
Peak Integration

Method: Rectangular
 Sensitivity: 1
 Threshold: 0.0100

Peaks							
Peak #	Start (nm)	Apex (nm)	End (nm)	Height (Abs)	Area (Abs*nm)	Valley (nm)	Valley
1	400.00	350.00	283.00	0.5572	42.2281	283.00	0.267
2	283.00	255.00	237.00	0.7481	25.9025	237.00	0.473
3	237.00	204.00	190.00	1.3742	40.7723	190.00	0.990

圖十三、槲皮苷(Quercitrin)的 UV 圖譜

(十九) 槲皮苷(Quercitrin)的氫、碳化學位移



槲皮苷(Quercitrin)

表五、槲皮苷(Quercitrin)的氫、碳化學位移(CD₃OD)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
2		159.3
3		136.2
4		179.7
4a		105.9
5		163.2
6	6.20 (d, 1.8)	99.8
7		165.9
8	6.37 (d, 1.8)	94.7
8a		158.5
1'		123.0
2'	7.33 (d, 1.8)	116.9
3'		146.9
4'		149.8
5'	6.90 (d, 8.4)	116.4
6'	7.30 (dd, 8.4, 1.8)	122.9
1''	5.34 (d, 1.2)	103.6
2''	4.21 (ds, 3.0, 1.2)	71.9
3''	3.74 (dd, 9.0, 3.0)	72.0*
4''	3.32-3.34 (m)	73.3
5''	3.39-3.43 (m)	72.1*
6''	0.93 (d, 6.0)	17.7

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

魚腥草

生藥名：HOUTTUYNIAE HERBA

英文名：Heartleaf Houttuynia Herb

基 原：本品為三白草科 Saururaceae 植物蕺菜 *Houttuynia cordata* Thunb.之開花期乾燥全草。夏季莖葉茂盛花穗多時採割，除去雜質，曬乾。

一、方法

- (一) 檢 品 溶 液 **【萃取方法 1】(修飾臺灣中藥典第二版 2013) ✓**
——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 10 mL，超音波處理 30 分鐘，過濾，取濾液作為檢品溶液。
【萃取方法 2】(香港中藥材標準第四冊)
——取本品粉末 0.5 g，加 70%乙醇 15 mL，超音波處理 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 1.0 g，加甲醇 5 mL，超音波處理 30 分鐘，過濾，取濾液作為檢品溶液。
- (二) 對照標準品 取槲皮苷(Quercitrin)對照標準品，加甲醇製成每 1 mL 含 0.2 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】(臺灣中藥典第二版 2013)**
——正己烷：乙酸乙酯 (9：1)
【展開劑 2】(修飾香港中藥材標準第四冊) ✓
——乙酸乙酯：丙酮：甲酸：水 (20：2：1：1)
- (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 於主波長 365 nm 之紫外燈照射下檢視。

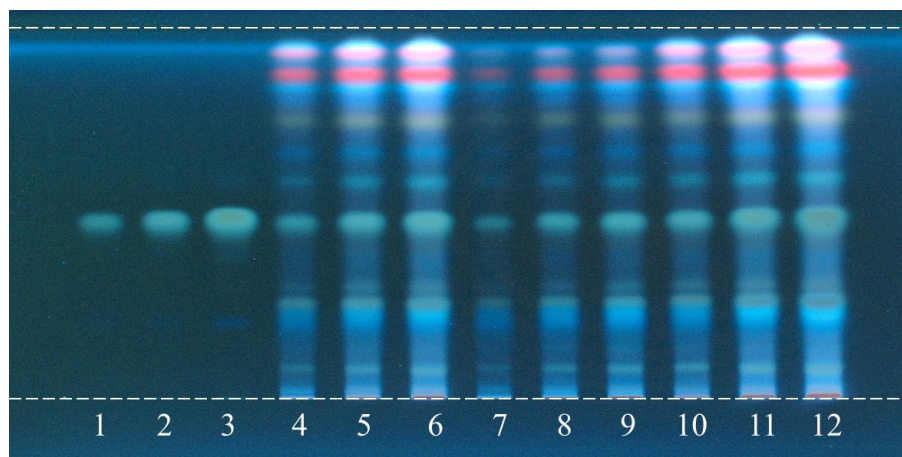
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：107/03/20

相對溼度(RH)：56%

溫度(RT)：26 °C

【展開劑 2】(修飾香港中藥材標準第四冊)——乙酸乙酯：丙酮：甲酸：水 (20：2：1：1)



編號	名稱	點注量
1，2，3	槲皮苷(Quercitrin) (0.2 mg/mL)	1，2，5 μ L
4，5，6	NJ 檢品溶液【萃取方法 1】	2，5，8 μ L
7，8，9	NJ 檢品溶液【萃取方法 2】	2，5，8 μ L
10，11，12	NJ 檢品溶液【萃取方法 3】	2，5，8 μ L

建議萃法：3 種萃法之檢品溶液中皆有分離與檢出標準品槲皮苷，故支持臺灣藥典萃法，選擇【萃取方法 1】。

建議點注量：槲皮苷(Quercitrin)標準品溶液 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 1】5 μ L。

三、溶媒系統選擇

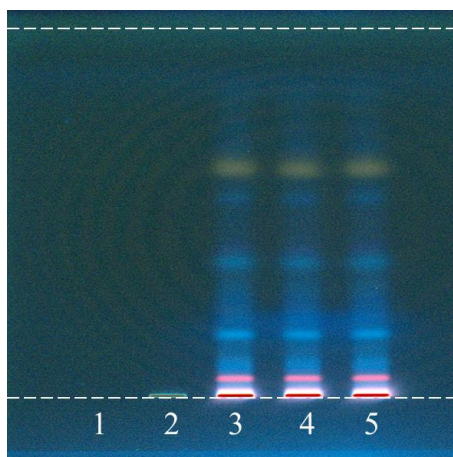
實驗日期：107/03/21

相對溼度(RH)：40%

溫度(RT)：25 °C

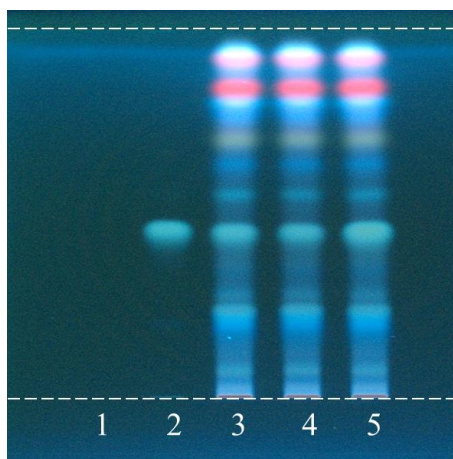
【展開劑 1】 (臺灣中藥典第二版 2013)——正己烷：乙酸乙酯 (9：1)

【萃取方法 1】 (修飾臺灣中藥典第二版 2013)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出
(槲皮苷 R_f 值為 0)



【展開劑 2】 (修飾香港中藥材標準第四冊)——乙酸乙酯：丙酮：甲酸：水 (20：2：1：1)

【萃取方法 1】 (修飾臺灣中藥典第二版 2013)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出
(槲皮苷 R_f 值為 0.46)



1：Blank

2：槲皮苷(Quercitrin)

3，4：NJ 檢品溶液

5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 1】方式，唯【展開劑 2】展開可從檢品溶液中分離與檢出槲皮苷，故採用修飾香港中藥材標準第四冊之【展開劑 2】。

四、觀察方式選擇

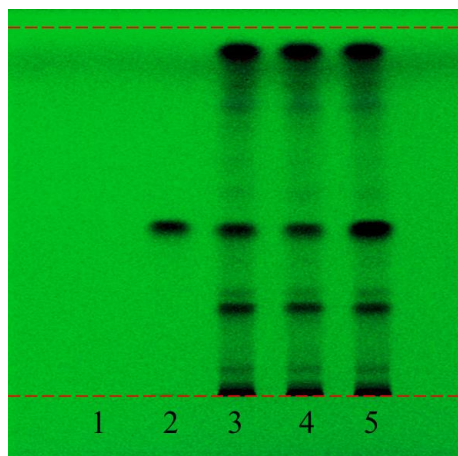
實驗日期：107/03/21

相對溼度(RH)：40%

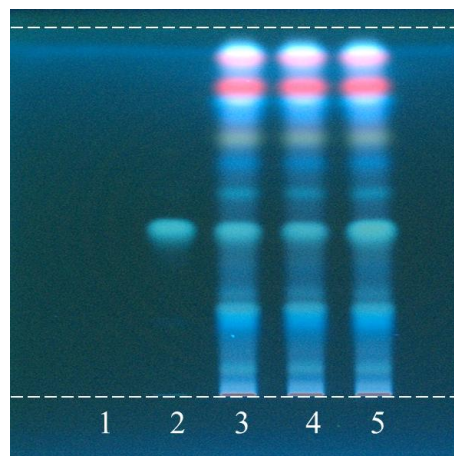
溫度(RT)：25 °C

【展開劑 2】(修飾香港中藥材標準第四冊)——乙酸乙酯：丙酮：甲酸：水 (20：2：1：1)

【萃取方法 1】(修飾臺灣中藥典第二版 2013) — HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



【萃取方法 1】(修飾臺灣中藥典第二版 2013) — HPTLC 紫外光(365 nm)檢出✓



1：Blank

2：槲皮苷(Quercitrin)

3，4：NJ 檢品溶液

5：Spike

建議觀察方式：於紫外光(365 nm)下顯示出較紫外光(254 nm)有較多明顯之條帶及槲皮苷(Quercitrin)標準品斑點。

五、十批樣品檢測

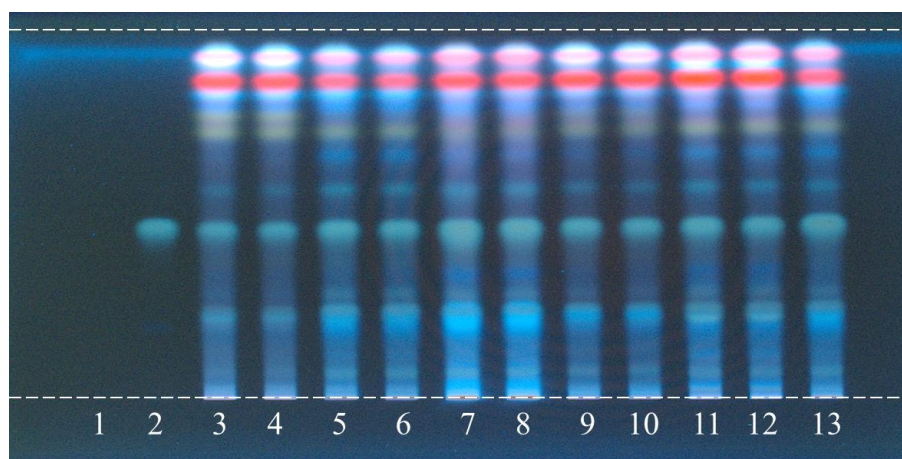
實驗日期：107/03/21

相對溼度(RH)：40%

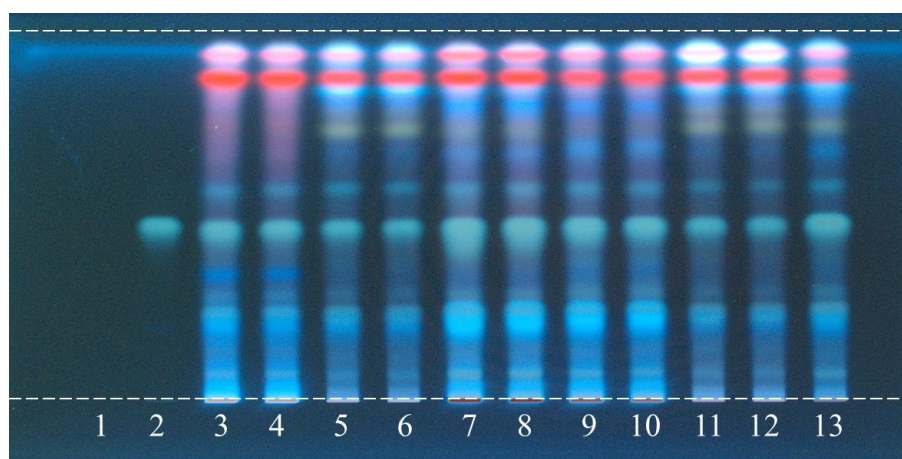
溫度(RT)：25 °C

【展開劑 2】(修飾香港中藥材標準第四冊)——乙酸乙酯：丙酮：甲酸：水 (20：2：1：1)

【萃取方法 1】(修飾臺灣中藥典第二版 2013)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	槲皮苷(Quercitrin) (0.2 mg/mL)
3, 4	NF 檢品溶液
5, 6	NJ 檢品溶液
7, 8	NN 檢品溶液
9, 10	NQ 檢品溶液
11, 12	CD 檢品溶液
13	Spike (NJ 檢品溶液)



1	Blank
2	槲皮苷(Quercitrin) (0.2 mg/mL)
3, 4	SC 檢品溶液
5, 6	SE 檢品溶液
7, 8	SJ 檢品溶液
9, 10	SL 檢品溶液
11, 12	SQ 檢品溶液
13	Spike (NJ 檢品溶液)

結論與建議：以修飾臺灣中藥典第二版 2013 之【萃取方法 1】方式，並以修飾香港中藥材標準第四冊之【展開劑 2】分離與檢出槲皮苷(Quercitrin)較佳，於紫外光(365 nm)下檢視較佳。