

黃蘗

(PHELLODENDRI CORTEX)

黃蘗 MI

一、藥材採購及鑑定.....	3
二、藥材性狀描述 (圖 1).....	3
三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2).....	3
四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3).....	4

黃蘗 藥材 HPLC

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

黃蘗 飲片 HPLC

一、材料.....	26
二、儀器及層析管柱.....	26
三、實驗藥品及試劑來源.....	26
四、方法.....	26
五、結果.....	29

黃蘗 TLC

一、方法.....	35
二、萃法選擇及濃度測試.....	36
三、溶媒系統選擇.....	37
四、觀察方式選擇.....	38
五、十批黃蘗樣品檢測.....	39

六、十批黃蘗飲片樣品檢測.....	41
-------------------	----

黃蘗

(PHELLODENDRI CORTEX)

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黃皮樹的乾燥樹皮。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：黃蘗

生藥名：PHELLODENDRI CORTEX

英文名：Phellodendron Bark

基原：本品為芸香科 Rutaceae 植物黃皮樹 *Phellodendron chinense* C.K.Schneid. 之乾燥樹皮。

採收加工：選用 10 年以上的樹木，在 3~6 月間剝取樹皮，曬至半乾，壓平，刮淨外層栓皮，曬乾。

藥材性狀：本品呈板片狀或淺槽狀，長寬不等，厚 3~7 mm。外表面黃棕色或黃褐色，較平坦，皮孔橫生，嫩皮較明顯，有不規則的縱向淺裂紋，偶有殘存的灰褐色粗皮。內表面暗黃色或棕黃色，具細密的縱稜紋。體輕，質較硬，斷面深黃色，裂片狀分層，纖維性，氣微，味苦，具黏液性，可使唾液染成黃色。

飲片性狀：本品飲片呈絲狀，外表面黃棕色或黃褐色，偶有殘存的灰褐色粗皮，切面具纖維性。氣微，味苦。

生長分佈：較耐陰、耐寒。宜在山坡河谷較濕潤地方種植。花期 5~6 月，果期 9~10 月。主產於四川、貴州、陝西、湖北及雲南等地，以四川、貴州產量大。

三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2)

1. 未去淨外皮者，木栓層由數層長方形細胞組成，內含棕色物質。
2. 皮層比較狹窄，散有纖維群及石細胞群。
3. 石細胞大多分枝狀、多角形，單一或成群，壁極厚，層紋明顯。
4. 韌皮部佔樹皮的極大部分，外側有少數石細胞。
5. 纖維束切向排列呈斷續的層帶，纖維束周圍薄壁細胞中常含草酸鈣方晶，形成晶纖維。
6. 髓線寬 2~4 列細胞，常彎曲而細長。
7. 薄壁細胞中散有黏液細胞。

四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3)

1. 粉末呈綠黃色或黃色。
2. 木栓層細胞長方形。
3. 石細胞鮮黃色，長圓形、紡錘形或長條形、不規則分枝狀，有的呈分枝狀，枝端鈍尖，壁厚，層紋明顯。偏光顯微鏡下呈現亮黃色至多彩色。
4. 纖維鮮黃色，常成束，周圍的細胞含草酸鈣方晶，形成晶纖維。偏光顯微鏡下呈現亮黃色至多彩色。
5. 草酸鈣方晶極多。偏光顯微鏡下呈現黃白色至多彩色。
6. 黏液細胞可見，呈類球形。
7. 篩管分子端壁傾斜，可見複篩板，通常由 6~7 個篩域組成。



圖 1A 黃蘗藥材圖



圖 1B 黃蘗飲片藥材圖

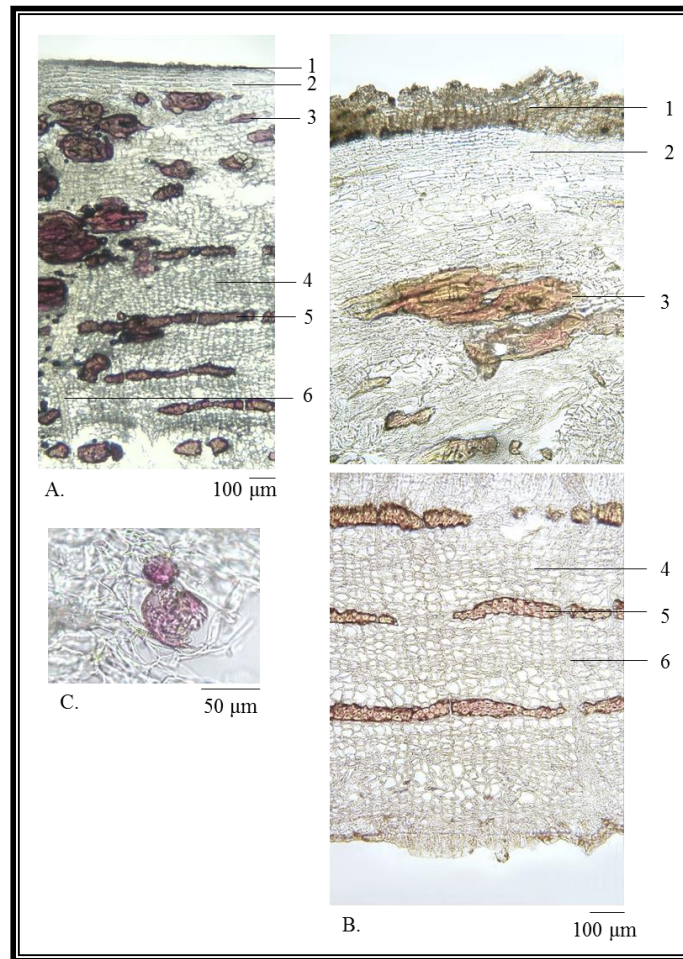


圖 2 黃芪橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖 C.黏液細胞

1.木栓層 2.皮層 3.石細胞群 4.韌皮部 5.韌皮纖維(結晶韌纖維) 6.髓線

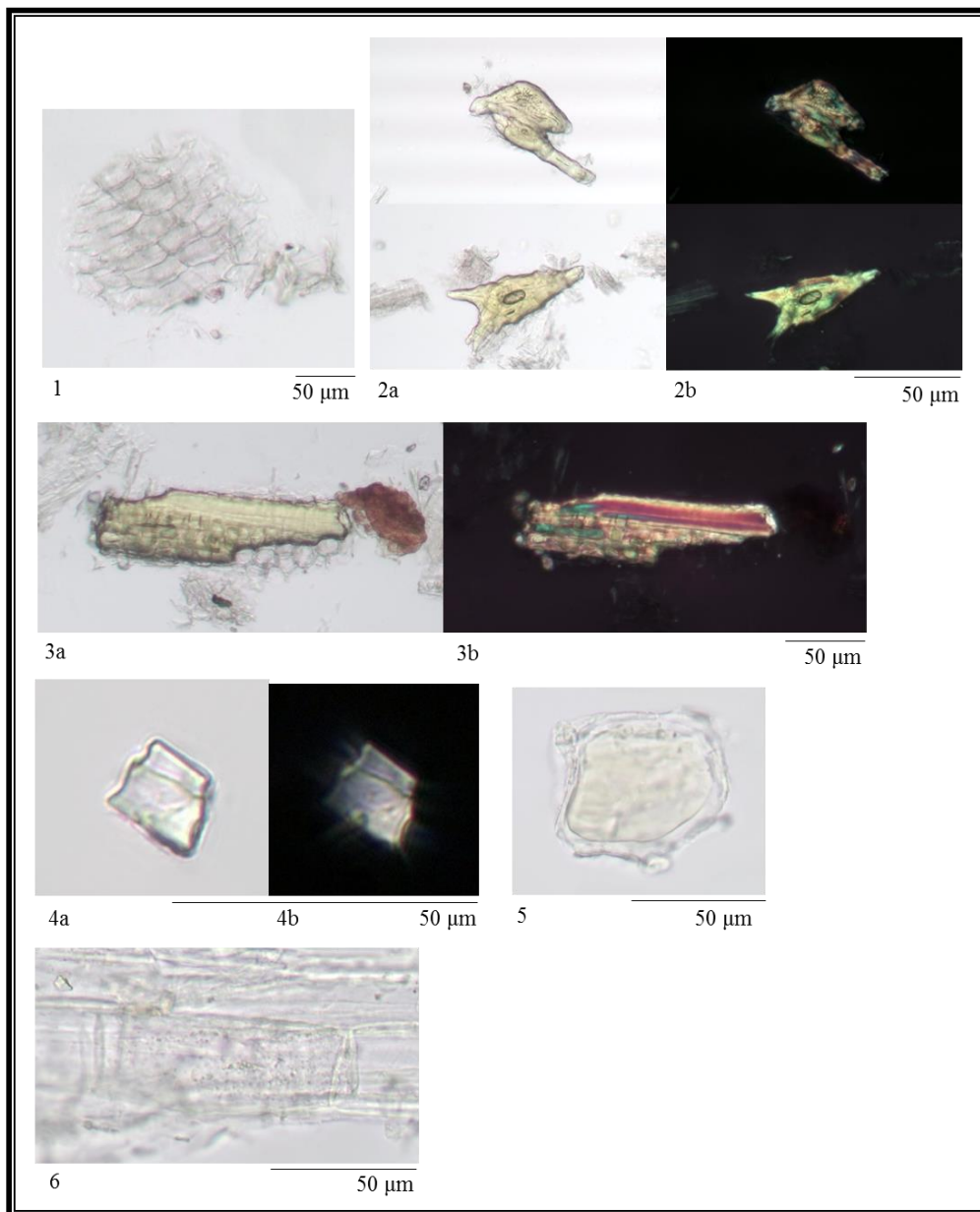


圖 3 黃蘗粉末顯微特徵圖

a.光學顯微鏡下特徵 b.偏光顯微鏡下特徵

1.木栓細胞 2.石細胞 3.結晶纖維 4.草酸鈣方晶 5.黏液細胞 6.複篩板

參考文獻

1. 行政院衛生署中醫藥委員會編(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會。41~42 頁。
2. 衛生福利部臺灣中藥典第三版編輯工作小組編纂(2018)。臺灣中藥典第三版。台北市：衛生福利部。362~364 頁。
3. 張賢哲、蔡貴花編著(2003)。中藥炮製學第二次修訂版。台中：中國醫藥大學。348~350 頁。
4. 羅集鵬主編(1996)。生藥學。北京：中國醫藥科技出版社。204~207 頁。
5. 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編製(2005)。香港中藥材標準第一冊。香港：香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部。20~37 頁。
6. 肖培根等編輯(2001)。新編中藥志第三卷。北京：化學工業出版社。664~669 頁。
7. 國家藥典委員會編輯(2009)。中華人民共和國藥典中藥材顯微鑑別彩色圖鑑。北京：人民衛生出版社。376 頁。
8. 國家藥典委員會編輯(2015)。中華人民共和國藥典 2015 年版一部。北京：中國醫藥科技出版社。305~306 頁。
9. 趙中振、陳虎彪編著(2016)。中藥顯微鑑定圖典。福州：海峽出版發行集團·福建科學技術出版社。254~255 頁。

黃蘗(PHELLODENDRI CORTEX)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店黃蘗藥材共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Agilent 1260 Infinity Quaternary LC，包含 Quaternary pump、Autosampler、Thermostatted column compartment、Diode-Array Detector；層析管柱 Thermo Hypersil GOLD 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 Thermo syncromis C18Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)。

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

乙腈(99.9%)、磷酸二氫鉀(KH₂PO₄)皆購自於 Merck，十二烷基硫酸鈉(Sodium dodecyl sulfate, SDS)或硫酸月桂酯鈉(Sodium lauryl sulfate, SLS)購自於 Alfa Aesar。

(二) 標準品

標準品氯化小蘗鹼(Berberine chloride)購自於普思生物科技股份有限公司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取條件評估

取本品粉末 4 份，每份準確稱取 0.5 g，2 份置 100 mL 圓底瓶中，分別準確加入甲醇與甲醇-稀鹽酸(100：1)各 30 mL，加熱迴流 30 分鐘，冷卻後以 No. 1 濾紙過濾，取濾液，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μm)，即得。另外 2 份置於 50 mL 離心管，分別準確加入甲醇與甲醇-稀鹽酸(100：1)各 30 mL，以超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，再以 No. 1 濾紙過濾，取濾液，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μm)，即得。每針 10 μL 注入高效能液相層析儀(HPLC)，以所測得每克重量之標準品氯化小蘗鹼最大波峰面積為最佳黃蘗萃取溶媒。

(二) 最佳萃取次數評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網) 2 份，每份準確稱取 0.5 g，置於 100 mL 圓底瓶中，準確加入甲醇-稀鹽酸(100：1)各 30 mL，冷卻後以 No. 1 濾紙過濾，濾液轉移至 30 mL 定量瓶中，加甲醇至刻度。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，直到指標成分被萃取完全，並選出最佳萃次數。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品氯化小蘗鹼 5.0 mg，加 5 mL 甲醇製成每 1 mL 含 1000 μg 的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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 0.5g，置 100 mL 圓底瓶中，準確加入甲醇-稀鹽酸(100:1) 30 mL，加熱迴流 30 分鐘，冷卻後以 No. 1 濾紙過濾，取濾液，殘渣部分重複提取 1 次，合併濾液，轉移至 100 mL 定量瓶中，加甲醇至刻度，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氯化小蘗鹼的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取氯化小蘗鹼標準品儲備液適量(1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，以甲醇稀釋成含氯化小蘗鹼分別為 250、125、100、50、25、5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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 。

(七) 精密度試驗

以氯化小蘗鹼濃度為 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以氯化小蘗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：取同一批市售黃蘗粉末，依黃蘗檢品溶液製備方法平行製備 5 份黃蘗檢品溶液，進樣測定，以氯化小蘗鹼的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售黃蘗粉末，依黃蘗檢品溶液製備方法製備黃蘗檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，以氯化小蘗鹼的含量為指標，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 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。

(十) 添加回收率試驗

取已知氯化小蘗鹼含量的黃蘗粉末 5 份，每份準確稱取約 0.1 g，分別加入 1 mL 的氯化小蘗鹼溶液(4.0 mg/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：Thermo Hypersil Gold Column (250 × 4.6 mm，5 μ m)
2. 檢測波長：UV 345 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)	移動相溶液*
0	100
30	100

*移動相溶液配置方法：取乙腈：水(1：1)混合溶液 1000 mL，加入 3.4 g 磷酸二氫鉀與 1.7 g 硫酸月桂酯鈉，超音波振盪 30 分鐘後，抽氣過濾使用。

(十二) 臺灣市售黃蘗含量測定

取 10 批市售黃蘗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 公式計算樣品氯化小蘗鹼的百分比含量。

(十三) 黃蘗檢品之 UPLC 分析條件

1. 層析管：Thermo syncromis C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μ m)
2. 檢測波長：UV 345 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 $^{\circ}$ C
5. 注入量：1 μ L
6. 移動相：

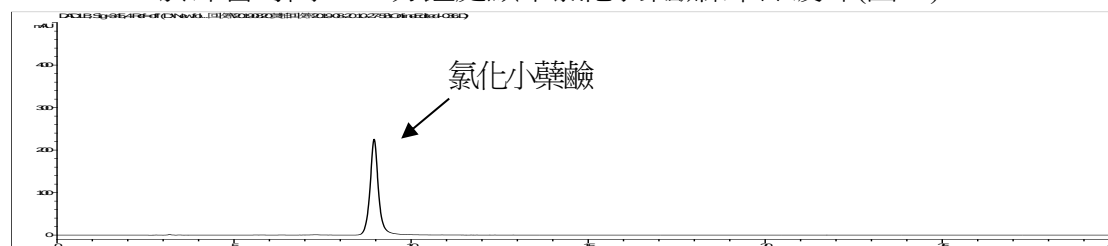
時間(min)	移動相溶液*
0	100
6	100

*移動相溶液配置方法：取乙腈：水(1：1)混合溶液 1000 mL，加入 3.4 g 磷酸二氫鉀與 1.7 g 硫酸月桂酯鈉，超音波振盪 30 分鐘後，抽氣過濾使用。

五、結果

(一) 氯化小蘗鹼之 HPLC 層析

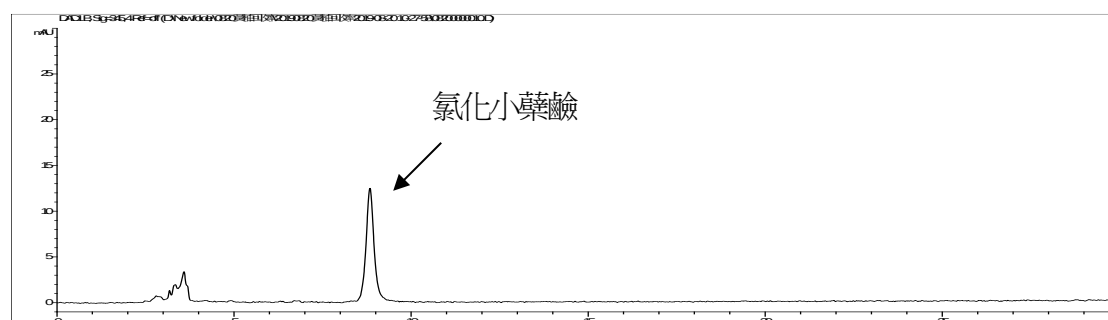
於滯留時間 8.96 分鐘處顯示氯化小蘗鹼標準品波峰(圖一)。



圖一、氯化小蘗鹼標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售黃蘗檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 8.84 分鐘處顯示黃蘗檢品中氯化小蘗鹼波峰(圖二)。分離率(R)為 4.96，托尾因子(T)為 0.93，均在系統適用性要求內。



圖二、市售黃蘗檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取條件評估

甲醇-稀鹽酸(100：1)及加熱迴流 30 分鐘條件下，每克藥材重量所得氯化小蘗鹼的波峰面積最大，顯示甲醇-稀鹽酸(100：1)及加熱迴流 30 分鐘為最佳萃取條件。

表一、不同條件萃取比較

萃取條件	氯化小蘗鹼波峰面積 (mAU)	最佳萃取
甲醇，加熱迴流 30 分鐘	13683	
甲醇-稀鹽酸(100：1)，加熱迴流 30 分鐘	21099	√
甲醇，超音波振盪 30 分鐘	10893	
甲醇-稀鹽酸(100：1)，超音波振盪 30 分鐘	16694	

(四) 最佳萃取次數評估

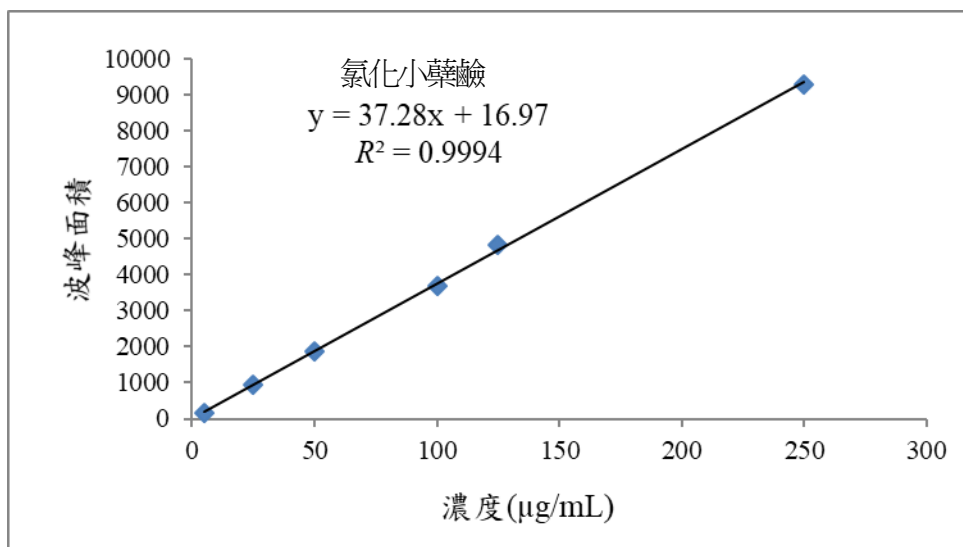
結果顯示萃取 2 次基本上已將氯化小葉鹼萃取完全(萃取率大於 99%)。

表二、黃藥檢品萃取次數評估

甲醇-稀鹽酸(100：1)，加熱迴流 30 分鐘	氯化小葉鹼波峰面積(mAU)
第 1 次	18588
第 2 次	1236
第 3 次	147
第 4 次	34
第 5 次	N.D.

(五) 標準品氯化小葉鹼檢量線

經不同濃度氯化小葉鹼(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 $y = 37.28x + 16.97$ ， $R^2 = 0.9994$ ，顯示濃度在 5.0–250 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、氯化小葉鹼之檢量線圖

表三、氯化小葉鹼之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
氯化小葉鹼	5.0–250	$y = 37.28x + 16.97$	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，氯化小葉鹼精密

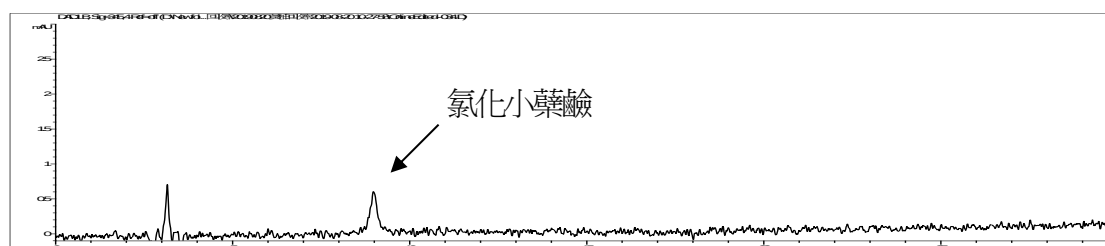
度之相對標準差為 0.28%，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

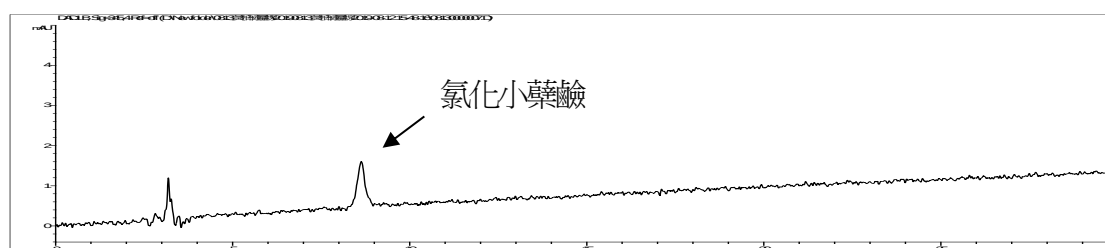
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，氯化小蘗鹼重複性之相對標準差為 1.32%，在系統適用性要求內。氯化小蘗鹼在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差為 0.49%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

氯化小蘗鹼偵測極限為 0.1 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 0.5 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、氯化小蘗鹼之偵測極限層析圖



圖五、氯化小蘗鹼之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	氯化小蘗鹼	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	100 $\mu\text{g/mL}$	0.28
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.1)	1.32
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.1)	0.49
偵測極限 (n=1)	0.1 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=1)	0.5 $\mu\text{g/mL}$	-

(九) 添加回收率試驗

氯化小葉鹼平均添加回收率為 95.6%，相對標準偏差為 4.70%。

表五、氯化小葉鹼添加回收率試驗

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	0.1	4.0135	4.0	7.56	88.64	95.62	4.70
2	0.1	4.0135	4.0	7.96	98.54		
3	0.1	4.0135	4.0	7.99	99.50		
4	0.1	4.0135	4.0	7.92	97.76		
5	0.1	4.0135	4.0	7.76	93.67		

(十) 臺灣市售黃蘗含量測定

10 批黃蘗藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，氯化小葉鹼的含量在 1.320–5.322%。氯化小葉鹼的百分含量乘以換算系數 0.905，0.905 是小葉鹼和氯化小葉鹼的摩爾質量比例。小葉鹼的含量為 1.194–4.817%。建議黃蘗藥材所含小葉鹼不得少於 1.2%。理論板數按氯化小葉鹼波峰計算應不低於 5000 (實際值為 7944)。

表六、臺灣市售黃蘗檢品之氯化小葉鹼含量

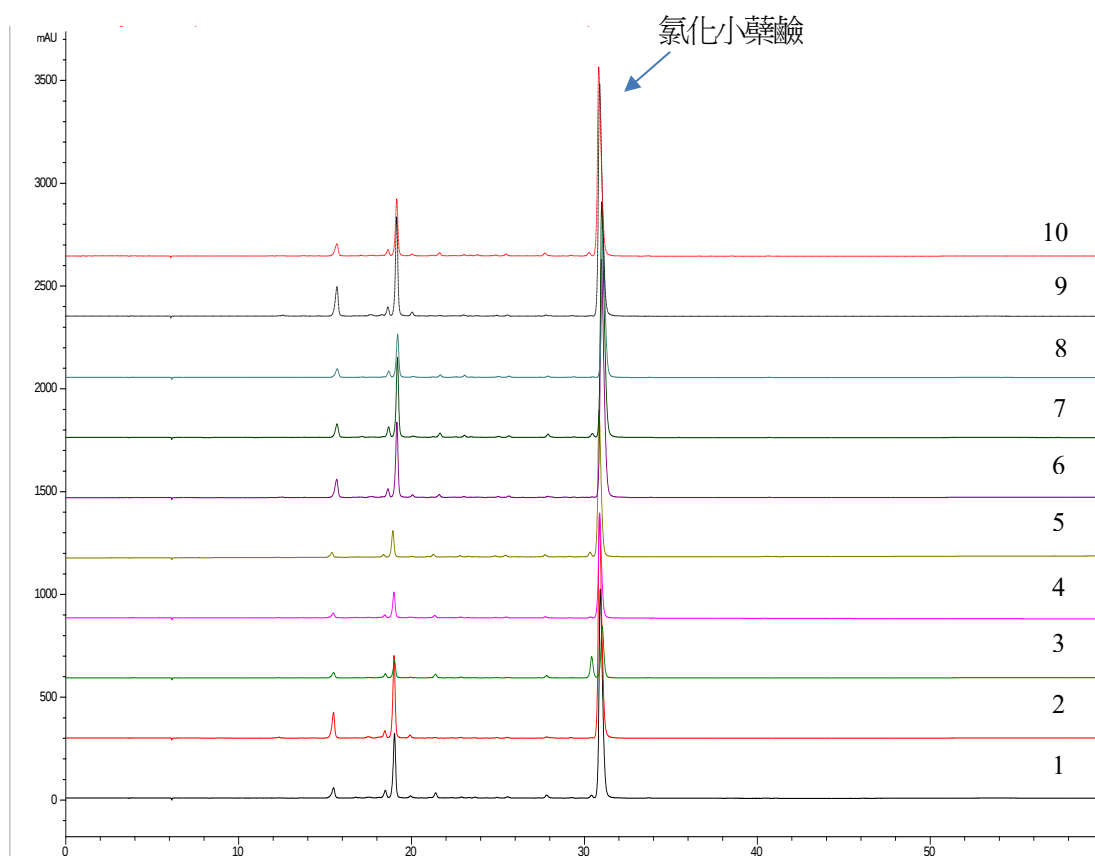
藥材編號(No.)	氯化小葉鹼含量(%)	小葉鹼含量(%)
1 (NC)	4.782	4.327
2 (NF)	5.322	4.817
3 (NJA)	1.320	1.194
4 (NRA)	4.150	3.756
5 (CA)	3.933	3.560
6 (SA)	4.895	4.430
7 (SJ)	4.551	4.118
8 (SGA)	4.464	4.040
9 (SGB)	3.324	3.008
10 (SU)	3.902	3.531
平均值±S.D.	4.064±1.121	3.678±1.015

(十一) 黃蘗藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 0.5 g，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇 30 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，以 No.1 濾紙過濾，轉移至 30 mL 定量瓶中，加甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μ m)，即得。並取 10 批市售黃蘗檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：Thermo Hypersil Gold Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 345 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：

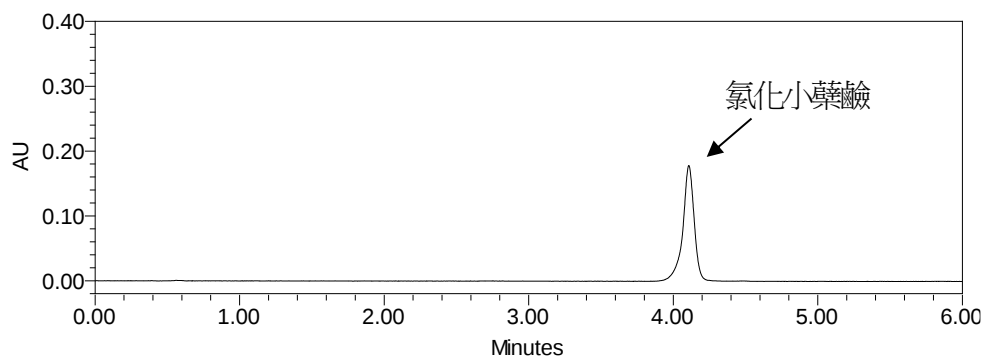
時間(min)	乙腈(%)	0.1%三氟乙酸(v/v, %)
0	0	100
40	50	50
50	100	0
60	100	0



圖六、10 批黃蘗藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 標準品氯化小蘗鹼之 UPLC 層析

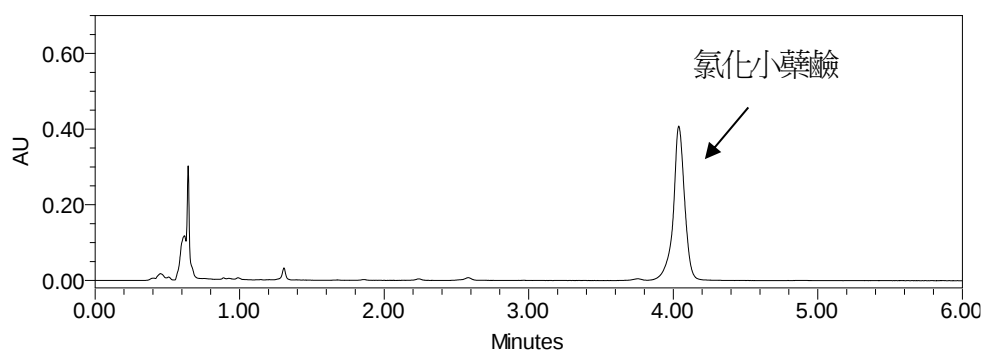
於滯留時間 4.11 分鐘處顯示氯化小蘗鹼標準品波峰(圖七)。



圖七、氯化小蘗鹼標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售黃蘗檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 4.04 分鐘處顯示黃蘗檢品中氯化小蘗鹼波峰(圖八)。

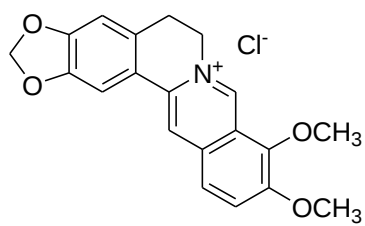


圖八、市售黃蘗檢品之 UPLC 層析圖

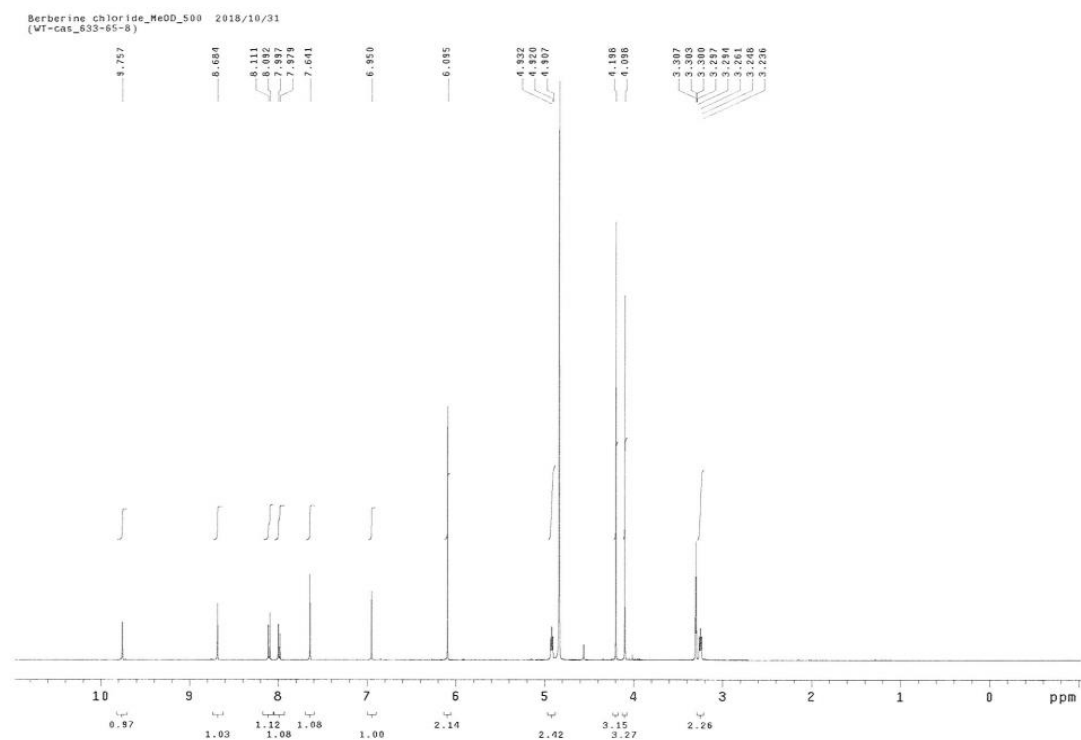
(十四) 氯化小蘗鹼的分子式、分子量與熔點

分子式： $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{NO}_4^+\text{Cl}^-$ ；分子量：371.81；熔點：204–206 °C；黃色固體。

(十五) 氯化小蘗鹼的結構

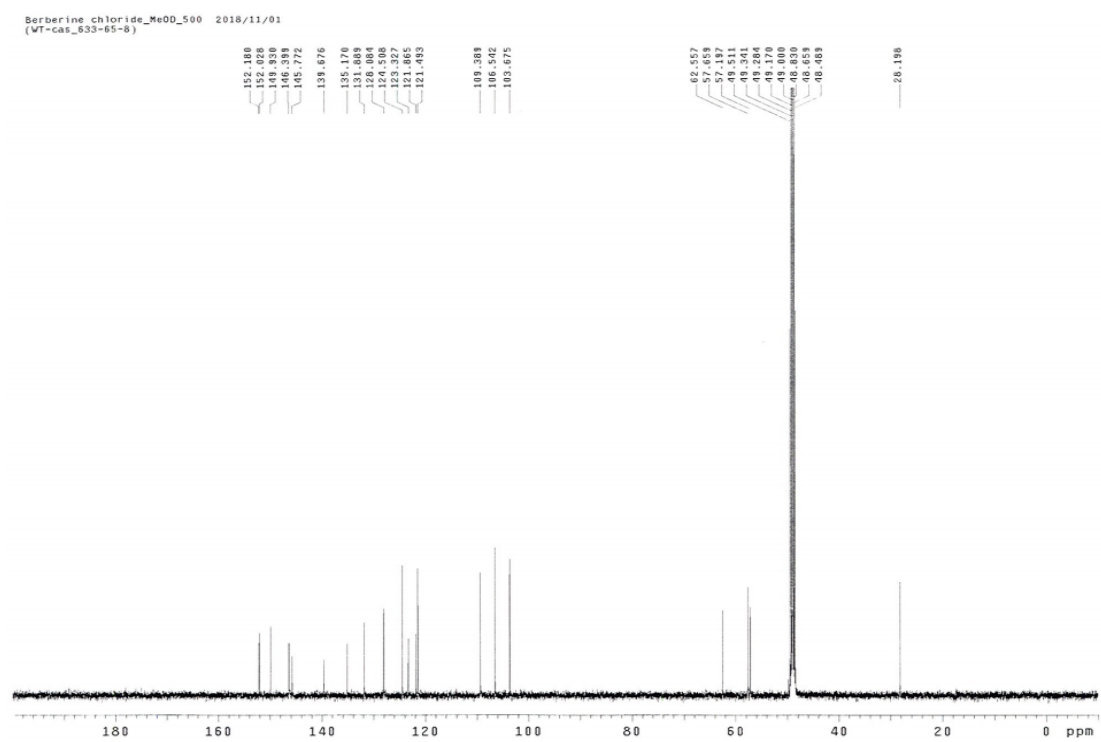


(十六) 氯化小葉鹼的 ^1H NMR 圖譜



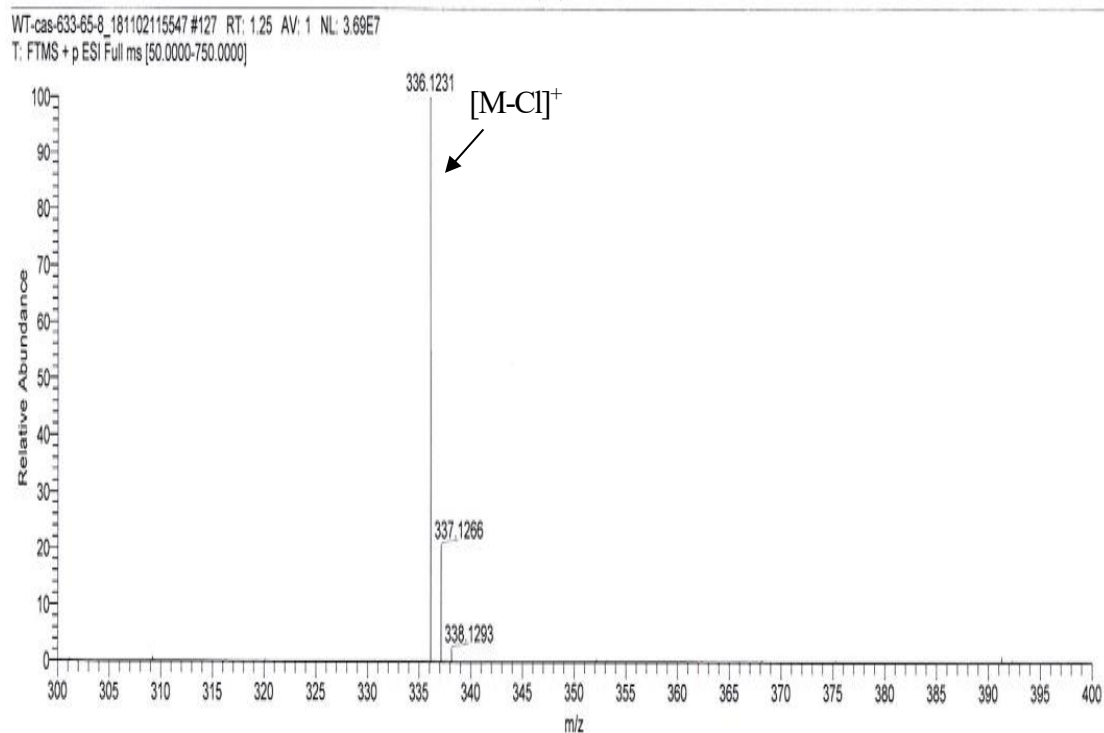
圖九、氯化小葉鹼的 ^1H NMR 圖譜(CD_3OD)

(十七) 氯化小葉鹼的 ^{13}C NMR 圖譜



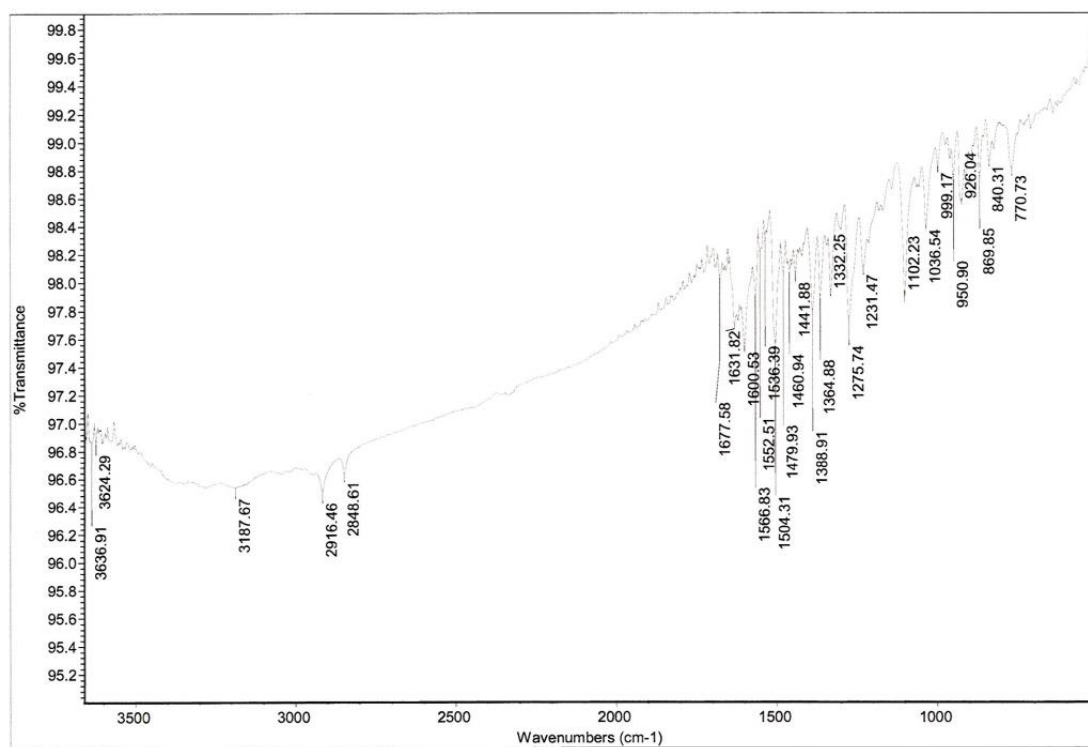
圖十、氯化小檗鹼的 ^{13}C NMR 圖譜(CD_3OD)

(十八) 氯化小葉鹼的 ESI-MS 圖譜



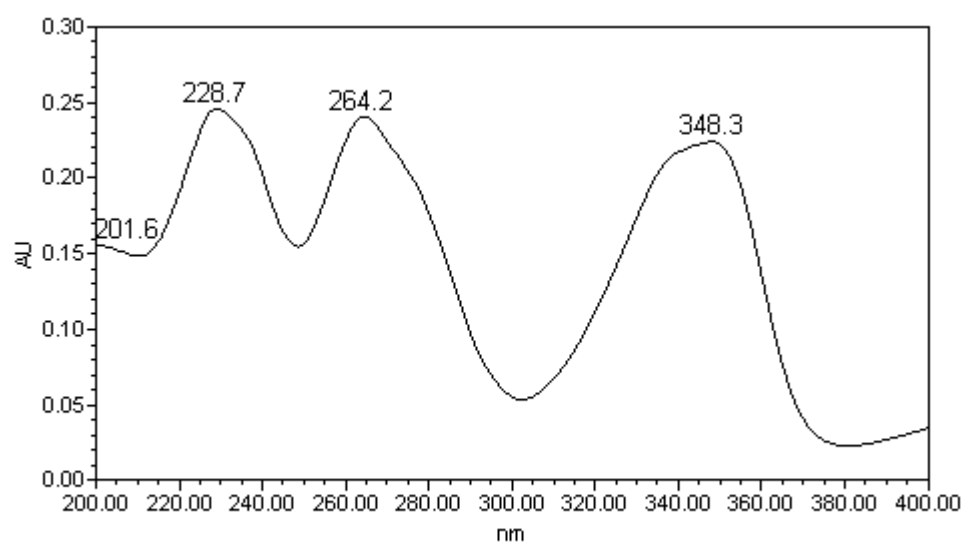
圖十一、氯化小葉鹼的 ESI-MS 圖譜

(十九) 氯化小葉鹼的 FTIR 圖譜



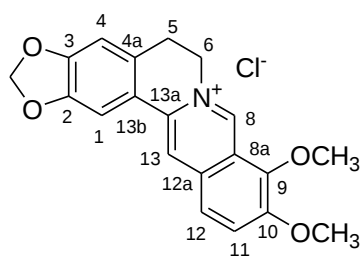
圖十二、氯化小葉鹼的 FTIR 圖譜

(二十) 氯化小葉鹼的 UV 圖譜



圖十三、氯化小葉鹼的 UV 圖譜

(二十一) 氯化小葉鹼的氫、碳化學位移



氯化小葉鹼

表七、氯化小葉鹼氫、碳化學位移(CD₃OD)^a

position	δ_H (500 MHz)	δ_C (125 MHz)
1	7.64 (s)	106.5
2	-	149.9
3	-	152.2
4	6.95 (s)	109.4
4a	-	131.9
5	3.25 (t, 6.5)	28.2
6	4.92 (t, 6.5)	57.2
8	9.76 (s)	146.4
8a	-	123.3
9	-	145.8
10	-	152.0
11	8.10 (d, 9.0)	128.1
12	7.99 (d, 9.0)	124.5
12a	-	135.2
13	8.68 (s)	121.5
13a	-	139.7
13b	-	121.9
2,3-OCH ₂ O	6.10 (s)	103.7
9-OCH ₃	4.19 (s)	62.6
10-OCH ₃	4.10 (s)	57.7

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

黃蘗飲片(PHELLODENDRI CORTEX)

一、材料

購自於臺灣各地中藥廠與中藥店黃蘗飲片共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Agilent 1260 Infinity Quaternary LC，包含 Quaternary pump、Autosampler、Thermostatted column compartment、Diode-Array Detector；層析管柱 Thermo Hypersil GOLD 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 Thermo syncromis 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(99.9%)、磷酸二氫鉀(KH₂PO₄)皆購自於 Merck，十二烷基硫酸鈉(Sodium dodecyl sulfate, SDS)或硫酸月桂酯鈉(Sodium lauryl sulfate, SLS)購自於 Alfa Aesar。

(二) 標準品

標準品氯化小蘗鹼(Berberine chloride)購自於普思生物科技股份有限公司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

黃蘗飲片最佳萃取溶媒同黃蘗藥材。

(二) 最佳萃取次數評估

黃蘗飲片最佳萃取次數同黃蘗藥材。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品氯化小蘗鹼 5.0 mg，加 5 mL 甲醇製成每 1 mL 含 1000 μg 的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 100 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 0.5 g，置 100 mL 圓底瓶中，準

確加入甲醇-稀鹽酸(100：1) 30 mL，加熱迴流 30 分鐘，冷卻後以 No. 1 濾紙過濾，取濾液，殘渣部分重複提取 1 次，合併濾液，轉移至 100 mL 定量瓶中，加甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μ m)，即得。

(五) 測定法

分別準確吸取對照標準品溶液、檢品溶液 10 μ L，注入 HPLC，測定，用標準曲線計算溶液中氯化小蘗鹼的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取氯化小蘗鹼標準品儲備液適量(1000 μ g/mL)，以甲醇稀釋成含氯化小蘗鹼分別為 250、125、100、50、25、5.0 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

以氯化小蘗鹼濃度為 100 μ g/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以氯化小蘗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：取同一批市售黃蘗飲片粉末，依黃蘗飲片檢品溶液製備方法平行製備 5 份黃蘗飲片檢品溶液，進樣測定，以氯化小蘗鹼的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售黃蘗飲片粉末，依黃蘗飲片檢品溶液製備方法製備黃蘗飲片檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，以氯化小蘗鹼的含量為指標，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 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。

(十) 添加回收率試驗

取已知氯化小蘗鹼含量的黃蘗飲片粉末 5 份，每份準確稱取約 0.1 g，分別加入 1 mL 的氯化小蘗鹼溶液(4.0 mg/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：Thermo Hypersil GOLD Column (250 × 4.6 mm，5 μm)
2. 檢測波長：UV 345 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：35°C
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：

時間(min)	移動相溶液*
0	100
30	100

*移動相溶液配置方法：取乙腈：水(1：1)混合溶液 1000 mL，加入 3.4 g 磷酸二氫鉀與 1.7 g 硫酸月桂酯鈉，超音波振盪 30 分鐘後抽氣過濾使用。

(十二) 臺灣市售黃蘗飲片含量測定

取 10 批市售黃蘗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 公式計算樣品氯化小蘗鹼的百分比含量。

(十三) 黃蘗飲片檢品之 UPLC 層析條件

1. 層析管：Thermo syncromis C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 345 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

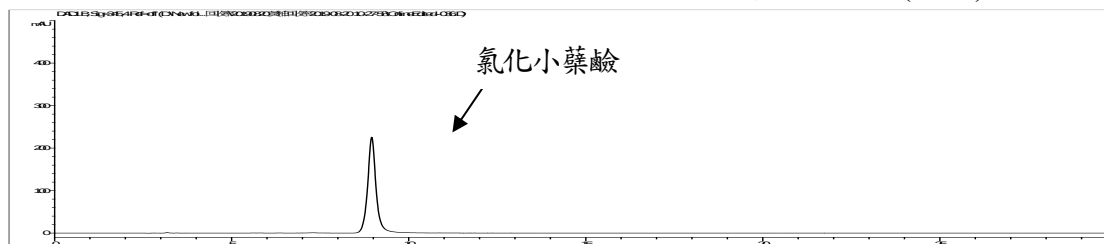
時間(min)	移動相溶液*
0	100
6	100

*移動相溶液配置方法：取乙腈：水(1：1)混合溶液 1000 mL，加入 3.4 g 磷酸二氫鉀與 1.7 g 硫酸月桂酯鈉，超音波振盪 30 分鐘後抽氣過濾使用。

五、結果

(一) 標準品氯化小蘗鹼之 HPLC 層析

於滯留時間 8.96 分鐘處顯示氯化小蘗鹼標準品的波峰(圖一)。

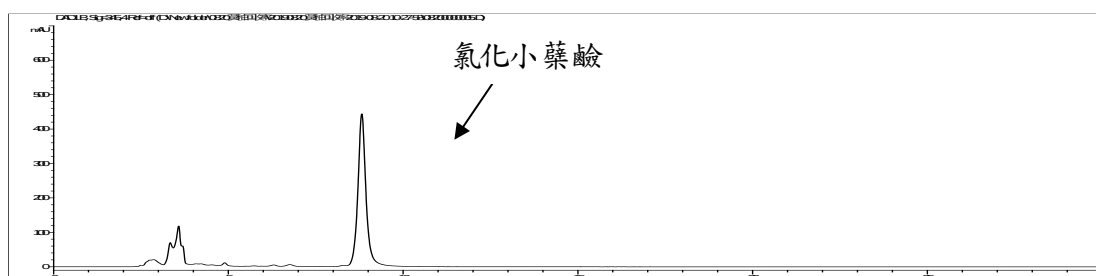


圖一、氯化小蘗鹼標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售黃蘗飲片檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 8.82 分鐘處顯示黃蘗飲片檢品中氯化小蘗鹼的波峰(圖二)。

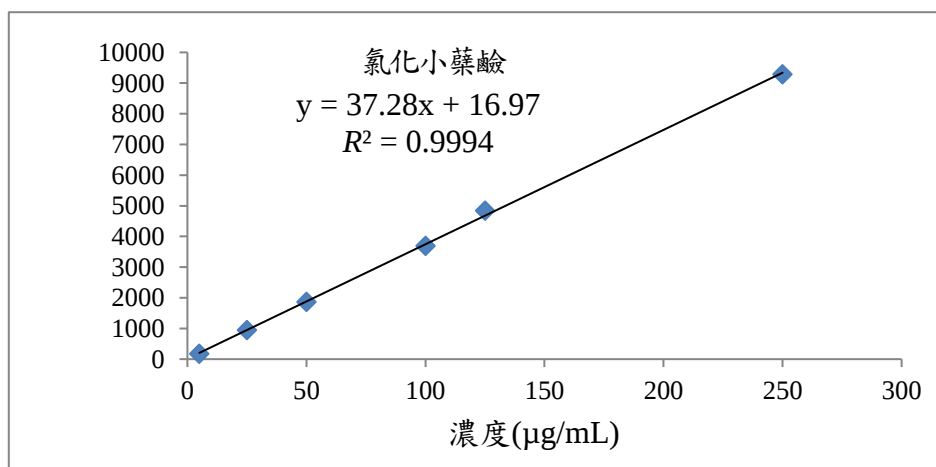
分離率(R)為 1.55，托尾因子(T)為 1.00，均在系統適用性要求內。



圖二、市售黃蘗飲片檢品之 HPLC 層析圖

(三) 標準品氯化小蘗鹼檢量線

經不同濃度氯化小蘗鹼(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 $y = 37.28x + 16.97$ ， $R^2 = 0.9994$ ，顯示濃度在 5.0–250 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



波 峰 面 積

圖三、氯化小蘗鹼之檢量線圖

表一、氯化小蘗鹼之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
氯化小蘗鹼	5.0–250	$y = 37.28x + 16.97$	0.9994

(四) 精密度試驗

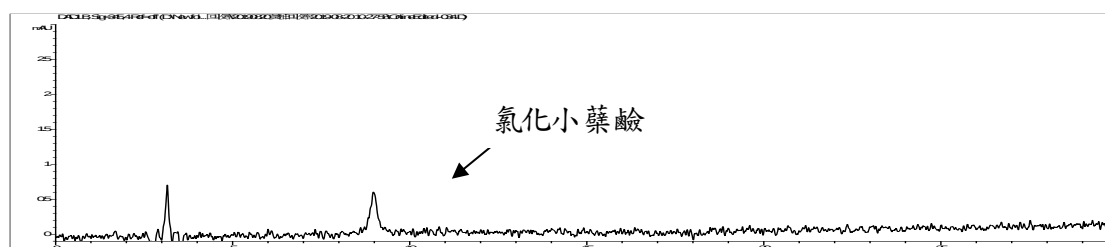
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，氯化小蘗鹼精密度之相對標準差為 0.28%，在系統適用性要求內。

(五) 重複性與穩定性試驗

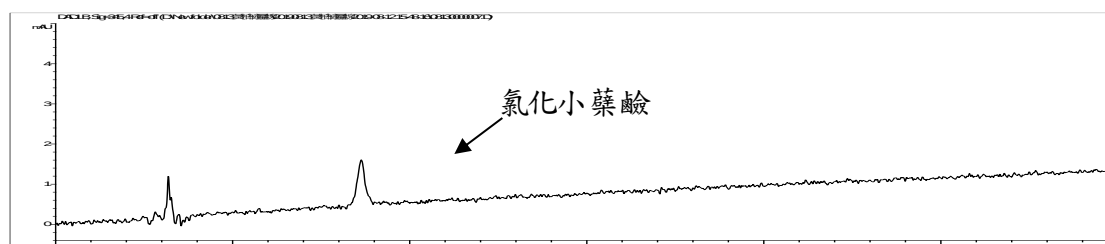
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，氯化小蘗鹼重複性之相對標準差為 3.95%，在系統適用性要求內。氯化小蘗鹼在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差為 0.28%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(六) 偵測極限與定量極限試驗

氯化小蘗鹼偵測極限為 0.1 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 0.5 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、氯化小蘗鹼之偵測極限層析圖



圖五、氯化小蘗鹼之定量極限層析圖

表二、各項檢驗分析

檢測項目	氯化小蘗鹼	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	100 µg/mL	0.28
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.1)	3.95
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.1)	0.28
偵測極限 (n=1)	0.1 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	0.5 µg/mL	-

(七) 添加回收率試驗

氯化小蘗鹼平均添加回收率為 94.8%，相對標準偏差為 2.36%。

表三、氯化小蘗鹼添加回收率

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	0.1	4.1056	4.0	7.9390	95.84	94.82	2.36
2	0.1	4.1056	4.0	7.9906	97.13		
3	0.1	4.1056	4.0	7.9543	96.21		
4	0.1	4.1056	4.0	7.7833	91.94		
5	0.1	4.1056	4.0	7.8246	92.98		

(八) 臺灣市售黃蘗飲片含量測定

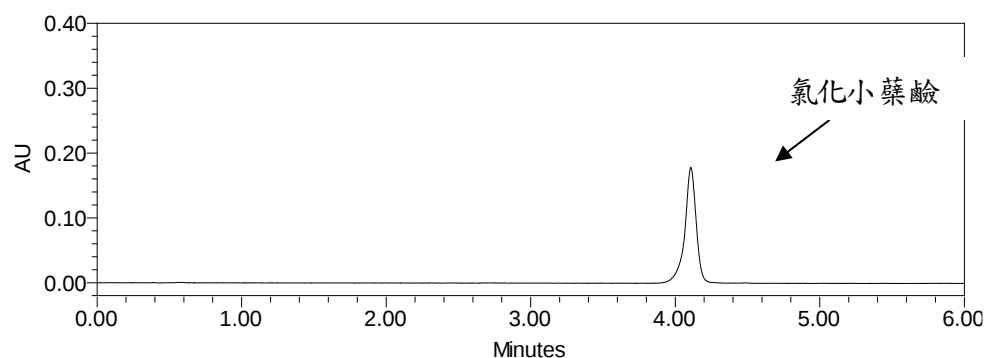
10 批黃蘗飲片之含量測定結果(乾燥品)如表四所示，氯化小蘗鹼的含量為 3.913–5.742%。氯化小蘗鹼的百分含量乘以換算系數 0.905，0.905 是小蘗鹼和氯化小蘗鹼的摩爾質量比例。小蘗鹼的含量為 3.542–5.196%。建議黃蘗藥材所含小蘗鹼不得少於 1.2%。理論板數按氯化小蘗鹼波峰計算應不低於 5000 (實際值為 7686)。

表四、臺灣市售黃蘗飲片檢品之氯化小蘗鹼含量

藥材編號(No.)	氯化小蘗鹼含量(%)	小蘗鹼含量(%)
1 (NFA)	4.503	4.075
2 (NJ)	4.289	3.881
3 (NR)	4.108	3.718
4 (NY)	5.742	5.196
5 (CD)	4.518	4.088
6 (SE)	4.325	3.914
7 (SUA)	5.118	4.632
8 (SC)	4.119	3.728
9 (SR)	4.188	3.791
10 (SO)	3.913	3.542
平均值±S.D.	4.482±0.551	4.056±0.499

(九) 標準品氯化小蘗鹼之 UPLC 層析

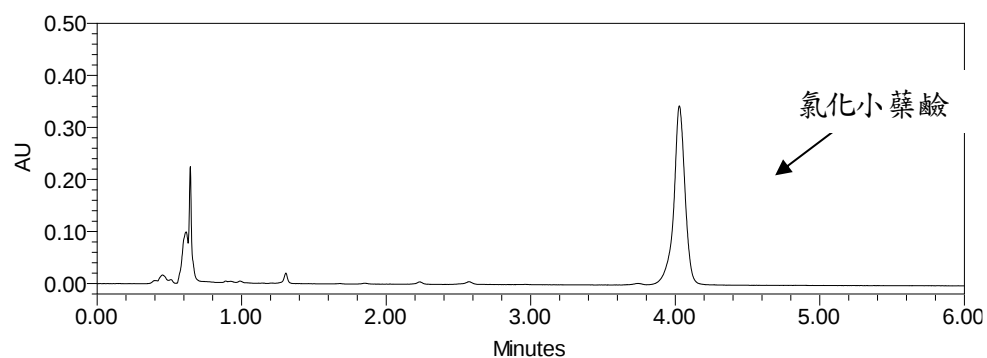
於滯留時間 4.11 分鐘處顯示氯化小蘗鹼標準品的波峰(圖六)



圖六、氯化小蘗鹼標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十) 市售黃蘗飲片檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 4.03 分鐘顯示黃蘗飲片檢品中氯化小蘗鹼的波峰(圖七)。



圖七、市售黃蘗飲片檢品之 UPLC 層析圖

黃藥

生藥名：PHELLODENDRI CORTEX

英文名：Phellodendron Bark

基 原：本品為芸香科 Rutaceae 植物黃皮樹 *Phellodendron chinense* C.K.Schneid. 或黃藥 *Phellodendron amurense* Rupr.之乾燥樹皮。前者習稱「川黃藥」，後者習稱「關黃藥」。

一、方法

- (一) 檢品溶液 **【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版 2018) ✓**
——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 10 mL，超音波振盪 5 分鐘，過濾，取濾液作為檢品溶液。
【萃取方法 2】(香港中藥材標準第一冊)
——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 20 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，濾液濃縮至乾，殘渣加甲醇 2 mL，作為檢品溶液。
【萃取方法 3】(中華人民共和國藥典 2015)
——取本品粉末 0.2 g，加 1%醋酸甲醇溶液 40 mL，60 °C 超音波振盪 20 分鐘，過濾，濾液濃縮至 2 mL，取濾液作為檢品溶液。
- (二) 對照標準品 取氯化小蘗鹼(Berberine Chloride)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】(臺灣中藥典第三版 2018) ✓**
——正丁醇：冰乙酸：水 (7：1：2)
【展開劑 2】(香港中藥材標準第一冊)
——正丁醇：冰乙酸：水 (4：1.5：1)
- (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。

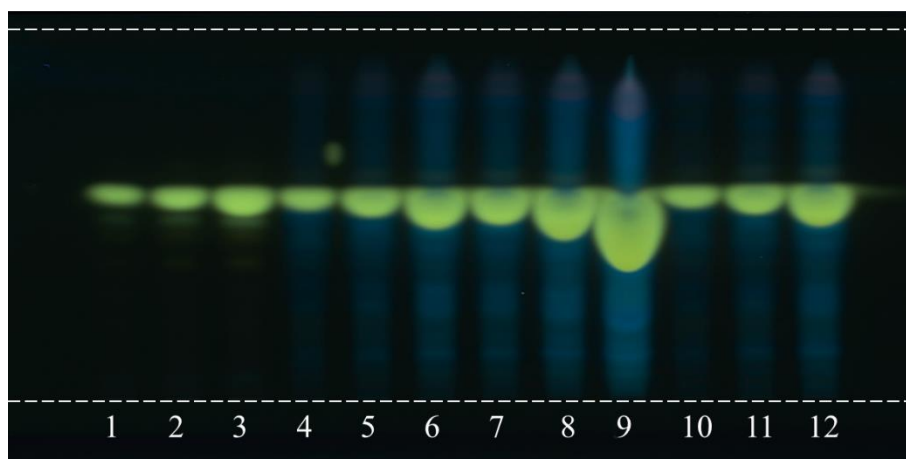
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：108/10/02

相對溼度(RH)：72%

溫度(RT)：22 °C

【展開劑 1】 (臺灣中藥典第三版 2018)——正丁醇：冰乙酸：水 (7：1：2)



編號	名稱	含量
1，2，3	氯化小蘗鹼 (1.0 mg/mL)	1，2，5 μ L
4，5，6	檢品溶液 9【萃取方法 1】	1，2，5 μ L
7，8，9	檢品溶液 9【萃取方法 2】	1，2，5 μ L
10，11，12	檢品溶液 9【萃取方法 3】	1，2，5 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氯化小蘗鹼，因方法簡化，故選擇臺灣中藥典萃法【萃取方法 1】。

建議點注量：氯化小蘗鹼標準品溶液 1 μ L，檢品溶液【萃取方法 1】 1 μ L。

三、溶媒系統選擇

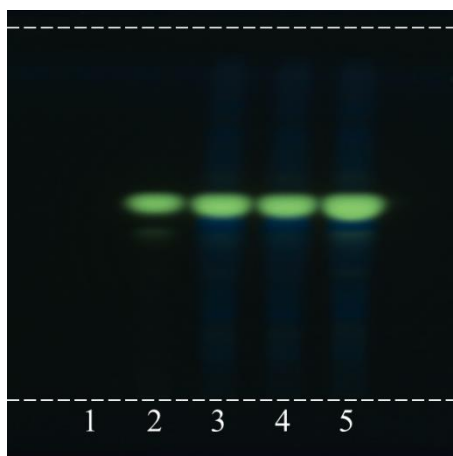
實驗日期：108/10/08

相對溼度(RH)：55%

溫度(RT)：26 °C

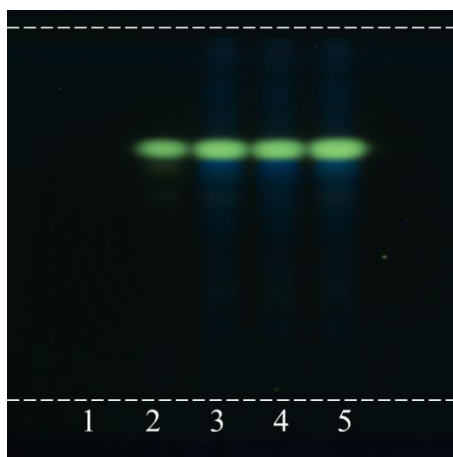
【展開劑 1】 (臺灣中藥典第三版 2018)——正丁醇：冰乙酸：水 (7：1：2)

【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第三版 2018) —— HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(氯化小蘗鹼 R_f 值為 0.52)



【展開劑 2】 (香港中藥材標準第一冊)——正丁醇：冰乙酸：水 (4：1.5：1)

【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第三版 2018) —— HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(氯化小蘗鹼 R_f 值為 0.68)



1：Blank

2：氯化小蘗鹼

3，4：檢品溶液 9

5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 1】方式，2 種展開劑展開皆可從檢品溶液中分離與檢出氯化小蘗鹼，因 R_f 值較適中，故採用臺灣中藥典第三版之【展開劑 1】。

四、觀察方式選擇

實驗日期：108/10/08

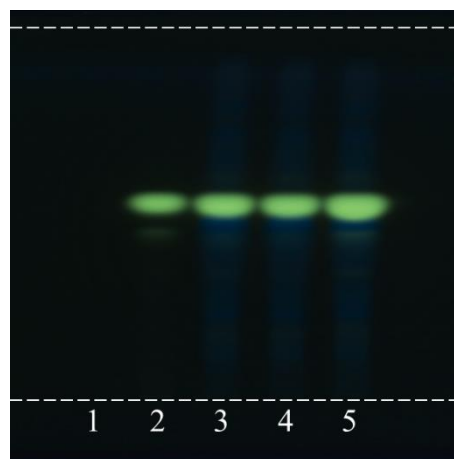
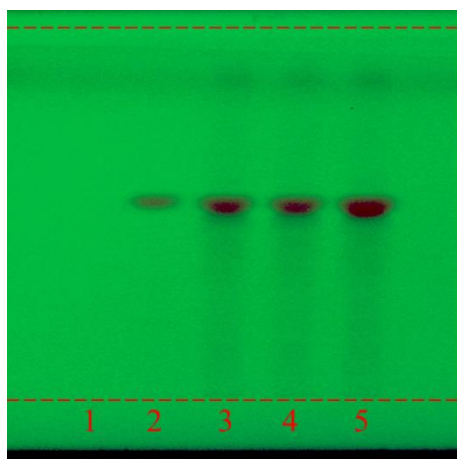
相對溼度(RH)：55%

溫度(RT)：26 °C

【展開劑 1】 (臺灣中藥典第三版 2018)——正丁醇：冰乙酸：水 (7：1：2)

【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第三版 2018) — HPTLC 紫外光(254 nm)檢出

【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第三版 2018) — HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



1：Blank

2：氯化小蘗鹼

3，4：檢品溶液 9

5：Spike

建議觀察方式：於紫外光(365 nm)檢視下。

五、十批黃蘗樣品檢測

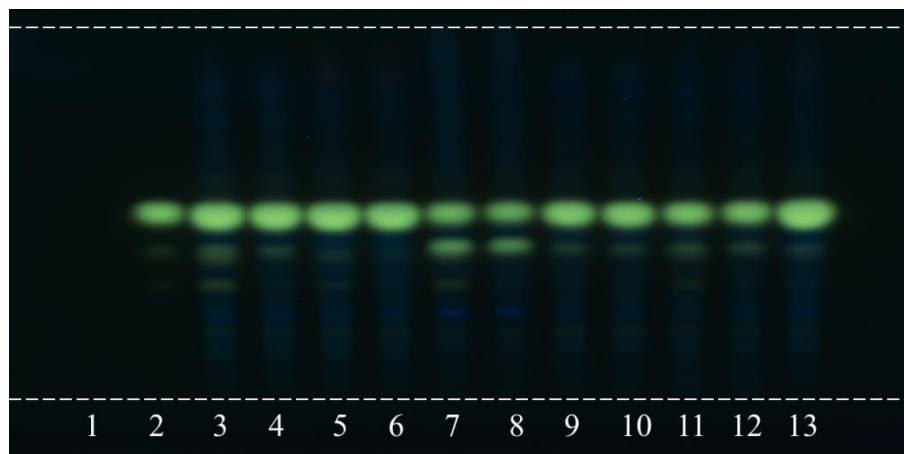
實驗日期：108/10/08

相對溼度(RH)：55%

溫度(RT)：26 °C

【展開劑 1】 (臺灣中藥典第三版 2018)——正丁醇：冰乙酸：水 (7：1：2)

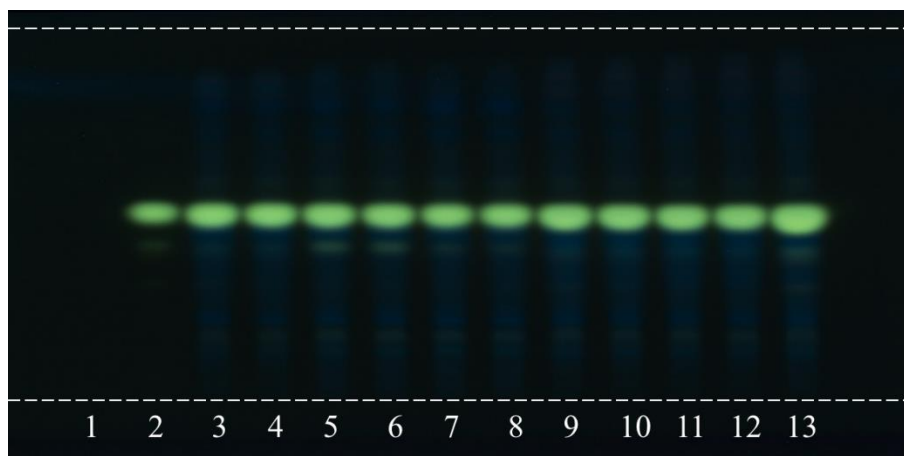
【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第三版 2018)－HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	氯化小蘗鹼(1.0 mg/mL)
3，4	檢品溶液 1 (NC)
5，6	檢品溶液 2 (NF)
7，8	檢品溶液 3 (NJA)
9，10	檢品溶液 4 (NRA)
11，12	檢品溶液 5 (CA)
13	Spike (檢品溶液 9)

【展開劑 1】 (臺灣中藥典第三版 2018)——正丁醇：冰乙酸：水 (7：1：2)

【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第三版 2018)－HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	氯化小蘗鹼(1.0 mg/mL)
3，4	檢品溶液 6 (SA)
5，6	檢品溶液 7 (SJ)
7，8	檢品溶液 8 (SGA)
9，10	檢品溶液 9 (SGB)
11，12	檢品溶液 10 (SU)
13	Spike (檢品溶液 9)

結論與建議：以臺灣中藥典第三版之【萃取方法 1】方式，並以臺灣中藥典第三版之【展開劑 1】分離與檢出氯化小蘗鹼，於紫外光(365 nm)下檢視之。

黃蘗(飲片)

六、十批黃蘗飲片樣品檢測

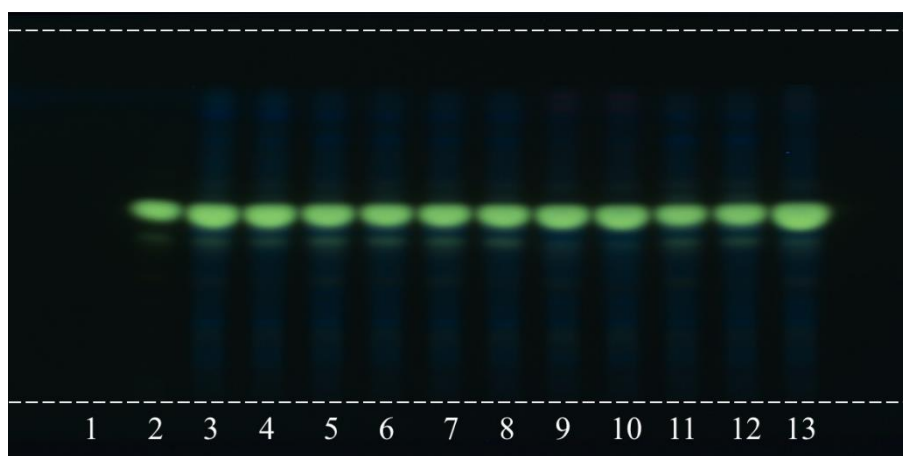
實驗日期：108/10/09

相對溼度(RH)：57%

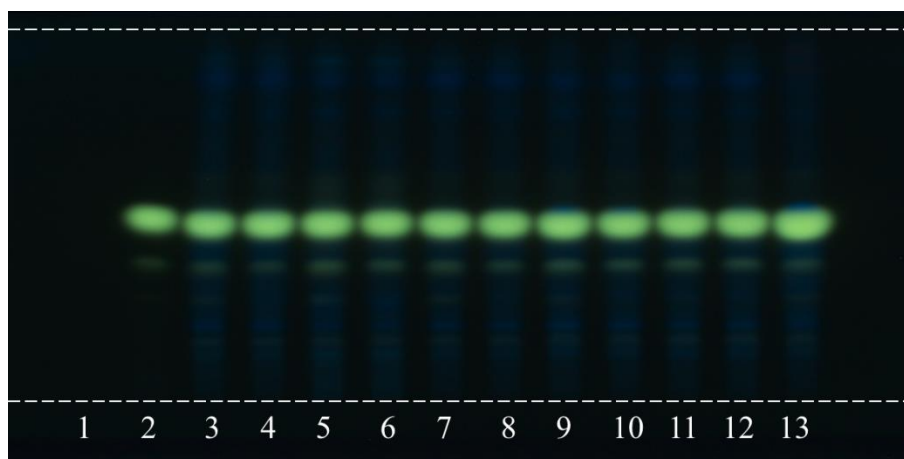
溫度(RT)：25 °C

【展開劑 1】 (臺灣中藥典第三版 2018)——正丁醇：冰乙酸：水 (7：1：2)

【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第三版 2018)－HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	氯化小蘗鹼(1.0 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 1 (NFA)
5 , 6	檢品溶液 2 (NJ)
7 , 8	檢品溶液 3 (NR)
9 , 10	檢品溶液 4 (NY)
11 , 12	檢品溶液 5 (CD)
13	Spike (檢品溶液 1)



1	Blank
2	氯化小蘗鹼(1.0 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 6 (SE)
5 , 6	檢品溶液 7 (SUA)
7 , 8	檢品溶液 8 (SC)
9 , 10	檢品溶液 9 (SR)
11 , 12	檢品溶液 10 (SO)
13	Spike (檢品溶液 1)

結論與建議：飲片鑑別同藥材。