

橘紅

(CITRI RUBRUM EXOCARPIUM)

橘紅 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).....	3

橘紅 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.....	12

橘紅 飲片 HPLC

一、材料.....	22
二、儀器及層析管柱.....	22
三、實驗藥品及試劑來源.....	22
四、方法.....	22
五、結果.....	25

橘紅 TLC

一、方法.....	29
二、萃法選擇及濃度測試.....	31
三、溶媒系統選擇.....	32
四、觀察方式選擇.....	36
五、十批橘紅藥材樣品檢測.....	37

六、十批橘紅飲片樣品檢測.....	39
-------------------	----

橘紅

(CITRI RUBRUM EXOCARPIUM)

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橘去除白色內瓢的乾燥外層果皮。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：橘紅

生藥名：CITRI RUBRUM EXOCARPIUM

英文名：Red Tangerine Exocarp

基原：本品為芸香科 Rutaceae 植物橘 *Citrus reticulata* Blanco 及其栽培變種去除白色內瓢的乾燥外層果皮。

採收加工：於 10~12 月摘取成熟之果實，刮去內果皮，乾燥，即得。

藥材性狀：本品呈長條形、橢圓形、卵形或不規則薄片狀，邊緣皺縮，向內捲曲；外表面黃棕色或橙紅色，久儲者色深，密布黃白色突起或凹下的油室；內表面色較淺，密布凹下透光小圓點。氣芳香，味微苦、麻。

飲片性狀：本品飲片呈不規則薄片狀，其性狀特徵同藥材。

生長分佈：常綠小喬木，通常有刺，喜日照、溫暖濕潤的氣候與排水良好之土壤，不耐寒。花盛開期 3~4 月，果實成熟期 10~12 月。中國各地及臺灣皆有產。

三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2)

1. 表皮細胞 1 層外有角質層，細胞呈扁長方形、扁方形。
2. 表皮下方薄壁細胞呈切向延長，細胞長方形或不規則形。
3. 油室 1~2 層，呈類卵圓形或類橢圓形，不規則散生且大小不一，直徑約 190~520 μm ，由分泌細胞組成，分泌細胞呈扁長方形或不規則形，內含有油滴。
4. 草酸鈣方晶存在於薄壁細胞中，並且多見於外側細胞，直徑 5~15 μm 。
5. 中果皮已去除，或有少數殘留。

四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3)

1. 本品粉末淡黃棕色。
2. 表皮細胞表面觀多角形或類方形，壁薄。
3. 氣孔呈類圓形或長橢圓形，副衛細胞 6~8 個，不明顯。

4. 橙皮苷結晶散落或存在於薄壁細胞中，呈淡黃色無定形或類圓形。
5. 草酸鈣方晶可見，亦有雙錐形、菱形、柱形或不規則多面體，直徑 5~15 μm ，偏光顯微鏡下呈亮白色至多彩色。
6. 偶可見殘留導管。



圖 1A 橘紅藥材圖

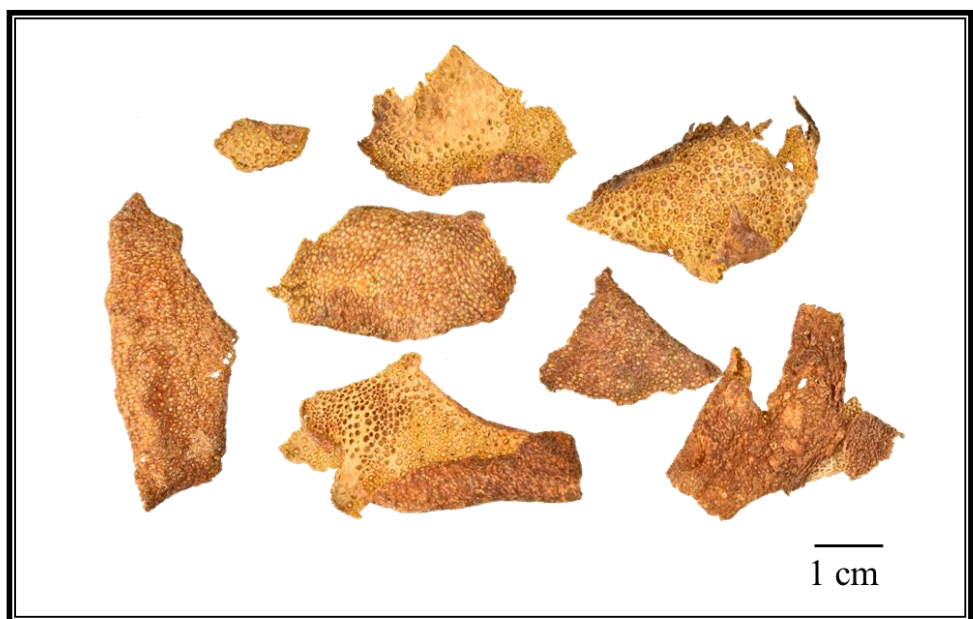


圖 1B 橘紅飲片藥材圖

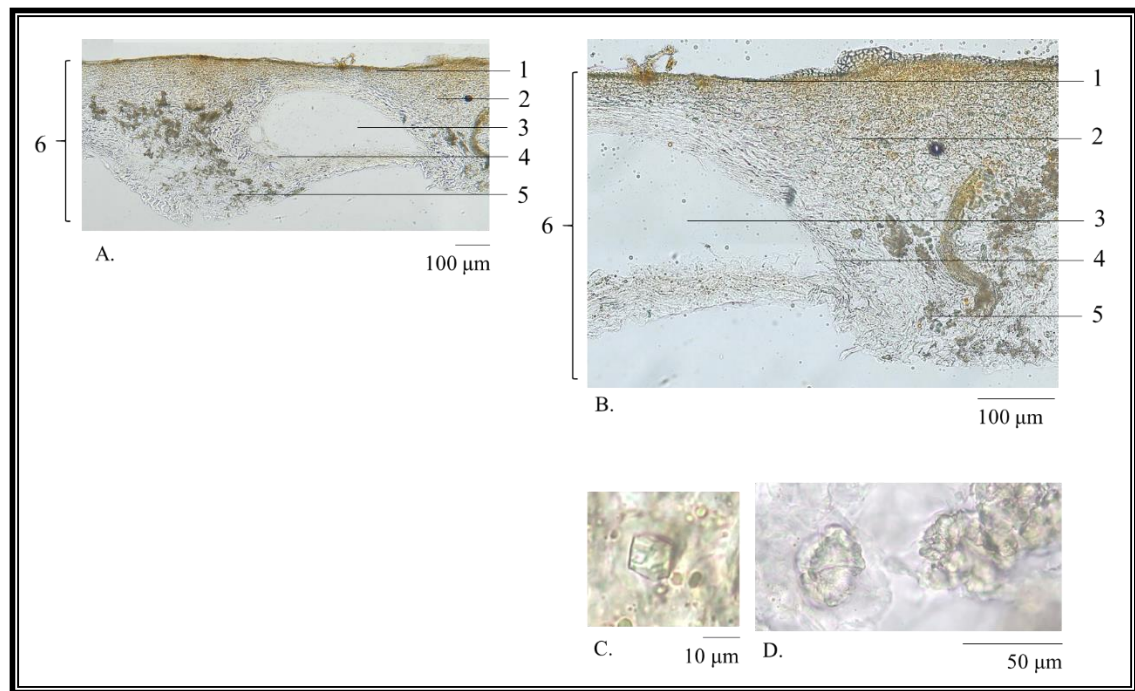


圖 2 橘紅橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖 C.草酸鈣方晶 D.橙皮苷結晶

1.表皮 2.薄壁細胞 3.油室 4.分泌細胞 5.橙皮苷結晶 6.外果皮

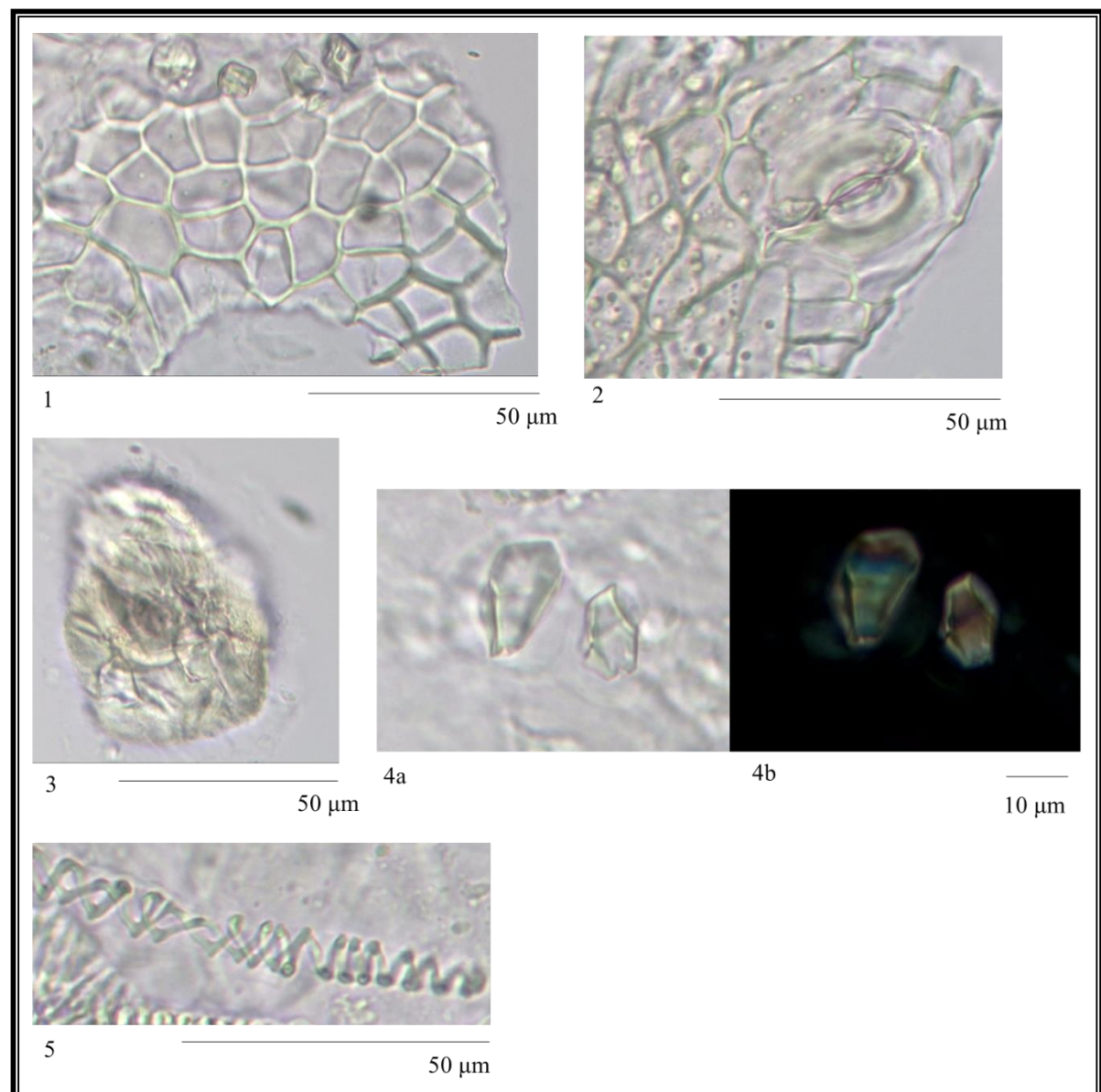


圖 3 橘紅粉末顯微特徵圖

a. 光學顯微鏡下特徵 b. 偏光顯微鏡下特徵

1. 表皮細胞 2. 氣孔 3. 橙皮苷結晶 4. 草酸鈣方晶 5. 螺紋導管

參考文獻

1. 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。411~412 頁。
2. 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。457~458 頁。
3. 肖培根等編輯(2001)。新編中藥志第二卷。北京：化學工業出版社。342~350、665 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編製(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。153~165 頁。
5. 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。395~396 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。671 頁。
7. 國家藥典委員會(2009)。中華人民共和國藥典中藥材顯微鑑別彩色圖鑑。人民衛生出版社。447 頁。
8. 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。410~412 頁。

橘紅(CITRI EXOCARPIUM RUBRUM)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店橘紅藥材共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Waters 2695 Separation Module，包含 Waters 2996、Photodiode Array Detector；層析管柱 COSMOSIL 5C₁₈ AR-II-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、Sampler 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(99.9%)購自於 Sigma-Aldrich；乙醇(95%)購自於國韶實業有限公司；甲醇(HPLC grade)購自於 Merck。

(二) 標準品

標準品橙皮苷(Hesperidin)來自於中醫藥司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取條件評估

取本品粉末 2 份，每份準確稱取 0.2 g，1 份置 100 mL 圓底瓶中，準確加入甲醇 50 mL，加熱迴流處理 1 小時；1 份置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇 50 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 1 小時，以 No. 1 濾紙過濾，濾液移入 50 mL 容量瓶中，加甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μm)，即得。每針 10 μL 注入高效能液相層析儀(HPLC) 以所測得每克重量之標準品橙皮苷最大波峰面積為最佳橘紅萃取條件。

(二) 最佳萃取時間評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網) 3 份，每份準確稱取 0.2 g，置 100 mL 圓底瓶中，準確加入甲醇各 50 mL，加熱迴流 1 小時、2 小時、3 小時，冷卻後，以 No. 1 濾紙過濾，取濾液移入 50 mL 容量瓶中，加甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μm)，即得。每針 10 μL 注入高效能液相層析儀(HPLC)，以測得標準品橙皮苷最大波峰面積為最佳橘紅萃取時間。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品橙皮苷 1.0 mg，加 2.0 mL 的甲醇製成每 1 mL 含橙皮苷 500 µg 的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 60 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 0.2 g，置 100 mL 圓底瓶中，準確加入甲醇 50 mL，加熱迴流處理 1 小時，冷卻後，以 No. 1 濾紙過濾，濾液移入 50 mL 容量瓶中，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，用標準曲線分別計算溶液中橙皮苷的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取橙皮苷標準品儲備溶液適量(500 µg/mL)，以甲醇稀釋成含橙皮苷分別為 200、120、60、30、10 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 。

(七) 精密度試驗

以橙皮苷為 60 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以橙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：取同一批市售橘紅藥材粉末，依橘紅藥材檢品溶液製備方法平行製備 5 份橘紅檢品溶液，進樣測定，以橙皮苷的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售橘紅藥材粉末，依橘紅藥材檢品溶液製備方法製備橘紅檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以橙皮苷的波峰面積為指標，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

取已知橙皮苷含量的橘紅藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.1 g，分別加入橙皮苷 3.0 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：COSMOSIL 5C₁₈ AR-II-C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)
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 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	水(%)
0	22	78
30	22	78

(十二) 臺灣市售橘紅藥材含量測定

取 10 批市售橘紅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 公式計算樣品橙皮苷的百分含量。

(十三) 橘紅檢品之 UPLC 層析條件

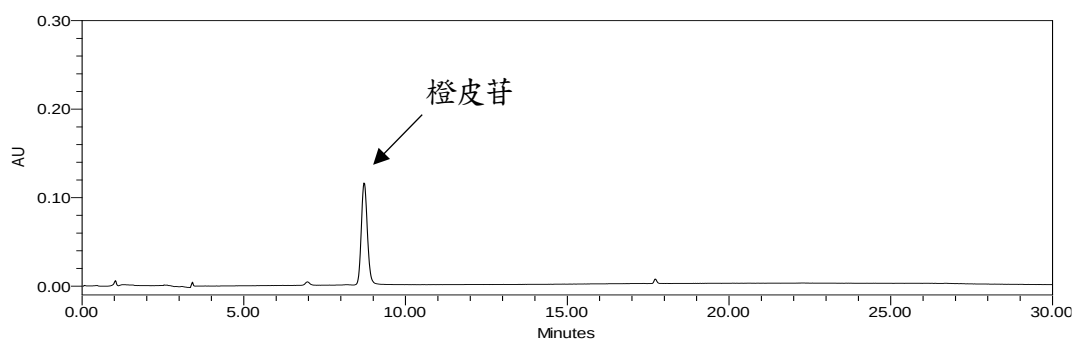
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 283 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	水(%)
0	22	78
8	22	78

五、結果

(一) 標準品橙皮苷之 HPLC 層析

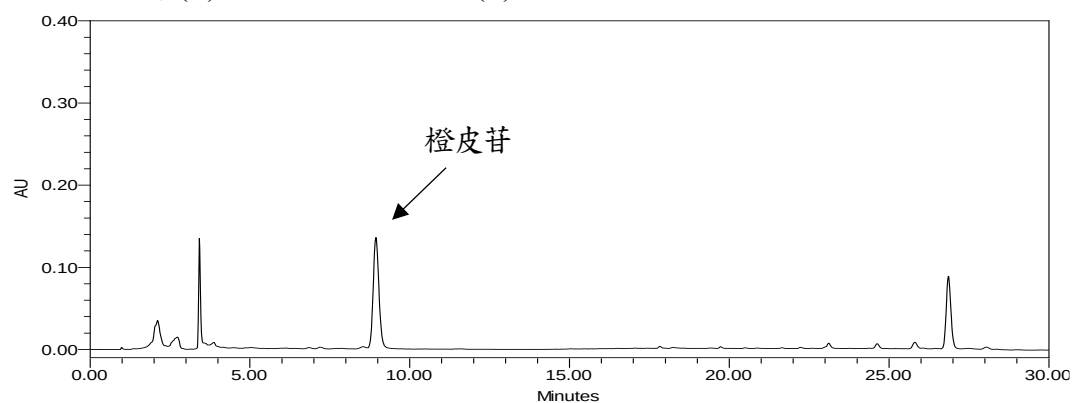
於滯留時間 8.72 分鐘處顯示橙皮苷標準品波峰(圖一)。



圖一、橙皮苷標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售橘紅藥材檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 8.94 分鐘處顯示橘紅藥材檢品中橙皮苷波峰(圖二)。橙皮苷分離率(R)為 5.83，拖尾因子(T)為 1.13，均在系統適用性要求內。



圖二、市售橘紅藥材檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取條件評估

加熱迴流處理 1 小時條件下，每克藥材重量所得橙皮苷的波峰面積最大，顯示加熱迴流處理 1 小時為最佳萃取條件。

表一、不同條件萃取比較

萃取條件	橙皮苷波峰面積	最佳萃取
加熱迴流 1 小時	2101147	√
超音波振盪 1 小時	1448910	

(四) 最佳萃取時間評估

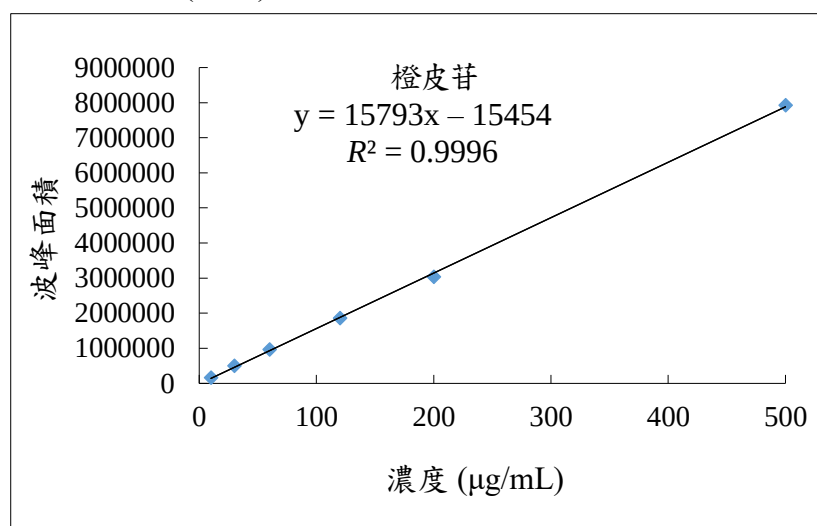
結果顯示萃取 1 小時所得橙皮苷的波峰面積最大，基本上已將橙皮苷萃取完全，因此選擇萃取 1 小時是最佳萃取時間。

表二、橘紅藥材檢品萃取次數評估

加熱迴流	橙皮苷波峰面積
1 小時	21011147
2 小時	1800488
3 小時	1202697

(五) 標準品橙皮苷檢量線

經不同濃度橙皮苷(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 $y = 15793x - 15454$ ， $R^2 = 0.9996$ ，顯示濃度在 10–500 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、橙皮苷之檢量線圖

表三、橙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
橙皮苷	10–500	$y = 15793x - 15454$	0.9996

(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，橙皮苷精密度之相對標準差為 2.49%，在系統適用性要求內。

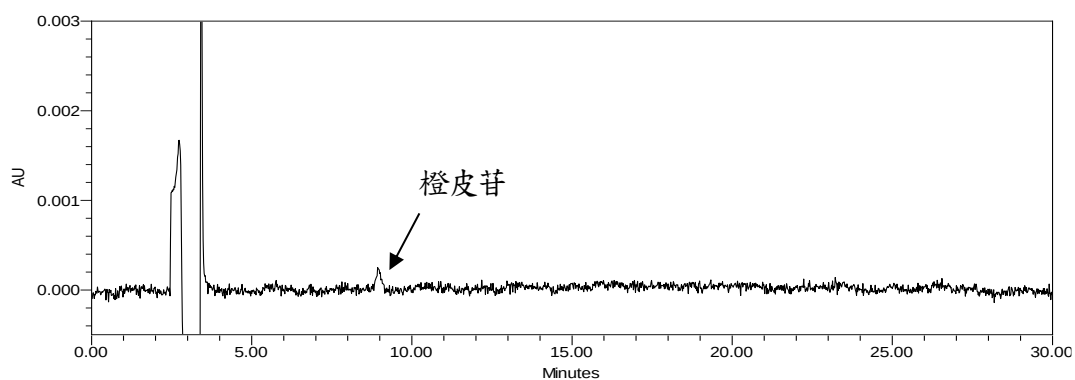
(七) 重複性與穩定性試驗

實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，橙皮苷重複性之相對標準差為 3.99%，在系統適用性要求內。橙皮苷在 24 小時內穩定，穩

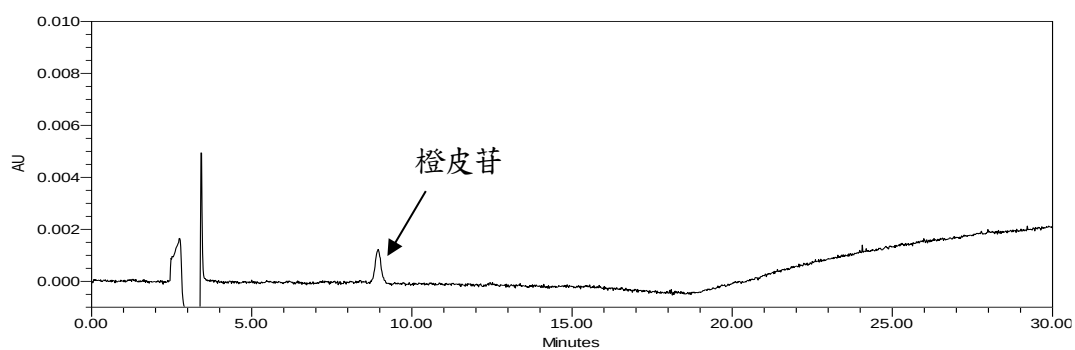
定性之相對標準為 1.27%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

橙皮苷偵測極限為 0.4 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 1.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、橙皮苷之偵測極限層析圖



圖五、橙皮苷之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	橙皮苷	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	60 $\mu\text{g/mL}$	2.49
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.9)	3.99
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.9)	1.27
偵測極限 (n=3)	0.4 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=3)	1.0 $\mu\text{g/mL}$	-

(九) 添加回收率試驗

橙皮苷平均添加回收率為 93.1%，相對標準偏差為 1.27%。

表五、橙皮苷添加回收率

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	0.1017	3.3366	3.0	6.1210	92.81	93.14	1.27
2	0.1017	3.3366	3.0	6.1011	92.15		
3	0.1017	3.3366	3.0	6.1131	92.55		
4	0.1017	3.3366	3.0	6.1266	93.00		
5	0.1017	3.3366	3.0	6.1920	95.18		

(十) 臺灣市售橘紅藥材含量測定

10 批橘紅藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，橙皮苷的含量為 2.861–3.409%，建議橘紅藥材指標成分橙皮苷的含量不得少於 1.7%。理論板數按橙皮苷波峰計算應不低於 5000 (實際值為 11878)。

表六、臺灣市售橘紅檢品之橙皮苷的含量

藥材編號(No.)	橙皮苷含量(%)
1 (NC)	3.073
2 (NF-1)	3.194
3 (NF-2)	3.409
4 (NJ)	3.285
5 (NN)	3.235
6 (CE)	3.159
7 (SJ)	2.861
8 (SA)	3.052
9 (SU-1)	3.315
10 (SU-2)	3.014
平均值±S.D.	3.159±0.162

(十一) 橘紅藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售橘紅藥材檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：COSMOSIL 5C₁₈ AR-II-C18 Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)

2. 檢測波長：UV 283 nm

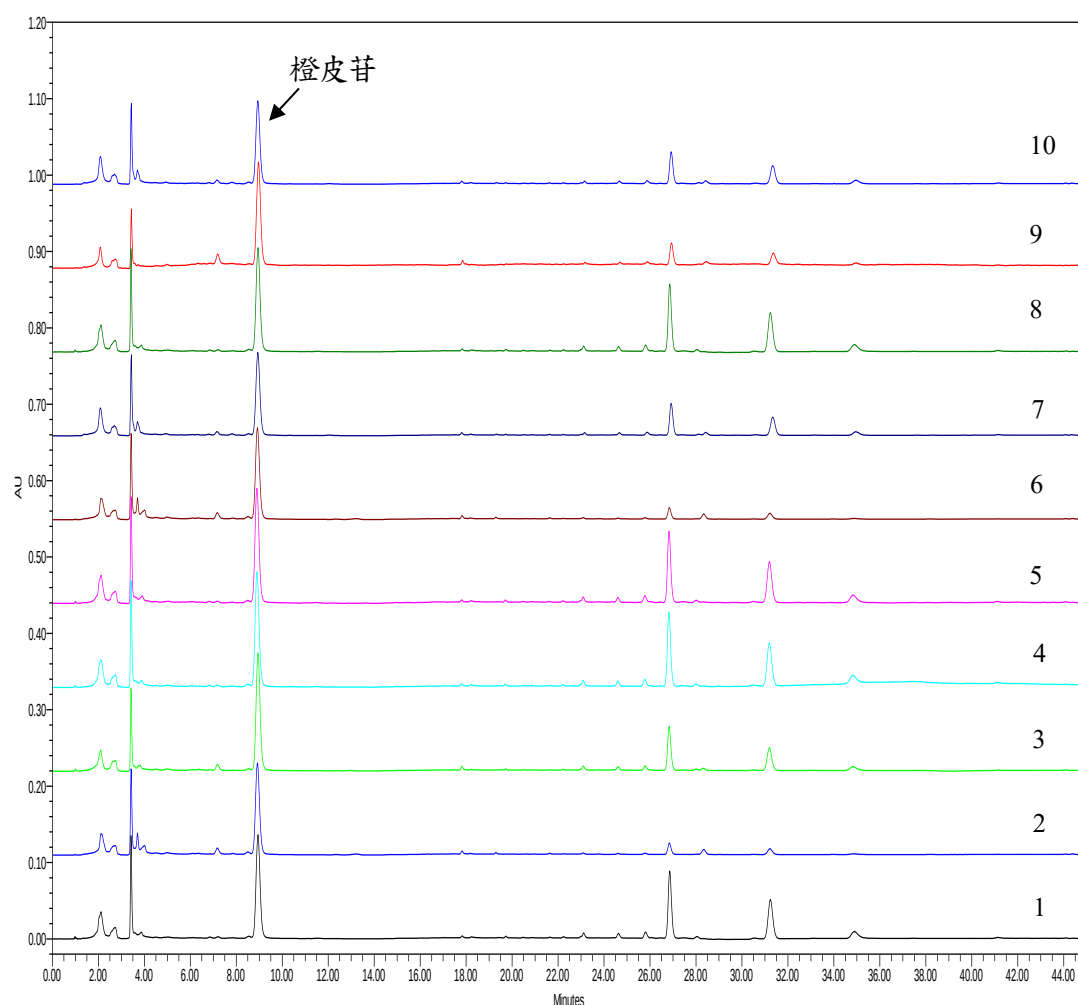
4. 管柱溫度：35 $^{\circ}$ C

量：10 μ L

6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	水(%)
0	22	78
10	22	78
20	48	52
35	48	52
45	100	0

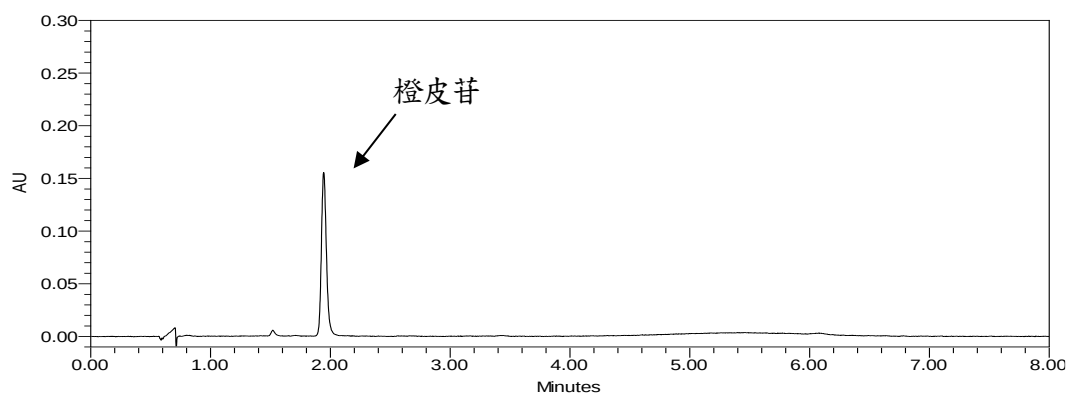
3. 流速：



圖六.、10 批橘紅藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 標準品橙皮苷之 UPLC 層析

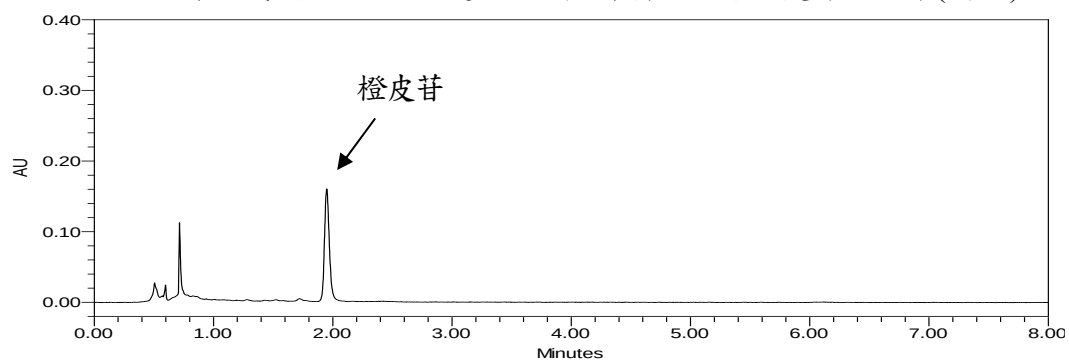
於滯留時間 1.94 分鐘處分別顯示橙皮苷標準品的波峰(圖七)。



圖七、橙皮苷標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售橘紅藥材檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 1.94 分鐘處顯示橘紅藥材檢品中橙皮苷的波峰(圖八)。

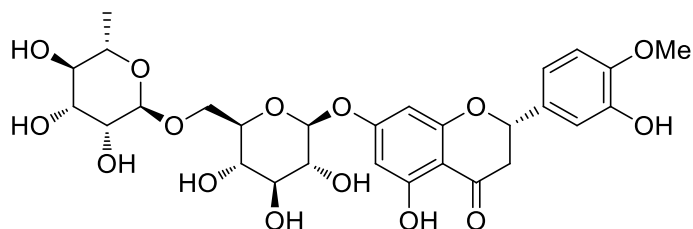


圖八、市售橘紅藥材檢品之 UPLC 層析圖

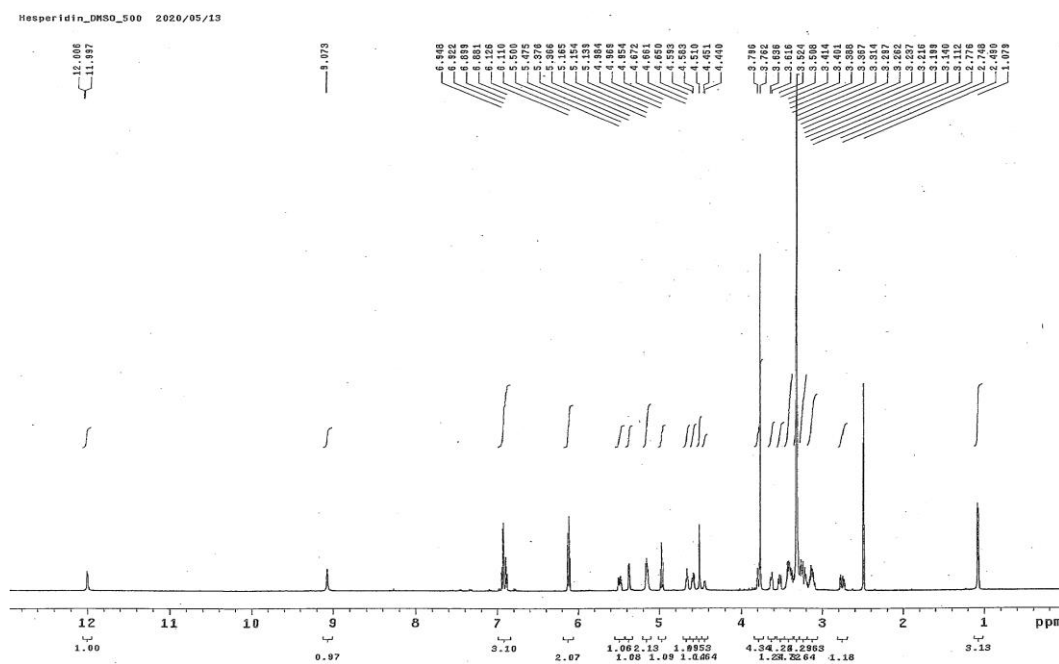
(十四) 橙皮苷的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{28}H_{34}O_{15}$ ；分子量：610.56；熔點：258–262 °C；白色粉末。

(十五) 橙皮苷的結構

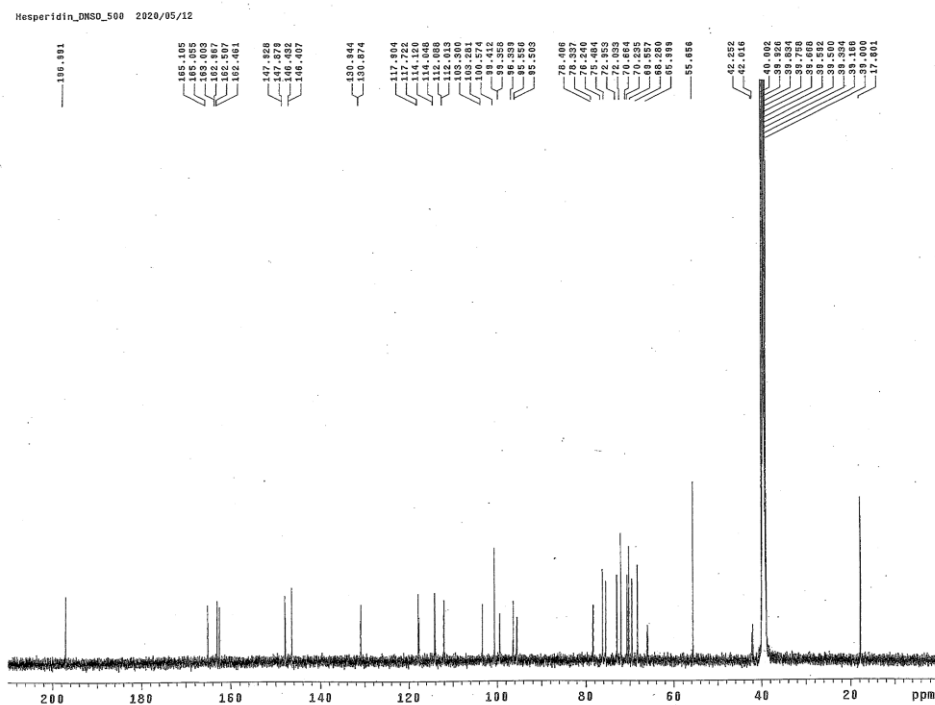


(十六) 橙皮苷的 ^1H NMR 圖譜



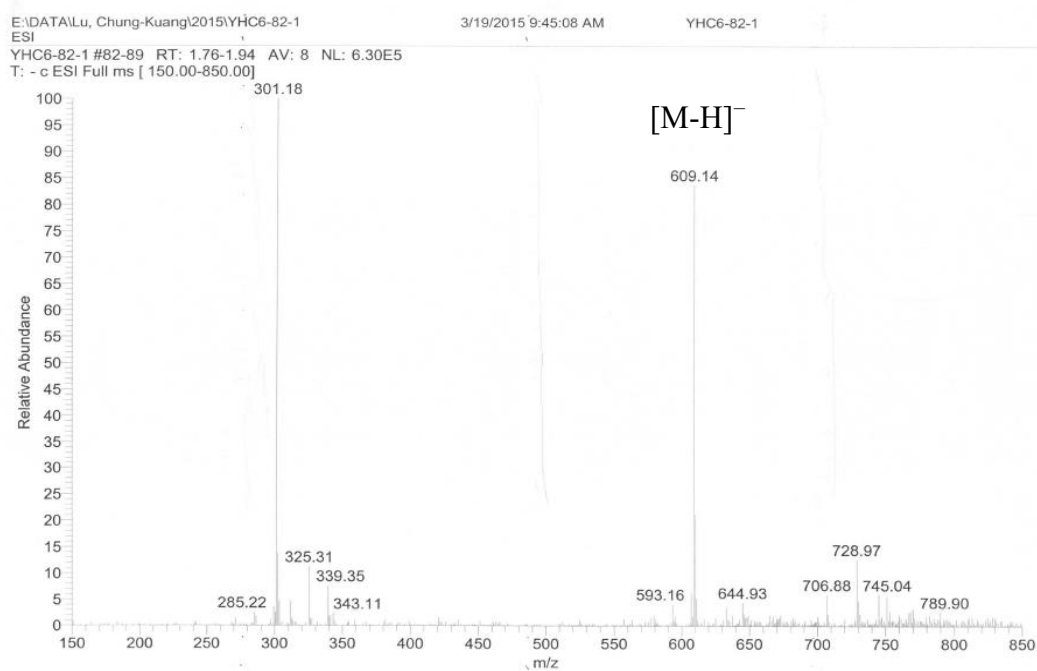
圖九、橙皮苷的 ^1H NMR 圖譜(DMSO- d_6)

(十七) 橙皮苷的 ^{13}C NMR 圖譜



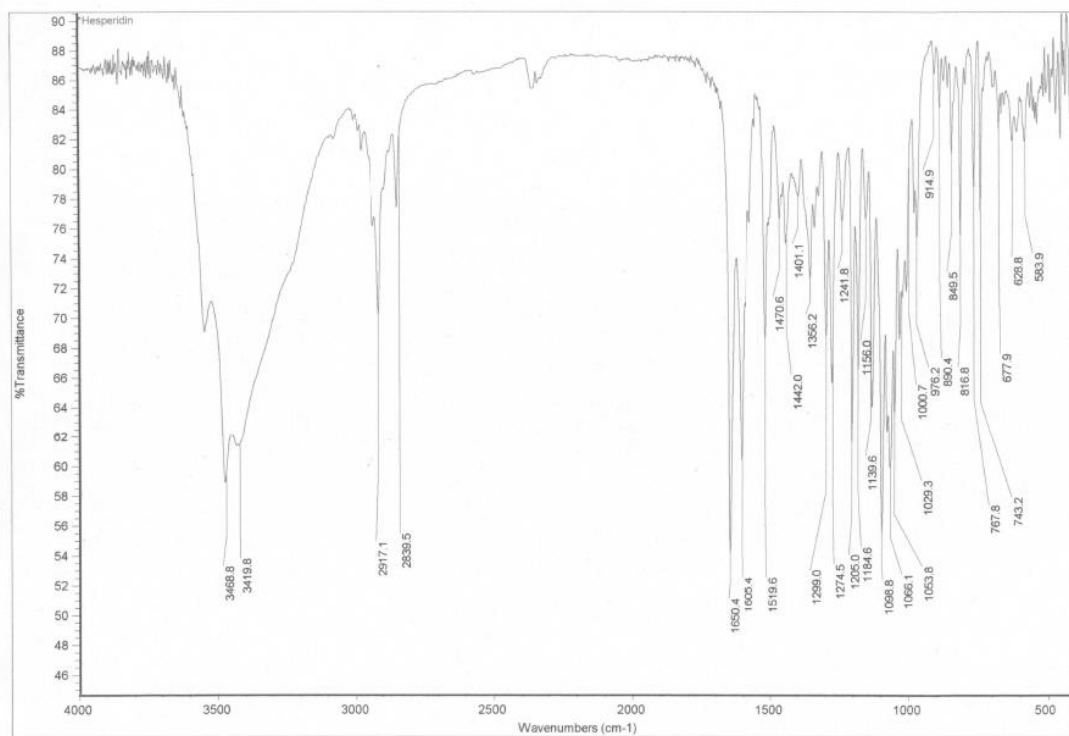
圖十、橙皮苷的 ^{13}C NMR 圖譜(DMSO- d_6)

(十八) 橙皮苷的 ESI-MS 圖譜



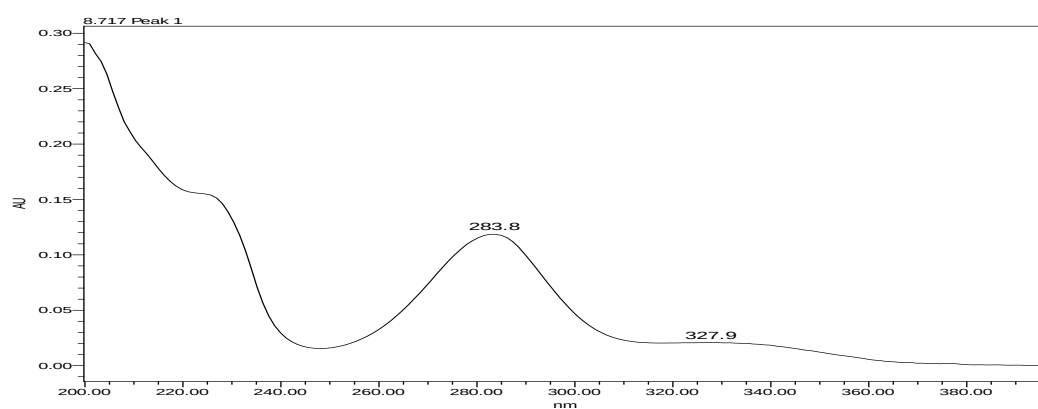
圖十一、橙皮苷的 ESI-MS 圖譜

(十九) 橙皮苷的 FTIR 圖譜



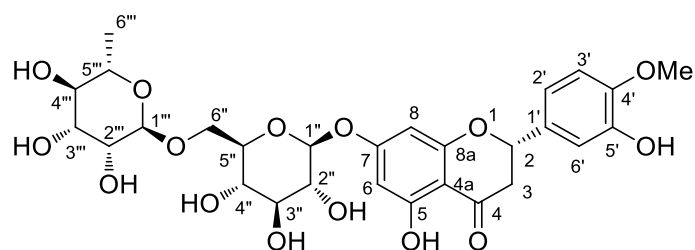
圖十二、橙皮苷的 FTIR 圖譜

(二十) 橙皮苷的 UV 圖譜



圖十三、橙皮苷的 UV 圖譜

(二十一) 橙皮苷的氫、碳化學位移



橙皮苷

表七、橙皮苷的氫、碳化學位移(DMSO-*d*₆)^a

position	δ_H (500 MHz)	δ_C (125 MHz)
1	-	-
2	5.47 (dd, 12.5, 3.0)	78.3
3	2.73–2.78 (m), 3.20–3.30 (m)	42.0
4	-	197.0
4a	-	103.3
5	-	163.0
6	6.13 (d, 2.5)	96.3
7	-	165.1
8	6.11 (d, 2.5)	95.5
8a	-	162.5
1'	-	130.9
2'	6.88(dd, 8.5, 2.0)	117.9
3'	6.94 (d, 8.5)	112.0
4'	-	147.9
5'	-	146.4
6'	6.92 (d, 2.0)	114.1
1''	4.96 (d, 7.5)	99.4
2''	3.20–3.25 (m)	73.0
3''	3.26–3.30 (m)	76.2
4''	3.11–3.18 (m)	69.6
5''	3.51–3.54 (m)	75.5
6''	3.36–3.43 (m), 3.76–3.81 (m)	66.0
1'''	4.51 (d, 5.5)	100.6
2'''	3.62–3.64 (m)	70.2
3'''	3.36–3.43 (m)	70.7
4'''	3.11–3.18 (m)	72.0
5'''	3.36–3.43 (m)	68.3
6'''	1.07 (d, 6.5)	17.8

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

橘紅飲片(CITRI EXOCARPIUM RUBRUM)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店橘紅飲片共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Waters 2695 Separation Module，包含 Waters 2996、Photodiode Array Detector；層析管柱 COSMOSIL 5C₁₈ AR-II-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、Sampler 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(99.9%)購自於 Sigma-Aldrich；乙醇(95%)購自於國韶實業有限公司；甲醇(HPLC grade)購自於 Merck。

(二) 標準品

標準品橙皮苷(Hesperidin)，來自於中藥司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取條件評估

橘紅飲片最佳萃取條件同橘紅藥材。

(二) 最佳萃取時間評估

橘紅飲片最佳萃取時間同橘紅藥材。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品橙皮苷 1.0 mg，加 2.0 mL 的甲醇製成每 1 mL 含橙皮苷 500 μg 的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 60 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 0.2 g，置 100 mL 圓底瓶中，準確加入甲醇 50 mL，加熱迴流處理 1 小時，冷卻後，以 No. 1 濾紙過濾，濾液移入 50 mL 容量瓶中，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，用標準曲線分別計算溶液中橙皮苷的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取橙皮苷標準品儲備溶液適量(500 $\mu\text{g/mL}$)，以甲醇稀釋成含橙皮苷分別為 200、120、60、30、10 $\mu\text{g/mL}$ 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 。

(七) 精密度試驗

以橙皮苷為 60 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以橙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：取同一批市售橘紅飲片粉末，依橘紅飲片檢品溶液製備方法平行製備 5 份橘紅飲片檢品溶液，進樣測定，以橙皮苷的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售橘紅飲片粉末，依橘紅飲片檢品溶液製備方法製備橘紅飲片檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以橙皮苷的波峰面積為指標，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

取已知橙皮苷含量的橘紅飲片粉末 5 份，每份準確稱取約 0.1 g，分別加入橙皮苷 3.0 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：COSMOSIL 5C₁₈ AR-II-C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)
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 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	水(%)
0	22	78
30	22	78

(十二) 臺灣市售橘紅飲片含量測定

取 10 批市售橘紅飲片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 公式計算樣品橙皮苷的百分含量。

(十三) 橘紅飲片檢品之 UPLC 層析條件

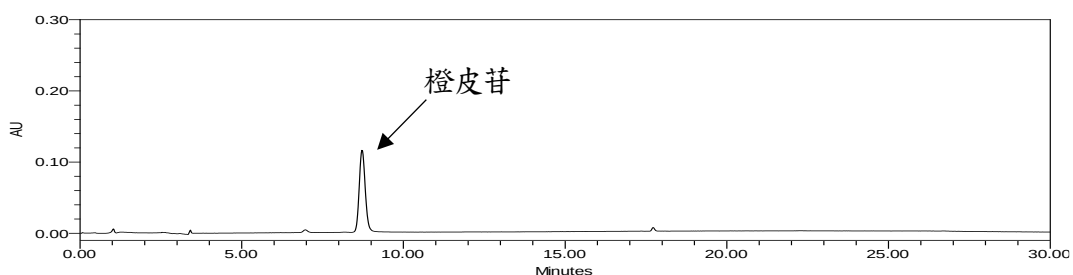
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 283 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	水(%)
0	22	78
8	22	78

五、結果

(一) 標準品橙皮苷之 HPLC 層析

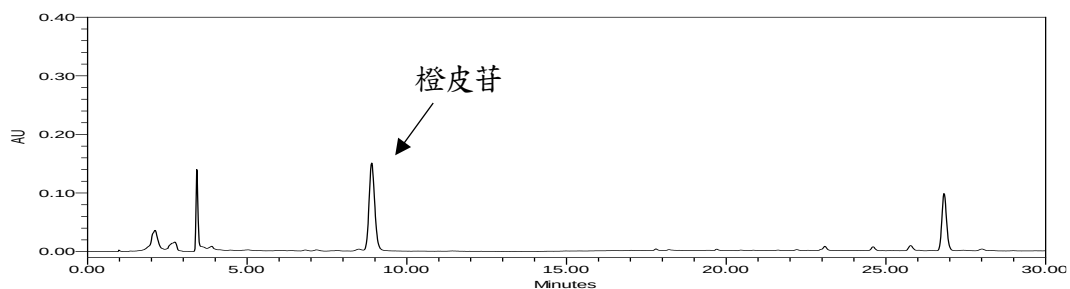
於滯留時間 8.72 分鐘處顯示橙皮苷標準品波峰(圖一)。



圖一、橙皮苷標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售橘紅飲片檢品之 HPLC 層析

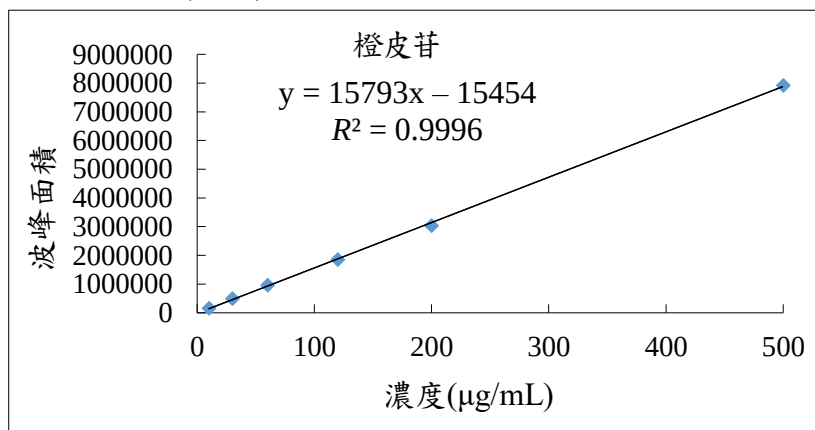
於滯留時間 8.90 分鐘處顯示橘紅檢品中橙皮苷波峰(圖二)。橙皮苷分離率(R)為 5.81，拖尾因子(T)為 1.12，均在系統適用性要求內。



圖二、市售橘紅飲片檢品之 HPLC 層析圖

(三) 標準品橙皮苷檢量線

經不同濃度橙皮苷(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 $y = 15793x - 15454$ ， $R^2 = 0.9996$ ，顯示濃度在 10–500 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、橙皮苷之檢量線圖

表一、橙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
橙皮苷	10–500	$y = 15793x - 15454$	0.9996

(四) 精密度試驗

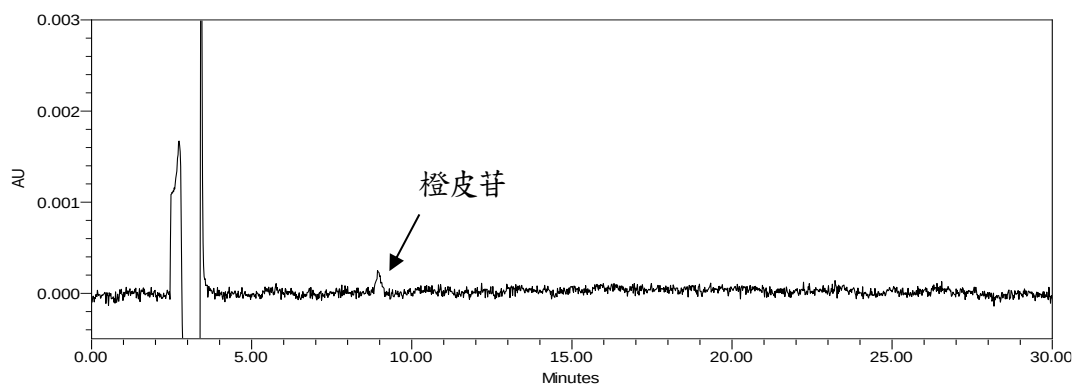
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，橙皮苷精密度之相對標準差為 2.49%，在系統適用性要求內。

(五) 重複性與穩定性試驗

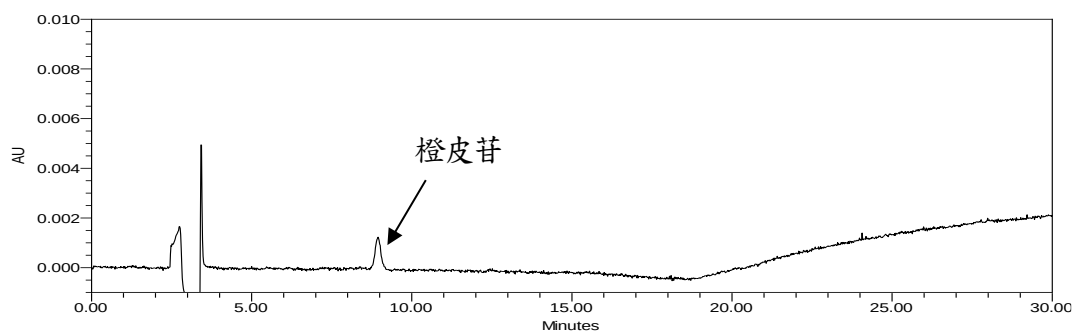
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，橙皮苷重複性之相對標準差為 0.86%，在系統適用性要求內。橙皮苷在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準為 0.91%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(六) 偵測極限與定量極限試驗

橙皮苷偵測極限為 $0.4 \mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 $1.0 \mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、橙皮苷之偵測極限層析圖



圖五、橙皮苷之定量極限層析圖

表二、各項檢驗分析

檢測項目	橙皮苷	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	60 µg/mL	2.49
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.10)	0.86
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.10)	0.91
偵測極限 (n=3)	0.4 µg/mL	-
定量極限 (n=3)	1.0 µg/mL	-

(七) 添加回收率試驗

橙皮苷平均添加回收率為 95.0%，相對標準偏差為 2.01%。

表三、橙皮苷添加回收率

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	0.1005	2.8192	3.0	5.6382	93.97	95.03	2.01
2	0.1005	2.8192	3.0	5.6441	94.17		
3	0.1005	2.8192	3.0	5.6072	92.93		
4	0.1005	2.8192	3.0	5.7208	96.72		
5	0.1005	2.8192	3.0	5.7405	97.38		

(八) 臺灣市售橘紅飲片含量測定

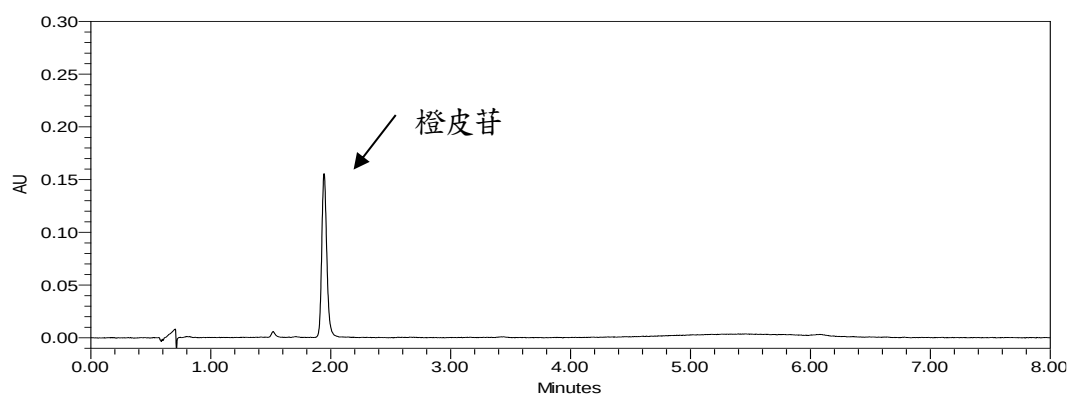
10 批橘紅飲片之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，橙皮苷的含量為 2.893–3.426%，建議橘紅飲片指標成分橙皮苷的含量不得少於 1.7%。理論板數按橙皮苷波峰計算應不低於 5000 (實際值為 11854)。

表四、臺灣市售橘紅飲片檢品之橙皮苷的含量

藥材編號(No.)	橙皮苷含量(%)
1 (NF)	3.262
2 (NJ)	3.067
3 (NN)	3.251
4 (NR)	3.113
5 (CA)	3.004
6 (SC)	3.021
7 (SE)	3.008
8 (SJ)	2.893
9 (SL)	3.066
10 (SR)	3.426
平均值±S.D.	3.111±0.157

(九) 標準品橙皮苷之 UPLC 層析

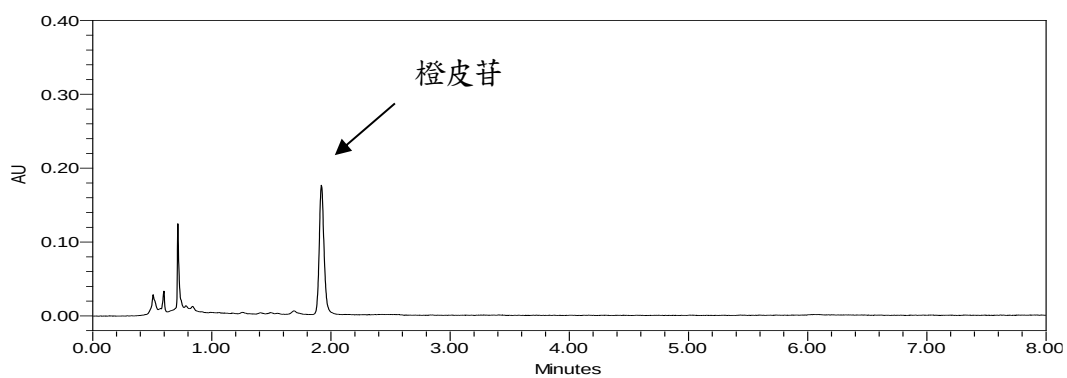
於滯留時間 1.94 分鐘處分別顯示橙皮苷標準品的波峰(圖六)。



圖六、橙皮苷標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十) 市售橘紅飲片檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 1.92 分鐘處顯示橘紅飲片檢品中橙皮苷的波峰(圖七)。



圖七、市售橘紅飲片檢品之 UPLC 層析圖

橘紅

中文名：橘紅

生藥拉丁名：CITRI RUBRUM EXOCARPIUM

英文名：Red Tangerine Exocarp

基 原：本品為芸香科 Rutaceae 植物橘 *Citrus reticulata* Blanco 及其栽培品種之乾燥外層果皮。

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 15 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，取濾液作為檢品溶液。

【萃取方法 2】(修飾臺灣中藥典第三版 2018) ✓

——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 10 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，取濾液作為檢品溶液。

【萃取方法 3】(中華人民共和國藥典 2015)

——取本品粉末 0.3 g，加甲醇 10 mL，加熱迴流 20 分鐘，過濾，取濾液 5 mL，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 4】(香港中藥材標準第七冊)

——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 10 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，濾液濃縮至乾，殘渣加甲醇 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

(二) 對照標準品 溶 液 取橙皮苷(Hesperidin)、柚皮苷(Naringin)對照標準品，分別加甲醇製成每 1 mL 各含 1 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)

——乙酸乙酯：乙醇：4N 氨水 (4：2：1)

【展開劑 2】(自行開發 1)

——乙酸乙酯：甲醇：水 (10：2：3)，10°C 以下分層的上層溶液)

【展開劑 3】(自行開發 2)

——乙酸乙酯：甲醇：水 (10：2：1)

【展開劑 4】(自行開發 3) ✓

——乙酸乙酯：甲醇：水 (100：17：13)

【展開劑 5】(中華人民共和國藥典 2015)

——乙酸乙酯：甲醇：水 (100：17：13)先展開 3 cm，取出

風乾後，再以甲苯：乙酸乙酯：甲酸：水 (20：10：1：1)
展開至 8 cm。

【展開劑 6】(自行開發 4)

——乙酸乙酯：丙酮：冰乙酸：水 (8：4：0.3：1)

- (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 5%三氯化鋁試液($\text{AlCl}_3/\text{EtOH TS}$)噴霧後，置於主波長 365 nm 之紫外燈照射下檢視。

二、萃法選擇及濃度測試

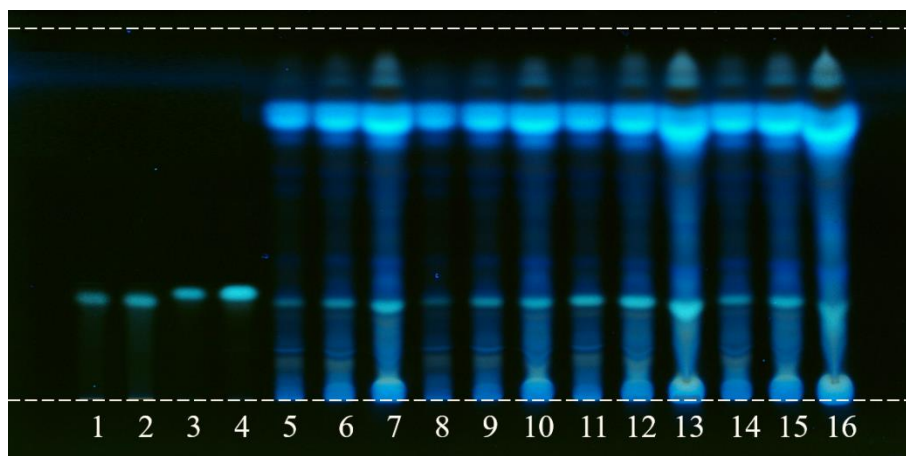
實驗日期：109/08/17

相對溼度(RH)：52%

溫度(RT)：24.8 °C

【展開劑 4】（自行開發 3）——乙酸乙酯：甲醇：水 (100：17：13)

—HPTLC 5%三氯化鋁/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出



編號	名稱	點注量
1，2	橙皮苷(1.0 mg/mL)	2，5 μ L
3，4	柚皮苷(1.0 mg/mL)	2，5 μ L
5，6，7	檢品溶液 4【萃取方法 1】	1，2，5 μ L
8，9，10	檢品溶液 4【萃取方法 2】	1，2，5 μ L
11，12，13	檢品溶液 4【萃取方法 3】	1，2，5 μ L
14，15，16	檢品溶液 4【萃取方法 4】	1，2，5 μ L

建議萃法：4 種萃法之檢品溶液中皆有分離與檢出標準品橙皮苷，由於萃取方法較簡易，故採用修飾臺灣中藥典第三版 2018 之【萃取方法 2】。

建議點注量：橙皮苷 5 μ L，柚皮苷 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 2】2 μ L。

三、溶媒系統選擇

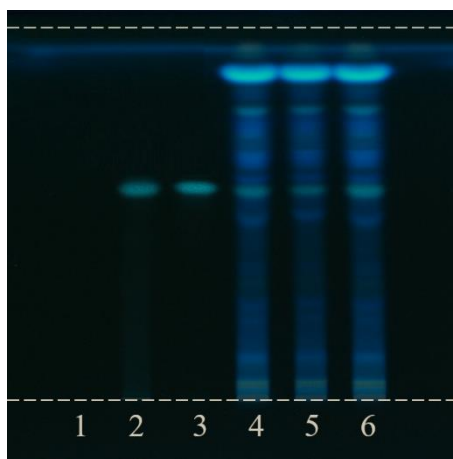
實驗日期：109/08/17

相對溼度(RH)：52%

溫度(RT)：24.8 °C

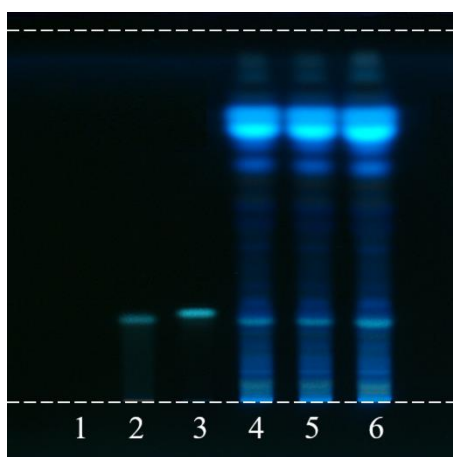
【展開劑 1】 (臺灣中藥典第三版 2018)——乙酸乙酯：乙醇：4N 氨水 (4：2：1)

【萃取方法 2】 (自行開發)——HPTLC 5%三氯化鋁/乙醇顯色後紫外光(365 nm) 檢出(橙皮苷 R_f 值為 0.62，柚皮苷 R_f 值為 0.62)



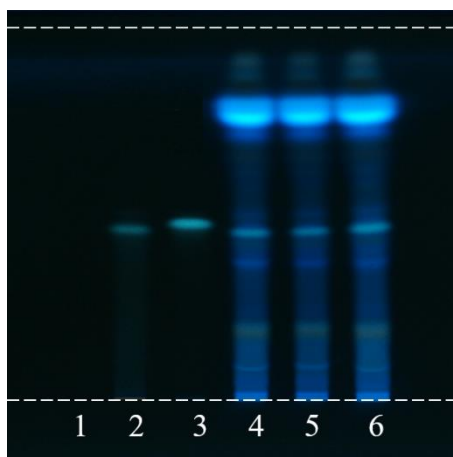
【展開劑 2】 (自行開發 1)——乙酸乙酯：甲醇：水 (10：2：3)，10°C 以下分層的上層溶液)

【萃取方法 2】 (自行開發)——HPTLC 5%三氯化鋁/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出(橙皮苷 R_f 值為 0.22，柚皮苷 R_f 值為 0.24)



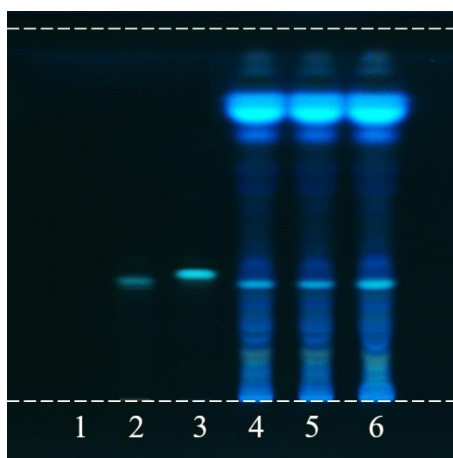
【展開劑 3】 (自行開發 2)——乙酸乙酯：甲醇：水 (10：2：1)

【萃取方法 2】 (自行開發)——HPTLC 5%三氯化鋁/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出(橙皮苷 R_f 值為 0.46，柚皮苷 R_f 值為 0.47)



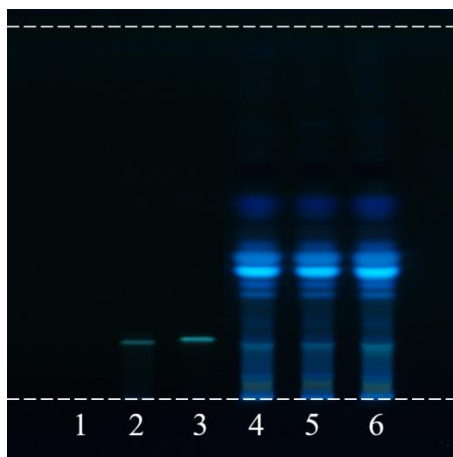
【展開劑 4】 (自行開發 3)——乙酸乙酯：甲醇：水 (100：17：13)✓

【萃取方法 2】 (自行開發)——HPTLC 5%三氯化鋁/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出(橙皮苷 R_f 值為 0.32，柚皮苷 R_f 值為 0.34)



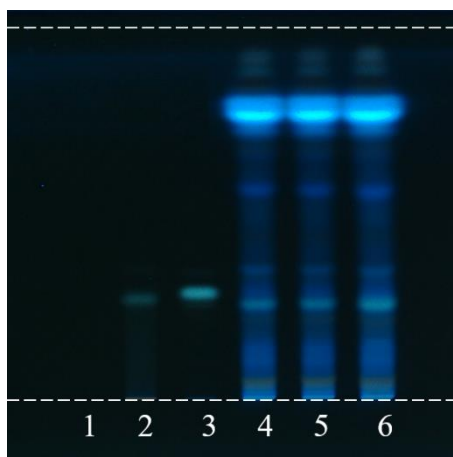
【展開劑 5】（中華人民共和國藥典 2015）——乙酸乙酯：甲醇：水（100：17：13）先展開 3 cm，取出風乾後，再以甲苯：乙酸乙酯：甲酸：水（20：10：1：1）展開至 8 cm。

【萃取方法 2】（自行開發）——HPTLC 5%三氯化鋁/乙醇顯色後紫外光(365 nm) 檢出(橙皮苷 R_f 值為 0.14，柚皮苷 R_f 值為 0.15)



【展開劑 6】（自行開發 4）——乙酸乙酯：丙酮：冰乙酸：水（8：4：0.3：1）

【萃取方法 2】（自行開發）——HPTLC 5%三氯化鋁/乙醇顯色後紫外光(365 nm) 檢出(橙皮苷 R_f 值為 0.27，柚皮苷 R_f 值為 0.28)



1：Blank

4，5：檢品溶液 4

2：橙皮苷

6：Spike

3：柚皮苷

建議溶媒系統：以【萃取方法 2】方式，以【展開劑 4】展開，橙皮苷之 R_f 值

適中且方法簡單，故採用自行開發之【展開劑4】。

四、觀察方式選擇

實驗日期：109/08/17

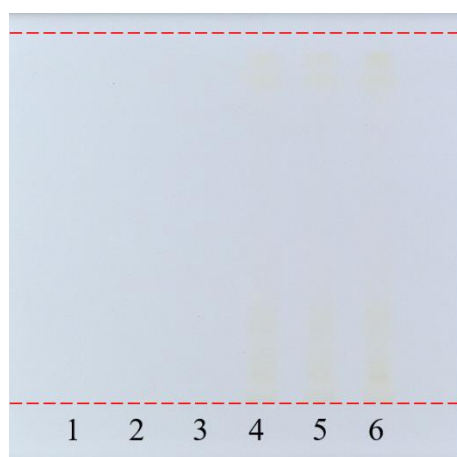
相對溼度(RH)：52%

溫度(RT)：24.8 °C

【展開劑 4】(自行開發 3)——乙酸乙酯：甲醇：水 (100：17：13)

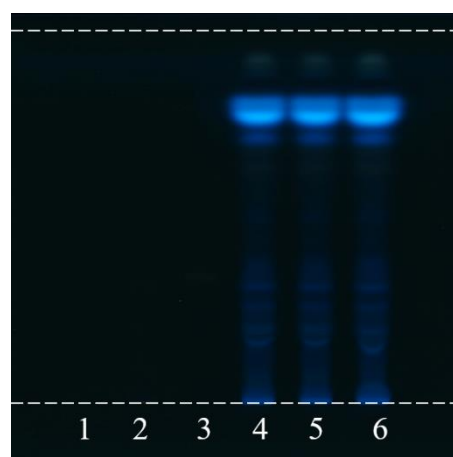
【萃取方法 2】(自行開發) —HPTLC

可見光檢出



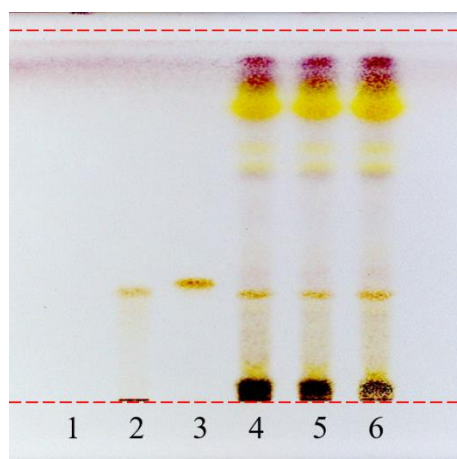
【萃取方法 2】(自行開發) —HPTLC

紫外光(365 nm)檢出



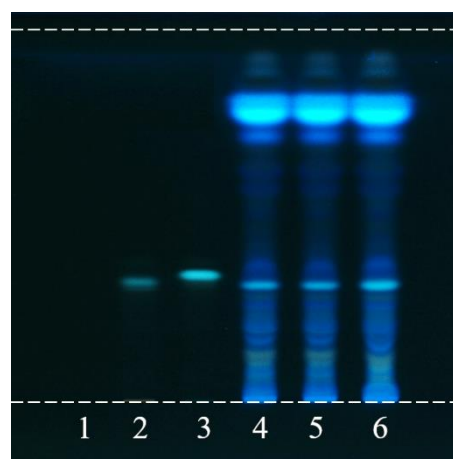
【萃取方法 2】(自行開發) —HPTLC

10%香夾蘭醛/硫酸甲醇顯色後可見光檢出



【萃取方法 2】(自行開發) —

HPTLC5%三氯化鋁/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出✓



1：Blank

2：橙皮苷

3：柚皮苷

4，5：檢品溶液 4

6：Spike

建議觀察方式：5%三氯化鋁/乙醇顯色後於紫外光(365 nm)，有較明顯分離之條帶。

五、十批橘紅藥材樣品檢測

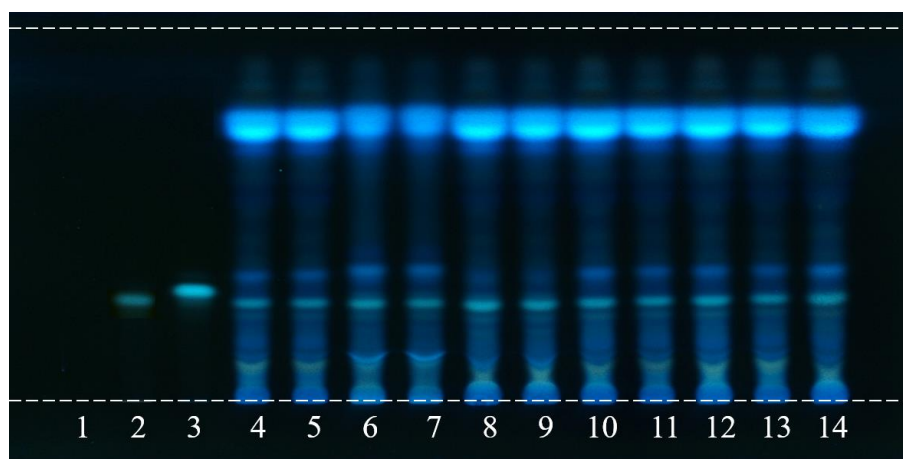
實驗日期：109/08/18

相對溼度(RH)：56%

溫度(RT)：25.3 °C

【展開劑 4】(自行開發 3)——乙酸乙酯：甲醇：水 (100：17：13)

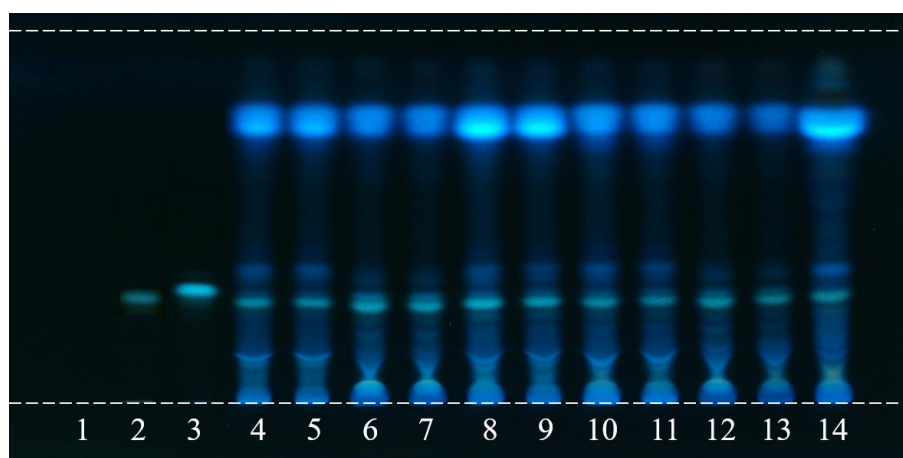
【萃取方法 2】(自行開發)——HPTLC 5%三氯化鋁/乙醇顯色紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	橙皮苷(1.0 mg/mL)
3	柚皮苷(1.0 mg/mL)
4，5	檢品溶液 1 (NC)
6，7	檢品溶液 2 (NF1)
8，9	檢品溶液 3 (NF2)
10，11	檢品溶液 4 (NJ)
12，13	檢品溶液 5 (NN)
14	Spike (檢品溶液 4)

【展開劑 4】(自行開發 3)——乙酸乙酯：甲醇：水 (100：17：13)

【萃取方法 2】(自行開發)——HPTLC 5%三氯化鋁/乙醇顯色紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	橙皮苷(1.0 mg/mL)
3	柚皮苷(1.0 mg/mL)
4，5	檢品溶液 6 (CE)
6，7	檢品溶液 7 (SJ)
8，9	檢品溶液 8 (SA)
10，11	檢品溶液 9 (SU1)
12，13	檢品溶液 10 (SU2)
14	Spike (檢品溶液 4)

結論與建議：以【萃取方法 2】及【展開劑 4】方式，顯示分離與檢出橙皮苷較佳，以 5%三氯化鋁/乙醇顯色後，於紫外光(365 nm)下檢視較佳。

橘紅(飲片)

六、十批橘紅飲片樣品檢測

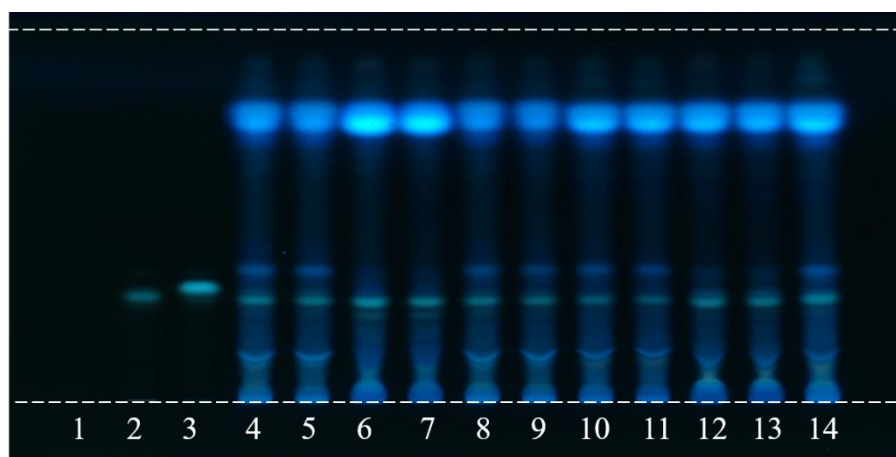
實驗日期：109/08/18

相對溼度(RH)：56%

溫度(RT)：25.3 °C

【展開劑 4】(自行開發 3)——乙酸乙酯：甲醇：水 (100：17：13)

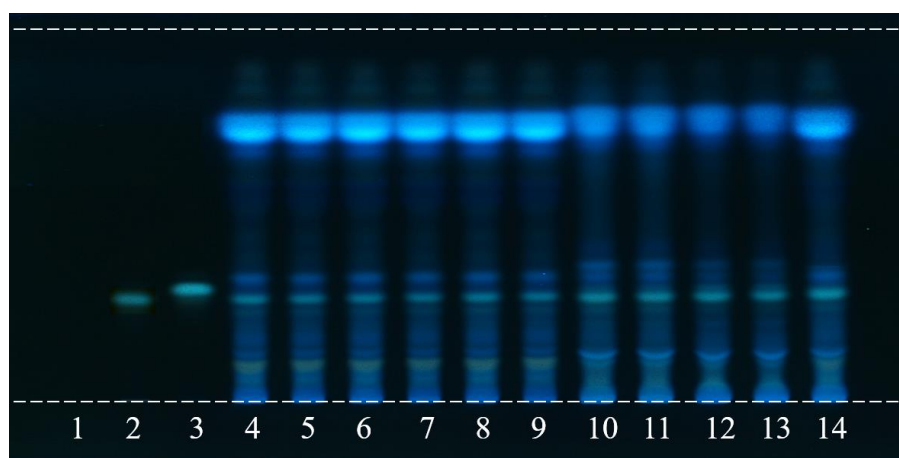
【萃取方法 2】(自行開發)——HPTLC 5%三氯化鋁/乙醇顯色紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	橙皮苷(1.0 mg/mL)
3	柚皮苷(1.0 mg/mL)
4，5	檢品溶液 1 (NF)
6，7	檢品溶液 2 (NJ)
8，9	檢品溶液 3 (NN)
10，11	檢品溶液 4 (NR)
12，13	檢品溶液 5 (CA)
14	Spike (檢品溶液 4)

【展開劑 4】(自行開發 3)——乙酸乙酯：甲醇：水 (100：17：13)

【萃取方法 2】(自行開發)——HPTLC 5%三氯化鋁/乙醇顯色紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	橙皮苷(1.0 mg/mL)
3	柚皮苷(1.0 mg/mL)
4，5	檢品溶液 6 (SC)
6，7	檢品溶液 7 (SE)
8，9	檢品溶液 8 (SJ)
10，11	檢品溶液 9 (SL)
12，13	檢品溶液 10 (SR)
14	Spike (檢品溶液 4)

結論與建議：飲片鑑別同藥材。