

獨活

(ANGELICAE PUBESCENTIS RADIX)

獨活 MI

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).....	3
四、藥材粉末顯微鑑別(圖 3).....	3

獨活 藥材 HPLC

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

獨活 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

獨活 TLC

一、方法.....	30
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.....	35
五、十批獨活樣品檢測.....	36
六、十批獨活飲片樣品檢測.....	38

獨活

(ANGELICAE PUBESCENTIS RADIX)

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獨活的乾燥根。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：獨活

生藥名：ANGELICAE PUBESCENTIS RADIX

英文名：Pubescent Angelica Root

基原：繖形科 Apiaceae (Umbelliferae) 植物重齒毛當歸 *Angelica pubescens* Maxim. f. *biserrata* Shan et Yuan 之乾燥根。

採收加工：春初苗剛發芽或秋末莖葉枯萎時採挖，除去殘莖、鬚根及泥沙，烘至

半乾，堆置 2~3 天，發軟後再烘至全乾。

藥材性狀：本藥材略呈圓柱形根，下有 2~3 分枝或更多。根頭部膨大，圓錐狀，具橫皺紋，頂端有莖、葉的殘基或凹陷。表面灰褐色或棕褐色，具縱

皺紋，有微突起的細根痕及隆起的橫長皮孔。質較硬，受潮易變軟，

斷面皮部灰白色，散在的棕色油室，木部灰黃色至黃棕色，形成層環

棕色。有特異香氣，味苦、辛、微麻舌

飲片性狀：本品為不規則狀的橫切片。外表皮棕褐色或灰褐色，具皺紋。切面皮

部黃白色或淡灰棕色，散在多數棕色油點，木部黃棕色，形成層環棕

色。質硬脆。有特異香氣，味苦、辛、微麻舌。

生長分佈：多年生草本。花期 7~9 月，果期 9~10 月。生於陰濕山坡、林下草叢中或稀疏灌木叢間。喜陰涼潮濕氣候，耐寒，宜生長在海拔

1200~2000

米的高寒山區。以土層深厚，富含腐殖質的黑色灰沙土、黃沙土栽培，

不宜在土層淺、積水地和黏性土壤上種植。分佈於安徽、浙江、江西、

湖北、四川等地。四川、湖北及陝西等地的高山地區已有栽培。

三、藥材組織顯微鑑別(圖 2)

1. 木栓層為數列扁長方形的木栓細胞組成，。
2. 皮層窄，有少數油管散在。
3. 韌皮部寬廣、有裂隙，油管較多，排成數輪。
4. 油管類圓形或橢圓形，周圍分泌細胞 6~22 個，近形成層的油管較小。
5. 形成層明顯成環。
6. 射線寬 1~4 列細胞，呈放射性排列。
7. 木質部導管單個或數個相集，呈放射性排列。

四、藥材粉末顯微鑑別(圖 3)

1. 本品粉末為淡棕色至棕色。
2. 油管多破碎，胞腔內多含淡黃棕色分泌物及油滴。
3. 木栓細胞黃棕色，表面觀細胞呈多角形或長多角形。
4. 韌皮薄壁細胞無色或淺黃色，紡錘形壁稍厚，表面有細微的斜向交錯紋理。偏光顯微鏡下呈亮白色。
5. 可見網紋導管，直徑達 5~90 μm 。
6. 澱粉粒細小，單粒類圓形或橢圓形，直徑 2~13 μm 。複粒較多，由二至數十個分粒組成。偏光顯微鏡下呈黑十字狀。



圖 1A 獨活藥材圖



圖 1B 獨活飲片藥材圖

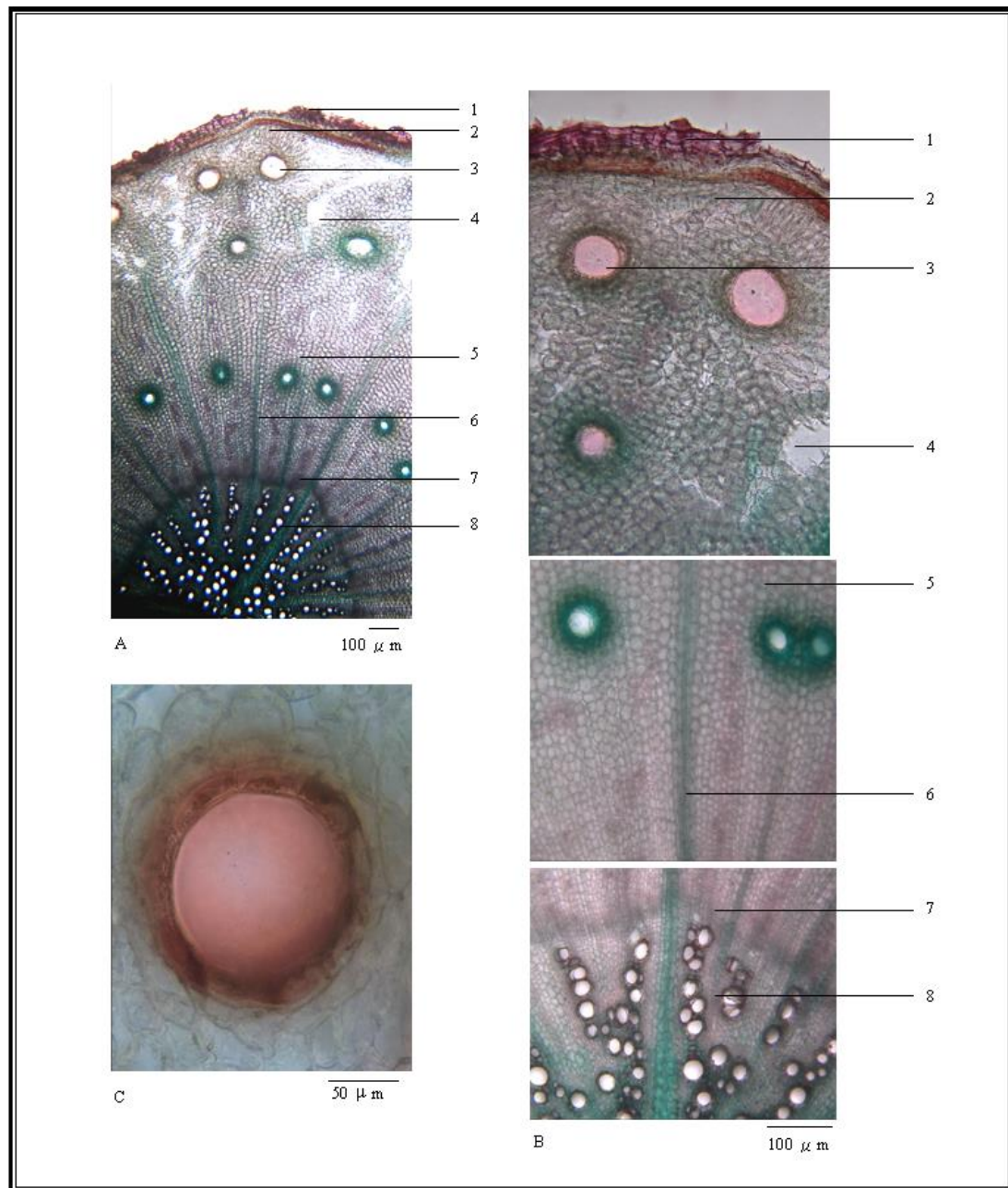
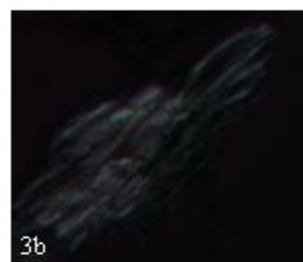
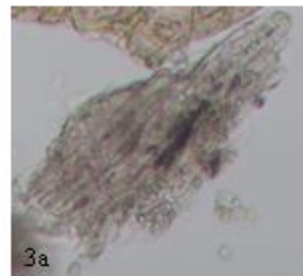
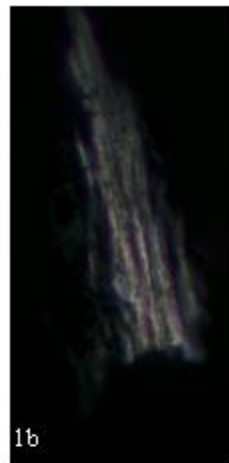
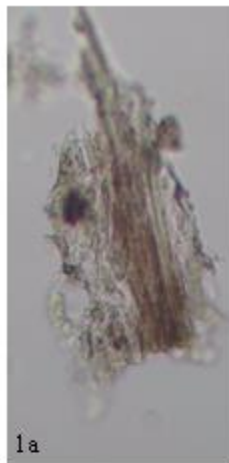


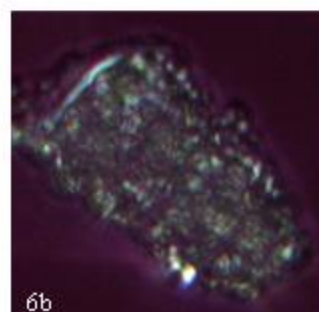
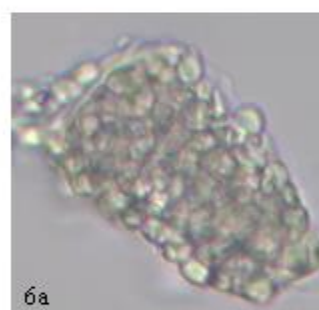
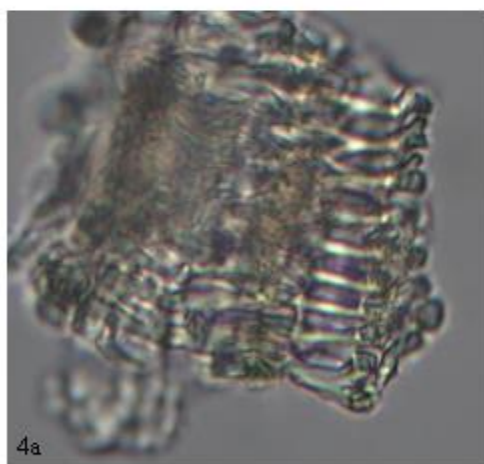
圖 2 獨活橫切面顯微特徵圖

A.橫切面圖 B.局部組織放大圖 C.油管

1.木栓層 2.栓內層 3.油管 4.裂隙 5.韌皮部 6.射線 7.形成層 8.木質部



100 μ m



50 μ m



圖 3 獨活粉末顯微特徵圖

a.光學顯微鏡下特徵 b.偏光顯微鏡下特徵

1.油管碎片 2.木栓細胞 3.薄壁細胞 4.網紋導管 5.澱粉粒 6.複粒澱粉粒

參考文獻

1. 行政院衛生署中華藥典中藥集編修小組編輯 (2004)。中華中藥典第一版。台北市：行政院衛生署。185~186 頁。
2. 張永勳、何玉玲等編輯 (2009)。中藥彩色圖鑑。台北：行政院衛生署中醫藥委員會。182 頁。
3. 張永勳、何玉玲總編輯 (2013)。台灣中藥典圖鑑。台北：衛生福利部。208 頁。
4. 張賢哲、蔡貴花編著 (2010)。中藥炮製學。台中：中國醫藥大學。239~241 頁。
5. 中國藥品生物製品檢定所、廣東省藥品檢驗所編著 (2011)。中國中藥材真偽鑑別圖典 2：常用根及根莖藥材分冊。廣東：廣東科技出版社。183~184 頁。
6. 徐國鈞、何宏賢、徐珞珊、金蓉鸞等編輯 (1996)。中國藥材學上冊。北京：中國醫藥科技出版社。330~332 頁。
7. 國家中醫藥管理局《中華本草》編委會編輯 (1999)。中華本草第 5 冊。上海：上海科學技術出版社。877~882 頁。
8. 國家藥典委員會 (2009)。中華人民共和國藥典中藥材顯微鑒別彩色圖鑒。北京：人民衛生出版社。326 頁。
9. 國家藥典委員會編輯 (2010)。中華人民共和國藥典 2010 年版一部。北京：中國醫藥科技出版社。246 頁。
10. 趙中振、陳虎彪等編著 (2010)。常用中藥材鑑別圖典。香港：萬里機構·萬里書店。202 頁。
11. 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。156~157 頁。

獨活(ANGELICAE PUBESCENTIS RADIX)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店獨活藥材共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Agilent 1100 series，包含 Degasser (G1379A)、Quat Pump (G1311A)、DAD (G1315B)、Autosampler (G1329A)，Column Oven H-650 (Chrom Tech, TNC.)；層析管柱 COSMOSIL 5C₁₈-AR-II 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

甲醇(99.9%)購自於 Merck；乙醇(95%)購自於國韶實業有限公司；乙晴(99.9%)購自於 Sigma-Aldrich。

(二) 標準品

標準品蛇床子素(Osthole)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

取本品粉末 4 份，每份準確稱取 0.2 g，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇、75%甲醇、乙醇、75%乙醇各 40 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，離心 5 分鐘(約 3000 × g)，以 No.1 濾紙過濾至 50 mL 之定量瓶中，加入溶媒至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 μm)，取濾液，即得。每針 10 μL 注入 HPLC，以所測得每克重量之標準品蛇床子素最大波峰面積為最佳獨活萃取溶媒。

(二) 最佳萃取次數評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 0.2 g，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇 40 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，離心 5 分鐘(約 3000 × g)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液，轉移至 50 mL 之定量瓶中，加甲醇至刻度，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，直到指標成分被萃取完全，並選出最佳萃取次數。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品蛇床子素 2.0 mg，加 10 mL 甲醇製成每 1 mL 含蛇床子素 200 µg 的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 20 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 50 mL 離心管中，準確加入甲醇 40 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，離心 5 分鐘(約 3000 × g)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液，轉移至 50 mL 之定量瓶中，加甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 µm)，即得。

(五) 測定法

分別準確吸取標準品溶液、檢品溶液各 10 µL，注入 HPLC，測定，用標準曲線計算溶液中蛇床子素的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取蛇床子素標準品儲備溶液適量(200 µg/mL)，以甲醇稀釋製成含蛇床子素分別為 100、50、20、10、5.0、2.0 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

以蛇床子素濃度為 20 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以蛇床子素的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售獨活粉末，依獨活檢品溶液製備方法平行製備 5 份獨活檢品溶液，進樣測定，以蛇床子素的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售獨活粉末，依獨活檢品溶液製備方法製備獨活檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以蛇床子素的波峰面積為指標，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

取已知蛇床子素含量的獨活材料粉末 5 份，每份準確稱取各約 0.1 g，分別加入 0.5 mg 的蛇床子素，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 Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 320 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：30 °C
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	水(%)
0	52	48
25	52	48
35	100	0

(十二) 臺灣市售獨活含量測定

取 10 批市售獨活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 公式計算樣品蛇床子素的百分含量。

(十三) UPLC 層析條件

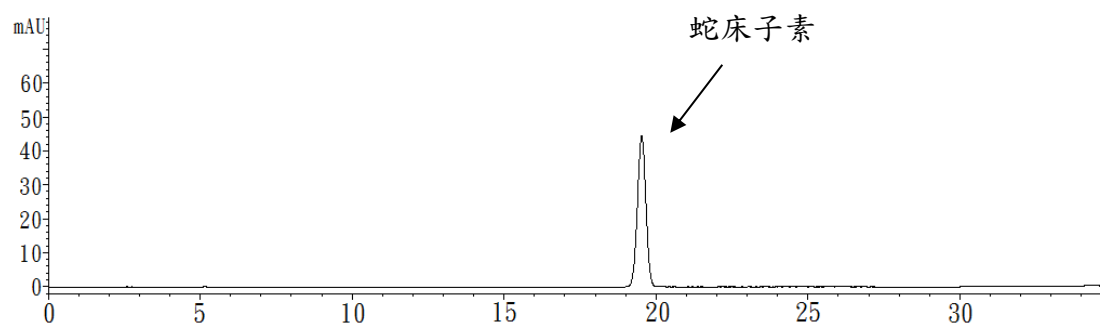
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μ m)
2. 檢測波長：320 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 $^{\circ}$ C
5. 注入量：1 μ L
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	水(%)
0	10	90
2	40	60
5	45	55
8	50	50
10	100	0

五、結果

(一) 標準品蛇床子素之 HPLC 層析

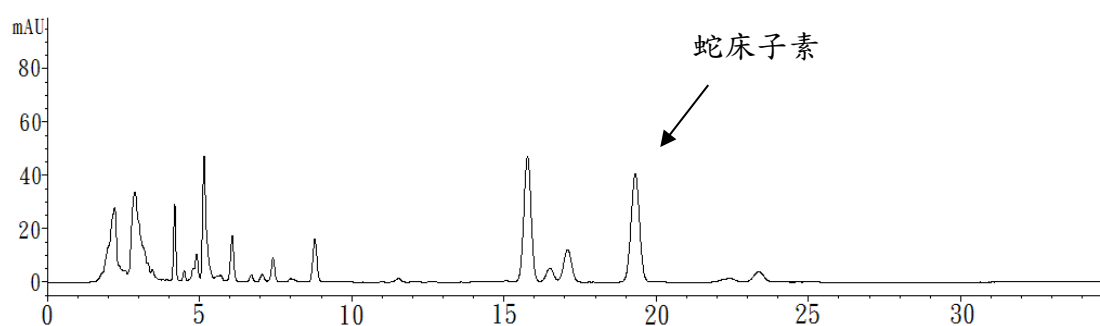
於滯留時間 19.3 分鐘處顯示蛇床子素標準品波峰(圖一)。



圖一、蛇床子素標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售獨活檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 19.3 分鐘處顯示獨活檢品中蛇床子素波峰(圖二)。分離率(R)為 4.5，托尾因子(T)為 0.99，均在系統適用性要求內。



圖二、市售獨活檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒評估

以甲醇為溶媒時，每克藥材重量所得蛇床子素的波峰面積最大，顯示甲醇為最佳萃取溶媒。

表一、不同溶媒萃取比較

溶媒	波峰面積	最佳萃取
甲醇	876.59	√
75% 甲醇	770.02	
乙醇	864.79	
75% 乙醇	777.75	

(四) 最佳萃取次數評估

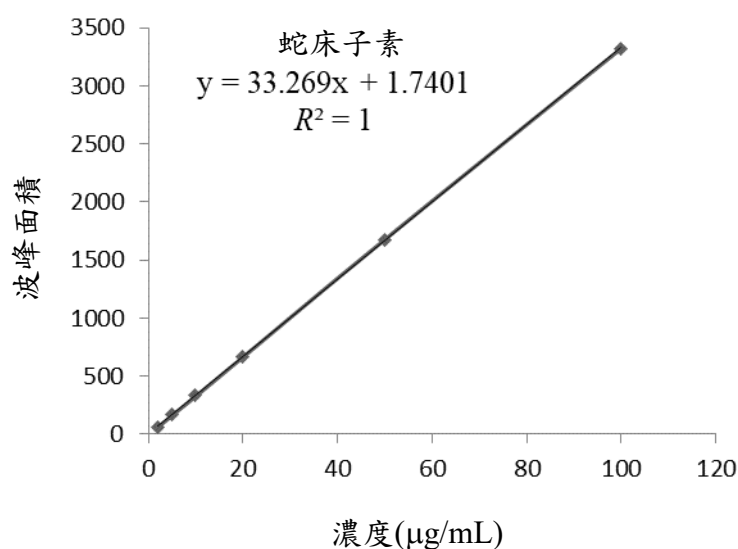
結果顯示萃取 1 次基本上已將蛇床子素萃取完全(萃取率大於 98%)。

表二、獨活檢品萃取次數評估

甲醇萃取次數	蛇床子素波峰面積
第 1 次	864.1
第 2 次	N.D.

(五) 標準品蛇床子素檢量線

經不同濃度蛇床子素(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 $y = 33.269x + 1.7401$ ， $R^2 = 1$ ，顯示濃度在 2.0–100 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、蛇床子素之檢量線圖

表三、蛇床子素之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
蛇床子素	2.0–100	$y = 33.269x + 1.7401$	1

(六) 精密度試驗

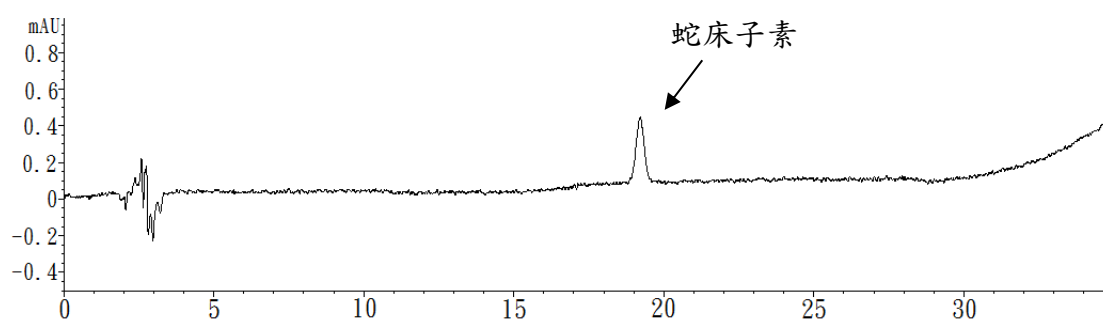
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，蛇床子素精密度之相對標準差為 0.08%，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

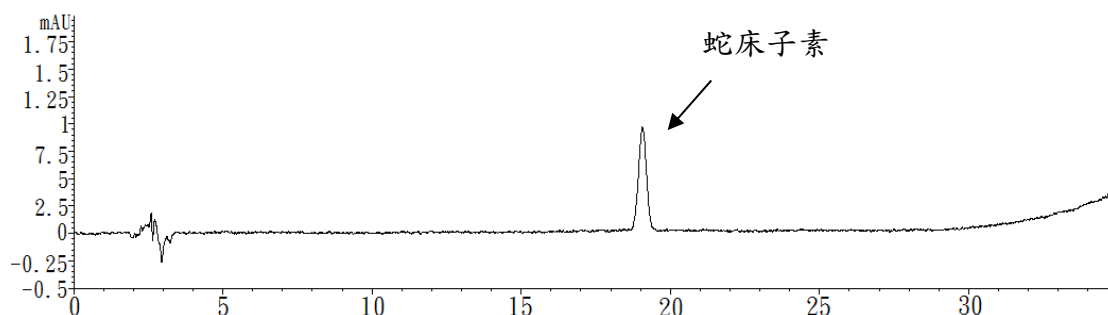
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，蛇床子素重複性之相對標準差為 1.68%，在系統適用性要求內。蛇床子素在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差為 0.54%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

蛇床子素偵測極限為 0.2 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 0.5 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、蛇床子素之偵測極限層析圖



圖五、蛇床子素之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	蛇床子素	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	20 $\mu\text{g/mL}$	0.08
重複性 (n=5)	檢品溶液 (No.8)	1.68
穩定性 (n=6)	檢品溶液 (No.8)	0.54
偵測極限 (n=1)	0.2 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=1)	0.5 $\mu\text{g/mL}$	-

(九) 添加回收率試驗

蛇床子素平均添加回收率為 100.8%，相對標準偏差為 2.64%。

表五、蛇床子素添加回收率

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	0.100	0.576	0.5	1.057	96.20	100.84	2.64
2	0.101	0.576	0.5	1.090	102.80		
3	0.100	0.576	0.5	1.093	103.40		
4	0.101	0.576	0.5	1.087	102.20		
5	0.101	0.576	0.5	1.074	99.60		

(十) 臺灣市售獨活含量測定

10 批獨活藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，蛇床子素的含量為 0.508–0.913%。建議獨活藥材指標成分蛇床子素的含量不得少於 0.50%。理論板數按蛇床子素波峰計算應不低於 8000 (實際值為 23000)。

表六、臺灣市售獨活檢品之蛇床子素含量

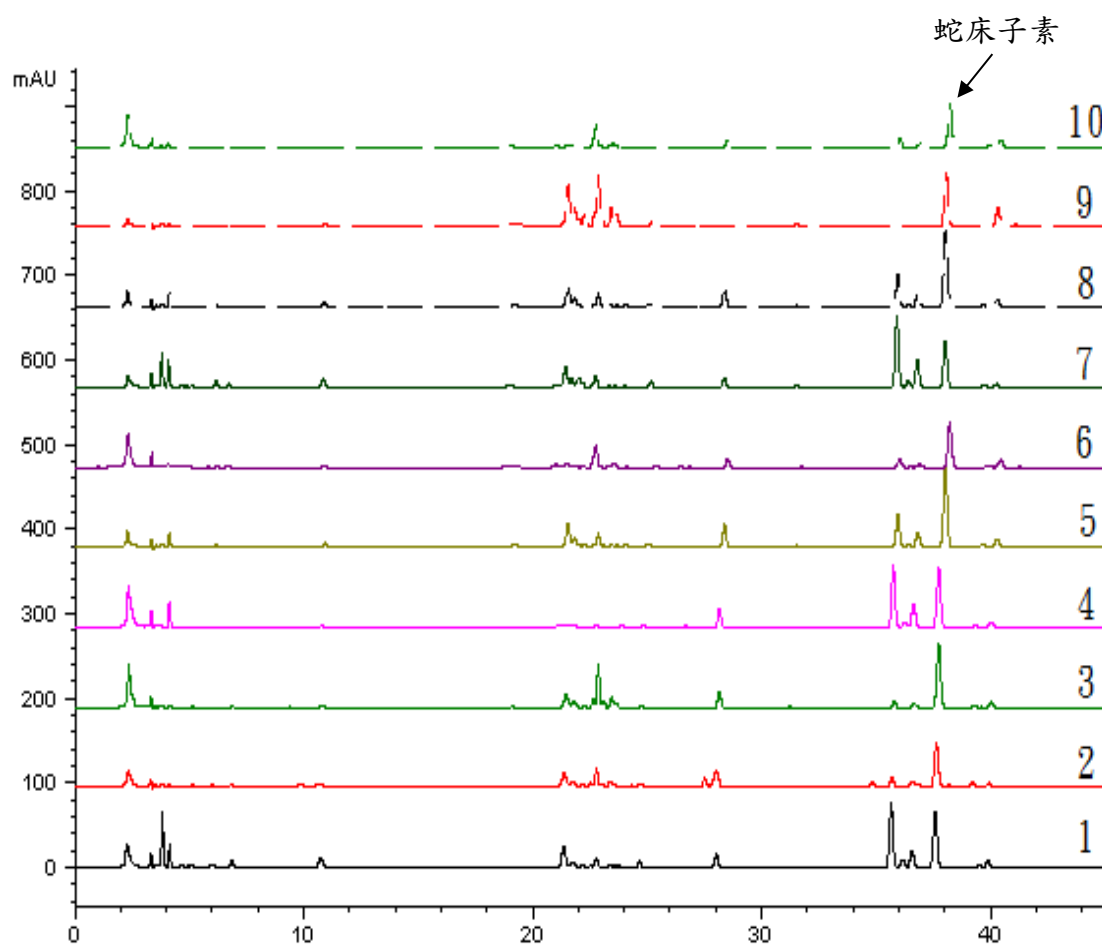
藥材編號(No.)	蛇床子素含量(%)
1 (ND-2)	0.677
2 (NR)	0.630
3 (NY)	0.866
4 (NZ)	0.509
5 (CA-2)	0.562
6 (CA-3)	0.913
7 (CA-4)	0.686
8 (SA-2)	0.656
9 (SA-3)	0.508
10 (SG-2)	0.766
平均值±S.D.	0.677±0.138

(十一) 獨活藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售獨活檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：COSMOSIL 5C₁₈-AR-II Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 320 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：30 $^{\circ}$ C
5. 注入量：10 μ L
6. 移動相：

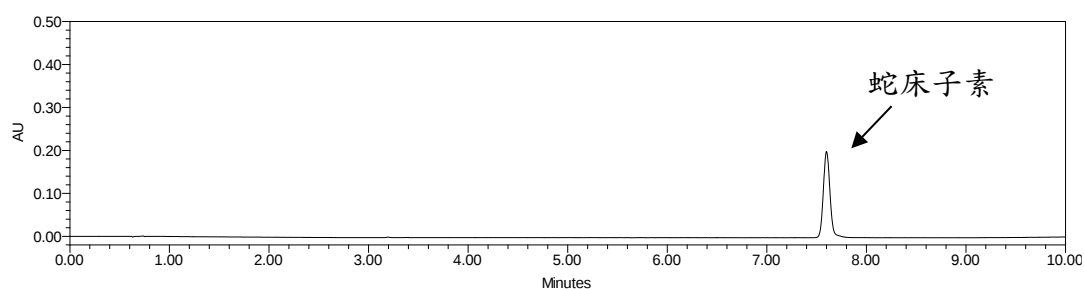
時間(min)	乙腈(%)	水(%)
0	30	70
15	30	70
20	45	55
40	65	35
45	100	0



圖六、10 批獨活藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 標準品蛇床子素之 UPLC 層析

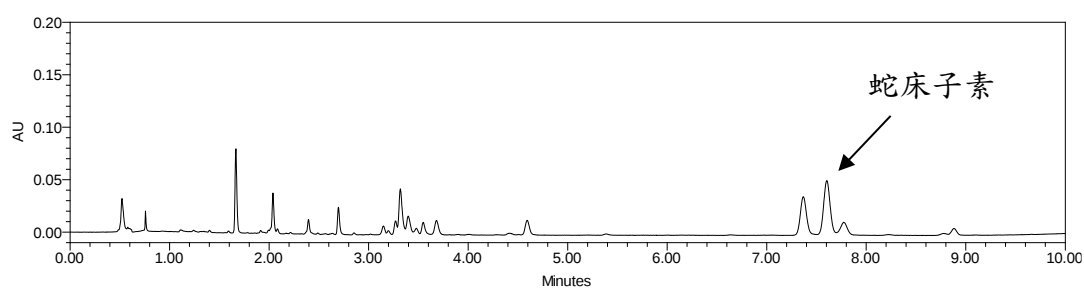
於滯留時間 7.59 分鐘處顯示蛇床子素標準品的波峰(圖七)。



圖七、蛇床子素標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售獨活檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 7.60 分鐘處顯示獨活檢品中蛇床子素的波峰(圖八)。

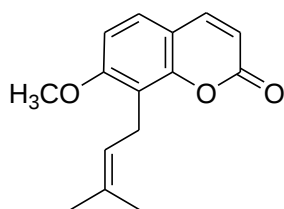


圖八、市售獨活檢品之 UPLC 層析圖

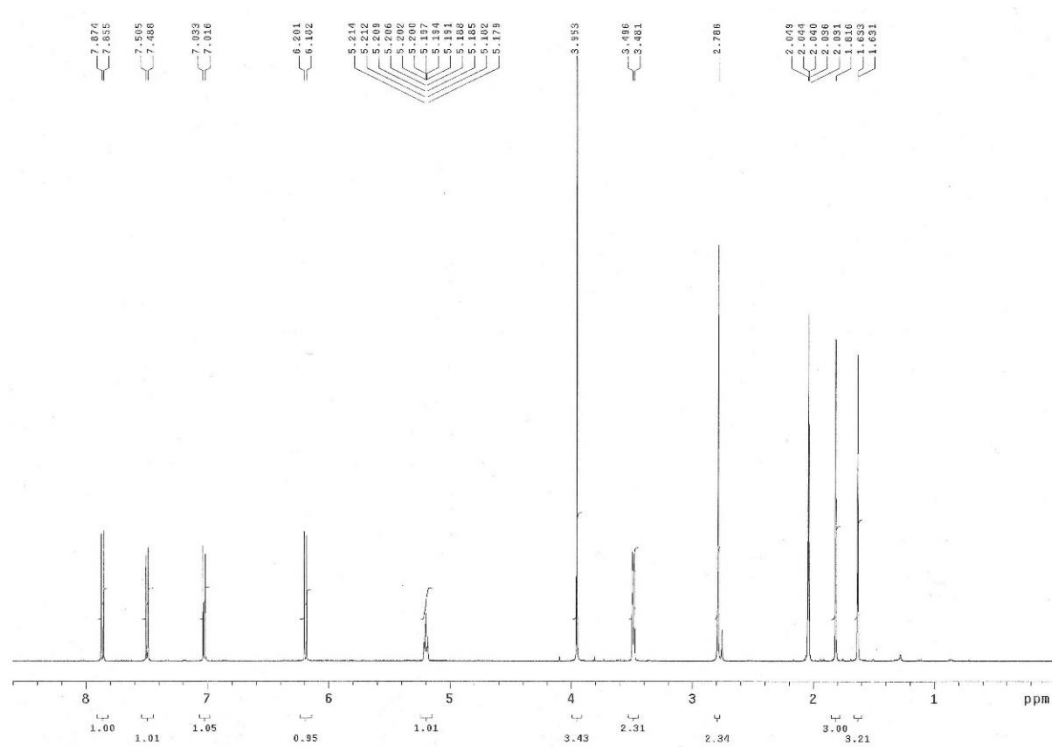
(十四) 蛇床子素的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{15}H_{16}O_3$ ；分子量：244.29；熔點：83–84 °C；白色粉狀。

(十五) 蛇床子素的結構

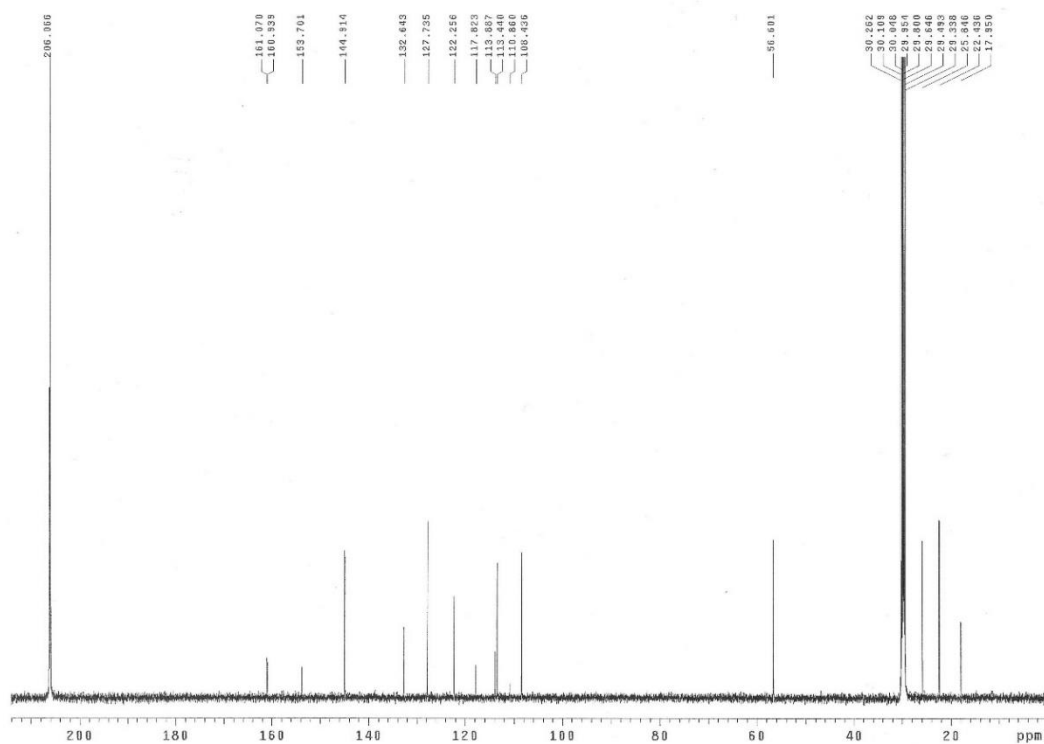


(十六) 蛇床子素的 ^1H NMR 圖譜

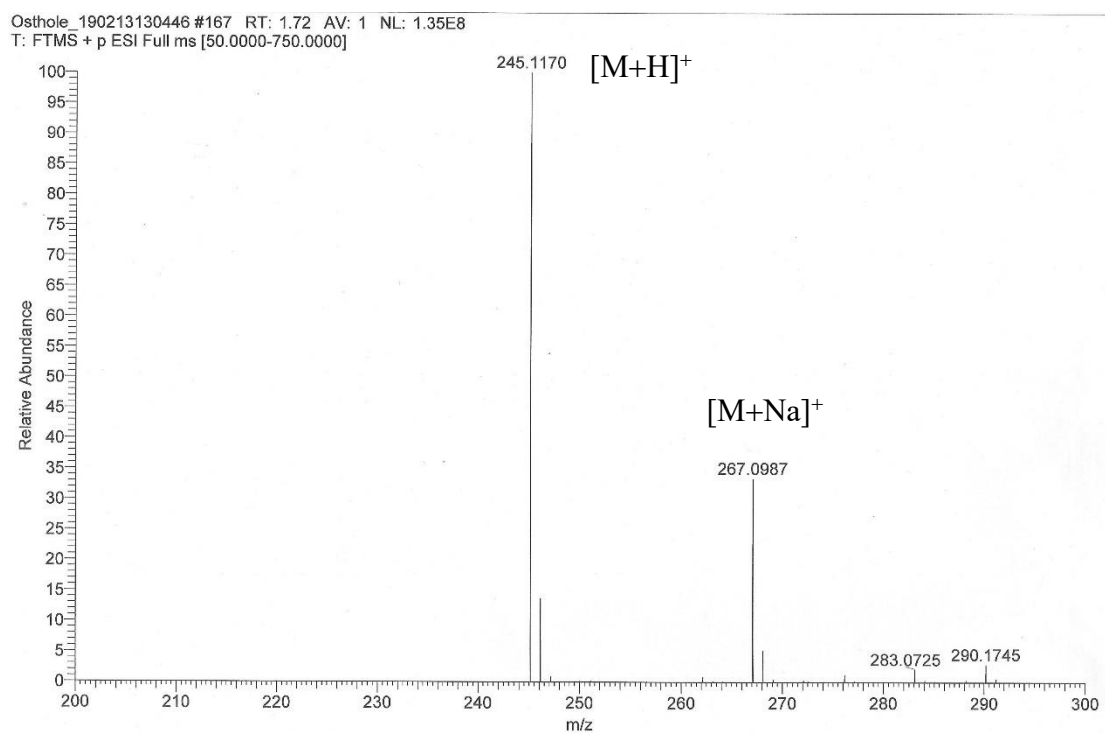


圖九、蛇床子素的 ^1H NMR 圖譜(acetone- d_6)

(十七) 蛇床子素的 ^{13}C NMR 圖譜

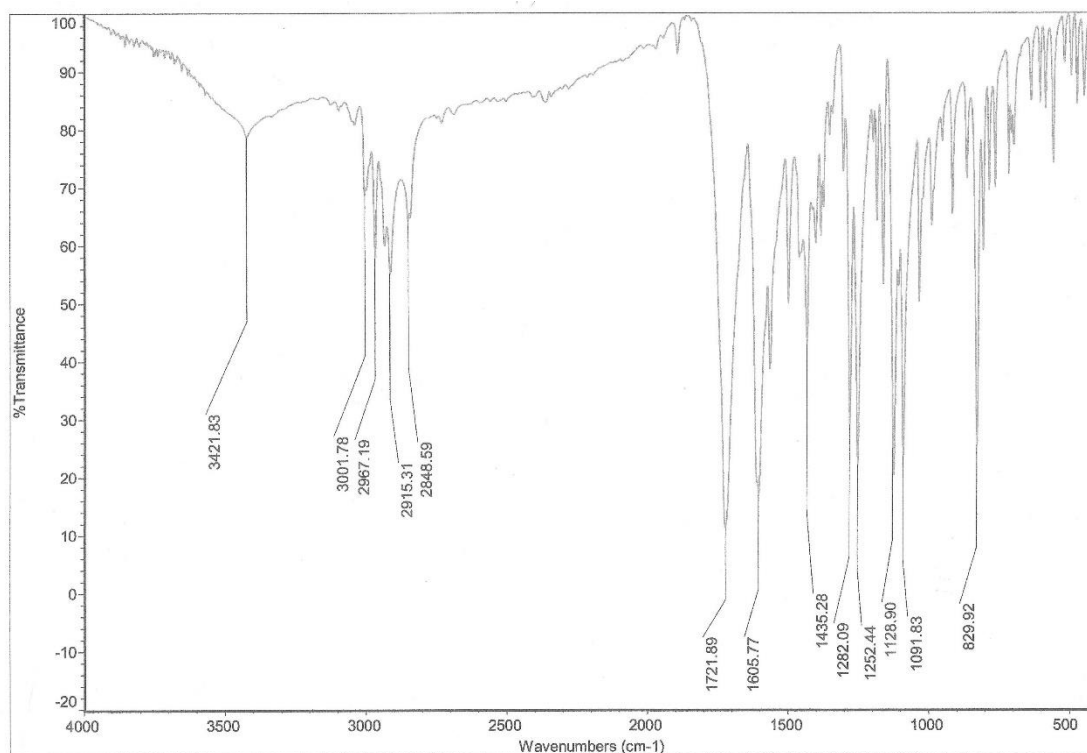


(十八) 蛇床子素的 ESI-MS 圖譜



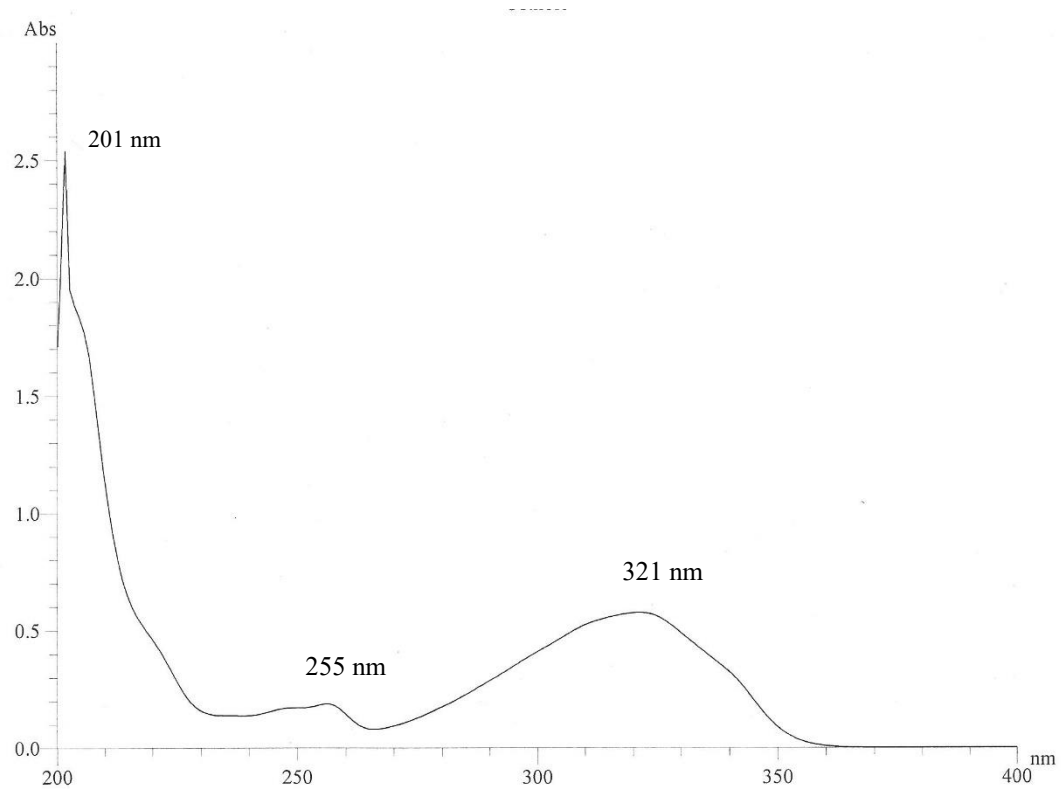
圖十一、蛇床子素的 ESI-MS 圖譜

(十九) 蛇床子素的 FTIR 圖譜



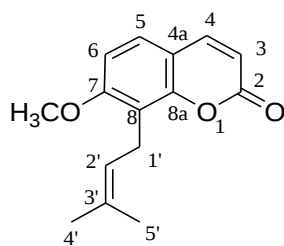
圖十二、蛇床子素的 FTIR 圖譜

(二十) 蛇床子素的 UV 圖譜



圖十三、蛇床子素的 UV 圖譜

(二十一) 蛇床子素的氫、碳化學位移



蛇床子素

表七、蛇床子素的氫、碳化學位移(acetone-*d*₆)^a

position	δ_{H} (500 MHz)	δ_{C} (125 MHz)
1	-	-
2	-	160.9
3	6.19 (d, 9.5)	113.4
4	7.86 (d, 9.5)	144.9
4a	-	113.9
5	7.50 (d, 8.5)	127.7
6	7.02 (d, 8.5)	108.4
7	-	161.1
8	-	117.8
8a	-	153.7
1'	3.49 (d, 7.5)	22.4
2'	5.20 (m)	122.3
3'	-	132.6
4'	1.63 (s)*	18.0*
5'	1.82 (s)*	25.8*
7-OCH ₃	3.95 (s)	56.6

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

獨活飲片(ANGELICAE PUBESCENTIS RADIX)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店獨活飲片共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Agilent 1100 series, 包含 Degasser (G1379A)、Quat Pump (G1311A)、DAD (G1315B)、Autosampler (G1329A), Column Oven H-650 (Chrom Tech, TNC.); 層析管柱 COSMOSIL 5C₁₈-AR-II 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(99.9%)購自於 Merck; 乙晴(99.9%)購自於 Sigma-Aldrich。

(二) 標準品

標準品蛇床子素(Osthole)購自於普思生物科技股份有限公司, 純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒開發

獨活飲片最佳萃取溶媒同獨活藥材。

(二) 最佳萃取次數評估

獨活飲片最佳萃取次數同獨活藥材。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品蛇床子素 2.0 mg, 加 10 mL 的甲醇製成每 1 mL 含蛇床子素 200 μg 的標準品儲備溶液, 並以甲醇稀釋至 20 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 50 mL 離心管中, 準確加入甲醇 40 mL, 超音波振盪處理(功率 300 W, 頻率 40 kHz) 30 分鐘, 離心 5 分鐘(約 3000 × g), 以 No.1 濾紙過濾, 取濾液, 轉移至 50 mL 之定量瓶中, 加甲醇至刻度, 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蛇床子素的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取蛇床子素標準品儲備溶液適量(200 $\mu\text{g/mL}$)，以甲醇稀釋製成含蛇床子素分別為 100、50、25、20、10、5.0、2.0 $\mu\text{g/mL}$ 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

以蛇床子素濃度為 20 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以蛇床子素的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性:取同一批市售獨活飲片粉末，依獨活飲片檢品溶液製備方法平行製備 5 份獨活飲片檢品溶液，進樣測定，以蛇床子素的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性:取同一批市售獨活飲片粉末，依獨活飲片檢品溶液製備方法製備獨活飲片檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以蛇床子素的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(九) 偵測極限與定量極限試驗

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。

(十) 添加回收率試驗

取已知蛇床子素含量的獨活飲片粉末 5 份，每份準確稱取各約 0.1 g，分別加入 0.62 mg 的蛇床子素，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 Column (250 x 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 320 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：30 °C
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	水(%)
0	52	48
25	52	48
35	100	0

(十二) 臺灣市售獨活飲片含量測定

取 10 批市售獨活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 公式計算樣品蛇床子素的百分含量。

(十三) 獨活飲片檢品之 UPLC 層析條件

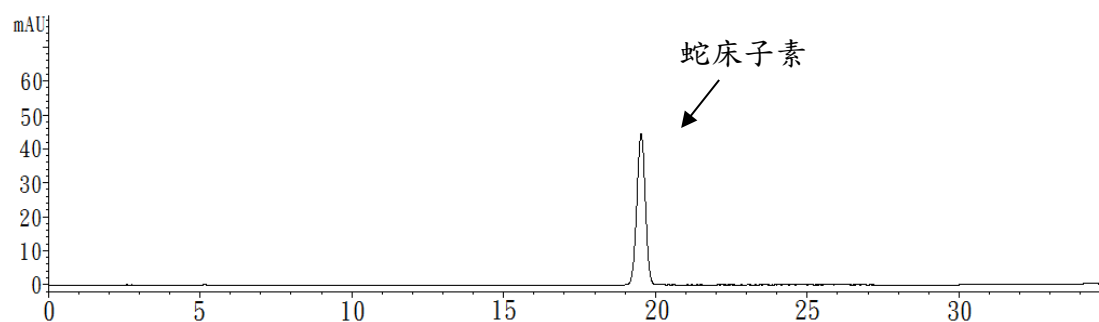
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 320 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	水(%)
0	10	90
2	40	60
5	45	55
8	50	50
10	100	0

五、結果

(一) 標準品蛇床子素之 HPLC 層析

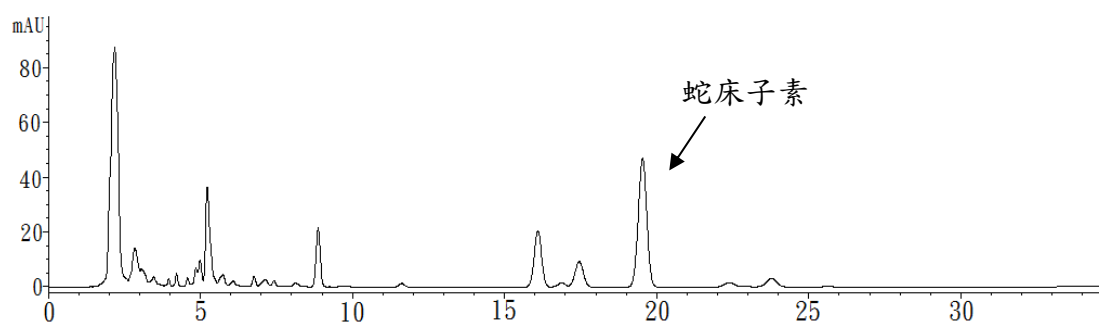
於滯留時間 19.3 分鐘處顯示蛇床子素標準品波峰(圖一)。



圖一、蛇床子素標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售獨活飲片檢品之 HPLC 層析

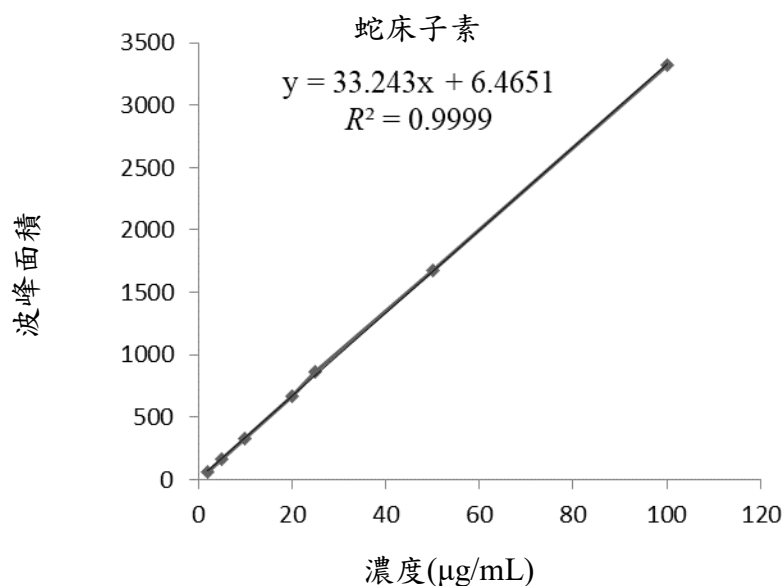
於滯留時間 19.4 分鐘處顯示獨活飲片檢品中蛇床子素波峰(圖二)。分離率 $R = 4.5$ ，托尾因子 $T = 0.99$ ，均在系統適用性要求內。



圖二、市售獨活飲片檢品之 HPLC 層析圖

(三) 標準品蛇床子素檢量線

經不同濃度蛇床子素(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 $y = 33.243x + 6.4651$ ， $R^2 = 0.9999$ ，顯示濃度在 2.0–100 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、蛇床子素之檢量線圖

表一、蛇床子素之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
蛇床子素	2.0–100	$y = 33.243x + 6.4651$	0.9999

(四) 精密度與重複性試驗

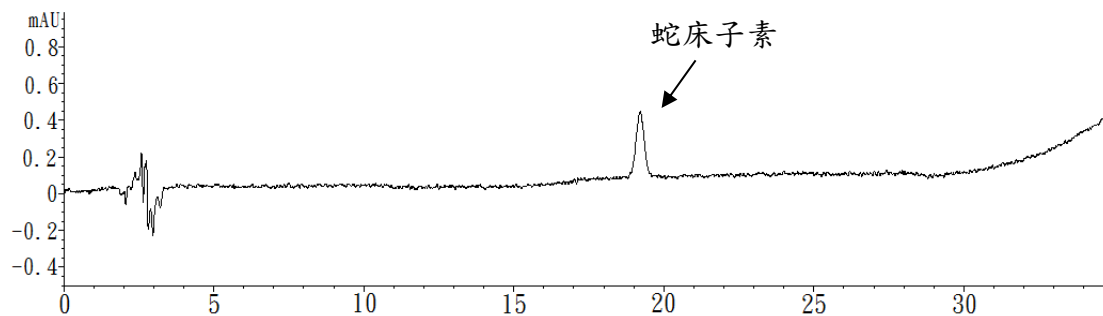
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，蛇床子素精密度之相對標準差為 0.08%，重複性之相對標準差為 0.77%，均在系統適用性要求內。

(五) 穩定性試驗

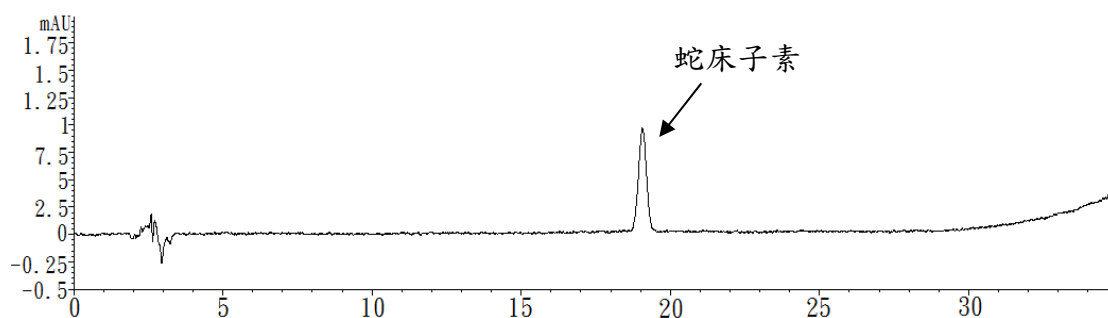
實驗結果顯示，蛇床子素在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差為 0.17%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(六) 偵測極限與定量極限試驗

蛇床子素偵測極限(limit of detection, LOD)為 0.2 $\mu\text{g/mL}$ (圖四), 定量極限(limit of quantitation, LOQ)為 0.5 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、蛇床子素之 LOD 層析圖



圖五、蛇床子素之 LOQ 層析圖

表二、各項檢驗分析

檢測項目	蛇床子素	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	20 $\mu\text{g/mL}$	0.08
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.5)	0.77
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.5)	0.17
偵測極限 (n=1)	0.2 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=1)	0.5 $\mu\text{g/mL}$	-

(七) 添加回收率試驗

蛇床子素平均添加回收率為 105.7%，相對標準偏差為 2.30%。

表三、蛇床子素添加回收率

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	0.100	0.640	0.62	1.277	102.74	105.68	2.30
2	0.100	0.640	0.62	1.313	108.55		
3	0.101	0.640	0.62	1.281	103.39		
4	0.101	0.640	0.62	1.312	108.39		
5	0.101	0.640	0.62	1.293	105.32		

(八) 臺灣市售獨活飲片含量測定

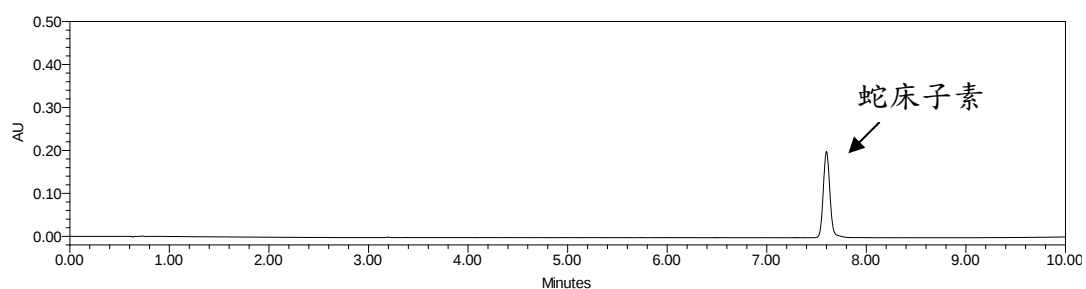
10 批獨活飲片之含量測定結果(乾燥品)如表四所示，蛇床子素的含量為 0.628–0.791%。建議獨活飲片指標成分蛇床子素的含量不得少於 0.50%。理論板數按蛇床子素波峰計算應不低於 8000 (實際值為 23000)。

表四、臺灣市售獨活飲片檢品之蛇床子素含量

藥材編號(No.)	蛇床子素含量(%)	藥材編號(No.)	蛇床子素含量(%)
1 (NC)	0.673	6 (CA-5)	0.721
2 (NF)	0.761	7 (SC)	0.791
3 (NJ)	0.778	8 (SG)	0.636
4 (NR-2)	0.628	9 (SU-1)	0.735
5 (CA-1)	0.708	10 (SU-2)	0.736

(九) 標準品蛇床子素之 UPLC 層析

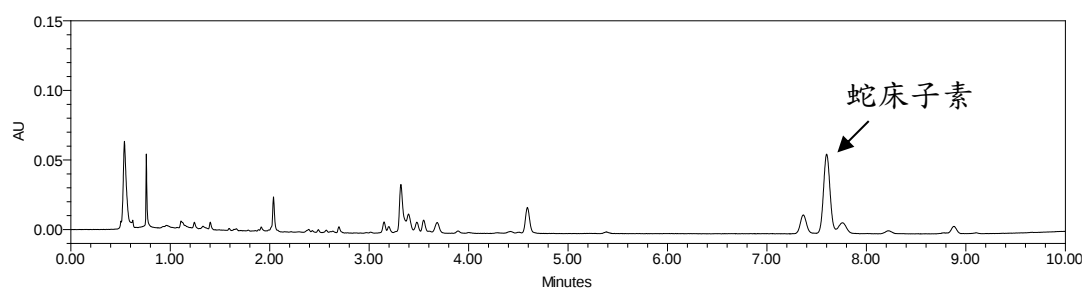
於滯留時間 7.59 分鐘處顯示蛇床子素標準品的波峰(圖六)



圖六、蛇床子素標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十) 市售獨活飲片檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 7.60 分鐘顯示獨活飲片檢品中蛇床子素的波峰(圖七)。



圖七、市售獨活飲片檢品之 UPLC 層析圖

獨活

生藥名：ANGELICAE PUBESCENTIS RADIX

英文名：Pubescent Angelica Root

基 原：本品為繖形科 Umbelliferae 植物重齒毛當歸 *Angelica pubescens* Maxim. f. *biserrata* R.H.Shan et C.Q.Yuan 之乾燥根。

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 15 分鐘，過濾，取濾液作為檢品溶液。

【萃取方法 2】(香港中藥材標準第六冊)

——取本品粉末 2.0 g，加乙醚 10 mL，放置過夜，過濾，濾液濃縮至乾，殘渣加二氯甲烷 2 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

(二) 對照標準品 取蛇床子素(Osthole)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) ✓

——正己烷：乙酸乙酯 (2：1)

【展開劑 2】(修飾中華人民共和國藥典 2015)

——正己烷：乙酸乙酯 (7：3)

【展開劑 3】(香港中藥材標準第二冊)

——正己烷：甲苯：乙酸乙酯 (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 之紫外燈照射檢視之。

二、萃法選擇及濃度測試

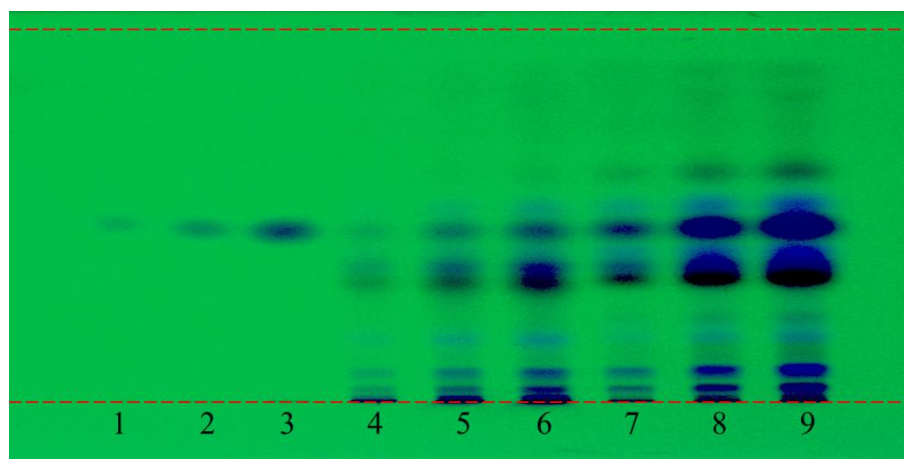
實驗日期：108/03/12

相對溼度(RH)：37%

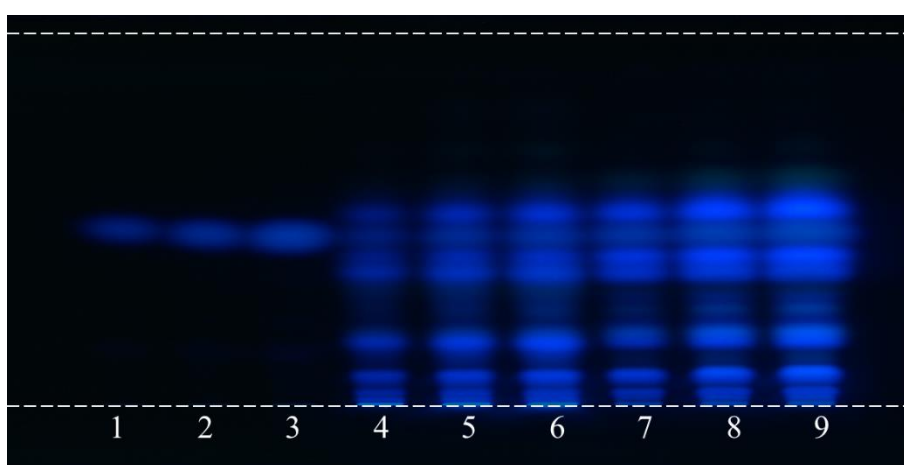
溫度(RT)：26 °C

【展開劑 1】 (臺灣中藥典第三版 2018)——正己烷：乙酸乙酯 (2：1)

—HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



—HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



編號	名稱	點注量
1, 2, 3	蛇床子素 (1.0 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
4, 5, 6	檢品溶液 3 【萃取方法 1】	2, 5, 8 μ L
7, 8, 9	檢品溶液 3 【萃取方法 2】	2, 5, 8 μ L

建議萃法：2 種萃法之檢品溶液中皆有分離與檢出標準品蛇床子素，而由於製備方法較簡易快速，故選擇臺灣中藥典萃法【萃取方法 1】。

建議點注量：蛇床子素標準品溶液 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 1】 5 μ L。

三、溶媒系統選擇

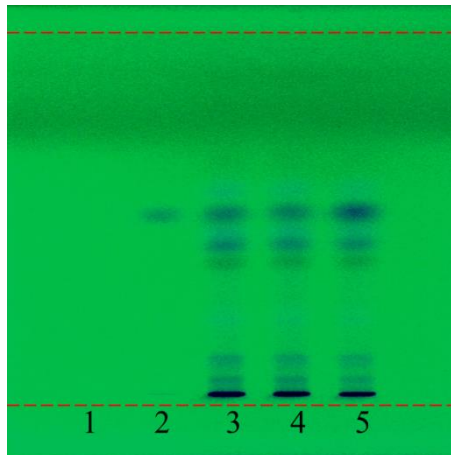
實驗日期：108/03/12

相對溼度(RH)：37%

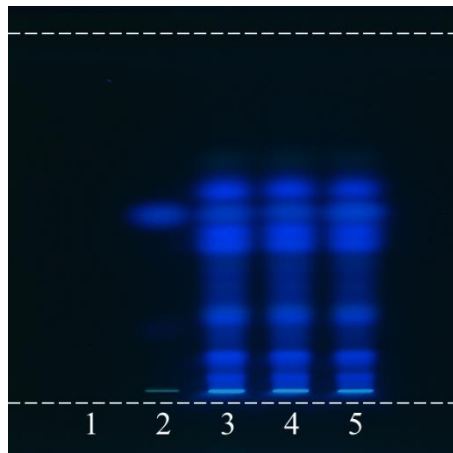
溫度(RT)：26 °C

【展開劑 1】 (臺灣中藥典第三版 2018)——正己烷：乙酸乙酯 (2：1) ✓

【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第三版 2018)—— HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(蛇床子素 R_f 值為 0.49)

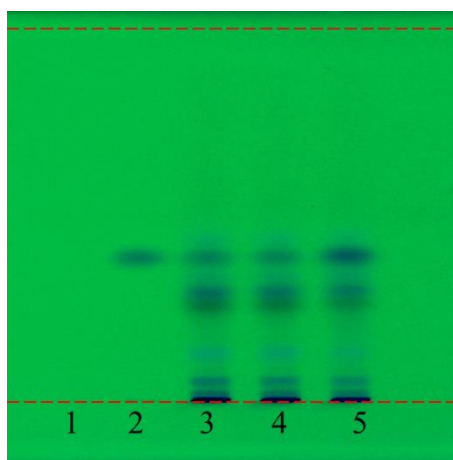


【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第三版 2018)—— HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(蛇床子素 R_f 值為 0.49)

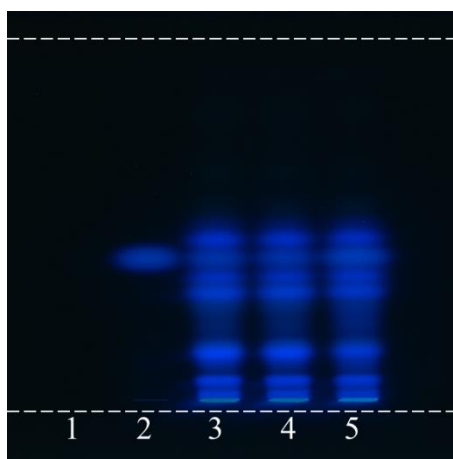


【展開劑 2】 (修飾中華人民共和國藥典 2015)——正己烷：乙酸乙酯 (7：3)

【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(蛇床子素 R_f 值為 0.37)

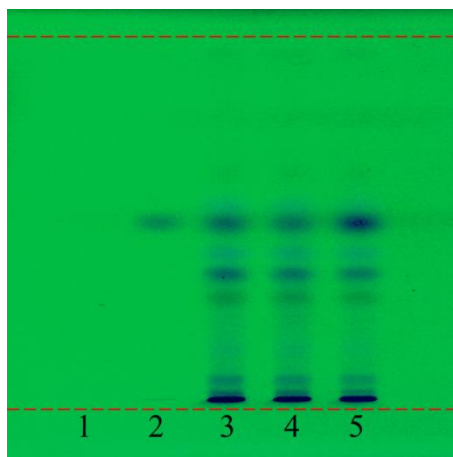


【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(蛇床子素 R_f 值為 0.37)

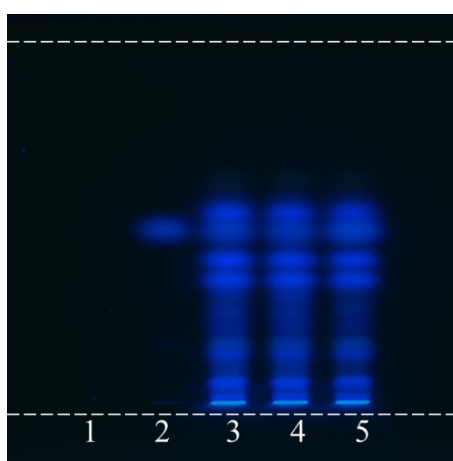


【展開劑 3】 (香港中藥材標準第二冊)——正己烷：甲苯：乙酸乙酯 (2：1：1)

【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出
(蛇床子素 R_f 值為 0.48)



【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出
(蛇床子素 R_f 值為 0.48)



1：Blank

2：蛇床子素

3，4：檢品溶液 1

5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 1】方式，由三種展開劑展開，皆可從檢品溶液中分離與檢出蛇床子素，故採用臺灣中藥典第三版 2018 之【展開劑 1】。

四、觀察方式選擇

實驗日期：108/03/12

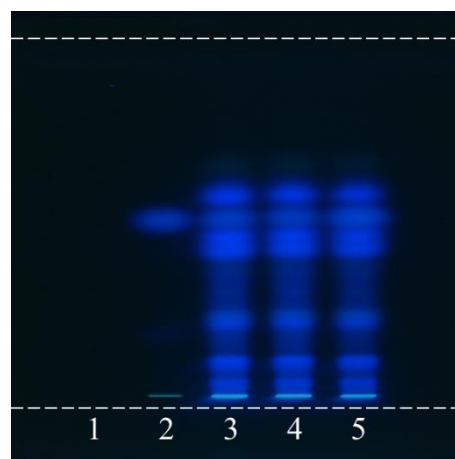
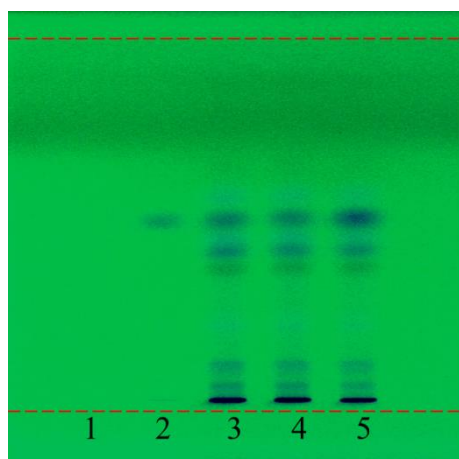
相對溼度(RH)：37%

溫度(RT)：26 °C

【展開劑 1】 (臺灣中藥典第三版 2018)——正己烷：乙酸乙酯 (2：1)

【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：蛇床子素

3，4：檢品溶液 1

5：Spike

建議觀察方式：於紫外光(254 nm)及紫外光(365 nm)下皆可顯示出明顯之條帶及蛇床子素標準品斑點。

五、十批獨活樣品檢測

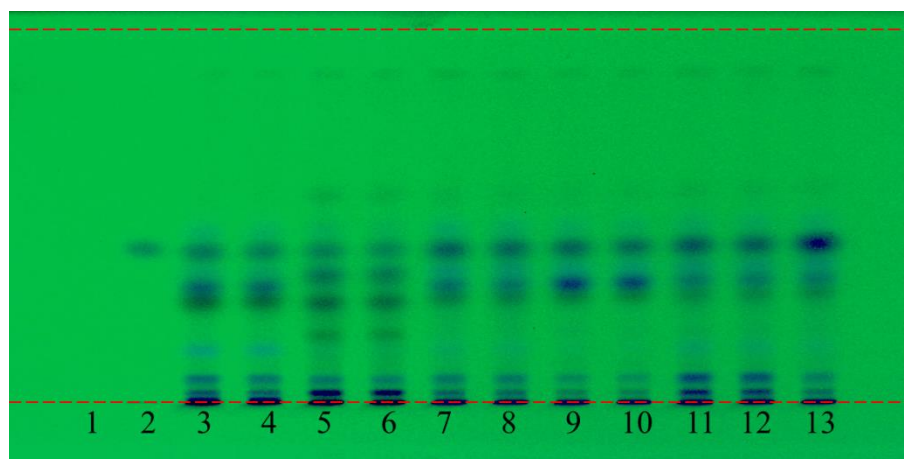
實驗日期：108/03/14

相對溼度(RH)：42%

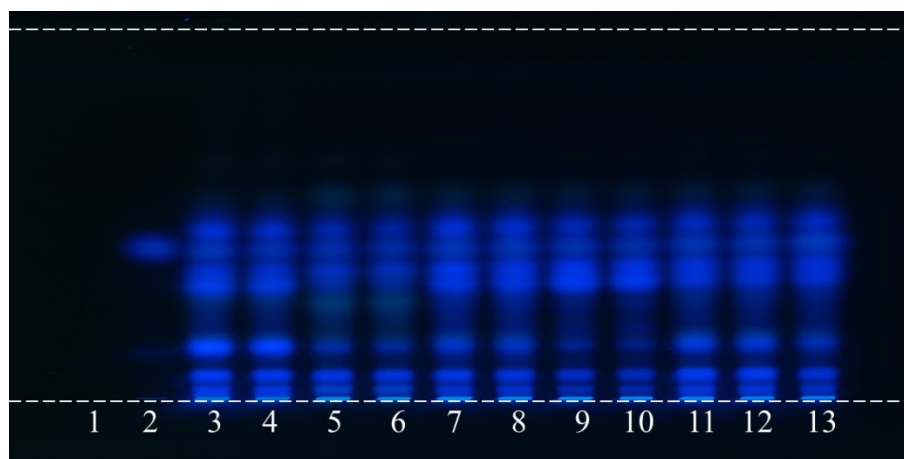
溫度(RT)：27 °C

【展開劑 1】 (臺灣中藥典第三版 2018)——正己烷：乙酸乙酯 (2：1)

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



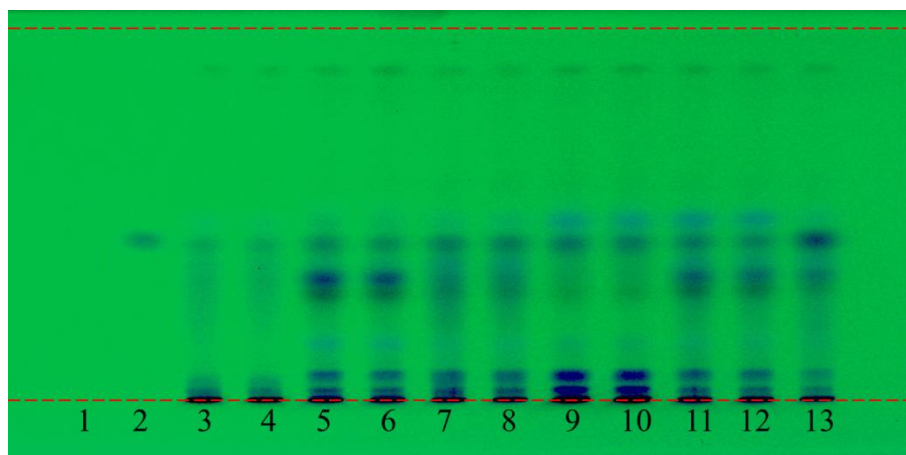
【萃取方法 1】 (臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



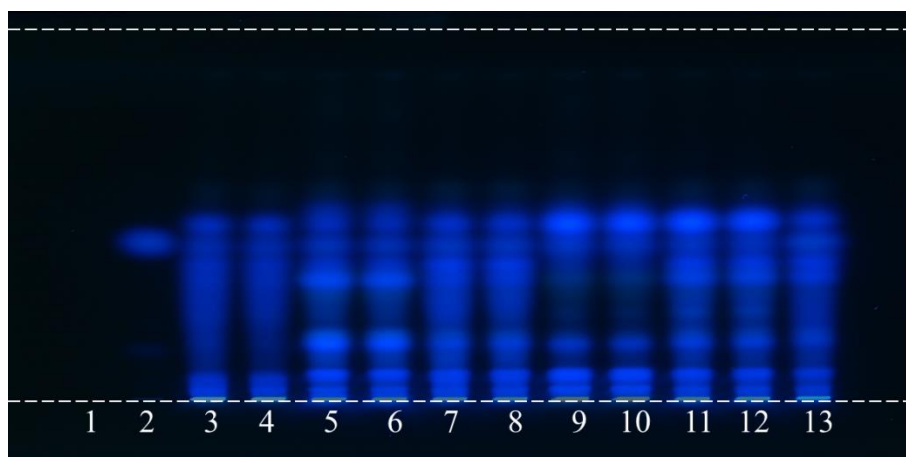
1	Blank
2	蛇床子素 (1.0 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 1 (SA-2)
5 , 6	檢品溶液 2 (SA-3)
7 , 8	檢品溶液 3 (SG-2)
9 , 10	檢品溶液 4 (ND-2)
11 , 12	檢品溶液 5 (NY)
13	Spike (檢品溶液 1)

【展開劑 1】 (臺灣中藥典第三版 2018)——正己烷：乙酸乙酯 (2：1)

【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	蛇床子素 (1.0 mg/mL)
3，4	檢品溶液 6 (NZ)
5，6	檢品溶液 7 (CA-1)
7，8	檢品溶液 8 (CA-3)
9，10	檢品溶液 9 (CA-4)
11，12	檢品溶液 10 (NR)
13	Spike (檢品溶液 1)

結論與建議：以臺灣中藥典第三版之【萃取方法 1】方式，以臺灣中藥典第三版之【展開劑 1】，顯示很好的分離效果，於紫外光(254 nm)及紫外光(365 nm)下檢視即可。

獨活(飲片)

六、十批獨活飲片樣品檢測

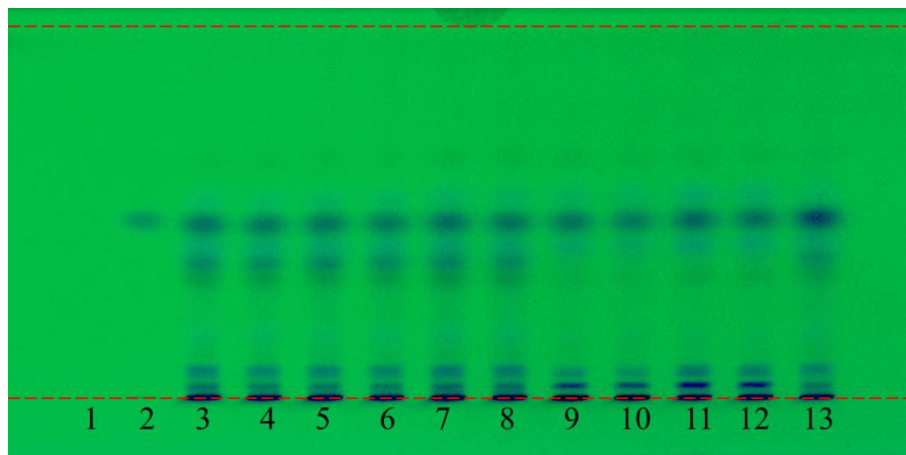
實驗日期：108/03/14

相對溼度(RH)：42%

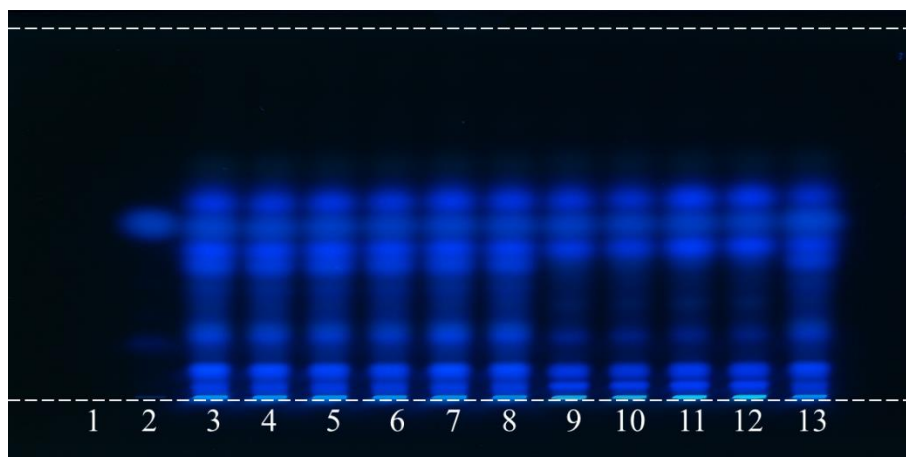
溫度(RT)：27 °C

【展開劑 1】(臺灣中藥典第三版 2018)——正己烷：乙酸乙酯 (2：1)

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



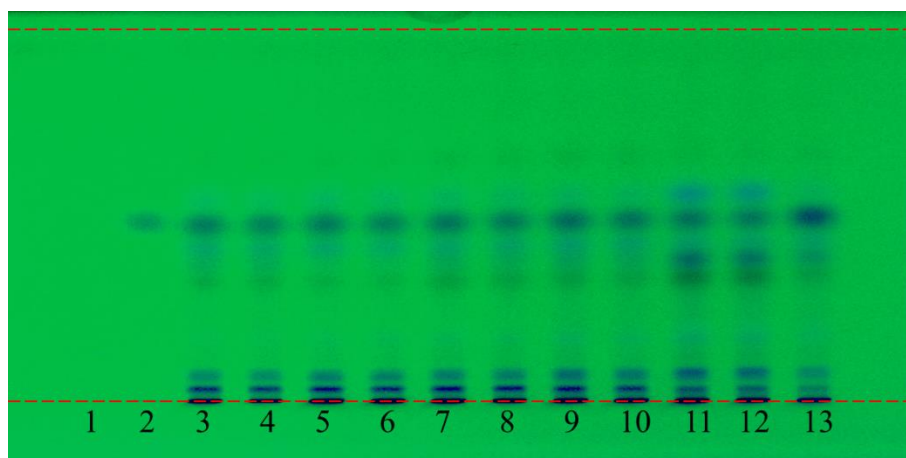
【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



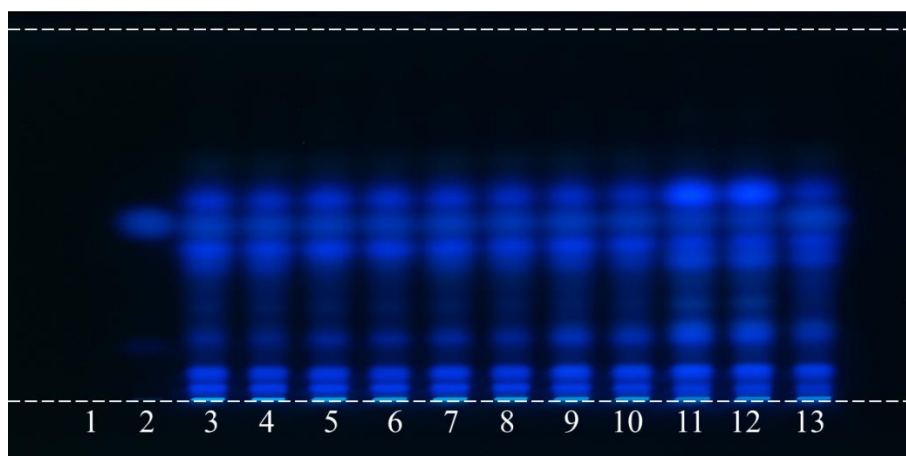
1	Blank
2	蛇床子素 (1.0 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 1 (CA-1)
5 , 6	檢品溶液 2 (CA-2)
7 , 8	檢品溶液 3 (SC)
9 , 10	檢品溶液 4 (SG)
11 , 12	檢品溶液 5 (SU-1)
13	Spike (檢品溶液 1)

【展開劑 1】 (臺灣中藥典第三版 2018)——正己烷：乙酸乙酯 (2：1)

【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	蛇床子素 (1.0 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 6 (SU-2)
5 , 6	檢品溶液 7 (NC)
7 , 8	檢品溶液 8 (NF)
9 , 10	檢品溶液 9 (NJ)
11 , 12	檢品溶液 10 (NR)
13	Spike (檢品溶液 1)

結論與建議：飲片鑑別同藥材。