

積雪草

(CENTELLAE HERBA)

積雪草 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
積雪草 HPLC（藥材）	10
一、材料	10
二、儀器及層析管柱	10
三、實驗藥品及試劑來源	10
四、方法	10
五、結果	13
積雪草 TLC（藥材）	24
一、方法	24
二、萃法選擇及濃度測試	25
三、溶媒系統選擇	26
四、觀察方式選擇	28
五、十批積雪草藥材樣品檢測	29

積雪草 MI

一、藥材採購及鑑定

收集 13 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積雪草的乾燥全草。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：積雪草

生藥名：CENTELLAE HERBA

英文名：Asiatic Pennywort Herb

基原：本品為繖形科 Umbelliferae 植物積雪草 *Centella asiatica* (L.) Urb. 之乾燥全草。

採收加工：夏、秋兩季採收，除去泥沙，曬乾。

藥材性狀：本品常捲縮成團狀，根圓柱形，長 2~4 cm，直徑 1~2 mm；表面淺黃色或灰黃色。莖細長彎曲，黃棕色，有細縱皺紋，節上常著生鬚狀根。葉片多皺縮、破碎，完整者展平後呈近圓形或腎形，葉基心形，葉片直徑 1~4 cm；表面灰綠色，邊緣有鈍齒；葉柄扭曲，長 2~9 cm。葉及幼嫩莖枝有細毛。繖形花序腋生，短小。雙懸果扁圓形，有明顯隆起的縱稜及細網紋，常 2~3 個並排生長。氣微，味淡。

生長分佈：多年生草本植物，匍匐莖細長，節上生根。喜溫暖潮濕，忌陽光直射，以鬆軟排水良好的栽培土為佳。常見於陰濕草地或水溝邊。花期 4~10 月，果期 4~10 月。廣泛分布於熱帶及亞熱帶地區，臺灣分布於全島中低海拔之空曠地、草地及灌叢。藥材主產於華東、華南地區。

三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2)

根：

1. 木栓層由數層細胞組成，細胞類長方形。
2. 皮層細胞類圓形、類橢圓形。
3. 韌皮部寬廣，細胞壁微增厚。
4. 木質部導管放射狀排列；木射線為 1~3 列細胞。

莖：

1. 表皮細胞類圓形或類方形。下方為 2~3 列厚角細胞。
2. 皮層為 5~7 列薄壁細胞。
3. 並立型維管束 6~9 個，排列成環。
4. 纖維束位於韌皮部外側，呈新月形。
5. 韌皮部細胞皺縮，外側細胞較大。

6. 束中形成層為 2~3 列細小細胞。
7. 木質部導管徑向排列。
8. 髓部由較大的類圓形薄壁細胞組成。
9. 分泌道存在於皮層和髓線中，直徑 5~20 μm ，周圍分泌細胞 5~7 個。

葉：

1. 上、下表皮各由一列細胞組成。
2. 葉脈處的上、下表皮內側可見厚角組織，其內為薄壁組織。
3. 主脈維管束並立型。
4. 分泌道存在於主脈薄壁細胞中。
5. 葉肉部分具柵狀細胞 1~2 列；海綿細胞 4~6 列。
6. 草酸鈣簇晶散在薄壁細胞中。

四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3)

1. 本品粉末為黃棕色。
2. 分泌道含黃色條狀分泌物。
3. 花粉粒球形，直徑 20~30 μm ，具有 3 個發育孔。
4. 果實表皮細胞淺黃色，表面觀呈長條狀。
5. 葉表皮細胞呈多角形，有角質紋理，氣孔為不定式或不等式，保衛細胞直徑 20~30 μm 。
6. 纖維多成束，具明顯孔溝，直徑 10~20 μm 。
7. 導管多為螺紋導管，亦有網紋及有緣孔紋導管，直徑 5~40 μm 。
8. 草酸鈣簇晶直徑 20~50 μm 。偏光顯微鏡下呈多彩色。
9. 草酸鈣方晶直徑 5~20 μm 。偏光顯微鏡下呈多彩色。
10. 非腺毛為多細胞，多已破碎，完整者呈梭形。長可達 1300 μm 。

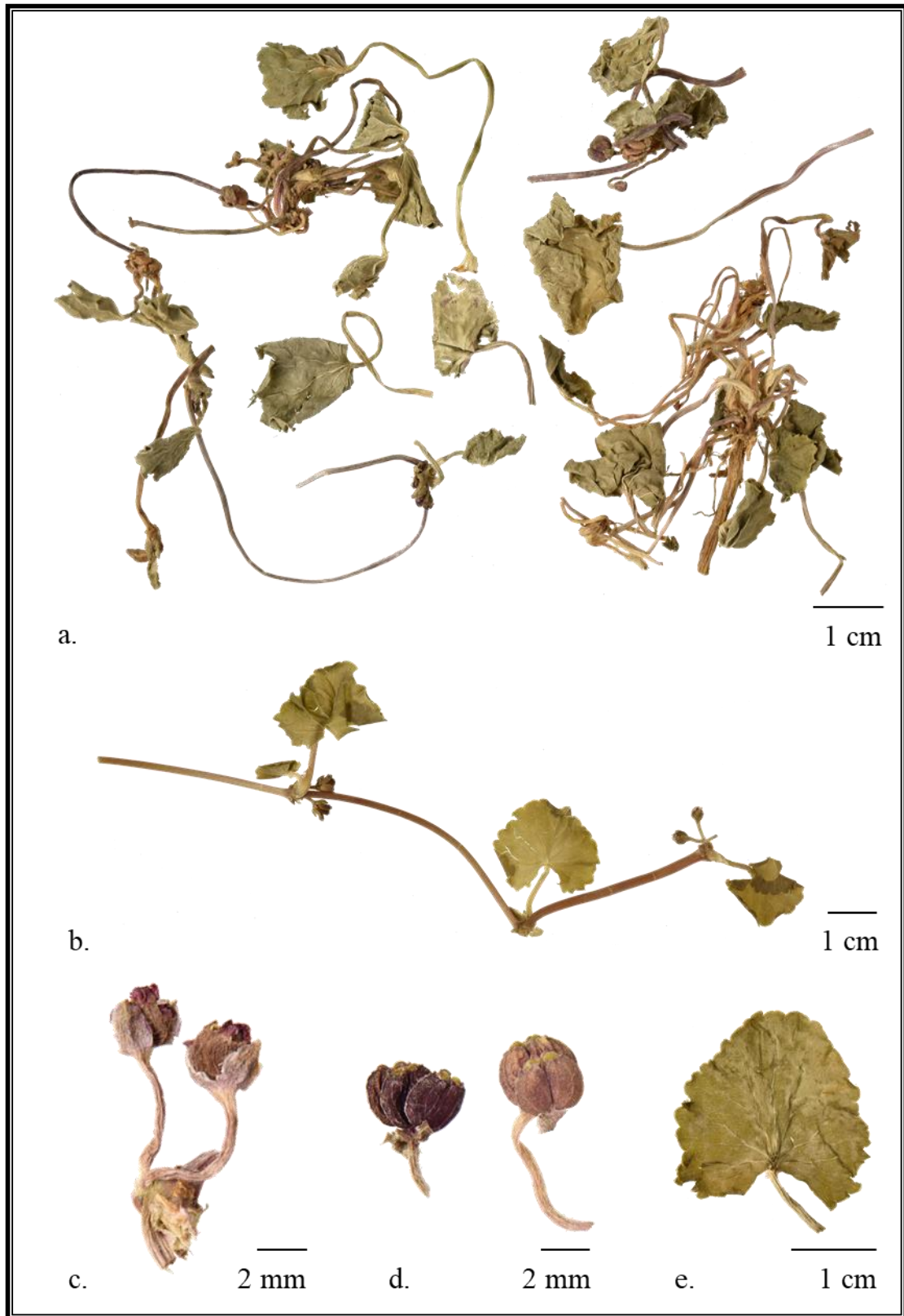


圖 1 積雪草藥材圖

a.藥材圖 b.積雪草匍匐莖展開圖 c.花 d.果實 e.葉展開圖

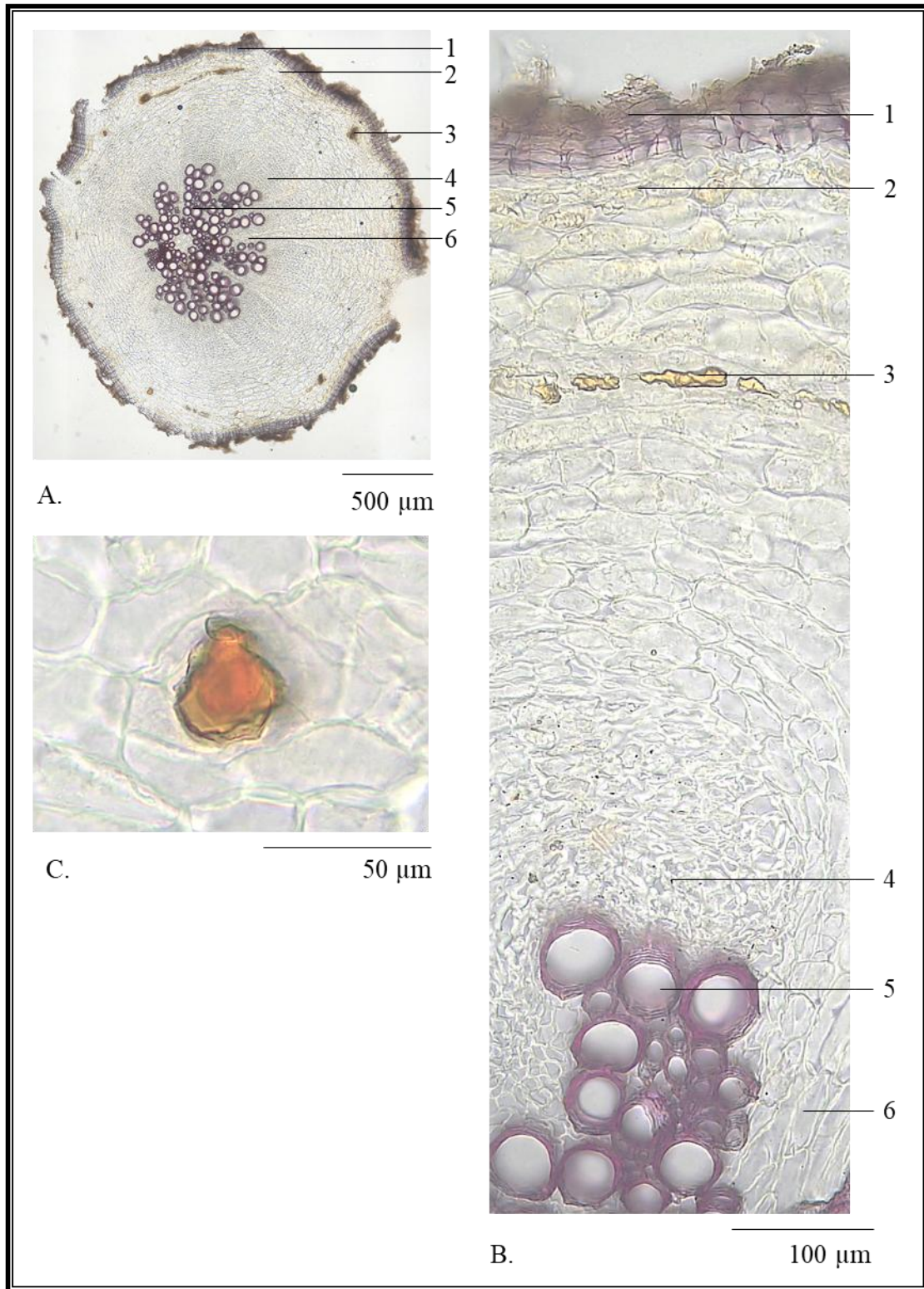


圖 2A 積雪草根橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖 C.分泌道

1.木栓層 2.皮層 3.分泌道 4.韌皮部 5.木質部 6.射線

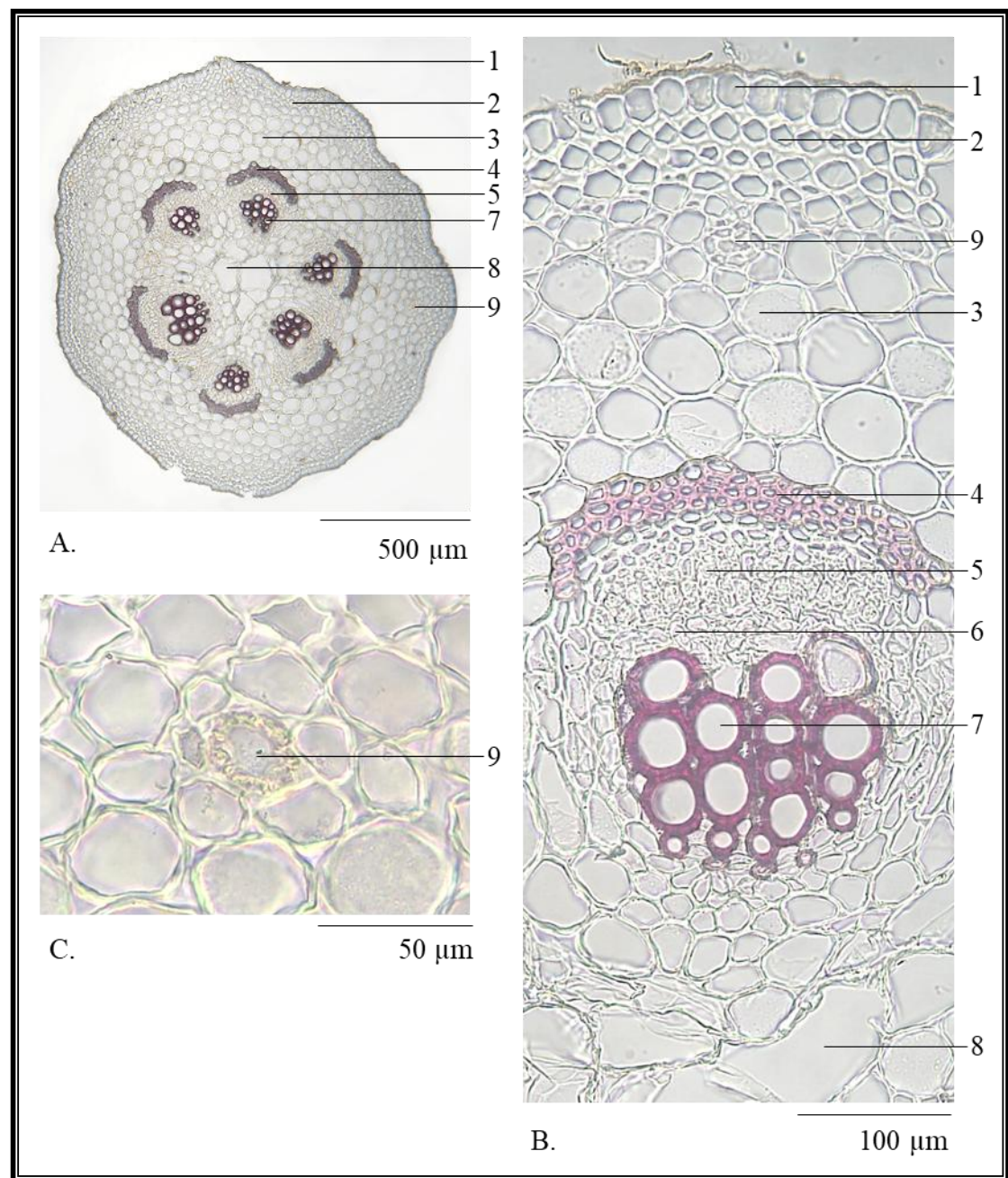


圖 2B 積雪草莖橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖 C.分泌道

1.表皮 2.厚角細胞 3.皮層 4.纖維束 5.韌皮部 6.束中形成層 7.木質部
8.髓 9.分泌道

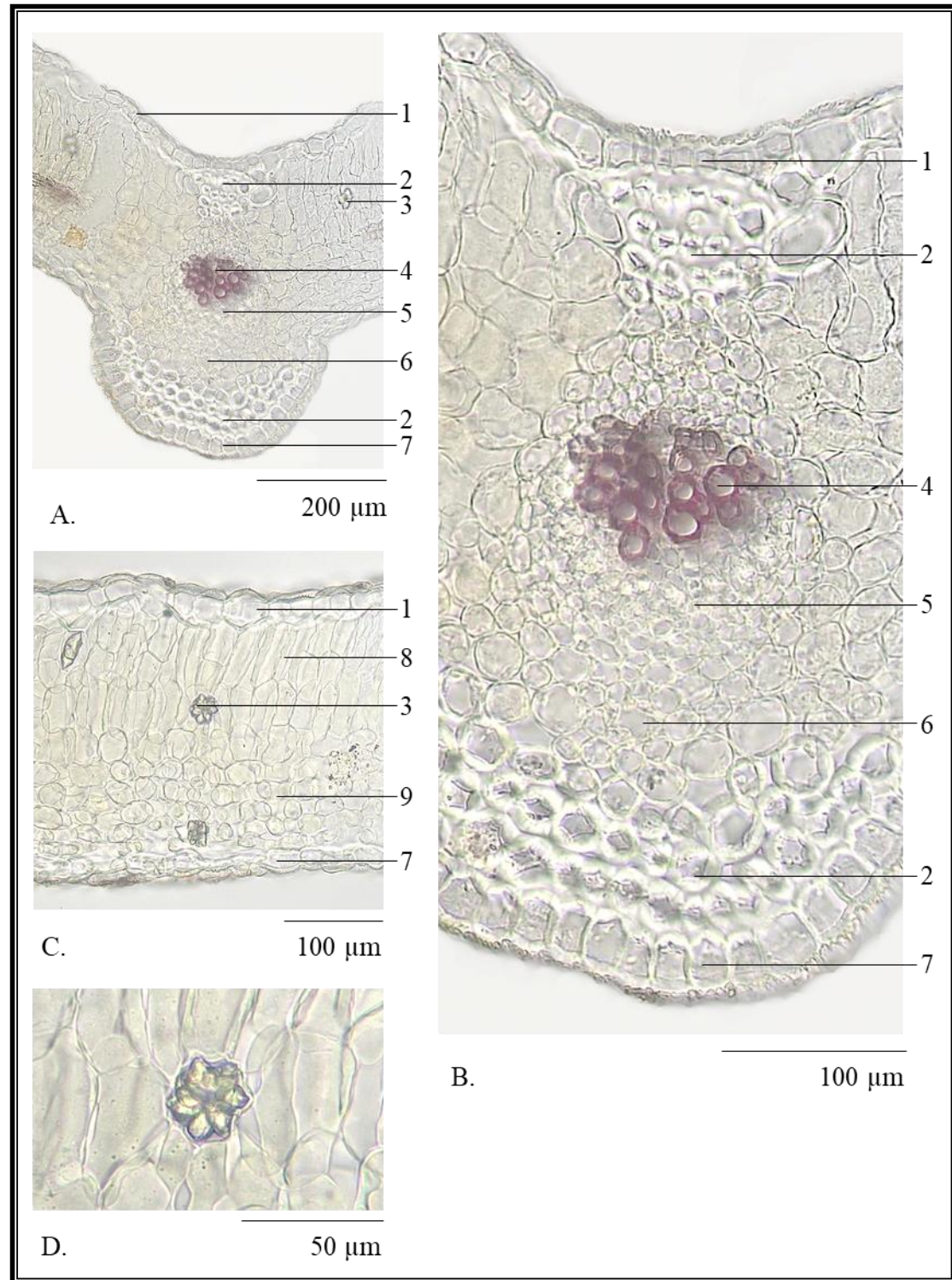


圖 2C 積雪草葉橫切面顯微特徵圖

- A. 橫切面 B. 主脈橫切面放大圖 C. 葉肉橫切面放大圖 D. 草酸鈣簇晶
1. 上表皮 2. 厚角組織 3. 草酸鈣簇晶 4. 木質部 5. 韌皮部 6. 分泌道
7. 下表皮 8. 柵狀組織 9. 海綿組織

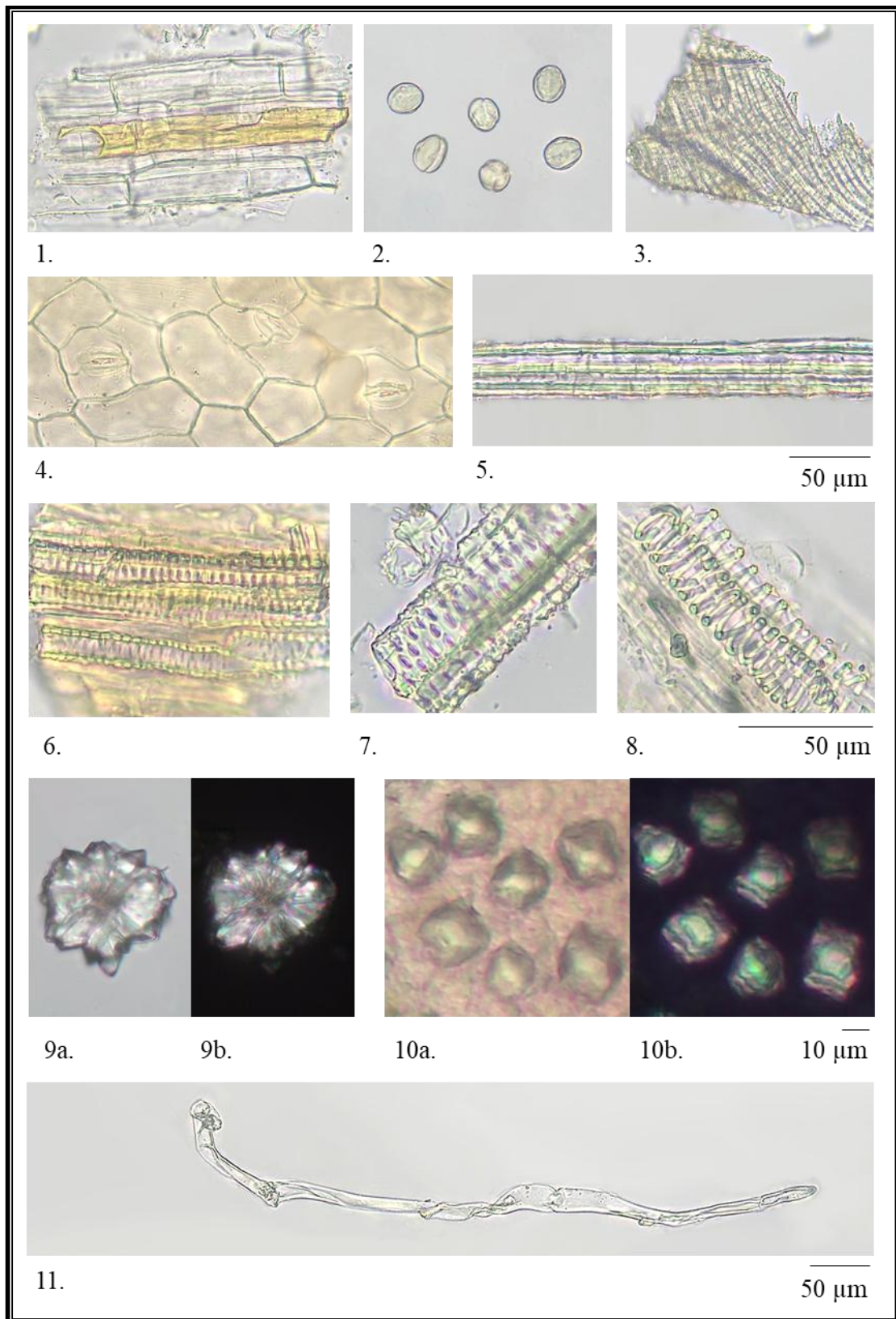


圖3 積雪草全草粉末顯微特徵圖

a. 光學顯微鏡下特徵 b. 偏光顯微鏡下特徵

1. 分泌道 2. 花粉粒 3. 果實表皮細胞 4. 葉表皮及氣孔 5. 纖維 6. 網紋導管
7. 有緣孔紋導管 8. 螺旋紋導管 9. 草酸鈣簇晶 10. 草酸鈣方晶 11. 非腺毛

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。臺北市：衛生福利部。404~405 頁。
2. 張永勳、何玉鈴(主編)(2023)。臺灣中藥典圖鑑(第二版)。臺北市：衛生福利部，362 頁。
3. 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。臺北市：行政院衛生署中醫藥委員。241~242 頁。
4. 鐘詩文(2018)。台灣原生植物全圖鑑第七卷：苦苣苔科——忍冬科。臺北市：貓頭鷹出版。388 頁。
5. 肖培根(主編)(2002)。新編中藥志第三卷。北京：化學工業出版社。260~262 頁。
6. 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。北京：人民衛生出版社。348~349 頁。
7. 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。428~429 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。535 頁。
9. 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。296 頁。
10. 潘超美、楊全(主編)(2020)。新編中國藥材學第六卷。中國醫藥科技出版社。372~374 頁。
11. 艾鐵民(主編)(2022)。中國藥典中藥材及原植物志。北京：中國醫藥科技出版社。533 頁。
12. 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。517 頁。

積雪草(CENTELLA HERBA)

一、材料

購置於臺灣各地積雪草藥材共 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 COSMOSIL 5C₁₈-AR-II Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)。

(二) UPLC 儀器及層析管柱

Shimadzu LC-2060C 3D, 包含 Quaternary pump、Autosampler、Thermostatted column compartment、Diode-Array Detector; 層析管柱 SHIMADZU shim-pack GIST (2.1 × 100 mm, 2 μm)。

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

乙腈(HPLC grade)購置於永定科技有限公司。

(二) 對照標準品

積雪草苷(Asiaticoside)購置於普思生物科技有限公司，純度 99.05%。CAS No:16830-15-2

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 0.5 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 25 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 25 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，以所測得進注量之積雪草苷最大波峰面積為最佳積雪草藥材萃取溶媒。

(二) 最佳萃取次數評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 0.5 g，置 50 mL 離心管中，準確加入 75%甲醇 25 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 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。每針 10 μL 注入 HPLC，殘渣部分重複上述方法多次萃取、進樣，直到積雪草苷被萃取完全，並選出最佳萃取次數。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取對照標準品積雪草苷 3.0 mg，加 10 mL 的甲醇製成每 1 mL 含積雪草苷 300 μg 的對照標準品儲備溶液，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 0.5 g，置 50 mL 離心管中，準確加入 75% 甲醇 25 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 50 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，用標準曲線計算檢品溶液中積雪草苷的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取積雪草苷對照標準品儲備溶液適量(300 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，以甲醇稀釋成含積雪草苷分別為 150、100、50、25、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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

以積雪草苷為 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以積雪草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：取同一批市售積雪草藥材粉末，依積雪草藥材檢品溶液製備方法平行製備 5 份積雪草藥材檢品溶液，進樣測定，以積雪草苷的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售積雪草藥材粉末，依積雪草藥材檢品溶液製備方法製備積雪草藥材檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，以積雪草苷的含量為指標，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)：將已知濃度之對照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)：將已知濃度之對照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

取已知積雪草苷含量的積雪草藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.2 g，分別加入 2.0 mg 的積雪草苷，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 205 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	5	95
10	20	80
40	30	70

(十二) 臺灣市售積雪草藥材含量測定

取 10 批市售積雪草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 公式計算樣品積雪草苷的百分比含量。

(十三) 積雪草檢品之 UPLC 分析條件

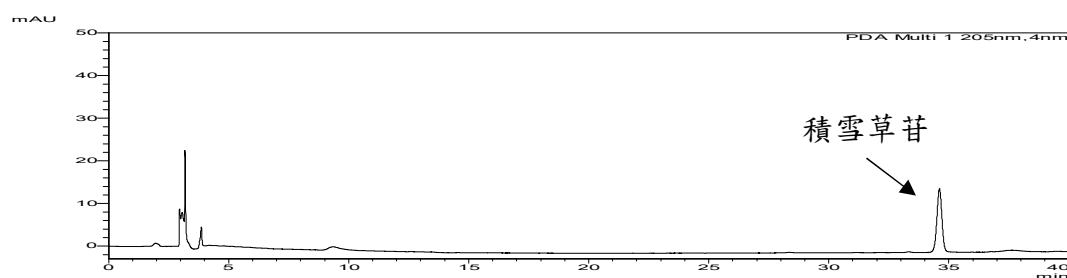
1. 層析管：SHIMADZU Shim-pack Scepter (2.1 x 100 mm, 1.9 μm)
2. 檢測波長：UV 205 nm
3. 流速：0.3 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	水(%)
0	5	95
5	20	80
20	30	70

五、結果

(一) 對照標準品積雪草苷之 HPLC 層析

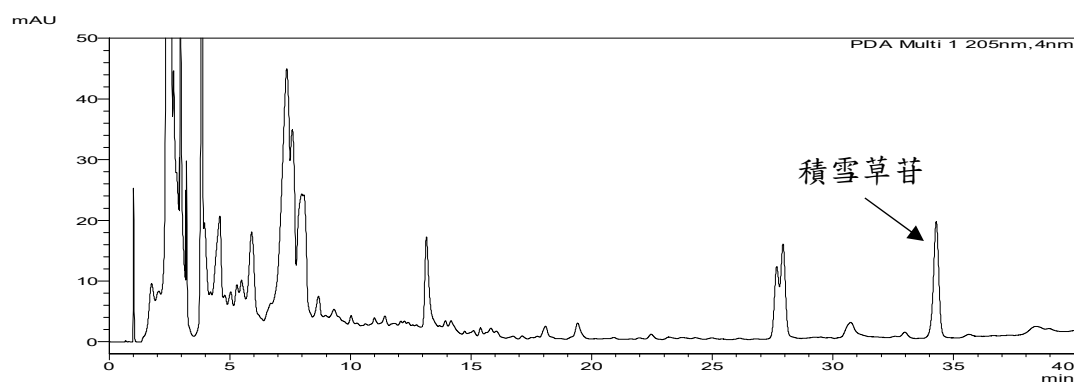
於滯留時間 34.6 分鐘處顯示積雪草苷對照標準品波峰(圖一)。



圖一、積雪草苷對照標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售積雪草藥材檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 34.2 分鐘處顯示積雪草藥材檢品中積雪草苷波峰(圖二)。
積雪草苷分離率(R)為 3.52，拖尾因子(T)為 0.97，均在系統適用性要求內。



圖二、市售積雪草藥材檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒評估

以 75% 甲醇為溶媒時，每克藥材重量所得積雪草苷的波峰面積最大，
顯示 75% 甲醇溶液為最佳萃取溶媒(表一)。

表一、不同萃取溶媒評估

溶媒	積雪草苷波峰面積	最佳萃取
甲醇	298687	
75% 甲醇	358074	√
50% 甲醇	350193	
乙醇	246994	
75% 乙醇	333133	
50% 乙醇	335538	

(四) 最佳萃取次數評估

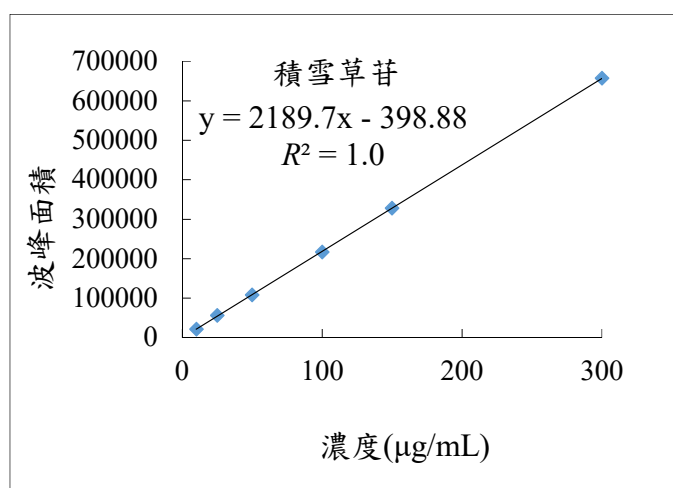
結果顯示萃取2次基本上已將積雪草苷萃取完全(萃取率大於98%)(表二)。

表二、積雪草藥材檢品萃取次數評估

75%甲醇	積雪草苷波峰面積
第1次	368729
第2次	45716
第3次	5418
第4次	N.D.

(五) 對照標準品積雪草苷檢量線

經不同濃度積雪草苷(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 $y = 2189.7x - 398.88$ ， $R^2 = 1.0$ ，顯示濃度在 10–300 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、積雪草苷之檢量線圖

表三、積雪草苷之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
積雪草苷	10–300	$y = 2189.7x - 398.88$	1.0

(六) 精密度試驗

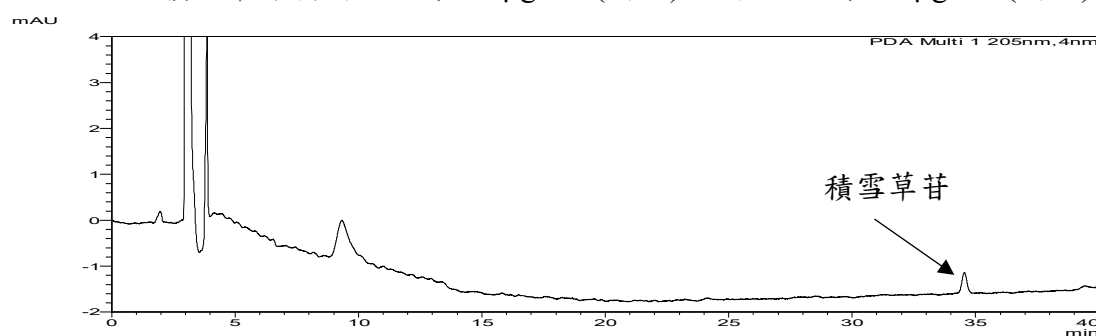
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，積雪草苷精密度之相對標準差為 0.09%，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

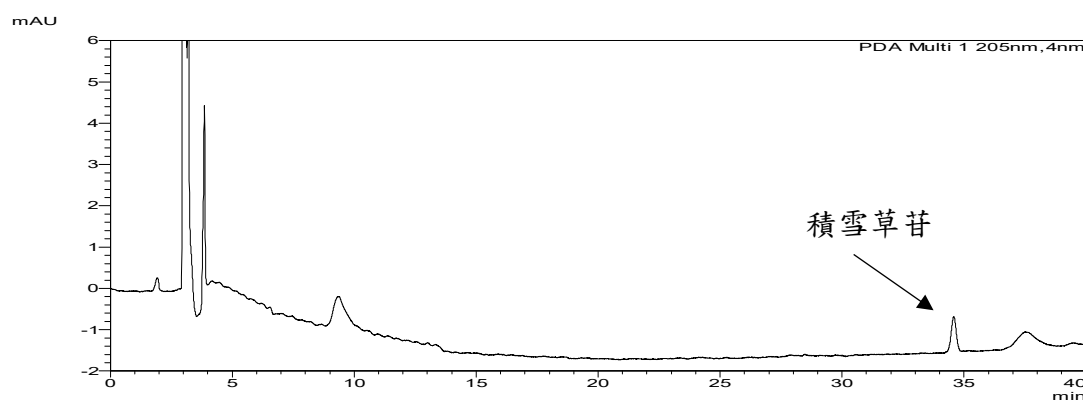
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，積雪草苷重複性之相對標準差為 2.14%，在系統適用性要求內。積雪草苷在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差為 0.27%，變化差異小，若所有樣品分析都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

積雪草苷偵測極限為 0.3 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 0.8 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、積雪草苷之偵測極限層析圖



圖五、積雪草苷之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	積雪草苷	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	100 $\mu\text{g/mL}$	0.09
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.6)	2.14
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.6)	0.27
偵測極限 (n=1)	0.3 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=1)	0.8 $\mu\text{g/mL}$	-

(九) 添加回收率試驗

積雪草苷平均添加回收率為 96.8%，相對標準偏差為 3.86% (表五)。

表五、積雪草苷添加回收率

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	0.2009	1.8566	2.0	3.8548	99.91	96.8	3.86
2	0.2008	1.8557	2.0	3.7782	96.13		
3	0.2010	1.8575	2.0	3.7395	94.10		
4	0.2011	1.8584	2.0	3.8845	101.31		
5	0.2004	1.8520	2.0	3.7031	92.56		

(十) 臺灣市售積雪草藥材含量測定

10 批積雪草藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，積雪草苷的含量為 0.665–1.959%。建議積雪草藥材指標成分積雪草苷的含量不得少於 1.0%。理論板數按積雪草苷波峰計算應不低於 10000 (實際值為 120436)。

表六、臺灣市售積雪草藥材檢品之積雪草苷的含量

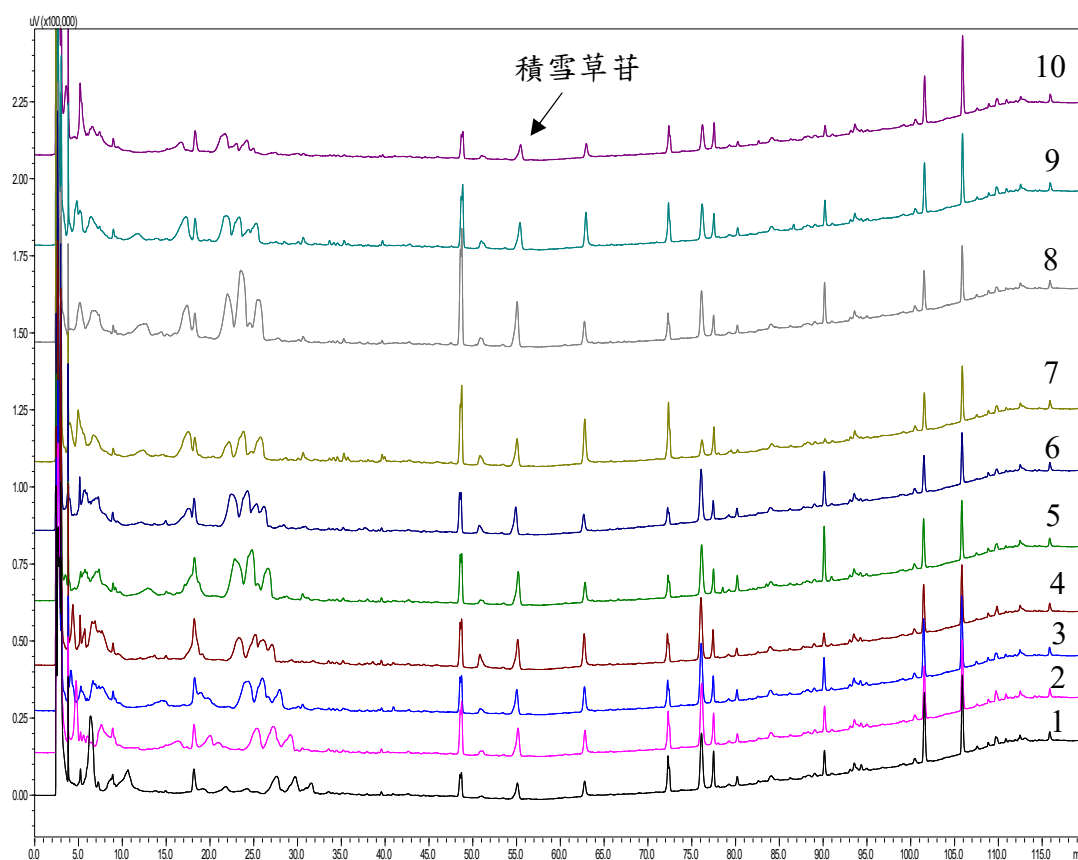
藥材編號 (No.)	積雪草苷含量 (%)	藥材編號 (No.)	積雪草苷含量 (%)
1 (NC)	0.665	6 (CB2)	1.055
2 (NX)	1.195	7 (SC)	1.153
3 (CA)	1.027	8 (SK5)	1.959
4 (CA2)	1.191	9 (SUC)	1.196
5 (CB)	1.414	10 (SUD)	0.688
平均值±S.D.	1.154±0.366		

(十一) 積雪草藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售積雪草藥材檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：COSMOSIL 5C₁₈-AR-II Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 205 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：

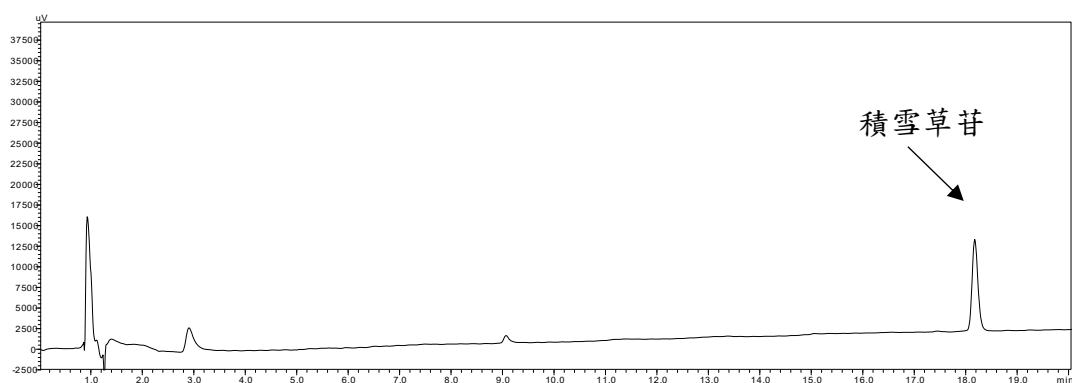
時間(min)	乙腈(%)	水(%)
0	5	95
25	15	85
35	20	80
45	26	74
55	26	74
70	45	55
100	80	20
110	100	0
120	100	0



圖六、10 批積雪草藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 對照標準品積雪草苷之 UPLC 層析

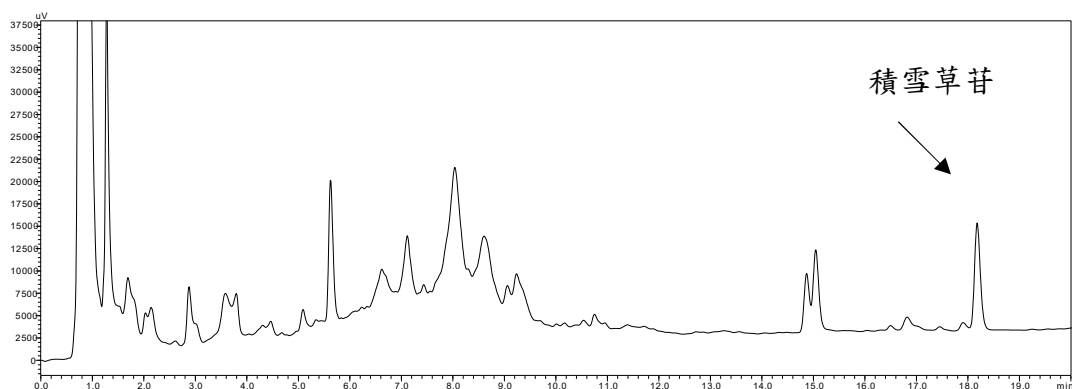
於滯留時間 18.2 分鐘處顯示積雪草苷對照標準品波峰(圖七)。



圖七、積雪草苷對照標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售積雪草藥材檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 18.2 分鐘處顯示積雪草藥材檢品中積雪草苷波峰(圖八)。

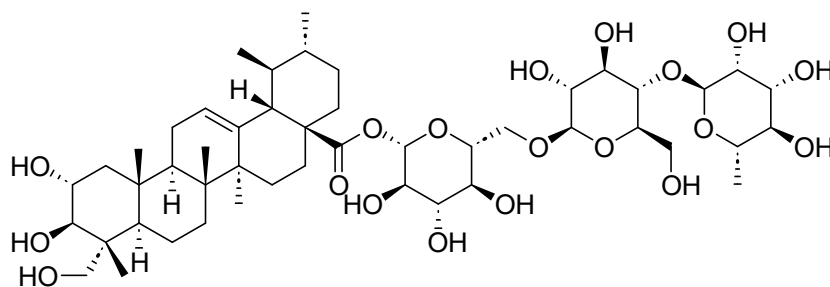


圖八、市售積雪草藥材檢品之 UPLC 層析圖

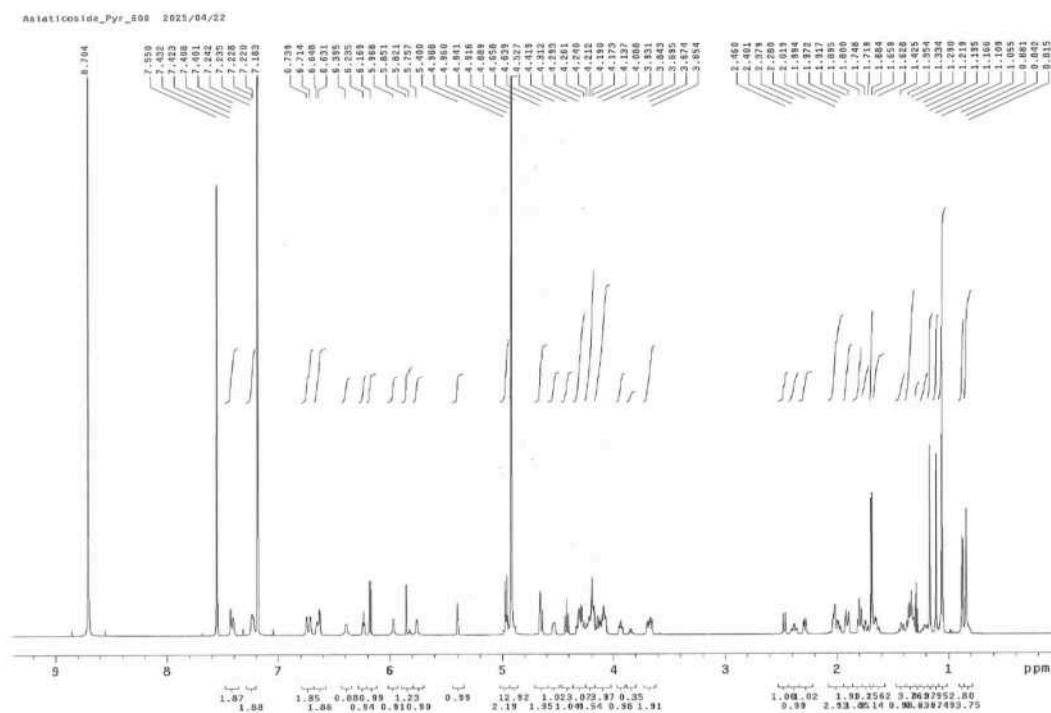
(十四) 積雪草苷的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{48}H_{78}O_{19}$ ；分子量：959.1 熔點：231-233 °C；白色固體。

(十五) 積雪草苷的結構

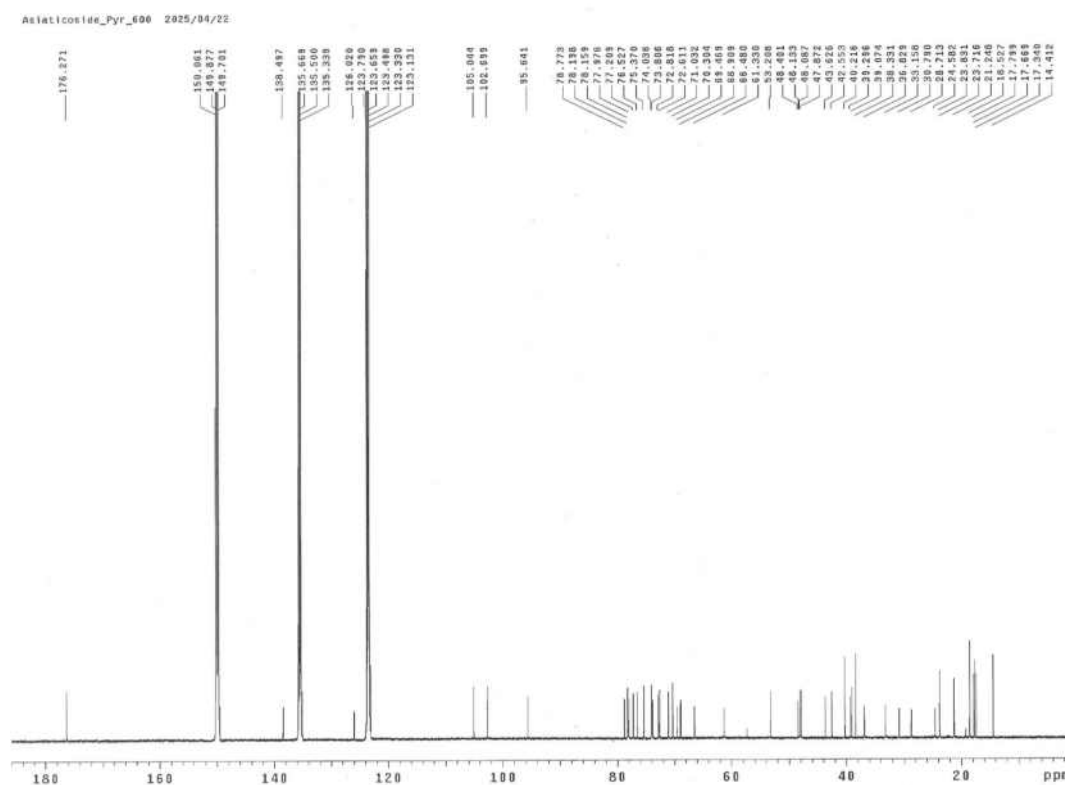


(十六) 積雪草苷的 1H NMR 圖譜



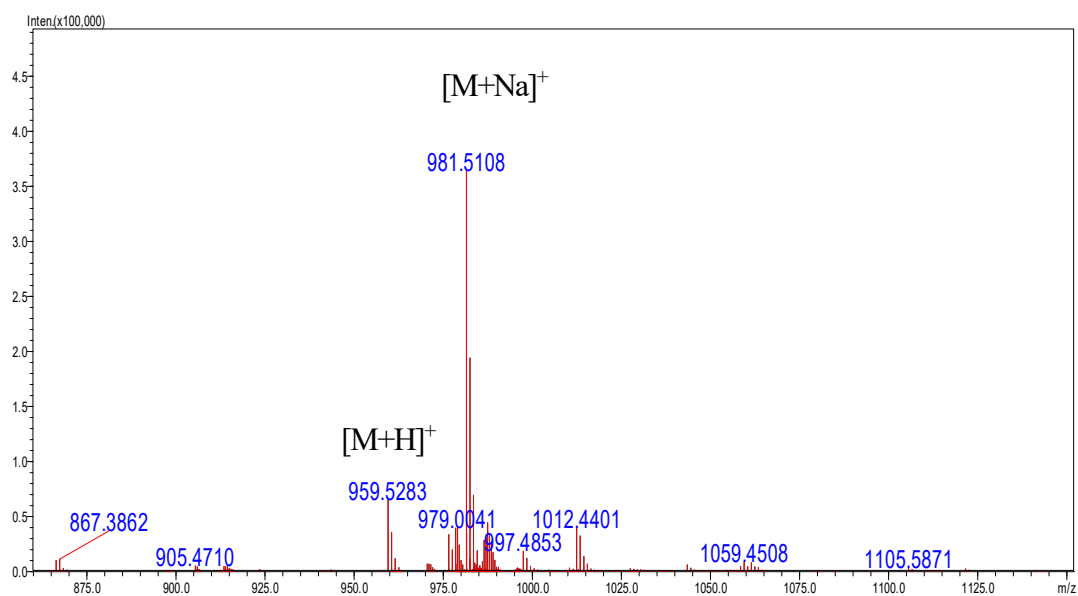
圖九、積雪草苷的 1H NMR 圖譜(pyridine- d_5)

(十七) 積雪草苷的 ^{13}C NMR 圖譜



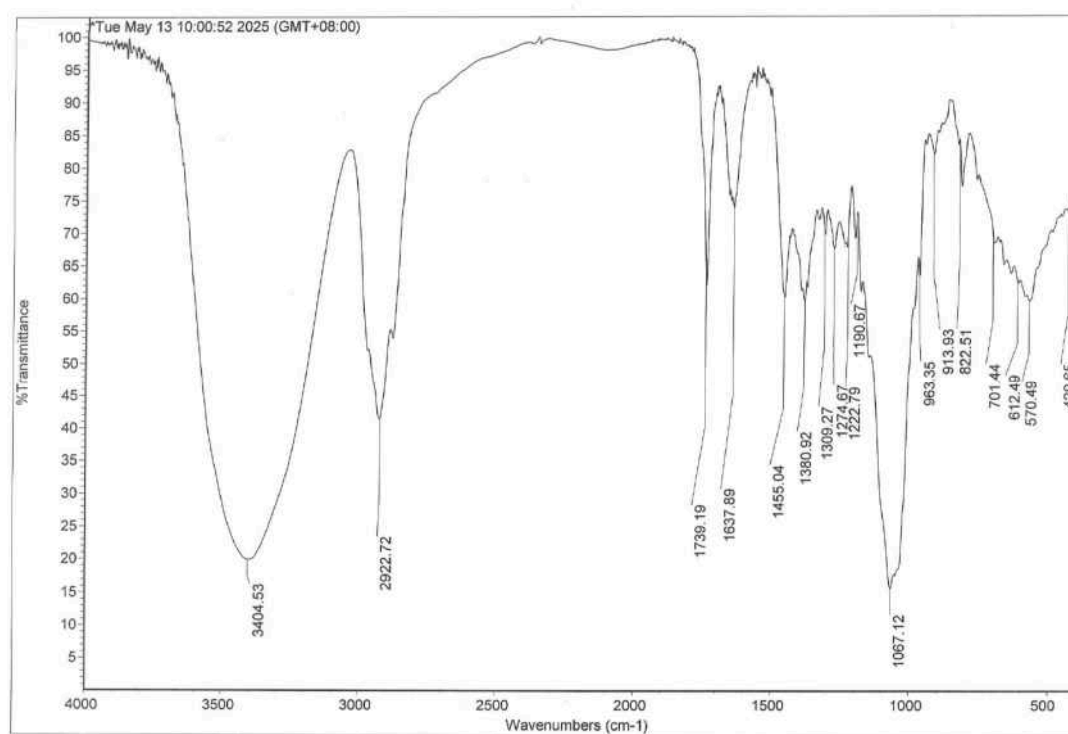
圖十、積雪草苷的 ^{13}C NMR 圖譜(pyridine- d_5)

(十八) 積雪草苷的 ESI-MS 圖譜



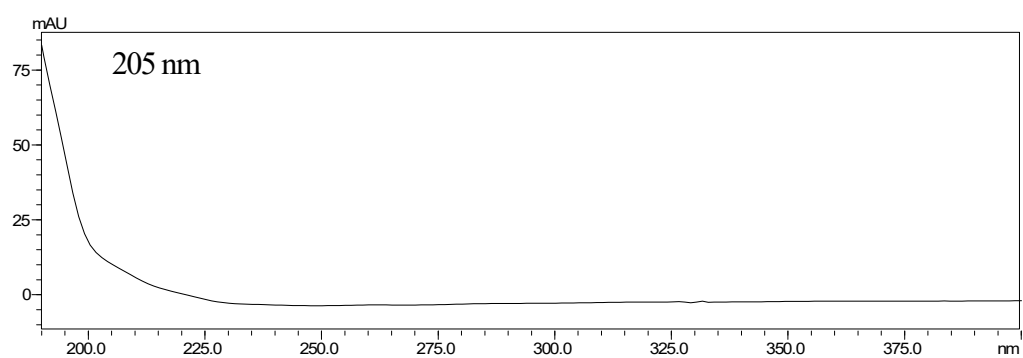
圖十一、積雪草苷的 ESI-MS 圖譜

(十九) 積雪草苷的 FTIR 圖譜



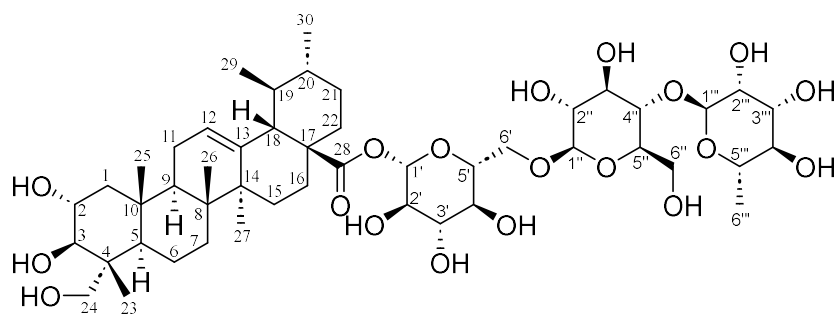
圖十二、积雪草苷的 FTIR 圖譜

(二十) 积雪草苷的 UV 圖譜



圖十三、积雪草苷的 UV 圖譜

(二十一) 積雪草苷的氫、碳化學位移



積雪草苷

表七、積雪草苷氫、碳化學位移(pyridine-*d*₅)

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	1.31–1.37 (m), 2.29 (dd, 12.6, 4.8))	48.1
2	4.21–4.25 (m)	68.9
3	4.17–4.20 (m)	78.2
4	-	43.6
5	1.78–1.82 (m)	47.9
6	1.40–1.44 (m), 1.62–1.66 (m)	18.5
7	1.32–1.37 (m), 1.62–1.66 (m)	33.2
8	-	40.2
9	1.78–1.82 (m)	48.1
10	-	38.3
11	2.02–2.04 (m)	23.8
12	5.40 (t, 3.6)	126.0
13	-	138.5
14	-	42.6
15	1.05–1.08 (m), 2.36–2.41 (m)	28.7
16	1.90–1.92 (m), 1.98 (dd, 13.2, 4.2)	24.6
17	-	48.4
18	2.47 (d, 11.4)	53.2
19	1.31–1.37 (m)	39.3
20	0.81–0.83 (m)	39.1
21	1.20–1.24 (m), 1.32–1.37 (m)	30.8
22	1.74 (dt, 4.2, 13.8), 1.90–1.92 (m)	36.8
23	1.06 (s)	14.4
24	3.69 (dd, 10.2, 4.2), 4.18–4.22 (m)	66.5
25	1.11 (s)	17.7
26	1.17 (s)	17.8

27	1.06 (s)	23.7
28	-	176.3
29	0.88 (s)	17.3
30	0.84 (s)	21.2
1'	6.18 (d, 7.8)	95.6
2'	4.10–4.16 (m)	73.8
3'	4.18–4.22 (m)	78.8
4'	4.25–4.30 (m)	71.0
5'	4.15–4.20 (m)	78.0
6'	4.28–4.33 (m), 4.64–4.66 (m)	69.5
1''	4.97 (d, 7.8)	105.0
2''	3.92–3.95 (m)	75.4
3''	4.12–4.16 (m)	76.5
4''	4.41 (t, 9.0)	78.2
5''	3.65–3.67 (m)	77.2
6''	4.05–4.10 (m), 4.18–4.24 (m)	61.3
1'''	5.85 (d, 1.2)	102.7
2'''	4.64–4.66 (m)	72.6
3'''	4.52–4.54 (m)	72.8
4'''	4.29–4.33 (m)	74.0
5'''	4.94–4.99 (m)	70.3
6'''	1.69 (d, 6.0)	18.5

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

積雪草

生藥名：CENTELLAE HERBA

英文名：Asiatic Pennywort Herb

基 原：本品為繖形科 Umbelliferae 植物積雪草 *Centella asiatica* (L.) Urb.之乾燥全草，習稱「含殼草」。

一、方法

(一) 檢品溶液 【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》✓

—取本品粉末 2.0 g，加 70%乙醇 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 2】《中華人民共和國藥典 2020》

—取本品粉末 1.0g，加乙醇 25 mL，加熱迴流 30 分鐘，過濾，濾液蒸乾，殘渣加水 20 mL 使之溶解，用水飽和的正丁醇振搖提取 2 次，每次 15 mL，合併正丁醇液，用正丁醇飽和的水 15 mL 洗滌，棄去水液，正丁醇蒸乾，殘渣加甲醇 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 3】《香港中藥材標準第七冊》

—取本品粉末 0.5 g，加 70%乙醇 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 溶 液 取積雪草苷(Asiaticoside)、羥基積雪草苷(Madecassoside)對照標準品，分別加甲醇製成每 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》✓

—乙酸乙酯：無水乙酸：水 (8：3：3)

【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》

—三氯甲烷：甲醇：水 (7：3：0.5)

【展開劑 3】《香港中藥材標準第七冊》

—乙酸乙酯：無水乙酸：水 (8：2.6：2.5)

(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(H₂SO₄/EtOH TS)噴霧後，105 °C加熱至條帶顯色清晰，於可見光下檢視。

(八) Spike 配製 取採用建議萃取方法之檢品溶液4，與對照標準品溶液積雪草苷，羥基積雪草苷(2：5：2)混合，點注量9 μL。

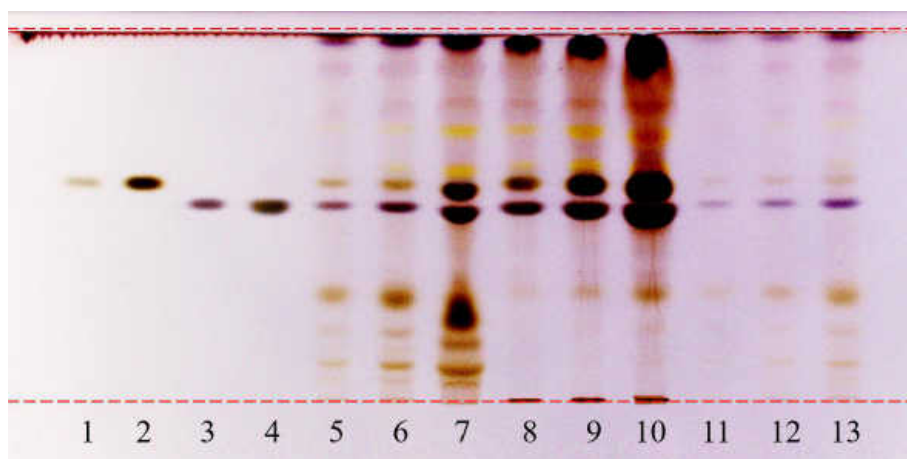
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：114/05/23

相對溼度(RH)：52%

溫度(RT)：24.6 °C

【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版》——乙酸乙酯：無水乙酸：水 (8：3：3)
——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後可見光檢出



編號	名稱	點注量
1, 2	積雪草苷(1.0 mg/mL)	2, 5 μ L
3, 4	羥基積雪草苷(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

建議萃法：三種萃取法，檢品溶液中皆有分離與檢出積雪草苷、羥基積雪草苷，因濃度適中，方法簡便，故維持原《臺灣中藥典》之【萃取方法 1】。

建議點注量：積雪草苷 5 μ L，羥基積雪草苷 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 1】2 μ L。

三、溶媒系統選擇

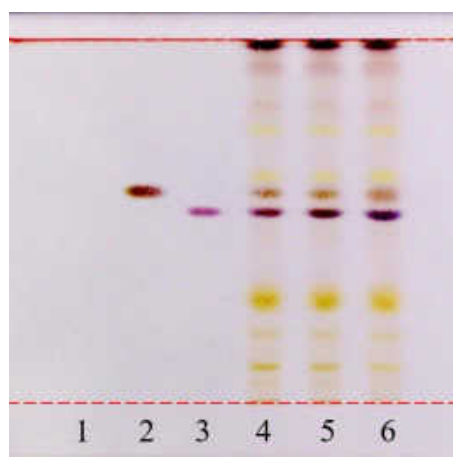
實驗日期：114/05/23

相對溼度(RH)：52%

溫度(RT)：24.6 °C

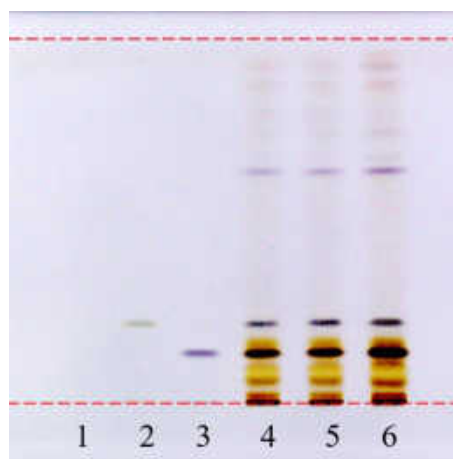
【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版》——乙酸乙酯：無水乙酸：水 (8：3：3) ✓

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後可見光檢出(積雪草苷 R_f 值為 0.57，羥基積雪草苷 R_f 值為 0.51)



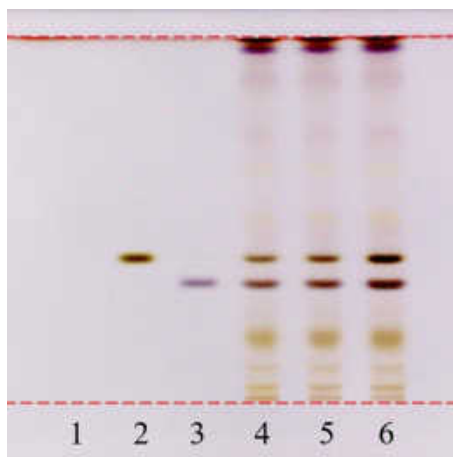
【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》——三氯甲烷：甲醇：水 (7：3：0.5)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後可見光檢出(積雪草苷 R_f 值為 0.21，羥基積雪草苷 R_f 值<0.2)



【展開劑 3】《香港中藥材標準第七冊》——乙酸乙酯：無水乙酸：水 (8：2.6：2.5)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後可見光檢出(積雪草苷 R_f 值為 0.38，羥基積雪草苷 R_f 值為 0.30)



- | | |
|----------|------------|
| 1：Blank | 4，5：檢品溶液 4 |
| 2：積雪草苷 | 6：Spike |
| 3：羥基積雪草苷 | |

建議溶媒系統：以【萃取方法 1】方式，以《臺灣中藥典》之【展開劑 1】展開積雪草苷、羥基積雪草苷之 R_f 值適中，分離佳，故採用【展開劑 1】。

四、觀察方式選擇

實驗日期：114/05/23

相對溼度(RH)：52%

溫度(RT)：24.6 °C

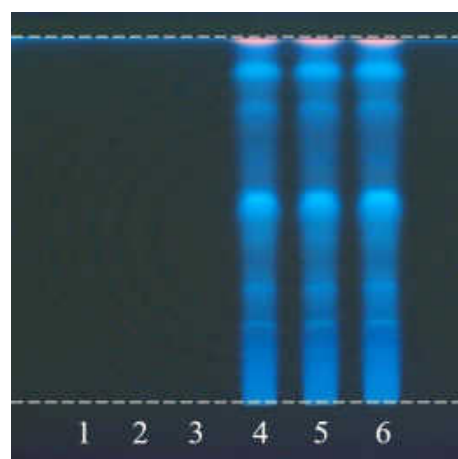
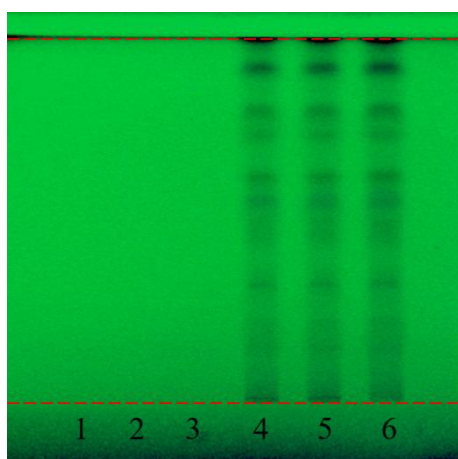
【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版》——乙酸乙酯：無水乙酸：水 (8：3：3)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》

—HPTLC 紫外光(254 nm)檢出

—HPTLC 紫外光(365 nm)檢出

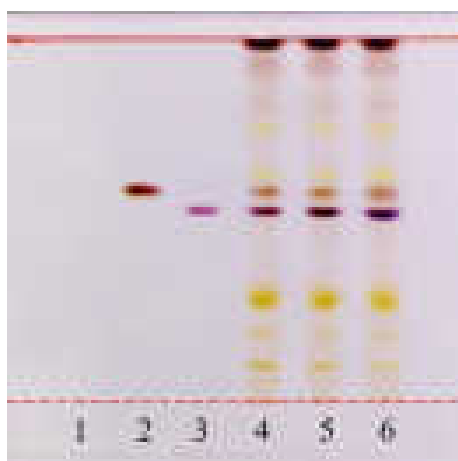


【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》

—HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後
可見光檢出✓

—HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後
紫外光(365 nm)檢出



1：Blank

4，5：檢品溶液 4

2：積雪草苷

6：Spike

3：羥基積雪草苷

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

五、十批積雪草藥材樣品檢測

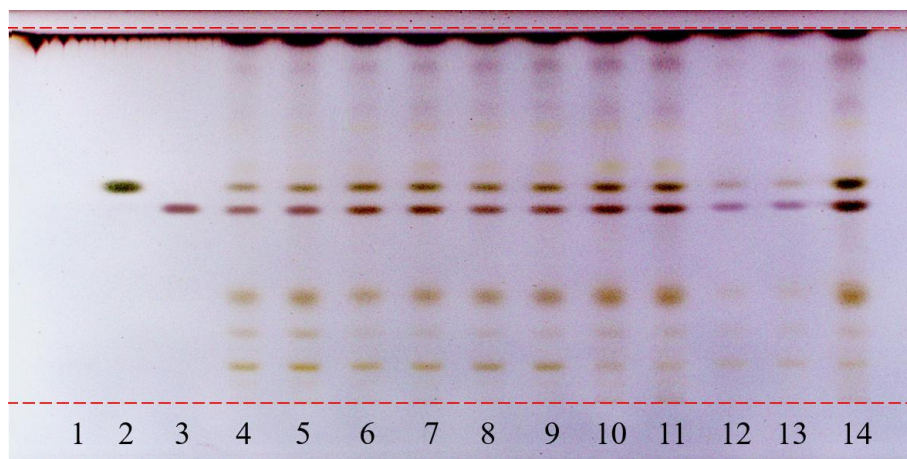
實驗日期：114/05/23

相對溼度(RH)：52%

溫度(RT)：24.6 °C

【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版》——乙酸乙酯：無水乙酸：水 (8：3：3)

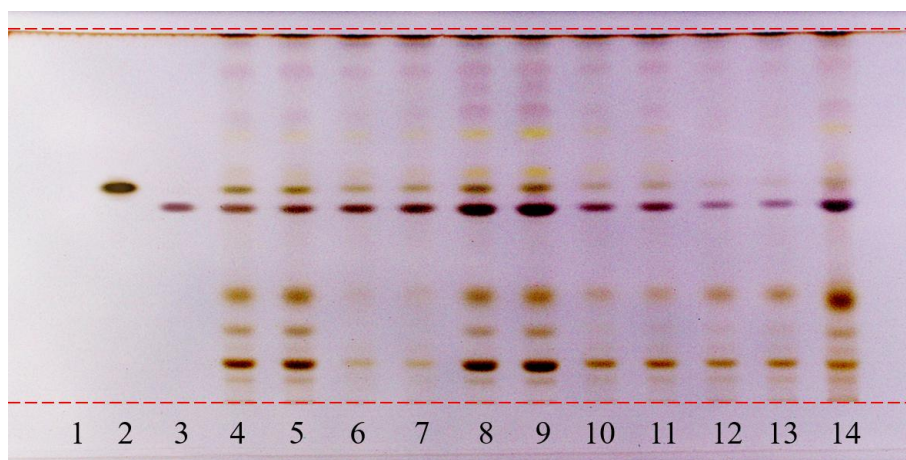
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》—HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後可見光檢出



1	Blank	8, 9	檢品溶液 3 (CA)
2	積雪草苷(1.0 mg/mL)	10, 11	檢品溶液 4 (CA2)
3	羥基積雪草苷(1.0 mg/mL)	12, 13	檢品溶液 5 (CB)
4, 5	檢品溶液 1 (NC)	14	Spike (檢品溶液 4)
6, 7	檢品溶液 2 (NX)		

【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版》——乙酸乙酯：無水乙酸：水 (8：3：3)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》—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 (SK5)
2	積雪草苷(1.0 mg/mL)	10, 11	檢品溶液 9 (SUC)
3	羥基積雪草苷(1.0 mg/mL)	12, 13	檢品溶液 10 (SUD)
4, 5	檢品溶液 6 (CB2)	14	Spike (檢品溶液 4)
6, 7	檢品溶液 7 (SC)		

結論與建議：以《臺灣中藥典》之【萃取方法 1】方式及《臺灣中藥典》之【展開劑 1】分離與檢出積雪草苷、羥基積雪草苷較佳，以 10%硫酸/乙醇顯色後於可見光下檢視較佳。