

鎖陽

(CYNOMORII HERBA)

鎖陽 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）	2
鎖陽 HPLC（藥材）	7
一、材料	7
二、儀器及層析管柱	7
三、實驗藥品及試劑來源	7
四、方法	7
五、結果	10
鎖陽 TLC（藥材）	19
一、方法	19
二、萃法選擇及濃度測試	20
三、溶媒系統選擇	21
四、觀察方式選擇	23
五、十批鎖陽藥材樣品檢測	24
鎖陽 HPLC（飲片）	26
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
鎖陽 TLC（飲片）	34
一、方法	34
二、萃法選擇及濃度測試	35
三、溶媒系統選擇	36
四、觀察方式選擇	38
五、十批鎖陽飲片樣品檢測	39

鎖陽

(CYNOMORII HERBA)

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鎖陽的乾燥肉質莖。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：鎖陽

生藥名：CYNOMORII HERBA

英文名：Songaria Cynomorium Herb

基原：本品為鎖陽科 Cynomoriaceae 植物鎖陽 *Cynomorium coccineum* L. subsp. *songaricum* (Rupr.) J.Léonard (*Cynomorium songaricum* Rupr.)之乾燥肉質莖。

採收加工：於春季採挖，切除花序，切段後，乾燥。

藥材性狀：本品已斜切成不規則或類長圓形薄片，直徑 1.5~5.0 cm。表面深棕色，具縱溝及不規則的凹陷，切面棕色，可見白色或淺棕色維管束點狀或線狀散在。質堅硬，不易折斷。氣微香，味微苦而澀。

生長分佈：多年生肉質寄生草本植物，高 15~100 公分。多寄生在白刺屬 *Nitraria* 和紅砂屬 *Reaumuria* 等植物的根上。無葉綠素，全株棕紅色。大部分埋於沙中，僅頂端露出地面。以降雨量少、溫差大、長日照的沙漠氣候為宜。花期 5~7 月，果期 6~7 月。中國西北、中亞、伊朗、蒙古等地皆有分布；藥材主產於中國內蒙古、甘肅、新疆等地。

三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2)

1. 表皮多脫落，偶有殘存木栓層細胞。
2. 皮層狹窄，栓內層細胞中含有棕色物質，表面有條狀紋理。
3. 中柱寬廣，維管束眾多，不規則散佈，可見數個維管束排列成扇形、半圓型，內側維管束較大，靠外側維管束較小。
4. 導管木質化。
5. 薄壁細胞可見棕色物質及多數糊化澱粉粒。

四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3)

1. 本品粉末呈淺棕色。

2. 木栓層細胞棕色類方形、長方形或多角型。
3. 澱粉粒皆已糊化。
4. 導管為網紋導管，淡黃棕色或近無色，直徑約 14~27 μm 。
5. 薄壁細胞內含棕色物質。



圖 1 鎖陽藥材圖

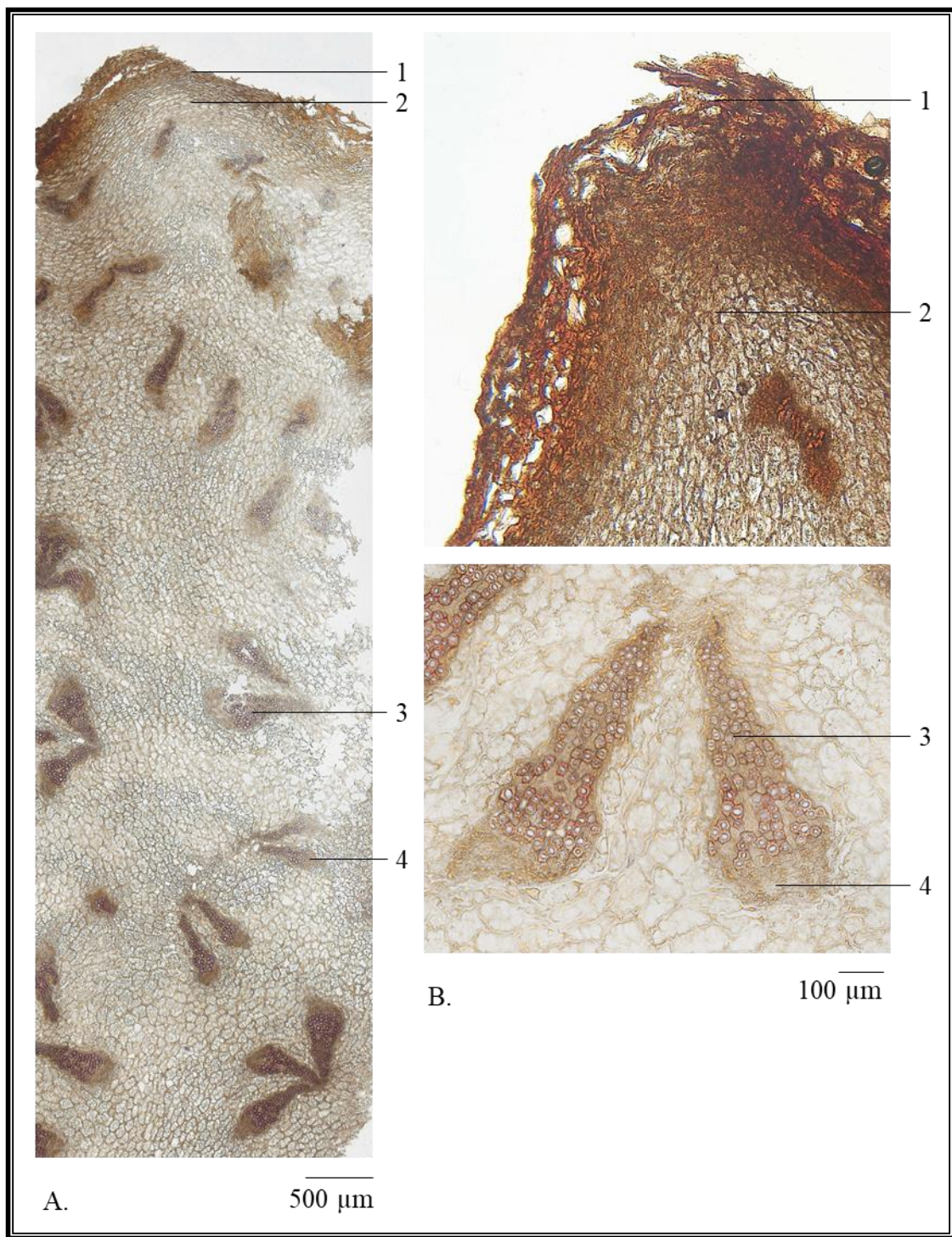


圖 2 鎮陽橫切面顯微特徵圖
 A.橫切面 B.橫切面放大圖
 1.木栓層 2.皮層 3.木質部 4.韌皮部

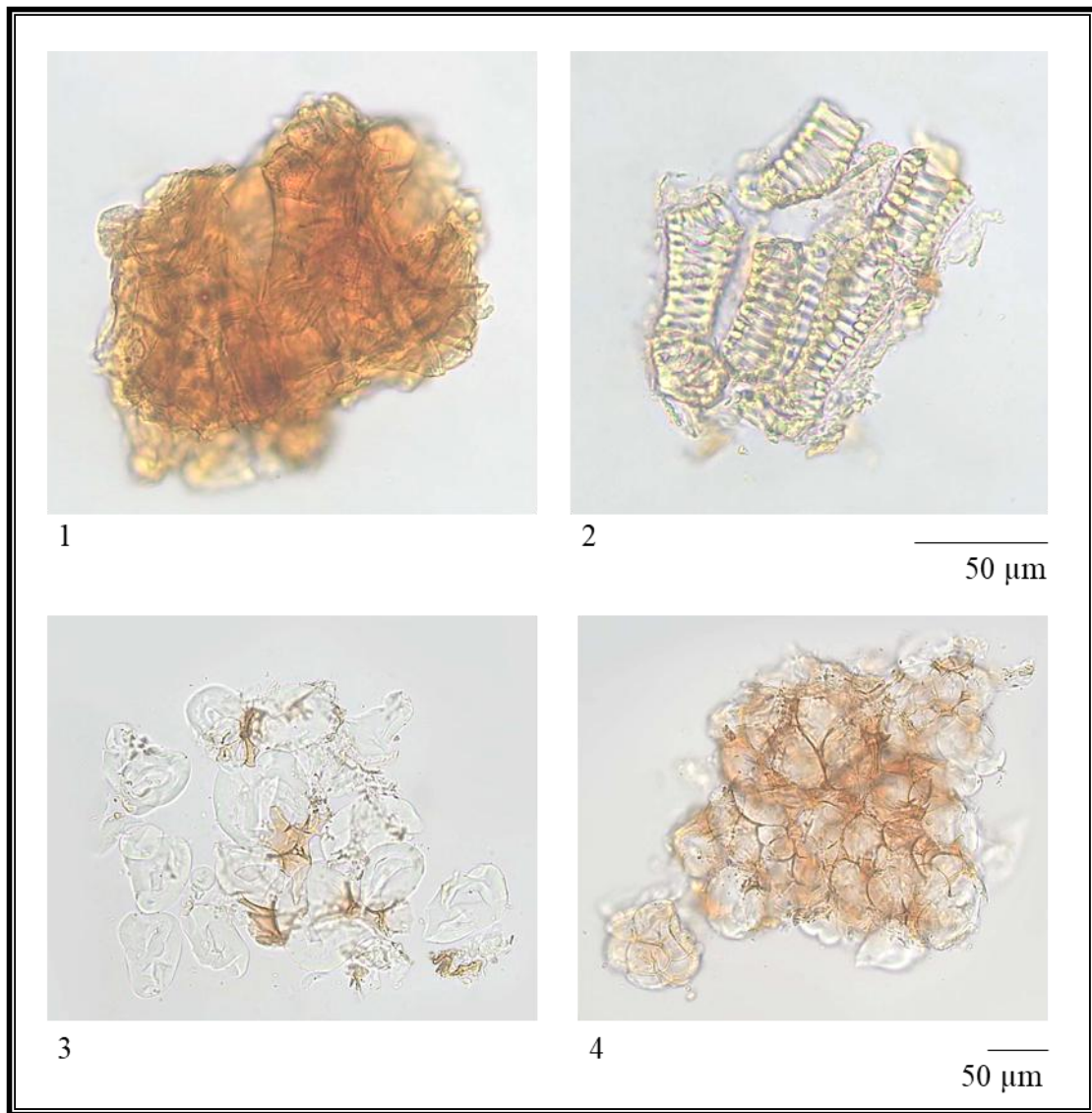


圖 3 鎮陽粉末顯微特徵圖

1.木栓細胞 2.網紋導管 3.糊化澱粉粒 4.薄壁細胞

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。423~424 頁。
2. 張永勳、何玉鈴(主編)。臺灣中藥典圖鑑(第二版)。臺北市：衛生福利部，380 頁。
3. 張哲賢、蔡貴花(2003)。中藥炮製學。中國醫藥大學。543~544 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(2013)。香港中藥材標準第六冊。香港：香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部。337~347 頁。
5. 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。360~361 頁。
6. 肖培根(主編)(2002)。新編中藥志第一卷。北京：化學工業出版社。355~358 頁。
7. 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。565~566 頁。
8. 黃璐琦、姚霞(主編)(2020)。新編中國藥材學第二卷。中國醫藥科技出版社。346~349 頁。
9. 張繼(主編)(2022)。中國中藥材及飲片真偽鑑別圖典第四冊。廣東科技出版社。230~231 頁。
10. 陳士林、林餘霖(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。619 頁。
11. 王滿恩、趙昌(主編)(2019)。飲片驗收經驗。山西科學技術出版社。587 頁。
12. 陳代賢、郭秋月(主編)(2017)。中藥真偽質量快速影像檢定(下冊)。北京人民衛生出版社。826~830 頁。
13. 艾鐵民(主編)(2022)。中國藥典中藥材及原植物志。中國醫藥科技出版社。644 頁。
14. 徐國鈞、徐珞珊、王崢濤(主編)(2001)。常用中草藥品種整理和質量研究第四冊。福建科學技術出版社。612~640 頁。

鎖陽(CYNOMORII HERBA)

一、材料

購置於臺灣各地中藥店鎖陽藥材共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Agilent 1260 series, 包含 Quat Pump (G1311B)、DAD (G1315D)、Autosampler (G1329B)、Column Oven (G1316A); 層析管柱 Agilent ZORBAX Eclipse Plus 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、Sample Manager、PDA Detector; 層析管柱 Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 × 2.1 mm, 1.7 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; 磷酸購置於台灣默克有限公司。

(二) 對照標準品

兒茶素(Catechin)購置於友和貿易股份有限公司, 純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

取本品粉末 6 份, 每份準確稱取約 1.0 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 10 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 5000 × g), 以 No.1 濾紙過濾, 取濾液移入 10 mL 之容量瓶中, 加溶媒至刻度, 搖勻再過濾(Syringe filter, PVDF 0.45 μm), 即得。每針 10 μL 注入 HPLC, 以所測得每克重量之兒茶素最大波峰面積為鎖陽藥材最佳萃取溶媒。

(二) 最佳萃取次數評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 1.0 g, 置 50 mL 離心管中, 準確加入 75%甲醇 10 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 5000 × g), 以 No.1 濾紙過濾, 取濾液移入 10 mL 之容量瓶中, 加 75%甲醇至刻度, 搖勻再過濾(Syringe filter, PVDF 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,

直到兒茶素被萃取完全，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兒茶素 2.0 mg，加 10 mL 的 75% 甲醇製成每 1 mL 含兒茶素 200 μg 的對照標準品儲備溶液，並以 75% 甲醇稀釋至 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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 1.0 g，置 50 mL 離心管中，加入 75% 甲醇 10 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 $5000 \times g$)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液，殘渣部分重複提取 1 次，合併濾液，移入至 25 mL 之容量瓶中，加 75% 甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PVDF 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兒茶素的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取兒茶素對照標準品儲備溶液適量(200 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，以 75% 甲醇稀釋成含兒茶素分別為 100、60、40、20、15、10、4.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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

以兒茶素為 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以兒茶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：取同一批市售鎖陽藥材粉末，依鎖陽藥材檢品溶液製備方法平行製備 5 份鎖陽藥材檢品溶液，進樣測定，以兒茶素的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售鎖陽藥材粉末，依鎖陽藥材檢品溶液製備方法製備鎖陽藥材檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，以兒茶素的含量為指標，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 Quantification, 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

取已知兒茶素含量的鎖陽藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.5 g，分別加入 1.0 mL 的兒茶素溶液(300 $\mu\text{g/mL}$)，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：Agilent ZORBAX Eclipse Plus Column (250 $\times$ 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 $^{\circ}\text{C}$
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	10	90
20	10	90

(十二) 臺灣市售鎖陽藥材含量測定

取 10 批市售鎖陽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 公式計算樣品兒茶素的百分比含量。

(十三) 鎖陽藥材檢品之 UPLC 分析條件

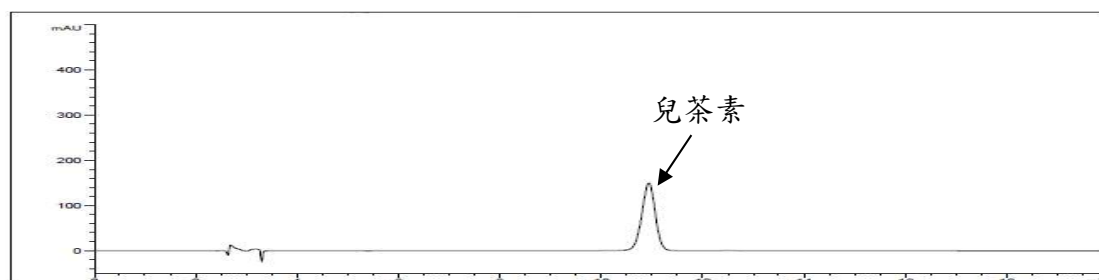
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 $\times$ 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 205 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 $^{\circ}\text{C}$
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	10	90
6	10	90

五、結果

(一) 對照標準品兒茶素之 HPLC 層析

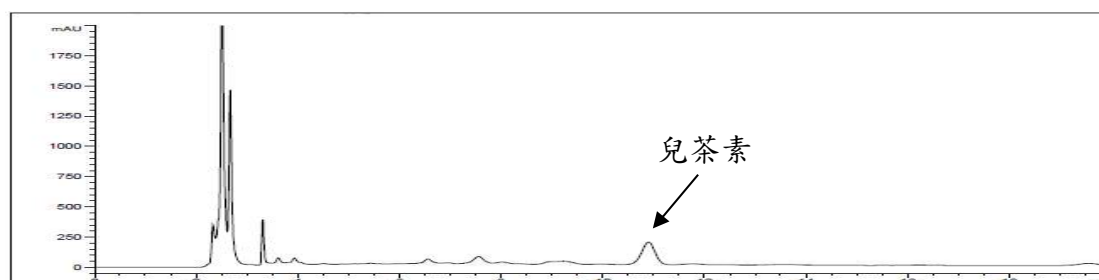
於滯留時間 10.93 分鐘處顯示兒茶素對照標準品波峰(圖一)。



圖一、兒茶素對照標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售鎖陽藥材檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 10.93 分鐘處顯示鎖陽藥材檢品中兒茶素波峰(圖二)。兒茶素分離率(R)為 1.77，拖尾因子(T)為 0.97，均在系統適用性要求內。



圖二、市售鎖陽藥材檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒評估

以 75% 甲醇溶液為溶媒時，每克藥材重量所得兒茶素的波峰面積最大，顯示 75% 甲醇溶液為最佳萃取溶媒。

表一、不同萃取溶媒評估

溶媒	兒茶素波峰面積	最佳萃取
甲醇	2997.27	
75% 甲醇	5364.79	√
50% 甲醇	5036.61	
乙醇	555.69	
75% 乙醇	2218.09	
50% 乙醇	4880.30	

(四) 最佳萃取次數評估

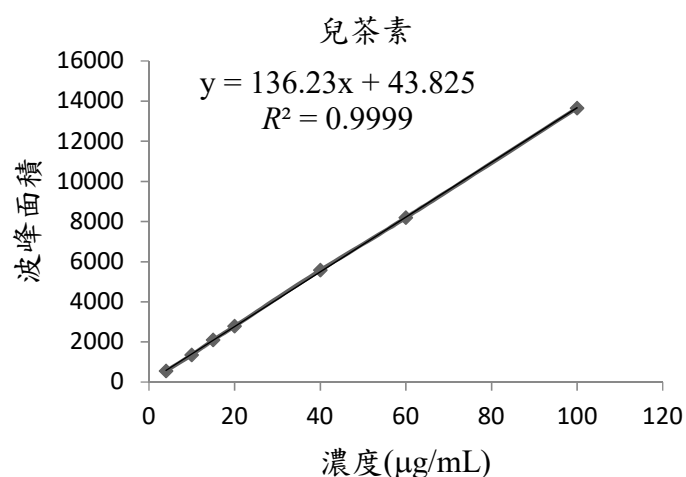
結果顯示萃取 2 次基本上已將兒茶素萃取完全(萃取率大於 98%)。

表二、鎖陽藥材檢品萃取次數評估

75%甲醇	兒茶素波峰面積
第 1 次	2476.6
第 2 次	632.3
第 3 次	N.D

(五) 對照標準品鎖陽檢量線

經不同濃度兒茶素(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 $y = 136.23x + 43.825$ ， $R^2 = 0.9999$ ，顯示濃度在 4.0–100 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、鎖陽之檢量線圖

表三、兒茶素之檢量線方程式

對照標準品	濃度(μg/mL)	線性回歸方程式	R^2
兒茶素	4.0–100	$y = 136.23x + 43.825$	0.9999

(六) 精密度試驗

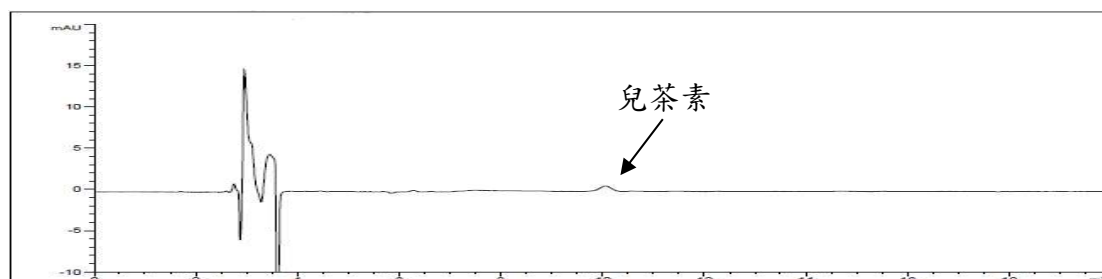
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，兒茶素精密度之相對標準差為 0.61%，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

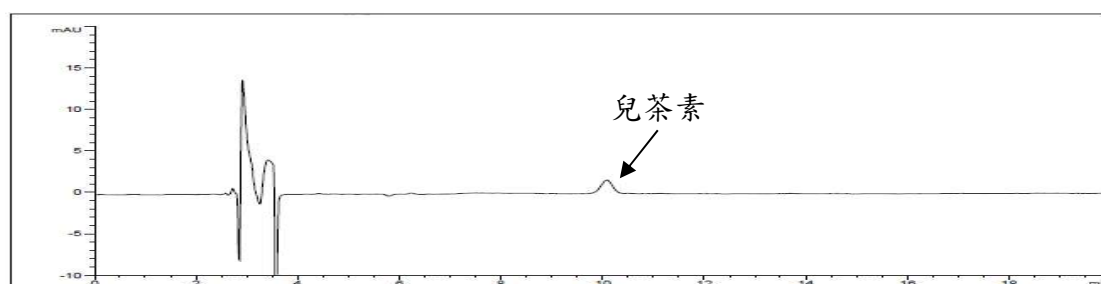
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，兒茶素重複性之相對標準差為 2.74%，在系統適用性要求內。兒茶素在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差為 1.33%，變化差異小，若所有樣品分析都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

兒茶素偵測極限為 0.1 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 0.2 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、兒茶素之偵測極限層析圖



圖五、兒茶素之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	兒茶素	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	10 $\mu\text{g/mL}$	0.61
重複性 (n=5)	檢品溶液(No. 9)	2.74
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No. 9)	1.33
偵測極限 (n=1)	0.1 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=1)	0.2 $\mu\text{g/mL}$	-

(九) 添加回收率試驗

兒茶素平均添加回收率為 92.5%，相對標準偏差為 2.13% (表五)。

表五、兒茶素添加回收率

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	0.5003	0.3158	0.30	0.5987	94.30	92.49	2.13
2	0.5003	0.3158	0.30	0.5851	89.73		
3	0.5001	0.3157	0.30	0.5893	91.20		
4	0.5004	0.3159	0.30	0.6011	95.07		
5	0.5003	0.3158	0.30	0.5923	92.17		

(十) 臺灣市售鎖陽藥材含量測定

10 批鎖陽藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，兒茶素的含量為 0.024–0.135%。建議鎖陽藥材指標成分兒茶素的含量不得少於 0.025%。理論板數按兒茶素波峰計算應不低於 3000 (實際值為 7744)。

表六、臺灣市售鎖陽藥材檢品之兒茶素的含量

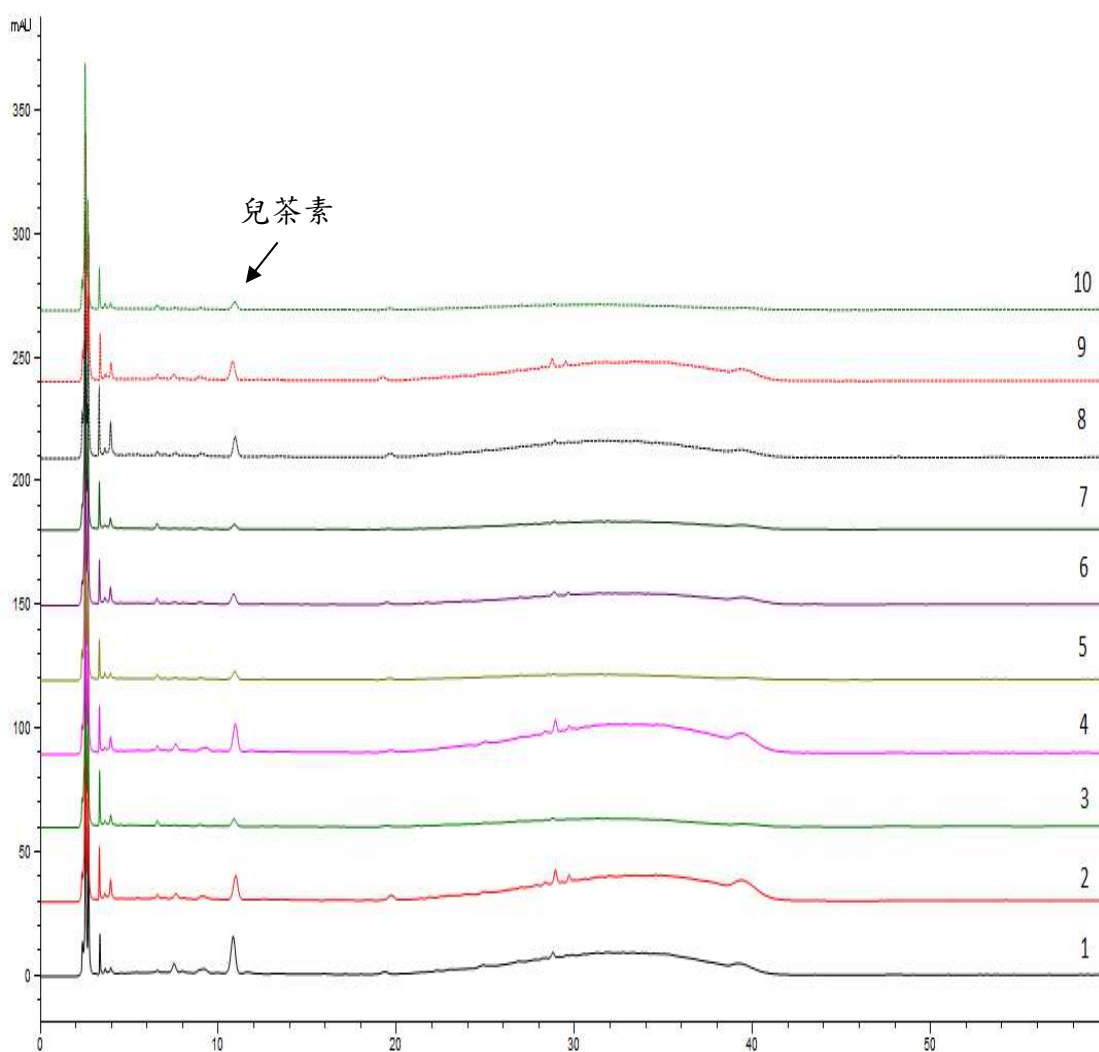
藥材編號 (No.)	兒茶素含量 (%)	藥材編號 (No.)	兒茶素含量 (%)
1 (NX)	0.135	6 (SK1)	0.036
2 (CA)	0.083	7 (SK3)	0.049
3 (CB)	0.024	8 (SK4)	0.064
4 (CE)	0.101	9 (SUB)	0.073
5 (CH)	0.036	10 (SUC)	0.043
平均值±S.D.	0.064±0.0327		

(十一) 鎖陽藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售鎖陽藥材檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：Agilent ZORBAX Eclipse Plus 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：

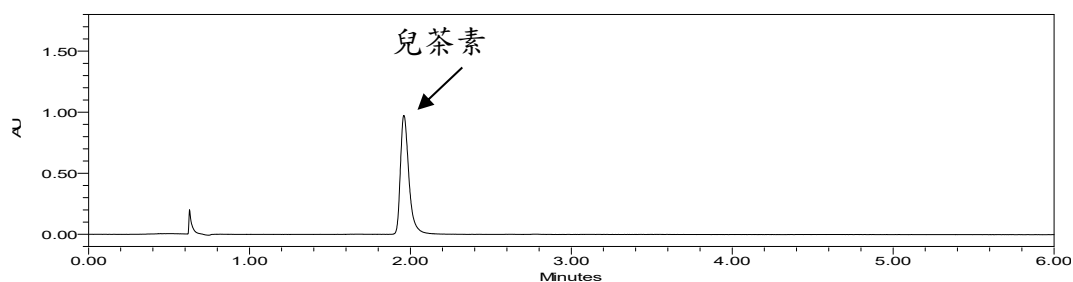
時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	10	90
15	10	90
35	30	70
45	60	40
55	90	10
60	100	0



圖六、10 批鎖陽藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 對照標準品兒茶素之 UPLC 層析

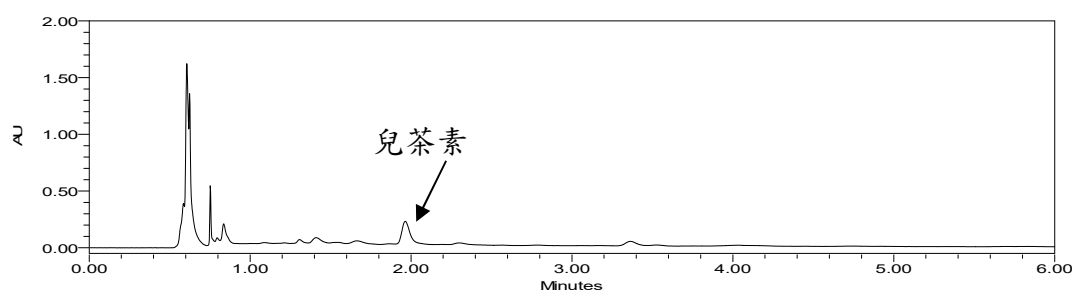
於滯留時間 1.96 分鐘處顯示兒茶素對照標準品波峰(圖七)。



圖七、兒茶素對照標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售鎖陽藥材檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 1.96 分鐘處顯示鎖陽藥材檢品中兒茶素波峰(圖八)。

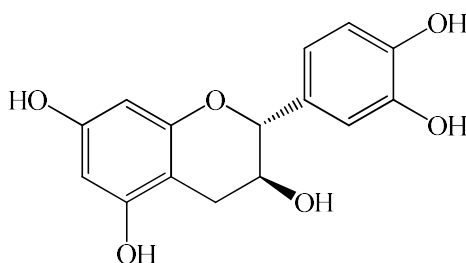


圖八、市售鎖陽藥材檢品之 UPLC 層析圖

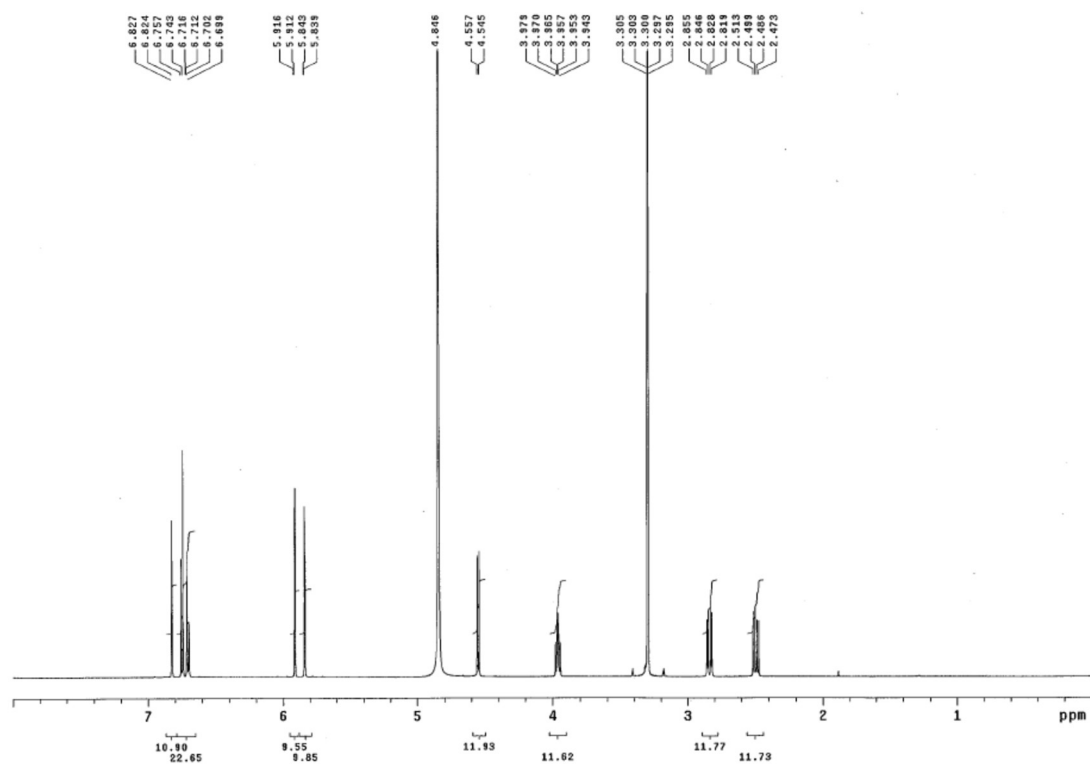
(十四) 兒茶素的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{15}H_{14}O_6$ ；分子量：290.27；熔點：175–177 °C；黃色粉末。

(十五) 兒茶素的結構

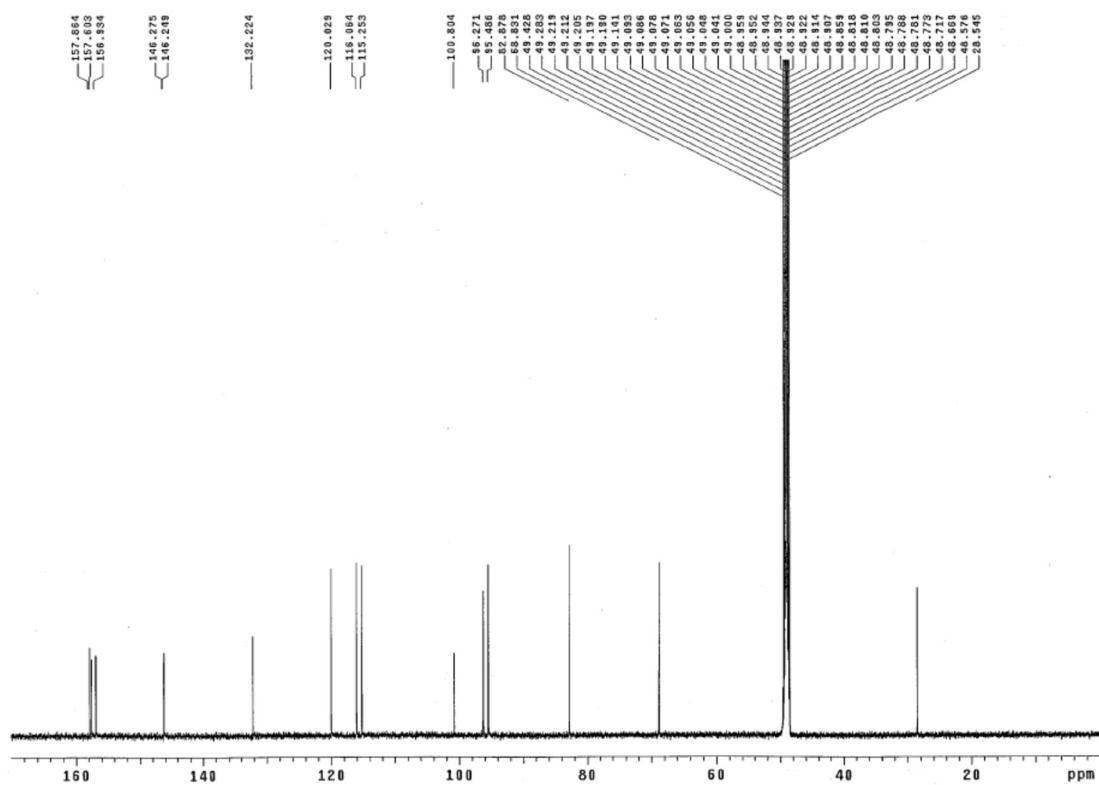


(十六) 兒茶素的 ^1H NMR 圖譜



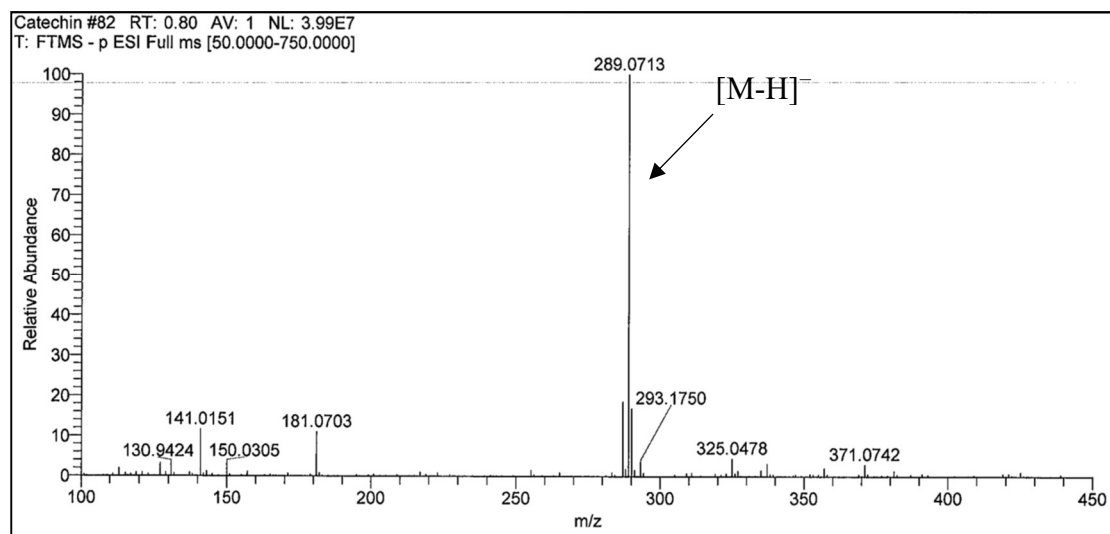
圖九、兒茶素的 ^1H NMR 圖譜(CD_3OD)

(十七) 兒茶素的 ^{13}C NMR 圖譜



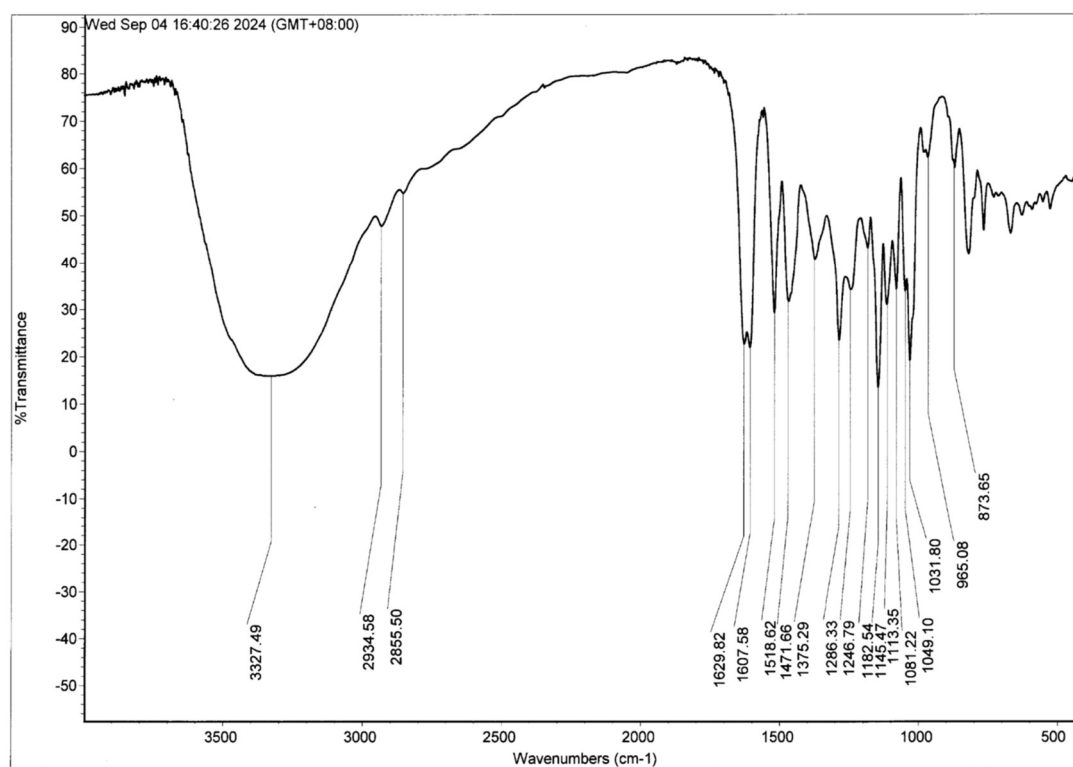
圖十、兒茶素的 ^{13}C NMR 圖譜(CD_3OD)

(十八) 兒茶素的 ESI-MS 圖譜



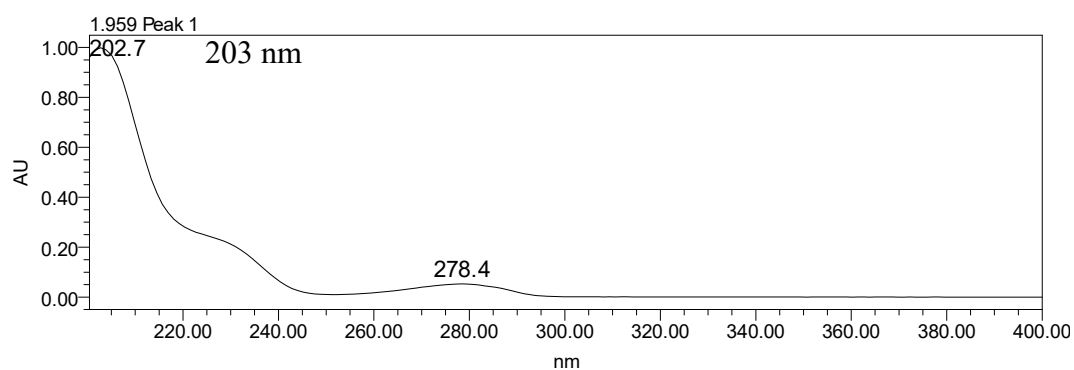
圖十一、兒茶素的 ESI-MS 圖譜

(十九) 兒茶素的 FTIR 圖譜



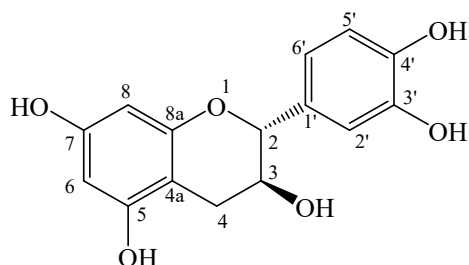
圖十二、兒茶素的 FTIR 圖譜

(二十) 兒茶素的 UV 圖譜



圖十三、兒茶素的 UV 圖譜

(二十一) 兒茶素的氫、碳化學位移



兒茶素

表七、兒茶素氫、碳化學位移(CD₃OD)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
2	4.55 (d, 7.2)	82.9
3	3.94–3.98 (m)	68.8
4	2.49 (dd, 16.2, 7.8), 2.84 (dd, 16.2, 5.4)	28.5
4a	-	100.8
5	-	157.6
6	5.91 (d, 2.4)	96.3
7	-	157.9
8	5.84 (d, 2.4)	95.5
8a	-	156.9
1'	-	132.2
2'	6.83 (d, 1.8)	115.3
3'	-	146.2*
4'	-	146.3*
5'	6.75 (d, 8.4)	116.1
6'	6.71 (dd, 8.4, 1.8)	120.0

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

鎖陽

生藥名：CYNOMORII HERBA

英文名：Songaria Cynomorium Herb

基 原：本品為鎖陽科 Cynomoriaceae 植物鎖陽 *Cynomorium coccineum* subsp. *songaricum* (Rupr.)之乾燥肉質莖。

一、方法

(一) 檢品溶液 【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》，《中華人民共和國藥典 2020》

——取本品粉末 1.0 g，加乙酸乙酯 20 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，濃縮至乾，殘渣加乙酸乙酯 1 mL，使之溶解，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 1.0 g，加水 10 mL，靜置 30 分鐘，過濾，作為檢品溶液。

【萃取方法 3】(自行開發)✓

——取本品粉末 1.0 g，加乙酸乙酯 5 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，濾液作為檢品溶液。

(二) 對照標準品 取熊果酸(Ursolic acid)對照標準品，分別加甲醇製成每 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】《臺灣中藥典第四版》，《中華人民共和國藥典 2020》

——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (20：4：0.5)

【展開劑 2】《香港中藥材標準第六冊》

——正丙醇：乙醇：無水乙酸：水 (4：1：1：2)

【展開劑 3】修飾《臺灣中藥典第四版》✓

——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (10：3：0.5)

(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，於主波長 365 nm 之紫外燈照射下檢視之。

二、萃法選擇及濃度測試

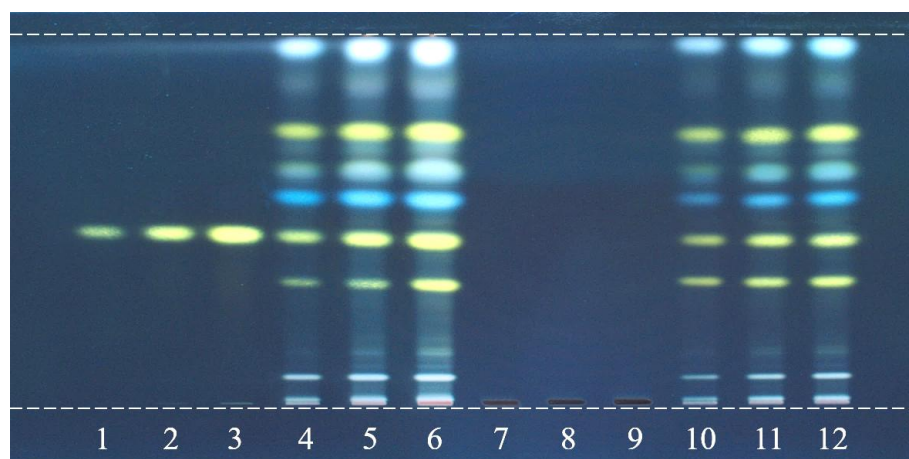
實驗日期：113/09/24

相對溼度(RH)：65%

溫度(RT)：25.4 °C

【展開劑 3】修飾《臺灣中藥典第四版》——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (10：3：0.5)

——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出



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

建議萃法：除《香港中藥材標準》萃取方法外，其餘 2 種萃法之檢品溶液中皆有分離與檢出標準品熊果酸，因方法簡便，濃度適中，故採用【萃取方法 3】。

建議點注量：熊果酸 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 3】5 μ L。

三、溶媒系統選擇

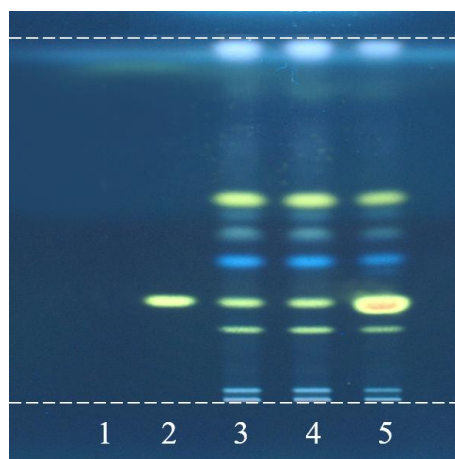
實驗日期：113/09/24

相對溼度(RH)：65%

溫度(RT)：25.4 °C

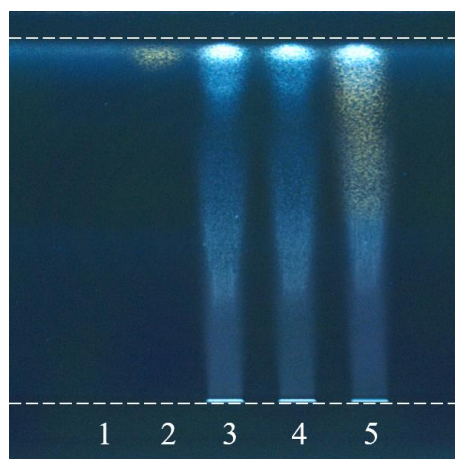
【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版》，《中華人民共和國藥典 2020》——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (20：4：0.5)

【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)
檢出(熊果酸 R_f 值為 0.27)



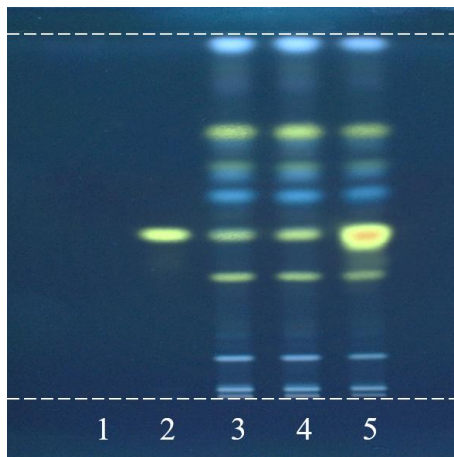
【展開劑 2】《香港中藥材標準第六冊》——正丙醇：乙醇：無水乙酸：水 (4：1：1：2)

【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)
檢出(熊果酸 R_f 值>0.9)



【展開劑 3】修飾《臺灣中藥典第四版》——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (10：3：0.5) ✓

【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)
檢出(熊果酸 R_f 值為 0.46)



1：Blank
2：熊果酸

3，4：檢品溶液 8
5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 3】方式，以修飾《臺灣中藥典》之【展開劑 3】展開，顯示熊果酸的 R_f 值適中，分離佳，故採用【展開劑 3】。

四、觀察方式選擇

實驗日期：113/09/24

相對溼度(RH)：65%

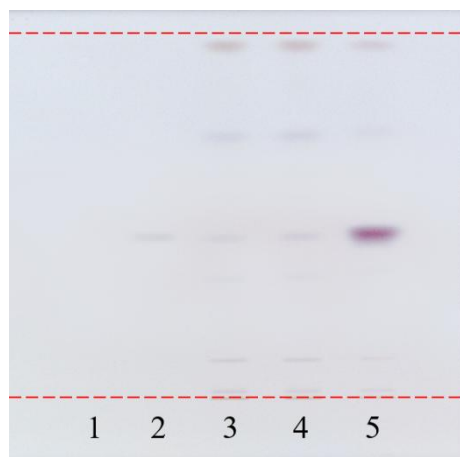
溫度(RT)：25.4 °C

【展開劑 3】修飾《臺灣中藥典第四版》——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (10：3：0.5)

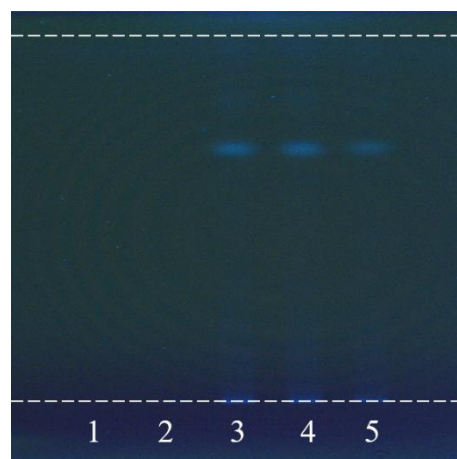
【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 可見光檢出



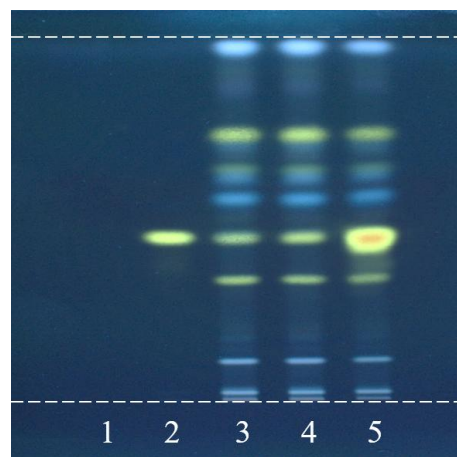
【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後可見光檢出



【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出✓



1：Blank
2：熊果酸

3，4：檢品溶液 8
5：Spike

建議觀察方式：以 10%硫酸/乙醇試液顯色後於紫外光(365 nm)檢測下，有較明顯分離之條帶。

五、十批鎖陽藥材樣品檢測

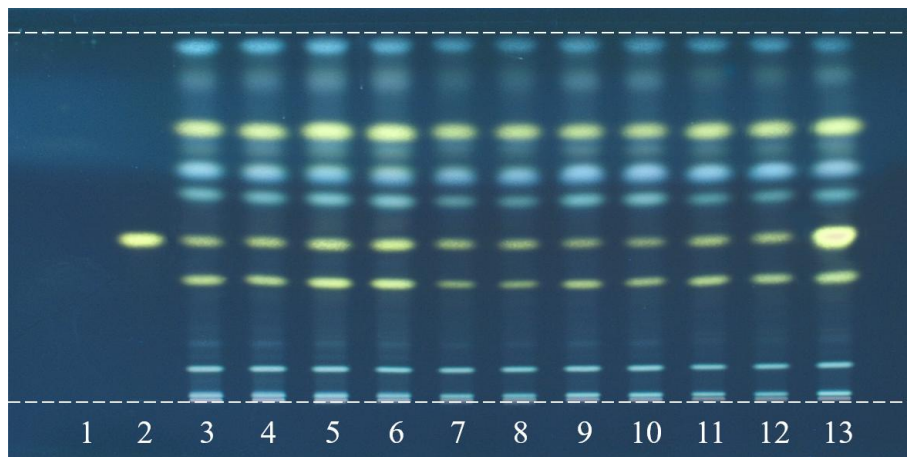
實驗日期：113/09/24

相對溼度(RH)：65%

溫度(RT)：25.4 °C

【展開劑 3】修飾《臺灣中藥典第四版》——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (10：3：0.5)

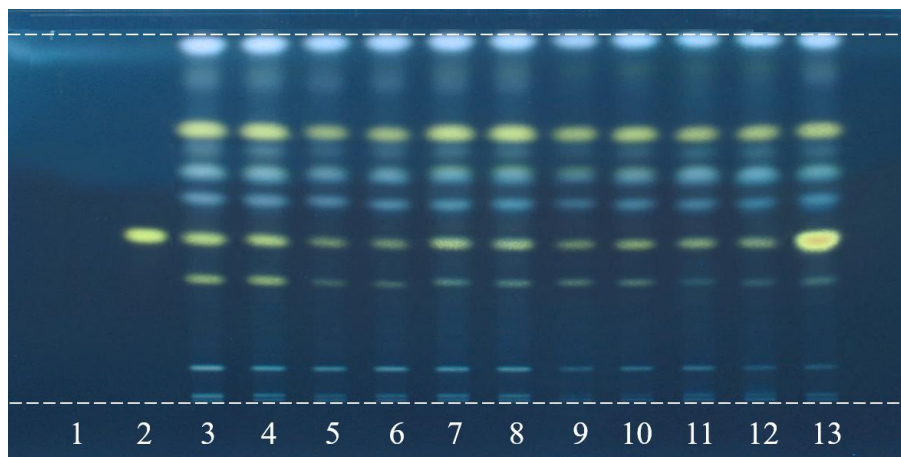
【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm) 檢出



1	Blank	7, 8	檢品溶液 3 (CB)
2	熊果酸(0.2 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 4 (CE)
3, 4	檢品溶液 1 (NX)	11, 12	檢品溶液 5 (CH)
5, 6	檢品溶液 2 (CA)	13	Spike (檢品溶液 8)

【展開劑 3】修飾《臺灣中藥典第四版》——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (10：3：0.5)

【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出



1	Blank	7, 8	檢品溶液 8 (SK4)
2	熊果酸(0.2 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 9 (SUB)
3, 4	檢品溶液 6 (SK1)	11, 12	檢品溶液 10 (SUC)
5, 6	檢品溶液 7 (SK3)	13	Spike (檢品溶液 8)

結論與建議：以自行開發之【萃取方法 3】方式及修飾《臺灣中藥典》之【展開劑 3】分離與檢出熊果酸較佳，以 10%硫酸/乙醇試液顯色後於紫外光(365 nm)下檢視較佳。

鎖陽飲片(CYNOMORII HERBA)

一、材料

購置於臺灣各地中藥店鎖陽飲片共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Agilent 1260 series, 包含 Quat Pump (G1311B)、DAD (G1315D)、Autosampler (G1329B)、Column Oven (G1316A); 層析管柱 Agilent ZORBAX Eclipse Plus 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、Sample Manager、PDA Detector; 層析管柱 Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 × 2.1 mm, 1.7 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; 磷酸(85%)購置於台灣默克有限公司。

(二) 對照標準品

兒茶素(Catechin)購置於友和貿易股份有限公司, 純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

鎖陽飲片萃取溶媒同鎖陽藥材。

(二) 最佳萃取次數評估

鎖陽飲片最佳萃取次數同鎖陽藥材。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取對照標準品兒茶素 2.0 mg, 加 10 mL 的 75%甲醇製成每 1 mL 含兒茶素 200 μg 的對照標準品儲備溶液, 並以 75%甲醇稀釋至兒茶素 10 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 1.0 g, 置 50 mL 離心管中, 準確加入 75%甲醇 10 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，取濾液。殘渣部分重複提取 1 次，合併濾液，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。

(五) 測定法

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兒茶素的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取兒茶素對照標準品儲備溶液適量(200 $\mu\text{g/mL}$)，以 75% 甲醇稀釋成含兒茶素分別為 100、60、40、20、15、10、4.0 $\mu\text{g/mL}$ 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

以兒茶素為 10 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以兒茶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：取同一批市售鎖陽飲片粉末，依鎖陽飲片檢品溶液製備方法平行製備 5 份鎖陽飲片檢品溶液，進樣測定，以兒茶素的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售鎖陽飲片粉末，依鎖陽飲片檢品溶液製備方法製備鎖陽飲片檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，以兒茶素的含量為指標，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 $\geq 3:1$ 時之濃度，作為偵測極限估計值。
2. 定量極限(Limit of Quantification, LOQ)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比 $\geq 10:1$ 時之濃度，作為定量極限估計值。

(十) 添加回收率試驗

取已知兒茶素含量的鎖陽飲片粉末各 5 份，每份準確稱取約 0.5 g，分別加入 1.0 mL 的兒茶素溶液(300 $\mu\text{g/mL}$)，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：Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 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(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	10	90
20	10	90

(十二) 臺灣市售鎖陽飲片含量測定

取 10 批市售鎖陽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 公式計算樣品兒茶素的百分比含量。

(十三) 鎖陽飲片檢品之 UPLC 層析條件

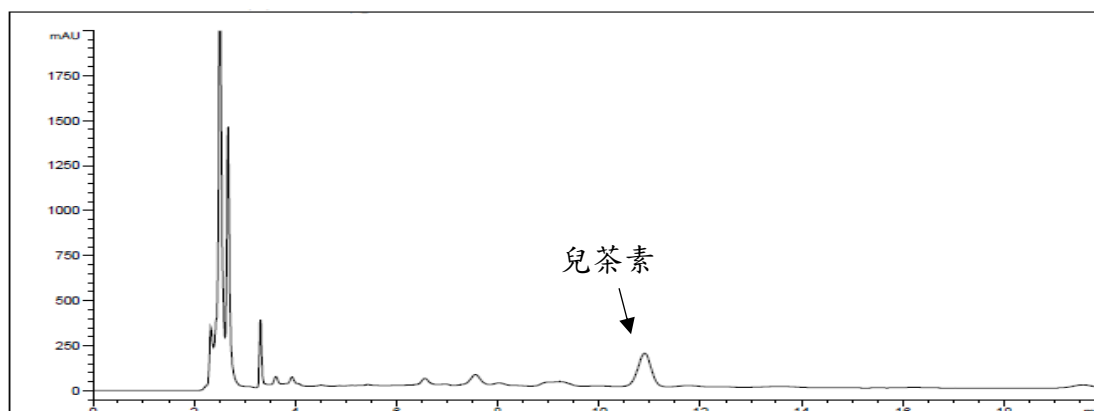
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100× 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 205 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	10	90
6	10	90

五、結果

(一) 對照標準品兒茶素之 HPLC 層析

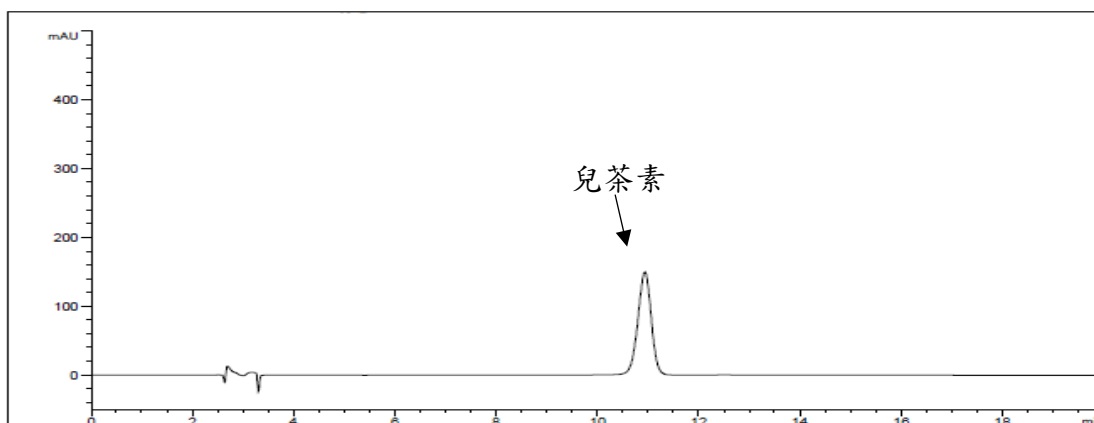
於滯留時間 10.94 分鐘處顯示兒茶素對照標準品波峰(圖一)。



圖一、兒茶素對照標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售鎖陽飲片檢品之 HPLC 層析

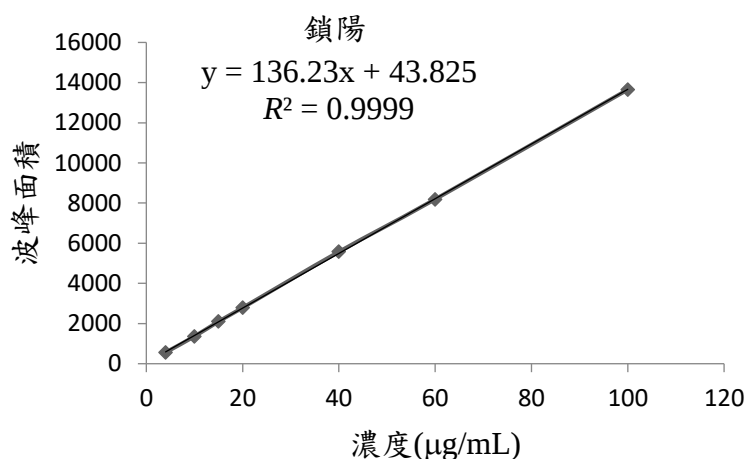
於滯留時間 10.94 分鐘處顯示鎖陽飲片檢品中兒茶素之波峰(圖三)。兒茶素分離率(R)為 1.77，拖尾因子(T)為 0.97。



圖二、市售鎖陽飲片檢品之 HPLC 層析圖

(三) 對照標準品兒茶素之檢量線

經不同濃度兒茶素(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 $y = 136.23x + 43.825$ ， $R^2 = 0.9999$ ，顯示濃度在 4.0–100 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、兒茶素之檢量線圖

表一、兒茶素之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
兒茶素	4.0–100	$y = 136.23x + 43.825$	0.9999

(四) 精密度試驗

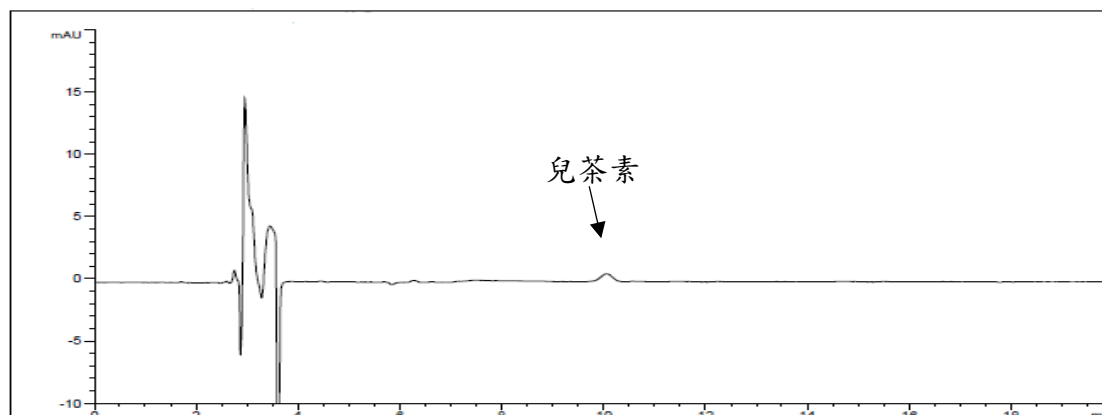
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，兒茶素精密度之相對標準差為 0.61%，在系統適用性要求內。

(五) 重複性與穩定性試驗

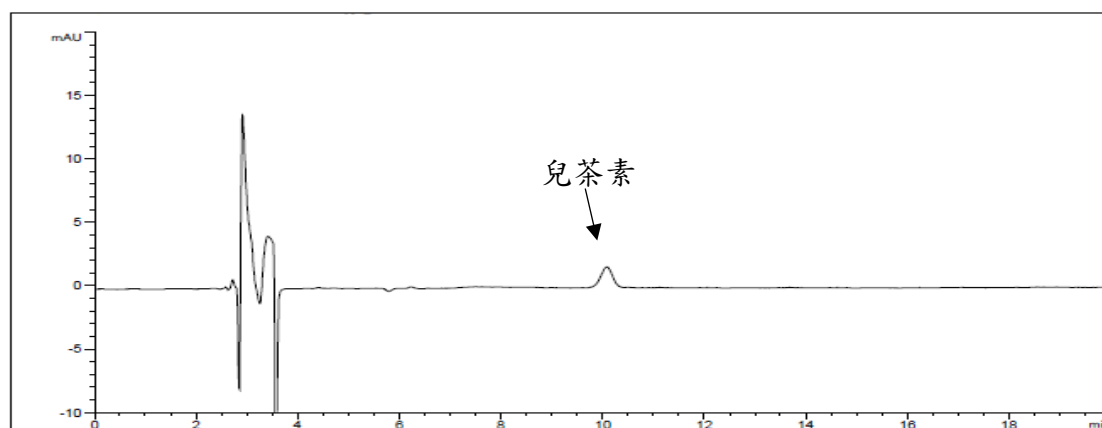
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，兒茶素重複性之相對標準差為 2.59%，在系統適用性要求內。兒茶素在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差為 1.14%，變化差異小，若所有樣品分析都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(六) 偵測極限與定量極限試驗

兒茶素偵測極限為 0.1 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 0.2 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、兒茶素之偵測極限層析圖



圖五、兒茶素之定量極限層析圖

表二、各項檢驗分析

檢測項目	兒茶素	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	10 $\mu\text{g/mL}$	0.61
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.3)	2.59
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.3)	1.14
偵測極限 (n=1)	0.1 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=1)	0.2 $\mu\text{g/mL}$	-

(七) 添加回收率試驗

兒茶素平均添加回收率為 96.6%，相對標準偏差為 2.35% (表三)。

表三、兒茶素添加回收率

編號	飲片稱重 (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	0.5004	0.2722	0.30	0.553	93.60	96.61	2.35
2	0.5003	0.2722	0.30	0.569	98.93		
3	0.5003	0.2722	0.30	0.556	94.60		
4	0.5000	0.2720	0.30	0.570	99.33		
5	0.5004	0.2722	0.30	0.562	96.60		

(八) 臺灣市售鎖陽飲片含量測定

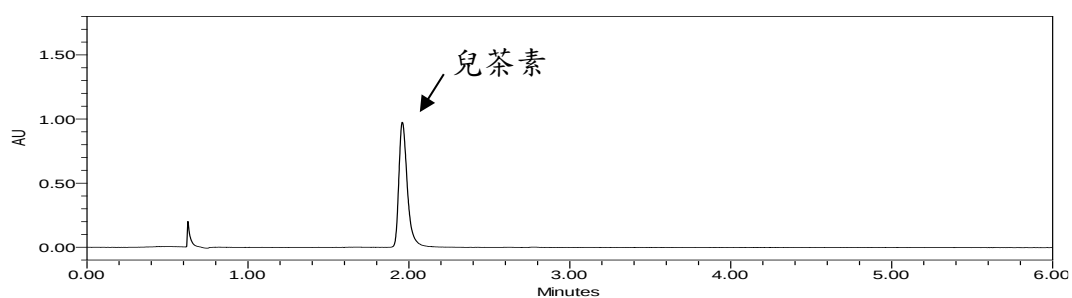
10 批鎖陽飲片之含量測定結果(乾燥品)如表四所示，兒茶素的含量為 0.025–0.135%。建議鎖陽飲片指標成分兒茶素含量不得少於 0.025%。理論板數按兒茶素波峰計算應不低於 3000 (實際值為 7744)

表四、臺灣市售鎖陽飲片檢品之兒茶素的含量

飲片編號 (No.)	兒茶素含量 (%)	藥材編號 (No.)	兒茶素含量 (%)
1 (CAA)	0.025	6 (ND)	0.036
2 (CAB)	0.036	7 (NE)	0.073
3 (SUA)	0.064	8 (NJ)	0.094
4 (SUC)	0.135	9 (NS)	0.064
5 (SUD)	0.043	10 (SAB)	0.049
平均值±S.D.	0.062±0.0313		

(九) 對照標準品兒茶素之 UPLC 層析

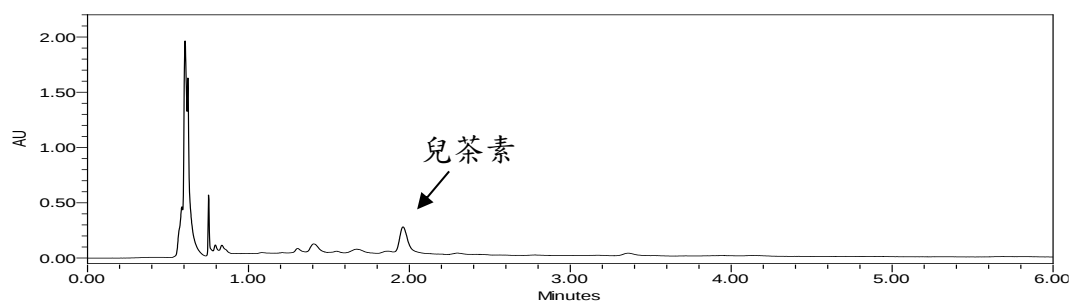
於滯留時間 1.96 分鐘處顯示兒茶素對照標準品波峰(圖六)。



圖六、兒茶素對照標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十) 市售鎖陽飲片檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 1.96 分鐘處分別顯示鎖陽飲片檢品中兒茶素波峰(圖七)。



圖七、市售鎖陽飲片檢品之 UPLC 層析圖

鎖陽飲片

生藥名：CYNOMORII HERBA

英文名：Songaria Cynomorium Herb

基 原：本品為鎖陽科 Cynomoriaceae 植物鎖陽 *Cynomorium coccineum* subsp. *songaricum* (Rupr.)之乾燥肉質莖。

一、方法

(一) 檢品溶液 【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》，《中華人民共和國藥典 2020》

——取本品粉末 1.0 g，加乙酸乙酯 20 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，濃縮至乾，殘渣加乙酸乙酯 1 mL，使之溶解，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 1.0 g，加水 10 mL，靜置 30 分鐘，過濾，作為檢品溶液。

【萃取方法 3】(自行開發)✓

——取本品粉末 1.0 g，加乙酸乙酯 5 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，濾液作為檢品溶液。

(二) 對照標準品 取熊果酸(Ursolic acid)對照標準品，分別加甲醇製成每 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】《臺灣中藥典第四版》，《中華人民共和國藥典 2020》

——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (20：4：0.5)

【展開劑 2】《香港中藥材標準第六冊》

——正丙醇：乙醇：無水乙酸：水 (4：1：1：2)

【展開劑 3】修飾《臺灣中藥典第四版》✓

——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (10：3：0.5)

(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，於主波長 365 nm 之紫外燈照射下檢視之。

二、萃法選擇及濃度測試

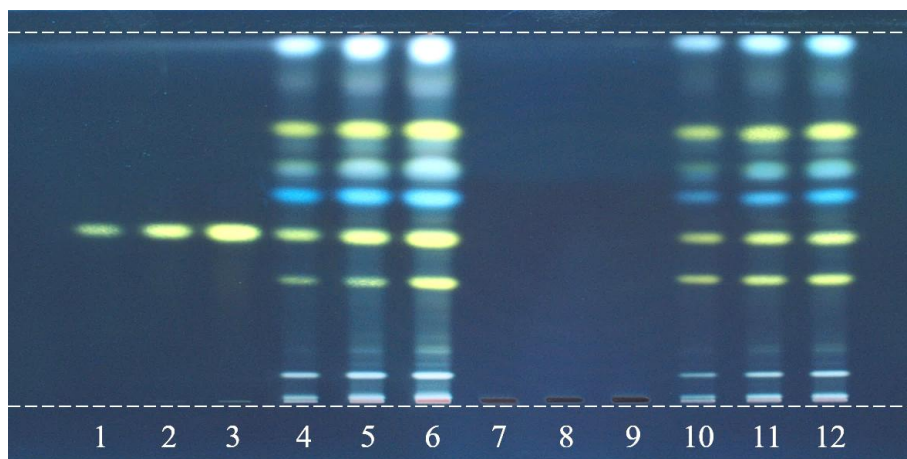
實驗日期：113/09/24

相對溼度(RH)：65%

溫度(RT)：25.4 °C

【展開劑 3】修飾《臺灣中藥典第四版》——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (10：3：0.5)

——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出



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

建議萃法：除《香港中藥材標準》萃取方法外，其餘 2 種萃法之檢品溶液中皆有分離與檢出標準品熊果酸，因方法簡便，濃度適中，故採用【萃取方法 3】。

建議點注量：熊果酸 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 3】5 μ L。

三、溶媒系統選擇

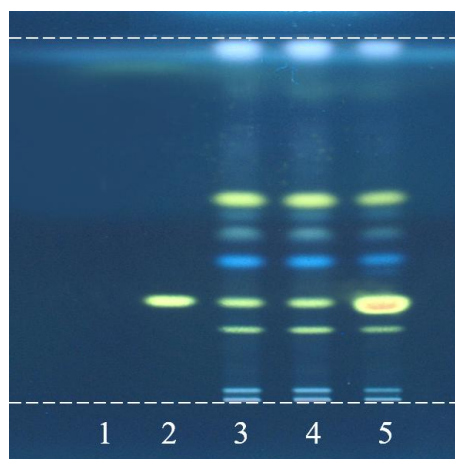
實驗日期：113/09/24

相對溼度(RH)：65%

溫度(RT)：25.4 °C

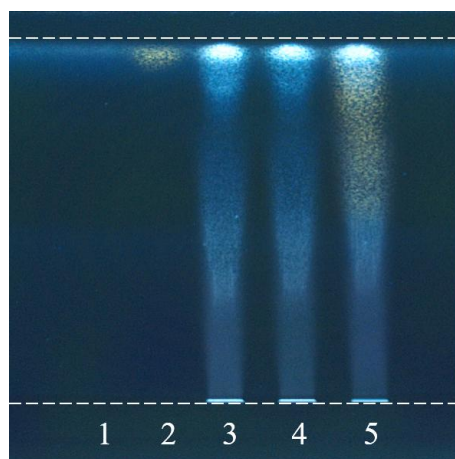
【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版》，《中華人民共和國藥典 2020》——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (20：4：0.5)

【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)
檢出(熊果酸 R_f 值為 0.27)



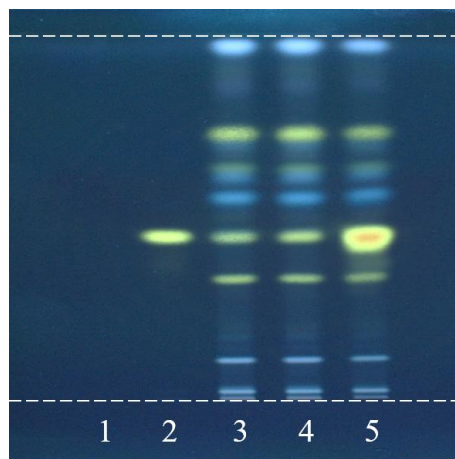
【展開劑 2】《香港中藥材標準第六冊》——正丙醇：乙醇：無水乙酸：水 (4：1：1：2)

【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)
檢出(熊果酸 R_f 值>0.9)



【展開劑 3】修飾《臺灣中藥典第四版》——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (10：3：0.5) ✓

【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)
檢出(熊果酸 R_f 值為 0.46)



1：Blank
2：熊果酸

3，4：檢品溶液 8
5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 3】方式，以修飾《臺灣中藥典》之【展開劑 3】展開，顯示熊果酸的 R_f 值適中，分離佳，故採用【展開劑 3】。

四、觀察方式選擇

實驗日期：113/09/24

相對溼度(RH)：65%

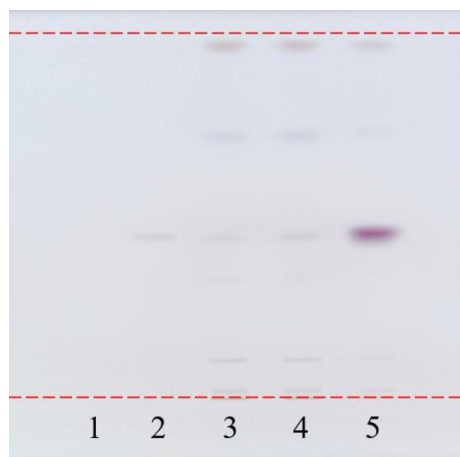
溫度(RT)：25.4 °C

【展開劑 3】修飾《臺灣中藥典第四版》——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (10：3：0.5)

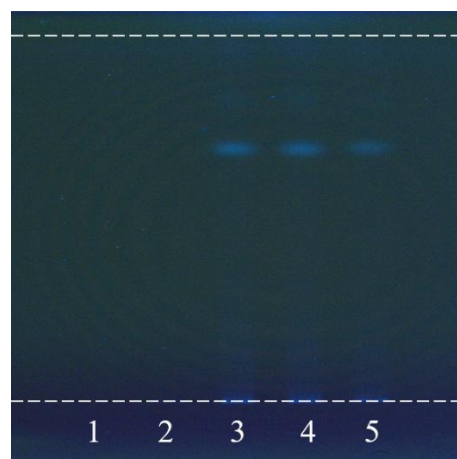
【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 可見光檢出



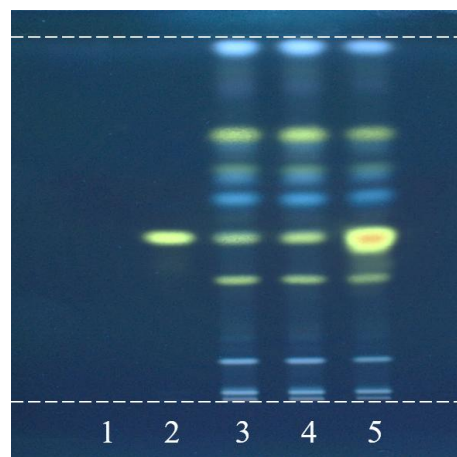
【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後可見光檢出



【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出✓



1：Blank
2：熊果酸

3，4：檢品溶液 8
5：Spike

建議觀察方式：以 10%硫酸/乙醇試液顯色後於紫外光(365 nm)檢測下，有較明顯分離之條帶。

五、十批鎖陽飲片樣品檢測

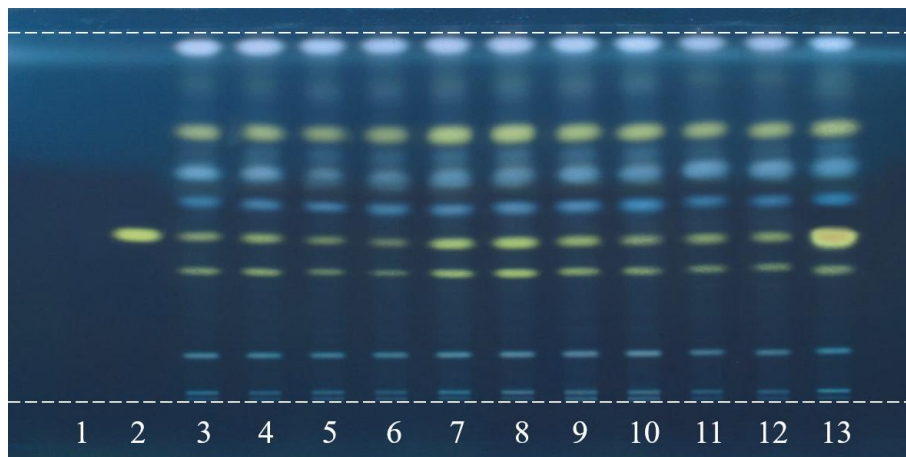
實驗日期：113/09/24

相對溼度(RH)：65%

溫度(RT)：25.4 °C

【展開劑 3】修飾《臺灣中藥典第四版》——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (10：3：0.5)

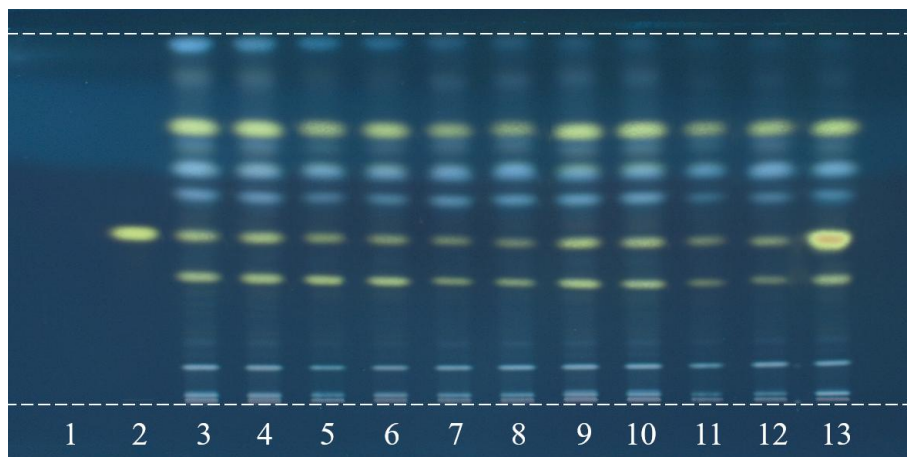
【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出



1	Blank	7，8	檢品溶液 3 (NJ)
2	熊果酸(0.2 mg/mL)	9，10	檢品溶液 4 (NS)
3，4	檢品溶液 1 (ND)	11，12	檢品溶液 5 (CAA)
5，6	檢品溶液 2 (NE)	13	Spike (檢品溶液 8)

【展開劑 3】修飾《臺灣中藥典第四版》——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (10：3：0.5)

【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出



1	Blank	7, 8	檢品溶液 8 (SUA)
2	熊果酸(0.2 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 9 (SUC)
3, 4	檢品溶液 6 (CAB)	11, 12	檢品溶液 10 (SUD)
5, 6	檢品溶液 7 (SAB)	13	Spike (檢品溶液 8)

結論與建議：以自行開發之【萃取方法 3】方式及修飾《臺灣中藥典》之【展開劑 3】分離與檢出熊果酸較佳，以 10%硫酸/乙醇試液顯色後於紫外光(365 nm)下檢視較佳。