

市售紅景天藥材中 salidroside 和 *p*-tyrosol 之含量分析

謝傑光¹ 林傳福² 倪菁勵³ 簡美英⁴ 張金鳴⁴ 謝建正¹ 陳建志³

¹私立中國文化大學 生活應用科學所

台北，台灣

²私立長庚技術學院 化妝品應用系

桃園，台灣

³國立中國醫藥研究所

台北，台灣

⁴科達製藥股份有限公司

桃園，台灣

(95年12月11日受理，96年3月26日接受刊載)

紅景天為多年生草本或亞灌木植物，為亞洲與東歐常用之藥材，本研究以高效液相層析儀 (HPLC) 探討市售紅景天中活性成分 salidroside 及 *p*-tyrosol 之含量，結果顯示 salidroside 及 *p*-tyrosol 之標準曲線分別於 50~400 µg/mL 及 25~400 µg/mL 的濃度範圍內，呈現良好之線性關係 ($r=0.9998$)。同日間 (intra-day) 與異日間 (inter-day) 試驗之相對標準偏差各為 0.35~3.13% 與 0.09~1.79%；回收率平均值各為 101.5%與 97.5%。在十二種市售藥材檢品中，每克藥材之 salidroside 含量介於 1.78~18.63 mg 之間；而 *p*-tyrosol 含量介於 0.28~7.56 mg 之間。

關鍵詞：紅景天，salidroside，*p*-tyrosol。

前 言

紅景天為景天科 (*Crassulaceae*) 紅景天屬 (*Rhodiola* sp.)，多年生草本或亞灌木植物，是亞洲與東歐常用的藥材之一，全世界紅景天屬植物有兩百多種，主要分佈於北半球高寒地帶，包括北亞洲、阿拉斯加、北歐、阿爾卑斯山脈至中亞的西馬拉亞山脈之高山地區¹⁻³。紅景天屬藏藥，有促進血液循環、止咳、滋補之功效³⁻⁵。近年來的研究，發現紅景天對於勞累過度所產生的食慾不振、睡眠障礙、工作能力下降、暴躁不安、高血壓、頭痛及疲憊等症狀有良好的改善效果³⁻⁸。薔薇紅景天 (*Rhodiola rosea*) 具

有“反壓力” (adaptogen) 的作用，可對抗來自於生物、化學及生理因素所造成之壓力^{3,6}；西藏紅景天 (*Rhodiola tibetica*) 則能增強整體動物在缺氧條件下的生存能力⁸。

紅景天已分離出的化學成分包括 phenylethanoid, phenylethanol 衍生物, flavanoid, terpenoid, phenolic acid 及 organic acid 類等共有 40 幾種化合物⁹⁻¹³，在 phenylethanol 衍生物中 salidroside (Fig. 1.) 有抗疲勞、抗缺氧及抗微波輻射作用，*p*-tyrosol (Fig. 1.) 則有抗氧化之功能¹¹⁻¹⁶。

本研究利用高效液相層析儀 (HPLC) 探討紅景天中 salidroside 與 *p*-tyrosol 兩個指標成分之最佳分析條件，並分析在 12 種市售紅景天藥材中之含量，期望能提供紅景天藥材品質之參考。

研究方法

一、材料與試劑

紅景天藥材為購自台北市十二家不同的中藥藥材行之乾燥根與莖。標準品 salidroside 由本實驗室自紅景天藥材分離，並經文獻及光譜分析確認；*p*-tyrosol 購自 SIGMA 公司 (St.Louis,USA)，兩種標準品經 HPLC-DAD (Photodiode array detector, DAD) 檢測，純度皆大於 99%。Methanol (HPLC grade) 及 acetonitrile (HPLC grade) 購自 Merck 公司 (Darmstadt, Germany)。

二、儀器設備

本實驗使用之高效液相層析儀為 Hewlett Packard 之 HP1100 型，包括：除氣器 (G1322A Degasser)、幫浦 (G1311A Quaternary Pump) 及光電二極管陣列式偵測器 (G1315B DAD)。

三、標準品溶液之配製

精確秤取 salidroside 及 *p*-tyrosol 各 50 mg，分別添加甲醇溶解之並定量至 50 mL，配製成濃度為 1.0 mg/mL，供作標準品儲備溶液。

四、檢量線之製作

精確量取上述之對照標準品儲備溶液加適量之甲醇稀釋調配一系列不同濃度之溶液，依序如下：salidroside：400、200、150、100、50 $\mu\text{g/mL}$ ；*p*-tyrosol：400、200、150、100、50、25 $\mu\text{g/mL}$ 。取上述溶液各 5 μL 分別注入 HPLC 進行分析。利用標準品之波峰面積 (*y* 軸) 和標準品之濃度 (*x* 軸) 進

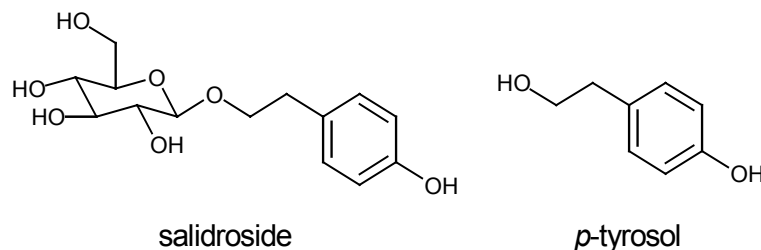


Fig. 1. Structures of salidroside and *p*-tyrosol.

行線性回歸，並求得檢量線之方程式 $y = ax + b$ 與相關係數 r 。

五、同日間 (Intra-day) 及異日間 (Inter-day) 試驗

取標準品溶液 salidroside (400、200、150、100、50 $\mu\text{g/mL}$) 與 *p*-tyrosol (400、200、150、100、50、25 $\mu\text{g/mL}$) 各不同的濃度進行同日間測試 (intra-day test; 在 24 小時期間，每個濃度重複注射 3 次) 與異日間測試 (inter-day test; 7 天內注射 3 次，每次間隔 24 小時以上)，求其相對標準偏差值 (R.S.D., %)，以評估 HPLC 分析條件之穩定性及再現性。

六、檢品溶液製備

將不同廠商之乾燥紅景天經粉碎後各取乾燥粉末 1 g，分別加入甲醇 50 mL，以超音波震盪 30 分鐘進行萃取。萃取液經由布氏漏斗以 No.1 濾紙過濾後，加甲醇定量至 50 mL，每個樣品進行 3 重覆，並以 0.45 μm 濾膜過濾後，作為 HPLC 分析之檢品溶液。

七、回收率試驗 (Recovery)

精秤 1 g 乾燥之紅景天粉末為檢品，分別加入 salidroside 及 *p*-tyrosol 標準品儲備溶液各 7.50、5.00、2.50 mL 後，加甲醇至 50 mL。以超音波震盪 30 分鐘後，萃取液經由布氏漏斗以 No.1 濾紙過濾後，加甲醇至 50 mL。再以 0.45 μm 過濾膜過濾後注入 HPLC 進行分析，以評估 HPLC 分析條件之準確性，每次定量值，為三次重覆注射之平均分析結果。

八、偵測極限 (Limit of detection)

逐步稀釋標準品儲備溶液，每次注入 5 μL 予以分析，直到 $\text{signal/noise} = 3/1$ ，並紀錄此時的濃度值及注入量，以評估 HPLC 分析條件之靈敏度。

九、高效液相層析條件

分離管柱：Cosmosil 5C18-AR-II (4.6 \times 250 mm)。移動相使用 H_2O 與 CH_3CN 以線性梯度進行沖提，其比例開始時為 100% H_2O :0% CH_3CN ；20 分鐘時為 85% H_2O :15% CH_3CN ；35 分鐘時為 83% H_2O :17% CH_3CN 。流速設定為 1 mL/min。檢測波長為 223 nm。注射量為 5 μL 。

結果與討論

本研究利用上述之分析條件，進行紅景天之 HPLC 分析，結果如 Fig. 2 所示，salidroside 及 *p*-tyrosol 的滯留時間分別為 17.6 和 19.3 min。此外，也利用 HPLC-DAD 檢測 salidroside 及 *p*-tyrosol 的波峰純度，測定值皆為 99.9% 以上，顯示能完全被分離，而無受到其他成分所干擾，因此本分析方法可作為紅景天藥材中 salidroside 及 *p*-tyrosol 之定量分析條件。

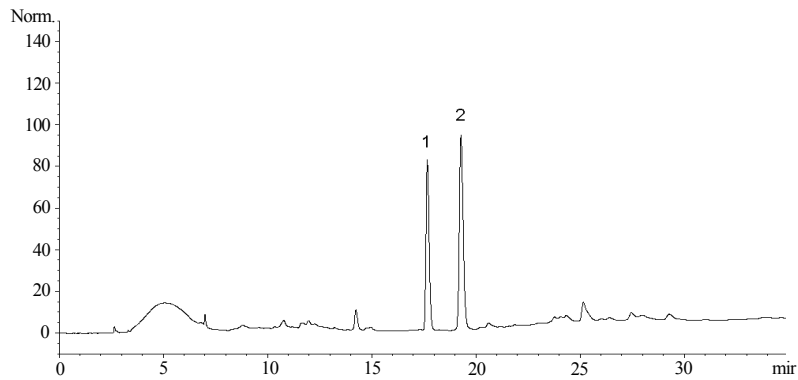


Fig. 2. HPLC chromatogram of sample 1 of *Rhizoma Rhodiola*. Peak 1: salidroside, peak 2: *p*-tyrosol.

一、線性及範圍試驗

以本方法分析指標成分 salidroside 在濃度 50~400 $\mu\text{g/mL}$ 範圍內，及 *p*-tyrosol 在濃度 25~400 $\mu\text{g/mL}$ 範圍內，其線性迴歸方程式及相關係數 (r) 分別為 salidroside: $y = 5.1395x - 17.959$ ($r = 0.9998$), *p*-tyrosol: $y = 11.231x - 24.701$ ($r = 0.9998$)，顯示兩者均呈現良好之線性關係。而偵測極限皆為 0.39 $\mu\text{g/mL}$ 。

二、精密度試驗

於兩個指標成分檢量線之範圍內，在同日間 (intra-day) 及異日間 (inter-day)，重覆注入高效液相層析儀定量分析各 3 次，並計算其相對標準偏差值 (R.S.D.,%)，結果如 Table 1，其同日間之相對標準偏差為 0.35~3.13%，異日間為 0.09~1.79%，顯示此 HPLC 分析方法對於紅景天活性成分 salidroside 及 *p*-tyrosol 有良好的再現性。

三、準確度試驗

添加回收率的試驗結果如 Table 2，其中 salidroside 之回收率為 99.3~102.8%，平均值為 101.5%，平均相對標準偏差為 1.84%；*p*-tyrosol 之回收率為 95.6~98.7%，平均值為 97.5%，平均相對標準偏差為 1.71%，顯示有良好的準確性。

四、市售紅景天藥材中 salidroside 及 *p*-tyrosol 之含量比較

為瞭解市面上紅景天藥材的品質，本研究自藥材行購得十二種乾燥紅景天藥材，依上述之 HPLC 分析方法測定其 salidroside 與 *p*-tyrosol 兩個指標成分之含量，結果如 Table 3 所示。十二種檢品中，salidroside 之含量以檢品 10 含 18.63 mg/g 為最高，檢品 12 含 1.78 mg/g 為最低，兩者相差達 10 倍；*p*-tyrosol 之含量以檢品 6 含 7.56 mg/g 為最高，檢品 12 含 0.28 mg/g 為最低，兩者相差達 27 倍。

就化學結構及生物轉化 (biotransformation) 的觀點而言，salidroside 為 *p*-tyrosol 的 glycoside 衍生物，可能水解失去糖基形成 *p*-tyrosol，產生轉換含量 (convert content)¹⁷ 的現象，而 *p*-tyrosol 自 salidroside 轉化所產生的潛在含量依其分子量之比例 138/300 換算，即 converted content (salidroside \rightarrow *p*-tyrosol) = salidroside content \times 138/300。換算後總 *p*-tyrosol 的含量 (total content) 如 Table 3，顯示檢品指標成分的含量差異性降低，約可區分為高、中、低三部分，總 *p*-tyrosol 的含量在檢品 1、3~6 及 10~11 為

Table 1. The intra-day and inter-day precision for analysis of salidroside and *p*-tyrosol

Compound	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Intra-day (R.S.D.%) (n = 3)	Inter-day (R.S.D.%) (n = 3)
salidroside	400	1.14	0.60
	200	3.13	1.79
	150	0.92	0.60
	100	0.35	0.16
	50	1.22	1.47
<i>p</i> -tyrosol	400	0.92	0.56
	200	2.84	1.65
	150	0.92	0.83
	100	0.44	0.09
	50	1.37	1.52
	25	2.06	1.16

Table 2. Recoveries of salidroside and *p*-tyrosol from *Rhizoma Rhodiola*

Compound	Added (mg/g)	Recovery (%)	Average recovery (%)	R.S.D. (%)
salidroside	7.50	99.3	101.5	1.84
	5.00	102.8		
	2.50	102.2		
<i>p</i> -tyrosol	7.50	95.6	97.5	1.71
	5.00	98.2		
	2.50	98.7		

Table 3. Contents (mg/g) of salidroside and *p*-tyrosol, converted contents from salidroside to *p*-tyrosol, and total contents of *p*-tyrosol in *Rhizoma Rhodiola*

Sample ^a	Content		Converted content	Total content
	salidroside	<i>p</i> -tyrosol	salidroside \rightarrow <i>p</i> -tyrosol	total <i>p</i> -tyrosol
1	7.83	5.80	3.60	9.40
2	3.52	3.44	1.62	5.06
3	13.65	1.92	6.28	8.20
4	8.43	5.44	3.88	9.32
5	8.95	5.76	4.12	9.88
6	6.69	7.56	3.08	10.64
7	6.59	2.47	3.03	5.50
8	4.68	3.09	2.15	5.24
9	4.48	3.99	2.06	6.05
10	18.63	2.29	8.57	10.86
11	9.69	5.00	4.46	9.46
12	1.78	0.28	0.82	1.10

^aSamples 1~12 represent twelve crude drugs purchased from different stores.

高含量，範圍為 8.20~10.86 mg/g；檢品 2 及 7~9 為中含量，範圍為 5.06~6.05 mg/g；檢品 12 則為低含量，含量為 1.10 mg/g。

由於紅景天的種類很多，基原、產地、採收季節、儲藏條件與儲藏時間等因素皆可能造成上述 salidroside

及 *p*-tyrosol 之含量差異。

由以上的結果，顯示本研究提供簡單、快速、靈敏且高穩定性的 HPLC 分析方法，可用以檢測紅景天藥材之重要活性成分 salidroside 和 *p*-tyrosol。經由 12 種檢品分析結果得知，salidroside 含量最高者與最低者差異達 10 倍，而 *p*-tyrosol 更高達 27 倍之多，充分顯示市售紅景天藥材有極大的品質差異，其原因可能與品種、產地、季節與儲藏等因素有關。因此，期望藉由本實驗之研究結果，作為紅景天藥材品質管制之參考，以提昇市售產品之品質。

誌 謝

本研究承蒙國科會 (NSC94-2622-B-077-001-CC3) 及科達製藥股份有限公司經費補助，特此誌謝。

參考文獻

1. 藍曉紅、王莉、李艷麗，紅景天的現代研究與進展，中國新藥，2：27-28，2003。
2. 覃誌忠、潘玉芳，紅景天的應用，中國雜誌，6：24，1996。
3. György Z, Tolonen A, Pakonen M, Neubauer P, Hohtola A. Enhancing the production of cinnamyl glycosides in compact callus aggregate cultures of *Rhodiola rosea* by biotransformation of cinnamyl alcohol. *Plant Sci.* 166: 229-236, 2004.
4. 黃明貴，藏藥索羅馬寶顆粒簡介，中國中醫藥信息雜誌，8：82-83，2001。
5. Peng JN, Ge YC, Li XH. Studies on the chemical constituents of *Rhodiola fastigita*. *Acta Pharm. Sinica* 31: 798-800, 1996.
6. Kelly GS. *Rhodiola rosea*: A possible plant adaptogen. *Altern. Med. Rev.* 6: 293-302, 2001.
7. Azizov AP, Seiflla RD. The effect of elton, leveton, fitoton and adapton on the work capacity of experimentals. *Eksp. Klin. Fmakol.* 61: 61-63, 1998.
8. 吳萬征、李朝暉、梁球，西藏紅景天提取物抗缺氧作用的實驗研究，中藥材 28：41-42，2005。
9. Ohsugi M, Fan W, Hase K, Xiong Q, Tezuka Y, Komatsu K, Namba T, Saitoh T, Tazawa K, Kadota S. Active-oxygen scavenging activity of traditional nourishing-tonic herbal medicines and active constituents of *Rhodiola sacra*. *J Ethnopharmacol.* 67：111-119, 1999.
10. Wang S, Wang FP. Studies on the chemical components of *Rhodiola crenulata*. *Acta Pharm. Sinica* 27：117-120, 1992.
11. 王強、阮曉、方蘭、顏啓傳，資源植物紅景天研究，新疆農業大學報 25：57-62，2002。
12. 明海泉、夏光成、張瑞鈞，紅景天研究發展，中草藥 19：37-41，1988。
13. 包文芳、吳維春、李葆華，抗疲勞用藥植物紅景天，人民軍醫出版社，北京，pp. 34-58，2003。
14. 徐敏、馮曉江，中華本草，上海科技技術出版社，上海，3：778，2001。
15. Xu JF, Su ZG, Feng PS. Activity of tyrosol glucosyltransferase and improved salidroside production through biotransformation of tyrosol in *Rhodiola Sachalinensis* cell cultures. *J. Biotechnol.* 61: 69-73, 1998.
16. Pellegrini N, Visioli F, Buratti S, Brighenti F. Direct analysis of total Activity of olive oil and studies on the

- influence of heating. *J. Agric. Food Chem.* 49: 2532-2538, 2001.
17. Qiao CF, Han QB, Song JZ, MO SF, Kong LD, Kung HF, Xu HX. Quality assessment of *Fructus Psoralea*. *Chem. Pharm. Bull.* 54: 887-890, 2006.

QUANTITATIVE ANALYSIS OF SALIDROSIDE AND *p*-TYROSOL IN RHIZOMA RHODIOLA

Chieh-Kuang Hsieh¹, Chwan-Fwu Lin², Ching Li Ni³, Mei-Yin Chien⁴,
Jin-Ming Chang⁴, Chien-Cheng Hsieh¹ and Chien-Chih Chen³

¹*Department of Applied Science of Living, Chinese Culture University,
Taipei, Taiwan*

²*Department of Cosmetic Science, Chang Gung Institute of Technology,
Tao-Yuan, Taiwan*

³*National Research Institute of Chinese Medicine,
Taipei, Taiwan*

⁴*Ko Da Pharmaceutical Co. Ltd.,
Tao-Yuan, Taiwan*

(Received 11th December 2006, accepted 26th March 2007)

Rhizoma Rhodiola, a perennial herbaceous plant, is a traditional medicine mainly used in Asia and Eastern Europe. Salidroside and *p*-tyrosol are bioactive constituents of Rhizoma Rhodiola. The goal of this study was to develop an HPLC method for determining salidroside and *p*-tyrosol in Rhizoma Rhodiola. The results showed good linear relationships between the corresponding peak area and concentration. The linear calibration range of salidroside and *p*-tyrosol were 50~400 µg/mL ($r = 0.9998$) and 25~400 µg/mL ($r = 0.9998$), respectively. The relative standard deviation of marker substances for intraday and interday analyses were 0.35~3.13% and 0.09~1.79%, and the average recovery rates of the salidroside and *p*-tyrosol were 101.5% and 97.5%, respectively. The salidroside and *p*-tyrosol contents ranged between 1.78~18.63 and 0.28~7.56 mg/g for twelve raw material samples of Rhizoma Rhodiola.

Key words: Rhizoma Rhodiola, Salidroside, *p*-Tyrosol.