

仙茅

(CURCULIGINIS RHIZOMA)

仙茅 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).....	2
四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3).....	3

仙茅(藥材)HPLC

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.....	11

仙茅(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.....	23
五、結果.....	25

仙茅(藥材+飲片)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.....	34
五、十批仙茅藥材樣品檢測.....	35
六、十批仙茅飲片樣品檢測.....	37

仙茅

(CURCULIGINIS RHIZOMA)

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仙茅的乾燥根莖。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：仙茅

生藥名：CURCULIGINIS RHIZOMA

英文名：Common Curculigo Rhizome

基原：本品為石蒜科 Amaryllidaceae 植物仙茅 *Curculigo orchoides* Gaertn.之乾燥根莖。

採收加工：秋、冬兩季採挖，除去莖基和鬚根，洗淨，乾燥。

藥材性狀：本品呈圓柱狀，略彎曲，長 3~10 cm，直徑 3~8 mm，表面黑褐色或棕褐色，具縱皺紋及橫環紋，並具凹下的鬚根痕。質堅，易折，斷面呈灰白色至黃棕色，近中心處有一深色環紋，內側有點狀的維管束。氣辛香，味微苦辛。

飲片性狀：本品呈類圓形或不規則形的厚片或段，外表皮棕色至褐色，粗糙，有的可見縱橫皺紋和細孔狀的鬚根痕。切面灰白色至黃棕色，有多數棕色小點，中間有深色環紋。

生長分佈：多年生草本植物，高約 10~40 cm，生於海拔 1600 m 的林下草地或荒坡上。花期 6~8 月。藥材主產於四川，浙江、江西、雲南、貴州及廣東等地區亦有種植。

三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2)

1. 木栓層為數列類方形的木栓細胞。
2. 皮層寬廣，由薄壁細胞及黏液細胞組成，另有少數根跡維管束。
3. 薄壁細胞內含大量澱粉粒，細胞呈類圓形或多角形，細胞間隙明顯。
4. 黏液細胞呈類圓形，直徑 100~300 μm ，部分內含黏液質及草酸鈣針晶束。
5. 維管束散生，外木包圍型或並立型。
6. 導管主要為螺紋導管或網紋導管，直徑 8~30 μm 。

四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3)

1. 本品粉末深棕色。
2. 木栓細胞棕色，呈多角形或類方形。
3. 澱粉粒眾多，單粒或複粒，單粒呈類圓形，直徑 5~20 μm ；複粒由 2~5 分粒組成。偏光顯微鏡下呈黑十字狀。
4. 黏液細胞呈類圓形，直徑 100~300 μm ，部分內含黏液質及草酸鈣針晶束。
5. 草酸鈣針晶眾多，長 50~200 μm ，偏光顯微鏡下呈多彩色。
6. 導管主要為螺紋導管或網紋導管，直徑 8~30 μm 。



圖 1A 仙茅藥材圖

a. 藥材圖 b. 橫切面圖



圖 1B 仙茅飲片藥材圖

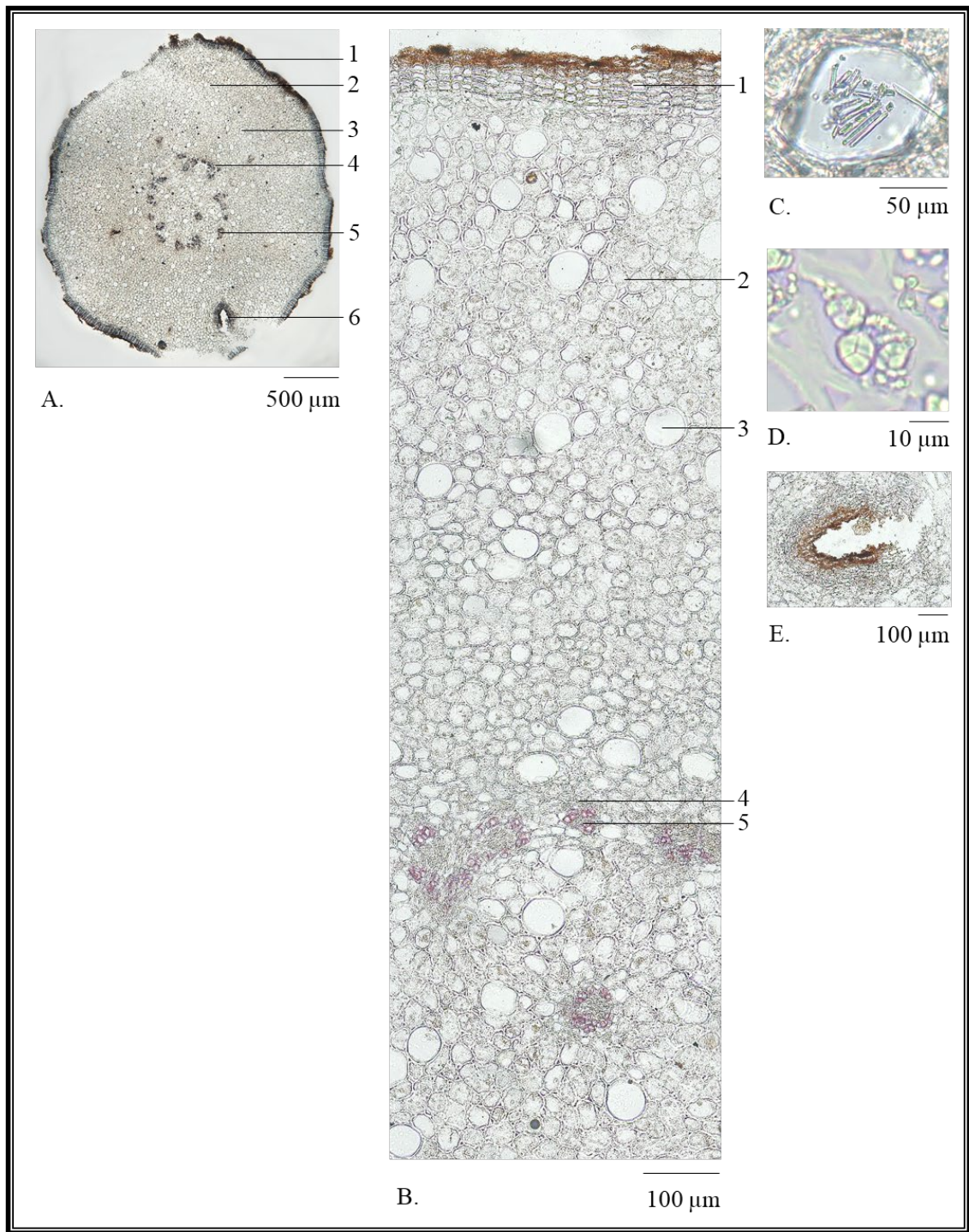


圖 2 仙茅根莖橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖 C.含草酸鈣針晶的黏液細胞 D.澱粉粒

E.根跡維管束

1.木栓層 2.皮層 3.黏液細胞 4.內皮層 5.維管束 6.根跡維管束

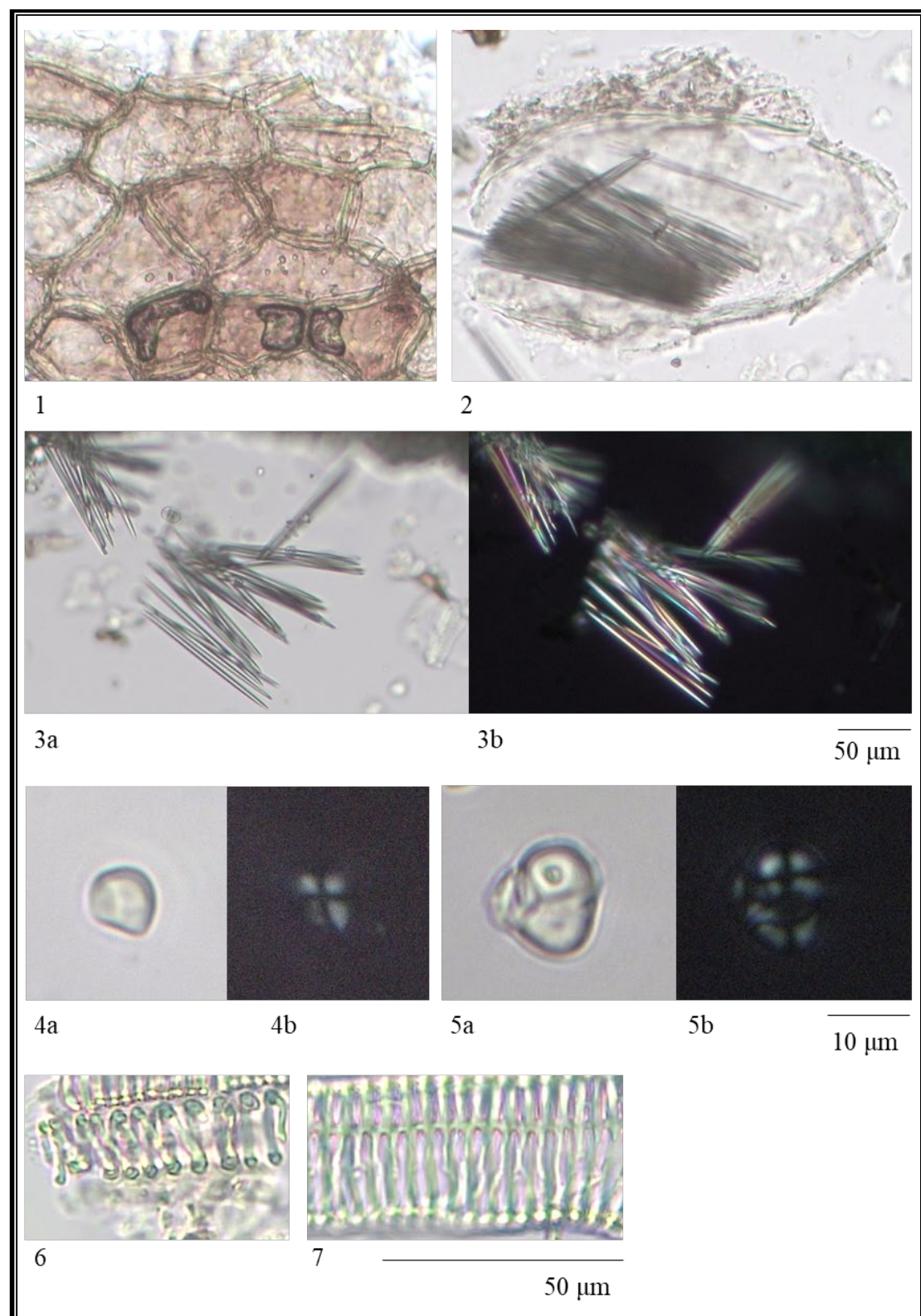


圖 3 仙茅根莖粉末顯微特徵圖

a. 光學顯微鏡下特徵 b. 偏光顯微鏡下特徵

1. 木栓細胞 2. 含草酸鈣針晶束的黏液細胞 3. 草酸鈣針晶 4. 澱粉粒單粒

5. 澱粉粒複粒 6. 螺旋導管 7. 網紋導管

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。76~77 頁。
2. 行政院衛生署中醫藥委員會編(1999)。中藥材品質管制：組織型態學鑑定。台北市：行政院衛生署中醫藥委員會。289~290 頁。
3. 戴新民(1987)。現代本草中國藥材學上冊。啟業書局。479~480 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(2012)。香港中藥材標準第四冊。香港：香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部。124~127 頁。
5. 肖培根等編輯(2001)。新編中藥志第一卷。北京：化學工業出版社。312~315 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。178 頁。
7. 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。105~106 頁。
8. 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。76~77 頁。
9. 國家藥典委員會編著(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。150 頁。
10. 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。205~206 頁。

仙茅(CURCULIGINIS RHIZOMA)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店仙茅藥材共 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、QuatPump G1311A、Sampler G1329B、DAD G1315B；層析管柱 Agilent ZORBAX SB-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

甲醇(99.9%)購自於 Mallinckrodt Baker Inc.；乙腈(99.9%)購自於 Sigma-Aldrich；乙醇(95%)購自於景明化工；磷酸(85%)購自於 Merck；乙酸(99.8%)購自於 J. T. Baker。

(二) 標準品

標準品仙茅苷(Curculigoside)購自於普思生物科技股份有限公司，純度 98% 以上。

四、方法

(一) 最佳萃取方法評估

方法一：取本品粉末 1 份，準確稱定 1.0 g，置 100 mL 圓底瓶中，準確加入甲醇 50 mL，加熱迴流 2 小時，冷卻後以 No. 1 濾紙過濾，取濾液 20 mL 濃縮至少量後，移入 10 mL 容量瓶中，加入甲醇至刻度，搖勻後過濾(syringe filter, PTFE 0.45 μm)，即得。每針 10 μL 注入高效液相層析儀(HPLC)，測得標準品仙茅苷波峰面積。

方法二：取本品粉末 1 份，準確稱定 1.0 g，置 50 mL 圓底瓶中，準確加入甲醇 25 mL，加熱迴流 2 小時，冷卻後以 No. 1 濾紙過濾，取濾液，搖勻再過濾(syringe filter, PTFE 0.45 μ m)，即得。每針 10 μ L 注入 HPLC，測得標準品仙茅苷波峰面積。

方法三：取本品粉末 1 份，準確稱定 1.0 g，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇 25 mL，超音波振盪處理(功率 300W，頻率 40 kHz) 2 小時，取上清液過濾(syringe filter, PTFE 0.45 μ m)，即得。每針 10 μ L 注入 HPLC，測得標準品仙茅苷波峰面積。

(二) 最佳萃取溶媒評估

取本品粉末 6 份，每份準確稱定 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 25 mL，超音波振盪處理(功率 300W，頻率 40 kHz) 1 小時，取上清液過濾(syringe filter, PTFE 0.45 μ m)，即得。每針 10 μ L 注入 HPLC，以所測得之標準品仙茅苷最大波峰面積為最佳仙茅萃取溶媒。

(三) 最佳萃取時間評估

取本品粉末 3 份，每份準確稱定 1.0 g，置 50 mL 離心管中，準確加入 75%甲醇各 25 mL，分別以超音波振盪處理(功率 300W，頻率 40 kHz) 30 分鐘、1 小時、2 小時，取上清液過濾(syringe filter, PTFE 0.45 μ m)，即得。每針 10 μ L 注入 HPLC，以所測得之標準品仙茅苷最大波峰面積為最佳仙茅萃取時間。

(四) 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 300W，頻率 40 kHz) 1 小時，取上清液過濾(syringe filter, PTFE 0.45 μ m)，即得。每針 10 μ L 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。

(五) 對照標準品溶液

準確稱取標準品仙茅苷 1.0 mg，加 2 mL 75%甲醇製成每 1 mL 含仙茅苷 500 μ g 的標準品儲備溶液，並以 75%甲醇稀釋至 60 μ g/mL 製成對照標準品溶液。

(六) 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 300W，頻率 40 kHz) 1 小時，取上清液，殘渣部分重複提取 1 次，合併上清液，上清液移入 25 mL 容量瓶中，加入 75% 甲醇至刻度，搖勻再過濾(syringe filter, PTFE 0.45 μ m)，即得。

(七) 測定法

準確吸取對照標準品溶液、檢品溶液 10 μ L，注入 HPLC，測定，用標準曲線計算溶液中標準品仙茅苷的含量，即得。

(八) 檢量線

準確吸取仙茅苷標準品儲備溶液(500 μ g/mL)適量，以 75% 甲醇稀釋製成含仙茅苷分別為 200、100、60、40、20、10 μ g/mL 的標準品溶液。以上溶液各取 10 μ L 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 。

(九) 精密度試驗

以仙茅苷濃度為 60 μ g/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以仙茅苷的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(十) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售仙茅粉末，依仙茅檢品溶液製備方法平行製備五份仙茅檢品溶液，進樣測定，以仙茅苷的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售仙茅粉末，依仙茅檢品溶液製備方法製備仙茅檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以仙茅苷的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(十一) 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。

(十二) 添加回收率試驗

取已知仙茅苷含量的仙茅粉末 5 份，每份準確稱取約 0.5 g，分別加入 0.6 mL 的仙茅苷溶液(1.0 mg/mL)，並按檢品溶液製備方法操作測定。

(十三) HPLC 分析條件

1. 層析管：Agilent ZORBAX SB-C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：285 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：室溫
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	21	79
30	21	79

(十四) 臺灣市售仙茅含量測定

取 10 批市售仙茅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 公式計算樣品仙茅苷的百分含量。

(十五) 仙茅檢品之 UPLC 層析條件

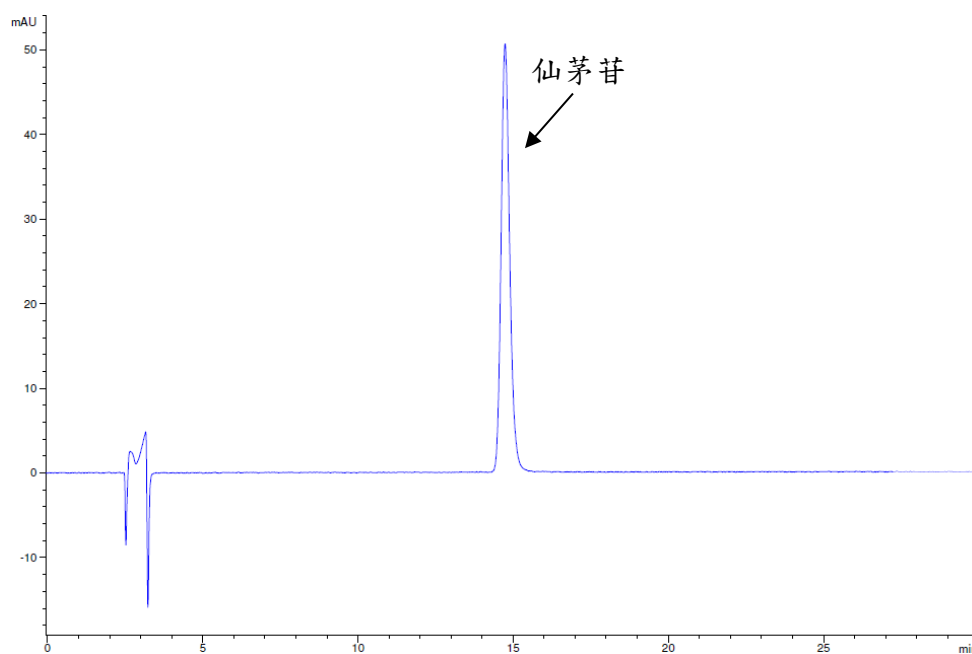
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC BEH C18 Column (100 × 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：285 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：室溫
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	1%乙酸(v/v, %)
0	21	79
10	21	79

五、結果

(一) 標準品仙茅苷之 HPLC 層析

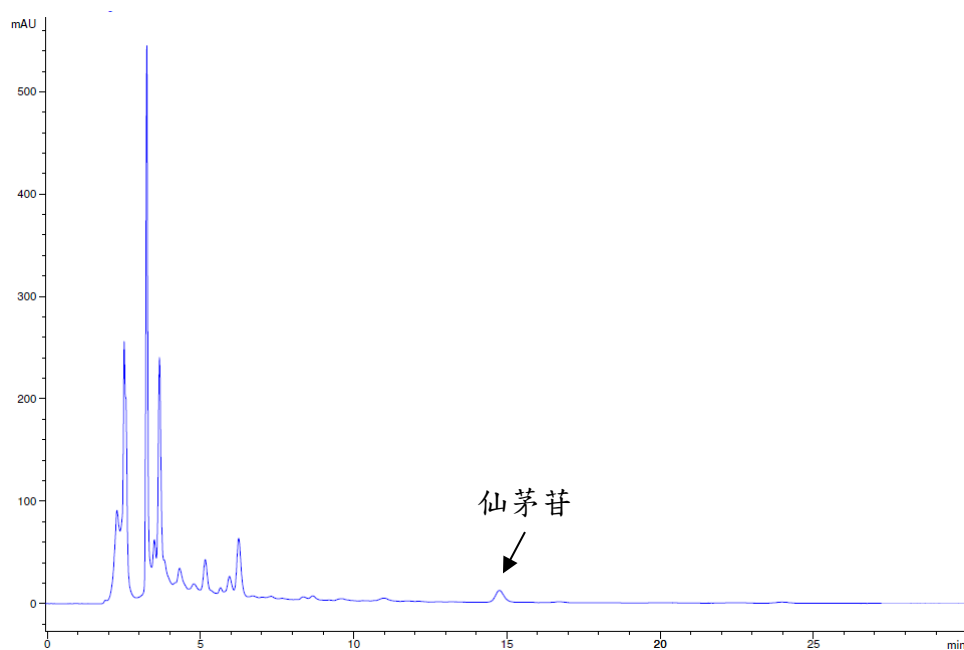
於滯留時間 14.8 分鐘處顯示仙茅苷標準品波峰(圖一)。



圖一、仙茅苷標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售仙茅檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 14.8 分鐘顯示仙茅檢品中仙茅苷的波峰(圖二)。仙茅苷之分離率(R)為 8.72，托尾因子(T)為 1.18，均在系統適用性要求內。



圖二、市售仙茅檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取方法評估

因方法一、方法二與方法三萃取後每克藥材重量所得仙茅苷的波峰面積相差不大，故使用方法三以超音波萃取較為簡便。

表一、萃取方法比較

方法	波峰面積
方法一	356.1
方法二	354.8
方法三	354.3

(四) 最佳萃取溶媒評估

以 75% 甲醇為溶媒時，每克藥材重量所得仙茅苷的波峰面積最大，顯示 75% 甲醇為最佳萃取溶媒。

表二、不同溶媒萃取比較

溶媒	波峰面積	最佳萃取
甲醇	200.1	
75% 甲醇	373.5	√
50% 甲醇	133.3	
乙醇	84.8	
75% 乙醇	332.7	
50% 乙醇	330.0	

(五) 最佳萃取時間評估

結果顯示萃取時間 1 小時與 2 小時所得仙茅苷的波峰面積相差不大，故採用超音波萃取 1 小時即可。

表三、仙茅萃取時間評估

75% 甲醇萃取時間	仙茅苷波峰面積
30 分鐘	215.8
1 小時	376.1
2 小時	378.8

(六) 最佳萃取次數評估

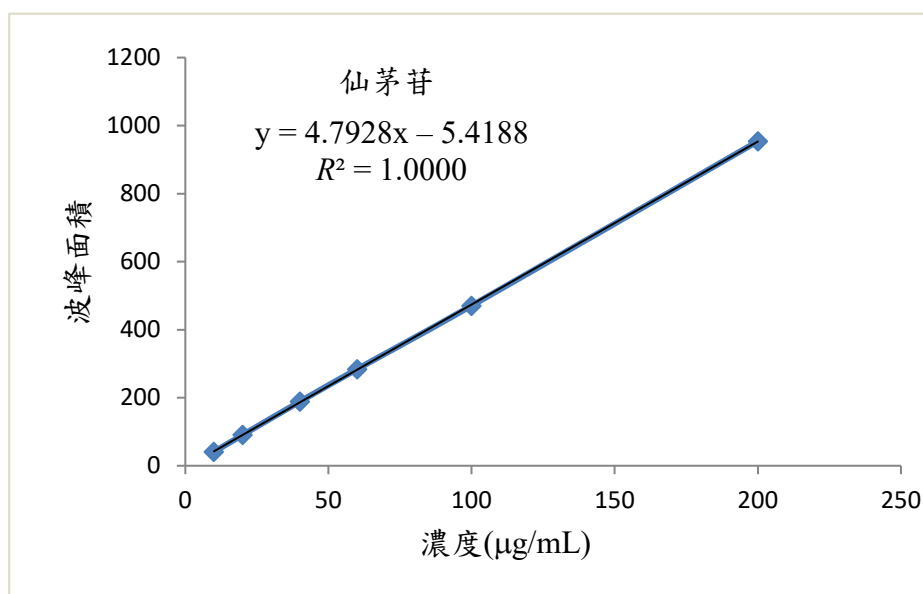
結果顯示萃取 2 次基本上已將仙茅苷萃取完全(萃取率大於 98%)。

表四、仙茅檢品萃取次數評估

75% 甲醇萃取次數	仙茅苷波峰面積
第 1 次	783
第 2 次	148
第 3 次	N.D.

(七) 標準品仙茅苷檢量線

經不同濃度仙茅苷(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 $y = 4.7928x - 5.4188$ ， $R^2 = 1.0000$ ，顯示濃度在 10–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、標準品仙茅苷之檢量線圖

表五、仙茅苷之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
仙茅苷	10 – 200 $\mu\text{g/mL}$	$y = 4.7928x - 5.4188$	1.0000

(八) 精密度試驗

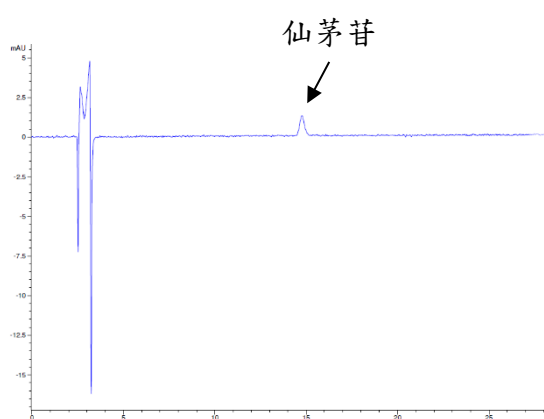
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，仙茅苷精密度之相對標準差為 0.85%，在系統適用性要求內。

(九) 重複性與穩定性試驗

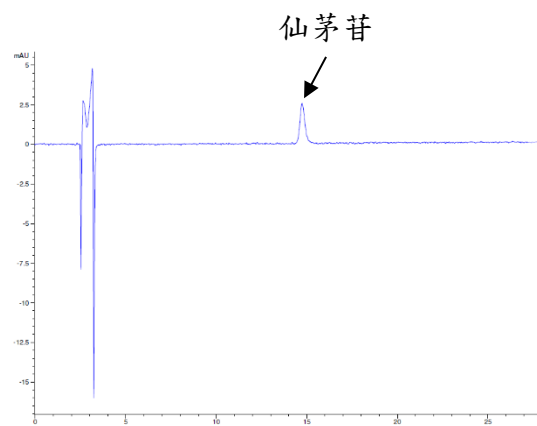
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，仙茅苷重複性之相對標準差為 0.89%，在系統適用性要求內。仙茅苷在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差為 0.65%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(十) 偵測極限與定量極限試驗

仙茅苷偵測極限為 5.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 10 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、仙茅苷之偵測極限層析圖



圖五、仙茅苷之定量極限層析圖

表六、各項檢驗分析

檢測項目	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	60 $\mu\text{g/mL}$	0.85
重複性 (n=5)	檢品溶液(No. 1)	0.89
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No. 1)	0.65
偵測極限 (n=1)	5.0 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=1)	10 $\mu\text{g/mL}$	-

(十一) 添加回收率試驗

仙茅苷平均添加回收率為 99.0%，相對標準偏差為 1.69% (表七)。

表七、仙茅苷添加回收率

編號	藥材稱重(g) (No. 1)	含有量 (mg)	加入量 (mg)	測得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	R.S.D. (%)
1	0.50	0.658	0.6	1.239	96.9	99.04	1.69
2	0.50	0.658	0.6	1.249	98.5		
3	0.50	0.658	0.6	1.258	100.1		
4	0.50	0.658	0.6	1.265	101.2		
5	0.50	0.658	0.6	1.248	98.4		

(十二) 臺灣市售仙茅含量測定

10 批仙茅之含量測定結果(乾燥品)如表八所示，仙茅苷含量為 0.077–0.191%。建議仙茅藥材指標成分仙茅苷的含量不得少於 0.1%。理論板數按仙茅苷波峰計算均應不低於 5000 (實際值為 13000)。

表八、臺灣市售仙茅檢品之仙茅苷含量

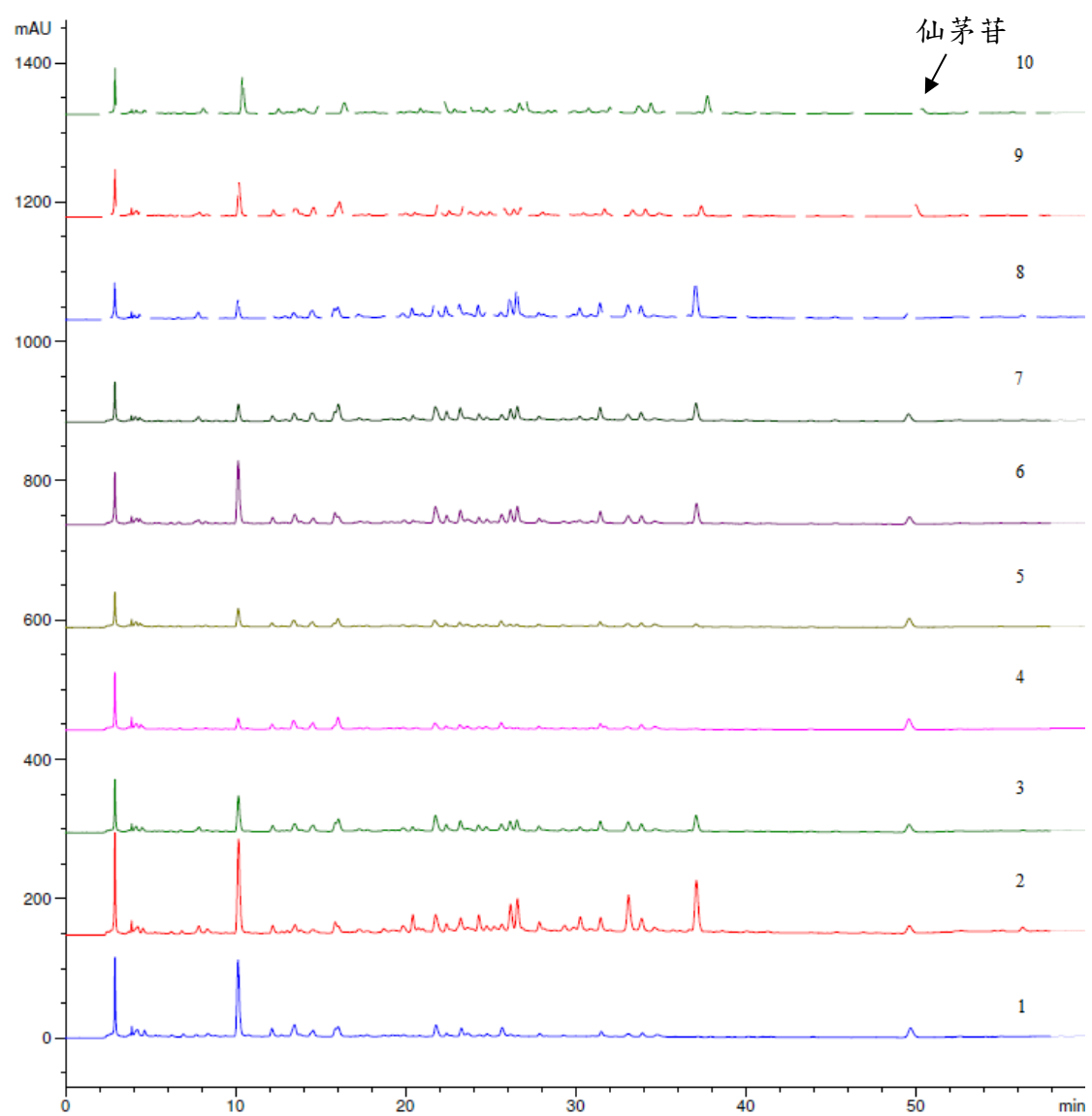
藥材編號(No.)	仙茅苷含量(%)
1 (NJ)	0.151
2 (NF)	0.118
3 (NJ4A)	0.129
4 (SR)	0.180
5 (NF3A)	0.148
6 (NF4B)	0.126
7 (CBA)	0.131
8 (CB)	0.088
9 (CBA)	0.191
10 (NRB)	0.077
平均值±S.D.	0.134 ± 0.036

(十三) 仙茅藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售仙茅藥材檢品溶液各 10 µL 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：Agilent ZORBAX SB-C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 µm)
2. 檢測波長：285 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：室溫
5. 注入量：10 µL
6. 移動相：

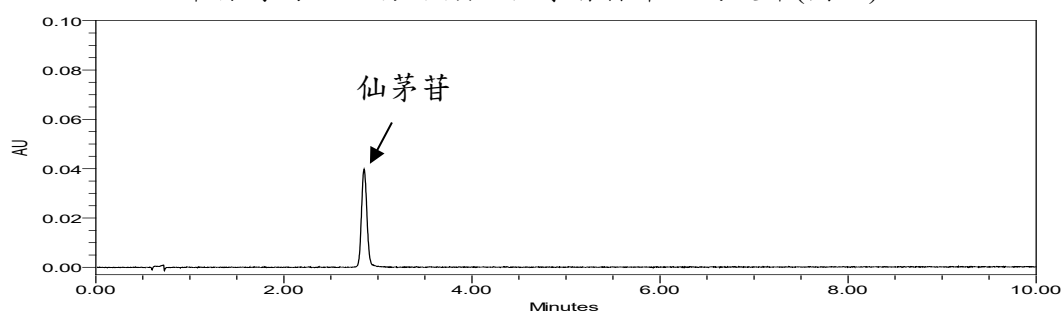
時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	4	96
20	13	87
30	17	83
45	20	80
60	30	70



圖六、10 批仙茅之 HPLC 指紋圖譜

(十四) 標準品仙茅苷之 UPLC 層析

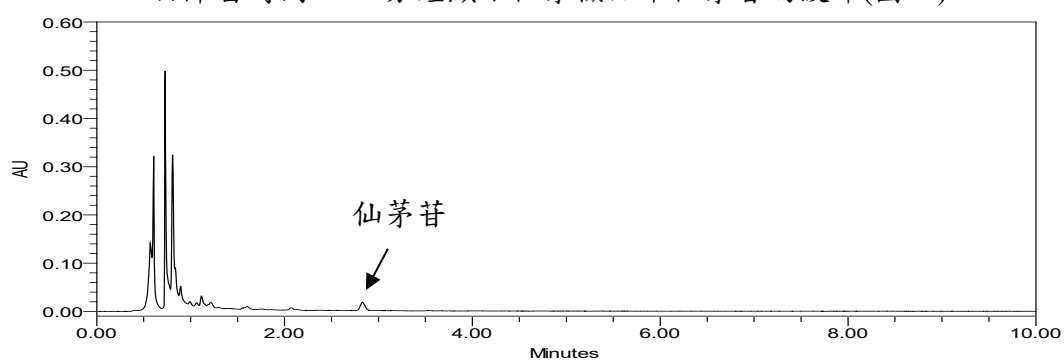
於滯留時間 2.85 分鐘顯示仙茅苷標準品的波峰(圖七)。



圖七、仙茅苷標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十五) 市售仙茅檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 2.83 分鐘顯示仙茅檢品中仙茅苷的波峰(圖八)。

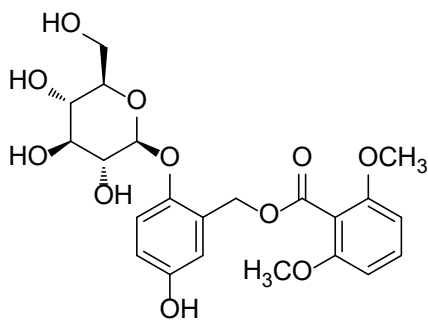


圖八、市售仙茅檢品之 UPLC 層析圖

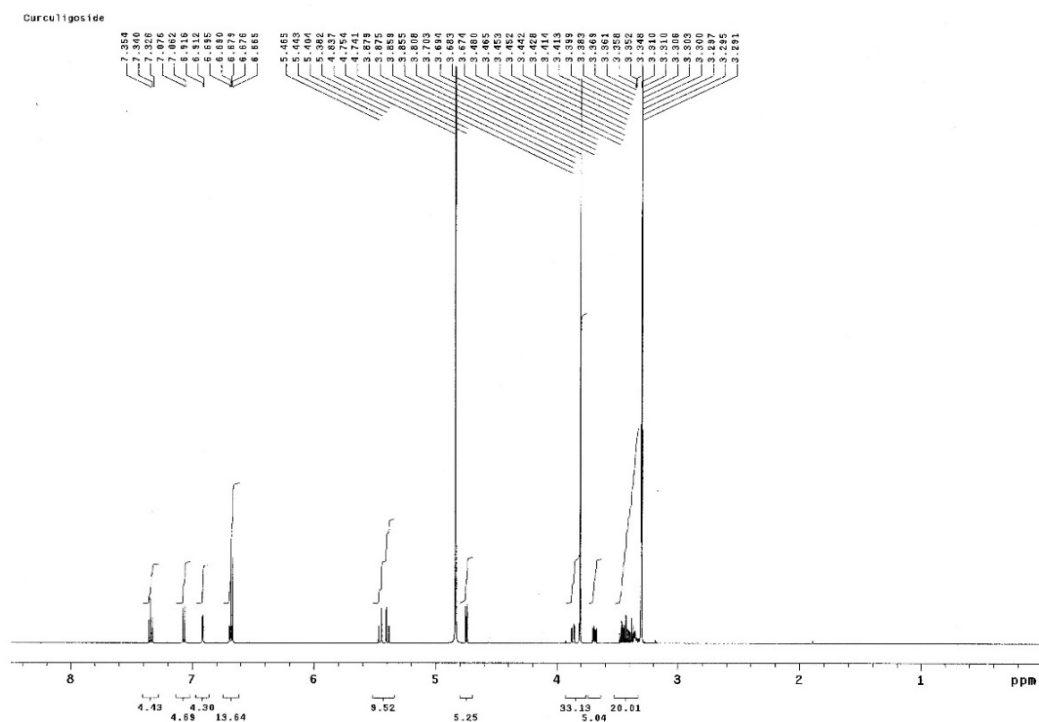
(十六) 仙茅苷的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{22}H_{26}O_{11}$ ；分子量：466.4；熔點：152–153 °C；白色固體。

(十七) 仙茅苷的結構

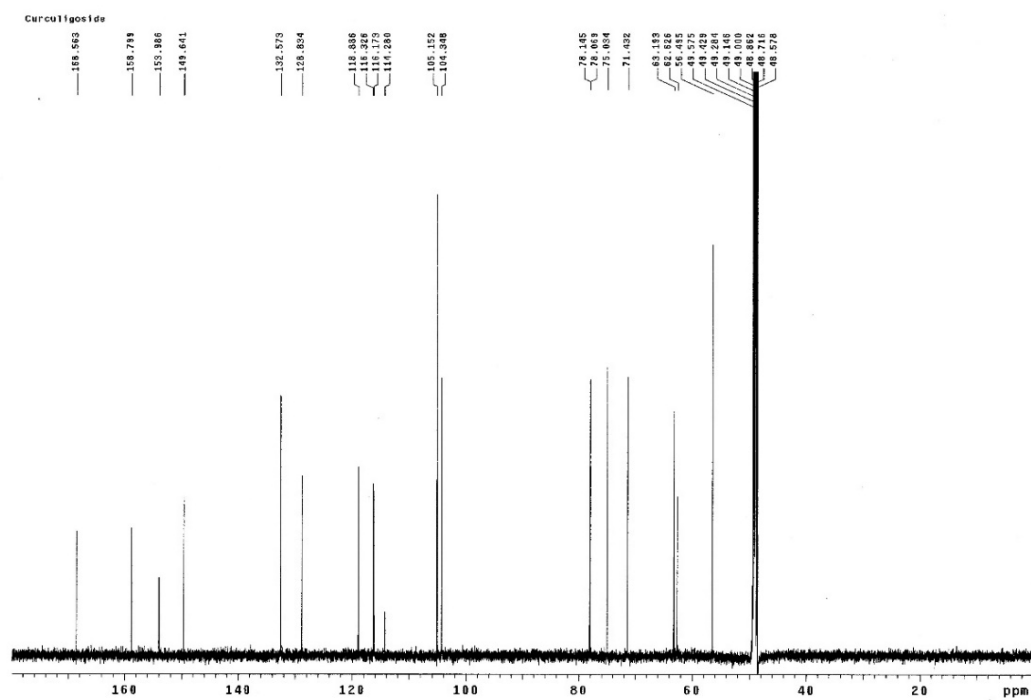


(十八) 仙茅苷的 ^1H NMR 圖譜



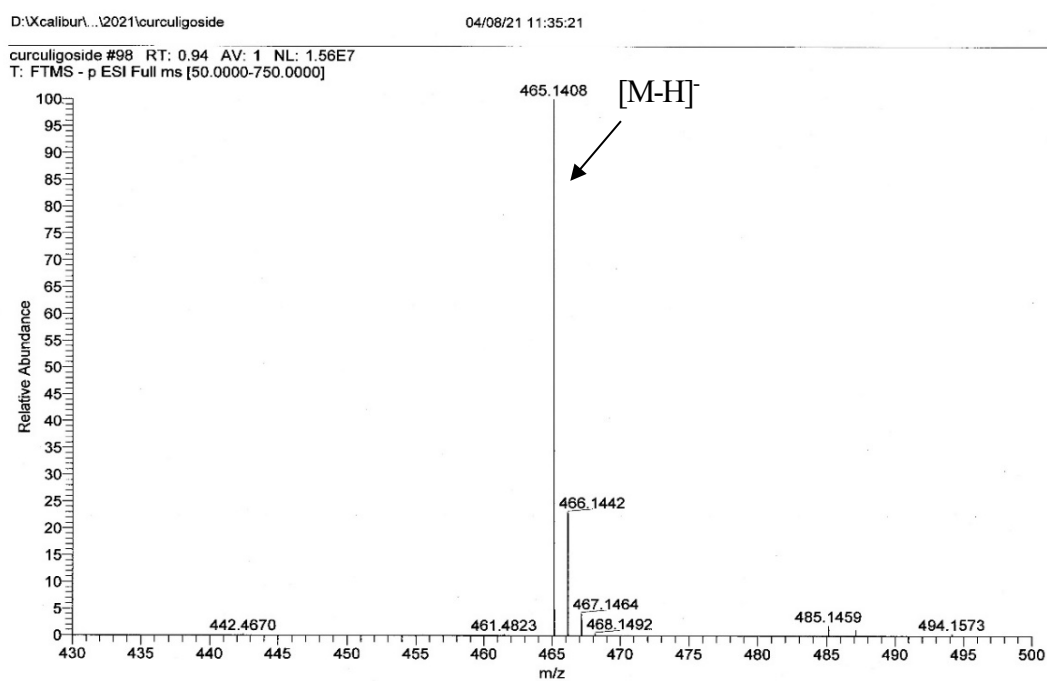
圖九、仙茅苷的 ^1H NMR 圖譜(CD_3OD)

(十九) 仙茅苷的 ^{13}C NMR 圖譜



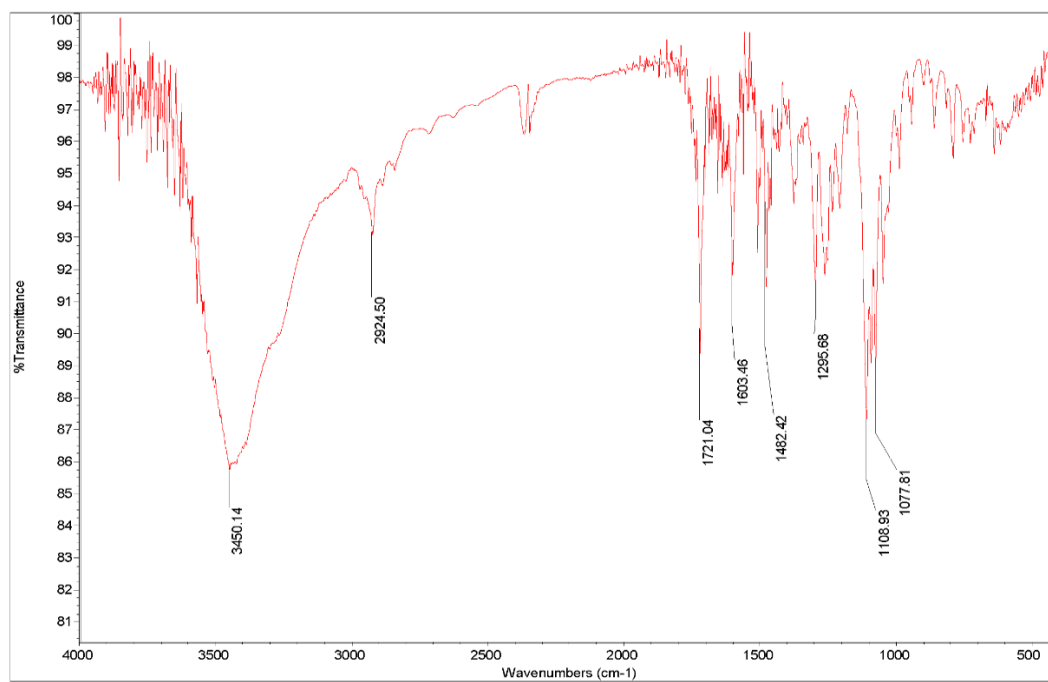
圖十、仙茅苷的 ^{13}C NMR 圖譜(CD_3OD)

(二十) 仙茅苷的 ESI-MS 圖譜



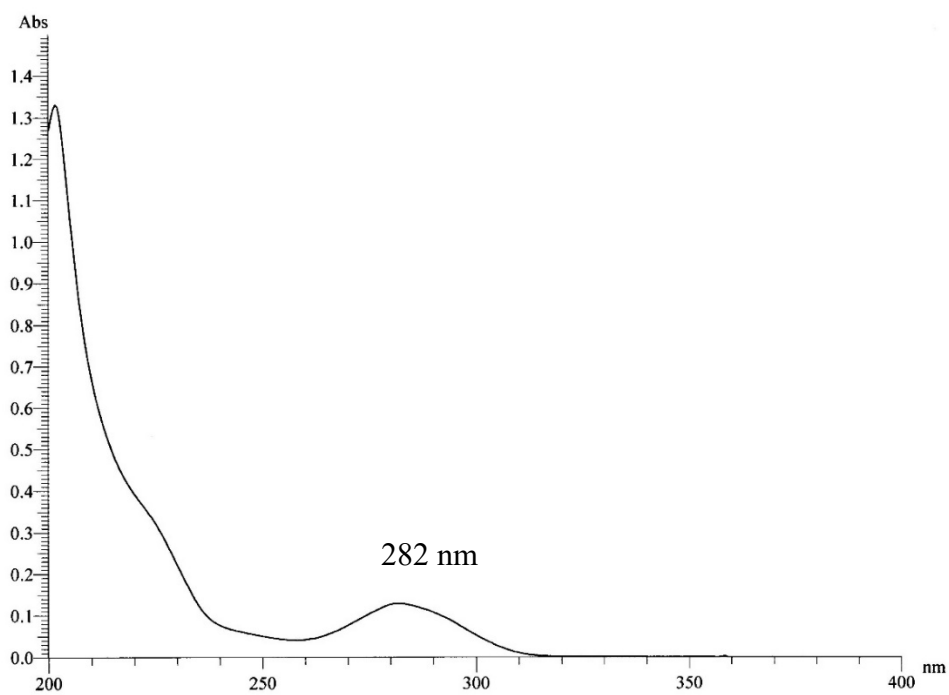
圖十一、仙茅苷的 ESI-MS 圖譜

(二十一) 仙茅苷的 FTIR 圖譜



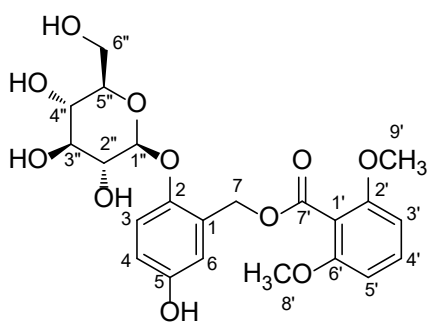
圖十二、仙茅苷的 FTIR 圖譜

(二十二) 仙茅苷的 UV 圖譜



圖十三、仙茅苷的 UV 圖譜

(二十三) 仙茅苷的氫、碳化學位移



表七、仙茅苷的氫、碳化學位移(CD₃OD)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	-	128.83
2	-	149.64
3	7.07 (d, 8.4)	118.89
4	6.69 (dd, 8.4, 2.4)	116.17
5	-	153.99
6	6.91 (d, 2.4)	116.33
7	5.40 (d, 13.2), 5.45 (d, 13.2)	63.19
1'	-	114.28
2'	-	158.80
3'	6.67 (d, 8.4)	105.15
4'	7.34 (t, 8.4)	132.57
5'	6.67 (d, 8.4)	105.15
6'	-	158.80
7'	-	168.56
8'	3.81 (s)	56.50
9'	3.81 (s)	56.50
1''	4.75 (d, 7.8)	104.35
2''	3.47 (br t, 8.4)	75.03
3''	3.43 (br t, 8.4)	78.07
4''	3.38 (br t, 8.4)	71.43
5''	3.35 (ddd, 9.0, 5.4, 2.4)	78.15
6''	3.69 (dd, 12.0, 5.4), 3.87 (dd, 12.0, 2.4)	62.63

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

仙茅飲片(CURCULIGINIS RHIZOMA)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店仙茅飲片共 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、QuatPump G1311A、Sampler G1329B、DAD G1315B；層析管柱 Agilent ZORBAX SB-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

甲醇(99.9%)購自於 Mallinckrodt Baker Inc.；乙腈(99.9%)購自於 Sigma-Aldrich；乙醇(95%)購自於景明化工；磷酸(85%)購自於 Merck；乙酸(99.8%)購自於 J. T. Baker。

(二) 標準品

仙茅苷(Curculigoside)購自普思生物科技股份有限公司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取方法與溶媒評估

仙茅飲片萃取方法與溶媒同仙茅藥材。

(二) 最佳萃取時間與次數評估

仙茅飲片最佳萃取時間與次數同仙茅藥材。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品仙茅苷 1.0 mg，加 2 mL 75% 甲醇製成每 1 mL 含仙茅苷 500 μg 的標準品儲備溶液，並以 75% 甲醇稀釋至 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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，準確加入 75% 甲醇 10 mL，超音波振盪處理(功率 300W，頻率 40 kHz) 1 小時鐘，取上清液，殘渣部分重複提取 1 次，合併上清液，上清液移入 25 mL 容量瓶中，加入 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標準品仙茅苷的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取仙茅苷標準品儲備溶液(500 $\mu\text{g}/\text{mL}$)適量，以 75% 甲醇稀釋製成含仙茅苷分別為 200、100、60、40、20、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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

以仙茅苷濃度為 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以仙茅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：取同一批市售仙茅飲片粉末，依仙茅飲片檢品溶液製備方法平行製備五份仙茅飲片檢品溶液，進樣測定，以仙茅苷的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售仙茅粉末，依仙茅飲片檢品溶液製備方法製備仙茅飲片檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以仙茅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 $\geq 3:1$ 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

取已知仙茅苷含量的仙茅飲片粉末 5 份，每份準確稱取約 0.5 g，分別加入 0.7 mL 的仙茅苷溶液(1.0 mg/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 SB-C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：285 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：室溫
5. 注入量：10 μ L
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	21	79
30	21	79

(十二) 臺灣市售仙茅飲片含量測定

取 10 批市售仙茅飲片依檢品溶液製備方法製備檢品溶液，取各 10 μ L 連續 3 針注入 HPLC，所得平均波峰面積依附錄 I 公式計算樣品仙茅苷的百分含量。

(十三) 仙茅飲片檢品之 UPLC 層析條件

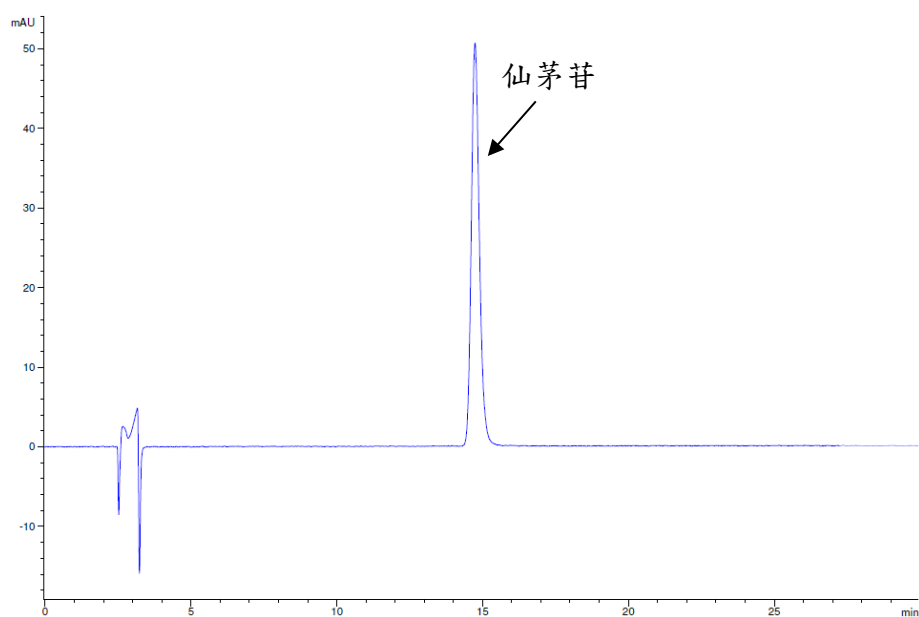
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC BEH C18 Column (100 × 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：285 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：室溫
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	1% 乙酸(v/v, %)
0	21	79
10	21	79

五、結果

(一) 標準品仙茅苷之 HPLC 層析

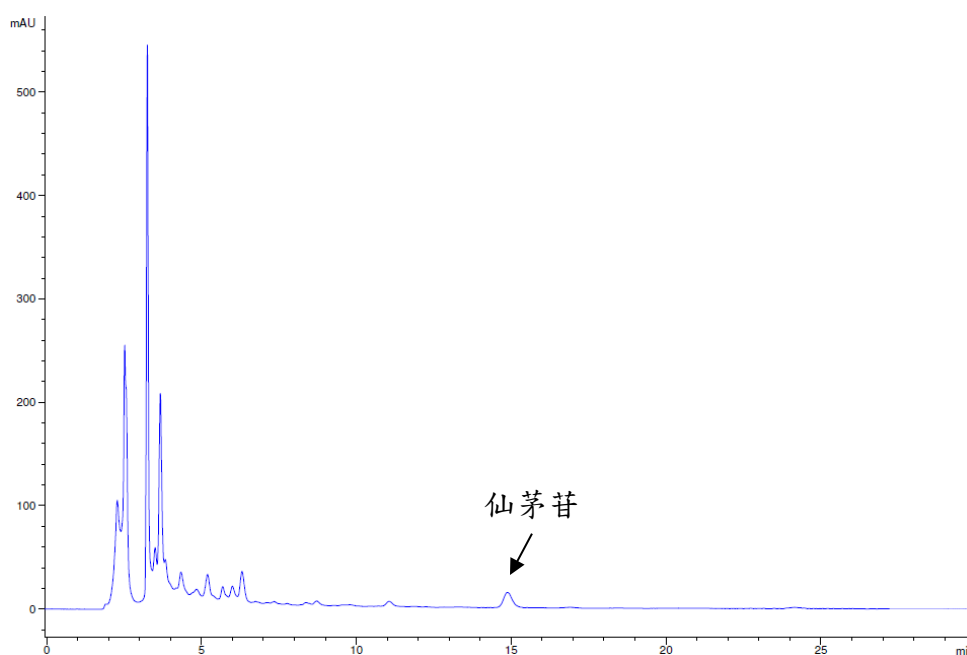
於滯留時間 14.8 分鐘處顯示仙茅苷標準品波峰(圖一)。



圖一、仙茅苷標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售仙茅飲片檢品之 HPLC 層析

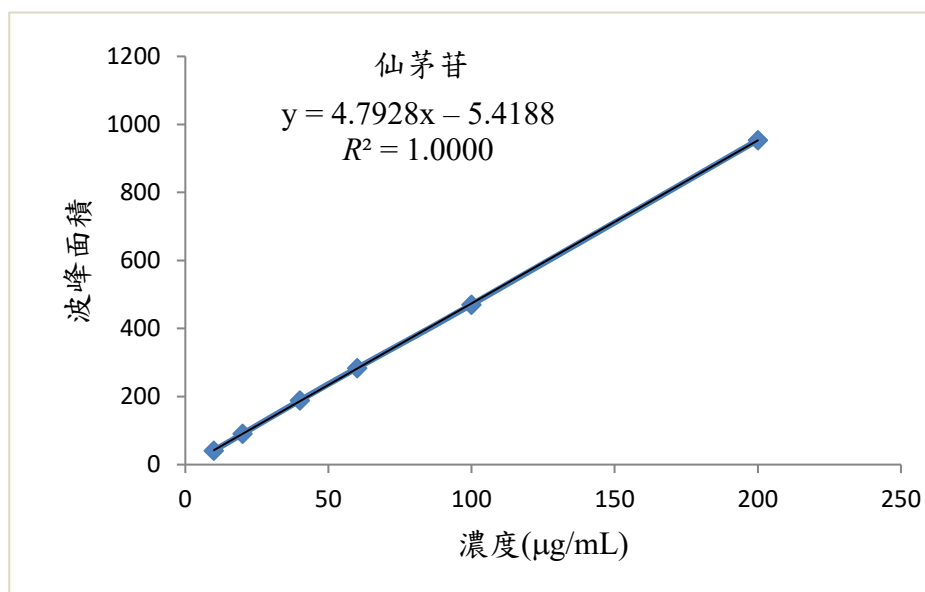
於滯留時間 14.8 分鐘顯示仙茅飲片檢品中仙茅苷的波峰(圖二)。仙茅苷之分離率(R)為 8.81，托尾因子(T)為 1.19，均在系統適用性要求內。



圖二、市售仙茅飲片檢品之 HPLC 層析圖

(三) 標準品仙茅苷檢量線

經不同濃度仙茅苷(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 $y = 4.7928x - 5.4188$ ， $R^2 = 1.0000$ ，顯示濃度在 10–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、標準品仙茅苷之檢量線圖

表一、仙茅苷之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
仙茅苷	10 – 200 $\mu\text{g/mL}$	$y = 4.7928x - 5.4188$	1.0000

(四) 精密度試驗

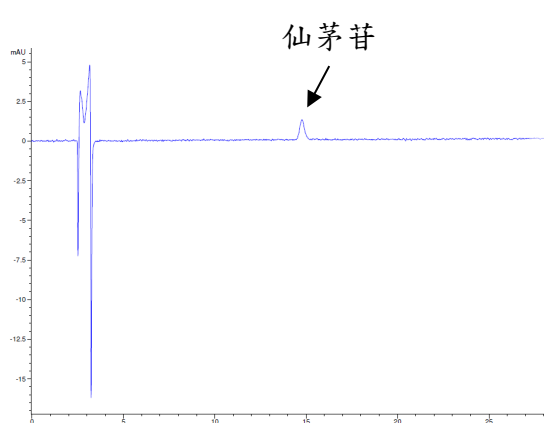
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，仙茅苷精密度之相對標準差為 0.85%，在系統適用性要求內。

(五) 重複性與穩定性試驗

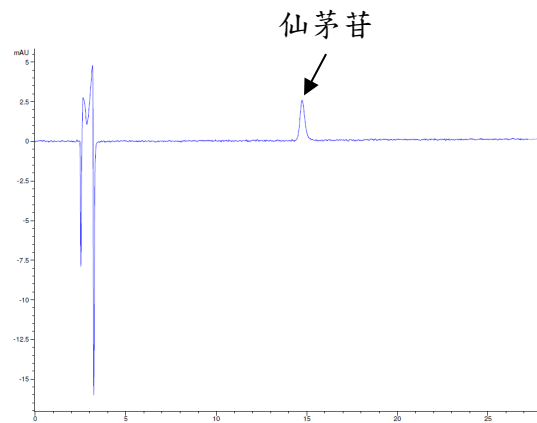
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，仙茅苷重複性之相對標準差為 0.84%，在系統適用性要求內。仙茅苷在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差為 0.31%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(六) 偵測極限與定量極限試驗

仙茅苷偵測極限為 5.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 10 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、仙茅苷之偵測極限層析圖



圖五、仙茅苷之定量極限層析圖

表二、各項檢驗分析

檢測項目	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	60 $\mu\text{g/mL}$	0.85
重複性 (n=5)	檢品溶液(No. 1)	0.84
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No. 1)	0.31
偵測極限 (n=1)	5.0 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=1)	10 $\mu\text{g/mL}$	-

(七) 添加回收率試驗

仙茅苷平均添加回收率為 98.8%，相對標準偏差為 0.71% (表三)。

表三、仙茅苷添加回收率

編號	藥材稱重(g) (No. 1)	含有量 (mg)	加入量 (mg)	測得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	R.S.D. (%)
1	0.50	0.742	0.7	1.428	98.1	98.79	0.71
2	0.50	0.742	0.7	1.432	98.6		
3	0.50	0.742	0.7	1.429	98.2		
4	0.50	0.742	0.7	1.439	99.6		
5	0.50	0.742	0.7	1.438	99.4		

(八) 臺灣市售仙茅飲片含量測定

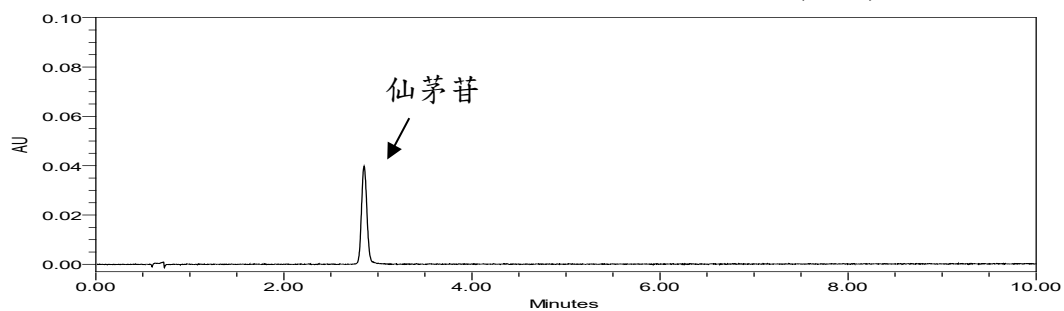
10 批仙茅飲片之含量測定結果(乾燥品)如表四所示，仙茅苷為 0.095–0.296%。建議仙茅飲片指標成分仙茅苷的含量不得少於 0.1%。理論板數按仙茅苷波峰計算均應不低於 5000 (實際值為 13000)。

表四、臺灣市售仙茅飲片之仙茅苷含量

藥材編號(No.)	仙茅苷含量(%)
1 (NJA)	0.164
2 (NR)	0.218
3 (SU1)	0.231
4 (SU2A)	0.246
5 (NJ4B)	0.166
6 (CAC)	0.296
7 (NF4A)	0.145
8 (NNA)	0.232
9 (NF3B)	0.095
10 (CAA)	0.170
平均值±S.D.	0.196 ± 0.059

(九) 標準品仙茅苷之 UPLC 層析

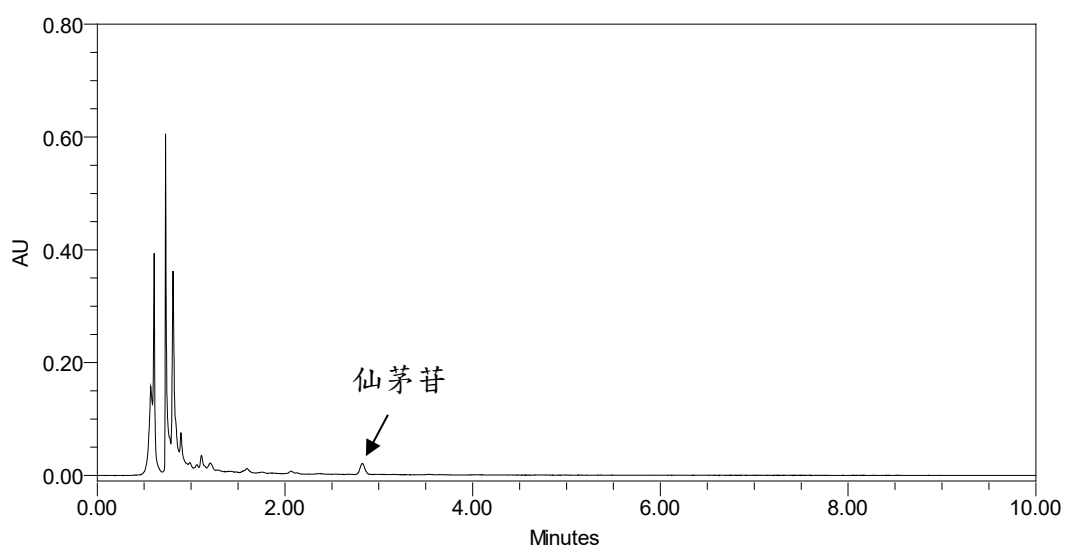
於滯留時間 2.85 分鐘顯示仙茅苷標準品的波峰(圖六)。



圖六、仙茅苷標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十) 市售仙茅飲片檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 2.82 分鐘顯示仙茅飲片檢品中仙茅苷的波峰(圖七)。



圖七、市售仙茅飲片檢品之 UPLC 層析圖

仙茅

生藥名：CURCULIGINIS RHIZOMA

英文名：Common Curculigo Rhizome

基 原：本品為石蒜科 Amaryllidaceae 植物仙茅 *Curculigo orchoides* Gaertn.之乾燥根莖。

一、方法

- (一) 檢品溶液 **【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》✓**
——取本品粉末 2.0 g，加乙醇 20 mL，加熱迴流 30 分鐘，過濾，濾液蒸乾，殘渣加乙酸乙酯 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。
【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》
——取本品粉末 2.0 g，加乙醇 20 mL，加熱迴流 30 分鐘，過濾，濾液蒸乾，殘渣加乙醇 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。
【萃取方法 3】《香港中藥材標準第四冊》
——取本品粉末 0.5 g，加 70% 乙醇 10 mL，超音波振盪 10 分鐘，過濾，作為檢品溶液。
- (二) 對照標準品 取仙茅苷(Curculigoside)對照標準品，加乙酸乙酯製成每 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】《臺灣中藥典第四版 2021》**
——乙酸乙酯：甲醇：甲酸 (10：1：0.1)
【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》
——二氯甲烷：丙酮：甲酸 (5：2：1)
【展開劑 3】《香港中藥材標準第四冊》
——乙酸乙酯：乙醇：甲酸 (8：1：0.1)
【展開劑 4】(自行開發)✓
——甲苯：丙酮：甲酸 (5：5：1)
- (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 以香莢蘭醛-硫酸試液(Vanillin-H₂SO₄ TS)噴霧後，105 °C 加熱至條帶顯色清晰，於可見光照射下檢視之。

二、萃法選擇及濃度測試

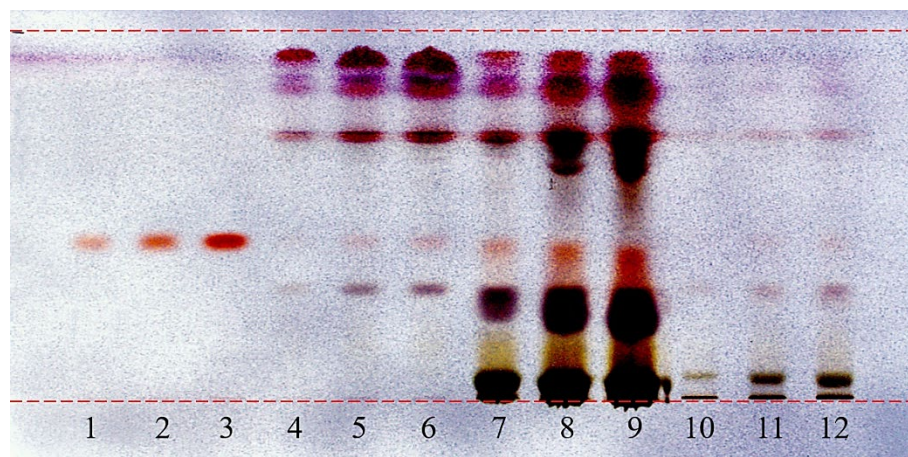
實驗日期：110/04/20

相對溼度(RH)：58%

溫度(RT)：23.3 °C

【展開劑 4】(自行開發)——甲苯：丙酮：甲酸 (5：5：1)

——HPTLC 香莢蘭醛-硫酸試液顯色後可見光檢出



編號	名稱	點注量
1, 2, 3	仙茅苷(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
10, 11, 12	檢品溶液 3【萃取方法 3】	2, 5, 8 μ L

建議萃法：三種萃取法中，皆可分離檢出仙茅苷，因濃度適中，故維持臺灣中藥典【萃取方法 1】。

建議點注量：仙茅苷 5 μ L，檢品溶液【萃取方法 1】8 μ L。

三、溶媒系統選擇

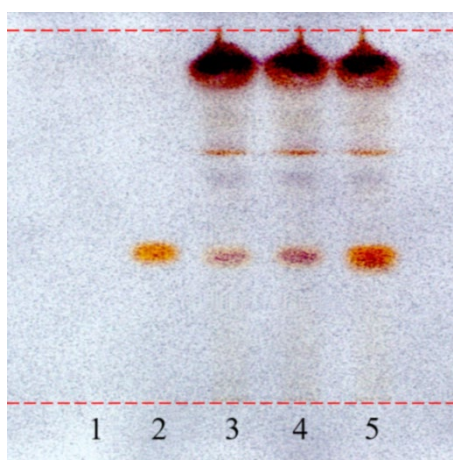
實驗日期：110/04/20

相對溼度(RH)：58%

溫度(RT)：23.3 °C

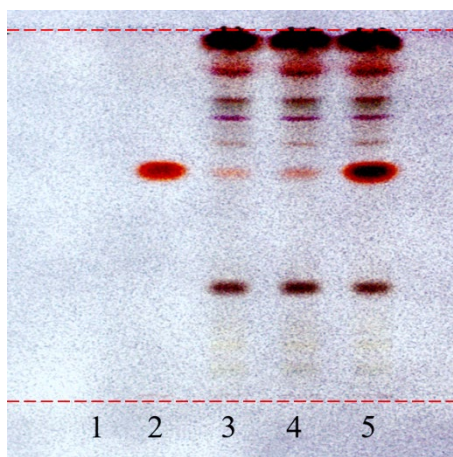
【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——乙酸乙酯：甲醇：甲酸 (10：1：0.1)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——HPTLC 香莢蘭醛—硫酸試液顯色
後可見光檢出(仙茅苷 R_f 值為 0.42)



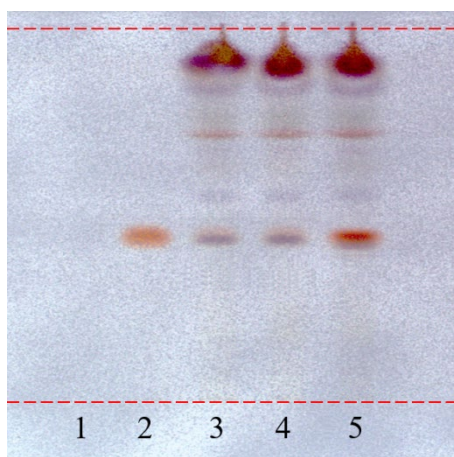
【展開劑 2】修飾《中華人民共和國藥典 2020》——二氯甲烷：丙酮：甲酸 (5：2：1)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——HPTLC 香莢蘭醛—硫酸試液顯色
後可見光檢出(仙茅苷 R_f 值為 0.67)



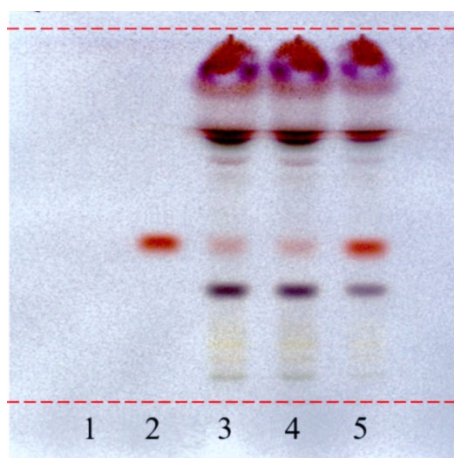
【展開劑 3】《香港中藥材標準第四冊》——乙酸乙酯：乙醇：甲酸 (8：1：0.1)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——HPTLC 香莢蘭醛-硫酸試液顯色後可見光檢出(仙茅苷 R_f 值為 0.47)



【展開劑 4】(自行開發)——甲苯：丙酮：甲酸 (5：5：1) ✓

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——HPTLC 香莢蘭醛-硫酸試液顯色後可見光檢出(仙茅苷 R_f 值為 0.48)



1：Blank

2：仙茅苷

3，4：檢品溶液 3

5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 1】方式，【展開劑 4】可從檢品溶液中分離與檢出仙茅苷，分離效果較佳，且不使用含氯溶媒，故採用【展開劑 4】。

四、觀察方式選擇

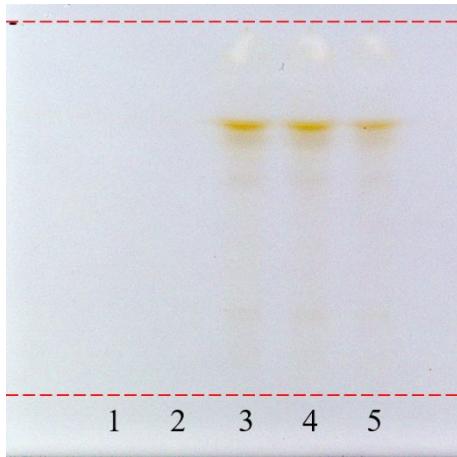
實驗日期：110/04/20

相對溼度(RH)：58%

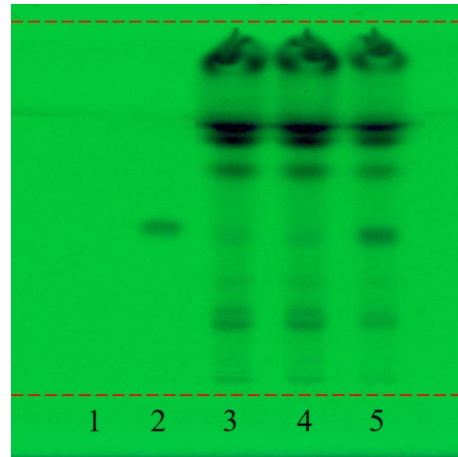
溫度(RT)：23.3 °C

【展開劑 4】(自行開發)——甲苯：丙酮：甲酸 (5：5：1)

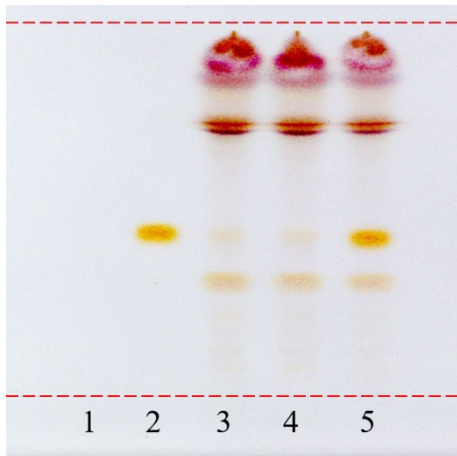
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》—可見光檢出



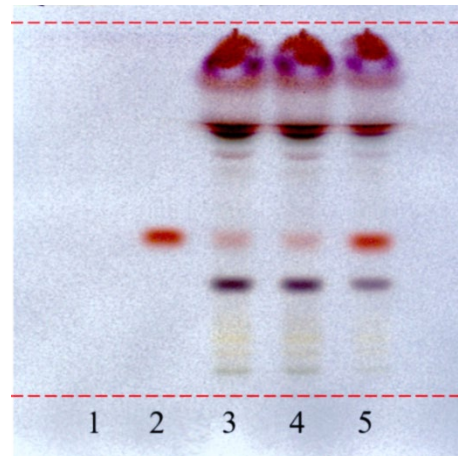
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》—HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》—HPTLC 10% 硫酸/乙醇試液顯色後可見光檢出



【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》—HPTLC 香莢蘭醛-硫酸試液顯色後可見光檢出✓



1：Blank

2：仙茅苷

3，4：檢品溶液 3

5：Spike

建議觀察方式：以香莢蘭醛-硫酸試液顯色後可見光檢出，顯示有較明顯分離之條帶。

五、十批仙茅藥材樣品檢測

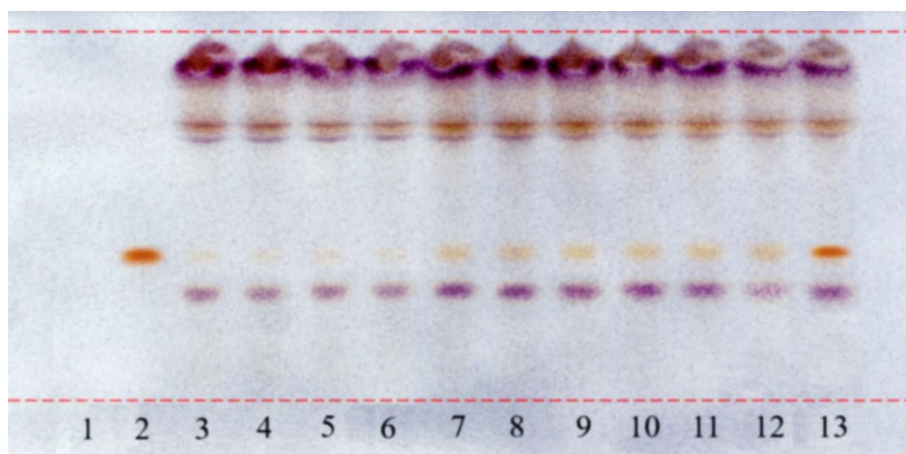
實驗日期：110/04/20

相對溼度(RH)：58%

溫度(RT)：23.3 °C

【展開劑 4】(自行開發)——甲苯：丙酮：甲酸 (5：5：1)

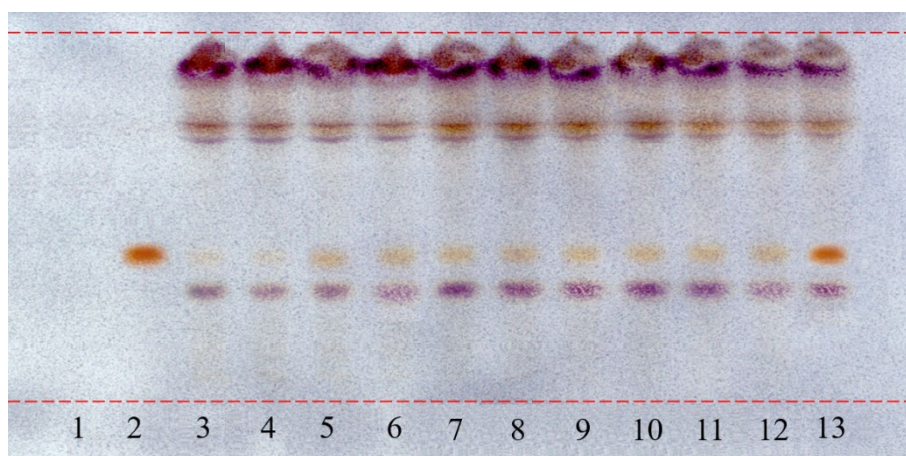
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——HPTLC 香莢蘭醛—硫酸試液顯色後可見光檢出



1	Blank
2	仙茅苷(1.0 mg/mL)
3，4	檢品溶液 1 (NF)
5，6	檢品溶液 2 (NF4B)
7，8	檢品溶液 3 (NJ)
9，10	檢品溶液 4 (NJ4A)
11，12	檢品溶液 5 (NF3A)
13	Spike (檢品溶液 3)

【展開劑 4】(自行開發)——甲苯：丙酮：甲酸 (5：5：1)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——HPTLC 香莢蘭醛-硫酸試液顯色後可見光檢出



1	Blank
2	仙茅苷(1.0 mg/mL)
3，4	檢品溶液 6 (CB)
5，6	檢品溶液 7 (NRB)
7，8	檢品溶液 8 (CBA)
9，10	檢品溶液 9 (CAB)
11，12	檢品溶液 10 (SR)
13	Spike (檢品溶液 3)

結論與建議：以【萃取方法 1】及【展開劑 4】方式，顯示分離與檢出仙茅苷效果較佳，以香莢蘭醛-硫酸試液顯色後，於可見光下檢視較佳。

仙茅(飲片)

六、十批仙茅飲片樣品檢測

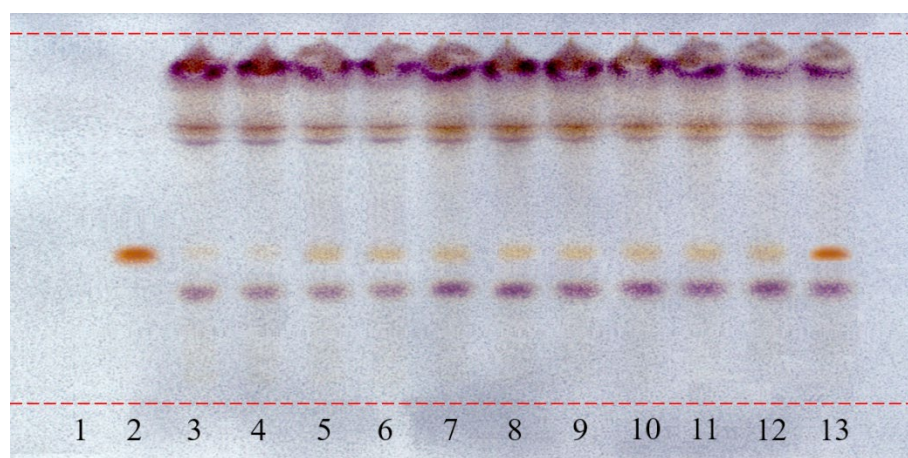
實驗日期：110/04/20

相對溼度(RH)：58%

溫度(RT)：23.3 °C

【展開劑 4】(自行開發)——甲苯：丙酮：甲酸 (5：5：1)

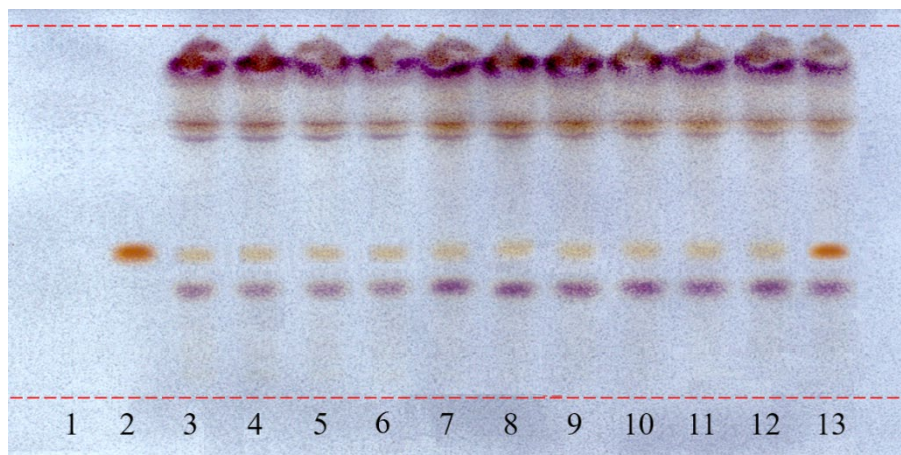
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——HPTLC 香英蘭醛—硫酸試液顯色後可見光檢出



1	Blank
2	仙茅苷(1.0 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 1 (NF3B)
5 , 6	檢品溶液 2 (NF4A)
7 , 8	檢品溶液 3 (NJA)
9 , 10	檢品溶液 4 (NJ4B)
11 , 12	檢品溶液 5 (NR)
13	Spike (檢品溶液 5)

【展開劑 4】(自行開發)——甲苯：丙酮：甲酸 (5：5：1)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——HPTLC 香莢蘭醛-硫酸試液顯色後可見光檢出



1	Blank
2	仙茅苷(1.0 mg/mL)
3，4	檢品溶液 6 (NNA)
5，6	檢品溶液 7 (NR)
7，8	檢品溶液 8 (CAA)
9，10	檢品溶液 9 (SU1)
11，12	檢品溶液 10 (SU2A)
13	Spike (檢品溶液 5)

結論與建議：飲片鑑別同藥材。