

天麻指標成分之製備研究

Preparation of the Marker Components of *Gastrodia elata* Blume

張永勳 何玉鈴 高國清 游振鏗 黃順爵

中國醫藥學院 中國藥學研究所

摘要

近年來政府積極推行中藥 GMP 政策，以提高中藥及中藥製劑水準。然而有些中藥材之指標成分不易購得，造成無法以定量分析該中藥材主成分之含量。因此本計畫以衛生署中醫藥委員會八十八年度推動之專題研究一天麻為對象，在本實驗室過去對天麻成分分離研究之基礎上，進行天麻之指標成分天麻素(gastrodin)及天麻苷元(gastrodigenin)之製備開發研究，建立一迅速有效率之分離方法，所製備出之天麻素及天麻苷元將以其化學特性及各種物理光譜（質譜、紅外線、紫外線及核磁共振光譜）確認並與標準品比對。此二成分之高效液相層析條件亦一併加以探討，以期提供天麻之指標成分供中藥界及各中藥廠，達到全面提昇中藥品質之理想。

天麻為蘭科(Orchidaceae)植物天麻(*Gastrodia elata* Blume)的乾燥塊莖，具有將毒素排出體外，促進男性生育力及增進血液循環和記憶。在抗衰老中藥藥理活性研究中，亦顯示天麻之甲醇粗抽物具藥理活性，本計畫分離出天麻指標成分天麻素及天麻苷元。配伍有天麻的五個常用方劑之中，指標成分含量之測定方面已尋得簡便易行分析之條件，計算指標成分由藥材至中藥處方湯劑中之移行率，並建立適合於此等中藥方劑品質管制，例行檢驗之簡易、實用之定量方法。

關鍵詞：天麻 天麻素 天麻苷元 指標成分

Abstract

In recent years, the Government of R. O. C. reinforces the GMP policies for Chinese Crude drugs preparations to elevate the quality level of these products. However, some of the marker components of the crude drugs were hard to obtain commercially and therefore unable to do the

quantitative analysis of these preparations.

This project aimed at the priority list of the 1999 budget year of the Committee for Chinese Medicine and Pharmacy of the Executive Yuan, R.O.C. Based on our previous experience on the separation and purification of the chemical components of *Gastrodia elata* Blume, we developed a quick and efficient preparation methods for gastrodin and gastrodigenin. The identity of the two components was elucidated based on their chemical and physical data including Mass, UV, IR, NMR spectra and compared with that of the authentic samples.

The HPLC conditions for analyzing the contents of gastrodin and gastrodigenin were developed which will provide an easy assay method for our pharmaceutical companies in quantitative analysis of their products. The marker components gastrodin and gastrodigenin submitted and the HPLC methods provided will be helpful for quality control of the products containing *Gastrodia elata* Blume.

Keywords: *Gastrodia elata*, gastrodin, gastrodigenin, marker components

壹、前言

一、研究背景及重要性

中藥材之品質，因產地、採收季節不同及加工炮製等因素而有所差異，因此需制定一套客觀且確定的方法，以保障中藥方劑在製造過程中品質的穩定性。近年來政府已將中藥濃縮製劑的成分之定性與定量列為中藥 GMP 發展與推動的重點項目，期望全面提升中藥品管之水準。故本研究進行天麻指標成分之分離，並將天麻分離所得之天麻素及天麻苷元進行對台灣市場品天麻與配伍有天麻五個常用方劑（天麻鉤藤飲、半夏白朮天麻湯、小兒驚風藥第一、第三及第四方）中指標成分含量之探討，並尋找其分析條件。俾供今後制定含天麻之標準湯劑中天麻指標成分含量範圍之參考，以為中藥品管之依據。

天麻為蘭科(Orchidaceae)植物天麻(*Gastrodia elata* Blume)的乾燥塊莖，神農本草經曰：「赤箭亦是芝類，其莖如箭杆，色赤，葉生其端⁽¹⁾。」本草綱目曰：「古時天麻的表皮入藥，稱白龍皮，現以不用。…春生苗初生若芍藥，獨抽一莖直上，高三、四尺，如箭杆狀，青赤色，故名赤箭芝⁽²⁾。」在歷代古籍中，天麻之異名繁多，而天麻始載於神農本草經，列為上品，原名赤箭，因其莖色赤，直立似箭杆，故名。李時珍亦云：「赤箭以狀而名，獨搖、定風以性異而名，離母、合離以根異而名，神草、鬼督郵以功而名。」而至宋開寶本草始載天麻之名⁽³⁾。

天麻之功效為治療高血壓、眩暈頭痛、口眼歪斜、肢體麻木、小兒驚厥等症狀，目前日本將天麻用於治療老年痴呆症，療效顯著⁽⁴⁾。而早在神農本草經即記載「味辛、溫。主殺鬼精物，蠱毒惡氣。久服益氣力，長陰肥健，輕身增年。消癰腫，下支滿，寒疝下血。」其中「主殺鬼精物，蠱毒惡氣。」之功效，即可治療神經頭痛及鎮靜之作用。另於明朝之本草綱目曰：「天麻乃肝經氣分之藥，主諸風濕痺，四肢拘攣，小兒風癇驚氣，利腰膝，強筋力，久服益氣，輕身長年。治冷氣攣痺，攤緩不隨，語多恍惚，善驚失志，補五勞七傷，鬼瘴，通血脈，開竅。服食無忌⁽²⁾。」可知天麻可用於風虛眩暈頭痛。

天麻已知之藥理作用有：

1. 對中樞神經系統的作用：(1)鎮靜作用(5-7)、(2)抗驚厥作用(7-8)、(3)鎮痛作用(5, 7, 9, 10)
2. 對心血管系統的作用^(5, 6)：(1)體外培養乳鼠心肌細胞，加入合成天麻素可使其搏動頻率加快，收縮加強，節律規則，並促進心肌細胞能量代謝。(2)降壓作用。(3)耐缺氧作用。
3. 增強免疫功能^(5, 7, 11)
4. 抗發炎作用⁽⁵⁾
5. 抗氧化作用⁽⁸⁾
6. 刺激子宮作用⁽⁸⁾，懷孕時禁用⁽¹²⁾
7. 促進生育力⁽¹²⁾

天麻屬(*Gastrodia*)植物之成分，根據文獻及美國伊利諾大學 Napralet 資料庫在 1998 年 7 月份之前所作的統計，茲分述如下：

1. Benzenoids:

- (1) 3,4-dihydroxy benzadehyde^(9, 13-15)
- (2) 4-hydroxy benzaldehyde^(9, 14, 15)
- (3) 4-O- β -D-glucoside benzyl alcohol⁽¹⁶⁾
- (4) 4- β -D-glucopyranosyloxy benzyl alcohol⁽¹⁷⁾
- (5) 4-hydroxy benzyl alcohol^(9, 15, 16, 18-20)
- (6) 4-hydroxy benzyl methyl ether⁽⁹⁾
- (7) bis-(4-hydroxy benzyl) ether^(9, 14)
- (8) 4,4'-dihydroxy dibenzyl ether⁽¹³⁾
- (9) gastrodigenin⁽⁹⁾ (天麻苷元)
- (10) gastrodin^(9, 14, 27) (天麻素)
- (11) gastrodioside⁽⁹⁾
- (12) 4,4'-dihydroxy diphenyl methane⁽¹³⁾
- (13) parishin^(9, 14, 19)
- (14) 4-ethoxy methyl phenol^(13, 14)

(15) 4-ethoxy methyl phenyl 4'-hydroxy benzyl ether⁽¹³⁾

2. Carbohydrates

(1) glucose⁽²⁰⁾

(2) sucrose^(9, 15, 19, 20)

3. Steroids

(1) β -sitosterol^(9, 15, 19, 20)

(2) daucosterol^(9, 19)

4. Miscellaneous

(1) citric acid^(9, 19, 20)

(2) succinic acid^(9, 15, 20)

(3) palmitic acid^(9, 19)

(4) armillarine⁽²⁸⁾

其中天麻素(gastrodin, 4-(β -D-glucopyranosyloxy) benzyl alcohol)及天麻苷元(gastrodigenin, p-hydroxybenzyl alcohol)為天麻之特有成分，因此，以此二化合物當指標成分，有助於天麻之定量定性分析，以提供中藥界評估天麻及其製劑之品質。

近年來天麻之應用逐漸受到重視，本八十八年度衛生署中醫藥委員會將天麻之指標成分製備列為年度推動之專題研究；因而本計畫進行天麻之指標成分天麻素、天麻苷元之製備開發研究，並將所分離出之天麻素及天麻苷元交予中醫藥委員會。

二、研究目的

根據調查，目前國內中藥製劑品管研究缺乏天麻對照標準品，因而本計畫以本實驗室過去對天麻成分分離之經驗，從事天麻之指標成分天麻素(gastrodin)及天麻苷元(gastrodigenin)之大量製備開發研究，並開發天麻素(gastrodin)及天麻苷元(gastrodigenin)等成分之抽取、分離、製備方法並進行高效液相層析之分析，以期對此藥材進一步加以研究探討。

本計畫所要達成之目標及所要完成之工作項目如下：

1. 開發天麻素及天麻苷元之抽取分離及製備方法。
2. 純化天麻素及天麻苷元。
3. 建立純化出之天麻素及天麻苷元之圖譜。
4. 開發天麻素及天麻苷元在中藥製劑中之高效液相層析分析方法。
5. 將所純化出之天麻素及天麻苷元至少 2 克，及分析方法繳交中醫藥委員會，提供給需要之廠商學者。

本研究以衛生署中醫藥委員會八十八年度推動之專題研究一天麻為對象，進行天麻之指標成分天麻素、天麻 元之製備開發研究，以期提供天麻之指標成分供中藥界及各中藥廠，達到全面提昇中藥品質之理想。

貳、材料方法

一、實驗試劑與儀器

1. 溶媒

- (1) 正己烷、氯仿、乙酸乙酯、甲醇、苯、乙醚等溶媒均購自默克公司。
- (2) 正丁醇、甲醇購自皓峰；乙醇為台灣省菸酒公賣局之 95% 酒精。
- (3) 測核磁共振(NMR)光譜所用之溶媒 CDCl_3 (Deuterium chloroform), MeOD (Deuterium methol), DMSO-d_6 (Dimethylsulfoxide), Acetone-d_6 等均為光譜級 (以上購自 Merck)。
- (4) 高效液相層析系統所用之溶媒甲醇、氘甲烷、冰醋酸均為 LC 級，購自默克公司。

2. 顯色劑

- (1) 硫酸/乙醇 (1:1) 發色液 (H_2SO_4 / EtOH spray reagent):
取已知量之濃硫酸小心加入等量之乙醇中，混合均勻，待冷後使用。
- (2) 茴香蘭醛/硫酸發色液 (*P*-Anisaldehyde / H_2SO_4 spray reagent):
取 *P*-Anisaldehyde 0.5mL 加入冰醋酸 0.1mL 及濃硫酸 0.5mL，加乙醇 9mL，用前配製
- (3) 香夾蘭醛/硫酸發色液 (Vanillin / H_2SO_4 spray reagent):
取 Vanillin 0.5g 加入濃硫酸及乙醇以 4:1 混合之混合液 100mL 中。

3. 薄層層析 (Thin Layer Chromatography)

TLC plate: Kieselgel 60 F254 silica gel pre-coated aluminium plate, 厚度 0.2mm (Merck)。

4. 管柱色層層析 (Column Chromatography)

以 Pyrex 或 Merck 公司生產之不同型號管柱。

填充物質: Kieselgel 60 70~230 mesh (Merk), Kieselgel 60 230~400 mesh (Merk)

5. 迴轉式濃縮機: Rotavapor R-114 (Büchi)

6. 試藥

Potassium bromide (Merck)、試藥級硫酸、硝酸 (島久藥品株式會社)。

7. 烘箱: Channel Drying oven OV602

8. 電子乾燥箱: 用於保存 TLC 片、NMR 溶媒及紅外線光譜用之 KBr

9. 電子天平: Mettler AJ100 及 Mettler Toledo PB 602。

10. 電熱板: Coroning Model PC-320。

11. 超音波震盪器:

- (1) Bandelin Sonorex Super PK1028BH

(2) Aquasonic™ Model 150D

12. 紫外線燈

CAMAG Universal UV lamp, 波長 254nm 及 366 nm。

13. 微量熔點測定器

Electrothermal's Series IA 9100 and IA9200 Digital Melting Point, 測定範圍 50.00-500.0°C 之間, 其溫度未經校正。

14. 紫外線光譜儀

採用 Shimadzu UV-160A UV-visible Recording Spectrophotometer 測定, 使用氯仿為溶劑, 最大波長($\lambda_{\max}$) 單位為 nm, 而以 $\log \epsilon$ 表示 Molar absorptivity (中國醫藥學院)。

15. 紅外線分光光譜儀 (Infrared Spectrophotometer)

使用 Nicolet Impact 400 FT-IR Spectrophotometer 測定, 固體以乾的 KBr 粉末混合均勻, 在真空下加壓成透明薄片測定之, 光譜單位為波數(cm^{-1}) (中國醫藥學院)。

16. 質譜儀 (MS)

(1) VG Platform II Mass Spectrometer, 離子化電壓為 70 eV (中國醫藥學院)。

(2) JOEL JMS-SX/SX 102A Tandem Mass Spectrometer (中興大學)。

17. 核磁共振光譜儀

(1) Varian VXR-300 FT-NMR (中興大學)。

Bruker DPX-200 FT-NMR (中國醫藥學院)。

(2) Bruker AMX-400 FT-NMR (成功大學)。

Internal standard 為 Tetramethyl Silane (TMS), 化學位移 (Chemical shift) 以 δ 表示, 單位 ppm, 以 J 表示偶合常數 (coupling constant), 單位 Hz; 峰線訊號以 "s" 表示單峰 (singlet), "d" 表示雙重峰 (doublet), "t" 表示三重峰 (triplet), "q" 表示四重峰, "m" 表示多重峰 (multiplet)。

18. 高效液相層析儀 (High Performance Liquid Chromatography)

(1) HPLC pump: Shimadzu LC-6A Liquid Chromatograph (Two pump)

(2) Degasser: Shimadzu DGU-4A

(3) 偵測器: Shimadzu SPD-6AV UV-VIS spectrophotometric Detector

(4) 積分器: Shimadzu C-R3A chromatopac

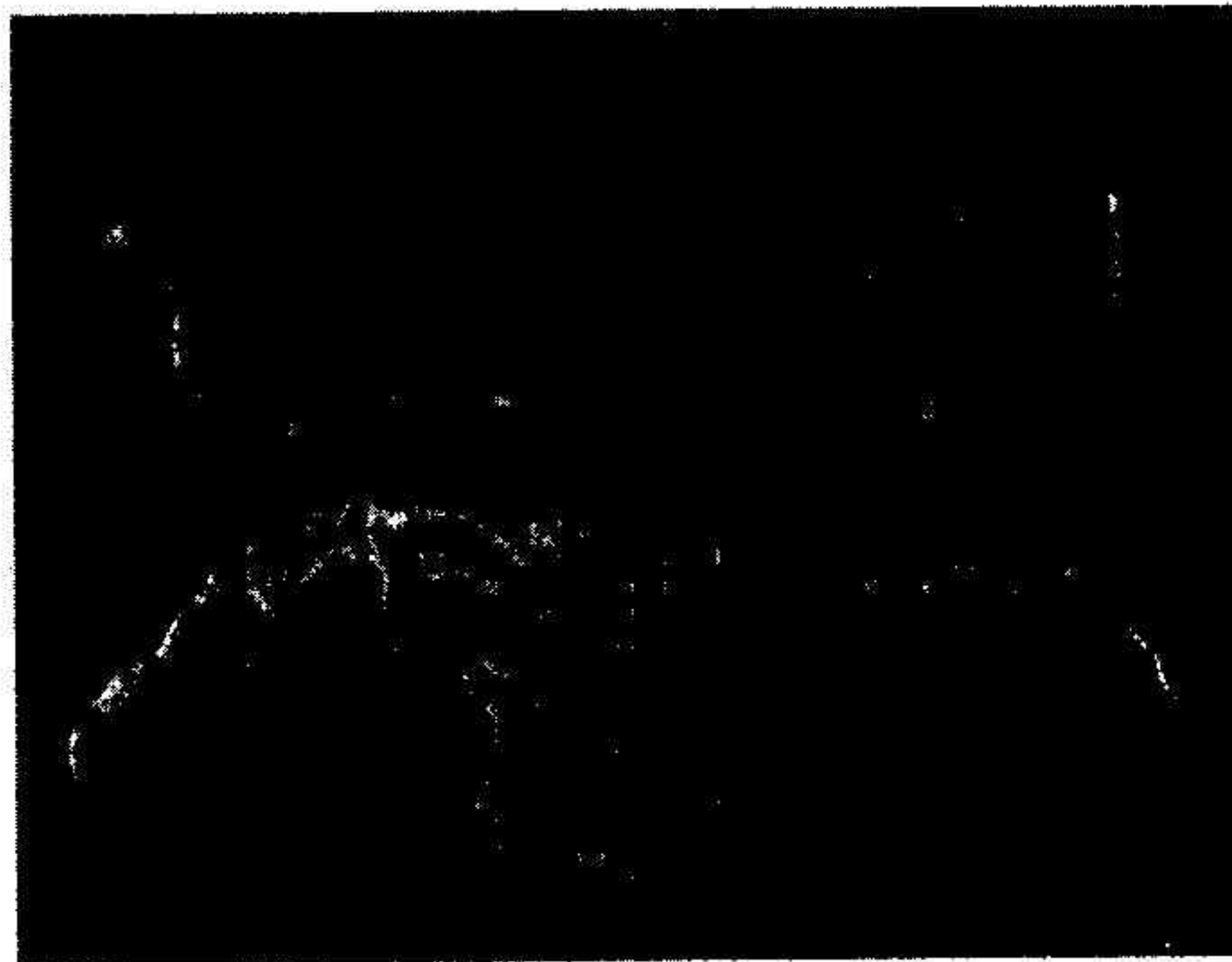
(5) 系統控制器: Shimadzu SCL-6A System Controller

(6) 層析管柱 (column): Waters Nova-Pak C₁₈ 60A 4 μ m 3.9 $\times$ 150mm

(7) Syringe filter: 25 mm filter unit 0.45 μ m Nylon NON-ST

二、實驗藥材

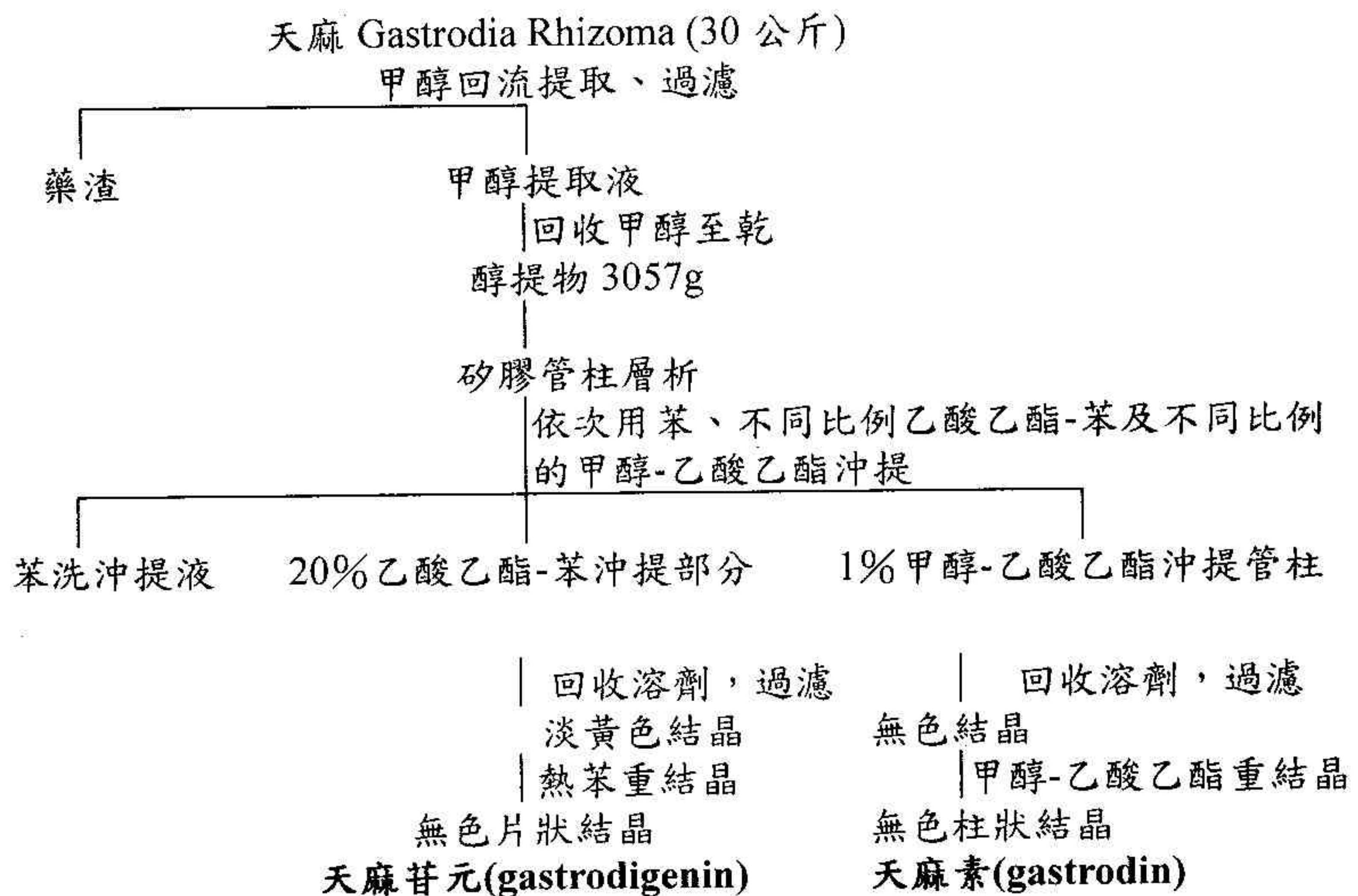
民國八十七年八月於台中欣隆藥行購得, 經本所陳忠川副教授鑑定為蘭科植物天麻 (*Gastrodia elata* Blume) 乾燥塊莖之切片, 總重三十公斤。



圖一 天麻藥材圖

三、提取與分離

將天麻飲片三十公斤，以甲醇於室溫下浸漬二週，傾出浸出液，同法萃取三次，萃取液過濾後，濾液減壓濃縮得粗萃取物 3057 g，抽出率為 10.19 %。抽提之流程如圖二所示。經不同溶媒梯度沖提得到化合物天麻苷元(gastrodigenin)及化合物天麻素(gastrodin)。



圖二 天麻(*Gastrodia elata* Blume)塊莖之抽提流程圖

四、天麻市場品成分之定量

1. 實驗藥材之來源

於民國八十七年八月至十月間，向全省北中南十五家貿易行，購得藥材天麻各一公斤。

2. 檢品前處理

檢品（十五家藥材天麻市場品）

- ↓ 各取乾燥之藥材天麻 10 g
- ↓ 磨碎置於 50 ml 三角錐瓶內
- ↓ 加入甲醇 35 ml
- ↓ 置超音波振盪器內，振盪抽取一小時
- ↓ 吸出浸液，置於 100 -ml 之容量瓶內
- ↓ 重覆抽取三次
- ↓ 加甲醇精確定容
- ↓ 充分混合均勻
- ↓ 以 0.45 μ m 濾膜過濾，濾液作為 HPLC 檢液

3. 對照標準品溶液之製備

(1) 天麻素(gastrodin)及天麻苷元(gastrodigenin)之標準溶液：

精秤 5mg 天麻苷元及 10mg 天麻素之對照標準品，置於 10ml 之容量瓶內，以甲醇定容至 10ml 使完全溶解，為濃度 5mg/10ml 及 10mg/10ml 之標準溶液。

4. 檢量線之製作

- ↓ 由上述天麻苷元及天麻素標準溶液 5mg/10ml 及 10mg/10ml 取 5ml 以甲醇稀釋至 10ml，濃度為 0.25mg/ml 及 0.5mg/ml。
- ↓ 取上述稀釋後之標準溶液 2.5ml，以甲醇稀釋至 10ml，濃度為 0.0625mg/ml 及 0.125mg/ml。
- ↓ 再取上述稀釋後之標準溶液 2.5ml，以甲醇稀釋至 10ml，濃度為 0.01526mg/ml 及 0.03125mg/ml。
- ↓ 分別以 0.45 μ m 濾膜過濾
- ↓ 取濃度 0.5mg/ml 及 1mg/ml、0.0625mg/ml 及 0.125mg/ml、0.01562mg/ml 及 0.03125mg 各 10 μ l 注入 HPLC 分析，以濃度為 X 軸，以吸收峰面積為 Y 軸，求出檢量線線性迴歸方程式及相關係數。

5. 高效液相層析法(HPLC)之分析條件

指標成分	天麻苷元	天麻素
層析管	Waters Nova-Pak C ₁₈	
移動相	CH ₃ CN : 1%CH ₃ COOH 2.5 : 97.5	
移動相流速	0.8 ml/min	
檢出波長	270 nm	

6. 含天麻五個常用中藥方劑成分之定量

中藥方劑之組成

依據雜病証治新義、醫學心悟及衛生署規定小兒驚風藥第一、三、四方所記載之方劑組成，各方劑一日量組成如下：(右下角數字為劑量，單位為公克)

(1)天麻鉤藤飲⁽²⁹⁾

天麻 10 山梔 10 黃芩 10 杜仲 10 益母草 10 桑寄生 10 夜交藤 10 朱茯神 10 鉤藤 12 川牛膝 12 石決明 18

(2)半夏白朮天麻湯⁽²⁹⁾

製半夏 10 陳皮 10 天麻 10 茯苓 15 白朮 12 甘草 3 生薑 3 大棗 2

(3)小兒驚風藥第一方⁽³⁰⁾

膽南星 10 天竺黃 7.5 川貝母 6 製半夏 2.5 天麻 2.5 防風 1.5 製白附子 1.5 羌活 1.5 蟬蛻 1.5 牛黃 0.5 梅冰片 0.5 麝香 0.1

(4)小兒驚風藥第三方⁽³⁰⁾

山藥 80 甘草 15 琥珀 7.5 天竺黃 7.5 檀香 7.5 人參 7.5 白茯苓 7.5 天麻 7.5 枳實 5 枳殼 5 膽南星 5

(5)小兒驚風藥第四方⁽³⁰⁾

天竺黃 7.5 人參 7.5 茯神 7.5 膽南星 7.5 酸棗仁 1.5 麥門冬 1.5 當歸 1.5 生地黃 1.5 赤芍藥 1.5 薄荷葉 1 木通 1 天麻 1 黃連 1 山梔子 1 龍骨 1 牛黃 0.5 青黛 0.5

7. 中藥方劑檢品之萃取方法⁽³¹⁾：

依照比例取得天麻鉤藤飲等各處方同批次三個檢品，放入適當之萃取容器，將中藥方劑一日量藥材加入二十倍重量蒸餾水，加熱沸騰三十分鐘以上，直到煎煮液為原加入水之半量或更少，萃取液用布氏漏斗過濾，為中藥方劑檢品萃取液。

8. 中藥方劑檢品溶液之配製方法：

取上述天麻鉤藤飲等各方劑之三種萃取液，依照其定量之指標成

分含量的不同，以移動相稀釋並定容至適當濃度，以 0.45 μ m 過濾膜過濾，為中藥方劑 HPLC 之檢品溶液。

9. 對照藥材天麻溶液之萃取與配製方法

↓取對照藥材天麻 1gm

↓先以熱水 100ml 加熱沸騰 30 分鐘，趁熱過濾，濃縮定容為 25ml，連續萃取三次。

↓對照藥材再以 50% 甲醇加熱抽提 30 分鐘，並趁熱過濾、濃縮定容至 25mL，連續萃取三次。

↓合併熱水、50% 甲醇萃取液，並濃縮定容至 25mL。

↓取濃縮液 1mL 以 50% 甲醇稀釋至 10mL 後，以 0.45 μ m 過濾膜過濾後，並取 10 μ L 注入 HPLC，求出同中藥方劑用量之對照藥材指標成分含量，作為 100%。

10. 各指標成分一日含量與移行率換算法

天麻鉤藤飲等五個方劑依古法水煎煮，由分析的層析峰積分值與對照標準檢量線比對，求出一日量中藥方劑中指標成分之含量。對照藥材則根據其理化性質，萃取時以檢測指標成分至接近萃取完全，再加以定量，其定量積分值與對照標準品檢量線比對，求出一日量對照標藥材之指標成分含量。含量換算方法如下公式：

$$\begin{aligned} & \text{檢品一日量 (A gm) 中之指標成分含量 (mg)} \\ & = C_s \times A_u / A_s \times 1 / V_u \end{aligned}$$

C_s ：對照標準品的濃度 (mg/ml)

A_u ：檢品標的峰的積分面積

A_s ：對照標準品的層析峰積分面積

V_u ：檢品萃取液之總容積 (ml)

將中藥方劑中指標成分一日含量與對照藥材中指標成分一日含量相互比對，以對照藥材中指標成分一日量當作 100%，求出各中藥方劑在水煎煮後所得指標成分的百分率，表示方法如下公式：

$$\begin{aligned} \text{移行率 (\%)} &= \text{方劑指標成分一日量 (mg)} / \text{對照藥材指標成分一日} \\ & \quad \text{量 (mg)} \times 100\% \end{aligned}$$

11. 高效液相層析法(HPLC)之分析條件

(1) 半夏白朮天麻湯

指標成分	天麻苷元	天麻素
層析管	Waters Nova-Pak C ₁₈	
移動相	CH ₃ CN : 1%CH ₃ COOH 2.5 : 97.5	
移動相流速	0.8 ml/min	
檢出波長	270 nm	

(2) 天麻鉤藤飲

指標成分	天麻苷元	天麻素
層析管	Waters Nova-Pak C ₁₈	
移動相	CH ₃ CN : 1%CH ₃ COOH 0-16 min 由 (2.5: 97.5) 調至 (20: 80)	
移動相流速	0.8 ml/min	
檢出波長	270 nm	

(3) 小兒驚風藥第一方、第三方及第四方

指標成分	天麻苷元	天麻素
層析管	Waters Nova-Pak C ₁₈	
移動相	CH ₃ CN : 1%CH ₃ COOH 0-8 min 由 (2.5: 97.5) 調至 (20: 80)	
移動相流速	0.8 ml/min	
檢出波長	270 nm	

參、結果

由天麻中所分離出之二指標成分一天麻素(gastrodin)及天麻元(gastrodigenin)之化學成分物化性質及圖譜及市場品天麻指標成分之定量結果如下：

1. 市場品天麻指標成分之定量

(1) 檢量線

以天麻素(gastrodin)及天麻苷元(gastrodigenin)為對照標準品，波峰面積為 X 軸，標準品濃為 Y 軸，作圖求出檢量線(如 Table 1, 2)。線性迴歸方程式及相關係數(r)分別為：

$$\text{天麻素} \quad Y = -4630.7 + 1839367.3 X \quad (r = 0.9999)$$

$$\text{天麻苷元} \quad Y = -6405.2 + 7722304.5 X \quad (r = 0.9999)$$

顯示天麻素在濃度 0.03125 mg/ml 至 1.0 mg/ml 範圍，天麻苷元在濃度 0.01526 mg/ml 至 0.5 mg/ml 範圍內均呈良好之線性關係。

(2) 市產品天麻指標成分之比較

檢量線求得各家市產品天麻每克所含之天麻素及天麻苷元差別甚大，天麻素含量介於 1.25 mg/Gm 至 7.2 mg/Gm，而天麻苷元含量介於 0.26 mg/Gm 至 0.90 mg/Gm (如 Table 3, 4)，層析圖如圖三。

2. 中藥方劑指標成分定量

(1) 檢量線

以天麻素及天麻苷元為對照標準品，波峰面積為 X 軸，標準品濃度為 Y 軸，依不同移動相溶媒系統，作圖求出檢量線 (如 Table 5, 6)。線性迴歸程式及相關係數 (r) 分別為：

$$\text{天麻素} \quad (a) \quad Y = -4070.2 + 1835408.2 X \quad (r = 0.9999)$$

$$(b) \quad Y = 1751 + 2311928.4 X \quad (r = 0.9999)$$

$$(c) \quad Y = 3386.3 + 1760281.9 X \quad (r = 0.9999)$$

$$\text{天麻苷元} \quad (a) \quad Y = -405.4 + 7588076.5 X \quad (r = 0.9999)$$

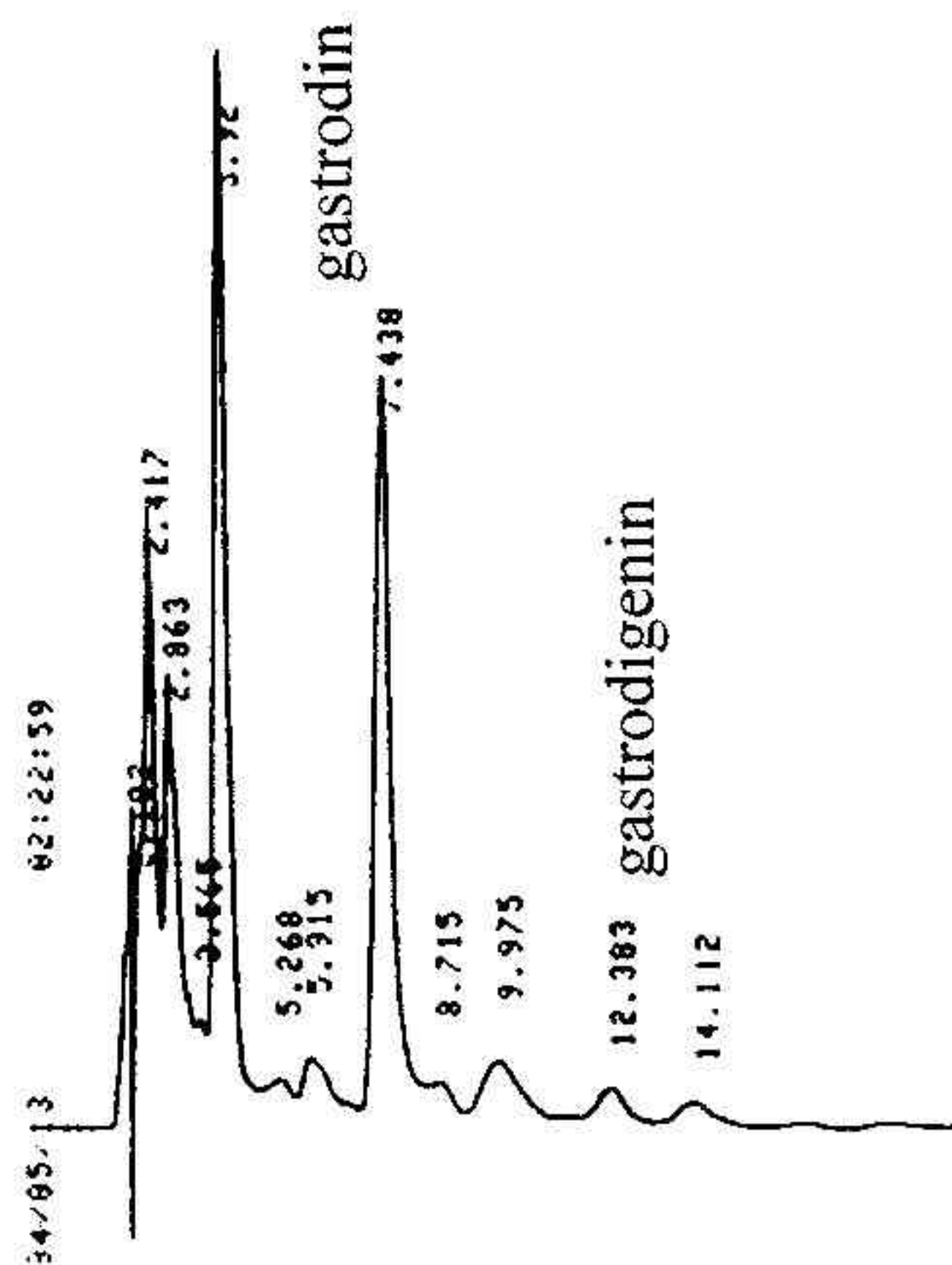
$$(b) \quad Y = 521.78 + 7888877.4 X \quad (r = 0.9999)$$

$$(c) \quad Y = 6562.7 + 7133660.4 X \quad (r = 0.9999)$$

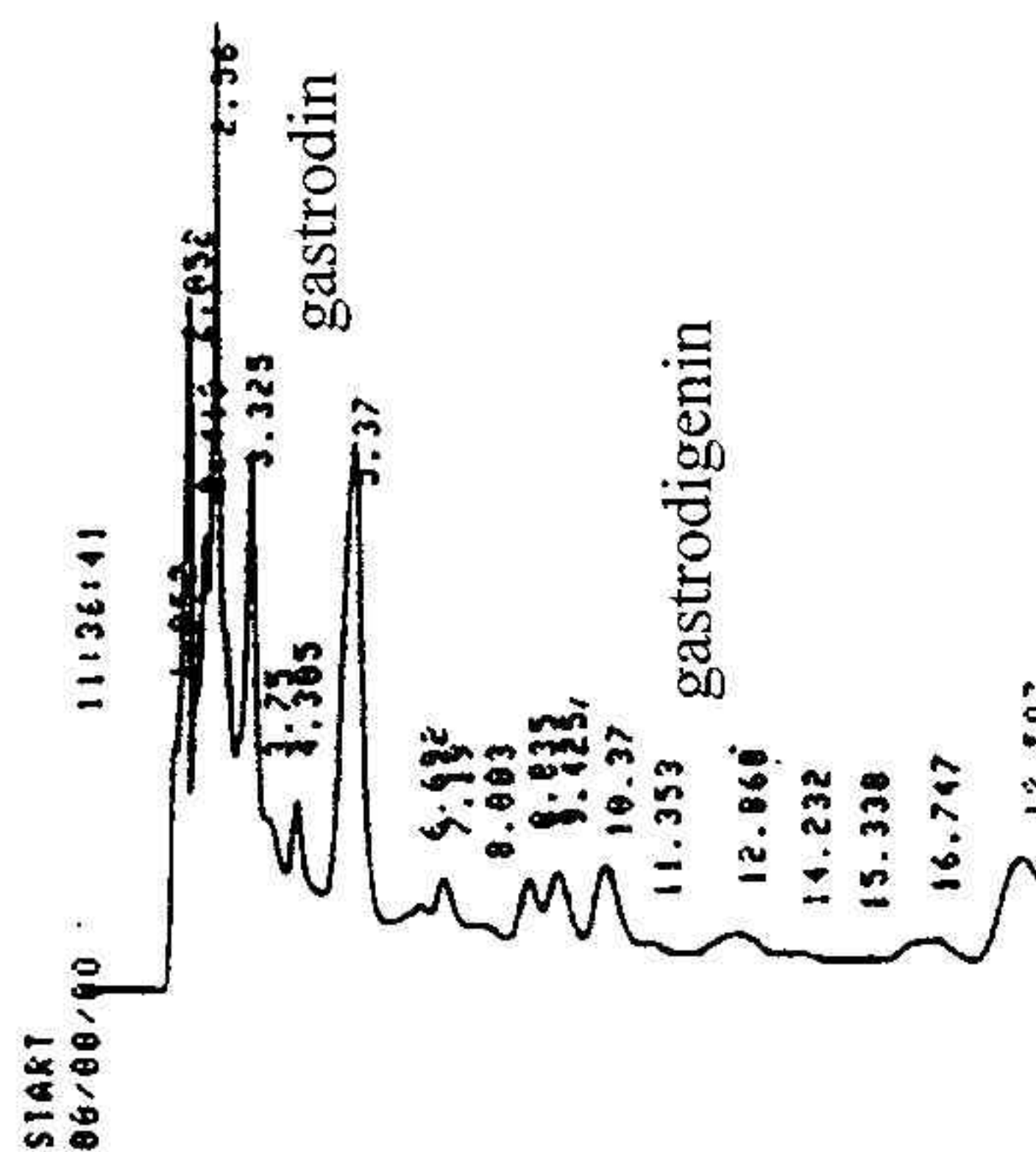
顯天麻素及天麻苷元在三種移動相溶媒系統中，為天麻素濃度在 0.03125 mg/ml 至 0.5 mg/ml 範圍內，天麻苷元濃度在 0.0039 mg/ml 至 0.0645 mg/ml 範圍內，均呈良好之線性關係 (如 Table 5)。

(2) 標準湯劑指標成分之分析及移行率

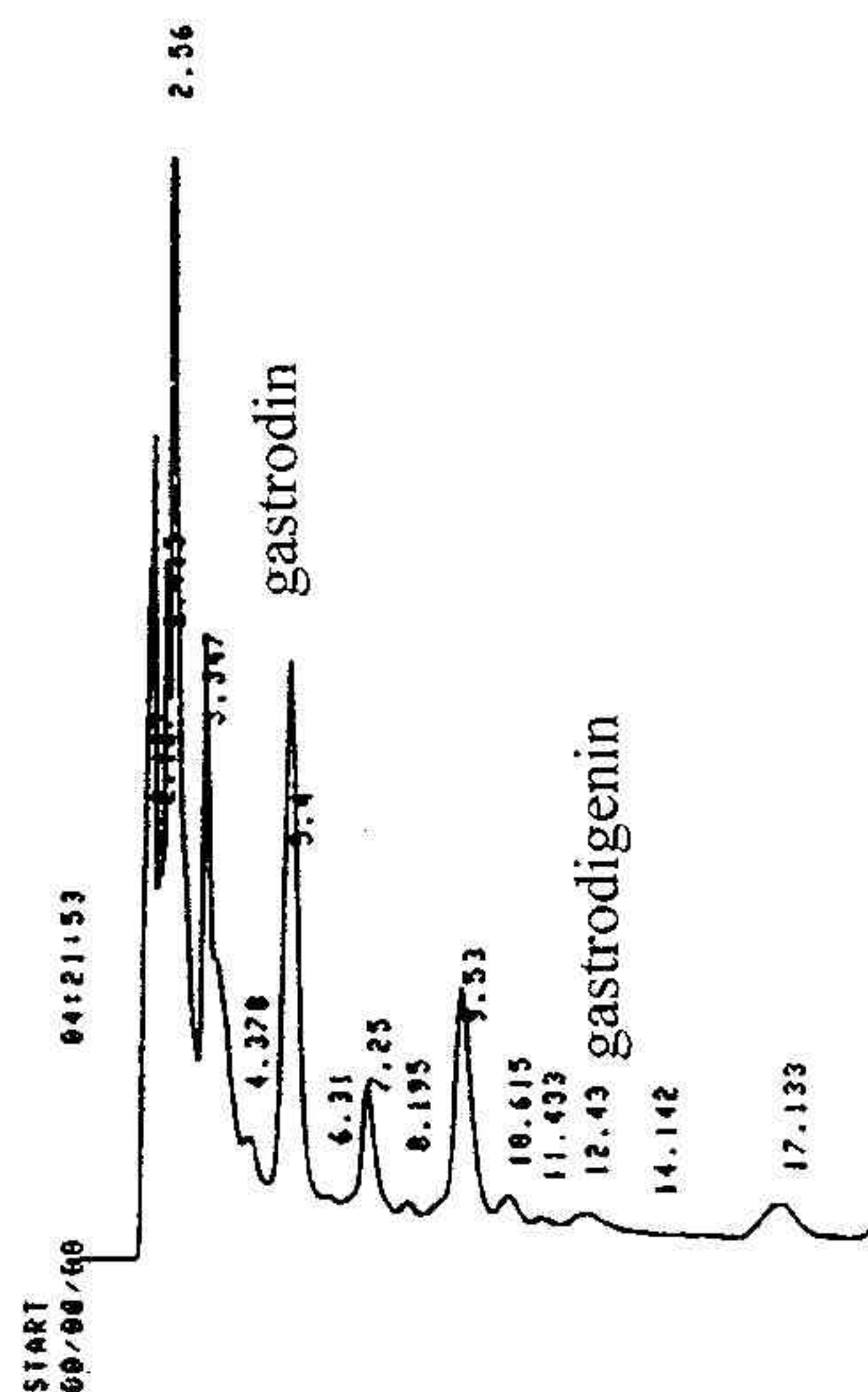
由三種不同移動相溶媒，所得之減量線，求得各標準湯劑中天麻素及天麻苷元之每日含量，並和對照藥材完全抽出天麻素、天麻苷元之每日含量相比對，而得到各標準湯劑中指標成分之移行率。(如 Table 6~9)，層析圖如圖四~六。



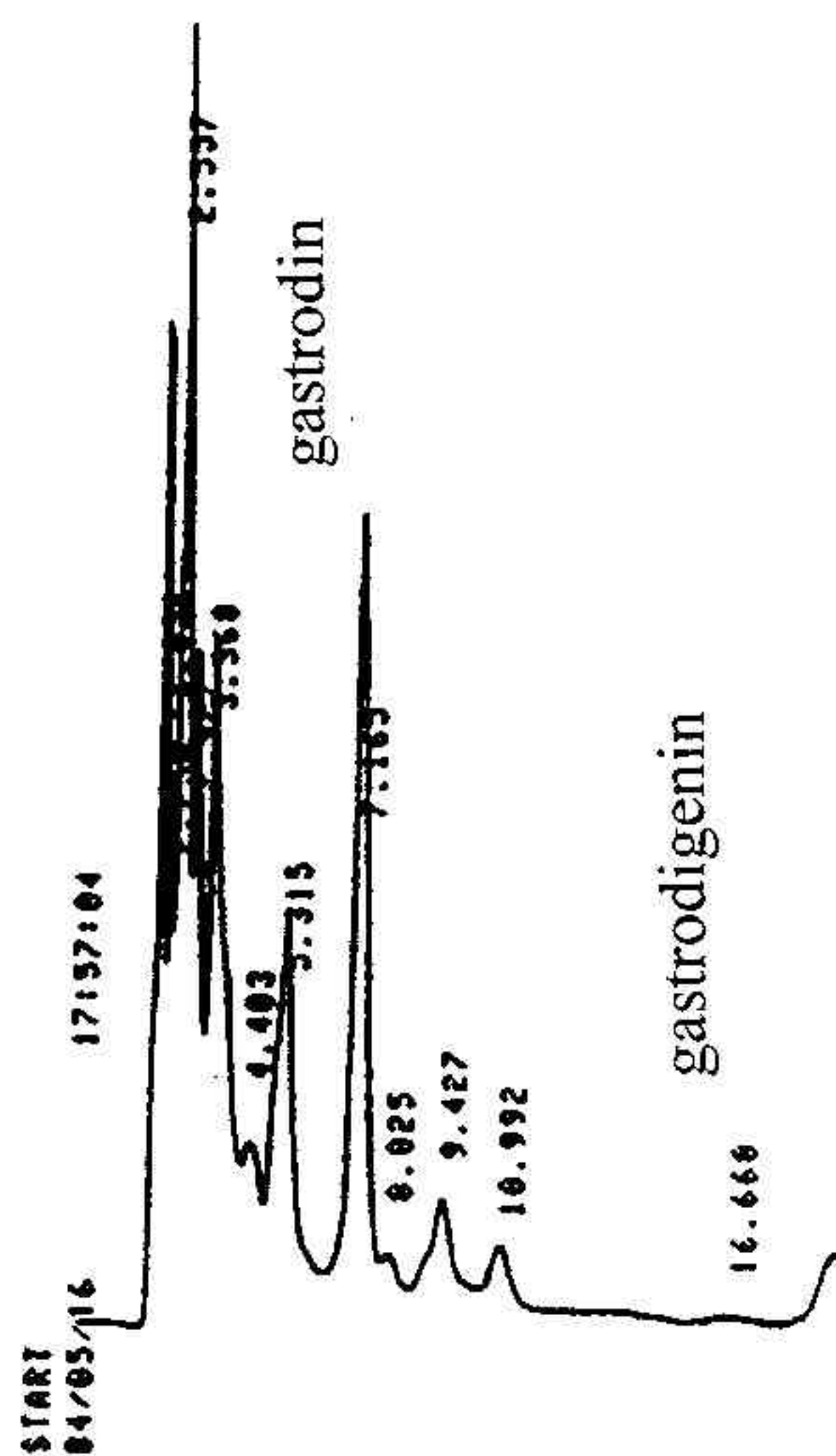
圖三 天麻 HPLC 層析圖



圖四 天麻鉤藤飲 HPLC 層析圖



圖五 半夏白朮天麻湯 HPLC 層析圖



圖六 小兒驚風藥第三方 HPLC 層析圖

Table 1 Calibration curve of gastrodin

Amount (mg/ml)	Assay 1	Assay 2	Assay 3	Peak area Average± SD	Equation of Calibration curve
1	1834990	1831461	1839522	1835324.3± 4040.9	
0.5	911997	9141992	916418	914202.3± 2210.5	Y= -4630.7+1839367.3 X
0.125	220817	224323	225406	223515.3± 2398.7	R=0.99999
0.03125	56084	57383	54809	56092.0± 1287.0	

Table 2 Calibration curve of gastrodigenin

Amount (mg/ml)	Assay 1	Assay 2	Assay 3	Peak area Average± SD	Equation of Calibration curve
0.5	3850165	3845133	3871924	3855740± 14239.2	
0.25	1920521	1922438	1923786	1922250± 1640.7	Y= -6405.2+7722304.5 X
0.0625	471502	476945	478304	475583± 3599.5	R=0.99999
0.01562	117226	115434	114634	115764± 1327.3	

Table 3 Quantitation of gastrodin in Tianma

Sample (1gm/10ml)	Assay of gastrodin (Peak area)			mg/Gm
	Assay 1	Assay 2	Assay 3	
A	803894	803712	803543	803716± 176
B	458523	455166	457665	457118± 1744
C	654693	651575	654441	653570± 1732
D	523498	521193	525926	523539± 2366
E	461090	461560	461750	461466± 340
F	790169	790274	790822	790422± 351
G	766085	766192	765978	766085± 107
H	371098	372057	372027	371727± 545
I	325091	325720	325692	325501± 640
J	571691	572434	572965	572363± 270
K	317926	317673	317286	317661± 391
L	339532	339623	338905	339353± 302
M	225426	225451	224916	225264± 714
N	358390	358920	357506	358272± 1312
O	1320896	1319275	1318299	1319490± 355
				7.20

Table 4 Quantitation of gastrodigenin in Tianma

Sample (1gm/10ml)	Assay of gastrodigenin (Peak area)			mg/Gm
	Assay 1	Assay 2	Assay 3	
A	265517	265790	265470	265592± 173
B	273718	271761	270691	272057± 1535
C	198297	198318	198059	198225± 144
D	366108	367415	266336	366620± 698
E	128926	127564	127975	128155± 699
F	497184	497630	496962	497259± 340
G	693562	693829	692621	693337± 635
H	156039	155686	153038	154921± 1640
I	127205	126887	126913	127002± 177
J	139505	139277	139682	139488± 203
K	189881	188319	189782	189327± 875
L	534331	533991	532921	533748± 736
M	434161	435186	435070	434806± 561
N	197655	193454	196345	195818± 2149
O	534176	538155	533725	535352± 2438

Table 5 Calculation curve of marker components for Chinese Medical Prescription

Reference Standard	Amount (mg/ml)	Peak area of standards			Average± SD	Equation of calibration curve
		Assay 1	Assay 2	Assay 3		
GB-1 ^(a)	0.5	911997	914192	916418	914202± 2210	
	0.125	220817	224323	222406	222513± 1756	Y= -4070.2+1835408.2 X
	0.03125	56084	55783	54809	55559± 666	R=0.99997
GB-1 ^(b)	0.5	1160334	1150328	1165650	1158770± 7780	
	0.125	293912	292231	294112	293418± 1033	Y=1751+2311928.4 X
	0.03125	73770	74380	74579	74243± 421	R=0.99999
GB-1 ^(c)	0.5	881623	883980	884350	883318± 1480	
	0.125	223406	225900	224099	224468± 1287	Y=3386.3+1760281.9 X
	0.03125	57101	57493	58080	57558± 493	R=0.99999

(a) 1 % CH₃COOH : CH₃CN= 97.5 : 2.5 (半夏白朮天麻湯)(b) 1 % CH₃COOH : CH₃CN= 97.5 : 2.5 , 0-16 min 降至 1 %CH₃COOH : CH₃CN= 80 : 20 (天麻鉤藤飲)(c) 1 % CH₃COOH : CH₃CN= 97.5 : 2.5 , 0-8 min 降至 1 %CH₃COOH : CH₃CN= 80 : 20 (小兒驚風藥第一方、第三

方及第四方)

Table 6 Calculation curve of marker components for Chinese Medical Prescription

Reference Standard	Amount (mg/ml)	Peak area of standards			Average± SD	Equation of calibration curve
		Assay 1	Assay 2	Assay 3		
GE-1 ^(a)	0.0625	471502	475930	473857	473763± 2215	
	0.01562	117236	117653	120767	118552± 1930	Y= -405.4+7588076.5 X
	0.0039	29334	28843	28351	28843± 492	R=0.99999
GE-1 ^(b)	0.0625	493817	494105	492391	493436± 917	
	0.01562	124453	125766	123128	124449± 1319	Y=521.8+7888877.4 X
	0.0039	29784	30671	31724	30726± 971	R=0.99999
GE-1 ^(c)	0.0625	452863	453267	450491	452207± 1450	
	0.01562	118856	119881	118378	119038± 768	Y=6562.7+7133660.4 X
	0.0039	33106	34174	33359	33546± 558	R=0.99998

(a) 1 %CH₃COOH : CH₃CN= 97.5 : 2.5 (半夏白朮天麻湯)

(b) 1 %CH₃COOH : CH₃CN= 97.5 : 2.5 , 0-16 min 降至 1 %CH₃COOH : CH₃CN= 80 : 20 (天麻鉤藤飲)

(c) 1 %CH₃COOH : CH₃CN= 97.5 : 2.5 , 0-8 min 降至 1 %CH₃COOH : CH₃CN= 80 : 20 (小兒驚風藥第一方、第

三方及第四方)

Table 7 Quantitaion of marker components in Tianma

Mobile phase	indicative constituents	Assay of indicative constituent (Peak area)				mg/Gm
		Assay 1	Assay 2	Assay 3	Average± SD	
(a)	GB-1	1080047	1180123	1081027	1080400± 545	2.95
(b)	GB-1	927906	927703	927251	927621± 336	2.00
(c)	GB-1	837811	837522	836981	837438± 421	2.37
(a)	GE-1	356880	356402	357910	357064± 771	0.24
(b)	GE-1	230738	230476	231926	231047± 773	0.15
(c)	GE-1	372702	372468	372066	372412± 322	0.24

(a)~(c) 1 %CH₃COOH : CH₃CN= 97.5 : 2.5

Table 8 Quantitation of marker components in Chinese Medical Prescription

Indicative Constituent (daily dose) Gm	Tainma Formula Sample Name	No.	Assay of indicative constituent (peak area)			Average content of of Tianma sample (mg/day)	Content (mg/day)	Turnover rate (A/B)
			Assay 1	Assay 2	Assay 3	Average± SD	(B)	(A/B)
10gm	(a)	1	419499	419513	418932			
		2	417053	417124	417022			
		3	418921	418754	419012	418425± 131	29.50	95.1 %
10gm	(b)	1	512429	512138	511997			
		2	513023	513894	513188			
		3	512913	512888	513639	512900± 327	14.37	20.00
2.5gm	(c)	1	188777	188552	188771			
		2	188451	188361	188494			
		3	187971	188213	188322	188434± 135	3.71	5.93
7.5gm	(d)	1	202193	202068	201956			
		2	200699	200627	200511			
		3	201271	201151	200976	201272± 237	17.59	17.78
1gm	(e)	1	78178	78131	77986			
		2	78777	78860	78731			
		3	78272	78313	78247	78388z± 262	1.98	2.37

(a)半夏白朮天麻湯 (b)天麻鉤藤飲 (c)小兒驚風藥第一方 (d)小兒驚風藥第三方 (e)小兒驚風藥第四方

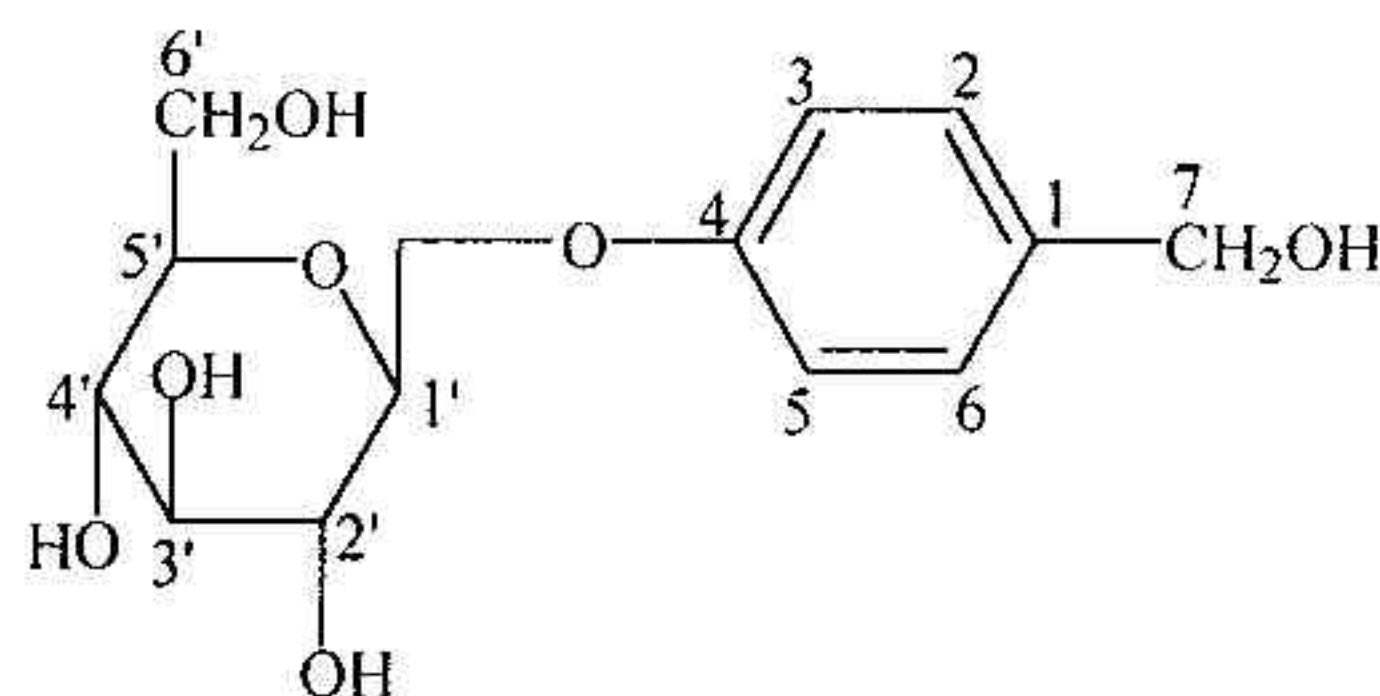
Table 9 Quantitation of marker components in Chinese Medical Prescription

Indicative Constituent (daily dose) Gm	Tainma Formula Sample Name	No.	Assay of indicative constituent (peak area)	Average content of Tianma sample (mg/day)			Turnover rate %
				Average	SD	(A/B)	
			Assay 1	Assay 2	Assay 3	(mg/day)	(A/B)
10gm	(a)	1	43510	43565	43547		
		2	43062	43047	43116		
		3	43163	43159	43203	43263± 56	2.4 28.0 %
10gm	(b)	1	145573	146157	145698		
		2	146025	14595	145544		
		3	146520	146476	147052	146111± 522	0.74 1.5 49.3 %
2.5gm	(c)	1	41533	41307	41386		
		2	41701	41740	41996		
		3	41408	41466	41496	41559± 345	0.20 0.6 33.3 %
7.5gm	(d)	1	53556	53507	53494		
		2	58627	58407	58666		
		3	58077	58274	57967	56730± 415	1.19 1.8 66.1 %
1gm	(e)	1	37381	37063	37045		
		2	37566	37505	37609		
		3	38151	38052	37994	37596± 159	0.22 0.24 95.8 %

(a)半夏白朮天麻湯 (b)天麻鉤藤飲 (c)小兒驚風藥第一方 (d)小兒驚風藥第三方 (e)小兒驚風藥第四方

3. 天麻素(gastrodin)及天麻苷元(gastrodigenin)之化學成分物化性質及圖譜

(1)天麻素 (gastrodin; 4-(β -D-glucopyranosyloxy) benzyl alcohol) ($C_{13}H_{18}O_7$)



(A) mp 156–157°C，由甲醇-乙酸乙酯再結晶為白色粉末，可溶於甲醇乙醇。

(B) TLC 以氯仿：甲醇=7：3 溶液展開，Rf 值為 0.4，以 10%磷鉬酸乙醇液呈色，於 105°C下呈紫紅色。

(C) IR $\nu_{\max}^{\text{kBr}}$ (cm^{-1}): (圖七)

3500–3200, 2886.4, 1613.0, 1512.7, 1404.6, 111.3, 1080.5, 1018.7, 833.5

(D) MS ($m/z\%$; EI 70eV): (圖八)

124(100)	123(19.61)	121(20.52)	107(21.56)
106(18.52)	95(25.00)	85(14.14)	78(11.88)
77(27.81)	73(24.06)	69(13.98)	65(6.48)
61(15.78)	60(18.67)	57(24.06)	55(10.08)

(E) $^1\text{H-NMR}$ (in CD_3OD , 600 MHz) ppm: (圖九)

7.28	(2H, d, $J=8.4$ Hz, H-2, H-6)
7.08	(2H, d, $J=8.4$ Hz, H-3, H-5)
4.54	(2H, s, H-7)
3.89	(1H, dd, $J=12.6, 1.8$ Hz, H-6')
3.70	(1H, dd, $J=12.6, 5.4$ Hz, H-6')
3.20–3.60	(4H, m, H-2', H-3', H-4', H-5')

(F) $^{13}\text{C-NMR}$ (in CD_3OD , 150 MHz) ppm: (圖十)

158.47 (C-4)	136.57 (C-1)	129.42 (C-2, C-6)
117.60 (C-3, C-5)	102.36 (C-1')	78.09 (C-3')
77.93 (C-5')	64.80 (C-7)	

(G) DEPT ($\pi/4, 2\pi/4, 3\pi/4$, in CDCl_3 , 150 MHz) ppm: (圖十一)

CH_2 : 64.80, 62.46

CH : 129.42, 117.60, 120.36, 78.09, 77.93, 74.89, 71.33

(H) 2D ^1H - ^1H (in CD_3OD , 150 MHz) COSY ppm : (圖十二)

質子間有相互耦合關係

7.28 (H-2) 7.08 (H-3)

7.08 (H-5) 7.28 (H-6)

3.89 (H-6') 3.70 (H-6')

4.54 (H-7) 4.54 (H-7)

(I) 2D HMQC (in CD_3OD , 150 MHz) ppm ppm : (圖十三)

碳氫之間有遠程耦合關係

7.28 (H-2) 129.46 (C-2)

7.08 (H-3) 117.60 (C-3)

7.08 (H-5) 117.60 (C-5)

7.28 (H-6) 129.46 (C-6)

(J) 2D HMBC (in CD_3OD , 50 MHz) ppm : (圖十四)

7.28 (H-2) 129.46 (C-6)

7.28 (H-2) 64.80 (C-7)

7.08 (H-3) 136.57 (C-1)

7.08 (H-3) 117.60 (C-5)

7.08 (H-5) 136.57 (C-1)

7.08 (H-5) 117.60 (C-3)

7.28 (H-6) 158.47 (C-4)

7.28 (H-6) 64.80 (C-7)

(K) 2D NIOSY (in CD_3OD , 150 MHz) ppm : (圖十五)

4.54 (H-7) 7.28 (H-2)

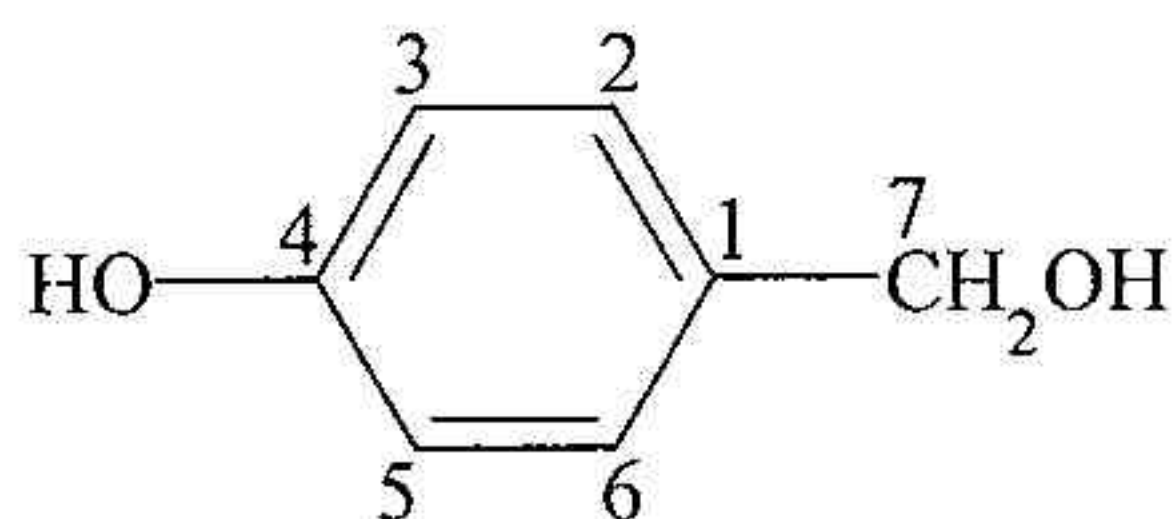
4.54 (H-7) 7.28 (H-6)

7.08 (H-2) 7.28 (H-6)

H-6 H-3

H-6 H-2', H-4', H-5'

(2) 天麻昔元 (gastrodigenin; p-hydroxybenzyl alcohol) ($\text{C}_7\text{H}_8\text{O}$)



- (A) mp 116-117°C，由氯仿-甲醇再結晶，為無色針晶，溶於氯仿、甲醇。
- (B) TLC 以氯仿：甲醇=9：1 溶液展開，Rf 值為 0.38，以硫酸茴香醛呈色，於 105°C 下呈粉紅色。
- (C) IR (cm⁻¹, ν max, KBr) (圖十六)
3388.0, 3117.9, 1605.3, 1512.7, 1458.6, 833.5
- (D) MS (m/z %; EI 70eV) (圖十七)
124(M⁺ 100), 123(65), 122(2), 121(8), 107(80), 106(24), 95(81), 93(7), 78(36), 77(79), 65(26)
- (E) ¹H-NMR (in CD₃OD, 300 MHz) ppm (圖十八)
7.17 (2H, d, J= 8.4 Hz, H-2, H-6)
6.75 (2H, d, J= 8.4 Hz, H-3, H-5)
4.48 (2H, s, H-7)
- (F) ¹³C-NMR (in CD₃OD, 75 MHz) ppm (圖十九)
157.89 (C-4) 133.47 (C-1) 129.82 (C-2, C-6)
116.06 (C-3, C-5) 65.09 (C-7)
- (G) DEPT ($\pi/4$, $2\pi/4$, $3\pi/4$, in CDCl₃, 75 MHz) ppm (圖二十)
CH₂ : 65.09
CH : 116.06, 129.82
- (H) 2D ¹H-¹H (in CD₃OD, 75 MHz) COSY ppm : (圖二十一)
質子間有相互偶合關係
7.17 (H-2) 6.75 (H-3)
6.75 (H-5) 7.17 (H-6)
4.48 (H-7) 4.48 (H-7)

肆、討論

1. 市場品天麻指標成分之比較

本研究最初以 MeOH 溶解檢品，pH 值 5.8 時，因檢出波長定為 270 nm，MeOH 之 peak 干擾極大，而後改採移動相溶解之，pH 值降為 2.86，除了干擾降低外，也使分離的效果更好。至於移動相的選擇方面，以 1% CH₃COOH：CH₃CN=97.5：2.5 時，會比不加 CH₃COOH 分離效果更好。

關於市場品天麻中天麻素、天麻苷元含量測定，每克生藥中天麻素之量介於 1.25-7.2 mg (見 Table 3)，而天麻苷元介於 0.26-0.90 mg (見 Table 4)，推究其原因可能是由於產地，採收的季節之不同，與炮製過程的快慢等因素有關⁽³²⁾；

因目前天麻從大陸進口，產地遍及四川、貴州、雲南等地，但由其藥材外觀並無法判斷產於何處，故其天麻素、天麻苷元之含量會有差異。一般入冬至春季抽苔出土前採挖之天麻，加工後的商品都稱作“冬麻”，春季出苗之後採收的天麻，加工後的商品謂之“春麻”，冬麻質優於春麻，但根據文獻^(2,32)指出，收穫期與天麻素、天麻苷元的含量並無明顯差異，而此次研究亦發現藥材外表皺摺、不透明、易脆之春麻其天麻素、天麻苷元反較藥材外表少皺摺、透明、質硬之冬麻高，因此一般認為冬麻質優於春麻，實在有待更進一步研究探討。且天麻中天麻素因易水解而含量下降，因此天麻採收後保存時間以十日之內為宜，儘快蒸製加工，可起殺酶作用⁽³³⁾，使天麻素明顯增加，而此次市產品天麻中天麻素含量低者，可能在採收後保存過久未及時加工所致，也可能天麻在乾燥過程中，天麻素及天麻苷元的變化為一種可逆的變化，當鮮天麻直接乾燥時，同時存在酶解和縮合兩種相反的作用，由於兩者變化速率不同，其綜合的結果是使天麻素減少，苷元增加⁽³⁴⁾。

2. 中藥方劑指標成分定量及移行率

一般中藥方劑由於藥材成分過多，使得影響指標成分的含量測定因素很多，如^(34,35)：

- (1) 中藥材的品種、等級、產地、生長季節、採收時期、藥用部位等因素。
- (2) 藥材使用前之炮製方法、保存環境、飲片之大小等因素。
- (3) 中藥方劑中成分之相互作用、指標成分之穩定性、pH 值之影響、溶解度等因素。
- (4) 萃取時使用之溶劑種類、溶劑用量、溫度、萃取方式、萃取時間等因素。

針對上述(1)，(2)因素，本研究採用同批次藥材以相同方法進行定量，針對因素(4)本研究在對照藥材萃取時依其理化性質以水、甲醇進行萃取⁽³⁶⁾，以 HPLC 偵測，使指標成分萃取接近 100%。針對因素(3)本研究在探討 pH 值之影響方面，發現天麻鉤藤飲、小兒驚風藥第一、三、四方之標準湯劑，pH 值約在 5.64-6.04 之間，而半夏白朮天麻湯之 pH 值則低至 3.76，當以移動相 1% $\text{CH}_3\text{COOH}:\text{CH}_3\text{CN}=97.5:2.5$ 分析時，僅半夏白朮天麻湯分離效果最好（見圖五）；分析其方劑組成發現單味藥陳皮十克以二倍水煎煮至一半時，pH 值為 3.74，可知半夏白朮天麻湯 pH 值之低乃由於陳皮影響之故，而陳皮之低 pH 值可能因炮製過程中經加醋拌勻的結果所致⁽³⁷⁾。

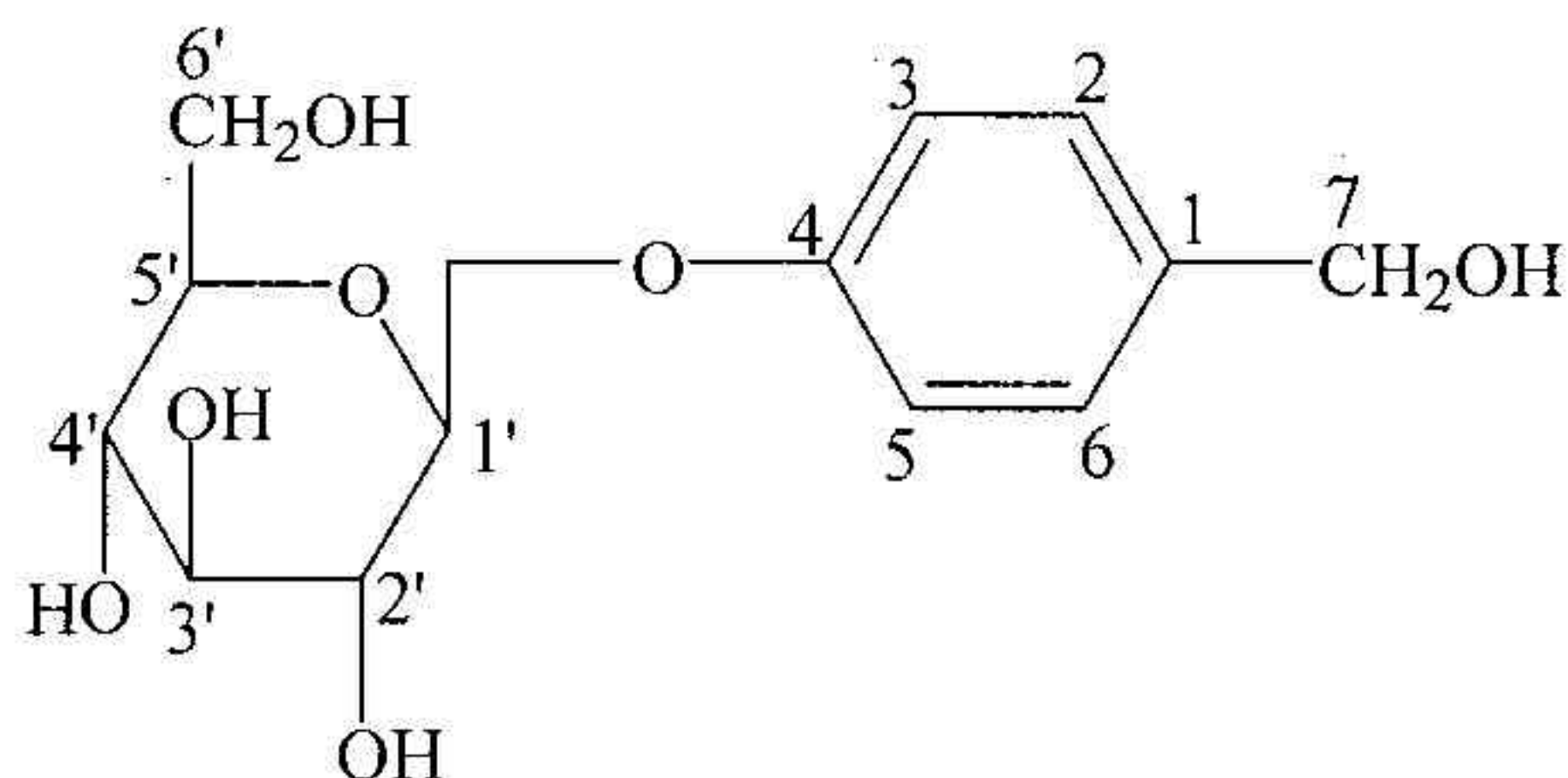
在分析天麻鉤藤飲、小兒驚風藥第一、三、四方之標準湯劑時，移動相採固定式溶媒系統，無法有效分離，所以採梯度沖提 (gradient elution) 進行嘗試，結果發現當天麻鉤藤飲以移動相 1% $\text{CH}_3\text{COOH}:\text{CH}_3\text{CN}=97.5:2.5$ ，0-8 分鐘調至 1% $\text{CH}_3\text{COOH}:\text{CH}_3\text{CN}=80:20$ 時，分離效果較好（見圖四），而小兒驚風藥第一、三、四方則採移動相 1% $\text{CH}_3\text{COOH}:\text{CH}_3\text{CN}=97.5:2.5$ ，0-

16 分鐘調至 1% $\text{CH}_3\text{COOH}:\text{CH}_3\text{CN}=80:20$ 時，可得較好分離效果（見圖六）。

關於對照藥材移行率之差異（見 Table 8, 9），本研究發現天麻素一般較天麻苷元高，探討其原因可能由於天麻素較天麻苷元易溶於水之故或受處方中其他味藥之影響；故可由移行率供今後使用含天麻之五個常用中藥方劑中天麻劑量之調整，以達臨床有效治療效果。

3. 天麻素(gastrodin)及天麻苷元(gastrodigenin)之製備

(1) 天麻素 (gastrodin; 4-(β -D-glucopyranosyloxy) benzyl alcohol) ($\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_7$)



天麻素結晶由甲醇-乙酸乙酯再結晶，為白色顆粒結晶，mp. 為 156-157 °C，TLC 以氯仿：甲醇=7:3 溶液為展開溶媒，以 10 % 磷鉬酸乙醇液呈色⁽³⁸⁾，Rf 值為 0.4。

IR 圖譜（圖七）：顯示 $3500-3200\text{cm}^{-1}$ 為 -OH 之特性吸收， 2886.4cm^{-1} 為 -CH stretch， 1613.0 、 1512.7 、 1404.6 、 833.5cm^{-1} 為 1, 4 二取代苯環之 C=C stretch，而 1111.3 、 1080.5 、 1049.1 、 1018.7cm^{-1} 為 glucopyranoside 之特性吸收。

Mass 圖譜（圖八）：其 Molecular ion peak 為 286 (M^+)，而其 m/z 124、123、121、107、106、95、78、77、65 等裂片之斷裂形式如 Scheme 1. 所示。

^1H -NMR 圖譜（圖九）：7.28(d) ppm 和 7.08(d) ppm 為 1, 4 二取代苯環鄰位雙氫 2, 6-H 及 3, 5-H 的質子訊號，4.54(s) ppm 則為苯醇次甲基上質子之訊號，3.89(dd), 3.70(dd) ppm 為葡萄糖上 H-6' 次甲基質子之訊號，3.20-3.60(m) ppm 為 D-glucopyranoside 上 H-2', 3', 4', 5' 質子之訊號。

^{13}C -NMR 圖譜（圖十）：158.47、136.57 ppm 為 C-4, C-1 的四級碳原子訊號，129.42、117.60 ppm 則為 1, 4 二取代苯環鄰位 C-2, 6 和 C-3, 5 的碳原子訊號，64.80 ppm 為 C-7 之碳原子訊號，而 102.36、78.09, 77.93, 74.89, 71.33, 62.46 為 D-glucopyranoside 上 C-1', 2', 3', 4', 5', 6' 之碳原子訊號，其它訊號均與文獻⁽¹⁴⁾完全相似，如 Table 10。

DEPT 圖譜（圖十一）：顯示 63.80, 62.46 為 CH_2 的訊號；129.42, 117.60,

102.36, 78.09, 77.93, 74.89, 71.33 為 CH 的訊號。

2D ^1H - ^1H COSY 圖譜 (圖十二): 顯示 H-2 與 H-3, H-5 與 H-6 有互相偶合關係。

2D HMQC 圖譜 (圖十三): 顯示

87.28 (H-2) 接在 δ 129.46 (C-2) 上; 87.08 (H-3) 接在 δ 117.60 (C-3) 上;

87.08 (H-5) 接在 δ 117.60 (C-5) 上; 87.28 (H-6) 接在 δ 129.46 (C-6) 上。

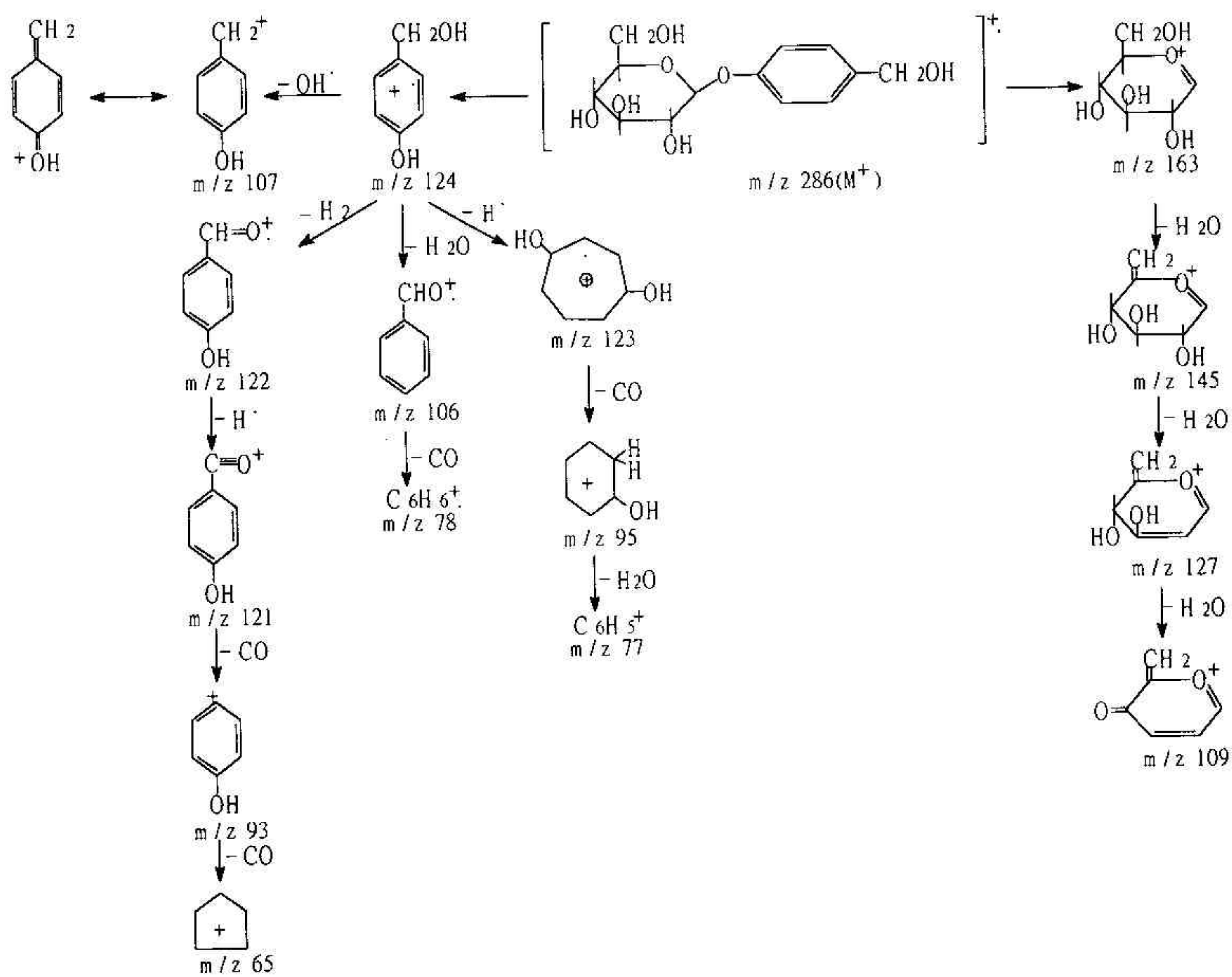
83.20-3.60 (H-2', H-3', H-4', H-5') 分別接在 δ 74.89 (C-2'), 78.09 (C-3'), 71.32 (C-4'), 77.93 (C-5') 上, 此部分為糖基訊號。

2D HMQC 圖譜 (圖十四): 顯示以下碳氫遠程偶合關係

7.28 (H-2)	129.46 (C-6)
7.28 (H-2)	64.80 (C-7)
7.08 (H-3)	136.57 (C-1)
7.08 (H-3)	117.60 (C-5)
7.08 (H-5)	136.57 (C-1)
7.08 (H-5)	117.60 (C-3)
7.28 (H-6)	158.47 (C-4)
7.28 (H-6)	64.80 (C-7)

2D NOSTY (in CD_3OD , 50 MHz) ppm: (圖十五) (H-7) 與 7.28 (H-2), (H-7) 與 (H-6), (H-2) 與 (H-6), H-6 與 H-3, H-6 與 H-2', H-4', H-5' 有空間上的相對位置關係

由以上光譜資料與文獻比對^(9,15,39), 推論其結構為 4-(β -D-glucopyranosyloxy) benzyl alcohol 即天麻素(gastrodin)。

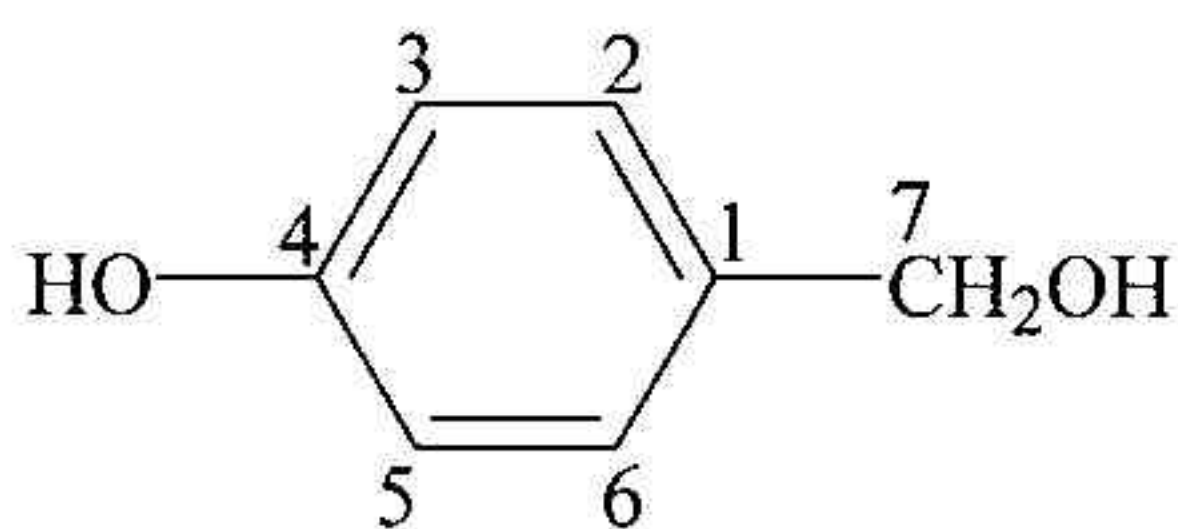


Scheme 1. The mass spectral fragmentation patterns of gastrodin

Table 10 ^{13}C NMR Spectra Data for
4-(β -D-glucopyranosyloxy) benzyl alcohol & gastrodin

Solvent	CD_3OD	CD_3OD
Carbon	4-(β -D-glucopyranosyloxy) benzyl alcohol	gastrodin
1	136.7	136.6
2, 6	129.4	129.5
3, 5	117.7	117.7
4	158.4	158.5
7	64.8	64.8
sugar moiety		
C-1'	102.4	102.3
C-2'	74.9	74.9
C-3'	78.0	78.0
C-4'	71.3	71.3
C-5'	77.9	77.9
C-6'	62.5	62.4

(2) 天麻 元 (gastrodigenin; p-hydroxybenzyl alcohol) ($\text{C}_7\text{H}_8\text{O}$)



天麻苷元結晶由氯仿-甲醇再結晶，為無色針狀結晶，mp. 116-117°C，TLC 以氯仿：甲醇=9：1 溶液為展開溶媒，以硫酸茴香醛呈色，Rf 值為 0.38。

IR 圖譜 (圖十六)：顯示在 3388.0cm^{-1} (br) 為 -OH 之特性吸收， 3117.9cm^{-1} 為芳香環上 C-H stretch， 1613.0 ， 1512.7 ， 1458.6 ， 833.5cm^{-1} 為 1, 4 二取代苯環上 C=C stretch⁽⁴⁰⁾。

Mass 圖譜 (圖十七)：顯示其 molecular ion peak 為 124 (M^+) 而其 123, 107, 106, 95, 77, 65 等裂片之斷裂形式⁽⁹⁾如 Scheme 2. 所示：

^1H -NMR 圖譜 (圖十八)：7.17(d) ppm 和 6.75(d) ppm 為 1, 4 二取代苯環鄰位雙氫 2, 6-H 及 3, 5-H 的質子訊號，4.48(s) ppm 則為苯醇次甲基上

質子之訊號。

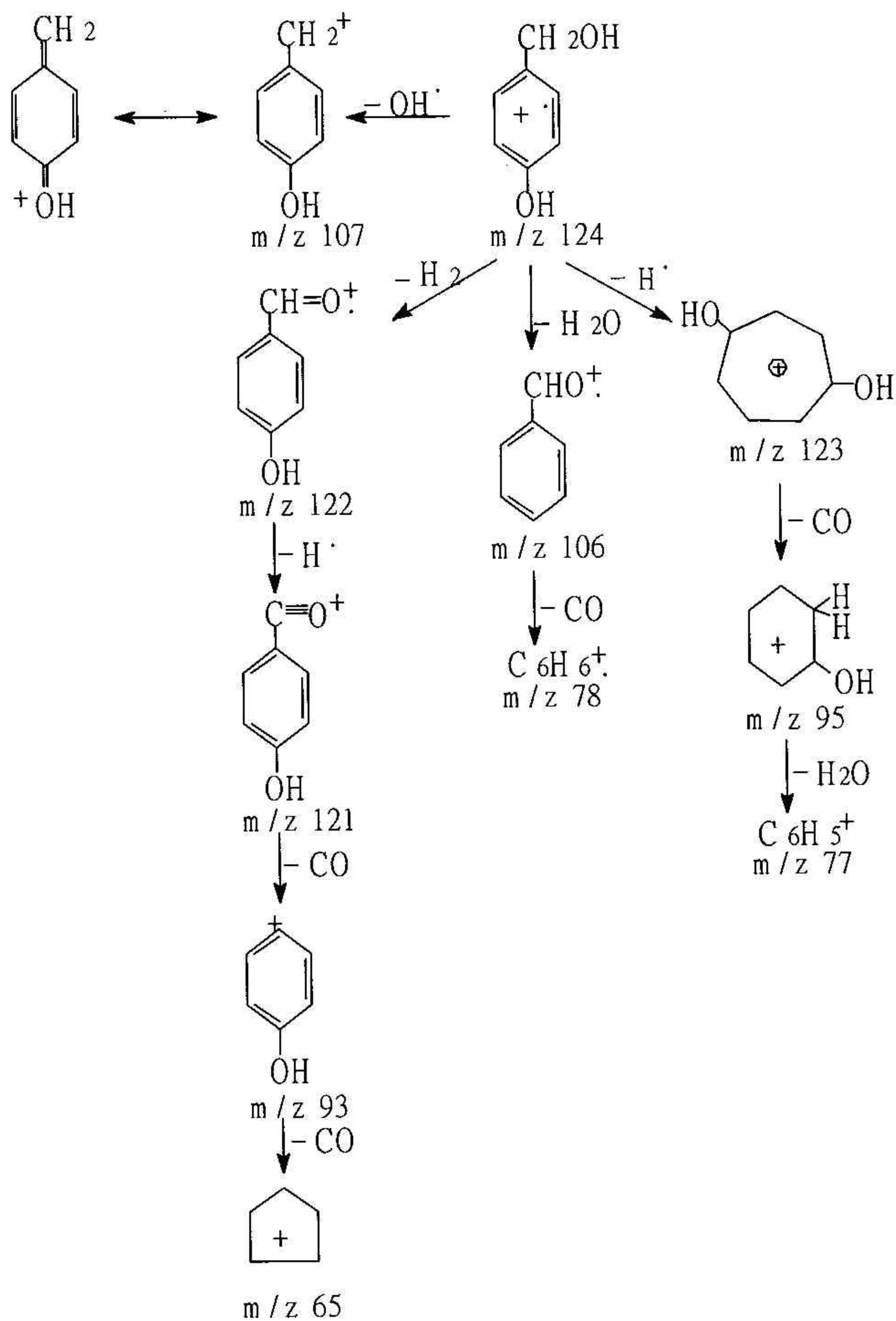
^{13}C -NMR 圖譜 (圖十九): 157.89, 133.47 ppm 為 C-4, C-1 的四級碳原子訊號, 129.82, 116.06 ppm 則為 1, 4 二取代苯環鄰位 C-2, 6 和 C-3, 5 的碳原子訊號, 65.08ppm 為 C-7 之碳原子訊號, 其它訊號均與文獻⁽⁴¹⁾完全相似, 如 Table 11。

DEPT 圖譜 (圖二十): 顯示 65.09 為 CH_2 的訊號; 116.06, 129.82 為 CH 的訊號。

2D ^1H - ^1H COSY 圖譜 (圖二十一): 顯示 H-2 與 H-6, H-3 與 H-5 有互相偶合關係。

Table 11 ^{13}C NMR Spectra Data for p-hydroxybenzyl alcohol & gastrodigenin

Solvent	$\text{CD}_3\text{Cl}+\text{DMSO}$	CD_3OD
Carbon	p-hydroxybenzyl alcohol	gastrodigenin
1	132.49	133.52
2, 6	128.02	129.87
3, 5	114.80	116.11
4	156.16	157.93
7	63.26	65.08



Scheme 2. The mass spectral fragmentation patterns of gastrodigenin

由以上光譜資料與文獻佐證^(9, 39, 41)，推論其結構為 p-hydroxybenzyl alcohol 即為天麻元(gastrodigenin)。

伍、結論與建議

本計畫所建立之天麻素(gastrodin)及天麻元(gastrodigenin)之分離純化方法及高效液相層析分析方法可作為中藥飲片及製劑之品管參考，以提升中藥品質。

配伍有天麻的五個常用方劑之中，指標成分含量之測定方面已尋得簡便易行分析之條件，計算指標成分由藥材至中藥處方湯劑中之移行率，並建立適合於此等中藥方劑品質管制，例行檢驗之簡易、實用之定量方法。

目前國內中藥製劑品管研究缺乏天麻對照標準品，而本計畫所分離出之天麻指標成分一天麻素(gastrodin)及天麻元(gastrodigenin)各約 5 公克可提供給需要之廠商學者，而天麻素及天麻元在中藥製劑中之高效液相層析分析方法亦可提供給中藥廠商品管參考。

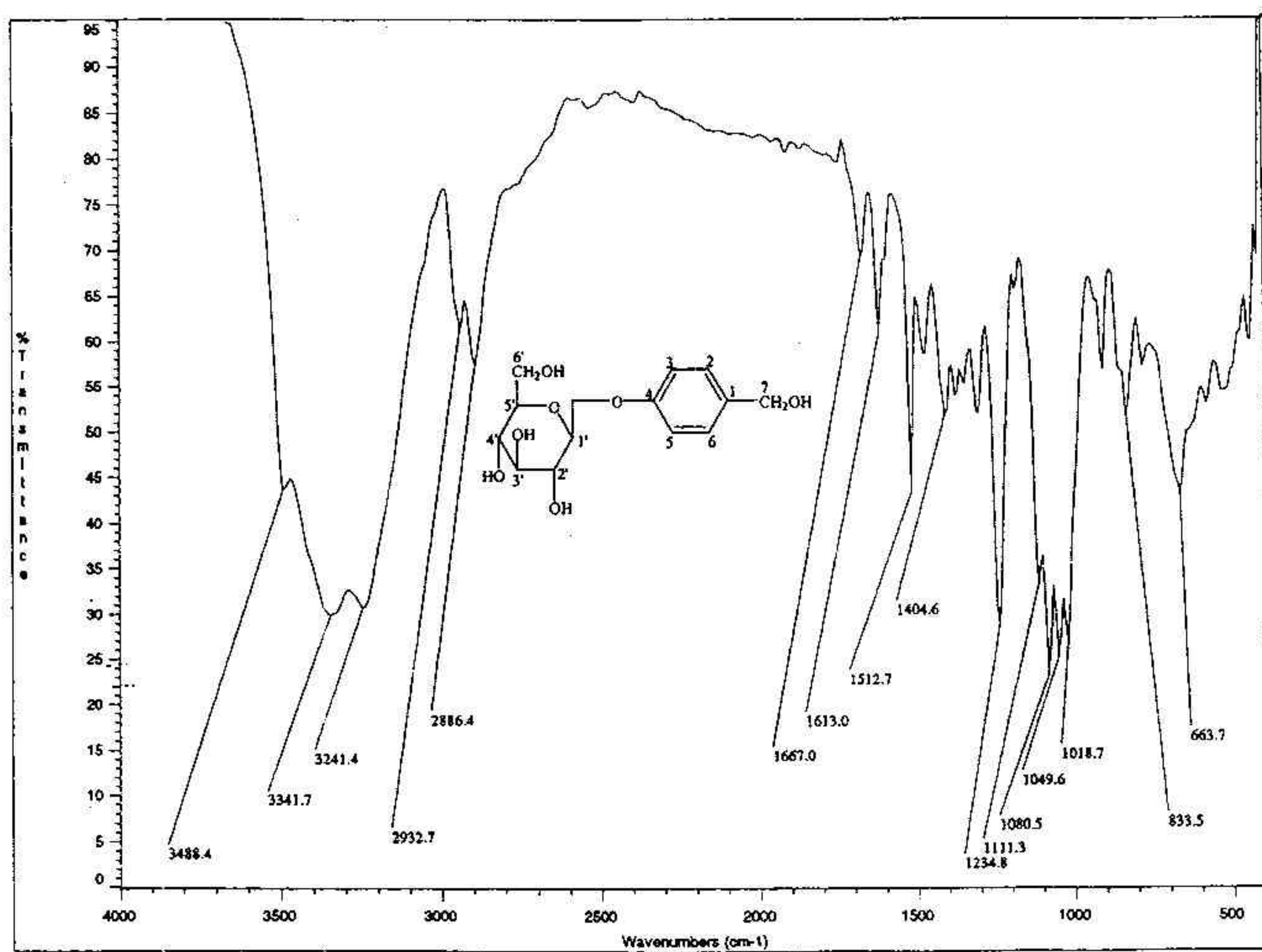
另外，天麻元(gastrodigenin; p-hydroxybenzyl alcohol) Sigma 公司已量產，可向該公司購得。

陸、參考文獻

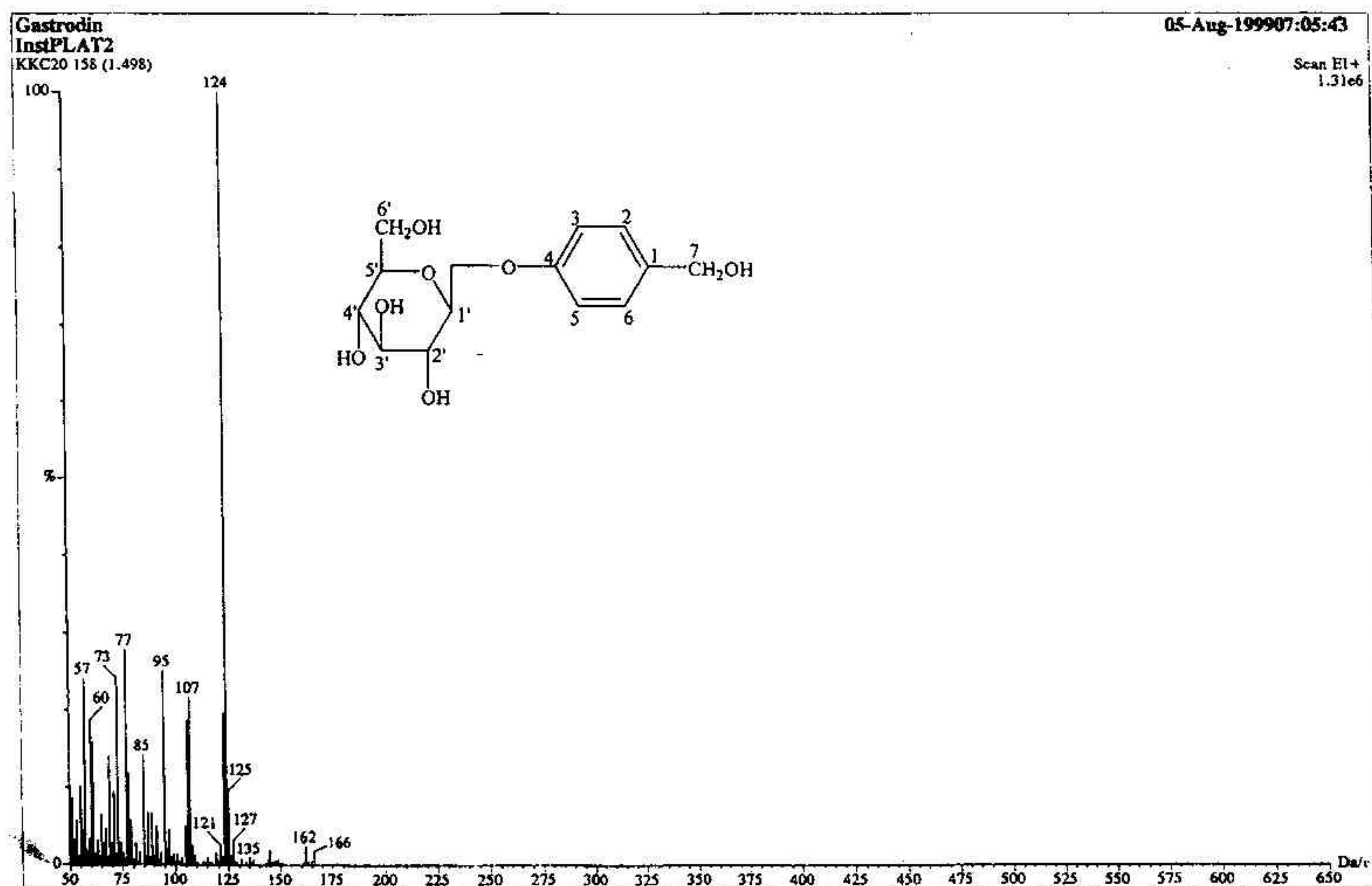
1. 韓維恆：中藥正別名集，湖南科學技術出版社，湖南 1993；33-35。
2. 陳貴廷：本草綱目通釋，學院出版社，北京 1992；498-502。
3. 崔樹德：中藥大全，黑龍江科學技術出版社，北京 1989；612-613。
4. 徐錦堂：中國天麻栽培學，北京醫科大學中國協和醫科大學聯合出版社，北京 1993；31。
5. 陰健，郭力弓：中藥現代研究與臨床應用 I，學苑出版社，北京 1994；140-145。
6. 李儀奎，姜名瑛：中藥藥理學，中國中醫藥出版社，北京 1992；167。
7. Chen HY: Studies on Tien-ma anf Huan-jun, the pharmacological effect of Tien-ma decoction and Mi-huan-jun fermentation prodict on the central nervous. Institute of Materia Medica \Chinense Academy of medical SCI Beijing 1977; 57:470-472.
8. Lee EB, Lee YS: The screening of biologically active plants in corea using isolated organ preparations (V), anticholinergic and oxytotic action in rats' ileum and uterus. Korean J Pharmacog 1991; 22(4): 246-248.
9. Taguchi H, Yosioka I, Yamasaki K, Kim IH: Studies on constituents of *Gastrodia elata* Blume. Chem. Pharm. Bull. 1981; 29(1): 55-62.
10. Wen W: A new medicine born of tradition. Unexco Courie 1979; 7:25-28.
11. Yan XR: A case of anaphylactic shock caused by tianma injection. J

- Clinical Dermatology 1987; 16(4):215.
12. Woo WS, Lee EB, Shin KH, Kang SS, Chi HJ: A review of research of plant for fertility regulation in corea. Korean J Pharmacog 1981; 12(3): 153-157.
 13. Zhou J, Yang YB, PuXY: Phenolic constituents of fresh *Gastrodia elata* Blume. Yun-Nan Chin Wu Yen Chiu 1980; 2:370.
 14. Zhou J, Bu SY, Young YB: Nine phenolic constituents of fresh *Gastrodia elata* Bl. K'o Hsueh T'ung Pao 1981; 26L: 1118-1120.
 15. 馮孝章，陳玉武，楊峻山：天麻化學成分的研究。化學學報 1979；37(3)：175-182。
 16. Anon: 4- β -D-glucopyranosyloxybenzyl alcohol as anagesic cholagogue. Patent-Japan Kokai Tokyo Koho 1982; 48: 913 4pp.
 17. Takeda S, Aburada M: The choller etic mechanism of coumarin compounds and phenolic compounds. J Pharmacobio Dyn 1984; 4:724-734. 21.
 18. Ma GJ Wang LF, Gao Y: Preliminary comparison of the constituents of *gastrodia elata*, cultivated and wild, from Zhaotong, Yunan, China, Yaowu Fenxi Zazhi 1982; 2(5): 280-283.
 19. 周俊，楊雁賓，楊崇仁：天麻的化學研究 I. 天麻化學成分的分離和鑒定。化學學報 1979；37(3)：183-189。
 20. Sha Z, Sun W: HPLC determination of gastrodin and p-hydroxybenzyl alcohol in *Gastrodia elata*. Yaowu Fenxi Zazhi 1985; 5(4): 218-221.
 21. Yang RK, Ma SX: Main chemicam composition of irradiated tuber of Tianma and Danggui. Tongweisu 1990; 3(2): 123-126.
 22. Zhu ZY: Determination of Gastroidin and Gastrodigenin in *Gastrodia elata* by second derivative UV spectrophotometry. Fenxi Cexhi Tongbao 1989; 8(1): 43-48.
 23. Chow J, Yang YB, Yang TR: A new phenolic glucoside of *gastrodia elata*, gastrodin. K'o Sueh T'ung Pao 1979; 24:335-336.
 24. Xiao SR, Wang TS, Fang NN, Chen YT, Chu K: Study on *Gastrodia elata* Bl. injection. Chung Ts'ao Yao 1980;11:297-298.
 25. Anon: Some applications of macroritcular resins in isoltion and separation of chemical constituents from chinese herbal medicines. Chung Ts'ao Yao 1980; 11:138-141.
 26. Cheng S, Liang C, Ran M, Ye Y, Hu X, Wang F, Xiong H: Studies on quakity control of the chinense crude drug Tianma (*Gastrodia elata* Bl.) I. HPLC

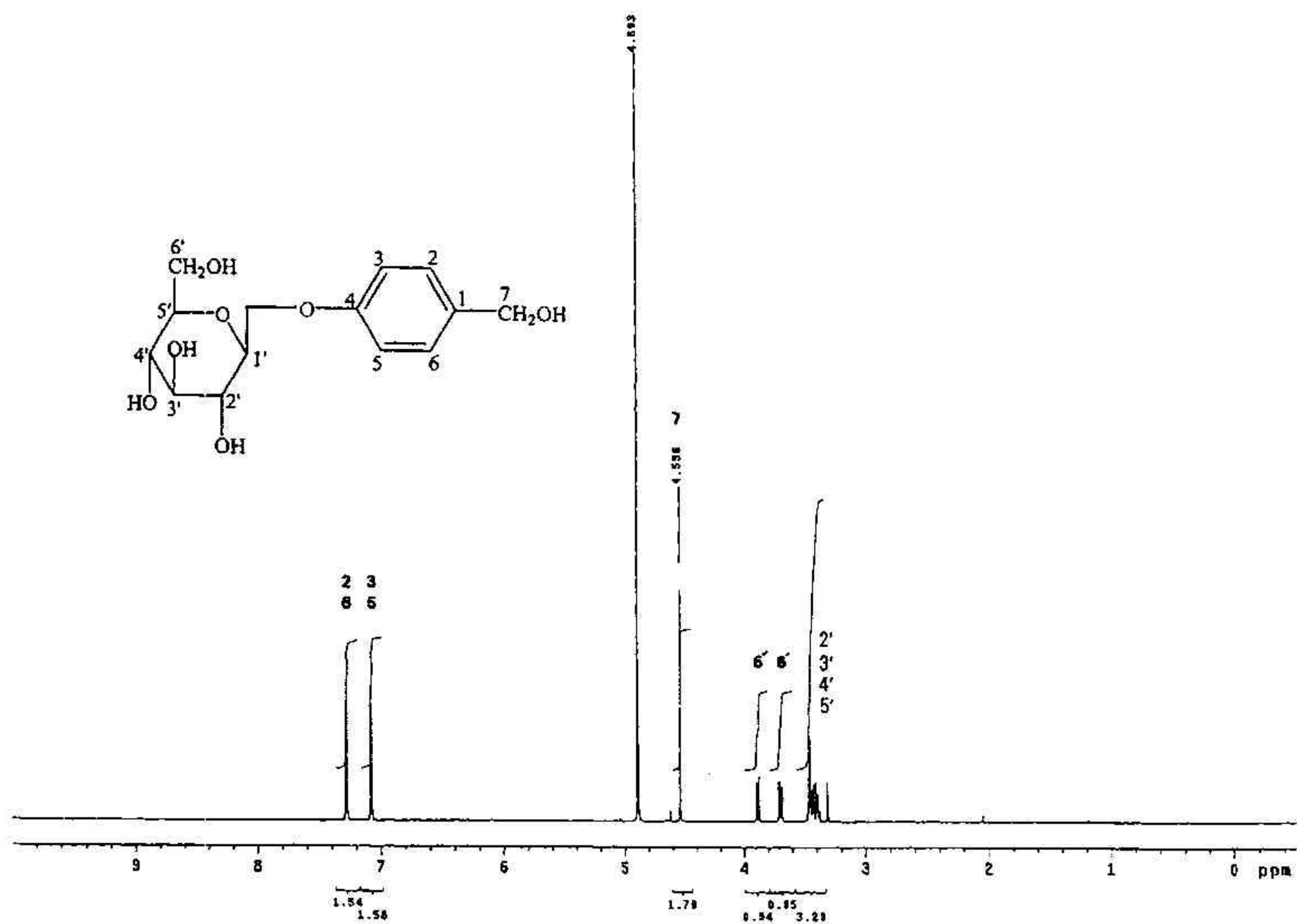
- analysis of gastrodin as a quality indicator. *Yaowu Fenxi Zazhi* 1984; 4(6): 344-347.
27. Sha Z, Sun W: HPLC determination of gastrodin and p-hydroxybenzyl alcohol in *Gastrodia elata*. *Yaowu Fenxi Zazhi* 1985; 5(4): 218-221.
28. He C, Xu CC, Baob G, Mu S: The crystal structure of armillarine. *Wuli Xuebao* 1982; 31(6):832-839.
29. 邱德文：方劑學，貴州人民出版社，貴州 1989；273，345。
30. 蔡明哲：中藥檢驗方法專輯(五)製層薄層層析法，台北 1992：366，376，387。
31. 張光雄：中藥方劑之定性與定量，明通醫藥雜誌社，台中 1994；12-18。
32. 王桂英：天麻質量的研究。中草藥 1985；16(10)：13-16。
33. 沙振方，文基：天麻中天麻素及其 元動態變化的研究。中草藥 1986；17(2)：29-31。
34. 王永山，袁鑄人：不同加工方法對天麻中的天麻素及其 元含量的影響。中成藥 1989；11(3)：18-19。
35. 顧巧珠，鐘玉山，谷皓：應用高效液相層析法分析中藥成份層析譜峰的純度研究。食品藥物分析 1994；2(4)：289-296。
36. 章觀德，劉洪月：天麻中天麻 的含量測定。中草藥 1983；14(8)：17-19。
37. 張賢哲，蔡貴花：中藥炮製學，中國醫藥學院印行 1990：387-389。
38. 劉訓紅，王玉璽，房克慧，李全：中藥材薄層色譜鑒別，天津科學技術出版社，天津 1991；264-271。
39. 周俊，楊雁賓，楊崇仁：天麻的化學研究 I. 天麻化學成分的分離和鑒定。化學學報 1979；37(3)：183-189。
40. Silverstein RM, Bassler GC, Morill TC: Spectrometric identification of organic compounds 5th edition. John Wiley & Sons 1991:110 .
41. Charles JP, Jjaclynn Behnke: The Aldrich library of ^{13}C and ^1H FTNMR spectra. Aldrich Chemical Company 1993; 2: 353B .



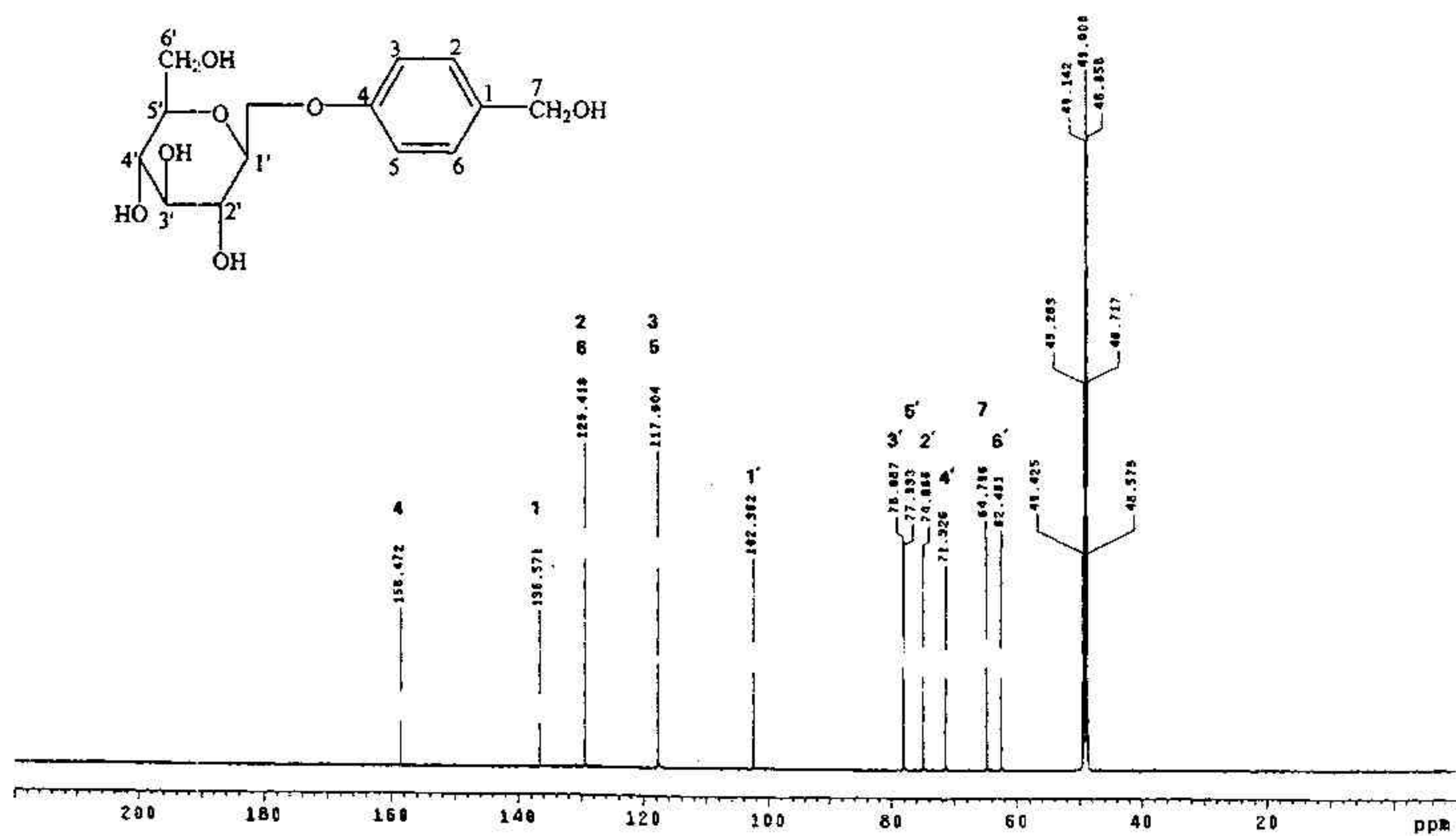
圖七 指標成分天麻素 IR (KBr)圖譜



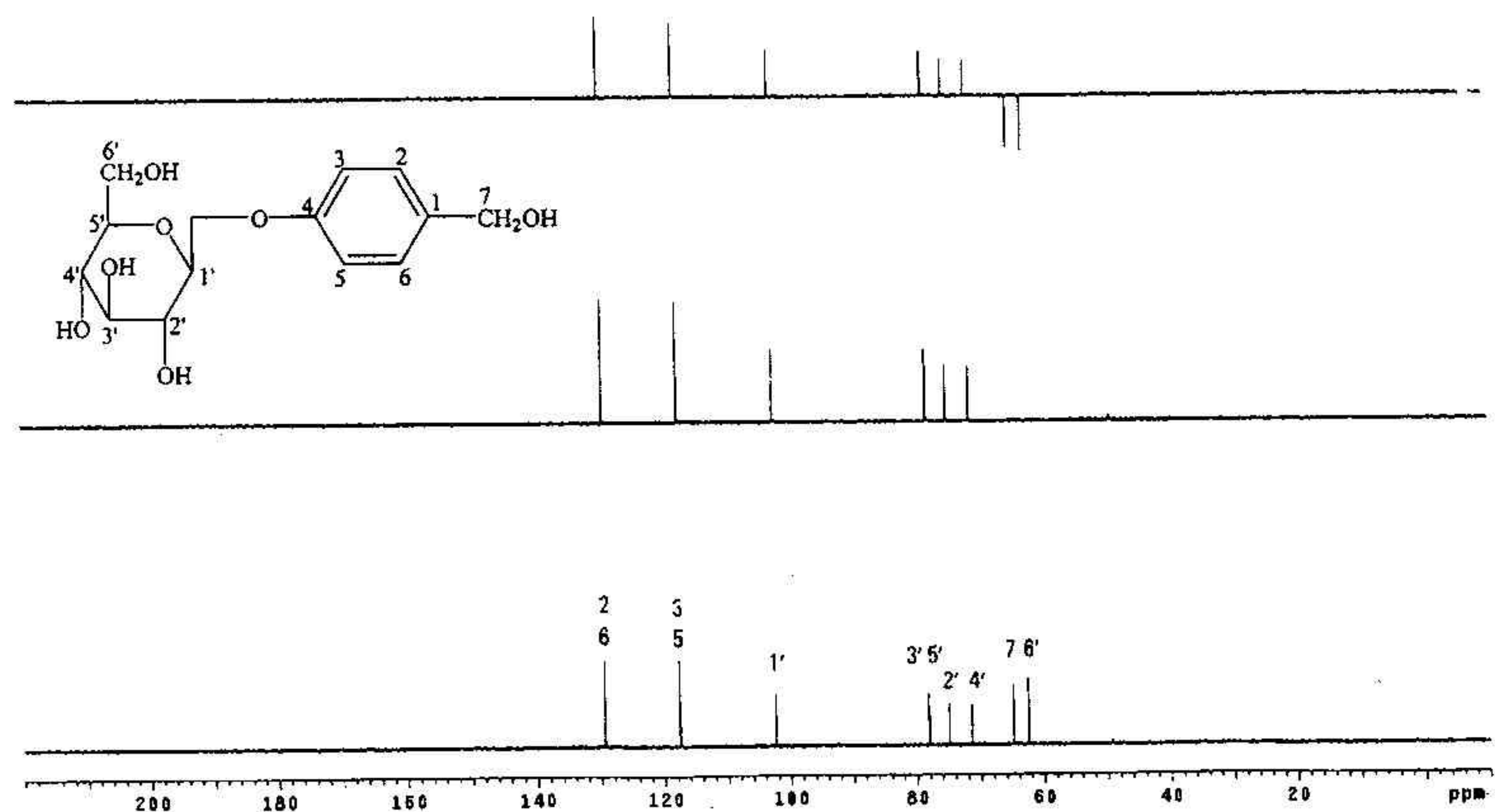
圖八 指標成分天麻素 Mass (EI)圖譜



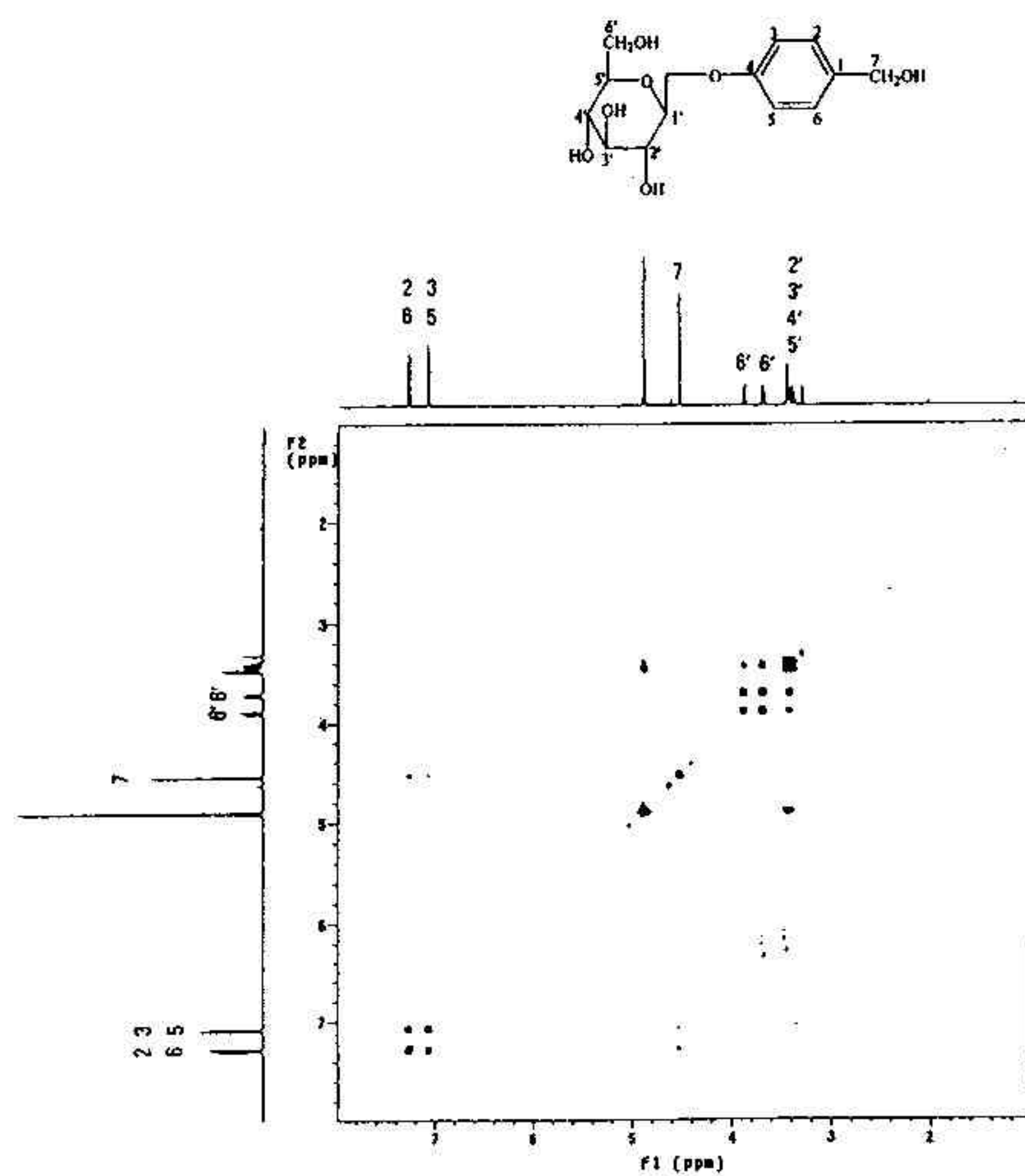
圖九 指標成分天麻素 ¹H-NMR (CD₃OD)圖譜



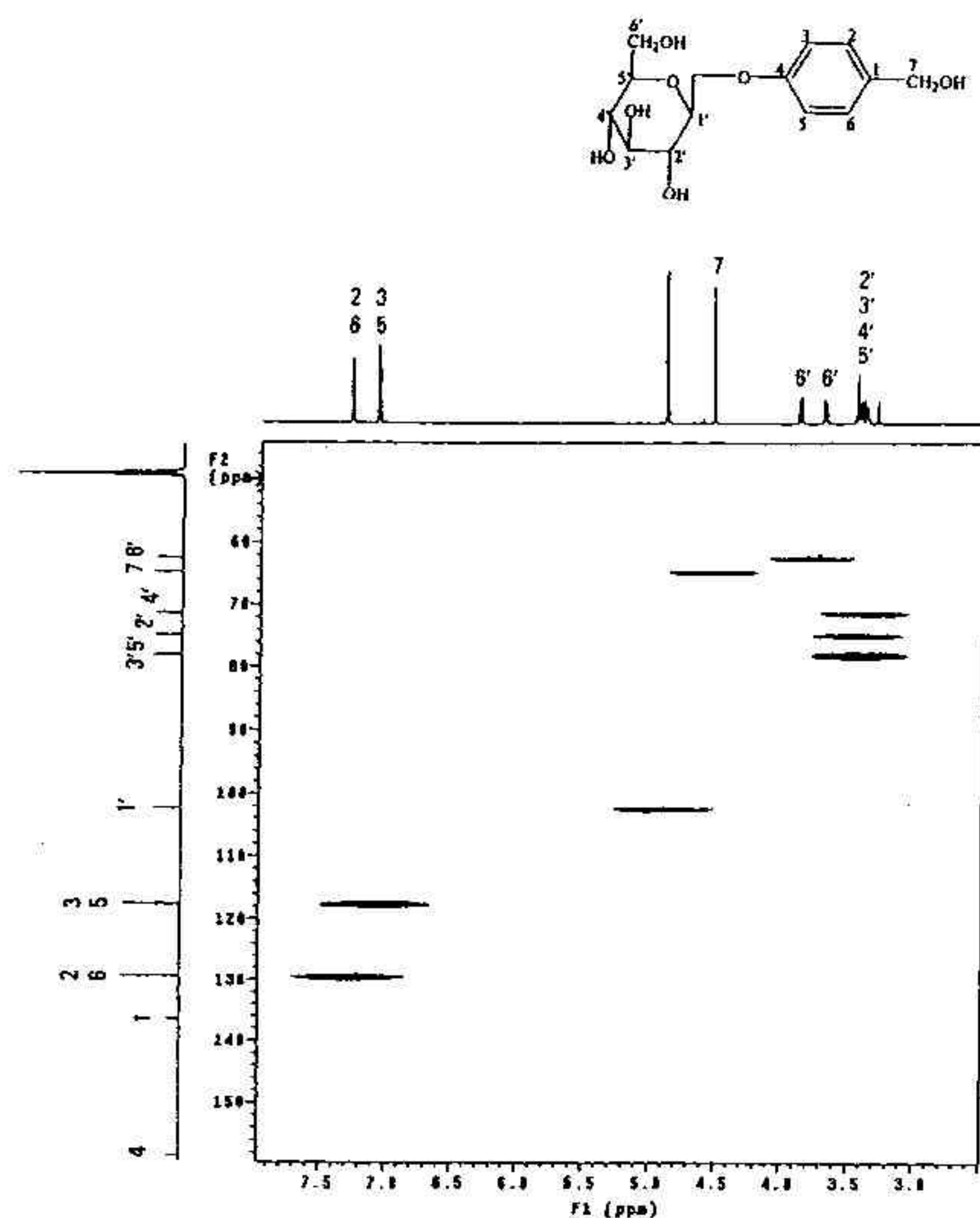
圖十 指標成分天麻素 ¹³C-NMR (CD₃OD)圖譜



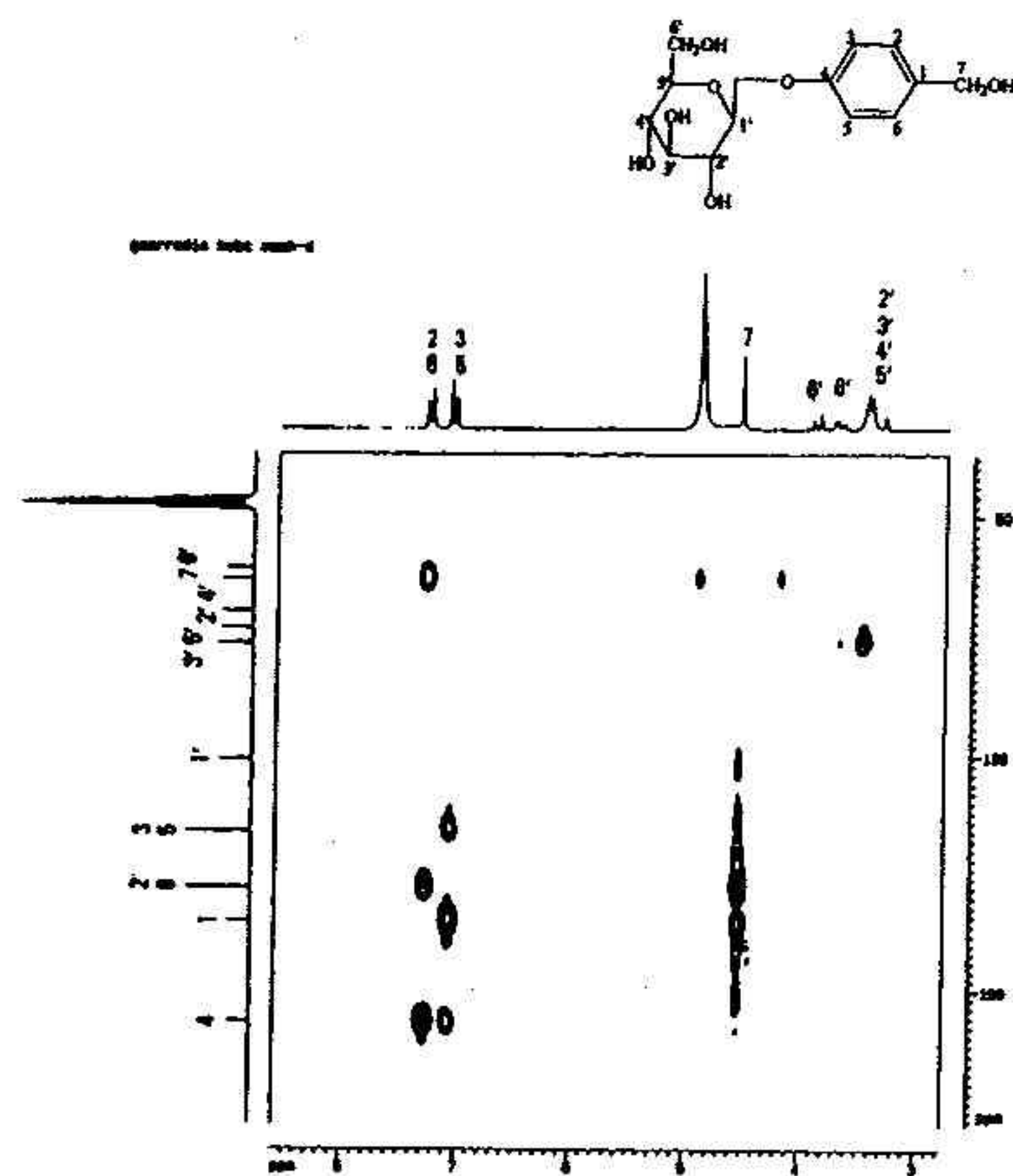
圖十一 指標成分天麻素 DEPT (CD₃OD)圖譜



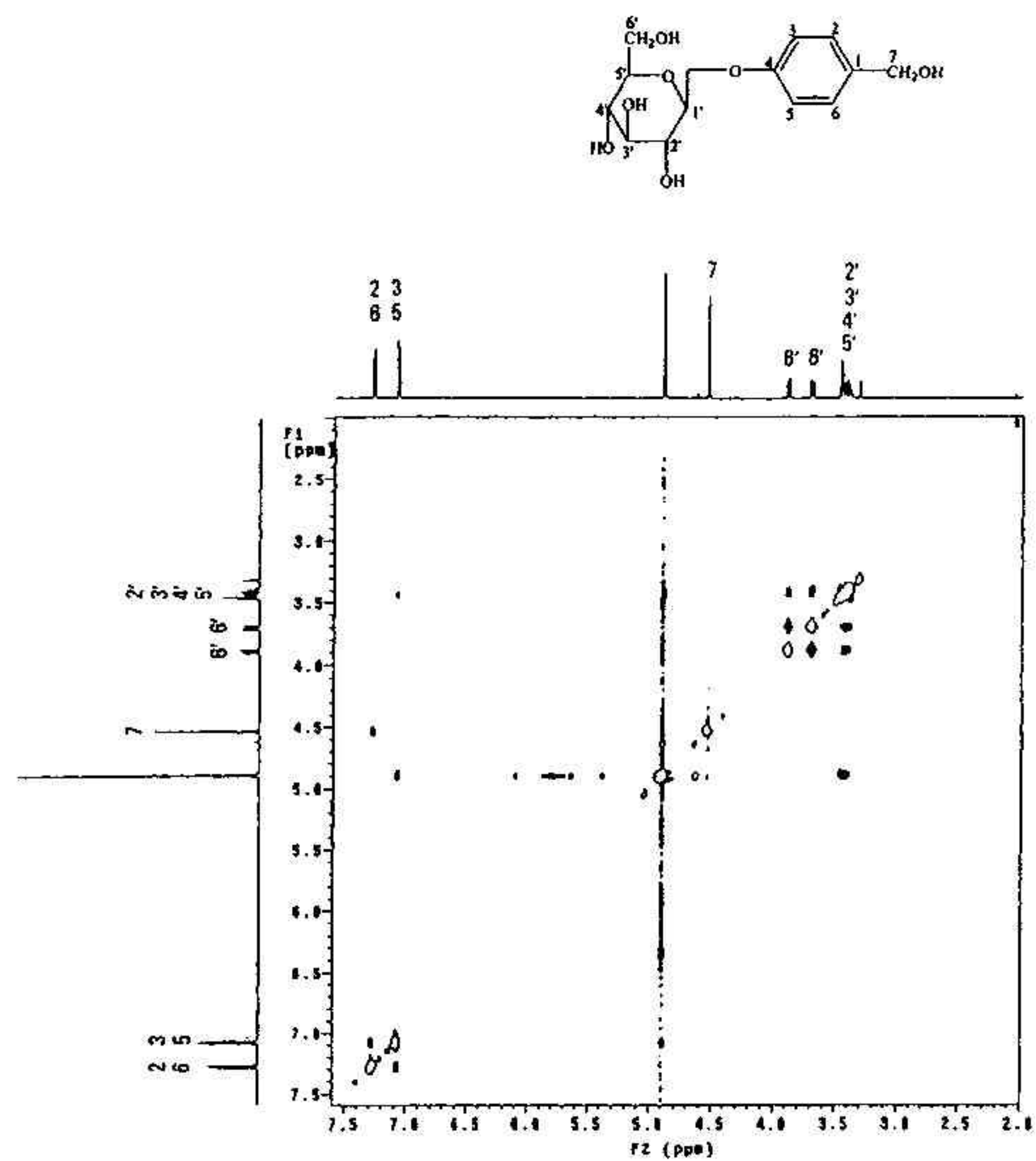
圖十二 指標成分天麻素 2D¹H-¹H COSY (CD₃OD)圖譜



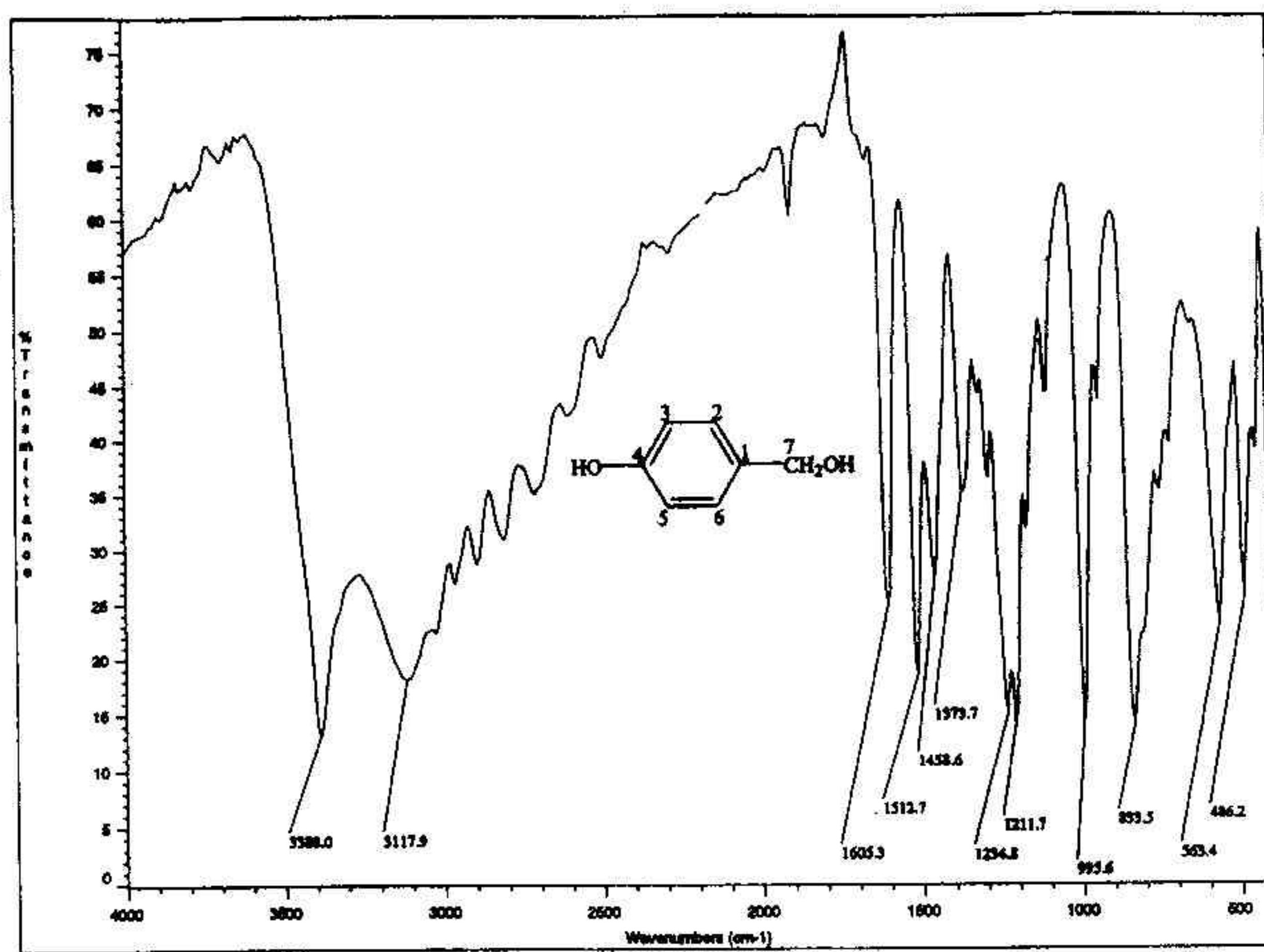
圖十三 指標成分天麻素 2D HMQC (CD₃OD)圖譜



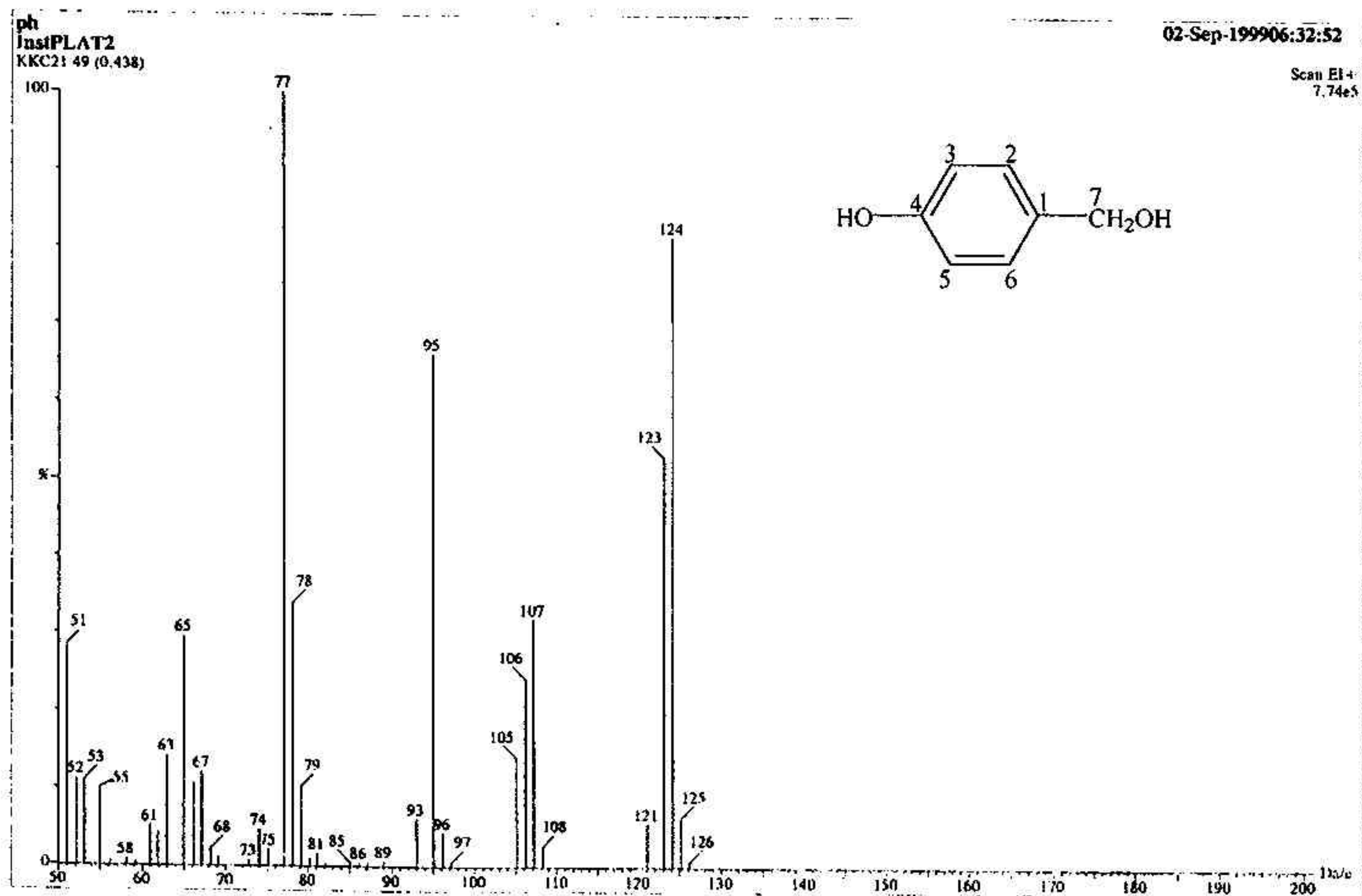
圖十四 指標成分天麻素 2D HMBC (CD₃OD)圖譜



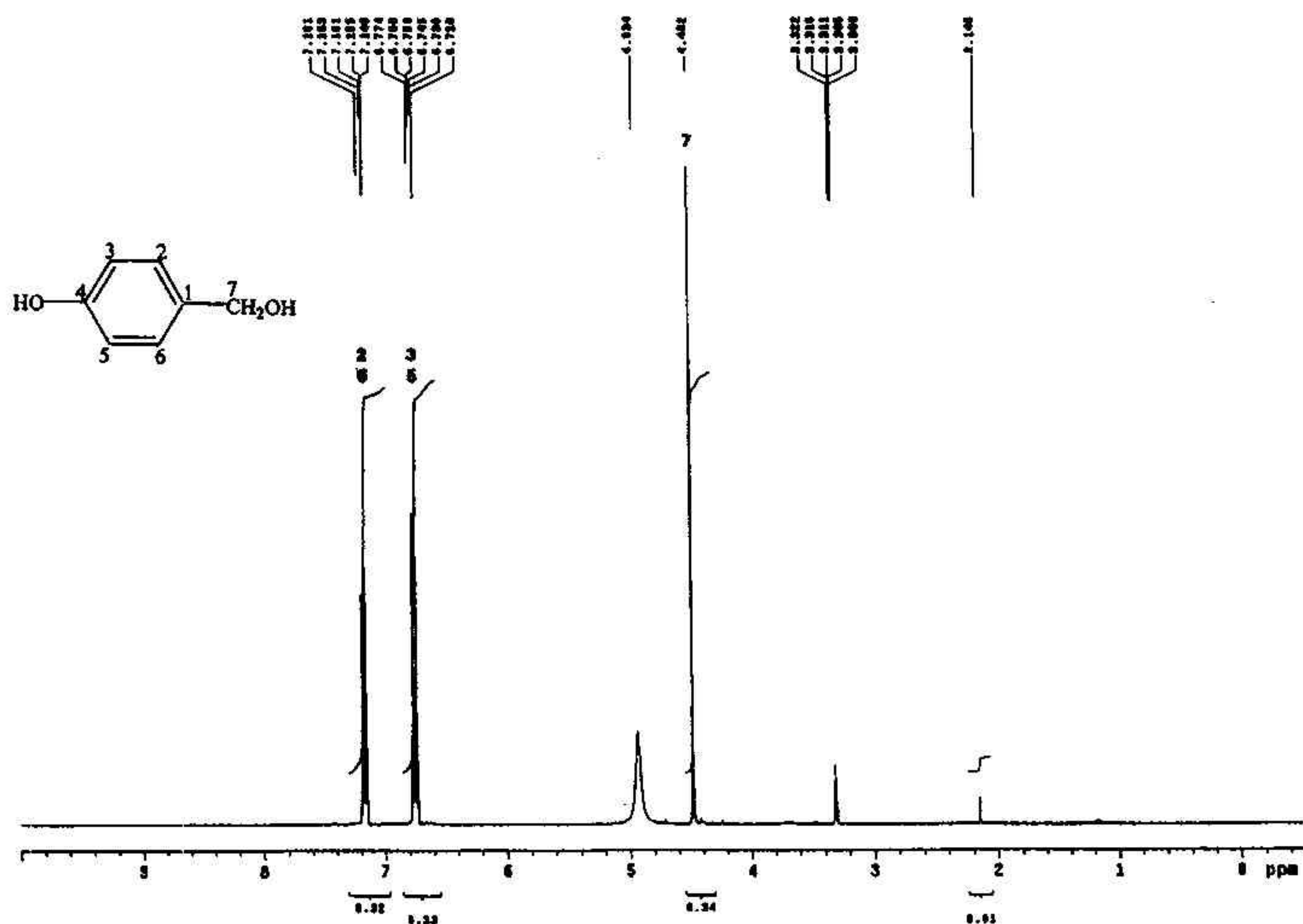
圖十五 指標成分天麻素 2D NOSY (CD₃OD)圖譜



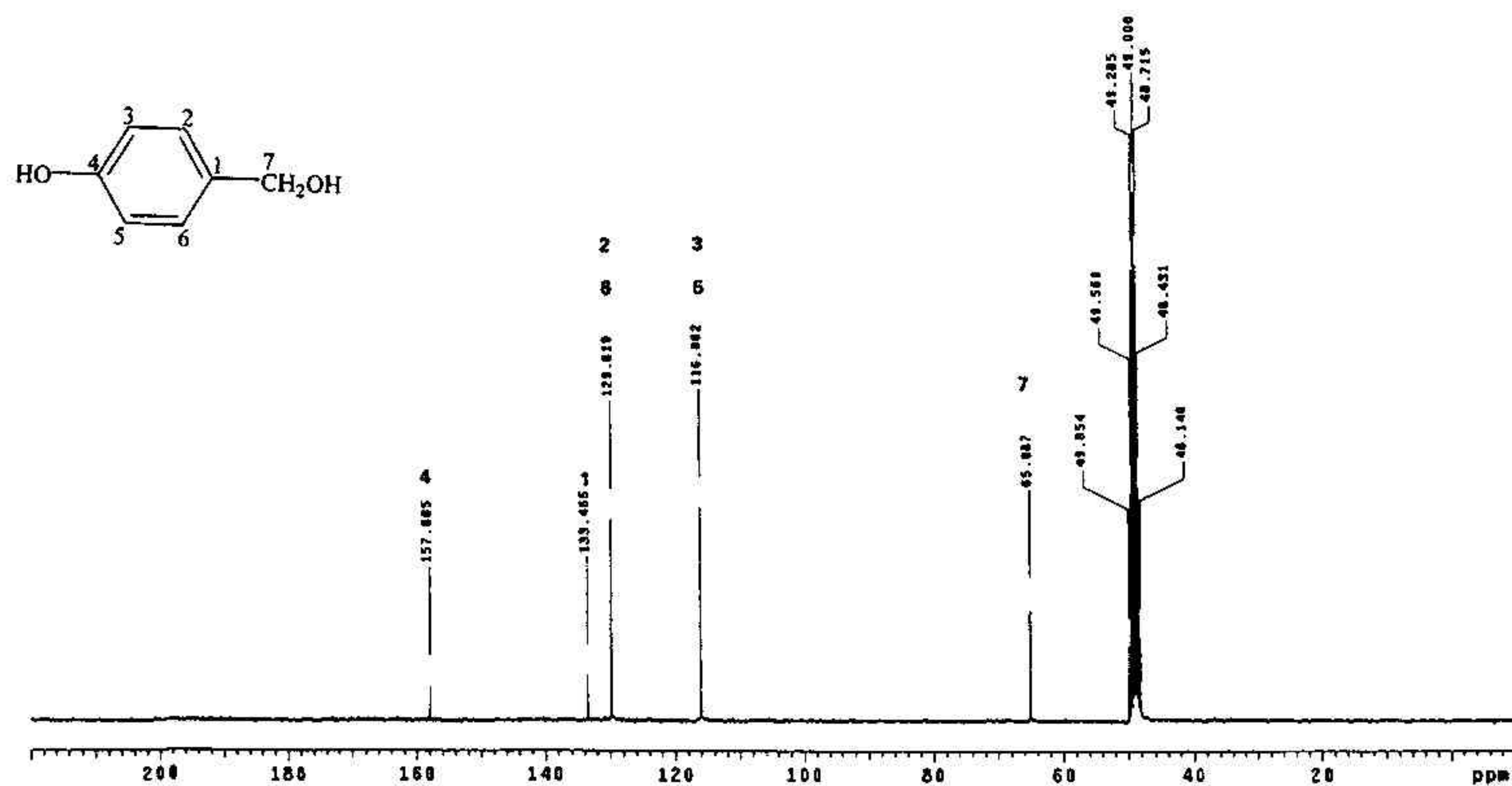
圖十六 指標成分天麻苷元 IR (KBr)圖譜



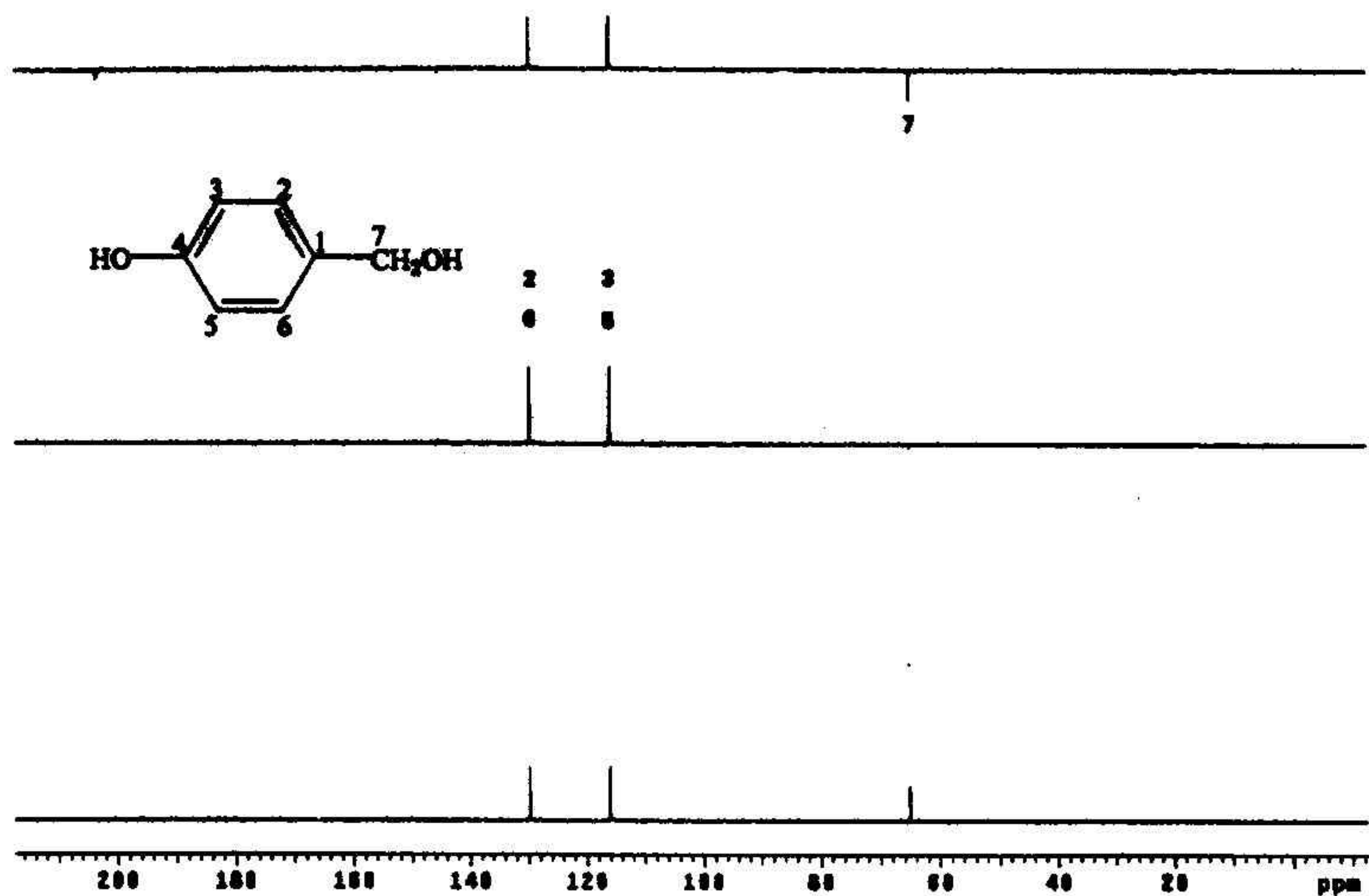
圖十七 指標成分天麻苷元 Mass (EI)圖譜



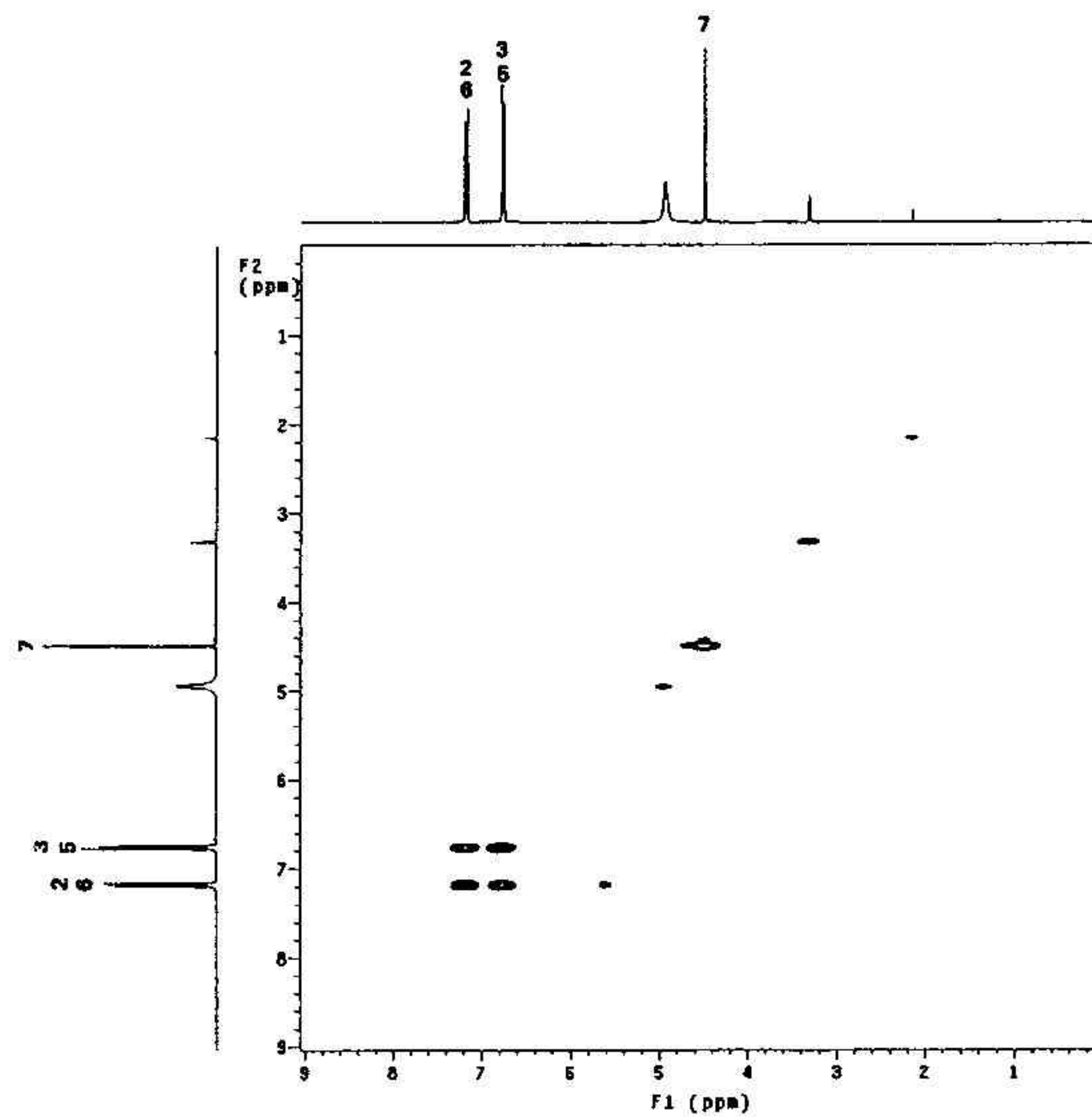
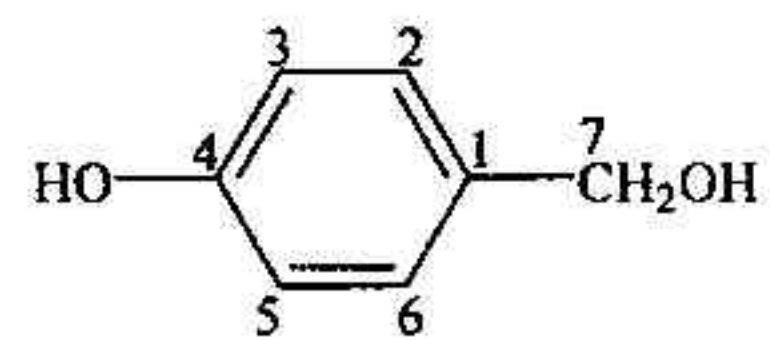
圖十八 指標成分天麻苷元 $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD)圖譜



圖十九 指標成分天麻苷元 ^{13}C -NMR (CD_3OD)圖譜



圖二十 指標成分天麻苷元 DEPT (CD_3OD)圖譜



圖廿一 指標成分天麻苷元 $2D^1H-^1H$ COSY (CD_3OD)圖譜