

天麻中天麻素含量的影响因子研究

袁胜浩^{1,2}, 王东¹, 张香兰¹, 张颖君^{1*}, 杨崇仁^{1*}

(1 中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源可持续利用国家重点实验室, 云南昆明 650204;

2 郧阳医学院附属太和医院, 湖北十堰 442000)

摘要: 应用高压液相色谱技术, 对产地、品种、以及炮制方法等因素对天麻中天麻素含量的影响进行了比较分析。结果表明, 炮制对天麻药材中天麻素的含量影响最大。对不同炮制方法的比较分析结果显示, 蒸制法可显著提高天麻素的含量。本文还讨论了天麻素在炮制过程中形成的可能机理。

关键词: 天麻; 天麻素; 炮制

中图分类号: Q 946

文献标识码: A

文章编号: 0253-2700 (2008) 01-110-05

The Influencing Factors on Gastrodin Content in the Herbal Materials of *Gastrodia elata* (Orchidaceae)

YUAN Shen-Hao^{1,2}, WANG Dong¹, ZHANG Xiang-Lan¹,
ZHANG Ying-Jun^{1*}, YANG Chong-Ren^{1*}

(1 State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China;

2 Taihe Hospital Affiliated to Yunyang Medical College, Shiyan 442000, China)

Abstract: The influencing factors on gastrodin content in the crude materials of *Gastrodia elata* were investigated by HPLC analysis. The results indicated that the preparing method of post harvest is a more important factor for the gastrodin content, comparing to those brought about by the growing areas and herbal varieties. Among the different processing methods, steaming produced the most impact effect on the increment of gastrodin in the herbal material. The possible mechanism of gastrodin formation during the crude process was also discussed.

Key words: *Gastrodia elata*; Gastrodin; Process

天麻 (*Gastrodia elata* Bl.) 又称赤箭、定风草、独播芝等, 为兰科多年生异养寄生植物, 是我国传统的药食两用常用中药材。药用块茎, 有平肝息风、镇惊止痛、镇静安神等功效。主产于云南、四川、陕西及贵州等省区, 现已普遍栽培于各地 (周铨等, 1987)。

按我国传统中医药的用药原则, 中药材采收后通常需炮制加工制成规范的饮片, 再行利用。天麻炮制的历史久远, 文献记载的炮制方法颇多, 常用的有: 烘烤法、煮制法、蒸制法等。还

有使用炒制法、蜜制法、姜制法以及直接晒干等加工方法。目前, 大多采用烘烤法或煮制法进行天麻的加工炮制 (叶定江和张世臣, 1997; 吕海文, 1996)。

天麻中含有多种酚类化合物。其中, 天麻素 (gastrodin) 有镇静和安眠等作用, 是天麻的主要有效成分之一, 目前已人工合成, 为常用安眠镇静药 (周俊等, 1979a, b, 1980; 周俊等, 1981; 郝小燕等, 2000; 王莉等, 2003; Taguchi 等, 1981; Noda 等, 1995; Lin 等, 1996; Hayashi 等,

* 通讯作者: Author for correspondence; Tel: 86-871-5223235; E-mail: zhangyj@mail.kib.ac.cn

收稿日期: 2007-06-21, 2007-08-20 接受发表

作者简介: 袁胜浩 (1980-) 男, 硕士研究生, 主要从事中药炮制及放线菌化感物质研究。

2002)。我国药典(国家药典委员会, 2005)以天麻素为指标成分鉴别天麻的质量。然而, 许多的研究报告指出, 天麻素在天麻中的含量不稳定, 不同来源的样品有显著的差异。因此, 阐明天麻素在天麻中形成与积累的规律, 对于中药材天麻的质量控制及合理利用有重要的意义。

阮德婧等(1988)在天麻化学成分研究的基础上, 建立了天麻素的定量分析方法。本文应用高压液相色谱技术, 进一步分析产地、品种、以及炮制方法等因子对天麻素含量的影响, 探讨天麻素在天麻炮制过程中的动态变化规律, 为天麻的采收与初加工工艺的优化, 以及质量体系的制定提供科学依据; 为保证天麻饮片及其中成药产品的质量提供基础资料。

1 材料和方法

1.1 供试材料

1.1.1 植物材料 新鲜天麻样品产自云南省昆明市嵩明县, 供炮制方法比较实验。其余样品均为干天麻, 粉碎后过 100 目筛, 供不同产地和品种的比较研究。样品分别来源于: 云南省昭通市镇雄县、盐津县、永善县、绥江县、彝良县、鲁甸县、大关县, 昆明市宜良县, 丽江市华坪县, 湖北、陕西、四川、甘肃和贵州等省份; 云南乌天麻和湖北宜昌红天麻, 以及云南乌天麻 (*G. elata* Bl. f. *glauca* S Chow) (父本) × 湖北宜昌红天麻 (*G. elata* Bl. f. *elata*) (母本) 杂交得到的 3 个杂交系, 湖北宜昌红天麻 (父本) × 云南乌天麻 (母本) 杂交得到的 3 个杂交系。试验样品除在出产地购买外, 其余均由本所周铨研究员和昭通市食品药品检验所杨廉喜先生提供。

1.1.2 试剂 天麻素对照品由中国云南省药品检验所提供。甲醇、乙腈为色谱纯, 其它试剂为分析纯。

1.1.3 仪器 高效液相色谱仪: 岛津 LC-10T 型 (日本), 包括 LC-10AD 泵, SPD-10Avp 紫外检测器和 SIL-10A 自动进样器。色谱柱: 汉邦科技 Lichrospher 5-C₁₈, 250 × 4.6 mm。冻干机: FD-5N (东京理化)。高压灭菌锅及电热鼓风干燥箱均为国产。

1.2 实验方法

1.2.1 天麻的炮制 将云南省昆明市嵩明县产的新鲜天麻样品 3 kg 切碎混匀, 平均分为 12 份, 分别以冷冻干燥、煮制、蒸制和烘烤等不同处理方法进行炮制加工, 冷冻干燥后粉碎。炮制条件分别为煮制: 100 ℃, 1.0 h; 蒸制: 100 ℃, 1.0 h 和 115 ℃, 0.5 h、1.0 h; 烤制: 80 ℃, 5 ~ 30 h, 间隔 5 h 取样。煮制具体方法为将水加热至沸腾后投入样品, 待水再次沸腾即开始计时。蒸制

和烤制均以投料后待温度达到要求即开始计时。

1.2.2 标准溶液的制备 精确称取干燥至恒重的天麻素对照品 4.8 mg 于 25 ml 容量瓶中, 以甲醇定容即得浓度为 0.192 mg/ml 的天麻素标准溶液。

1.2.3 供试溶液的制备 精确称取天麻样品粉末 0.5 g, 加甲醇 5 ml, 精确称重, 超声处理 30 min, 静置 24 h, 振荡后再超声处理 15 min, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 静置。取上清液用 0.45 μm 微孔滤膜过滤即得。

1.2.4 色谱条件 流动相为 0.1% 醋酸 (A) - 乙腈 (B), 按以下梯度 (A : B, v/v) 进行洗脱: 0 ~ 21 min, 96 : 4; 21 ~ 31 min, 80 : 20; 31 ~ 42 min, 70 : 30; 42 ~ 50 min, 96 : 4。流速: 0.7 ml/min, 柱温: 30 ℃, 检测波长: 270 nm, 进样量: 10 μl (注: 表 1 中样品 1 和 19, 表 2 中样品 9 和 10, 以及表 3 中样品 6 的进样量, 分别为 5 μl)。

1.3 方法学考察

1.3.1 标准曲线 取天麻素标准溶液, 按 2, 4, 6, 8, 10 和 12 μl 体积分别进样。按上述色谱条件测定峰面积, 以进样量 (x) 对应峰面积 (y) 绘制标准曲线, 计算回归方程。结果表明, 天麻素在 0.384 ~ 1.92 μg 范围内 $y = 206534x + 8485.6$, $r^2 = 0.9967$, 具有良好的线性关系。

1.3.2 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液, 重复进样 5 次, 每次 10 μl, 测定天麻素峰面积, 相对标准偏差 RSD = 1.0%。

1.3.3 重现性试验 取同一天麻药材样品, 按上述方法重复 5 次进行天麻素含量测定, 相对标准偏差为 RSD = 2.2%。

1.3.4 加样回收试验 取已知天麻素含量为 0.1065% 的药材 5 份, 精密称重, 再分别精密加入 0.504 mg/ml 天麻素对照品溶液 1 ml, 按前述方法进行 HPLC 定量分析。计算平均回收率为 98.54%, 相对标准偏差为 RSD = 0.31%。

1.3.5 稳定性试验 以同一供试品溶液间隔 1 小时进样测定, 每次进样 10 μl, 连续 12 小时, 观察室温下溶液的稳定性。结果表明, 供试品溶液中天麻素的吸收峰面积在 12 小时内基本无变化, 相对标准偏差 RSD = 1.0%, 稳定性良好。

1.4 样品测定

按上述供试溶液制备方法和色谱条件进行测定。在进行样品实际测定时, 表 1 中样品 1 和 19, 表 2 中样品 9 和 10, 以及表 3 中样品 6 的进样量, 根据其天麻素的含量调整为 5 μl。

2 结果与讨论

2.1 不同产地天麻中天麻素含量比较

对云南 (镇雄, 盐津, 永善, 绥江, 彝良, 鲁甸、大关、宜良, 华坪), 以及贵州、四川、

湖北、陕西和甘肃等不同产地的 24 个样品分析的结果表明,天麻素的含量最高可达 0.37% (云南镇雄),最低为 0.03% (贵州),相差达 10 余倍。即使同一产地,天麻素的含量也有显著的区别。例如:镇雄的 3 个样品 (1~3) 中,天麻素的含量分别为 0.37, 0.11 和 0.12%;永善的 4 个样品 (6~9) 中,天麻素的含量分别为 0.16, 0.09, 0.08 和 0.07%;彝良产的 3 个样品 (1~14) 中,天麻素的含量则分别为 0.13, 0.04, 0.10 和 0.13%。在分析的 25 个样品中,天麻素的平均含量为 0.12%。多数样品的含量则集中在 0.04%~0.17% 之间 (表 1)。

表 1 不同产地天麻中天麻素含量分析结果

Table 1 Gastrodin content in crude materials of *G. elata* from different producing areas

样品 Samples	天麻素含量 Gastrodin content (%)	样品 Samples	天麻素含量 Gastrodin content (%)
1	0.37	13	0.10
2	0.11	14	0.10
3	0.12	15	0.13
4	0.13	16	0.12
5	0.05	17	0.05
6	0.16	18	0.15
7	0.09	19	0.26
8	0.08	20	0.14
9	0.07	21	0.03
10	0.04	22	0.15
11	0.13	23	0.16
12	0.04	24	0.17

天麻样品: 1~4: 云南省昭通市镇雄县; 5: 昭通市盐津县; 6~9: 昭通市永善县; 10: 昭通市绥江县; 11~14: 昭通市彝良县; 15: 昆明市宜良县; 16: 昭通市鲁甸县; 17: 昭通市大关县; 18: 丽江市华坪县; 19: 湖北省; 20: 陕西; 21, 22: 贵州; 23: 四川; 24: 甘肃

天麻广布于亚洲东部,我国除西北部外,大多数省区均有分布。天麻具有特殊的生活方式,通过与真菌的共生从寄主摄取营养,特别在其生长发育阶段与密环菌有密切的共生关系。因此,天麻的生长需要特殊的自然环境。由于自然生态系统的破坏,野生天麻已日渐稀少,现大多为人工种植,天麻种植区域已遍布各地。鉴于天麻的腐寄生习性及其与微生物的共生关系,天麻栽培的方式、条件与生长环境均大致相似。分析的结果提示,尽管不同产地的天麻中天麻素含量有较大差异,但未能显示出一定的规律性,似乎应有

更为主导的因素影响天麻素的含量。

2.2 不同品种天麻中天麻素含量比较

根据花和花茎的颜色、块茎的形状和含水量等,天麻可分为若干个变型。如:红天麻 (*f. elata*)、乌天麻 (*f. glauca* S Chow)、绿天麻 (*f. viridis* Makino) 和黄天麻 (*f. flavida* S Chow) 等。其中,原变型红天麻分布最广,适应性强,产量高,为各地主要的栽培类型。乌天麻主产我国西南部,特别是云南省东北部和贵州、四川等地。分析结果表明,红天麻的天麻素含量显著高于乌天麻,前者的含量可达 0.34%。不论以红天麻为父本或母本,红天麻与乌天麻杂交系中天麻素的含量亦均低于红天麻 (表 2)。天麻素含量与天麻的形态变异显示了一定的相关性,提示天麻素的生物合成可能与植物形态变异的地理分化有关。有待于从生态学和分子遗传学的角度作进一步研究。

表 2 不同品种中天麻素的含量

Table 2 Gastrodin content in different varieties and forms of *G. elata*

样品 Samples	天麻素含量 Gastrodin content (%)	样品 Samples	天麻素含量 Gastrodin content (%)
1	0.18	6	0.03
2	0.09	7	0.09
3	0.03	8	0.06
4	0.18	9	0.22
5	0.13	10	0.34

天麻样品: 1~3: 云南乌天麻 (*f. glauca* S Chow) (父本) × 湖北宜昌红天麻 (*f. elata*) (母本) 杂交得到的 3 个杂交系; 4~6: 湖北宜昌红天麻 (父本) × 云南乌天麻 (母本) 杂交得到的 3 个杂交系; 7, 8: 云南乌天麻; 9, 10: 湖北宜昌红天麻

2.3 炮制对天麻素含量的影响

实验结果表明,新鲜和冻干天麻中的天麻素含量极低。经炮制加工后,天麻素的含量显著增加 (表 3)。提示采收后的加工过程对天麻素的形成和积累具有关键的作用。不同炮制方法对天麻素含量有明显的影响。而煮制法和蒸制法则显著提高天麻素的含量。115 蒸制 1 h (样品 40) 的天麻素含量达 0.27%, 是同一鲜天麻样品的 6 倍。在几种炮制方法中,蒸制是最为有效的方法。天麻素的含量随蒸制温度的升高和时间的延长而逐渐增高。在烘烤法中,天麻素的含量并不随烤制时间的增加而增加,与新鲜天麻中的含量

差异也不大，甚至还稍低。这可能与实验中的烤制温度太低有关，还需要对不同的烤制温度进行进一步的比较考查。

表 3 炮制方法对天麻素含量的影响

Table 3 Gastrodin content in crude materials of *G. elata* from different process methods

炮制方法 Processing method	天麻素含量 Gastrodin content (%)
鲜天麻	0.04
冷冻干燥	0.09
煮制 1 h	0.15
100 蒸制 1 h	0.14
110 蒸制 0.5 h	0.16
110 蒸制 1 h	0.27
80 烤制 5 h	0.02
80 烤制 10 h	0.03
80 烤制 15 h	0.02
80 烤制 20 h	0.02
80 烤制 25 h	0.02
80 烤制 30 h	0.03

天麻中含有多种酚类成分，其中，不少化合物的分子中存在有对羟基苯甲醇葡萄糖甙的结构单元（图 1），有的甚至是新鲜天麻中的主成分。蒸制过程中，在一定的温度、湿度和压力等条件下，这些前体化合物发生降解反应，形成天麻素，从而使天麻在炮制后天麻素的含量增加。

经计算，炮制方法、产地和品种三个因子对天麻素含量的变异系数（CV），分别为 1.0128，0.6165 和 0.7300。结合天麻的化学成分研究结果，以及以上的试验研究，可以认为天麻药材中的天麻素主要是在采收后的初加工过程中，也就是炮制过程中形成的。炮制方法是影响天麻的化

学组成和天麻素含量的重要因素，有效的炮制方法能提高天麻药材中天麻素的含量。根据本文的试验研究，天麻的炮制以蒸制法为佳，值得推广。我国药典（2005 年版）在对天麻药材的质量检测项下，除要求天麻素的含量按干燥品计算，不得少于 0.20% 外，似应补充采收后规范的炮制方法，才有可能保证天麻饮片达到标准。

初加工、储藏和运输过程中的化学物质（特别是有用物质）的变化规律是植物原料合理利用的基础，早已在国外引起重视，为 post harvest 的主要研究内容。中药炮制是我国传统中医药独特的制药技术，是我国传统中医药体系的重要组成部分，有悠久的历史。中药材根据中医药理论，按照辨证论治的要求“依法炮制”，制成具有独特性味和功能的中药饮片，成为中医配方用药的基本药物原料。炮制是我国传统中医药体系的重要组成部分。由于中药材的炮制是从长期实践经验积累总结而来，在对炮制的原理缺乏现代科学解释的前提下，不规范的炮制方法将导致中药饮片质量的不稳定，严重影响中药治疗的效果。本文的实验研究结果亦表明，炮制方法对于天麻素的含量和天麻饮片的质量有重要的影响。显然，针对我国中药材饮片生产中存在的问题，结合中药材规范化种植（GAP）和规范化采收（GCP）的实施，加强中药炮制的基础研究，阐明炮制前后化学成分和药理作用的变化规律，建立中药饮片的质量标准体系，对于保证中药饮片的质量，提高中药的治疗效果均具有重要的意义，也是中药现代化的重要方向之一。

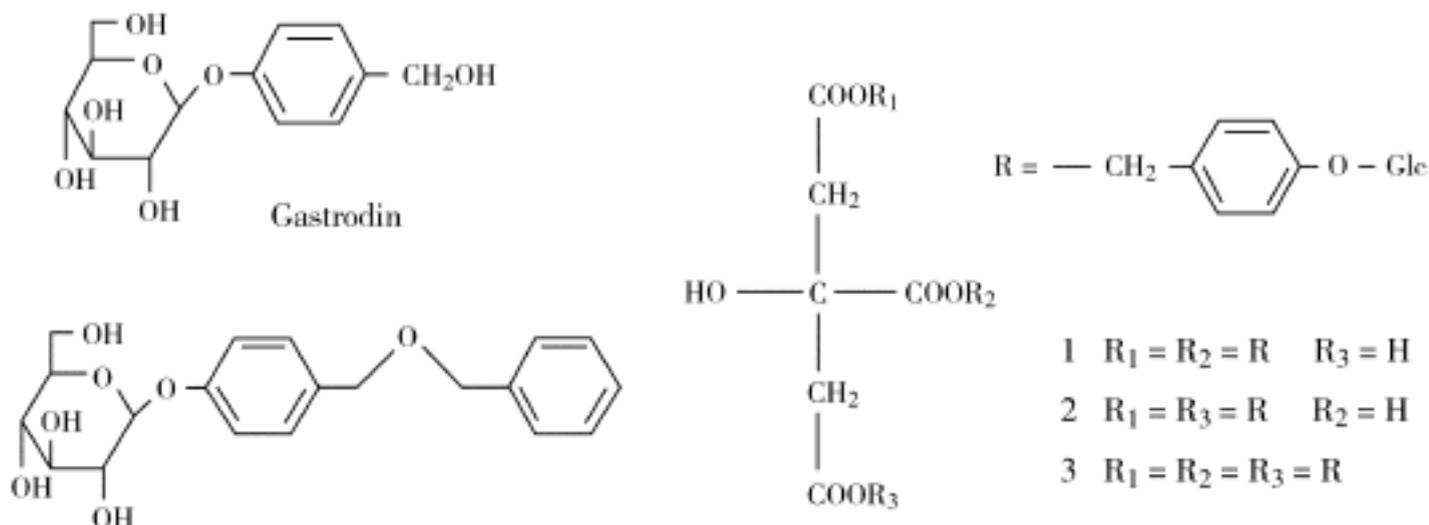


图 1 天麻素及其可能的前体化合物

Fig. 1 Gastrodin and its possible biosynthetic precursors

致谢 周铨研究员以及昭通市食品药品检验所杨廉喜先生提供天麻样品。

〔参 考 文 献〕

叶定江, 张世臣, 1997. 中药炮制学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 3—17

吕海文, 1996. 中药炮制学 [M]. 北京: 科学出版社, 16—21

国家药典委员会, 2005. 中华人民共和国药典 2005 版 (一部) [M]. 北京: 化学工业出版社, 3—266

周俊, 杨雁宾, 杨崇仁, 1979a. 天麻中的新酚甙——天麻素 [J]. 科学通报, 7: 335—336

周俊, 浦湘渝, 杨崇仁, 1981. 新鲜天麻的九种成分 [J]. 科学通报, 18: 1118—1120

周铨, 杨兴华, 梁汉兴等, 1987. 天麻形态学 [M]. 北京: 科学出版社
Hao XY (郝小燕), Tan NH (谭宁华), Zhou J (周俊), 2000. Constituents of *Gastrodia elata* in Guizhou [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 22 (1): 584—585

Hayashi J, Sekine T, Deguchi S *et al.*, 2002. Phenolic compounds from *Gastrodia rhizomes* and relaxant effects of related compounds on isolated smooth preparation [J]. *Phytochemistry*, 59: 513—519

Lin JH, Lin YC, Hau JP *et al.*, 1996. Parishins B and C from rhizomes of *Gastrodia elata* [J]. *Phytochemistry*, 42 (2): 549—551

Noda N, Kobayashi Y, Miyahara K *et al.*, 1995. 2, 4-bis (4-hydroxybenzyl) phenol from *Gastrodia elata* [J]. *Phytochemistry*, 39 (5): 1247—1248

Ruan DC (阮德婧), Yang CR (杨崇仁), Pu XY (浦湘渝), 1988. The quantitative analysis of phenols from *Gastrodia elata* and its related plants by HPLC [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 10 (2): 231—237

Taguchi H, Yosioka I, Kim IH, 1981. Studies on constituents of *Gastrodia elata* Blume [J]. *Chem Pharm Bull*, 29 (1): 55—62

Wang L (王莉), Xiao HB (肖红斌), Liang XY (梁鑫焱), 2003. Studies on chemical constituents of *Gastrodia elata* [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drug* (中草药), 34 (7): 584—585

Zhou J (周俊), Yang BY (杨雁宾), Yang CR (杨崇仁), 1979b. The chemistry of *Gastrodia elata* BL. I. The isolation and identification of chemical constituents of *Gastrodia elata* BL. [J]. *Acta Chim Sin* (化学学报), 37 (3): 183—189

Zhou J (周俊), Yang BY (杨雁宾), Yang CR (杨崇仁), 1980. The chemistry of *Gastrodia elata* BL. II. The syntheses of Gastrodin and related compounds [J]. *Acta Chim Sin* (化学学报), 38 (2): 162—166

* * * * *

〔上接 104 页〕

2.4 应使用法定计量单位。如浓度单位只用 mol/L, mg/L 等; 时间单位用 s (秒), min (分), h (小时), d (天) 等; 长度单位用 1 m, 2 cm, 3 mm, 5 μ m; 质量单位: 1 kg, 3 mg; 体积单位: 2 L, 5 mL, 7 μ L 等。

2.5 直接引用的主要参考文献必须全部列出, 不编号, 附于文末。未公开发表的资料勿列入。作者应对文献的准确性负责。文献著录按“著者—出版年”制。即在正文引用处, 酌情用“吴征镒 (1979) 或 (吴征镒, 1979) 的形式; 2 人时著录为: 吴征镒和王荷生 (1991), 3 人及以上著者时, 用 (王文采等, 1990), (Smith 等, 1981) 的形式。引用同一著者在同一年出版的多篇文献时, 出版年后小写字母 a, b, c 等示区别。中文按汉语拼音字母顺序, 英文以姓氏字母顺序。文末著录文献时, 著者 3 人以内的全部著录, 3 人以上只著录前 3 人, 后加“等”或“*et al.*”。著录各项如下, 切勿缺项。具体著录内容为:

A. 期刊: 在引用国内期刊的文献时, 无论其原文是用中文还是英文刊出时, 一律用英文形式列出, 但原文是中文的需列出作者中文名和中文刊名 (用括号排于相应位置); 若原文无英文题目, 则仍以中文形式, 按姓氏汉语拼音字母顺序排于文献的最前面。举例如下:

Cao CY (曹成有), Kou ZW (寇振武), Jiang DM (蒋德明) *et al.*, 2000. Interdune duccession in the Kerqin sandy region [J]. *Acta Phytocologica Sinica* (植物生态学报), 24 (3): 262—267

Zhou LH (周丽华), Wu ZY (吴征镒), 2001. Taxonomic revision of *Cotoneaster microphyllus* (Rosaceae) [J]. *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究), 23 (2): 162—168

B. 书: 在引用中文书籍文献时, 均用中文形式列出, 若引用的是翻译为中文的书籍, 也用中文形式列出, 并按姓氏汉语拼音字母顺序排于文献的最前面。

吴征镒, 路安民, 汤彦承等, 2003. 中国被子植物科属综论 [M]. 北京: 科学出版社, 496—499

Gibson N, Hope G, 1986. On the Origin and Evolution of Australasian Alpine Cushion Plants [A]. In: Barrow BA (ed). *Flora and Fauna of Alpine Australasia* [M]. Australia: CSIRO, 63—81

Takhtajan A, 1997. Diversity and Classification of Flowering Plants [M]. New York: Columbia University Press

翻译书籍: 翻译者 (原著者, 年份), 年份. 书名 (原书名) [M]. 出版地: 出版社

李正理译 (Esau K, 1977), 1979. 种子植物解剖学 (Anatomy of Seed Plants) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 63

〔下转 128 页〕