

不同采收期鼓槌石斛中酚类化合物的测定

杨虹¹, 毕志明¹, 项素云¹, 王峰涛^{1,2*}, 徐璐珊¹

(1. 中国药科大学 生药学研究室, 南京 江苏 210038; 2. 上海中医药大学中药标准化中心, 上海, 200032)

石斛为名贵中药, 具有滋阴清热、生津益胃、润肺止咳等功能。石斛资源极其紧缺。鼓槌石斛 *Dendrobium chrysotoxum* Lindl. 主要分布于我国云南、广西、四川等地, 资源比较丰富, 常作为石斛的代用品。因此对其进行了一系列研究, 从中分离得到联苕、苕及苕酮等具有一定的抗肿瘤活性的酚类化合物^[1-3]。本实验以该类化合物中量较高的鼓槌菲(chrysotoxene)、毛兰菲(confusarin)、毛兰素(erianin)、鼓槌石斛素(chrysotoxine)、鼓槌联苕(chrysotobibenzyl)及1,2,5-三羟基-7-甲氧基-苕酮(dendroflorin)为对照品, 对不同采收期的鼓槌石斛进行定量分析, 为其质量评价及探索最佳采收期提供科学依据。

1 仪器、试剂与材料

高效液相色谱仪(日本岛津 LC-10AD), 紫外检测器(日本岛津 SPD-10A), HS 色谱工作站, 色谱柱为 Shim-Pack CLC-ODS (20 cm × 4.6 mm), 甲醇为色谱纯(江苏汉邦科技有限公司生产), 其他试剂均为分析纯; 对照品鼓槌菲、毛兰菲、毛兰素、鼓槌石斛素、鼓槌联苕及1,2,5-三羟基-7-甲氧基-苕酮, 均为本室自制, 质量分数达98%以上。

实验所用材料采自中国药科大学植物园, 经徐红、丁小余博士鉴定为 *D. chrysotoxum* Lindl., 凭证标本存放于中国药科大学中药标本馆。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱为 Shim-Pack CLC-ODS (20 cm × 4.6 mm), 流动相为甲醇-水(58:42), 体积流量 1 mL/min, 检测波长 237 nm。

2.2 供试品溶液的制备: 精密称取石斛药材粉末 1 g, 置索氏提取器中, 加入氯仿 40 mL, 回流提取 3 h, 减压回收溶剂, 用甲醇定容至 5 mL 量瓶中, 微孔滤膜滤过。

2.3 对照品溶液的制备: 精密称取对照品鼓槌菲、毛兰菲、毛兰素、鼓槌石斛素、鼓槌联苕及1,2,5-三羟基-7-甲氧基-苕酮适量, 用甲醇溶解, 配成质量浓

度为 1 mg/mL 的溶液, 精密吸取适量, 以甲醇为溶剂, 分别配成 0.001、0.025、0.050、0.075、0.100 mg/mL 的混合对照品溶液(由于样品毛兰素的量较高, 故其质量浓度为其他对照品的 3 倍), 编号 #1、#2、#3、#4、#5。

2.4 线性关系的考察: 取对照品溶液 #1~#5, 分别进样 20 μL, 以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得回归方程: 毛兰菲 $Y = 788\,423.6 X + 1\,428.54$, $r = 0.999\,9$; 1,2,5-三羟基-7-甲氧基-苕酮 $Y = 556\,400.2 X - 1\,919.71$, $r = 0.999\,9$; 鼓槌石斛素 $Y = 527\,927.4 X + 515.53$, $r = 0.999\,9$; 毛兰素 $Y = 322\,402.2 X + 4\,419.54$, $r = 0.999\,9$; 鼓槌菲 $Y = 848\,471.9 X - 2\,548.72$, $r = 0.999\,9$; 鼓槌联苕 $Y = 626\,865.9 X - 2\,594.81$, $r = 0.999\,9$ 。线性范围为 0.02~2.0 μg, 毛兰素为 0.06~6.0 μg。

2.5 精密度试验: 取上述一定质量浓度的混合对照品溶液, 连续进样($n=6$), 结果对照品鼓槌菲、毛兰菲、毛兰素、鼓槌石斛素、鼓槌联苕及1,2,5-三羟基-7-甲氧基-苕酮峰面积的 RSD 分别为 1.24%、1.91%、1.68%、1.39%、1.32%、1.33%。

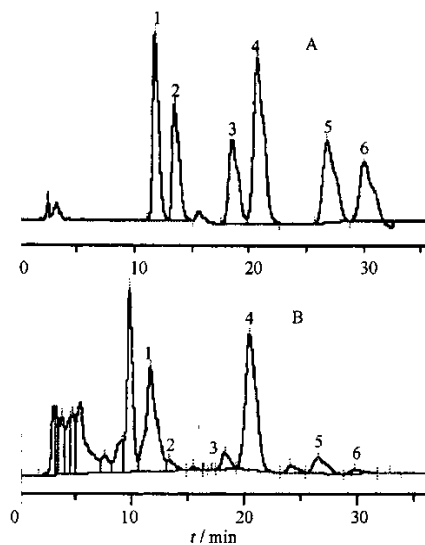
2.6 重现性试验: 取石斛药材粉末约 1 g, 5 份, 精密称定, 按 2.1 项下的制备得供试品溶液, 测定, 按峰面积与称样量的比值计算, 鼓槌菲、毛兰菲、毛兰素、鼓槌石斛素、鼓槌联苕及1,2,5-三羟基-7-甲氧基-苕酮的 RSD 分别为 2.47%、5.08%、4.34%、1.68%、3.72%、4.62%。

2.7 稳定性试验: 按 2.2 项下操作, 配制成一定质量浓度的对照品溶液, 室温放置, 分别于 0、12、24、36、60、72 h 进样, 鼓槌菲、毛兰菲、毛兰素、鼓槌石斛素、鼓槌联苕及1,2,5-三羟基-7-甲氧基-苕酮峰面积的 RSD 分别为 0.92%、1.71%、2.04%、2.04%、1.81%、1.23%, 表明上述各成分在 72 h 内稳定。

2.8 回收率试验: 精密称取石斛药材粉末 7 份, 0.5 g/份, 1 份为空白对照, 其余各份加入对照品, 按 2.1

项下操作,由回归方程计算样品中各对照品的量,鼓槌菲、毛兰菲、毛兰素、鼓槌石斛素、鼓槌联苳及 1,2,5-三羟基-7-甲氧基-茛酮的平均回收率($n=6$)分别为 95.9、97.0、101.6、96.0、97.2、94.0,RSD 分别为 2.54%、1.86%、2.30%、1.62%、1.87%、1.65%。

2.9 样品测定:按色谱条件,以鼓槌菲、毛兰菲、毛兰素、鼓槌石斛素、鼓槌联苳和 1,2,5-三羟基-7-甲氧基-茛酮为对照品,考察不同采收时间的鼓槌石斛中各成分量变化($n=3$),结果见图 1,表 1。



1-毛兰菲 2-1,2,5-三羟基-7-甲氧基-茛酮 3-鼓槌石斛素
4-毛兰素 5-鼓槌菲 6-鼓槌联苳
1-confusarin 2-dendroflorin 3-chrysotoxine 4-erianin
5-chrysotoxene 6-chrysotobibenzyl

图 1 对照品(A)和样品(B) HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of reference substances (A) and sample (B)

3 讨论

流动相的选择:由于石斛中的组分相当复杂,各组分达到理想分离较为困难,经过多次实验优选,本

表 1 不同采收期鼓槌石斛中酚类化合物的测定 ($n=3$)
Table 1 Determination of phenols in *D. chrysotoxum* collected in different time ($n=3$)

编号	采收时间	毛兰菲/%	1,2,5-三羟基-7-甲氧基-茛酮/%	鼓槌石斛素/%	毛兰素/%	鼓槌菲/%	鼓槌联苳/%	总量/%
1	2001-01	0.025	0.009	0.019	0.244	0.008	0.005	0.310
2	2001-02	0.020	0.009	0.013	0.058	0.001	0.002	0.103
3	2001-03	0.005	0.002	0.001	0.017	0.001	0.000	0.026
4	2001-04	0.012	0.005	0.005	0.124	0.004	0.001	0.151
5	2001-05	0.012	0.013	0.011	0.100	0.002	0.002	0.140
6	2001-06	0.032	0.010	0.021	0.349	0.004	0.010	0.426
7	2001-07	0.066	0.008	0.012	0.211	0.011	0.004	0.312
8	2001-08	0.101	0.009	0.017	0.315	0.012	0.008	0.462
9	2001-09	0.081	0.015	0.027	0.356	0.010	0.028	0.598
10	2001-10	0.035	0.016	0.010	0.162	0.008	0.003	0.234
11	2001-11	0.058	0.022	0.024	0.566	0.007	0.022	0.699
12	2001-12	0.024	0.006	0.013	0.243	0.008	0.010	0.304

实验选用甲醇-水(58 : 42)为流动相进行分离,取得较好效果。

检测波长的选择:联苳、菲及茛酮类化合物的最大吸收波长在 210、270 及 257 nm 左右,在 237 nm 处各化合物均有较强的吸收,经综合考察并结合参考文献选择 237 nm 为检测波长。

从表 1 可以看出不同采收期的样品各成分总量有明显差异,3 月时量最低,从 4 月开始各成分量逐渐增高,以后分别在 6 月、9 月及 11 月达到 3 个高峰,其中 11 月量达到最高。从总体上讲这几种对照品在春季 2~4 月量最低,秋冬季量相对较高,由此可以看出传统上石斛药材的采收时间定于秋冬季是有科学道理的。

References:

[1] Yang H, Gong Y Q, Chou G X, et al. Studies on the chemical constituents of *Dendrobium chrysotoxum* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 11, 972-974.
[2] Yang H, Wang Z T, Chou G X, et al. Studies on the chemical constituents of *Dendrobium chrysotoxum* II [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2002, 5, 367-369.
[3] Ma G X, Xu G J, Xu L S, et al. A new hibenzyl derivative, chrysotoxine from *Dendrobium chrysotoxum* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1996, 31 (3): 222-225.

胡黄连质量评价方法的研究

郭国庆,张小茜

(北京市药品检验所,北京 100035)

胡黄连为我国传统中药,为玄参科植物印度胡黄连 *Picrorhiza kurooa non* Royle ex Benth. 的干燥

根茎,一向依赖进口。20 世纪 60 年代,在西藏和云南西北部发现同属植物西藏胡黄连 *P.*