

气相色谱法测定不同采收月份和年限金钗石斛中石斛碱

蔡伟¹, 林宏英¹, 张宏桂¹, 孙志蓉^{1*}, 廖晓康², 严建红²

(1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102; 2. 赤水市信天中药产业开发有限公司, 贵州 赤水 564700)

[摘要] 目的: 测定不同采收月份和年限金钗石斛中石斛碱的含量, 探索不同采收月份和年限石斛碱含量变化规律。方法: 采用气相色谱法测定不同采收月份和年限金钗石斛中石斛碱的含量。结果: 不同采收月份中, 9 月份石斛碱含量最低, 为 0.239%, 1 月份石斛碱含量最高, 达 0.559%, 不同采收年限中, 一年生石斛碱含量最高, 达 0.546%。结论: 不同月份、不同年限的金钗石斛中石斛碱均有明显差异, 实验为金钗石斛采收期的确定提供评价依据。

[关键词] 金钗石斛; 石斛碱; 气相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)11-0062-03

Content Determination of Dendrobine in *Dendrobium nobil* from Different Collection Periods by Gas Chromatography

CAI Wei¹, LIN Hong-ying¹, ZHANG Hong-gui¹, SUN Zhi-rong^{1*}, LIAO Xiao-kang², YAN Jian-hong²

(1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China;

2. Chishui Xintian Traditional Chinese Medicine Industry Development Co., Ltd, Chishui 564700, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the content of dendrobine in *Dendrobium nobil* from different collection periods, to discover the inherent rule about the content change owing to different collection periods. **Method:** Determinate the content of dendrobine in *D. nobil* from different collection periods by gas chromatography. **Result:** The content of dendrobine varies in different harvest time, with 0.239% at the lowest point in September and

[收稿日期] 20110117(005)

[基金项目] “十一五”国家科技支撑计划项目(2009BAI74B02-3)

[第一作者] 蔡伟, 硕士研究生, 从事中药质量控制方法研究, E-mail: 357743447@qq.com

[通讯作者] * 孙志蓉, 博士, 副教授, 从事药用植物资源培育、质量与开发研究, E-mail: zrs67@126.com, Tel: 010-84738334

- [6] 宋小妹, 刘越, 蔡宝昌. 珠子参化学成分研究[J]. 沈阳药科大学学报, 2010, 27(8): 626.
- [7] 陈涛, 龚张斌. 珠子参对 S-180 荷瘤小鼠抑瘤效应及免疫学机制的研究[J]. 实用医学进修杂志, 2003, 31(4): 211.
- [8] 宋小妹, 李林, 杨光明, 等. 不同产地珠子参中竹节皂苷 IV a 含量测定[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(7): 885.
- [9] 屠鹏飞. 中药指纹图谱指定的方法学探讨[C]. 现代化中药产业关键技术系列研讨会(一): 国际色谱指纹图评价中药质量研讨会, 2001.
- [10] 吴忠. 质量计量学-中药色谱指纹图谱的解析与特征表达[J]. 中药材, 2003, 26(8): 599.
- [11] 陈军辉, 谢明勇, 王凤美, 等. 聚类分析法用于西洋参样品分类研究[J]. 分析测试学报, 2006, 25(2): 20.
- [12] 梁逸曾, 俞汝勤. 分析化学手册. 第 10 分册[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 328.
- [13] 聂磊, 罗国安, 曹进, 等. 中药二维信息指纹图谱模式识别[J]. 药学报, 2004, 39(2): 136.
- [14] 朱晓勤, 尹莲. 化学模式识别在中药分类和质量评价中的应用[J]. 中华中医药学刊, 2007, 25(10): 2111.

[责任编辑 蔡仲德]

0.559% at the highest point in January. The dendrobine content of the annuals is 0.546%, which is the largest among that of different harvest years. **Conclusion:** This offered evidence to determine the most appropriate harvest time for *D. nobil*.

[Key words] *Dendrobium nobil*; dendrobine; gas chromatography

金钗石斛 *Dendrobium nobile* Lindl. 是我国常用的名贵中药材石斛的来源之一,为兰科石斛属多年附生草本植物,具有益胃生津、滋阴清热之功效^[1]。其主要化学成分为生物碱、多糖、倍半萜和酚类等化合物^[2-3]。现代药理研究表明,金钗石斛具有较好的抗弹性白内障作用,其乙酸乙酯提取物对人肺癌细胞,人卵巢肺癌细胞和人早幼粒细胞白血病具有显著的细胞毒性作用^[4-5]。石斛碱为金钗石斛的特征性成分,2010年版《中国药典》以石斛碱含量作为金钗石斛的质量控制指标^[1]。其石斛碱的测定方法主要有气相色谱法^[6-7],故本实验以石斛碱为指标,用气相色谱法对不同采收月份和年限的金钗石斛石斛碱的含量进行测定并比较,为金钗石斛的采收期和药材质量控制提供参考。

1 材料

安捷伦 7890A 型气相色谱仪,安捷伦 7683B 自动进样器(美国安捷伦公司);METTLER-AE240 型 1/10 万电子分析天平(瑞士梅特勒公司)。

石斛碱对照品(北京中医药大学中药学院新药中心实验室自制,纯度 >98%),萘、甲醇,甲酸均为分析纯。金钗石斛采集自贵州赤水市旺隆镇鸭岭村及红花村石斛种植基地。不同采收月份采样的金钗石斛均为 2 年生药材,不同年限样品均为 11 月采收,经北京中医药大学中药学院孙志蓉副教授鉴定为金钗石斛 *D. nobile*。

2 方法

2.1 色谱条件 DB-1 弹性石英毛细管柱(0.25 μm × 0.25 mm × 30 m),程序升温初始温度 80 ℃,以 10 ℃·min⁻¹ 的速率升温至 250 ℃,保持 10 min;进样口温度 250 ℃,检测器 FID,温度 250 ℃,载气 N₂,流速 1 mL·min⁻¹,进样量 1 μL,分流比(5:1),氢气 30 mL·min⁻¹,空气 400 mL·min⁻¹,尾吹 30 mL·min⁻¹。

2.2 溶液的制备

2.2.1 内标溶液的制备 精密称取萘对照品 25.2 mg,置 100 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀。再精密量取 25 mL 溶液,置 250 mL 量瓶中,

加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取石斛碱对照品 12.4 mg,置 50 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,再精密量取 5 mL 溶液,置 50 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 取各供试品(鲜品干燥后粉碎)粉末(过三号筛)约 0.25 g,精密称定,置 100 mL 圆底烧瓶中,精密加入含 0.05% 甲酸的甲醇溶液 50 mL,密塞,称定质量,加热回流 3 h,放冷,再称定质量,用含 0.05% 甲酸的甲醇溶液补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液备用。精密量取内标溶液 1 mL 置 5 mL 量瓶中,加续滤液至刻度,摇匀,即得。

2.3 校正因子测定 精密量取内标溶液 1 mL 置 5 mL 量瓶中,加对照品溶液至刻度,摇匀,吸取 1 μL 注入气相色谱仪,计算校正因子($F = 1.31$)。

2.4 标准曲线及其方法学考察

2.4.1 系统适应性试验 取石斛碱对照品溶液,内标溶液和样品溶液,分别取 1 μL 注入气相色谱仪,测得气相色谱图。见图 1。结果表明,内标物未与金钗石斛中其他峰重叠,并与石斛碱峰完全分离。理论塔板数按萘计不低于 100 万,石斛碱峰与萘峰分离度大于 3。

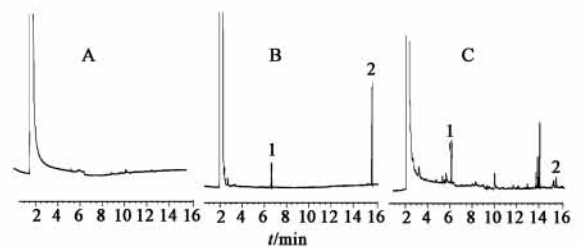


图1 金钗石斛气相色谱

A. 空白溶液; B. 对照品; C. 样品; 1. 萘; 2. 石斛碱

2.4.2 标准曲线 分别精密量取石斛碱对照品溶液 0.1, 0.4, 0.6, 0.8, 1 mL, 各置 2.5 mL 样品瓶中,用氮吹仪吹干后,分别精密加 1 mL 内标溶液溶解,制成 2.48, 9.92, 14.88, 19.84, 24.8 mg·L⁻¹ 的溶液,按上述气相色谱方法操作,进样量均为 1 μL,以浓度为横坐标,峰面积比值(各浓度对照品溶液峰面

积/内标物峰面积)为纵坐标,绘制标准曲线,回归方程 $Y=0.0307X-0.0256$ ($r=0.9998$),表明石斛碱在 $2.48 \sim 24.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 具有良好的线性关系。

2.4.3 精密度试验 取同一份对照品溶液,连续进样 5 次,记录色谱峰面积比值(石斛碱峰面积/内标物峰面积),RSD 1.5%。表明精密度良好。

2.4.4 重复性试验 取同一批样品,精密称取 5 份,按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液,依法测定石斛碱的含量,RSD 2.2%。

2.4.5 稳定性试验 取同一份供试品溶液,分别于 0,3,6,9,12,24 h 进行分析,测得石斛碱的峰面积比值(石斛碱峰面积/内标物峰面积),RSD 2.4%。表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4.6 回收率试验 精密称取同一批已知含量的金钗石斛(0.395%)药材约 0.125 g,6 份,分别精密加入一定量的石斛碱对照品,按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液,测定,计算其平均回收率为 97.6%,RSD 1.9%,结果见表 1。

表 1 石斛碱加样回收率试验

称样量/g	样品中量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
0.125 5	0.495 7	0.496 0	0.995 2	100.7	97.6	1.9
0.125 3	0.494 9	0.496 0	0.985 8	99.0		
0.124 9	0.493 4	0.496 0	0.968 0	95.7		
0.125 4	0.495 3	0.496 0	0.974 6	96.6		
0.125 7	0.496 5	0.496 0	0.971 4	95.7		
0.125 3	0.494 9	0.496 0	0.980 5	97.9		

2.5 含量测定 吸取按 2.2.3 项下制备的各供试品溶液 1 μL ,注入气相色谱仪,测定,即得。测定结果见表 2。1~4 年不同采收年限金钗石斛中石斛碱的含量分别为 0.546%,0.395%,0.345%,0.363%。

表 2 不同采收期金钗石斛中石斛碱的含量

采收时期/月	石斛碱/%	采收时期/月	石斛碱/%
1	0.559	7	0.334
2	0.387	8	0.246
3	0.482	9	0.239
4	0.362	10	0.375
5	0.323	11	0.324
6	0.340		

3 讨论

结果表明金钗石斛中石斛碱的含量在不同采收年限中,以 1 年生石斛碱含量最高,在不同采收月份中,以 1 月份石斛碱含量最高。1 月份到 3 月份相对最高,4~7 月份有所下降,到 8,9 月份降到最低,10 月份又开始升高。其中 1 月份含量最高达到 0.559%,9 月份含量最低,为 0.239%,两者相差 1 倍多;而生长年限越长,石斛碱含量越低,第四年反而略微有些增加,其中 1 年生含量最高,达到 0.546%。

金钗石斛全年均可采收,石斛碱为金钗石斛特

有的成分,若以提取纯化石斛碱为目的,建议采收 1 年生 1 月份药材,而确定金钗石斛的采收期需要考虑多指标(石斛碱、总多糖、总生物碱)的含量,生物积累量(产量、折干率),以及当地采收情况等各方面的因素,研究结果为确定金钗石斛最佳采收期提供了参考依据。

[参考文献]

[1] 中国药典.一部[S].2010:85.
 [2] 张雪,高昊,韩慧英.金钗石斛中的倍半萜类化合物[J].中草药,2007,38(12):1771.
 [3] 张雪,高昊,王乃利.金钗石斛中的酚性成分[J].中草药,2006,37(5):652.
 [4] 魏小勇,龙艳.金钗石斛生物碱对糖性白内障大鼠诱导型一氧化氮合酶基因的调控[J].解剖学研究,2008,30(3):177.
 [5] 罗文娟,王光辉,张雪,等.金钗石斛茎提取物联苄类化合物对人肝癌高侵袭转移细胞株 FHCC-98 增殖的抑制[J].中国临床康复,2006,43(10):150.
 [6] 华茉莉,杨洋,沈志伟.气相色谱法测定金钗石斛药材中石斛碱的含量[J].中药材,2006,29(4):338.
 [7] 黄晓燕,乙引.气相色谱法测定金钗石斛中石斛碱的含量[J].贵州师范大学学报:自然科学版,2007,25(4):92.

[责任编辑 邹晓翠]