

基于 UPLC-QTOF-MS 分析不同产地铁皮石斛化学成分含量差异

陈定康^{1,2,3} 李芝兰^{1,3} 杨 柳^{1,2*} 胡江苗¹¹中国科学院昆明植物研究所; ²中国科学院昆明植物研究所植物医生研发中心, 昆明 650201;³中国科学院大学, 北京 100049

摘要: 提取不同产地铁皮石斛醇提物, 运用超高效液相色谱-串联四级杆-飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS)等技术对其进行分析。结合数据分析软件和本地数据库, 对化学成分进行分析。结果: 从醇提物中共鉴定了(-)-lirioresinol B、fructose-phenylalanine、香草酸、对羟基苯甲酸、石斛碱等 32 种成分, 其中 13 种化合物为共有成分。同时对铁皮石斛中主要的两个成分——石斛酚和柚皮素的含量进行了定量分析, 结果显示在不同产地铁皮石斛醇提物中这两种化合物的含量存在差异。石斛酚的含量范围为 0.080 0~9.593 5 mg/g, 柚皮素的含量范围为 0.032 1~0.187 3 mg/g。结果证明石斛酚和柚皮素可以作为潜在的铁皮石斛质量评价指标。本次实验对全国主产区的铁皮石斛中化学成分进行了全面系统的分析, 确证了前人的研究成功并进一步提出了两类小分子成分是成为完善现有铁皮石斛质量评价标准的潜在新指标, 为完善铁皮石斛质量评价体系提供数据支撑。

关键词: 铁皮石斛; 不同产地; 化学成分; 超高效液相色谱-串联四级杆-飞行时间质谱

中图分类号: R932; Q946.8

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2022)4-0614-09

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2022.4.009

Chemical compositions and content variation of *Dendrobium officinale* from different habitats based on UPLC-QTOF-MSCHEN Ding-kang^{1,2,3}, LI Zhi-lan^{1,3}, YANG Liu^{1,2*}, HU Jiang-miao¹¹Kunming Institute of Botany, China Academy of Sciences;²R&D Center of Dr. Plant, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China;³University of Chinese Academy of Science, Beijing 100049, China

Abstract: The ethanol extracts of *Dendrobium officinale* from different habitats were analyzed by UPLC-Q-TOF-MS. Data analysis software combined with local database was used to analyse the chemical composition. A total of 32 compounds including (-)-lirioresinol B, fructose phenylalanine, vanillic acid, *p*-hydroxybenzoic acid and dendrobine were identified, among which 13 compounds were common components. The contents of gigantol and naringin, the two main components of *D. officinale*, were quantitatively analyzed. The results showed that the contents of the two compounds were different in the ethanol extracts of *D. officinale* from different habitats. The content of dendrobine ranged from 0.080 0 to 9.593 5 mg/g and the content of naringin ranged from 0.032 1 to 0.187 3 mg/g. The results showed that these two compounds could be used as potential quality evaluation indexes of *D. officinale*. This experiment conducted a comprehensive and systematic analysis of the chemical components in *D. officinale* from the main production areas in China. The results confirmed the accuracy of previous studies and further proposed that the two types of compounds are potential new indicators to improve the existing quality evaluation standards of *D. officinale*.

Key words: *Dendrobium officinale*; different habitats; chemical composition; UPLC-Q-TOF-MS

铁皮石斛(*Dendrobium officinale*)是兰科(Orchidaceae)石斛属(*Dendrobium*)多年生附生型草本植物,自古以来都是我国应用中药材中的名品,其自然

主要分布区在安徽、浙江、湖南、福建、广西、四川、云南等地^[1]。铁皮石斛的人工种植主产区为云南、浙江、安徽、广东。铁皮石斛中含有多种化学物质,包括多糖、生物碱类、黄酮类、联苄类、木脂素类及挥发性化学成分等活性成分,具有极高的药用价值^[2]。传统中医认为铁皮石斛具有益胃生津、滋阴清热的

收稿日期: 2021-09-28

接受日期: 2022-03-28

基金项目: 北京植物医生生物科技有限公司企业委托项目(E0514-252C1)

* 通信作者 Tel: 86-871-65223264; E-mail: yangliu@mail.kib.ac.cn

功效,用于治疗热病津伤、口干烦渴、胃阴不足、食少干呕等症状^[3]。现代药理学研究表明,铁皮石斛中的黄酮类成分具有降血糖功效^[4],联苳类和多糖类成分可以抗炎^[5],联苳、黄酮及酚性成分具有抗氧化活性^[6],联苳类成分具有抗癌作用^[7],多糖可以调节机体免疫力^[8]等。

铁皮石斛作为药用植物,其产量和品质受原植物种类、生长面积、种植技术、土壤养分、气候条件、采收期等因素的影响^[9]。铁皮石斛野生产量稀少,目前市场上流通的商品铁皮石斛主要来源于全国各地的人工种植基地^[10]。由于种植基地分布范围较为广泛,各地出产的铁皮石斛生长过程中的各种条件无法保证一致,势必造成铁皮石斛药用价值的差异。根据 2020 版《中国药典》对铁皮石斛品质的评价方法,以多糖及醇溶性浸出物的含量为评价品质好坏的标准^[11]。药典中规定的多糖及醇溶性浸出物都为粗提物,且检测方法比较简略,容易产生较大

误差。这说明只以多糖及醇溶性浸出物含量作为铁皮石斛品质的评价指标是具有一定局限性的,所以选择一种铁皮石斛中含量较高并具有良好的药理活性的化学成分进行质量标定是势在必行的^[12]。本实验拟对不同产地铁皮石斛中除多糖外的其他化学成分进行全面分析,找出评价铁皮石斛质量的标志组分,完善铁皮石斛的质量评价标准。

1 材料

1.1 材料与试剂

本研究所用植物材料是铁皮石斛的茎部位,采集于云南、安徽、浙江和广东等 23 个不同产地,产地具体信息见表 1,为了方便讨论,每个产地都有一个特定的编号 TPX(X = 1 ~ 23)。所有植物材料都经过吴之坤博士(贵阳中医药大学,贵州贵阳) 鉴定。石斛酚(纯度 ≥ 99. 15%) 和柚皮素(纯度 ≥ 99. 64%) 两种标准品由本实验室自行提取。

表 1 不同产地铁皮石斛样本来源的地理信息

Table 1 Geographic information of *D. officinale* samples from different habitats

省份 Province	市 District	区/县 Locality	经度 Longitude	纬度 Latitude	编号 Identifier	来源 Source
云南	德宏	盈江	97°94′	24°71′	TP1	人工种植
		芒市	98°58′	24°43′	TP2	人工种植
	瑞丽	—	97°85′	24°01′	TP3	人工种植
	曲靖	—	103°82′	25°60′	TP4	人工种植
	保山	昌宁	99°60′	24°82′	TP5	人工种植
	红河	绿春	102°39′	22°99′	TP6	人工种植
		金平	103°22′	22°78′	TP7	人工种植
	屏边	屏边	103°68′	22°98′	TP8	人工种植
		双江	99°82′	23°47′	TP9	人工种植
	沧源	沧源	99°24′	23°14′	TP10	人工种植
		景洪	100°77′	22°00′	TP11	人工种植
	西双版纳	勐海	100°45′	21°95′	TP12	人工种植
		勐腊	101°56′	21°45′	TP13	人工种植
		文山	105°05′	24°04′	TP14	人工种植
	丘北	丘北	104°19′	24°04′	TP15	人工种植
		开化	104°21′	23°39′	TP16	人工种植
	普洱	镇沅	101°10′	24°00′	TP17	人工种植
		江城	101°86′	22°58′	TP18	人工种植
广东	广州	—	113°27′	23°15′	TP19	人工种植
安徽	霍山	—	116°33′	31°39′	TP20	人工种植
	六安	—	116°53′	31°74′	TP21	人工种植
浙江	临安	—	119°72′	30°23′	TP22	人工种植
	天台	—	121°03′	29°14′	TP23	人工种植

1.2 仪器与设备

Waters Xevo TQ-S 超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱联用仪(美国 Waters 公司); Agilent 1290 UPLC/6540 Q-TOF 超高效液相色谱串联四极杆飞行时间质谱(美国 Agilent Technologies 公司); BT125D 型分析天平(赛多利斯科学仪器有限公司)。

2 方法与结果

2.1 醇提物的制备

2.1.1 提取工艺

铁皮石斛的茎放置在烘干机中,烘干温度设置为 80 ℃,完全干燥后打成粉末。称取一定量的粉

末,按 1:10(粉末:80%乙醇,m/V)比例加入溶剂,80 ℃水浴加热回流提取 2 次,每次 2 h。收集提取液,去除溶剂后即得不同产地的铁皮石斛醇提物。

2.1.2 醇提物得率

醇提物收集后称重,用以下公式计算得率:

得率 = $\frac{m_{\text{醇提物}}}{m_{\text{铁皮石斛粉末}}} \times 100\%$

式中 $m_{\text{醇提物}}$ 表示醇提物质量, $m_{\text{铁皮石斛粉末}}$ 表示称得铁皮石斛粉末质量。

本次实验中,不同产地铁皮石斛醇提物得率结果如表 2 所示。醇提物得率范围为 6.80% ~ 17.84%。

表 2 不同产地铁皮石斛醇提物得率和定量分析结果

Table 2 Yield of alcohol extract of *D. officinale* from different habitats and quantitative results of standards

编号 Identifier	得率 Yield(%)	含量 Content(mg/g)	
		石斛酚 Gigantol	柚皮素 Naringenin
TP1	11.45	0.107 6	0.032 1
TP2	16.39	1.303 0	0.103 3
TP3	11.91	1.289 9	0.063 1
TP4	7.34	0.080 0	0.047 7
TP5	11.72	0.302 4	0.073 8
TP6	14.36	0.096 2	0.076 1
TP7	11.70	0.250 4	0.046 8
TP8	11.20	0.448 0	0.078 4
TP9	13.66	0.194 0	0.080 6
TP10	8.40	0.128 5	0.042 8
TP11	16.05	0.341 9	0.114 0
TP12	17.35	0.520 5	0.116 2
TP13	9.71	3.432 5	0.072 8
TP14	10.95	0.471 9	0.125 9
TP15	15.12	0.279 7	0.163 3
TP16	17.84	0.658 3	0.187 3
TP17	14.61	3.578 0	0.141 7
TP18	12.27	0.208 6	0.093 3
TP19	7.33	0.309 3	0.069 6
TP20	6.80	8.828 4	0.087 7
TP21	7.87	9.593 5	0.103 1
TP22	10.41	1.459 5	0.060 4
TP23	9.06	0.727 5	0.051 6

注: 所有实验结果均以药材干质量计算。
Note: All results are calculated by dry mass.

2.2 定性分析

由于受品种品系、种植环境、栽培管理以及采收

时间等条件影响,铁皮石斛内含物构成以及含量差异明显。故此,我们利用 UPLC-QTOF-MS 对不产

地的铁皮石斛醇提物进行了化学成分分析。

2.2.1 分析条件

使用超高效液相色谱串联四极杆飞行时间质谱 (Agilent 1290 UPLC/6540 Q-TOF) 分析醇提物的化学组成。液相色谱流动相 100% 水溶液 (A) -100% 乙腈溶液 (B), 梯度洗脱, 洗脱顺序为: 0 ~ 30 min, 20% → 100% B; 30 ~ 31 min, 100% → 20% B; 31 ~ 35 min, 20% B。检测波长: 280 nm, 流速: 1 mL/min, 柱温: 30 °C, 色谱柱型号为 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)。质量检测器设定为 ESI 负离子模式。干燥气温度: 350 °C; 干燥气流量

8 L/min; 雾化器压力: 30 psig; 毛细管电压: 3 500 V; 碰撞电压: -175 V; 锥孔体: -65 V; 相对分子质量扫描范围: m/z 50 ~ 1 700。

2.2.2 铁皮石斛中化合物的鉴定

根据第“2.2.1”节的方法, 分析了 23 个铁皮石斛醇提物样本。为确定最佳检测波长, 本试验同时考察了 230、254、280 nm 的色谱峰分离情况, 结果显示 230 nm 的谱图中化合物分离度较好、吸收较强, 故选择 230 nm 作最终检测波长。23 个铁皮石斛醇提物样品色谱图如图 1 所示。

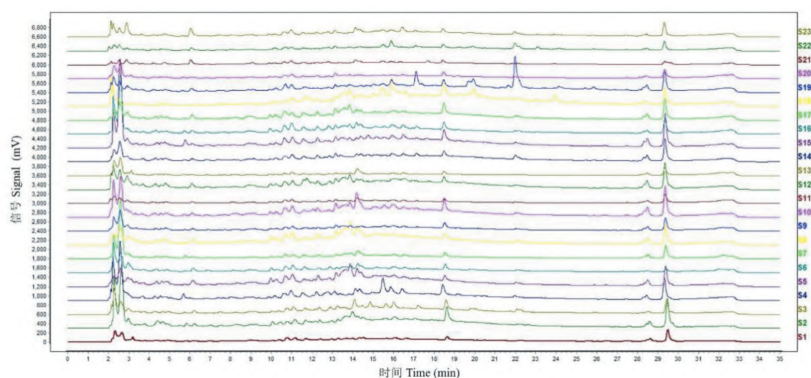


图 1 23 个铁皮石斛醇提物样品的指纹图谱

Fig. 1 Fingerprint of 23 alcohol extracts of *D. officinale*

将质谱数据导入 Agilent Mass Hunter Workstation 软件, 对出峰初步处理。依据峰面积、保留时间和分子量, 排除假阳性的碎片峰。采用 Qualitative

Analysis B.06.00 软件拟合计算得到相应的分子式, 结合质谱数据, 与本地数据库进行匹配, 初步推测化学成分, 如图 2 所示。

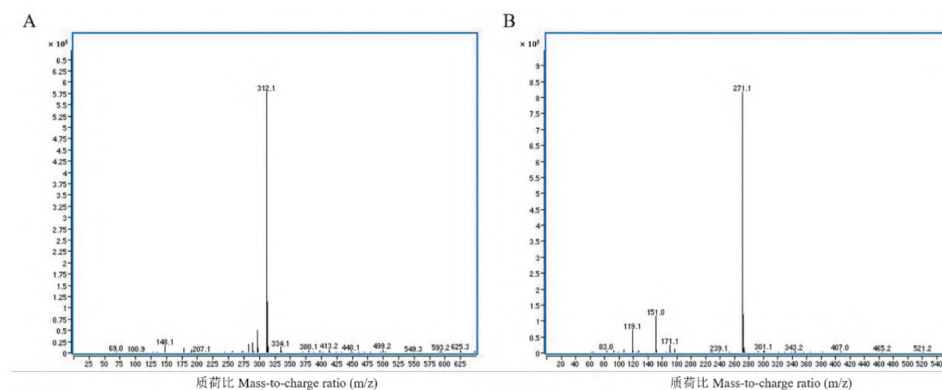


图 2 阿魏酰酪胺 (A) 和柚皮素 (B) 的质谱

Fig. 2 The MS/MS mass spectra of moupinamide (A) and naringenin (B)

对各产地铁皮石斛主要成分进行了表征, 结果如表 3 所示。从不同产地铁皮石斛醇提物中共鉴定了 (-)-lirioresinol B (1)、fructose-phenylalanine (2)、香草酸 (3)、对羟基苯甲酸 (4)、石斛碱 (5)、对香豆

酸 (6)、3-羟基肉桂酸 (7)、vicenin 2 (8)、vicenin 1 (9)、apiin (10)、4'-O-glucosylvitexin (11)、acanthoside B (12)、芦丁 (13)、6-C- α -L-arabinopyranosyl-8-C- β -D-xylopyranosylapigenin (14)、vicenin 3 (15)、moupi-

namide (**16**)、2'-*O*-Rhamnosylvitexin (**17**)、柚皮素 (**18**)、dendronobiloside A (**19**)、石斛酚 (**20**)、Pinellic acid (**21**)、*N*-isopentenylidendrobine (**22**)、dihydroconiferyl dihydro-*p*-coumarate (**23**)、densiflorol A (**24**)、2-methyl-1*H*-indol-7-yl β -*D*-mannopyranoside (**25**)、2-hydroxydendrobine (**26**)、vanilloside (**27**)、aduncin (**28**)、acuminoside (**29**)、棕榈酸 (**30**)、*N*-反式-对香豆酰酪胺 (**31**)、eicosyl caffeate (**32**) 等 32 种可能存在的化合物。对这 32 种成分进行进一步分析显示，(-)-lirioresinol B (**1**)、fructose-phenylalanine (**2**)、石斛碱 (**5**)、对香豆酸 (**6**)、vicenin **1** (**9**)、芦丁 (**13**)、moupinamide (**16**)、柚皮素 (**18**)、石斛酚 (**20**)、densiflorol A (**24**)、vanilloside (**27**)、aduncin (**28**)、棕榈酸 (**30**) 等 13 种化合物是不同产地铁皮石斛的共有成分。

表 3 不同产地铁皮石斛化学成分鉴定结果

Table 3 Identification of chemical constituents of *D. officinale* from different habitats

序号 No.	保留时间 t_R (min)	化合物 Compound	分子式 Molecular formula	CAS 号 CAS NO	相对分子质量 Relative molecular mass (Da)	碎片离子峰 Fragmentation (m/z)	产地编号 Identifier								
							TP 1	TP 2	TP 3	TP 15	TP 18	TP 20	TP 21	TP 23	
1	4.24	(-)-Lirioresinol B	C ₂₂ H ₂₆ O ₈	6216-81-5	418.44	417.1、329.1、 167.0、 143.0、111.0	+	+	+	+	+	+	+	+	
2	4.74	Fructose-phenylalanine	C ₁₅ H ₂₁ NO ₇	31105-03-0	327.33	326.1	+	+	+	+	+	+	+	+	
3	5.69	香草酸 Vanillic acid	C ₈ H ₈ O ₄	121-34-6	168.15	153.0、109.0	+	+	+	+	-	-	+	-	
4	7.75	对羟基苯甲酸 p -Hydroxy- benzoic acid	C ₇ H ₆ O ₃	99-96-7	138.12	137.0、93.0	+	-	-	+	-	-	+	+	
5	9.09	石斛碱 Dendrobine	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	2115-91-5	263.38	210.1、159.1、121.1	+	+	+	+	+	+	+	+	
6	9.24	对香豆酸 p -Coumaric acid	C ₉ H ₈ O ₃	501-98-4	164.16	163.1、119.0、93.0	+	+	+	+	+	+	+	+	
7	9.65	3-羟基肉桂酸 m -Hydroxy- cinnamic acid	C ₉ H ₈ O ₃	14755-02-3	164.16	163.1、119.0、93.0	+	+	-	+	+	+	+	+	
8	9.94	Vicenin 2	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	23666-13-9	594.52	593.2、401.2、383.2	+	-	+	+	+	+	+	+	
9	10.97	Vicenin 1	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	35927-38-9	564.49	563.2、395.2、295.1	+	+	+	+	+	+	+	+	
10	11.50	Apiin	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	26544-34-3	564.49	563.2、119.1	+	+	-	+	+	+	-	-	
11	12.22	4'- O -Glucosylvitexin	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	38950-94-6	594.52	593.2、330.1	+	+	-	+	+	-	+	+	
12	13.12	Acanthoside B	C ₂₈ H ₃₆ O ₁₃	7374-79-0	580.58	579.2、517.1、 417.2、369.1	+	+	-	+	+	-	+	-	
13	14.13	芦丁 Rutin	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	153-18-4	610.52	609.2、300.0	+	+	+	+	+	+	+	+	
14	14.91	6- C - α - L -Arabinopyranosyl- 8- C - β - D -xylopyranosylapi- genin	C ₂₅ H ₂₆ O ₁₃	677021-30-6	534.47	533.1、457.2	-	-	-	-	-	+	-	-	
15	15.49	Vicenin 3	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	59914-91-9	564.49	563.1、459.2、337.1	-	-	-	-	-	+	-	-	
16	15.85	Moupinamide	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	66648-43-9	313.35	312.1	+	+	+	+	+	+	+	+	
17	17.60	2'- O -Rhamnosylvitexin	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	64820-99-1	578.52	577、459.2、 282.1、259.1	-	+	+	+	+	+	+	+	
18	18.43	柚皮素 Naringenin	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	480-41-1	272.25	271.1、151.0、119.0	+	+	+	+	+	+	+	+	
19	20.46	Dendronobiloside A	C ₂₇ H ₄₈ O ₁₂	370557-49-6	564.66	563.2、447.2、239	-	+	-	+	+	-	+	+	
20	21.95	石斛酚 Gigantol	C ₁₆ H ₁₈ O ₄	83088-28-2	274.31	273.1、237.2、 137.1、119	+	+	+	+	+	+	+	+	
21	23.08	Pinellic acid	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	97134-11-7	330.46	329.1、229.1、 211.1、139.1	-	+	+	+	+	+	+	+	
22	23.60	N -Isopentenylidendrobine	C ₂₁ H ₃₄ NO ₂	50304-67-1	332.26	331.2、241.0	+	+	-	+	+	-	+	+	

续表 3(Continued Tab. 3)

序号 No.	保留时间 t_R (min)	化合物 Compound	分子式 Molecular formula	CAS 号 CAS NO	相对分子质量 Relative molecular mass (Da)	碎片离子峰 Fragmentation (m/z)	产地编号 Identifier							
							TP 1	TP 2	TP 3	TP 15	TP 18	TP 20	TP 21	TP 23
23	23.75	Dihydroconiferyl dihydro- <i>p</i> -coumarate	C ₁₉ H ₂₂ O ₅	152543-09-4	330.38	329.2, 307.2, 241.1	-	+	-	+	-	+	+	+
24	23.94	Densiflorol A	C ₁₆ H ₁₆ O ₄	303088-44-0	272.30	271.1	+	+	+	+	+	+	+	+
25	25.10	2-Methyl-1- <i>H</i> -indol-7-yl β -D-mannopyranoside	C ₁₅ H ₁₉ NO ₆	1619904-22-1	309.31	308.2, 225.2, 91.0	-	-	-	+	+	-	+	+
26	25.66	2-Hydroxydendrobine	C ₁₆ H ₂₅ NO ₃	29414-86-6	279.37	278.1	-	-	+	+	+	+	-	+
27	27.21	Vanilloside	C ₁₄ H ₁₈ O ₈	494-08-6	314.29	311.2, 233.2, 153.0	+	+	+	+	+	+	+	+
28	29.33	Aduncin	C ₁₅ H ₁₈ O ₆	62655-15-6	294.30	293.2	+	+	+	+	+	+	+	+
29	29.79	Acuminoside	C ₂₁ H ₃₆ O ₁₀	120163-17-9	448.50	447.1, 225.0	-	-	-	+	+	-	-	-
30	30.32	棕榈酸 Palmitic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	57-40-3	256.42	255.2	+	+	+	+	+	+	+	+
31	31.27	Paprazine	C ₁₇ H ₁₇ NO ₃	36417-86-4	283.32	282.0, 147.0, 121.0	-	-	-	+	+	-	-	-
32	32.90	Eicosyl caffeate	C ₂₉ H ₄₈ O ₄	905726-67-2	460.69	459.4, 279.2	+	+	-	+	-	+	-	+

注 “+”代表检测出这种物质,“-”代表没有检测出这种物质。

Noté “+” means that this substance is detected and “-” means that this substance is not detected.

2.3 标准品定量分析

准确称取标准品,用甲醇溶解成不同浓度用于制作标准曲线。使用超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱联用仪(Waters Xevo TQ-S)用来分析不同产地醇提物中石斛酚和柚皮素这两种物质的含量。液相色谱流动相为 100% 水(A)-100% 乙腈(B)梯度洗脱,洗脱顺序为:0~4 min 20%→35% B;4~7 min 35%→100% B;7~8 min 100%→20% B;8~10 min 20% B。检测波长:280 nm,流速:0.3 mL/min,色谱柱型号为 ACQUITY UPLC BEH C₁₈柱(2.1 mm × 50 mm, 1.7 μ m)。在质量分析仪中选择多反应监测(MRM)进行定量分析。石斛酚的离子裂解

跃迁为 m/z 302.85→287.85;柚皮素的离子裂解跃迁为 m/z 270.81→150.81。石斛酚和柚皮素的锥电压和碰撞能量分别为 30 V 和 20 eV。优化的通用质谱条件为:脱溶剂温度 350 $^{\circ}$ C,脱溶剂气体 600 L/h;毛细管电压 2.5 kV,锥状气体流速 150 L/h,碰撞气体流速 0.10 mL/min。

2.4 方法学考察

2.4.1 定量标准曲线的绘制

按照目标化合物离子的响应情况,配制不同浓度混标溶液,以标准溶液浓度(x , μ g/mL)与对应的峰面积(y)建立标准曲线如图 3 所示。由图得石斛酚的线性回归方程 $y = 337.766x$,在 0~180 μ g/mL

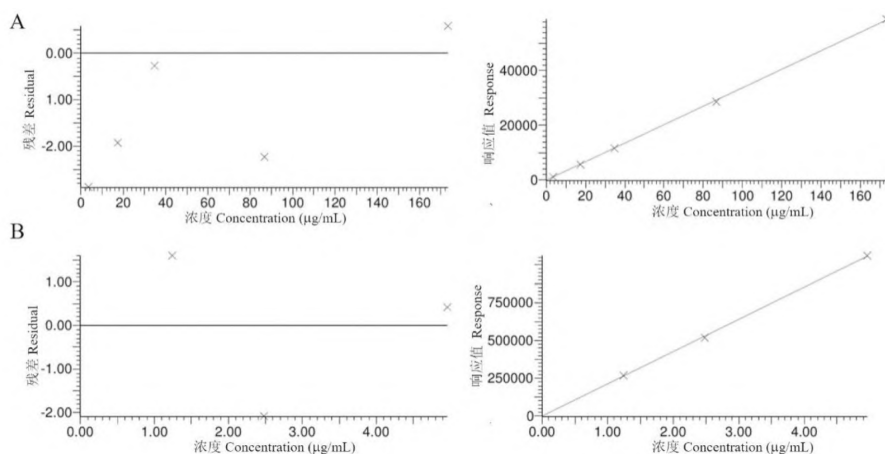


图 3 石斛酚(A)和柚皮素(B)的定量标准曲线

Fig. 3 Quantitative standard curves of gigantol (A) and naringenin (B)

浓度范围内,各目标化合物线性关系良好,相关系数(r)为0.999 7。柚皮素的线性回归方程 $y = 213\ 346x$,在0~5 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内,各目标化合物线性关系良好,相关系数(r)为0.999 5。石斛酚的检出限和定量限分别为0.18 $\mu\text{g/mL}$ (信噪比=3)和0.70 $\mu\text{g/mL}$ (信噪比=10);柚皮素的检出限和定量限分别为0.30 $\mu\text{g/mL}$ (信噪比=3)和1.03 $\mu\text{g/mL}$ (信噪比=10)。

2.4.2 重复性实验

准确称取15号产地的样品10 mg,平行称量6

份,进行定量分析,根据标准曲线方程得出待测物质的含量并计算出相对标准偏差(RSD)。测得待测分析物含量的RSD均小于5%,说明方法的重现性好。

2.4.3 加标回收实验

根据样品中石斛酚和柚皮素的含量及线性范围,确定化合物在样品中合适的加标量,设置低、中、高三个水平的加标量。加标回收实验的平均回收率和相对标准偏差数据见表4。实验结果说明方法的准确度能满足检测要求。

表4 加标回收实验

Table 4 Standard addition and recovery experiments

化合物 Compound	加标量 Added amount($\mu\text{g}/\text{mg}$)	回收率 Recovery rate(%)	相对标准偏差 RSD(%)
石斛酚 Gigantol	1.0	85.2	1.4
	2.0	90.5	0.7
	4.0	93.1	0.5
柚皮素 Naringenin	0.5	87.6	2.1
	1.0	92.4	0.7
	1.5	90.1	1.8

2.5 石斛酚和柚皮素的含量分析

石斛酚是一种铁皮石斛中常见的酚类化合物。有研究表明石斛酚可以诱导糖原合成酶激酶 β 介导的MYC蛋白降解来达到抑制肺癌细胞增殖的目的^[13]。还有资料显示,石斛酚在抗炎和抗氧化应激等方面具有潜在应用^[14]。柚皮素则是石斛中一种常见的黄酮类活性成分,具有抗炎、抗氧化、改善血液质量、保护心血管系统等药理活性,具有广阔的开发前景^[15]。通过多样本分析,联苳和黄酮是铁皮石斛化学物质构成主成分,这两类成分具有代表性和普遍性。因此,选取石斛酚和柚皮素作为衡量铁皮石斛品质的潜在标志化合物,两个化合物结构如图4所示。

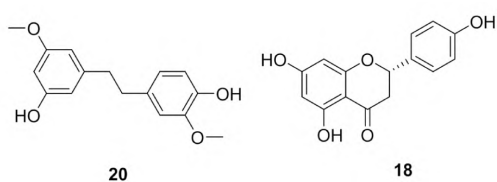


图4 石斛酚(20)及柚皮素(18)结构

Fig. 4 Structures of gigantol (20) and naringenin (18)

按所建立的超高效液相色谱-串联质谱法(UP-

LC-MS/MS)对23种不同产地铁皮石斛醇提物中的石斛酚和柚皮素含量进行检测分析,不同产地铁皮石斛醇提物样品中所含这两种化合物含量的结果如表2所示。如结果所示,不同产地铁皮石斛醇提物中都含有石斛酚和柚皮素这两个成分,只是在含量上存在差异。通过实验结果可以得出,通过对这两个化合物的含量测定来评价铁皮石斛质量是完全可行的。

3 讨论与结论

药用植物的活性表现受其次生代谢产物构成和含量的影响:一方面取决于药用植物本身由于品种因素造成的基因表达差异;另一方面,生长过程中降雨、温度、湿度、日照等农业气候条件和田间管理等对其品质也有着重要影响。随着对药用植物研究的不断深入,以单一化学成分为指标对中药材进行质量评价的体系出现了一定的局限性^[16]。除了铁皮石斛多糖之外,铁皮石斛中还存在有相当可观的小分子化学成分^[17]。广泛分析这些化学成分,将其与铁皮石斛的药材质量关联起来,进而找出生长环境和种植工艺与铁皮石斛品质之间的联系,对铁皮石斛质量评价标准的后期改进具有重要意义。

本研究利用UPLC-Q-TOF-MS对不同产地的铁

铁皮石斛醇提物进行天然小分子构成和含量进行了探索,进一步探讨铁皮石斛这一常用中药的质量评价标准。对铁皮石斛醇提物进行定性分析,共鉴定了32种主要成分,利用化学分析软件和本地数据库对可能的结构和分子式进行推测,得到(-)-lirioresinol B、fructose-phenylalanine、香草酸、对羟基苯甲酸、石斛碱等化学结构。其中,有13种成分在不同产地铁皮石斛醇提物中均有检测得到,这表明铁皮石斛虽然受不同产地的影响所产生次生代谢物虽有一定差异但其主要活性成分认识具有很高的共性。铁皮石斛中富含酚性物质,主要为石斛酚代表的联苕类化合物和柚皮素代表的黄酮类成分。相应地,标准品定量分析结果显示,不同产地的铁皮石斛中石斛酚和柚皮素的含量存在差异,说明这两种化合物可以作为潜在的铁皮石斛质量评价指标。

近年来,本研究组一直关注铁皮石斛新成分、新功能的开发工作,尤其是铁皮石斛在化妆品领域的应用。Chen^[18]和Qi^[19]等对铁皮石斛多糖的保湿性能进行了研究,结果表明铁皮石斛多糖提取物具有良好的保湿作用,能提高皮肤细胞对干燥环境的耐受程度。除多糖外,铁皮石斛中还含有大量酚类化合物,这类天然的抗氧化剂在体外实验中表现出一定的DPPH、ABTS自由基清除活性^[20-21]。目前,铁皮石斛作为一种高端化妆品原料已广泛用于美妆护肤产品中,受到广大消费者的青睐^[22]。

为了阐明铁皮石斛醇提物中可能的活性成分,更好地用于护肤产品开发,我们对不同产地铁皮石斛醇提物进行了化学物质构成的分析工作,为铁皮石斛的科学合理利用提供理论基础。

参考文献

- Li L, Deng XL, Zhao XB, Yong Z, et al. Advances in studies on chemical constituents in *Dendrobium candidum* and their pharmacological effects [J]. Anti-Tumor Pharm (肿瘤药学) 2011, 1(2): 90-94.
- Nie SP, Cai HL. Research progress in bioactive components and functions of *Dendrobium officinale* [J]. Food Sci (食品科学) 2012, 33(23): 356-361.
- Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol III (中华人民共和国药典: 第三部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2010.
- Wu HS, Xu JH, Chen LZ, et al. Studies on anti-hyperglycemic effect and its mechanism of *Dendrobium candidum* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志) 2004, 29: 160-163.
- Xia LJ, Liu XF, Guo HY, et al. Partial characterization and immunomodulatory activity of polysaccharides from the stem of *Dendrobium officinale* (Tiepishi) in vitro [J]. J Funct Foods 2012, 4(1): 294-301.
- He TG, Yang LT, Li YR, et al. Physicochemical properties and antitumor activity of polysaccharide DCPPIa-1 from suspension-cultured protocorms of *Dendrobium candidum* [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发) 2007, 19: 578-583.
- Zhao Y, Liu Y, Lan XM, et al. Effect of *Dendrobium officinale* extraction on gastric carcinogenesis in rats [J]. Evid-based Compl Alt 2016: 1213090.
- Wu EJ, Pang L, Hu YH, et al. Effect of *Dendrobium candidum* on immune function in mice [J]. Hunan J Tradit Chin Med (湖南中医杂志) 2012, 28(2): 113-114.
- Zhang LY, Yang ZW, Wei JW, et al. Essential oil composition and bioactivity variation in wild-growing populations of *Curcuma phaeocaulis* Valetton collected from China [J]. Ind Crops Prod 2017, 103: 274-282.
- Wang F, Shi HQ. Research on the development of *Dendrobium candidum* industry in China [J]. China For Econ (中国林业经济) 2019(3): 88-90.
- Luo ZX, Yang Y, Tian F. Comparative analysis on polysaccharide accumulation and quality evaluation under different cultivation modes of *Dendrobium candidum* [J]. Guizhou For Sci Technol (贵州林业科技) 2017, 45(4): 39-43.
- Zhang Y, Gao F, Wang XJ, et al. Review on main chemical constituents and biological activity in *Dendrobium officinale* [J]. Pharm Biotechnol (药物生物技术) 2015, 22: 557-561.
- Losuwanarak N, Roytrakul S, Chanvorachote P. Gigantol targets MYC for ubiquitin-proteasomal degradation and suppresses lung cancer cell growth [J]. Cancer Genom Proteom, 2020, 17: 781-793.
- Xue YR, Yao S, Liu Q, et al. Dihydro-stilbene gigantol relieves CCl₄-induced hepatic oxidative stress and inflammation in mice via inhibiting C5b-9 formation in the liver [J]. Acta Pharmacol Sin 2020, 41: 1433-1445.
- Ji P, Zhao WM, Yu T. Recent research progress of naringenin [J]. Chin J New Drugs (中国新药杂志) 2015, 24: 1382-1386.
- Hu YF, Pei YM, Wu H, et al. Difference analysis of chemical compositions in Moutan Cortex from different origins by UPLC-Q-TOF-MS [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2016, 47: 2984-2992.

- 17 Li J ,Li SX ,Huang D ,et al. Advances in the of resources , constituents and pharmacological effects of *Dendrobium officinale* [J]. Sci Technol Rev(科技导报) 2011 29(18) : 74-79.
- 18 Chen M ,Sun Y ,Zhao Y. Study on the moisturizing effect of *Dendrobium officinale* [J]. Acta Univ Tradit Med Sin Pharmacol Shanghai(上海中医药大学学报) 2015 29(6) : 70-73.
- 19 Qi W. The study of build quality standard of *Dendrobium candidum* and research and development the related product [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine (广州中医药大学) 2013.
- 20 Li Y ,Wang CL ,Wang FF. Chemical constituents of *Dendrobium candidum* [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志) 2010 35: 1715-1719.
- 21 Li Y ,Wang CL ,Wang FF. Phenolic components and flavanones from *Dendrobium candidum* [J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志) 2010 45: 975-979.
- 22 Li Q ,Xie CC ,Li X. Chemical compositions of *Dendrobium candidum* and their development of applications in cosmetics [J]. China Surfactant Deterg Cosmet(日用化学工业) , 2017 47(2) : 109-113.

《天然产物研究与开发》青年编委会

青年编委(以姓氏笔划为序)

Members

王红兵	戈惠明	尹文兵	尹 胜	吕兆林	刘相国
WANG Hongbing	GE Huiming	YIN Wenbing	YIN Sheng	LYU Zhaolin	LIU Xiangguo
孙昊鹏	孙桂波	李良成	李国友	邱 莉	汪海波
SUN Haopeng	SUN Guibo	LI Liangcheng	LI Guoyou	QIU Li	WANG Haibo
沐万孟	张炳火	张德武	陈益华	林昌俊	欧阳杰
MU Wanmeng	ZHANG Binghuo	ZHANG Dewu	CHEN Yihua	LIN Changjun	OUYANG Jie
易华西	罗应刚	周 文	胡友财	袁 涛	夏永刚
YI Huaxi	LUO Yinggang	ZHOU Wen	HU Youcai	YUAN Tao	XIA Yonggang
高慧敏	唐金山	黄胜雄	韩秀珍	韩淑燕	曾克武
GAO Huimin	TANG Jinshan	HUANG Shengxiong	HAN Xiuzhen	HAN Shuyan	ZENG Kewu
蓝蔚青	廖晨钟	薛永波			
LAN Weiqing	LIAO Chenzhong	XUE Yongbo			