

基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术的肿节石斛生物碱研究

王元成¹, 张萌¹, 韩彬², 翟飞飞³, 刘蕾¹, 孙振元¹, 李振坚^{1*}

¹ 中国林业科学研究院林业研究所 国家林业局林木培育重点实验室, 北京 100091;

² 中国科学院植物研究所, 北京 100093; ³ 河南理工大学建筑与艺术设计学院, 焦作 454000

摘要: 肿节石斛 (*Dendrobium pendulum*) 是兰科石斛属多年生附生植物, 具有较高保健价值和药用潜力。生物碱是石斛的特征功能成分, 本研究利用超高效液相色谱-四级杆飞行时间质谱 (UPLC-Q-TOF-MS) 技术, 研究了肿节石斛茎、花、叶中生物碱的成分和相对含量。通过甲醇法和氯仿法共表征出 15 个生物碱成分, 分属三种类型, 其中 7 个八氢中氮茛菪类生物碱: 玫瑰石斛碱 (1)、玫瑰石斛碱 C (2)、玫瑰石斛胺 (3)、玫瑰石斛啶碱 (5)、玫瑰石斛碱 B (8)、玫瑰石斛碱 D (9)、玫瑰啶碱 B (10); 7 个倍半萜类生物碱: 石斛碱 (4)、石斛胺碱 (6)、石斛酮碱 (7)、红星碱 A (11)、*N*-异戊烯石斛星碱 (12)、*N*-异戊烯石斛碱 (13)、棒节碱 D (14); 1 个酰胺类生物碱: *N*-*p*-桂乙酸酰胺 (15)。该研究首次发现肿节石斛中生物碱存在, 含量以八氢中氮茛菪类生物碱为主, 以玫瑰石斛啶碱、玫瑰石斛碱 B 含量高。植株不同部位生物碱, 由高到低依次为花、叶、茎。花中生物碱以八氢中氮茛菪类为主, 茎中生物碱以倍半萜类为主。

关键词: 兰科; 石斛; 生物碱; 液质联用; 八氢中氮茛菪; 倍半萜

中图分类号: S567.23; R657

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2021)12-2019-10

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2021.12.005

Study on alkaloids in the stems of *Dendrobium pendulum* based on UPLC-Q-TOF-MS

WANG Yuan-cheng¹, ZHANG Meng¹, HAN Bin², ZHAI Fei-fei³, LIU Lei¹, SUN Zhen-yuan¹, LI Zhen-jian^{1*}

¹ Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry; Key Laboratory of Tree Breeding and Cultivation, State Forestry Administration, Beijing 100091, China;

² Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China;

³ School of Architectural and Artistic Design, Henan Polytechnic University, Jiaozuo 454000, China

Abstract: *Dendrobium pendulum* Roxb. is a perennial epiphytic herb of Orchidaceae with high health and medicinal value, being rich in alkaloids. Component analysis and relative quantitative analysis of alkaloids were carried out by ultra-performance liquid chromatography (UPLC) coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry (Q-TOF-MS) from the stems, flowers and leaves of *D. pendulum*. Fifteen alkaloids were found and identified by methanol and chloroform extraction, in which seven compounds were octahydroindolizine alkaloids: dendrocrepine (1), dendrocrepine C (2), credidamine (3), crepidine (5), dendrocrepidine B (8), dendrocrepidine D (9), homocrepidine B (10); Seven compounds were sesquiterpene alkaloids: dendrobine (4), dendramine (6), nobiline (7), mubironine A (11), *N*-isopentenyl-dendroxine (12), *N*-isopentenyl-dendrobine (13), findlayines D (14); One amide alkaloid compound was *N*-*p*-cinnamoyl-tyramine (15). Alkaloids were firstly discovered from *D. pendulum*. The main alkaloids were octahydroindolizine alkaloids in *D. pendulum*, and the contents of crepidine and dendrocrepidine B were high. Alkaloids contents from high to low were flowers, leaves and stems in different parts of the plant. The alkaloids of flowers were mostly octahydroindolizine type, and the alkaloids of stems were mainly sesquiterpene type.

Key words: Orchidaceae; *Dendrobium*; alkaloids; UPLC-Q-TOF-MS; octahydroindolizine; sesquiterpene

石斛为传统名贵中药, 具有益胃生津, 滋阴补虚

功效。用于热病津伤, 口干烦渴, 胃阴不足, 食少干呕, 病后虚热不退, 阴虚火旺, 骨蒸劳热, 目暗不明, 筋骨痿软^[1]。其化学成分较复杂, 主要的成分有生

收稿日期: 2021-05-31 接受日期: 2021-10-26

基金项目: 国家自然科学基金 (31800522)

* 通信作者 E-mail: zhenjianli@163.com

物碱、多糖、倍半萜、联苳、菲类、香豆素、甾体等^[2,3]。肿节石斛(*Dendrobium pendulum* Roxb.) 是兰科石斛属植物,原产地为云南南部,还有东南亚缅甸、泰国等国家^[4]。该种株型中大,茎口感苦,节肿大呈串珠状。肿节石斛作为民族中药,具有悠久的历史。

生物碱和多糖是石斛的两种主要药理活性成分,石斛多糖的研究较多^[5]。石斛生物碱的研究起步较早^[6-8],生物碱具有清热消炎等功效,涉及生物碱的石斛种类超过 10 种以上^[9-12],但研究力度不足。肿节石斛生物碱含量高,保健和食用实践表明,具有重要的功能潜力和发掘价值^[13]。为了全面的了解肿节石斛植株的生物碱成分和含量进行系统性研究。分别采用甲醇提取法和氯仿提取法,对肿节石斛总生物碱进行了提取,并通过超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS)技术^[14],对肿节石斛生物碱成分进行了定性和相对定量研究,以期对肿节石斛构效分析和开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

肿节石斛茎、花、叶在 2019 年 8 月采自云南思茅。肿节石斛(*Dendrobium pendulum* Roxb.) 由中国林科院李振坚博士鉴定,凭证标本(No. 201906-zj-12)保存于中国林业科学研究院林业研究所。采取长势良好的肿节石斛鲜花、洗净的叶片及一年生茎。于恒温鼓风干燥机中 105 °C 烘 30 min(杀青),后 60 °C 烘至恒重。研磨粉碎备用。

1.2 试剂与仪器

甲醇(色谱纯,Fluka 公司);氨水(分析纯,福晨化学试剂有限公司);氯仿(分析纯,北京化工厂);石斛碱对照品(批号 B2116,纯度 ≥ 98.0%,上海源叶生物科技有限公司)。

超高效液相色谱-四级杆-飞行时间串联质谱联用仪(Agilent 1290 UPLC-6540 Q-TOF);SXT-06 索氏提取器(上海华睿仪器有限公司);旋转蒸发器 RE-52AA(上海亚荣生化仪器厂);超纯水仪、超声波清洗器、电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司);MS204S 电子天平(Mettler Toledo)。

1.3 供试品溶液制备

1.3.1 氯仿提取法

参照 Lin 等^[15]的提取方法。取样品粗粉 0.50

g,加 5 mL 氨水,润洗密塞 30 min,然后加入氯仿 50 mL,称重记录。使用索氏提取器水浴 65 °C 加热回流 3 h,冷却后用氯仿补足失重,过滤后得提取液。将上述提取液在旋转蒸发器中蒸发至干,加甲醇 5 mL 溶解,用 0.22 μm 微孔滤膜过滤,得到供试品溶液。

1.3.2 甲醇提取法

参照 Wang 等^[16]的提取方法,略有改动。取样品粗粉 0.50 g,精确加入 1.50 mL 70% 的甲醇($V_{\text{甲醇}}:V_{\text{水}}=70:30$),25 °C 下超声处理 30 min,在离心机中 1 000 × g 离心 15 min,将上清液转移至 10 mL 离心管中。重复三次,合并上清液,加 70% 甲醇定容至 5 mL,用 0.22 μm 微孔滤膜过滤,得到样品溶液。

1.4 标准曲线绘制

精密称取石斛碱对照品 1.00 mg,加入 10 mL 甲醇溶液后摇匀,得 0.1 mg/mL 对照品溶液。取 0.1 mL 0.1 mg/mL 对照品溶液,加甲醇定容至 1 mL,分别依次稀释至 0.01、0.005、0.001、0.000 5、0.000 1、0.000 01 mg/mL,各取 3 μL 上机测得峰面积。

以石斛碱量为横坐标,峰面积为纵坐标作标准曲线,回归方程为 $y = 2E + 09x$ ($R^2 = 0.991 2$) 石斛碱量在 0.000 01 ~ 0.01 mg/mL 范围内,呈较好的线性关系。

1.5 分析条件

色谱流动相:水、0.1% 甲酸(A),乙腈、0.1% 甲酸(B);梯度洗脱程序:0 ~ 2 min,5% B;2 ~ 5 min,5% → 15% B;5 ~ 18 min,15% → 25% B;18 ~ 35 min,25% → 100% B;35 ~ 40 min,100% B。流速 0.3 mg/mL;柱温 30 °C,进样量 3 μL。

质谱条件:采用电喷雾离子源(ESI)正离子模式;毛细管电压 3 500 V;雾化气温度 325 °C,雾化器压力 40 psi;干燥气流速 12 L/min;扫描模式为 full scan/targeted-ddMS²,质量范围 50 ~ 1 200 m/z 。参比离子 121.050 8(Purine),922.009 7(HP-0921)。二级质谱碰撞能量(CE)为 10 ~ 60 eV。

确定肿节石斛样品中的成分基于两种方法:一是通过比较保留时间和精确的质量数,进行结构表征;二是通过分析 MS/MS 的主要碎片离子,对化合物进行表征。采用氯仿法和甲醇法,提取肿节石斛花、茎、叶的生物碱成分,通过外标法对一级质谱图中各组成成分,进行相对定量分析,将各化合物的峰面积代入回归方程中计算,从而得出每个化合物的

含量。

2 结果与讨论

2.1 肿节石斛生物碱成分检测

采用 UPLC-Q-TOF-MS 技术,通过比较成分保留时间、分子准确质量、前体离子 ($[M]^+/[M+H]^+$)、MS/MS 产物离子,并查阅相关文献进行特征峰的确证。对石斛碱对照品溶液和肿节石斛茎的两

种方法提取的样品溶液,进行分析,共结构表征出 15 个化合物(见表 1)。15 个生物碱类成分包括玫瑰石斛碱、玫瑰石斛碱 C、玫瑰石斛胺、石斛碱、玫瑰石斛啶碱、石斛胺碱、石斛酮碱、玫瑰石斛碱 B、玫瑰石斛碱 D、玫瑰啶碱 B、红星碱 A、*N*-异戊烯基石斛星碱、*N*-异戊烯基石斛碱、棒节碱 D、*N*-*p*-桂皮酸酰胺(见图 1)。

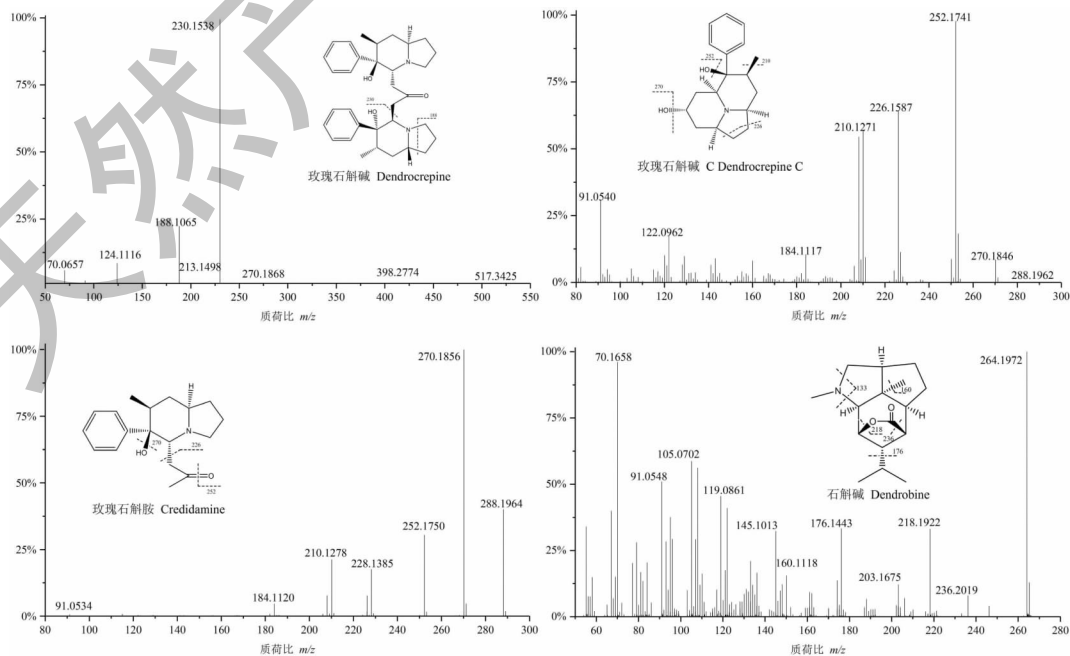
表 1 UPLC-Q-TOF-MS 鉴定的肿节石斛生物碱成分

Table 1 Alkaloid compounds identified from *D. pendulum* by UPLC-Q-TOF-MS

峰号 Peak	化合物 Compound	保留时间 t_R (min)	碰撞能量 CE (eV)	测定值 Experimental mass (m/z)	理论值 Calculated mass (m/z)	化学式 Formula	误差 Error (ppm)	参考文献 Ref.
1	玫瑰石斛碱 Dendrorepine	6.39	50	517.342 5	517.342 5	$C_{33}H_{45}N_2O_3^+$	-0.06	13
2	玫瑰石斛碱 C Dendrorepine C	7.27	40	288.196 2	288.195 8	$C_{18}H_{26}NO_2^+$	-1.37	17
3	玫瑰石斛胺 Credidamine	7.78	20	288.196 4	288.195 8	$C_{18}H_{26}NO_2^+$	-2.07	13
4	石斛碱 Dendrobine	8.34	40	264.197 2	264.195 8	$C_{16}H_{26}NO_2^+$	-5.30	8
5	玫瑰石斛啶碱 Crepidine	8.51	40	344.221 2	344.222 0	$C_{21}H_{30}NO_3^+$	2.39	18
6	石斛胺碱 Dendramine	9.90	40	280.189 7	280.190 7	$C_{16}H_{26}NO_3^+$	3.65	18
7	石斛酮碱 Nobiline	10.05	30	294.206 1	294.206 4	$C_{17}H_{28}NO_3^+$	0.92	9
8	玫瑰石斛碱 B Dendrorepidine B	10.29	30	346.201 3	346.201 3	$C_{20}H_{28}NO_4^+$	-0.04	19
9	玫瑰石斛碱 D Dendrorepidine D	11.75	30	287.188 0	287.188 0	$C_{18}H_{26}NO_2^+$	-0.07	19
10	玫瑰啶碱 B Homocrepidine B	12.28	30	290.211 5	290.213 7	$C_{18}H_{28}NO_2^+$	-7.76	19
11	红星碱 A Mubirone A	20.35	30	278.177 6	278.175 1	$C_{16}H_{24}NO_3^+$	-9.13	20
12	<i>N</i> -异戊烯基石斛星碱 <i>N</i> -Isopentenyl-dendroxine	20.45	30	360.257 3	360.253 3	$C_{22}H_{34}NO_3^+$	-11.08	21
13	<i>N</i> -异戊烯基石斛碱 <i>N</i> -Isopentenyl-dendrobine	21.05	30	332.258 4	332.258 4	$C_{21}H_{34}NO_2^+$	0.02	21
14	棒节碱 D Findlayine D	21.96	20	324.182 7	324.180 5	$C_{17}H_{26}NO_5^+$	7.89	14
15	<i>N</i> - <i>p</i> -桂皮酸酰胺 <i>N</i> - <i>p</i> -Cinnamoyl-tyramine	22.05	-	268.131 8	268.133 2	$C_{17}H_{18}NO_2^+$	5.26	11

注:成分 15 含量低,未做二级质谱。

Note: Because of low content, secondary mass spectrometry of compound 15 was not performed.



续图 1 (Continued Tab.1)

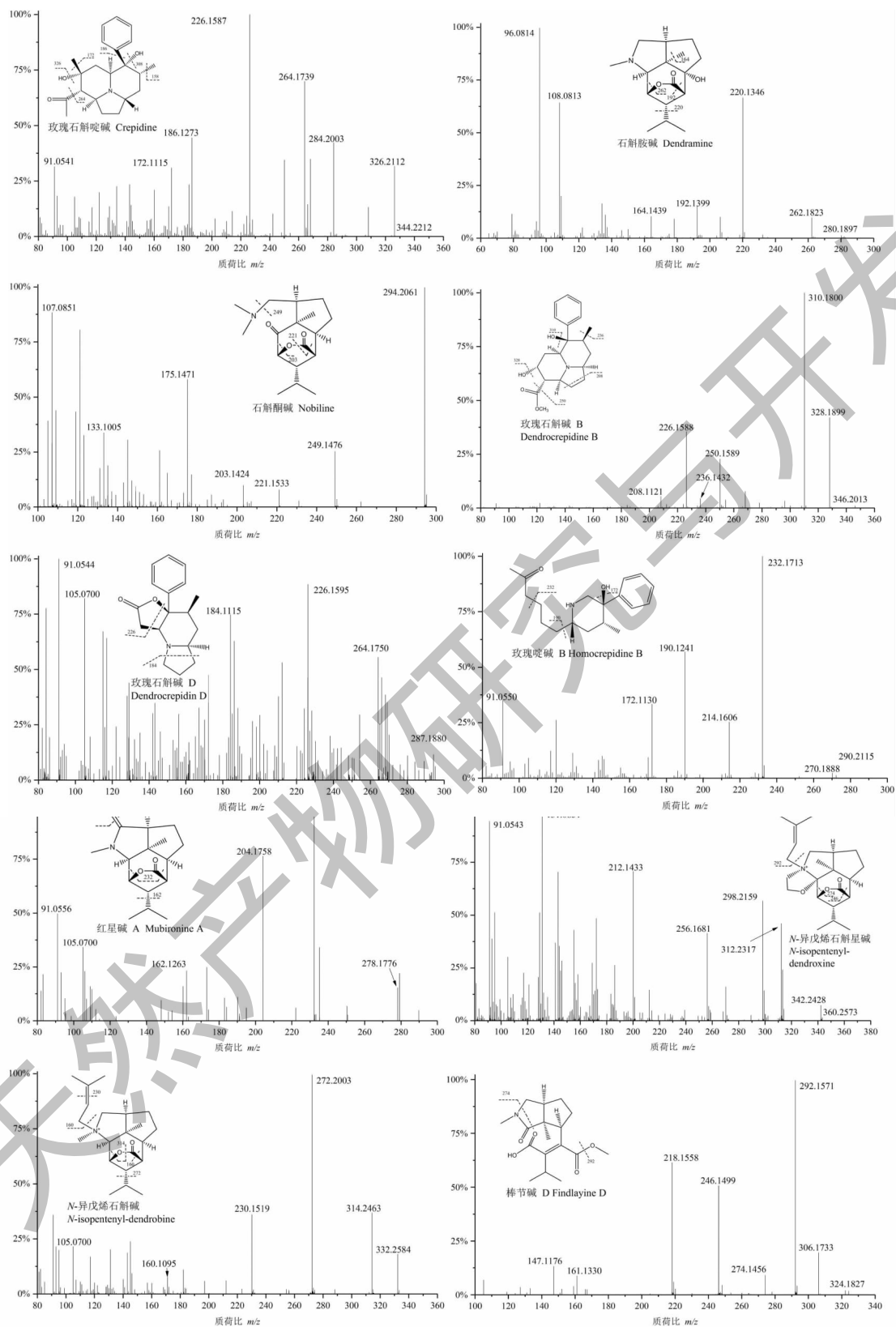


图1 肿节石斛生物碱二级质谱图

Fig. 1 MS/MS spectra of alkaloids in *D. pendulum*

2.2 肿节石斛生物碱成分的裂解途径

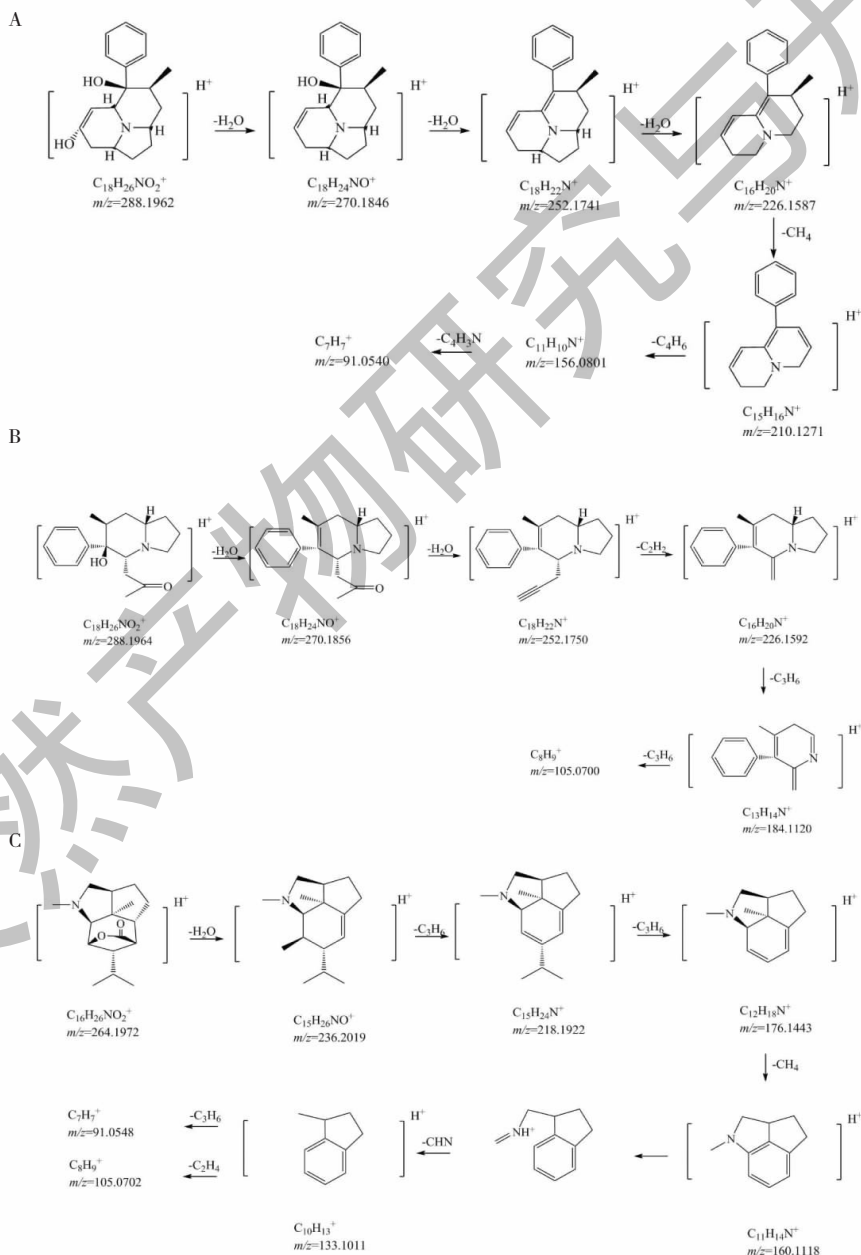
肿节石斛获得 15 个生物碱成分,分属八氢中氮茛菪类、倍半萜类、酰胺类生物碱类型。八氢中氮茛菪类生物碱分别包括化合物 **1** ~ **3**、**5**、**8** ~ **10**。中氮茛菪生物碱(indolizine alkaloids)是一类重要的天然有机化合物,具有抗炎、抗氧化、抗真菌、抗病毒、抗利什曼原虫、抗肿瘤、组胺 H₃ 受体拮抗及免疫调节等多种生物活性^[22]。

化合物 **1** ($t_R = 6.39$ min) 为二聚体率先裂解成两个 m/z 230.153 8 的产物离子,而后脱去 C₃H₆,形成 m/z 188.106 5 的产物离子。推测化合物 **1** 为玫

瑰石斛碱。

化合物 **2** ($t_R = 7.27$ min) 在碰撞诱导解离时连续失去 18 Da,均为中性损失 H₂O 后,在 m/z 252.174 1 (C₁₈H₂₂N⁺) 产生产物离子。而后依次失去 26、16、54、65 Da。推测化合物 **2** 为玫瑰石斛碱 C(见图 2)。

化合物 **3** ($t_R = 7.78$ min) 同化合物 **2** 结构近似,连续失去 18 Da,均为羟基断裂再结合一个氢离子形成 H₂O。而后失去 26 Da,形成 m/z 226.159 2 的产物离子,后在碰撞诱导解离时失去 C₃H₆ 形成碳氮双键。最终失去 42 Da 形成 m/z 105.070 0 的产物离子。推测化合物 **3** 为玫瑰石斛胺。



续图 2 (Continued Fig.2)

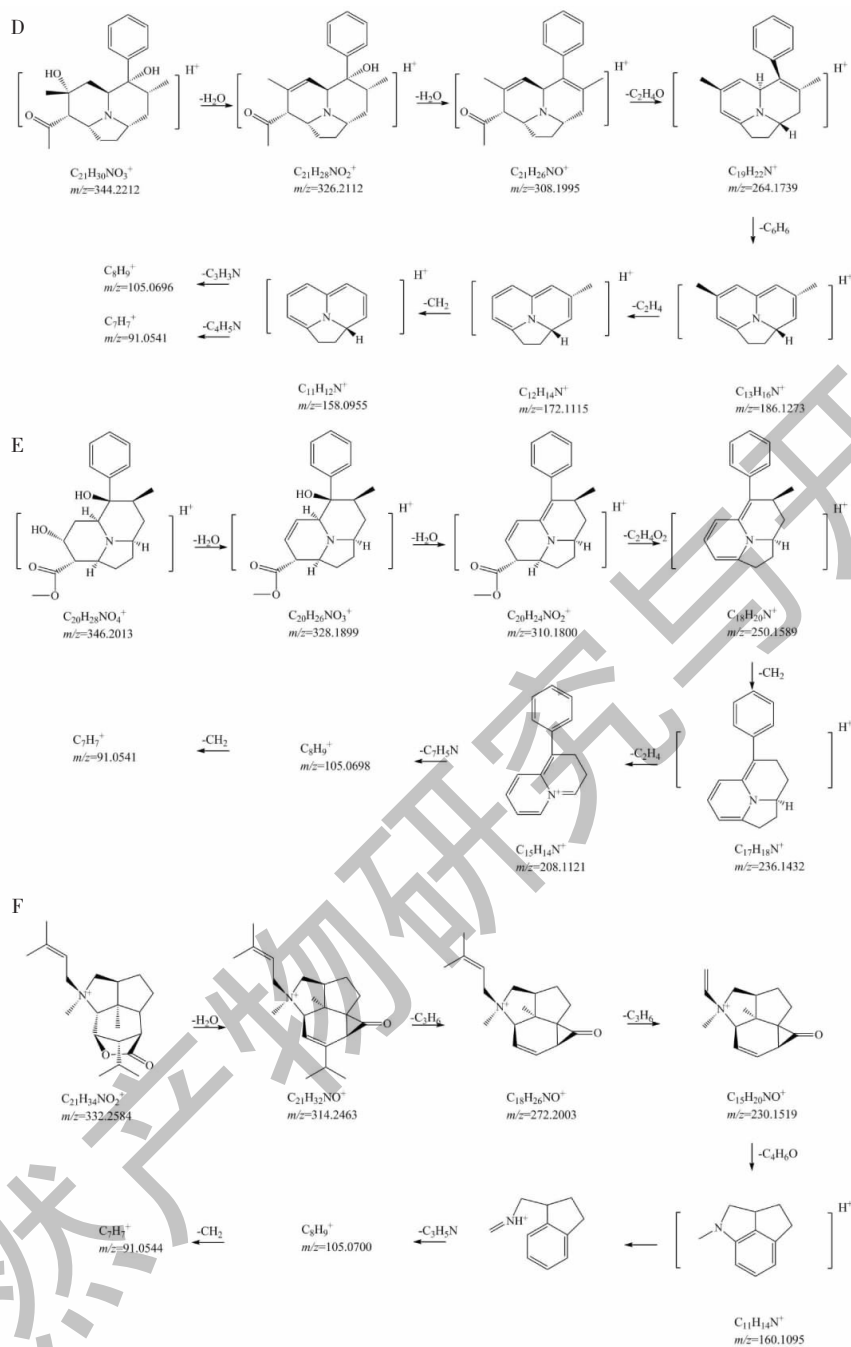


图 2 肿节石斛生物碱成分的裂解途径

Fig. 2 Proposed fragmentation pathway of alkaloids from *D. pendulum*

注:A:玫瑰石斛碱 C;B:玫瑰石斛胺;C:石斛碱;D:玫瑰石斛啉碱;E:玫瑰石斛碱 B;F:*N*-异戊烯石斛碱。Note: A: Dendrocrepine C; B: Credidamine; C: Dendrobine; D: Crepidine; E: Dendrocrepine B; F: *N*-Isopentenyl-dendrobine.

化合物 **5** ($t_R = 8.51$ min) 在碰撞诱导解离时连续失去 18 Da, 均为中性损失 H_2O 后, 在 m/z 308.1995 ($C_{21}H_{26}NO^+$) 产生产物离子。而后脱去碳环外醛基化合物, 苯环, 两个分子 CH_2 , 所得到的主要产物离子分别是 m/z 264.1739、186.1273、

172.1115、158.0955。 m/z 105.0696、91.0541 的产物离子分别对应 C_3H_3N 、 C_4H_5N 的丢失。推测化合物 **5** 为玫瑰石斛啉碱。

化合物 **8** ($t_R = 10.29$ min) 同化合物 **5** 结构近似, 连续失去 18 Da, 而后脱去碳环外醛基化合物。

形成主要特征离子产物 m/z 328. 189 9、310. 180 0、250. 158 9、236. 143 2。最终形成 m/z 105. 069 8、91. 054 1 的产物离子。推测化合物 **8** 为玫瑰石斛碱 B。

化合物 **9** ($t_R = 11. 75$ min) 同化合物 **3** 结构近似,其离子质荷比为 287. 188 0,在 m/z 226. 159 5、184. 111 5、105. 070 0、91. 054 4 的产物离子,表明其结构与化合物 **3** 十分相似。推测化合物 **9** 为玫瑰石斛碱 D。

化合物 **10** ($t_R = 12. 28$ min) 主要碎片离子为 m/z 232. 171 3、214. 160 6、190. 124 1。化合物 **10** 在碰撞诱导解离时先失去 58 Da 形成 $C_{15}H_{22}NO^+$,而后或先脱去 18 Da 掉落 H_2O ,或先脱去 42 Da 失去一个分子 C_3H_6 ,最终形成 m/z 172. 113 0、91. 055 0 产物离子。推测化合物 **10** 为玫瑰啶碱 B。

倍半萜类生物碱分别包括化合物 **4**、**6**、**7**,化合物 **11**~**14** 等 7 个成分。其中化合物 **12**、**13** 均为季铵盐。化合物 **4** ($t_R = 8. 34$ min) 主要碎片离子为 m/z 246. 197 2、236. 201 9、218. 192 2、176. 144 3、160. 111 8、133. 101 1、105. 070 2、91. 054 8。与文献记载碎片信息一致,推测为石斛碱。

化合物 **6** ($t_R = 9. 90$ min) 同化合物 **4** 相差 16 Da,在碰撞诱导解离时依次脱去 H_2O 、 C_3H_6 、CO,同化合物 **4** 的裂解过程相似。而后脱去 CO、 C_2H_4 ,在 m/z 192. 139 9 ($C_{12}H_{18}NO^+$) 产生产物离子 m/z 164. 143 9、108. 081 3。推测化合物 **6** 为石斛胺碱。

化合物 **7** ($t_R = 10. 05$ min) 在 m/z 249. 147 6 产物离子处依次脱去质量数为 28、18 Da 的 CO、 H_2O 分子,形成 m/z 221. 153 3、203. 142 4 的产物离子。与化合物 **4** 的裂解过程相似,证明化合物 **7** 具备和化合物 **4** 相似的化学结构。推测化合物 **7** 为石斛酮碱。

化合物 **11** ($t_R = 20. 35$ min) 同化合物 **4** 相差 14

Da,在 30 ev 碰撞能下依次脱去 CH_2O_2 、CO、 C_3H_6 ,推测化合物 **11** 为其醛基衍化物。推测化合物 **11** 为红星碱 A。

化合物 **12** ($t_R = 20. 45$ min) 同文献记载碎片信息一致,产物离子 m/z 292. 190 3、274. 182 5、264. 195 8、246. 185 6 证明化合物具备相似石斛碱(化合物 **4**)类型的生物碱结构骨架。先后脱去 C_3H_8 、 H_2O 与文献描述一致。推测化合物 **12** 为 *N*-异戊烯石斛星碱。

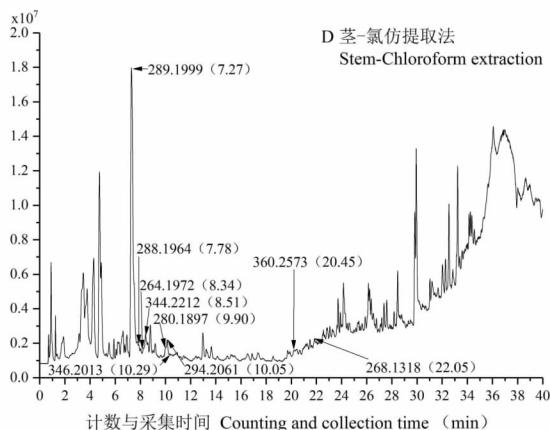
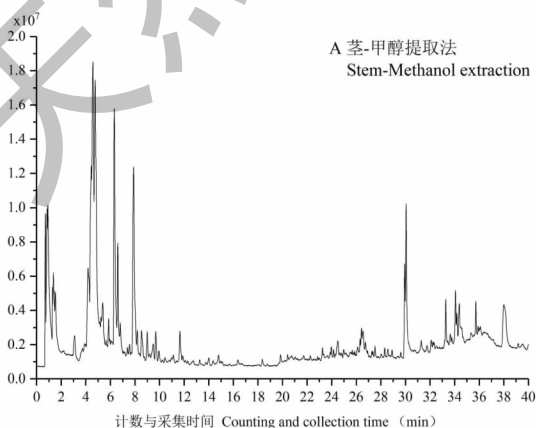
化合物 **13** ($t_R = 21. 05$ min) 裂解过程同化合物 **6** 相似,在碰撞诱导解离时依次脱去 H_2O 、 C_3H_6 、 C_3H_6 、 C_4H_6O 。推测化合物 **13** 为 *N*-异戊烯石斛碱。

化合物 **14** ($t_R = 21. 96$ min) 或先脱去 H_2O 再脱去 CH_4O ,或先脱去 CH_4O 再脱去 H_2O ,在 m/z 274. 145 6 ($C_{16}H_{20}NO_3^+$) 产生产物离子。而后依次脱去 CO、CO、 C_2H_3NO 、 CH_2 、 C_3H_6 ,最终形成 m/z 105. 070 0 的产物离子。推测化合物 **14** 为棒节碱 D。

2.3 肿节石斛不同部位的总离子流图

通过氯仿提取法和甲醇提取法从肿节石斛中得到 15 个生物碱成分(见图 3、表 2)。包括倍半萜类生物碱、八氢中氮茛类生物碱和酰胺类生物碱三种类型。倍半萜类生物碱有 7 个,八氢中氮茛类生物碱有 7 个成分,酰胺类生物碱 1 个。

氯仿提取法和甲醇提取法所提取的成分含量有所差异,氯仿极性高于甲醇。氯仿提取法提取出全部 15 个成分,甲醇提取法提取出 11 个成分。多数成分含量以氯仿提取法高,少数成分含量以甲醇提取法高。其中肿节石斛花器官通过氯仿法及甲醇法测得的生物碱成分,分别有 12 个、10 个。甲醇法提取叶中生物碱含量高于氯仿提取法。肿节石斛生物碱提取方式,采用以氯仿法为主,甲醇法为辅进行成分提取效果为佳。



续图 3(Continued Fig.3)

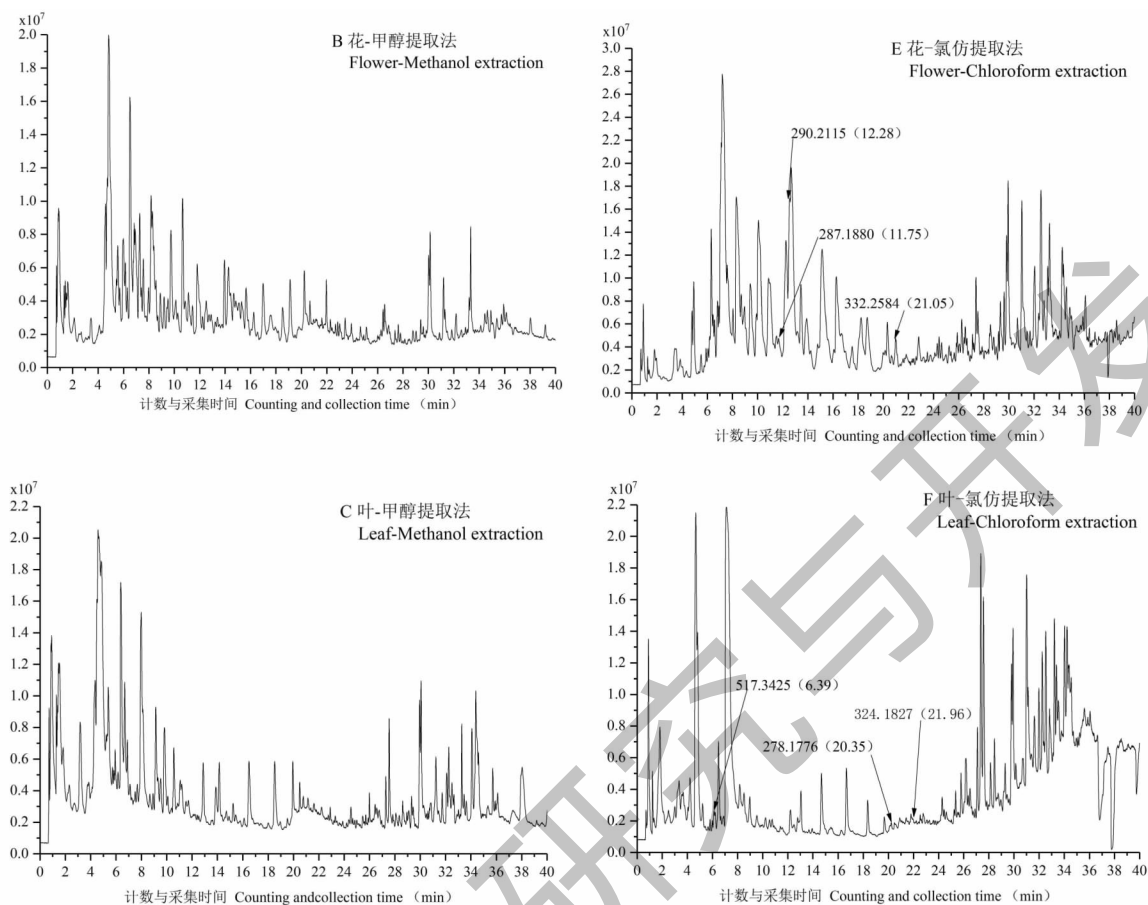


图3 肿节石斛生物碱的甲醇提取法(A、B、C)和氯仿提取法(D、E、F)的总离子流图

Fig. 3 Total ion chromatograms of alkaloids from *D. pendulum* by methanol extraction (A,B,C) and chloroform extraction (D,E,F)

表2 两种提取方法的肿节石斛不同部位生物碱成分含量

Table 2 Alkaloids content in different parts of *D. pendulum* by methanol and chloroform extraction($\mu\text{g/g}$)

峰号 Peak	化合物 Compound	氯仿法 Chloroform extraction			甲醇法 Methanol extraction		
		茎 Stem	花 Flower	叶 Leaf	茎 Stem	花 Flower	叶 Leaf
		1	玫瑰石斛碱 Dendrorepine	—	253.424	12.959	—
2	玫瑰石斛碱 C Dendrorepine C	3.801	211.166	8.284	—	41.273	15.322
3	玫瑰石斛胺 Credidamine	5.800	293.144	41.795	4.061	69.997	10.521
4	石斛碱 Dendrobine	34.872	4.872	—	11.603	5.876	82.011
5	玫瑰石斛啶碱 Crepidine	11.688	834.591	32.753	—	184.916	63.794
6	石斛胺碱 Dendramine	16.320	—	2.088	11.089	—	93.169
7	石斛酮碱 Nobiline	40.073	4.612	6.568	—	12.158	115.891
8	玫瑰石斛碱 B Dendrorepidine B	5.264	823.809	20.780	—	159.811	33.385
9	玫瑰石斛碱 D Dendrorepidine D	—	103.029	—	—	10.093	—
10	玫瑰啶碱 B Homocrepidine B	—	60.763	—	—	13.869	—
11	红星碱 A Mubironine A	—	—	5.303	—	—	—
12	N-异戊烯石斛星碱 N-isopentenyl-dendroxine	7.891	20.684	10.439	—	—	—

续表 2(Continued Tab. 2)

峰号 Peak	化合物 Compound	氯仿法 Chloroform extraction			甲醇法 Methanol extraction		
		茎 Stem	花 Flower	叶 Leaf	茎 Stem	花 Flower	叶 Leaf
		13	<i>N</i> -异戊烯石斛碱 <i>N</i> -isopentenyl-dendrobine	19.119	20.602	3.434	-
14	棒节碱 D Findlayine D	-	-	7.225	-	-	-
15	<i>N</i> - <i>p</i> -桂皮酸酰酪胺 <i>N</i> - <i>p</i> -cinnamoyl-tyramine	2.114	3.981	-	-	-	-
总计 Total		146.942	2 634.677	151.628	26.753	616.137	430.493

注:“-”未检出。

Note:“-” Not detected.

2.4 生物碱含量分析

15 个生物碱成分中,不同生物碱成分含量差异较大(见表 2)。相对含量大于 200 $\mu\text{g/g}$ 的成分有 5 个,由高到低依次为:玫瑰石斛啶碱、玫瑰石斛碱 B、玫瑰石斛胺、玫瑰石斛碱、玫瑰石斛碱 C,皆为八氢中氮茛苣类生物碱。其中玫瑰石斛啶碱含量最高,花中含量高达 834.591 $\mu\text{g/g}$;花中玫瑰石斛碱 B 含量达 823.809 $\mu\text{g/g}$ 。相对含量为 50 ~ 200 $\mu\text{g/g}$ 的成分有 5 个;含量介于 5 ~ 50 $\mu\text{g/g}$ 间的成分有红星碱 A、*N*-异戊烯石斛星碱、*N*-异戊烯石斛碱、棒节碱 D,皆为倍半萜类生物碱;含量低于 5 $\mu\text{g/g}$ 的成分仅有 *N*-*p*-桂皮酸酰酪胺(酰胺类生物碱)。

该研究确定了肿节石斛不同部位生物碱含量,由高到低依次为花、叶、茎。花中生物碱含量最高,远高于茎、叶,叶中生物碱含量高于茎。花中生物碱含量以八氢中氮茛苣类生物碱为主;茎、叶中生物碱以倍半萜类生物碱为主。茎为石斛常规的药用部位,花、叶中的生物碱含量表明,肿节石斛可能为全株入药种类。叶和茎作为生物碱成分部位,具有较高的药用保健价值,有开发为石斛茶饮潜力。

倍半萜类生物碱含量在不同器官中的含量,由高到低依次为叶、茎、花;叶中倍半萜类生物碱含量最高,花中最低。不同类型生物碱比较,茎中倍半萜类生物碱含量高于八氢中氮茛苣类生物碱。

石斛生物碱具有通络、消炎、清热、止疼等功效。石斛的药用价值目前研究主要集中于石斛多糖,对石斛生物碱的价值挖掘和研究较少。生物碱研究以金钗石斛居多^[23,24],在束花石斛、玫瑰石斛等种类中也有少数研究^[25-27]。生物碱的研究,有利于促进金钗石斛、肿节石斛等高生物碱含量石斛种类的开发。

3 结论

该试验从肿节石斛中共结构表征出 15 个生物碱:玫瑰石斛碱(1)、玫瑰石斛碱 C(2)、玫瑰石斛胺

(3)、石斛碱(4)、玫瑰石斛啶碱(5)、石斛胺碱(6)、石斛酮碱(7)、玫瑰石斛碱 B(8)、玫瑰石斛碱 D(9)、玫瑰啶碱 B(10)、红星碱 A(11)、*N*-异戊烯石斛星碱(12)、*N*-异戊烯石斛碱(13)、棒节碱 D(14)、*N*-*p*-桂皮酸酰酪胺(15)。该研究首次在肿节石斛中发现生物碱存在,主要为八氢中氮茛苣类生物碱类型。

石斛通常以茎为主要食用部位,肿节石斛茎中生物碱以倍半萜类为主。其茎、花、叶的生物碱种类及其含量丰富。肿节石斛,花中生物碱含量较茎、叶高,花中以玫瑰石斛啶碱、玫瑰石斛碱 B、玫瑰石斛胺、玫瑰石斛碱、玫瑰石斛碱 C、玫瑰石斛碱 D 等八氢中氮茛苣类生物碱为主。该试验通过氯仿法和甲醇法提取成分,表明氯仿法提取的成分种类较全、含量较高,建议以氯仿法为主、甲醇提取法为辅进行生物碱提取。

参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China; Vol I(中华人民共和国药典:第一部) [M]. Beijing: China Pharmaceutical Science and Technology Press, 2015:92-93.
- 2 Peng SX. Advances of Medicinal Chemistry(药物化学进展) [M]. Beijing: Chemical Industry Publishing House, 2004: 113-143.
- 3 Han XJ, Li QB, Li SL. Chemistry, bioactivity and quality control of *Dendrobium*, a commonly used tonic herb in traditional Chinese medicine [J]. Phytochem Rev, 2013, 12: 341-367.
- 4 Wang Y, Li ZJ, Peng HM, et al. Resources Production and Application of *Dendrobium* (石斛兰资源生产应用) [M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 2006: 33-35.
- 5 Wang ZH, Li J, Zhang JH, et al. Comparison of polysaccharide and alkaloid contents in *Dendrobium* [J]. Chin Agr Sci Bull(中国农学通报), 2015, 31(24): 242-246.
- 6 Chen KK, Chen AL. The alkaloid of Chin-Shih-Hu [J]. J Biol Chem, 1935, 111: 653-658.

- 7 Yamamura S, Hirata Y. Structures of nobiline and dendrobine [J]. *Tetrahedron Lett*, 1964, 5(2): 79-87.
- 8 Luning B. Studies on Orchidaceae alkaloids IV: Screening of species for alkaloids 2 [J]. *Phytochemistry*, 1967, 6: 857-861.
- 9 Jin RL, Sun JJ, Zhang YM. Determination of total alkaloids in eleven species of Shihu (*Dendrobium*) [J]. *J Nanjing Coll Pharm(南京药学院学报)*, 1981, 16(1): 9-13.
- 10 Hu Y, Ren J, Wang L, et al. Protective effects of total alkaloids from *Dendrobium crepidatum* against LPS-induced acute lung injury in mice and its chemical components [J]. *Phytochemistry*, 2018, 149: 12-23.
- 11 Elander M, Leander K, Rosenblom J, et al. Studies on Orchidaceae alkaloids XXXII. Crepidine, crepidamine and dendrocrepine, three alkaloids from *Dendrobium crepidatum* Lindl [J]. *Acta Chem Scand*, 1973, 27: 1907-1913.
- 12 Hu Y, Zhang CF, Zhao X. (+)-Homocrepidine A, a pair of anti-inflammatory enantiomeric octahydroindolizine alkaloid dimers from *Dendrobium crepidatum* [J]. *J Nat Prod*, 2016, 79(1): 252-256.
- 13 Li ZJ, Wang YC, Han B, et al. Research on constituents of alkaloids in *Dendrobium* species [J]. *Chin Tradit Herb Drugs(中草药)*, 2019, 50: 3246-3254.
- 14 He YQ, Lu YL, Li LS, et al. Analysis of alkaloids from *Dendrobium nobile* stem by UPLC-ESI-Orbitrap-MS [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志)*, 2017, 23(20): 38-43.
- 15 Lin Y, Song C, Jin Q, et al. Construction and application of HPLC fingerprint of alkaloids from *Dendrobium* (一种石斛生物碱类成分的高效液相色谱指纹图谱构建方法及应用): CN201310526400. 1 [P]. 2013-10-29.
- 16 Wang YH, Avula B, Abe N, et al. Tandem mass spectrometry for structural identification of sesquiterpene alkaloids from the stems of *Dendrobium nobile* using LC-Q-TOF [J]. *Planta Med*, 2016, 82: 662-670.
- 17 Toshihiko O, Mitsutaka N, Tadamas O, et al. Further studies on the alkaloidal constituents of *Dendrobium nobile* (Orchidaceae) structure determination of 4-hydroxy-dendroxine and nobilomethylene [J]. *Chem Pharm Bull*, 1972, 20: 418-421.
- 18 Zhang X, Xu JK, Wang J, et al. Bioactive bibenzyl derivatives and fluorenones from *Dendrobium nobile* [J]. *J Nat Prod*, 2007, 70(1): 24-28.
- 19 Wang DF, Yu GX, Zhao NY, et al. Study on chemical constituents in stems of *Dendrobium nobile* [J]. *Chin Tradit Herb Drug(中草药)*, 2012, 43: 1492-1495.
- 20 Granelli I, Leander K, Luning B. Studies on Orchidaceae alkaloids XVI. A new alkaloid, 2-hydroxydendrobine, from *Dendrobium findlayanum* Par et Rchb f [J]. *Acta Chem Scand*, 1970, 24: 1209-1212.
- 21 Yang D, Cheng ZQ, Yang L, et al. Seco-dendrobine-type alkaloids and bioactive phenolics from *Dendrobium findlayanum* [J]. *J Nat Prod*, 2018, 81: 227-235.
- 22 Zhang MZ. Synthesis and anti tumor activity of indolizines and analogues [D]. Hangzhou: Zhejiang Normal University (浙江师范大学), 2009.
- 23 Huang XY. Study on GC fingerprint of alkaloids and chemical constituents of volatile oil from *Dendrobium nobile* Lindl in Guizhou Province [D]. Guizhou: Guizhou Normal University (贵州师范大学), 2006.
- 24 Zhang YX, Liu H, Ling L, et al. Advances in pharmacological effect of *Dendrobium nobile* Lindl alkaloids [J]. *Shanghai J Tradit Chin Med(上海中医药杂志)*, 2019, 53(2): 95-97.
- 25 Zhang CF, Nakamura N, Tewtrakul S. Two new alkaloids from *Dendrobium chrysanthum* [J]. *Heterocycles*, 2005, 65: 633-636.
- 26 Li CB, Wang C, Fan WW, et al. Chemical components of *Dendrobium crepidatum* and their neurite outgrowth enhancing activities [J]. *Nat Prod Bioprospect*, 2013, 3(2): 70-73.
- 27 Li ZJ, Zhou WY, Han B, et al. Study on alkaloids from stems of *Dendrobium crepidatum* based on UPLC-Q-TOF-MS [J]. *Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发)*, 2020, 32: 482-488.