

不同种源的霍山石斛及霍山产铁皮石斛、铜皮石斛化学成分 GC-MS 分析

陈乃东^{1,2,3*}, 李卢凡^{1,2}, 张方方^{1,2}, 陈国涛^{1,2}, 王雪荣^{1,2}

¹皖西学院生物与制药工程学院; ²皖西中药与天然药物工程技术研究中心, 六安 237012;

³安徽医科大学药学院, 合肥 230032

摘要: 研究不同种源的霍山石斛及霍山产铁皮石斛、铜皮石斛化学成分, 为石斛资源保护和利用提供依据。石斛鲜品冷冻干燥至恒重后甲醇超声提取 1.0 h, 滤液冷冻干燥除去甲醇后溶于正己烷, 气相色谱-质谱联用法分析萃取液组分, 质谱相似度、保留指数比对及标准品比对法鉴定分离组分、半定量法测定分离组分相对含量, 主成分分析法确定 6 种石斛样品主要差异成分。从六种供试品中分离出 109 种组分, 鉴定出 72 种成分, 主要为烷烃、酯、醇、酚、萜及甾体类成分; 不同种源的霍山石斛及霍山产铁皮石斛、铜皮石斛中化合物种类和含量存在差异。主成分分析显示, 化合物 7(3-甲基-癸烷)、9(2,4-二甲基正十一烷)、15(2,7,10-三甲基十二烷)、17(4-丙基苯酚)、37(4-甲氧基桂皮酸甲醛)、43(1-十三醇)、46(3,4-二甲氧基-5-羟基苯甲醛)、57(十五烷酸)、62(1-十九烯)、65(十八烷)、672(二十烷)、88(十三烷二酸二乙酯)、91(橄榄油醇)、96(二十四烷)、98(蓖麻油酸)、101(2,2'-亚甲基双-(4-甲基-6-叔丁基苯酚))、106(3 β -羟基-5-胆稀酸), 为六种供试品的主要特征性成分, 可用于区分六种不同的石斛样品。不同种源的霍山石斛及霍山产铁皮石斛、铜皮石斛化学成分存在差异。研究结果可为石斛资源开发、质量标准制定及质量控制提供科学根据。

关键词: 霍山石斛; 河南石斛; 铁皮石斛; 铜皮石斛; 气质联用; 主成分分析

中图分类号: R931.5

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.S.011

GC-MS Analysis of Chemical Components in Different Origins of *Dendrobium huoshanense*, *Dendrobium henanense* as well as *Dendrobium officinale* and *Dendrobium moniliforme* Originated from Huoshan County

CHEN Nai-dong^{1,2,3*}, LI Lu-fan^{1,2}, ZHANG Fang-fang^{1,2}, CHEN Guo-tao^{1,2}, WANG Xue-rong^{1,2}

¹College of Biotechnology and Pharmaceutical Engineering, West Anhui University;

²West Anhui Biotechnology Research Center of Natural Medicine and Traditional Chinese Medicine,

West Anhui University, Lu'an 237012, China; ³School of Pharmacy, Anhui Medical University, Hefei 230032, China

Abstract: To research the difference of chemical components in different origins of *Dendrobium huoshanense* C. Z. Tang et S. J. Cheng, *Dendrobium officinale* Kimura et Migo and *Dendrobium moniliforme* (Linn.) Sw. and to provide references for protection and utilization of *Dendrobium* plants. The fresh collected *Dendrobium* samples were washed thoroughly in water and then freeze-dried by a MicroModulyo lyophilizer, powdered in a blender and extracted with ultrasonic by methanol for 1.0 h. Then the filtrate was freeze-dried to remove the methanol and the residues was re-dissolved in water and extracted by n-hexane. The n-hexane extraction was remove for further GC-MS analysis. The isolated chemicals were identified by comparing their RM and KI values and the known chemical in the NIST2010 library. The quantitative analysis of each component can be directly calculated by the overall volume integration. At last, a PCA analysis was applied to

investigate the main variation of chemical in the six *Dendrobium* samples. Total 109 chemicals were isolated and 72 of them were identified. The main compositions in the six *Dendrobium*s were alkane, ester, alcohols, phenol, terpenes and sterols. The compositions and contents were different in different origins of *D. huoshanense*, *D. officinale* and *D. moniliforme*. The PCA analysis resulted that the first three prin-

收稿日期: 2016-09-28 接受日期: 2017-03-02

基金项目: 国家自然科学基金(81274021, 81573536); 中国博士后基金(2016T90568); 安徽省自然科学基金面上项目(1608085MH221); 安徽省教育厅自然科学研究重点项目(KJ2016A886); 皖西学院学生研究性学习项目(wxxy2016078, wxxy2016079, wxxy2016081, wxxy2016085)

* 通信作者 E-mail: 2004end@163.com

principal components explained 92.3% of the variance of the data and the loading plot of the three first components showed a strong relationship between seventeen major compounds 7、9、15、17、37、43、46、57、65、72、80、88、91、96、98、101、106. The chemical compositions were different among different origins of *D. huoshanense*, *D. officinale* and *D. moniliforme*. The research provides a scientific basis for the further development and utilization of *Dendrobium* resources.

Key words: *Dendrobium huoshanense*; *Dendrobium henanense*; *Dendrobium officinale*; *Dendrobium moniliforme*; GC-MS; principal component analysis

霍山石斛 *Dendrobium huoshanense* C. Z. Tang et S. J. Cheng, 俗称米斛, 为濒危兰科植物, 仅分布于大别山区的安徽霍山、金寨、岳西、舒城、湖北英山等县, 含有多糖、生物碱^[1]等, 具有增强免疫活性^[2,3]、明目、预防治疗心血管疾病、延缓衰老等功效^[4], 是安徽地道药材之一^[5,6]。铁皮石斛 *Dendrobium officinale* Kimura et Migo 是兰科石斛属多年生附生草本植物, 是《中国药典》中收录的 5 种石斛属植物之一, 新鲜或干燥茎入药, 有益胃生津、滋阴清热、免疫调节、延缓衰老等功效^[7,8]。铜皮石斛 *Dendrobium moniliforme* (Linn.) Sw., 即细茎石斛, 主要含有多糖^[9]、生物碱^[10]、联苲类和菲类^[11]等活性成分, 具有抗肿瘤、免疫调节、抗氧化、扩张血管、降血糖等多种功效^[9,12]。

霍山石斛、铁皮石斛、铜皮石斛为皖西大别山区主要石斛类植物, 多年来, 药用石斛来源主要以采集野生为主, 致使资源急剧减少, 野生资源已濒临灭绝。目前, 在石斛道地产区, 通过组培快繁获得试管苗大规模野外驯化栽培, 已逐渐替代野生资源成为药用石斛的主要来源^[13-15]。

为了研究不同种源的石斛类药材药效物质基础的相似性, 实验采用 GC-MS 法分析霍山石斛及霍山产铁皮石斛、铜皮石斛鲜条的次生代谢产物的组成, 主成分分析法探讨其主要差异性成分。研究结果可望为石斛资源开发、质量标准的制定及质量控制提供科学根据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Trace1300-RSQ 气质联用仪(美国热电), LabconcoFreeZone-102℃冷冻干燥机(美国热电), 分析天平(FA1004型, 中国上海精科有限公司)。

1.2 材料与试剂

1.2.1 材料

实验所述组培植株指经试管苗育种野外栽培的植株, 野生植株指自然状态下种子繁殖野外自然生长的植株, 二者最主要的区别在于种源不同。

实验材料 2015 年 10 月采自安徽省霍山县太平畈, 品种经安徽省级 2011 协同创新-霍山石斛产业化开发协同创新中心主任陈乃富教授鉴定为霍山石斛组培植株(tissue-cultured *Dendrobium huoshanense*, TC-DHS)、霍山石斛野生植株(wild *Dendrobium huoshanense*, W-DHS)、铁皮石斛组培植株(tissue-cultured *Dendrobium officinale*, TC-DO)、铁皮石斛野生植株(wild *Dendrobium officinale*, W-DO)、铜皮石斛组培植株(tissue-cultured *Dendrobium moniliforme*, TC-DM)、铜皮石斛野生植株(wild *Dendrobium moniliforme*, W-DM)。新鲜植株, 除去根、叶, 洗净, 冷冻保藏, 备用。

1.2.2 试剂

正己烷(色谱纯, Sigma Aldrich 试剂有限公司)、甲醇(色谱纯, 美国 TEDIA 试剂有限公司), 水为实验室自制双蒸水。正构烷烃混合对照品 C8~C40(上海安谱公司)。

2 实验方法

2.1 样品制备

新鲜供试品, -20℃预冻 24 h 后 -80℃冷冻干燥至恒重, 粉碎, 精密称取 0.1 g, 加入 10 mL 色谱甲醇超声提取 1.0 h, 重复提取 3 次, 合并滤液, -102℃冷冻干燥除去甲醇, 残渣溶于 2.0 mL 水, 加入 2.0 mL 正己烷, 涡旋 30 s, 2500 rpm 离心 5.0 min, 上层正己烷相 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 供进一步 GC-MS 分析。

2.2 GC-MS 分析条件

TG-5 熔融石英毛细管柱(30×0.25 mm, 膜厚度为 0.25 μm)。GC 条件: 进样口温度为 250℃, 载气为氦气, 柱流速 1.0 mL/min, 柱起始温度 80℃以 5℃/min 升至 150℃, 保持 1.0 min, 再以 2.5℃/min 升至 250℃, 保持 2.0 min, 分流进样, 分流比为 5:1, 进样量为 1 μL。MS 条件: 电子电离离子源(Electron Impact, EI), 漂移管和离子源温度分别为 250℃和 280℃, 质量扫描范围为 50~300 amu。

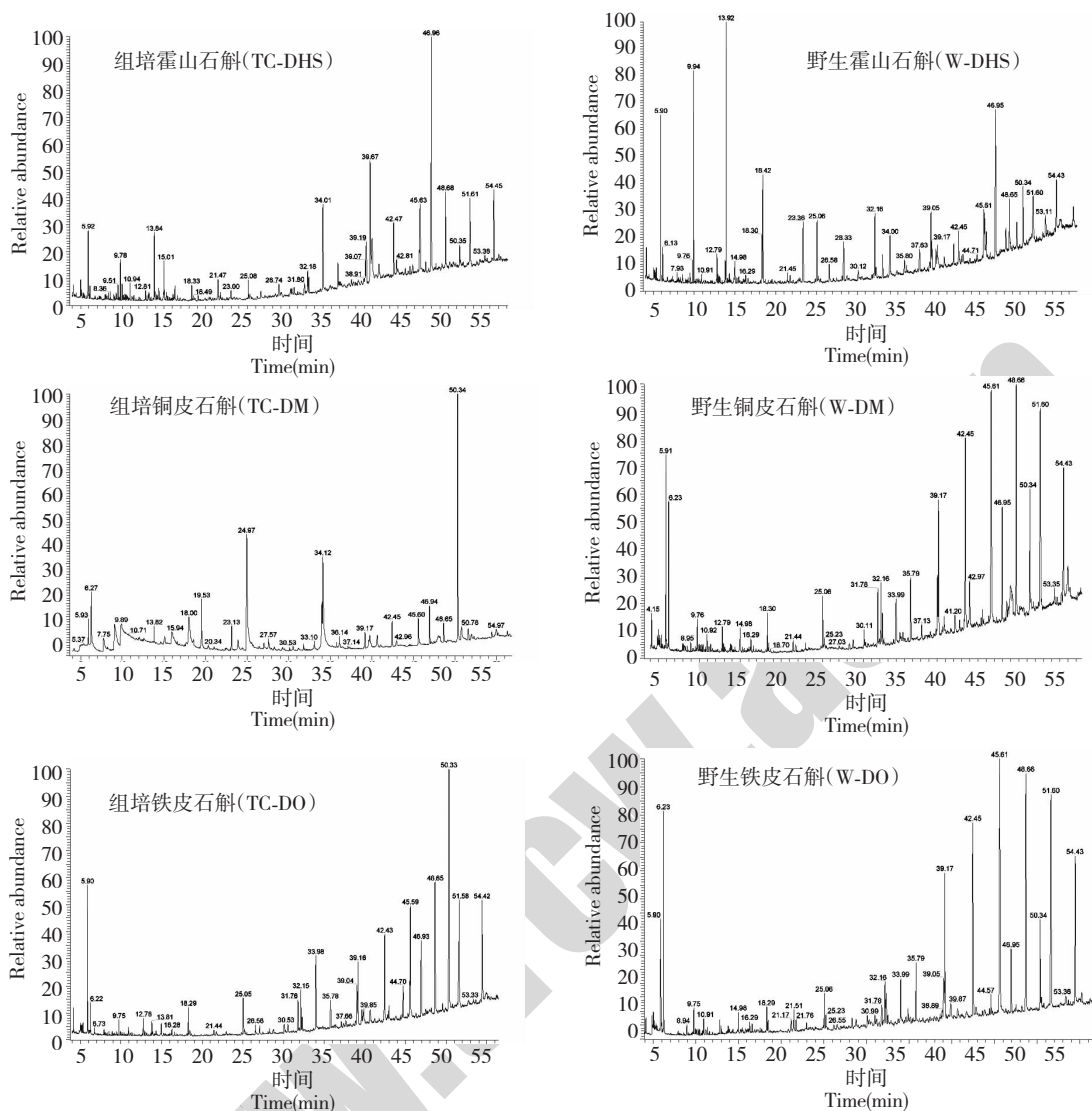


图1 不同种源霍山石斛及霍山产铁皮石斛、铜皮石斛总粒子流图

Fig. 1 TIC chromatograms of tissue-cultured and wild *D. huoshanense*, *D. officinale* and *D. moniliforme*

2.3 保留指数 KI 值测定

取正构烷烃混合对照品,按照 2.2 项下的升温条件分析,记录各正构烷烃保留时间,采用公式 $KI = 100n + 100(t_x - t_n) / (t_{n+1} - t_n)$, 计算各组分的 KI 值,其中 t_x, t_n, t_{n+1} 分别为被分析组分和碳原子数处于 n 和 $n+1$ 之间的正构烷烃 ($t_n < t_x < t_{n+1}$) 的流出峰的保留时间^[16]。

2.4 低沸点成分的定性及半定量分析

根据 GC-MS 分离化合物质谱与 Trace1300-ISQ 自带 NIST2010 数据库中化合物质谱相对匹配度 (RM) 及 2.3 所述方法测定 KI 值鉴定:质谱与 NIST 数据库中已知化合物质谱 RM 值 800 以上、KI 值与 NIST 数据库一致。对于正烷烃,除了比较 RM、KI

值,还进行标准品比对加以验证。

半定量法测定各组分含量:根据供试品的 GC-MS 总粒子流图中各组分的峰面积,计算各组分在供试品中的相对含量:

组分含量 (%) = 组分峰面积 / 所有组分峰总面积 × 100%

2.5 主成分分析

采用 MetaboAnalyst 3.0^[17,18] 对 6 种石斛样品 GC-MS 检测组分进行主成分分析。

3 结果与分析

3.1 GC-MS 分析结果

取“2.1”项下的供试品溶液,按“2.2”项下的程

序升温条件进行 GC-MS 分析,测得不同种源的霍山石斛、河南石斛及霍山产铁皮石斛、铜皮石斛总粒子流图如图 1 所示。不同组分在各石斛样品中相对含量见表 1。

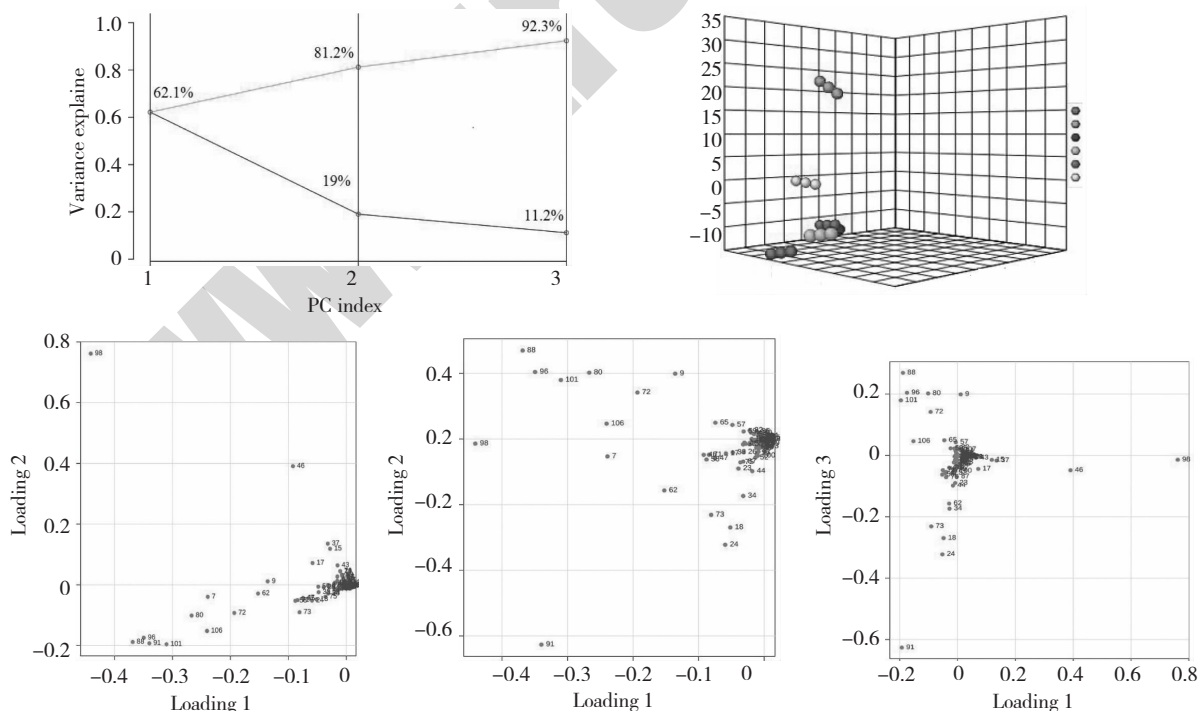
从六种供试品中分离 109 种组分,通过 NIST 数据库比对查询,初步鉴定 72 种化合物(表 1),分属烃(18 种)、醇(13 种)、酚(9 种)、酯(9 种)、萜类(6 种)、甾体(4 种)及醛类(4 种),鉴定的组分含量约占六种供试品甲醇提取物正己烷萃取部位组分总量的 73.69~88.78%(表 2)。各组分的含量种间差异显著:霍山石斛中萜类的含量(野生植株 7.33%,组培植株 6%)高于铁皮石斛(野生植株 1.1%,组培植株 0.54%)与铜皮石斛(野生植株 4.15%,组培植株 0.16%);在六种石斛供试品中,铜皮石斛组培植株不饱和醛类的含量为 12.88%,明显高于其余 5 个供试品。铁皮石斛组培植株中酯类物质的含量为 14.05%,高于铁皮石斛野生植株的 5.1%和霍山石斛与铜皮石斛组培植株的 9.69%与 10.57%。

不同种源的同种植物甲醇提取物的正己烷萃取部位组分也明显不同,例如霍山石斛,组培植株中甾体含量(5.64%)与有机酸含量(11.09%)约为野生植株的 2 倍,野生植株酚类含量(24.8%)远高于组

培植株(14.2%);铁皮石斛野生酯类含量(14.05%)约为组培植株的(7.35%)2 倍;铜皮石斛野生植株中甾体的含量(6.25%)明显高于组培植株中甾体含量(0.54%)。这些研究结果提示不同种源的霍山石斛、铁皮石斛、铜皮石斛,次生代谢产物存在差异。

3.2 主成分分析结果

主成分分析是多元统计中的一种数据挖掘技术。它在不丢失主要变量信息的前提下选择为数较少的新变量来代替原来较多的变量,以排除众多化学信息共存中相互重叠的信息。为探讨不同种源的霍山产三种主要石斛霍山石斛、铁皮石斛和铜皮石斛的组分差异性,实验以 GC-MS 检测的 109 种组分相对含量为变量,采用 MetaboAnalyst3.0 对六种供试品进行主成分分析,结果如图 2 所示。由主成分因子碎石图(Score Plots,图 2-1)可以看出,前三个主成分包含了六种供试品 92.3% 的差异信息,且三维得分图(3D Score Plots,图 2-2)显示这三个主要成分具有较好的区分度,包含的差异可以用来区分六种供试品。分析主成分分析载荷图(Loadings Plots,图 2-3~2-5)显示,主成份 1 包与化合物 7(3-甲基癸烷)、9(2,4-二甲基正十一烷)、62(1-十九烯)、72



注:2-1 因子碎石图(Score Plots);2-2 主成分分析 3D 得分图(3D Score Plots);2-3~2-5 载荷图(Loadings Plots)。

图 2 不同种源的霍山石斛、铁皮石斛、铜皮石斛化学成分主成分分析结果

Fig. 2 PCA analysis results on the chemical constituents of different origins of *D. huoshanense*, *D. officinale* and *D. moniliforme*.

表1 不同种源的霍山石斛及霍山产铁皮石斛、铜皮石斛 GC-MS 检测结果^{**}Table 1 GC-MS analysis results on tissue-cultured and wild *D. huoshanense*, *D. officinale* and *D. morniliforme* from Huoshan county

化合物 编号 Comp.	保留 时间 RT	名称 Chemicals	RM	KI	KI ^{**}	相对含量(%, ±SD) The relative contents(%, ±SD)				
						TC-DHS	W-DHS	TC-DO	W-DO	TC-DM
1	4.16	癸烷 Decane, C ₁₀ H ₂₂	927	※	※	0.30 ± 0.08	0.90 ± 0.11	0.29 ± 0.05	1.48 ± 0.23	0.1 ± 0.02
2	4.86	2-乙基-1-己醇 1-Hexanol, 2-ethyl-, C ₈ H ₁₈ O	908	985	990	0	0	0.55 ± 0.09	0	0
3	5.02	正十一烷 Undecane, C ₁₁ H ₂₄	915	※	※	0.55 ± 0.09	0.13 ± 0.02	0.35 ± 0.04	0.41 ± 0.05	0
4	5.13	正十二烷 Dodecane, C ₁₂ H ₂₆	936	※	※	0.1 ± 0.01	0	0.13 ± 0.02	0.29 ± 0.03	0
5	5.21	-	-	-	-	0	0	0	0.31 ± 0.02	0
6	5.33	4,5-二甲基壬烷 Nonane, 4,5-dimethyl-, C ₁₁ H ₂₄	885	1032	1035	0	0.15 ± 0.03	0	0.53 ± 0.08	0
7	5.92	3-甲基癸烷 Decane, 3-methyl-, C ₁₁ H ₂₄	921	1059	1063	3.11 ± 0.21	6.08 ± 0.75	3.98 ± 0.32	9.51 ± 0.85	1.82 ± 0.12
8	6.15	正辛醇 1-Octanol, C ₈ H ₁₈ O	903	1076	1074	0.39 ± 0.07	1.04 ± 0.08	0	0	0
9	6.23	2,4-二甲基正十一烷 Undecane, 2,4-dimethyl-, C ₁₃ H ₂₈	845	1216	1213	0	0	6.6 ± 0.42	1.84 ± 0.11	3.1 ± 0.18
10	6.73	Benzenemethanol, dimethyl-, C ₉ H ₁₂ O	875	1231	1236	0	0	0	0.19 ± 0.05	0
11	7.75	1-十三烯 1-Tridecene, C ₁₃ H ₂₆	887	1289	1292	0	0	0	0	1.48 ± 0.09
12	7.93	-	-	-	-	0	0.05 ± 0.01	0	0.12 ± 0.01	0
13	8.57	环氧-α-醋酸萘品酯 Epoxy-α-terpenyl acetate, C ₁₂ H ₂₀ O ₂	832	1343	1340	0.16 ± 0.02	0	0	0	0
14	8.94	1,3-Benzodioxole, 5-(1-propenyl)-, C ₁₀ H ₁₀ O ₂	832	1349	1351	0	0	0.17 ± 0.03	0	0
15	9.12	2,7,10-三甲基十二烷 Dodecane, 2,7,10-trimethyl-, C ₁₅ H ₃₂	832	1358	1356	0	0	0	0	3.91 ± 0.19
16	9.51	2-十一烯醛 2-undecenal, C ₁₁ H ₂₀ O	902	1364	1368	0.45 ± 0.08	0.09 ± 0.01	0	0	0
17	9.78	4-丙基苯酚 Phenol, 4-propyl-, C ₉ H ₁₁ O	807	1369	1372	1.65 ± 0.17	0.62 ± 0.5	0.58 ± 0.07	0.89 ± 0.06	3.67 ± 0.26
18	9.97	2-正十五烷基-1,3-二氧戊环 1,3-Dioxolane, 2-pentadecyl-, C ₁₈ H ₃₆ O ₂	901	1381	1381	0.7 ± 0.04	8.73 ± 0.45	0	0	0
19	10.94	十五烷 Pentadecane, C ₁₅ H ₃₂	912	※	※	0.59 ± 0.02	0	0.29 ± 0.03	0.39 ± 0.02	0
20	12.81	2-甲氧基-4-丙基苯酚 Phenol, 2-methoxy-4-propyl-, C ₁₀ H ₁₄ O ₂	877	1392	1389	0.28 ± 0.03	0.9 ± 0.05	0.29 ± 0.02	0.97 ± 0.07	0
21	12.93	-	-	-	-	0	0	0.12 ± 0.01	0	0
22	13.2	-	-	-	-	0.12 ± 0.01	0	0	0	0
23	13.84	1-十四碳烯 1-Tetradecene, C ₁₄ H ₂₈	923	1397	1395	2.98 ± 0.06	0.69 ± 0.03	0	0.76 ± 0.04	0.83 ± 0.06
24	13.94	2-乙氧基-4-(甲氧甲基)苯酚 Phenol, 2-methoxy-4-propyl-, C ₁₀ H ₁₄ O ₂	855	1408	1402	0.12 ± 0.01	11.02 ± 0.64	0	0	0
25	14.37	-	-	-	-	0.32 ± 0.01	0	0	0	0

化合物 编号 Comp.	保留 时间 RT	名称 Chemicals	RM	KI	KI**	相对含量(%, ±SD) The relative contents(%, ±SD)				
						TC-DHS	W-DHS	TC-DO	W-DO	TC-DM
26	15.01	乙基芳樟醇 Ethyl linalool, C ₁₁ H ₂₀ O	877	1431	1425	1.87 ± 0.09	0.56 ± 0.03	0.5 ± 0.02	0.61 ± 0.03	0
27	15.08	α-香柑油烯 trans-α-Bergamotene, C ₁₅ H ₂₄	824	1444	1437	0	0	0	0	0.51 ± 0.03
28	15.27	-	-	-	-	0.2 ± 0.01	0	0	0	0
29	15.92	1-(2-丁氧基乙氧基)-2-丙醇 2-Propanol, 1-(2-butoxyethoxy)-, C ₉ H ₂₀ O ₃	855	1453	1446	0	0	0	0	1.45 ± 0.09
30	16.32	十六烷 Hexadecane, C ₁₆ H ₃₄	878	※	※	0.51 ± 0.03	0	0.2 ± 0.01	0.18 ± 0.01	0
31	16.6	2-甲氧基-4-(1-丙烯基)苯酚 Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)-, (E)-, C ₁₀ H ₁₂ O ₂	819	1464	1459	0	0	0.16 ± 0.03	0	0
32	18.0	α-姜黄烯 α-Curcumene, C ₁₅ H ₂₂	841	1491	1486	0	0	1.1 ± 0.05	0	3.39 ± 0.23
33	18.32	2-十三烷酮 2-Tridecanone, C ₁₃ H ₂₆ O	811	1499	1492	0.66 ± 0.04	2.21 ± 0.09	0.76 ± 0.05	1.64 ± 0.07	0
34	18.42	2-己基-1-葵醇 1-decanol, 2-Hexyl-, C ₁₆ H ₃₄ O	857	1508	1504	0	5.99 ± 0.3	0	0	0
35	18.47	-	-	-	-	0	0	0.28 ± 0.01	0	0
36	18.53	2,4-双(1,1-二甲乙基)-5-甲基苯酚 Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-, C ₁₄ H ₂₂ O	821	1519	1512	0	0	0	0	0.23 ± 0.01
37	19.53	4-甲氧基桂皮酸甲酯 4-Methoxycinnamaldehyde, C ₁₀ H ₁₀ O ₂	875	1535	1536	0	0	0	0	4.46 ± 0.29
38	21.17	2-甲基-正十五烷 Pentadecane, 2-methyl-, C ₁₆ H ₃₄	814	1551	1543	0	0	0.31 ± 0.01	0	0
39	21.47	环氧异长叶烯 octahydro-4,4,8,8-tetramethyl-4a,7-methano-4aH-naphth[1,8a-b]oxirene, C ₁₅ H ₂₄ O	924	1561	1554	1.0 ± 0.07	0.07 ± 0.01	0	0	0
40	21.51	月桂酸 Dodecanoic acid, C ₁₂ H ₂₄ O ₂	892	1570	1562	0	0	0.86 ± 0.05	0	0
41	21.78	-	-	-	-	0.27 ± 0.01	0	0.26 ± 0.01	0	0
42	23.0	-	-	-	-	0.22 ± 0.01	0	0	0	0
43	23.13	1-十三醇 n-Tridecan-1-ol, C ₁₃ H ₂₈ O	892	1582	1572	0	0	0	0	2.1 ± 0.11
44	23.36	癸二酸二甲酯 Dimethyl sebacate, C ₁₂ H ₂₂ O ₄	839	1611	1612	0	3.39 ± 0.14	0	0	0
45	23.9	苯并环庚三烯 Benzocycloheptatriene, C ₁₁ H ₁₀	811	1633	1632	0	0	0	0	0.72 ± 0.04
46	24.96	3,4-二甲氧基-5-羟基苯甲醛 3,4-Dimethoxy-5-hydroxybenzaldehyde, C ₉ H ₁₀ O ₄	907	1648	1649	0	0	0	0	12.88 ± 0.62
47	25.08	丁香醛 syringaldehyde, C ₉ H ₁₀ O ₄	867	1662	1664	1.07 ± 0.06	3.41 ± 0.15	1.35 ± 0.07	2.2 ± 0.12	0
48	25.23	-	-	-	-	0	0	0.38 ± 0.02	0	0
49	26.6	十四醇 1-Tetradecanol, C ₁₄ H ₃₀ O	801	1674	1675	0.16 ± 0.02	0.59 ± 0.03	0	0.35 ± 0.02	0
50	27.06	L-α-蒎品醇 L-α-Terpineol, C ₁₀ H ₁₈ O	804	1693	1690	0	0	0	0.26 ± 0.1	0.25 ± 0.1
51	27.57	羟甲香豆素 hymecromone, C ₁₀ H ₈ O ₃	876	1721	1728	0	0	0	0	0.89 ± 0.4

化合物 编号 Comp.	保留 时间 RT	名称 Chemicals	RM	KI	KI**	相对含量(%, ±SD) The relative contents(%, ±SD)				
						TC-DHS	W-DHS	TC-DO	W-DO	TC-DM
52	28.33	α-己基肉桂醛 Octanal, 2-(phenylmethylene)-, C ₁₅ H ₂₀ O	892	1744	1749	0	2.13 ± 0.1	0.22 ± 0.01	0	0
53	28.74	十七烷 Heptadecane, C ₁₇ H ₃₆	802	※	※	0.83 ± 0.04	0	0	0	0
54	30.14	十四酸 tetradecanoic acid,	891	1761	1768	0.11 ± 0.01	0	0.21 ± 0.01	0.3 ± 0.01	0
55	30.57	棕榈酸甘油酯 Hexadecanoic acid, 2, 3-dihydroxypropyl ester, C ₁₉ H ₃₈ O ₄	844	1779	1782	0.27 ± 0.01	0	0	0.28 ± 0.02	0
56	30.99	正十五烷醇 n-Pentadecanol, C ₁₅ H ₃₂ O	898	1799	1798	0	0	0.17 ± 0.01	0	0
57	31.8	十五烷酸 Pentadecanoic acid, C ₁₅ H ₃₀ O ₂	902	1851	1857	0.44 ± 0.02	0	0.71 ± 0.03	1.79 ± 0.08	0.43 ± 0.02
58	32.18	正十五烷醇 n-Pentadecanol, C ₁₅ H ₃₂ O	911	1874	1880	1.3 ± 0.07	3.85 ± 0.18	1.72 ± 0.09	2.47 ± 0.11	0
59	32.33	-	-	-	-	0.79 ± 0.04	0.01 ± 0.0	1.13 ± 0.06	0.66 ± 0.03	0
60	32.5	-	-	-	-	0	0	0.16 ± 0.02	0	0
61	33.13	-	-	-	-	0	0.95 ± 0.04	0	0	0.57 ± 0.03
62	34.01	1-十九烯 1-Nonadecene, C ₁₉ H ₃₈	891	1893	1892	7.02 ± 0.36	2.21 ± 0.11	1.88 ± 0.09	4.44 ± 0.19	2.27 ± 0.12
63	34.12	十六烷酸甲酯 Hexadecanoic acid, methyl ester, C ₁₇ H ₃₄ O ₂	809	1922	1921	0	0	0	0	7.67 ± 0.33
64	34.86	-	-	-	-	0	0	0.35 ± 0.01	0	0
65	35.81	十八烷 Octadecane, C ₁₈ H ₃₈	817	-	※	1.59 ± 0.07	0.31 ± 0.2	2.57 ± 0.11	1.58 ± 0.08	0.25 ± 0.1
66	36.14	-	-	-	-	0	0	0	0	0.82 ± 0.01
67	37.12	-	-	-	-	0	0	0	0.1 ± 0.01	0
68	37.43	-	-	-	-	0.33 ± 0.01	0	0	0	0
69	37.63	-	-	-	-	0	0.92 ± 0.04	0	0.09 ± 0.01	0
70	38.89	-	-	-	-	0	0	0.13 ± 0.01	0	0
71	39.07	十六醇, 1-hexadecanol, C ₁₆ H ₃₄ O	898	1755	1758	1.36 ± 0.05	3.25 ± 0.17	1.59 ± 0.08	2.39 ± 0.11	0
72	39.19	二十烷 Eicosane, C ₂₀ H ₄₂	903	※	※	3.22 ± 0.16	1.2 ± 0.06	7.06 ± 0.35	3.81 ± 0.16	1.36 ± 0.06
73	39.66	n-棕榈酸 n-hexadecanoic acid, C ₁₆ H ₃₂ O ₂	859	1962	1965	9.15 ± 0.47	0.57 ± 0.03	0	0.53 ± 0.02	0.44 ± 0.02
74	39.76	-	-	-	-	0	0	0	0	1.48 ± 0.07
75	39.89	邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl phthalate, C ₁₆ H ₂₂ O ₄	803	1975	1980	2.91 ± 0.13	0.61 ± 0.03	0.4 ± 0.02	0.48 ± 0.02	
76	40.69	-	-	-	-	0.21 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.17 ± 0.01	0.53 ± 0.03	0.95 ± 0.05
77	41.2	-	-	-	-	0	0	0	0	0

化合物 编号 Comp.	保留 时间 RT	名称 Chemicals	RM	KI	KI**	相对含量(%, ±SD) The relative contents(%, ±SD)				
						TC-DHS	W-DHS	TC-DO	W-DO	TC-DM
78	41.77	-	-			0	0	0	0	0
79	41.83	-	-			0.78 ± 0.04	0.97 ± 0.05	0	0	0
80	42.46	-	-			3.9 ± 0.17	1.74 ± 0.08	9.84 ± 0.49	5.31 ± 0.28	2.53 ± 0.12
81	42.81	-	-			0.69 ± 0.03	0	0	0	0
82	42.96	-	-			0	0	0	0.64 ± 0.03	0.21 ± 0.01
83	43.86	-	-			0.2 ± 0.01	0	0	0	0
84	44.43	-	-			0.28 ± 0.01	0	0	0	0
85	44.57	-	-			0	0	0.78 ± 0.03	0	0
86	44.73	9-甲基蒽 9-Methylanthracene, C ₁₅ H ₁₂	804	1983	1985	0.3 ± 0.01	0	0	1.84 ± 0.09	0
87	45.51	环十五醇 Cyclopentadecanol, C ₁₅ H ₃₀ O	855	1991	1996	0	2.65 ± 0.12	0	1.98 ± 0.08	0
88	45.62	十三烷二酸二乙酯 Ethylene brassylate, C ₁₅ H ₂₆ O ₄	868	2017	2005	6.35 ± 0.31	2.29 ± 0.1	13.47 ± 0.62	6.82 ± 0.59	2.46 ± 0.1
89	45.83	-	-			0	0.89 ± 0.04	0	0	0
90	46.31	-	-			0.45 ± 0.02	0	0	0	0
91	46.96	橄榄油醇 Oleyl Alcohol, C ₁₈ H ₃₆ O	832	2055	2060	19.44 ± 0.93	10.46 ± 0.55	2.79 ± 0.13	4.61 ± 0.24	3.81 ± 0.18
92	47.49	-	-			0	0	0	0.08 ± 0.01	0
93	47.52	-	-			0.1 ± 0.01	0	0	0	0
94	48.01	二十一烷 Heneicosane, C ₂₁ H ₄₄	847	※	※	0	0	0	0	0.71 ± 0.04
95	48.23	Z-9-十八烯酸甲酯 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester, C ₁₉ H ₃₆ O ₂	807	2089	2086	0	1.06 ± 0.05	0	0	0.21 ± 0.01
96	48.67	二十四烷 Tetracosane, C ₂₄ H ₅₀	855	※	※	5.98 ± 0.23	3.1 ± 0.14	11.77 ± 0.55	8.23 ± 0.39	1.81 ± 0.09
97	49.6	9-顺式视黄醛, Retinal, 9-cis-, C ₂₀ H ₂₈ O	919	2197	2198	0	1.48 ± 0.07	0	0.28 ± 0.01	0
98	50.35	蓖麻油酸 Ricinoleic acid, C ₁₈ H ₃₄ O ₃	833	1348	2351	1.5 ± 0.05	3.7 ± 0.02	4.18 ± 0.25	15.22 ± 0.85	26.37 ± 1.52
99	50.78	-	-			0	0	0	0	1.06 ± 0.05
100	51.54	二十八烷 Octacosane	859	※	※	0	1.76 ± 0.08	0	0	0
101	51.61	2,2'-亚甲基双-(4-甲基-6-叔丁基苯酚) Phenol, 2, 2'-methylenbis [6-(1, 1-dimethylethyl)-4-methyl, C ₂₃ H ₃₂ O ₂	901	2389	2398	6.08 ± 0.41	2.72 ± 0.2	11.09 ± 0.55	6.28 ± 0.35	0.96 ± 0.05
102	51.99	邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯 Bis(2-ethylhexyl) phthalate, C ₂₄ H ₃₈ O ₄	881	1544	2550	0	0	0	0	0.23 ± 0.01

化合物 编号 Comp.	保留 时间 RT	名称 Chemicals	RM	KI	KI**	相对含量(%, ±SD) The relative contents(%, ±SD)				
						TC-DHS	W-DHS	TC-DO	W-DO	TC-DM
103	53.11	角鲨烷 Squalane, C ₃₀ H ₆₂	821	2667	2665	0	0.78 ± 0.05	0	0	0
104	53.36	邻苯二甲酸丁基苯酯 Di-n-oc- tyl phthalate, C ₂₄ H ₃₈ O ₄	813	2736	2741	0	0	0.18 ± 0.01	0	0
105	54.19	菜油甾醇 campesterol, C ₂₈ H ₄₈ O	842	3130	3131	0	0	0	0	0
106	54.45	3β-羟基-5-胆稀酸 3β-Hydroxy-5- cholen-24-oic acid, C ₂₄ H ₃₈ O ₃	844	3148	3140	5.64 ± 0.32	3.25 ± 0.17	7.52 ± 0.47	6.24 ± 0.39	0.35 ± 0.02
107	55.03	-	-	-	-	0.1 ± 0.01	0	0	0	0.66 ± 0.04
108	55.32	豆甾醇 stigmasterol, C ₂₉ H ₄₈ O	853	3176	3170	0	0	0	0	0.19 ± 0.01
109	55.47	β-谷甾醇 β-sitosterol, C ₂₉ H ₅₀ O	804	3210	3203	0	0.49 ± 0.02	0	0	0

*: 定性鉴定依据:待检化合物的质谱与 NIST 数据库收录的已知化合物质谱 RI ≥ 800, KI 值与 NIST 数据库数值一致, 鉴定(tentative identification)为某已知化合物; RI 值低于 800, KI 与 NIST 数据库不一致的组分定义为未鉴定化合物, 名称和匹配度用“-”表示; **: KI* 为 NIST 谱库的检索值, KI 为实测结果的计算值; * 标准品比对。

(二十烷)、88(十三烷二酸二乙酯)、91(橄榄油醇)、96(二十四烷)、101(2,2'-亚甲基双-(4-甲基-6-叔丁基苯酚))、106(3β-羟基-5-胆稀酸)高度相关, 主成分 2 与化合物 15(2,7,10-三甲基十二烷)、17(4-丙基苯酚)、37(4-甲氧基桂皮酸甲醛)、43(1-十三醇)、46(3,4-二甲氧基-5-羟基苯甲醛)、98(蓖麻油酸)相关, 主成分 3 含的化合物 57(十五烷酸)、65(十八烷)相关, 可以作为六种供试品的特征性成分, 用于区分不同种源的霍山石斛、霍山产铁皮石斛及铜皮石斛。

4 结论

在本实验条件下, 从霍山石斛、铁皮石斛、铜皮石斛甲醇提取物正己烷萃取部位分离出 109 种化合物, 通过分离化合物的质谱、保留指数与 NIST 收录化合物比对以及标准品比对, 鉴定出 73 种组分, 主要为烃、醇、酚、酯、萜类、甾体及醛类等成分, 各组分的含量在种间及不同种源间有明显差异。主成分分析显示, 化合物 7(3-甲基-癸烷)、9(2,4-二甲基正十一烷)、15(2,7,10-三甲基十二烷)、17(4-丙基苯酚)、37(4-甲氧基桂皮酸甲醛)、43(1-十三醇)、46(3,4-二甲氧基-5-羟基苯甲醛)、57(十五烷酸)、62(1-十九烯)、65(十八烷)、72(二十烷)、88(十三烷二酸二乙酯)、91(橄榄油醇)、96(二十四烷)、98(蓖麻油酸)、101(2,2'-亚甲基双-(4-甲基-6-叔丁基苯酚))、106(3β-羟基-5-胆稀酸)在六种供试品中差异明显, 可以用来区分不同种源的霍山石斛、铁皮石斛、铜皮石斛。研究结果对石斛资源开发利用、质量

标准制定和质量控制具有重要意义。

参考文献

- 1 Cai YP(蔡永萍), Yu LW(于力文), Zhang HY(张鹤英), et al. Determination of some resistant-oxide enzymes and activated substances of three dendrobium in Huoshan county. *China Pharm J* (中国药学杂志), 1996, 31:649-651.
- 2 Jin RY(金蓉莺), Sun JJ(孙继军), Zhang YM(张远名). A determination of total alkaloids in eleven species of Shihu (Dendrobium). *J Nanjing Coll Pharm* (南京药学院学报), 1981, 16(1):9-13.
- 3 Wang XK(王宪楷), Zhao TF(赵同芳). The chemical composition of plants of the genus Dendrobiums and TCM Dendrobium. *China Pharm J* (中国药学杂志), 1986, 21:666-669.
- 4 Chen XM(陈晓梅), Guo SX(郭顺星). Advances in the research of constituents and pharmacology of *Dendrobium*. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2001, 13(1):70-75.
- 5 Chen ND(陈乃东), Meng YF(孟云飞), Yao HJ(姚厚军), et al. Study on monosaccharide compositions of polysaccharide in *Dendrobium* stems of different resources by PMP-HPCE. *J Chin Med Mater* (中药材), 2015, 38:1607-1610.
- 6 Chen ND(陈乃东), Gao F(高峰), Lin X(林欣), et al. Comparative study on alkaloids of tissue-culture seedling and wild plant of *Dendrobium huoshanense*. *J Chin Med Mater* (中药材), 2014, 37:953-956.
- 7 Fan JR(樊家荣), Li YY(李媛媛), Yang L(杨玲), et al. Study on Influencing factors for induction and proliferation of protocorm-like bodies of *Dendrobium officinale*. *J Chin Med Mater* (中药材), 2016, 39:6-10.