

# 不同产地铁皮石斛主要成分及甲醇提取物 HPLC 指纹图谱研究

谢鲁灵<sup>1</sup>, 史明敏<sup>1</sup>, 贡小辉<sup>1</sup>, 王丹<sup>1</sup>, 王笃军<sup>1</sup>, 韩邦兴<sup>2</sup>, 欧阳臻<sup>1\*</sup>

江苏大学药学院, 镇江 212013;<sup>2</sup> 皖西学院生物与制药工程学院, 六安 237012

**摘要:** 本文采用紫外分光光度法、高效液相色谱法(HPLC)测定铁皮石斛中总黄酮、多糖、柚皮素、石斛酚的含量,同时运用 HPLC 法建立霍山铁皮石斛及其他产地铁皮石斛甲醇提取物 HPLC 指纹图谱并聚类分析。实验结果显示不同产地铁皮石斛的主要化学成分含量存在差异,5 批霍山铁皮石斛的总黄酮、柚皮素、石斛酚含量较高,多糖含量较低。建立了霍山铁皮石斛的共有指纹图谱模式,5 批霍山铁皮石斛具有极高的相似度,在 92.6%~94.8% 之间,浙江临安、浙江乐清、江苏盐城、云南昆明所产的铁皮石斛相似度在 17.5%~41.5% 之间。5 批来自安徽霍山的铁皮石斛共有峰总面积较高,为 9 827.40~14 102.28。其他产地铁皮石斛的共有峰面积在 730.27~4 206.20 之间,明显低于霍山铁皮石斛。聚类分析结果可分为两大类,安徽霍山为一类,其他产地为一类。霍山铁皮石斛与其他产地铁皮石斛存在一定差异,且小分子成分含量较高。上述结果为进一步研究霍山铁皮石斛化学成分提供参考,为铁皮石斛品质鉴别、质量控制及资源的综合利用提供实验依据。

**关键词:** 不同产地;霍山铁皮石斛;高效液相色谱法(HPLC);指纹图谱;聚类分析

中图分类号:R284.1;Q946

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.7.015

## The Main Components and Methanol Extracts HPLC Fingerprint of *Dendrobium officinale* from Different Areas

XIE Lu-ling-feng<sup>1</sup>, SHI Ming-min<sup>1</sup>, GONG Xiao-hui<sup>1</sup>, WANG Dan<sup>1</sup>,  
WANG Du-jun<sup>1</sup>, HAN Bang-xing<sup>2</sup>, OUYANG Zhen<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>School of Pharmacy, Jiangsu University, Zhenjiang, 212013, China;

<sup>2</sup>College of Biological and Pharmaceutical Engineering, West Anhui University, Lu'an, 237012, China

**Abstract:** In order to study the chemical composition of Huoshan *Dendrobium officinale* and provide quality identification, quality control of *Dendrobium officinale*, the contents of total flavonoids, polysaccharides, naringenin and gigantol in *Dendrobium officinale* were determined by UV spectrophotometry and HPLC. The methanol extracts of *Dendrobium officinale* from Huoshan and other areas were analyzed by HPLC, similarity calculation was carried out by using "similarity evaluation system of Chinese traditional medicine fingerprint" software and cluster analysis was carried out. The contents of the main chemical components of *Dendrobium officinale* were varietious in different areas. The contents of total flavonoids, naringenin and gigantol in five batches of Huoshan *Dendrobium officinale* were higher and the content of polysaccharides in Huoshan *Dendrobium officinale* was lower. The common pattern of Huoshan *Dendrobium officinale* was established. The similarity of the five batches of Huoshan *Dendrobium officinale* was between 92.6% and 94.8%, compared with the control spectrum of Huoshan *Dendrobium officinale*. The similarity of the *Dendrobium officinale* samples from Lin'an, Yueqing, Yancheng and Kunming was between 17.5% and 41.5%. The total peak area of five batches of Huoshan *Dendrobium officinale* (9 827.40 - 14 102.28) were higher than *Dendrobium officinale* in other areas (730.27 - 4 206.20). The cluster analysis of the total peak area of different HPLC fingerprints showed that the samples can be divided into two categories, Huoshan *Dendrobium officinale* as a class, others as one class. There are some differences between the Huoshan *Dendrobium officinale* and *Dendrobium officinale* from other areas, the contents of small compound of

收稿日期:2018-02-11 接受日期:2018-05-30

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81573529,81072985,81373480);中央本级重大增减支项目(2060302);安徽省石斛产业化开发协同创新项目;江苏大学第 15 批大学生科研立项项目(15A432)

\* 通信作者 Tel:86-013862440638; E-mail: zhenouyang@ujs.edu.cn

Huoshan *Dendrobium officinale* were higher. The result could provide reference for further study on the chemical constituents of Huoshan *Dendrobium officinale*, and provide experimental evidence for the identification, quality control and comprehensive utilization of *Dendrobium officinale* resources.

**Key words:** different areas; Huoshan *Dendrobium officinale*; high performance liquid chromatography (HPLC); fingerprint; cluster analysis

石斛为常用中药,我国 76 种石斛中约有 40 种为药用石斛,其药用历史十分悠久,早在我国第一部药学专著《神农本草经》中,就有石斛“除痹,下气,补五脏虚劳,羸瘦,强阴。久服厚肠胃,轻身延年”的记载。2015 版《中国药典》收录了其中金钗石斛,鼓槌石斛,流苏石斛,铁皮石斛 4 个品种,其中铁皮石斛为药典中单独一项<sup>[1]</sup>。铁皮石斛为兰科植物铁皮石斛(*Dendrobium officinale* Kimura et Migo)的干燥茎,是药食两用的名贵药材之一,具有独特的药用价值。铁皮石斛含有黄酮、多糖、生物碱、菲类、联苄类、氨基酸<sup>[2]</sup>等多种活性成分,现代研究表明,铁皮石斛有抗氧化<sup>[3]</sup>、抗肿瘤<sup>[4]</sup>、调节免疫力<sup>[5]</sup>、缓解疲劳<sup>[6]</sup>、抗胃粘膜损伤<sup>[7]</sup>等药理作用。

铁皮石斛目前主要分布在中国安徽、浙江、福建等地。其中安徽省霍山县所产的铁皮石斛又名万丈须,生长条件极为苛刻,作为安徽省道地药材一直倍受社会各界的关注,是药用石斛中的上品,为历代医家所推崇<sup>[8]</sup>。

目前,已有报道对广西、安徽、云南、浙江等地的铁皮石斛进行了品质研究<sup>[9]</sup>,对云南产铁皮石斛进行了 HPLC 指纹图谱的研究<sup>[10]</sup>。但是,关于霍山铁

皮石斛的研究较少,本文从主要成分分析、HPLC 指纹图谱,相似度评价,聚类分析等方面对霍山铁皮石斛及其他产地铁皮石斛药材进行了比较,为铁皮石斛品质鉴别、质量控制及资源的综合利用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

霍山铁皮石斛,采自安徽省六安市霍山县,批号: 1411A02HS010S3, 1410C02QT010S2, 1410C02HS012S2, 1410C02HS012S3, 1410C02HS013S3,其他产地样品分别来自江苏盐城,浙江乐清,浙江临安,云南昆明的种植基地(表 1),由江苏大学药学院欧阳臻教授鉴定为兰科植物铁皮石斛(*Dendrobium officinale* Kimura et Migo)的干燥茎;色谱纯级甲醇、乙腈,江苏汉邦科技有限公司;柚皮素对照品(Naringenin, CAS: 480-41-1),上海跃腾生物技术有限公司;石斛酚对照品(Gigantol, CAS: 67884-30-4),济宁天之蓝生物科技有限公司;芦丁对照品,中国药品生物制品检定所;葡萄糖标准品,美国 Sigma 公司;纯净水,杭州娃哈哈集团有限公司;其他试剂均为分析纯。

表 1 药材来源

Table 1 Sources of medical material

样号 No.	品种 Species	来源 Location
S1	铁皮石斛 <i>Dendrobium officinale</i> (1411A02HS010S3)	安徽霍山 Anhui Huoshan
S2	铁皮石斛 <i>Dendrobium officinale</i> (1410C02QT010S2)	安徽霍山 Anhui Huoshan
S3	铁皮石斛 <i>Dendrobium officinale</i> (1410C02HS012S2)	安徽霍山 Anhui Huoshan
S4	铁皮石斛 <i>Dendrobium officinale</i> (1410C02HS012S3)	安徽霍山 Anhui Huoshan
S5	铁皮石斛 <i>Dendrobium officinale</i> (1410C02HS013S3)	安徽霍山 Anhui Huoshan
S6	铁皮石斛 <i>Dendrobium officinale</i>	浙江临安 Zhejiang Linan
S7	铁皮石斛 <i>Dendrobium officinale</i>	江苏盐城 Jiangsu Yancheng
S8	铁皮石斛 <i>Dendrobium officinale</i>	江苏盐城 Jiangsu Yancheng
S9	铁皮石斛 <i>Dendrobium officinale</i>	江苏盐城 Jiangsu Yancheng
S10	铁皮石斛 <i>Dendrobium officinale</i>	浙江乐清 Zhejiang Leqing
S11	铁皮石斛 <i>Dendrobium officinale</i>	云南昆明 Yunnan Kunming
S12	铁皮石斛 <i>Dendrobium officinale</i>	云南昆明 Yunnan Kunming

## 1.2 仪器与设备

Agilent 1260 infinity 高效液相色谱仪,美国安捷伦公司;UV-2550 紫外分光光度计,日本岛津公司;HH-S 数显恒温水浴锅,江苏省金坛市医疗仪器厂;BuchiR-200 型旋转蒸发仪,瑞士 Buchi 公司;SHB-III 循环水多用真空泵,郑州长城科工贸有限公司。

## 1.3 总黄酮含量测定

### 1.3.1 供试品溶液制备

精密称取石斛样品粉末 1 g,70% 乙醇提取,料液比为 1:30,采用冷凝回流方法,温度控制在 80 ℃,提取时间 2 小时。过滤,将滤液转移至 50 mL 的容量瓶中,用 70% 乙醇定容,制成供试品溶液。

### 1.3.2 芦丁标准曲线绘制

采用亚硝酸钠—硝酸铝分光光度法测定总黄酮含量,精密量取芦丁对照品 0.004 3 g,置 50 mL 容量瓶中,加 70% 乙醇使之溶解,并定容至刻度,摇匀,配置成 86.0 μg/mL 的对照品母液,取 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 至 25 mL 容量瓶中,加 70% 乙醇至 6 mL,接着加入 5% NaNO<sub>2</sub> 1 mL,充分混合,放置 6 min,再加 10% Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 1 mL,充分混合,放置 6 min,再加 1 mol/L NaOH 10 mL,70% 乙醇定容到 25 mL,充分混合,放置 15 min,于 510 纳米波长下测吸光度。以吸光度  $y$  对浓度  $x$  线性回归,得标准曲线方程  $y = 0.022 5x + 0.058 2$ ,  $r = 0.999 2$ 。芦丁在 3.44 ~ 20.64 μg/mL 范围内线性关系良好。

### 1.3.3 样品含量测定

取不同铁皮石斛样品,按“1.3.1”项下的制备供试品溶液,再按“1.3.2”项下方法测定吸光度,通过回归方程计算样品总黄酮的含量,重复 3 次求平均值。

## 1.4 柚皮素含量测定

### 1.4.1 供试品溶液制备

取样品粗粉 0.5 g,精密称定,加甲醇 25 mL,60 ℃ 加热回流提取,时间为 4 h,取出,放冷,滤过,滤液减压蒸干,残渣加甲醇使之溶解,置 1 mL 量瓶中,甲醇定容,得供试品。

### 1.4.2 色谱条件

色谱柱:Elite SinoChrom ODS-AP(4.6 mm × 250 mm,5 μm);检测波长 270 nm;柱温 25 ℃;进样量 10 μL;流动相:乙腈(A)-水(B,含 0.2% 乙酸),流动相梯度:0 ~ 13 min A 为 10%,13 ~ 15 min A 为 10% ~ 15%,15 ~ 35 min A 为 15% ~ 20%,35 ~ 40 min A 为 20% ~ 24%,40 ~ 60 min A 为 24% ~ 35%,

60 ~ 82 min A 为 35% ~ 48%,82 ~ 87 min A 为 48% ~ 52%,87 ~ 97 min A 为 52% ~ 54%;流速 1.0 mL/min。

### 1.4.3 柚皮素标准曲线绘制

精密称取柚皮素对照品,配置成质量浓度分别为 104.0、52.0、26.0、13.0、6.5、3.25 μg/mL 的溶液,按照“1.4.2”色谱条件项测定峰面积。以峰面积为纵坐标,对照品溶液浓度为横坐标,绘制标准曲线,结果表明柚皮素在 3.25 ~ 104.0 μg/mL 范围内线性关系良好,柚皮素的回归方程分别为: $y = 1 306.5x + 15.501$ ,  $r = 0.999 2$ 。

### 1.4.4 样品含量测定

取铁皮石斛样品各 3 份,以“1.4.1”的方法制备供试品溶液,并以“1.4.2”的色谱条件进行测定,记录色谱峰面积,并计算样品中的柚皮素含量,重复 3 次求平均值。

## 1.5 石斛酚含量测定

### 1.5.1 供试品溶液制备

供试品溶液制备按“1.4.1”项进行。

### 1.5.2 石斛酚标准曲线绘制

精密称取石斛酚对照品,配置成质量浓度分别为 200.0、100.0、50.0、25.0、12.5、6.25 μg/mL 的溶液,按照“1.7.1”色谱条件项测定峰面积。以峰面积为纵坐标,对照品溶液浓度为横坐标,绘制标准曲线,结果表明石斛酚在 6.25 ~ 400.0 μg/mL 范围内线性关系良好,石斛酚的回归方程分别为: $y = 605.34x + 18.345$ ,  $r = 0.999 6$ 。

### 1.5.3 色谱条件

色谱条件按“1.4.2”项进行。

### 1.5.4 样品含量测定

取铁皮石斛样品各 3 份,以“1.4.1”的方法制备供试品溶液,并以“1.4.2”的色谱条件进行测定,并计算样品中的石斛酚含量,重复 3 次求平均值。

## 1.6 多糖含量测定

多糖含量测定参照《中国药典》2015 年版一部铁皮石斛项下“含量测定”进行,重复 3 次求平均值。

## 1.7 指纹图谱

### 1.7.1 供试品溶液的制备

供试品溶液制备按“1.4.1”项进行。

### 1.7.2 色谱条件

色谱条件按“1.4.2”项进行。

## 2 结果与分析

### 2.1 方法学考察

#### 2.1.1 总黄酮含量测定方法学考察

精密度实验相对标准偏差 RSD 为 0.84%, 重复性实验相对标准偏差 RSD 为 0.61%, 在 0、1、2、4、12、24 h 稳定性实验相对标准偏差 RSD 为 1.49%, 平均加样回收率为 99.46%, 相对标准偏差 RSD 为 4.23%。

#### 2.1.2 柚皮素含量测定方法学考察

精密度实验相对标准偏差 RSD 为 0.47%, 重复性实验相对标准偏差 RSD 为 1.22%, 在 0、2、4、12、24 h 稳定性实验相对标准偏差 RSD 为 1.62%。

#### 2.1.3 石斛酚含量测定方法学考察

精密度实验相对标准偏差 RSD 为 1.59%, 重复性实验相对标准偏差 RSD 为 0.66%, 在 0、2、4、12、24 h 稳定性实验相对标准偏差 RSD 为 1.80%。

#### 2.1.4 指纹图谱方法学考察

##### 2.1.4.1 精密度

取同一供试品溶液, 连续进样 5 次, 各色谱峰相对保留时间的 RSD 在 0.01% ~ 0.14% 之间, 相对峰面积 RSD 值在 0.32% ~ 2.24% 之间, 表明该仪器的

精密度较好。

##### 2.1.4.2 重复性

取同一来源铁皮石斛样品 5 份, 按 1.7.1 条件下分别进样, 各色谱峰的相对保留时间 RSD 值在 0.02 ~ 0.65% 之间, 相对峰面积 RSD 值在 0.34 ~ 2.49% 之间, 表明该方法的重复性较好。

##### 2.1.4.3 稳定性

取供试品溶液 1 份, 在 1.7.2 条件下分别在 0、2、4、12、24 h 进样。各色谱峰的相对保留时间 RSD 值在 0.02% ~ 0.42% 之间, 相对峰面积 RSD 值在 0.86% ~ 2.40% 之间, 表明该溶液的稳定性较好。

### 2.2 不同产地铁皮石斛主要化学成分含量比较

结果表明, 不同产地铁皮石斛的主要化学成分含量存在差异(表 2)。12 批铁皮石斛样品中, 5 批霍山铁皮石斛的总黄酮含量为 3.93 ~ 4.48 mg/g, 多糖含量为 150.37 ~ 239.41 mg/g, 柚皮素含量为 0.098 9 ~ 0.124 8 mg/g, 石斛酚含量为 0.015 3 ~ 0.064 7 mg/g。相对于其他产地铁皮石斛, 霍山铁皮石斛的总黄酮, 柚皮素, 石斛酚含量较高, 多糖含量较低, 云南昆明两批铁皮石斛多糖含量较高, 分别为 378.29 mg/g 和 403.22 mg/g。石斛酚在铁皮石斛中含量极低, 仅在 5 批霍山铁皮石斛中检测到。

表 2 不同产地铁皮石斛主要化学成分含量

Table 2 Content of main chemical compositions of *Dendrobium officinale* produced from different areas

样号 Number	总黄酮 Total Flavonoids (mg/g)	多糖 Polysaccharides (mg/g)	柚皮素 Naringenin (mg/g)	石斛酚 Gigantol (mg/g)
S1 安徽霍山 Anhui Huoshan	3.93	208.24	0.110 0	0.064 7
S2 安徽霍山 Anhui Huoshan	4.28	150.37	0.124 8	0.031 2
S3 安徽霍山 Anhui Huoshan	4.48	239.41	0.098 9	0.028 3
S4 安徽霍山 Anhui Huoshan	4.11	179.31	0.113 9	0.033 3
S5 安徽霍山 Anhui Huoshan	4.38	194.89	0.103 5	0.015 3
S6 浙江临安 Zhejiang Lian	1.74	350.69	0.017 3	-
S7 江苏盐城 Jiangsu Yancheng	2.13	279.47	0.024 2	-
S8 江苏盐城 Jiangsu Yancheng	1.84	299.06	0.023 0	-
S9 江苏盐城 Jiangsu Yancheng	1.54	283.92	0.014 9	-
S10 浙江乐清 Zhejiang Leqing	1.35	353.37	0.025 1	-
S11 云南昆明 Yunnan Kunming	0.74	403.22	0.009 2	-
S12 云南昆明 Yunnan Kunming	0.69	378.29	0.038 2	-

### 2.3 霍山铁皮石斛共有模式图的建立

将 5 批霍山铁皮石斛样品的 HPLC 数据导入“中药色谱指纹图谱计算机相似性评价系统 2004

版 A”, 生成共有模式图。经过对相对保留时间的比较, 确定 38 个色谱峰为共有峰(图 1), 其中 15 号色谱峰的相对保留时间适中、分离效果较好、色谱峰面

积较大,因此选 15 号峰为参比峰。22 号峰为柚皮素,27 号峰为石斛酚。共有模式图的相对保留时间和相对峰面积分别为 0.198 (0.077)、0.357 (0.084)、0.428 (0.105)、0.450 (0.064)、0.488 (0.126)、0.534 (0.044)、0.552 (0.059)、0.570 (0.227)、0.583 (0.032)、0.666 (0.124)、0.709 (0.323)、0.872 (0.074)、0.890 (0.053)、0.922 (0.113)、1.000 (1.000)、1.055 (0.066)、1.073 (0.997)、1.094 (0.109)、1.152 (0.160)、1.205 (0.175)、1.216 (0.060)、1.342 (0.184)、1.420 (0.036)、1.439 (0.086)、1.462 (0.158)、1.480

(0.135)、1.504 (0.058)、1.521 (0.047)、1.561 (0.049)、1.582 (0.054)、1.600 (0.128)、1.659 (0.407)、1.722 (0.130)、1.793 (0.449)、1.830 (0.270)、1.883 (0.026)、1.913 (0.069)、1.947 (0.034)。

2.4 不同产地铁皮石斛指纹图谱的建立及相似度评价

将不同品种石斛样品 S1-S12 的 HPLC 数据导入“中药色谱指纹图谱计算机相似性评价系统 2004 版 A”,生成不同石斛的特征指纹图谱(图 2)。以霍山铁皮石斛的共有指纹图谱为参照,对不同石斛特征指纹图谱进行相似度分析,其结果见表 3。

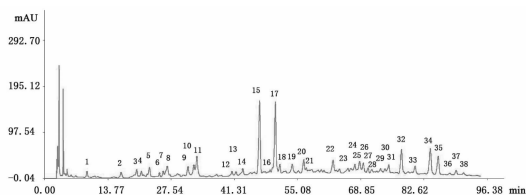


图 1 霍山铁皮石斛 HPLC 图谱的共有模式图

Fig. 1 The common pattern of HPLC fingerprint of Huoshan *Dendrobium officinale*

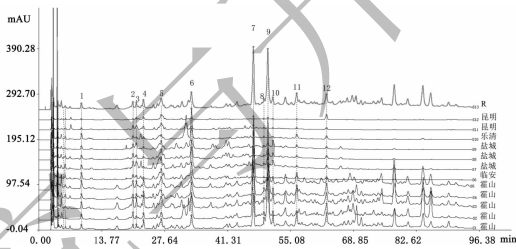


图 2 不同铁皮石斛样品的 HPLC 指纹图谱

Fig. 2 HPLC fingerprints of different *Dendrobium officinale* samples

表 3 不同铁皮石斛样品的相似度评价

Table 3 The results of similarity evaluation of different *Dendrobium officinale* samples

样品 Sample	相似度 Similarity	样品 Sample	相似度 Similarity
S1 霍山 Huoshan	93.3%	S7 盐城 Yancheng	41.5%
S2 霍山 Huoshan	94.8%	S8 盐城 Yancheng	33.9%
S3 霍山 Huoshan	94.3%	S9 盐城 Yancheng	30.1%
S4 霍山 Huoshan	92.6%	S10 乐清 Yueqing	17.5%
S5 霍山 Huoshan	92.8%	S11 昆明 Kunming	24.5%
S6 临安 Lin'an	28.5%	S12 昆明 Kunming	31.1%

由表可知,与霍山铁皮石斛的共有模式对比,5 批霍山铁皮石斛的相似度极高,在 92.6% ~ 94.8% 之间,说明霍山铁皮石斛之间没有较大差异;临安、乐清、盐城、云南所产的铁皮石斛相似度在 17.5% ~ 41.5% 之间,表明不同产地的铁皮石斛 HPLC 指纹图谱存在一定的差异,霍山铁皮石斛与其他铁皮石斛相比,具有一定的特殊性。

2.5 聚类分析

综合不同产地铁皮石斛样品 HPLC 指纹图谱共有峰的峰面积,得到 12 × 12 阶数据矩阵(见表 4)。

应用 SPSS20.0 软件,采用组间联接,平方 Euclidean 距离作为度量标准的区间,进行综合聚类分析,实验结果见图 3。

不同产地的铁皮石斛共有峰峰面积存在一定差别,5 批来自安徽霍山的铁皮石斛共有峰总面积较高,在 9 827.40 ~ 14 102.28 之间。来自昆明、盐城、乐清、临安产地的铁皮石斛共有峰面积在 730.27 ~ 4 206.20 之间,明显低于霍山铁皮石斛。聚类分析结果显示,来自不同产地的样品可大致分为两大类,霍山为一类,其他产地为一类。

表4 不同产地铁皮石斛指纹图谱的共有峰面积

Table 4 Common peak areas of fingerprints of different *Dendrobium officinale* samples

共有峰 编号 Common peak No.	S1 霍山 Huoshan	S2 霍山 Huoshan	S3 霍山 Huoshan	S4 霍山 Huoshan	S5 霍山 Huoshan	S6 临安 Lin'an	S7 盐城 Yancheng	S8 盐城 Yancheng	S9 盐城 Yancheng	S10 乐清 Yueqing	S11 昆明 Kunming	S12 昆明 Kunming
1	216.23	178.01	290.18	238.54	394.14	257.97	170.02	154.04	157.09	231.03	31.80	15.83
2	207.97	462.53	512.55	186.08	413.72	173.34	257.82	212.31	160.83	69.15	122.95	5.40
3	151.13	83.87	397.62	186.42	272.73	164.50	344.98	171.21	293.59	42.22	180.13	61.67
4	390.99	304.91	650.99	337.89	454.34	66.43	50.47	74.74	100.70	75.04	134.88	131.73
5	828.81	343.18	1 094.37	563.12	1043.67	546.14	545.06	528.13	418.53	223.43	599.31	81.39
6	785.94	1 556.35	1 119.40	1 295.77	754.09	1 158.23	1 446.65	1 021.92	2 608.51	683.58	233.03	98.16
7	1 776.71	4 443.99	4 795.07	1 684.08	4 339.65	102.52	287.51	199.87	147.16	17.74	22.58	16.39
8	282.24	141.67	128.59	449.26	120.51	14.86	81.58	29.84	31.18	45.15	20.43	6.48
9	3 200.82	5 295.25	2 584.20	3 702.67	2 206.31	25.58	524.09	589.02	266.84	16.56	11.93	7.51
10	494.12	215.34	516.40	320.55	317.78	23.37	235.62	179.46	322.88	19.94	10.24	6.34
11	756.25	243.92	1 044.11	378.12	554.58	220.76	80.24	98.67	130.46	221.82	53.62	21.11
12	735.20	831.27	662.84	760.72	322.59	132.61	177.16	169.80	116.64	183.00	80.17	268.27
总面积 Total area	9 827.40	14 102.28	13 799.33	13 796.32	10 103.224	2 890.29	4 206.20	3 435.00	4 761.40	1 836.66	1 510.07	730.27

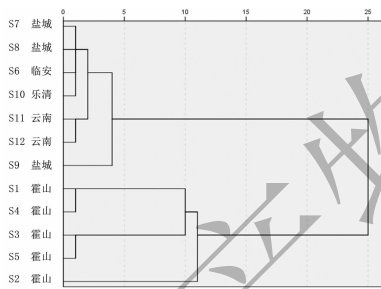


图3 不同产地铁皮石斛样品的综合聚类分析

Fig. 3 Comprehensive clustering analysis of different *Dendrobium officinale* samples

### 3 结论

分析结果显示,12批铁皮石斛样品中,5批霍山铁皮石斛中总黄酮,柚皮素,石斛酚含量都高于其他产地的铁皮石斛,其中石斛酚仅在5批霍山铁皮石斛中检测到。2015版中国药典将石斛酚作为流苏石斛的鉴别指标<sup>[1]</sup>,没有对铁皮石斛进行规定。有文献研究发现,石斛酚在叠鞘石斛,鼓槌石斛中含量较高<sup>[11]</sup>,在铁皮石斛中含量非常低<sup>[12]</sup>,几批其他产地铁皮石斛含量太低,没有检出。5批霍山铁皮石斛的多糖含量在150.37~239.41 mg/g之间,低于其他产地。诸燕等人<sup>[13]</sup>研究发现,种植基地人工栽

培生产的铁皮石斛多糖质量分数普遍高于野生药材,对铁皮石斛进行品种选育可提高多糖含量。2015版中国药典将多糖含量作为铁皮石斛含量测定的标准,因此人工种植多选育植物茎粗大且多糖含量高<sup>[14,15]</sup>的铁皮石斛,而霍山所产的铁皮石斛在野生条件下生长,所以多糖含量较低。

铁皮石斛甲醇提取物 HPLC 指纹图谱显示,霍山铁皮石斛与其他产地铁皮石斛相比共有峰总面积较高,最高达14 102.28,表明霍山铁皮石斛中小分子物质含量较多。相似度结果显示,临安、盐城、乐清、云南所产的铁皮石斛与霍山铁皮石斛的相似度在17.5%~41.5%之间,表明霍山铁皮石斛与其他产地的铁皮石斛 HPLC 指纹图谱存在显著差异;聚类分析结果表明,不同产地铁皮石斛分为两大类,其中霍山铁皮石斛为一类,其他产地为一类。霍山铁皮石斛作为安徽省的道地药材,被奉为铁皮石斛中的上品,其原因可能是小分子成分含量高于其他产地铁皮石斛,如石斛酚具有抗氧化<sup>[16]</sup>,抗糖尿病性白内障等药理活性<sup>[17]</sup>。但其产地和品质、药效之间的关系还有待进一步研究。

本研究可为霍山铁皮石斛化学成分研究提供依据,并进一步为铁皮石斛品质鉴别,质量控制及资源

的综合利用提供参考。

## 参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission (国家药典委员会). 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 Medical Science Press, 2015; 282.
- 2 Li L(李玲), Deng XL(邓晓兰), Zhao XB(赵兴兵), et al. Advances in studies on chemical constituents in *Dendrobium candidum* and their pharmacological effects [J]. *Anti-tumor Pharm(肿瘤药理学)*, 2011, 1(2): 90-94.
- 3 Li Y, Wang CL, Wang YJ, et al. Three new bibenzyl derivatives from *Dendrobium officinale* Kimura et Migo [J]. *Chem. Pharm. Bull.*, 2009, 57: 218-219.
- 4 Fan Y, Luo A. Evaluation of anti-tumor activity of water-soluble polysaccharides from *Dendrobium denneanum* [J]. *Afr J Pharm Pha*, 2011, 5: 415-420.
- 5 Long CX(龙承星), He L(贺璐), Guo YF(郭艳芳), et al. Effects of *Dendrobium candidum* Polysaccharide on immunity, intestinal microbiota and enzyme activity in mice with spleen deficiency constipation [J]. *Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发)*, 2017, 29: 1020-1024.
- 6 Zhou HT(周海涛), Cao JM(曹建民), Lin Q(林强), et al. Effect of *Dendrobium officinale* Kimura et Migo on substance metabolism and exercise capacity in rats after exercise training [J]. *Chin Pharm J(中国药理学杂志)*, 2013, 48: 1684-1688.
- 7 Yang CY(杨传玉), Liu F(刘帆), Wu D(吴耽), et al. Screening of active sites in *Dendrobium officinale* Kimura et Migo on aspirin-induced gastric mucosal injury in rats and investigating mechanism [J]. *Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发)*, 2016, 28: 1699-1705.
- 8 Tang ZZ(唐振缙), Cheng SJ(程式君), et al. A study on the raw plants for the Chinese traditional medicine "Huoshan Shi-Hu" [J]. *Bulletin of botanical research(植物研究)*, 1984, 4: 141-146.
- 9 Gong QF(龚庆芳), Zhou H(周浩), Wang XG(王新桂), et al. Comparative study on the quality of *Dendrobium officinale* Kimura et Migo from different producers [J]. *N Hortie(北方园艺)*, 2013, 8: 162-165.
- 10 Liu WJ(刘文杰), Sun ZR(孙志蓉), Du Y(杜远), et al. Main chemical compositions and fingerprints of Tiejishihu (*Dendrobium candidum*) produced from different areas [J]. *J Beijing Univ TCM(北京中医药大学学报)*, 2013, 36: 117-120.
- 11 Chen JJ(陈佳江), Guo L(郭力), Xu L(许莉), et al. A comparison of the gigantol content between *Dendrobium aurantiacum* Rchb. f. var. *denneanum* (Kerr.) Z. H. Tsi and pharmacopoeia species [J]. *Pharm Clin China J Chin Mater Med(中药与临床)*, 2013, 4(1): 61-63.
- 12 Zhou J(周婧), Xu ZL(许志良), Kong HW(孔宏伟), et al. Comparison of phenolic components among different species of *Dendrobium* (Shihu Fengdou) and determination of their active components — moscatilin and gigantol [J]. *Chin J Chromatogr(色谱)*, 2010, 28: 566-571.
- 13 Zhu Y(褚燕), Si JP(斯金平), Guo BL(郭宝林), et al. Variation of polysaccharide content in artificial cultivated *Dendrobium officinale* Kimura et Migo [J]. *Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志)*, 2010, 35: 427-430.
- 14 张鹏博, 章静钢, 韩晓霞, 等. The main phenotypic traits and polysaccharide content of wild *Dendrobium officinale* Kimura et Migo [J]. *J Zhejiang Agr Sci(浙江农业科学)*, 2015, 56: 1406-1408.
- 15 Li MY(李明焱), Xie XB(谢小波), Zhu HZ(朱惠照), et al. Breeding of *Dendrobium officinale* cv. Xianhu 1 and its characteristics [J]. *Chin J Modern Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2011, 28: 281-284.
- 16 Zhang X(张雪), Xu JK(续洁琨), Wang NL(王乃利), et al. Studies on antioxidant activity of bibenzyls and phenolic components from *Dendrobium nobile* [J]. *Chin Pharmacol J(中国药理学杂志)*, 2008, 43: 829-832.
- 17 Wei XY(魏小勇), Gao XX(高欣欣), Gu Q(顾琼), et al. Inhibitory activity and its mechanism of gigantol for inducible nitric oxide synthase [J]. *J Guangzhou Univ Tradit Chin Med(广州中医药大学学报)*, 2011, 28: 393-395.