

HPLC 法测定石斛中鼓槌石斛素和鼓槌联苳

丁 晴¹, 毕志明², 王峰涛², 徐璐珊²

(1. 无锡市药品检验所, 江苏 无锡 214021; 2. 中国药科大学中药学院, 江苏 南京 210038)

摘 要:目的 测定不同种及不同产地的石斛样品中鼓槌石斛素和鼓槌联苳的量, 为石斛的资源开发和质量标准制订提供科学依据。方法 采用 HPLC 法。色谱柱 Shim-pack CLC-ODS 柱, 甲醇-水 (60:40) 为流动相, 检测波长 237 nm。结果 测定了 15 个石斛样品中鼓槌石斛素和鼓槌联苳的量。结论 这 2 种酚类成分在石斛中分布很不均匀。其中, 含鼓槌石斛素量最高的为云南产的流苏石斛样品, 其量为 0.027%; 含鼓槌联苳量最高的为贵州产的流苏石斛样品, 为 0.028%。

关键词: 石斛; 鼓槌石斛素; 鼓槌联苳; HPLC**中图分类号:** R286.1**文献标识码:** A**文章编号:** 0253-2670(2008)04-0610-02

石斛为传统常用中药, 具有滋阴清热、生津益胃和润肺止咳的功效, 用于热病伤津、口干烦渴和病后虚热等病症。《中国药典》(2005 年版)^[1] 记载其来源为兰科植物金钗石斛 *Dendrobium nobile* Lindl.、铁皮石斛 *D. candidum* Wall. ex Lindl.、马鞭石斛 *D. fimbriatum* Hook. var. *oculatum* Hook. 及其近似种的新鲜或干燥茎。石斛中主要含有生物碱类、倍半萜类、联苳类、菲类、茛菪酮类、香豆素类等多种化学成分。现代药理研究表明联苳类化合物具有较强的生物活性^[2,3], 而石斛属植物中大多不同程度含有这类成分。为此, 笔者采用高效液相色谱法对 15 个石斛样品中鼓槌石斛素 (chrysotoxine) 和鼓槌联苳 (chrysotobibenzyl) 的量进行了测定, 同时还测定了不同产地和不同加工方式的流苏石斛样品中鼓槌石斛素和鼓槌联苳的量。

1 仪器与材料

岛津 LC-10A 高效液相色谱仪; SPD-10A 紫外检测器, HS 系列色谱数据工作站 Ver 4.0 (杭州英谱科技开发有限公司)。

云南、广西、贵州等地采集石斛样品共 15 个, 经中国药科大学徐璐珊教授鉴定无误, 见表 1。分别取上述样品于 60℃ 烘干 6 h, 粉碎, 备用。

对照品: 鼓槌石斛素、鼓槌联苳 (均为自提^[3,4], 经 NMR 及 HPLC 分析为纯品, 质量分数检测 99% 以上)。甲醇为色谱纯, 水为纯净水, 氯仿为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: Shim-pack CLC-ODS 色谱柱 (200 mm×4.6 mm, 5 μm); 柱温 26℃; 检测波长 237

nm; 流动相为甲醇-水 (60:40), 体积流量 1.0 mL/min。

2.2 标准曲线的绘制及线性范围: 分别称取 2 种对照品溶液 5 mg, 精密称定, 分别置 5 mL 量瓶中, 加甲醇溶解, 定容。用微量进样器吸取上述对照品溶液各 0.5 mL, 置 5 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 配成溶液 1。以溶液 1 为初始溶液, 逐步稀释成不同浓度 (1~100 倍) 的混合对照品溶液。取不同浓度的混合对照品溶液, 分别进样 20 μL, 按上述色谱条件进行 HPLC 分析。以对照品质量 (μg) 为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 计算回归方程。鼓槌石斛素: $Y = 527\,927.1 X + 516.1$, $r = 0.999\,9$, 线性范围 0.019~1.9 μg; 鼓槌联苳: $Y = -626\,865.9 X + 2\,954.8$, $r = 0.999\,9$, 线性范围 0.018~1.8 μg。

2.3 供试品的制备: 精密称定 60℃ 干燥 6 h 的石斛样品粉末 (40 目) 1 g 于滤纸筒中, 用索式提取器提取, 加氯仿 40 mL, 提取 3 h, 回收氯仿, 蒸干, 加甲醇溶解, 定量转移至 5 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度。微孔滤膜滤过, 滤液为供试品溶液。

2.4 精密度试验: 准确吸取质量浓度为 0.01 mg/mL 的对照品混合液 20 μL, 按 2.1 项下色谱条件进行 HPLC 分析, 连续进样 6 次, 鼓槌石斛素峰面积的 RSD 为 1.68%, 鼓槌联苳峰面积的 RSD 为 1.33%。

2.5 重现性试验: 精密称定流苏石斛样品 1 g, 共 5 份; 按 2.3 项下进行制备, 按 2.1 项下色谱条件进行 HPLC 分析, 进样 20 μL, 结果样品中鼓槌石斛素量的 RSD 为 1.72%, 鼓槌联苳量的 RSD 为 1.54%, 表明其重现性较好。

收稿日期: 2007-09-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30600805)

作者简介: 丁 晴 (1963—), 女, 汉, 副主任药师, 江苏省无锡市药品检验所中药室主任。

Tel: (0510) 82717087 E-mail: dqwx2007@126.com

2.6 稳定性试验:精密吸取同一样品溶液 20 μL , 间隔一定时间进行测定,对 2 种对照品的吸收峰面积进行考察,进样 3 次(取 3 次平均值),结果无明显差异(鼓槌石斛素峰面积的 RSD 为 2.04%,鼓槌联苳峰面积的 RSD 为 1.81%),表明样品至少在 72 h 内稳定。

2.7 加样回收率试验:取流苏石斛样品粉末 0.5 g,精密称定 7 份,其中 1 份作为空白对照,其余 6 份分别加入一定量的 2 种对照品溶液,然后按 2.1 项下色谱条件进行 HPLC 分析,进样 20 μL ,结果鼓槌石斛素加样回收率为 96.01% (RSD=1.62%, $n=6$),鼓槌联苳加样回收率为 97.20% (RSD=1.87%, $n=6$)。

2.8 样品测定:按 2.1 项下色谱条件进行 HPLC 分析,进样 20 μL ,每个样品测 3 次,按外标一点法计算质量分数,测定结果见图 1 和表 1。

3 讨论

3.1 文献报道^[4],采用甲醇-乙腈-水(60:60:165)为流动相测定鼓槌石斛素、鼓槌非和毛兰素在石斛中的量,笔者在应用该流动相洗脱中发现对石斛样品鼓槌石斛素和鼓槌联苳的分离效果不好,而且保留时间很长(需 1 h 以上),经多次改变流动相系统及其比例,最后采用甲醇-水(60:40)为流动相,能较好地分离石斛中的鼓槌石斛素和鼓槌联苳。

3.2 分析结果表明,这 2 种酚类成分在 15 件石斛

表 1 不同来源的石斛样品中鼓槌石斛素和鼓槌联苳量 ($n=3$)

Table 1 Chrysotoxine and chrysotobibenzyl in *Herba Dendrobii* from different source ($n=3$)

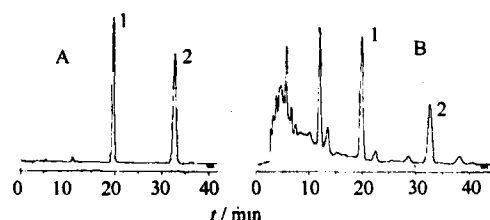
编号	植物种	产地(加工方式)	鼓槌石斛素/%	鼓槌联苳/%
1	剑叶石斛 <i>D. acinaciforme</i>	海南(阴干)	—	痕量
2	长苏石斛 <i>D. brymerianum</i>	云南(阴干)	—	—
3	短棒石斛 <i>D. capillipes</i>	云南(阴干)	0.002	—
4	翅萼石斛 <i>D. cariniferum</i>	云南(阴干)	0.010	0.001
5	束花石斛 <i>D. chrysanthum</i>	广西(阴干)	—	0.003
6	选鞘石斛 <i>D. chryseum</i>	云南(阴干)	0.004	0.002
7	鼓槌石斛 <i>D. chrysotoxum</i>	云南(阴干)	0.011	0.010
8	密花石斛 <i>D. densiflorum</i>	海南(阴干)	—	—
9	流苏石斛 <i>D. fimbriatum</i>	云南(阴干)	0.027	0.013
10	流苏石斛 <i>D.</i>	广西(阴干)	0.009	0.016
11	流苏石斛 <i>D.</i>	贵州(阴干)	0.005	0.028
12	流苏石斛 <i>D.</i>	云南(烘烤)	0.001	—
13	粉花石斛 <i>D. loddigesii</i>	广西(阴干)	—	0.007
14	杓唇石斛 <i>D. moschatum</i>	云南(阴干)	—	—
15	金钗石斛 <i>D. nobile</i>	四川(阴干)	—	—

样品中分布很不均匀。鼓槌石斛素量最高的为云南产的流苏石斛样品,其质量分数为 0.027%;鼓槌联苳量最高的为贵州产的流苏石斛样品,其质量分数为 0.028%。在对石斛样品的 HPLC 分析中发现,石斛属植物的化学成分呈现高度的化学多样性,很难通过 1~2 种对照品对中药“石斛”进行质量评价。

3.3 通过对不同产地和加工方式的流苏石斛样品的量进行测定发现,不同分布居群的流苏石斛中鼓槌石斛素和鼓槌联苳的量有明显差异,这可能与不同的生态环境有关;而经传统工艺(水烫火烤)加工的流苏石斛样品,其成分的量较原植物相差很大,这说明传统加工工艺对石斛中鼓槌石斛素和鼓槌联苳的成分量有较大影响。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部, 2005.
- [2] Chen C C, Wu L G, Ko F N, et al. Antiplatelet aggregation principles of *Dendrobium loddigesii* [J]. *J Nat Prod*, 1994, 57(9): 1271-1274.
- [3] Lee Y H, Park J D, Back N J, et al. *In vitro* and *in vivo* antitumoral phenanthrenes from the areal parts of *Dendrobium nobile* [J]. *Planta Med*, 1995, 61(3): 178-180.
- [4] 马国祥, 徐国钧, 徐璐珊, 等. 反相高效液相色谱法测定 18 种石斛类生药中 chrysotoxene, erianin 及 chrysotoxine 的量[J]. 中国药科大学学报, 1994, 25(2): 103-105.



1-鼓槌石斛素 2-鼓槌联苳
1-chrysotoxine 2-chrysotobibenzyl

图 1 鼓槌石斛素、鼓槌联苳对照品(A)和流苏石斛样品(云南产)(B)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of chrysotoxine and chrysotobibenzyl reference substance (A) and *D. fimbriatum* (Yunnan) (B)