

石斛甲醇提取物 HPLC-MS 分析及 4 种多酚测定

贡小辉¹, 朱益灵¹, 魏 渊¹, 孔令东², 韩邦兴³, 欧阳 臻^{1*}

(1. 江苏大学药学院, 江苏 镇江 212013; 2. 南京大学生命科学学院, 江苏 南京 210093; 3. 皖西学院生物与制药工程学院, 安徽 六安 237012)

摘要: **目的** 采用 HPLC-MS 法分析石斛甲醇提取物及测定丁香酸、氧化白藜芦醇、芦丁和柚皮素的含量。**方法** 石斛甲醇溶液的分析采用 SinoChrome ODS-AP 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相甲醇-0.2% 醋酸水, 梯度洗脱; 体积流量 0.5 mL/min; 柱温 25 ℃; 检测波长 334 nm。电喷雾离子源 (ESI), 负离子模式下采集数据。**结果** 丁香酸、氧化白藜芦醇、芦丁、柚皮素分别在 0.27~8.54 μg/mL ($r=0.999\ 5$)、1.25~40.03 μg/mL ($r=0.999\ 3$)、1.25~40.00 μg/mL ($r=0.999\ 3$)、2.70~86.70 μg/mL ($r=0.999\ 6$) 范围内线性关系良好, 平均加样回收率分别为 100.63% (RSD=1.35%)、99.72% (RSD=1.63%)、100.04% (RSD=1.12%)、99.95% (RSD=2.16%)。不同样品中多酚含量存在一定差异, 其中霍山石斛含量最高。**结论** 该方法准确、简便、重复性好, 可用于石斛药材的质量控制。

关键词: 石斛; 丁香酸; 氧化白藜芦醇; 芦丁; 柚皮素; HPLC

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2020)05-1223-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2020.05.023

Analysis of methanol extract from *Dendrobii Caulis* by HPLC-MS and determination of four polyphenols

GONG Xiao-hui¹, ZHU Yi-ling¹, WEI Yuan¹, KONG Ling-dong², HAN Bang-xing³, OUYANG Zhen^{1*}

(1. School of Pharmacy, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China; 2. School of Life Sciences, Nanjing University, Nanjing 210093, China; 3. College of Biological and Pharmaceutical Engineering, West Anhui University, Lu'an 237012, China)

ABSTRACT: **AIM** To analyze the methanol extract from *Dendrobii Caulis* by HPLC-MS and to determine the contents of syringic acid, oxidized resveratrol, rutin and naringenin. **METHODS** The analysis of methanol extract of *Dendrobii Caulis* was performed on a 25 ℃ thermostatic SinoChrome ODS-AP column (4.6 mm×250 mm, 5 μm), with the mobile phase comprising of methanol-0.2% acetic acid flowing at 0.5 mL/min in a gradient elution manner, and the detection wavelength was set at 334 nm. The data were collected in negative ion mode using electron spray with ESI source. **RESULTS** The syringic acid, oxidized resveratrol, rutin and naringenin showed good linear relationships within the ranges of 0.27-8.54 μg/mL ($r=0.999\ 5$), 1.25-40.03 μg/mL ($r=0.999\ 3$), 1.25-40.00 μg/mL ($r=0.999\ 3$), 2.70-86.70 μg/mL ($r=0.999\ 6$), whose average recoveries were 100.63% (RSD=1.35%), 99.72% (RSD=1.63%), 100.04% (RSD=1.12%), 99.95% (RSD=2.16%), respectively. The content of polyphenols in different samples were significantly different, with the highest content polyphenols in *Dendrobium huoshanense* C. Z. Tang et S. J. Cheng. **CONCLUSION** This accurate,

收稿日期: 2019-05-08
基金项目: 国家自然科学基金 (81872961, 81573529); 安徽省石斛产业化开发协同创新项目 (2014)
作者简介: 贡小辉 (1993—), 女, 硕士生, 从事中药学研究。Tel: 18352868911, E-mail: gxh19940114@163.com
* 通信作者: 欧阳 臻 (1964—), 女, 教授, 博士生导师, 从事中药活性成分研究及新药研发。Tel: (0511) 88791564, E-mail: zhenouyang@ujs.edu.cn
网络出版日期: 2019-06-28
网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20190627.1632.006.html>

stable and reproducible method can be used for the quality control of *Dendrobii Caulis*.

KEY WORDS: *Dendrobii Caulis*; syringic acid; oxidized resveratrol; rutin; naringenin; HPLC

石斛属是兰科的一大属，我国有 74 个种和 2 个变种，其中有 50 多种被作为药用^[1-2]。石斛药用始载于秦汉时期《神农本草经》，被列为上品^[3]。2015 年版《中国药典》收载有石斛与铁皮石斛，石斛为兰科植物金钗石斛 *Dendrobium nobile* Lindl.、鼓槌石斛 *Dendrobium chrysotoxum* Lindl. 或流苏石斛 *Dendrobium fimbriatum* Hook. 的栽培品及其同属植物近似种的新鲜或干燥茎，铁皮石斛为兰科植物铁皮石斛 *Dendrobium officinale* Kimura et Migo 的干燥茎，具有益胃生津、滋阴清热的功效^[4]。现代药理研究表明石斛具有保肝、调节免疫力^[5]、抗白内障^[6]和促进胃液释放^[7]等生物活性，其主要活性成分为黄酮、酚酸、多糖、生物碱等^[8-10]。已有文献报道黄酮和酚酸等多酚类成分在石斛的传统药效“厚肠胃，轻身延年”方面具有显著疗效。Ekambaram G 等^[11]对大鼠体内 *N*-甲基-*N'*-硝基-*N*-亚硝基胍诱导的胃癌研究表明，柚皮素对胃癌具有有效的保护和治疗作用。刁红星等^[12]研究发现石斛酚与丁香酸协和具有抗白内障和肝保护的作用。黄丹丹等^[13]对金钗石斛黄酮类成分活性研究表明，芦丁具有抗氧化作用。

石斛来源众多，分布较广。现有文献报道及课题组前期研究发现不同品种、不同产地石斛，其化学成分和药理作用均有差异^[14-17]。因此，本实验采用 HPLC-MS 法对石斛甲醇提取物的化学成分进行定性分析；建立 HPLC 法同时测定石斛中丁香酸、氧化白藜芦醇、芦丁和柚皮素的含有量，并比较不同品种、产地石斛中多酚类成分的含有量差异，以期为其质量控制和临床应用提供依据。

1 材料

1.1 仪器 高效液相-线性离子阱质谱（Finnigan™ LXQ™液质联用仪，美国赛默飞世尔科技公司）；安捷伦 1260 高效液相色谱仪（美国安捷伦公司）；FA1204B 分析天平（上海精科-上海天平仪器厂）；BuchiR-200 型旋转蒸发仪（瑞士 Buchi 公司）。

1.2 材料 对照品氧化白藜芦醇（CAS29700-22-9，成都麦德生科技有限公司）；丁香酸（CAS530-57-4）、芦丁（CAS153-18-4）（四川维克奋生物科技有限公司）；柚皮素（CAS480-41-1）（上海跃腾生物技术有限公司）。甲醇为色谱纯，其余试剂为分析纯。河南石斛、铁皮石斛、铜皮石斛和霍山石

斛 9 批样品采自安徽省六安市霍山县，其他 10 批石斛分别采自江苏、浙江、云南、江西等产地，由江苏大学欧阳臻教授鉴定为正品。信息见表 1。

表 1 样品信息
Tab. 1 Information of samples

编号	品种	产地
S1	河南石斛(枫斗)	安徽霍山
S2	河南石斛(干条)	安徽霍山
S3	霍山石斛(枫斗)	安徽霍山
S4	霍山石斛(鲜条)	安徽霍山
S5	霍山石斛(干条)	安徽霍山
S6	铜皮石斛(枫斗)	安徽霍山
S7	铜皮石斛(干条)	安徽霍山
S8	铁皮石斛(枫斗)	安徽霍山
S9	铁皮石斛(干条)	安徽霍山
S10	铁皮石斛(枫斗)	江苏盐城
S11	铁皮石斛(枫斗)	浙江雁荡山
S12	铁皮石斛(枫斗)	浙江乐清
S13	铁皮石斛(枫斗)	云南昆明
S14	铁皮石斛(干条)	云南昆明
S15	铁皮石斛(枫斗)	云南玉溪
S16	铁皮石斛(枫斗)	江西赣州
S17	金钗石斛(枫斗)	广西百色
S18	紫皮石斛(枫斗)	云南龙陵
S19	水草石斛(枫斗)	云南德宏芒市

2 方法与结果

2.1 供试品溶液制备 取样品粉末 1 g，精密称定，加甲醇 20 mL，70 ℃加热回流提取 1 次，提取时间 2 h，滤过，滤液减压蒸干，残渣加甲醇使之溶解，并定容至 5 mL，过 0.45 μm 微孔滤膜，即得。

2.2 对照品溶液制备 精密称取各对照品适量，加甲醇制成每 1 mL 含丁香酸 8.54 μg、氧化白藜芦醇 40.03 μg、芦丁 40.00 μg、柚皮素 86.70 μg 的混合对照品贮备液。精密吸取 1 mL，逐级稀释，得一系列不同质量浓度的对照品溶液，备用。

2.3 分析条件 SinoChrome ODS-AP 柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相甲醇（A）-0.2% 醋酸水（B），梯度洗脱（0~20 min，30%~45% A；20~30 min，45% A；30~40 min，45%~50% A；40~60 min，50%~55% A）；体积流量 0.5 mL/min；检测波长 334 nm；柱温 25 ℃；进样量 10 μL。

ESI 源负离子检测；源电压 3.5 Kv；鞘气（N₂）体积流量 10.5 L/min；辅助气（N₂）体积流量 1.5 L/min；碰撞气体为氦气；毛细管温度 315 ℃；毛细管电压-30 V。采用全离子扫描方式，扫描范围 *m/z* 50~1 000。MS/MS 碰撞能量 50%。

2.4 线性关系考察 精密吸取“2.2”中的对照品贮备液 1 mL，逐级稀释，制成系列不同质量浓度的 6 份溶液。在“2.3”项条件下进样，以峰面积为纵坐标（Y），对照品浓度为横坐标（X），进行回归。结果见表 2。

表 2 各成分线性关系

Tab.2 Linear relationships of various constituents			
成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/ (μg·mL ⁻¹)
丁香酸	<i>Y</i> =27.895 <i>X</i> +10.856	0.999 5	0.27~8.54
氧化白藜芦醇	<i>Y</i> =76.712 <i>X</i> -0.95	0.999 3	1.25~40.03
芦丁	<i>Y</i> =18.093 <i>X</i> +7.920 8	0.999 6	1.25~40.00
柚皮素	<i>Y</i> =7.588 1 <i>X</i> +13.367	0.999 6	2.70~86.70

2.5 方法学考察

2.5.1 精密度试验 取同一供试品溶液，在“2.3”项条件下连续进样 6 次，每次 10 μL，各对照品峰面积 RSD 分别为 1.69%、1.03%、1.82%、1.98%。表明仪器精密度良好。

2.5.2 重复性试验 取同一批次样品 6 份，按“2.1”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，在“2.3”项条件下分别进样 10 μL，各峰面积 RSD 分别为 1.19%、1.30%、1.68%、1.33%。表明该方法重复性良好。

2.5.3 稳定性试验 取同一供试品溶液，在“2.3”项条件下，分别于 0、1、2、4、8、16、24 h 各进样 10 μL，峰面积 RSD 分别为 0.85%、0.81%、1.36%、1.60%。表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.5.4 加样回收率试验 取已知含有量的同一批药材，共 6 份，分别加入质量浓度分别为 4.27、20.02、20.00、43.35 μg/mL 的丁香酸、氧化白藜芦醇、芦丁、柚皮素混合对照品溶液 0.4、0.5、0.6 mL，按“2.1”项下方法制备供试品溶液，在“2.3”项条件下进样，计算含有量。结果见表 3。

2.6 甲醇提取物 HPLC-MS 分析 采用 HPLC-MS 对石斛甲醇提取物中化学成分进行定性分析见图 1。根据各色谱峰的保留时间、紫外特征、分子离子峰及主要碎片峰信息结合相关文献、SciFinder 和化学专业数据库等天然产物数据库收录的天然产物，可初步判断确认 10 个化合物的结构。其中化

表 3 各成分加样回收率试验结果 (n=6)

Tab.3 Results of recovery tests for various constituents (n=6)							
成分	称样量/ g	原有量/ μg	加入量/ μg	测得量/ μg	回收率/ %	平均回收 率/%	RSD/ %
丁香酸	1.000 4	3.156 1	1.708 0	1.780 0	102.37	100.63	1.35
	1.003 5	3.165 9	1.708 0	1.759 3	101.15		
	1.004 4	3.168 7	2.135 0	2.174 2	100.35		
	1.008 6	3.182 0	2.135 0	2.136 1	98.56		
	1.011 1	3.189 9	2.562 0	2.587 0	99.73		
	1.002 3	3.162 1	2.562 0	2.635 1	101.62		
氧化白	1.000 4	9.371 9	8.006 0	7.890 8	97.39	99.72	1.63
	1.003 5	9.400 9	8.006 0	8.063 2	99.54		
	1.004 4	9.409 4	10.007 5	10.076 6	99.75		
	1.008 6	9.448 7	10.007 5	10.086 0	99.84		
	1.011 1	9.472 1	12.009 0	12.325 9	101.85		
	1.002 3	9.389 7	12.009 0	12.101 7	99.99		
芦丁	1.000 4	4.958 3	8.000 0	8.038 4	99.86	100.04	1.12
	1.003 5	4.973 7	8.000 0	7.984 9	99.19		
	1.004 4	4.978 1	10.000 0	9.904 8	98.55		
	1.008 6	4.998 9	10.000 0	10.040 0	99.90		
	1.011 1	5.011 3	10.000 0	10.184 1	101.34		
	1.002 3	4.967 7	10.000 0	10.188 7	101.39		
柚皮素	1.000 4	15.675 7	17.340 0	17.014 7	97.22	99.95	2.16
	1.003 5	15.724 3	17.340 0	17.417 5	99.54		
	1.000 4	15.738 4	21.675 0	22.478 3	102.98		
	1.008 6	15.804 2	21.675 0	21.711 7	99.44		
	1.001 1	15.843 4	26.010 0	26.665 2	101.91		
	1.002 3	15.705 5	26.010 0	25.805 5	98.61		

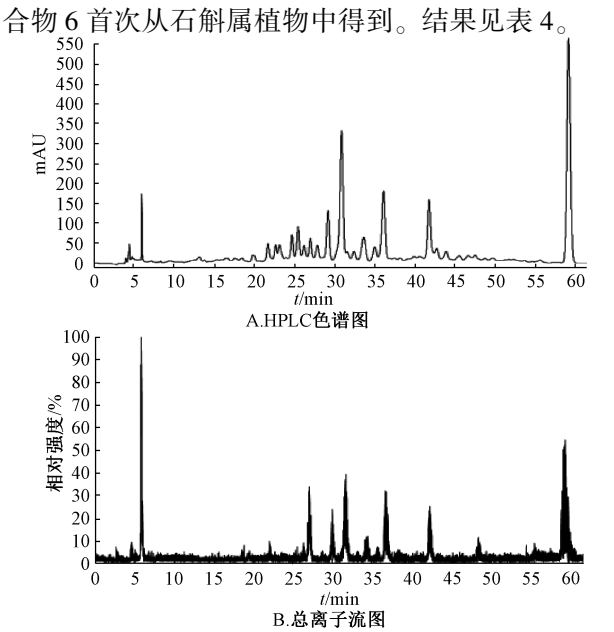


图 1 各样品色谱图

Fig.1 Chromatograms of various samples

表 4 提取物 HPLC-MS 检测结果
Tab. 4 Detection results of extracts by HPLC-MS

编号	t_R/min	$[\text{M}-\text{H}]^-$	碎片离子/(m/z)	分子式	化合物
1	21.02	197.23	153.11, 181.24	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5$	丁香酸 ^a
2	24.32	533.53	532.77, 515.62, 497.02, 473.42, 443.16, 413.45, 383.42, 353.47	$\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{O}_{13}$	芹菜素-6- <i>C</i> - α - <i>L</i> -阿拉伯糖苷-8- <i>C</i> - β - <i>D</i> -木糖 ^[18]
3	25.67	533.23	515.21, 473.33, 433.29, 383.27	$\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{O}_{13}$	芹菜素-6- <i>C</i> - β - <i>D</i> -木糖-8- <i>C</i> - α - <i>L</i> -阿拉伯糖苷 ^[19]
4	27.15	417.39	402.29, 181.24, 166.26, 151.19	$\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_8$	丁香酯素 ^[19]
5	29.58	709.91	649.99, 619.86, 545.97, 425.88, 335.79, 289.11	$\text{C}_{32}\text{H}_{39}\text{O}_{18}$	6- <i>C</i> -[(2- <i>O</i> - α -rhamnopyranosyl)- β -glucopyranosyl]-1- <i>C</i> -(α -arabinopyranosyl)-apigenin ^[20]
6	30.35	243.24	227.29, 201.39	$\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_4$	氧化白藜芦醇 ^a
7	33.21	533.40	532.77, 515.62, 497.02, 515.29, 503.54, 473.45, 443.28, 413.45, 383.31, 353.40	$\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{O}_{13}$	芹菜素-6,8-二- <i>C</i> - α - <i>L</i> -吡喃阿拉伯糖苷 ^[21]
8	36.83	709.69	691.43, 649.42, 619.61, 589.69, 545.66, 499.56, 485.66, 413.50, 337.51, 98.21	$\text{C}_{32}\text{H}_{38}\text{O}_{18}$	6- <i>C</i> -(α -Arabinopyranosyl)-1- <i>C</i> -[(2- <i>O</i> - α -rhamnopyranosyl)- β -galactopyranosyl]-apigenin ^[20]
9	41.78	609.24	301.04	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	芦丁 ^a
10	58.98	271.34	227.33, 177.21, 151.17, 93.22	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5$	柚皮素 ^a

注:a 表示经过对照品确认。

2.7 含有量测定

2.7.1 HPLC 色谱图 在“2.3”项条件下进样，对照品及样品色谱图见图 2。

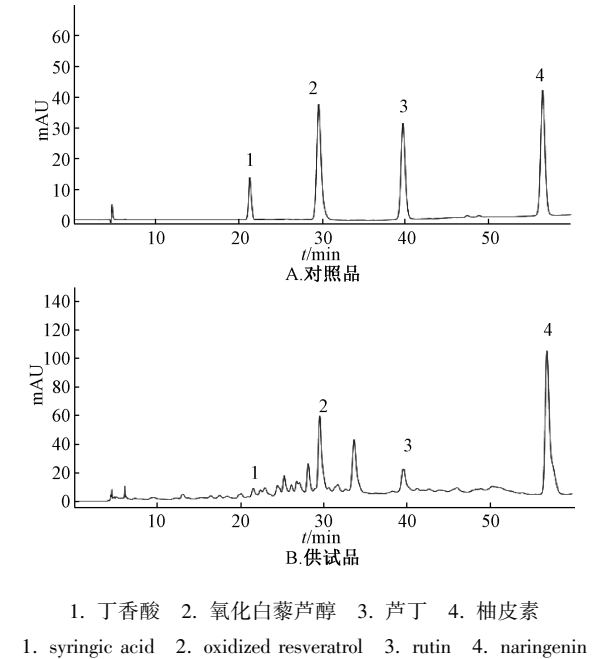


图 2 各成分 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of various constituents

2.7.2 样品含有量测定 按“2.1”项下方法制备供试品溶液，在“2.3”项条件下进样，测定各样品中各成分的含有量。结果见表 5。

3 讨论

3.1 定性分析 共鉴定出 10 个化合物，其中氧化白藜芦醇为首次在石斛属植物中得到。有研究表明

表 5 各成分含有量测定结果 (μg/g)

Tab. 5 Results of content determination of various constituents (μg/g)

编号	丁香酸	氧化白藜芦醇	芦丁	柚皮素
S1	2.731 8	—	26.573 8	78.088 9
S2	3.197 8	—	26.629 1	90.540 1
S3	14.812 7	56.623 4	22.935 8	169.889 2
S4	32.306 0	28.623 4	26.797 7	157.852 7
S5	29.778 8	48.246 9	27.231 0	178.003 1
S6	2.730 8	158.942 7	—	86.521 5
S7	3.501 0	155.697 4	—	88.497 9
S8	26.485 5	13.618 4	23.648 6	117.107 1
S9	25.500 2	15.579 3	23.869 7	113.351 4
S10	3.650 9	11.878 6	2.690 0	10.977 3
S11	22.712 6	10.849 0	6.602 3	13.115 7
S12	2.002 3	15.792 9	2.681 2	8.803 7
S13	5.033 3	11.964 0	11.337 8	81.985 4
S14	18.626 7	14.800 2	6.201 7	11.635 9
S15	6.921 8	11.280 1	14.002 4	42.073 9
S16	3.156 1	9.371 9	4.958 3	15.675 7
S17	22.482 6	—	—	—
S18	5.170 3	—	—	—
S19	3.963 0	—	—	162.118 5

注:—表示未测出。

氧化白藜芦醇具有抗炎、抗氧化、抗病毒、抗肿瘤^[22]、神经保护^[23]等作用。

3.2 结果分析 霍山石斛和铁皮石斛能同时测定出 4 种多酚类成分，且霍山石斛多酚类含有量高于铁皮石斛，霍山产铁皮石斛高于其他产地铁皮石斛。铜皮石斛中仅测定出丁香酸、氧化白藜芦醇和柚皮素；河南石斛中测定出丁香酸、芦丁和柚皮素；水草石斛中测定出丁香酸和柚皮素；紫皮石斛

和金钗石斛中仅测定出丁香酸。不同品种石斛中多酚类成分含有量存在明显差异。与文献 [24-26] 报道不同石斛种属间、不同产地的铁皮石斛化学成分差异较大一致。课题组前期也发现霍山产铁皮石斛小分子化合物含有量高,具有一定特殊性^[17]。

3.3 色谱条件 据文献 [27-28] 报道多酚类成分在 240~280 和 300~400 nm 2 个波长范围内有吸收峰,本实验考察了 334、270 nm 2 个检测波长,发现在 334 nm 处各成分的色谱峰峰形良好,吸收较大;比较了甲醇-0.2% 醋酸和乙腈-0.2% 醋酸 2 种流动相体系,发现前者作为流动相时,各成分色谱峰峰形良好,分离度较高;考察了柱温 25、30、35 ℃对分离效果的影响,发现 25 ℃时,各成分的色谱峰峰形良好;考察了体积流量 0.5、0.8、1.0 mL/min对分离效果的影响,表明 0.5 mL/min 时,各成分分离度较高。因此,本研究最终选择“2.3”项下色谱条件。

本研究建立 HPLC 法同时测定石斛中丁香酸、氧化白藜芦醇、芦丁和柚皮素的含有量,该方法准确,简便,重复性好,可用于石斛的质量控制。

参考文献:

[1] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志. 第 19 卷[M]. 北京: 科学出版社, 1999.

[2] Zhao Y J, Han B X, Peng H S, *et al.* Identification of “Huoshan shihu” Fengdou: Comparative authentication of the Daodi herb *Dendrobium huoshanense* and its related species by macroscopic and microscopic features[J]. *Microsc Res Techniq*, 2017, 80(7): 712-721.

[3] 孙星衍, 孙冯翼, 吴 普, 等. 神农本草经 (1-2 册) [M]. 北京: 中华书局, 1985.

[4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版一部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 92.

[5] Lin J W, Chang Y J, Yang W B, *et al.* The multifaceted effects of polysaccharides isolated from *Dendrobium huoshanense* on immune functions with the induction of interleukin-1 receptor antagonist (IL-1ra) in monocytes [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (4): e94040.

[6] Luo J P, Deng Y Y, Zha X Q. Mechanism of polysaccharides from *Dendrobium huoshanense* on Streptozotocin-Induced Diabetic Cataract[J]. *Pharm Biol*, 2008, 46(4): 243-249.

[7] Xie S Z, Ge J C, Li F, *et al.* Digestive behavior of *Dendrobium huoshanense* polysaccharides in the gastrointestinal tracts of mice [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 107 (Pt A): 825-832.

[8] 魏 刚, 顺庆生, 戴亚峰, 等. 霍山石斛 HPLC 特征图谱研究[J]. 中成药, 2014, 36(12): 2642-2644.

[9] 敖 娇, 鲍家科, 夏玉吉. 金钗石斛中生物碱与多糖含量

的测定[J]. 中成药, 2017, 39(8): 1736-1739.

[10] 华茉莉, 李定祥, 姜仁吉. 自动电位滴定法测定金钗石斛药材中总生物碱的含量[J]. 中成药, 2010, 32(6): 1004-1007.

[11] Ekambaram G, Rajendran P, Magesh V. Naringenin reduces tumor size and weight lost in *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine-induced gastric carcinogenesis in rats [J]. *Nutr Res*, 2008, 28(2): 106-112.

[12] 刁红星, 易燕群, 戚 辉, 等. 石斛酚与丁香酸联合抗白内障作用及其机制研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37 (16): 2429-2434.

[13] 黄丹丹, 陈欢欢, 黎梅桂, 等. 金钗石斛黄酮苷的含量测定及抗氧化活性研究[J]. 中药新药与临床药理, 2017, 28(1): 73-77.

[14] 王 凯, 睦丹娟, 王长锁, 等. 5 种石斛对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 中国中药杂志, 2017, 42 (10): 1945-1950.

[15] 查学强, 王军辉, 潘利华, 等. 石斛多糖体外抗氧化活性的研究[J]. 食品科学, 2007, 28(10): 90-93.

[16] 谢鲁灵枫. 石斛类药材指纹图谱及化学成分初步研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2018.

[17] 谢鲁灵枫, 史明敏, 贡小辉, 等. 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[J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(7): 1181-1187.

[18] Ye Z, Dai J R, Zhang C G, *et al.* Chemical differentiation of *Dendrobium officinale* and *Dendrobium devonianum* by using HPLC fingerprints, HPLC-ESI-MS, and HPTLC analysis [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017, 2017: 1-9.

[19] Zhang Y, Zhang L H, Liu J J, *et al.* *Dendrobium officinale* leaves as a new antioxidant source[J]. *J Funct Foods*, 2017, 37: 400-415.

[20] Chang C C, Ku A F, Tseng Y Y, *et al.* 6, 8-Di-C-glycosyl flavonoids from *Dendrobium huoshanense* [J]. *J Nat Prod*, 2010, 73(2): 229-232.

[21] Wu C F, Gui S H, Huang Y C, *et al.* Characteristic fingerprint analysis of *Dendrobium huoshanense* by ultra-high performance liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry[J]. *Anal Methods*, 2016, 8(18): 3802-3808.

[22] 黄 玥, 熊 尧, 周黎明. 氧化白藜芦醇体内外抑制肝癌细胞增殖的研究[J]. 中药药理与临床, 2015, 31(3): 34-37.

[23] Weber J T, Lamont M, Chibrikova L, *et al.* Potential neuroprotective effects of oxyresveratrol against traumatic injury[J]. *Eur J Pharmacol*, 2012, 680(1-3): 55-62.

[24] 周 婧, 许志良, 孔宏伟, 等. 不同石斛枫斗中酚酸类活性成分的比较及杓唇石斛素和石斛酚含量的测定[J]. 色谱, 2010, 28(6): 566-571.

[25] 孙卓然, 李晓云, 刘 圆, 等. RP-HPLC 法测定不同品种石斛中滨蒿内酯的含量 [J]. 西南民族大学学报 (自然科学版), 2008, 34(6): 1189-1191.

[26] 徐德林, 储士润, 肖世基, 等. 不同产地的铁皮石斛和金

- 钨石斛石斛多糖、石斛碱、氨基酸含量的比较[J]. 时珍国医国药, 2016, 27(11): 2738-2740.

[27] 赵玉红, 翟亚楠, 王振宇. 樟子松树皮多酚的成分分析和结构鉴定[J]. 北京林业大学学报, 2016, 38(1): 125-130.
- [28] 周桂芬, 陈素红, 吕圭源. 浙江省铁皮石斛黄酮类成分高效液相色谱指纹图谱的建立[J]. 中国药学杂志, 2013, 48(15): 1261-1265.

HPLC 法同时测定九龙盘中 6 种成分

李 俊, 卢汝梅, 黎云清, 梁臣艳*
(广西中医药大学, 广西 南宁 530200)

摘要: **目的** 建立 HPLC 法同时测定九龙盘 *Antenoron filiforme* (Thunb) Rob. et Vaut. 中没食子酸、原儿茶酸、异槲皮苷、鞣花酸、槲皮素、木犀草素的含量。**方法** 九龙盘 80% 甲醇提取物采用 COSMOSIL 5C₁₈-PAQ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相甲醇-0.2% 磷酸水溶液, 梯度洗脱; 体积流量 0.8 mL/min; 双波长切换检测; 柱温 35 ℃。**结果** 6 种成分在各自范围内线性关系良好 ($r>0.999\ 0$), 平均加样回收率为 85.95%~103.40%, RSD 为 0.5%~3.0%。**结论** 该方法准确稳定, 重复性好, 可用于九龙盘的质量控制。

关键词: 九龙盘; 没食子酸; 原儿茶酸; 异槲皮苷; 鞣花酸; 槲皮素; 木犀草素; HPLC

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2020)05-1228-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2020.05.024

Simultaneous determination of six constituents in *Antenoron filiforme* by HPLC

LI Jun, LU Ru-mei, LI Yun-qing, LIANG Chen-yan*
(Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China)

ABSTRACT: AIM To establish an HPLC method for the simultaneous content determination of gallic acid, protocatechuic acid, iso-quercetin, ellagic acid, quercetin and luteolin in *Antenoron filiforme* (Thunb) Rob. et Vaut.. **METHODS** The analysis of 80% methyl extract of *A. filiforme* was performed on a 35 ℃ thermostatic COSMOSIL 5C₁₈-PAQ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), with the mobile phase comprising of methanol-0.2% phosphoric acid flowing at 0.8 mL/min in a gradient elution manner, and the dual-wavelength switching detection was set. **RESULTS** Six constituents showed good linear relationships within their own ranges ($r>0.999\ 0$), whose average recoveries were 85.95%-103.40% with the RSDs of 0.5%-3.0%. **CONCLUSION** This accurate, stable and reproducible method can be used for the quality control of *A. filiforme*.

KEY WORDS: *Antenoron filiforme* (Thunb) Rob. et Vaut.; gallic acid; protocatechuic acid; iso-quercetin; ellagic acid; quercetin; luteolin; HPLC

九龙盘为蓼科金线草属植物金线草 *Antenoron filiforme* (Thunb) Rob. et Vaut. 的全草, 具有通气道、谷道, 调龙路, 清热毒, 散瘀止痛之功效。壮族民间常用于治疗埃病 (咳嗽)、阿意味 (痢疾)、

埃嘞 (咳血)、发旺 (风湿骨痛)、林得叮相 (跌打损伤) 等^[1]。研究发现金线草中主要有黄酮类、香豆素、酯类、植物甾皮甾醇类等, 其药理学作用也十分广泛, 有抗菌消炎、抗肿瘤、止血、抗病

收稿日期: 2019-05-15

基金项目: 广西中医药大学研究生创新项目 (YCSY20190047); 广西科技厅重大专项计划课题 (桂科重 1355001-4-1)

作者简介: 李 俊 (1993—), 女, 硕士生, 研究方向为中药化学成分与质量标准。Tel: 15677165265, E-mail: 905833869@qq.com

* 通信作者: 梁臣艳 (1979—), 女, 硕士, 副教授, 研究方向为中药有效成分和质量控制方法。Tel: (0771) 4953513, E-mail: liang_chen_yan@126.com