

石斛属药用植物质量控制研究进展

★ 叶磊 陈建真 罗小敏 (浙江中医药大学 杭州 310053)

摘要: 石斛为兰科(Orchidaceae)植物石斛属(Dendrobium)多种药用植物的总称,具有抗肿瘤、抗衰老、增强人体免疫力和扩张血管等作用。其化学成分主要有生物碱类、菲类和联苳类、多糖类成分和其它类成分。由于现有的质量控制方法专属性较差,为了更好地控制石斛的质量,保证药材及其产品的疗效,现将石斛属药用植物质量控制方法作一综述。

关键词: 石斛;质量控制;综述

中图分类号: R 282.71 **文献标识码:** A

中药石斛为兰科(Orchidaceae)植物石斛属(Dendrobium)多种药用植物的总称,始载于《神农本草经》,因其生于石上,故名石斛。石斛为常用贵重药材,药用历史悠久,具有益胃生津、滋阴清热的功能,用于阴伤津亏,口干烦渴,食少干呕,病后虚热,目暗不明等。现代药理学研究表明,石斛具有抗肿瘤、抗衰老、增强人体免疫力和扩张血管等作用^[1]。《中华人民共和国药典》2005 年版收载石斛为金钗石斛 *Dendrobium nobile* Lindl.、铁皮石斛 *D. candidum* Wall. ex Lindl. 或马鞭石斛 *D. fimbriatum* Hook. var. *oculatum* Hook. 及其近似种的新鲜或干燥茎。

1 主要化学成分

石斛属植物的化学成分主要有生物碱类。菲类和联苳类、多糖类成分和其它类成分。生物碱为研究最早的一类成分,到目前为止从石斛属植物中共分得 32 种生物碱^[2],但不同石斛属植物中含有的生物碱成分有很大不同^[1],菲类和联苳类成分为酚类化合物,具有良好的抗肿瘤、体外抗血管生成及清除自由基的活性,到目前为止,共从 12 种植物中分离得到 23 种化合物,如鼓槌联苳、毛兰素、鼓槌石斛素等^[3]。多糖类成分是石斛属植物中具有免疫增强作用和抗肿瘤作用的活性成分,不同品种间多糖含量差别极大,结构组成也不同,如钩状石斛、束花石斛、美花石斛、铁皮石斛、紫斑金钗和流苏石斛 6 种均含有 D-木糖和 D-葡萄糖,但也存在着显著性差异,表现在是否含有 L-阿拉伯糖, D-果糖和 D-甘露糖^[4]。此外,石斛属植物中还含有茛菪酮类化合物、甾体糖苷类化合物、薯蓣皂苷配基衍生物、苷类化合物、香豆素类化合物^[5]、萜醌类化合物、挥发油类等成分。

2 鉴别

2.1 性状及显微鉴定 传统鉴定石斛的主要依据是石斛的表型特征。马国祥等^[6]对 34 种石斛药材进行组织鉴定,研究其性状包括表皮,角质层,皮下层细胞,维管束,内、外侧纤维群,木质部导管,基本薄壁组织等,表明不同种类的石斛,某些性状之间存在差异。刘学平等^[7]对 10 种较常见的中药

石斛粉末进行显微鉴定,以其茎表皮细胞的形状、直径、壁厚、纹孔以及束鞘边缘是否突起或分支、壁厚及层纹有无,木纤维是否分支,非腺毛有无、多少、束长等作为种间的鉴别特征。

2.2 薄层鉴别 王昌华等^[8]采用氨水湿润,氯仿超声提取法制备供试品溶液,以正丁醇-乙酸-水(4:1:5,上层)为展开剂,改良碘化铋钾溶液为显色剂,用以鉴别金钗石斛组培品与野生品。尹爱群等^[9]同法制备供试品溶液,以氯仿-甲醇(10:0.8,氨蒸气饱和)为展开剂,用改良碘化铋钾喷雾显色,鉴别金钗石斛与其伪品戟叶金石斛。樊宝扣等^[10]采用盐酸乙醇回流提取法制成供试品溶液,以苯-丙酮-石油醚-氨水(4:6:1:0.3)展开,于紫外分析仪(365 nm)下观察荧光斑点,用于鉴别石斛及其伪品石仙桃。

2.3 紫外光谱法(UV) 石斛药材乙醇提取液和石油醚(30~60℃)提取液,在 200~400 nm 波长范围内扫描测定,结果金钗石斛与其伪品戟叶金石斛出现不同吸收峰,可鉴别两者^[11]。

2.4 红外光谱法(IR) 不同品种的石斛粉末采用 KBr 压片法制成供试片,于 4000~400 cm⁻¹ 区域内中速扫描,结果铁皮石斛、细茎石斛、钩状石斛、束花石斛、马鞭石斛、齿瓣石斛显示不同的吸收峰,借此可用于鉴别^[12]。

2.5 高效液相(HPLC)指纹图谱 张尊建等^[12]采用氨水润湿-氯仿索氏提取、氯仿索氏提取、氨水润湿-氯仿超声提取和 95%乙醇回流提取四种方法,制备供试品溶液。以甲醇-水或乙腈-水系统作为流动相,紫外检测,得到 HPLC/UV 指纹图谱,用于鉴别密花、马鞭、短棒、鼓槌和金钗等五种石斛。对密花、马鞭和鼓槌等三种石斛的 HPLC/MS 指纹图谱进行了研究,并对色谱峰进行了初步归属。

2.6 DNA 指纹图谱 虞泓等^[13]采用扩增片段长度多态性(AFLP)技术对石斛属内石斛组 4 个种(金钗石斛、细茎石斛、流苏石斛、束花石斛)和一个外类群种(人工栽培种碟花石斛)进行基因组 DNA 多态性分析,聚类分析结果显示,石

斛属的4个种与人工栽培种碟花石斛准确地区分开,彼此关系得到了很好的分辨。丁鸽等^[14]采用RAPD分子标记技术,对铁皮石斛8个野生居群的遗传多样性、亲缘关系以及分子鉴别等进行研究,利用特异性条带对铁皮石斛野生居群进行指纹分析鉴别,结果铁皮石斛居群间遗传差异明显,具有较丰富的遗传多样性,该法可作为铁皮石斛野生居群遗传多态性、居群亲缘关系和分子鉴别研究的手段。

3 含量测定

3.1 总生物碱 石斛粉用氨水浸湿,氯仿回流提取,制备供试品溶液,加pH4.5缓冲液和0.04%溴甲酚绿溶液显色,振荡,静置后,氯仿层滤过,续滤液加0.01 mol/L氢氧化钠无水乙醇溶液摇匀。以氯仿作为空白对照,石斛碱为对照品,于620 nm处测定吸收度,用标准曲线法计算含量^[15]。张明等^[16]比较了不同栽培条件下金钗石斛总生物碱含量,表明驯化栽培于锯木屑的石斛其生物碱含量不低于野外树干栽培的石斛。李亚芳等^[17]测定结果表明金钗石斛总生物碱含量高于铁皮石斛。

3.2 多糖 采用水提醇沉法得到石斛粗多糖,以葡萄糖为对照品,采用苯酚-硫酸法,于490 nm波长处测定吸收度,用标准曲线法计算含量,结果表明铁皮石斛中多糖含量高于金钗石斛^[17]。

3.3 石斛碱 石斛碱为金钗石斛药材中的特征性成分,具有一定的药理活性,可将其作为定量指标,华茉莉等^[18]采用气相色谱法,以茶为内标,内标法测定金钗石斛中石斛碱含量,该法操作简便,准确度高,适用性好。

3.4 滨蒿内酯 张蕾等^[19]采用薄层扫描法测定石斛属4种植物中滨蒿内酯含量,以醋酸乙酯提取液制成供试品溶液,点于硅胶G板,采用两次展开,第一次为氯仿-醋酸乙酯(1:1,浓氨饱和);第二次为环己烷-氯仿-醋酸乙酯(10:15:15),置紫外光灯(365 nm)下,可见滨蒿内酯蓝色荧光斑点,选用双波长反射法锯齿扫描, $\lambda_s=345$ nm, $\lambda_R=370$ nm,测定滨蒿内酯含量,其中密花石斛含滨蒿内酯最高,短棒石斛次之,透鞘石斛又次之,晶帽石斛未检出。

3.5 酚类化合物 杨虹等^[20]采用高效液相色谱法测定鼓槌石斛中化合物中量较高的鼓槌菲、毛兰菲、毛兰素、鼓槌石斛素、鼓槌联苳及1,2,5-三羟基-7-甲氧基-茱萸酮含量,流动相为甲醇-水(58:42),检测波长237 nm,结果表明不同采收期的样品各成分总量有明显差异,为其质量评价及探索最佳采收期提供科学依据。

3.6 氨基酸 蒋秀梅等^[21]测定了石斛中的氨基酸,结果表明铁皮石斛鲜品和金钗石斛鲜品含有6种人体必需氨基酸,金钗石斛含有2种半必需氨基酸,而铁皮石斛鲜品含有1种半必需氨基酸。铁皮石斛鲜品中谷氨酸和天门冬氨酸的含量最高;而金钗石斛鲜品中精氨酸含量最高。但在铁皮石斛鲜品中,未测出精氨酸,可见二种石斛在氨基酸组成上差别很大。

4 结语

综上,目前石斛类药材质量控制方法尚不够全面,且方法较落后,如传统用性状或显微特征来鉴别不同石斛属植

物,但其形态特征种类繁多,标准难以量化。尤其是铁皮石斛,作为药典收载品种之一,其化学成分研究基础较薄弱,缺少特征性成分的检测,在定性鉴别和有效成分或指标性成分的含量测定上都未见有较为理想的标准,因此有待于在深入、系统地研究铁皮石斛化学成分的基础上,应用各种先进的质控手段,建立科学、全面的质控方法,如建立相应的指纹图谱库,以更好地控制铁皮石斛的质量,保证药材及其产品的疗效。

参考文献

- [1]郁美娟,孟庆华,黄德音,等.石斛属植物有效成分及药理作用研究[J].中成药,2003,25(11):918~921
- [2]张光浓,毕志明,王峥涛,等.石斛属植物化学成分研究进展[J].中草药,2003,34(6):附5~附9
- [3]陈晓梅,郭顺星.石斛属植物化学成分和药理作用的研究进展[J].天然产物研究与开发,2001,13(1):70~75
- [4]黄民权,阮金月.6种石斛属植物水溶性多糖的单糖组分分析[J].中国中药杂志,1997,22(2):74~75
- [5]邓银华,徐康平,谭桂山.石斛属植物化学成分与药理活性研究进展[J].中药材,2002,25(9):677~680
- [6]马国祥,徐国钧,徐珞珊,等.中药石斛显微鉴定研究IV[J].中国药科大学学报,1995,26(3):134~138
- [7]刘学平,汤明辉,戴涌,等.中药石斛类粉末的显微镜鉴定研究[J].(中国药科大学学报),1992,23(3):148~151
- [8]王昌华,范俊安,任凌燕,等.金钗石斛组培品与野生品的薄层鉴别研究[J].时珍国医国药,2003,14(8):24~27
- [9]尹爱群,姜慧楨.石斛与其伪品戟叶金钗石斛的鉴别[J].药物分析杂志,1999(3):194~195
- [10]樊宝扣,曹谷珍.石斛及其伪品石仙桃的鉴别[J].时珍国医国药,2002,13(4):224
- [11]李兆奎,孙彩华,李美琴.铁皮石斛与几种常用混淆品的红外光谱鉴别[J].海峡药学,2005,17(3):91~93
- [12]张尊建,王源园,李茜.五种石斛的指纹图谱研究[J].中国药科大学学报,2003,34(6):534~540
- [13]虞泓,和锐,倪念春,等.石斛属4种植物的AFLP分析[J].中草药,2004,35(7):808~810
- [14]丁鸽,丁小余,沈洁,等.铁皮石斛野生居群遗传多样性的RAPD分析与鉴别[J].药学学报,2005,40(11):1028~1032
- [15]徐宁.石斛中总生物碱的含量测定方法研究[J].基层中药杂志,2001,13(3):24
- [16]张明,陈仕江,李泉生,等.不同栽培条件下金钗石斛总生物碱含量比较[J].中药材,2001,24(10):707~708
- [17]李亚芳,张晓华,孙国明.石斛中总生物碱和多糖的含量测定[J].中国药事,2002,16(7):426~428
- [18]华茉莉,杨洋,沈志伟.气相色谱法测定金钗石斛药材中石斛碱的含量[J].中药材,2006,29(4):338~339
- [19]张蕾,刘舞霞,滕建昌.石斛属4种植物中滨蒿内酯的含量测定[J].中国野生植物资源,2001,20(5):45~46
- [20]杨虹,毕志明,项素云,等.不同采收期鼓槌石斛中酚类化合物的测定[J].中草药,2005,36(12):1885~1886
- [21]蒋秀梅,刘骅,张治国.铁皮石斛和金钗石斛的氨基酸分析[J].浙江省医学科学院学报,1999(39):26

(收稿日期:2006-11-07)