



毛菊苣药材不同部位主要活性成分含量

再娜布·吐合达洪¹, 仲婕², 信学雷², 阿吉艾克拜尔·艾萨^{2*}

(1. 新疆医科大学药学院, 新疆乌鲁木齐830054;

2. 中国科学院新疆理化技术研究所, 新疆乌鲁木齐830001)

[摘要] 目的:比较毛菊苣根、茎、种子3个部位中绿原酸、秦皮乙素、山萸苣素和山萸苣苦素的含量。方法:Inertsil ODS-SP 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流速1.0 mL · min⁻¹, 柱温32 ℃, 流动相甲醇-0.2% 甲酸, 0~40 min, 30%~70% 甲醇梯度洗脱, 进样量5 μL; 检测波长分别为256, 350, 299和229 nm。结果:绿原酸、秦皮乙素、山萸苣素和山萸苣苦素的回收率分别为98.2%, 99.57%, 100.50%和99.46%, 线性范围分别为0.97~97.2($r=1.000$), 2.2~88.0($r=0.9989$), 21.0~210.0($r=0.9998$), 和2.6~533.3 mg · L⁻¹($r=1.000$), RSD分别为1.6%, 1.5%, 0.77%, 2.0%。毛菊苣根山萸苣苦素和山萸苣素质量分数分别为0.6789, 0.7520 mg · g⁻¹, 而种子中的分别为0.2396, 0.0520 mg · g⁻¹, 种子中秦皮乙素、绿原酸的质量分数分别为0.0710, 0.1890 mg · g⁻¹, 而根中质量分数分别为0.0048, 0.0043 mg · g⁻¹。结论:本方法准确、快速、简便、重复性好, 为毛菊苣质量控制提供了依据。

[关键词] 毛菊苣; 绿原酸; 秦皮乙素; 山萸苣素; 山萸苣苦素; 含量比较; 高效液相色谱法

毛菊苣 *Cichorium glandulosum* Boiss. et Huet 为菊科菊苣属一年生草本植物, 在中国新疆及周边国家广泛分布^[1], 系我国维吾尔医常用药材, 全草入药, 味苦、性寒, 具有清肝利胆、健胃消食、利尿消肿功效; 用于湿热黄疸、胃痛食少、水肿尿少及肝炎、肾炎、肠炎、气管炎等疾病^[2]。

研究发现毛菊苣里含有的黄酮、倍半萜、香豆素、糖等活性成分^[3], 具有很强的生物活性和药用价值, 其中秦皮乙素等香豆素类成分, 山萸苣苦素, 山萸苣素等主要倍半萜类成分具有保肝作用、抗肿瘤、抗拒食、抗菌抗疟、抗病毒等作用^[4]。这些物质在药材中含量高, 专属性强, 有很高的活性, 因此, 制备这些成分的标准品对于该植物制剂的开发研究具有指导意义。本文对毛菊苣全草, 建立绿原酸、秦皮乙素、山萸苣素和山萸苣苦素同步分析的高效液相色谱(HPLC)方法, 比较了毛菊苣3种部位4种成分含量的差异, 并对其方法学进行了验证, 为以这些化合物

为基础的药物治疗及质量标准研究提供基础。

1 仪器和试剂

戴安高效液相色谱仪, 包括P680泵系统, UVD170U紫外检测器(4波长紫外检测器), ASI-100自动进样器和TCC-100柱温箱(Dionex, CAL. USA); Inertsil ODS-SP 色谱柱, (4.6 mm × 250 mm, 5 μm, GL Sciences, Tokyo, Japan); 旋转蒸发器(Buch, SHZ-D); 电子天平(SEJ180-4); 超声波清洗器(KQ-250B)。

毛菊苣药材2007年10月购买于新疆吉木萨尔县, 由中国科学院新疆生态与地理研究所张立运研究员鉴定, 标本(标本号051054, 051055)保存于中国科学院新疆理化技术研究所; 秦皮乙素(七叶内酯, 批号110741-200506, 中国药品生物制品检定所); 绿原酸(批号110753-200413, 中国药品生物制品检定所); 山萸苣苦素、山萸苣素对照品(自制, HPLC法检测纯度98%, ; 已通过UV, IR, MS, ¹H-NMR和¹³C-NMR波谱鉴定确定其结构); 甲醇、乙腈为色谱纯; 水为双蒸水; 其余试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Inertsil ODS-SP 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流速1.0 mL · min⁻¹, 柱温32 ℃, 流动相甲醇-0.2% 甲酸, 0~40 min, 30%~70% 甲醇梯度洗

[收稿日期] 2009-09-13

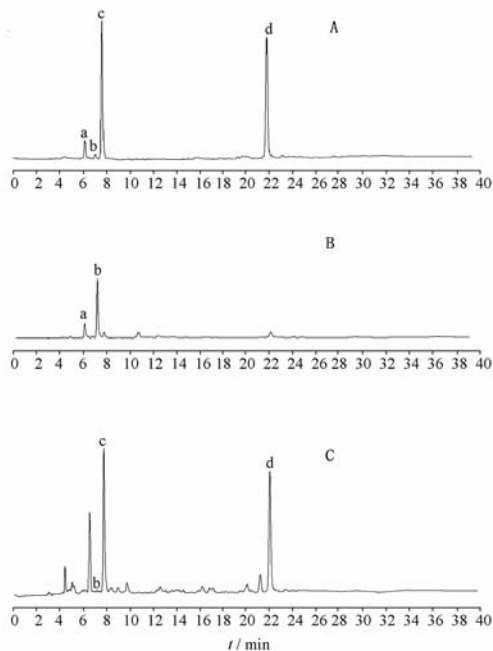
[基金项目] 国家科技支撑计划项目(2006BAI06A17-09); 新疆少数民族医药现代化基金项目(200733146-4); 中国科学院知识创新工程重要方向项目(KSCX2-YW-R-132)

[通信作者] * 阿吉艾克拜尔·艾萨, 研究员, 主要从事天然产物研究, Tel: (0991)3835679, E-mail: haji@ms.xjb.ac.cn

脱;进样量 5 μL ;检测波长分别为 256, 350, 299, 229 nm;山莴苣苦素,山莴苣素在 256 nm 下读取,秦皮乙素,绿原酸在 350 nm 下读取。目标峰与相邻峰的分离度见表 1,理论塔板数均不小于 3 000,色谱图见图 1。

表 1 绿原酸、秦皮乙素、山莴苣素、山莴苣苦素色谱适用性参数

成分	t_R/min	分离度	理论塔板数	拖尾因子
绿原酸	6.300	1.39	4 564	1.08
秦皮乙素	7.373	1.25	9 109	0.96
山莴苣素	7.900	1.88	12 373	1.05
莴苣苦素	22.467	3.71	58 930	1.05



A. 对照品(256 nm); B. 对照品(350 nm); C. 样品(256 nm);
a. 绿原酸; b. 秦皮乙素; c. 山莴苣素; d. 山莴苣苦素。

图 1 毛菊苣中 4 种成分测定 HPLC 图

表 2 4 种被测成分线性关系考察

成分	回归方程	r	线性范围/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	检测限/ ng
绿原酸	$Y=0.603X-0.2826$	1.000	0.97~97.2	1.62
秦皮乙素	$Y=0.2767X-0.4185$	0.9989	2.2~88.0	1.55
山莴苣素	$Y=0.1431X-1.4214$	0.9998	21.0~210.0	1.00
山莴苣苦素	$Y=0.0842X-0.2412$	1.000	2.6~533.3	1.43

2.7 稳定性试验 将对照品溶液在室温下贮存,分别与 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h 测定,结果绿原酸、秦皮乙

2.2 对照品溶液的制备 精密称取各对照品适量,加甲醇溶解,分别制成含绿原酸 $97.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、秦皮乙素 $88 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、山莴苣素 $210 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和山莴苣苦素 $533 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的贮备液。

2.3 供试品溶液的制备 分别取毛菊苣根和茎,粉碎,过筛(60 目),各取约 5 g,精密称定,加 100 mL 甲醇,回流提取 2 h,过滤,用甲醇适量洗涤药材残渣,合并滤液与洗液,减压蒸干,残渣用加甲醇溶解,定容至 10 mL,作为根和茎测定用供试品溶液。另取毛菊苣种子,粉碎,取约 5 g,精密称定,加 100 mL 甲醇,称重,超声提取 0.5 h,擦干瓶底,用甲醇补足减失的质量,作为种子测定供试品溶液。

2.4 线性关系考察 分别精密吸取 2.2 项下的绿原酸贮备液,用甲醇稀释成 0.972, 1.62, 3.24, 4.86, 6.48, 9.72, $97.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品溶液,分别进样 5 μL 。分别精密吸取的秦皮乙素贮备液,用甲醇稀释成 2.2, 4.4, 22, 44, $88 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品溶液,分别进样 5 μL 。分别精密吸取山莴苣素贮备液,用甲醇稀释成 21, 35, 70, 140, 175, $210 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 对照品溶液,分别进样 5 μL 。分别精密吸取山莴苣苦素贮备液,用甲醇稀释成 2.67, 26.67, 53.3, 80, 106.7, 133.7, 266.7, $533.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 对照品溶液,分别进样 5 μL 。以对照品溶液的浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,计算线性回归,见表 2。

2.5 精密度试验 分别精密吸取 5 μL 供试品溶液,连续进样 6 次,以相应色谱条件测定。绿原酸、秦皮乙素、山莴苣素和山莴苣苦素的峰面积的 RSD 均小于 2.0 %。

2.6 重复性试验 取同一批样品,照 2.3 项下方法,平行制备 6 份供试品溶液,分别进样测定,测得绿原酸、秦皮乙素、山莴苣素和山莴苣苦素含量 RSD 均小于 3.0 %。

素、山莴苣素和山莴苣苦素含量在 24 h 内 RSD 均小于 2.0 %。

2.8 加样回收率试验 取毛菊苣根 2.5 g,共 6 份,置圆底烧瓶中,各精密加入 $9.72 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 绿原酸 1.0 mL, $8.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 秦皮乙素 1.2 mL,210 $\text{mg} \cdot$

L^{-1} 山莴苣素 8 mL 和 $533 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 山莴苣苦素 3.5 mL,按照 2.2 项下制备方法制备,2.1 项下方法测定,结果见表 3。

表 3 4 种被测成分的加样回收率 ($n=6$)

成分	称样量/g	样品中量/mg	加入量/mg	测得量/mg	平均回收率/%	RSD/%
绿原酸	2.429 1	0.010 4	0.009 7	0.02 0	98.20	1.9
秦皮乙素	2.430 9	0.011 7	0.010 6	0.02 2	99.57	2.1
山莴苣素	2.485 3	1.687 3	1.680 0	3.375 7	100.5	2.0
山莴苣苦素	2.430 9	1.828 0	1.865 5	3.683 5	99.46	1.6

2.9 样品的测定 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 5 μL ,按 2.1 项下色谱条件测定,得样品色谱图,并记录绿原酸、秦皮乙素、山莴苣素、山莴苣苦素的峰面积,按外标法计算样品中对应化合物的含量,结果见图 1 和表 4。

表 4 毛菊苣药材中 4 个指标成分的质量分数

样品	$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$			
	绿原酸	秦皮乙素	山莴苣素	山莴苣苦素
毛菊苣根	0.004 3	0.004 8	0.678 9	0.752 0
毛菊苣茎	0.006 9	0.007 2	0.051 9	0.019 5
毛菊苣种子	0.189 0	0.071 0	0.239 6	0.052 0
毛菊苣种子	-	0.146 6 ¹⁾	-	-

注:样品皆为甲醇回流提取,¹⁾为超声提取。

3 讨论

本文采用高效液相色谱方法,比较了毛菊苣根、茎、种子部位 4 种成分含量的差异,结果发现,山莴苣苦素和山莴苣素在根中含量较高,而种子中秦皮乙素和绿原酸的含量较高。

绿原酸在 326 nm 有最大吸收峰;山莴苣素和山莴苣苦素的最高吸收在 256 nm 处;在紫外分光光度计上,于 200 ~ 500 nm 扫描,秦皮乙素在 350,229,299,257 nm 有吸收峰,其中在 350 nm 的吸收值比 257 nm 的吸收值高 2.2 倍,故本文选择 2 个波长分别读取 2 组化合物,即绿原酸和秦皮乙素在 350 nm 下读取,山莴苣素和山莴苣苦素在 256 nm 下读取,

操作方法简便、快捷,测定误差小,可以在普通双波长检测器的高效液相色谱仪上完成上述操作。

供试品溶液的制备采用热回流和超声提取方法,经比较发现热回流提取方法适合根和茎,提取物中山莴苣苦素和山莴苣素等倍半萜成分的含量较高;而针对种子,用热回流提取方法得到的秦皮乙素的含量较超声提取方法明显降低,这可能与种子的物态性质以及秦皮乙素易挥发的性质有关^[6]。另外,根和茎热回流提取后,如果再用醋酸乙酯萃取,所得的色谱图清晰,得到的谱图杂质少,分离效果好,主峰明显增高,但同时发现,在醋酸乙酯萃取过程中,倍半萜类成分有明显损失。

[参考文献]

- [1] 新疆植物编辑委员会. 新疆植物志[M]. 乌鲁木齐:新疆科技卫生出版社,1999:367.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 2000:254.
- [3] 于欣源,杨晓虹,周小平. 菊科植物化学成分及药理作用的研究进展[J]. 吉林大学学报:医学版,2005,31(1):159.
- [4] Ahmed B, Al-Howiriny T A, Siddiqui A B. Antihepatotoxic activity of seeds of cichoriumlntybus[J]. J Ethnopharmacol, 2003, 7(2):237.
- [5] 罗颢,刘晟,方鲁延,等. HPLC 测定菊苣药材中的有效成分[J]. 华西药理学杂志 2007, 22(6):671.
- [6] 盛萍,堵年生,古丽·斯坦,等. HPLC 法测定维吾尔药天山堇菜中七叶内酯的含量[J]. 新疆医科大学学报,2003,26(6):586.



Comparative studies in content of major active compositions in different parts of *Cichorium glandulosum*

ZAYNAP Tohtahon¹, ZHONG Jie², XIN Xuelei², HAJIAKBER-Aisa^{2*}

(1. College of Traditional Chinese Medical, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China;

2. Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Urumqi 830011, China)

[**Abstract**] **Objective:** The four major active compositions, namely esculetin, lactucin, lactucopicrin and chlorogenic acid in seed, stem and root of the *Cichorium glandulosum* Boiss. et Huet that planted in Xinjiang have been quantified by HPLC. **Method:** HPLC method was used, with Inertsil ODS-SP column(4.6 mm × 250 mm, 5 μm). The flow rate was 1.0 mL · min⁻¹. The column temperature was set at 32 °C. The mobile phase was methanol-0.2% formic acid, 0-40 min, methanol 30%-70% gradients. Injection volume was 5 μL. The detecting wavelength were 256, 350, 299 and 229 nm, respectively. **Result:** The percentage recoveries were 98.2%, 99.57%, 100.50%, and 99.46% for chlorogenic acid, esculetin, lactucin, and lactucopicrin, respectively. The correlation coefficients (*r*) were 1.000, 0.998 9, 0.999 8, 1.000 and RSD were 1.6%, 1.5%, 0.77%, 2.0% for chlorogenic acid, esculetin, lactucin, and lactucopicrin, respectively. The contents of the chlorogenic acid, esculetin, lactucin and lactucopicrin were 0.004 8, 0.004 3, 0.678 9, 0.752 0 mg · g⁻¹, respectively in the root, and 0.071 0, 0.189 0, 0.239 6 and 0.052 0 mg · g⁻¹ in the seeds of *C. glandulosum*, respectively. **Conclusion:** This method was sensitive, rapid and simple, with good linearity, recovery and reproducibility.

[**Key words**] *Cichorium glandulosum*; esculetin; lactucin; lactucopicrin; chlorogenic acid; quantitative compare; HPLC

doi: 10.4268/cjcm20100817

[责任编辑 王亚君]