

毛菊苣根-毛菊苣子配伍的化学成分研究

李茜¹, 杨建华^{1,2}, 臧薇¹, 王杨静楠¹, 胡君萍^{1*} (1.新疆医科大学药学院, 乌鲁木齐 830011; 2.新疆医科大学第一附属医院, 乌鲁木齐 830054)

摘要: 目的 通过对毛菊苣根与毛菊苣子配伍前后化学成分进行定量定性分析, 阐明二者配伍后化学成分变化。方法 对毛菊苣根、毛菊苣子以及毛菊苣根-毛菊苣子 3 种配比(1:2, 1:1, 2:1)的 5 个样品超声提取 30 min; 以菊苣酸为外标, 采用 HPLC 测定各样品中 18 种化学成分的相对含量, 并采用 UPLC-TQ-MS 分析化合物分子量信息、多级质谱裂解碎片的种类等信息, 对配伍前后的特征化学成分进行定性鉴定。结果 配伍前后样品中各化学成分的种类和含量变化较大, 提示配伍后化合物发生化学变化; 推测出样品中可能的 16 种化合物, 其中秦皮甲素、壬二酸和 5,8,3',4'-四羟基-7-甲氧基黄酮为毛菊苣根与毛菊苣子的共有成分, 菊苣酸和槲皮素-3-O-葡萄糖苷在配伍后消失, 绿原酸和秦皮乙素则是配伍后新出现的化合物。结论 毛菊苣根和毛菊苣子配伍使用后化学成分发生量变和质变, 为其配伍机制阐明奠定基础。

关键词: 毛菊苣; 根; 种子; 配伍; 化学成分

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2022)05-0584-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.05.002

引用本文: 李茜, 杨建华, 臧薇, 等. 毛菊苣根-毛菊苣子配伍的化学成分研究[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(5): 584-588.

Study on the Chemical Constituents of Compatibility of Root and Seed of *Cichorium Glandulosum*

LI Qian¹, YANG Jianhua^{1,2}, ZANG Wei¹, WANG Yangjingnan¹, HU Junping^{1*} (1.College of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China; 2.First Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To clarify the possible mechanism of the compatibility of the root and seed of *Cichorium glandulosum*. through quantitative and qualitative analysis of the chemical composition before and after compatible. **METHODS** Ultrasonic extraction method was used to extract 5 samples with the root of *Cichorium glandulosum*, the seeds of *Cichorium glandulosum*, and their three ratios(1:2, 1:1, 2:1) for 30 min. Using chicory acid as the external standard, the relative contents of 18 chemical components in each sample were determined by HPLC. By analyzing the molecular weight of the compounds and multistage mass spectrometry fragmentation information provided by UPLC-TQ-MS to identify the characteristic chemical components. **RESULTS** The types and contents of the chemical components in the samples were changed greatly before and after compatibility, suggesting that the structure of compounds changed after compatibility. Structures of 16 components in five samples were preliminarily speculated by MS spectra. Among them esculetin, azelaic acid and 5,8,3',4'-tetrahydroxy-7-methoxylatedflavones were the common components of root and seed of *Cichorium glandulosum*, chicory acid and quercetin-3-O-glucoside disappeared after compatibility, and chlorogenic acid and esculetin were new compounds after compatibility. **CONCLUSION** Quantitative and qualitative changes lays a foundation for clarifying compatibility mechanism of the root and seed of *Cichorium glandulosum*.

KEYWORDS: *Cichorium glandulosum*; root; seed; compatibility; chemical components

菊苣来源于菊科植物菊苣(*Cichorium intybus* L.)和毛菊苣(*Cichorium glandulosum* Boiss.et Hout.)的地上部分和根, 含有黄酮、香豆素、倍半萜、多糖及微量元素^[1-2], 有清肝利胆、健胃消食、利尿消肿之功效, 用于湿热黄疸、胃痛食少、水肿尿少等症^[3]。菊苣在欧洲等地栽培较多, 作为一种保健型蔬菜, 在国外备受关注^[4-6]。毛菊苣主产于中国新疆, 具有保肝、降血糖和降血脂等作用^[7]。不同于中国药典记载, 毛菊苣根和其种子都是新

疆地区的习用药材, 不同比例毛菊苣根及其种子的配伍常出现在传统医学经典处方中, 例如复方木尼孜其颗粒(1:1)、护肝布祖热颗粒(1:2)、炎消迪娜尔糖浆(2:1)等^[8], 采用一种植物的不同药用部位配伍使用的机制尚不明确。哈木拉提·哈斯木等^[9]探讨了不同配伍比例毛菊苣根-子对小鼠肝损伤的保护作用, 结果显示配伍后样品可有效保护小鼠肝功能和缓解肝病理变化。本课题组前期研究显示, 配伍后的毛菊苣根-子水提液和醇提液

基金项目: 国家自然科学基金项目(81860745); 新疆天然药物活性成分与释药技术重点实验室(XJDX1713)

作者简介: 李茜, 女, 硕士生 E-mail: 664671248@qq.com

*通信作者: 胡君萍, 女, 博士, 教授, 博导 E-mail: hjp-yft@163.com

均能诱导 HepG2 细胞凋亡,且作用强于单味药材,水提液的抑制活性强于醇提液^[10],但毛茛苣种子与根配伍的化学机制尚不明确。因此,本实验分别采用 HPLC 与 UPLC-TQ-MS 技术,探讨了毛茛苣根和毛茛苣子配伍前后化学成分变化,为阐明复方中两者配伍(根-子)的科学性提供物质基础。

1 仪器与试剂

UPLC-XEVOTQ-MS 超高效液相色谱-串联质谱仪(美国 Waters 公司);Alliance E2695 高效液相色谱仪(美国 Waters,包括自动进样器,Empower 色谱工作站等);A10-TOC 实验制水机(Milli-Q);KQ-300DE 数控超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司);TB-2015D 十万分之一电子天平(丹佛仪器有限公司);BSA224S 电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司);Multifuge XIR 台式低温高速离心机(Thermo Fisher 公司);Bond Elut C₁₈ 固相萃取小柱(500 mg, 6 mL, 美国 Agilent 公司)。

菊苣酸(成都曼斯特生物科技有限公司,批号: MUST-17031720;纯度≥99.33%)。质谱级甲醇、色谱纯甲醇(Fisher 公司);甲酸为色谱纯(美国 Waters,批号: W700002741-3);磷酸为分析纯(天津市致远化学试剂有限公司);水为实验室自制超纯水(Milli-Q 公司)。毛茛苣根于 2016 年 12 月 1 日购自新疆墨玉县中医院;毛茛苣种子于 2016 年 11 月 12 日购自新疆和田买提牙孜公司,品种由新疆医科大学药学院胡君萍教授鉴定为菊科植物毛茛苣(*Cichorium glandulosum* Boiss.et Huet.)的根和种子,凭证标本保存于新疆医科大学生药学标本室,药材粉碎,过 40 目筛备用。

2 方法与结果

2.1 HPLC 色谱条件

SunFire C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm);流动相为甲醇(A)-0.2%磷酸水溶液(B),梯度洗脱(0~2 min, 5%A; 2~20 min, 25%A; 20~25 min, 40%A; 25~55 min, 60%A; 55~60 min, 95%A);检测波长 254 nm,柱温 25 ℃,流速 1 mL·min⁻¹,进样体积 10 μL。

2.2 UPLC-TQ-MS 色谱、质谱条件

2.2.1 UPLC 色谱条件 Waters ACQUITY BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm),柱温 25 ℃,样品池温度 4 ℃,流速 0.2 mL·min⁻¹,流动相甲醇(A)-0.2%甲酸水溶液(B),梯度洗脱(0~1 min, 5%A; 1~22 min, 40%A; 22~36 min, 48%A; 36~40 min,

95%A),进样体积 5 μL。

2.2.2 质谱条件 电喷雾离子源(ESI),扫描方式负离子检测模式,检测方式 MS Scan Continuum 一级质谱,全扫描范围为 m/z 50~1 200,毛细管电压 2 kV,锥孔电压 50 V,离子源温度 150 ℃,脱溶剂温度 450 ℃,锥孔气流量 50 L·h⁻¹,脱溶剂气体流速 550 L·h⁻¹。

2.3 溶液的制备

2.3.1 对照品溶液的制备 精密称取菊苣酸对照品 0.56 mg 于 5 mL 量瓶中,加入少量甲醇使其溶解,再用甲醇定容至刻度,即得浓度为 0.112 mg·mL⁻¹的对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液的制备 精密称定毛茛苣根、毛茛苣种子以及根-子 3 种配比(1:2, 1:1, 2:1)药材各 1.5 g,置 50 mL 离心管中,加入超纯水 15 mL(固液比 1:10),盖好管盖,超声提取 30 min,冷却。在 10 000 r·min⁻¹下离心 10 min,取上清液纯化后过 0.22 μm 微孔滤膜,得供试品溶液。

2.4 线性关系考察

精密吸取菊苣酸对照品溶液各 0.15, 0.2, 0.4, 0.5, 0.6 mL 于 1 mL 量瓶中,加入甲醇定容至刻度,配制成浓度为 0.016 8, 0.022 4, 0.044 8, 0.056 0, 0.067 2 mg·mL⁻¹的菊苣酸对照品线性溶液,按“2.1”项下色谱条件进样 10 μL,记录峰面积。以对照品浓度(X)为横坐标,对照品峰面积(Y)为纵坐标,计算得到其回归方程 $Y=1\times10^7X-242\ 661$ ($r=0.999\ 5$),线性范围 0.168~0.672 μg。

2.5 仪器精密度试验

将“2.4”项下浓度为 0.044 8 mg·mL⁻¹的对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次,每次 10 μL,计算得菊苣酸含量的 RSD 为 0.06%,表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,取毛茛苣根样品按“2.1”项下色谱条件下分别于 0, 3, 6, 12, 24, 48 h 各测定 1 次,计算得菊苣酸含量的 RSD 为 1.13%,表明供试品溶液在 48 h 内稳定性。

2.7 重复性试验

按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,对毛茛苣根的 6 个平行试液按“2.1”项下色谱条件下进样分析,计算得菊苣酸含量的 RSD 为 1.32%,表明该方法的重复性良好。

2.8 样品相对含量测定

将“2.3.2”项下各供试品溶液按“2.1”项下色谱条件进样分析,测定并计算菊苣酸的含量与其他 17 个特征峰化合物的相对含量见表 1, HPLC 色谱图见图 1。

2.9 化学成分鉴定

采用 UPLC-TQ-MS 技术,通过分析 MS 提供的化合物分子量信息、多级质谱裂解碎片种类以及相对丰度等信息,结合文献报道^[11],分析推断毛菊苣根、毛菊苣子、毛菊苣根-子(1:2, 1:1, 2:1) 5 个样品中所含成分的可能结构,各样品总离子流图见图 2, 结果见表 2。

结果表明各样品中所含成分较为复杂,毛菊苣根中初步鉴定出 12 种化合物,毛菊苣子中 5 种,其中 5,8,3',4'-四羟基-7-甲氧基黄酮(8.57 min)、秦皮甲素(17.82 min)和壬二酸(24.53 min)为两者的共有成分。

表 1 毛菊苣样品中特征峰的相对含量

Tab. 1 Relative contents of characteristic peaks in *Cichorium glandulosum* samples

峰号	t_R /min	根	种子	根-子 (1:2)	根-子 (1:1)	根-子 (2:1)
1	3.11	—	0.676 0	0.144 9	0.121 9	0.079 2
2	5.12	0.503 4	1.014 4	0.495 4	0.443 7	0.367 2
3	5.93	0.348 3	0.620 4	0.728 3	0.595 6	0.479 9
4	6.64	—	0.509 1	0.538 5	0.401 0	0.282 9
5	7.79	—	0.301 9	0.182 0	0.135 7	0.093 1
6	8.10	—	0.224 8	0.159 0	0.110 4	0.067 9
7	15.97	0.325 7	—	0.261 9	0.231 7	0.202 3
8	21.79	0.206 8	—	0.080 6	0.098 3	0.100 6
9	24.16	0.199 6	—	—	0.066 2	0.064 8
10	25.39	—	0.325 0	0.220 6	0.169 7	0.115 7
11	31.26	0.838 1	—	—	—	—
12	32.13	—	0.065 1	—	—	—
13	33.49	0.211 0	—	0.188 8	0.183 4	0.173 7
14	34.90	0.177 8	—	—	—	—
15	35.54	1.439 1	—	0.084 6	0.151 9	0.178 9
16	36.44	0.216 1	—	—	—	—
17	38.22	0.242 7	—	—	—	—
18	45.41	1.539 4	0.137 2	0.620 7	0.559 2	0.725 9
总含量		6.248 0	3.874 0	3.705 4	3.268 8	2.932 1

注: 11-菊苣酸; “—”: 未检出。

Note: 11- chicory acid; “—”: not detected.

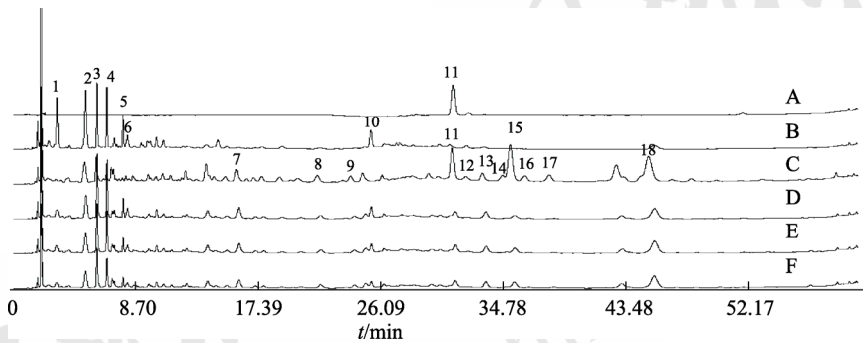


图 1 高效液相色谱图

A-菊苣酸对照品; B-毛菊苣子; C-毛菊苣根; D-毛菊苣根-子(1:1); E-毛菊苣根-子(1:2); F-毛菊苣根-子(2:1); 1~18-特征峰。

Fig. 1 HPLC chromatograms

A-reference of substance chicory acid; B-seed of *Cichorium glandulosum*; C-root of *Cichorium glandulosum*; D-root-seed(1:1); E-root-seed(1:2); F-root-seed(2:1); 1-18-characteristic peaks.

表 2 UPLC-ESI-MS 法毛菊苣样品特征峰确认

Tab. 2 Identification of characteristic components in *Cichorium glandulosum* samples by UPLC-ESI-MS

峰号	t_R /min	[M-H] ⁻	质谱碎片离子	成分归属	根	种子	根-子(1:2)	根-子(1:1)	根-子(2:1)
1	2.87	179.90	164.0, 126.1, 85.0	咖啡酸	—	+	+	+	+
2	8.57	315.00	254.9, 174.7, 153.2	5,8,3',4'-四羟基-7-甲氧基黄酮	+	+	+	+	+
3	11.24	353.02	337.2, 179.8, 191.1	绿原酸	—	—	+	+	+
4	11.51	177.00	141.0, 96.6, 68.6	秦皮乙素	—	—	—	—	+
5	11.91	359.16	324.8, 162.8, 121.0	蔗糖	+	—	+	+	+
6	13.30	442.23	365.4, 145.8, 178.9	表儿茶素没食子酸酯	+	—	—	+	+
7	15.30	467.97	409.1, 362.1, 343.0	baurenyl acetate	+	—	—	—	+
8	17.66	473.08	311.0, 148.9, 339.1	菊苣酸	+	—	—	—	—
9	17.82	339.01	332.0, 232.7, 176.8	秦皮甲素	+	+	+	+	+
10	21.52	477.22	301.0, 192.8, 186.8	异鼠李素-3-O-葡萄糖苷	+	—	+	+	+
11	21.62	193.08	152.6, 112.7, 61.9	咖啡因	+	—	+	+	+
12	21.77	515.03	463.1, 353.0, 191.0	异绿原酸	+	—	+	+	+
13	21.88	462.86	429.2, 200.9, 304.7	槲皮素-3-O-葡萄糖苷	+	—	—	—	—
14	22.93	307.13	261.1, 218.8, 186.8	旋覆花素	+	—	—	+	+
15	23.08	576.37	404.9, 226.0, 145.1	胡萝卜苷	—	+	+	+	—
16	24.53	186.94	124.9, 97.1, 61.7	壬二酸	+	+	+	+	—

注: “+”: 检出; “—”: 未检出。

Note: “+”: detected; “—”: not detected.

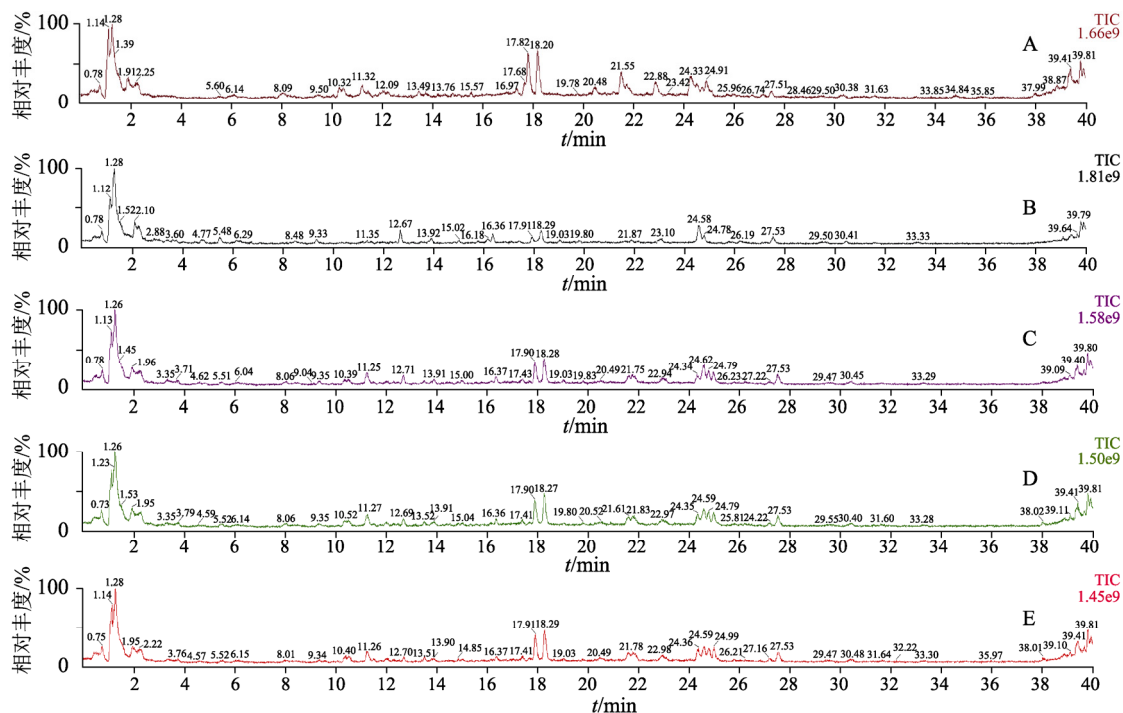


图2 各样品总离子流图

A-毛菊苣根; B-毛菊苣子; C-毛菊苣根-子(1 : 1); D-毛菊苣根-子(1 : 2); E-毛菊苣根-子(2 : 1)。

Fig. 2 Total ionic currents of samples

A-seed of *Cichorium glandulosum*; B-root of *Cichorium glandulosum*; C-root-seed(1 : 1); D-root-seed(1 : 2); E-root-seed(2 : 1).

配伍样品中未检出菊苣酸(17.66 min), 但在 2.87 min 检出了咖啡酸, 根据结构推测菊苣酸发生结构改变, 水解成为咖啡酸; 绿原酸(11.24 min)和秦皮乙素(11.51 min)则是配伍后新出现的化合

物, 进一步分析发现, 5 个样品中均存在秦皮甲素(17.82 min), 毛菊苣根及配伍样品鉴定出异绿原酸(21.77 min), 据此, 推测相关化合物结构变化主要是发生酯键与苷键的断裂, 见图 3。

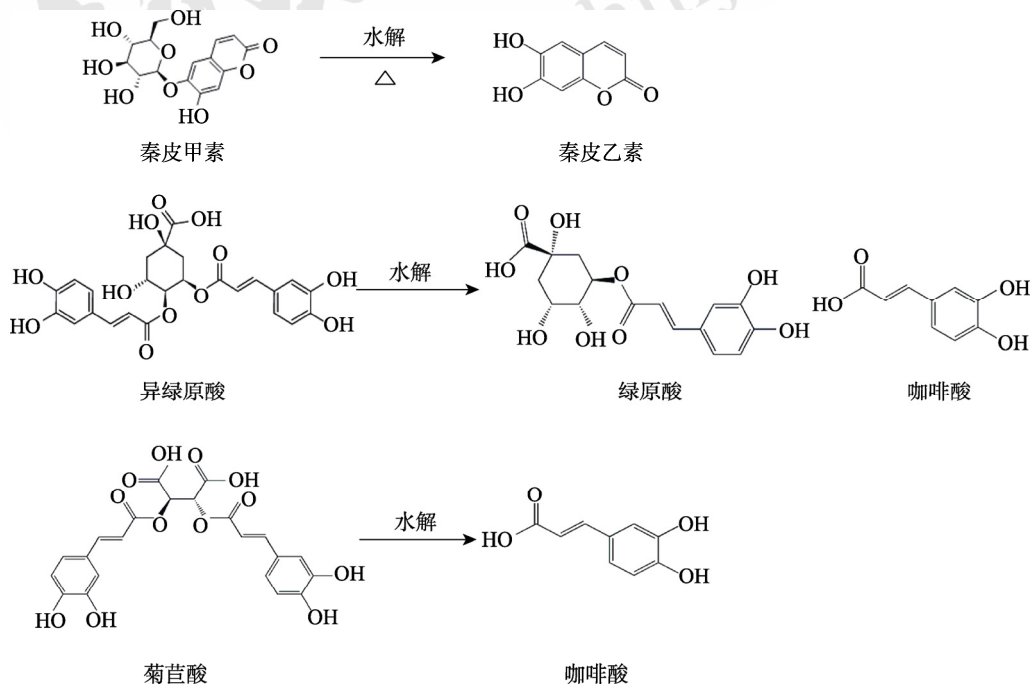


图3 化合物结构转化

Fig. 3 Structure transformations of chemical components

3 讨论

中国药典 2020 年版中未记载毛菊苣种子作为药用,而在新疆地区常常将毛菊苣根和毛菊苣子配伍使用,本实验对其配伍机制进行了初步研究。结合前期药效学实验结果,本实验考察了不同溶剂(水、乙醇)对提取率的影响,发现以水为提取溶剂提取率较佳,且符合传统方剂制备的要求。进一步考察了不同提取方式(超声、加热回流、煎煮)和提取时间(15, 30, 45 min)对提取率的影响,最终确定以水为溶剂超声提取 30 min 作为供试品溶液制备方法。

为探明配伍前后各样品化学成分的变化情况,实验采用 HPLC 一测多评法进行含量测定,以菊苣酸为指标成分,测定并计算了 18 个化学成分的相对含量,此方法不仅大大降低检测成本,而且可以确定未知成分的相对含量^[12-13]。结合 MS 结果,发现绿原酸和秦皮乙素是在毛菊苣根和子配伍后新出现的化合物,其中绿原酸可能是由异绿原酸酯键水解产生,秦皮乙素可能是秦皮甲素苷键水解产生;菊苣酸在毛菊苣根样品中检出,其他样品中未检出,可能是菊苣酸结构中的酯键不稳定发生水解反应,生成咖啡酸;槲皮素-3-O-葡萄糖苷只在毛菊苣根中检出,配伍样品中未检出,推测该化合物可能发生苷键水解而消失。以上情况表明,毛菊苣根和子配伍后化学成分的变化不是单个化学成分的简单相加,配伍过程中会发生复杂的物理、化学变化,可能使有效成分的溶出率升高或降低,也可能产生新的化学成分^[14]。配伍前后样品中化学成分变化的具体机制有待结合药效学实验进一步阐明。

REFERENCES

- [1] 热阳古·阿布拉,热比古丽·依敏,木尼热·阿不都克里木.维吾尔药材菊苣不同器官总黄酮含量的对比研究[J].喀什大学学报,2017,38(3): 48-50.
- [2] FAN H, CHEN J, LIANG C Y, et al. Advance in studies on chemical constituents of *Cichorii Herba* and their pharmacological effects[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2016, 47(4): 680-688.
- [3] 中国药典. 一部[S]. 2020: 323.

- [4] LIN Z J, WANG Y, GUO F F, et al. Analysis of CiteSpace knowledge map for *Cichorium intybus*[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2020,45(18):4490-4499.
- [5] CARAZZONE C, MASCHERPA D, GAZZANI G, et al. Identification of phenolic constituents in red chicory salads (*Cichorium intybus*) by high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionisation tandem mass spectrometry[J]. Food Chem, 2013, 138(2/3): 1062-1071.
- [6] WEI F F, FURIHATA K, ZHANG M M, et al. Use of NMR-based metabolomics to chemically characterize the roasting process of chicory root[J]. J Agric Food Chem, 2016, 64(33): 6459-6465.
- [7] YANG Q L, LIU Y, SHI Y Z, et al. Acute toxicity research of *Cichorium glandulosum* aqueous extracts and it's protective effect on acute liver injury mice[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2017, 34(7): 957-963.
- [8] YANG F, LUO Y Q, XUE G P, et al. Protective effects and mechanism of 90% ethanol extract of different roots and seeds compatibility proportion of *Cichorium glandulosum* on acute liver injuries in mice[J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2015, 35(15): 1352-1356.
- [9] HAMULATI-HASIMU, XU L, PAYIMAN-HAIMITI, et al. Protective effects of ethanol extracts in different proportion of roots and seeds from *Cichorium glandulosum* Boiss. et Huet against acute liver injury in mice[J]. Northwest Pharm J(西北药学杂志), 2015, 30(6): 705-709.
- [10] ZANG W, WANG Y J N, LI Q, et al. Study on anti-hepatoma activity of different ratio seed-root compatibility of *Cichorium glandulosum*[J]. Northwest Pharm J(西北药学杂志), 2020, 35(3): 372-377.
- [11] ZHU C S, LIN Z J, ZHANG B, et al. Qualitative and quantitative analysis of chicory root by LC/MS and HPLC[J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med(北京中医药大学学报), 2016, 39(3): 247-251.
- [12] ZHANG Q Y, ZHANG N, ZHANG C L, et al. Content determination of chlorogenic acid in traditional Chinese medicine and their preparations by quantitative analysis of multi-components by single marker[J]. China Med Herald(中国医药导报), 2020, 17(25): 10-14.
- [13] GUO H J, QIN J P, LIU W, et al. Simultaneous determination of ten constituents in Chuanhuang Tablets and Chuanhuang Capsules by QAMS[J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2020, 42(7): 1702-1709.
- [14] 庞婷,麦蓝尹,陈勇,等. 中药药对配伍的化学成分变化研究进展[J]. 中药材, 2015, 38(11): 2429-2434.

收稿日期: 2021-05-19

(本文责编: 曹粤锋)