

菊非药用部位化学成分分布及其动态积累研究

朱琳^{1,2}, 郭建明², 杨念云², 钱大玮², 聂慧^{1,2}, 宿树兰², 欧阳臻¹, 段金廛^{1,2*}

1. 江苏大学药学院, 江苏 镇江 212013

2. 南京中医药大学 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心/中药资源产业化与方剂创新药物国家地方联合工程研究中心, 江苏 南京 210023

摘要: 目的 对菊科药用植物菊 *Chrysanthemum morifolium* 非药用部位化学成分分布和动态积累进行分析评价, 为该药用生物资源的综合利用提供科学依据。方法 分别采用超高效液相-三重四级杆质谱联用仪 (UPLC-TQ/MS)、紫外可见分光光度法 (UV)、超高效液相-二极管阵列检测器 (UPLC-DAD), 测定不同生长期菊根、茎、叶中氨基酸类、核苷类、黄酮类及有机酸类成分的量。结果 氨基酸类成分分析结果表明, 菊的根、茎、叶中检测到 13 种氨基酸, 总氨基酸的量分布顺序为: 根>叶>茎; 核苷类成分分析结果表明, 菊叶中检测到 4 种核苷, 茎和根中分别检测到 2 种核苷, 总核苷的量分布顺序为: 叶>根>茎; 黄酮类成分分析结果表明, 总黄酮类成分的量分布顺序为: 叶>根>茎, 其中叶片所含黄酮类成分量为 9.94%~18.66%, 根中质量分数为 5.88%~8.02%, 茎中质量分数为 3.98%~5.41%; 有机酸类成分分析表明, 总有机酸的质量分数分布顺序为: 叶>根>茎, 叶中质量分数为 2.44%~4.94%, 根中质量分数为 1.89%~2.64%, 茎中质量分数为 1.20%~1.48%。不同生长期菊根、茎、叶中黄酮类和有机酸类成分量发生动态变化, 在菊花采摘后达到高峰。结论 菊非药用部位尤其是叶中含有丰富的资源性化学成分, 且在采摘花序后为资源丰产期。该研究结果为菊花采收后废弃物的资源化利用提供了有益的借鉴。

关键词: 菊; 非药用部位; 资源性化学成分; 资源化利用; UPLC-TQ/MS

中图分类号: R286.022 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)03-0425-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.03.0023

Distribution and dynamic changes of chemical constituents from non-medical parts of *Chrysanthemum morifolium*

ZHU Lin^{1,2}, GUO Jian-ming², YANG Nian-yun², QIAN Da-wei², NIE Hui^{1,2}, SU Shu-lan², OUYANG Zhen¹, DUAN Jin-ao^{1,2}

1. School of Pharmacy, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China

2. Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, and National and Local Collaborative Engineering Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization and Formulae Innovative Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

Abstract: Objective To analyze and evaluate the distribution and dynamic changes of chemical constituents from non-medical parts of *Chrysanthemum morifolium*, and to provide the scientific basis for the comprehensive utilization of this medicinal biological resources. **Methods** Ultra-high performance liquid chromatography combined with triple quadrupole electrospray tandem mass spectrometry (UPLC-TQ/MS) was applied for detecting the contents of amino acids and nucleosides, UV spectrophotometry (UV) was used for determining flavones, and ultra-high performance liquid chromatography along with a diode array detector (UPLC-DAD) was used for analyzing flavones and organic acids in the roots, stems, and leaves of *C. morifolium* in different growing periods, respectively. **Results** There are 13 kinds of amino acids in the roots, stems, and leaves, total amino acid content ranges of roots > leaves > stems; there were four kinds of nucleosides in the leaves while only two kinds were detected in both roots and stems. Total nucleoside content ranges of leaves > roots > stems; content ranges of flavones in the leaves, roots and stems were 9.94%—18.66% in the leaves; 5.88%—8.02% in roots, and 3.98%—5.41% in the stems, respectively. Content ranges of organic acids in leaves, roots, and stems were 2.44%—4.94% in the leaves, 1.89%—2.64% in the roots, and 1.20%—1.48% in the stems, respectively. The content changes of flavones and organic acids were the highest after the flowers were picked with growing. **Conclusion** There is abundant resources of chemical constituents in non-medical parts of

收稿日期: 2013-10-27

基金项目: 江苏高校中药资源产业化过程协同创新中心建设项目 (2013)

作者简介: 朱琳 (1990—), 女, 在读硕士研究生, 主要从事中药资源化学研究。E-mail: zhulin900627@163.com

*通信作者 段金廛, 教授, 主要从事中药资源化学与方剂功效物质基础研究。Tel: (025)85811116 E-mail: dja@njutcm.edu.cn

网络出版时间: 2014-01-08 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.7501/j.issn.0253-2670.2014.03.html>

C. morifolium, especially in the leaves, and it reached the highest resource yield after picking the inflorescence. This research result has provided the beneficial reference for the resource utilization of abandoned parts of *C. morifolium* after picking the inflorescence.

Key words: *Chrysanthemum morifolium* Ramat.; non-medicinal parts; resources chemical constituents; resources utilization; UPLC-TQ/MS

菊花系菊科植物菊 *Chrysanthemum morifolium* Ramat. 的干燥头状花序, 为常用中药, 同时又被广泛用于保健茶饮。具有散风清热、平肝明目、清热解毒等功效^[1]。目前对菊的研究和利用主要集中在花序上, 对其非药用部位根、茎、叶的研究和资源化利用较少。然而, 在采摘菊花的同时, 每年都会有大量的菊根、茎、叶被丢弃或焚烧, 不仅造成了极大的资源浪费, 还对环境造成污染。前期研究发现^[2-4], 在菊非药用部位中仍含有大量的黄酮与有机酸类等资源性成分, 这些成分具有一定的生物活性。本实验通过对菊根、茎、叶等非药用部位中的各类资源性化学成分的分析研究, 了解其在不同组织器官中的分布及其在不同生长期的动态积累规律, 为我国菊花资源产业实现经济、环境、社会效益协同发展提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

ACQUITY UPLC 系统 (二元高压泵, 自动进样器, 柱温箱, 二极管阵列检测器, Waters 公司); XevoTQ 质谱系统 (Waters 公司); MassLynxTM 质谱工作站 (Waters 公司); UV-2000 紫外-可见分光光度计 (北京莱伯泰科仪器有限公司); Sartorius BT125D 电子分析天平 (德国塞利多斯公司); EPED 超纯水系统 (南京易普达易科技发展有限公司); KQ-250E 型超声波清洗器 (昆山禾创超声仪器有限公司); Anke GL-16GII 型离心机 (上海安亭科学仪器厂)。

1.2 材料

绿原酸对照品 (批号 L-007-120126), 隐绿原酸对照品 (批号 Y-067-120101), 1, 5-*O*-二咖啡酰奎宁酸对照品 (批号 111228), 异绿原酸 A 对照品 (批号 Y-068-111209), 异绿原酸 B 对照品 (批号 Y-069-120229), 木犀草苷对照品 (批号 M-025-120622), 香叶木素 7-*O*- β -D-葡萄糖苷对照品 (批号 X-033-120227) 均购自北京博研科创生物技术有限公司, 质量分数均大于 98%。芦丁对照品 (批号 100080-200707)、鸟嘌呤 (Gua, 140631-200904)、腺嘌呤 (Ade, 886-200001) 和葡萄糖 (Glc, 0833-9501) 购自中国食品药品生物制

品检定研究院, 供测定用; 胞苷 (Cytid, 0001446223)、2-脱氧胞苷 (2'B, 1000851526)、 γ -氨基丁酸 (GABA)、亮氨酸 (Leu)、苯丙氨酸 (Phe)、色氨酸 (Trp)、丙氨酸 (Ala)、苏氨酸 (Thr)、谷氨酰胺 (Gln)、谷氨酸 (Glu)、脯氨酸 (Pro)、缬氨酸 (Val)、酪氨酸 (Tyr)、组氨酸 (His)、精氨酸 (Arg) 均购自 Sigma 公司, 其质量分数经 HPLC 检测均大于 98%; 乙腈 (德国默克公司) 为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

菊根、茎、叶药材由白菊花主产区江苏射阳洋马镇引种于南京中医药大学药用植物园, 经南京中医药大学段金廛教授鉴定为白菊花栽培类型中的大白菊 *C. morifolium* Ramat. cv. *dabaiju*。采摘日期分别为 2012 年 9 月 27 日 (现蕾)、10 月 8 日 (中蕾)、10 月 20 日 (大蕾)、10 月 28 日 (初花期)、11 月 5 日 (开花期)、11 月 15 日 (盛花期)、11 月 27 日 (末花期)。各批样品均经同一条件干燥处理: 采收后分根、茎、叶 3 部位, 分别置烘箱中 60 °C 烘干, 粉碎, 置干燥器中备用。

2 方法与结果

2.1 氨基酸类化学成分分析

2.1.1 色谱条件 色谱柱: ACQUITY UPLC BEH Amide 色谱柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μ m)。流动相: 含 5 mmol/L 甲酸胺、5 mmol/L 乙酸胺和 0.2% 甲酸水溶液 (A) 和含 1 mmol/L 甲酸胺、1 mmol/L 乙酸胺和 0.2% 甲酸乙腈溶液 (B), 梯度洗脱 (0~6 min, 15%~20% A; 6~10 min, 20%~30% A; 10~11 min, 30%~46% A)。体积流量 0.4 mL/min, 柱温 35 °C。

2.1.2 质谱检测条件 离子化模式: ESI⁺; 检测方式: 多反应检测 (MRM); 毛细管电压: 3.0 kV; 离子源温度: 150 °C; 脱溶剂气温度: 550 °C; 脱溶剂气流量: 1 000 L/h; 锥孔气流量: 50 L/h; 碰撞气流量: 0.15 mL/min。

2.1.3 对照品溶液的制备 精密称取各氨基酸对照品适量, 加水制成混合对照品储备液。各储备液的质量浓度分别为: GABA, 26.40 μ g/mL; Leu, 21.20 μ g/mL; Phe, 15.20 μ g/mL; Trp, 20.80 μ g/mL; Ala, 22.40 μ g/mL; Thr, 22.00 μ g/mL; Gln, 16.80 μ g/mL; Glu, 27.60 μ g/mL; Pro, 26.40 μ g/mL; Val, 15.20

μg/mL; Tyr, 9.20 μg/mL; Hit, 27.60 μg/mL; Arg, 15.60 μg/mL。取不同体积的上述储备液加水稀释后, 制成不同浓度的混合对照品溶液。

2.1.4 供试品溶液的制备 取样品粉末约 0.5 g, 精密称定, 置于 100 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入 40 mL 水, 密塞, 称质量, 静置 30 min 后, 室温超声处理 30 min, 放冷, 补足减失质量, 摇匀, 溶液离心 10 min (13 000 r/min), 取上清液经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液即得。同时测定样品含水量。

2.1.5 标准曲线的制备 取不同浓度的对照品溶液, 按照“2.1.1”项的色谱条件, 于 UPLC 仪中测定, 各成分线性范围分别为: GABA, 0.26~26.40 μg/mL; Leu, 0.21~21.20 μg/mL; Phe, 0.15~15.20 μg/mL; Trp, 0.21~20.80 μg/mL; Ala, 0.22~22.40 μg/mL; Thr, 0.22~22.00 μg/mL; Gln, 0.17~16.80 μg/mL; Glu, 0.28~27.60 μg/mL; Pro, 0.26~26.40 μg/mL; Val, 0.15~15.20 μg/mL; Tyr, 0.09~9.20 μg/mL; Hit, 0.28~27.60 μg/mL; Arg, 0.16~15.60 μg/mL。

2.1.6 样品测定 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 1 μL, 注入 UPLC 仪测定, 总氨基酸量为各氨基酸量之和。结果见表 1。

2.2 核苷类化学成分分析

2.2.1 色谱条件 色谱柱: ACQUITY UPLC BEH Amide 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)。流动相为 10 mmol/L 乙酸胺和 0.8% 醋酸的水溶液 (A)-0.05% 醋酸乙腈溶液 (B), 梯度洗脱 (0~6 min, 10% A; 6~8 min, 10%~40% A; 8~9 min, 40% A; 9~11 min, 40%~50% A)。体积流量 0.4 mL/min, 柱温 35 ℃。

2.2.2 质谱检测条件 参照“2.1.2”项。

2.2.3 对照品溶液的制备 精密称取各核苷对照品适量, 加 10% 甲醇制成混合对照品储备液。各储备

液的浓度分别为 Gua, 17.80 μg/mL; Ade, 12.30 μg/mL; Cytd, 13.90 μg/mL; 2'B, 10.00 μg/mL。取不同体积的上述储备液加 10% 甲醇稀释后, 制成不同质量浓度的混合对照品溶液。

2.2.4 供试品溶液的制备 参照“2.1.4”项。

2.2.5 标准曲线的建立 取不同浓度的对照品溶液, 按照“2.2.1”项的色谱条件, 于 UPLC 仪中测定, 记录峰面积, 以峰面积积分为纵坐标 (Y), 对照品质量浓度为横坐标 (X) 计算标准曲线回归方程, Gua: $Y=3.31 \times 10^5 X+1.76 \times 10^4$, 线性范围 0.18~17.80 μg/mL, $R^2=0.999\ 5$; Ade: $Y=4.29 \times 10^5 X-9.26 \times 10^4$, 线性范围 0.12~12.30 μg/mL, $R^2=0.999\ 7$; Cytd: $Y=6.94 \times 10^5 X-6.69 \times 10^4$, 线性范围 0.14~13.90 μg/mL, $R^2=0.999\ 2$; 2'B: $Y=4.08 \times 10^5 X-1.02 \times 10^4$, 线性范围 0.10~10.00 μg/mL, $R^2=0.999\ 4$ 。

2.2.6 样品测定 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 1 μL, 注入 UPLC 仪测定, 总核苷量为各核苷量之和。结果见表 2。

2.3 氨基酸类、核苷类成分分析结果

在菊根、茎、叶中均检测出 13 种氨基酸, 叶中 GABA 量最高, 茎中 L-Hit 量最高, 根中 Arg 量最高; 在菊叶中检测到 4 种核苷, 茎和根中分别检测到 2 种核苷。

由表 1 和 2 可看出, 总氨基酸的量分布顺序为根>叶>茎; 总核苷的量分布顺序为叶>根>茎; 菊根、茎、叶中氨基酸类和核苷类在不同生长期质量分数有所差异, 但无明显变化。

2.4 黄酮类及有机酸类成分分析

2.4.1 总黄酮类成分分析

(1)对照品溶液的制备:精密称取芦丁对照品 3.68 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 即得 0.368 mg/mL 芦丁的对照品溶液。

表 1 不同采收期菊的根、茎、叶中总氨基酸的量 (n=3)

Table 1 Contents of total amino acids from roots, stems, and leaves of *C. morifolium* in different harvest periods (n=3)

采收日期	质量分数 / %		
	叶	茎	根
09-27	0.230 0	0.095 0	0.360 0
10-08	0.250 0	0.170 0	0.680 0
10-20	0.200 0	0.097 0	0.690 0
10-28	0.180 0	0.077 0	0.510 0
11-05	0.250 0	0.091 0	0.530 0
11-15	0.210 0	0.110 0	0.380 0
11-27	0.260 0	0.084 0	0.590 0

表2 菊不同采收期根、茎、叶中总核苷的量 ($n=3$)Table 2 Contents of nucleosides from roots, stems, and leaves of *C. morifolium* in different harvest periods ($n=3$)

采收日期	质量分数 / %		
	叶	茎	根
09-27	0.037 0	0.003 0	0.004 4
10-08	0.024 0	0.003 2	0.004 2
10-20	0.032 0	0.002 9	0.004 9
10-28	0.031 0	0.002 6	0.004 4
11-05	0.033 0	0.003 6	0.003 4
11-15	0.031 0	0.003 8	0.003 5
11-27	0.031 0	0.003 8	0.005 1

(2) 供试品溶液的制备: 取样品粉末约 0.25 g, 精密称定, 置 100 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入 80% 甲醇 50 mL, 密塞, 称质量, 静置 30 min, 室温超声处理 20 min, 放冷, 补足减失质量, 摇匀, 溶液离心 10 min (13 000 r/min), 取上清液即得。同时测定样品含水量。

(3) 标准曲线的建立: 精密量取芦丁对照品溶液 0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 各加水至 2 mL, 摇匀, 加 5% 亚硝酸钠溶液 1 mL, 使混匀, 放置 6 min, 加 10% 硝酸铝溶液 1 mL, 摇匀, 放置 6 min, 加氢氧化钠试液 5 mL, 再加水至刻度, 摇匀, 放置 15 min, 以相应试剂为空白, 在 510 nm 处测定吸光度, 以吸光度为纵坐标 (Y), 芦丁的质量浓度为横坐标 (X), 得标准曲线回归方程: $Y=1.25 X-0.000 7$, 线性范围为

0.147 2~0.736 0 mg/mL ($R^2=0.996 1$)。

(4) 样品测定: 取各供试品溶液 0.5 mL, 按照以上方法测定总黄酮量。

2.4.2 2 种黄酮类成分及 5 种有机酸类成分分析对菊根、茎、叶不同生长期绿原酸、隐绿原酸、1, 5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、木犀草苷、香叶木素 7-*O*- β -D 葡萄糖苷资源性化学成分进行了分析。

(1) 色谱条件: Acquity UPLC BEH C_{18} 色谱柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μ m)。流动相为乙腈(A)-0.5% 醋酸水溶液(B), 梯度洗脱 0~3 min, 7%~10% A; 3~4 min, 10%~16% A; 4~6 min, 16% A; 6~7 min, 16%~15% A; 7~8 min, 15%~20% A; 8~10 min, 20% A; 10~13 min, 20%~100% A。体积流量 0.4 mL/min, 柱温 30 $^{\circ}$ C, 检测波长 326 nm。色谱图见图 1。

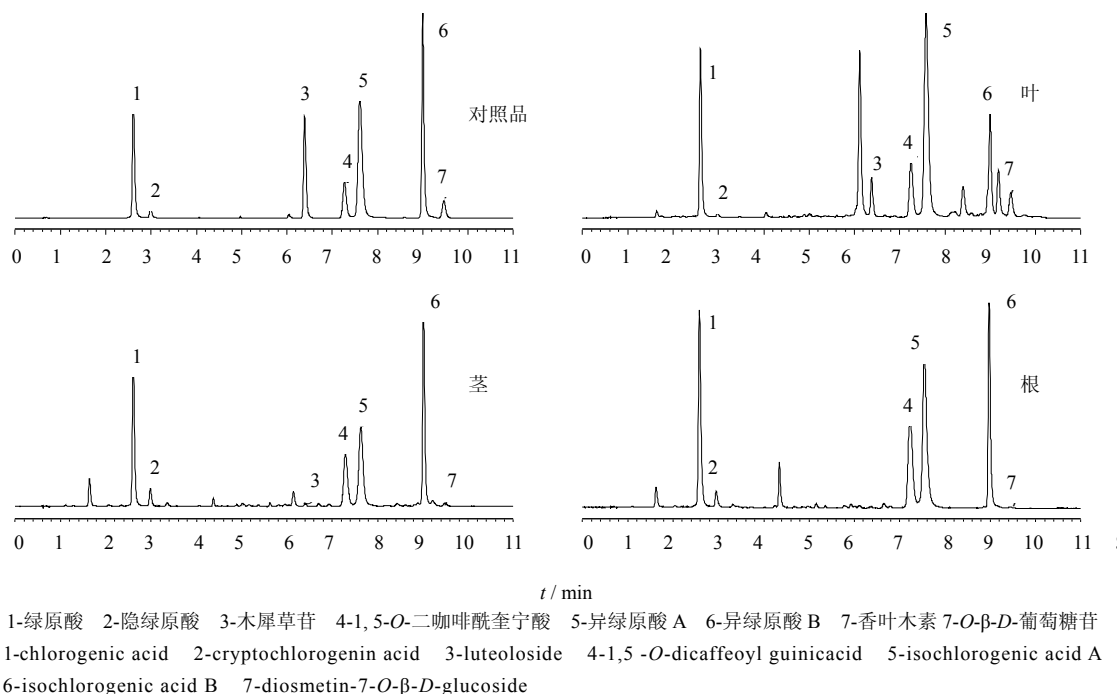


图1 对照品与样品的 UPLC-UV 色谱图

Fig. 1 UPLC-UV of reference substances and samples

(2) 供试品溶液的制备: 取样品粉末约 0.25 g, 精密称定, 置 100 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入 80% 甲醇 50 mL, 密塞, 称定质量, 静置 30 min, 室温超声处理 20 min, 放冷, 补足减失质量, 摇匀, 溶液离心 10 min (13 000 r/min), 取上清液经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液即得。同时测定样品含水量。

(3) 对照品溶液的制备: 精密称取各对照品适量, 加 80% 甲醇溶解配成每 1 mL 含绿原酸 50.0 μg ,

隐绿原酸 9.20 μg , 1, 5-*O*-二咖啡酰奎宁酸 32.7 μg , 异绿原酸 A 121 μg , 异绿原酸 B 100 μg , 木犀草苷 101 μg , 香叶木素 7-*O*- β -D-葡萄糖苷 22.2 μg 的混合对照品储备液。

(4) 标准曲线的建立: 将混合对照品储备液用 80% 甲醇稀释不同的倍数, 分别按照“2.4.2 (1)”项的色谱条件, 于 UPLC 仪中进样 1 μL 。以质量浓度为横坐标(X), 峰面积积分值为纵坐标(Y) 绘制标准曲线, 结果见表 3。

表 3 2 种黄酮成分和 5 种有机酸成分的线性关系

Table 3 Linear relationship of two kinds of flavonoids and five kinds of organic acids

对照品	线性范围 / ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	回归方程	R^2
绿原酸	5.00~100.00	$Y=10\ 762.7 X+6\ 629.2$	0.998 6
隐绿原酸	0.92~18.40	$Y=6\ 464.6 X-898.5$	0.999 2
木犀草苷	10.10~202.00	$Y=6\ 443.4 X+721.0$	0.999 9
1, 5- <i>O</i> -二咖啡酰奎宁酸	3.27~65.40	$Y=8\ 123.8 X-860.1$	0.999 8
异绿原酸 A	12.10~242.00	$Y=8\ 489.6 X-4\ 326.7$	0.999 9
异绿原酸 B	10.00~200.00	$Y=9\ 001.6 X+1\ 051.7$	0.998 6
香叶木素 7- <i>O</i> - β -D-葡萄糖苷	2.22~44.40	$Y=6\ 990.4 X+575.6$	0.999 9

(5) 精密度试验: 精密吸取混合对照品溶液 1 μL , 连续进样 6 次, 记录峰面积, 各成分峰面积的 RSD 值在 0.1%~1.2%, 结果表明, 仪器精密度良好。

(6) 重复性试验: 精密称取同一样品 6 份, 每份 0.25 g, 分别按“2.4.2 (2)”项下操作制备供试品溶液, 进样 1 μL , 记录峰面积, 各成分峰面积的 RSD 值在 0.7%~1.9%, 结果表明本方法重复性良好。

(7) 稳定性试验: 对同一供试品溶液在 12 h 内每隔 2 h 进样 1 次, 记录峰面积, 各成分峰面积的 RSD 值在 0.8%~1.4%。结果表明, 供试品溶液在 12 h 内稳定。

(8) 加样回收率试验: 精密称定已知量的样品粗粉 6 份, 每份 0.125 g, 定量加入适量的对照品溶液, 按供试品液制备法制备供试液, 以确定的 UPLC 条件测定, 记录峰面积, 计算平均回收率。回收率在 95.5%~100.4%, RSD 值在 0.8%~2.0%。

(9) 样品测定: 将不同生长期采集的样品, 分别按“2.4.2 (2)”项制备供试品溶液, 在“2.4.2 (1)”项色谱条件下测定, 采用外标一点法计算各生长期菊叶、茎、根中 7 种成分的质量分数, 结果见表 4。

2.5 黄酮类和有机酸类成分分析结果

由表 4 可以看出, 总黄酮类成分的量分布顺序为叶>根>茎, 其中叶片所含黄酮类成分质量分数为 9.94%~18.66%, 根中质量分数为 5.88%~

8.02%, 茎中质量分数为 3.98%~5.41%; 菊根、茎、叶中 5 种有机酸类成分中隐绿原酸质量分数的分布为根>叶 $\approx$ 茎; 1, 5-*O*-二咖啡酰奎宁酸质量分数的分布为叶 $\approx$ 根>茎; 其余各成分的质量分数分布顺序为叶>根>茎; 将 5 种有机酸类成分量相加得到总有机酸的质量分数, 其分布顺序为叶>根>茎, 叶中量可达 2.44%~4.94%, 根中质量分数为 1.89%~2.64%, 茎中质量分数为 1.20%~1.48%。

对不同生长期黄酮类和有机酸类成分变化进行分析, 结果显示: 菊根、茎、叶中总黄酮量均随生长期延长而积累量增加, 于 11 月 5 日至 11 月 15 日间达到最高; 菊叶中 2 种黄酮类成分也有相同的变化趋势; 5 种有机酸类成分在菊叶中随生长期延长而升高, 于 11 月 5 日达到峰值而后再降低, 11 月 15 日茎和根中质量分数达到最高随后降低。

3 讨论

3.1 分析方法

本实验采用超高效液相-三重四级杆质谱联用仪 (UPLC-TQ/MS) 测定氨基酸和核苷的方法为本实验室创建, 该方法相比于 HPLC 法更加高效灵敏, 准确可靠, 可用于同时测定多种氨基酸类和核苷类成分。

《中国药典》2010 年版中采用 HPLC 法, 用乙腈-磷酸水梯度洗脱同时测定菊花中绿原酸、异绿原

表 4 不同采收期菊的根、茎、叶中黄酮类及有机酸类成分分析 ($n=3$)Table 4 Contents of flavonoids and organic acids from roots, stems, and leaves of *C. morifolium* in different harvest periods ($n=3$)

部位	采收日期	质量分数 / %							总黄酮
		绿原酸	隐绿原酸	1, 5-O-二咖啡酰奎宁酸	异绿原酸 A	异绿原酸 B	木犀草苷	香叶木素 7-O- β -D-葡萄糖苷	
叶	09-27	0.450	0.066	0.470	2.640	0.870	0.260	0.320	14.970
	10-08	0.840	0.055	0.490	2.610	0.610	0.190	0.420	13.950
	10-20	0.310	0.037	0.290	1.370	0.470	0.320	0.470	9.940
	10-28	0.780	0.035	0.550	2.010	0.730	0.420	0.530	16.400
	11-05	1.200	0.041	0.660	2.300	0.740	0.420	0.600	18.660
	11-15	0.970	0.035	0.580	1.270	0.540	0.470	0.370	15.160
	11-27	0.840	0.019	0.510	1.480	0.440	0.430	0.480	13.590
茎	09-27	0.180	0.044	0.210	0.400	0.380	0.023	0.040	3.980
	10-08	0.270	0.043	0.210	0.320	0.360	0.022	0.060	4.100
	10-20	0.300	0.040	0.230	0.300	0.370	0.024	0.059	4.310
	10-28	0.260	0.033	0.210	0.350	0.350	0.020	0.058	4.190
	11-05	0.310	0.032	0.300	0.460	0.390	0.023	0.072	5.410
	11-15	0.350	0.041	0.250	0.400	0.440	0.027	0.059	4.900
	11-27	0.330	0.028	0.230	0.330	0.350	0.024	0.068	4.040
根	09-27	0.280	0.079	0.430	0.650	0.450	0.011	0.012	5.880
	10-08	0.380	0.080	0.440	0.700	0.440	0.011	0.019	6.740
	10-20	0.460	0.073	0.490	0.650	0.490	0.011	0.017	6.440
	10-28	0.430	0.073	0.500	0.770	0.520	0.010	0.018	7.170
	11-05	0.470	0.064	0.570	0.830	0.590	0.013	0.026	7.950
	11-15	0.540	0.071	0.560	0.900	0.560	0.011	0.023	8.020
	11-27	0.470	0.043	0.500	0.720	0.360	0.008	0.014	6.640

酸 A 和木犀草苷的量, 本实验预试验中采用此方法未能取得理想结果, 异绿原酸 A、1, 5-二咖啡酰奎宁酸与木犀草苷不能有效分离。本实验在此基础上采用 UPLC 法, 用乙腈-乙酸水梯度洗脱, 采用在 6~7 min 降低乙腈比例, 7~8 min 再恢复的方式, 使以上各成分达到分离。UPLC 法相对于 HPLC 法大大降低了洗脱时间, 分离效果较好。

3.2 不同部位化学成分分布

资源的利用价值在于其可利用物质的多用性与多宜性特点^[5-6]。研究结果表明, 菊根、茎、叶中各类资源性物质及其化学成分分布差异较大, 菊的非药用部位各成分总量叶中明显高于根和茎。叶中含有丰富的资源性成分, 尤其是黄酮和有机酸类成分量甚至高于菊花^[3]。文献研究表明, 菊茎叶所含总黄酮具有良好的抗氧化、抗血栓、心血管保护^[7]等作用。菊植物含有的有机酸类成分具有心血管保护^[8]、抗血小板聚集^[9]等生物活性。可将其开发为

天然抗氧化剂及心血管疾病方面的保健品等, 具有良好的应用价值。

此外, 菊叶、茎、根中量较高量的 γ -氨基丁酸、L-组氨酸和精氨酸也具有一定的利用价值, γ -氨基丁酸具有降血压、促进睡眠、增强记忆力等作用^[10]; L-组氨酸为幼儿必需氨基酸, 亦能治疗贫血; 精氨酸是目前发现的动物细胞内功能最多的氨基酸, 具有改善心脑血管疾病、提高机体免疫力等作用^[11]。这些氨基酸可用于食品或保健品的添加剂, 而菊非药用部位可作为获取氨基酸类物质的丰富资源。

3.3 不同生长期化学成分动态积累

基于中药资源化学的研究思路与方法^[12-13], 对各类资源性化学成分在菊植物不同组织器官中的分布、动态积累进行评价, 结果表明: 菊根、茎、叶中各成分的总体趋势为 11 月 5 日 (开花期) 至 11 月 15 日 (盛花期) 间量达到高峰, 此期间菊已充分开花, 是花序的最佳采收期^[14]。菊花采摘后的根、

茎、叶中各成分量积累达到峰值,因此,在菊花采收结束后立即采收非药用部位并加以利用,不仅避免了资源浪费,且能增加菊花栽培生产者的经济效益和社会效益。

3.4 菊非药用部位的开发利用

菊在采摘花蕾或开放的头状花序时其株高可达1 m左右,废弃的植株生物产量约10余倍于花序产量。因此,菊的非药用部位资源丰富,具有良好的开发价值和应用前景。本实验研究结果表明,菊花采摘后的根、茎、叶中富含黄酮类、有机酸类、氨基酸类及核苷类等各类资源性化学成分。活性评价表明菊茎叶中黄酮类和有机酸类成分具有良好的抗氧化、抗菌、改善心肌缺血等作用^[3]。同类研究亦表明,多种药用植物的非药用部位均具有开发利用价值,如以三七茎叶为原料开发的治疗神经衰弱及偏头痛的新药“七叶神安片”,具有抗炎镇痛的效果,既综合利用了三七茎叶资源又产生了经济效益^[15]。以黄芩茎叶总黄酮为主要原料制成的黄芩茎叶解毒胶囊,具有治疗急性咽炎的作用^[16]。可见,对于菊非药用部位的资源化利用研究及利用价值的提升具有重要的科学意义和长远价值,本研究结果为该类生物资源的有效综合利用及其产业链的延伸提供了一定的科学依据和参考。

参考文献

[1] 中国药典[S].一部.2010.

[2] 钱大玮,朱玲英,段金廛,等.不同生长期菊茎叶中黄酮类成分的动态变化[J].中草药,2009,40(8):1317-1319.

[3] 钱大玮,朱玲英,彭蕴茹,等.菊花、茎、叶中总黄酮及绿原酸含量动态分析评价[J].现代中药研究与实践,2005,19(6):14-16.

[4] 朱玲英,段金廛,沈红,等.菊花、茎、叶中黄酮类化合物的测定[J].中成药,2007,29(5):1-3.

[5] 段金廛,宿树兰,钱大玮,等.中药资源化学研究思路方法与进展[J].中国天然药物,2009,7(5):333-340.

[6] 段金廛.中药资源化学研究技术体系的建立及其应用[J].中国药科大学学报,2012,43(4):289-292.

[7] 彭蕴茹,石磊,罗宇慧,等.菊花总黄酮提取物对大鼠心肌缺血的保护作用[J].时珍国医国药,2006,17(7):1131-1132.

[8] Chlopčikova S, Psotova J, Miketova P, et al. Chemoprotective effect of plant phenolics against anthracycline-induced toxicity on rat cardiomyocytes. Part I. Silymarin and its flavonolignans[J]. Phytother Res, 2004, 18: 107-110.

[9] 樊宏伟,肖大伟,余黎,等.金银花及其有机酸类化合物的体外抗血小板聚集作用[J].中国医院药学杂志,2006,26(2):145-147.

[10] 杨胜远,陆兆新,吕凤霞,等. γ -氨基丁酸的生理功能和研究开发进展[J].食品科学,2005,26(9):546-551.

[11] 彭瑛,蔡力创.精氨酸的保健作用及其调控研究进展[J].湖南理工学院学报:自然科学版,2011,24(1):59-62.

[12] 段金廛,吴启南,宿树兰,等.中药资源化学学科的建立与发展[J].中草药,2012,43(9):1665-1671.

[13] 段金廛,严辉,宿树兰,等.药材适宜采收期综合评价模式的建立与实践[J].中草药,2010,41(11):1755-1760.

[14] 梁天天.杭白菊适宜采收期初探[J].中药材,1997,20(8):381-382.

[15] 黄跃进.三七传统非药用部位的开发利用探讨[J].中医药信息,1999(6):19-20.

[16] 刘秋丰,孙海波,权文杰,等.黄芩茎叶解毒胶囊治疗急性咽炎的临床观察[J].内蒙古中医药,2013(20):13-14.