

HPLC 法比较 3 种土大黄中游离蒽醌和总蒽醌的含量*

杨娟艳^{1,2}, 王珍珍³, 茅向军², 许乾丽^{2**}, 林瑞超⁴, 戴忠⁴

(1. 贵阳中医学院, 贵阳 550002; 2. 贵州省食品药品检验所, 贵阳 550004; 3. 贵州医科大学, 贵阳 550004;

4. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

摘要 目的: 建立 HPLC 测定方法, 比较贵州土大黄尼泊尔酸模(*Rumex nepalensis* Spreng.)、齿果酸模(*Rumex dentatus* Linn.) 或羊蹄(*Rumex crispus* Linn.) 中游离蒽醌和总蒽醌(以大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的总量计)的含量。方法: 采用 Diamonsil C₁₈(4.6 mm×200 mm, 5 μm) 色谱柱, 以甲醇-0.1% 磷酸溶液(83:17)为流动相, 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长 254 nm, 柱温 30 ℃。结果: 大黄素、大黄酚、大黄素甲醚进样量分别在 9.670~522.2 ng(*r*=0.999 9)、18.06~975.2 ng(*r*=0.999 9)、7.390~399.1 ng(*r*=0.999 9) 范围内线性关系良好; 游离蒽醌中大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的平均回收率分别为 102.6%(RSD=1.5%)、102.5%(RSD=0.80%)、97.4%(RSD=1.1%), 总蒽醌中大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的平均回收率分别为 100.5%(RSD=1.2%)、97.4%(RSD=1.6%)、98.6%(RSD=1.7%)。游离蒽醌中大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的含量分别在 0.008%~0.088%、0.007%~0.289%、0.007%~0.103% 范围内; 总蒽醌中大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的含量分别在 0.034%~0.244%、0.076%~0.856% 和 0.030%~0.297% 范围内。结论: 结合蒽醌含量最高的是羊蹄, 齿果酸模、尼泊尔酸模和未鉴定的 9 批样品次之, 且羊蹄和齿果酸模中结合蒽醌含量均大于游离蒽醌含量。

关键词: 土大黄; 游离蒽醌; 总蒽醌; 大黄素; 大黄酚; 大黄素甲醚; 含量测定; 高效液相色谱

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2017)04-0615-09

doi: 10.16155/j.0254-1793.2017.04.09

Determination of free and total anthraquinones in 3 kinds of
Rumex by HPLC: a comparative study*YANG Juan-yan^{1,2}, WANG Zhen-zhen³, MAO Xiang-jun²,
XU Qian-li^{2**}, LIN Rui-chao⁴, DAI Zhong⁴(Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China; 2. Guizhou Provincial of Food and
Drug Inspection Institute, Guiyang 550004, China; 3. Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China;

4. National Institute For Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

Abstract Objective: To establish an HPLC method to compare the contents of free and total anthraquinones (total amount of emodin, chrysophanol and ararobinol) in *Rumex nepalensis* Spreng, *Rumex dentatus* Linn and *Rumex crispus* Linn from Guizhou. **Methods:** The HPLC method was performed on a Diamonsil C₁₈ column (4.6 mm×200

* 贵州省中药现代化科技产业研究开发专项(黔科合社字[2009]5003号)

** 通信作者 Tel:13638510033; E-mail:1500368608@qq.com

第一作者 Tel:15285167124; E-mail:1274191418@qq.com

mm, 5 μm) with the mobile phase consisting of methanol-0.1% phosphoric acid (83:17) at the flow rate of 1 mL $\cdot$ min⁻¹. The detection wavelength was set at 254 nm and the column temperature was 30 $^{\circ}\text{C}$. **Results:** Emodin, chrysophanol and ararobinol revealed a good linear relationship in the range of 9.670–522.2 ng ($r=0.999\ 9$), 18.06–975.2 ng ($r=0.999\ 9$) and 7.390–399.1 ng ($r=0.999\ 9$), respectively. The recoveries of emodin, chrysophanol and ararobinol in total anthraquinones were 102.6% (RSD=1.5%), 102.5% (RSD=0.80%) and 97.4% (RSD=1.1%), respectively and the recoveries of emodin, chrysophanol and ararobinol in free anthraquinones were 100.5% (RSD=1.2%), 97.4% (RSD=1.6%) and 98.6% (RSD=1.7%), respectively. The contents of emodin, chrysophanol and ararobinol in free anthraquinones were in the ranges of 0.008%–0.088%, 0.007%–0.289% and 0.007%–0.103%, respectively. The contents of emodin, chrysophanol and ararobinol in total anthraquinones were in the ranges of 0.034%–0.244%, 0.076%–0.856% and 0.030%–0.297%, respectively. **Conclusion:** *Rumex crispus* had more combined anthraquinones than *Rumex dentatus*, *Rumex nepalensis* and 9 batches of undefined samples. Contents of combined anthraquinones in *Rumex crispus* and *Rumex dentatus* were higher than free anthraquinones in those samples.

Keywords: *Rumex*; free anthraquinones; total anthraquinones; emodin; chrysophanol; ararobinol; content determination; HPLC

贵州土大黄为蓼科酸模属植物尼泊尔酸模 (*Rumex nepalensis* Spreng.)、齿果酸模 (*Rumex dentatus* Linn.) 或羊蹄 (*Rumex crispus* Linn.) 的新鲜或干燥根及根茎。主产于湖北、陕西、贵州、云南等地^[1], 土大黄中主要含有蒽醌、黄酮、萘和萘酚以及二苯乙烯等化合物, 其中蒽醌类以大黄素、大黄酚和大黄素甲醚含量较高^[2]。土大黄具有抗菌消炎、抗氧化、止血、抗肿瘤等功效^[3-4], 根提取物对正常小鼠非特异性免疫功能(单核-巨噬细胞系统吞噬功能)有一定影响^[5], 主要用于银屑病、出血证、跌打损伤、紫癜等疾病的治疗^[6-9]。土大黄现在用于乙肝散、肝乐欣胶囊、肤痔清软膏、止血片等制剂的制备, 应用比较广泛。目前, 对土大黄药材的质量控制仅见于《贵州省中药材、民族药材质量标准》2003年版, 现行标准中仅有外观性状描述、显微鉴别及简单的薄层鉴别和含量测定^[10-11], 专属性不强, 可控性差。为了有效地控制土大黄的质量, 本文参考相关资料^[12], 对本品中的游离蒽醌与总蒽醌(以大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的总量计)含量进行了测定, 为科学应用本品提供参考。

1 仪器与试药

1.1 仪器

岛津公司 LC-20AD 高效液相色谱仪 (SPD-M20A 二极管阵列检测器、CBM-20A 系统控制器、CTO-20AC 柱温箱、LC-20AT 泵、SIL-20A 自动进样器、LC2000 色谱数据工作站), 迪马科技有限公司 Diamonsil C₁₈ (4.6 mm $\times$ 200 mm, 5 μm ; 填料: 十八烷

基硅烷键合硅胶) 色谱柱; 天津市泰斯特仪器有限公司 DK-98-11A 型电热恒温水浴锅, 梅特勒-托利多仪器有限公司 XS205 型电子分析天平, 上海宗义实业发展有限公司 0.45 μm 微孔滤膜。

1.2 试药

大黄素对照品(批号 110756-200110)、大黄酚对照品(批号 110796-200615)、大黄素甲醚对照品(批号 110758-200611)购于中国食品药品检定研究院。

土大黄药材共 31 批, 采集于贵州省花溪平桥、清镇、小关以及罗甸等地, 均由贵阳中医学院陈德媛研究员鉴定为尼泊尔酸模 (*Rumex nepalensis* Spreng.)、齿果酸模 (*Rumex dentatus* Linn.) 和羊蹄 (*Rumex crispus* Linn.), 其中 9 批样品未鉴定品种。

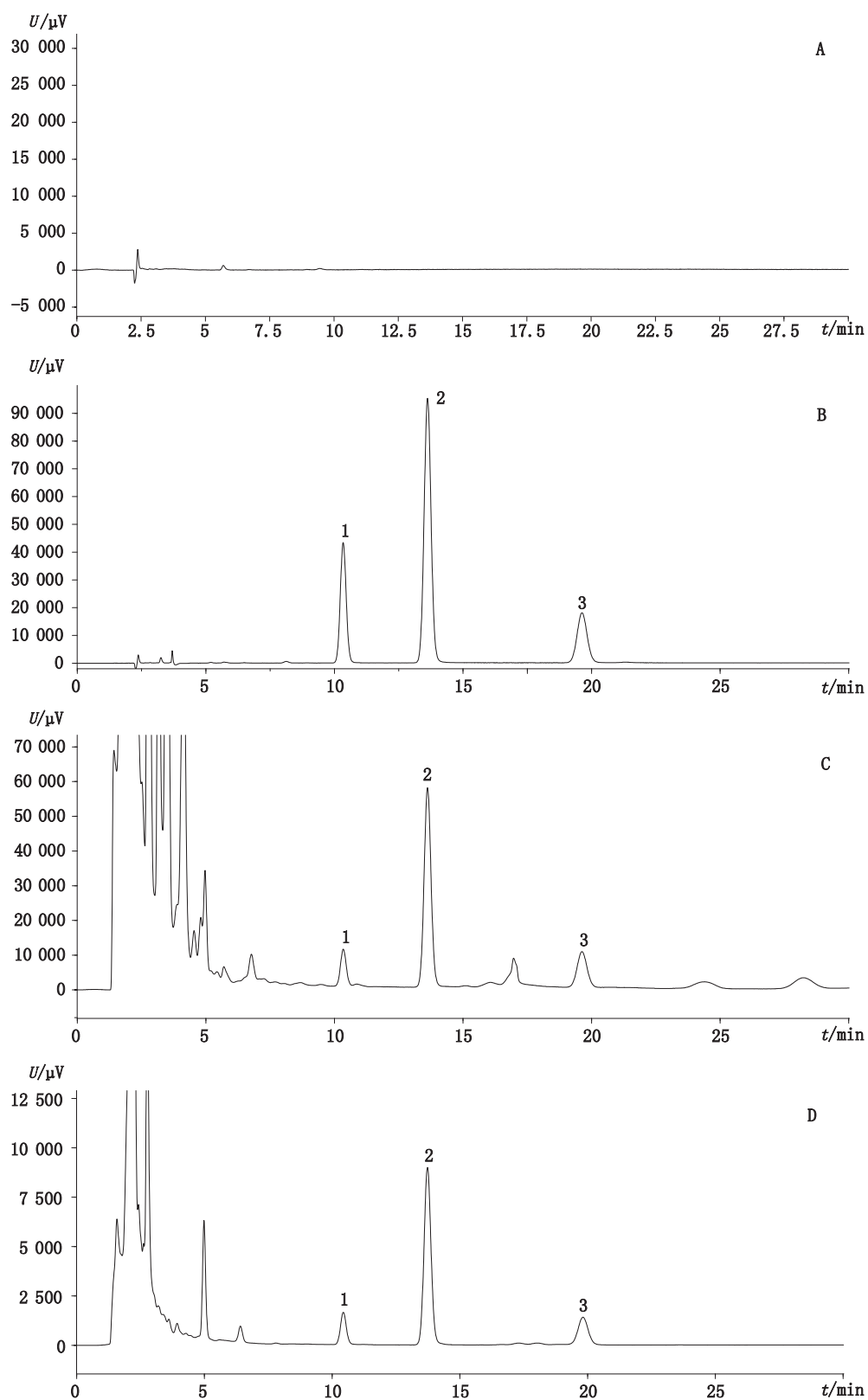
甲醇、乙腈为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。水为重蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱: Diamonsil C₁₈ (4.6 mm $\times$ 200 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.1% 磷酸溶液 (83:17); 流速: 1.0 mL $\cdot$ min⁻¹; 检测波长: 254 nm; 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$; 进样量: 10 μL 。

分别取空白溶剂(甲醇)、混合对照品溶液和供试品溶液注入液相色谱仪, 记录色谱图, 见图 1; 从图中可见, 空白溶剂在大黄素、大黄酚和大黄素甲醚位置处无干扰峰, 供试品溶液中大黄素、大黄酚和大黄素甲醚峰与其他组分分离完全(分离度 >1.5), 理论板数按大黄素峰计算不低于 4 000。



A. 空白 (blank) B. 对照品 (reference substance) C. 游离蒽醌 (free anthraquinones) D. 总蒽醌 (total anthraquinones)

1. 大黄素 (emodin) 2. 大黄酚 (chrysophanol) 3. 大黄素甲醚 (ararobinol)

图 1 混合对照品及 26 号土大黄样品的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances and Rumex sample No. 26

2.2 对照品储备液制备

精密称定大黄素对照品 0.024 17 g, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制得大黄素对照品储备液 ($0.2417 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$); 精密称定经五氧化二磷干燥至恒重的大黄酚对照品 0.018 06 g, 置 100 mL 量瓶中, 加氯仿-甲醇 (1:4) 溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制得大黄酚对照品储备液 ($0.1806 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$); 精密称定经五氧化二磷干燥至恒重的大黄素甲醚对照品 0.018 47 g, 置 100 mL 量瓶中, 加氯仿-甲醇 (2:3) 溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制得大黄素甲醚对照品储备液 ($0.1847 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)。

2.3 供试品溶液制备

2.3.1 游离蒽醌供试品溶液 取本品粉末 (过 4 号筛) 约 0.6 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 称量, 加热回流 80 min, 放冷, 再称量, 用甲醇补足减失的量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.3.2 总蒽醌供试品溶液 取本品粉末 (过 4 号筛) 约 0.2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇-盐酸 (10:0.3) 25 mL, 称量, 置 80 °C 水浴中加热回流 60 min, 放冷, 再称量, 用甲醇-盐酸 (10:0.3) 补足减失的量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 标准曲线的制备

分别精密量取“2.2”项下大黄素、大黄酚及大黄素甲醚的对照品储备液适量, 置于同一 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 制成每 1 mL 含大黄素、大黄酚和大黄素甲醚分别为 19.34、36.12、14.78 μg 的混合对照品溶液。分别精密吸取该混合对照品溶液 0.5、1、3、9、15、21、27 μL , 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 以峰面积为纵坐标, 对照品质量浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 得大黄素, 大黄酚, 大黄素甲醚的线性回归方程:

$$Y = 3.523 \times 10^6 X - 5.205 \times 10^3 \quad r = 0.9999$$

$$Y = 5.005 \times 10^6 X - 1.129 \times 10^4 \quad r = 0.9999$$

$$Y = 3.249 \times 10^6 X - 1.728 \times 10^4 \quad r = 0.9999$$

结果表明, 大黄素, 大黄酚, 大黄素甲醚进样量分别在 9.670~522.2、18.06~975.2、7.390~399.1 ng 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

取“2.4”项下的混合对照品溶液, 按“2.1”项下条件连续进样 6 次。计算大黄素、大黄酚和大黄素甲醚峰面积的 RSD 分别为 0.38%、0.42%、0.71%, 表明仪器精密度良好。

2.6 重复性试验

取 26 号样品, 分别按“2.3.1”和“2.3.2”项下方法

平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.1”项下条件进样测定。计算游离蒽醌中大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的平均含量分别为 0.017%、0.086%、0.033%, RSD 分别为 1.8%、1.5%、2.0%; 总蒽醌中大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的平均含量分别为 0.085% 和 0.408%、0.136%, RSD 分别为 1.8%、1.4%、1.8%, 表明该方法的重复性良好。

2.7 稳定性试验

取 26 号样品, 分别按“2.3.1”和“2.3.2”项下方法制备供试品溶液各 1 份, 分别于供试品溶液制备后 0、4、8、12、16、24 h 按“2.1”项下条件测定, 计算游离蒽醌中大黄素、大黄酚和大黄素甲醚峰面积的 RSD 分别为 0.73%、0.27%、0.61%, 总蒽醌中大黄素、大黄酚和大黄素甲醚峰面积的 RSD 分别为 1.4%、0.78%、1.4%, 说明游离蒽醌和总蒽醌的供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.8 加样回收率试验

精密称取已知含量 (大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的含量分别为 0.017%、0.086%、0.033%) 的 26 号土大黄样品 0.3 g 共 6 份, 分别置具塞锥形瓶中, 精密加入大黄素、大黄酚和大黄素甲醚混合对照品溶液 (分别精密量取“2.2”项下中大黄素、大黄酚及大黄素甲醚的对照品储备液适量, 置于同一 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得质量浓度分别为 10.63、6.36、8.127 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液) 25 mL, 按“2.3.1”项下方法制备供试溶液, 按“2.1”项下条件进样测定, 计算游离蒽醌的回收率。结果见表 1。

精密称取已知含量 (大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的含量分别为 0.085%、0.408%、0.136%) 的 26 号土大黄样品 0.1 g 共 6 份, 分别置具塞锥形瓶中, 精密加入大黄素、大黄酚和大黄素甲醚混合对照品溶液 (分别精密量取“2.2”项下中大黄素、大黄酚及大黄素甲醚的对照品储备液适量, 置于同一 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 即得质量浓度分别为 16.44、15.89、12.56 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液) 25 mL, 按“2.3.2”项下方法制备供试溶液, 按“2.1”项下条件测定, 计算总蒽醌的回收率。结果见表 2。

2.9 样品含量测定

取 31 批不同产地的土大黄, 按“2.3.1”和“2.3.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下条件进样测定, 采用外标一点法计算土大黄中游离蒽醌和总蒽醌含量后, 再计算结合蒽醌含量 (总蒽醌含量 - 游离蒽醌含量) 以及结合蒽醌与游离蒽醌的比值, 结果见表 3。

表 1 土大黄中游离蒽醌的加样回收率试验

Tab. 1 Recovery of free anthraquinones

成分 (composition)	称样量 (sample amount)/g	样品中含量 (contented)/mg	加入量 (added)/mg	测得总量 (found)/mg	回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average recovery)/%	RSD/%
大黄素 (emodin)	0.301 9	0.052 5	0.053 2	0.105 7	99.9	101.6	1.5
	0.301 5	0.052 5	0.053 2	0.106 3	101.3		
	0.302 1	0.052 6	0.053 2	0.105 7	99.9		
	0.302 3	0.052 6	0.053 2	0.107 6	103.4		
	0.304 4	0.053 0	0.053 2	0.107 2	102.1		
大黄酚 (chrysophanol)	0.303 1	0.052 7	0.053 2	0.107 5	103.1	102.5	0.80
	0.301 9	0.260 2	0.270 9	0.536 8	102.1		
	0.301 5	0.259 9	0.270 9	0.535 8	101.9		
	0.302 1	0.260 4	0.270 9	0.539 9	103.2		
	0.302 3	0.260 6	0.270 9	0.541 3	103.6		
大黄素甲醚 (ararobinol)	0.304 4	0.262 4	0.270 9	0.540 4	102.6	97.4	1.1
	0.303 1	0.261 3	0.270 9	0.536 3	101.5		
	0.301 9	0.100 5	0.101 6	0.200 1	98.0		
	0.301 5	0.100 4	0.101 6	0.199 8	97.8		
	0.302 1	0.100 6	0.101 6	0.200 5	98.4		
	0.302 3	0.100 7	0.101 6	0.200 0	97.8		
	0.304 4	0.101 4	0.101 6	0.199 8	96.7		
	0.303 1	0.100 9	0.101 6	0.197 8	95.4		

表 2 土大黄中总蒽醌的加样回收率试验

Tab. 2 Recovery of total anthraquinones

成分 (composition)	称样量 (sample amount)/g	样品中含量 (contented)/mg	加入量 (added)/mg	测得总量 (found)/mg	回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average recovery)/%	RSD/%
大黄素 (emodin)	0.103 2	0.088 1	0.082 2	0.170 0	99.7	100.5	1.2
	0.102 4	0.087 4	0.082 2	0.169 9	100.3		
	0.102 9	0.087 9	0.082 2	0.171 1	101.3		
	0.103 5	0.088 4	0.082 2	0.169 5	98.7		
	0.102 0	0.087 1	0.082 2	0.171 0	102.1		
大黄酚 (chrysophanol)	0.103 1	0.088 0	0.082 2	0.170 9	100.9	97.4	1.6
	0.103 2	0.420 5	0.397 3	0.810 7	98.2		
	0.102 4	0.417 3	0.397 3	0.811 7	99.3		
	0.102 9	0.419 3	0.397 3	0.800 4	95.9		
	0.103 5	0.421 8	0.397 3	0.804 8	96.4		
大黄素甲醚 (ararobinol)	0.102 0	0.415 7	0.397 3	0.808 3	98.8	98.6	1.7
	0.103 1	0.420 1	0.397 3	0.800 9	95.8		
	0.103 2	0.140 2	0.157 0	0.292 6	97.1		
	0.102 4	0.139 2	0.157 0	0.290 3	96.3		
	0.102 9	0.139 8	0.157 0	0.296 3	99.7		
	0.103 5	0.140 7	0.157 0	0.295 9	98.9		
	0.102 0	0.138 6	0.157 0	0.296 4	100.5		
	0.103 1	0.140 1	0.157 0	0.295 5	99.0		

3 讨论

3.1 游离蒽醌提取方法的研究

比较氯仿、甲醇、水作为提取溶剂,通过研究选择甲醇作为提取溶剂;比较了超声和加热回流提取方法,通过研究证明加热回流方法更好;通过对比加热回流时间 20、40、60、80 和 100 min 的提取效果,最后选择了加热回流 80 min 的时间。

3.2 总蒽醌提取方法的研究

比较了氯仿-盐酸和甲醇-盐酸作为总蒽醌

的水解提取溶剂,结果表明甲醇-盐酸作为水解提取液更好;试验过程中考察了不同酸度的甲醇-盐酸水解提取液,分别考察了(10:0.05)、(10:0.1)、(10:0.3)、(10:0.6)和(10:0.9)水解提取液,结果表明水解提取液为甲醇-盐酸(10:0.3)时,总蒽醌可水解完全,故选择甲醇-盐酸(10:0.3)为总蒽醌供试品溶液的水解提取液。通过对比加热回流时间 20、40、60、80 和 100 min 的水解提取效果,最后采用了加热回流 60 min 的时间。

表 3 样品含量测定结果 (n=2)
Tab. 3 Determination results

样品号 (sample No.)	品种 (variety)	产地 (habitat)	含量 (content) /%									
			游离蒽醌 (free anthraquinone)				总蒽醌 (total anthraquinone)				结合蒽醌 (binding anthraquinone)	
			大黄素 (emodin)	大黄酚 (chrysophanol)	大黄素甲醚 (arabinol)	大黄素 (emodin)	大黄酚 (chrysophanol)	大黄素甲醚 (arabinol)	大黄素 (emodin)	大黄酚 (chrysophanol)	大黄素甲醚 (arabinol)	结合蒽醌与游离蒽醌比值 (combined anthraquinones/free anthraquinones)
1	羊蹄 (<i>Rumex crispus</i> Linn.)	花溪平桥 (Huaxi Pingqiao)	0.008	0.007	0.007	0.034	0.089	0.030	0.025	0.082	0.023	5.91
2	羊蹄 (<i>Rumex crispus</i> Linn.)	花溪平桥 (Huaxi Pingqiao)	0.012	0.011	0.010	0.051	0.086	0.043	0.039	0.075	0.033	4.52
3	羊蹄 (<i>Rumex crispus</i> Linn.)	花溪平桥 (Huaxi Pingqiao)	0.012	0.011	0.011	0.074	0.135	0.068	0.062	0.124	0.056	6.98
4	羊蹄 (<i>Rumex crispus</i> Linn.)	花溪平桥 (Huaxi Pingqiao)	0.010	0.009	0.007	0.064	0.076	0.048	0.054	0.067	0.041	6.25
5	羊蹄 (<i>Rumex crispus</i> Linn.)	花溪平桥 (Huaxi Pingqiao)	0.011	0.011	0.010	0.122	0.146	0.113	0.111	0.135	0.103	10.87
6	羊蹄 (<i>Rumex crispus</i> Linn.)	花溪平桥 (Huaxi Pingqiao)	0.014	0.011	0.012	0.173	0.160	0.158	0.159	0.150	0.146	12.36
7	羊蹄 (<i>Rumex crispus</i> Linn.)	清镇 (Qingzhen)	0.036	0.037	0.027	0.152	0.194	0.122	0.116	0.157	0.095	3.68
8	羊蹄 (<i>Rumex crispus</i> Linn.)	清镇 (Qingzhen)	0.027	0.081	0.037	0.109	0.403	0.172	0.082	0.323	0.135	3.76
9	羊蹄 (<i>Rumex crispus</i> Linn.)	清镇 (Qingzhen)	0.072	0.048	0.051	0.242	0.197	0.203	0.170	0.149	0.152	2.76
10	羊蹄 (<i>Rumex crispus</i> Linn.)	清镇 (Qingzhen)	0.020	0.039	0.020	0.075	0.200	0.082	0.055	0.162	0.062	3.57

表 3(续)

样品号 (sample No.)	品种 (variety)	产地 (habitat)	含量 (content) /%									
			游离蒽醌 (free anthraquinone)			总蒽醌 (total anthraquinone)			结合蒽醌 (binding anthraquinone)			结合蒽醌与游离蒽 醌比值 (combined anthraquinones/free anthraquinones)
			大黄素 (emodin)	大黄酚 (chrysophanol)	大黄素甲醚 (arabinol)	大黄素 (emodin)	大黄酚 (chrysophanol)	大黄素甲醚 (arabinol)	大黄素 (emodin)	大黄酚 (chrysophanol)	大黄素甲醚 (arabinol)	
11	羊蹄 (<i>Rumex crispus</i> Linn.)	清镇 (Qingzhen)	0.013	0.038	0.017	0.074	0.249	0.098	0.061	0.211	0.081	5.22
12	羊蹄 (<i>Rumex crispus</i> Linn.)	贵阳小关 (Guiyang Xiaoguan)	0.060	0.171	0.062	0.147	0.444	0.163	0.087	0.274	0.101	1.58
13	羊蹄 (<i>Rumex crispus</i> Linn.)	贵阳小关 (Guiyang Xiaoguan)	0.036	0.034	0.029	0.105	0.127	0.090	0.069	0.093	0.061	2.25
14	羊蹄 (<i>Rumex crispus</i> Linn.)	贵阳小关 (Guiyang Xiaoguan)	0.088	0.068	0.068	0.244	0.238	0.222	0.156	0.170	0.154	2.15
15	羊蹄 (<i>Rumex crispus</i> Linn.)	水城长坎 (Shuicheng Changkan)	0.040	0.048	0.028	0.121	0.178	0.090	0.081	0.130	0.062	2.35
16	羊蹄 (<i>Rumex crispus</i> Linn.)	贵州丹寨 (Guizhou Danzhai)	0.043	0.104	0.038	0.184	0.492	0.175	0.141	0.390	0.137	3.61
17	齿果酸模 (<i>Rumex dentatus</i> Linn.)	贵阳小关 (Guiyang Xiaoguan)	0.061	0.097	0.049	0.152	0.239	0.103	0.090	0.143	0.054	1.39
18	齿果酸模 (<i>Rumex dentatus</i> Linn.)	贵阳乌当 (Guiyang Wudang)	0.040	0.081	0.029	0.093	0.231	0.065	0.054	0.150	0.036	1.6
19	齿果酸模 (<i>Rumex dentatus</i> Linn.)	水城长坎 (Shuicheng Changkan)	0.035	0.130	0.045	0.112	0.411	0.130	0.077	0.281	0.085	2.11

表 3(续)

样品号 (sample No.)	品种 (variety)	产地 (habitat)	含量 (content) / %										结合蒽醌与游离蒽醌 配比值 (combined anthraquinones/free anthraquinones)
			游离蒽醌 (free anthraquinone)			总蒽醌 (total anthraquinone)				结合蒽醌 (binding anthraquinone)			
			大黄素 (emodin)	大黄酚 (chrysophanol)	大黄素甲醚 (arabinol)	大黄素 (emodin)	大黄酚 (chrysophanol)	大黄素甲醚 (arabinol)	大黄素 (emodin)	大黄酚 (chrysophanol)	大黄素甲醚 (arabinol)		
20	齿果酸模 (<i>Rumex dentatus</i> Linn.)	德祥药业 (Dexiang Pharmacy)	0.039	0.054	0.022	0.097	0.167	0.065	0.057	0.113	0.043	1.84	
21	尼泊尔酸模 (<i>Rumex nepalensis</i> Spreng)	贵阳小关 (Guiyang Xiaoguang)	0.082	0.152	0.075	0.133	0.276	0.123	0.051	0.124	0.048	0.72	
22	尼泊尔酸模 (<i>Rumex dentatus</i> Linn.)	水城大丫口 (Shuicheng Dayakou)	0.022	0.064	0.024	0.101	0.413	0.121	0.079	0.350	0.097	4.77	
23	∖	贵州罗甸 (Guizhou Luodian)	0.030	0.039	0.022	0.098	0.163	0.084	0.069	0.124	0.062	2.79	
24	∖	贵州罗甸 (Guizhou Luodian)	0.051	0.067	0.034	0.147	0.174	0.099	0.096	0.107	0.065	1.76	
25	∖	贵州凯里 (Guizhou Kaili)	0.064	0.289	0.103	0.204	0.856	0.297	0.140	0.568	0.194	1.98	
26	∖	水城勾米乡 (Shuicheng Shaomi)	0.017	0.086	0.033	0.085	0.408	0.136	0.068	0.321	0.103	3.59	
27	∖	惠水摆榜 (Huishui Baibang)	0.046	0.087	0.038	0.115	0.268	0.093	0.069	0.181	0.055	1.78	
28	∖	清镇 (Qingzhen)	0.020	0.071	0.030	0.037	0.172	0.060	0.017	0.101	0.030	1.22	
29	∖	贞丰农场 (Zhenfeng Nongchang)	0.055	0.079	0.045	0.107	0.166	0.079	0.052	0.087	0.034	0.96	
30	∖	安顺 (Anshun)	0.037	0.098	0.037	0.072	0.174	0.062	0.034	0.076	0.025	0.79	
31	∖	安龙新桥 (Anlong Xinqiao)	0.077	0.093	0.067	0.115	0.158	0.095	0.038	0.065	0.029	0.56	

注 (note): “ ” 为未鉴定的品种 (“ ” means the undefined variety)

3.3 样品含量测定结果分析

羊蹄样品中结合蒽醌的含量是游离蒽醌含量的1.58~12.36倍,花溪平桥的羊蹄中结合蒽醌的含量高于清镇、小关等地,可能是因为花溪平桥的环境比较潮湿而且是在阳光充沛的环境,在湿润而又阳光充沛的地理环境下土大黄中结合蒽醌含量更高。结果说明,土大黄同种不同产地中结合蒽醌和游离蒽醌的含量差异很大,且结合蒽醌的含量均大于游离蒽醌的含量。

齿果酸模样品中结合蒽醌的含量是游离蒽醌的1.39~2.11倍,4个不同产地中蒽醌含量差别不是很大。尼泊尔酸模,仅有2批药材,有待做进一步的研究。未鉴定品种的9批样品中结合蒽醌的含量是游离蒽醌的0.56~3.59倍。31批样品中共有4批样品的结合蒽醌含量小于游离蒽醌含量。

3.4 结论

羊蹄和齿果酸模中结合蒽醌含量均大于游离蒽醌含量,且结合蒽醌含量最高的是产于花溪和清镇的羊蹄,齿果酸模和尼泊尔酸模次之。土大黄提取物可以调节肠道蠕动,导致泻下的是结合蒽醌类成分,游离蒽醌类化合物促进腹泻的活性很弱^[13-15],故在临床应用,建议选取花溪和清镇产的羊蹄作为以泻下作用为功效的药材。本试验的方法准确,可靠,为土大黄药材的质量控制提供了科学依据。

参考文献

- [1] 曾建飞. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 2004: 162
ZENG JF. Flora of China[M]. Beijing: Science Press, 2004: 162
- [2] 张燕, 李治建, 夏木西努尔·肖盖提, 等. 土大黄化学成分及药理作用研究进展[J]. 中药药理与临床, 2012, 28(3): 173
ZHANG Y, LI ZJ, XIAMUXINVER·XGT, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Rumex L.* [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2012, 28(3): 173
- [3] 刘红森, 李艳玲, 杨继章, 等. 土大黄的药理作用及临床应用研究进展[J]. 中国药房, 2013, 24(15): 1422
LIU HM, LI YL, YANG JZ, et al. Research progress on pharmacological action and clinical application of *Rumex L.* [J]. Chin Pharm, 2013, 24(15): 1422
- [4] 热比姑丽·伊斯拉木, 斯拉甫·艾白. 土大黄研究进展[J]. 科技导报, 2013, 31(30): 67
REBIGULI·YSLM, SILAPU·AB. Research progress of *Rumex L.* [J]. Sci Technol Rev, 2013, 31(30): 67
- [5] 尤力都孜·买买提, 阿布都吉力力·阿布都艾尼, 热比姑丽·伊斯拉木. 土大黄根提取物对小鼠非特异性免疫功能的影响[J]. 中国药业, 2016, 26(10): 18
YOULIDUZI·MMT, ABUDUJIELILI·ABUDUAINI, RBGL·YSLM. Effects of *Rumex L.* root extract on non-specific immune function of mice[J]. China Pharm, 2016, 26(10): 18
- [6] 热比姑丽·伊斯拉木, 曼尔丹·尼牙孜, 尤力都孜·买买提, 等. 土大黄不同提取物对银屑病小鼠模型的作用[J]. 西北药学杂志, 2015, 30(1): 47
REBIGULI·YSLM, MANERDAN·NYZ, YOULIDUZI·MMT, et al. Effect of different extracts of *Rumex L.* on the mouse psoriasis model. [J]. Northwest Pharm J, 2015, 30(1): 47
- [7] 艾克拜尔·安扎尔, 夏木西努尔·肖盖提, 热比姑丽·伊斯拉木, 等. 土大黄对实验性银屑病的作用[J]. 中药药理与临床, 2012, 28(1): 107
AIKEBAIER·AZE, XIAMUXINVER·XIAOGAOTI, REBIGULI·YSLM, et al. Effect of *Rumex L.* on experimental psoriasis [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2012, 28(1): 107
- [8] 傅正良, 牛广斌, 王丽芳. 论大黄、山大黄及土大黄的临床应用[J]. 光明中医, 2008, 23(9): 1354
FU ZL, NIU GB, WANG LF. The clinical application of *Rhei Radix et Rhizoma*, *Rheum raphonticum* and *Rumex L.* [J]. Guangming TCM, 2008, 23(9): 1354
- [9] 果艳凤, 王会丽. 大黄与土大黄的鉴别及应用[J]. 河北中医, 2010, 32(10): 1546
GUO YF, WANG HL. Identification and application of *Rhei Radix et Rhizoma* and *Rumex L.* [J]. Hebei J TCM, 2010, 32(10): 1546
- [10] 王世清, 麻秀萍, 万明香, 等. 贵州土大黄的品种鉴定与含量测定[J]. 中药材, 2004, 27(10): 725
WANG SQ, MA XP, WAN MX, et al. Identification and content determination of *Rumex L.* in Guizhou [J]. J Tradit Chin Med, 2004, 27(10): 725
- [11] 高晨曦, 王世清, 洪迪清, 等. 贵州土大黄的品种鉴定研究[J]. 中药材, 2007, 30(5): 523
GAO CX, WANG SQ, HONG DQ, et al. Study on the identification of *Rumex L.* varieties in Guizhou [J]. J Tradit Chin Med, 2007, 30(5): 523
- [12] 中国药典 2015 年版. 一部[S]. 2015: 23
ChP 2015. Vol I [S]. 2015: 23
- [13] 严孝金, 冯天师, 王玉刚. 从化学、药效和毒性角度比较认识正品大黄与土大黄[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(19): 3876
YAN XJ, FENG TS, WANG YG. Comparison of *Radix et Rhizoma Rhei* and *Rumex* from the aspects of chemistry, efficacy and toxicity [J]. China J Chin Mater Med, 2014, 39(19): 3876
- [14] GHOSH L, GAYEN JR, MURUGESAN T, et al. Evaluation of purgative activity of roots of *Rumex nepalensis* [J]. Fitoterapia, 2003, 74(4): 372
- [15] FAIRBAIRN JW. The active constituents of the vegetable purgatives containing anthracene derivatives [J]. J Pharm Pharmacol, 1949, 1(10): 683

(本文于 2016 年 6 月 27 日收到)