

生长年限、海拔和光照对大黄中 8 种成分量的影响研究

颜永刚, 王红艳, 邓 翀, 张 岗, 陈 莹, 沈 霞, 程虎印, 彭 亮

陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046

摘要: **目的** 分析生长年限、海拔、光照因素对大黄中蒽醌和鞣质类等 8 种成分量的影响, 为大黄种植最佳生长条件的选择提供理论依据。**方法** 采用 HPLC 法同时测定人工种植的 54 批药用大黄样品中芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、大黄酚-1-*O*-葡萄糖苷、大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、(+)-儿茶素 8 种成分的量, 并采用方差分析进行不同生长年限、不同海拔、不同光照环境(阴坡、阳坡)与各成分量的相关性分析。**结果** 1、2、3 年生的游离型蒽醌质量分数平均值分别为 4.26、5.18、8.10 mg/g, 结合型蒽醌质量分数平均值分别为 4.67、5.62、6.76 mg/g, (+)-儿茶素质量分数平均值分别为 3.12、4.18、4.72 mg/g。在海拔(1 300±50)、(1 500±50)、(1 700±50) m 3 个不同的范围, 1 年生与 2 年生和 3 年生比较, 大黄中 8 种成分的量有极显著性差异($P<0.01$)。在 3 个不同的生长年限之中, 海拔(1 300±50) m 处的大黄中 8 种成分的量与(1 500±50) m 和(1 700±50) m 处大黄比较, 有极显著性差异($P<0.01$)。在 3 个不同的生长年限和 3 个不同海拔范围, 阴坡和阳坡的大黄中 8 种成分的量相比, 无显著性差异($P>0.05$)。**结论** 在同一生长年限, 随海拔的升高, 以及同一生长海拔范围, 随生长年限的增加, 大黄中蒽醌和鞣质类的量都呈现明显的上升趋势, 有显著性差异。而光照(阴坡、阳坡)不同时, 大黄中蒽醌和鞣质类的量无显著性差异, 但其蒽醌和鞣质类量的均数阳坡高于阴坡。大黄人工种植宜选择海拔在 1 400 m 以上, 生长年限不低于 3 年, 阳光直接照射的阳坡环境, 有利于提高药用大黄中蒽醌和鞣质类化学成分的总量。

关键词: 大黄; HPLC; 芦荟大黄素; 大黄酸; 大黄素; 大黄酚; 大黄素甲醚; 大黄酚-1-*O*-葡萄糖苷; 大黄素-8-*O*-葡萄糖苷; (+)-儿茶素; 生长年限; 海拔; 光照

中图分类号: R286.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)11-2285-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.11.022

Effects of growth years, altitude, and light factors on contents of eight components in *Rheum officinale*

YAN Yong-gang, WANG Hong-yan, DENG Chong, ZHANG Gang, CHEN Ying, SHEN Xia, CHENG Hu-yin, PENG Liang

Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

Abstract: **Objective** To study the effects of growth factors, altitude, and illumination (shady slope and sunny slope) on anthraquinones and tannins in medicinal rhubarb, and to find the theoretical basis for choosing the optimum growth conditions for rhubarb. **Methods** The contents of aloe-emodin, rhein, emodin, chrysophanol, emodin, chrysophanol-1-*O*-glucoside, emodin-8-*O*-glucoside and (+)-catechin of different growth years at different altitudes and with different illumination were analyzed by variance analysis. **Results** The mean contents of free anthraquinones in 1-, 2-, and 3-year rhubarb were 4.26, 5.18, and 8.10 mg/g, respectively. The mean contents of conjugated anthraquinones were 4.67, 5.62, and 6.76 mg/g, and the contents of (+)-catechin were 3.12, 4.18, and 4.72 mg/g, respectively. There were significant differences among the three altitude ranges of (1 300±50), (1 500±50), and (1 700±50) m. There were significant differences between (1 300±50) m and (1 500±50) m and (1 700±50) m in three different growth years ($P<0.01$). There was no significant difference between shady slope and sunny slope in three different growth years and different altitudes (1 300±50 m, 1 500±50 m, 1 700±50 m) ($P>0.05$). **Conclusion** The contents of anthraquinones and tannins in rhubarb increase significantly with the increase of altitude with the same growth range and in the same growth year. There is significant difference between the growth years. When the illumination (shady slope and sunny slope) was different, there is no significant difference in the anthraquinone and tannin contents, but the average contents of anthraquinone and tannin in the sunny slope are

收稿日期: 2016-12-23

基金项目: 中医药公共卫生专项“国家基本药物所需中药原料资源调查和监测项目”(财社[2011]76号); 中医药行业科研专项“我国代表性区域特色中药资源保护利用”(201207002); 陕西省教育厅科研计划项目(14JK1204); 陕西省教育厅重点实验科研计划项目(14JK1204)

作者简介: 颜永刚(1978—), 男, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 主要从事中药品种、品质与资源开发研究工作。E-mail: yunfeng828@163.com

higher than those in the shady slope. Artificial cultivation of medicinal rhubarb should be selected at an altitude of 1 400 m above the growth year of not less than 3 years, direct sunshine environment, which is conducive to improve the total contents of anthraquinone and tannin in medicinal rhubarb.

Key words: *Rheum officinale* Baill; HPLC; aloe-emodin; rhein; emodin; chrysophanol; chrysophanol-1-*O*-glucoside; emodin-8-*O*-glucoside; (+)-catechin; growth year; elevation; illumination

大黄 *Rheum officinale* Baill 的根及根茎作为传统中药大黄应用于临床,《中国药典》2015 年版收载为中药大黄正品之一,性寒,味苦,具有泻下攻积、清热泻火、凉血解毒、逐瘀通经、收敛、利湿退黄等功效^[1]。现代研究表明,其主要含有蒽醌类、酚类、鞣质、氨基酸、微量元素等化学成分,在致泻、抗菌、抗病毒、调节免疫、止血、抗炎、利尿、保护肝脏以及治疗肠梗阻、胰腺炎、肾炎、急性呼吸窘迫综合症等方面均具有显著的临床疗效^[2-5]。

中药材是中医药发展的重要物质基础,目前市场需求量逐年增加,但野生资源紧缺,不能满足人们的需求,而中药材生产是解决这一矛盾的主要途径。市场上供给的中药材因种质、生长年限、生长环境、采收加工等多方面的因素,导致其质量参差不齐。本课题组在开展全国第 4 次中药资源普查试点(陕西省镇巴县)工作过程中,发现镇巴县人工种植药用大黄的面积较大,但种植户对影响大黄质量的种质、生态环境、土壤、生长年限、水肥土肥、产地加工等因素的认识比较模糊,以经验生产为主。鉴于此,本实验采集镇巴县 54 批大黄样品,通过 HPLC 法测定其中的蒽醌和鞣质类成分,分析其生长环境(地形、海拔)、生长年限等因素对大黄中 8 种成分的影响,以便为大黄进一步科学生产及药材种植最佳生长条件的选择提供理论依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

U-3000 高效液相色谱仪(美国戴安公司),包括四元超高压溶剂系统、自动进样恒温样品管理器、UV2489 检测器、Chromeleon 色谱工作站;GB204 型电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);KQ-200KED 超声波清洗机(江苏昆山市超声仪器有限公司);DHG-9140A 电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司);中兴 FW-200 高速万能粉碎机(北京中兴伟业仪器有限公司)。

1.2 材料

对照品 (+)-儿茶素(批号 11c15)购自天津西玛科技有限公司,大黄酚-1-*O*-葡萄糖苷(批号 110796-200615)、大黄素-8-*O*-葡萄糖苷(批号

10756-200110)、芦荟大黄素(批号 03071201)、大黄素(批号 110795-200505)、大黄酚(批号 110796-200615)、大黄酸(批号 0757-200206)、大黄素甲醚(批号 110758-200610)购自中国食品药品检定研究院,所有对照品的质量分数均大于 98%。色谱甲醇(批号 20150603)购自上海泰坦科技有限公司;娃哈哈纯净水(批号 20150702)购自杭州娃哈哈集团有限公司;其他试剂均为分析纯。

54 批大黄药材样品分别于 2014、2015、2016 年 11 月上旬采于陕西省镇巴县大池乡大黄种植基地(人工田间管理一致)。经陕西中医药大学胡本祥教授鉴定均为大黄 *Rheum officinale* Baill 的根及根茎。样品采集信息见表 1。药材加工处理,统一除去外皮,切制成 1 cm 厚的薄片,以《中国药典》2015 年版中对根及根茎类药材干燥要求为依据,在 50 ℃条件下恒温干燥。

2 方法和结果

2.1 色谱条件

Thermo C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇(A)-0.2%乙酸水(B)溶液,梯度洗脱:0~5 min, 5%~15% A; 5~15 min, 15%~30% A; 15~25 min, 30%~35% A; 25~30 min, 35%~42% A; 30~45 min, 42% B~53% A; 45~66 min, 53%~68% A; 66~75 min, 68%~100% A; 75~85 min, 100% A。检测波长 260 nm,柱温 30 ℃,体积流量 0.8 mL/min,进样量 10 μL。色谱图见图 1。

2.2 溶液的制备

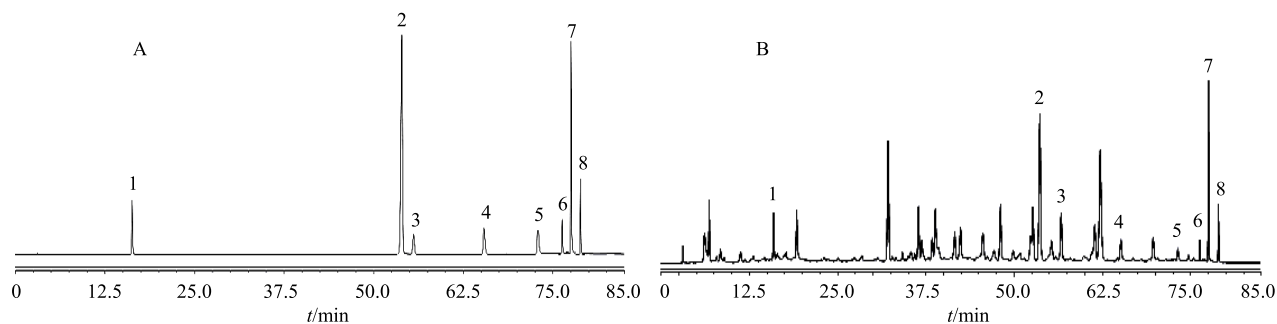
2.2.1 混合对照品溶液制备 分别取 (+)-儿茶素、大黄酚-1-*O*-葡萄糖苷、大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚对照品适量,精密称定,分别置 10 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制成质量浓度分别为 1.440 0、8.048 0、0.889 6、0.087 6、0.075 0、0.594 0、13.689 0、0.296 4 mg/mL 的混合对照品储备液。4 ℃保存备用。

2.2.2 供试品溶液制备 取大黄干燥药材,粉碎(过 60 目筛),混匀,取 1 g,精密称定,置 25 mL 具塞锥形瓶中,精密加入 24 mL 甲醇,称定质量。超声

表 1 54 批样品采集信息

Table 1 Collected information of 54 samples

编号	生长环境	海拔/m	年限/年	编号	生长环境	海拔/m	年限/年	编号	生长环境	海拔/m	年限/年
1	山坡, 阳坡	1 291.20	1	19	路边, 阳坡	1 316.50	2	37	山坡, 阳坡	1 258.20	3
2	路边, 阳坡	1 347.50	1	20	路边, 阳坡	1 278.40	2	38	路边, 阳坡	1 286.40	3
3	山坡, 阳坡	1 303.20	1	21	路边, 阳坡	1 350.70	2	39	山坡, 阳坡	1 330.10	3
4	山坡, 阴坡	1 289.30	1	22	林下, 阴坡	1 263.10	2	40	河边, 阴坡	1 332.30	3
5	路边, 阴阳	1 326.40	1	23	路边, 阴坡	1 328.30	2	41	路边, 阴坡	1 309.90	3
6	山坡, 阴坡	1 345.10	1	24	林下, 阴坡	1 283.10	2	42	路边, 阴坡	1 328.30	3
7	山坡, 阳坡	1 478.40	1	25	林下, 阳坡	1 476.90	2	43	山坡, 阳坡	1 482.20	3
8	山坡, 阳坡	1 487.30	1	26	山坡, 阳坡	1 545.80	2	44	路边, 阳坡	1 526.40	3
9	山坡, 阳坡	1 548.40	1	27	山坡, 阳坡	1 548.70	2	45	山坡, 阳坡	1 490.10	3
10	山坡, 阴坡	1 491.20	1	28	路边, 阴坡	1 482.10	2	46	河边, 阴坡	1 532.30	3
11	路边, 阴阳	1 547.50	1	29	山坡, 阴坡	1 492.40	2	47	路边, 阴坡	1 509.90	3
12	山坡, 阴坡	1 523.20	1	30	山坡, 阴坡	1 503.40	2	48	路边, 阴坡	1 498.30	3
13	山坡, 阳坡	1 667.40	1	31	山坡, 阳坡	1 675.80	2	49	路边, 阳坡	1 706.90	3
14	山坡, 阳坡	1 689.40	1	32	山坡, 阳坡	1 724.20	2	50	路边, 阳坡	1 738.90	3
15	山坡, 阳坡	1 691.20	1	33	山坡, 阳坡	1 678.30	2	51	路边, 阳坡	1 696.90	3
16	山坡, 阴坡	1 696.80	1	34	山坡, 阴坡	1 718.50	2	52	河边, 阴坡	1 732.30	3
17	路边, 阴坡	1 702.30	1	35	山坡, 阴坡	1 696.60	2	53	路边, 阴坡	1 729.90	3
18	山坡, 阴坡	1 726.80	1	36	山坡, 阴坡	1 678.60	2	54	路边, 阴坡	1 688.30	3



1-(+)-儿茶素 2-大黄酚-1-O-葡萄糖苷 3-大黄素-8-O-葡萄糖苷 4-芦荟大黄素 5-大黄酸 6-大黄素 7-大黄酚 8-大黄素甲醚
1-(+)-catechins 2-chrysophanol-1-O-glucoside 3-emodin-8-O-glucoside 4-aloe-emodin 5-rhein 6-emodin 7-chrysophanol 8-phycion

图 1 混合对照品 (A) 及样品 (B) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC of mixed reference substances (A) and sample (B)

处理 (功率 500 W, 频率 40 kHz) 30 min, 放至室温, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液过 0.45 μm 微孔滤膜, 作为供试品溶液, 待测。

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系考察 精密量取混合对照品储备液 0.1、0.4、0.8、1.6、3.0 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 得系列混合对照品溶液。按照“2.1”项下的色谱条件分别进样 10 μL , 记录色谱图。分别以对照品溶液质量浓度为横坐标 (X), 峰

面积为纵坐标 (Y), 进行线性回归, 8 种待测成分的线性回归方程、线性范围和相关系数 (r) 见表 2。

2.3.2 精密度试验 取“2.2.1”项下混合对照品溶液, 每次进样 5 μL , 连续进样 6 次, 记录 (+)-儿茶素、大黄酚-1-O-葡萄糖苷、大黄素-8-O-葡萄糖苷, 芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的峰面积积分值, 计算得 RSD 分别为 0.78%、1.54%、1.46%、1.07%、1.08%、1.41%、0.86%、1.25%, 表明仪器精密度良好。

表 2 8 种成分回归方程及线性范围

Table 2 Regression equations and linear ranges of eight constituents

成分	回归方程	线性范围/ μg	R^2
(+)-儿茶素	$Y=3.742\ 2\ X-0.061\ 9$	0.180 0~ 5.440 0	0.999 6
大黄酚-1- <i>O</i> -葡萄糖苷	$Y=20.901\ X+3.180\ 8$	0.402 4~ 8.048 0	0.999 6
大黄素-8- <i>O</i> -葡萄糖苷	$Y=17.327\ X+0.218\ 3$	0.044 5~ 0.889 6	0.999 8
芦荟大黄素	$Y=1\ 341.6\ X+0.547\ 2$	0.002 9~ 0.087 6	0.999 9
大黄酸	$Y=519.21\ X+0.230\ 7$	0.002 5~ 0.075 0	0.999 9
大黄素	$Y=60.12\ X+0.311\ 5$	0.019 8~ 0.594 0	0.999 8
大黄酚	$Y=7.208\ 7\ X+0.384\ 5$	0.456 3~ 13.689 0	0.999 7
大黄素甲醚	$Y=51.316\ X+0.055\ 0$	0.009 8~ 0.296 4	0.999 8

2.3.3 稳定性试验 精密吸取 18 号供试品溶液, 分别于制备后的 0、2、4、8、16、24 h 进样 10 μL 测定, 记录(+)-儿茶素、大黄酚-1-*O*-葡萄糖苷、大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的峰面积积分值, 计算得 RSD 分别为 1.15%、1.36%、0.24%、0.32%、0.26%、1.46%、0.22%和 1.24%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.3.4 重复性试验 取 18 号大黄干燥药材粉末样品 6 份, 精密称定, 按“2.2.2”项下方法平行制备供试品溶液, 分别进样, 测定峰面积。计算(+)-儿茶素、大黄酚-1-*O*-葡萄糖苷、大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚平均质量分数的 RSD 分别为 1.72%、1.09%、0.39%、0.18%、0.21%、0.16%、0.89%和 0.68%, 表明方法的重复性良好。

2.3.5 加样回收率试验 取 18 号大黄样品粉末

(过 6 号筛) 6 份, 各 0.2 g, 精密称定, 分别加入低、中、高 3 个质量浓度的对照品溶液(分别相当于大黄原有质量分数的 80%、100%、120%), 每一质量浓度取 3 份, 按“2.2.2”项下供试品溶液制备方法制备样品, 根据测得量和加入量计算各成分的加样回收率和 RSD。(+)-儿茶素、大黄酚-1-*O*-葡萄糖苷、大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的平均回收率为 96.69%~100.1%, RSD 为 0.38%~1.59%。表明方法的准确度良好。

2.4 样品定量测定

取 54 批待测药用大黄干燥叶样品各 20 g, 粉碎, 过 60 目筛。精密称取各样品 1 g, 每个样品平行称 2 份, 按“2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 并按“2.1”项下色谱条件进行 8 种化学成分的定量分析, 测定各成分峰面积, 代入回归方程, 计算各成分在样品中的质量分数。结果见表 3。

表 3 54 批大黄样品中 8 种成分的量 ($n=3$)Table 3 Contents of eight constituents in 54 samples in *R. officinale* ($n=3$)

样品	质量分数/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)							
	(+)-儿茶素	大黄酚-1- <i>O</i> -葡萄糖苷	大黄素-8- <i>O</i> -葡萄糖苷	芦荟大黄素	大黄酸	大黄素	大黄酚	大黄素甲醚
1	2.437 6	3.707 8	0.532 9	0.000 9	0.001 5	0.031 8	3.656 2	0.087 2
2	2.851 4	3.974 4	0.555 9	0.001 1	0.001 8	0.034 7	3.747 6	0.123 2
3	2.546 5	3.846 2	0.548 2	0.001 0	0.001 6	0.033 6	3.674 9	0.115 4
4	2.395 4	3.401 8	0.502 6	0.000 8	0.001 3	0.030 6	3.562 7	0.065 3
5	2.614 4	3.497 3	0.546 5	0.001 1	0.001 4	0.031 2	3.747 5	0.112 3
6	2.623 6	3.514 3	0.541 6	0.000 9	0.001 4	0.031 8	3.614 8	0.113 5
7	2.929 3	4.055 7	0.569 2	0.001 2	0.001 6	0.042 8	3.962 8	0.142 5
8	3.089 2	4.121 3	0.573 8	0.001 3	0.001 9	0.043 9	4.032 8	0.149 6
9	3.399 3	4.227 6	0.564 3	0.001 4	0.001 7	0.048 6	4.292 8	0.153 6
10	2.911 4	4.035 7	0.531 5	0.001 1	0.014 0	0.042 1	3.931 6	0.152 1
11	3.212 3	4.102 6	0.556 2	0.001 2	0.001 5	0.045 6	4.071 4	0.149 8

续表 3

样品	质量分数/(mg·g ⁻¹)							
	(+)-儿茶素	大黄酚-1- <i>O</i> -葡萄糖苷	大黄素-8- <i>O</i> -葡萄糖苷	芦荟大黄素	大黄酸	大黄素	大黄酚	大黄素甲醚
12	3.101 5	4.101 5	0.556 9	0.001 2	0.001 5	0.044 3	4.161 5	0.149 8
13	3.725 5	4.425 6	0.702 5	0.001 5	0.002 2	0.049 9	4.511 4	0.176 2
14	3.726 3	4.428 4	0.706 6	0.001 5	0.002 2	0.049 8	4.509 7	0.177 9
15	3.725 2	4.436 3	0.711 5	0.001 7	0.002 2	0.050 7	4.513 6	0.177 5
16	3.656 3	4.435 6	0.700 6	0.001 4	0.002 1	0.049 5	4.419 7	0.167 8
17	3.657 4	4.437 5	0.701 5	0.001 6	0.002 2	0.049 2	4.411 4	0.167 5
18	3.659 2	4.438 2	0.701 8	0.001 5	0.002 1	0.050 1	4.469 7	0.168 9
19	3.966 9	4.674 3	0.711 2	0.001 9	0.002 3	0.051 3	4.679 6	0.197 5
20	3.962 3	4.505 5	0.706 8	0.001 8	0.002 2	0.051 1	4.619 6	0.197 8
21	4.065 4	4.779 5	0.712 6	0.002 2	0.002 4	0.052 6	4.727 5	0.199 8
22	3.820 4	4.423 8	0.701 9	0.001 8	0.002 1	0.050 9	4.597 6	0.183 1
23	3.967 2	4.579 5	0.707 1	0.002 1	0.002 3	0.052 1	4.687 2	0.187 3
24	3.819 8	4.523 8	0.704 6	0.001 8	0.002 1	0.050 8	4.598 3	0.183 4
25	4.181 7	4.806 6	0.757 8	0.002 3	0.002 4	0.054 1	4.958 5	0.206 5
26	4.293 6	4.829 3	0.760 2	0.002 4	0.002 6	0.054 6	4.975 6	0.215 8
27	4.302 3	4.979 4	0.762 4	0.002 5	0.002 6	0.055 2	4.977 2	0.217 3
28	4.156 3	4.809 1	0.739 3	0.002 3	0.002 4	0.053 7	4.778 9	0.205 7
29	4.147 1	4.815 3	0.742 4	0.002 3	0.002 5	0.053 6	4.792 1	0.209 3
30	4.195 4	4.825 8	0.749 3	0.002 4	0.002 5	0.054 2	4.878 9	0.209 4
31	4.396 2	5.114 1	0.897 3	0.002 6	0.002 8	0.058 2	5.192 1	0.239 2
32	4.447 1	5.126 8	0.902 4	0.002 8	0.002 9	0.059 3	5.262 1	0.248 3
33	4.495 9	5.113 9	0.897 6	0.002 6	0.002 8	0.057 9	5.188 5	0.239 1
34	4.327 8	5.023 9	0.898 5	0.002 7	0.002 8	0.058 9	5.231 6	0.239 5
35	4.370 9	5.013 6	0.896 4	0.002 5	0.002 7	0.058 1	5.161 4	0.232 4
36	4.321 6	5.012 8	0.895 1	0.002 5	0.002 7	0.056 9	5.099 3	0.228 4
37	4.516 5	5.280 4	1.066 7	0.003 1	0.003 2	0.061 2	6.430 6	0.252 4
38	4.548 2	5.328 2	1.069 8	0.003 1	0.003 2	0.069 6	6.420 2	0.254 3
39	4.600 9	5.412 6	1.110 6	0.003 2	0.003 4	0.075 8	6.850 4	0.275 3
40	4.551 3	5.235 1	0.968 9	0.003 0	0.003 3	0.074 2	6.627 6	0.267 4
41	4.539 6	5.213 5	0.925 7	0.002 8	0.003 1	0.068 3	6.498 9	0.251 5
42	4.547 2	5.235 3	0.977 3	0.003 0	0.003 2	0.072 7	6.623 1	0.268 6
43	4.676 9	5.510 4	1.206 6	0.003 4	0.003 5	0.080 2	7.030 6	0.289 4
44	4.708 9	5.628 2	1.229 8	0.003 5	0.003 6	0.087 3	7.420 2	0.296 3
45	4.679 2	5.542 6	1.190 6	0.003 4	0.003 5	0.081 4	7.050 4	0.289 3
46	4.708 2	5.615 1	1.220 9	0.003 3	0.003 5	0.086 3	7.417 6	0.296 4
47	4.679 8	5.512 2	1.205 7	0.003 2	0.003 4	0.082 6	7.298 9	0.289 5
48	4.672 5	5.511 3	1.191 3	0.003 2	0.003 4	0.079 7	7.004 3	0.288 6
49	4.910 2	5.798 6	1.421 7	0.003 7	0.003 9	0.098 1	8.432 7	0.304 5
50	4.926 3	5.812 7	1.456 9	0.003 9	0.004 1	1.030 1	8.734 5	0.312 7
51	4.897 5	5.789 2	1.406 3	0.003 6	0.003 8	0.970 1	8.332 8	0.299 6
52	4.919 6	5.810 3	1.446 5	0.003 8	0.004 1	1.013 6	8.642 3	0.310 8
53	4.917 2	5.810 5	1.438 2	0.003 8	0.004 1	1.004 5	8.639 4	0.309 4
54	4.889 2	5.786 4	1.386 4	0.003 5	0.003 7	0.968 3	8.198 6	0.298 1

2.5 大黄生长过程中主要影响因素分析

2.5.1 不同生长年限对大黄中 8 种成分量的影响 结果显示, 在不同的海拔范围内, 随着生长年限的增加, 大黄中芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、大黄酚-1-*O*-葡萄糖苷、大

黄素-8-*O*-葡萄糖苷、(+)-儿茶素的量不同程度的升高。在海拔 (1 300±50)、(1 500±50)、(1 700±50) m 3 个范围内, 分别比较 1、2、3 年生大黄中各成分的量, 有极显著性差异 ($P<0.01$)。结果见表 4。

表 4 不同生长年限对药用大黄中 8 种成分量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 4 Effects of different growth years on contents of eight components in *R. officinale* ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

海拔/m	生长年限/年	质量分数/(mg·g ⁻¹)							
		(+)-儿茶素	大黄酚-1- <i>O</i> -葡萄糖苷	大黄素-8- <i>O</i> -葡萄糖苷	芦荟大黄素	大黄酸	大黄素	大黄酚	大黄素甲醚
1 300±50	1	2.578±0.163	3.657±0.224	0.538±0.019	0.001 0±0.000 1	0.001 5±0.000 2	0.032 3±0.001 6	3.667±0.073	0.102 8±0.022 0
	2	3.934±0.096**	4.581±0.128**	0.707±0.004**	0.001 9±0.000 2**	0.002 2±0.000 1**	0.051 5±0.000 7**	4.652±0.054**	0.191 5±0.007 7**
	3	4.551±0.028**	5.284±0.075**	1.019±0.072**	0.003 0±0.000 1**	0.003 2±0.000 1**	0.070 3±0.005 2**	6.575±0.162**	0.261 6±0.010 1**
1 500±50	1	3.107±0.183	4.107±0.067	0.559±0.015	0.001 2±0.000 1	0.003 7±0.005 0	0.044 6±0.002 3	4.075±0.134	0.149 6±0.003 8
	2	4.213±0.068**	4.844±0.067**	0.752±0.001**	0.002 4±0.000 1**	0.002 5±0.000 1**	0.054 2±0.000 6**	4.894±0.091**	0.210 7±0.004 8**
	3	4.688±0.016**	5.553±0.054**	1.207±0.016**	0.003 3±0.000 1**	0.003 5±0.000 1	0.082 9±0.003 2**	7.204±0.197**	0.291 6±0.003 7**
1 700±50	1	3.692±0.037	4.434±0.005	0.704±0.004	0.001 5±0.000 1	0.002 2±0.000 1	0.049 7±0.000 5	4.473±0.047	0.172 6±0.005 1
	2	4.393±0.068**	5.068±0.056**	0.898±0.002**	0.002 6±0.000 1**	0.002 9±0.000 1**	0.058 2±0.000 8**	5.189±0.057**	0.237 8±0.006 8**
	3	4.910±0.014**	5.801±0.012**	1.426±0.026**	0.003 7±0.000 1**	0.004 0±0.000 2**	0.094 6±0.025 3**	8.497±0.209**	0.305 9±0.006 1**

与 1 年生比较, ** $P<0.01$, * $P<0.05$

Compared with 1 year growth, ** $P<0.01$, * $P<0.05$

2.5.2 不同海拔对药用大黄中 8 种成分量的影响 结果显示, 在不同的生长年限之中, 随着海拔范围的增加, 大黄中芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、大黄酚-1-*O*-葡萄糖苷、大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、(+)-儿茶素的量不同程度的升高。在 1、2、3 年生 3 个不同的生长年限, 海拔 (1 300±50) m 处采收的大黄中各成分的量与海拔 (1 500±50)、(1 700±50) m 处比较, 有极显著性差异 ($P<0.01$)。结果见表 5。

2.5.3 不同光照 (阴坡与阳坡) 对大黄中 8 种成分量的影响 实验结果显示, 在不同的生长年限之中, 阳坡和阴坡大黄样品中芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、大黄酚-1-*O*-葡萄糖苷、大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、(+)-儿茶素的量发生不同程度的变化。在 3 个不同的生长年限, 分别比较阳坡与阴坡大黄中各成分的量, 无显著性差异 ($P>0.05$)。结果见表 6。

表 5 不同海拔对药用大黄中 8 种成分量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 5 Effects of different elevation on contents of eight components in *R. officinale* ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

生长年限/年	海拔/m	质量分数/(mg·g ⁻¹)							
		(+)-儿茶素	大黄酚-1- <i>O</i> -葡萄糖苷	大黄素-8- <i>O</i> -葡萄糖苷	芦荟大黄素	大黄酸	大黄素	大黄酚	大黄素甲醚
1	1 300±50	2.578±0.163	3.657±0.224	0.538±0.019	0.001 0±0.000 1	0.001 5±0.000 2	0.032 3±0.001 6	3.667±0.073	0.102 8±0.022 0
	1 500±50	3.107±0.183**	4.107±0.067**	0.559±0.015	0.001 2±0.000 1**	0.003 7±0.005 0	0.044 6±0.002 3**	4.075±0.134**	0.149 6±0.003 8**
	1 700±50	3.692±0.037**	4.434±0.005**	0.704±0.004**	0.001 5±0.000 1**	0.002 2±0.000 1**	0.049 7±0.000 5**	4.473±0.047**	0.172 6±0.005 1**
2	1 300±50	3.934±0.096	4.581±0.128	0.707±0.004	0.001 9±0.000 2	0.002 2±0.000 1	0.051 5±0.000 7	4.652±0.054	0.191 5±0.007 7
	1 500±50	4.213±0.068**	4.844±0.067**	0.752±0.001**	0.002 4±0.000 1**	0.002 5±0.000 1**	0.054 2±0.000 6**	4.894±0.091**	0.210 7±0.004 8**
	1 700±50	4.393±0.068**	5.068±0.056**	0.898±0.002**	0.002 6±0.000 1**	0.002 9±0.000 1**	0.058 2±0.000 8**	5.189±0.057**	0.237 8±0.006 8**
3	1 300±50	4.551±0.028	5.284±0.075	1.019±0.072	0.003 0±0.000 1	0.003 2±0.000 1	0.070 3±0.005 2	6.575±0.162	0.261 6±0.010 1
	1 500±50	4.688±0.016**	5.553±0.054**	1.207±0.016**	0.003 3±0.000 1**	0.003 5±0.000 1**	0.082 9±0.003 2**	7.204±0.197**	0.291 6±0.003 7**
	1 700±50	4.910±0.014**	5.801±0.012**	1.426±0.026**	0.003 7±0.000 1**	0.004 0±0.000 2**	0.094 6±0.025 3**	8.497±0.209**	0.305 9±0.006 1**

表 6 不同光照 (阴坡与阳坡) 对大黄中 8 种成分量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=9$)Table 6 Effects of different illumination (shady and sunny) on contents of eight components in *R. officinale* ($\bar{x} \pm s, n=9$)

生长年限/年	光照	质量分数/(mg·g ⁻¹)							
		(+)-儿茶素	大黄酚-1- <i>O</i> -葡萄糖苷	大黄素-8- <i>O</i> -葡萄糖苷	芦荟大黄素	大黄酸	大黄素	大黄酚	大黄素甲醚
1	阳坡	3.158 9±0.508 5	4.135 9±0.266 5	0.607 2±0.075 7	0.001 9±0.000 3	0.001 9±0.000 3	0.042 9±0.007 6	4.100 2±0.365 8	0.144 8±0.031 4
	阴坡	3.092 4±0.492 4	3.996 1±0.424 5	0.593 2±0.082 6	0.001 2±0.000 3	0.003 1±0.000 4	0.041 6±0.008 2	4.043 4±0.351 5	0.138 6±0.034 9
2	阳坡	4.234 6±0.157 7	4.881 0±0.204 3	0.789 8±0.152 9	0.002 3±0.000 3	0.002 6±0.000 3	0.054 9±0.009 3	4.953 4±0.878 7	0.217 9±0.021 3
	阴坡	4.125 2±0.211 4	4.780 8±0.225 0	0.781 6±0.088 0	0.002 3±0.000 3	0.002 5±0.000 3	0.054 4±0.003 0	4.869 5±0.240 9	0.208 7±0.021 4
3	阳坡	4.718 3±0.157 7	5.567 0±0.204 3	1.234 0±0.152 9	0.003 4±0.000 3	0.003 6±0.000 3	0.381 9±0.005 9	7.411 4±0.878 7	0.286 0±0.021 3
	阴坡	4.713 8±0.158 9	5.525 5±0.251 2	1.195 7±0.203 4	0.003 3±0.000 4	0.003 5±0.000 4	0.383 4±0.009 5	7.439 0±0.857 5	0.286 7±0.020 2

3 讨论

3.1 测定成分的选择

现代研究表明,大黄中主要含有蒽醌类、酚类、鞣质类、氨基酸等多种化学成分,其中蒽醌和鞣质类的生物活性显著^[2-5]。综合分析,本实验测定了大黄中芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、大黄酚-1-*O*-葡萄糖苷、大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、儿茶素 8 种成分的量^[6-10],并进一步采用方差分析探索生长年限、海拔、光照(阴坡、阳坡)在大黄种植生产过程中对其化学成分的影响。

3.2 结果分析

本实验样品为药用大黄单一品种,属《中国药典》2015 年版大黄的正品来源之一,田间管理和药材处理条件相同,54 批样品平齐度良好。进行生长年限、海拔、光照(阳坡、阴坡)影响因素分析比较合理^[11-12]。从测定结果分析,阳坡和阴坡样品数目相等的条件下,在同一海拔范围,不同生长周期(1、2、3 年)的样品,以及同一生长周期,不同海拔范围的样品中,8 种化学成分的量呈现明显的增加趋势,并且具有统计学意义。另外,在同一生长周期和同一海拔范围之中,阳坡和阴坡大黄中 8 种化学成分的量无显著性差异,但 8 种成分量的平均值阳坡高于阴坡。故初步得出结论,大黄种植宜选择海拔超过 1 400 m,生长年限不低于 3 年,阳光直接照射的阳坡环境。这为药用大黄种植生产选择适宜的生长条件提供了理论依据。而水肥、土肥、土壤、产地加工以及种质等因素与其成分的量也有一定关系,后期将进一步深入研究。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草. 第五卷 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.
- [3] 孙 慧, 朱 超, 章弘扬, 等. 大黄及其炮制品的液质联用分析及物质基础比较 [J]. 中成药, 2009, 31(3): 420-424.
- [4] 王 勤, 邸多隆, 蒋生祥, 等. 大黄类药物分析方法研究概况 [J]. 中成药, 2007, 29(8): 1199-1201.
- [5] 熊辉岩, 张晓峰, 谭大风, 等. 大黄属三种植物不同部分提取物清除羟基自由基的体外实验研究 [J]. 食品科学, 2003, 24(1): 128-130.
- [6] 颜永刚, 尹立敏, 王红艳, 等. HPLC 法同时测定大黄叶中 9 种成分 [J]. 中草药, 2016, 47(13): 2360-2364.
- [7] 卫 昊, 冯改利, 郑 洁, 等. 清蒸和酒蒸对大黄中 9 种化学成分的影响分析 [J]. 中成药, 2013, 35(3): 777-780.
- [8] 毛春芳, 施 忠, 罗 琳, 等. HPLC 法同时测定大黄中芦荟大黄素等 11 种成分的量 [J]. 中草药, 2014, 45(16): 2400-2403.
- [9] 颜永刚, 王红艳, 郭玲玲, 等. 不同炮制方法对中药大黄中 10 种化学成分的影响 [J]. 中国药房, 2016, 27(27): 3839-3842.
- [10] 刘昌孝, 陈士林, 肖小河, 等. 中药质量标志物 (Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1443-1457.
- [11] 付绍智, 王婷婷, 高文远, 等. 基于主成分分析的不同初加工方法大黄的蒽醌及酚酸类成分比较研究 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(5): 833-837.
- [12] 杨俊杰, 李 林, 季 德, 等. 中药材产地加工与炮制一体化的历史沿革与现代研究探讨 [J]. 中草药, 2016, 47(15): 2751-2757.