

HPLC 分析不同年限药用大黄不同部位中 10 种成分的积累特征

李 欢¹, 黑小斌¹, 李依民¹, 王光辉², 徐 进³, 成世强³, 沈 霞¹, 高 静¹, 颜永刚^{1*}, 张 岗^{1*}

1. 陕西中医药大学药学院/陕西省秦岭中草药应用开发工程技术研究中心, 陕西 西安 712046

2. 兴隆镇鹏辉富强农牧有限公司, 陕西 镇巴 723601

3. 镇巴县科学技术局, 陕西 镇巴 723600

摘 要: 目的 分析 1、2、3 年生药用大黄 *Rheum officinale* 根、根茎、叶片中 10 种成分的含量及变化规律, 为大黄质量评价和药材高效生产提供理论依据。方法 采用 HPLC 法测定大黄中各成分的含量; 借助 SPSS 24.0 进行单因素方差分析和多重比较。结果 建立的 HPLC 分析体系线性范围良好 ($r^2 > 0.997$), 精密度、稳定性、重复性 RSD 均小于 2%, 加样回收率 96.10%~107.10%。含量分析结果表明, 同一部位中, 没食子酸的含量逐年或次年下降 ($P < 0.05$), 大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、番泻苷 B 的含量逐年或第 3 年显著增加 ($P < 0.05$); 根中大黄酚-8-*O*-葡萄糖苷、芦荟大黄素含量次序为 3 年生 > 1 年生 > 2 年生、1 年生 > 3 年生 > 2 年生 ($P < 0.05$), 二者在根茎及叶片中逐年或第 3 年增加 ($P < 0.05$); 根或根茎儿茶素含量随年份增加, 叶片中降低。同一年限内, 除大黄素甲醚、大黄酚-8-*O*-葡萄糖苷外, 根或根茎其他 8 种成分的含量显著高于叶片 ($P < 0.05$); 根中大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、没食子酸、儿茶素的含量高于根茎 ($P < 0.05$) 或与之相当; 2 年生大黄酚-8-*O*-葡萄糖苷根茎中含量高于根中 ($P < 0.05$); 2、3 年生大黄番泻苷 B 的含量在根、根茎、叶片依次显著降低 ($P < 0.05$), 芦荟大黄素的含量依次为根茎 > 根 > 叶片 ($P < 0.05$)。结论 基于 HPLC 分析的药用大黄 10 种成分在不同年限、不同部位样品中差异积累; 同一部位样品中多数成分含量随生长年限延长而增加; 同一年份的根或根茎中多数成分含量高于叶片; 3 年生大黄根及根茎中成分含量最高。

关键词: 大黄; 积累特征; 高效液相色谱法; 大黄酸; 大黄素; 大黄酚; 大黄素甲醚; 大黄素-8-*O*-葡萄糖苷; 番泻苷 B
中图分类号: R286.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)07-1690-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.07.029

Characterization of accumulation profile of 10 constituents in various parts of *Rheum officinale* at different years old stage

LI Huan¹, HEI Xiao-bin¹, LI Yi-min¹, WANG Guang-hui², XU Jin³, CHENG Shi-qiang³, SHEN Xia¹, GAO Jing¹, YAN Yong-gang¹, ZHANG Gang¹

1. College of Pharmacy and Shaanxi Qinling Application Development and Engineering Center of Chinese Herbal Medicine, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xi'an 712046, China

2. Penghui Prosperity Agriculture & Animal Husbandry Co., Ltd., in Xinglong Town, Zhenba 723601, China

3. Science and Technology Bureau of Zhenba County, Zhenba 723600, China

Abstract: Objective To analyze the content and variation rules of 10 constituents in radix, rhizome, and leaf of *Rheum officinale* at one-, two-, and three-year-old stage, respectively, and provide theoretical guidance for efficient production and quality control of the crud drug. **Methods** The content of each constituent in *R. officinale* was determined by high performance liquid chromatography (HPLC), and one factor analysis of variance and multiple comparison were performed by SPSS 24.0. **Results** HPLC system was established for the determination of 10 components in *R. officinale*. The linear range was good ($r^2 > 0.997$), RSD of precision, stability, and repeatability were less than 2%, and the recoveries were 96.10%—107.10%, respectively. The content analyses showed that, in the same part, the content of gallic acid decreased significantly year by year or at the 2nd growth years ($P < 0.05$); The contents of rhein, emodin, chrysophanol, emodin monomethyl ether, emodin-8-*O*-glucoside, and sensenoside B increased significantly year by year or at

收稿日期: 2018-11-21

基金项目: 陕西中医药大学“秦药”品质评价及资源开发创新团队项目; 陕西中医药大学新进博士科研启动经费 (104080001); 陕西省高校青年杰出人才支持计划项目; 咸阳市中青年科技领军人才项目; 陕西省科技厅项目 (2016KTTSSF01-01-01)

作者简介: 李 欢, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药资源与分子生物学。E-mail: 1174571544@qq.com

***通信作者** 张 岗, 男, 博士, 教授, 研究方向为中药资源与分子生物学。Tel/Fax: (029)38185165 E-mail: jay_gumling2003@aliyun.com
颜永刚, 男, 博士, 教授, 研究方向为中药品种、品质与资源开发。E-mail: yunfeng828@163.com

the 3rd growth year ($P < 0.05$); The contents of aloe-emodin and chrysophanol-8-*O*-glucoside were in the order of $1 > 3 > 2$ ($P < 0.05$), $3 > 1 > 2$ ($P < 0.05$) in radix, and increased significantly year by year or at the 3rd growth year ($P < 0.05$) in rhizome and leaf. Catechins concentration enhanced by year in radix and rhizome, and decreased in leaf ($P < 0.05$). During the same growth year, except emodin methyl ether and chrysophanol-8-*O*-glucoside, the accumulations of other eight components in radix or rhizome displayed significantly higher than those in leaf ($P < 0.05$). The contents of rhein, emodin, chrysophanol, emodin-8-*O*-glucoside, gallic acid, and catechin in radix were higher than those in rhizome ($P < 0.05$), or similar to those in rhizome ($P < 0.05$). Chrysophanol-8-*O*-glucoside accumulated higher in rhizome than that in radix for the two years old plants ($P < 0.05$). The content of sennoside B in radix, rhizome, and leaf successively decreased significantly ($P < 0.05$), and the content of aloe-emodin was in the order of rhizome $>$ radix $>$ leaf ($P < 0.05$).

Conclusion The HPLC based determination of 10 constituents in *R. officinale* showed that the accumulation profiles of the samples at different years or from different parts varied. For the same parts, the contents of most constituents increased year by year. During the same growth year, the contents of most constituents in radix or rhizome were higher than those in leaf. The radix and rhizome of the three years old samples had the highest contents of main constituents.

Key words: *Rheum officinale* Baill.; accumulation profile; HPLC; rhein; emodin; chrysophanol; emodin; monomethyl ether; emodin-8-*O*-glucoside; sennoside B

大黄为蓼科多年生高大草本植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L.、唐古特大黄 *R. tanguticum* Maxim. ex Balf. 或药用大黄 *R. officinale* Baill. 的干燥根及根茎，别名将军、黄良等，性寒、味苦，具有泻下攻积、清热泻火、凉血解毒、逐瘀通经等功效^[1]，临床应用非常广泛。现代研究揭示大黄含有蒽醌类、酚类、鞣质、萜苷类、酰基糖苷类以及有机酸等多种化学成分^[2]，蒽醌类为其主要活性成分，有抗炎、保肝、调节胃肠道及抗肿瘤等药理作用^[3-5]。芦荟大黄素、大黄素、大黄酸、大黄酚和大黄素甲醚 5 种游离蒽醌为《中国药典》2015 年版含量测定的检测指标^[1]。

大黄喜冷凉气候，耐寒，忌高温，生长在海拔 1 200~4 000 m 山沟或林下，野生资源非常有限，现多为栽培品，主产于甘肃、青海、四川和陕西等省高海拔区域。正品大黄 3 种基原的种质遗传差异，适生地域生态环境特殊，加之种植生产过程较为复杂，不同产区大黄蒽醌类成分积累和含量变化较大，导致药材质量不一^[6]。大量研究采用高效液相分析不同产地大黄蒽醌类成分含量，结果表明正品大黄质量差异显著^[7-9]。分子标记研究也揭示药用大黄因地理隔离出现较高的遗传差异^[10]，可能与药材质量有一定相关性。最新研究又发现掌叶大黄蒽醌类成分在根中的种类和量总体高于叶^[11]。唐古特大黄与非药用波叶大黄、穗序大黄比对研究揭示蒽醌类在不同部位差异分布^[12]。因此，探究大黄蒽醌类成分差异积累及药材质量形成问题是亟待解决的科学问题。

陕西为药用大黄主产区之一，主要栽培于汉中市镇巴县全县境内，其药材产量在全国市场上占有一定份额。为了客观地评价镇巴药用大黄质量，在全国第四次中药资源普查试点工作基础上，本课题组

的前期研究发现药用大黄蒽醌类含量与采收年份和海拔有关^[12]。但是，大黄在规范化种植条件下的质量形成本质尚不清楚。基于此，本研究依托镇巴县兴隆镇鹏辉富强农牧有限公司药用大黄种植基地，利用 HPLC 方法考察了不同年限（1 年、2 年、3 年生）及不同部位（根、根茎、叶片）药用大黄中蒽醌类等有效成分含量动态变化规律，为优质大黄的高效生产及资源开发提供依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters 2695 高效液相色谱仪，包括四元超高压溶剂系统、自动进样恒温样品管理器，Waters 2998 PAD 检测器，Empower 3 色谱工作站（Waters 公司，美国）；GB204 型电子分析天平（北京赛多利斯有限公司）；KQ-200KED 超声波清洗机（江苏昆山有限公司）；GZX-9140MBE 电热鼓风干燥箱（上海博迅有限公司）。

1.2 试剂

对照品没食子酸（批号 122811）、儿茶素（批号 11c15）、番泻苷 B（批号 11z15）购自天津西玛科技有限公司；大黄素（批号 110795-200505）、大黄酸（批号 0757-200206）、大黄素甲醚（批号 110758-200610）、大黄酚-8-*O*-葡萄糖苷（批号 110796-200615）、大黄素-8-*O*-葡萄糖苷（批号 10756-200110）购自中国食品药品检定研究院；大黄酚（批号 B2038）和芦荟大黄素（批号 B20772）购自上海源叶生物科技有限公司，质量分数均大于 98%。色谱甲醇购自上海泰坦科技有限公司；娃哈哈纯净水购自杭州娃哈哈集团有限公司；其他试剂均为国产分析纯。

1.3 材料

新鲜药用大黄全株于 2018 年 9 月采自镇巴县鹏辉富强农牧有限公司大黄种植基地, 经陕西中医药大学张岗教授鉴定为药用大黄 *Rheum officinale* Baill.。1 年生 (批号 YY1801~1810)、2 年生 (批号 YY1701~1710)、3 年生 (批号 YY1601~1610) 植株各 10 批, 每批次分别处理为根、根茎、叶片 3 部分, 根和根茎切成薄片, 45 °C 恒温干燥, 备用。

2 方法和结果

2.1 色谱条件

色谱柱为武库 C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 流动相由甲醇 (A) 和 0.2% 磷酸水 (B) 组成, 梯度洗脱: 0~5 min, 5%~15% A; 5~15 min, 15%~30% A; 15~25 min, 30%~35% A; 25~31 min 35%~42% A; 31~46 min, 42%~53% A; 46~66 min, 53%~68% A; 66~75 min, 68%~100% A; 75~85 min, 100% A, 检测波长 260 nm, 柱温 30 °C, 体积流量 1.0 mL/min。进样量为 10 μL。在上述色谱条件下分析, 理论塔板数按各个成分计算均不低于 5 000, 与相邻组分峰的分离度均大于 1.5, 色谱峰对称因子均在 0.95~1.05。典型样品色谱图见图 1。

2.2 对照品溶液制备

精密称取没食子酸、(+)-儿茶素、番泻苷 B、大黄酚-8-*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

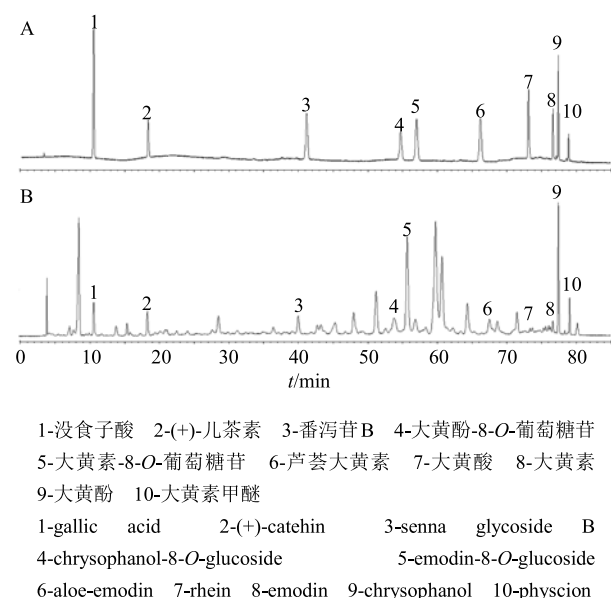


图 1 混合对照品 (A) 及药用大黄 (B) 的 HPLC 分析
Fig. 1 HPLC analysis of mixed reference substances (A) and *R. officinale* (B)

对照品适量, 分别置于 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得到质量浓度分别为 224.0、710.0、656.0、172.0、234.0、79.0、77.0、28.0、48.0、27.0 μg/mL 的对照品储备液。分别精密量取各对照品储备液 1 mL, 甲醇稀释 10 倍, 得到相应质量浓度的混合对照品储备液。4 °C 保存备用。

2.3 供试品溶液制备

取大黄干燥样品, 粉碎成细粉 (过 4 号筛), 混匀, 精密称定 0.100 g, 置 50 mL 具塞锥形瓶中, 精密吸取 4.5 mL 甲醇, 称定质量。超声处理 30 min (功率 500 W, 频率 40 kHz), 放至室温, 再次称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 10 500 r/min 离心 12 min, 取上清液, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 待测。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系考察 精密吸取“2.2”项下混合对照品储备液 2、4、6、8、10、15、20 μL 测定并记录色谱图。分别以对照品溶液进样量为横坐标 (*X*), 峰面积为纵坐标 (*Y*), 绘制标准曲线, 结果表明线性关系良好。线性回归方程、线性范围和相关系数 (*r*²) 见表 1。

2.4.2 精密度试验 取“2.2”项下混合对照品溶液, 连续进样 6 次, 每次进样 10 μL, 记录没食子酸、(+)-儿茶素、番泻苷 B、大黄酚-8-*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 1.82%、0.35%、1.37%、0.59%、1.73%、1.63%、0.99%、0.49%、0.65%、0.12%, 均小于 2.00%, 表明仪器精密度良好。

2.4.3 稳定性试验 取 3 年生根 (YY1605) 供试品溶液, 分别于制备后的 0、2、4、8、12、16、24 h 进样 10 μL 测定, 记录色谱峰峰面积, 计算其 RSD。没食子酸、(+)-儿茶素、番泻苷 B、大黄酚-8-*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 RSD 分别为 1.46%、1.64%、1.94%、1.85%、0.39%、1.12%、1.79%、1.41%、1.56%、1.89%, 均小于 2.00%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4.4 重复性试验 取 3 年生根 (YY1605) 大黄干燥粉末 0.100 g, 精密称定, 共 6 份, 按“2.3”项下方法平行制备供试品溶液, 分别进样, 测定峰面积, 计算各成分质量分数。没食子酸、(+)-儿茶素、番泻苷 B、大黄酚-8-*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

表 1 10 种成分的标准曲线和线性范围

Table 1 Regression equations and linear ranges of 10 constituents

成分	回归方程	线性范围/ μg	r^2
没食子酸	$Y=56\,320.59 X-23\,043.00$	0.45~4.50	0.999
儿茶素	$Y=15\,557.01 X-2\,876.04$	1.40~14.2	0.998
番泻苷 B	$Y=39\,271.75 X+19\,067.04$	0.90~9.00	0.999
大黄酚-8- <i>O</i> -葡萄糖苷	$Y=25\,731.75 X-14\,498.35$	0.34~3.44	0.999
大黄素-8- <i>O</i> -葡萄糖苷	$Y=44\,379.98 X-16\,112.81$	0.46~4.68	0.999
芦荟大黄素	$Y=40\,316.87 X-18\,836.23$	0.16~1.58	0.998
大黄酸	$Y=37\,043.21 X+14\,102.39$	0.15~1.54	0.997
大黄素	$Y=23\,247.39 X-7\,081.04$	0.56~5.60	1.000
大黄酚	$Y=17\,772.44 X+1\,818.5$	0.96~9.60	0.999
大黄素甲醚	$Y=23\,247.39 X-7\,081.04$	0.54~5.40	0.999

黄素甲醚平均质量分数的 RSD 分别为 1.70%、1.49%、1.17%、1.43%、1.50%、1.50%、1.12%、1.65%、1.18%、1.32%，表明方法的重复性良好。

2.4.5 加样回收率试验 取 3 年生根 (YY1605) 大黄干燥粉末 0.100 g，精密称定，按“2.3”项下方法平行制备 2 份供试品溶液，一份加入等体积的甲醇，另一份加入等体积已知质量浓度的对照品混合溶液，分别进样，测定峰面积，计算各成分的加样回收率。没食子酸、(+)-儿茶素、番泻苷 B、大黄酚-8-*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、大黄素甲醚平

均回收率分别为 97.60%、100.60%、97.7%、102.60%、96.10%、99.70%、105.90%、98.70%、97.40%、107.10%，RSD 分别为 0.41%、1.64%、1.06%、1.60%、1.57%、0.67%、1.86%、1.22%、0.67%、1.42%，表明方法准确度良好。

2.5 样品定量测定

取各待测药用大黄干燥粉末样品 0.100 g，精密称定，平行 3 份，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，并按“2.1”项下色谱条件进行 10 种化学成分的定量分析，测定各成分峰面积，计算各成分在样品中的质量分数。结果见表 2。

表 2 大黄样品中 10 种成分质量分数

Table 2 Determination of 10 constituents composition in *R. officinale*

年限及部位 批号		质量分数/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)									
		没食子酸	儿茶素	番泻苷 B	大黄酚-8- <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 年生根	YY1801	2.345 9	11.483 0	0.637 4	2.889 4	1.488 8	0.439 7	0.102 6	0.049 5	0.760 2	0.548 5
	YY1802	2.235 9	11.431 4	0.398 4	2.764 4	1.096 0	0.524 1	0.099 9	0.085 4	1.097 8	0.782 6
	YY1803	1.976 0	11.347 6	0.376 7	2.779 4	1.066 4	0.416 6	0.098 5	0.128 9	1.037 4	0.766 9
	YY1804	2.312 6	11.368 1	0.232 2	2.388 7	0.876 8	0.436 1	0.098 4	0.103 7	1.188 4	0.557 4
	YY1805	2.053 8	10.950 5	0.317 9	3.098 2	1.286 8	0.491 0	0.107 2	0.160 6	0.845 3	0.643 2
	YY1806	2.056 9	11.041 6	0.372 0	2.606 8	1.072 7	0.444 1	0.097 7	0.044 7	1.310 4	0.519 8
	YY1807	2.021 7	10.290 3	0.500 6	3.183 6	1.440 6	0.411 1	0.099 5	0.041 8	0.913 2	0.558 4
	YY1808	2.165 9	10.711 0	0.446 7	1.909 0	0.710 1	0.355 2	0.097 3	0.070 7	1.139 0	0.600 7
	YY1809	2.383 9	12.384 0	0.274 6	2.768 6	1.719 9	0.422 1	0.097 2	0.128 3	1.188 1	0.601 4
	YY1810	2.144 7	12.408 3	0.168 6	2.581 2	1.243 1	0.487 1	0.097 1	0.165 4	1.098 0	0.640 3
1 年生根茎	YY1801	1.402 0	3.167 5	0.652 7	1.890 5	0.469 3	0.784 2	0.095 3	0.065 6	1.047 7	0.185 3
	YY1802	0.994 4	2.486 9	0.624 3	1.642 7	0.480 7	0.619 4	0.094 5	0.051 1	1.042 9	0.189 5
	YY1803	0.962 7	1.871 0	0.574 9	1.524 0	0.458 9	0.795 3	0.095 8	0.043 6	1.033 2	0.186 7
	YY1804	0.916 2	1.971 2	0.608 2	2.984 4	0.453 2	0.776 6	0.094 9	0.075 0	1.021 1	0.180 5
	YY1805	1.552 8	3.449 0	0.611 9	1.543 0	0.430 9	0.668 1	0.094 4	0.058 1	1.040 7	0.184 5
	YY1806	1.592 9	3.014 2	0.669 4	1.526 8	0.475 6	0.657 8	0.095 0	0.054 5	1.040 9	0.187 0
	YY1807	1.099 8	2.623 7	0.639 5	2.870 6	0.468 6	0.612 3	0.095 9	0.072 1	1.037 6	0.184 5
	YY1808	1.093 5	2.306 1	0.827 7	1.121 3	0.486 6	0.619 2	0.094 4	0.055 4	1.053 4	0.189 5
	YY1809	0.862 3	2.268 7	0.763 7	2.681 4	0.456 7	0.585 9	0.095 2	0.096 4	1.046 2	0.185 7
	YY1810	0.963 8	2.541 7	0.717 6	2.141 5	0.554 0	0.608 5	0.096 6	0.077 1	1.036 0	0.186 0
1 年生叶片	YY1801	0.284 3	0.676 1	0.231 0	0.034 4	0.165 4	0.018 6	0.012 7	0.025 3	0.403 1	0.599 2
	YY1802	0.198 8	0.424 9	0.226 2	0.047 0	0.102 5	0.010 4	0.012 8	0.024 1	0.361 1	0.605 7
	YY1803	0.191 6	0.518 1	0.235 1	0.033 5	0.106 2	0.024 3	0.011 6	0.024 8	0.236 9	0.521 1
	YY1804	0.216 6	2.054 0	0.226 5	0.033 1	0.104 2	0.028 1	0.012 9	0.022 9	0.420 7	0.607 9
	YY1805	0.223 0	1.327 8	0.227 5	0.050 7	0.171 7	0.028 6	0.012 1	0.024 1	0.412 5	0.632 6
	YY1806	0.261 6	2.648 9	0.226 3	0.084 6	0.184 9	0.010 0	0.012 4	0.024 3	0.418 0	0.651 0
	YY1807	0.227 5	1.468 0	0.241 4	0.088 1	0.159 0	0.026 9	0.013 2	0.024 9	0.402 0	0.637 2
	YY1808	0.311 1	2.621 2	0.234 9	0.048 6	0.159 1	0.018 2	0.012 6	0.025 2	0.415 6	0.694 2

续表 2

年限及部位	批号	质量分数/(mg·g ⁻¹)									
		没食子酸	儿茶素	番泻苷 B	大黄酚-8-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
1 年生叶片	YY1809	0.237 4	1.630 9	0.234 7	0.033 7	0.061 5	0.018 7	0.012 6	0.025 4	0.410 3	0.665 3
	YY1810	0.261 3	1.592 3	0.229 1	0.022 9	0.048 1	0.019 9	0.011 8	0.025 0	0.398 4	0.618 8
2 年生根	YY1701	1.264 3	12.034 6	1.923 0	0.274 7	1.345 7	0.039 7	0.194 4	0.204 1	0.702 9	0.501 7
	YY1702	1.071 6	12.042 6	3.202 2	0.365 2	1.370 8	0.048 4	0.101 7	0.226 4	1.003 5	0.603 8
	YY1703	1.213 8	12.837 1	3.222 9	0.318 6	1.057 7	0.037 5	0.158 8	0.147 1	0.906 4	0.578 6
	YY1704	1.175 8	11.904 1	1.896 7	0.394 2	0.614 0	0.038 7	0.089 8	0.313 8	1.554 4	0.977 8
	YY1705	1.519 9	13.105 7	2.862 3	0.347 4	1.906 9	0.061 0	0.120 6	0.295 5	0.856 5	0.590 3
	YY1706	1.098 5	12.475 5	1.812 1	0.317 2	2.389 0	0.049 6	0.091 8	0.248 7	1.222 1	0.779 6
	YY1707	1.359 1	12.939 9	2.290 2	0.331 7	1.240 7	0.046 0	0.078 1	0.325 2	1.367 0	0.856 5
	YY1708	1.007 6	10.712 1	2.714 8	0.468 5	1.202 0	0.053 4	0.155 0	0.277 6	0.958 4	0.645 1
	YY1709	1.270 5	10.727 4	2.740 6	0.366 4	0.726 9	0.058 5	0.052 2	0.329 9	1.551 9	1.017 6
	YY1710	1.411 0	11.910 9	2.511 0	0.046 1	0.782 5	0.064 8	0.096 2	0.299 0	1.854 9	1.180 4
2 年生根茎	YY1701	0.541 9	8.893 4	0.621 7	2.613 1	1.421 7	0.674 7	0.107 9	0.105 5	1.124 6	0.145 3
	YY1702	0.586 2	7.399 2	0.619 4	2.325 2	1.412 3	0.685 8	0.112 4	0.114 4	1.128 8	0.111 2
	YY1703	0.550 5	10.048 7	0.626 2	3.204 9	1.322 0	0.673 5	0.112 7	0.107 3	1.137 3	0.153 3
	YY1704	0.631 9	6.768 8	0.623 4	1.172 6	1.252 4	0.671 3	0.116 2	0.106 4	1.140 1	0.404 8
	YY1705	0.576 5	11.226 2	0.666 8	1.065 4	1.419 0	0.673 1	0.113 6	0.101 1	1.129 3	0.112 9
	YY1706	0.561 3	10.301 3	0.662 8	2.536 5	1.404 2	0.665 9	0.111 9	0.100 0	1.136 6	0.132 9
	YY1707	0.631 9	6.768 8	0.623 4	1.172 6	1.252 4	0.671 3	0.116 2	0.106 4	1.140 1	0.404 8
	YY1708	0.540 6	10.954 4	0.536 7	3.271 5	1.819 7	0.668 2	0.117 1	0.107 3	1.131 9	0.104 8
	YY1709	0.523 8	7.893 1	0.826 1	1.754 0	0.935 5	0.670 4	0.114 4	0.103 1	1.132 1	0.439 6
	YY1710	0.577 5	6.842 2	0.837 6	1.960 8	1.152 4	0.665 7	0.115 2	0.110 6	1.140 2	0.504 4
2 年生叶片	YY1701	0.198 8	0.424 9	0.226 2	0.047 0	0.102 5	0.021 2	0.012 9	0.024 1	0.361 1	0.605 7
	YY1702	0.236 4	1.062 9	0.291 7	0.085 7	0.152 2	0.028 3	0.012 7	0.028 6	0.425 0	0.836 0
	YY1703	0.227 1	1.053 6	0.282 3	0.098 1	0.156 0	0.028 9	0.012 8	0.031 6	0.426 0	0.834 3
	YY1704	0.191 1	0.364 4	0.292 5	0.260 8	0.153 6	0.029 5	0.012 9	0.030 3	0.428 9	0.805 8
	YY1705	0.106 6	0.286 4	0.294 7	0.075 9	0.160 8	0.026 6	0.012 6	0.025 8	0.423 9	0.841 0
	YY1706	0.135 6	0.989 9	0.296 6	0.056 1	0.151 8	0.027 4	0.012 6	0.025 9	0.427 5	0.838 2
	YY1707	0.131 4	0.748 7	0.291 0	0.095 8	0.162 7	0.027 0	0.013 1	0.030 3	0.424 7	0.815 3
	YY1708	0.133 0	0.781 6	0.300 2	0.238 2	0.165 9	0.027 0	0.013 2	0.026 5	0.427 2	0.847 5
	YY1709	0.042 3	1.083 7	0.285 4	0.516 8	0.149 3	0.030 1	0.013 1	0.026 4	0.425 1	0.818 2
	YY1710	0.118 2	0.656 2	0.279 9	0.131 7	0.159 5	0.025 7	0.013 0	0.025 9	0.427 5	0.804 4
3 年生根	YY1601	1.145 9	11.090 2	2.902 9	6.560 4	1.291 0	0.119 8	0.128 6	0.305 2	1.345 0	0.499 4
	YY1602	1.071 0	10.719 1	1.260 6	7.020 8	3.660 1	0.099 4	0.122 6	0.376 3	1.839 3	1.371 1
	YY1603	1.271 6	12.346 5	1.740 6	9.903 6	1.195 1	0.170 7	0.149 8	0.205 0	1.435 6	0.837 9
	YY1604	1.100 2	14.735 6	3.246 1	9.218 9	1.725 4	0.137 9	0.169 6	0.317 6	1.285 3	0.664 3
	YY1605	1.218 0	10.469 7	3.163 1	6.473 3	1.190 4	0.116 1	0.127 2	0.308 3	2.263 1	1.100 4
	YY1606	0.874 7	13.278 7	4.027 2	9.708 3	1.678 5	0.127 1	0.154 1	0.319 2	1.332 2	0.770 2
	YY1607	1.284 2	14.291 7	3.617 0	6.205 1	2.207 8	0.230 3	0.157 6	0.228 6	1.704 6	0.870 2
	YY1608	1.230 6	14.004 1	2.057 4	4.668 4	1.848 6	0.044 1	0.111 9	0.253 4	2.108 7	1.090 7
	YY1609	1.148 7	12.132 3	2.684 9	7.079 9	2.407 4	0.108 7	0.117 4	0.346 8	2.700 6	1.333 1
	YY1610	1.179 0	12.733 4	2.783 3	7.074 6	1.156 9	0.147 2	0.165 2	0.229 1	1.345 0	0.764 9
3 年生根茎	YY1601	0.362 5	15.844 5	2.209 5	5.747 3	2.153 8	0.722 5	0.128 6	0.203 4	1.408 7	0.239 7
	YY1602	0.390 7	9.505 5	2.368 4	6.888 1	2.197 5	0.729 5	0.129 0	0.203 8	1.401 8	0.496 1
	YY1603	0.442 1	11.670 1	1.051 1	4.886 3	2.156 0	0.711 6	0.143 1	0.195 6	1.463 9	1.319 2
	YY1604	0.425 0	15.042 9	1.764 2	5.512 8	2.179 2	0.728 8	0.121 4	0.202 3	1.420 6	0.221 6
	YY1605	0.364 7	12.160 7	2.806 4	4.354 6	2.207 8	0.724 4	0.131 1	0.211 9	1.506 9	1.254 2
	YY1606	0.462 5	11.065 2	1.573 9	6.463 2	2.200 8	0.714 1	0.135 6	0.201 8	1.574 9	0.545 4
	YY1607	0.445 2	15.072 8	0.922 8	4.936 9	2.178 7	0.739 2	0.129 1	0.203 6	1.584 5	1.323 9
	YY1608	0.373 9	16.232 8	2.107 7	4.992 9	2.136 5	0.671 1	0.126 8	0.263 9	1.382 7	0.630 4
	YY1609	0.430 5	10.007 8	1.969 8	3.354 5	2.222 6	0.721 8	0.156 3	0.202 7	1.390 8	1.094 0
	YY1610	0.443 1	10.082 1	1.297 6	5.680 4	2.215 6	0.732 8	0.133 3	0.202 0	1.407 7	0.498 5
3 年生叶片	YY1601	0.129 8	0.289 9	0.379 3	0.048 2	0.480 9	0.038 4	0.014 3	0.032 6	0.485 5	1.047 9
	YY1602	0.123 6	0.360 5	0.375 3	0.055 5	0.506 3	0.038 8	0.015 2	0.032 8	0.504 1	1.247 9
	YY1603	0.100 1	0.383 0	0.383 2	0.159 6	0.573 1	0.038 4	0.014 8	0.031 9	0.397 8	1.204 7
	YY1604	0.088 8	0.404 6	0.369 9	0.049 8	0.514 9	0.035 5	0.015 5	0.031 8	0.355 6	1.086 7
	YY1605	0.128 8	0.275 7	0.389 4	0.102 7	0.579 4	0.036 4	0.014 3	0.032 1	0.540 9	1.034 1
	YY1606	0.105 6	0.277 1	0.356 9	0.106 3	0.561 3	0.038 6	0.015 9	0.032 0	0.440 1	1.217 9
	YY1607	0.095 6	0.381 7	0.354 7	0.089 9	0.582 8	0.037 6	0.015 7	0.032 7	0.434 3	1.156 4
	YY1608	0.143 1	0.657 1	0.381 4	0.722 7	0.565 0	0.035 6	0.015 6	0.030 8	0.458 9	1.126 3
	YY1609	0.105 3	0.506 8	0.361 7	0.484 6	0.537 0	0.039 2	0.015 7	0.031 6	0.309 1	1.129 9
	YY1610	0.121 5	0.508 3	0.356 7	0.048 1	0.537 1	0.038 6	0.016 6	0.032 1	0.315 1	1.126 8

含量测定结果表明, 大黄 10 种主要活性成分在所有待测样品中均能检出, 每一样品类型中各成分含量变化不大, 同一部位不同年限或同一年限不同部位的大黄样品中各成分含量存在差异。利用 SPSS 对不同年限和不同部位的大黄样品各成分含量进行单因素方差分析和多重比较, 结果见表 3、4。

同一部位的样品在不同年限各成分含量呈现动态积累(表 3), 没食子酸的含量逐年或次年下降($P<0.05$), 大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、番泻苷 B 的含量逐年或第 3 年显著增加($P<0.05$); 根中大黄酚-8-*O*-葡萄糖苷、芦荟大黄素含量次序为 3 年生>1 年生>2 年生、1

年生>3 年生>2 年生($P<0.05$), 二者在根茎及叶片中逐年或第 3 年增加($P<0.05$)。根或根茎儿茶素随年份含量增加, 叶片中降低($P<0.05$)。

同一年限不同部位样品各成分含量比较见表 4。大黄素甲醚叶片中含量与根中相当而高于根茎, 其他 9 种成分的含量均不及根或根茎($P<0.05$); 根中大黄素、大黄酚、大黄酚-8-*O*-葡萄糖苷、没食子酸、(+)-儿茶素、番泻苷 B 的含量高于根茎($P<0.05$)或与之相当; 1 年生番泻苷 B、2 年生大黄酚-8-*O*-葡萄糖苷以及 2 和 3 年生大黄素-8-*O*-葡萄糖苷的含量根茎高于根($P<0.05$), 芦荟大黄素的含量依次为根茎>根>叶片($P<0.05$)。

表 3 同一部位不同年限大黄样品中 10 种成分含量的比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Comparison of 10 components' contents of same part of *R. officinale* from different growth years ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

部位	年限	质量分数/(mg·g ⁻¹)									
		没食子酸	儿茶素	番泻苷 B	大黄酚-8- <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
根	1	2.167 0±0.045 7a	11.341 5±0.210 7a	0.372 5±0.043 0b	2.696 9±0.114 9b	1.200 1±0.094 8b	0.442 7±0.015 2a	0.099 5±0.001 0b	0.097 9±0.014 7b	1.057 8±0.054 0b	0.621 9±0.028 4b
	2	1.239 2±0.050 6b	12.068 9±0.264 2a	2.517 5±0.165 3a	0.323 0±0.034 9c	1.263 6±0.172 7b	0.049 7±0.003 0c	0.113 8±0.013 7b	0.266 7±0.018 8a	1.197 8±0.118 1b	0.773 1±0.071 8b
	3	1.152 3±0.037 8b	12.580 1±0.477 3a	2.748 3±0.269 6a	7.391 3±0.534 4a	1.836 1±0.245 2a	0.130 1±0.015 3b	0.140 4±0.006 6a	0.288 9±0.017 9a	1.735 9±0.153 5a	0.930 2±0.090 2a
根茎	1	1.144 0±0.085 5a	2.570 0±0.161 4c	0.668 9±0.024 8b	1.992 6±0.204 9b	0.473 4±0.010 2c	0.672 7±0.025 7b	0.095 2±0.000 2c	0.064 8±0.004 9c	1.040 0±0.002 8c	0.185 9±0.000 8b
	2	0.572 2±0.011 6b	8.709 6±0.569 0b	0.664 4±0.030 0b	2.107 7±0.258 7b	1.339 1±0.072 0b	0.671 9±0.001 8b	0.113 7±0.000 9b	0.106 2±0.001 3b	1.134 1±0.001 7b	0.251 4±0.051 8b
	3	0.414 0±0.011 8c	12.668 4±0.828 7a	1.807 1±0.190 3a	5.281 7±0.322 1a	2.184 8±0.009 1a	0.719 5±0.006 0a	0.133 4±0.003 1a	0.209 1±0.006 2a	1.454 2±0.023 9a	0.762 3±0.139 3a
叶片	1	0.241 3±0.012 0a	1.496 2±0.252 5a	0.231 2±0.001 6c	0.047 7±0.006 9b	0.126 2±0.015 2b	0.020 3±0.002 1c	0.012 5±0.000 2b	0.042 6±0.000 2a	0.387 8±0.017 6a	0.623 3±0.014 6c
	2	0.152 1±0.019 1b	0.745 2±0.096 4a	0.284 0±0.006 7b	0.160 6±0.045 7a	0.151 4±0.005 6b	0.027 2±0.000 8b	0.012 9±0.000 1b	0.027 5±0.000 8c	0.419 7±0.006 5a	0.804 6±0.022 6b
	3	0.114 2±0.005 5b	0.404 5±0.038 5b	0.370 8±0.003 9a	0.186 7±0.072 5a	0.543 7±0.010 8a	0.037 7±0.000 4a	0.015 3±0.000 2a	0.032 0±0.001 8b	0.424 1±0.024 9a	1.137 9±0.022 4a

同一因素不同处理间不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$), 下同

Different lower case letters represent significant differences among the different treatments under the same factor at the 0.05 level; the same as follow

表 4 同一年限不同部位大黄样品 10 种成分量的比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Comparison of 10 components' contents of same growth year of *R. officinale* from different parts ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

年限	部位	质量分数/(mg·g ⁻¹)									
		没食子酸	儿茶素	番泻苷 B	大黄酚-8- <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	根	2.167 0±0.045 7a	11.341 5±0.210 7a	0.372 5±0.043 0b	2.696 9±0.114 9a	1.200 1±0.094 8a	0.442 7±0.015 2b	0.099 5±0.001 0a	0.097 9±0.014 7a	1.057 8±0.054 0a	0.621 9±0.028 4a
	根茎	1.144 0±0.085 5b	2.570 0±0.161 4b	0.668 9±0.024 8a	1.992 6±0.204 9b	0.473 4±0.010 2b	0.672 7±0.025 7a	0.095 2±0.000 2b	0.064 8±0.004 9b	1.040 0±0.002 8a	0.185 9±0.000 8b
	叶片	0.241 3±0.012 0c	1.496 2±0.252 5c	0.231 2±0.001 6c	0.047 7±0.006 9c	0.126 2±0.015 2c	0.020 3±0.002 1c	0.012 5±0.000 2c	0.042 6±0.000 2c	0.387 8±0.017 6b	0.623 3±0.014 6a
2	根	1.239 2±0.050 6a	12.068 9±0.264 2a	2.517 5±0.165 3a	0.323 0±0.034 9b	1.263 6±0.172 7a	0.049 7±0.003 0b	0.113 8±0.013 7a	0.266 7±0.018 8a	1.197 8±0.118 1a	0.773 1±0.071 8a
	根茎	0.572 2±0.011 6b	8.709 6±0.569 0b	0.664 4±0.030 0b	2.107 7±0.258 7a	1.339 1±0.072 0a	0.671 9±0.001 8a	0.113 7±0.000 9a	0.106 2±0.001 3b	1.134 1±0.001 7a	0.251 4±0.051 8b
	叶片	0.152 1±0.019 1c	0.745 2±0.096 4c	0.284 0±0.006 7c	0.160 6±0.045 7b	0.151 4±0.005 6b	0.027 2±0.000 8c	0.012 9±0.000 1b	0.027 5±0.000 8c	0.419 7±0.006 5b	0.804 6±0.022 6a
3	根	1.152 3±0.037 8a	12.580 1±0.477 3a	2.748 3±0.269 6a	7.391 3±0.534 4a	1.836 1±0.245 2a	0.130 1±0.015 3b	0.140 4±0.006 6a	0.288 9±0.017 9a	1.735 9±0.153 5a	0.930 2±0.090 2a
	根茎	0.414 0±0.011 8b	12.668 4±0.828 7a	1.807 1±0.190 3b	5.281 7±0.322 1b	2.184 8±0.009 1a	0.719 5±0.006 0a	0.133 4±0.003 1a	0.209 1±0.006 2b	1.454 2±0.023 9b	0.762 3±0.139 3b
	叶片	0.114 2±0.005 5c	0.404 5±0.038 5b	0.370 8±0.003 9c	0.186 7±0.072 5c	0.543 7±0.010 8b	0.037 7±0.000 4c	0.015 3±0.000 2b	0.032 0±0.001 8c	0.424 1±0.024 9c	1.137 9±0.022 4a

3 讨论

基于 HPLC 分析的中药质量控制与评价研究主要依靠指标性有效成分的定性或定量分析策略。因此,合理选取指标性成分进行含量测定分析是中药质量评价的重要前提。HPLC 已在大黄成分含量测定、指纹图谱、道地性研究以及资源化学开发方面广泛应用。本研究以《中国药典》2015 年版规定的 5 种游离型蒽醌为基础^[1],结合文献报道常用于大黄质量评价的 2 种结合型蒽醌、番泻苷 B、没食子酸和 (+)-儿茶素^[8,13],共 10 种化合物作为 HPLC 指标成分,建立了同时测定药用大黄 10 种成分的 HPLC 体系。大黄酸难溶解、不易检测是大黄成分分析过程中的难点,经与南京中医药大学段金廛教授课题组讨论,尝试了用二甲亚砜(DMSO)、三氯甲烷或甲酸有效助溶,调整流动相为甲醇-磷酸水,最终获得了理想的大黄酸峰形,较前期构建的 HPLC 方法^[14]在峰形、峰面积方法有显著提升。本研究建立的 HPLC 分析方法精密度高、准确度好、稳定性强,保证了药用大黄质量评价的客观性和真实性。

中药材的质量形成过程与基原物种的遗传背景、生态环境关系极为密切,后期产地初加工、运输及储藏、炮制等则对药效产生重要影响^[15]。从中药生产源头来看,药用植物生理代谢与环境条件的互作导致植物体内次生代谢物差异积累,这是道地药材质量形成的核心问题。在大黄质量研究方面,多数文献报道不同种质、原产地条件、种植措施或采收期等因素影响正品大黄主要成分含量^[8-13]。掌叶大黄不同组织器官部位 5 种游离型蒽醌含量差异^[11]。六盘山鸡爪大黄的根及根茎是蒽醌类贮藏的主要器官,微管射线是主要贮藏组织^[16]。为了深入探究药用大黄质量形成的化学本质,本研究进行了 1、2、3 年生药用大黄不同部位主要成分含量的动态分析。结果发现,10 种成分在不同年限或不同部位的大黄样品中差异积累;同一部位样品,除没食子酸呈现下降趋势外,其余多数成分的含量随生长年限延长而增加,且 3 年生大黄中含量最高。同一年份内,除大黄素甲醚外,其他 9 种成分根或根茎的含量显著高于叶片,说明大黄根和根茎为蒽醌类化合物积累的主要器官。这些结果与掌叶大黄的研究结果类似^[11]。3 年生大黄根与根茎总蒽醌含量高达 0.32%,说明该基地各种环境生态因子适合药用大黄蒽醌类积累。

大黄除地下部分入药外,地上非药用叶片、叶柄等也是资源开发的良好原料^[17]。掌叶大黄叶片中大黄素含量大致为根中的 5 倍,叶柄、叶片中还含有一定量的纤维素和可溶性多糖类,人体所需微量元素较多^[11]。菜用大黄 *R. rhaponticum* L. 与药用大黄亲缘关系很近^[18],可能是由掌叶大黄和药用大黄杂交形成,其叶柄作为蔬菜或被制作成甜点、果酱、果酒等食用在欧美多国饮食文化中历史悠久^[2],提示药用大黄可能有一定的食品开发价值。本研究表明同一年限药用大黄叶片中大黄素甲醚的含量与根中相当,且显著高于根茎中,且随年限呈现上升趋势。其余 9 种成分在叶片中也均被检测,3 年生大黄叶片中大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、大黄酚的含量约为根中的 1/4,番泻苷 B 约 1/7,大黄酸、大黄素、没食子酸约 1/9。基于此,课题组正在进行药用大黄叶片、叶柄等非药用部位的有效成分、微量元素等资源化学评价研究,以期为地上部分资源开发提供依据。

中药材发挥功效的物质基础为其主要有效成分,然而药用部位有效成分积累的生物学本质目前了解甚少。本研究揭示药用大黄主要有效成分在不同部位中差异积累,根、根茎中各成分含量高、叶片中含量较低,佐证了大黄根及根茎为入药的认识。大黄如何通过生理代谢合成并转运有效成分至药用部位贮藏,将是亟待解决的基础科学问题。课题组在本研究基础上,进行了大黄转录组学基因表达研究,初步揭示了大黄主要成分生物合成途径基因表达谱特征^[19],有助于理解药用大黄品质形成机制,为高品质道地药用大黄的定向培育、质量控制及高效生产提供理论基础。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 郑俊华, 果德安. 大黄的现代研究 [M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2007.
- [3] Wei W T, Chen H, Ni Z L, et al. Antitumor and apoptosis-promoting properties of emodin, an anthraquinone derivative from *Rheum officinale* Baill., against pancreatic cancer in mice via inhibition of Akt activation [J]. *Int J Oncol*, 2011, 39(6): 1381-1390.
- [4] 覃鲁珊, 赵海平, 赵艳玲, 等. 大黄蒽醌与鞣质对大鼠肝脏的保护和损伤双向作用 [J]. 中国中西医结合杂志, 2014, 34(6): 698-703.
- [5] Jun K O, Kil C B, Young L J, et al. Protective effect of *Rhei Rhizoma* on refluxesophagitis in rats via

- Nrf2-mediated inhibition of NF- κ B signaling pathway [J]. *BMC Complem Altern M*, 2016, 16(1): 1-7.
- [6] 商 彤, 胡会娟, 孟 磊, 等. 遗传和环境对唐古特大黄功效成分含量的影响研究 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(11): 2246-2253.
- [7] 窦志华, 乔 进, 卞 理, 等. 指纹图谱与一测多评法相结合的大黄质量控制方法 [J]. 中国药学杂志, 2015, 50(5): 442-448.
- [8] 龚小红, 赵梦杰, 党 珏, 等. 基于主成分分析不同产地大黄 13 个成分量的比较研究 [J]. 中草药, 2017, 48(23): 4994-4999.
- [9] Zhe W, Pei M, Xu L, *et al*. Evaluation of the content variation of anthraquinone glycosides in rhubarb by UPLC-PDA [J]. *Chem Cent J*, 2013, 7(1): 170-180.
- [10] Xu M W, Xiao Q H, Yu Q Z, *et al*. Genetic diversity of the endemic and medicinally important plant *Rheum officinale* as revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) markers [J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(3): 3900-3915.
- [11] 刘 杰, 刘 培, 郭 盛, 等. 掌叶大黄不同组织器官中主要资源性化学成分的分析评价 [J]. 中草药, 2017, 48(3): 567-572.
- [12] 熊辉岩, 张晓峰, 王 环, 等. 大黄属 3 种大黄植物不同部分蒽醌含量的测定与比较 [J]. 西北植物学报, 2003, 23(2): 328-331.
- [13] 颜永刚, 王红艳, 邓 翀, 等. 生长年限、海拔和光照对大黄中 8 种成分量的影响研究 [J]. 中草药, 2017, 48(11): 2285-2291.
- [14] 商 彤, 胡会娟, 孟 磊, 等. 遗传和环境对唐古特大黄功效成分含量的影响研究 [J]. 中国中药杂志, 2018(11): 2246-2253.
- [15] 杨利民, 张永刚, 林红梅, 等. 中药材质量形成理论与控制技术研究进展 [J]. 吉林农业大学学报, 2012, 34(2): 119-124.
- [16] 章英才, 黄新玲. 六盘山鸡爪大黄蒽醌类化合物积累特征的研究 [J]. 西北植物学报, 2007, 27(10): 2016-2023.
- [17] 黄 剑, 邓良基, 范巧佳, 等. 掌叶大黄叶资源的开发与利用 [J]. 中国资源综合利用, 2004, 20(7): 15-17.
- [18] 邵珠田. 利用 ISSR 及 SRAP 分子标记研究菜用大黄与药用大黄的亲缘关系 [D]. 新乡: 河南科技学院, 2017.
- [19] 李 欢, 张 娜, 李依民, 等. 利用转录组测序挖掘掌叶大黄蒽醌类生物合成相关基因 [J]. 药学学报, 2018, 53(11): 1908-1917.