

药食两用植物酸模蒽醌类成分含量测定研究^①

王景富¹, 王静霞^{1,3}, 滕云¹, 张绍山¹, 刘圆²

1. 西南民族大学 药学院, 成都 610041; 2. 西南民族大学 民族医药研究院, 成都 610041;

3. 四川工商职业技术学院 酒类与食品工程系, 四川 都江堰 611830

摘要: 建立测定酸模药材中大黄素、大黄酚、大黄素甲醚和芦荟大黄素 4 种蒽醌类成分的 UPLC(超高效液相色谱)方法, 并测定不同采集地、不同采收时间酸模不同植物部位 4 种蒽醌类成分的含量。采用 UPLC 法, 色谱柱为 ACQUITY UPLC BEH C18(1.0×100, 1.7 μm), 流动相为乙腈-0.2%冰醋酸水, 流速 0.1 mL/min, 检测波长 270 nm, 进样量 1 μL, 柱温 35 ℃。结果表明: 4 种成分均可达到基线分离, 大黄素、大黄酚、大黄素甲醚和芦荟大黄素进样量分别在 0.224~12.2, 0.314~12.56, 3.32~66.4, 0.491~25.53 μg/mL 线性关系良好, 建立的 UPLC 方法快速灵敏、重复性好, 可用于酸模药材的质量评价; 酸模总蒽醌含量从高到低的采集地依次为: 四川阿坝州梦笔山、红原县月亮湾、甘孜州雅加埂; 酸模中的 4 种蒽醌成分含量从高到低的部位依次为: 根、花、叶, 建议酸模根部作为蒽醌类成分主要提取部位。

关键词: 酸模; 蒽醌类成分; UPLC; 含量测定

中图分类号: R282.71

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2017)04-0199-06

酸模 *Rumex acetosa* L. 为蓼科酸模属多年生草本植物, 在我国大部分地区均有分布^[1]。在《中华本草》(蒙药卷)中, 酸模为蒙药胡日根—齐赫药材的来源之一, 蒙医临床中主治疫热、疥癣、炭疽、痈肿、乳腺炎、恶疮、烧伤、烫伤、利刃伤、丹毒, 有杀虫、泻下、消肿、愈伤的功效^[2]。酸模作为“土大黄”的一种在民间广泛使用, 药用部位通常为根, 用于止血、疥癣等皮肤病的治疗。酸模的嫩叶、茎酸甜可口, 在我国很多地方都作为一种野菜被当地居民采集食用^[3], 其有开发为药食两用植物的潜力。

蒽醌类成分具有抗菌消炎、抗病毒、抗癌等药理作用^[4-6]。酸模中蒽醌类成分主要为大黄素型, 包括大黄素、大黄酚、芦荟大黄素、大黄素甲醚等^[7-10], 在临床药用上酸模主要用于抑菌消炎, 蒽醌类为其主要药效成分^[11]。在药食两用植物的的开发和研究中, 其药用价值、食用价值、保健作用都是其考虑的必要因素, 因此, 药物中有效成分的含量是中药质量评价与开发利用中的主要考察指标。相比 HPLC, UPLC(超高效液相色谱)可明显缩短分析时间, 减少溶剂消耗, 在中药材的质量评价中具有明显优势^[12-13]。本文旨在建立同时测定酸模中 4 种蒽醌类成分的 UPLC 方法, 并测定不同采集地、不同采收时间酸模不同植物部位的含量, 考察蒽醌类成分最佳提取部位, 以期为酸模的质量控制和综合开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

酸模: 药材来源见表 1, 经西南民族大学刘圆教授鉴定均为蓼科酸模属植物酸模 *Rumex acetosa* L.,

① 收稿日期: 2016-01-02

基金项目: 四川省科技支撑计划(2014SZ0159); 西南民族大学 2016 年研究生创新型科研项目(CX2016SZ015)。

作者简介: 王景富(1986-), 男, 河北平泉人, 硕士研究生, 主要从事少数民族药物研究。

通信作者: 刘圆, 博士, 教授, 博士研究生导师。

凭证标本保存于西南民族大学民族医药研究院标本室.

表 1 酸模药材来源

编号	拉丁名称	采集地	采集时间	海拔高度/m
1	<i>R. acetosa</i> L.	四川省阿坝州马尔康县梦笔山	2013. 7. 6	4 200
2			2013. 7. 8	4 300
3			2013. 7. 8	4 450
4			2013. 7. 3	3 400
5	四川省阿坝州红原县		2013. 7. 4	3 550
6			2013. 7. 5	3 650
7			2014. 6. 21	3 100
8	四川省甘孜州康定县雅加埂		2014. 6. 21	3 250
9			2014. 6. 21	3 400

1. 2 仪器与试剂

Waters Acquity UPLC H-Class System 型超高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); METTLER AE240 电子分析天平(梅特勒-托利多(上海)仪器有限公司); KQ-250B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); IKA RV10 旋转蒸发器(德国 IKA 公司); SHB-Ⅲ循环水式真空泵(巩义市英峪华科仪器厂); 数显恒温水浴锅 HH-2(国华电器有限公司).

大黄素对照品(批号: 140422, 四川省维克奇生物科技有限公司); 芦荟大黄素对照品(批号: MUST-13030701, 成都曼斯特生物科技有限公司); 大黄素甲醚对照品(批号: MUST-13022005, 成都曼斯特生物科技有限公司); 大黄酚对照品(批号: 140219, 四川省维克奇生物科技有限公司); 乙腈为色谱纯(美国 SIGMA 公司); 冰醋酸为色谱纯(成都市科龙化工试剂厂); 甲醇、无水乙醇、磷酸为分析纯, 市售; 水为超纯水.

1. 3 方 法

1. 3. 1 色谱条件和系统适应性试验

色谱柱: ACQUITY UPLC BEH C18(1. 0×100, 1. 7 μm); 流动相组成: 乙腈—0. 2%冰醋酸水, 线性梯度洗脱, 洗脱程序见表 2; 流速: 0. 1 mL/min; 检测波长: 270 nm; 进样量: 1 μL; 柱温: 35 ℃. 分别精密吸取混合对照品溶液、供试品溶液进样. 在上述色谱条件下, 混合对照品溶液和样品溶液各成分均可与相邻组分分离, 满足含量测定要求, UPLC 色谱图如图 1 所示.

表 2 梯度洗脱程序

时间/min	乙腈/%	0. 2%冰醋酸水/%	时间/min	乙腈/%	0. 2%冰醋酸水/%
0	20	80	13. 5	75	25
11. 25	70	30	15	75	25
12. 5	70	30	16	76. 5	23. 5

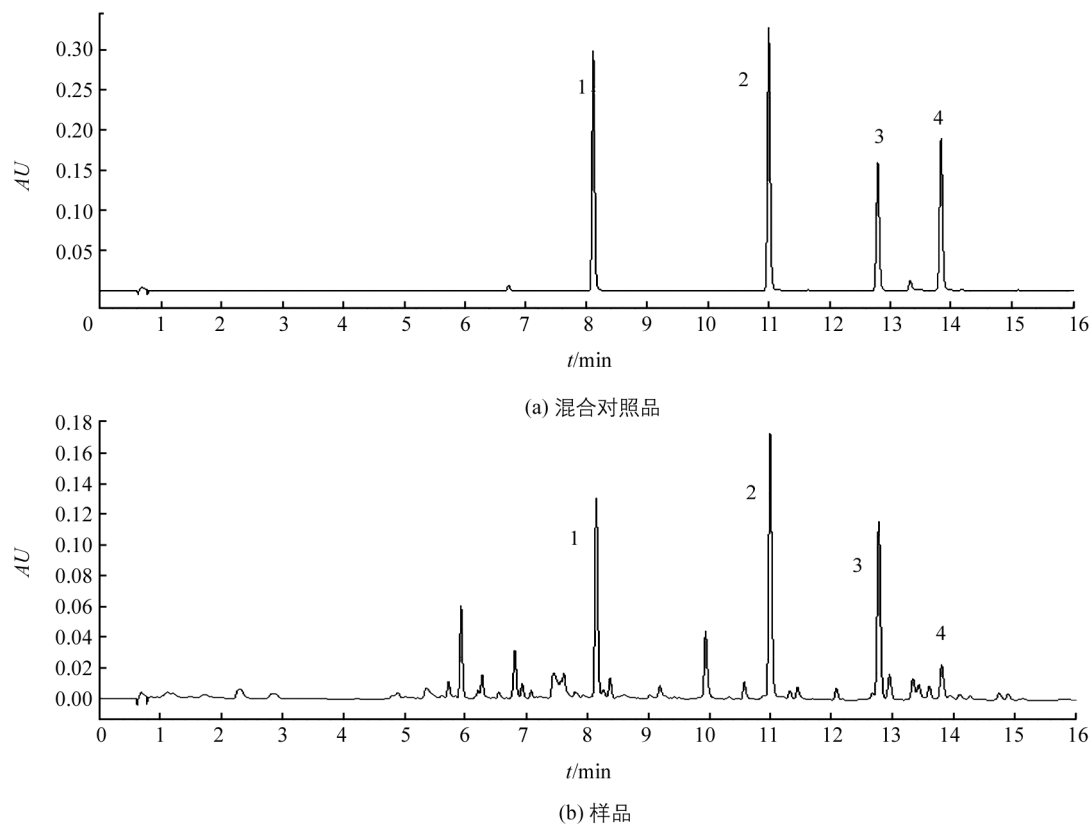
1. 3. 2 对照品溶液的制备

分别取大黄酚、大黄素、芦荟大黄素、大黄素甲醚适量, 精密称定, 用甲醇作溶剂配制成浓度分别为 0. 112, 0. 122, 0. 157, 0. 322 mg/mL 的对照品母液.

1. 3. 3 标准曲线的绘制

分别精密吸取大黄酚、大黄素、芦荟大黄素、大黄素甲醚的对照品母液, 用甲醇稀释、定容, 得系列质量浓度的对照品溶液, 取上述溶液 1 μL 注入超高效液相色谱仪, 记录峰面积, 以峰面积对进样质量浓度进

行线性回归，得 4 种蒽醌成分回归方程：芦荟大黄素 $Y_1=26\,258x-2\,047.8(R^2=0.999\,9)$ ，大黄素 $Y_2=50\,589x+1\,867.5(R^2=0.999\,6)$ ，大黄酚 $Y_3=23\,110x-1\,675.8(R^2=0.999\,9)$ ，大黄素甲醚 $Y_4=18\,075x-8\,666.2(R^2=1)$ ，质量浓度依次在 0.491~25.53,0.224~12.2,0.314~12.56,3.32~66.4 $\mu\text{g/mL}$ 范围内与峰面积线性关系良好。



1. 芦荟大黄素；2. 大黄素；3. 大黄酚；4. 大黄素甲醚。

图 1 混合对照品和样品 UPLC 图

1.3.4 供试品溶液的制备

精密称取酸模根粉末(过 50 目筛)1.0 g，在甲醇浓度为 87%，料液比为 1：33 条件下，超声辅助提取 10 min 后，回流提取 97 min，过滤，滤液浓缩至 5 mL，加入 10 倍量 10% HCl 溶液，超声水解 30 min 后，加入等体积二氯甲烷回流 20 min，分液，10% HCl 相加二氯甲烷(50 mL)萃取两次，合并二氯甲烷相，浓缩，用甲醇定容于 25 mL 容量瓶，备用。

2 结果与分析

2.1 精密度试验

取同一酸模样品溶液，按照“1.3.1”项下色谱条件连续进样 6 次，记录峰面积并计算 RSD 值得：大黄酚 0.45%、大黄素 0.44%、芦荟大黄素 0.52%、大黄素甲醚 1.28%，表明仪器精密度良好。

2.2 重复性试验

称取酸模根粉末 6 份，按供试品的制备方法和选定的色谱条件测定样品，计算蒽醌类成分的含量。结果芦荟大黄素、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚含量平均值分别为 1.092, 54.541, 1.243, 0.325 mg/g，RSD 值依次为 0.42%，1.08%，0.42%，2.56%，表明方法重复性良好。

2.3 稳定性试验

取同一酸模样品溶液，室温放置，分别于 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 按选定色谱条件进行测定，计算蒽醌类成分

含量,其 *RSD* 值分别为大黄酚 1.00%、大黄素 1.62%、芦荟大黄素 1.32%、大黄素甲醚 3.43%,表明样品在 12 h 内稳定.

2.4 加样回收率试验

称取已知含量酸模根粉末 6 份,分别精密加入质量分数为已知含量样品中芦荟大黄素、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚含量的 80%、100%、120%对照品,按供试品溶液制备方法制备,按选定色谱条件测定,计算回收率,结果见表 3.

表 3 加样回收率试验 ($n=6$)

化合物	样品含量/ mg	加入量/ mg	测定值/ mg	回收率/ %	平均回收率/ %	<i>RSD</i> / %
芦荟大黄素	0.546	0.437	0.981	99.54	101.05	2.45
	0.546	0.437	0.975	98.17		
	0.546	0.546	1.088	99.28		
	0.545	0.545	1.101	102.02		
	0.546	0.655	1.218	102.60		
	0.546	0.656	1.233	104.56		
大黄素	27.275	21.820	48.785	98.58	100.78	1.59
	27.270	21.816	49.066	99.91		
	27.281	27.281	54.698	100.50		
	27.264	27.265	54.881	101.29		
	27.270	32.724	61.032	103.17		
	27.275	32.731	60.415	101.25		
大黄酚	0.622	0.497	1.112	98.59	100.77	2.02
	0.622	0.497	1.099	97.99		
	0.622	0.622	1.262	102.89		
	0.621	0.621	1.249	101.13		
	0.622	0.746	1.387	102.55		
	0.622	0.746	1.379	101.47		
大黄素甲醚	0.163	0.130	0.291	98.46	101.56	2.01
	0.163	0.130	0.294	100.77		
	0.163	0.163	0.331	103.07		
	0.162	0.162	0.328	102.47		
	0.163	0.195	0.359	100.52		
	0.163	0.195	0.366	104.10		

2.5 酸模不同植物部位总游离蒽醌的含量测定

对酸模不同植物部位的总游离蒽醌进行提取,按“1.3.4”项下方法制备供试品,测定总游离蒽醌的含量,考察不同采集地酸模不同植物部位总游离蒽醌的分布情况,含量测定结果见表 4.

分析表 4 数据可知:同一产地酸模不同植物部位中 4 种蒽醌成分含量差异较大且无规律,比较所有采集地酸模不同部位的总游离蒽醌含量均为根含量最高,花次之,叶中含量最低.比较 3 个产地的植株的总游离蒽醌含量,四川阿坝州梦笔山采集的酸模中含量最高,月亮湾采集的次之,甘孜州雅加埂采集的酸模中含量最低.

表 4 不同采集地酸模不同植物部位蒽醌类含量测定结果($\bar{x} \pm s, n=3$)

采集地	植物部位	含 量/(mg·g ⁻¹)			
		芦荟大黄素	大黄素	大黄酚	大黄素甲醚
四川阿坝州梦笔山	根	1.092±0.02	54.54±0.02	1.243±0.001	0.325±0.003
	叶	0.008 8±0.000 1	0.044±0.004	0.012 1±0.004	0.011±0.005
	花	0.032 4±0.001	0.093±0.003	0.197±0.001	0.020 5±0.005
四川阿坝州红原县	根	0.743±0.002	37.14±0.21	1.062±0.05	0.777±0.06
	叶	0.0071 2±0.000 2	0.035 6±0.004	0.020 6±0.005	0.012 7±0.002
	花	0.0075 1±0.000 3	0.050 9±0.003	0.026 3±0.006	/
四川甘孜州雅加埂	根	0.171±0.02	8.528±0.15	2.601±0.12	1.34±0.02
	叶	0.019 9±0.05	0.099 5±0.003	0.094 6±0.002	0.046 3±0.003
	花	0.021 0±0.001	0.210±0.008	0.212±0.01	0.051±0.001

注:“/”表示含量值低于 LOQ.

2.6 酸模中蒽醌类成分提取方法的确定

在样品处理过程中考察了不同浓度的甲醇、乙醇等提取溶剂和不同的料液比,同时考察了回流、超声及超声辅助回流等提取方法.在单因素试验基础上,采用响应面法对酸模中蒽醌类成分得率影响较大的 3 个因素(甲醇体积分数、料液比和提取方法)进行优化,得最佳提取工艺为甲醇浓度为 87%,料液比为 1:33,超声辅助提取 10 min 后,回流提取 97 min.

3 结 论

UPLC 是在 HPLC 基础上建立起来的新型色谱分离分析技术,在分离速度、灵敏度和分离度等方面具有明显优势,可以快速地评价中药材的质量.蒽醌类成分为酸模中主要药效成分,本文建立了同时测定酸模 4 种蒽醌类成分的 UPLC 方法,该方法快速灵敏、重复性好,可用于酸模药材的质量评价.

本次试验通过测定不同采集地、不同采收时间酸模不同植物部位 4 种蒽醌类成分的含量可知:酸模总蒽醌含量从高至低的采集地依次为四川阿坝州梦笔山、红原县月亮湾、甘孜州雅加埂;酸模中的 4 种蒽醌成分含量从高至低的采集部位为根、花、叶;建议酸模的根作为蒽醌类成分主要提取部位.

参考文献:

[1] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志:第 25 卷 [M].北京:科学出版社,1998:151.

[2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会.中华本草:蒙药卷 [M].上海:上海科学技术出版社,2004.

[3] 王 忠,张世军,徐衍武.酸模的开发利用 [J].林业勘查设计,2012(3):53.

[4] 郑言博,马 卓.蒽醌类化合物抗菌与抗肿瘤活性的研究进展 [J].湖北中医杂志,2012,34(2):74—76.

[5] 宗金锐,巢志茂,刘振丽,等.大黄中蒽醌衍生物的构效关系 [J].中国中药杂志,2008,33(20):2424—2427.

[6] 段淑娥,李 敏.中草药中蒽醌化合物的研究进展 [J].西安文理学院学报(自然科学版),2005,8(1):24—28.

[7] DEMIREZER O L, KURUUZ UM A. Rapid and Simple Biological Activity Screening of Some Rumex Species: Evaluation of Bioguidedfractions of *R. scutatus* and Pure Compounds [J]. Z N Aturforsch C, 2015(9): 665—669.

[8] 肖 凌. HPLC 测定不同品种酸模中蒽醌类成分的含量 [J]. 中国现代应用药学, 2011, 28(4): 353—356.

[9] DEMIREZER O L, AYSE K, ISABEL LE B, et al. The Structures of Antioxidant and Cytotoxic Agents from Natural Source: Anthraquinones and Tannins from Roots of Rumex Patientia [J]. Phytochemistry, 2001, 58(8): 1213—1217.

[10] 王雪芹,赵祖兴,陈吉炎,等.武当山 5 种土大黄中 3 种蒽醌类成分的含量比较 [J]. 医药导报, 2010, 29(9): 1206—1208.

[11] 刘红森,李艳玲,杨继章.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—1424.

- [12] 陈 佳, 王刚力, 姚玲文, 等. 超高效液相色谱(UPLC)在药物分析领域的应用 [J]. 药物分析杂志, 2008, 28(11): 1976—1980.
- [13] 夏 清, 黄艳菲, 杨正明, 等. HPLC 法测定商品苦荞茶中槲皮素和山奈酚含量 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2014, 36(10): 200—204.

Determination of Anthraquinones in *Rumex acetosa* L.

WANG Jing-fu¹, WANG Jing-xia^{1,3}, TENG Yun¹,
ZHANG Shao-shan¹, LIU Yuan²

1. College of Pharmacy, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China;

2. Ethnic Medicine Institute, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China;

3. Department of Alcohol and Food Engineering, Sichuan Technology and Business College,
Dujiangyan Sichuan 611830, China

Abstract: In this research, a UPLC (ultra-performance liquid chromatography) method was established for simultaneous determination of emodin, chrysophanic acid, emodin-3-methyl ether and aloe-emodin in *Rumex acetosa* L., a dual-purpose plant for medicine and food. UPLC analysis was performed on an ACQUITY UPLC BEH C18 column ($1.0 \times 100, 1.7 \mu\text{m}$), with the mobile phase of acetonitrile and water containing 0.2% acetic acid glacial in gradient mode and a flow rate of 0.1 mL/min. The wavelength of measurement was 270 nm and the column temperature was 35 °C. The results showed that the baselines of all the 4 components were well separated. The linear range was 0.224~12.2 $\mu\text{g/mL}$ for emodin, 0.314~12.56 $\mu\text{g/mL}$ for chrysophanic acid, 3.32~66.4 $\mu\text{g/mL}$ for emodin-3-methyl ether, and 0.491~25.53 $\mu\text{g/mL}$ for aloe-emodin. The method established in the research proved to be rapid, sensitive and reproducible and, therefore, is recommended for the quality control of *R. acetosa* L.. The content of total anthraquinones of the samples of different origins was Mengbishan of Aba autonomous prefecture > Yueliangwan of Hongyuan county > Yajiangeng of Ganzi autonomous prefecture. The content of total anthraquinones of different plant parts was in the order of root > flower > leaves. It is hence recommended that the root of *R. acetosa* be used as the main part for total anthraquinone extraction.

Key words: *Rumex acetosa* L.; anthraquinone; UPLC (ultra-performance liquid chromatography); determination

责任编辑 汤振金