PEG 4000 和 PEG 6000 均可作为滴丸基质，但在实验中发现 PEG 6000 与独一味提取物混合熔融后黏度较大，滴制困难，而 PEG 4000 与独一味提取物混合熔融后黏度较小，但滴丸不易成型，故选用 PEG 4000 与 PEG 6000 的混合物作为独一味滴丸的基质。

HPLC 法测定复方虎杖颗粒中大黄素

张　彤，丁　越，陶建生，徐莲英
（上海中医药大学，上海 201203）

复方虎杖颗粒是根据名老中医经验方研制的中药六类新药，由虎杖、黄柏、苦参 3 味中药组成，具有清热解毒、活血祛瘀、收湿止痒、加快伤口愈合之功效，主治各类痔疮、肛瘘等肛肠科疾病。虎杖为方中君药，主要含有大黄素等蒽醌类成分。因此本实验采用 HPLC 法对复方虎杖颗粒中主要药效成分游离大黄素和水解总大黄素进行了测定，以期建立该制剂的质量控制方法。

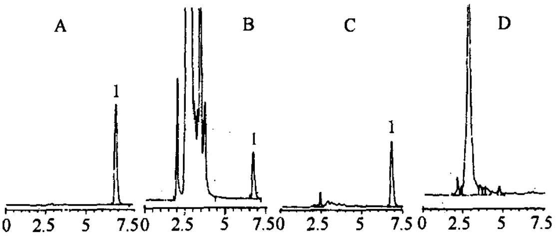
1　仪器与试药

HP8453E 紫外可见光谱仪（Aglient 公司）；Aglient 1100 型高效液相色谱仪；大黄素对照品（批号 756-200110，中国药品生物制品检定所），复方虎杖颗粒（上海中医大药业股份有限公司），甲醇为色谱纯，重蒸水为自制，其他试剂均为分析纯。

2　方法与结果

2.1　检测波长的选择：文献报道大黄素检测波长有 254 nm[1]、434 nm[2]、437 nm[3]、290 nm[4]。本实验将大黄素对照品甲醇溶液在 190～600 nm 全波长扫描。结果在 230 nm 以上，大黄素有 253、267、290、437 nm 4 个吸收峰。因此实验选择以吸收强度最大的吸收峰 290 nm 为 HPLC 法的检测波长。

2.2　色谱条件与系统适用性试验：色谱柱为 Hypersil C_{18}柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）（大连依利特科学仪器有限公司）；甲醇-0.1%磷酸水溶液（85：15）为流动相；检测波长：290 nm；体积流量：1.0 mL/min；柱温：室温。在上述条件下，样品中大黄素与其他组分达到基线分离，与相邻的色谱峰分离度大于 1.5。大黄素峰理论塔板数不小于 3 000。结果见图 1。



1-大黄素
1- emodin

图 1　大黄素对照品（A）、复方虎杖颗粒（B）、复方虎杖颗粒水解后样品（C）和缺虎杖的阴性样品溶液（D）的 HPLC 色谱图

Fig. 1　HPLC Chromatograms of emodin reference substance (A), Compound Huzhang Granula (B), hydrolyzed sample of Compound Huzhang Granula (C), and negative sample (D)

2.3　供试品溶液的制备：取复方虎杖颗粒约 0.5 g，精密称定，置 100 mL 量瓶中，加 5%醋酸甲醇约 90 mL，超声处理（功率 250 W，频率 30 kHz）30 min。放至室温，加甲醇至刻度，摇匀，滤过。取续滤液，即得用于测定游离大黄素的供试品溶液。

另取上述续滤液 10 mL，置 100 mL 圆底烧瓶中，挥去甲醇。加 2.5 mol/L 硫酸溶液 20 mL，水浴 1 h，冷却。加氯仿约 30 mL，继续回流 2 h，冷却。移置分液漏斗中，用少量氯仿洗涤容器，洗液并入分液漏斗中，分取氯仿层。酸液用氯仿提取 2 次，每次约 8 mL，氯仿液并入 100 mL 圆底烧瓶中。挥干氯仿，残渣用甲醇溶解并定容至 50 mL，即得用于测定总大黄素的供试品溶液。

2.4　空白干扰试验：根据处方组成，取除虎杖外的其余药味，按制剂工艺制备，制得缺虎杖的阴性样品颗粒。按供试品溶液的制备方法同法处理制得阴性样品供试品溶液。取大黄素对照品溶液、供试品溶液

收稿日期：2006-05-12
作者简介：张　彤（1972—），男，浙江杭州人，副教授，博士，从事中药制药和中药质量标准研究。
Tel：(021)51322318　E-mail：zhangtdmj@sohu.com

和阴性样品溶液依法测定，结果阴性样品溶液在大黄素位置上无吸收峰出现，表明其他组分对大黄素测定无干扰。结果见图1。

2.5 线性关系考察：精密称取以五氧化二磷为干燥剂减压干燥24 h的大黄素对照品6.19 mg，置50 mL量瓶中，以甲醇溶解并稀释至刻度，得质量浓度为0.123 8 mg/mL的对照品溶液。以此为母液，依次稀释2倍，分别配制成0.001 93～0.061 9 mg/mL的一系列质量浓度的对照品溶液。分别吸取上述的对照品溶液各20 μL，进样测定。以峰面积积分值为纵坐标，质量浓度为横坐标，绘制标准曲线，计算得回归方程：$Y=86\ 656.963\ X-4.088\ 34$，$r=0.999\ 98$。结果表明大黄素质量浓度在0.001 93～0.061 9 mg/mL与峰面积的线性关系良好。

2.6 精密度试验：取批号为031003的复方虎杖颗粒，制备供试品溶液，连续进样5次，测定大黄素的峰面积，计算得游离大黄素的峰面积RSD为0.94%，水解后总大黄素的峰面积RSD为0.54%。

2.7 溶液的稳定性：取批号为031003的复方虎杖颗粒，制备供试品溶液，分别于0、1、2、4、8、12、24 h进样测定大黄素的峰面积。结果表明，在24 h内供试品溶液基本稳定，游离大黄素的峰面积的RSD为1.9%，水解后总大黄素的RSD为1.5%。

2.8 重现性试验：取批号为031003的复方虎杖颗粒，平行取样6份，精密称定，制备供试品溶液，进样测定，计算大黄素的质量分数，结果游离大黄素的质量分数的RSD为1.3%，水解后总大黄素的RSD为2.0%。

2.9 加样回收率试验：取批号为031003的复方虎杖颗粒(含游离大黄素2.75 mg/g)约0.35 g，加入大黄素对照品0.774、0.968、1.162 mg，制备测定游离大黄素的供试品溶液，进样测定，计算回收率。结果平均加样回收率为99.4%，RSD为2.1%($n=6$)。

取批号为031003的复方虎杖颗粒(含水解后总大黄素10.10 mg/g)约0.25 g，加入大黄素对照品2.32、2.71、3.10 mg，制备测定总大黄素的供试品溶液，进样测定，计算回收率。结果平均加样回收率为100.7%，RSD为2.3%($n=6$)。

2.10 样品测定：分别取3批复方虎杖颗粒，制备供试品溶液，进样测定，以外标法计算大黄素的质量分数，结果见表1。

表1 复方虎杖颗粒中大黄素的测定结果($n=3$)

Table 1 Determination of emodin in Compound Huzhang Granula ($n=3$)

批号	游离大黄素/(mg·g^{-1})	RSD/%	总大黄素/(mg·g^{-1})	RSD/%
031001	2.94	2.36	10.02	1.59
031002	2.87	0.83	10.12	2.37
031003	2.75	1.03	10.10	0.20

3 讨论

大黄素是常见的一类蒽醌类有效成分，在大黄、虎杖、何首乌、决明子中均有，常作为指标成分。本实验的研究表明，290 nm吸收峰的响应值最高，灵敏度最高，且远离了溶剂的末端吸收区，选作HPLC-UV法测定大黄素的检测波长较为合适。

中药所含蒽醌类成分，一部分以游离大黄素、大黄酚等游离蒽醌类存在，另一部分以大黄素葡萄糖苷等结合蒽醌的形式存在。因此，为更好控制这类中药的质量，应同时控制游离蒽醌和水解后总蒽醌的量。研究考察了不同提取溶剂、不同超声时间对复方虎杖颗粒中游离大黄素的提取率的影响，结果表明以5%的醋酸甲醇溶液为提取溶剂超声30 min提取效率较高。加酸水解时，用直火加热较难控制火候，总大黄素的量降低。所以选用沸水浴加热水解的方法。

3批复方虎杖颗粒中试样品游离大黄素和水解后总大黄素平均质量分数分别为2.85、10.08 mg/g。由于1 g复方虎杖颗粒含虎杖药材1.33 g，生产这3批复方虎杖颗粒的虎杖药材中游离大黄素和水解后总大黄素质量分数分别为3.00、14.8 mg/g，可计算出该制剂生产工艺对游离大黄素和水解后总大黄素的转移率分别为71%、51%。因此，制剂指标成分的测定在一定程度上反映出制剂工艺的合理性。

References:

[1] Duan Y B, Han Y W, Jin J, *et al*. Determination of emodin content in Meibao Capsules [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2006, 17(1): 37-38.

[2] Li H L, Sun X H, Sun W, *et al*. Determination of the contents of rhein and emodin in Zhipingkang by HPLC [J]. *Chin J Hosp Pharm* (中国医院药学杂志), 2005, 25(9): 835-837.

[3] Fu Y M, Li B J, Bai Y, *et al*. Determination the content of emodin in Feijiehe Pills by HPLC [J]. *China Pharm* (中国药师), 2006, 9(1): 20-21.

[4] Li Y, Fu X T, Zhang X Q. Determination of the emodin in Gengnianchun Tablet by HPLC [J]. *Chin J Inf Trodit Chin Med* (中国中医药信息杂志), 2003, 10(9): 35-36.