

## 采用“一测多评”法测定大黄及其制剂中 大黄蒽醌类成分的含量

李树翠<sup>1</sup>, 冯俭<sup>1\*</sup>, 张秋燕<sup>2</sup>, 崔翰明<sup>2\*</sup>, 邓慧敏<sup>3</sup>

(1. 成都中医药大学, 成都 611175; 2. 中国中医科学院广安门医院, 北京 100053;  
3. 广州白云山制药股份有限公司白云山河济公制药厂, 广州 510410)

**[摘要]** 目的:应用“一测多评”法同步测定大黄及其提取物和制剂中5种蒽醌类成分的含量。方法:采用HPLC-DAD测定并计算5种蒽醌类成分之间的相对校正因子,分别以芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚为内参物,计算大黄及其制剂中其余4种成分含量,实现一测多评;同时采用外标法测定该药材及制剂中5种成分的含量,与“一测多评”法测定结果进行比较,计算“一测多评”法含量计算结果( $W_j$ )和外标法的含量测定结果( $W_s$ )的相对误差,验证一测多评法的准确性。并采用相对保留值方法对5种成分色谱峰准确定位。结果:以大黄素为内参物时,不同批次大黄药材的相对误差为-3.91%~4.06%;提取物中间体的相对误差-3.22%~3.27%,均 $\pm 5\%$ ;大黄制剂的相对误差范围在-5.39%~7.00%,相对保留值的RSD 3.87%~9.92%,说明方法准确度高、重复性好。结论:“一测多评”法可作为一个新的质量评价模式用于大黄及其制剂中蒽醌类成分的质量评价,具有快速、准确、廉价、方便等特点。

**[关键词]** 一测多评法; 相对校正因子; 大黄; 大黄蒽醌

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)10-0066-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014100066

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13422/j.cnki.syfjx.000087.html>

**[网络出版时间]** 2014-03-07 10:56

## Determination of Main Anthraquinones in *Rheum officinale* and Formulation by QAMS

LI Shu-cui<sup>1</sup>, FENG Jian<sup>1\*</sup>, ZHANG Qiu-yan<sup>2</sup>, CUI Han-ming<sup>2\*</sup>, DENG Hui-min<sup>3</sup>

(1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China;

2. Guang'anmen China Academy of Chinese Medical Science, Beijing 100053, China;

3. Gangzhou Baiyun Moutatain Pharmaceutical Co., Ltd., Baiyun Mountain Unfortunately  
for Pharmaceutical Factory, Guangzhou 510410, China)

**[Abstract]** **Objective:** To determine the five anthraquinones in *Rheum officinale* and formulation by the method named quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS). **Method:** A HPLC-DAD method was developed to determine the contents of five anthraquinones, and QAMS methods were established when the five components were used as internal referring substances, respectively. The relative correction factors (RCFs) between the five anthraquinones (aloe-emodin, rhein, emodin, chrysophanol, physcion) were calculated and used to assay the contents of five anthraquinones in different batches *R. officinale* and formulations, and compared standards' calibration curves (SCCs) method to evaluate the accuracy of QAMS method. The ratio of relative

**[收稿日期]** 20130801(004)

**[基金项目]** 国家“重大新药创制”专项项目(2011ZX09102-011-08)

**[第一作者]** 李树翠, 硕士生, 从事中药化学成分分析与质量标准化研究, Tel:18428362245, E-mail:879756960@qq.com

**[通讯作者]** \* 冯俭, 硕士, 教授, 从事中药化学成分与质量标准化研究, Tel:13678126510, E-mail:fenjia222@126.com;

\* 崔翰明, 硕士, 副研究员, 从事中药药效物质、质量分析和新剂型研究, Tel:010-88001470, E-mail:cui-yaoshi@163.com

retention time was adopted to identify the accurate position of five anthraquinones. **Result:** When emodin as internal referring substance, the ranges of the relative error between QAMS and SCCs in different batches Rheum officinale and extractions and preparations were -3.91% -4.06%, -3.22% -3.27%, -5.39% -7.00%, respectively. The RSD of the relative retention value were 3.87% -9.92%. **Conclusion:** A rapid, accuracy, low-cost and convenient QAMS method can be used as a new quality assessment model for quantity analysis of anthraquinones in Rheum officinale and formulation.

[**Key words**] quantitative analysis multi-components by single marker (QAMS); related correction factor (RCF); Rheum officinale; HPLC-DAD; anthraquinones

大黄功能泻下攻积、清热泻火、凉血解毒、逐瘀通经、利湿退黄<sup>[1]</sup>,具有降血脂、治疗肥胖性疾病等作用<sup>[2-3]</sup>。降糖脂片是由中国中医科学院广安门医院研制的具有降糖、减肥、调脂功效的中药复方制剂,由大黄、红曲等中药组成,蒽醌类成分作为该制剂中的主要有效成分之一,主要包括芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚等。在研发及生产中,需对大黄、提取物中间体及降糖脂片制剂进行多成分的含量测定,便于控制各环节的质量。但在中药尤其是中药复方制剂的质量控制工作中,采用多成分外标法对其进行质量控制,在质控工作中有诸多不便,这直接限制了多指标质量控制的设想。为了更有效地控制降糖脂片在研发及生产过程中的质量,本文采用“一测多评”(quantitative analysis of multi-components by single-marker, QAMS)方法,根据大黄素与其他成分的相对校正因子,通过测定大黄素来计算多个成分的含量,实现多指标质量分析的目的,并与外标法测定结果进行比较,评价该技术的可行性。以往研究中质量控制常用指标多用大黄素做为内参物,本文比较了5个内参的适用性,进一步确定以大黄素做为内参的准确性和可靠性,具有一定学术意义。为 大黄含量测定的相关研究提供数据支持。

## 1 材料

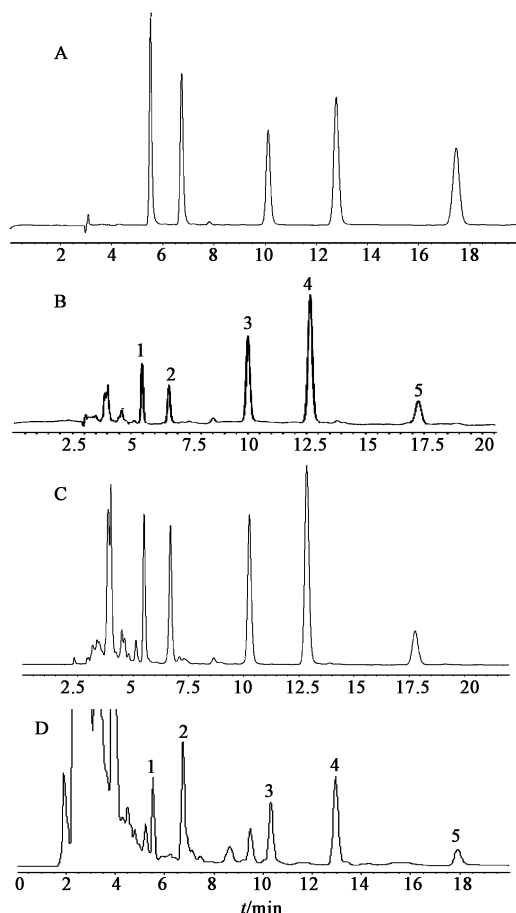
Agilent 1200 型高效液相色谱仪, Agilent chemstation 工作站, Agilent HC-C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱和保护柱(美国安捷伦公司), SY7200DH 型超声清洗器(上海声源超声仪器设备有限公司), ME 215P 型电子分析天平(德国 sartorius 公司)。

芦荟大黄素、大黄酸、大黄素甲醚、大黄素、大黄酚对照品均购自中国食品药品检定研究院(批号分别为 110795-200605, 110757-200206, 110758-200610, 110756-200110, 110796-200615), 甲醇(色谱纯)购自美国 Fisher 公司, 甲醇(色谱淋洗级)、磷

酸(分析级)、盐酸(分析级)、三氯甲烷(分析级)购自国药集团化学试剂有限公司。

## 2 方法和结果

**2.1 色谱条件** Agilent HC-C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱和保护柱, 流动相甲醇-0.1% 磷酸水溶液(85:15), 柱温 25 °C, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 254 nm, 进样量 5 μL。上述色谱条件下, 各待测组分峰分离效果良好, 见图 1。



A. 对照品; B. 大黄药材; C. 大黄提取中间体; D. 制剂;

1. 芦荟大黄素; 2. 大黄酸; 3. 大黄素; 4. 大黄酚; 5. 大黄素甲醚

图 1 对照品和供试液样品 HPLC

**2.2 对照品和供试品溶液的制备** 对照品溶液制备: 分别精密称取芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄

酚、大黄素甲醚对照品适量,用甲醇溶解并定容至 25 mL,配制成 84.4,84.8,88.8,97.6,22.4 mg·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液,分别取适量上述对照品溶液用甲醇稀释成一系列对照品溶液。

药材供试品溶液制备:取大黄药材粉末(过 60 目筛)0.15 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,称定质量,加热回流 1 h,放冷,甲醇补重,摇匀滤过,精密量取滤液 5 mL 置烧瓶中,挥去溶剂,加 8% 盐酸溶液 10 mL,超声处理 2 min,加三氯甲烷 10 mL,加热回流 1 h,放冷,置分液漏斗中,用少量三氯甲烷洗涤容器,并入分液漏斗中,分取三氯甲烷层,酸液再用三氯甲烷提取 3 次,每次 10 mL,合并三氯甲烷液,减压回收溶剂,残渣用甲醇溶解并定容至 10 mL。

提取物中间体供试品溶液制备:取提取物中间体粉末 0.1 g,按上述药材供试品溶液制备方法制备。

制剂供试品溶液制备:取制剂 20 片,研细过 40 目筛,混合均匀,精密称取 1.0 g,按上述药材供试品溶液制备方法制备。

**2.3 相对校正因子的计算** 根据一测多评法的方法原理<sup>[4-5]</sup>,在一定的范围内(线性范围内)成分的量(质量或浓度)与检测器响应成正比,即  $W = f_A$ 。对于多成分的中药材或中药制剂测定时,选取某一典型组分为内标,建立该组分与其他组分之间的相对校正因子,  $f_{k/s} = (A_s \times W_k) / (A_k \times W_s)$ ,其中  $A, W, f_{k/s}$  分别为色谱峰面积(mAu)、成分的质量浓度(mg·L<sup>-1</sup>)及相对校正因子,下标  $k, s$  分别代表待测成分及参照成分。以该方法分别求算以芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚或大黄素甲醚作为参照成分时,其他 4 种成分的相对校正因子( $f_{k/s}$ )。

**2.4 方法学验证**

**2.4.1 建立标准曲线** 精密吸取上述配制好的系列对照品溶液,按 2.1 色谱条件测定,根据浓度和峰面积绘制标准曲线,结果表明 5 种成分在相应的线性范围内线性关系良好,结果见表 1。

**2.4.2 精密度试验** 精密吸取混合对照品溶液 5 μL,连续进样 6 次,芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚峰面积的日内精密度 RSD 分别为 0.16%,0.24%,0.32%,0.23%,0.26%,结果表明仪器精密度良好。

**2.4.3 稳定性试验** 精密吸取混合对照品溶液 5 μL,连续 5 d 进样,芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚峰面积的日间精密度 RSD 分

表 1 5 种大黄蒽醌成分的标准曲线和线性范围

蒽醌成分	标准曲线	r	线性范围 /mg·L <sup>-1</sup>
芦荟大黄素	$Y = 18.681X + 4.0673$	1	1.688 ~ 84.4
大黄酸	$Y = 16.396X + 3.36$	1	1.696 ~ 84.8
大黄素	$Y = 13.809X + 1.1621$	1	1.776 ~ 88.8
大黄酚	$Y = 19.851X + 3.5784$	1	1.952 ~ 97.6
大黄素甲醚	$Y = 14.704X + 0.4304$	0.9999	1.12 ~ 22.4

别为 0.41%,0.97%,0.19%,0.29%,0.87%,结果显示混合对照品溶液在 5 天内的稳定性良好。

**2.4.4 重复性试验** 取大黄粉末 6 份,精密称定,按 2.1.2 项下大黄供试品溶液制备方法制备样品,测得芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的平均含量分别为 0.15%,0.12%,0.34%,0.72%,0.20%;RSD 分别为 4.82%,4.76%,3.40%,5.06%,4.99%,结果表明该方法重复性良好。

**2.4.5 加样回收率试验** 取大黄粉末 6 份,精密称定,加入大黄混标溶液 2.5 mL,按 2.2 项下大黄供试品溶液制备方法制备样品并测定,计算芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的平均回收率分别为 104.90%,104.99%,103.08%,104.43%,104.55%;采用 QAMS 计算加样回收率时,5 种大黄蒽醌成分的加样回收率范围为 102.49%~106.88%,结果见表 2。

**2.5 相对校正因子的计算** 利用 2.2.1 项下不同浓度的对照品溶液及其所对应的峰面积数据,分别以芦荟大黄素(aloe-emodin,简称 A)、大黄酸(rhein,简称 R)、大黄素(emodin,简称 E)、大黄酚(chrysophanol,简称 C)或大黄素甲醚(phycion,简称 P)为内标,计算其余 4 种成分的校正因子,结果见表 3。

**2.6 待测组分数谱峰的定位** 实验中采用 Agilent HC-C<sub>18</sub>(4.6 mm×250 mm,5 μm),Kromasil 100-5 C<sub>18</sub>(4.6 mm×250 mm,5 μm)和 Venusil MP-C<sub>18</sub>(4.6 mm×250 mm,5 μm)3 种色谱柱对大黄及其提取物进行测定,比较不同色谱柱条件下 5 种待测成分的相对保留值(待测成分与参照成分保留时间的比值)和保留时间差,采用大黄素作为内标,相对保留值的 RSD 3.94%~9.98%,结果见表 4。以大黄素为内标,采用 Agilent HC-C<sub>18</sub> 色谱柱对大黄、提取物及其制剂测定,其保留时间差和相对保留值的 RSD 分别为 -6.15%~7.53%,0.04%~2.01%,见

表2 加样回收率与 QAMS 法计算加样回收率的比较( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

%

参照成分	待测成分				
	芦荟大黄素	大黄酸	大黄素	大黄酚	大黄素甲醚
芦荟大黄素	104.90 ± 0.80 <sup>a</sup>	105.22 ± 0.35	102.72 ± 0.55	103.01 ± 0.13	102.56 ± 0.61
大黄酸	104.66 ± 0.77	104.99 ± 0.37 <sup>a</sup>	102.49 ± 0.54	102.78 ± 0.11	102.77 ± 0.62
大黄素	105.21 ± 0.78	105.54 ± 0.36	103.08 ± 0.55 <sup>a</sup>	103.32 ± 0.11	102.65 ± 0.61
大黄酚	106.34 ± 0.79	106.67 ± 0.37	104.13 ± 0.55	104.43 ± 0.12 <sup>a</sup>	104.00 ± 0.62
大黄素甲醚	106.88 ± 0.79	106.77 ± 0.37	104.84 ± 0.55	104.93 ± 0.11	104.55 ± 0.63 <sup>a</sup>

注:<sup>a</sup>代表其成分的实测加样回收率;其余为利用 QAMS 计算的加样回收率。

表3 不同浓度大黄蒽醌的相对校正因子

浓度	以芦荟大黄素为内标				以大黄酸为内标				以大黄素为内标			
	$f_{A/R}$	$f_{A/E}$	$f_{A/C}$	$f_{A/P}$	$f_{R/A}$	$f_{R/E}$	$f_{R/C}$	$f_{R/P}$	$f_{E/A}$	$f_{E/R}$	$f_{E/C}$	$f_{E/P}$
1	0.877 2	0.695 7	1.061 4	0.807 3	1.140 2	0.793 1	1.210 1	0.901 2	1.437 7	1.261 1	1.525 9	1.152 0
2	0.886 7	0.729 1	1.055 3	0.763 2	1.127 8	0.822 3	1.190 2	0.860 7	1.371 5	1.216 1	1.447 3	1.046 7
3	0.876 5	0.735 7	1.058 2	0.793 3	1.140 9	0.839 3	1.207 3	0.905 1	1.359 3	1.191 4	1.438 4	1.078 4
4	0.873 0	0.730 4	1.053 9	0.764 4	1.145 3	0.836 6	1.207 1	0.875 5	1.369 1	1.195 3	1.442 9	1.046 5
5	0.877 2	0.732 4	1.059 9	0.781 8	1.140 0	0.835 0	1.208 2	0.891 2	1.365 3	1.197 7	1.447 1	1.067 4
6	0.878 1	0.739 3	1.057 4		1.138 9	0.841 9	1.204 3		1.352 7	1.187 8	1.430 3	
平均值	0.878 1	0.727 1	1.057 7	0.782 0	1.138 9	0.828 0	1.204 5	0.886 7	1.375 9	1.208 2	1.455 3	1.078 2
RSD/%	0.52	2.18	0.26	2.41	0.51	2.22	0.61	2.09	2.25	2.29	2.42	4.03

浓度	以大黄酚为内标				以大黄素甲醚为内标			
	$f_{C/A}$	$f_{C/R}$	$f_{C/E}$	$f_{C/P}$	$f_{P/A}$	$f_{P/R}$	$f_{P/E}$	$f_{P/C}$
1	0.942 2	0.826 4	0.655 4	0.759 8	1.238 7	1.109 6	0.868 1	1.316 2
2	0.947 6	0.840 2	0.690 9	0.723 2	1.310 3	1.161 9	0.955 4	1.382 8
3	0.945 0	0.828 3	0.695 2	0.749 7	1.260 5	1.104 9	0.927 3	1.333 9
4	0.948 9	0.828 4	0.693 1	0.725 3	1.308 3	1.142 3	0.955 6	1.378 8
5	0.943 5	0.827 6	0.691 0	0.737 6	1.279 1	1.122 1	0.936 9	1.355 8
6	0.945 7	0.830 4	0.699 1					
平均值	0.945 5	0.830 2	0.687 5	0.739 1	1.279 4	1.128 1	0.928 7	1.353 4
RSD/%	0.26	0.61	2.33	2.12	2.41	2.11	3.88	2.12

表5。结果显示采用相对保留值对大黄及其制剂中蒽醌类成分色谱峰定位优于保留时间差。

**2.7 “一测多评”法与外标法测定结果的比较** 按照 2.1.2 项下药材、提取物中间体和制剂供试品溶液的制备方法分别制备样品溶液,并采用 2.1 色谱条件测定,分别以芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚作为“一测多评”法的内参物,分别计算不同批次药材、提取物中间体和制剂中 5 种成分的含量,并与外标法的测定结果进行比较,计算相对误差,利用相对误差评价 QAMS 方法<sup>[6-8]</sup>的准确度,大黄药材及提取物中各成分的相对误差 < ±5%;而大黄制剂中芦荟大黄素的相对误差较大,其余 4 种成分的相对误差均 < ±5%。表 6 为以大黄素为内参物,分别计算大黄药材、提取物和制剂中其余 4 种成分含量,大黄药材的相对误差范围为 -3.91% ~ 4.06%;提取物中间体的相对误差范围

-3.22% ~ 3.27%,均 < ±5%;而大黄制剂的相对误差范围在 -5.39% ~ 7.00%。结果表明两种测定结果之间无显著性差异。

### 3 讨论

本实验利用一测多评方法对大黄、含大黄提取物及其制剂中蒽醌类成分进行含量测定。分别以 5 种不同蒽醌成分作为内参物,计算其他 4 种成分的相对校正因子,并利用相对校正因子测定其含量,通过对不同批次大黄、大黄提取物、复方混提物、含大黄制剂中蒽醌成分的含量分析,大黄药材及提取物中各成分的相对误差 < ±5%,结果说明内参物的选择对结果影响较小;但采用 QAMS 法和外标法对大黄制剂中蒽醌成分含量分析时发现,当以芦荟大黄素作为内参物时,其余 4 种成分的相对误差较大,分析认为是由于制剂中成分复杂,图 1D 显示芦荟大黄素色谱峰在制剂供试液色谱图中分离度较低,其

表 4 使用不同色谱柱测定大黄及其提取物的保留时间、保留时间差值及相对保留值

min (%)

待测成分	保留时间	保留时间差值( $RT_m - RT_s$ )				
		芦荟大黄素	大黄酸	大黄素	大黄酚	大黄素甲醚
芦荟大黄素	5.30 ± 0.33		1.29 ± 0.43	4.92 ± 0.73	8.12 ± 1.22	13.40 ± 2.05
(RSD)	(6.33)		(33.09)	(14.92)	(15.03)	(15.33)
大黄酸	6.59 ± 0.68	-1.29 ± 0.43		3.63 ± 0.37	6.83 ± 1.20	12.11 ± 1.99
(RSD)	(10.36)	(-33.09)		(10.13)	(17.53)	(16.44)
大黄素	10.22 ± 0.90	-4.92 ± 0.73	-3.63 ± 0.37		3.19 ± 1.04	8.47 ± 1.76
(RSD)	(8.85)	(-14.92)	(-10.13)		(32.42)	(20.75)
大黄酚	13.41 ± 1.06	-8.12 ± 1.22	-6.83 ± 1.20	-3.19 ± 1.03		5.28 ± 0.84
(RSD)	(7.89)	(-15.03)	(-17.53)	(-32.42)		(15.86)
大黄素甲醚	18.69 ± 1.88	-13.40 ± 2.05	-12.11 ± 1.99	-8.47 ± 1.76	-5.28 ± 0.83	
(RSD)	(10.07)	(-15.33)	(-16.44)	(-20.74)	(-15.86)	
芦荟大黄素	5.30 ± 0.33		1.24 ± 0.06	1.93 ± 0.13	2.55 ± 0.31	3.55 ± 0.51
(RSD)	(6.33)		(5.11)	(6.49)	(12.02)	(14.37)
大黄酸	6.59 ± 0.68	0.81 ± 0.04		1.55 ± 0.06	2.05 ± 0.24	2.86 ± 0.39
(RSD)	(10.36)	(4.46)		(3.94)	(11.57)	(13.73)
大黄素	10.22 ± 0.90	0.52 ± 0.03	0.64 ± 0.02		1.33 ± 0.10	1.83 ± 0.18
(RSD)	(8.85)	(6.29)	(3.87)		(7.87)	(9.92)
大黄酚	13.41 ± 1.06	0.40 ± 0.04	0.49 ± 0.06	0.76 ± 0.06		1.39 ± 0.03
(RSD)	(7.89)	(11.51)	(11.64)	(8.22)		(2.35)
大黄素甲醚	18.69 ± 1.88	0.29 ± 0.04	0.36 ± 0.04	0.55 ± 0.05	0.72 ± 0.02	
(RSD)	(10.07)	(13.69)	(13.49)	(9.98)	(2.34)	

注:  $RT_m, RT_s$  分别代表待测成分和内标物保留时间。

表 5 大黄药材、提取物及其制剂 QAMS 法待测成分色谱峰的定位 (以大黄素为内标)

min

样品	保留时间差值( $RT_m - RT_s$ )				相对保留时间( $RT_m/RT_s$ )			
	芦荟大黄素	大黄酸	大黄酚	大黄素甲醚	芦荟大黄素	大黄酸	大黄酚	大黄素甲醚
药材 1	-4.262	-3.182	2.420	6.689	0.556	0.668	1.252	1.697
药材 2	-4.261	-3.185	2.421	6.694	0.556	0.668	1.252	1.698
提取物 1	-4.258	-3.186	2.417	6.686	0.556	0.558	1.252	1.697
提取物 2	-4.776	-3.574	2.598	7.530	0.535	0.652	1.253	1.734
制剂 1	-4.267	-3.193	2.423	6.695	0.555	0.667	1.252	1.698
制剂 2	-4.798	-3.589	2.592	7.531	0.534	0.651	1.252	1.732
平均值	-4.437	-3.318	2.479	6.971	0.549	0.662	1.252	1.709
RSD/	-6.11	-6.15	3.64	6.22	2.01	1.27	0.04	1.06

光谱图显示峰纯度低,这可能是导致相对误差较大的原因。因此,在采用一测多评法测定含量时,要保证峰分离度及其色谱峰纯度。实验最终选用大黄素作为内参物,其相对误差范围在 -5.39% ~ 7.00%;结果表明这两种方法测定的含量无显著性差异,此方法可用于含大黄的中药复方制剂。

本实验以大黄素为内参物时,5 种蒽醌类成分的相对校正因子分别是  $f_{E/A}^{254\text{nm}} = 1.38, f_{E/R}^{254\text{nm}} = 1.21, f_{E/C}^{254\text{nm}} = 1.46, f_{E/P}^{254\text{nm}} = 1.08$ , 色谱峰的相对保留值为  $RT_A/RT_E = 0.549, RT_A/RT_E = 0.662, RT_A/RT_E =$

$1.252, RT_A/RT_E = 1.709$ , 与文献[9-10]报道的 4 种蒽醌类成分的相对校正因子和色谱峰保留时间的相对保留值基本一致。实验中考察了 3 种品牌色谱柱对待测成分色谱峰的定位,结果显示不同品牌色谱柱对蒽醌类成分的选择性较强,不同蒽醌成分保留时间差异较大,Agilent HC-C<sub>18</sub>(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 和 Kromasil 100-5 C<sub>18</sub>(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱的保留时间较为接近,而蒽醌类成分在 Venusil MP-C<sub>18</sub>(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱上保留时间整体推后,同时大黄素和大黄酚推后时间

表6 采用大黄素作为内标,“一测多评”法( $W_f$ )与外标法( $W_s$ )求得不同批次大黄药材及其制剂中5种蒽醌成分含量 %

批次	大黄素			芦荟大黄素			大黄酸			大黄酚			大黄素甲醚			总量		
	$W_s$	$W_s$	$W_f$	$\Delta$	$W_s$	$W_f$	$\Delta$	$W_s$	$W_f$	$\Delta$	$W_s$	$W_f$	$\Delta$	$W_s$	$W_f$	$\Delta$		
药材 1-1	0.330 3	0.142 6	0.146 1	2.24	0.130 9	0.134 1	2.49	0.740 0	0.730 7	-1.26	0.204 2	0.201 0	-1.59	1.548 1	1.542 1	-0.38		
药材 1-2	0.350 3	0.156 0	0.159 1	2.0 3	0.125 8	0.129 2	2.74	0.756 2	0.746 9	-1.23	0.206 1	0.202 9	-1.56	1.594 2	1.588 3	-0.37		
药材 2-1	0.359 0	0.173 1	0.178 7	3.23	0.204 9	0.208 9	1.96	0.601 3	0.595 9	-0.91	0.136 0	0.134 2	-1.33	1.474 4	1.476 7	0.16		
药材 2-2	0.303 0	0.102 6	0.109 6	6.83	0.292 0	0.292 7	0.23	0.470 6	0.467 2	-0.74	0.113 2	0.111 7	-1.33	1.281 4	1.284 1	0.21		
药材 3-1	0.313 1	0.175 6	0.178 0	1.38	0.166 9	0.169 0	1.31	0.805 4	0.794 4	-1.37	0.234 9	0.230 9	-1.70	1.695 8	1.685 4	-0.61		
药材 3-2	0.277 6	0.126 7	0.132 8	4.86	0.249 1	0.250 8	0.68	0.368 9	0.367 6	-0.36	0.091 0	0.089 9	-1.15	1.113 3	1.118 7	0.49		
药材 4-1	0.303 0	0.102 6	0.109 6	6.83	0.292 0	0.292 7	0.23	0.470 6	0.467 2	-0.74	0.113 2	0.111 7	-1.33	1.281 4	1.284 1	0.21		
药材 4-2	0.303 7	0.143 2	0.149 0	4.05	0.258 4	0.260 1	0.66	0.475 7	0.472 2	-0.75	0.112 3	0.110 8	-1.32	1.293 3	1.295 8	0.19		
提取物 1	1.046 4	0.528 0	0.527 5	-0.09	0.693 6	0.688 8	-0.69	1.214 7	1.203 8	-0.89	0.355 9	0.351 5	-1.23	3.838 6	3.818 0	-0.53		
提取物 2	0.924 5	0.429 2	0.430 4	0.26	0.755 2	0.748 5	-0.88	1.015 9	1.007 6	-0.82	0.311 1	0.307 3	-1.22	3.436 0	3.418 3	-0.51		
混提物 1	0.492 6	0.308 1	0.310 4	0.74	0.405 5	0.404 7	-0.21	0.668 5	0.663 3	-0.77	0.181 4	0.179 1	-1.28	2.056 1	2.050 0	-0.29		
混提物 2	0.460 9	0.220 0	0.224 7	2.13	0.462 9	0.460 7	-0.49	0.535 1	0.532 5	-0.49	0.149 3	0.147 6	-1.18	1.828 3	1.826 3	-0.10		
混提物 3	0.401 9	0.211 4	0.216 0	2.15	0.482 8	0.479 4	-0.72	0.513 0	0.510 1	-0.56	0.153 8	0.151 8	-1.32	1.762 9	1.759 1	-0.21		
制剂 1	0.128 0	0.069 5	0.074 4	7.00	0.110 0	0.114 2	3.86	0.146 0	0.148 1	1.45	0.040 5	0.040 1	-0.94	0.492 0	0.504 9	2.61		
制剂 2	0.084 0	0.066 0	0.062 4	-5.39	0.089 0	0.092 8	4.24	0.112 0	0.113 8	1.57	0.030 2	0.029 8	-1.39	0.371 2	0.382 8	3.11		
制剂 3	0.090 0	0.057 9	0.057 7	-0.38	0.076 0	0.075 3	-0.91	0.131 0	0.129 7	-1.02	0.037 8	0.037 3	-1.31	0.392 7	0.390 0	-0.70		

注:相对误差  $\Delta = (W_f - W_s) / W_s \times 100\%$ ;  $W_f$  为 QAMS 计算含量;  $W_s$  为外标法实测含量。

不一致,导致其分离度  $< 1.5$ 。因此,在采用 QAMS 对中药及其复方制剂进行色谱峰定位时,需对色谱柱的规格和型号做出规定。

本文利用相对误差对一测多评法和外标法结果的比较,结果表明,一测多评方法测得的蒽醌类成分含量的相对误差  $< 7\%$ ,说明建立的相对校正因子具有较好的可信度。采用一测多评法对大黄、提取物中间体及含大黄的制剂进行测定,解决了科研和质检工作中对具有复杂成分的中药及复方的质量控制,具有快速、廉价、方便等优点,可用于大黄及其制剂中蒽醌类成分的质量评价。

#### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:22.
- [2] 焦东海,陈敏先,钱耀贤,等. 精制大黄片治疗单纯性肥胖症的临床观察[J]. 中医杂志,1990,5:26.
- [3] 何正显,信玉琼,陈明. 大黄的化学成分、药理作用及其在临床急症中的应用[J]. 中国中医急症,2007,1(2):227.

- [4] 王智民,高慧敏,付雪涛,等. “一测多评”法中药质量评价模式方法学研究[J]. 中国中药杂志,2006,31(23):1925.
- [5] 高慧敏,宋宗华,王智民,等. 适合中药特点的质量评价模式-QAMS 研究概述[J]. 中国中药杂志,2012,37(4):405.
- [6] 张红伟,张振凌. “一测多评”法在中药质量控制中的研究进展[J]. 海峡药学,2010,22(11):88.
- [7] 刘娟,魏胜利,刘春生,等. HPLC 测定 2 种大黄中 4 类功效组分含量[J]. 2012,18(24):157.
- [8] 孟江,卢国勇,程轩轩,等. 一测多评法同时测定干姜中 4 种姜酚类成分的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(7):77.
- [9] 王钰莹,冯伟红,杨菲,等. “一测多评”法测定三黄片中的大黄蒽醌类成分[J]. 中国中药杂志,2012,37(2):212.
- [10] 张锴镛,冯伟红,王智民,等. 一测多评法与外标法测定新清宁片中大黄蒽醌类成分含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(11):61.

[责任编辑 顾雪竹]