

中图分类号: R917; R975<sup>+</sup>.2  
doi:10.3969 / j.issn.1006 - 4931.2025.05.017

文献标志码: A

文章编号: 1006 - 4931(2025)05 - 0084 - 04



## 大黄碳酸氢钠片质量标准研究\*

王昆鹏, 张月娴, 钟 玮, 邓晓锶, 魏志雄<sup>△</sup>

(广东省东莞市食品药品检验所, 广东 东莞 523808)

**摘要:**目的 完善大黄碳酸氢钠片的质量标准。方法 采用薄层色谱(TLC)法对制剂中伪品大黄指标性成分土大黄苷进行定性鉴别; 采用高效液相色谱法测定大黄中5种游离蒽醌芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的含量, 色谱柱为 Shiseido Capcell PAK C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇 - 0.2% 磷酸溶液(梯度洗脱), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 254 nm, 柱温为 35 °C, 进样量为 10 μL。结果 土大黄苷的 TLC 图斑点清晰, 分离度好, 且制剂中未检出土大黄苷。芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的质量浓度分别在 0.247 2 ~ 39.546 0 μg/mL、0.246 3 ~ 39.402 2 μg/mL、0.239 3 ~ 38.284 8 μg/mL、0.262 4 ~ 41.986 6 μg/mL、0.207 6 ~ 8.303 0 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好( $r \geq 0.999 7, n = 7$ ); 精密度、稳定性、重复性试验结果的 RSD 均小于 1.5%; 平均加样回收率分别为 100.36%, 102.26%, 102.17%, 103.20%, 103.38%, RSD 分别为 1.64%, 1.35%, 1.50%, 1.62%, 1.88% ( $n = 6$ )。8 批大黄碳酸氢钠片按处方折算, 大黄粉中 5 种游离蒽醌总含量分别为 0.18%, 0.23%, 0.37%, 0.76%, 0.36%, 0.08%, 0.12%, 0.75%, 大黄的质量差异较大。结论 所建立的方法操作简便、结果准确可靠, 可用于大黄碳酸氢钠片的质量控制。

**关键词:** 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 大黄碳酸氢钠片; 游离蒽醌; 土大黄苷; 质量标准

### Quality Standard of Rhubarb and Sodium Bicarbonate Tablets

WANG Kunpeng, ZHANG Yuexian, ZHONG Wei, DENG Xiaosi, WEI Zhixiong

(Dongguan Institute for Food and Drug Control, Dongguan, Guangdong, China 523808)

**Abstract: Objective** To improve the quality standards of Rhubarb and Sodium Bicarbonate Tablets. **Methods** Thin - layer chromatography (TLC) method was used to qualitatively identify the indicator component of rhaponticin. High - performance liquid chromatography (HPLC) method was used to determine the content of five free anthraquinones of rhubarb (aloe - emodin, rhein, emodin, chrysophanol and physcion) in Rhei Radix et Rhizoma. The chromatographic column was Shiseido Capcell PAK C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was methanol - 0.2% phosphoric acid solution (gradient elution), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 254 nm, the column temperature was 35 °C, and the injection volume was 10 μL. **Results** The TLC spot of rhaponticin was clear with good separation, and no rhaponticin was detected in the preparation. The linear ranges of aloe - emodin, rhein, emodin, chrysophanol and physcion were 0.247 2 - 39.546 0 μg/mL, 0.246 3 - 39.402 2 μg/mL, 0.239 3 - 38.284 8 μg/mL, 0.262 4 - 41.986 6 μg/mL, and 0.207 6 - 8.303 0 μg/mL, respectively ( $r \geq 0.999 7, n = 7$ ). The RSDs of precision, stability, and repeatability test results were all lower than 1.5%. The average recoveries of aloe - emodin, rhein, emodin, chrysophanol and physcion were 100.36%, 102.26%, 102.17%, 103.20%, and 103.38%, with RSDs of 1.64%, 1.35%, 1.50%, 1.62%, and 1.88%, respectively ( $n = 6$ ). According to the prescription, the total contents of five free anthraquinones in Rhei Radix et Rhizoma powder in eight batches of Rhubarb and Sodium Bicarbonate Tablets were 0.18%, 0.23%, 0.37%, 0.76%, 0.36%, 0.08%, 0.12%, and 0.75%, respectively, with a significant difference in the quality of Rhei Radix et Rhizoma. **Conclusion** The established method is simple, accurate and reliable, which can be used for quality control of Rhubarb and Sodium Bicarbonate Tablets.

**Key words:** TLC; HPLC; Rhubarb and Sodium Bicarbonate Tablets; free anthraquinones; rhaponticin; quality standard

大黄碳酸氢钠片为中西药复方制剂, 具有健胃、抗酸作用, 主要适用于胃酸过多、消化不良、食欲不振等症<sup>[1]</sup>。现行质量标准为《中华人民共和国卫生部药品标准: 化学药品及制剂(第一册)》, 但其仅有3个鉴别反应和2个常规检查项, 含量测定也只针对碳酸氢钠, 未对大黄的指标性成分蒽醌类化合物进行定量测定, 也

未对伪品大黄的指标性成分土大黄苷进行分析, 不能完全反映药品的质量<sup>[2-3]</sup>。大黄指标性成分的含量测定主要采用高效液相色谱(HPLC)法, 土大黄苷的检测方法有薄层色谱(TLC)法、HPLC法和超高效液相色谱串联质谱(UPLC-MS/MS)法等<sup>[4-5]</sup>。考虑检验方法的经济性和可能的掺伪量, 多采用TLC法检测土大黄苷。故本

\*基金项目: 广东省东莞市社会发展科技项目[20211800904842]。

第一作者: 王昆鹏, 男, 硕士研究生, 主管药师, 研究方向为药物分析及质量控制, (电子信箱)342669856@qq.com。

<sup>△</sup>通信作者: 魏志雄, 男, 博士研究生, 副主任中药师, 研究方向为食品、药品、化妆品的质量检测及控制, (电子信箱)59795448@qq.com。

研究中采用TLC法检测伪品大黄的指标性成分土大黄苷,采用HPLC法测定大黄碳酸氢钠片中5种游离蒽醌的含量,旨在为该制剂的标准完善和质量评价提供参考。现报道如下。

## 1 仪器与试药

### 1.1 仪器

UltiMate3000型高效液相色谱仪(美国Thermo公司);TLC Visualizer 2型薄层成像仪(瑞士Camag公司);XS205DU型电子天平(瑞士Mettler公司,精度为0.01 mg);CPX5800H-C型超声波清洗机(美国Branson公司,功率为160 W,频率为40 kHz)。

### 1.2 试药

大黄碳酸氢钠片[编号为S1-S8,生产企业分别为四川金药师制药有限公司(批号为210802),云南郡筹制药有限公司(批号为20050),河南福森药业有限公司(批号为201002),上海黄海制药有限责任公司(批号为210304),河南鼎昌药业有限公司(批号为21010801),四川德元药业集团有限公司(批号为210701),郑州天宁药业有限公司(批号为20201108),广西十万山制药有限公司(批号为210701)];芦荟大黄素对照品(批号为110795-202011,含量为97.5%),大黄酸对照品(批号为110757-201607,含量为99.3%),大黄素对照品(批号为110756-201913,含量为96.0%),大黄酚对照品(批号为110796-201922,含量为99.4%),大黄素甲醚对照品(批号为110758-201817,含量为99.2%),土大黄苷对照品(批号为110794-201909),均购自中国食品药品检定研究院;甲醇为色谱纯,水为超纯水,其他试剂及定量分析用甲醇均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 TLC鉴别

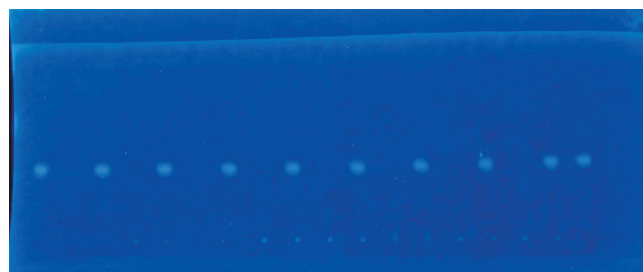
#### 2.1.1 溶液制备

取土大黄苷对照品10 mg,精密称定,加甲醇制成质量浓度为10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的溶液(临用新制),即得土大黄苷对照品溶液。取相当于大黄原粉100 mg的样品粉末,精密称定,加甲醇10 mL,超声20 min(功率为160 W,频率为40 kHz),放冷,滤过,精密量取滤液1 mL,置10 mL容量瓶,加甲醇定容,即得供试品溶液<sup>[6]</sup>。取相当于大黄原粉100 mg的样品粉末,精密称定,加土大黄苷对照品1 mg,加甲醇10 mL,超声20 min(功率为160 W,频率为40 kHz),滤过,精密量取续滤液1 mL,置10 mL容量瓶中,加甲醇定容,即得加标溶液。

#### 2.1.2 专属性试验

取8批样品(编号为S1-S8)各适量,按2.1.1项下方法制备供试品溶液,再分别吸取上述对照品溶液和加标溶液各5  $\mu\text{L}$ ,点于同一聚酰胺薄膜上,以甲苯-甲

酸乙酯-丙酮-甲醇-甲酸(30:5:5:20:0.1, V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置薄层成像仪中,在365 nm波长紫外光灯下检视<sup>[6-7]</sup>。结果8批样品均未检出土大黄苷(可作为阴性对照),加标溶液均检出与土大黄苷对照品溶液相同的亮蓝色荧光斑点,且亮度相近,表明方法专属性良好。详见图1。



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18  
1, 18. 对照品溶液 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16. 供试品溶液(编号为S1-S8) 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17. 加标溶液

图1 薄层色谱图

1 - 18. Reference solution 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16. Test solution (numbered S1 - S8) 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17. Additive solution

Fig. 1 TLC chromatogram

#### 2.1.3 检测限确定

取土大黄苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成质量浓度分别为5.00, 2.00, 1.00, 0.50, 0.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的系列对照品溶液,按2020年版《中国药典(一部)》<sup>[6]</sup>项下方法检测。结果土大黄苷点样5  $\mu\text{L}$ 时,最小检测质量浓度为1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,检测限为5 ng。

### 2.2 HPLC法测定5种大黄游离蒽醌含量

#### 2.2.1 色谱条件

色谱柱:Shiseido Capcell PAK C<sub>18</sub>柱(250 mm×4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ );流动相:甲醇(A)-0.2%磷酸溶液(B),梯度洗脱(0~10 min时75%A, 10~13 min时75%A~85%A, 13~23 min时85%A, 23~25 min时85%A~75%A, 25~31 min时75%A);流速:1.0 mL/min;检测波长:254 nm;柱温:35  $^{\circ}\text{C}$ ;进样量:10  $\mu\text{L}$ 。

#### 2.2.2 溶液制备

取芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚对照品各10 mg,大黄素甲醚对照品8 mg,精密称定,置同一250 mL容量瓶中,加甲醇制成每1 mL约含芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚40  $\mu\text{g}$ 和大黄素甲醚32  $\mu\text{g}$ 的混合对照品溶液1。取混合对照品溶液1适量,稀释成每1 mL分别含芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚各约20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.25  $\mu\text{g}$ 和大黄素甲醚16, 8, 4, 2, 1, 0.2  $\mu\text{g}$ 的系列混合对照品溶液2-7。取样品20片,研细,取细粉0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇50 mL,称定质量,加热回流1 h,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,0.45  $\mu\text{m}$ 滤膜滤过,

取续滤液,即得供试品溶液。按大黄碳酸氢钠片处方比例及制备方法制备不含大黄的阴性样品,取0.25 g,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.2.3 方法学考察

系统适用性和专属性试验:精密吸取2.2.2项下混合对照品溶液3、供试品溶液和阴性对照品溶液各适量,按2.2.1项下色谱条件进样测定。结果供试品溶液色谱中,与对照品溶液色谱中5种游离蒽醌色谱峰的保留时间一致,与相邻峰的分离度均大于1.5,理论板数均大于10 000,且阴性对照无干扰。色谱图见图2。

线性关系考察:取2.2.2项下混合对照品溶液1~7,按2.2.1项下色谱条件进样测定,以对照品溶液质量浓度为横坐标( $X, \mu\text{g}/\text{mL}$ )、峰面积( $Y$ )为纵坐标进行线性回归。结果见表1。

精密度试验:精密量取2.2.2项下混合对照品溶液3适量,按2.2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果见表1,表明仪器精密度良好。

重复性试验:取样品(编号为S3),按2.2.2项下方法制备供试品溶液6份,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算含量。结果见表1,表明方法重复性良好。

稳定性试验:取样品(编号为S3),按2.2.2项下方法制备供试品溶液,分别于0,6,12,18,24,30,36 h时按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果见表1,表明供试品溶液放置36 h内稳定性良好。

加样回收试验:取样品(编号为S3)细粉6份,每份约0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,分别精密加入与已知样品含量相当的对照品溶液共100 mL,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算回收率。结果见表1,表明方法准确度良好。

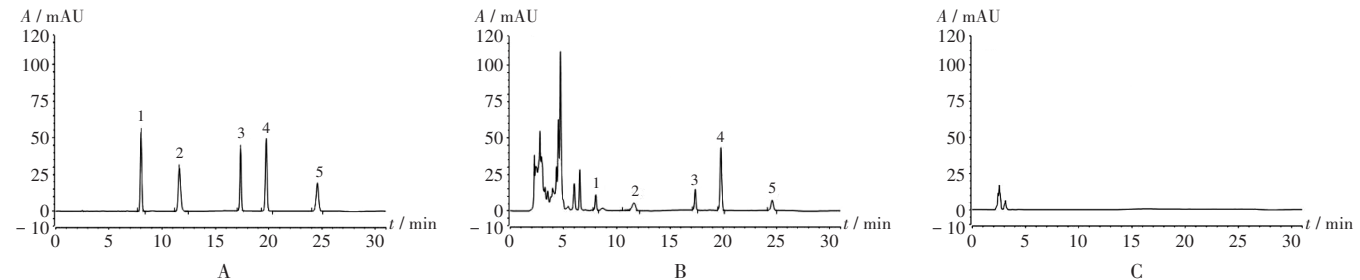
2.2.4 样品含量测定

取8批样品(编号为S1~S8)适量,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,按外标法计算含量,并按处方折算大黄粉中5种游离蒽醌总含量。结果见表2,表明8批药品中大黄的质量差异较大。

3 讨论

3.1 TLC 条件选择

本研究中参考文献[4,6~9]对不同展开体系和不同类型薄层板的分离效果进行了考察,结果以甲苯-甲酸乙酯-丙酮-甲醇-甲酸(30:5:5:20:0.1,  $V/V/V/V/V$ )为展开剂时效果最佳;同时发现市售硅胶G板



1. 芦荟大黄素 2. 大黄酸 3. 大黄素 4. 大黄酚 5. 大黄素甲醚  
A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图2 高效液相色谱图

1. Aloe-emodin 2. Rhein 3. Emodin 4. Chrysophanol 5. Physcion  
A. Mixed reference solution B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 2 HPLC chromatograms

表1 方法学考察结果

Tab. 1 Results of the methodological investigation

| 成分     | 回归方程                   | $r$    | 线性范围<br>( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) | RSD(%) |      |      | 加样回收试验(%) |      |
|--------|------------------------|--------|-------------------------------------|--------|------|------|-----------|------|
|        |                        |        |                                     | 精密度    | 重复性  | 稳定性  | 平均回收率     | RSD  |
| 芦荟大黄素  | $Y = 0.8057X + 0.0192$ | 1.0000 | 0.2472~39.5460                      | 0.43   | 1.14 | 0.40 | 100.36    | 1.64 |
| 大黄酸    | $Y = 0.6993X + 0.0172$ | 1.0000 | 0.2463~39.4022                      | 0.46   | 1.08 | 0.36 | 102.26    | 1.35 |
| 大黄素    | $Y = 0.6288X - 0.0256$ | 1.0000 | 0.2393~38.2848                      | 0.28   | 1.10 | 0.48 | 102.17    | 1.50 |
| 大黄酚    | $Y = 0.8078X + 0.0192$ | 0.9997 | 0.2624~41.9866                      | 0.26   | 1.11 | 0.36 | 103.20    | 1.62 |
| 大黄素甲醚* | $Y = 0.4666X - 0.0097$ | 1.0000 | 0.2076~8.3030                       | 0.31   | 1.02 | 0.33 | 103.38    | 1.88 |

注:\*指大黄素甲醚取混合对照品溶液3~7的峰面积参与计算。

Note:\* indicates that physcion is calculated by taking the peak area of the mixed reference solution 3~7.

表 2 样品中 5 种游离蒽醌含量测定结果

Tab. 2 Results of the content determination of five free anthraquinones in samples

| 编号 | 芦荟大黄素<br>( $\mu\text{g}/\text{片}$ ) | 大黄酸<br>( $\mu\text{g}/\text{片}$ ) | 大黄素<br>( $\mu\text{g}/\text{片}$ ) | 大黄酚<br>( $\mu\text{g}/\text{片}$ ) | 大黄素甲醚<br>( $\mu\text{g}/\text{片}$ ) | 合计<br>( $\mu\text{g}/\text{片}$ ) | 按处方折算大黄<br>粉总含量(%) |
|----|-------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|--------------------|
| S1 | 8.27                                | 10.65                             | 9.42                              | 183.44                            | 62.44                               | 274.22                           | 0.18               |
| S2 | 15.28                               | 18.57                             | 32.27                             | 216.22                            | 58.47                               | 340.81                           | 0.23               |
| S3 | 53.13                               | 97.12                             | 123.60                            | 258.74                            | 91.06                               | 623.65                           | 0.37               |
| S4 | 88.15                               | 120.53                            | 175.93                            | 708.17                            | 186.77                              | 1279.55                          | 0.76               |
| S5 | 23.66                               | 29.55                             | 29.10                             | 381.61                            | 103.35                              | 567.27                           | 0.36               |
| S6 | 6.31                                | 7.78                              | 11.57                             | 82.50                             | 21.12                               | 129.28                           | 0.08               |
| S7 | 13.52                               | 15.81                             | 20.30                             | 96.44                             | 28.29                               | 174.36                           | 0.12               |
| S8 | 74.16                               | 96.46                             | 143.21                            | 641.89                            | 164.29                              | 1120.01                          | 0.75               |

和聚酰胺薄膜虽都可有效分离药品中的土大黄苷,但硅胶 G 板展开后显示供试品中存在其他成分干扰,而后者不存在其他成分干扰且分离效果和亮度更好,故采用聚酰胺薄膜。预试验考察了温度和相对湿度可能对结果产生的影响,发现温度为 5, 25, 40  $^{\circ}\text{C}$  时无显著差异,相对湿度为 32%, 72% 时也无显著差异,故选择在室温条件下进行本试验。

3.2 HPLC 条件选择

以往的研究中,采用的色谱柱类型和检测波长相似,流动相体系基本为甲醇或乙腈与不同比例的酸溶液进行等度或梯度洗脱<sup>[10-16]</sup>。本研究中结合文献并参考 2020 年版《中国药典(一部)》大黄含量测定项下方法,发现 5 种已知游离蒽醌的峰形在某些型号的色谱柱中较差,故增加磷酸比例以改善峰形;发现使用《中国药典》规定比例的流动相会导致芦荟大黄素峰与其相邻杂质峰无法达到基线分离,故降低有机相比比例,使其与相邻杂质峰的分离度能满足要求;同时将等度洗脱改为梯度洗脱,以减少分析时间,提高检验效率。最终确定 2.2.1 项下色谱条件。

3.3 样品质量分析

根据处方中大黄粉的投入量,1 000 片的总处方量约为 300 g,其中大黄(细粉)150 g,则每片含有大黄粉约 150 mg。按 2020 年版《中国药典(一部)》大黄含量测定项下大黄游离蒽醌标准规定,以干燥品计算,含游离蒽醌以芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的总量计,不得少于 0.20%。故每片含游离蒽醌的量约为 300  $\mu\text{g}$ ,考虑大黄水分不得过 15.0%,现按 100% 转化率计算,300  $\mu\text{g} \times 0.85 = 255 \mu\text{g}$ ,故拟订限度为每片含游离蒽醌以芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的总量计,不得低于 255  $\mu\text{g}$ 。本研究中的 8 批样品中有 6 批高于拟订限度,2 批低于拟订限度,表明个别企业质量控制较差。结合 TLC 鉴别结果,虽未发

现企业掺伪情况,但可能存在减少投药量或采用劣质药材投料的可能。

3.4 方法评价

本研究中建立的方法操作简便、结果准确可靠、重复性好,可用于大黄碳酸氢钠片的质量控制。

参考文献

[1] 周立文,杜改焕. 大黄碳酸氢钠片联合莫沙必利治疗 2 型糖尿病便秘 50 例临床观察[J]. 中医临床研究, 2014, 6(15):59-60.

[2] 金 鹏,吴 旭. 大黄碳酸氢钠片评价性抽验结果及质量评价[J]. 中国药物评价, 2017, 34(4):300-304.

[3] WS<sub>1</sub>-03(B)-89, 中华人民共和国卫生部药品标准:化学药品及制剂(第一册)[S].

[4] 陈 雪,辛 杰,王 振,等. 基于土大黄苷定性定量检测的大黄类中药掺伪鉴定方法研究进展[J]. 药学研究, 2021, 40(5):334-338.

[5] 胡 珀,吴 旭,王蓓蓓,等. UPLC-MS/MS 法测定大黄碳酸氢钠片和复方龙胆碳酸氢钠片中土大黄苷的含量[J]. 中国药物评价, 2020, 37(5):362-365.

[6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2020:24.

[7] 严 华,程显隆,魏 锋,等. 土大黄苷检测技术用于大黄及其制剂真伪鉴别的研究[C] // 中国药学会. 2010 年中国药学会暨第十届中国药师周论文集, 天津:中国药品生物制品检定所:2574-2581.

[8] 刘若冰,刘灿辉. 四黄泻火片中土大黄苷的定性鉴别[J]. 中医药导报, 2013, 19(10):88-91.

[9] 叶卫玲. 大黄和伪品大黄的鉴别[J]. 中国药业, 2012, 21(10):76.

[10] 王启斌,叶 方,黄良永,等. 超高效液相色谱串联质谱法同时测定大黄中 9 种蒽醌类成分含量[J]. 中国药业, 2021, 30(14):58-62.

[11] 曾玉梅,刘志辉,陈繁华,等. 大黄碳酸氢钠片中大黄及薄荷油的质量控制研究[J]. 中国药物评价, 2019, 36(1):21-25.

[12] 杨亚婷,王嫦娥,王莉璇. 大黄碳酸氢钠片总蒽醌含量测定及指纹图谱研究[J]. 西北药学杂志, 2020, 35(1):45-48.

[13] 吴 勇,刘 燕,王 雷,等. 高效液相色谱法同时测定大黄碳酸氢钠片中 5 种成分的含量[J]. 中南药学, 2019, 17(10):1718-1720.

[14] 潘海娟,林 玲,谢学建,等. 以大黄制剂为例的一测多评法应用研究[J]. 东南国防医药, 2021, 23(5):506-510.

[15] 苏 瑞,于如海. 一测多评法测定疏风清热胶囊中五种蒽醌类成分的含量[J]. 中国医院用药评价与分析, 2019, 19(1):66-68.

[16] 张凯东,李娇娇,毕晓艳. 等. HPLC 法同时测定大黄虚虫胶囊中 5 种成分的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2019, 36(9):812-817.

(收稿日期:2024-01-03;修回日期:2024-08-20)