**HPLC测定导赤丸中大黄含量的方法**

大黄 总蒽醌 照高效液相色谱法（通则0512）测定。

色谱条件与系统适用性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；以甲醇为流动相A，以0.1%的磷酸为流动相B，按下表中的规定进行梯度洗脱；检测波长为254nm。理论板数按大黄酚峰计算应不低于2000。

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 时间（分钟） | 流动相A（%） | 流动相B(%) |
| 0 | 55 | 45 |
| 20 | 60 | 40 |
| 25 | 70 | 30 |
| 30 | 70 | 30 |
| 45 | 100 | 0 |

对照品溶液的制备 精密称取芦荟大黄素对照品、大黄酸对照品、大黄素对照品、大黄酚对照品、大黄素甲醚对照品适量，加甲醇分别制成每1ml含芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄素甲醚各40μg，大黄酚80μg的溶液；分别精密量取上述对照品溶液各2ml，混匀，即得（每1ml中含芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄素甲醚各8μg，大黄酚16μg）。

供试品溶液的制备 取本品，水蜜丸研细或大蜜丸剪碎，混匀，取约1g，精密称定，加10%盐酸溶液30ml，三氯甲烷30ml，加热回流1小时，分取三氯甲烷层，酸液再用三氯甲烷提取3次，每次15ml，合并三氯甲烷液，回收溶剂至干，残渣加甲醇使溶解，转移至10ml量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

测定法 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各10µl，注入液相色谱仪，测定，即得。

游离蒽醌 照高效液相色谱法（通则0512）测定。

色谱条件与系统适用性试验 同[含量测定]总蒽醌项下。

对照品溶液的制备 取[含量测定]总蒽醌项下的对照品溶液，即得。

供试品溶液的制备 取本品，水蜜丸研细或大蜜丸剪碎，混匀，取约1g，置具塞锥形瓶中，精密称定，精密加入甲醇25ml，称定重量，加热回流1小时，放冷，再称定重量，用甲醇补足减失的重量，摇匀，滤过，精密量取15ml，蒸干，用甲醇溶解并转移至5ml量瓶中，并稀释至刻度，摇匀，即得。

测定法 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各10µl，注入液相色谱仪，测定，即得。

结合蒽醌含量=总蒽醌含量-游离蒽醌含量