

一测多评法测定枇杷叶有效部位中6种三萜酸成分的量

蔡雪萍^{1,2}, 李振华^{1,2}, 华俊磊^{1,2}, 鞠建明^{2*}, 吕寒³, 马丽³, 李维林³

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210046

2. 江苏省中医药研究院, 江苏 南京 210028

3. 江苏省中国科学院植物研究所, 江苏 南京 210014

摘要: 目的 建立枇杷叶有效部位中蔷薇酸、委陵菜酸、马斯里酸、科罗索酸、齐墩果酸和熊果酸的一测多评 HPLC-ELSD 测定方法。方法 以熊果酸对照品为内参物, 建立其与蔷薇酸、委陵菜酸、马斯里酸、科罗索酸、齐墩果酸的相对校正因子, 采用校正因子计算这5种三萜酸成分的量, 实现一测多评; 同时用外标法测定有效部位中该6种成分的量, 并比较计算值与实测值的差异, 以验证一测多评的合理性、可行性和重复性。结果 15批有效部位中6种三萜酸成分量的计算值与实测值无显著性差异。结论 该方法操作简便, 测定结果准确, 实现了只用一个对照品同步测定枇杷叶总三萜酸有效部位中6个成分的量, 可为中药多指标成分质量评价模式提供参考。

关键词: 一测多评; 枇杷叶; 蔷薇酸; 委陵菜酸; 马斯里酸; 科罗索酸; 齐墩果酸; 熊果酸

中图分类号: R286.022 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)21-3057-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.21.022

Determination of six triterpene acid contents in effective fraction of *Eriobotryae Folium* by quantitative analysis of multi-components by single-marker

CAI Xue-ping^{1,2}, LI Zhen-hua^{1,2}, HUA Jun-lei^{1,2}, JU Jian-ming², LV Han³, MA Li³, LI Wei-lin³

1. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China

2. Jiangsu Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China

3. Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China

Abstract: Objective To develop a quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS) method for the simultaneous determination of six triterpene acid (euscaphic acid, tormentic acid, maslinic acid, corosolic acid, oleanolic acid, and ursolic acid) contents in the effective fraction of *Eriobotryae Folium*. **Methods** Ursolic acid was used as the internal reference substance, and the relative correlation factors (RCF) of euscaphic acid, tormentic acid, maslinic acid, corosolic acid, and oleanolic acid were determined by HPLC-ELSD with good reproducibility. The contents of the five components were calculated according to the RCF, respectively. The contents of these six triterpene acids in 15 batches of effective fraction were determined by the external standard method. The rationality, feasibility, and repeatability of the QAMS method were verified by comparing the results obtained from the two different methods. **Results** For the six triterpene acids, there was no significant difference between the quantitative results with the two different methods in the 15 batches. **Conclusion** The method established in this research is accurate and feasible that it just needs to assay single-marker (ursolic acid) for the determination of six triterpene acids in the effective fraction of *Eriobotryae Folium* simultaneously. Therefore, this method could provide a new reference for the quality assess of multi components in Chinese materia medica.

Key words: quantitative analysis of multi-components by single-marker; *Eriobotryae Folium*; euscaphic acid; tormentic acid; maslinic acid; corosolic acid; oleanolic acid; ursolic acid

枇杷叶为蔷薇科植物枇杷 *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. 的干燥叶, 又名巴叶、芦桔叶, 具有清肺止咳、降逆止呕的作用, 临床用于治疗肺热

咳嗽、气逆喘急、胃热呕逆、烦热口渴等症^[1]。据文献报道, 枇杷叶的化学成分有三萜酸、黄酮类、多酚、倍半萜及糖苷类等, 三萜酸为其主要的活性

收稿日期: 2013-05-18

基金项目: 江苏省产学研前瞻性联合研究项目 (BY2009144)

作者简介: 蔡雪萍, 在读硕士, 研究方向为中药新剂型新工艺。Tel: 15850500785 E-mail: caixueping880315@163.com

*通信作者 鞠建明, 博士, 副研究员, 硕士生导师, 研究方向为中药新剂型与新工艺及中药材质量控制。

Tel: (025)85639640 E-mail: jjm405@sina.com

成分之一,具有抗炎止咳、降血糖、抗病毒和抗氧化作用^[2]。枇杷叶有效部位是本课题组采用现代制剂技术对枇杷叶进行提取、分离纯化制得的总三萜酸量达到50%以上的活性部位,具有较强的降低血糖的作用^[3]。该活性部位主要含有蔷薇酸、委陵菜酸、马斯里酸、科罗索酸、齐墩果酸和熊果酸^[4],前2种三萜酸为一对手性异构体,后4种三萜酸分别为极性相似的2对同分异构体,其中,蔷薇酸、委陵菜酸、马斯里酸、科罗索酸对照品分离制备难度大、成本高且较难购得,而齐墩果酸与熊果酸为常见成分,对照品易得。

近年来关于一测多评的研究思路和方法已在人参、黄连、黄芩、黄柏、丹参等药材中得到了验证,并建立起了皂苷、生物碱、黄酮等同类成分间的相对校正因子(relative correction factor, RCF)^[5-11],这些研究主要关于药材或饮片中多个成分的测定,且基本采用紫外检测器,而采用该法测定中药有效部位及使用其他检测器建立该法的研究鲜有报道。枇杷叶有效部位中三萜酸系一类没有紫外吸收的化合物,该类化合物的测定宜采用蒸发光散射检测器(ELSD),而应用ELSD进行一测多评测定是否合适有待进一步研究。

本研究应用HPLC-ELSD,以熊果酸对照品作为内标物,通过建立其与蔷薇酸、委陵菜酸、马斯里酸、科罗索酸、齐墩果酸的相对校正因子,计算出其他成分的量,并考察方法耐用性及系统适用性,以探讨一测多评法在枇杷叶有效部位多指标质量控制中应用的适用性及可行性。

1 仪器与试剂

Waters 2695 高效液相色谱仪, Empower 1.0 工作站(美国 Waters 公司); Waters e2695 高效液相色谱仪, Empower 2.0 工作站(美国 Waters 公司); Alltech 2000ES ELSD 检测器(美国 Alltech 公司); AT201 型 1/10 万电子天平(瑞士 METTLER 公司); Microfuge 16 型台式微量离心机(美国 Beckman Coulter 公司); Milli-Q 型纯水器(美国 Millipore 公司); KQ-500DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

齐墩果酸、熊果酸对照品(批号分别为 110709-200505, 110742-200518)购自中国药品生物制品检定所,蔷薇酸、委陵菜酸、科罗索酸、马斯里酸对照品由江苏省中国科学院植物研究所从枇杷叶中分离制得,经面积归一化法计算质量分数均

大于98%。甲醇、乙腈为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

实验中用于定量测定的15批次枇杷叶有效部位样品由江苏省中国科学院植物研究所中试车间提供,其中5个样品批号分别为110120、110314、201105、201104、201106,其余的10个样品是由上述5个批次的样品按一定比例勾兑而成。

2 方法与结果

2.1 枇杷叶总三萜酸有效部位的提取与纯化

取干燥枇杷叶药材1.0 kg 粉碎成粗粉,依次用80%乙醇8、6 L 冷浸2次,每次15 d,合并浸渍液,减压浓缩至醇度为30%的浓缩液,冷却,4 000 r/min 离心15 min。取离心后沉淀,加入95%乙醇230 mL 加热溶解,再加入92 g 硅藻土拌样,取92 g 硅藻土装柱,上样后,以95%乙醇2 000 mL 洗脱,洗脱液合并,减压回收乙醇,蒸干,即得枇杷叶总三萜酸有效部位。

2.2 方法学考察

2.2.1 色谱条件 Ultimate XB C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱,以乙腈(A)-甲醇(B)-0.5%醋酸铵(C)为流动相,梯度洗脱(0~30 min, 5%~10% A, 55% B, 40%~35% C; 30~40 min, 10%~28% A, 55% B, 35%~17% C; 40~60 min, 28%~32% A, 55% B, 17%~13% C; 60~65 min, 32%~5% A, 55% B, 13%~40% C; 65~80 min, 5% A, 55% B, 40% C), 体积流量1.0 mL/min, 柱温35 ℃, ELSD 漂移管温度100 ℃, 氮气体积流量2.5 L/min, 在上述色谱条件下,取混合对照品溶液及供试品溶液各10 μL 进样。在此条件下,枇杷叶有效部位中的6个三萜酸类成分与其相邻峰均能达到很好的分离,且分离度大于1.5,见图1。

2.2.2 混合对照品溶液的制备 取蔷薇酸、委陵菜酸、马斯里酸、科罗索酸、齐墩果酸、熊果酸对照品适量,精密称定,用甲醇溶解,制成浓度分别为291.6、183.2、167.6、266.3、128.5、300.9 μg/mL 的混合对照品溶液,于4 ℃冰箱中避光保存,备用。

2.2.3 供试品溶液的制备 取枇杷叶有效部位粉末(过80目筛)约10 mg,精密称定,置10 mL 量瓶中,加甲醇至近刻度,超声处理20 min,冷却至室温后,定容至刻度,摇匀,过0.45 μm 微孔滤膜,取续滤液,即得。

2.2.4 标准曲线的制备 精密吸取上述混合对照品溶液2、4、8、12、16、20 μL 注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定。以进样质量(*m*)的对数值对

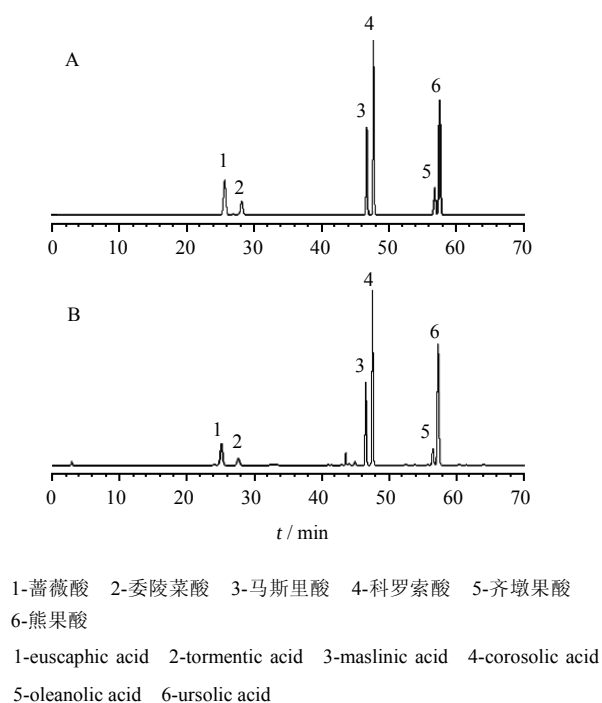


图1 对照品(A)和样品(B)的HPLC图

Fig. 1 HPLC chromatograms of reference substances (A) and sample (B)

峰面积(A)的对数值进行线性回归处理,得蔷薇酸、委陵菜酸、马斯里酸、科罗索酸、齐墩果酸及熊果酸的回归方程,结果表明,6种三萜酸成分在相应范围内线性关系良好,见表1。

2.2.5 相对校正因子计算 以熊果酸为内标,在上述特定的范围内按照相对校正因子计算公式分别计算蔷薇酸、委陵菜酸、马斯里酸、科罗索酸、齐墩果酸对熊果酸的相对校正因子,结果见表2。

2.2.6 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液 10 μL ,按上述色谱条件连续进样6次,计算蔷薇酸、委陵菜酸、马斯里酸、科罗索酸、齐墩果酸和熊果酸的峰面积RSD值分别为1.55%、1.28%、0.89%、1.53%、0.93%、1.35%,表明仪器精密度良好。

2.2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于制备后0、2、4、6、8、10 h进样,记录蔷薇酸、委陵菜酸、马斯里酸、科罗索酸、齐墩果酸和熊果酸6个成分的质量分数,并计算其RSD值。结果以上6个成分的RSD值分别为1.73%、2.20%、1.55%、0.43%、1.76%、0.88%。

2.2.8 重复性试验 精密称取同一批枇杷叶有效部

表1 6种三萜酸类成分的线性关系和范围

Table 1 Linearities and ranges of six triterpene acids

成分	回归方程	线性范围 / μg	r
蔷薇酸	$\lg A = 1.575 \lg m + 0.854$	0.583~5.832	$r = 0.999\ 0$
委陵菜酸	$\lg A = 1.697 \lg m + 0.361$	0.335~3.352	$r = 0.999\ 9$
马斯里酸	$\lg A = 1.729 \lg m + 0.790$	0.366~3.664	$r = 0.999\ 0$
科罗索酸	$\lg A = 1.715 \lg m + 0.819$	0.533~5.326	$r = 0.999\ 0$
齐墩果酸	$\lg A = 1.766 \lg m + 0.519$	0.257~2.570	$r = 0.999\ 9$
熊果酸	$\lg A = 1.749 \lg m + 0.582$	0.602~6.018	$r = 0.999\ 9$

表2 6种三萜酸的相对校正因子

Table 2 RCFs of six triterpene acids

进样体积 / μL	相对校正因子				
	$f_{\text{蔷薇酸/熊果酸}}$	$f_{\text{委陵菜酸/熊果酸}}$	$f_{\text{马斯里酸/熊果酸}}$	$f_{\text{科罗索酸/熊果酸}}$	$f_{\text{齐墩果酸/熊果酸}}$
2	1.039	1.061	0.959	0.972	0.986
4	1.048	1.067	0.965	0.977	0.992
8	1.051	1.064	0.970	0.979	0.993
12	1.052	1.061	0.971	0.981	0.993
16	1.056	1.060	0.974	0.984	0.991
20	1.057	1.054	0.974	0.984	0.991
平均	1.050	1.061	0.969	0.980	0.991
RSD / %	0.63	0.42	0.60	0.46	0.26

位粉末6份,按供试品溶液处理方法制备并测定百分含量,蔷薇酸、委陵菜酸、马斯里酸、科罗索酸、齐墩果酸和熊果酸质量分数的RSD值分别为0.81%、0.77%、0.80%、0.27%、1.57%、0.51%。

2.2.9 加样回收率试验 取测定的枇杷叶有效部位粉末约25 mg,精密称定,平行6份,分别加入一定量的对照品溶液,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,进样测定,计算得蔷薇酸、委陵菜酸、马斯里酸、科罗索酸、齐墩果酸和熊果酸的加样回收率分别为100.97%、97.35%、100.31%、96.59%、98.98%、100.57%;RSD值分别为0.83%、2.00%、0.80%、0.42%、1.61%、0.51%。

2.3 一测多评方法耐用性和系统适应性评价

2.3.1 色谱柱和高效液相色谱仪考察 取“2.2.2”项下配制的混合对照品溶液,分别进样2、4、8、12、16、20 μL 测定,按“2.2.5”项下计算熊果酸

对蔷薇酸、委陵菜酸、马斯里酸、科罗索酸、齐墩果酸的相对校正因子。

试验考察了Waters 2695, Waters e2695两种高效液相色谱系统和Ultimate XB C_{18} (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm), Aglient C_{18} (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm), Thermo C_{18} (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm), Dubhe C_{18} (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm), Alltima HP C_{18} (150 mm $\times$ 4.6 mm, 3 μm) 5种色谱柱对相对校正因子的影响,结果表明不同仪器及不同色谱柱所测得的各成分的相对校正因子无显著性差异, $\text{RSD}<2\%$,见表3。

2.3.2 实验室考察 建立的一测多评试验方法在两个实验室进行试验,色谱柱为Ultimate XB C_{18} (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm),结果显示不同实验室所得的相对校正因子经 t 检验没有显著性差异($P>0.05$),见表4。

2.3.3 待测色谱峰的定位 预实验分别考察了三萜

表3 不同色谱柱及仪器对相对校正因子的影响

Table 3 Effect of different columns and instruments on RCFs

仪器	色谱柱	相对校正因子				
		$f_{\text{蔷薇酸/熊果酸}}$	$f_{\text{委陵菜酸/熊果酸}}$	$f_{\text{马斯里酸/熊果酸}}$	$f_{\text{科罗索酸/熊果酸}}$	$f_{\text{齐墩果酸/熊果酸}}$
Waters 2695 HPLC-ELSD	Ultimate XB C_{18}	1.050	1.061	0.969	0.980	0.991
	Aglient C_{18}	1.045	1.056	0.968	0.980	0.986
	Thermo C_{18}	1.063	1.065	0.982	0.988	0.980
	Dubhe C_{18}	1.058	1.063	0.973	0.988	0.983
	Alltima HP C_{18}	1.023	1.031	0.965	0.978	0.983
Waters e2695 HPLC-ELSD	Ultimate XB C_{18}	1.055	1.060	0.967	0.985	0.977
平均		1.049	1.056	0.971	0.983	0.983
RSD / %		1.35	1.19	0.63	0.45	0.49

表4 不同实验室对相对校正因子的影响

Table 4 Effect of different laboratories on RCFs

进样体积 / μL	$f_{\text{蔷薇酸/熊果酸}}$		$f_{\text{委陵菜酸/熊果酸}}$		$f_{\text{马斯里酸/熊果酸}}$		$f_{\text{科罗索酸/熊果酸}}$		$f_{\text{齐墩果酸/熊果酸}}$	
	Lab.1	Lab.2	Lab.1	Lab.2	Lab.1	Lab.2	Lab.1	Lab.2	Lab.1	Lab.2
2	1.039	1.051	1.061	1.054	0.959	0.958	0.972	0.980	0.986	0.970
4	1.048	1.060	1.067	1.072	0.965	0.963	0.977	0.984	0.992	0.971
8	1.051	1.058	1.064	1.067	0.970	0.970	0.979	0.984	0.993	0.980
12	1.052	1.054	1.061	1.060	0.971	0.968	0.981	0.984	0.993	0.981
16	1.056	1.055	1.060	1.059	0.974	0.974	0.984	0.990	0.991	0.978
20	1.057	1.052	1.054	1.052	0.974	0.970	0.984	0.987	0.991	0.980
平均	1.050	1.055	1.061	1.060	0.969	0.967	0.980	0.985	0.991	0.977
RSD / %	0.63	0.34	0.42	0.71	0.60	0.61	0.46	0.33	0.26	0.53

酸类成分相对保留值和保留时间差在不同品牌色谱柱中的重现性。结果显示保留时间差的波动较为明显, 相对保留值的波动相对较小, 因此采用相对保

留值法进行三萜酸类待测成分色谱峰的定位可行。根据结果最终确定各待测组分间的相对保留值, 见表5。

表5 一测多评法待测成分色谱峰的定位-相对保留值法

Table 5 Location-relative retention value method of chromatographic peaks by QAMS method

仪器	色谱柱	相对保留值				
		r 蔷薇酸/熊果酸	r 委陵菜酸/熊果酸	r 马斯里酸/熊果酸	r 科罗索酸/熊果酸	r 齐墩果酸/熊果酸
Waters 2695	Ultimate XB C ₁₈	0.457	0.502	0.810	0.827	0.987
	Aglient C ₁₈	0.431	0.459	0.813	0.829	0.987
	Thermo C ₁₈	0.405	0.429	0.847	0.865	0.987
	Dubhe C ₁₈	0.476	0.514	0.801	0.819	0.986
	Alltima HP C ₁₈	0.444	0.465	0.816	0.833	0.985
Waters e2695	Ultimate XB C ₁₈	0.443	0.474	0.817	0.835	0.986
平均		0.443	0.474	0.817	0.835	0.986
RSD / %		5.42	6.48	1.91	1.90	0.08

2.3.4 一测多评法与外标法结果的比较研究 按照供试品溶液处理方法制备15份样品, 精密吸取供试品溶液各10 μ L注入高效液相色谱仪, 测定。分别采用外标法和一测多评法计算枇杷叶有效部位中蔷薇酸、委陵菜酸、马斯里酸、科罗索酸、齐墩果酸的含量, 结果见表6。结果显示, 一测多评法与外

标法所得结果之间6种成分的夹角余弦值^[12]分别为0.999 91、0.999 85、0.999 91、0.999 97、0.999 96, 表明2种方法测得的质量分数没有显著性差异, 且两种方法所得的质量分数值偏差都在5%以内, 由此说明一测多评法用于枇杷叶有效部位的多成分质量评价研究是可行的。

表6 一测多评法与外标法测得的枇杷叶有效部位中三萜酸类成分的质量分数

Table 6 Contents of triterpene acids in effective fraction of *Eriobotryae Folium* by QAMS and external standard method

样品	蔷薇酸 / %			委陵菜酸 / %			马斯里酸 / %			科罗索酸 / %			齐墩果酸 / %			熊果酸 / % (外标法)
	外标法	QAMS法	ϵ	外标法	QAMS法	ϵ	外标法	QAMS法	ϵ	外标法	QAMS法	ϵ	外标法	QAMS法	ϵ	
110120	10.30	10.80	4.88	8.57	8.82	2.96	8.77	8.72	0.52	15.71	15.48	1.47	4.60	4.79	4.16	18.95
110314	11.73	11.95	1.87	8.46	8.63	2.00	10.00	9.68	3.20	13.90	13.74	1.17	6.02	6.07	0.79	16.49
201105	12.69	12.93	1.89	7.74	7.99	3.13	9.33	9.20	1.39	15.76	15.50	1.68	5.30	5.44	2.67	18.15
201104	13.71	13.57	1.03	13.27	13.03	1.86	13.69	13.63	0.46	18.26	17.79	2.57	5.59	5.62	0.52	14.55
201106	12.81	12.96	1.17	8.41	8.60	2.26	9.87	9.62	2.62	15.54	15.22	2.05	5.51	5.62	1.93	17.16
勾兑1	12.66	12.83	1.37	7.43	7.67	3.23	9.08	8.94	1.55	14.95	14.72	1.52	5.54	5.65	1.98	17.57
勾兑2	10.97	11.35	3.53	8.60	8.82	2.56	9.38	9.22	1.75	14.80	14.62	1.21	5.40	5.53	2.37	17.95
勾兑3	13.13	13.20	0.51	10.58	10.62	0.40	11.58	11.02	4.84	16.93	16.35	3.42	5.31	5.41	1.85	16.29
勾兑4	11.44	11.79	3.03	8.23	8.46	2.78	9.33	9.18	1.61	15.51	15.24	1.70	5.12	5.26	2.89	17.95
勾兑5	12.34	12.53	1.57	8.31	8.50	2.31	10.00	9.71	2.88	14.99	14.73	1.72	5.67	5.76	1.59	17.07
勾兑6	11.47	11.86	3.38	7.88	8.13	3.25	9.10	9.01	0.98	15.73	15.49	1.52	5.02	5.19	3.35	18.61
勾兑7	12.65	12.69	0.35	10.98	10.95	0.27	12.15	11.91	2.00	16.37	15.78	3.65	5.52	5.58	1.05	15.30
勾兑8	12.41	12.64	1.84	7.26	7.51	3.44	9.18	9.04	1.51	15.28	15.03	1.63	5.33	5.47	2.45	17.70
勾兑9	12.99	13.07	0.65	9.63	9.75	1.18	11.08	10.60	4.28	16.40	15.90	3.00	5.51	5.60	1.67	16.54
勾兑10	12.30	12.53	1.91	7.37	7.61	3.32	9.12	8.99	1.48	15.26	15.01	1.67	5.04	5.19	2.83	17.61

ϵ 表示绝对误差

ϵ indicates absolute error

3 讨论

枇杷叶有效部位中的三萜酸类成分是其功能主治相吻合的活性成分,其中熊果酸的含量较高且对照品较易购得,所以选其作为内参物,建立了枇杷叶有效部位原料药的一测多评方法。

本研究采用 HPLC-ELSD 建立一测多评测定方法,在进行相对校正因子计算时若直接参照使用紫外检测器文献中的计算方法,所得不同进样量的校正因子 RSD 值非常大,当取峰面积和进样量的对数进行相对校正因子计算时, RSD 值均小于 1%,表明该计算方法可行。此外,在计算相对校正因子过程中,进样量数据有的大于 1 个单位,有的小于 1 个单位,其对数值有正有负,无法计算校正因子,将进样量均乘以 1 000 (即单位小一级,由 μg 变为 ng),再取其对数,可有效避免因数值正负而导致无法计算校正因子的问题。

为了验证所建立的 6 种三萜酸成分的一测多评法的适用性及可行性,进行了方法学考察、方法耐用性以及系统适应性试验。通过在不同的高效液相色谱仪、不同实验室的考察,结果表明熊果酸与蔷薇酸、委陵菜酸、马斯里酸、科罗索酸、齐墩果酸之间的相对校正因子具有良好的重现性。在考察待测色谱峰的定位时,比较了相对保留值和保留时间差两种方法在不同仪器和不同色谱柱中的重现性,选择了偏差较小的相对保留值作为色谱峰的定位依据。结果可知,马斯里酸、科罗索酸、齐墩果酸对熊果酸的相对保留值重现性较好, $\text{RSD} < 5\%$,表明根据内参物熊果酸的保留时间,通过相对保留值计算能够正确判断这 3 种成分色谱峰的准确位置。而蔷薇酸、委陵菜酸对熊果酸的相对保留值重现性较差, $\text{RSD} > 5\%$,表明通过相对保留值不能准确定位。因此,为了保证待测色谱峰的准确定位,在制订标准时应应对试验所需色谱柱型号和规格进行规定,并列入该品种的标准正文中,亦可使用少量的对照品对待测峰进行定性和准确定位后,再采用相对校正因子计算其质量分数^[13-14]。

本研究首次将一测多评法应用于枇杷叶有效部位总三萜酸的质量评价中,该法所得 6 种三萜酸含量的计算值与传统的标法所得实测值之间无显著性差异,表明本方法可在对照品缺失的情况下,仅

以熊果酸为对照品,实现枇杷叶有效部位的多指标质量评价。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 李 婷, 林文津, 徐榕青, 等. 枇杷叶的化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中国野生植物资源, 2010, 29(5): 11-14.
- [3] 江苏省中国科学院植物研究所. 一种枇杷叶总三萜酸的制备方法及其降血糖功能: 中国, 101224246 [P]. 2008-07-23.
- [4] 吕 寒, 陈 剑, 李维林, 等. 枇杷叶中三萜类化学成分的研究 [J]. 中药材, 2008, 31(9): 1351-1354.
- [5] Zou C, Lu F H, Mao W, et al. Chinese herbal medicine Danshen formulations for preventing renal disease in Henoch-Schonlein Purpura: a systematic review and meta-analysis [J]. *J Altern Complement Med*, 2012, 18(4): 394.
- [6] 尹 萌, 孟月兰, 闻珣毓. 关黄柏中生物碱类成分的“一测多评” [J]. 中草药, 2011, 42(6): 1093-1096.
- [7] 匡艳辉, 朱晶晶, 王智民, 等. 一测多评法测定黄连中小檗碱、巴马汀、黄连碱、表小檗碱、药根碱含量 [J]. 中国药理学杂志, 2009, 44(5): 390-394.
- [8] 宋永贵, 张武岗, 刘岩庭, 等. 一测多评法同时测定预知子中 4 种三萜皂苷 [J]. 中草药, 2012, 43(7): 1418-1421.
- [9] 蓝天凤, 王 晓, 王岱杰, 等. 一测多评法测定丹参中 4 种丹参酮类成分 [J]. 中草药, 2012, 43(12): 2420-2423.
- [10] Zhao W C, Song L J. Simultaneous Determination of Multiple Bioactive Constituents in Total Alkaloid of *Sophora alopecuroides* by HPLC-DAD [J]. *Chin Herb Med*, 2011, 3(1): 66-69.
- [11] 程丽丽, 许妍妍, Nyirimigabo Eric, 等. 一测多评法测定乌头类药材中生物碱 [J]. 现代药物与临床, 2013, 28(4): 528-534.
- [12] 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): 1925-1928.
- [13] 林永强, 徐丽华, 王淑华, 等. 一测多评法同步测定银黄片中 6 种咖啡酰奎宁酸 [J]. 中草药, 2012, 43(4): 706-710.
- [14] 林 青, 匡艳辉, 黄 琳, 等. 一测多评法测定穿心莲及其制剂中内酯类成分 [J]. 中草药, 2012, 43(12): 2406-2411.