

一测多评法同时测定山楂叶中6种有效成分的含量^Δ

杨明宇^{1*},高婧²,杜义龙¹,李艳荣¹,赵胜男¹,潘海峰^{1#}(1.承德医学院河北省中药研究与开发重点实验室,河北承德 067000;2.承德市食品药品检验检测中心,河北承德 067000)

中图分类号 R284.1;R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)24-3404-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.24.28

摘要 目的:建立同时测定山楂叶中绿原酸、牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、牡荆素、芦丁、金丝桃苷含量的方法。方法:采用高效液相色谱法,以牡荆素葡萄糖苷为基准峰,分别计算其与绿原酸、牡荆素鼠李糖苷、牡荆素、芦丁、金丝桃苷的相对校正因子(RCF),通过RCF计算山楂叶中上述5种成分的含量。色谱柱为Agilent ZORBAX SB C₁₈,流动相为0.1%甲酸-乙腈-四氢呋喃(梯度洗脱),流速为1.0 ml/min,检测波长为350 nm,柱温为30℃,进样量为10 μl。结果:绿原酸、牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、牡荆素、芦丁、金丝桃苷检测进样量线性范围分别为12.50~400.0 μg($r=0.999\ 8$)、25.00~800.0 μg($r=0.999\ 9$)、31.25~1 000.0 μg($r=0.999\ 9$)、6.470~260.0 μg($r=0.999\ 9$)、2.50~80.0 μg($r=0.999\ 8$)、9.375~300.0 μg($r=0.999\ 9$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD<2.0%;加样回收率分别为99.2%~103.9%(RSD=1.6%)、97.9%~100.8%(RSD=1.2%)、99.2%~100.8%(RSD=0.5%)、97.3%~101.3%(RSD=1.5%)、98.0%~103.0%(RSD=1.9%)、95.5%~101.5%(RSD=2.2%), n 均为6。牡荆素葡萄糖苷与绿原酸、牡荆素鼠李糖苷、牡荆素、芦丁、金丝桃苷间的RCF分别为1.119、1.009、0.706、1.063、0.830。结论:该方法操作简便,精密性、稳定性、重复性好,可用于6种有效成分含量的同时测定。

关键词 山楂叶;一测多评法;相对校正因子;质量控制

Simultaneous Determination of Six Effective Components in *Crataegus pinnatifida* by Quantitative Analysis of Multi-components by Single Marker

YANG Mingyu¹, GAO Jing², DU Yilong¹, LI Yanrong¹, ZHAO Shengnan¹, PAN Haifeng¹ (1.Key Laboratory of Study and Development of Traditional Chinese Medicine in Hebei Province, Chengde Medical University, Hebei Chengde 067000, China; 2.Chengde Center for Food and Drug Control, Hebei Chengde 067000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the simultaneous determination of chlorogenic acid, vitexin glucoside, vitexin rhamnoside, vitexin, rutin and hyperoside in *Crataegus pinnatifida*. METHODS: With reference peak of vitexin glucoside, HPLC was conducted to calculate the relative correction factor (RCF) of chlorogenic acid, vitexin glucoside, vitexin rhamnoside, vitexin, rutin and hyperoside, then the contents of above-mentioned 5 components in *C. pinnatifida* were calculated. The column was Agilent ZORBAX SB C₁₈ with mobile phase of 0.1% formic acid-acetonitrile-tetrahydrofuran (gradient elution) at a flow rate of 1.0 ml/min, the detection wavelength was 350 nm, column temperature was 30℃, and the injection volume was 10 μl. RESULTS: The linear range was 12.50-400.0 μg for chlorogenic acid ($r=0.999\ 8$), 25.00-800.0 μg for vitexin glucoside($r=0.999\ 9$), 31.25-1 000.0 μg for vitexin rhamnoside ($r=0.999\ 9$), 6.470-260.0 μg for vitexin ($r=0.999\ 9$), 2.50-80.0 μg for rutin ($r=0.999\ 8$) and 9.375-300.0 μg for hyperoside ($r=0.999\ 9$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2.0%; recoveries were 99.2%-103.9% (RSD=1.6%, $n=6$), 97.9%-100.8% (RSD=1.2%, $n=6$), 99.2%-100.8% (RSD=0.5%, $n=6$), 97.3%-101.3% (RSD=1.5%, $n=6$), 98.0%-103.0% (RSD=1.9%, $n=6$) and 95.5%-101.5% (RSD=2.2%, $n=6$). RCFs of vitexin glucoside with chlorogenic acid, vitexin rhamnoside, vitexin, rutin and hyperoside were 1.119, 1.009, 0.706, 1.063 and 0.830, respectively. CONCLUSIONS: The method is simple with good precision, stability and reproducibility, and it can be used for the simultaneous determination of 6 components in *C. pinnatifida*.

KEYWORDS *Crataegus pinnatifida*; Quantitative analysis of multi-components by single marker; Relative correction factor; Quality control

山楂叶为蔷薇科植物山里红 *Crataegus pinnatifida* Bge. *Var. major* N. E. Br.或山楂 *C. pinnatifida* Bge.的干燥叶,夏、秋二季采收,具有活血化瘀、理气通脉、化浊降脂的功效,用于

Δ 基金项目:河北省高等学校科学技术研究项目(No.ZD2015097);河北省高等学校科学研究计划项目(No.冀教科[2015]7号)

* 博士研究生。研究方向:中药分析。E-mail:18518093839@163.com

通信作者:教授,硕士。研究方向:中药分析。电话:0314-2291186。E-mail:phf2301@163.com

气滞血瘀、胸痹心痛、胸闷憋气、心悸健忘、眩晕耳鸣等证的治疗^[1]。其主要含有黄酮类和有机酸类成分^[2-4],不同样品间各成分含量相差较大^[5],含量上的差异难免会影响临床疗效。目前,已有使用多种成分的同时测定来控制山楂叶质量的文献报道^[6-9],但需要对照品的种类和数量均较大,由于部分对照品不易获得或价格较贵原因,一些进行多组分质量控制的标准难以执行。近年来,有关一测多评法(QAMS)的研究报道逐渐增多,已从药材扩展到了中药制剂,且大多数都是针对同类成分的含量测定,主要包括皂苷类、醌类、黄酮类、有机酸类等^[10-13],

但QAMS法对山楂叶有效成分测定尚未见报道。因此,笔者采用QAMS法对山楂叶中6种成分进行含量测定,既实现了多成分定量,又降低了实际生产和市场监督过程中的检测成本。

1 材料

1.1 仪器

1200 Series型高效液相色谱(HPLC)仪,包括G1322A在线脱气机、G1311A四元泵、G1329A、自动进样器G1316A柱温箱、G1315D二极管阵列检测器、Agilent Chemstation色谱工作站(美国Agilent公司);KQ-700型超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司);AG-245型十万分之一电子分析天平(德国Sartorius公司)。

1.2 试剂

绿原酸、牡荆素鼠李糖苷、牡荆素、芦丁、金丝桃苷对照品(批号分别为110753-200413、111668-200602、111687-200602、100080-200707、111521-201004,纯度均>99%)均购自中国食品药品检定研究院;牡荆素葡萄糖苷对照品(成都曼思特生物科技有限公司,批号:A0513,纯度>99%);乙腈、甲醇、四氢呋喃为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯净水。

1.3 药材

山楂叶药材(见表1)由承德民族师范学院董建新教授鉴定为蔷薇科山楂属植物山楂 *Crataegus pinnatifida* Bge. 的干燥叶。

表1 山楂叶来源

Tab 1 Origin of *C. pinnatifida*

No.	采摘地	采摘时间	No.	采摘地	采摘时间
1	河北宽城	2011.11	10	河北保定	2011.09
2	河北丰宁	2011.11	11	河北保定	2011.09
3	河北兴隆	2011.11	12	河北保定	2011.09
4	河北承德	2011.11	13	山西运城	2013.09
5	河北半壁山	2011.11	14	山西运城	2013.09
6	河北孤山子	2011.11	15	山西运城	2013.09
7	河北承德	2011.05	16	山东临沂	2013.09
8	河北张三营	2011.05	17	山东临沂	2013.09
9	河北滦平	2011.05	18	山东临沂	2013.09

2 方法与结果

2.1 原理

在一定范围内成分的量(质量或浓度)与仪器响应值成正比,即: $f = W/A$ (W 表示成分的量, A 表示仪器响应值)。在山楂叶的多指标质量评价时,以牡荆素葡萄糖苷(s)为内标,建立牡荆素葡萄糖苷(s)与绿原酸、牡荆素鼠李糖苷、牡荆素、芦丁、金丝桃苷之间的相对校正因子:

$$f_{sx} = f_s/f_x = (C_s \times A_x) / (C_x \times A_s) \dots\dots\dots (1)$$

式中, f_{sx} 代表内参物与待测组分之间的相对校正因子(RCF); C_s 、 C_x 分别代表内参物与待测物的浓度; A_s 、 A_x 分别代表内参物与待测物的仪器响应值。

通过RCF计算绿原酸、牡荆素鼠李糖苷、牡荆素、芦丁、金丝桃苷的量,同时采用外标法(ESM)计算上述成分的量:

$$A_E = aC_E + b \dots\dots\dots (2)$$

式中, A_E 代表待测物的仪器响应值; a 、 b 分别代表本公式的斜率和截距; C_E 代表外标法计算所得待测物质的浓度进行同步测定,以验证计算值的准确性和可行性。

2.2 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Agilent ZORBAX SB C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:0.1%甲酸(A)-乙腈(B)-四氢呋喃(C),梯度洗脱(洗脱程序见表2);流速:1.0 ml/min;波长:350 nm;柱温:

30 ℃;进样量:10 μl。在上述色谱条件下,理论板数以绿原酸、牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、牡荆素、芦丁、金丝桃苷峰计均不低于5 000,分离度均≥1.5,表明系统适用性良好,详见图1。

表2 梯度洗脱程序

Tab 2 Gradient elution program

t ,min	A,%	B,%	C,%	t ,min	A,%	B,%	C,%
0	91	7	2	40	78	20	2
20	83	15	2	50	74	24	2
30	83	15	2				

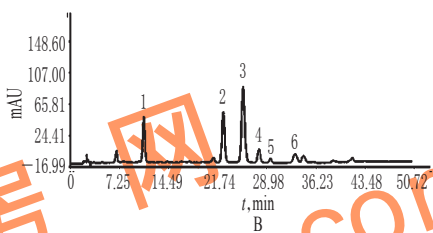
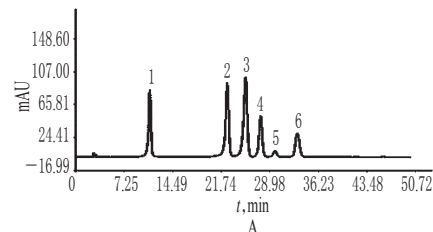


图1 高效液相色谱图

A.混合对照品;B.供试品,1.绿原酸;2.牡荆素葡萄糖苷;3.牡荆素鼠李糖苷;4.牡荆素;5.芦丁;6.金丝桃苷

Fig 1 HPLC chromatograms

A.mixed reference substance;B.test sample; 1.chlorogenic acid; 2.vitexin glucoside; 3.vitexin rhamnoside; 4.vitexin; 5.rutin; 6.hyperoside

2.3 溶液的制备

2.3.1 混合对照品溶液 精密称取芦丁对照品10.0 mg,置于10 ml量瓶中,加70%甲醇溶解并定容,作为芦丁对照品贮备液;精密称取绿原酸对照品20.0 mg、牡荆素对照品15.0 mg、金丝桃苷对照品15.0 mg、牡荆素葡萄糖苷对照品40 mg、牡荆素鼠李糖苷对照品50 mg,置于同一50 ml量瓶中,加70%甲醇溶解,再加上上述芦丁对照品贮备液4 ml,加70%甲醇定容,制成绿原酸、牡荆素、金丝桃苷、牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、芦丁质量浓度分别为0.40、0.30、0.30、0.80、1.00、0.08 mg/ml的混合对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液 取样品0.5 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加70%甲醇25 ml,精密称定质量,超声(功率:700 W,频率:40 kHz)提取30 min,放冷,补足减失的质量,上清液以微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液,既得。

2.4 线性关系考察

分别量取“2.3.1”项下混合对照品溶液适量,按倍比稀释法制成系列对照品溶液。精密量取上述系列混合对照品溶液各10 μl,按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以待测成分进样量(x , μg)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程与线性范围,详见表3。

2.5 精密度试验

取“2.3.1”项下混合对照品溶液适量,按“2.2”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,绿原酸、牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、牡荆素、芦丁、金丝桃苷峰面积的RSD

分别为1.8%、0.9%、1.4%、0.7%、1.8%、0.9% (n=6),表明仪器精密度良好。

表3 回归方程与线性范围

Tab 3 Regression equations and linear ranges

待测成分	回归方程	r	线性范围, μg
绿原酸	$y=13\ 669x-32.487$	0.999 8	12.50~400.0
牡荆素葡萄糖苷	$y=15\ 808x-72.540$	0.999 9	25.00~800.0
牡荆素鼠李糖苷	$y=16\ 224x-407.57$	0.999 9	31.25~1\ 000.0
牡荆素	$y=22\ 188x-21.851$	0.999 9	6.470~260.0
芦丁	$y=14\ 464x-2.335\ 8$	0.999 8	2.50~80.0
金丝桃苷	$y=19\ 291x-15.131$	0.999 9	9.375~300.0

2.6 稳定性试验

取“2.3.2”项下供试品溶液(No.2)适量,分别于室温下放置0、4、8、12、24、48 h时按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,绿原酸、牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、牡荆素、芦丁、金丝桃苷峰面积的RSD分别为1.5%、1.1%、1.3%、0.8%、1.2%、1.9% (n=6),表明供试品溶液在48 h内基本稳定。

2.7 重复性试验

精密称取同一批样品(No.2)适量,按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品含量。结果,绿原酸、牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、牡荆素、芦丁、金丝桃苷含量平均值分别为0.123 5%、0.235 2%、1.053%、0.064 5%、0.104 7%、0.235 3%,RSD分别为1.5%、0.8%、0.6%、1.6%、1.9%、1.1% (n=6),表明本方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

取已知含量样品(No.2)适量,共6份,分别加入一定质量的待测成分对照品,按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2”项下色谱条件进样测定,计算样品含量并计算加样回收率,详见表4。

2.9 RCF的计算

以牡荆素葡萄糖苷为内参物,按“2.1”项下公式(1)计算,结合“2.4”项下系列混合对照品溶液所得峰面积数据,计算牡荆素葡萄糖苷对绿原酸、牡荆素鼠李糖苷、牡荆素、芦丁、金丝桃苷的RCF值。结果,绿原酸、牡荆素鼠李糖苷、牡荆素、芦丁、金丝桃苷的RCF值分别为1.119、1.009、0.706、1.063、0.830。

2.10 RCF耐用性考察

2.10.1 色谱柱和HPLC仪考察 试验考察了不同HPLC系统(Agilent 1100、Agilent 1200和Agilent 1260)和不同色谱柱[Agilent ZORBAX SB C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Agilent ZORBAX Extend C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Agilent ZORBAX TC C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Diamonsil C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm)]对RCF的影响,详见表5。

2.10.2 实验室考察 在不同实验室对建立的一测多评法进行复核实验,Lab1为承德医学院中药研究所分析实验室(本实验室),Lab2为承德医学院中药研究所植化实验室,Lab3为承德颈复康药业集团有限公司技术开发中心,同为Agilent 1200

表4 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 4 Results of recovery test (n=6)

待测成分	称样量, g	样品中量, mg	加入量, mg	测得量, mg	回收率, %	平均值, %	RSD, %
绿原酸	0.251 9	0.927	0.92	1.871 0	102.6	101.8	1.6
	0.251 7	0.926	0.92	1.866 0	102.2		
	0.251 3	0.925	0.92	1.861 0	101.8		
	0.251 7	0.926	0.92	1.854 0	100.8		
	0.250 6	0.922	0.92	1.835 0	99.2		
	0.250 2	0.921	0.92	1.877 0	103.9		
牡荆素葡萄糖苷	0.251 9	0.846	0.84	1.693 0	100.8	99.6	1.2
	0.251 7	0.846	0.84	1.690 0	100.5		
	0.251 3	0.844	0.84	1.684 0	100.0		
	0.251 7	0.846	0.84	1.686 0	100.0		
	0.250 6	0.842	0.84	1.666 0	98.1		
	0.250 2	0.841	0.84	1.663 0	97.9		
牡荆素鼠李糖苷	0.251 9	1.597	1.60	3.209 0	100.8	99.8	0.5
	0.251 7	1.596	1.60	3.196 0	100.0		
	0.251 3	1.593	1.60	3.191 0	99.9		
	0.251 7	1.596	1.60	3.191 0	99.7		
	0.250 6	1.589	1.60	3.181 0	99.5		
	0.250 2	1.586	1.60	3.173 0	99.2		
牡荆素	0.251 9	0.040 3	0.04	0.080 0	97.3	100.2	1.5
	0.251 7	0.040 2	0.04	0.081 0	100.9		
	0.251 3	0.040 2	0.04	0.081 0	101.3		
	0.251 7	0.040 3	0.04	0.081 0	101.1		
	0.250 6	0.040 1	0.04	0.080 0	100.6		
	0.250 2	0.040 0	0.04	0.080 0	100.0		
芦丁	0.251 9	0.136 0	0.14	0.278 8	102.0	100.2	1.9
	0.251 7	0.135 9	0.14	0.280 1	103.0		
	0.251 3	0.135 7	0.14	0.274 8	99.4		
	0.251 7	0.135 9	0.14	0.274 3	98.8		
	0.250 6	0.135 3	0.14	0.275 5	100.2		
	0.250 2	0.135 1	0.14	0.272 3	98.0		
金丝桃苷	0.251 9	0.309 8	0.30	0.614 1	101.4	99.4	2.2
	0.251 7	0.309 6	0.30	0.614 2	101.5		
	0.251 3	0.309 1	0.30	0.609 5	100.1		
	0.251 7	0.309 6	0.30	0.605 9	98.8		
	0.250 6	0.308 2	0.30	0.605 7	99.2		
	0.250 2	0.307 7	0.30	0.594 1	95.5		

表5 不同仪器和色谱柱RCF考察结果(n=6)

Tab 5 Results of RCF investigated by different instruments and chromatographic columns (n=6)

仪器	色谱柱	RCF				
		绿原酸	牡荆素鼠李糖苷	牡荆素	芦丁	金丝桃苷
Agilent1100	Agilent ZORBAX SB C ₁₈	1.102	1.001	0.701	1.033	0.814
Agilent1200	Agilent ZORBAX SB C ₁₈	1.119	1.009	0.706	1.063	0.830
	Agilent ZORBAX Extend C ₁₈	1.106	1.001	0.698	1.051	0.821
	Agilent ZORBAX TC C ₁₈	1.128	1.016	0.722	1.078	0.842
Agilent1260	Diamonsil C ₁₈	1.133	1.026	0.731	1.096	0.854
	Agilent ZORBAX SB C ₁₈	1.092	1.025	0.729	1.096	0.856
RSD, %		1.6	1.2	2.2	2.5	2.4

色谱系统及Agilent ZORBAX SB C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱(见表6),说明了RCF在不同实验室具有良好的可行性。

2.11 待测成分色谱峰的定位

利用色谱峰相对保留值(其他成分保留时间与内参物保留时间比值)定位:由色谱峰相对保留值和内参物的保留时间计算出目标峰相对保留时间,再根据峰形及光谱吸收变化

表6 不同实验室RCF考察结果(n=6)

Tab 6 Results of RCF investigated by different laboratories (n=6)

实验室	RCF				
	绿原酸	牡荆素鼠李糖苷	牡荆素	芦丁	金丝桃苷
Lab1	1.119	1.009	0.706	1.063	0.830
Lab2	1.130	1.029	0.725	1.088	0.864
Lab3	1.106	1.017	0.715	1.041	0.839
RSD, %	1.1	1.0	1.3	2.2	2.1

趋势,即能够在一定程度上准确判断目标峰的位置,结果,绿原酸、牡荆素鼠李糖苷、牡荆素、芦丁、金丝桃苷相对保留时间的RSD分别为2.9%、1.7%、3.2%、3.4%、2.7%,表明利用相对保留值进行色谱峰的定位是可行的。

2.12 样品含量测定结果

取样品各适量,分别按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2”项下色谱条件进样测定,计算样品含量,详见表7。

表7 样品含量测定结果(n=3, %)

Tab 7 Results of contents determination of samples(n=3, %)

No.	绿原酸		牡荆素葡萄糖苷	牡荆素鼠李糖苷		牡荆素		芦丁		金丝桃苷	
	QAMS	ESM	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM
1	0.370	0.368	0.336	0.608	0.634	0.064	0.065	0.056	0.054	0.129	0.123
2	0.116	0.121	0.236	1.064	1.052	0.066	0.065	0.107	0.102	0.241	0.230
3	0.122	0.127	0.262	0.660	0.688	0.067	0.069	0.041	0.039	0.084	0.080
4	0.152	0.158	0.319	0.610	0.625	0.066	0.067	0.064	0.062	0.135	0.131
5	0.070	0.073	0.180	0.593	0.618	0.121	0.116	0.042	0.044	0.065	0.062
6	0.620	0.600	0.288	0.716	0.732	0.022	0.023	0.114	0.109	0.123	0.119
7	0.830	0.839	0.625	1.379	1.414	0.055	0.057	0.140	0.140	0.053	0.054
8	0.608	0.618	0.627	2.031	2.024	0.046	0.048	0.294	0.293	0.154	0.152
9	1.187	1.210	0.880	1.600	1.630	0.045	0.047	0.195	0.196	0.081	0.082
10	0.053	0.055	0.133	0.524	0.544	0.109	0.105	0.021	0.022	0.055	0.053
11	0.067	0.066	0.116	0.366	0.383	0.080	0.077	0.021	0.022	0.057	0.055
12	0.077	0.079	0.131	0.500	0.521	0.115	0.110	0.011	0.011	0.065	0.062
13	0.446	0.434	0.268	1.249	1.228	0.063	0.066	0.043	0.042	0.051	0.049
14	0.453	0.441	0.267	1.256	1.234	0.062	0.064	0.048	0.046	0.064	0.061
15	0.474	0.458	0.256	1.218	1.198	0.059	0.057	0.038	0.036	0.055	0.053
16	0.351	0.335	0.119	0.657	0.639	0.068	0.065	0.021	0.020	0.113	0.108
17	0.251	0.240	0.089	0.612	0.584	0.072	0.069	0.015	0.015	0.108	0.103
18	0.310	0.295	0.103	0.664	0.634	0.070	0.067	0.015	0.015	0.101	0.096

3 讨论

QAMS法建立的成功与否与多种因素有关,包括外部因素和内部因素。外部因素如环境、仪器、色谱柱、实验人员等;内部因素主要有待测成分含量、内参物含量、对照品浓度、RCF、色谱条件等。其中,待测成分含量过低是一测多评法应用中引入误差的主要原因。

建立的QAMS法准确与否用相对误差 $R_E = (C_E - C_{QAMS}) / C_E \times 100\%$ 来进行评价^[14]($R_E < 5\%$ 为考量尺度),本试验结合“2.1”项下公式(1)(2)导出 R_E 与待测成分浓度倒数成以下关系:

$$R_E = (C_s / A_s \cdot a / f_{sx}) - (C_s / A_s \cdot b / f_{sx}) \cdot 1 / C_x \dots\dots\dots (3)$$

式中, C_s / A_s 是一个定值,可由内参物的回归方程计算得出; a 、 b 分别为待测组分的回归方程中的斜率和截距; f_{sx} 代表本试验中的RCF。

根据公式(3),当牡荆素鼠李糖苷质量浓度 $C_s \geq 0.35$ mg/ml、牡荆素质量浓度 $C_s \geq 1.88$ μ g/ml、金丝桃苷质量浓度 $C_s \geq 2.2$ μ g/ml时,采用上述建立的RCF法进行含量测定, R_E 均 $< 5\%$,符合考量尺度。

绿原酸和芦丁不能用公式(3)计算得出浓度限量,通过分析,可能是回归方程中的斜率过小的原因^[15],因此斜率过小可能是影响QAMS的又一因素,应如何解决有待进一步考察。

综上所述,本方法操作简便,精密度、稳定性、重复性好,可用于山楂叶中绿原酸、牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、牡荆素、芦丁、金丝桃苷含量的同时测定。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版. 北京:中国医药科技出版社, 2015:32.

[2] 杨华,张知贵,李小慧. 山楂叶总黄酮对高脂血症大鼠血脂和血液流变性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(12):257.

[3] 王领弟,李艳荣,张晓锋,等. 山楂叶指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(19):74.

[4] 耿慧春,满莹,赵智勇. 山楂叶化学成分和药理作用研究进展[J]. 中国现代医生, 2009, 47(26):1 285.

[5] 杜义龙. 基于HPLC指纹图谱对承德山楂叶和山里红叶的比较研究[D]. 承德:承德医学院, 2013.

[6] 潘海峰,王领弟,李艳荣,等. HPLC测定山楂叶中7种成分的含量[J]. 中药材, 2012, 35(6):925.

[7] 马国,蒋学华,黄婷,等. HPLC同时测定山楂叶提取物中的5种主要成分[J]. 华西药学杂志, 2007, 22(5):547.

[8] 王肖,杜义龙,赵胜男,等. 承德产山楂叶中总黄酮和5种黄酮类成分含量的动态分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(17):171.

[9] 李岑,杨红霞,肖远灿,等. 一测多评法测定藏药当佐中没食子酸、羟基红花黄色素A、桂皮醛及胡椒碱的含量[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(9):1 658.

[10] 陈佳. 山楂叶有效成分的提取分离及含量测定研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学, 2006.

[11] 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):1 418.

[12] 李爱红,陈伟建,胡文君. 一测多评法测定银杏叶胶囊中总黄酮醇苷的含量[J]. 中国药房, 2012, 23(36):3 446.

[13] 文乾映,龙芳,杨华,等. 中药质量控制中一测多评法的应用进展[J]. 中国药房, 2014, 25(23):2 186.

[14] 王智民,钱忠直,张启伟,等. 一测多评法建立的技术指南[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(6):1 530.

[15] 何兵,杨世艳,张燕. 一测多评中待测成分校正和定位的新方法研究[J]. 药学报, 2012, 47(12):1 653.

(收稿日期:2015-12-05 修回日期:2016-03-17)

(编辑:张 静)