



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105181862 B

(45)授权公告日 2017.07.21

(21)申请号 201510300855.0

审查员 肖锡峰

(22)申请日 2015.06.04

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105181862 A

(43)申请公布日 2015.12.23

(73)专利权人 南京中医药大学

地址 210046 江苏省南京市栖霞区仙林大道138号

(72)发明人 郭盛 段金廛 钱大玮

(74)专利代理机构 江苏圣典律师事务所 32237

代理人 贺翔

(51)Int.Cl.

G01N 30/88(2006.01)

G01N 30/06(2006.01)

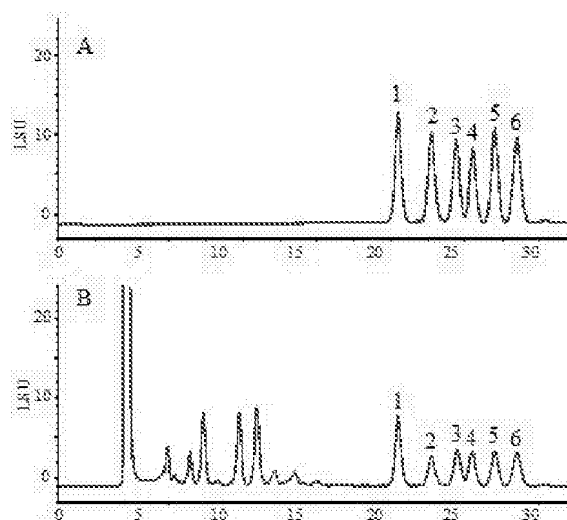
权利要求书1页 说明书6页 附图1页

(54)发明名称

大枣及其提取物与制剂的质量控制方法及应用

(57)摘要

本发明公开了一种大枣及其提取物与制剂的质量控制方法,本发明通过高效液相色谱串联蒸发光散射检测器的分离分析技术,借助一测多评方法,通过计算校正因子,实现对大枣中的6个三萜类化学成分含量进行计算。该方法操作简便,稳定性好,可以客观、全面、准确地评价大枣及其提取物与制剂的品质,并用于其质量控制,可解决因对照品缺乏而无法客观合理地控制药材及其制剂质量的问题,对控制质量和保证疗效具有重要意义。



1. 一种大枣活性成分的测定方法,其特征在于,包括以下步骤:

(1) 样品溶液的制备

取大枣,去核并切成小块,烘干后粉碎,取上述粉末5.0~25g,精密称定,置于100~500mL具塞锥形瓶中,精密加入100~500mL提取溶液,密塞,称定重量,提取60~120min,再称定重量,加提取溶液补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液50mL减压回收溶剂至干,残渣加甲醇转移至10mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,经0.45 μ m的微孔滤膜滤过后,取续滤液作为供试品溶液;

(2) 对照品溶液的制备

取白桦脂酸、齐墩果酸、乌苏酸、桦木酮酸、齐墩果酮酸、乌苏酮酸对照品适量,精密称定,用甲醇溶解,制成混合对照品溶液,于4 $^{\circ}$ C冰箱中避光保存,备用;

(3) 相对校正因子计算

取步骤(2)制备得到的混合对照品溶液,进样1,2,4,6,10,20 μ L,用高效液相色谱测定色谱图并进行峰面积积分,选取以白桦脂酸为内参物,按照相对校正因子计算公式,结合系列浓度对照品溶液所得峰面积数据,分别计算白桦脂酸对齐墩果酸、乌苏酸、桦木酮酸、齐墩果酮酸、乌苏酮酸的相对校正因子(f_{si});

(4) 样品中活性组分的测定

取步骤(1)制备得到的样品溶液,注入高效液相色谱进行测定,获得色谱图,按公式计算齐墩果酸、乌苏酸、桦木酮酸、齐墩果酮酸、乌苏酮酸的质量浓度;

以上所述的公式为: $C_i = 10^{[\log(A_i/A_{s1}) \times \log(C_{sh}/C_{s1}) / \log(A_{sh}/A_{s1}) + \log(C_{s1})] \times f_{si}}$,式中 C_i 为被测定组分质量浓度, A_i 为被测定组分峰面积; A_{s1} 为白桦脂酸内标物低浓度溶液峰面积, C_{s1} 为白桦脂酸内标物低浓度溶液质量浓度; A_{sh} 为白桦脂酸内标物高浓度溶液峰面积, C_{sh} 为白桦脂酸内标物高浓度溶液质量浓度; f_{si} 为白桦脂酸对待测组分的相对校正因子;

所述校正因子计算公式为: $f_{si} = f_s / f_i = \lg A_s \times \lg C_i / \lg C_s \times \lg A_i$,式中 A_s 为内参物白桦脂酸对照品峰面积, C_s 为白桦脂酸质量浓度, A_i 为某待测成分对照品*i*峰面积; C_i 为某待测成分对照品*i*质量浓度;

步骤(3)和步骤(4)所述的高效液相色谱测定的条件为:

色谱柱:反相C18色谱柱;

流动相为体积比为14:43:43的0.2%甲酸胺水溶液、甲醇和乙腈;

或者流动相为体积比为17:83的0.5%乙酸胺水溶液和甲醇;

流速:0.4~0.8mL/min;

ELSD检测雾化器温度:80 $^{\circ}$ C,载气流量:2.7L/min。

2. 根据权利要求1所述的大枣活性成分的测定方法,其特征在于,色谱柱型号Hypersil C18色谱柱,及规格为250mm \times 4.6mm,5 μ m。

3. 根据权利要求1所述的大枣活性成分的测定方法,其特征在于,步骤(1)中烘干温度为40~60 $^{\circ}$ C,提取溶液为乙酸乙酯或三氯甲烷,提取方法为回流提取或超声提取。

大枣及其提取物与制剂的质量控制方法及应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种食品原料、中药材及其制剂的质量控制方法,具体涉及大枣及其提取物与制剂的质量控制方法。

背景技术

[0002] 大枣为鼠李科枣属植物枣 *Ziziphus jujuba* Mill. 的干燥成熟果实,在中医临床中应用广泛,具有补中益气,养血安神之功,常用于脾虚食少、乏力便溏、妇人脏躁等症。同时,大枣也是一种美味可口、营养极其丰富的食品。现代研究显示,大枣中主要含有糖类、三萜类、核苷及碱基类、氨基酸类等化学成分^[1]。其中,大枣中含有的三萜类化学成分具有调节免疫、保肝、抑制肿瘤细胞增殖、抗炎、抗菌等生物活性,为其药用功效发挥的主要物质基础之一。研究显示,存在于大枣中的三萜类化学成分主要以羽扇豆烷型、齐墩果烷型、乌苏烷型为主,且种类较多^[2]。有研究分别采用HPLC-UV、HPLC-ELSD技术建立了大枣及枣属药用植物中多种三萜类化学成分的分析评价方法,但所测定指标对照品分离制备难度大、分析成本高,作为大枣药材质量控制方法不易推广。截止目前,《中国药典》尚未见收载用于大枣药材分析评价的有效方法,不利于大枣药材及其制剂产品的质量的控制。

[0003] 因此,开发一种简便易行、检测成本低廉,且可同时定量分析多种活性成分的分析方法,对于大枣及其提取物与制剂的质量控制具有现实意义。

发明内容

[0004] 发明目的:本发明的目的是为了克服现有技术的不足,采用高效液相色谱串联蒸发光散射检测器,通过一测多评技术,以目前较易得到的白桦脂酸为参照物,建立其与齐墩果酸、乌苏酸、桦木酮酸、齐墩果酮酸、乌苏酮酸的相对校正因子,并计算出多种三萜酸类成分的含量。该方法简便、快速,稳定性好,可以客观、全面、准确地评价大枣及其提取物与制剂的质量,可解决因对照品缺乏而无法客观合理地控制药材及其制剂质量的问题,对控制质量和保证疗效具有重要意义。

[0005] 技术方案:为了实现以上目的,本发明采取的技术方案为:

[0006] 一种大枣及其提取物与制剂的质量控制方法,包括以下步骤:

[0007] (1) 样品溶液的制备

[0008] 取大枣,去核并切成小块,烘干后粉碎,取上述粉末5.0~25g,精密称定,置于100~500mL具塞锥形瓶中,精密加入100~500mL提取溶液,密塞,称定重量,提取60~120min,再称定重量,加提取溶液补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液50mL减压回收溶剂至干,残渣加甲醇转移至10mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,经0.45 μ m的微孔滤膜滤过后,取续滤液作为供试品溶液;

[0009] (2) 对照品溶液的制备

[0010] 取白桦脂酸、齐墩果酸、乌苏酸、桦木酮酸、齐墩果酮酸、乌苏酮酸对照品适量,精密称定,用甲醇溶解,制成混合对照品溶液,于4 $^{\circ}$ C冰箱中避光保存,备用;

[0011] (3) 相对校正因子计算

[0012] 取步骤(2)制备得到的混合对照品溶液,进样1,2,4,6,10,20 μ L,用高效液相色谱测定色谱图并进行峰面积积分,选取以白桦脂酸为内参物,按照相对校正因子计算公式,结合系列浓度对照品溶液所得峰面积数据,分别计算白桦脂酸对齐墩果酸、乌苏酸、桦木酮酸、齐墩果酮酸、乌苏酮酸的相对校正因子(f_{si});

[0013] (4) 样品中活性组分的测定

[0014] 取步骤(1)制备得到的样品溶液,注入高效液相色谱进行测定,获得色谱图,按公式计算齐墩果酸、乌苏酸、桦木酮酸、齐墩果酮酸、乌苏酮酸的质量浓度;

[0015] 以上所述的公式为: $C_i = 10^{[\log(A_i/A_{s1}) \times \log(C_{sh}/C_{s1}) / \log(A_{sh}/A_{s1}) + \log(C_{s1})]} \times f_{si}$,式中 C_i 为被测定组分质量浓度, A_i 为被测定组分峰面积; A_{s1} 为白桦脂酸内标物低浓度溶液峰面积, C_{s1} 为白桦脂酸内标物低浓度溶液质量浓度; A_{sh} 为白桦脂酸内标物高浓度溶液峰面积, C_{sh} 为白桦脂酸内标物高浓度溶液质量浓度; f_{si} 为白桦脂酸对待测组分的相对校正因子。

[0016] 作为优选方案,以上所述的大枣及其提取物与制剂的质量控制方法,步骤(1)中所述的提取溶液为乙醇乙酯或三氯甲烷,所述的提取方法为回流提取或超声提取。

[0017] 作为优选方案,以上所述的大枣及其提取物与制剂的质量控制方法,步骤(3)中所述校正因子计算公式为: $f_{si} = f_s / f_i = \lg A_s \times \lg C_i / \lg C_s \times \lg A_i$,式中 A_s 为内参物白桦脂酸对照品峰面积, C_s 为白桦脂酸质量浓度, A_i 为某待测成分对照品 i 峰面积; C_i 为某待测成分对照品 i 质量浓度。

[0018] 作为优选方案,以上所述的大枣及其提取物与制剂的质量控制方法,步骤(1)所述的大枣提取物为大枣的水提取物或者乙醇提取物。

[0019] 作为优选方案,以上所述的大枣及其提取物与制剂的质量控制方法,步骤(3)和步骤(4)所述的高效液相色谱测定的条件为:

[0020] 色谱柱:反相C18色谱柱;

[0021] 流动相:为水相与有机相组成的混合溶液;

[0022] 流速:0.4~0.8mL/min;

[0023] ELSD检测雾化器温度:80 $^{\circ}$ C,载气流量:2.7L/min。

[0024] 作为更优选方案,以上所述的大枣及其提取物与制剂的质量控制方法,所述的水相为0.05%~2%乙酸胺水溶液,或浓度0.05%~2%甲酸胺水溶液,水相在流动相中的体积比为10%~20%。

[0025] 作为更优选方案,以上所述的大枣及其提取物与制剂的质量控制方法,所述的有机相为甲醇或体积比为1:0.5~1.5的甲醇与乙腈的混合物,作为更加优选方案,甲醇与乙腈的体积比为1:1。

[0026] 作为更优选方案,以上所述的大枣及其提取物与制剂的质量控制方法,所述的色谱柱型号及规格为Hypersil C18色谱柱(250mm \times 4.6mm,5 μ m)。

[0027] 作为更优选方案,以上所述的大枣及其提取物与制剂的质量控制方法,其特征在于,所述的流动相为0.5%乙酸胺水溶液:甲醇(17:83),流速为0.6mL/min。

[0028] 本发明针对三萜酸类化学成分为大枣中含有的主要活性成分之一,采用一测多评技术建立同时测定大枣中6种含量相对较高、且具有代表性的三萜酸类活性成分含量的方法。在建立相对校正因子时,分别比较了直接以峰面积和进样量计算相对校正因子,以及取

峰面积和进样量的对数进行计算的两种相对校正因子计算方法。结果显示,若直接采用以峰面积和进样量的计算方法,所得不同进样量的校正因子RSD值大,而当采用取峰面积和进样量的对数进行计算时,RSD值均小于3%,最终优选为选择峰面积和进样量的对数值进行校正因子的计算。

[0029] 本发明所测定的三萜酸类化学成分其结构相似,且多为同分异构体,HPLC分离困难,经比较不同流动相体系对其分离效果的影响,优选出以乙酸胺或甲酸胺水溶液为水相,甲醇或甲醇与乙腈的混合液为有机相较适宜于上述成分的分离。经进一步筛后发现,以0.5%乙酸胺水溶液:甲醇(17:83)为最佳选择。

[0030] 且不同品牌色谱柱对上述化合物的分离效能影响也较大,经大量实验筛选研究发现以Hypersil C₁₈色谱柱(250mm×4.6mm,5μm)最为理想。并且本发明还通过大量实验筛选了流动性的流速同时,研究还发现,低流速有助于上述化合物的良好分离,经筛选后确定以流速为0.6mL/min最为适宜。

[0031] 有益效果:本发明提供的大枣及其提取物与制剂的质量控制方法和现有技术相比具有以下优点:

[0032] 本发明根据大枣中活性成分和杂质成分的结构性质特点,通过大量实验优选出最佳的流动相组成、流速、色谱柱等分析条件,经多次实验验证表明本发明采用一测多评技术,以白桦脂酸为内标物,建立其与齐墩果酸、乌苏酸、桦木酮酸、齐墩果酮酸、乌苏酮酸的相对校正因子,并计算多种三萜酸含量的方法,具有简便、快速、稳定性好,可以客观、全面、准确地评价大枣及其提取物与制剂的质量,可解决因对照品缺乏而无法客观合理地控制药材及其制剂质量的问题,对控制质量和保证临床疗效具有重要意义。

附图说明

[0033] 图1为混合对照品(A)和样品(B)的高效液相色谱图。

具体实施方式

[0034] 下面结合具体实施例进一步阐明本发明,应理解这些实施例仅用于说明本发明而并不用于限制本发明的范围,在阅读了本发明之后,本领域技术人员对本发明的各种等价形式的修改均落于本申请所附权利要求所限定的范围。

[0035] 实施例1

[0036] (1) 供试品溶液的制备

[0037] 取大枣药材,去核并切成小块后,50℃烘干并粉碎过40目筛。取上述粉末5.0g,精密称定,置于100mL具塞锥形瓶中,精密加入100mL乙酸乙酯,密塞,称定重量,室温超声(40kHz)提取60min,再称定重量,加乙酸乙酯补足减失的重量,摇匀,滤过。取续滤液50mL减压回收溶剂至干,残渣加甲醇转移至10mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,经0.45μm的微孔滤膜滤过后,取续滤液作为供试品溶液。

[0038] (2) 混合对照品溶液的制备

[0039] 取白桦脂酸、齐墩果酸、乌苏酸、桦木酮酸、齐墩果酮酸、乌苏酮酸对照品适量,精密称定,用甲醇溶解,制成浓度分别为224.1、200.2、215.9、187.0、212.8、167.1μg/mL的混合对照品溶液,于4℃冰箱中避光保存,备用。

[0040] (3) 色谱图的获取

[0041] 取步骤(1)样品溶液和步骤(2)混合对照品溶液,进行HPLC-ELSD检测,获得色谱图,如图1所示,所用高效液相色谱参数设置如下:

[0042] 色谱柱:Hypersil C₁₈色谱柱(250mm×4.6mm,5μm);

[0043] 流动相:0.5%乙酸胺水溶液:甲醇(17:83);

[0044] 流速:0.6mL/min;

[0045] ELSD检测雾化器温度:80℃,载气流量:2.7L/min。

[0046] (4) 相对校正因子计算

[0047] 取步骤(2)制备得到的混合对照品溶液,进样1,2,4,6,10,20μL,用高效液相色谱测定色谱图并进行峰面积积分,选取以白桦脂酸为内参物,在上述特定的范围内按照相对校正因子计算公式 $f_{si} = f_s / f_i = \lg A_s \times \lg C_i / \lg C_s \times \lg A_i$,结合步骤(2)制备得到的系列浓度对照品溶液所得峰面积数据,分别计算白桦脂酸对齐墩果酸、乌苏酸、桦木酮酸、齐墩果酮酸、乌苏酮酸的相对校正因子(f_{si}),见表1。

[0048] 表1 6种三萜酸的相对校正因子

进样体积 (μL)	相对校正因子				
	$f_{\text{白桦脂酸/齐墩果酸}}$	$f_{\text{白桦脂酸/乌苏酸}}$	$f_{\text{白桦脂酸/桦木酮酸}}$	$f_{\text{白桦脂酸/齐墩果酮酸}}$	$f_{\text{白桦脂酸/乌苏酮酸}}$
1	1.032	1.025	1.077	0.996	0.996
2	1.031	1.015	1.049	0.992	1.017
[0049] 4	1.025	1.008	1.030	0.996	1.020
6	1.024	1.003	1.041	1.000	1.024
10	1.022	1.000	1.035	0.999	1.023
20	1.015	0.994	1.042	0.999	1.024
平均	1.025	1.007	1.045	0.997	1.017
RSD (%)	0.61	1.09	1.58	0.30	1.05

[0050] (5) 样品中活性组分的测定

[0051] 取步骤(1)制备得到的样品溶液注入高效液相色谱进行测定,获得色谱图,按公式计算齐墩果酸、乌苏酸、桦木酮酸、齐墩果酮酸、乌苏酮酸的质量浓度;同时与外标法测定结果进行比较。

[0052] 以上所述的公式为: $C_i = 10^{[\log(A_i/A_{s1}) \times \log(C_{sh}/C_{s1}) / \log(A_{sh}/A_{s1}) + \log(C_{s1})]} \times f_{si}$,式中 C_i 为被测定组分质量浓度, A_i 为被测定组分峰面积; A_{s1} 为白桦脂酸内标物低浓度溶液峰面积, C_{s1} 为白桦脂酸内标物低浓度溶液质量浓度; A_{sh} 为白桦脂酸内标物高浓度溶液峰面积, C_{sh} 为白桦脂酸内标物高浓度溶液质量浓度; f_{si} 为白桦脂酸对待测组分的相对校正因子。测定结果见表2。

[0053] 表2 一测多评法与外标法含量测定结果比较(mg/g)

[0054]

样品编号	白桦脂酸		齐墩果酸		乌苏酸		桦木酮酸			齐墩果酮酸			乌苏酮酸		总含量				
	外标法	外标法	QAMS	RSD/%	外标法	QAMS	RSD/%	外标法	QAMS	RSD/%	外标法	QAMS	RSD/%	外标法	QAMS	RSD/%			
1	0.337	0.041	0.042	1.95	0.081	0.081	0.69	0.471	0.447	3.59	0.190	0.184	2.09	0.132	0.124	4.24	1.251	1.216	2.02
2	0.350	0.058	0.039	2.14	0.082	0.083	0.64	0.496	0.471	3.65	0.195	0.189	2.12	0.134	0.127	4.22	1.295	1.258	2.03
3	0.433	0.096	0.100	3.03	tr	tr	-	0.037	0.037	0.58	0.733	0.697	3.51	0.445	0.424	3.41	1.745	1.692	2.16
4	0.387	0.039	0.040	2.17	0.081	0.082	0.66	0.405	0.386	3.41	0.176	0.171	2.01	0.159	0.150	4.11	1.247	1.216	1.78
5	0.241	0.113	0.119	3.19	0.202	0.198	1.71	0.305	0.292	3.07	0.414	0.397	2.91	0.207	0.196	3.93	1.483	1.443	1.96
6	0.240	0.108	0.113	3.14	0.132	0.131	0.60	0.289	0.277	3.01	0.412	0.395	2.90	0.227	0.215	3.87	1.407	1.370	1.88
7	0.329	0.170	0.179	3.58	0.265	0.256	2.41	0.163	0.158	2.33	0.135	0.132	1.74	0.120	0.113	4.30	1.181	1.165	0.94
8	0.372	0.063	0.063	2.59	0.090	0.091	0.39	0.036	0.035	0.53	0.702	0.668	3.46	0.265	0.252	3.76	1.526	1.481	2.11
9	0.389	0.045	0.047	2.31	tr	tr	-	0.727	0.686	4.11	0.234	0.245	2.40	tr	tr	-	1.414	1.366	2.44
10	0.540	0.157	0.165	3.51	0.313	0.301	2.85	0.717	0.677	4.09	0.519	0.497	3.15	0.361	0.343	3.55	2.608	2.523	2.34
11	0.556	0.048	0.050	2.38	0.272	0.263	2.49	0.734	0.692	4.12	0.507	0.485	3.12	0.356	0.338	3.56	2.473	2.384	2.58
12	0.376	0.113	0.116	3.17	0.242	0.234	2.18	0.273	0.261	2.94	0.236	0.228	2.32	0.191	0.181	3.98	1.429	1.397	1.57
13	0.310	0.118	0.123	3.23	0.076	0.077	0.82	0.523	0.496	3.72	0.313	0.302	2.62	0.138	0.131	4.20	1.479	1.439	1.93
14	0.294	0.169	0.178	3.54	0.203	0.206	0.91	0.211	0.204	2.56	0.201	0.196	1.72	0.198	0.190	2.92	1.277	1.268	0.50
15	0.226	0.159	0.167	3.58	0.078	0.077	0.25	0.358	0.342	3.23	0.220	0.212	2.73	0.168	0.163	2.56	1.228	1.207	1.30

[0055] QAMS: 本发明一测多评法; tr: 低于定量限。

[0056] 实施例2

[0057] (1) 供试品溶液的制备

[0058] 分别取大枣水提取物和大枣醇提取物, 55℃烘干并粉碎过40目筛。取上述粉末各5.0g, 精密称定, 置于100mL具塞锥形瓶中, 精密加入100mL三氯甲烷, 密塞, 称定重量, 回流提取60min, 再称定重量, 加三氯甲烷补足减失的重量, 摇匀, 滤过。取续滤液50mL减压回收溶剂至干, 残渣加甲醇转移至10mL量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 经0.45μm的微孔滤膜滤过后, 取续滤液作为供试品溶液。

[0059] (2) 混合对照品溶液的制备

[0060] 取白桦脂酸、齐墩果酸、乌苏酸、桦木酮酸、齐墩果酮酸、乌苏酮酸对照品适量, 精密称定, 用甲醇溶解, 制成浓度分别为201.4、156.9、202.3、145.8、199.8、200.5μg/mL的混合对照品溶液, 于4℃冰箱中避光保存, 备用。

[0061] (3) 色谱图的获取

[0062] 取步骤(1)样品溶液和步骤(2)混合对照品溶液, 进行HPLC-ELSD检测, 获得色谱图, 所用高效液相色谱参数设置如下:

[0063] 色谱柱: Alltima C18色谱柱(250mm×4.6mm, 5μm);

[0064] 流动相: 0.2%甲酸胺水溶液: 甲醇: 乙腈(14:43:43);

[0065] 流速: 0.5mL/min;

[0066] ELSD检测雾化器温度: 80℃, 载气流量: 2.7L/min。

[0067] (4) 相对校正因子计算

[0068] 取步骤(2)制备得到的混合对照品溶液, 进样1, 2, 4, 6, 10, 20μL, 用高效液相色谱测定色谱图并进行峰面积积分, 选取以白桦脂酸为内参物, 在上述特定的范围内按照相对

校正因子计算公式 $f_{si} = f_s / f_i = \lg A_s \times \lg C_i / \lg C_s \times \lg A_i$, 结合步骤(2) 制备得到的系列浓度对照品溶液所得峰面积数据, 分别计算白桦脂酸对齐墩果酸、乌苏酸、桦木酮酸、齐墩果酮酸、乌苏酮酸的相对校正因子(f_{si}) 为0.992、1.023、1.008、0.990、0.995。

[0069] (5) 样品中活性组分的测定

[0070] 取步骤(1) 制备得到的样品溶液注入高效液相色谱进行测定, 获得色谱图, 按公式计算齐墩果酸、乌苏酸、桦木酮酸、齐墩果酮酸、乌苏酮酸的质量浓度; 同时与外标法测定结果进行比较。

[0071] 以上所述的公式为: $C_i = 10^{[\log(A_i/A_{s1}) \times \log(C_{sh}/C_{s1}) / \log(A_{sh}/A_{s1}) + \log(C_{s1})] \times f_{si}}$, 式中 C_i 为被测定组分质量浓度, A_i 为被测定组分峰面积; A_{s1} 为白桦脂酸内标物低浓度溶液峰面积, C_{s1} 为白桦脂酸内标物低浓度溶液质量浓度; A_{sh} 为白桦脂酸内标物高浓度溶液峰面积, C_{sh} 为白桦脂酸内标物高浓度溶液质量浓度; f_{si} 为白桦脂酸对待测组分的相对校正因子。测定结果见表3。

[0072] 表3 一测多评法与外标法含量测定结果比较(mg/g)

[0073]

样品	白桦脂酸		齐墩果酸		乌苏酸		桦木酮酸		齐墩果酮酸		乌苏酮酸	
	外标法	外标法	QAMS	外标法	QAMS	外标法	QAMS	外标法	QAMS	外标法	QAMS	
大枣水提取物	0.897	0.521	0.517	0.442	0.439	1.002	0.993	0.311	0.320	0.992	0.978	
大枣醇提取物	2.524	1.623	1.609	0.541	0.533	0.956	0.964	0.598	0.608	3.125	3.150	

[0074] QAMS: 本发明一测多评法。

[0075] 以上实验结果表明, 本发明提供的大枣及其提取物与制剂的质量控制方法简便、快速、稳定性和重复性好, 可以客观、全面、准确地评价大枣及其提取物与制剂的质量, 并且实验对比结果表明, 与外标法检测结果准确性相当, 但本发明具有更加高效, 方便, 节约对照品等优点。

[0076] 本发明通过大量实验优选出最佳的流动相组成、流速、色谱柱等分析条件, 采用HPLC分离, ELSD检测, 通过一测多评技术, 以白桦脂酸为内标物, 建立其与齐墩果酸、乌苏酸、桦木酮酸、齐墩果酮酸、乌苏酮酸的相对校正因子, 并计算6种三萜酸含量的方法, 可解决因对照品缺乏而无法客观合理地控制大枣及其制剂质量的问题, 取得了非常好的技术效果。

[0077] 以上所述仅是本发明的优选实施方式, 应当指出, 对于本技术领域的普通技术人员来说, 在不脱离本发明原理的前提下, 还可以做出若干改进和润饰, 这些改进和润饰也应视为本发明的保护范围。

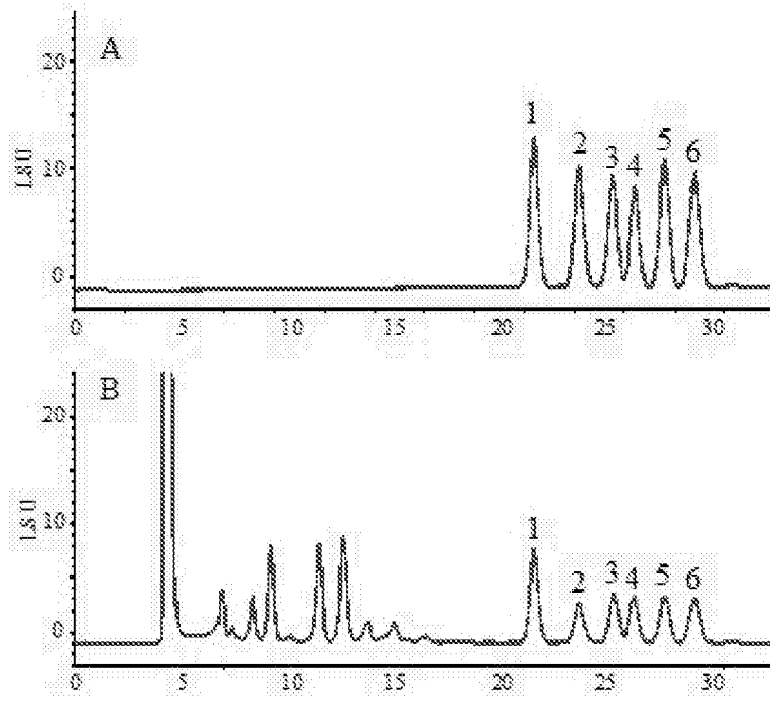


图1

www.patviewer.com