

ml 具塞三角瓶中, 加 40 ml 50% 甲醇, 超声振荡 30 min, 抽滤, 滤液定容至 50 ml 量瓶中, 用 0.45 Lm 微孔滤膜过滤, 即得供试品溶液。

1.2.2 测定波长的选择 将绿原酸对照品、供试品溶液在 200~ 400 nm 扫描, 其最大吸收波长均为 327 nm, 故选择 327 nm 为检测波长。

1.2.3 色谱条件 色谱柱为 Zorbax SB- C₁₈柱 (5 Lm, 250 mm@4.6 mm), 流动相为 0.4% 磷酸- 乙腈 (87B13), 检测波长 327 nm, 柱温 20 e, 进样量 5 Ll。

1.2.4 标准曲线的绘制 精密吸取绿原酸对照品溶液 1、3、5、7、9 ml, 分别置 10 ml 量瓶中, 用 50% 甲醇稀释至刻度, 按/ 1.2.30 项的色谱条件测定, 记录峰面积, 并对供试品浓度作图, 得直线回归方程为: $Y=1.461 \times 10^4 X-3.09$ ($r=0.9999$), 绿原酸在 0.01~ 0.09 mg#ml⁻¹ 范围内呈良好的线性关系。

1.2.5 仪器精密度考察 取绿原酸对照品, 重复进样 5 次, 绿原酸峰面积的 RSD= 0.81%。

1.2.6 方法的重复性 取某一批供试品, 按/ 1.2.10 项下方法制备供试品溶液, 进样测定, 计算绿原酸峰面积, 其平均值为 665.86, RSD= 0.99% ($n=5$)。

1.2.7 方法的准确度 取/ 1.2.10 项下已知含量的供试品溶液 5 份, 加入一定量的对照品, 进样测定, 计算回收率和 RSD, 结果见表 1。

表 1 回收率实验结果 (mg#ml⁻¹, $n=5$)
Table 1 Results of recovery test (mg#ml⁻¹, $n=5$)

Batch No.	Original	Added	Detected	Recovery/ %	$\bar{X}$ / %	RSD/ %
040602- 1	0.013	0.071	0.083	98.6	98.0	2.69
040602- 2	0.027	0.022	0.048	95.4		
040602- 3	0.035	0.042	0.078	102.4		
040602- 4	0.049	0.030	0.078	96.7		
040602- 5	0.054	0.035	0.088	97.1		

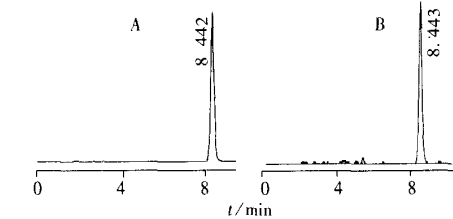


图 1 绿原酸对照品溶液(A)及供试品溶液(B)的色谱图
Fig 1 HPLC chromatograms of control solution of chlorogenic acid(A) and sample solution(B)

1.2.8 供试品溶液的稳定性 吸取/ 1.2.10 项下的供试品溶液, 分别在 0、2、4、6、8 h 进样, 测定峰面积, 计算得绿原酸峰面积的 RSD= 0.58%。

1.2.9 样品的测定 按/ 1.2.30 项下色谱条件测定供

试品, 记录其峰面积, 用外标法(标准曲线法)计算含量(表 2)。对照品及供试品的色谱图见图 1。

表 2 原周地区不同物候期金银花中绿原酸的含量($n=3$)
Table 2 The contents of chlorogenic acid in Flos Lonicerae in Yuanzhou, Ningxia($n=3$)

Batch No.	Gathering time	Contents of chlorogenic acid/ %	RSD/ %
040601	2004- 06- 20 8.00- 10.00	2.45	1.98
040602	10.00- 12.00	2.52	2.31
040603	14.00- 16.00	2.31	0.98
040604	16.00- 18.00	2.28	1.23
040701	2004- 07- 20 8.00- 10.00	1.84	2.65
040702	10.00- 12.00	2.25	1.42
040703	14.00- 16.00	1.75	2.36
040704	16.00- 18.00	1.65	2.56
040801	2004- 08- 20 8.00- 10.00	1.32	0.65
040802	10.00- 12.00	1.54	1.96
040803	14.00- 16.00	1.29	2.20
040804	16.00- 18.00	1.25	1.31
040901	2004- 09- 20 8.00- 10.00	1.19	1.25
040902	10.00- 12.00	1.31	2.25
040903	14.00- 16.00	1.21	2.92
040904	16.00- 18.00	1.20	1.65

2 讨论

通过对宁夏原周区不同月份金银花中绿原酸含量变化的考察, 可知从 6 月至 9 月的含量变化较大, 六月份含量最高, 九月份含量最低。若以绿原酸含量为指标, 则在六月份采集金银花比较合理。

在同日的不同时间采集样品时, 发现 10.00~ 12.00 am. 采收的样品中绿原酸含量最高。故最好在这一时间段采收。

实验曾选用 RP- HPLC 和 UV 两种方法对同一批样品进行测量, 结果发现采用 UV 测定结果明显偏高, 故选用 RP- HPLC 对样品进行测定。

参考文献:

[1] 中华人民共和国国家药典委员会. 中国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2000. 177
[2] 武雪芬, 白雁. 金银花叶药效成分的提取及抑菌试验研究[J]. 中成药, 2001, 23(6): 448
[3] 邢俊波, 李萍, 温德良. 不同物候期金银花中总绿原酸的积累动态研究[J]. 中国中药杂志, 2001, 7(26): 457
[4] 邢俊波, 李萍, 刘云. 不同产地、不同物候期金银花中绿原酸的动态变化研究[J]. 中国药学杂志, 2003, 38(1): 19
[5] 刘高峰, 孙考祥, 黄丽君, 等. HPLC 法测定不同生长期金银花中绿原酸含量[J]. 中医药学报, 2001, 29(3): 51

收稿日期: 2005- 03