

不同采收期紫丁香叶中原儿茶酸、原儿茶醛和酪醇的含量测定

张淑蓉, 裴香萍, 裴妙荣, 黄灿林, 黄轩(山西中医学院, 太原 030024)

摘要: 目的 测定不同采收期紫丁香叶中原儿茶酸、原儿茶醛、酪醇的含量。方法 采用 RP-HPLC 直接测定。YWG-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 10 μm); 流动相为甲醇-0.125%冰醋酸溶液(10:90), 流速 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长 275 nm。结果 原儿茶酸在 0.08~0.56 μg 内呈良好线性, 回归方程为 $Y = 83\,995 X - 10\,368$, $r = 0.999\,5$; 原儿茶醛在 0.01~0.07 μg 内呈良好线性, 回归方程为 $Y = 111\,202 X - 35\,323$, $r = 0.999\,8$; 酪醇在 0.42~2.94 μg 内呈良好线性, 回归方程为 $Y = 139\,922 X - 32\,003$, $r = 0.999\,6$ 。紫丁香叶中原儿茶酸的含量 10 月份最高, 原儿茶醛和酪醇的含量 4 月份最高。结论 该方法简便、快速、准确可靠, 适用于紫丁香叶中原儿茶酸、原儿茶醛、酪醇多种成分的同时测定; 适用于紫丁香叶的质量控制。结果表明紫丁香叶以 10 月份或 4~5 月份采收为宜。

关键词: 紫丁香; 采收期; 原儿茶酸; 原儿茶醛; 酪醇

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2009)06-0457-04

Determination of Protocatechuic Acid, Protocatechuic Aldehyde and Tyrosol in Different Seasons Collections of Syringa Oblate Leaves

ZHANG Shurong, PEI Xiangping, PEI Miaorong, HUANG Canlin, HUANG Xuan (*Shanxi College of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030024, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a RP-HPLC method to determine the contents of protocatechuic acid, protocatechuic aldehyde and tyrosol in Syringa oblate. **METHODS** The samples were determined by RP-HPLC on a YWG C₁₈ column(4.6 mm × 250 mm, 10 μm), using methanol-0.125% glacial acetic acid solution(10:90) as the mobile phase with flow rate of 1 mL·min⁻¹ and detected by UV at 275 nm. **RESULTS** The regression equation of protocatechuic acid: $Y = 83\,995 X - 10\,368$, $r = 0.999\,5$, the linear ranges was at 0.08 - 0.56 μg. The regression equation of protocatechuic aldehyde: $Y = 111\,202 X - 35\,323$, $r = 0.999\,8$, the linear ranges was at 0.01 - 0.07 μg. The regression equation of tyrosol: $Y = 139\,922 X - 32\,003$, $r = 0.999\,6$, the linear ranges was at 0.42~2.94 μg. The samples collected in October had the highest contents of protocatechuic acid, while the highest content of protocatechuic aldehyde and tyrosol was in April. **CONCLUSION** The method is simple, rapid and accurate, and can determine the three components at one time. It can be used for quality evaluation of Syringa oblate. The results show that the optimum collection time of Syringa oblate can be in October or April to May.

KEY WORDS: *Syringa oblate* Lindl.; collection periods; protocatechuic acid; protocatechuic aldehyde; tyrosol

紫丁香叶为木犀科植物紫丁香 *Syringa oblate* Lindl. 的干燥叶, 收载于黑龙江省药品标准。丁香叶是一种理想的广谱抗菌药, 由于其抑菌谱广, 抑菌力强, 有对抗细菌耐药性的特点, 以其为原料生产

的炎立消胶囊、炎立消片用于治疗痢疾, 急性黄疸性肝炎, 均收到较好疗效^[1]。丁香叶的主要活性成分有酪醇(tyrosol)、原儿茶酸(protocatechuic acid)、原儿茶醛(protocatechuic aldehyde)、3, 4-二羟基苯

作者简介: 张淑蓉, 女, 教授 Tel: (0351) 2272269 E-mail: zhangsr62@163.com

乙醇(3, 4-dihydroxyphenol)、反式对羟基肉桂酸(E-P-hydroxycinnamic acid)、丁香苦昔 A(syringopicroside A)等^[1-2]。对丁香叶采收期的研究有分光光度法^[3]和 HPLC^[4]。本试验采用 RP-HPLC 同时测定不同采收期紫丁香叶中原儿茶酸、原儿茶醛和酪醇等多种活性成分的含量, 探讨不同采收期紫丁香叶中 3 种活性成分的含量变化, 为紫丁香叶采收期的确定及质量的全面控制提供参考依据。

1 仪器与试剂

Waters515 系列高效液相色谱仪, 2996 二极管阵列检测器, M³² 色谱工作站。甲醇为色谱纯, 水为双蒸水, 其他试剂均为分析纯; 原儿茶酸和酪醇对照品自制(经薄层色谱和高效液相色谱检查均显一个峰); 原儿茶醛对照品(含量测定用, 批号: 110810-200205)购自中国药品生物制品检定所; 紫丁香叶药材 2006 年 4~11 月(4~10 月为下旬, 11 月为中旬)采自太原市南郊(经山西中医学院中药鉴定教研室牛燕珍讲师鉴定)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

YWG-C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 10 μm); 流动相为甲醇-0.125%冰醋酸水溶液(10:90), 流速 1 mL·min⁻¹; 柱温室温; 检测波长 275 nm。酪醇、原儿茶醛、原儿茶酸对照品 HPLC 色谱图和紫丁香叶供试品 HPLC 色谱图见图 1。

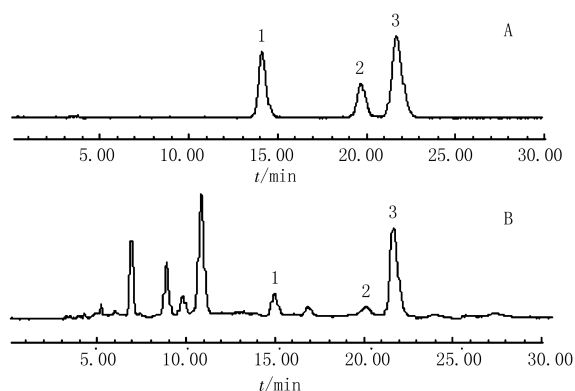


图 1 供试品 HPLC 色谱图

A-混合对照品; B-紫丁香叶; 1-原儿茶酸; 2-原儿茶醛; 3-酪醇

Fig 1 HPLC chromatograms

A-reference standard; B-Syringa oblata sample; 1-protocatechuic acid; 2-protocatechuic aldehyde; 3-tyrosol

2.2 供试品溶液的制备

取紫丁香叶粉末 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70%乙醇 50 mL, 60 °C 超声处理 30 min, 滤过, 滤液浓缩至无醇味, 抽滤, 残渣用 5 mL

水分次洗涤, 合并滤液和洗液, 用乙酸乙酯萃取 3 次, 每次 20 mL, 合并乙酸乙酯萃取液, 水浴挥干溶剂, 残渣用甲醇溶解, 转移至 2 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 即得。

2.3 对照品溶液制备

分别精密称取原儿茶酸、原儿茶醛、酪醇对照品适量, 同置 50 mL 量瓶中, 加甲醇制成每 1 mL 含原儿茶酸 0.40 mg、原儿茶醛 0.05 mg、酪醇 2.10 mg 的对照品贮备溶液。精密吸取上述溶液 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得每 1 mL 含原儿茶酸 0.040 mg、原儿茶醛 0.005 mg、酪醇 0.210 mg 的对照品溶液。

2.4 线性关系的考察

精密吸取对照品贮备溶液 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀。分别进样 10 μL, 测定峰面积积分值, 以峰面积积分值为纵坐标, 进样量为横坐标作图。原儿茶酸回归方程为 $Y=83\ 995\ X-10\ 368$, $r=0.999\ 5$, 线性范围为 0.08~0.56 μg; 原儿茶醛回归方程为 $Y=111\ 202\ X-35\ 323$, $r=0.999\ 8$, 线性范围为 0.01~0.07 μg; 酪醇回归方程 $Y=139\ 922\ X-32\ 003$, $r=0.999\ 6$; 线性范围为 0.42~2.94 μg。

2.5 仪器精密度试验

精密吸取混合对照品贮备溶液 10 μL, 分别进样 6 次, 测定峰面积积分值, 原儿茶酸、原儿茶醛、酪醇的 RSD 值分别为 1.30%, 2.44%, 2.31%。

2.6 重复性试验

取同一批样品(20060501)分别制备 5 份供试品溶液, 精密吸取 10 μL, 进样, 测定峰面积积分值, 并计算含量。原儿茶酸、原儿茶醛、酪醇含量平均值分别为 0.094 5 mg·g⁻¹(RSD 为 3.62%)、0.005 5 mg·g⁻¹(RSD 为 4.10%)、0.340 1 mg·g⁻¹(RSD 为 4.56%)。结果表明, 该法重复性良好。

2.7 稳定性试验

取供试品溶液在 0, 4, 8, 12, 20, 24 h 分别进样 10 μL, 测定样品中原儿茶酸、原儿茶醛、酪醇峰面积积分值, RSD 值分别为 2.07%, 2.33%, 1.24%。结果表明, 供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.8 回收率试验

精密称取已知含量的紫丁香叶粉末(20060501)6 份, 精密加入原儿茶酸、原儿茶醛、酪醇混合对照品溶液适量, 进样测定, 分别计算回收率。结果见表 1。

表 1 回收率试验结果(n=6)

Tab 1 Results of recovery test(n=6)

测定成分	样品量/g	样品含量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
原儿茶酸	0.501 4	0.047 38	0.086 70	98.3	97.9	1.61
	0.503 8	0.047 61	0.086 65	97.6		
	0.507 3	0.047 94	0.087 50	98.9		
	0.501 3	0.047 37	0.087 41	100.1		
	0.501 6	0.047 40	0.086 00	96.5		
	0.502 9	0.047 52	0.085 84	95.8		
原儿茶醛	0.501 4	0.002 758	0.007 673	98.3	98.4	1.71
	0.503 8	0.002 771	0.007 666	97.9		
	0.507 3	0.002 790	0.007 855	101.3		
	0.501 3	0.002 757	0.007 717	99.2		
	0.501 6	0.002 759	0.007 634	97.5		
	0.502 9	0.002 766	0.007 586	96.4		
酪醇	0.501 4	0.170 5	0.373 2	96.5	96.8	1.68
	0.503 8	0.171 3	0.372 3	95.7		
	0.507 3	0.172 5	0.372 2	95.1		
	0.501 3	0.170 5	0.380 1	99.8		
	0.501 6	0.170 6	0.374 1	96.9		
	0.502 9	0.171 0	0.374 3	96.8		

注:加入原儿茶酸均为 0.04 mg、原儿茶醛均为 0.005 mg、酪醇均为 0.21 mg
Note: The added amount of protocatechuic acid was 0.04 mg, protocatechuic aldehyde was 0.005 mg, tyrosol was 0.21 mg

2.9 样品测定

取紫丁香叶细粉,按“2.2”项下方法制备。精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL,进样测定,以外标法计算含量。结果见表 2。

表 2 紫丁香叶中原儿茶酸、原儿茶醛、酪醇含量测定结果(n=3)

Tab 2 Contents of protocatechuic acid, protocatechuic aldehyde, tyrosol in samples of different collection seasons(n=3)

采收时间	原儿茶酸含量/mg·g ⁻¹	原儿茶醛含量/mg·g ⁻¹	酪醇含量/mg·g ⁻¹	三者总量/mg·g ⁻¹
20060401	0.054 0	0.007 2	0.548 9	0.610 1
20060402	0.053 8	0.007 5	0.541 7	0.603 0
20060403	0.052 9	0.006 9	0.549 6	0.609 4
20060501	0.094 5	0.005 5	0.340 1	0.440 1
20060502	0.089 6	0.004 8	0.361 2	0.455 6
20060503	0.090 3	0.005 1	0.330 8	0.426 2
20060601	0.051 9	0.003 8	0.220 6	0.276 3
20060602	0.075 1	0.004 4	0.216 7	0.296 2
20060603	0.059 3	0.002 3	0.229 0	0.290 6
20060701	0.017 7	0.001 9	0.127 6	0.147 2
20060702	0.021 9	-	0.118 9	0.140 8
20060703	0.019 6	-	0.130 7	0.150 3
20060801	-	-	0.181 0	0.181 0
20060802	-	-	0.186 8	0.186 8
20060803	-	-	0.170 1	0.170 1
20060901	0.004 3	-	0.090 9	0.095 2
20060902	0.005 4	-	0.101 9	0.107 3
20060903	0.006 1	0.002 1	0.109 7	0.117 9
20061001	0.104 5	0.004 0	0.246 2	0.354 7
20061002	0.107 7	0.003 1	0.240 3	0.351 1
20061003	0.097 5	0.002 8	0.252 9	0.353 2
20061101	0.006 3	0.004 2	0.124 9	0.135 4
20061102	0.005 6	0.004 8	0.123 0	0.133 4
20061103	0.006 0	0.003 9	0.130 7	0.140 6

注: -表示未测到该成份

Note: -not detected

3 讨论

试验参考丁香叶制剂炎立消胶囊质量标准含量测定项下供试液的制备,选择 70%乙醇为提取溶剂^[5],考察了连续回流提取 6 h 和超声提取 20, 30, 40 min,结果以 70%乙醇超声处理 30 min 最为理想。试验也曾考察了参考文献[6-10]报道的多种流动相,原儿茶醛和酪醇都未达到基线分离,选用甲醇-0.125%冰醋酸水溶液(10:90)后,3 个测定成分均达到基线分离,且峰形较好。原儿茶酸、原儿茶醛、酪醇的最大吸收波长分别为 260, 280 和 275 nm,综合考虑 3 者的响应值,选择 275 nm 为检测波长。

紫丁香叶中原儿茶酸、原儿茶醛在 4~6 月初长出时含量较高,7~9 月的含量逐渐降低(原儿茶酸在 8 月未检测到,原儿茶醛在 7~9 月均未检测到),10~11 月又逐渐升高,原儿茶酸在 10 月含量增至最高。酪醇在 4 月初长出时含量最高,5~9 月逐渐降低,10~11 月又呈现升高趋势。本试验测定结果与民间紫丁香叶于秋季叶脱落前或春末叶长齐前后采集的结论基本一致。虽然 4、5 月 3 种活性成分的含量均较高,但考虑到此时采收不仅叶片较小,也会影响植物的正常生长,综合考虑 10 月仍是最适宜的采收期,这也与文献报道[3-4]的结论相同。本试验采用 RP-HPLC 同时测定紫丁香叶中原儿茶酸、原儿茶醛、酪醇多种活性成分的含量,方法灵敏度高,重复性和稳定性良好,测定简便、快速,结果准确,丰富了紫丁香叶采收及其质量控制的参考依据。

REFERENCES

[1] WANG D D, LIU S Q, CHEN Y J, et al. Studies on active chemical constituents of Syringa oblata [J]. Acta Pharm Sin (药 学学报), 1982, 17(12): 951-953.
[2] LI Y J, WANG Y H, LU S W, et al. Advance in application and research of Syringa oblata leaves [J]. Inf Tradit Chin Med (中医药信息), 2003, 20(1): 22-24.
[3] WANG D, FAN Z W, ZHONG Y Q, et al. Studies on collection time of Syringa oblata leaves [J]. J Chin Med Pharmacol(中医药学报), 1991, 3(2): 44-45.
[4] LI Y J, WANG Y H, LU S W, et al. Variations of Syringopicroside in Syringa oblata leaves in different growth periods [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2005, 30(20): 1624-1625.
[5] Drug Specifications Promulgated by the Ministry of Public Health, PR China Vol 20(卫生部药品标准中药成方制剂第二十册) [S]. 1998: 176
[6] ZHANG S R, PEI X P, PEI M R. Determination of Protocatechuic acid in Syringa oblata leaves by HPLC [J].

- China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2006, 3(7): 602-603.
- [7] HU X W, ZHAO Q W. Determination of protocathechuic acid, protocathechuic aldehyde in Fen Han Gan Mao Ning granules by RP-HPLC[J].Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2002, 19(1): 53-56.
- [8] TANG H, FENG S l, GE B, et al. Determination of protocathechuic acid and protocathechuic aldehyde in Shuruxiaotong oral liquid by RP-HPLC[J]. Chin Hosp Pharm J(中国医院药学杂志), 2004, 24(10): 623-624.
- [9] WANG Z P, YANG K, MENG X P, et al. Determination of protocathechuic acid and protocathechuic aldehyde in Blumea riparia by RP-HPLC [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2005, 28(5): 393-394.
- [10] WANG X H, TIAN C. Determination of protocathechuic aldehyde in YAN LI XIAO tablet by HPLC [J]. Chin Rem Clin(中国药物与临床), 2003, 3(5): 435.

收稿日期: 2008-07-29