

## 九香止泻片中总鞣质的测定

赵碧清, 何群, 彭芝配\*, 滕久祥, 姜宇

湖南中医药大学 中药现代化实验室, 湖南 长沙 410208

**摘要:** 目的 建立九香止泻片中总鞣质的定量测定方法。方法 用干酪素法测定九香止泻片中总鞣质。测定条件为: 以水超声提取 30 min, 干酪素用量 800 mg, 29%碳酸钠溶液显色 30 min 后测定。结果 线性回归方程为  $A=102.65 C+0.0263$ ,  $r=0.9995$ , 鞣酸在 1.0~10.0  $\mu\text{g/mL}$  线性关系良好, 平均回收率为 96.58%, RSD 值为 0.615% ( $n=6$ )。结论 该分析方法简便、准确、可靠, 可用于测定九香止泻片中总鞣质。

**关键词:** 九香止泻片; 鞣质; 干酪素法; 分光光度法; 定量

**中图分类号:** R927.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2011)06-0445-03

## Determination of total tannins in Jiuxiang Zhixie Tablets

ZHAO Bi-qing, HE Qun, PENG Zhi-pei, TENG Jiu-xiang, Jiang Yu

Key Laboratory of Modernization of Chinese Medicine, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, China

**Abstract: Objective** To establish a stable method for determination of total tannins in Jiuxiang Zhixie Tablets. **Methods** The casein method was used to determine the content of total tannins of Jiuxiang Zhixie Tablets. The conditions of determination is: Supersonic withdraws 30 min by water, used casein 800 mg, coloration in 29% the  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  30 min. **Results** The linearity range was 1.0—10.0  $\mu\text{g/mL}$ ,  $r=0.9995$ . The average recovery was 96.58% with RSD of 0.615% ( $n=6$ ). **Conclusion** The method is reliable and could be used to determine the total tannins of Jiuxiang Zhixie Tablets.

**Key words:** Jiuxiang Zhixie Tablets; tannins; casein method; spectrophotometry; quantitative determination

九香止泻片来源于湖南中医药大学著名中医内科专家滕久祥教授研制的治疗湿热泄泻的临床经验方, 由秦皮、木香等 4 味中药组成, 具有良好的行气止痛、健脾消食之功效, 多用于腹脘胀痛、泻痢后重、食积不消等症<sup>[1]</sup>。处方中秦皮等药材中含有的鞣质能凝固微生物体内原生质和对酶发生作用, 抑制细菌和病毒的生长, 表现出抑菌、抗病毒的药理活性<sup>[2-4]</sup>。目前鞣质的定量测定方法主要有干酪素法和络合滴定法, 本实验采用《中国药典》中收载的干酪素法<sup>[5]</sup>建立了九香止泻片中总鞣质的测定方法, 为该制剂的质量控制提供了依据。

### 1 仪器与试剂

UV-9200 型紫外可见分光光度计 (北京瑞利分析仪器公司); SHZ-D (II) 型循环水式真空泵 (巩义市英峪予华仪器厂); SK3300H 型超声仪 (上

海科导超声仪器有限公司); 九香止泻片 (批号 070108、070109、070110, 为湖南中医药大学药学院药剂实验室自制), 没食子酸对照品 (中国食品药品检定研究院, 批号 110831-200302); 干酪素 (化学纯, 上海试一化学试剂有限公司, 批号 090603); 干酪素 (生化试剂, Sigma C5890, 批号 043k0081); 其他试剂均为分析纯, 水为蒸馏水。

### 2 方法与结果

#### 2.1 测定波长的选择

根据《中国药典》2010 年版所收载的干酪素法测定鞣质的方法, 可确定没食子酸对照品、总酚和不被吸附的酚比色液, 在 760 nm 处均有吸收, 故确定测定波长为 760 nm。

#### 2.2 对照品溶液的制备

精密称取没食子酸对照品 25 mg, 置 100 mL 棕

收稿日期: 2011-07-28

基金项目: 湖南省教育厅重点项目 (05A0312)

作者简介: 赵碧清 (1972—), 女, 湖南常德人, 副教授, 研究方向为中药新药制备工艺与质量标准。Tel: (0731) 8458232 Fax: (0731) 8458227

E-mail: qingerhn@126.com

\*通讯作者 彭芝配 Tel: (0731) 85381088 E-mail: pengzhipei805@126.com

色量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,精密量取 5 mL,置 50 mL 棕色量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,即得 0.025 mg/mL 没食子酸对照品溶液。

### 2.3 标准曲线的制备

精密量取对照品溶液 0.5、2.0、3.0、4.0、5.0 mL,分别置 25 mL 棕色量瓶中,各加入磷钼钨酸试液 1 mL,再分别加水 11.5、10、9、8、7 mL,用 29% 碳酸钠溶液稀释至刻度,摇匀,放置 30 min,以相应的试剂为空白,照紫外-可见分光光度法,在 760 nm 处测定吸收度 ( $A$ ) 值。以  $A$  值为纵坐标,质量浓度 ( $C$ ) 为横坐标,得回归方程为  $A=102.65 C+0.0263$ ,  $r=0.9995$ ,表明没食子酸在 0.5~5  $\mu\text{g/mL}$  有良好的线性关系。

### 2.4 干酪素的考察

**2.4.1 空白实验** 分别精密称取干酪素(批号 043k0081、090603)各 800 mg,置 250 mL 锥形瓶中,分别加入蒸馏水 25 mL,置 30  $^{\circ}\text{C}$  水浴中恒温 1 h,时时振摇,取出,放冷,摇匀,滤过,弃去初滤液,精密量取续滤液 2 mL,置 25 mL 棕色量瓶中,加入磷钼钨酸 1 mL,再加水 10 mL,用 29% 碳酸钠溶液稀释至刻度,摇匀,放置 30 min,依法测定  $A$  值。结果表明干酪素水浸出液中含有干扰性物质;不同厂家生产的干酪素,干扰物质的量具有显著差异。故“不被吸附的多酚”测定中,应使用同厂家同批次的干酪素。故在本次试验中,采用 Sigma C5890 批号 043k0081 的干酪素。

**2.4.2 用量的选择** 精密移取“2.3”项下样品溶液,加不同用量干酪素,加入磷钼钨酸 1 mL,再加水 10 mL,用 29% 碳酸钠溶液稀释至刻度,摇匀,放置 30 min,依法测定  $A$  值。实验结果表明,加入 800 mg 干酪素测定鞣质的量较稳定,故干酪素的用量选择为 800 mg。

### 2.5 样品中鞣质的测定

**2.5.1 供试品溶液的制备** 取九香止泻片(去薄膜衣),粉碎,过 3 号筛,取 1.00 g,精密称定,置 250 mL 棕色量瓶中,加水 150 mL,超声 30 min,放冷,加水稀释至刻度,摇匀,静置(使固体沉淀),滤过,弃去初滤液 50 mL,精密量取续滤液 20 mL,置 100 mL 棕色量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

**2.5.2 总酚测定** 精密量取供试品溶液 2 mL,置 25 mL 棕色量瓶中,加入磷钼钨酸 1 mL,加水 10 mL,用 29% 碳酸钠溶液稀释至刻度,摇匀,放置

30 min,依法测定  $A$  值,利用标准曲线计算出供试品溶液中以没食子酸计总酚的量。

**2.5.3 不被吸附的多酚测定** 取供试品溶液 25 mL,加至已盛有 800 mg 干酪素的 250 mL 具塞量瓶中,密塞,置 30  $^{\circ}\text{C}$  水浴中恒温 1 h,时时振摇,取出,放冷,摇匀,滤过,弃去初滤液,精密量取续滤液 2 mL,置 25 mL 棕色量瓶中,加入磷钼钨酸试液 1 mL,再加水 10 mL,用 29% 碳酸钠溶液稀释至刻度,摇匀,放置 30 min,依法测定  $A$  值,利用标准曲线计算出供试品溶液中以没食子酸计不被吸附的多酚的量。

鞣质的量=总酚的量-不被吸附的多酚的量

### 2.6 稳定性考察

取供试品(批号 070110)溶液,按“2.5”项下方法操作,分别于 0、1、2、3、4、5 h 测定鞣质的量,结果显示,5 h 内鞣质平均量为 1.26%,RSD 值为 1.66%,表明数据之间的变异在操作误差范围内,由此可知,供试液中鞣质测定应在 5 h 内完成。

### 2.7 重现性考察

分别称取同一批号(批号 070110)的样品细粉 1.00 g,精密称定,共 6 份,按 2.5 项下操作,测得九香止泻片中总鞣质的量为 1.27%,RSD 为 1.89%。

### 2.8 加样回收率试验

称取批号 070110 的样品细粉 1.0 g,共 6 份,精密称定,分别精密加入没食子酸 13.0 mg,按“2.5”项下方法操作,并计算回收率。结果平均回收率为 96.58%,RSD 为 0.62%。

### 2.9 样品测定

取 3 批九香止泻片(批号 070108、070109、070110),分别按“2.5”项下方法测定,结果总鞣质的质量分数分别为 1.29%、1.23%、1.28% ( $n=3$ )。

## 3 讨论

干酪素法(《中国药典》2010 年版一部附录 XB)所采用鞣质吸附剂——干酪素中含有干扰试验的物质,明显影响“不被吸附的多酚”的定量测定,由于《中国药典》2010 年版规定方法中,未进行干酪素空白对照试验,未扣除干酪素空白吸收值,故样品鞣质测定量明显偏低,不能准确反映鞣质的实际量。本研究结果表明,鞣质量按公式计算:鞣质量=总酚量-(过干酪素后不被吸附的多酚量-干酪素空白试验多酚量),结果较为准确,更能真实反映供试品中鞣质的量。

不同厂家及批号的干酪素,空白对照试验值有

明显差异,测定中应用同一批次的干酪素。干酪素(批号 090603)水溶液显色后颜色过深,严重影响试验精密度。干酪素(批号 043k0081)水溶液吸收值较小,对试验影响较小。

本试验未对提取鞣质的溶剂与时间进行考察,仅参考《中国药典》中单味药的操作时间而已,本方4味药提取时间30 min是否合适有待考察。

#### 参考文献

- [1] 高学敏. 中药学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2005.
- [2] 徐勤. 鞣质的研究进展 [J]. 华夏医学, 2004, 17(1): 113-115.
- [3] 张金慧, 彭芝配, 滕久祥, 等. 九香止泻片体外抑菌作
- 用的实验研究 [J]. 湖南中医药大学学报, 2008, 28(6): 35-37.
- [4] 彭芝配, 滕久祥, 张金慧, 等. 九香止泻片对小鼠体内抑菌作用的实验研究 [J]. 湖南中医药大学学报, 2009, 29(5): 32-34.
- [5] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [6] 王坤, 鲁静. 中药材中鞣质含量测定方法的研究 [J]. 中国药事, 2004, 18(6): 361-364.
- [7] 何群, 赵碧清, 滕久祥, 等. 九香止泻方喷雾和减压干燥品中有效成分比较 [J]. 中草药, 2011, 42(8): 1550-1553.
- [8] 李为, 滕久祥, 彭芝配, 等. 九香止泻肠溶片治疗湿热型急性感染性腹泻临床研究 [J]. 湖南中医药大学学报, 2008, 28(2): 48-50.

## 欢迎订阅 *Chinese Herbal Medicines* (CHM, 中草药英文版)

我国第一份中药专业的英文期刊——*Chinese Herbal Medicines* (CHM, 中草药英文版) 经国家新闻出版总署批准, 国内统一连续出版号为 CN12—1410/R, 已于2009年10月正式创刊。

CHM 由天津药物研究院和中国医学科学院药用植物研究所主办, 天津中草药杂志社出版。中国工程院院士、中国医学科学院药用植物研究所名誉所长肖培根教授担任主编; 中国工程院院士、天津药物研究院刘昌孝研究员, 天津药物研究院院长汤立达研究员, 中国医学科学院药用植物研究所所长陈士林研究员共同担任副主编; 天津药物研究院医药信息中心主任、《中草药》杂志执行主编陈常青研究员担任编辑部主任。

**办刊宗旨** 以高起点、国际化为特点, 继承和发扬祖国医药学遗产, 报道和反映中草药研究最新进展, 宣扬我国中草药的传统特色, 加强与世界各国在传统药物研究的经验交流, 在中医和西医、传统与现代、东方与西方之间架起一座理解和沟通的桥梁, 促进中药现代化、国际化。

**主要栏目** 综述与述评、论著、快报、简报、文摘、信息和国际动态、人物介绍、来信、书评等栏目。

**读者对象** 国内外从事中医药研究、管理、监督、检验和临床的专业技术人员。

CHM 邀请相关领域的院士和国内外知名专家加盟, 组建一支国际化、高水平、精干的编委会队伍(第一届编辑委员会由49位专家组成, 其中院士10名, 国外编委19名)。吸引国内外高质量的稿件, 提高期刊的学术质量; 坚持按照国际标准编排, 加强刊物规范化和标准化, 充分利用计算机、网络技术和英语, 加强与国际知名科技期刊的交流合作; 充分发挥中医药特色, 争取在较短时间内进入国际最著名的检索系统——美国科学引文索引(SCI), 把CHM办成国际知名期刊之一。

欢迎投稿(在线投稿 [www.tiprpress.com](http://www.tiprpress.com)), 欢迎订阅! 本刊自办发行, 订阅直接与编辑部联系!

地址: 天津市南开区鞍山西道308号(300193) 网址: <http://www.tiprpress.com>

E-mail: [chm@tiprpress.com](mailto:chm@tiprpress.com)

Tel: 022-23006901, 23006821 (Fax)