

分光光度法测定杜虹花中鞣质的含量

唐 帆

(南华大学附属第一医院药剂科, 湖南 衡阳 421001)

摘要: **目的** 建立杜虹花中鞣质含量测定的方法。 **方法** 采用分光光度法测定杜虹花中鞣质含量。室温浸提过夜提取鞣质, 磷钼钨酸试液显色后, 于 760 nm 测定供试品溶液中总酚和不被吸附多酚的吸光值, 以吸光值之差用标准曲线法求得鞣质含量。 **结果** 本法线性关系良好($r=0.9985$), 精密度和重复性均较好, 其 RSD 分别为 0.46% 和 2.04%。回收率在 91.16% ~ 95.84% 之间, RSD 为 1.74%。 **结论** 分光光度法简单、准确, 可用于杜虹花中鞣质含量的测定。

关键词: 杜虹花; 鞣质; 分光光度法; 磷钼钨酸

中图分类号: R927.2 **文献标识码:** A

Determination of Tannin in Callicarpa Formosana Rolfe by UV Spectrophotometric Method

TANG Fan

(Department of Pharmacy, the First Affiliated Hospital, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

Abstract: **Objective** To establish a determination of Tannin in Callicarpa formosana Rolfe. **Method** Determine Tannin in Beautyberry by UV spectrophotometric method. Tannin were extracted by soaking at room temperature after staying overnight, colored by phosphomolybdic acid. Absorbency of total phenolics and polyphenols which haven't been adsorbed were determined respectively at 760nm. Contents of tannin was detected by standard curve method with the difference of the absorbency. **Result** The method shows good linearity($r=0.9985$), the RSD of precision and repeatability was respectively 0.46% and 2.04%. The recovery was in the range of 91.16% ~ 95.84%. **Conclusion** The method is simple and accurate. It can be used to determine tannin in Callicarpa formosana Rolfe.

Key words: callicarpa formosana rolf; tannin; spectrophotometric method; phosphomolybdic acid

杜虹花为马鞭草科紫珠属植物, 是国内南方地区习用药, 别名粗糠仔、老蟹眼等^[1], 其入药部位为叶, 也有以根、茎入药, 味苦, 性辛、温, 具有散瘀消肿、止血镇痛、祛痰止咳的功效, 民间常用来治疗咳血、吐血、鼻出血、创伤出血等出血症, 此外还可用于治疗风湿痛、扭挫伤、喉炎、结膜炎等^[2-4]。

鞣质是存在于植物体内的一类结构比较复杂的多元酚类化合物^[5]。鞣质具有收敛性, 内服可用于治疗胃肠道出血、溃疡和水泻等症; 外用于创伤、灼

伤, 可使创伤后渗出物中蛋白质凝固, 形成痂膜, 可减少分泌和防止感染, 此外还能使创面微血管收缩, 有局部止血作用^[6-7]。有研究对杜虹花挥发油成分测定进行了报道^[8], 但未对其鞣质含量测定有研究, 因此本文参照鞣质常用测定方法对杜虹花叶中鞣质的含量检测进行研究^[9]。

1 材料与方法

1.1 材料

紫外-可见分光光度计(TU-1901, 北京普析通用仪器有限责任公司); 真空干燥箱(D2F-6030A 型, 上海一恒科学仪器有限公司); 电子分析天平(Mett-

ler Toledo AL204, 瑞士梅特勒公司)。没食子酸对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110831-200302)。干酪素(北京化学试剂公司, 批号 9005-46-3)。杜虹花药材采至广东, 经湖南中医药大学中药鉴定教研室鉴定。所有试剂均为分析纯。

1.2 分光光度法

1.2.1 对照品溶液的制备 精密称取没食子酸对照品 54.1 mg, 置 100 mL 棕色量瓶中, 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。

1.2.2 供试品溶液的制备 取杜虹花药材粉末约 1 g, 精密称定, 置 250 mL 棕色量瓶中, 加水 150 mL 放置过夜, 超声 10 min 后用水稀释至刻度, 摇匀, 再稀释 5 倍, 作为供试品溶液。

2 结 果

2.1 标准曲线的制备

精确量取对照品溶液 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 和 5.0 mL, 分别置于 25 mL 棕色量瓶中, 各加入磷钼钨酸试液 1 mL, 再分别加入水 11.5、11.0、10.0、9.0、8.0 和 7.0 mL, 用 27% Na₂CO₃ 溶液稀释至刻度, 摇匀, 放置 30 min, 于 760 nm 处测定吸光度, 以吸光度为纵坐标, 质量为横坐标, 绘制标准曲线。计算得回归方程为 $Y = 0.178\ 46X - 0.097\ 91$, 相关系数 $r = 0.998\ 5$ 。结果表明, 杜虹花总鞣质在 27.05 ~ 270.50 μg 具有良好的线性范围。

2.2 鞣质含量测定结果

总酚: 精密量取供试品溶液 2 mL, 置 25 mL 棕色量瓶中, 照标准曲线制备项下的方法, 自“加入磷钼钨酸试液 1 mL”起, 加水 10 mL, 依法测定吸光度, 从标准曲线中读出供试品中没食子酸的量(μg), 计算, 即得。

不被吸附的多酚: 精密量取供试品溶液和空白溶液 25 mL, 分别加至已盛干酪素 0.6 g 的 100 mL 具塞锥形瓶中, 密塞, 置 30 ℃ 水浴中保温 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, 依法测定吸光度, 照标准曲线中读出供试品溶液中没食子酸的量(μg), 计算, 即得。

按下式计算鞣质的含量:

鞣质含量 = 总酚量 - 不被吸附的多酚量

2.3 精密度试验结果

精确量取没食子酸对照品溶液 2.0 mL, 按 2.2 项的方法进行测定。连续测定 6 次, 吸光度值分别为 0.818、0.822、0.819、0.821、0.815、0.826, 精密度值以其相对标准偏差 RSD 来估计, RSD 为 0.46%。

2.4 稳定性试验结果

精密吸取供试品溶液 2.0 mL, 按 2.2 项的方法进行测定, 分别在 15、30、45、60、90、120、240、360 min 测定含量, 分别为 12.64%、12.59%、12.48%、12.36%、12.25%、12.03%、11.89% 和 11.62%。结果表明, 样品在 6 h 内吸光度值随时间变化逐渐变小, 在 15 ~ 30 min 内测定为佳。

2.5 重复性试验结果

称取杜虹花药材共 6 份, 按供试品溶液法操作, 按 2.2 项的方法进行测定, 测得杜虹花药材中鞣质含量分别为 12.64%、11.97%、12.38%、12.06%、11.85% 和 12.35%, 重复性以其 RSD 来估计, RSD 为 2.04%。

2.6 回收率试验结果

精密称取已知含量的杜虹花药材 9 份, 分别加入对照品适量, 按供试品溶液法操作, 各份按 2.2 项的方法进行测定, 回收率为 93.47% ± 1.74% (表 1)。

表 1 加样回收率测定结果 (n = 9)

编号	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)
1	2.10375	1.66736	3.658563	93.25
2	2.10375	1.66736	3.680739	94.58
3	2.10375	1.66736	3.623715	91.16
4	2.10375	2.10872	4.027324	91.22
5	2.10375	2.10872	4.124747	95.84
6	2.10375	2.10872	4.054949	92.53
7	2.10375	2.50104	4.441472	93.47
8	2.10375	2.50104	4.455978	94.05
9	2.10375	2.50104	4.482489	95.11

2.7 样品测定结果

照供试品溶液制备项及含量测定项所述, 对 3 批杜虹花药材中总鞣质含量进行了测定, 结果分别为 13.89%、13.98% 和 13.60%。

3 讨 论

3.1 测定波长的选择

将对照品、总酚和不被吸附的多酚比色液, 分别

在 400 ~ 900 nm 进行扫描,结果表明 3 种比色液均在 760 nm 有最大吸收。

3.2 Na_2CO_3 浓度的选择

取本品 1.0 g,精密称定,按照 2.3 项进行处理,再按照 2.2 项进行显色,分别加入 20%、25%、26%、27%、28% 和 29% Na_2CO_3 ,测定样品鞣质浓度。实验结果表明以 27% Na_2CO_3 溶液吸光度最大。

3.3 干酪素用量的比较

取本品 1.0 g,精密称定,按照 2.3 项进行处理,再按照 2.2 项进行显色,分别加入 0.15、0.30、0.45、0.60、0.75 或 0.90 g 干酪素,测定样品鞣质浓度。实验结果表明加入 0.6 g 干酪素可基本反应完全。

3.4 提取方法的考察

取本品 1.0 g,精密称定,共 4 份,分别加水 150 mL,其中 1 份室温浸提过夜后超声 10 min,1 份仅超声 10 min,1 份仅室温浸提过夜,另 1 份加热回流 10 min,冷却后分别置 250 mL 的容量瓶中定容,再按照 2.2 项进行显色,测定样品鞣质浓度。实验结果表明以室温浸提过夜再超声 10 min 提取最完全。

3.5 提取溶剂的考察

取本品 1.0 g,精密称定,共 3 份,分别置 250 mL 的容量瓶中,加水、甲醇、95% 乙醇 150 mL,浸提 12 h,超声 10 min,冷却后定容,再按照 2.2 项进行显色,测定样品鞣质浓度。实验结果表明以水为溶剂提取最完全。

3.6 提取时间的考察

取本品 1.0 g,精密称定,共 4 份,分别置 250 mL 的容量瓶中,加水 150 mL 浸提过夜,分别超声 10、20、30、40 min,冷却后定容,再按照 2.2 项进行显色,测定样品鞣质浓度。实验结果表明超声时间对鞣质的提取无大的影响,故选定超声 10 min。

综上所述,分光光度法定量专属性好,通过精密度、稳定性、重复性和回收率试验考察,结果表明该方法稳定、准确,可作为杜虹花提取物的质量控制指标。试验所使用干酪素含有干扰试验的物质,明显影响“不被吸附的多酚”的含量测定,不同生产厂家及批号的干酪素,其空白对照试验值有明显差异,故测定中应使用纯度较高的同批次的干酪素。中国药典 2010 年版规定方法中,未进行干酪素空白对照试验^[10],故样品鞣质含量测定结果偏低,不能准确反应鞣质实际含量,故本试验应扣除干酪素空白试验值。

参考文献:

- [1] 王玉梅,王飞,肖怀.杜虹花的化学成分研究[J].大理学院学报,2010,9(6):1-2.
- [2] 裴鉴,陈守良,方文哲.中国植物志/65 卷[M].北京:科学出版社,2004:43-44.
- [3] Takai, Jin D, Kirimura, et al. Effects of a lipoxigenase inhibitor, Panaxynol, on vascular contraction induced by angiotensin II [J]. Jpn J Pharmacol, 1999, 80(1): 89-92.
- [4] 刘一鹤,陈仁寿.紫珠的古今效用杂谈[J].吉林中医药,2011,31(2):167-169.
- [5] 仲浩,薛晓霞,姚庆强.鞣质分析研究进展[J].中成药,2002,3(24):217-219.
- [6] 邢晶晶,曹婷婷,杨帆,等.鞣质类化合物研究的进展情况[J].黑龙江医药,2011,24(5):776-782.
- [7] 杜国成.中药鞣质成分的药理作用探析[J].中国医药科学,2011,1(16):27-29.
- [8] 林朝展,祝晨蓀,张翠仙.杜虹花叶挥发油化学成分及抗氧化活性研究[J].热带亚热带植物学报,2009,17(4):401-405.
- [9] 王坤,鲁静.中药材中鞣质含量测定方法的研究[J].中国药事,2004,6(18):361-364.
- [10] 国家药典委员会.中国药典 2010 版(一部)[S].北京:化学工业出版社,2010:附录 XB.

(此文编辑:朱雯霞)