

## 鞣酸高乌甲素化合物的制备、表征及应用

王红, 张师, 樊丽岩, 董同力嘎, 靳焯, 孙文秀\*

(内蒙古农业大学 食品科学与工程学院, 呼和浩特 010018)

**[摘要]** **目的:**制备鞣酸高乌甲素化合物,考察该化合物的理化性质并进行评价。**方法:**利用鞣酸对生物碱的沉降作用制备鞣酸高乌甲素,采用差示扫描量热法、紫外光谱、傅里叶红外光谱对该化合物进行鉴定。通过紫外分光光度法确定高乌甲素和鞣酸的摩尔比,在模拟人工胃液、小肠和结肠液环境中测定化合物对等量蛋白质的沉降能力。在考察该化合物对血液凝结能力的基础上,建立体表创伤模型测定该化合物对Wistar大鼠的伤口愈合能力。**结果:**鞣酸与高乌甲素按摩尔比1:1形成新化合物。在人工胃液、小肠和结肠液环境中,鞣酸高乌甲素化合物对等量蛋白的沉降量分别为0.63,0.46,0.92 mg。化合物组对伤口愈合能力极显著高于空白组,鞣酸阳性组也具有伤口愈合能力,但效果不及新化合物组。**结论:**高乌甲素与鞣酸通过氢键作用形成了新化合物。该药物在弱碱性环境中通过沉降血液中蛋白而达到凝集血液效果,可促进伤口愈合、止血、消炎,提高了药物的生物应用价值。

**[关键词]** 鞣酸;高乌甲素;蛋白质沉淀;体表创伤

**[中图分类号]** R283.6;R284.1;R285.5;R945 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)15-0026-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015150026

**Preparation, Characterization and Application of Tannin Lappaconitine Compound** WANG Hong, ZHANG Shi, FAN Li-yan, DONG Tungalag, JIN Ye, SUN Wen-xiu\* (College of Food Science and Engineering, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China)

**[Abstract]** **Objective:** To prepare tannin lappaconitine compound, investigate its physicochemical properties and make an evaluation. **Method:** Tannin was used to deposit alkaloids for preparing tannin lappaconitine compound, which was identified by differential scanning calorimetry (DSC), ultraviolet spectrum (UV) and Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR). The molar ratio between lappaconitine and tannin was determined by UV. The compound's sedimentation capacity in equal amount of proteins was determined in simulated artificial gastric juice, small intestine and colon fluid environments. On the basis of the compound's blood coagulation capacity, surface wound model was established to determine the compound's healing capability in Wistar rats. **Result:** Lappaconitine and tannin formed a new compound with the molar ratio of 1:1. In simulated artificial gastric juice, small intestine and colon fluid environments, tannin lappaconitine compound's sedimentation capacity with equal amount of proteins were 0.63, 0.46, 0.92 mg, respectively. In terms of the wound healing capacity, the compound group was significantly higher than the control group and even superior to the positive tannin group. **Conclusion:** Lappaconitine and tannin form a type of new compound through the hydrogen bonding interaction. This compound can achieve blood coagulation effect through sedimentation of proteins in blood, and promote wound healing, hemostasis, anti-inflammatory analgesic effects by increasing its biological value.

**[Key words]** tannin; lappaconitine; protein sedimentation; surface wound

高乌甲素( $C_{32}H_{44}N_2O_8$ )是从毛茛科植物高乌头 *Aconitum sinomontanum* 根中提取的一种二萜类生物

碱,具有优良的非成瘾镇痛性能<sup>[1-6]</sup>。该物质衍生物的镇痛强度是氨基比林的7倍,而且维持时间长、

**[收稿日期]** 20141028(014)

**[基金项目]** 内蒙古自治区自然科学基金项目(2011BS1203);内蒙古农业大学博士基金项目;内蒙古农业大学博士后基金项目

**[第一作者]** 王红,在读硕士,从事天然产物研究,Tel:18247135350,E-mail:wanghong\_221@126.com

**[通讯作者]** \*孙文秀,博士,副教授,从事天然产物开发研究,Tel:0471-4301325,E-mail:swx122@126.com

无致畸突变作用,也不会发生继续中毒,对患者肝肾功能无影响<sup>[7]</sup>。此外,高乌甲素还具有抗心律失常、抗肿瘤作用,已被广泛用于治疗癌痛和术后镇痛<sup>[8-9]</sup>。近几年来,应用于临床中的主要是高乌甲素氢溴酸盐,关于高乌甲素的新化合物、新剂型目前开发较少。鞣酸广泛存在于植物界中,主要由葡萄糖上的羟基与没食子酸形成的酯类化合物,属于水解类鞣质<sup>[10]</sup>。大量临床试验证明,鞣酸可制止伤口中的过量分泌物及血浆渗出,减少局部疼痛,促进血液凝聚,并且防止细菌感染,同时对腹泻引起的肠道感染有良好抑菌效果<sup>[11-13]</sup>。鞣酸小檗碱<sup>[14]</sup>、鞣酸苦参碱<sup>[15]</sup>、鞣酸蛋白<sup>[16]</sup>的成功开发为本课题提供了借鉴,但这些化合物主要用于肠胃疾病,而针对表面创伤止血镇痛的药物应用研究较少。本实验期望能在高乌甲素镇痛作用的基础上扩大应用范围,利用鞣酸具有抗突变、抗癌<sup>[17]</sup>、抗氧化<sup>[18]</sup>、沉降蛋白的性质<sup>[19]</sup>,探寻高乌甲素这类新化合物的临床应用。

## 1 材料

TA-Q20 型差示扫描热量仪(美国 TA 公司), Affinity-1 型傅里叶变换红外光谱仪和 UV-2450 型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司), SC-3610 型低速离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司)。鞣酸(天津市大茂化学试剂厂),高乌甲素(自制,纯度 98%),牛血清白蛋白(美国 Amresco 公司,纯度 >98%),一次性枸橼酸钠抗凝管(血与抗凝剂比例 9:1),真空采血管(沧州富康医药有限公司),水为双蒸馏水,其他试剂均为市售分析纯。

SPF 级 Wistar 大鼠 18 只,雌雄各半,体重 300 ~ 500 g,8 周龄,购自内蒙古大学,合格证号 SCXK(蒙)2002-0001。

## 2 方法与结果

### 2.1 鞣酸高乌甲素化合物的制备

称取鞣酸 1 g,加水 100 mL 使完全溶解,加入高乌甲素 0.41 g,于(35 ± 0.5) °C 搅拌 30 min,得粗化合物。待沉淀后,弃去上清液,用三氯甲烷 100 mL 萃取 2 次,放入真空干燥箱内 35 °C 烘干 48 h,得成品。

### 2.2 不同测定方法对化合物的表征

#### 2.2.1 差示热量扫描法(DSC)

高乌甲素、鞣酸及二者化合物的起始温度 0 °C,终止温度分别为 247, 177, 177 °C,升温速率 10 °C · min<sup>-1</sup>,高纯度氮气(流速 50.0 mL · min<sup>-1</sup>)。精密称取高乌甲素、鞣酸、鞣酸高乌甲素化合物 6.6, 5.4, 5.4 mg 分别置于 3 个坩埚内,以空白坩埚作参比,按同等条件和程序等速升温,见图 1。结果显示鞣酸的熔融温度出现在

106 °C;高乌甲素的融化峰值出现在 230 °C,表明其熔点 230 °C;而化合物熔融温度峰相对鞣酸偏移 8 ~ 10 °C,故认为鞣酸与高乌甲素生成了新的化合物。

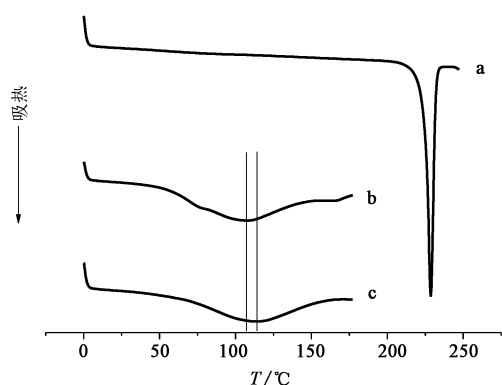


图 1 高乌甲素(a),鞣酸(b)及鞣酸高乌甲素化合物(c) DSC  
Fig. 1 DSC of lappaconitine (a), tannic (b) and tannin lappaconitine compound (c)

#### 2.2.2 紫外分光光度法(UV)

精密称取高乌甲素、鞣酸、鞣酸高乌甲素化合物 3.4, 10.0, 13.4 mg, 分别置于 50 mL 量瓶中,用无水乙醇溶解并稀释至刻度,得 3 种药物质量浓度均为 1.176 × 10<sup>-6</sup> mol · L<sup>-1</sup> 溶液,紫外吸收曲线见图 2。结果显示 3 种物质吸收峰位置有所不同。高乌甲素的波峰位于 252 nm 和 310 nm,鞣酸在 276 nm 处出现最大吸收峰,而在新化合物中高乌甲素波峰由 252 nm 红移至 262 nm,另一个波峰由 310 nm 蓝移至 300 nm,使化合物出现肩峰。可能是由于化合物含有生色团或助色团造成的紫外光区吸收波长红移引起的,但也可以判断有新化合物生成。

#### 2.2.3 傅里叶变换红外光谱(IR)

扫描范围 4 000 ~ 600 cm<sup>-1</sup>,扫描数 500 次。测定前将鞣酸、高乌甲素、鞣酸高乌甲素化合物和鞣酸高乌甲素物理混合物真空干燥,见图 3。结果显示新化合物中高乌甲素的羰基振动峰由 1 701 cm<sup>-1</sup> 蓝移至 1 711 cm<sup>-1</sup>,亚甲基波束由 2 927 cm<sup>-1</sup> 蓝移至 2 936 cm<sup>-1</sup>,除了位置存在缔合的酚羟基吸收外,邻位取代苯上的 C-H 振动峰由 764 cm<sup>-1</sup> 红移至 759 cm<sup>-1</sup>,可能是由于鞣酸溶于水后产生的羟基与高乌甲素中的羟基形成了氢键,氢键受体数量增多,同时非水溶性基团高乌甲素包裹沉淀了水溶性基团鞣酸,形成了难溶的新化合物。

#### 2.2.4 高乌甲素含量测定

精密称取干燥至恒重的高乌甲素 10 mg,置于 100 mL 量瓶中,加三氯甲烷溶解并定容,得储备液。精密吸取该储备液 50,

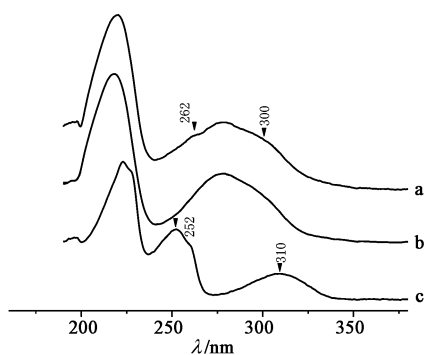


图 2 高乌甲素(c),鞣酸(b)及鞣酸高乌甲素化合物(a) UV  
Fig. 2 UV of lappaconitine (c), tannic (b) and tannin lappaconitine compound (a)

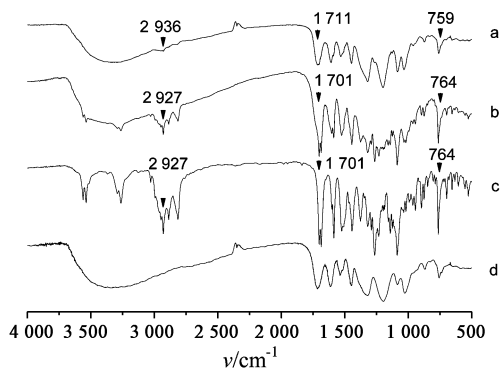


图 3 鞣酸高乌甲素化合物(a),物理混合物(b),高乌甲素(c)及鞣酸(d) IR  
Fig. 3 IR of tannin lappaconitine compound (a), physical mixture (b), lappaconitine (c) and tannic (d)

25, 12.5, 6.2, 3.1 mL, 分别置于 100 mL 量瓶中, 用三氯甲烷定容, 于 254.5 nm 处测定吸光度  $A$ 。以质量浓度 ( $C$ ) 为横坐标,  $A$  为纵坐标, 得回归方程  $A = 2.82 \times 10^{-2} C - 1.23 \times 10^{-2}$  ( $R^2 = 0.9995$ ), 线性范围 3.1 ~ 50  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。称取鞣酸高乌甲素化合物 10 mg, 加氨水调 pH 12.6, 将高乌甲素完全游离出来, 转入分液漏斗, 用三氯甲烷萃取 2 次并定容至 100 mL 量瓶中, 在 254.5 nm 处测定  $A$ , 计算高乌甲素质量分数 30.19%。鞣酸与高乌甲素摩尔比接近 1:1。

**2.2.5 稳定性考察** 将鞣酸高乌甲素化合物 0.6 mg 溶解在 pH 1.2 盐酸和 pH 6.8, 7.4 磷酸缓冲液中, 用相应试剂定容至 50 mL, 在 37 °C, 自然光条件下放置, 每 2 h 测定 1 次  $A$ , 连续测定 12 h。在 276 nm 处测定  $A$  的 RSD 分别为 0.9%, 1.4%, 1.7%。说明新化合物在不同 pH 环境中 12 h 内呈稳定状态。

### 2.3 鞣酸高乌甲素化合物对牛血清蛋白的影响

**2.3.1 沉淀现象** 精密称取化合物 10 mg, 分别溶

于 pH 6.8, 7.4 磷酸缓冲液中, 加入等量牛血清蛋白 (37 °C, 70  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ , 5 h), 次日观察化合物对蛋白质沉淀的现象。结果表明在 pH 6.8 的环境中蛋白沉淀现象明显并有不同程度的颜色变化。可能是由于化合物与氧气接触, 颜色明显变深。

**2.3.2 鞣酸高乌甲素标准曲线的建立** 精密称取鞣酸高乌甲素 12.5 mg, 加入 0.1  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐酸溶解并定容至 250 mL 量瓶中, 摇匀, 得储备液。精确吸取该储备液 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 mL, 分别置于 50 mL 量瓶中, 配成系列对照品溶液, 于 276 nm 处进行紫外扫描, 以  $C$  为横坐标,  $A$  为纵坐标。人工小肠、结肠液操作同上。得人工胃液、小肠及结肠液的回归方程分别为  $A = 2.76 \times 10^{-2} C + 1.43 \times 10^{-2}$  ( $R^2 = 0.9971$ ),  $A = 0.36 \times 10^{-2} C + 0.23 \times 10^{-2}$  ( $R^2 = 0.9901$ ),  $A = 0.56 \times 10^{-2} C - 0.11 \times 10^{-2}$  ( $R^2 = 0.9955$ ), 线性范围均为 6 ~ 18  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

**2.3.3 化合物对蛋白质沉淀的影响** 精确吸取 50  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  鞣酸高乌甲素盐酸饱和上清液 50 mL, 加入  $0.1 \times 10^{-3} \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  牛血清蛋白 5 mL, 放置摇床中 (37 °C, 70  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ ), 第 2 天取上清液采用紫外分光光度法于 276 nm 测定化合物质量浓度, 计算化合物的消耗量。人工小肠、结肠液同上操作。结果表明人工胃液、小肠和结肠液模拟环境中鞣酸高乌甲素化合物对等量蛋白的沉降量分别为 0.63, 0.46, 0.92 mg。因此, 在不同 pH 环境下化合物对蛋白的消耗量大小依次排序为人工小肠液 (pH 6.8) > 人工胃液 (pH 1.2) > 人工结肠液 (pH 7.4)。Martin 等<sup>[20]</sup> 提出鞣酸在 pH 6.8 弱碱性环境中可沉降蛋白。而该结果进一步说明了鞣酸高乌甲素化合物中的鞣酸在弱碱性条件下同样对蛋白质具有沉降能力作用。

**2.4 体外凝血试验** 用乙醚将健康雄性大鼠麻醉, 采用心脏采血方式, 每只抽血 2 mL 放入一次性枸橼酸钠抗凝管 (血与抗凝剂比例 9:1) 中, 轻轻混匀, 备用, 观察鞣酸高乌甲素组、阳性组 (鞣酸) 和空白组 (生理盐水) 对血液凝固时间的影响, 通过凝血板法、血浆复钙时间测定法对体外凝血方法进行评价。

**2.4.1 凝血板法** 采用 40  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  氯化钙溶液<sup>[21-22]</sup>。在凝血板坑内加入各药物 3 mg, 氯化钙溶液 1 mL, 用大头针混匀, 分别加入抗凝血液 0.5 mL 并迅速计时 ( $n=6$ ), 观察血液凝固情况。结果表明鞣酸高乌甲素组凝血时间 ( $4.87 \pm 1.09$ ) min, 较空白组的 ( $6.06 \pm 1.19$ ) min 缩短率达 19.64%, 且差异显著; 而阳性组 ( $7.27 \pm 0.58$ ) min 对大鼠凝血效

果不明显,凝血时间反而延长了 19.97%。

**2.4.2 血浆复钙时间法** 精确称量各药物 3 mg 碾碎,放入试管内,加入氯化钙溶液 0.1 mL,摇匀,同时放入抗凝血浆(37 ℃ 水浴锅内)0.5 mL,开始计时,每隔 30 s 倾斜试管 1 次进行观察( $n=6$ )。结果表明鞣酸高乌甲素组凝血时间( $3.14 \pm 0.67$ ) min,与空白组( $4.25 \pm 0.60$ ) min 比较差异极显著,凝血时间缩短率 26.12%;阳性组凝血时间( $4.08 \pm 0.71$ ) min,与空白组比较差异显著,凝血时间缩短率 4%。说明鞣酸高乌甲素组和鞣酸都具有凝血效果,但前者效果明显。

**2.5 体表局部创伤试验** 选用 Wistar 大鼠,实验前

禁食 1 夜。用乙醚麻醉,固定在老鼠板上。背部剃毛面积 8 cm × 5 cm。乙醇棉球消毒后用手术刀在鼠背部脊柱两侧按预先设计好的模型(皮肤切线伤模型)划出 4.5 cm 长伤口,深至皮下,直至有组织液及血液从创口流出。肉眼观察大鼠伤口有无充血、红肿等刺激性表现,分别用生理盐水(空白组)、鞣酸(阳性组)、鞣酸高乌甲素化合物(化合物组)连续给药 8 d。用药期间,每天测量大鼠伤口长度,观察大鼠的全身状况及局部反应用于组织病理学评价,结果见图 4 和表 1。平均得分 0 ~ 0.4 分表示轻度刺激;0.5 ~ 1.5 分表示中度刺激;≥1.5 分表示重度刺激。

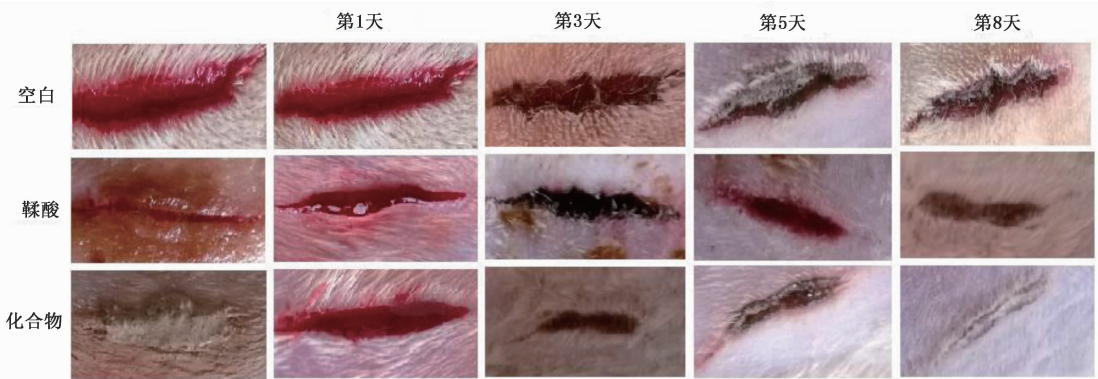


图 4 不同药物对大鼠创伤的影响

Fig. 4 Effects of different drugs on traumatized visits

表 1 不同药物对伤口长度愈合程度的影响( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 1 Effects of different drugs on healing degree of wound length ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	伤口长度/cm						
	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 6 天	第 7 天	第 8 天
空白	4.16 ± 0.05	4.10 ± 0.10	4.00 ± 0.10	4.00 ± 0.10	3.90 ± 0.10 <sup>3)</sup>	3.80 ± 0.10 <sup>3)</sup>	3.80 ± 0.10 <sup>3)</sup>
阳性	4.00 ± 0.10 <sup>1,4)</sup>	3.76 ± 0.15 <sup>3)</sup>	3.60 ± 0.17 <sup>3)</sup>	3.03 ± 0.15 <sup>2,3)</sup>	2.83 ± 0.15 <sup>2,4)</sup>	2.43 ± 0.05 <sup>2,4)</sup>	2.03 ± 0.15 <sup>2,4)</sup>
化合物	3.63 ± 0.15 <sup>2,4)</sup>	3.03 ± 0.05 <sup>2,4)</sup>	2.90 ± 0.10 <sup>2,4)</sup>	2.10 ± 0.10 <sup>2,4)</sup>	1.73 ± 0.15 <sup>2,4)</sup>	1.20 ± 0.10 <sup>2,4)</sup>	0.10 ± 0.10 <sup>2,4)</sup>

注:第 1 天伤口长度均为(4.5 ± 0.05) cm。同列之间与空白组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ;同行之间与第 1 天比较<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>4)</sup>  $P < 0.01$ 。

由图 4 可知,第 1 ~ 3 天时,空白组伤口愈合现象不明显且出现不同程度的刺激性反应;阳性组伤口表面形成凝胶状膜且有不同程度的刺激性反应;化合物组伤口长度明显缩小且无明显刺激性反应。第 5 ~ 8 天时,空白组皮层表面苍白但伤口周围有明显红肿、充血现象,涂抹时身体抖动明显,叫声凄惨,磕牙现象严重;阳性组皮层表面苍白但伤口周围有明显红肿、充血现象,涂抹时身体抖动明显,叫声凄凉,有磕牙现象,但伤口长度明显缩小,周围炎症逐渐消失;化合物组皮层表面苍白,伤口无血液渗出,身体无抖动、磕牙现象。

空白组第 1 天和第 8 天的体表局部创伤反应平均值分别为 2.0, 1.6 分,伤口愈合程度低;阳性组平

均值分别为 1.2, 0.6 分,伤口愈合程度中等;化合物组平均值分别为 0.4, 0.2 分,伤口愈合程度高。由表 1 可知,伤口愈合程度随时间变化不断增强。阳性组与化合物组分别与空白组比较,大鼠分别从第 5 天和第 2 天开始出现愈合极显著现象。每组药物与自身第 1 天伤口相比较,空白组从第 6 天才出现大鼠伤口愈合较显著现象;阳性组在第 2 天就出现伤口愈合较显著现象;而化合物组从第 2 天开始伤口愈合极明显。故初步判断鞣酸高乌甲素具有促进伤口愈合的作用。

### 3 讨论

本文在常温水溶液中将鞣酸和高乌甲素 2 种天然产物制备成鞣酸高乌甲素,该化合物的鉴定及动

物模型试验成为制剂的重点和难点。本文通过 IR 等方法鉴定该化合物的稳定性,通过强碱置换弱碱将高乌甲素从氨水中置换出来,并确定鞣酸与高乌甲素的摩尔比,进一步鉴定新化合物的生成。

文献报道常提及鞣酸在弱碱性环境下对蛋白质具有沉降作用并已被广泛应用于临床实践中。本文通过沉降蛋白试验证明了鞣酸高乌甲素在弱碱性环境中对蛋白具有沉降作用。可能是由于多酚通过疏水键向蛋白质分子表面靠近,多酚分子进入疏水袋,发生多点氢键结合,导致鞣酸可沉降牛血清蛋白。研究也证实了鞣酸在 pH 6.8 条件下与蛋白质可形成稳定的复合物<sup>[23-24]</sup>。故推断鞣酸高乌甲素也可以在弱碱性环境中沉降蛋白。将鞣酸高乌甲素应用于大鼠血液中,在弱碱性的血液环境中与裸露的蛋白质结合形成复合物,具有沉降收敛效果,从而达到止血作用,进一步确立了该化合物具有促进血液凝固作用,并可应用于动物模型试验中。

通过动物体表创伤试验,新化合物对创伤引起的出血具有明显愈合伤口、止血、消炎、镇痛作用。Wistar 大鼠在敷药过程中出现的嘶叫、磕牙、抖动等简单地肢体行为突显了高乌甲素的镇痛、消炎特点。本文创新之处在于利用鞣酸止血和消炎的药效特点与高乌甲素相结合,辅助治疗体表创伤引起的出血等症状,提高鞣酸、高乌甲素生物利用度,为二者的生物药剂学研究提供参考。

#### [参考文献]

[1] 辛蕊华,程富胜,胡振英,等.高乌甲素的研究概况[J].中兽医医药杂志,2009,28(2):74-76.  
[2] 王慧玉,孙晖,陆欣,等.乌头属中药成分的构效关系研究进展[J].世界科学技术——中医药现代化,2011,13(6):1022-1026.  
[3] 陈会良.中药镇痛有效成分的研究进展[J].安徽科技学院学报,2012,26(3):11-14.  
[4] 唐希灿,朱梅英,冯洁,等.刺乌头碱氢溴酸盐的药理作用研究[J].药学学报,1983,18(8):579-584.  
[5] 刘铭佩,鞠洋,党月兰.高乌甲素的抗炎作用[J].中药药理与临床,2004,20(4):13-14.  
[6] 杨扬,沙美兰,顾连兵.高乌甲素预防丙泊酚静脉注射痛的效果[J].临床麻醉学杂志,2005,21(10):727.  
[7] 张继,孙文秀,温慧慧,等.刺乌头碱氢溴酸盐的合成及晶体结构[J].有机化学,2007,27(11):1409-1413.  
[8] 杨玉梅,张慧灵,刘和莉.紫花高乌头总碱对大鼠实验性心律失常的影响[J].包头医学院学报,2000,16(2):87-88.

[9] 朱田.鞘柄乌头抗肿瘤活性成分研究[D].武汉:华中科技大学,2008.  
[10] 洪宗国,易筠,江丹,等.不同产地艾叶中鞣酸含量比较[J].中南民族大学学报:自然科学版,2009,28(3):63-65.  
[11] 李刚,丁小蓉,陈保红.含漱液的功能成份和口腔护理效果临床评价[J].牙膏工业,2005(4):44-48.  
[12] 李秀萍,李春远,渠桂荣,等.五倍子的研究概况[J].中医药学报,2002,30(3):72-74.  
[13] Ren A, Zhang W, Thomas H G, et al. A tannic acid-based medical food, Cesinex<sup>®</sup>, exhibits broad-spectrum antidiarrheal properties; a mechanistic and clinical study [J]. Dig Dis Sci, 2012, 57(1):99-108.  
[14] 李雪,金描真,叶放,等.鞣酸小檗碱口服结肠定位包衣片的制备及体外释药性[J].广东药学院学报,2009,25(3):221-225.  
[15] 王群,李雄,彭娟,等.鞣酸苦参碱片治疗儿童腹泻的临床疗效观察[J].医学理论与实践,2007,20(9):1077-1078.  
[16] 张孟云,夏江云.鞣酸蛋白散治疗小儿秋季腹泻的疗效观察[J].吉林医学,2012,33(6):1189-1190.  
[17] Lopes G K, Schulman H M, Hermes-Lima M, et al. Polyphenol tannic acid inhibits hydroxyl radical formation from Fenton reaction by complexing ferrous ions [J]. Biochim Biophys Acta, 1999, 1472(1/2):142-152.  
[18] Srivastava R C, Husain M M, Hasan S K, et al. Green tea polyphenols and tannic acid act as potent inhibitors of phorbol ester-induced nitric oxide generation in rat hepatocytes independent of their antioxidant properties [J]. Cancer Lett, 2000, 153(1/2):1-5.  
[19] Hagerman A E, Butler L G. Choosing appropriate methods and standards for assaying tannin [J]. J Chem Ecol, 1989, 15(6):1795-1810.  
[20] Martin M M, Rockholm D C, Martin J S. Effects of surfactants, pH, and certain cations on precipitation of proteins by tannins [J]. J Chem Ecol, 1985, 11(4):485-494.  
[21] 王秀琴.促凝中草药的筛选及其凝血实验的研究[D].重庆:第三军医大学,2004.  
[22] 岳兴如,阮耀,赵焯,等.荠菜抗炎止血药理作用研究[J].时珍国医国药,2007,18(4):871-872.  
[23] 马志红,陆忠兵,石璧.单宁酸的化学性质及应用[J].天然产物研究与开发,2003,15(1):87-91.  
[24] Buren Van J P, Robinson W B. Formation of complexes between protein and tannic acid [J]. J Agric Food Chem, 1969, 17(4):772-777.

[责任编辑 刘德文]