

不同产地藏药余甘子总鞣质含量测定

吴玲芳,张鸿雁,王坤风,李淑青,石任兵,张兰珍*

(北京中医药大学中药学院,北京 100102)

[摘要] 目的:建立磷钼钨酸/干酪素分光光度法测定不同产地藏药余甘子中总鞣质含量的方法。方法:以没食子酸为对照品,磷钼钨酸为显色剂,检测波长 760 nm,测定 8 个不同产地余甘子中总鞣质含量。结果:没食子酸在 0.306~2.448 mg·L⁻¹ 与吸光度呈良好线性关系($r=0.9991$),平均加样回收率 99.27%,RSD 2.30%。不同产地余甘子药材总鞣质含量差别较大(6.72%~11.95%),印度和尼泊尔产余甘子中总鞣质含量最高。结论:该方法简单、准确、重复性好,可用于测定余甘子中总鞣质含量。

[关键词] 余甘子;总鞣质含量,不同产地;没食子酸

[中图分类号] R284.1,R284.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)15-0061-03

[doi] 10.11653/syjf2013150061

Determination of Total Tannins in Fruits of Tibetan Medicine *Phyllanthus emblica* from Different Areas

WU Ling-fang, ZHANG Hong-yan, WANG Kun-feng, LI Shu-qing, SHI Ren-bing, ZHANG Lan-zhen*

(School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

[Abstract] **Objective:** To develop a phosphomolybdic acid-casein spectrophotometry for determination of total tannins in fruits of *Phyllanthus emblica* from different areas. **Method:** With gallic acid as reference substance

[收稿日期] 20121231(005)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81274187);北京中医药大学自主课题(2009TYB22JS027);北京中医药大学创新团队项目(2011-CXTD-12)

[通讯作者] *张兰珍,研究员,博士生导师,从事中药药效物质与质量研究,Tel:010-84738629,E-mail:zhanglanzhen01@126.com

- [5] 王强,徐国钧,程永宝. 中药七叶一枝花类的抑菌和止血作用研究[J]. 中国药科大学学报,1989,20(4):251.
- [6] 季申,周坛树,张锦哲. 中药重楼和云南白药中抗肿瘤细胞毒活性物质 Craeillin 的测定[J]. 中成药,2001,23(2):212.
- [7] 彦璐璐,张艳军,高文远,等. 滇重楼皂苷对 10 种瘤细胞株的细胞毒素及构效关系研究[J]. 中国中药杂志,2008,33(16):2057.
- [8] 杨得彼,甘良春,胡海燕. 国外对贯叶连翘抗抑郁疗效的临床验证[J]. 中西医结合学报,2004,2(3):231.
- [9] Anna R B. Evaluation of chemical stability of st John's wort commercial extract and some p reparations[J]. Int J Pharm, 2001, 213:199.
- [10] Linde K, Ramirez G, Mulrow C D, et al. st. John's wort for depressionan overview and meta-analysis of randomized clinical trials [J]. BMJ, 1996, 313(7052):253.
- [11] 朱晓薇. 贯叶金丝桃研究进展 I-药代动力学、药理学和临床应用[J]. 国外医药:植物药分册,1998,13(5):210.
- [12] Maraleda G, Wu T T, Jilbert A R, et al. Inhibition of duck hepatitis Bvirus replication by hypericin [J]. Antiviral Res,1993,20(3):235.
- [13] 刘金钊,王晓莉,张俊松,等. 贯叶连翘在癌症治疗中应用前景[J]. 中国现代中药,2006,8(2):22.
- [14] 贾永蕊,胡然,库宝善. 贯叶连翘提取物和盐酸赖氨酸复方(赖金丝)的抗炎作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2004,10(2):35.

[责任编辑 顾雪竹]

and phosphomolybdic acid as chromogenic agent, detection wavelength 760 nm, the content of total tannins in *P. emblica* from eight different areas was determined. **Result:** The linearity range of gallic acid was 0.306-2.448 mg·L⁻¹ with $r=0.9991$, the average recovery was 99.27% with RSD 2.30%. The content of total tannins in *P. emblica* from different areas were significantly different (6.72%-11.95%), the content of total tannins in samples from India and Nepal were the highest. **Conclusion:** This method was simple, accurate and reproducible which could be adopted for determination of total tannins in *P. emblica*.

[**Key words**] *Phyllanthus emblica*; the content of total tannins; different locations; gallic acid

余甘子被多版《中国药典》作为藏药收载,具有降脂、降血糖、抗氧化、抗癌等作用,主要用于治疗热血瘀、消化不良、腹胀、咳嗽、喉痛、口干等症。余甘子富含鞣质、酚酸、黄酮、多糖和维生素 C 等成分,目前其质量控制多采用 HPLC 测定没食子酸、鞣花酸等单体成分或分光光度法测定多糖、总黄酮和鞣质^[1-7]。在比较 8 个不同产地藏药余甘子中 5 个主要单体成分(诃黎勒酸、粘酸-2-*O*-没食子酸酯、没食子酸、柯里拉京和鞣花酸)含量^[8-9]的基础上,本实验对其总鞣质含量进行测定,为余甘子的合理用药和质量控制提供依据。

1 材料

TU1810 型紫外-可见分光光度计(普析通用公司)。没食子酸对照品(自制,经 HPLC 检测纯度 > 98.50%),硫酸锂(天津市光复精细化工研究所),钨酸钠(天津市光复精细化工研究所),钼酸钠(广东汕头市西陇化工厂),干酪素(天津市光复精细化工研究所),试剂均为分析纯。

余甘子购自北京藏医院(产地尼泊尔)、河北安国药材市场(产地云南)和安徽亳州药材市场(产地印度、福建、广西、广东、四川、贵州、新疆),经北京中医药大学药系阎玉凝教授鉴定为大戟科植物 *Phyllanthus emblica* L. 的干燥果实。鞣质有效部位为课题组制备的大孔树脂富集物。

2 方法与结果

2.1 提取方法考察 取过 50 目筛的余甘子粉末约 100 mg,精密称定,置 100 mL 锥形瓶中,精密加入 60% 乙醇 50 mL,称定质量,按 6 种不同方法(冷浸 12 h + 超声 30 min,50 °C 温浸 12 h,超声 30 min + 冷浸 12 h,冷浸 12 h,超声 30 min)提取,冷却至室温,用 60% 乙醇补足缺失的质量,取续滤液,稀释 10 倍,计算总鞣质质量分数分别为 11.56%,11.88%,11.66%,10.98%,10.32%,故选取 50 °C 温浸 12 h。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取没食子酸对照品约 5 mg,置于 25 mL 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.3 供试品溶液的制备 取 8 个不同产地余甘子药材适量,分别粉碎过 50 目筛,取药材粉末,每个产地各称取 3 份,每份约 100 mg,精密称定,置于 100 mL 锥形瓶中,分别加入 60% 乙醇 50 mL,称定质量,温浸提取 12 h,冷却至室温,用 60% 乙醇补足减轻质量,过滤,取续滤液,稀释 10 倍,即得。

2.4 显色剂的配制

2.4.1 磷钼钨酸试液 分别取钨酸钠、钼酸钠 100,25 g,加水 700 mL 使溶解,加盐酸 100 mL 和磷酸 50 mL,加热回流 10 h,放冷,加硫酸锂 150 g,水 50 mL 和溴 0.2 mL,煮沸除去残留的溴(约 15 min),冷却,加水稀释至 1 000 mL,滤过,即得。本液不得显绿色(如放置后变绿色,可加溴 0.2 mL,煮沸除去多余的溴即可)。

2.4.2 29% 碳酸钠溶液 取 29 g 碳酸钠溶液和 100 mL 水或 10.8 g 无水碳酸钠溶于 100 mL 水中,即得。

2.5 余甘子总鞣质含量测定的方法学考察

2.5.1 测定波长的选择 分别精密吸取没食子酸对照品溶液和余甘子干酪素吸附前后溶液各 2 mL,分别置于 25 mL 棕色量瓶中,加入磷钼钨酸试液 1 mL,加水 10 mL,用 29% 碳酸钠溶液稀释至刻度,摇匀,暗处放置 30 min,于 400~900 nm 扫描,结果二者的最大吸收波长(760 ± 2) nm,且阴性无干扰,故选 760 nm 为检测波长。

2.5.2 线性关系考察 精密吸取 0.0513 g·L⁻¹ 没食子酸对照品溶液 0.5,1.0,1.5,2.0,2.5,3.0,3.5,4.0 mL,分别置于 25 mL 量瓶中,各加磷钼钨酸试液 1 mL,依次加水 11.5,11.0,10.5,10,9.5,9,8.5,8 mL,用 29% 碳酸钠溶液稀释至刻度,摇匀,静置 30 min,以相应试剂为空白,于 760 nm 处测定吸光度(A),以质量浓度为横坐标,为 A 纵坐标,得回归方程 $Y=0.3595X+0.0684$ ($r=0.9991$),表明没食子酸在 0.306~2.448 mg·L⁻¹ 呈良好线性关系。

2.5.3 精密度考察 精密吸取余甘子干酪素吸附前后溶液 2 mL,置 25 mL 量瓶中,按上述方法测定

A,连续测定6次,结果RSD 0.54%,表明仪器精密度良好。

2.5.4 重复性考察 精密称取同一批余甘子鞣质药材6份,按2.3项下方法制备供试品溶液,测定干酪素吸附前后A,结果总鞣质含量的RSD 1.34%,表明该方法重复性好。

2.5.5 稳定性试验 余甘子样品溶液配制后,分别于0,2,4,6,8 h精密吸取干酪素吸附前后溶液各2 mL,测定A,结果总鞣质含量的RSD 0.35%,表明样品溶液在8 h内稳定。

2.5.6 加样回收率试验 精密称取余甘子粉末(过50目筛)6份,每份约50 mg,分别精密加入没食子酸对照品约5 mg,按2.3项下方法制备供试品溶液,测定A,计算总鞣质含量,结果见表1。

表1 余甘子中总鞣质含量测定加样回收率试验

称样量 /mg	总鞣质 含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	加样 回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
50.02	4.93	5.01	10.03	101.80	99.27	2.30
50.06	4.93		9.93	99.76		
49.96	101.17		9.93	99.88		
50.09	4.94		9.78	96.44		
49.91	4.94		9.78	96.54		
150.07	4.95		10.02			

2.6 不同产地余甘子中总鞣质含量测定 取8个不同产地(四川、贵州、福建、云南、新疆、印度、广西、尼泊尔)余甘子药材适量,粉碎过50目筛,取药材粉末,每个产地各称取3份,每份约100 mg,精密称定,按2.3项下方法制备供试品溶液,测定A,计算总鞣质质量分数依次为10.11%(1.47%),9.54%(2.35%),9.90%(1.98%),10.03%(3.01%),6.72%(2.25%),11.95%(2.38%),8.57%(2.15%),11.11%(1.73%)。表明印度、尼泊尔进口余甘子中总鞣质含量较高,与之前报道的5个单体成分(诃黎勒酸、粘酸-2-O-没食子酸酯、没食子酸、柯里拉京和鞣花酸)含量之和基本一致,也

是印度(16.83%)和尼泊尔(17.54%)产地余甘子中5个单体成分含量较高^[8-9]。

3 讨论

余甘子粉碎分别过20,50,80目筛,加60%乙醇温浸12 h,结果显示50目药材提取已较完全。分别考察体积分数50%,60%,70%的乙醇溶液和60%甲醇温浸12 h对总鞣质含量的影响,结果表明选择60%乙醇提取较完全,与60%甲醇提取效果一致。藏医药应用中以印度、尼泊尔等进口余甘子药材为上好药材,几乎不用内地余甘子,与所测结果基本相符。

[参考文献]

- [1] 邹丽,高向军,包小红,等. HPLC法测定余甘子中没食子酸的含量[J]. 食品与医药,2009,11(7):49.
- [2] 魏屹,丁雪娇,包金颖. 高效液相色谱法测定余甘子药材中槲皮素的含量[J]. 时珍国医国药,2008,19(7):1634.
- [3] 张云坤,包永睿,孟宪生,等. 藏药余甘子抗肿瘤活性成分的提取工艺优化及含量测定[J]. 中国医药工业杂志,2012,43(11):905.
- [4] 冀静,杨继家,廖琦,等. 藏药余甘子中三种酚酸类成分的HPLC含量测定研究[J]. 中药与临床,2012,3(4):14.
- [5] 艾锋. 福建余甘子多糖含量的测定及应用研究[D]. 福州:福建农林大学,2010.
- [6] 孙忠文,刘汉清,黄一平,等. 藏药余甘子中总鞣质和没食子酸的含量测定[J]. 现代中药研究与实践,2010,24(3):60.
- [7] 蔡英卿,赖钟雄,许婉珍. 余甘子各器官总黄酮含量分析[J]. 热带作物学报,2005,26(1):79.
- [8] 沙磊,张兰珍,徐义侠,等. RP-HPLC法测定余甘子中诃黎勒酸、没食子酸、粘酸-2-O-没食子酸酯的含量[J]. 药物分析杂志,2011,31(2):293.
- [9] 张鸿雁,沙磊,石任兵,等. RP-HPLC法测定不同产地余甘子药材和鞣质有效部位中3种成分的含量[J]. 中华中医药杂志,2012,27(11):2834.

[责任编辑 全燕]