

文章编号: 1001-8255(2001)05-0227-03

茶色素胶囊中总多酚的紫外分光光度法测定

谢一辉, 罗永明

(江西中医学院, 江西南昌 330006)

摘要: 茶色素用氯仿除去样品中咖啡因的干扰, 再用酸性乙醇提取有效成分, 以没食子酸为对照品, 采用紫外分光光度法测定茶色素胶囊中总多酚的含量, 平均回收率为 99.35%, RSD 为 0.58%。方法简便, 结果准确。

关键词: 紫外分光光度法; 茶色素; 胶囊; 总多酚; 没食子酸; 咖啡因; 测定

中图分类号: TQ460.7⁺2; O657.32 **文献标识码:** A

茶色素(1)胶囊是治疗心脑血管疾病药物, 已广泛临床应用。1 胶囊收载于部颁标准第 14 册, 该标准中没有含量测定方法。本文采用紫外分光光度法, 不经分离直接测定 1 胶囊中总多酚的含量, 方法简便, 结果准确, 可有效地控制 1 胶囊的内在质量。

1 仪器与试剂

WFZ900-D₄ 型紫外分光光度计(北京第二光学仪器厂); DQ3200 型超声仪(昆山市超声仪器有限公司)。

没食子酸(2)对照品(中国医药公司北京公司, 批号 890750, 含量为 99.88%); 咖啡因(3)对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 1215-9503); 1 胶囊(江西绿色制药有限公司)。

2 实验方法与结果

2.1 对照品的确定

1 是从茶叶中提取并经氧化后得到的一类有色化学成分。根据有关文献报道^[1], 茶叶中含量较高的有茶多酚、糖类、蛋白质等。其中茶多酚是主要的活性成分之一。1 具多酚结构, 且 1 中多酚类化合物的生理活性比茶叶中原多酚物质的生理活性更强^[2,3]。故将 1 中的总多酚作为含量测定指标。

1 经 TLC 分析, 有 6 个多酚类化合物斑点(见图 1), 含量较高的斑点经分离证实为没食子酸(2)。由于 2 是组成茶多酚的三大类物质(儿茶素、黄酮类、酚酸类)的成分片段^[1], 且分离较容易, 化学性质相对稳定, 已被中国药典收载为对照品。因此, 可采用紫外分光光度法测定本品的总多酚, 并折算成 2 的含量。

2.2 1 中有效成分的提取

1 中含少量 3, 因其在 272 nm 处也有吸收, 因此必须除去。3 易溶解于氯仿, 而 1 在此条件下以盐的

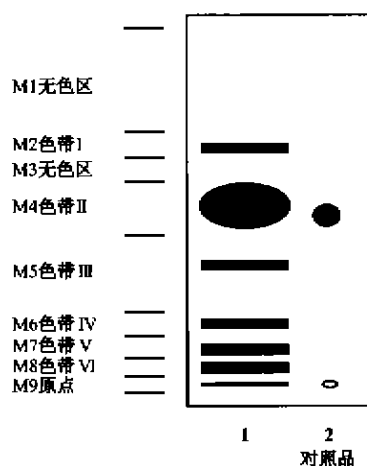


图 1 1 和 2 薄层层析示意图

形式存在(《中华人民共和国卫生部质量标准》第 14 册, 100)而不会溶于氯仿。因而可以用氯仿直接从 1 中除去 3。

实验表明 1 干浸膏经氯仿超声处理后, 氯仿提取液的紫外特征与 3 一致(图 2)。TLC 表明, 未经氯仿处理的 1 与 3 在同一位置有一相同颜色的斑点, 而 1 经氯仿处理后, 在 3 的位置没有斑点, 说明加氯仿超声处理可将 1 中的 3 完全提取。

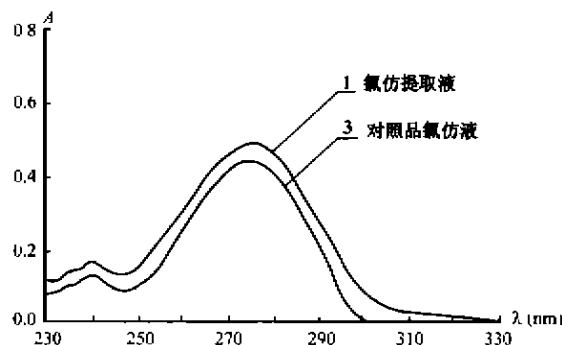


图 2 1 氯仿提取液与 3 对照品氯仿液紫外光谱比较

1 中多酚类成分主要是酚酸、黄酮类, 易溶于酸性乙醇, 而 1 样品中的糖类、蛋白质等主要杂质以及

收稿日期: 2000-04-11

作者简介: 谢一辉(1958), 男, 副教授, 主要从事中药分析和有效成分的分离。

Tel: 0791-6811604

E-mail: loym@163.net

辅料则难溶于酸性乙醇,故采用酸性乙醇作为溶剂。

2.3 波长选择

取按“2.8”项下配制的 2 对照品溶液和供试品溶液点于同一硅胶 G 板,以氯仿-乙酸乙酯-乙酸(10:10:1)为展开剂展开,晾干,可见 6 条色带(图 1)。刮取各色带、原点和各色带之间的硅胶,分别用 5 ml 乙醇超声处理 20 min,离心 30 min。取上清液,以乙醇为空白,在 200~400 nm 范围内扫描。图谱显示,各色带所含成分在 272±2 nm 波长处均有最大吸收峰,而原点和各色带间的空间在此波长处无吸收或吸收极弱。

取 2 对照品,用乙醇溶解后使成 12 μg/ml 的溶液,以乙醇为空白,在 200~400 nm 范围内扫描,其最大吸收峰为 272 nm。所以样品测定波长定为 272 nm。

2.4 线性关系考察

精密称取经五氧化二磷干燥至恒重的 2 对照品 0.02676 g,置 50 ml 量瓶中,加乙醇溶解并定容,摇匀。取该溶液 0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.8、0.9 ml 分别置于 25 ml 量瓶中,加乙醇定容,摇匀。以乙醇为空白,在 272 nm 波长测定吸收度 A。以 2 的浓度 C 对吸收度 A 进行回归,得回归方程:

$$A=0.05718C-0.006821, r=0.9991,$$

线性范围:4.28~19.26 μg/ml。

2.5 稳定性试验

取“2.8”项下的供试液,每隔 5 min 测定一次,吸收度分别为 0.970、0.969、0.969、0.969、0.972、0.971、0.971, RSD 为 0.12%。实验表明该供试液在 30 min 内稳定。

2.6 重现性试验

取同批号 1 胶囊(批号 980201),按“2.8”项下方法重复测定 5 次。含量分别为 0.02747、0.02806、0.02836、0.02810、0.02760 g,平均为 0.02792, RSD 为 1.329%。表明本法重现性较好。

2.7 回收率试验

采用加样回收法,精密称取已知含量的 1 胶囊内容物,共 9 份,分别添加 2 对照品乙醇液,置 105°C 干燥 30 min 以挥发乙醇,按“2.8”项下方法测定,按下式计算:回收率=(测得量-原有量)/加入量。结果见表 1,表明本法具有良好的回收率。

2.8 样品测定

对照品溶液的制备:精密称取用五氧化二磷干燥至恒重的 2 对照品 20 mg,置 100 ml 量瓶中,加乙醇溶解并定容,摇匀。精密吸取 5.0 ml 置 100 ml

量瓶中,加乙醇定容,摇匀(每 ml 含 2.10 μg)。

表 1 1 胶囊回收率实验结果(n=9)

原有量 (mg)	加入对照品量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
11.39	4.124	15.49	99.42		
10.79	4.124	14.93	100.4		
11.17	4.124	15.25	98.93		
10.91	8.248	19.23	100.1		
11.95	8.248	20.11	98.99	99.35	0.58
11.28	8.248	19.37	98.48		
11.26	12.37	23.29	98.25		
11.01	12.37	23.01	98.61		
10.86	12.37	22.98	98.98		

供试品溶液的制备:取 1 胶囊内容物约 0.12 g,精密称定,置 100 ml 烧杯中,加氯仿 40 ml,超声处理 20 min,时加振摇。滤过(滤纸直径为 10 cm),用少量氯仿洗涤烧杯和不溶物二次,晾干。将不溶物连同滤纸一起置于烧杯中,加酸性乙醇[1 ml 稀盐酸(中国药典)加乙醇至 100 ml]超声处理 3 次(50 ml、20 min;25 ml、10 min;25 ml、5 min),时加振摇。合并乙醇液于 100 ml 量瓶中,加乙醇定容,摇匀,滤过。精密吸取续滤液 5.0 ml,置 100 ml 量瓶中,加乙醇定容,摇匀。

取供试品溶液和对照品溶液,以乙醇为空白,照分光光度法(中国药典 1995 年版一部附录 VA),在 272 nm 波长处测定吸收度。计算即得。

取 10 批 1 胶囊,按“2.8”项下测定,结果见表 2。由测得结果,拟定 1 胶囊中 1 含量以 2 干燥品计算,每粒应不少于 25.0 mg。

表 2 1 胶囊含量测定结果

批号	含量(g/粒)	批号	含量(g/粒)
980201	0.02792	970518	0.02620
970405	0.02665	970609	0.02699
970404	0.03044	970708	0.02784
970401	0.02599	970807	0.02677
970402	0.03014	971002	0.02992

3 讨论

中成药一般是多个有效成分共同起作用。选择一个合适的对照品并建立科学简便的含量测定方法一直是控制中成药内在质量的难题。本文根据 1 所含的有效成分性质,选择组成茶多酚的三大类物质的成分片段 2 作为对照,而且 2 具有一定的活性。因此可以较好的控制 1 胶囊的内在质量。

(下转第 238 页)

参考文献:

- [1] Rasmusson GH, Reynold GF, Utne T, *et al.* Azasteroids as inhibitors of rat prostatic 5 α -reductase [J]. *J Med Chem.* 1984, **27**:1690-1701.
- [2] Rasmusson GH, Reynold GF, Utne T, *et al.* Azasteroids: structure-activity relationships for inhibition of 5 α -reductase and androgen receptor binding [J]. *J Med Chem.* 1986, **29**:2298-2315.
- [3] Rasmusson GH, Reynold GF. 17 β -Substituted-4-azasteroids-5 α -androst-4-en-3-one and their use as 5 α -reductase inhibitors [P]. EP: 0155096, 1985-09-18. (CA 1985, **105**:60814q)
- [4] Rasmusson GH, Johnston DBR. 4-Azasteroids-17 β -substituted-5 α -androst-4-en-3-one-reductase inhibitors [P]. US: 4377584, 1983-03-22. (CA 1983, **93**:47003p)
- [5] Heinzl S. Androgenetic alopecia: finasteride treated hair loss [J]. *Med Monatsschr Pharm.* 1999, **22**(4):124-127.
- [6] Tosti A, Piraccini BM. Finasteride and the hair cycle [J]. *J Am Acad Dermatol.* 2000, **42**(5 Pt 1):843-849.
- [7] Colman CA Jr, Thompson IM Jr, Feigl P. Prostate cancer prevention trial (PCPT) update [J]. *Eur Urol.* 1999, **35**(5-6):544-547.
- [8] Durham RD, Millar A. Method for preparing finasteride [P]. US: 5670643, 1997-09-23. (CA 1997, **127**:262907n)
- [9] Apurba B. Dehydrogenation process and intermediates [P]. EP: 298652, 1995-01-18. (CA 1995, **110**:213174m)
- [10] Dolling UH, McCauley JA, Varsolona RJ. New method of preparation of finasteride [P]. EP: 655458, 1999-03-03. (CA 1996, **121**:157962e)
- [11] Bassett HL, Thomas CR. The Bodroux reaction [J]. *J Chem Soc.* 1954, 1188-1190.
- [12] 郑锦红, 徐芳, 廖清江. 良性前列腺增生治疗新药非那雄胺的合成 [J]. *中国药物化学杂志*, 1996, **12**(3):203-206.
- [13] 郑锦红, 徐芳, 廖清江, 等. 非那雄胺类似物的合成 [J]. *中国药科大学学报*, 1997, **28**(1):9-10.
- [14] 郑锦红, 徐芳, 廖清江. 3-羟基-4-雄甾烯-17 β -羧酸的合成新法 [J]. *中国医药工业杂志*, 1998, **29**(7):293-295.
- [15] 郑锦红, 徐芳, 廖清江. 非那雄胺合成过程中两个 5 β 异构体的分离和鉴定 [J]. *中国药科大学学报*, 1996, **27**(3):129-130.

(上接第 228 页)

参考文献:

- [1] 王泽农. 茶叶生物化学 [M]. 北京: 农业出版社, 1994. 2-4.
- [2] 徐斯凡, 丁南华, 王晶磊, 等. [J]. *现代诊断与治疗*, 1995, (6)增: 4-5.
- [3] 楼福庆, 杨祖才, 袁伟龙, 等. [J]. *现代诊断与治疗*, 1995, (6)增: 14-15.

Determination of Total Polyphenols in Tea Pigment Capsules by UV Spectrophotometry

XIE Yi-Hui, LUO Yong-Ming

(Jiangxi Traditional Chinese Medicine Institute, Nanchang 330006)

ABSTRACT: The total polyphenols in tea pigment capsules was determined by UV spectrophotometry. Chloroform was used to remove the interference of caffeine in sample, and active components were extracted by acidified alcohol, then the total content of polyphenols was determined in accordance with gallic acid, and the average recovery was 99.3%, with RSD 0.58%.

Key Words: UV spectrophotometry; tea pigment; gallic acid; caffeine; total polyphenols; determination

通知 1

原定于 2001 年 5 月 31 日至 6 月 2 日举行的 2001 年西部国际药剂工业供应商展暨中国西部医药金秋交流会, 因故改至 2001 年 10 月 16 日至 19 日举行, 敬请注意!

通知 2

上海医药设计院于 2001 年 1 月 20 日起更名为中国石化集团上海医药工业设计院, 特此通知。