

比色法测定青钱柳中三萜类成分的含量

舒任庚*, 刘玉凤, 舒积成 (江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330004)

摘要:目的 建立青钱柳中三萜成分含量的测定方法。方法 采用香草醛-冰醋酸-高氯酸显色法, 于 560 nm 处测定吸光度。结果 方法的线性范围为 4 ~ 24 $\mu\text{g}/\text{mL}$, $r=0.9992$, 平均回收率为 98.52%, 样品中三萜成分含量为 0.586%。结论 方法简便, 快速, 结果准确, 可靠, 适合三萜成分的含量测定。

关键词:青钱柳; 三萜; 含量测定; 比色法

中图分类号: R917.770.1

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2006)05-0406-03

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (20162002)

* 通讯作者: 舒任庚, 男, 1964年生, 江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室教授、博士、硕导, E-mail: shrug@163.com; rgshu8230@yahoo.com

Determination of triterpene in *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja by colorimetry

SHU Ren-geng^{*}, LIU Yu-feng, SHU Ji-cheng (The Key Laboratory of Modern Preparation of TCM, Ministry of Education, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a simple and accurate method for the determination of triterpene in *cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja. **METHODS** The UV spectrophotometry was used to determine triterpene in *cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja at 560nm. **RESULTS** The content of triterpene in *cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja was 0.586%, the linear range of the method was 4~24 μ g/mL ($r=0.9992$). The average recovery was 98.52%. **CONCLUSION** The method was simple, rapid, reliable and accurate.

KEY WORDS: *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja; triterpene; determination; colorimetry

青钱柳 [*Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja] 系双子叶植物纲 [Dicotyledneae] 胡桃科 [Juglandaceae] 青钱柳属乔木植物,是我国特有的速生树种。江西民间以其嫩叶制茶具有清热解暑,消肿止痛,降压,降糖等功效。其主要化学成分有三萜、黄酮、皂苷、多糖、有机酸等,其中黄酮类成分的含量测定已有多次报道^[1-2],然而现代药理实验证明,三萜也是一类富有生理活性的化学成分,我们已经从青钱柳中分离鉴定了6种三萜类成分^[3-4]。笔者采用香草醛-冰醋酸-高氯酸显色法对该植物中的三萜成分进行含量测定,为青钱柳的进一步开发利用打下基础。

1 仪器及试剂

仪器:UV-240紫外分光光度计(日本岛津)。

试剂:高氯酸、冰醋酸、乙酸乙酯均为分析纯;显色剂为5%香草醛-冰醋酸溶液;齐墩果酸对照品自制(纯度99%以上),药材采自江西修水县,经江西中医学院中药系刘庆华老师鉴定为青钱柳 [*Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja]。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的配制

精密称取齐墩果酸对照品20mg,加乙酸乙酯溶解,转移至100mL量瓶中并定容,作为对照品溶液。

2.2 阴性对照液的配制

量取乙酸乙酯溶剂,至100mL量瓶中,作为阴性对照溶液。

2.3 供试品溶液的制备

称取青钱柳干叶50g,经石油醚(60~90℃)300mL回流提取两次,每次2h,弃提取液,药渣用无水乙醇300mL回流提取两次,每次1h,合并提取液,减压回收溶剂得浸膏。浸膏用氯仿-甲醇(1:1)混合溶液溶解,上Sephadex LH-20柱,以氯仿-甲醇(1:1)混合溶液洗脱,合并Liebmann-Burchard反应阳性的洗脱液,减压浓缩,低温干燥,得样品粉末1.5g,精密称取样品100mg,用乙酸乙酯溶解,并转移至100mL量瓶中定容,过滤,滤液备用,即得。

2.3 测定波长、显色剂用量的选择

2.3.1 测定波长的选择 取齐墩果酸对照品溶液和供试品溶液,经显色后,进行光谱扫描,结果表明,对照品溶液与供试品溶液在560nm处均有最大吸收峰,多次重复,峰形一致,

且阴性对照无干扰,故可选择560nm作为样品测定的波长。

2.3.2 显色剂用量及条件优选 ①5%香草醛-冰醋酸溶液用量的优选:取齐墩果酸对照品溶液1.0mL5份,水浴挥干,分别加入5%香草醛-冰醋酸溶液0.2,0.3,0.4,0.5,0.6mL,加入高氯酸1.4mL,置70℃^[5]水浴加热15min,冰浴冷却后,转移至10mL量瓶中加乙酸乙酯稀释至刻度。摇匀,在560nm波长处测定吸收值,结果见表1。结果表明5%香草醛-冰醋酸用量为0.5mL时最佳。②高氯酸的用量:取齐墩果酸对照品溶液1.0mL5份,水浴挥干,分别加入5%香草醛-冰醋酸溶液0.5mL,高氯酸0.8,1.0,1.2,1.4,1.6mL,置70℃水浴加热15min,冰浴冷却后,转移至10mL量瓶中加乙酸乙酯稀释至刻度。摇匀,在560nm波长处测定吸收值,结果见表2。结果表明,高氯酸用量为1.4mL时最佳。

表1 不同香草醛-冰醋酸用量结果

Table 1 Results of various dose of vanillin-glacial acetic acid

5%香草醛-冰醋酸用量(mL)	吸收值
0.2	0.2248
0.3	0.2257
0.4	0.2350
0.5	0.2368
0.6	0.2359

表2 不同用量高氯酸测定结果

Table 2 Results of various of volume of perchloric

高氯酸量(mL)	吸收值
0.8	0.2250
1.0	0.2267
1.2	0.2275
1.4	0.2352
1.6	0.2350

2.4 标准曲线的制备

精密吸取齐墩果酸对照品溶液0.2,0.4,0.6,0.8,1.0,1.2mL,水浴挥干,分别加5%香草醛-冰醋酸0.5mL,高氯酸1.4mL,置70℃水浴加热15min,冰浴冷却后,转移至10mL量瓶中加乙酸乙酯稀释至刻度。摇匀,在560nm波长处测定吸收值A,以不加对照品溶液而直接加5%香草醛-冰醋酸0.5

mL,高氯酸 1.4mL,用乙酸乙酯稀释至刻度的混合溶液为空白对照,并以 A对浓度 C回归得方程: $A = 0.0118C + 0.0005$, $r = 0.9992$,结果表明测定液浓度在 $4 \sim 24 \mu\text{g/mL}$ 范围内呈线性关系。

2.5 稳定性试验

取样品溶液按上述方法处理,在 1d之内隔 0.5h测定一次,共测 6次。RSD为 2.38%,结果说明显色反应在 3h基本稳定。

2.6 回收率试验

精密称取药材 5g,并准确加入 20, 30, 40mg齐墩果酸对照品各 3份,与制备供试品一样操作,得粉末并称量,然后精密称取粉末 20mg,用乙酸乙酯溶解,并转移至 100mL量瓶中定容,过滤,滤液取 1mL,按制备标准曲线项下操作,测得吸收值并计算含量,经计算回收率为 98.52%,结果见表 3。

表 3 回收率测定结果

Tab 3 Results of recovery test

取原药材量 (g)	折合成齐墩果酸量 (mg)	加入齐墩果酸量 (mg)	测定齐墩果酸量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
5	29.30	20.01	48.76	98.89		
5	29.30	20.34	48.52	97.74		
5	29.30	20.13	47.77	96.64		
5	29.30	30.30	58.65	98.40		
5	29.30	30.18	59.03	99.24	98.52	1.23
5	29.30	30.25	57.97	97.34		
5	29.30	40.33	70.10	100.63		
5	29.30	40.09	68.89	99.67		
5	29.30	40.21	68.22	98.14		

2.7 精密度试验

精密吸取对照品溶液 1.0mL, 10份,按制备标准曲线项下操作,结果 RSD = 1.70%。

2.8 样品的含量测定

精密量取供试品溶液 1mL 5份。按标准曲线制备相同操作,水浴挥干,分别加 5%香草醛冰醋酸 0.5mL,高氯酸 1.4mL,置 70℃水浴加热 15min,冰浴冷却后,转移至 10mL量

瓶中加入乙酸乙酯稀释至刻度。摇匀,在 560nm波长处测定吸收值,代入标准曲线方程,计算含量。结果总三萜类成分平均含量为 0.586%, RSD = 1.34% ($n = 5$)。

3 讨论

三萜类成分的含量测定多采用香草醛冰醋酸,高氯酸比色法,但受试剂的用量、反应温度等因素影响较为显著,本实验结果表明,若反应条件控制得当,其结果较稳定,重现性好,可用于质量控制。文献多用于乙醇配制标准品溶液和样品溶液,测定时蒸干溶剂,显色后再加乙酸乙酯或冰乙酸稀释^[5-6],本实验直接用乙酸乙酯配制各溶液,减化了实验步骤,缩短了实验时间,同样达到很好的测定效果。青钱柳为叶类药材,色素含量较高,本实验采用石油醚脱脂结合凝胶过滤法除去色素,效果较好,可以推广应用。

参考文献

- [1] XIE M Y, YU Y L, WANG Y X, *et al.* The structure and content of the flavones compounds in in cyclocarya paliurus (Batal.) Iljinjsk [J]. NanChang Univ J: Natural Science (南昌大学学报:理科版), 2003, 27(1): 49-51.
- [2] ZHU P F, HE Z D, WANG Z F, *et al.* Compare of the gross flavones compounds' content in various producing areas' cyclocarya paliurus (Batal.) Iljinjsk [J]. Stra Pham J (海峡药学), 2004, 16(3): 88-90.
- [3] ZHONG N J, GAO Y H, XU C N, *et al.* Studies on the triterpenoids of cyclocarya paliurus (Batal.) Iljinjsk [J]. Chin Trad And Herb Dng. (中草药), 1996, 27(7): 387-388.
- [4] SHU R G, LIU Y F, CHEN J, *et al.* Studies on triterpenoids of cyclocarya paliurus (Batal.) Iljinjsk [J]. Chin Medi Mat J. (中药材), 28(7): 588-589.
- [5] PA L D, ZHU N S, CHONG Y Y, *et al.* Detemination of the gross triterpene in by colorimetry [J]. HuaXi Pham J (华西药学杂志), 2002, 17(6): 475-476.
- [5] PE W X, CAI B C, GUO S W, *et al.* Detemination of the gross triterpene acid in by the UV spectrophotometry [J]. NnaJing TCM Univ J (南京中医药大学学报), 2003, 19(2): 99-100.