

刘冰晶,曾靖,李超,等. 酸性染料比色法测定斜脉暗罗茎、叶和皮中总生物碱含量[J]. 江苏农业科学,2014,42(1):263-264.

酸性染料比色法测定斜脉暗罗茎、叶和皮中总生物碱含量

刘冰晶^{1,2}, 曾靖^{1,2}, 李超¹, 杜兵¹, 曾发挥¹, 曾雪亮¹

(1. 赣南医学院药学院,江西赣州 341000;2. 江西省脑血管药理重点实验室,江西赣州 341000)

摘要:以小檗碱为对照品,在 pH 值为 4.5 的醋酸-醋酸钠缓冲溶液中,以溴甲酚绿指示液为显色剂,利用分光光度法在 628 nm 测定斜脉暗罗中总生物碱含量,结果表明,小檗碱对照品在 2.0~12.0 mg/L 范围内浓度(C)与吸光度(D)呈线性关系,回归方程为 $D = 0.0082C + 0.1671$, $r = 0.9991$;斜脉暗罗茎、叶和皮中的总生物碱含量分别为 0.267 1%、1.473 7% 和 0.790 8%。分光光度比色法测定总生物碱含量操作简便,结果可靠,重复性好,可用于斜脉暗罗总生物碱含量的测定。

关键词:斜脉暗罗;总生物碱;紫外分光光度法;茎;叶;皮

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)01-0263-02

斜脉暗罗(*Polyalthia plagioneura*)属番荔枝科(Annonaceae)暗罗属(*Polyalthia* genus),系我国特有种,分布于云南、广东、广西南部及海南^[1],为海南优势种^[2]。国内外学者从暗罗属 20 多种植物中得到了生物碱、萜类等多种类型化合物^[3-4],从斜脉暗罗中分离得到生物碱类化合物 marcanine A 和少量其他化合物^[5-7],但有关斜脉暗罗总生物碱含量的测定未见报道。本研究以小檗碱为对照品,在 pH 值为 4.5 的醋酸-醋酸钠缓冲溶液中,以溴甲酚绿为显色剂,在 628 nm 波长下,利用分光光度法测定斜脉暗罗总生物碱含量,为保护和合理利用药用植物资源斜脉暗罗提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与材料

紫外可见分光光度计(尤尼柯 UV-4802);98-C-数显控温电热套(天津泰斯特);索式提取器;电子天平;三氯甲烷(AR);溴甲酚绿(AR);小檗碱标准品(成都领航者生物);pH 值为 4.5 的醋酸-醋酸钠缓冲液;0.01 mol/L 氢氧化钠溶液(用乙醇溶解)。

斜脉暗罗采自海南省昌江县霸王岭自然保护区,由海南师范大学生命科学学院钟琼芯教授鉴定为 *Polyalthia plagioneura*,标本现藏于江西省脑血管药理重点实验室。

1.2 试验方法

参照刘冰晶等的方法^[8-9]并进行改良。

1.2.1 试验溶液配制 用 0.2 mol/L 氢氧化钠滴加冰醋酸,调节 pH 值为 4.5,即得醋酸-醋酸钠缓冲溶液;称取溴甲酚绿 40 mg,加 100 mL pH 值为 4.5 的醋酸-醋酸钠缓冲溶液溶解,过滤,即得 0.04% 溴甲酚绿溶液。

1.2.2 标准曲线的制作 称取干燥至恒重的小檗碱对照品 2 mg,置于 100 mL 容量瓶中,用三氯甲烷定容至 100 mL,摇

匀即得 20 mg/L 标准溶液。取小檗碱对照品溶液,显色后进行可见-紫外全波长扫描,结果表明对照品溶液在 628 nm 处有最大吸收峰。经多次重复,峰形一致且空白对照无干扰,故选择 628 nm 作为样品测定的波长。取标准溶液 1.2、2.4、3.6、4.8、6.0、7.2 mL 分别置于 20 mL 容量瓶中,用三氯甲烷稀释至 10 mL,加入 pH 值为 4.5 的醋酸-醋酸钠缓冲液 5.0 mL 和 0.04% 溴甲酚绿溶液 2.0 mL,剧烈振摇 5 min,静置 30 min;取下层液 5 mL,加入 0.01 mol/L 氢氧化钠-乙醇溶液 1.0 mL,摇匀,于 628 nm 处测吸光度。以小檗碱含量为横坐标,吸光度为纵坐标制作标准曲线。

1.2.3 空白溶液的制备 取 10 mL 三氯甲烷溶液于 20 mL 容量瓶中,加入 5.0 mL 醋酸-醋酸钠缓冲液和 0.04% 溴甲酚绿溶液 2 mL,剧烈摇动 5 min,然后静置 30 min;取下层液 5 mL,加入 0.01 mol/L 氢氧化钠-乙醇溶液 1.0 mL 摇匀,作为空白溶液。

1.2.4 斜脉暗罗总生物碱的提取 分别准确称取斜脉暗罗茎 0.5 g、叶 0.25 g 和皮 0.5 g,用适量氨水湿润,密封放置 30 min,索式提取 2 h,将提取液置于碘化铋钾溶液经薄层层析(TLC)至不显色为止,回收三氯甲烷,残留物放冷至室温,用三氯甲烷溶解并定容至 20 mL;取 0.2 mL 于容量瓶中,加三氯甲烷定容至 10 mL,混匀作为样品液;取 10 mL 样品液于 3 个 20 mL 容量瓶中,加入 5.0 mL 醋酸-醋酸钠缓冲液和 2 mL 0.04% 溴甲酚绿溶液,剧烈摇动 5 min,然后静置 30 min;取下层液 5 mL,加 0.01 mol/L 氢氧化钠-乙醇溶液 1.0 mL,摇匀,于 628 nm 处测吸光度,计算生物碱含量。试验重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 标准曲线方程

经过统计处理,得到标准曲线回归方程为: $D = 0.0082C + 0.1671$, 相关系数 $r = 0.9991$, 线性范围为 2.0~12.0 mg/L。

2.2 稳定性试验

取斜脉暗罗提取溶液 0.2 mL,每隔 10 min 用分光光度计测定 1 次吸光度,结果(表 1)表明,斜脉暗罗茎、叶、皮提取物在 1 h 内稳定, RSD 值分别为 2.140%、2.070% 和 0.379%。

收稿日期:2013-05-23

基金项目:江西省教育厅项目(编号:GJJ13678);赣南医学院项目(编号:YB201218)。

作者简介:刘冰晶(1988—),男,云南昆明人,硕士,助教,从事中药化学研究。E-mail:974141690@qq.com。

3.3 精密度试验

茎、叶和皮提取物吸光度 *RSD* 值分别为 0.385%、1.882% 和 0.412%，精密度良好（表 2）。

取同一批样品，进行 6 次平行试验，测定含量，斜脉暗罗

表 1 紫外分光光度计测定斜脉暗罗生物碱稳定性试验

溶液种类	吸光度							<i>RSD</i> (%)
	间隔 10 min	间隔 20 min	间隔 30 min	间隔 40 min	间隔 50 min	间隔 60 min	平均值	
茎提取物	0.188 2	0.188 4	0.189 1	0.189 3	0.192 0	0.180 1	0.187 8	2.140
叶提取物	0.201 4	0.196 6	0.197 4	0.195 8	0.189 2	0.198 6	0.196 5	2.070
皮提取物	0.199 6	0.199 7	0.200 7	0.198 8	0.199 2	0.198 6	0.199 0	0.379

表 2 紫外分光光度计测定斜脉暗罗生物碱精密度试验

溶液种类	吸光度							<i>RSD</i> (%)
	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	平均值	
茎提取物	0.188 4	0.188 3	0.189 0	0.188 2	0.189 7	0.187 6	0.188 5	0.385
叶提取物	0.197 3	0.198 4	0.195 7	0.196 6	0.188 9	0.199 2	0.196 0	1.882
皮提取物	0.199 8	0.199 2	0.200 4	0.199 9	0.198 7	0.198 2	0.199 3	0.412

3.4 斜脉暗罗总生物碱含量测定结果

其次为树皮，其总生物碱含量为 0.790 8%；茎中总生物碱含量最少，仅为 0.267 1%。

由表 3 可见，斜脉暗罗叶生物碱含量最高，为 1.473 7%；

表 3 斜脉暗罗总生物碱含量测定结果

样品	编号	吸光度				总生物碱含量 (%)	平均含量 (%)
		重复 1	重复 2	重复 3	平均		
茎提取液	1	0.188 2	0.188 4	0.189 2	0.188 6	0.262 2	0.267 1
	2	0.188 6	0.187 9	0.188 8	0.188 4	0.259 8	
	3	0.192 1	0.189 8	0.188 2	0.190 0	0.279 3	
叶提取液	1	0.197 4	0.195 8	0.196 6	0.196 6	1.439 0	1.473 7
	2	0.198 1	0.196 6	0.197 2	0.197 3	1.473 2	
	3	0.196 7	0.198 3	0.199 1	0.198 0	1.508 9	
皮提取液	1	0.200 1	0.199 6	0.199 7	0.199 8	0.797 6	0.790 8
	2	0.198 7	0.198 9	0.199 6	0.199 1	0.779 7	
	3	0.198 6	0.199 8	0.200 7	0.199 7	0.795 1	

3 小结与讨论

以小檗碱为标准品，测定斜脉暗罗茎、叶和皮总生物碱分
光含量分别为 0.267 1%、1.473 7% 和 0.790 8%。利用紫外分
光光度法测定斜脉暗罗茎、叶、皮中总生物碱含量，操作简便快
捷，灵敏度高，重现性好，测定结果准确可靠。该方法与重量
法、滴定法等测定方法比较，克服了多次重复萃取所造成的误
差；与液相色谱法比较，具有所用仪器简单、操作方便、耗时少
的优点。本研究结果可为斜脉暗罗的开发利用提供科学依据。

参考文献：

[1] 吴德邻. 海南及广东沿海岛屿植物名录[M]. 北京: 科学出版社, 1994: 9-10.
[2] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第 2 分册 [M]. 北京: 科学出版社, 1979.
[3] Hasan C M, Mohammad A, Hossain A A, Rashid, clerodane diterpe-

noids from *Polyalthia iongifolia* var. *pendulla* [J]. Biochem Systematics and Ecology, 1995, 23(3): 331-332.
[4] Paarakh P M, Khosa R L. Phytoconstituents from the genus *Polyalthia*: a review [J]. Journal of Pharmacy Research, 2009, 2(4): 594-605.
[5] Liu B, Wang L, Chen G, et al. Isolation and crystal structure of marcanine A from *Polyalthia plagioneura* [J]. Molecules, 2010, 15(9): 6349-6356.
[6] Liu B, Chen G, Cen C, et al. 1-(5-Hydroxy-7-methoxy-2,2-dimethyl-2H-chromen-6-yl)ethan-1-one [J]. Acta Crystallographica Section E: Struct Rep Online, 2010, 66(6): o1441.
[7] 刘冰晶, 陈光英, 简蓝, 等. 斜脉暗罗茎化学成分研究 (I) [J]. 中草药, 2011, 42(7): 1264-1266.
[8] 蔡大可, 李耿, 彭绍忠, 等. 酸性染料比色法测定痹痛消膏中乌头生物碱的含量 [J]. 中药新药与临床药理, 2007, 18(1): 57-59.
[9] 敖茂宏, 刘海, 吴明开. 酸性染料比色法测定不同产地流苏石斛中总生物碱的含量 [J]. 江苏农业科学, 2012, 40(10): 282-283.