

# 分光光度法测定夹竹桃树皮、叶中的总强心苷含量

黄泰奇<sup>1</sup> 朱 锐 胡子康 冉金龙 金卫华<sup>通讯作者</sup>

武汉东湖学院生命科学与化学学院, 中国·湖北 武汉 430212

**【摘要】**建立夹竹桃树皮、叶中总强心苷含量测定方法; 利用甲型强心苷 $\alpha$ ,  $\beta$ -不饱和内酯环在碱性醇溶液中与活性亚甲基试剂作用显色的原理, 采用分光光度法建立夹竹桃树皮、叶中强心苷含量测定的方法; 其中, 以地高辛作为标准品, 苦味酸-氢氧化钠溶液作为显色剂, 在490nm波长下测定吸光值, 地高辛浓度为 $0 \sim 0.24 \text{ mg/ml}$ 时标准品含量与吸光值线性关系良好; 回归方程为 $y = 3.2629x + 0.0172$  ( $R = 0.9995$ ); 精密度 $RSD = 0.17\%$ ; 树皮、叶的平均加样回收率分别为98.65%和95.16%,  $RSD$ 分别为2.36%和1.84% ( $n = 6$ )。本研究建立的夹竹桃树皮、叶中的总强心苷含量测定方法稳定性和重复性高, 回收实验结果良好, 可用于夹竹桃药材质量评价。

**【关键词】**夹竹桃; 总强心苷; 分光光度法

**【基金项目】**武汉东湖学院“东湖未来之星”大学生科研项目(2020)。

## 引言

夹竹桃(*Nerium oleander* L.)夹竹桃为夹竹桃科夹竹桃属植物, 为我国常见观赏植物, 对多种有害气体具有抗性, 具有净化空气的作用。夹竹桃含有孕甾类、生物碱类、萜类、强心苷类等活性成分, 具有强心、利尿等功效<sup>[2]</sup>, 其提取物对多种害虫以及钉螺有毒害作用<sup>[1]</sup>, 可用于制备生物农药。此外, 夹竹桃还具有开发新型抗癌药物的潜力, 张援虎<sup>[3]</sup>等人分离出了5种可抑制多种癌细胞的强心苷类化合物。综上所述, 夹竹桃具有多种药用价值且来源广泛、价格低廉, 可直接利用园林绿化修剪所得的枝、叶制备农药及多种药物, 因此, 本研究通过建立夹竹桃树皮、叶中总强心苷含量测定方法, 评价夹竹桃药材质量, 为夹竹桃应用以及质量控制提供评价方法。

## 1 材料

### 1.1 仪器与试剂

1.1.1 仪器。LY22-500A型超声波清洗机(上海兰仪实业有限公司)、RE-52A型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)、IWFJ7200型可见分光光度计(上海尤尼柯仪器有限公司)、FB24电子分析天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司)、FW100粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司)。

1.1.2 试剂。地高辛标准品(TCI), 苦味酸(台山市化工有限公司), 乙醇(国药集团化学试剂有限公司)、氢氧化钠(天津市化学试剂三厂)

### 1.2 材料

实验所用材料为夹竹桃(*Nerium indicum*)的树皮、叶, 2021年3月采于武汉东湖学院绿化带。

## 2 方法与结果

### 2.1 方法学验证

2.1.1 线性关系。取地高辛标准品10mg, 加60%乙醇溶解, 定容至25mL制成标准液。量取标准液0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6mL, 60%乙醇定容至1mL, 分别加入碱性苦味酸试剂

(1%苦味酸溶液3.8mL, 1mol/LNaOH溶液0.2mL混合)4mL, 混匀, 静置30min, 490nm波长下测吸光值, 得回归方程 $y = 3.2629x + 0.0172$  ( $R = 0.9995$ )说明地高辛标准品在 $0 \sim 0.24 \text{ mg/mL}$ 的浓度下线性关系良好。结果如图1。

2.1.2 样品溶液制备方法。称取10.0000g粉碎过筛的夹竹桃树皮、叶, 80mL 95%乙醇超声提取2次, 每次30min, 过滤, 减压回收乙醇, 碱式醋酸铅溶液沉淀过滤去除色素, 饱和硫酸钾溶液沉淀多余可溶性铅, 加乙醇定容至10mL并使乙醇最终浓度为60%, 即为样品溶液。

2.1.3 精密度实验。精密吸取地高辛标准液0.45mL, 60%乙醇稀释至1mL, 依法显色, 测定吸光值。重复上述操作6次, 结果见表1, 吸光值的 $RSD$ 为0.17%, 提示仪器精密度良好。

表1 精密度实验结果

| 实验号             | 吸光值(A)            |
|-----------------|-------------------|
| 1               | 0.617             |
| 2               | 0.614             |
| 3               | 0.615             |
| 4               | 0.616             |
| 5               | 0.615             |
| 6               | 0.616             |
| $\bar{x} \pm s$ | $0.616 \pm 0.001$ |
| RSD (%)         | 0.17%             |

2.1.4 重复性实验。另取10.0000g树皮、叶样品各一份, 按2.1.2中方法制备样品液, 取6份1mL样品液, 依法显色, 测定吸光值, 结果见表3, 树皮、叶吸光值 $RSD$ 分别为0.35%和0.95%, 说明该法重复性良好。

表3 重复性实验结果

| 实验号             | 树皮吸光值(A)          | 叶吸光值(A)           |
|-----------------|-------------------|-------------------|
| 1               | 0.41              | 0.342             |
| 2               | 0.412             | 0.345             |
| 3               | 0.413             | 0.336             |
| 4               | 0.414             | 0.337             |
| 5               | 0.414             | 0.338             |
| 6               | 0.414             | 0.337             |
| $\bar{x} \pm s$ | $0.413 \pm 0.001$ | $0.339 \pm 0.003$ |
| RSD (%)         | 0.35%             | 0.95%             |

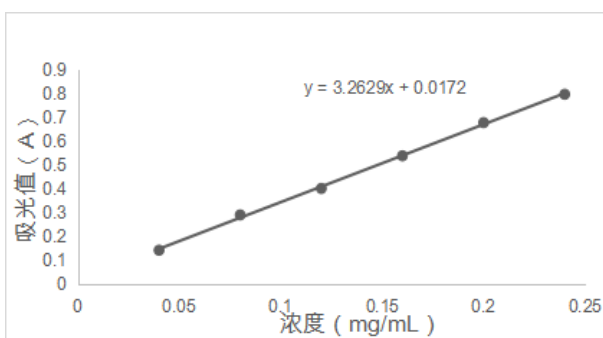


图1 标准曲线图

2.1.5 稳定性实验。取 2.1.2 中样品溶液 1mL, 依法显色, 每 5min 测一次吸光值, 结果见表 2, 树皮、叶吸光值 RSD 分别为 1.85% 和 1.16%, 说明 25 分钟内吸光值稳定性良好。

表2 稳定性实验结果

| 时间 (min)        | 树皮吸光值 (A)  | 叶吸光值 (A)    |
|-----------------|------------|-------------|
| 30              | 0.507      | 0.442       |
| 35              | 0.502      | 0.449       |
| 40              | 0.517      | 0.452       |
| 45              | 0.522      | 0.454       |
| 50              | 0.527      | 0.458       |
| 55              | 0.527      | 0.456       |
| $\bar{x} \pm s$ | 0.517±0.01 | 0.452±0.005 |
| RSD (%)         | 1.85%      | 1.16%       |

2.1.6 加样回收实验。称取一定量已知含量的夹竹桃树皮、叶样品各 6 份并加入一定量地高辛标准品, 按 2.1.2 中方法制备样品液, 依法显色, 测定吸光值, 计算回收率, 结果见表 4, 树皮、叶的平均回收率分别 98.65% 和 95.16%, RSD 分别为 2.36% 和 1.84%。

表4 加样回收实验结果

| 样品号 | 总强心苷含量 (mg) |       | 标准品加入量 (mg) | 总强心苷测得量 (mg) |       | 回收率 (%) |        | RSD (%) |       |
|-----|-------------|-------|-------------|--------------|-------|---------|--------|---------|-------|
|     | 树皮          | 叶     |             | 树皮           | 叶     | 树皮      | 叶      | 树皮      | 叶     |
| 1   | 0.081       | 0.109 | 0.04        | 0.118        | 0.141 | 97.52%  | 94.63% | 2.36%   | 1.84% |
| 2   | 0.093       | 0.102 |             | 0.132        | 0.14  | 99.25%  | 98.59% |         |       |
| 3   | 0.105       | 0.093 |             | 0.139        | 0.125 | 95.86%  | 93.98% |         |       |
| 4   | 0.097       | 0.106 |             | 0.135        | 0.137 | 98.54%  | 93.84% |         |       |
| 5   | 0.106       | 0.101 |             | 0.143        | 0.134 | 97.95%  | 95.04% |         |       |
| 6   | 0.103       | 0.097 |             | 0.147        | 0.13  | 102.80% | 94.89% |         |       |

2.1.7 样品中总强心苷含量测定。采集 6 株夹竹桃树皮、叶样品, 按 2.1.2 中方法制备样品液, 依法显色, 测定吸光值, 计算含量, 测定结果如表 5。

含量计算公式: 总强心苷含量 =  $[(A-0.0172)/3.2629*10]/10000*100\%$

表5 样品含量测定结果

| 植株号 | 树皮      |       | 叶       |       |
|-----|---------|-------|---------|-------|
|     | 吸光值 (A) | 含量%   | 吸光值 (A) | 含量%   |
| 1   | 0.29    | 0.01% | 0.386   | 0.01% |
| 2   | 0.407   | 0.01% | 0.356   | 0.01% |
| 3   | 0.378   | 0.01% | 0.399   | 0.01% |
| 4   | 0.455   | 0.01% | 0.356   | 0.01% |
| 5   | 0.389   | 0.01% | 0.335   | 0.01% |
| 6   | 0.372   | 0.01% | 0.327   | 0.01% |
| 平均值 | 0.382   | 0.01% | 0.36    | 0.01% |

### 3 讨论

夹竹桃树皮和叶均含有一定量色素, 其中叶中叶绿素等色素含量较高, 在测定所用的 490nm 波长下会形成较大干扰, 因此, 实际测定吸光值前必须用碱式醋酸铅溶液尽量除去色素, 再用硫酸钾沉淀多余可溶性铅以防污染环境。根据 2.1.7 中样品含量测定结果来看, 武汉东湖学院校内夹竹桃采集所得树皮和叶样品中总强心苷含量基本都接近 0.011%, 远低于文献<sup>[4]</sup>报道的 0.5% 含量, 这可能与气候、土壤等环境因素有关。

### 参考文献:

- [1] 王万贤, 杨毅, 王宏, 舒丽慧, 张勇, 张佳磊, 侯金华. 夹竹桃强心总甙灭螺活性与机理[J]. 生态学报, 2006 (03): 954-959.
- [2] 中国中医研究院. 中医大辞典 (第 2 版) [J]. 2006.
- [3] 张援虎, 郝小江, 宋少辉, 徐冉. 从夹竹桃中分离出的几种强心苷化合物及其应用 [P]. 贵州: CN102030796A, 2011-04-27.
- [4] Karawya M S, Balbaa S I, Khayyal S E. Estimation of cardenolides in Nerium oleander [J]. Planta Medica, 1973, 23 (01): 70-73.

### 作者简介:

黄泰奇 (1999-), 男, 湖北鄂州人, 本科生。

### 通信作者:

金卫华 (1976-), 男, 湖北潜江人, 硕士, 讲师, 生物制药。