

麻疯树脱油种仁的总生物碱： 提取及酸性染料比色法含量测定*

冯艳¹ 张晓喻^{1,2} 梁慧¹ 彭彤¹ 唐琳^{1**}

(¹四川大学生命科学学院 成都 610064)
(²四川师范大学生命科学学院 成都 610068)

摘要 对不同产地麻疯树脱油种仁中的总生物碱进行提取,采用酸性染料比色法,以盐酸川芎嗪为对照品,于420 nm处测定总生物碱含量,并利用单因素法考察最佳提取条件.结果表明,盐酸川芎嗪在0.036~0.180 mg mL⁻¹范围内线性关系良好($R^2=0.9999$),平均加样回收率为98.19%,RSD为2.53%($N=6$).7个不同产地麻疯树脱油种仁中总生物碱含量在3.817~4.467 mg g⁻¹之间,其中四川攀枝花地区的总生物碱含量最高.该方法操作简便,准确可靠,重复性好,可作为麻疯树脱油种仁总生物碱的含量测定方法.图2 表2 参15

关键词 麻疯树;脱油种仁;总生物碱;酸性染料比色法;盐酸川芎嗪
CLC Q946.88 : Q949.753.5

Total Alkaloids in Defatted Kernel of *Jatropha curcas*: Extraction and Content Determination by Acid Dye Colorimetry*

FENG Yan¹, ZHANG Xiaoyu^{1,2}, LIANG Hui¹, PENG Tong¹ & TANG Lin^{1**}

(¹College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610064, China)
(²College of Life Sciences, Sichuan Normal University, Chengdu 610068, China)

Abstract A method was established for extraction and content determination of total alkaloids in defatted kernel of *Jatropha curcas*, and the contents of the total alkaloids from *J. curcas* growing in different habitats were compared. With Chuanxiongzine hydrochloridum as control, acid dye colorimetry was used to determine the contents of the total alkaloids at wavelength of 420 nm by UV-visible spectrophotometry, and the optimum extraction conditions were confirmed by single factor tests. The calibration curve of Chuanxiongzine hydrochloridum was in good linearity in the range of 0.036~0.108 mg mL⁻¹ ($R^2=0.9999$), and the average recovery was 98.19%, with RSD of 2.53% ($N=6$). The contents of the total alkaloids in chloroform extract samples of *J. curcas* defatted kernel from different origins were 3.817 to 4.467 mg g⁻¹, and the defatted kernel from Panzhihua, Sichuan, China possessed the highest total alkaloids content. This method is simple and accurate with high repeatability, and can be applied to determine total alkaloids in defatted kernel of *J. curcas*. Fig 2, Tab 2, Ref 15

Keywords *Jatropha curcas* L.; defatted kernel; total alkaloids; acid dye colorimetry; chuanxiongzine hydrochloridum
CLC Q946.88 : Q949.753.5

麻疯树,也称小桐子(*Jatropha curcas* L.),为大戟科(Euphorbiaceae)麻疯树属(*Jatropha*)植物,该属植物在世界各地有200多种,主要集中在美洲热带和亚热带地区^[1].在我国,麻疯树主要分布在云南、广东、广西、贵州、福建、四川和海南等地区^[2].麻疯树的有效成分存在于种子、树皮、叶、根和乳汁中,具有重要的抗肿瘤、抗病毒、抗真菌等药用活性,在我国民间常用于止痛、消毒、清洁、利尿、止血、麻醉、杀虫以及治疗创伤等^[3-6].据文献报道,从麻疯树的“乳汁”中分离得到的麻疯树碱(Jatrophine)具有抗肿瘤活性^[7];从麻疯树种子、枝叶中提取的生物碱类物质——麻疯树素,具有强烈的灭螺(钉螺、福寿螺等)效果^[8];麻疯树种子粗提物(生物碱)对小菜蛾具有较好的拒食和产卵驱避作用^[9].

麻疯树种子可作为生产生物柴油的原料,其脱油后余下副产品中含有丰富的营养成分如蛋白质、氨基酸、粗纤维以及矿物质元素等,有着开发为饲料的潜力,可节约粮食、降低饲料成本、提高经济效益^[10],同时麻疯树脱油种仁中也含有多种生物活性成分如皂苷、甾体、萜类、生物碱等^[11].鉴于生物碱在药用方面的利用价值,为更好地综合开发、利用麻疯树资源,有必要对麻疯树脱油种仁中总生物碱进行含量测定.

目前尚未见到麻疯树种子生物碱成分组成的报道,但Ojewole等已在麻疯树同属植物佛肚树(*J. podagrica* L.)总生物碱中分离得到四甲基吡嗪(川芎嗪)^[12].目前测定总生物碱含量的方法有酸性染料比色法、沉淀法、两相滴定法等,而酸性染料比色法是药材中总生物碱含量测定的常用方法.李晨等人以酸性染料比色法测定了白英中总生物碱^[13],邵晶等人用酸性染料比色法测定了不同产地苦参药材中总生物碱的含量,其实验结果表明该方法准确、可靠、简便、灵敏度高^[14].我们以盐酸川芎嗪为对照品,采用酸性染料比色法,首次建立了麻疯树脱油种仁总生物碱含量测定的方法,并比较

收稿日期: 2010-01-21 接受日期: 2010-03-05

*国家“十一五”科技支撑计划课题(No. 2007BAD50B05)和四川省科技支撑课题(No. 2008GZ0024)资助 Supported by the Key Sci-tech Project of the “11th 5-year Plan” of China (No. 2007BAD50B05) and the Key Sci-tech Project of Sichuan, China (No. 2008GZ0024)

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: tangl66@sina.com)

了不同产地麻疯树脱油种仁中总生物碱的含量,为麻疯树种仁中生物碱的开发利用提供基础依据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

麻疯树种子采集于印度尼西亚巴厘巴板(Balikpapan)及我国四川省盐源县小金河、四川省盐源县甘塘乡、四川省攀枝花地区、云南省永胜县仁里乡、云南省元谋县元马镇和云南省永胜县片角乡等7个地区,经四川大学生命科学学院白洁副教授鉴定为麻疯树(*J. curcas* L.)种子。取自然干燥的成熟种子进行实验。

盐酸川芎嗪对照品购自中国药品生物制品检定所(编号110817-200305);溴甲酚绿、柠檬酸、磷酸氢二钠(成都科龙化工试剂厂);其它试剂均为分析纯。

UV-1700紫外可见分光光度计(SHIMADZU Corporation);PHS-4CT型数字酸度计(上海康仪仪器有限公司);

1.2 方法

1.2.1 溶液的配制 溴甲酚绿缓冲液的配制:取0.2 mol L⁻¹的Na₂HPO₄(44.1 mL)和0.2 mol L⁻¹的柠檬酸(55.9 mL),酸度计校正为pH 4.4的缓冲溶液。精密称取0.050 0 g溴甲酚绿指示剂,再加入配制好的柠檬酸-Na₂HPO₄缓冲液,定容至100 mL,即制得溴甲酚绿缓冲液。

样品溶液的制备:精密称取麻疯树脱油种仁粉末1 g,置于50 mL具塞锥形瓶中,加入适量的氨水浸润。每次以1:25的料液比精密量取25 mL氯仿加入,100 W的功率超声提取3次,每次15 min,静置过滤,并洗涤滤渣3次。收集合并滤液,减压浓缩,用氯仿定容至5 mL容量瓶中,即制得样品溶液。

对照品溶液的制备:精密称取盐酸川芎嗪对照品0.018 0 g至25 mL容量瓶中,用氯仿溶解并稀释至刻度,即得0.720 mg mL⁻¹的盐酸川芎嗪对照品溶液。

1.2.2 测定波长的选择 精密量取适量盐酸川芎嗪对照品溶液和样品溶液,分别置于60 mL分液漏斗中,再依次加入溴甲酚绿缓冲液7 mL和氯仿10 mL,振摇2 min,静置2 h,分取氯仿层,得盐酸川芎嗪对照品显色液和样品显色液。同法制得空白溶液,以空白溶液为参比,200~700 nm范围内进行光谱扫描。

1.2.3 标准曲线绘制 精密量取盐酸川芎嗪对照品溶液0.5 mL、1 mL、1.5 mL、2.0 mL、2.5 mL,分别置于60 mL分液漏斗中,再加入溴甲酚绿缓冲液7 mL,并加入氯仿至10 mL,按“1.2.2”项下方法显色,分取氯仿层,以空白溶液为参比,于420 nm处测定吸光度。以盐酸川芎嗪对照品质量浓度(mg mL⁻¹)为横坐标,吸光度(A)为纵坐标进行线性拟合,绘制标准曲线。

1.2.4 显色条件的选择 缓冲液pH值的选择:精密量取样品溶液6份,每份1 mL,置于分液漏斗中,分别加入pH 3.2、3.6、4.0、4.4、4.8、5.2的柠檬酸-Na₂HPO₄缓冲液配制而成的溴甲酚绿显色剂,按“1.2.2”项下方法显色,分取氯仿层,以空白溶液为参比,于420 nm下测定溶液吸光度。

溴甲酚绿缓冲液用量的选择:精密量取样品溶液5份,每份1 mL,再分别加入溴甲酚绿缓冲液5、6、7、8和9 mL,按

“1.2.2”项下方法显色,取澄清氯仿层,以空白溶液为参比,于420 nm下测定溶液吸光度。

氯仿用量的选择:精密量取样品溶液6份,每份1 mL,分别加入溴甲酚绿缓冲液7 mL,再分别加入氯仿8、10、12、14、16、18 mL,按“1.2.2”项下方法显色,分取氯仿层,以空白溶液为参比,于420 nm下测定溶液吸光度。

1.2.5 总生物碱提取条件的选择 不同提取方法的比较:精密称取同一批云南麻疯树脱油种仁粉末约1 g,共9份,按下述方式提取。冷浸法:将麻疯树脱油种仁粉末置于100 mL具塞锥形瓶中,加适量氨水浸润,精确加入氯仿75 mL,静置72 h,过滤,收集滤液,35 °C减压浓缩至干,蒸干的提取物用氯仿溶解并定容至5 mL容量瓶中,取2 mL按“1.2.2”显色测定。超声提取法:将麻疯树脱油种仁粉末置于50 mL具塞锥形瓶中,加适量氨水,精密加入氯仿25 mL,超声10 min,重复3次,过滤,收集滤液,35 °C减压浓缩至干,蒸干的提取物用氯仿溶解并定容至5 mL容量瓶中,取2 mL按“1.2.2”显色测定。回流提取法:将麻疯树脱油种仁粉末置于50 mL圆底烧瓶中,加适量氨水,精密加入氯仿25 mL,回流提取2 h,重复3次,过滤,收集滤液,35 °C减压浓缩至干,蒸干的提取物用氯仿溶解并定容至5 mL容量瓶中,取2 mL按“1.2.2”显色测定。

提取溶剂的确定:精密称取同一批云南麻疯树脱油种仁粉末约1 g,共9份,分别精密加入95%乙醇、1%醋酸水溶液、氯仿25 mL,超声10 min,重复3次,过滤,收集滤液,35 °C减压浓缩至干,用氯仿溶解并定容至5 mL备用,取2 mL按“1.2.2”显色测定。

溶剂加入量的确定:精密称取同一批云南麻疯树脱油种仁粉末约1 g,共18份,置于50 mL具塞锥形瓶中,分别按料液比为1:10、1:15、1:20、1:25、1:30、1:40加入氯仿,超声提取10 min,重复3次,过滤,收集滤液,35 °C减压浓缩至干,蒸干的提取物用氯仿溶解并定容至5 mL容量瓶中,取2 mL按“1.2.2”显色测定。

超声时间的确定:精密称取同一批云南麻疯树脱油种仁粉末1 g,共15份,置于50 mL具塞锥形瓶中,分别加入25 mL氯仿,分别超声提取5、10、15、30、60 min,重复3次,过滤,收集滤液,35 °C减压浓缩至干,蒸干的提取物用氯仿溶解并定容至5 mL容量瓶中,按“1.2.2”显色测定。

1.2.6 稳定性试验 取“1.2.2”项下显色后的样品溶液,分别放置0、1、2、3、4、5 h后,于420 nm下测定吸光度,计算其RSD,考察样品的稳定性。

1.2.7 精密度试验 精密量取盐酸川芎嗪对照品溶液(0.72 mg mL⁻¹),按“1.2.2”项下方法显色,分取氯仿层,于420 nm下测定吸光度,连续6次,记录吸光度,计算RSD,考察仪器的精密度。

1.2.8 重现性实验 分别称取同一批样品6份,各约1 g,按“1.2.1”项下样品溶液制备方法制备样品溶液,按“1.2.2”项下方法显色后分取氯仿层,测定吸光度,并计算样品中总生物碱含量以及RSD,考察该方法的重现性。

1.2.9 加样回收率试验 分别精密称取已知总生物碱含量的同一批麻疯树脱油种仁样品6份,各约1 g,置于50 mL具塞锥形瓶中,再分别精密加入盐酸川芎嗪对照品溶液(0.348

mg mL⁻¹) 2 mL, 按“1.2.1”项中样品溶液制备方法制备样品溶液, 按“1.2.2”项方法显色, 分取氯仿层, 测定吸光度, 并计算其加样回收率和RSD.

2 结果与分析

2.1 测定波长的选择

光谱扫描结果如图1所示, 在350~700 nm区间, 盐酸川芎嗪对照品和样品溶液均在420 nm处有最大吸收, 故溴甲酚绿显色比色法测定麻疯树脱油种仁总生物碱的选择波长为420 nm.

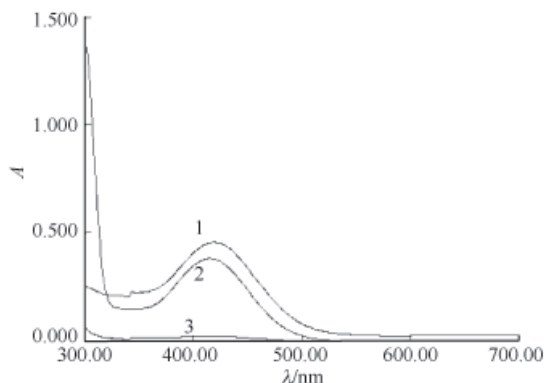


图1 麻疯树脱油种仁中总生物碱样品、盐酸川芎嗪对照品以及空白对照的紫外可见光谱图

Fig. 1 The UV-Vis spectrum of sample, chuanxiongazine hydrochloridum and CK

1: 样品; 2: 盐酸川芎嗪; 3: 空白对照

1: Sample; 2: Chuanxiongazine hydrochloridum; 3: CK

2.2 线性范围

按条件绘制标准曲线并进行线性回归, 得回归方程: $y = 3.0611x + 0.0856$ ($R^2=0.9999$), 表明盐酸川芎嗪对照品在0.036~0.180 mg mL⁻¹的范围内浓度与吸光度呈良好的线性关系.

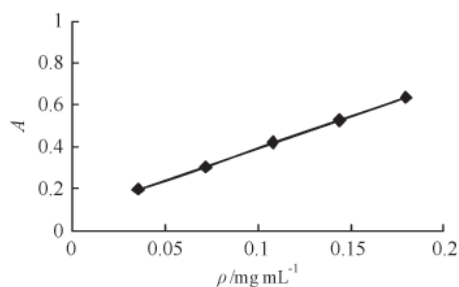


图2 盐酸川芎嗪标准曲线图

Fig. 2 Standard curve of chuanxiongazine hydrochloridum

2.3 显色条件的选择

2.3.1 缓冲液pH值的选择 实验结果表明, 柠檬酸-Na₂HPO₄缓冲液pH值为4.4时, 样品溶液的吸光值最大, 故选择pH值为4.4的柠檬酸-Na₂HPO₄缓冲液配制的溴甲酚绿溶液为显色剂.

2.3.2 溴甲酚绿缓冲液用量的选择 实验结果表明, 溴甲酚绿缓冲液用量为7 mL时, 已能使生物碱充分结合, 吸光度最大, 再增加用量, 反而会因空白溶液颜色加深, 导致吸光度下降, 故该方法中溴甲酚绿缓冲液的用量为7 mL.

2.3.3 氯仿用量的选择 实验结果表明, 氯仿的用量超过10

mL后, 吸光度基本稳定, 说明生物碱与溴甲酚绿的配合物已基本萃取完全, 故该方法中氯仿的用量为10 mL.

2.4 总生物碱提取条件的选择

2.4.1 提取方法的选择 实验结果表明, 超声提取法的总生物碱含量高, 且该方法操作简便; 回流提取法总生物碱含量相对较高, 但易导致热破坏; 冷浸提取法总生物碱含量最低. 故用超声提取法效果最好.

2.4.2 提取溶剂的选择 溶剂为氯仿总生物碱含量最高; 95%乙醇次之; 1%醋酸水溶液总生物碱含量最低. 麻疯树籽粕粉未经碱化后, 其中的生物碱游离出来而溶于氯仿中被提取, 因此总生物碱含量增高, 故该方法选用氯仿为提取溶剂.

2.4.3 溶剂加入量的选择 料液比在1:10~1:25 g mL⁻¹范围内, 总生物碱含量逐渐增加, 之后总生物碱含量并未随着溶媒比例增加而增加, 故最佳提取料液比为1:25 g mL⁻¹.

2.4.4 超声时间的选择 超声提取时间为15 min时, 总生物碱已提取充分, 超声时间不够生物碱未被完全提取出来, 超声时间过长, 总生物碱含量反而降低, 故该方法中超声时间定位15 min.

2.5 稳定性试验

样品溶液显色后5 h内, 每隔一小时测定其吸光度, 结果放置0、1、2、3、4、5 h后, 吸光度依次为0.378、0.379、0.381、0.380、0.381、0.382、0.390, 表明吸光度的RSD为0.39%, 样品显色后5 h内基本稳定.

2.6 精密度试验

取盐酸川芎嗪对照品溶液(0.72 mg mL⁻¹), 显色后于420 nm连续测定6次, 记录吸光度依次为0.303、0.304、0.305、0.304、0.305, 计算RSD为0.27%, 表明仪器精密度符合要求.

2.7 重现性实验

分别称取同一批样品6份, 各约1 g, 进行重现性实验, 计算得到6份样品的总生物碱含量依次为4.772 mg g⁻¹、4.968 mg g⁻¹、4.919 mg g⁻¹、4.838 mg g⁻¹、4.799 mg g⁻¹、4.820 mg g⁻¹, 其含量的RSD为1.55%, 说明该方法的重现性良好.

2.8 加样回收率试验

分别精密称取已知含量的同一批麻疯树籽粕样品6份, 进行加样回收率实验, 结果总生物碱平均回收率为98.19%, RSD为2.53%, 表明该方法的测定结果在线性范围内是可靠的. 实验结果见表1.

表1 加样回收率测定结果 (N=6)
Table 1 The recovery of Chuanxiongazine hydrochloridum added in total alkaloids samples (N=6)

样品重量 Sample weight (m/g)	1.0000	1.0031	1.0066	1.0080	1.0100	1.0102
样品中的含量 Total alkaloids content in sample (m/mg)	4.850	4.865	4.882	4.889	4.899	4.899
对照品加入量 Standard content (m/mg)	0.696	0.696	0.696	0.696	0.696	0.696
测得值 Measured value (m/mg)	5.515	5.537	5.583	5.560	5.583	5.606
回收率 Recovery (r/%)	95.48	96.61	100.70	96.45	98.30	101.60
平均回收率 Average recovery (r/%)	98.19					
相对标准偏差 Relative standard deviation (RSD/%)	2.53					

2.9 样品含量的测定

精密称取7个不同产地的麻疯树脱油种仁粉末, 各约1 g, 共21份, 按“1.2.1”项方法制备样品溶液, 按“1.2.2”项方法显色后分取氯仿层, 测定吸光度, 并计算其总生物碱含量和RSD. 结果表明, 四川攀枝花的麻疯树脱油种仁中总生物碱含量最高, 其次是印度尼西亚巴厘巴板, 整体看来各地的麻疯树脱油种仁中总生物碱含量均存在差异. 结果见表2.

表2 不同产地麻疯树脱油种仁总生物碱含量测定结果 (N=3)
Table 2 Total alkaloids content in the defatted kernel of *J. curcas* from different areas (N=3)

样品采集地 Sample origin	总生物碱含量 Total alkaloid content (w/mg g ⁻¹)	相对标准偏差 Relative standard deviation (RSD/%)
印度尼西亚巴厘巴板 Balikpapan, Indonesia	4.300	1.16
四川小金河 Xiaojinhe, Sichuan, China	3.633	2.10
四川甘塘乡 Gantang, Sichuan, China	3.817	0.76
四川攀枝花 Panzhihua, Sichuan, China	4.467	2.82
云南片角乡 Pianjiao, Yunnan, China	3.833	2.72
云南元马镇 Yuanma, Yunnan, China	4.183	1.83
云南仁里 Renli, Yunnan, China	4.150	1.20

3 讨论

本实验采用酸性染料比色法, 筛选出了麻疯树种仁中总生物碱的最佳提取条件和显色条件, 建立了一套稳定的含量测定方法. 较之沉淀法、两相滴定法, 该方法既可以避免沉淀法中蛋白、鞣质等杂质成分的干扰, 亦能消除两相滴定法中终点判断困难所带来的误差. 并且, 由于麻疯树脱油种仁生物碱成分复杂, 高效液相色谱法 (HPLC法) 测定其含量时样品柱前处理操作复杂、时间长、效率低, 而本文采用的酸性染料比色法, 总生物碱提取液不需进一步分离纯化, 可直接用紫外可见分光光度法测定, 具有快速、准确、简便、稳定、灵敏度高之特点, 适合于大量样品的快速分析, 易于推广应用. 此外, 由于生物碱一般以盐的形式存在于植物细胞中, 因此实验中以适量氨水润湿样品, 使生物碱盐类变成游离碱, 再用氯仿进行提取, 可以提高总生物碱的提取量, 同时此方法相对偏差和变异系数小.

鉴于麻疯树种仁中生物碱类化学成分尚不明确, 因此参考Ojewole的研究结果比较了盐酸川芎嗪与麻疯树脱油种仁中提取总生物碱样品的紫外吸收特征, 它们在420 nm处均有一最高吸收峰, 故本文选用盐酸川芎嗪为对照品, 间接地反映了麻疯树脱油种仁中总生物碱的含量. 有关麻疯树脱油种仁中生物碱类物质的化学成分, 尚在进一步研究中.

实验结果表明7个不同产地麻疯树脱油种仁中总生物碱含量均存在差异, 其中四川攀枝花地区麻疯树脱油种仁中总生物碱含量最高, 其次是印度尼西亚巴厘巴板 (Balikpapan), 分析引起差异的原因可能是不同产地麻疯树生境、本身的种质资源以及长期以来的变异, 由此看来产区的选择对麻疯树药用价值的开发极其必要, 根据实验结果可选择此产区的种子进行生物碱成分以及各种生物活性的进

一步研究.

在生物体内生物碱是生药中一类具有多种生物活性的有效成分, 在医药和农药领域有广阔的应用前景^[15]. 因此, 在以后研究中有必要对其中的总生物碱进行动物毒性试验, 研究生物碱是否是麻疯树种仁毒性的另一来源, 挖掘其在饲料方面的利用潜能; 对其中的生物碱进一步分离、纯化并进行抗菌、抗肿瘤活性筛选, 促进麻疯树种仁中生物碱在医药、农药等方面的研发和应用.

References

- Lin J (林娟), Zhou XW (周选围), Tang KX (唐克轩), Chen F (陈放). A survey of the studies on the resources of *Jatropha curcas*. *J Trop & Subtrop Bot* (热带亚热带植物学报), 2004, **12** (3): 285~290
- Li YF (李远发), Liang KH (梁葵华), Wang LH (王凌晖). *Jatropha curcas* resources distribution and applied research. *Guangxi Agric Sci* (广西农业科学), 2009, **40** (3): 311~314
- Zhou QL (周黔兰). Progress of *Jatropha* medical research. *Mod Agric Sci* (现代农业科学), 2009, **16** (5): 120~121
- Fan JD (范菊娣), Yang S (杨松), Song BA (宋宝安), Li D (李东), Zhang Y (张英). Research advances in pesticidal and medical activity of *Jatropha curcas*. *Agrochemicals* (农药), 2006, **45** (5): 298~301
- Matsuse IT, Lim YA, Hattori M, Correa M, Gupta MP. A search for antiviral properties in Panamanian medicinal plants. *J Ethnopharmacol*, 1999, **64**: 15~22
- Mujumdar AM, Misar AV. Anti-inflammatory activity of *Jatropha curcas* roots in mice and rats. *J Ethnopharmacol*, 2004, **90**: 11~15
- Naengehomong W, Thebtaramonth Y, Wiriyachitra P, Okamoto KT, Clardy J. Isolation and structure deterpenes from *Jatropha curcas*. *Tetrahedron Lett*, 1986, **27** (2): 2443~2444
- Li J (李静), Yan F (颜飏), Wu FH (吴芬宏), Yue BS (岳碧松), Chen F (陈放). Insecticidal activity of extracts from *Jatropha curcas* seed against *Lipaphis erysimi*. *J Plant Prot* (植物保护学报), 2004, **31** (3): 289~293
- 韩朋辉, 朱朝华, 朱麟. 麻疯树种仁提取物 (生物碱) 对小菜蛾的生物活性研究. *广西热带农业*, 2009 (4): 9~10
- Liang H (梁慧), Peng T (彭彤), Yan F (颜飏), Tang L (唐琳), Chen F (陈放). Oil content in kernel and phorbol ester in defatted kernel of *Jatropha curcas* from different origins. *Chin J Appl Environ Biol* (应用与环境生物学报), 2009, **15** (4): 546~548
- Xiao ZB (肖卓炳), Chen S (陈上), Ma MY (麻明友), Wu XM (吴显明), He ZQ (何则强). Extraction of sapoins and steroids from *Jatropha curcas* seed meal. *Food Sci* (食品科学), 2008, **29** (11): 284~286
- Ojewole, John AO. Antibronchoconstrictor and antiarrhythmic effects of chemical compounds from Nigerian medicinal plants. *Fitoterapia*, 1983, **54** (4): 153~161
- Li C (李晨), Wei YF (卫莹芳), Xu YJ (许一江), Liu Y (刘永), Xie DW (谢达温). Determination of the total alkaloid content of *Solanum lyratum* of different places of production. *J Sichuan Trad Chin Med* (四川中医), 2009, **27** (12): 65~66
- Shao J (邵晶), Ni JM (倪京满), Guo M (郭玫), Zhao L (赵磊), Yu XH (余晓晖). Comparison of total alkaloid content in *Sophora flavescens* Ait. medicinal materials from different producing areas. *J Anhui Agric Sci* (安徽农业科学), 2008, **36** (36): 15950~15951, 15967
- Zhou XC (周贤春), He CX (何春霞). Progress on the research of alkaloids. *Lett Biotechnol* (生物技术通讯), 2006, **17** (3): 476~479