

铁皮石斛多糖的提取、分离和分析

中国科学院华南植物研究所(广州 510650) 黄民权* 黄步汉

中山医科大学肿瘤研究所

蔡体育 刘庆伦 李 端 陈爱珍

摘要 从铁皮石斛中提取制备一种水溶性多糖物质,具有显著性增强免疫功能的效应。其单糖组分由D-木糖、L-阿拉伯糖和D-葡萄糖组成,多糖含量达22.7%。

关键词 铁皮石斛 多糖 D-木糖 L-阿拉伯糖 D-葡萄糖 多糖含量

石斛是一种贵重的中药,《药性论》谓石斛益气除热,补肾益精。《本草》谓石斛益精强阴,壮筋补虚。中药石斛是指金钗石斛 *Dendrobium nobile* 等多种同属植物的茎。产于安徽霍山的“霍山石斛”向来被认为是石斛的上品。近年的研究已证实:“霍山石斛”实际上是包括铁皮石斛 *D. candidum* Wall. ex Lindl. 等在内的3种石斛属植物^[1]。

石斛药用有效成分的研究,已分离出石斛碱(dendrobine),并对其生物碱方面作了大量研究工作^[2~6]。但尚未见其他学者关于该属植物水溶性多糖的研究报道。

石斛药用强壮的功效引起了我们对其水溶性多糖类的兴趣。我们对铁皮石斛进行了提取分离,分析及药理试验。药理试验结果证实它能增强机体的免疫功能。本文首先报道在化学方面的一些研究结果。

1 材料

所有植物材料采集于华南植物园兰圃。薄层层析用硅胶G系青岛海洋化工厂产品。化学鉴定采用标准的单糖样品对照。

2 方法

2.1 铁皮石斛多糖的提取、分离和制备:风干植物材料粉碎后甲醇回流除去杂质,药渣热水提4次,合并水提液,减压浓缩,加4倍95%乙醇静置过夜,分出沉淀物溶于蒸馏水,Sevag法脱蛋白^[7]。上清液加4倍95%乙醇,收集沉淀物依次用无水乙醇、丙酮、乙醚洗涤。挥去溶剂,真空干燥得粗制品,收得率为风干材料重的15%。粗制品溶于热水,滤去不溶物,滤液用溴化十六烷基三甲胺(CTAB)络合精制^[8],得精制品供分析及药理试验。

2.2 红外光谱测定:使用71-IR仪器,样品用溴化钾压片法测定。

2.3 多糖的单糖组分的分离和鉴定:样品用2mol/L硫酸水解6h,碳酸钡中和,滤液浓缩后作薄层层析和高压液相色谱分析。薄层层析法用硅胶G以0.5%CMC-Na调糊,按常规制板(5×20cm),105℃活化1h。使用2对不同的展开剂:①醋酸乙酯-醋酸-甲醇-水(12:3:3:2);②氯仿-甲醇-水(16:9:2)。苯胺-邻苯二甲酸显色,对照标准样品的 R_f 值定性。高压液相色谱法采用Waters ALC/GPC 244仪,糖专用分析柱 μ -Bondapak,流动相乙腈-水(80:20),流速2.0ml/min,柱温30.5℃。在相同的色谱条件下对照糖的标准样品的保留时间定性。各单糖组分的相对百分含量根据其积分的峰面积计算。

2.4 铁皮石斛多糖含量的测定:取风干样品粉碎,精密称取样品,经石油醚(60~90℃)脱脂2次。挥去溶剂,经多次85%乙醇热浸提除去醇溶性糖等,水浴温度50℃,直至浸出液

*Address: Huang Minquan, South China Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou

用硫酸蒽酮试剂检查呈无糖反应为止。再将残渣用热水反复多次浸提,水浴温度80℃左右,至热水浸出液用硫酸蒽酮试剂检查呈无糖反应为止。合并所有的热水浸提液,在80℃水浴上真空浓缩至适当浓度,加1%活性炭脱色,过滤。滤液定容配制成样品的待测分析液。采用硫酸蒽酮试剂比色法测定其多糖的含量(以相当于葡萄糖的量表示)^[9]。使用721分光光度计,葡萄糖标准样品作对照测定标准曲线。同时测定样品的含水量,多糖的含量以绝对干物质计。

美花石斛*D. loddigessi* Rolfe, 兜石斛*D. aphyllum*以同样的方法测定其多糖的含量。

3 结果与讨论

3.1 铁皮石斛多糖的理化性质:呈灰白色粉末,易溶于水,不溶于甲醇、乙醇、丙酮和乙酸乙酯等有机溶剂。本品在水解前与斐林(Fehling)试剂呈负反应,水解后与斐林试剂呈正反应。取本品1%的水溶液微量,点于滤纸上,用高碘酸-希夫(Schiff)试剂染色呈红紫色斑点。红外光谱显示典型的多糖的特征吸收。

3.2 铁皮石斛多糖的单糖组分分析样品以2个不同的展开剂系统进行薄层层析均显示3个斑点,其 R_f 值分别同D-木糖、L-阿拉伯糖和D-葡萄糖的标准样品一致。高压液相色谱分析得到3个单糖组分的峰,在相同的色谱条件下,其保留时间分别同标准的D-木糖、L-阿拉伯糖和D-葡萄糖一致。3个单糖组分的相对百分含量分别为D-木糖15.9%,L-阿拉伯糖19.4%,D-葡萄糖64.7%。

3.3 铁皮石斛水溶性多糖的含量高达22.7%,同时测定的其它2种石斛属植物的水溶性多糖含量如下:美花石斛12.9%,兜石斛19.2%。由此可见铁皮石斛多糖的含量相对来说是较高的。无怪乎铁皮石斛长期以来被作为珍品“霍山石斛”的原植物之一。

3.4 从担子菌、地衣及高等陆生植物中发现一些多糖具有免疫增强作用^[10]。我们的药理实验也证实了铁皮石斛多糖具有明显地增强机体免疫效应的功能。

致谢:程式君副研究员为本项研究鉴定和提供植物材料。

参 考 文 献

- 1 唐振缙,等.植物研究,1984,14:141
 - 2 Suzuki H, et al. 药学杂志(日),1932,52:996
 - 3 Chen K K, et al. J Biol Chem, 1935, 111: 654
 - 4 Yamamura S, et al. Tetrahedron Letters, 1964, 2: 79
 - 5 黄文魁. 化学学报, 1965, 31(4): 333
 - 6 Okamoto T, et al. Chem Pharm Bull, 1966, 14(6): 676
 - 7 Sevag M G. Biochem Z, 1934, 237: 419
 - 8 吴梧桐,等. 真菌学报, 1982, 1(2): 119
 - 9 张惟杰,等. 复合多糖生化研究技术. 上海科技出版社, 1987. 7
 - 10 姚应鹤. 新药与临床, 1984, 3(3): 36
- (1993-05-12 收稿)

(上接第127页)

参 考 文 献

- 1 清·孙星衍,等辑. 神农本草经. 北京:人民卫生出版社, 1982. 109
 - 2 易杨华,等. 中草药, 1984, 15(2): 7
 - 3 王若禄,等. 药学报, 1984, 19(11): 825
 - 4 易杨华. 药学报, 1990, 25(10): 745
 - 5 王若禄,等. 第二军医大学学报, 1990, 11(1): 56
 - 1 杨嗣坤,等. 第二军医大学学报, 1986, 7(4): 258
 - 7 徐志工,等. 第二军医大学学报, 1986, 7(4): 261
 - 8 张俊平,等. 中国药理学报, 1990, 11(4): 357
 - 9 王祝举,等. 中国中药杂志, 1980, 15(9): 21
 - 10 李满飞,等. 中草药, 1990, 21(10): 10
- (1992-12-14 收稿,
1993-11-16 修回)