

川产藏药材不同产地红毛五加多糖的比较

刘 圆, 孟庆艳, 彭镰心, 吴远波, 安 静

(西南民族大学少数民族药物研究所, 四川 成都 610041)

红毛五加为五加科五加属植物红毛五加 *Acanthopanax giraldii* Harms 的干燥茎皮。资源丰富, 广泛分布于四川、甘肃、青海、宁夏等地, 其中四川为该药材的主要产区。其茎皮入药, 有祛风除湿、强筋壮骨之功效。红毛五加含有多种皂苷成分^[1], 其多糖^[2]和挥发油量也较高^[3]。主治风寒湿痹、足膝无力等^[4]。对免疫系统、中枢神经系统等均有作用。此外, 还有抗炎、抗病毒、抗肿瘤作用, 耐缺氧作用及对实验性肝损伤的保护作用和对心血管系统的作用^[5]。本实验对川产红毛五加药材利用紫外-可见分光光度法测定其不同产地样品中多糖的量。

1 仪器与药品

UV-752 分光光度计(上海第三分析仪器厂), GoA 型电热真空干燥箱(天津市东郊机械加工厂), RE-52A 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)。(+)葡萄糖(AR, 105℃干燥至恒重); 红毛五加皮, 均采自四川雅安及阿坝州, 经笔者鉴定为 *A. giraldii* Harms 的干燥茎皮。试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 多糖的提取与精制: 精密称取红毛五加药材粉末(过2号筛)100 g, 置2 000 mL 圆底烧瓶中, 加入石油醚(沸程30~60℃)1 200 mL, 回流6 h, 滤过, 弃滤液; 石油醚洗涤滤渣, 挥干石油醚, 药渣加入95%乙醇1 200 mL, 回流6 h, 滤过, 弃滤液; 乙醇洗涤滤渣, 挥干乙醇, 滤渣精密加入蒸馏水1 200 mL, 加热提取2次, 每次1 h, 滤过, 用水洗涤滤渣, 合并水提液; 水提液用3.0%过氧化氢脱色, Seavage 法除去蛋白质后, 加入乙醇使其体积分数为80%, 静置16 h, 抽滤, 滤渣依次用无水乙醇、丙酮、乙醚多次洗涤除杂, 40℃真空干燥至恒重, 即得红毛五加多糖。

2.2 4.0%苯酚溶液的制备: 取苯酚100 g, 加入0.1 g 铝片和0.05 g 碳酸氢钠, 在180~182℃常压蒸馏, 空气冷凝, 得白色针状苯酚结晶。称取4.0 g 于100 mL 量瓶中, 用蒸馏水稀释至刻度, 摇匀, 避

光保存。

2.3 葡萄糖对照溶液的制备: 精密称取干燥至恒重的葡萄糖对照品70 mg, 置100 mL 量瓶中, 加蒸馏水至刻度, 配成质量浓度为700 μg/mL 的对照品溶液。

2.4 样品溶液的制备: 分别精密称取不同产地的红毛五加药材粉末(过2号筛)0.3 g, 置100 mL 圆底烧瓶中, 加入石油醚(沸程30~60℃)50 mL, 回流6 h, 滤过, 弃滤液; 石油醚洗涤滤渣, 挥干石油醚, 药渣加入95%乙醇50 mL, 回流6 h, 滤过, 弃滤液; 乙醇洗涤滤渣, 挥干乙醇, 滤渣精密加入蒸馏水50 mL, 加热提取2次, 每次1 h, 滤过, 用蒸馏水洗涤滤渣, 合并水提液, 置100 mL 量瓶中, 加蒸馏水定容至100 mL, 作为样品溶液。

2.5 标准曲线的绘制: 分别精密吸取对照品溶液1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 mL 置50 mL 量瓶中, 稀释至刻度, 再精密吸取2.0 mL 于带塞试管中。另取2.0 mL 蒸馏水作为空白对照。各管加入4.0%苯酚溶液1.0 mL, 摇匀, 迅速分别滴加浓硫酸7.0 mL, 摇匀后放置5 min, 置沸水浴中加热15 min, 取出冷至室温后, 于490 nm 处测定吸光度(A)值。以质量浓度(C)为横坐标, A 值为纵坐标绘制标准曲线, 得回归方程: $A = 0.0046C - 0.0058$ ($r = 0.9996$)。结果表明: 在2.86~10.01 μg/mL 葡萄糖质量浓度与A 值具有良好的线性关系。

2.6 换算因子测定: 精密称取干燥至恒重的前述多糖纯品20 mg, 加水适量溶解, 转移至100 mL 量瓶中, 定容, 精密量取1 mL 于10 mL 量瓶中, 定容, 作贮备液用。精密吸取2 mL, 按照2.5项下方法, 自“加苯酚试剂1 mL”起, 测定A 值, 求出红毛五加多糖液中葡萄糖质量浓度, 按下式计算换算因子: $f = W/CD$, W 为多糖质量(g), C 为多糖液中葡萄糖的质量浓度(g/mL), D 为多糖的稀释因素。结果表明 $f = 3.28$ 。

2.7 精密度试验: 取同一样品溶液, 重复测定吸光

收稿日期: 2006-06-08

基金项目: 四川省青年基金资助项目(2006); 四川省教育厅教育教学改革项目(2005); 西南民族大学教学改革项目(2005)

作者简介: 刘 圆(1968—), 女, 副教授, 博士, 从事少数民族药物的研究和教学工作, 现在四川大学华西药学院药学博士后流动站工作。

Tel: (028)85522263 13808091609

度5次,RSD为1.06%。结果表明精密度良好。

2.8 重现性试验:取同一批样品溶液,平行测定吸光度6份,RSD为1.32%,表明重现性良好。

2.9 稳定性试验:取样品溶液,照样品测定方法操作,每隔0.5 h测定吸光度值,连续4 h,结果吸光度基本无变化,样品稳定性良好。

2.10 加样回收率试验:精密称取已测定多糖量的样品(1)粉末0.3 g,共3份,依次加入不同量的多糖纯品,置圆底烧瓶中,按照样品的制备方法制备样品,按照2.5项下方法,自“加苯酚试剂1 mL”起,测定吸光度,并以葡萄糖对照品溶液作对比测定,计算多糖平均回收率为98.62%,RSD为1.27%($n=5$)。

2.11 样品测定:精确量取样品液2 mL,按照2.5项下方法,自“加苯酚试剂1 mL”起,测定吸光度,按下式计算多糖的量,结果见表2。

$$\text{多糖的量} = CDf/W \times 100\%$$

式中C为样品溶液的葡萄糖的质量(μg),D为样品溶液的稀释倍数,f为换算因素,W为样品的质量(μg)

表1 不同产地红毛五加药材中多糖的测定结果($n=3$)

Table 1 Determination of polysaccharide in *A. giraldii* samples from various habitats ($n=3$)

样品号	产地	多糖/%
1	四川雅安	9.68
2	四川阿坝州茂县	10.09
3	四川阿坝州马尔康欧竹村	8.73
4	四川阿坝州小金大板村	12.67
5	四川阿坝	7.43
6	四川阿坝州金川	14.81
7	四川阿坝州小金	7.92

3 讨论

3.1 目前中药多糖的研究越来越受到人们的重视,多种多糖成分被药理实验证实具有显著的生物活性,如香菇多糖、海参多糖、文蛤多糖等,均能抑制癌细胞生长。此外,多糖还具有提高人体免疫、保肝、抗

病毒等作用。经过深入细致的研究,有些已成为药品,如抗癌药物猪苓多糖注射液等。所以,对于红毛五加多糖的研究就具有很大的应用前景。

3.2 众多的多糖测定多采用苯酚-硫酸法,通过紫外-可见分光光度法定量测定,说明该方法对于多糖的测定具有简单可靠、方法成熟的特点,故本实验亦采用该方法。

3.3 在四川不同产地的红毛五加药材中都有多糖的存在,其中以四川阿坝州金川产的量为最高为14.81%,其次以四川阿坝州小金大板村为12.67%。由于样本数量有限,则该药材的产地(来源)还有待于进一步研究。

3.4 采用石油醚、95%乙醇去除杂质,再用回流法提取红毛五加多糖,并采用苯酚-硫酸比色法对其多糖的量进行测定。通过作者的实验研究,以多糖为指标,对川产红毛五加药材产地(来源)优劣上提供了可靠的鉴别依据,为该药材的进一步开发利用提供了基础资料。

References:

- [1] Ren J, Dang Y L, Li S Y. Studies on the mechanism of anti-inflammatory action of total glucosides of *Acanthopanax giraldii* Harms [J]. *Pharm Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 2002, 18 (6): 13-14.
- [2] Li X Y, Wei H L, Zhang J W, et al. The assay of polysaccharides in *Acanthopanax giraldii* var. *hispidus* by colorimetric method [J]. *West China J Pharm* (华西药杂志), 1994, 9 (2): 73-74.
- [3] Zhang W X, Liu S, Dong J P. Studies on chemical constituents of essential oil of the *Acanthopanax giraldii* Harms var. *hispidus* Hoo [J]. *Chin Pharm J* (中国药杂志), 1994, 29 (2), 83.
- [4] Song L R, Hong X, Ding X L, et al. *Dictionary of Modern Chinese Materia Medica* (现代中药学大辞典) [M]. Beijing: People's Publishing House, 2001.
- [5] Wang Z W, Sun Y Q. Advances in the Pharmacological action of *Acanthopanax giraldii* Harms [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2003, 20(1): 65-69.

空心胶囊 商 讯

绍兴中亚胶囊有限公司是与马来西亚合资的专业生产销售药用空心胶囊的生产企业,地处唐诗之路天姥山麓,104国道,风景秀丽、环境幽雅、气候宜人,对药品(胶囊)生产有着得天独厚的自然条件。

公司严格按照GMP标准规范生产,产品指标完全达到并超过《中国药典》2005年版标准。是国家食品药品监督管理局空心胶囊定点生产企业。公司年产空心胶囊50亿粒,严格选用优质药用明胶为原料生产00#、0#、1#、2#、3#、4#和安全胶囊A、B型等不同规格、颜色的机制硬胶囊;并且已成功开发了植物胶囊并出口世界各地。

在满足各制药企业的同时,公司又为方便医院诊所和科研机构等,开设小客户服务中心,零售空心胶囊及与之配套的胶囊套合板、胶囊填充机等胶囊制剂设备,热忱欢迎各胶囊制剂单位来电咨询。公司先进的全自动胶囊生产线与高素质的企业员工向您承诺,携手中亚是您明智的选择。

地址:浙江省新昌县儒岙镇 邮编:312560 联系人:张小姐

电话:0575-6060562 E-mail: feima666@126.com