商陆属植物根有效成分含量比较

第二军医大学药学院(上海200433)

张剑春* 王 琰** 郑汉臣

陈志强 易杨华 陈海生

摘要 采用比色法测定并比较了国产4种商陆属*Phytolacca*植物根中主要有效成分商陆总皂甙和商陆多糖的含量,结果表明多药商陆*P. polyandra* Bta.总皂甙含量最高,达6.24%;多糖以商陆*P. acinosa* Roxb.最高,达10.57%。本实验结果为开发本属植物资源提供了依据。

关键词 商陆 商陆皂甙 商陆多糖 垂序商陆 浙江商陆 多药商陆

商陆为一味少常用传统中药,始载于《神农本草经》^[1],用于治疗水肿满胀,二便不通,外治痈肿疮毒。据报道商陆的主要有效成分商陆皂甙^[2~4]和商陆多糖^[5],具有显著的抗炎及免疫活性^[6~8]。商陆属*Phytolacca*植物在中国分布有4~5种,其中商陆*P. acinosa* Roxb.和垂序商陆*P. americana* L.为1990年版《中国药典》所收载,经作者调查发现多药商陆*P. polyandra* Bat.和浙江商陆*P. zhejiangensis* W.T.Ean在产地由于种种原因均不同程度作为商陆入药。本文用比色法首次测定了这4种商陆属植物根中总皂甙及多糖的含量,回收率结果较好。

1 仪器试剂

721型分光光度计;商陆皂甙甲对照品(本院植化教研室易杨华副教授提供);葡萄糖标准品(重庆市北碚试剂厂);所用试剂均为AR级。

2 药材样品

样本来源见表。所有材料切制晒干后捣成粉末,过40目筛,于60℃烘干2h,置于干燥器中备用。

3 实验方法

3.1 商陆总皂甙的含量测定

3.1.1 标准曲线的制备:取商陆皂甙甲对照品10mg,用甲醇溶解并移至10ml容量瓶中,稀释至刻度。取此液0.1、0.2、0.3、0.4、0.5ml,分别置于带塞试管中并加水至溶液体积均为0.5ml,将试管置于冰水浴中,加0.5ml 8%香草醛乙醇溶液(用前临配)和5ml 77%硫酸[取去离子水23ml,然后加77ml 95%(W/W)硫酸,混匀,冷却],摇匀。混合物置60℃水浴中加热10min,然后立即在冰水浴中冷却15min,取出放至室温,测得最大吸收波长 $\lambda_{max} = 450\text{nm}$ 。以空白为对照,测定各管的吸收度,求得标准曲线:

$$A = 4.016 \times 10^{-3} + 3.098 \times C (\mu\text{g/ml}), r = 0.99990 (n = 5)。$$

3.1.2 样品的制备及含量测定:取样品2g,用65ml甲醇于索氏提取器中提取至无皂甙反应(约6.5h),回收甲醇,残渣用适量水溶解,过滤,滤液用等量正丁醇(水饱和)萃取3次,合并萃取液,用少量水洗涤2次,回收正丁醇,残渣用少量甲醇溶解,过滤,滤液置10ml容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,取出此液50 μl 按上述对照品测定步骤测定吸收度,根据标准曲线求算含量。

* Address: Zhang Jianchun, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 现在北京军事医学科学院六所

** 现在北京国防科工委医学研究所

$$\begin{aligned} \text{样品总皂甙百分含量}(\%) &= C \times 6 \times (10/0.05) / (2 \times 1000 \times 1000) \times 100\% \\ &= 0.06 \times C \end{aligned}$$

3.1.3 加样回收率: 取提取后的样品残渣2g, 精密加入总皂甙对照品20mg, 按样品测定步骤测定吸收度, 计算回收率, 结果回收率为97.22% (n=3)。

3.2 商陆多糖的含量测定

3.2.1 标准曲线的制备: 取葡萄糖标准品0.2g, 水溶解并移至1000ml容量瓶中, 稀释至刻度, 取此液0.10、0.15、0.20、0.25、0.30、0.35ml置带塞试管中, 分别均加水至2ml、加5%苯酚(V/V)1ml、浓硫酸5ml, 振摇后放置5min, 再置沸水浴中15min, 冷却至室温, 以空白为对照, 于波长490nm测吸收度A, 作图, 求得标准曲线: $A = 3.325 \times 10^{-3} + 0.0341 \times C$, $r = 0.9998$ (n=6)。

3.2.2 样品制备及含量测定: 取样品2g, 用甲醇按总皂甙提取方法将皂甙提尽, 残渣加适量蒸馏水回流提取3次, 每次1h, 合并提取液并移至1000ml容量瓶中, 用蒸馏水加至刻度。精取此液0.2ml按对照品测定步骤测定其吸收度, 根据标准曲线求算含量。

$$\text{样品多糖百分含量}(\%) = (C \times 8 \times 1000 / 0.2) / (2 \times 1000 \times 1000) \times 100\% = 2 \times C$$

3.2.3 加样回收率: 取提取后的样品残渣2g, 精密加入商陆多糖I(PEP-I)及II(PEP-II)混合物(1:1)50mg, 按样品测定步骤测定吸收度, 计算回收率, 结果平均(n=3)为100.65%。

4 结果与讨论

4.1 王祝举^[9]报道用薄层扫描法测定垂序商陆中商陆毒素(商陆皂甙甲)的含量。作者经薄层层析实验发现, 商陆和垂序商陆中皂甙甲在所含总皂甙中占较高比例; 而浙江商陆和多药商陆中皂甙甲所占比例较低, 因此若仅以皂甙甲的含量来比较4种商陆中总皂甙含量显然不妥。本实验采用提取纯化后硫酸-香草醛比色法测定总皂甙含量, 结果表明, 本方法简单易行, 可靠性好, 适用于绝大多数医院药局, 可用于药材的质量控制。

4.2 关于中药材中多糖含量的测定, 一般多采用苯酚-浓硫酸比色法。李满飞等^[10]采用测定换算因子来校正以葡萄糖为标准品, 苯酚-浓硫酸比色法测定的石斛多糖含量, 但没有解决如何消除药材中可能存在的低聚糖对多糖含量测定的影响。一般药材中单糖含量往往较高, 对测定结果影响较大, 本实验采用甲醇提取以除去单糖, 经薄层层析检查, 无葡萄糖斑点。

4.3 王著禄等^[5]从商陆中分离得到2种多糖, 分别为PEP-I和PEP-II, 均由半乳糖醛酸、半乳糖、阿拉伯糖和鼠李糖所组成, 前者的摩尔比为1:0.8:0.32:0.16, 后者为1:0.07:0.12:0.15, 经计算, 每个单糖的平均分子量与标准品葡萄糖的分子量之比分别为1.013和1.041, 考虑到本实验是作为4种商陆多糖的含量比较, 故未作校正。

4.4 4种商陆属植物根中总皂甙和多糖含量见表。实验结果表明, 多药商陆总皂甙含量较高, 达6%左右; 而多糖含量则以商陆为最高, 达10.57%, 这和其药材粉性大, 含淀粉多相符。

表 4 种商陆属植物根总皂甙及多糖的含量

样品	采集地点	采集时间	总皂甙含量(%)	多糖含量(%)
商 陆	陕西旬邑县	1991.9	2.61	10.57
垂序商陆	本院药圃	1992.2	2.16	4.20
浙江商陆	浙江临安县	1991.7	1.7	6.48
多药商陆	四川平武县	1992.8	6.24	5.31

(下转第129页)

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)

Determination of the Effective Substances in Roots of Chinese Pokeweed (*Phytolacca*) Plants

Zhang Jianchun, Wang Yan, Zheng Hanchen, et al

Total esculentosides and polysaccharides are determined and compared in roots of *Phytolacca acinosa* Roxb., *P. americana* L., *P. polyandra* Bat., *P. zhejiangensis* W.T. Ean Produced in China. Results showed that *P. polyandra* Bat. has the highest content of esculentosides (6.24%), while *P. acinosa* is most rich in polysaccharides (10.57%).

(Original article on page 126)

Studies on the Antihypoxia and Free Radical Scavenging Activity of Tangut Dragonhead (*Dracocephalum tanguticum*)

Ye Yucong, Chen Qinming, Chai Fengling, et al

Aqueous extract of *Dracocephalum tanguticum* Maxim. (DTM), when given ig or ip to experimental hypoxia mice, markedly increased their tolerance to normobaric and hypobaric hypoxia. Erythrocyte superoxide dismutase (SOD) activity of mice or rats determined at high altitude (Animaqing mountain 4700 m above sea level) showed an elevated dismutation activity of peroxide anions. At an experimentally simulated altitude of 6000 m above sea level, determination of MDA, Hb and Hct showed an obvious reduction of all the abnormally elevated criteria. It is suggested that the antihypoxia activity of DTM may be partly due to its free radical scavenging activity.

(Original article on page 134)

Effects of Whiteflower Hogfennel (*Peucedanum praeruptorum*) on Isolated Rabbit Pulmonary Arteries

Wei Minjie, Zhang Xinhua and Zhao Naicai

Qian Hu is the roots of *Peucedanum praeruptorum* Dunn. The object of the present paper was to determine the effects of water extract (QH-I) and petroleum ether extract (QH-M) of Qian Hu on smooth muscle contractility of isolated rabbit pulmonary artery rings. QH-I and QH-M antagonized pulmonary artery rings contraction elicited by NE as well as KCl. QH-I and QH-M caused relaxation of rabbit pulmonary artery rings precontracted with NE as well as KCl. The contraction dose-response curves of pulmonary artery rings with NE were shifted to the right and the maximal contraction response were inhibited $73.1 \pm 8.0\%$ and $43.6 \pm 4.2\%$ by $1.6 \times 10^{-5}\%$ and $8.0 \times 10^{-5}\%$, QH-M, $PD'_{50} = 4.73 \pm 0.43$. These results indicate that Qian Hu may relax pulmonary artery smooth muscle directly as a Ca^{2+} antagonist.

(Original article on page 137)