

野猪黄的体外培育及其成分研究

山东省莱西市药品检验所(266600) 战人美* 崔丰民** 王爱梅 战 焯***

摘要 介绍了野猪黄即野猪胆结石的体外培育方法,并分析了所含主要化学成分是胆碱、去氧胆酸、胆红素和17种氨基酸,为开发中药资源提供了依据和开辟了一条新途径。

关键词 野猪黄 体外培育 胆酸 胆红素 氨基酸

野猪黄为猪科动物野猪*Sus scrofa* L.胆囊中的结石。味辛、甘、平、无毒,具有止血、生肌等功效,主治癫痫、惊风、血痢、金疮等^[1]。系民间流传已久但很稀少的品种。为了开发资源,扩大应用,采用猪胆汁进行野猪黄体的外培育,并对其主要化学成分作了研究。

结石的形成原理:胆结石的主要成分是胆碱、去氧胆酸、胆红素、胆固醇及 K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 等,其中胆红素占固体成分的15%~75%。在正常胆汁中胆红素跟葡萄糖结合成能溶于水的胆红素二葡萄糖醛酸苷,以脂的形式存在于胆汁中。当大肠杆菌进入胆囊内则大量繁殖,并释放出活性很高的细菌性 β -葡萄糖醛酸酶,在这种酶的作用下,使胆红素二葡萄糖醛苷大量水解而游离出胆红素,由于胆红素不溶于水或者再与胆汁中的 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 等离子结合而析出,在胆囊中异物如:蛔虫卵或蛔虫尾体为核心上逐渐沉淀而形成结石。

1 实验材料

仪器与试剂:三用紫外线分析仪(上海电光仪器厂);胆酸、去氧胆酸、胆红素、18种氨基酸对照品(中国药品生物制品检定所)、亚硫酸氢钠、氯仿等均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 菌种的培养:自患胆结石的病人胆囊中,手术时抽取胆汁。用琼脂培养基按常规法培养,分离出大肠杆菌,将其菌落接种于胆汁肉汤液体培养基中于37℃恒温条件下培养48h。肉汤呈混浊后,在5℃条件下冷藏用。

2.2 培育方法:取新鲜猪胆汁1000ml,加 $CHCl_3$ 达饱和程度。加亚硫酸氢钠5g,静置60d,可见液体底部出现小量的桔红色沉淀,加入胆酸结晶0.1mm,80~100粒,静置7d,晶体可增长到50~70倍,成5~7mm的棕色固体80~100块,16d后,注入大肠杆菌培养液10ml,继续在室温下静置培育,使固体物继续增长到10~17mm,取出用滤纸包于阴凉通风处晾干得野猪黄7g。

2.3 成分鉴定

2.3.1 成品性状:块状结石呈卵形或类三角形,直径5~17mm,表面棕黄色,平滑有光泽,断面有棕黄相间的环状层纹,质轻易碎,味苦、嚼之不粘牙。

2.3.2 主要成分胆酸、去氧胆酸、胆红素的分离鉴定:取样品粉末10mg,乙醇1ml,置温水浴中振摇提取数分钟,提取液作为供试品溶液,另取胆酸和去氧胆酸对照品各10mg,加乙醇溶解制成每毫升含1mg的2种对照品溶液。用微量吸管分别取供试品液和对照品液10 μ l点样于同一硅胶G薄层板上(湿法铺板,自然干燥后于105℃活化30min)以氯仿:乙醚:冰醋酸(2:2:1)为展开剂,展距10cm,取出晾干,喷以30% H_2SO_4 (v/v)于105℃加热约10min,置紫外分析仪(365nm)波长下检视,对照品各显1个荧光斑点,供试品在与对照品相

*Address:Zhan Renmei,Lanxi Municipal Institute for Drug Control,Lanxi

莱西市人民医院 *青岛市药材站

应位置上显相同的荧光斑点(图1)。

取样品适量研成细末,加冰醋酸-乙酸乙酯(1:10)1ml室温浸72h,过滤。取胆酸、胆红素对照品各10mg分别用冰醋酸-乙酸乙酯(1:10)的溶液1ml溶解,制成对照品溶液,各点样10 μ l于硅胶G薄层板上,以正丁烷-乙酸乙酯-冰醋酸-甲醇(75:400:12.5:12.5)为展开剂展开,用15%硫酸、硫酸氢铵、乙醇溶液喷雾后加热显色(图2)。

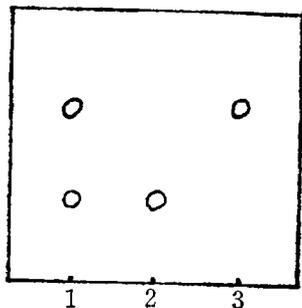


图1 野猪黄的薄层色谱图

1-野猪黄 2-去氧胆酸 3-胆酸

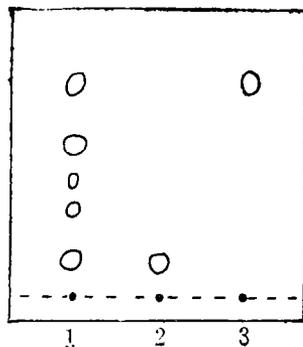


图2 野猪黄的薄层色谱图

1-野猪黄 2-胆酸 3-胆红素

2.3.3 氨基酸成分鉴定:取供试品粉末50mg加入酸水解玻璃管中,加6mol/L HCl 10ml,封管于110 $^{\circ}$ C恒温水解24h。取出冷却,过滤、蒸干后加水制成1%溶液。取18种氨基酸对照品制成0.1%水溶液。取供试品溶液和对照品溶液各15 μ l,分别点于硅胶G薄层板上,用正丁醇-醋酸-水(4:1:1)为展开剂I,苯酚-水(75:25)为展开剂II,进行双向展开。用0.5%茚三酮乙醇液喷雾显色(图3)。

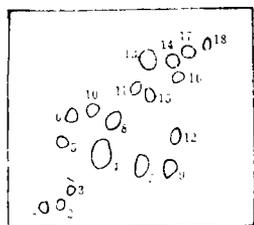


图3 对照品氨基酸薄层色谱图

1-赖氨酸 2-精氨酸 3-组氨酸 4-门冬氨酸 5-谷氨酸 6-甘氨酸 7-丝氨酸 8-丙氨酸
9-脯氨酸 10-苏氨酸 11-酪氨酸 12-缬氨酸 13-色氨酸 14-亮氨酸 15-异亮氨酸 16-苯丙氨酸
17-半胱氨酸 18-蛋氨酸

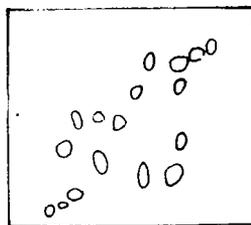


图3 野猪黄水解后薄层色谱图

2.4 胆酸、去氧胆酸和胆红素的含量测定:按中国药典^[3]和有关资料^[2]测定含胆酸0.8%、去氧胆酸3.8%、胆红素27.5%。

(下转第599页)

速生长。4月底收割头茬绞股蓝1.17kg,7月底第2次收割0.53kg,11月初第3次收割0.41kg。1992年秋季进行的插叶试验,其结果如表1。

表1 秋季插叶试验结果

扦插方法	扦插数	成活率(%)	冬前新枝出土百分率(%)	插后30d新枝平均长度(cm)	越冬后04-08测得新枝平均长度(cm)	04-28收头茬绞股蓝干重(g/m ²)	全年干草总产量(g/m ²)
叶插	150	98.7	70.9	6.1	57.8	253	457

表2 春季扦插试验结果比较(扦插时间1993-04-21)

扦插方法	扦插数	成活率(%)	扦插第15d幼苗发生不定根的平均条数和最长根的长度(cm)	插后第30d测得新枝平均长度和最长枝长度(cm)	年收干草量(g/m ²)
叶插	120	98.1	17 2.7 (有较多二级侧根)	25.9 50.1	181
茎插	120	75	5 2.3	14.1 23.3	152

2.2 春季扦插时气温呈逐渐上升趋势,120株扦插苗在插后约20d便能较快地生长起来。作者在1993年春季进行的叶插与茎插对比试验,其结果如表2。

3 讨论

插叶繁殖绞股蓝是扦插繁殖方法中的一项新技术,它是利用其鸟足状复叶叶柄下的腋芽具有较强萌发能力的特点来进行繁殖。上述试验结果表明,插叶法具有以下优点:a)在适宜条件下,插入土壤里的叶柄下端和生根节均能较快地发生许多不定根,成活率高。b)叶插的地下腋芽萌发早,由它所产生的新枝比用地上茎插产生的新枝长得快。c)在秋季采用插叶法繁殖绞股蓝,开春后生长迅速,且由腋芽产生的萌枝多,4月底至5月初便可收割头茬藤蔓,这样就增加了年收获次数和产量。从表1看出,头茬绞股蓝的产量,占全年总产量的55.4%,高于夏秋两季收获量之和;从表1和表2对比看出,头年秋季用插叶法繁殖的绞股蓝,其总产量是当年春季插叶年产量的2.5倍,是当年春季茎插繁殖的2.99倍。由此可见,在长江流域广大地区,采用秋季插叶繁殖新技术,可以大幅度提高绞股蓝的茎、叶产量。

(1994-05-11收稿)

(上接第593页)

3 讨论与小结

3.1 实验证明体外培育野猪黄方法可行,1000ml猪胆汁可培育野猪黄7g左右。

3.2 通过薄层色谱分析和含量测定证明:培育野猪黄中主要成分胆酸、去氧胆酸、胆红素分别为0.8%、3.9%、27.5%,与牛黄的主要成分及含量相似,提示培育野猪黄具有牛黄的治疗作用,是否可代牛黄应用尚需进一步研究。此外证明培育野猪黄含有17种氨基酸,其中苏氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸是人体必需的氨基酸。

综上所述,体外培育野猪黄,为开发新的药材资源提供了依据和开辟了一条新途径。

考考文献

- 1 江苏新医学院编.中药大辞典.下册.上海:人民出版社,1977.2146
- 2 商业部脏器生化制药情报中心站编著.动物生化制药学.北京:人民卫生出版社,1980.260
- 3 中华人民共和国卫生部药典委员会编.中华人民共和国药典.一部.北京:化学工业出版社,人民卫生出版社,1990.56

(1994-09-29收稿)