

价蒲公英质量的依据。

3.2 作者选定含 5%甲酸的甲醇溶液作为溶剂超声提取,因为咖啡酸和绿原酸往往以游离和盐的形式存在于生物体内,加酸提取更完全。在流动相的选择中,经过反复摸索,选择酸性流动相,因咖啡酸和绿原酸均是有机酸,酸性可抑制其电离,使峰形稳定,分离度好。

3.3 国内蒲公英常用 17 个品种和薄公英 12 种商品药材中咖啡酸和绿原酸的含量差别很大,含量低的蒲公英品种是否作为药用,值得进一步探讨。药典应尽快建立蒲公英药材的质量标准,规定含量下限,以保证蒲公英

临床用药的有效性和合理性。

3.4 我们首次成功地应用 HPLC 同时测定蒲公英中的有效成分咖啡酸和绿原酸的含量,分离良好,快速、准确、重现性好,可在 30 min 内完成测定,为药典建立蒲公英药材的质量标准提供了依据。

参 考 文 献

1 中华人民共和国药典·一部·1995:314
2 凌 云,等·中国药学杂志,1997,32(10):384
3 国家医药管理局中草药情报中心站·植物药有效成分手册·北京:人民卫生出版社,1986:121
4 李仪奎主编·中药药理实验方法学·上海:上海科学技术出版社,1991:286

(1999-08-17 收稿)

抗病毒红藻多糖的提取与测定

天津医科大学药学院(300203) 张 斌*
南开大学生命科学院 陈家童 白玉华 耿运琪

摘 要 从我国沿海红藻中提取的粗多糖,经 DEAE-纤维素柱层析得到红藻多糖 RP₁,实验证实有明显抗病毒作用。通过气相色谱、红外光谱、Yaphe 测定方法,证明红藻多糖 RP₁ 含硫酸基是一种硫酸酯化多糖,其单糖组成为半乳糖和 3,6-内醚半乳糖,定量分析含量分别为:半乳糖 70.04%、3,6-内醚半乳糖 9.56%、硫酸基 17.30%。
关键词 红藻多糖 抗病毒 硫酸酯化多糖 艾滋病

Extraction and Characterization of a Virus Inhibitor, Sulfated Polysaccharides
Extracted from Red Alga (*Halymemin sinensis*)

Zhang Bin, Chen Jiatong, Bai Yuhua, *et al.* (College of Pharmacy, Tianjin University of Medical Sciences, Tianjin 300203)

Abstract A rhodophyta polysaccharide (RP₁) was extracted and purified from red alga, *Halymemin sinensis* Tseng et. C.F.. Its chromatographic behavior and chemical properties suggested that it is a sulfated polysaccharide composed of galactose 70.44%, sulfonate 17.30% and 3,6-anhydrogalactose 9.56%. Pharmacological screening proved that RP₁ is a virus inhibitor.

Key words rhodophyta polysaccharide (RP₁) virus inhibitor sulfated polysaccharide AIDS

多糖作为免疫促进剂在临床上已广泛应用。近年来研究发现多糖的衍生物特别是硫酸酯化多糖具有抗凝血作用^[1]、抗病毒活

性^[2],它在艾滋病(AIDS)治疗上的应用已得到证实^[3]。我国对 AIDS 的防治工作刻不容缓,由于 HIV 基因组具有高度的可塑性,其

病毒能不断产生变异株,开发有效的疫苗相当困难。因此,筛选具有明显治疗意义的药物尤为重要。

文献报道,从海藻中提取的红藻多糖为硫酸酯化多糖,是AMV和HIV的反相转录酶的抑制剂^[4]。体外实验表明,红藻中提取的红藻多糖(RP₁和RP₂),在细胞水平上能明显抑制牛免疫缺陷病毒BIV的生长,具有开发AIDS药物的前景^[5]。笔者从我国沿海红藻中提取纯化得到红藻多糖(RP₁),并对其理化性质、成分进行了分析测定,为进一步开发利用红藻多糖提供依据。

1 材料、仪器和试剂

1.1 材料:红藻 *Halymenina sinensis* Tseng et C. F. Chang 采自北戴河海滨。

1.2 仪器:Model-analectrfx-65型傅利叶红外光谱仪、岛津120-02紫外分光光度计、美国惠普公司 Hewlett Packard 5890A型气相色谱、氢火焰离子化检测器。

1.3 试剂:DEAE-Cellulose DE-32为Whatman产品,标准糖和其它化学试剂均为国产分析纯。

2 方法

2.1 多糖的提取纯化:将采集的海藻漂白晾干后粉碎,加蒸馏水,100℃提取3h,过滤后冷冻过夜。经醇沉后,以Sevage法^[6]去蛋白,并透析3h,再反复醇沉后,真空干燥即得到粗多糖。将粗多糖溶于蒸馏水中,DEAE-Cellulose装柱后,用0.01 mol/L乙酸缓冲液平衡,然后加样进行分段洗脱,逐步增加洗脱液中NaCl浓度(0.5,0.75,2.0 mol/L),用部分收集器自动收集,蒽酮法检测,按吸收度合并、浓缩、透析后,得到3个组分HS I、HS II和HS III,其中样品HS I经实验证明具有抗病毒活性,将其命名为RP₁。

2.2 多糖的分析测定

2.2.1 多糖的定性检测:以甲醇法和蒽酮法进行检测。

2.2.2 紫外光谱分析:在200~400 nm区间进行紫外扫描。

2.2.3 单糖组分分析:①气相色谱分析:将样品加入2 mol/L HCL-甲醇密闭80℃水解24h,蒸干溶剂后,制备糖脎衍生物,然后上机测定。气体流速:200 mL/min;柱温:190℃;检测器温度:250℃;气化室温度:250℃。②采用Yaphe法^[7],以半乳糖和果糖作为标准品。

2.2.4 多糖的化学结构分析^[8]:①红外光谱分析:KBr压片法,在4 000~400 cm⁻¹区间进行红外扫描。②采用Terho^[9]法定量测定硫酸基的含量。

3 结果与讨论

3.1 多糖的理化性质:红藻多糖RP₁为白色粉末状,不溶于高浓度的乙醇、丙酮等有机溶剂。其溶液加入甲醇后出现白色浑浊,加蒽酮试剂后成蓝绿色,说明RP₁为多糖。经紫外光谱检测,在260~280 nm处未见到核酸和蛋白质的吸收峰。经去蛋白后,在280 nm下检测,吸收度低于0.05,说明基本不含蛋白质杂质。

3.2 单糖的组成分析:气相色谱测定红藻多糖RP₁,只检测出一个峰,与标准单糖的出峰时间比较,可知15.23 min为半乳糖的出峰时间(图1)。由此,可以推测出红藻多糖RP₁主要由半乳糖组成。

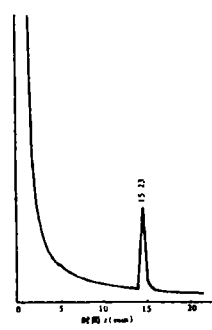


图1 红藻多糖RP₁的气相色谱图

Yaphe法测定RP₁,结果表明RP₁由半乳糖和3,6-内醚半乳糖组成,经查标准曲线,其含量分别为70.04%和9.56%。据文献报道,3,6-内醚半乳糖对酸不稳定,当多糖经酸水解时,它就被破坏,所以气相色谱只检测出一个峰。由于IR分析和Yaphe法测定都证实了内醚半乳糖的存在,因此认为红藻多糖RP₁组成单糖为半乳糖和3,6-内醚半乳糖。

3.3 多糖的化学结构分析:IR图谱可见,在3 600~3 200 cm⁻¹,1 400~1 200 cm⁻¹有两

组峰,表明了 RP_1 为糖类化合物。3 600~3 200 cm^{-1} 吸收是 O-H 伸缩振动,存在分子间和分子内氢键;1 400~1 200 cm^{-1} 的吸收峰是 C-H 变角振动;1 200~1 000 cm^{-1} 区段的吸收峰是吡喃糖环醚键(C-O-C)和羟基的吸收,说明多糖中内醚糖的存在。858 cm^{-1} 处的吸收峰为硫酸基-O-SO₃-的 C-O-S 伸缩振动而形成;1 256 cm^{-1} 处的吸收峰系硫酸基-O-SO₃ 的 S=O 伸缩振动造成的,均证实了硫酸根基团的存在,说明 RP_1 为硫酸酯化多糖。Terho 法定量测定,经查标准曲线得出的硫酸基含量为 17.30%(表 1)。

表 1 红藻多糖 RP_1 的组成成分

半乳糖(%)	3,6-内醚半乳糖(%)	硫酸基(%)
70.04	9.56	17.30

实验结果表明,红藻多糖 RP_1 是一种含硫酸基的硫酸酯化多糖,检出组成的单糖及其百分含量比为半乳糖:3,6-内醚半乳糖 70.4:9.56(表 1)。我们先前实验证明它对 BIV 的生长有较强的抑制作用,这与国外对其它的硫酸酯化多糖抗 HIV 的研究结果一

致。牛免疫缺陷病毒抗艾滋病药物筛选模型的运用^[10],初步证实了红藻多糖 RP_1 在治疗 AIDS 方面具有良好的前景。

由于 *Halymenin sinensis* Tseng et C. F. Chang 为我国沿海常见藻类,且红藻多糖 RP_1 提取方法简便易行,这就为开发新的抗病毒药物,研制我国自己的抗 AIDS 药物提供了新的资源。所以,这一方面的研究具有重要意义。另外,红藻多糖抗病毒的作用机理还有待于进一步研究。

参 考 文 献

- Hatanaka K, *et al.* J Med Chem, 1987, 30:810
- Baba M. J Infect Dis, 1990, 142:407
- Wagner W H. Arzneim-Forsch Drug Res, 1989,39:1
- Hideki N, *et al.* Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1987,31:1524
- 陈家童,等. 南开大学学报(自然科学版),1998,4:26
- Staub A M. Methods in Carbohydr Chem, 1965,5:5
- Yaphe W, *et al.* Analytical Biochemistry, 1965 13: 143
- 张维杰主编. 复合多糖生化技术. 上海:上海科学技术出版社,1987:121
- Terho T, *et al.* Analytical Biochemistry, 1971, 41: 471
- 王 岱,等. 中国药理学与毒理学杂志,1996,1:49

(1999-01-14 收稿)

车前草中熊果酸、齐墩果酸的 HPLC 测定[△]

河南中医学院(郑州 450003) 袁 珂* 李根林 李俊芝 杨 怡

摘 要 采用 HPLC 法同时测定车前草中熊果酸、齐墩果酸的含量。选用 C₁₈ ODS 色谱柱,流动相:甲醇-水(88:12),检测波长:220 nm,流速:0.6 mL/min,柱温:25 ℃。熊果酸和齐墩果酸分别在 0.4042~2.020 μg ($r=0.9984$)和 0.410~2.050 μg ($r=0.9997$)范围内呈线性;熊果酸、齐墩果酸的平均回收率分别为 98.2%($RSD=1.74\%$)和 97.8%($RSD=2.24\%$)。该法准确、快速、灵敏,重现性好。

关键词 车前草 熊果酸 齐墩果酸 HPLC 法

Determination of Ursolic Acid and Oleanolic Acid in Asiatic Plantain (*Plantago asiatica*) by HPLC

Yuan Ke, Li Genlin, Li Junzhi, *et al.* (He'nan College of TCM, Zhengzhou 450003)

Abstract The contents of ursolic acid and oleanolic acid in *Plantago asiatica* L. was determined by

* Address: Yuan Ke, Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou
[△]河南省自然科学基金资助课题第 9940240 号