

515-518.

力学的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 1994, 14(5): 288-291.

[7] 黄熙, 夏天, 任平. 川芎伍用丹参煎剂对川芎嗪药物动

## 黄芪毛状根与栽培黄芪中多糖的比较

单俊杰, 王顺春, 刘 涤, 胡之璧\*  
(上海中医药大学 中药研究所, 上海 200032)

**摘要:** 目的 比较栽培黄芪和生物技术培养的黄芪毛状根总多糖的组成与含量。方法 采用脱脂、水煎、醇沉、脱蛋白、透析、冷冻干燥的方法, 用硫酸-苯酚法进行了二者中多糖的含量比较, 采用高效液相凝胶渗透色谱法对黄芪毛状根和黄芪多糖的指纹图谱进行分析, 比较多糖的组成和相对分子量的同异。结果 黄芪多糖为 2.61%, 黄芪毛状根多糖为 1.85%。结论 黄芪毛状根多糖低于栽培黄芪中多糖含量。

**关键词:** 黄芪毛状根; 栽培黄芪; 多糖; 高效凝胶渗透色谱法

中图分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)05-0413-02

## Comparison of polysaccharides between hairy root of *Astragalus membranaceus* and its cultivation

SHAN Jun-je, WANG Shun-chun, LIU Di, HU Zhi-bi

(Institute of Chinese Materia Medica, Shanghai University of TCM, Shanghai 200032, China)

**Key words:** hairy root of *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge.; cultivated *A. membranaceus*; polysaccharides; high efficiency gel permeation chromatography

由于中药野生资源日益短缺, 栽培品种又面临品质退化、农药污染和种子带病等问题, 严重影响了我国中药材的质量和数量, 给中医临床、中成药加工带来很大的影响。因此, 80 年代以来, 采用生物技术手段生产中药材已日益受到人们的重视。因为毛状根具有遗传性状稳定、生长迅速、易于遗传操作等特点而成为药用植物大量生产的新方法。本实验室已建立了黄芪毛状根诱导、培养的技术<sup>[1,2]</sup>, 测定了其中黄芪甲苷和异黄酮的含量, 与栽培的黄芪相比, 二者成分相差不多<sup>[3]</sup>。为了全面评价黄芪毛状根的质量, 我们又对黄芪毛状根中多糖的组成和含量进行了研究, 发现与栽培黄芪存在一定的差异。我们将比较的结果报道如下。

### 1 材料和方法

1.1 材料: 山西膜荚黄芪, 由上海药材有限公司购进; 黄芪毛状根由本实验室培养; dextran 系列标准品, 购自 Sigma 公司。

1.2 多糖的提取流程: 见图 1。其中黄芪的多糖得率为 2.61%, 黄芪毛状根的多糖为 1.85%。

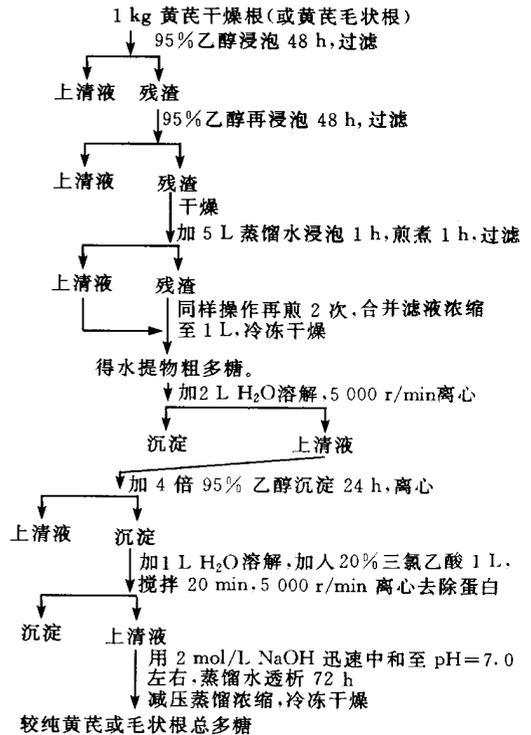


图 1 多糖的提取流程

\* 收稿日期: 2000-07-14

基金项目: 国家“九·五”攻关和上海市科委科学技术发展基金支持。

作者简介: 单俊杰(1966-), 女, 山东烟台人, 工程师。1988 年获南开大学化学系理学学士, 1997 年获哈尔滨工业大学化学系工学硕士, 1998 年于上海中医药大学中药研究所攻读博士学位, 主要研究方向: 多糖化学和免疫药理学。

1.3 总多糖含量测定: 采用硫酸-苯酚法<sup>[4]</sup>测定多糖的含量。

1.3.1 回归方程的建立: 精密称取 *D*(+)-葡萄糖 (恒重) 0.06 g 置于 1 000 mL 容器瓶中, 加蒸馏水溶解。分别取 0, 1, 2, 3, 4, 5 mL 稀释至 5 mL, 于 490 nm 波长处比色, 测定吸光度, 做吸光度 *A* 与浓度 *C* ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 线性回归处理, 回归方程:

$$A = 0.00584 + 0.01341C, r = 0.9967$$

1.3.2 样品中总多糖的含量测定: 精确称取 0.02 g 样品, 加蒸馏水溶解稀释至 500 mL, 测定其吸光度, 计算多糖含量, 结果见表 1。

表 1 样品多糖含量测定结果

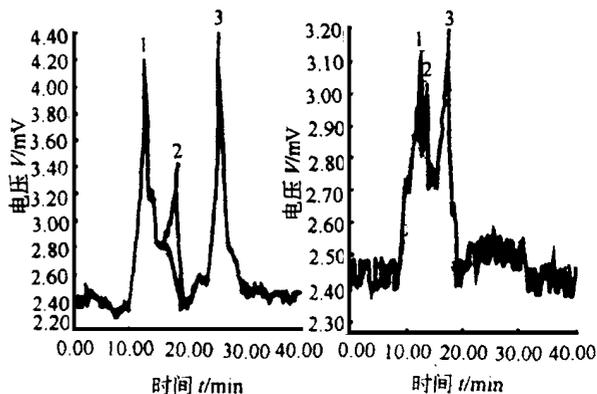
多糖含量 (%)	黄芪毛状根		黄芪	
	+	-	+	-
	82.60	82.03	83.72	90.30

+ 表示未除蛋白的多糖; - 表示去除蛋白的多糖

1.4 黄芪毛状根与黄芪中多糖成分的比较: 采用高效液相凝胶渗透色谱法分析多糖的组成和相对分子量<sup>[5]</sup>。液相色谱仪: Waters 600 泵, 410 示差折光检测器; 色谱柱: Bio SEP-sec-S 4000 (Phenomenex 公司); 色谱条件: 以蒸馏水为流动相, 流速为 1 mL/min; 多糖标准品: dextran (Sigma 公司), 相对分子量为  $1.04 \times 10^4$ ,  $4.3 \times 10^4$ ,  $6.9 \times 10^4$ ,  $8.0 \times 10^4$ ,  $3.0 \times 10^5$ ,  $4.6 \times 10^5$ ,  $5.8 \times 10^5$ ,  $2.0 \times 10^6$  u (标准蓝色葡聚糖)。将多糖标准品取 3 mg 上柱, 精确测出各自的洗脱体积  $V_e$ , 得出与分子量对数关系的标准曲线, 回归处理, 得校正工作曲线方程为:  $K_w = 2.8358 - 0.4725 \log M_r, r = 0.9818$ 。然后以同样条件测定多糖的洗脱体积, 在标准曲线上查出相应的分子量。

## 2 结果和讨论

2.1 蛋白质变性剂对黄芪多糖含量的影响: 为了获得较纯的多糖, 我们在多糖提取和纯化过程中加入了蛋白质变性剂三氯乙酸(10%), 目的是去除多糖中的蛋白质和与多糖结合的多肽, 提高多糖的纯度。变性剂的加入在黄芪毛状根和黄芪提取物中引起不同变化, 前者多糖含量几乎没有改变, 而后者黄芪多糖含量减少 7% 左右, 造成这种差异的原因可能与器官的生长时间有关, 黄芪毛状根生长时间为 21 d, 而栽培黄芪长达 3 年, 这样造成二种根中多糖和



黄芪总多糖 黄芪毛状根总多糖  
峰 1-12.46; 2-17.96; 3-25.21 峰 1-12.09; 2-13.44; 3-16.97  
图 1 样品色谱图

蛋白质的含量不同。

2.2 黄芪毛状根和栽培黄芪中多糖含量的比较: 采取本方法从黄芪毛状根和栽培黄芪中提取多糖, 经定量分析发现前者多糖含量低于后者。由于使用的方法不同, 本结果和以前报道有所不同。本方法增加了透析步骤, 使小分子多糖流失造成小分子含量较多的黄芪毛状根多糖含量低于栽培黄芪。

2.3 黄芪毛状根和栽培黄芪中多糖组分的比较: 从黄芪毛状根和黄芪中多糖的比较可以发现, 二者均含有保留时间为 12 min (相对分子量约  $9.02 \times 10^5$  u) 和 17 min (相对分子量约  $1.23 \times 10^5$  u) 的组分, 然而不同的是黄芪毛状根中存在保留时间为 13.4 min 的峰(相对分子量约  $5.0 \times 10^5$  u), 黄芪中并不存在这个峰, 黄芪中存在含量较高保留时间为 25 min(相对分子量低于 1 万 u) 的峰, 黄芪毛状根都没有或很少。

二种黄芪多糖药理活性的研究正在进行之中。

### 参考文献:

[1] 胡之璧, 郑志仁, 李幸平, 等. 黄芪毛状根培养系统的建立和外界因子对其生长的影响[J]. 植物学报, 1998, 40(5): 448-452.  
 [2] 郑志仁, 彭佑松, 刘 涂, 等. 黄芪毛状根大量培养[J]. 植物生理学通讯, 1997, 33(2): 133-134.  
 [3] 郑志仁, 刘 涂, 宋纯清, 等. 黄芪毛状根化学成分和免疫功能活性比较[J]. 生物工程学报, 1998, 14(2): 153-156.  
 [4] Dubis M. Colorimetric methods for determination of sugars and related substances [J]. Anal Chem, 1956, 28: 350-354.  
 [5] 魏远安, 方积年. 高效凝胶渗透色谱法测定多糖纯度及分子量 [J]. 药学报, 1989, 24: 523.