

gations of *Licania* genus. flavonoids from *Licania pyrifolia* [J]. *Pharm Acta Helv*, 1996, 71: 199-204.

[4] Xiao C H. *Chemistry of Chinese Medicine* (中药化学) [M]. 2nd ed. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publish-

ers, 2002.

[5] Ning Y C. *Organic Spectroscopy and Organic Compound Structure Identification* (有机光谱和有机化合物结构鉴定) [M]. 2nd ed. Beijing: Science Press, 2002.

## 泥鳅黏多糖的提取分离及其理化性质检测

董陆陆<sup>1</sup>, 李泽文<sup>2</sup>, 李文凯<sup>1</sup>, 何树庄<sup>1</sup>, 杨宝峰<sup>1</sup>

(1. 哈尔滨医科大学药学院, 黑龙江 哈尔滨 150086; 2. 黑龙江大学化学化工学院, 黑龙江 哈尔滨 150080)

自古以来, 泥鳅被认为具有较高的药用价值, 对肝炎、高血压、冠心病及皮肤瘙痒等症具有一定辅助疗效<sup>[1]</sup>。实验证实动物黏多糖具有多种药理活性, 包括抗凝血、降血脂等<sup>[2]</sup>。目前已发现并利用的动物来源黏多糖主要有肝素、硫酸软骨素、硫酸皮肤素、硫酸角质素等。有关泥鳅黏多糖的提取及研究目前尚未见报道。本实验从泥鳅中提取出黏多糖并对其部分理化指标进行了检测, 有关其药理活性研究仍在进行中。

### 1 材料、仪器及试剂

泥鳅为市购。新鲜猪胰腺及胰蛋白酶由哈尔滨生化制药厂提供。

DT-100 电光天平, 岛津 UV220 紫外分光光度计, 岛津 IR470 红外分光光度计, DYY-Ⅱ 31C 型微型电泳槽等。葡萄糖醛酸为 Sigma 产品, 盐酸氨基葡萄糖由浙江红星生化制品厂提供, 其他试剂均为分析纯。

### 2 实验方法与结果

2.1 泥鳅黏多糖的提取分离及精制: 泥鳅清水养 2 d, 期间数次换水。晾晒, 烘干, 磨碎得干粉。干粉先后用丙酮及石油醚回流提取 1~2 次, 晾干。将脱脂后的干粉浸入适量提取液中 (0.34 mol/L NaCl - 0.5 mol/L NaOH = 4 : 1), 室温浸泡 24 h, 滤过, 重复浸提一次, 合并两次浸提液。新鲜猪胰腺剔除异物, 按每克胰腺加入 1 mg 胰蛋白酶制成匀浆。按鲜品的 4% 在提取液中加入胰匀浆, 50 °C 恒温搅拌 7 h, 此期间分几次加入胰蛋白酶, 直至酸度不再改变。调 pH = 7, 加热至 85 °C, 出现大量絮状沉淀。迅速冷却至 30 °C 以下, 抽滤。滤液调 pH = 6, 加 95% 乙醇使含醇量达 75%, 冷藏过夜, 滤过, 滤液用无水乙醇洗涤两次, 抽干, 得泥鳅黏多糖粗品。

粗品用适量蒸馏水溶解, 调 pH = 9.50 °C 水浴反应 4 h, 期间滴加 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 适量。冷却, 调 pH = 7, 加入少量 NaCl, 抽滤, 滤液中按比例依次加入无水乙醇, 冷藏放置, 离心收集, 真空干燥, 依次得到 25%、40%、45%、75% 4 种醇沉样品, 分别标示为样品 1、样品 2、样品 3、样品 4。

### 2.2 泥鳅黏多糖的分析鉴定

2.2.1 一般性质: 样品 1~3 均为白色粉末, 样品 4 为浅黄色粉末。样品 2~4 均易溶于水。4 种样品水溶液的 pH 值依次为 6.5、7.3、7.0、6.7。4 种样品水溶液遇茚三酮均不显色。

2.2.2 琼脂糖电泳检测均一性: 参照 Dietrich 法<sup>[3]</sup>, 取 4 种样品及对照品肝素各 1 mg 分别溶于 0.2 mL 溶有少量甲酚红的缓冲溶液中 (样品 1 难溶)。0.5% 琼脂糖制胶, 电压为 75 V。分别采用巴比妥和乙二胺缓冲体系, 甲苯胺兰染色。结果见表 1。

表 1 琼脂糖电泳检测样品均一性

Table 1 Homogeneity of samples determined by agarose electrophoresis

样品	迁移率	
	巴比妥缓冲体系	乙二胺缓冲体系
1	—	—
2	3.95	0.95
3	3.95	0.95
4	3.95	1.00
肝素	1.00	1.00

2.2.3 硫酸基检测: 精确称取 4 种样品各约 10 mg, 按 Dodgson 法检测硫酸基<sup>[4]</sup>, 证明样品中均有硫酸基存在。标准曲线回归方程为:  $A = 4.5839C + 0.02133$ ,  $r = 0.99812$ 。定量结果见表 2。

2.2.4 己糖胺检测: 精确称取 4 种样品各 10 mg, 按 Rondle 法检测己糖胺<sup>[4]</sup>。4 种样品酸解液均呈

收稿日期: 2005-02-21

作者简介: 董陆陆 (1964-), 女, 哈尔滨人, 教授, 本科毕业于吉林大学化学系, 硕士毕业于哈尔滨医科大学药理学专业。主要从事天然药物成分及其药理药效学研究。 Tel: (0451) 86699351 E-mail: donglulu64817@sohu.com

表 2 样品中的硫酸基、己糖胺、己糖醛酸  
Table 2 Content of sulphate, glucosamine,  
and hexuronic acid in samples

样品	硫酸基/%	己糖胺/%	己糖醛酸/%
1	1.71	7.03	1.31
2	3.23	5.73	0.75
3	2.96	9.96	1.49
4	5.97	10.38	1.50

Elson-Morgan 反应, 示有己糖胺存在, 标准曲线回归方程为:  $A = 27.40 C + 0.074 76, r = 0.937 7$ 。定量结果见表 2。以 3 种展开体系醋酸丁酯-吡啶-盐酸 (1 mol/L) = 5 : 3 : 1; 正丁醇-吡啶-盐酸 (1 mol/L) = 5 : 3 : 2; 醋酸乙酯-吡啶-水 = 2 : 1 : 2 进行薄层鉴定, 证明 4 种样品中的己糖胺均为氨基葡萄糖。

2.2.5 己糖醛酸检测: 4 种样品对硫酸-呋唑反应均呈阳性, 示含有己糖醛酸, 用 Dischel 法测定己糖醛酸量<sup>[4]</sup>, 标准曲线回归方程为:  $A = 39.19 C + 0.002 168, r = 0.999 4$ 。定量结果见表 2。

2.2.6 中性糖纸色谱检测: 对照品: 葡萄糖、半乳糖、甘露糖、木糖分别配成 1% 的水溶液。样品: 己糖胺实验酸解液。显色剂: 苯胺-邻苯二甲酸。展开体系: 正丁醇-吡啶-水 = 3 : 1 : 1; 醋酸乙酯-吡啶-水 = 2 : 1 : 1; 正丁醇-乙醇-水 = 4 : 1.1 : 1.9。3 种展开体系中均出现与木糖 R<sub>f</sub> 值相近的红色斑点, 尤以样品 2、3 明显。

2.2.7 红外光谱检测: 分别取少量 25%、40%、45%、75% 4 种醇沉样品, 溴化钾压片, 红外光谱扫描。结果如下: 4 种样品均在 3 448~3 460 cm<sup>-1</sup> 处有强吸收, 有羟基的 O-H 伸缩振动, 氨基的 N-H 伸缩振动, 酰胺的 N-H 伸缩振动; 4 种样品均在 1 654~1 656 cm<sup>-1</sup> 有明显吸收, 说明了酰胺中羰基的存在; 1 404 cm<sup>-1</sup> 处的吸收表明了 -COOH 的 C-O 伸缩振动及 -COO- 的对称伸缩振动; 1 080 cm<sup>-1</sup> 处的强吸收

充分说明了 4 种样品中均含有明显吡喃环的 C-O-C 环内伸缩振动; 1 240 cm<sup>-1</sup> 附近有 S=O 伸缩振动吸收, 860 及 878 cm<sup>-1</sup> 处有硫酸基结合位置 C-O-S 的特征吸收, 40%、75% 醇沉样品还有明显的 1 316 cm<sup>-1</sup> 吸收, 这说明其中硫酸基量较高。总之, 红外光谱检测的结果充分说明 4 种醇沉样品中确实存在下列结构及官能团: 糖的吡喃环、羰基、磺酸基、羟基和氨基等基团。这些都与黏多糖的常见结构及基团相吻合。

### 3 讨论

根据常见黏多糖在乙醇中溶解度的差异<sup>[2]</sup>, 本实验将泥鳅粗黏多糖分为文中所述 4 部分。实验表明提取过程中蛋白质的清除比较彻底且具有良好的均一性。本实验没有得到另外一种黏多糖中常见的中型糖即岩藻糖对照品, 但岩藻糖在该实验条件下应呈棕色斑点并在紫外灯下有荧光<sup>[5]</sup>, 实验结果可排除该糖的存在。本实验结构分析表明泥鳅黏多糖中含有硫酸基、氨基葡萄糖、己糖醛酸、木糖等, 这些基本结构与肝素、硫酸软骨素等已知酸性黏多糖的基本结构有很多相似性。目前正在进行的泥鳅黏多糖对家兔血流动力学影响的试验也已初步证明泥鳅黏多糖对心血管等方面具有一定生理活性。

### References:

- [1] Yuan S Q, Xue Z Y. *Technology of Breeding Misgurnus Anguillicaudatus* (泥鳅养殖技术) [M]. Beijing: Jindun Publishing House, 1996.
- [2] Zhang H Z, Wen Y L. *Chemistry of Animal Active Components* (动物活性成分化学) [M]. Tianjin: Tianjin Science and Technology Publishing House, 1995.
- [3] Dietrich C P. Identification of acidic mucopolysaccharides by agarose gel electrophoresis [J]. *Chromatography*, 1997, 130: 299.
- [4] Fan H Z, Chen J D, Lin K Z. Separation of apostichopus Japonicus acidic mucopolysaccharide and its physical and chemical properties [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1980, 15(5): 263.
- [5] Lin Q S. *Paper Chromatography and It's Application in Analyzing Chemical Compositions of Chinese Herbal Medicine* (纸上色谱及其在中草药成分分析中的应用) [M]. Beijing: Science Press, 1983.

## 蓬子菜的化学成分研究 (I)

马英丽, 卢卫红, 于晓敏, 史国玉, 杨帆

(黑龙江中医药大学药学院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

蓬子菜 *Galium verum* L. 为茜草科拉拉藤属<sup>[1]</sup> 药用植物蓬子菜的干燥全草。另名黄花米、疔毒蒿、

收稿日期: 2005-01-20

基金项目: 黑龙江省科技攻关计划项目 (GC03C402-1)

作者简介: 马英丽 (1954-), 黑龙江哈尔滨市人, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为中药药效物质基础研究。 Tel: (0451) 82196178