

26-位葡萄糖基,F-环自动环合得到相应的次级皂苷,所以应避免加热。而且C-22-OH易被甲基化,不能用甲醇提取、溶解。因此本研究选择超声提取,重蒸水溶解,乙腈为流动相。

3.2 采用超声提取法,考察了水、35%、65%、95%乙醇作为提取溶剂的提取效果,发现以35%乙醇作为溶剂,原薯蓣皂苷提取效率高,干扰峰较少,分离度较好,故采用35%乙醇作为提取溶剂。样品经溶剂提取后,考察了直接进样、正丁醇一步萃取后进样、醋酸乙酯-正丁醇两步萃取后进样,发现醋酸乙酯-正丁醇两步萃取后进样,杂质干扰少,重现性好。

3.3 该属植物中所含甾体皂苷类成分种类繁多,结构相似,在紫外区处于末端吸收,分离难度较大。对于液相色谱条件,曾考察了不同填料的色谱柱,不同比例的甲醇-水、乙腈-水、乙腈-醋酸水溶液、乙腈-甲醇-水等流动相,结果表明以Xterra™ ODS为固定相,乙腈-水(27:73)为流动相,分离效果最好,灵敏度高。通过二极管阵列检测器检测,色谱峰纯度良好,分析方法具有专属性。

3.4 首次采用RP-HPLC方法测定穿山龙及其同属植物中原薯蓣皂苷,结果显示穿山龙富含原薯蓣皂苷,质量分数为11.24~27.05 mg/g,黄山药次之,山药较少。该方法简便、快速,可用于该生药、提取物及其制剂的质量控制。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
- [2] Delectis Florae Reipublicae Popularis Sinicae, Agendae Academiae Sinicae Edita. *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* (中国植物志) [M]. Tomus 16. Beijing: Science Press, 1985.
- [3] Shao Y, Poobrasert O, Kennelly E J, et al. Steroidal saponins from *Asparagus officinalis* and their cytotoxic activity [J]. *Planta Med*, 1997, 63(3): 258-262.
- [4] Ke H, Yao X S. Protodioscin (NSC-698796): Its spectrum of cytotoxicity against sixty human cancer cell lines in an anticancer drug screen panel [J]. *Planta Med*, 2002, 68: 297-301.
- [5] Hu K, Dong A J, Yao X, et al. Antineoplastic agents; I. Four furostanol glycosides from rhizomes of *Dioscorea collettiivar hypoglauca* [J]. *Planta Med*, 1997, 63: 161-165.
- [6] Zhang J B, Hui Y Z. Recent progresses in research of furostanol saponins [J]. *Chin J Org Chem* (有机化学), 2000, 20(5): 663-668.

浙产猕猴桃属植物根、茎、叶中多糖的比较

吴瑾瑾¹, 石森林², 张小寅², 魏颖慧²

(1. 杭州第四医院, 浙江 杭州 310003; 2. 浙江中医学院, 浙江 杭州 310053)

近年来,猕猴桃属(*Actinidia* Lindl.)药用植物资源种类及药理作用日益受到国内外医药界的重视,其中浙江产的主要有中华猕猴桃 *A. chinensis* Planch.、缙合猕猴桃 *A. valvata* Dunn、大籽猕猴桃 *A. macrosperma* C. F. Liang、毛花猕猴桃 *A. eriantha* Benth.、软枣猕猴桃 *A. arguta* (Sieb. et Zucc.) Planch. et Miq.、长叶猕猴桃 *A. hemsleyana* Dunn、葛枣猕猴桃 *A. polygama* (Sieb. et Zucc.) Maxim.、异色猕猴桃 *A. callosa* Lindl. var. *discolor* C. F. Liang 等,其中前4种在浙江资源相对较丰富,药材主要有藤梨根(中华猕猴桃的根)和猫人参(缙合猕猴桃、大籽猕猴桃的根)。现代药理研究发现猕猴桃属多糖成分具有抗肿瘤、增强免疫机能、消除活性氧自由基等作用,且无副作用。随着其药用价值的凸现,猕猴桃属药材利用率增加,由于药用部位为根,造成其自然资源人为破坏严重,为了科学合理地利用药材资源,

笔者对浙江主产的猕猴桃属植物中华猕猴桃、缙合猕猴桃、毛花猕猴桃和大籽猕猴桃的根、茎、叶含多糖的量进行比较,以寻找新的药用部位。

1 仪器、材料和试剂

1.1 仪器:万能粉碎机(河北黄骅齐家务科学仪器厂);CQ250 超声清洗器(上海船舶电子设备研究所);国家统一标准筛(浙江上虞华康化验仪器厂);电子天平 AR1140/C(奥豪斯);751-GW 分光光度计(安捷伦科技上海分析仪器有限公司);DKS-24 型电热恒温水浴锅(沈阳中新电器厂)。

1.2 材料和试剂:药材来自猕猴桃科猕猴桃属的缙合猕猴桃、大籽猕猴桃、毛花猕猴桃、中华猕猴桃,均产自浙江,由罗国海副教授鉴定;D(+)葡萄糖购自中国生物制品检定所。硫酸(中国浙江衢州巨化试剂有限公司)、碳酸氢钠(中国上海虹光化工厂)、苯酚(浙江杭州双林化工厂),以上均为分析纯;铝片

(99%, 中国医药上海化学试剂公司)。

2 方法与结果

2.1 供试液制备:取供试药材细粉适量,加 80%乙醇 100 mL 强超声 20 min,滤过,滤渣连同滤纸再加入 80%乙醇 50 mL 强超声 20 min,滤过,再用 80%乙醇洗涤至基本无色,干燥。然后,加入 50 mL 蒸馏水强超声 20 min,滤过,滤渣加蒸馏水 30 mL 强超声 10 min,洗涤滤渣(2×5 mL),合并两次水提液和洗涤液,用活性炭脱色,并定容于 100 mL 量瓶中。

2.2 对照品溶液的制备:精密称取 105 °C 干燥恒重的 D(+)-葡萄糖 50 mg,用蒸馏水定容于 100 mL 量瓶中,取 50 mL 再定容于 100 mL 量瓶中,配成 250 μg/mL 的对照品溶液。

2.3 线性关系的考察与回归方程的建立:分别取对照品溶液 0.1、0.15、0.21、0.27、0.33、0.39、0.45 mL,分别加蒸馏水至 2 mL,加 15%苯酚水溶液 1 mL 摇匀,依次加入 5 mL 浓硫酸,静置 10 min,沸水浴加热 10 min,冷却至室温。在 490 nm 波长处测定吸光度(A),以质量浓度(C)为横坐标、A 为纵坐标作标准曲线,得回归方程: $A=0.059\,5\,C+0.009\,5$, $r=0.999\,8$,表明质量浓度在 3.2~14.00 μg/mL 与 A 有良好的线性。

2.4 精密密度试验:精密量取供试液和对照品液,分别按前述多糖测定方法操作,测定 A 值,结果对照品 RSD 为 0.69%($n=7$);样品 RSD 为 1.38%($n=7$)。

2.5 重现性试验:同一批样品 6 份制备供试液,每份分别取 2 mL,按前述多糖测定方法操作,测定 A 值,结果 RSD 为 1.63%($n=6$)。

2.6 稳定性试验:取 3 批供试液,按前述多糖测定方法操作,每隔 1 h 测定其多糖的量,共测 10 h,结果表明在 10 h 内 A 值基本不变,RSD=1.85%。

2.7 回收率试验:精密称取中华猕猴桃细粉 3.021、3.005、3.007 g,分别加入适量的 D(+)-葡萄糖对照品,按测定方法操作,结果平均回收率为 99.54%($n=9$)。

2.8 换算因子(f)的测定:精密称取 D(+)-葡萄糖对照品 50 mg,加蒸馏水稀释到 100 mL,再取 5 mL 定容于 50 mL 量瓶中,摇匀,作储备液。精密量取储备液 1.5 mL,按对照品制备下的方法测定其 A 值,按下列换算因子 $f=w/c$,w 为实际总多糖量,c 为测得多糖中总多糖量,测得 $f_1=1.161\,87$ (毛花猕猴桃和大籽猕猴桃), $f_2=1.186\,58$ (中华猕猴桃和钹合猕猴桃)。

2.9 样品的测定:精密称取毛花猕猴桃、大籽猕猴桃

桃、中华猕猴桃和钹合猕猴桃的根、茎、叶细粉,按供试液制备(除钹合猕猴桃茎稀释成 104 mL 外)和多糖测定方法操作,测定结果见表 1。

表 1 样品中多糖的测定($n=3$)

Table 1 Determination of polysaccharide in samples ($n=3$)

品 种	部 位	称样量/g	取样量/mL	质量分数/%
毛花猕猴桃	根	5.002 9	0.8	0.900
	茎	5.000 7	0.8	0.808
	叶	5.001 5	0.8	0.779
大籽猕猴桃	根	5.004 3	0.2	2.000
	茎	5.001 9	0.2	1.710
	叶	5.001 7	0.8	0.700
中华猕猴桃	根	5.005 0	1.0	0.544
	茎	5.004 0	0.5	1.814
	叶	5.003 0	1.5	0.405
钹合猕猴桃	茎	2.001 0	0.5	3.390
	叶	5.004 0	0.5	0.694

3 讨论

3.1 猕猴桃多糖采用超声提取有较大的优势^[1,2],可以缩短提取的时间,提高提取率,而且无需加热,所用仪器简单易行,多糖的提取条件易控制,先用 80%乙醇提取以除去单糖、低聚糖、苷类、脂类等干扰成分,然后用水提取多糖成分^[3],实验结果证明了此法可行。

3.2 苯酚-硫酸比色法是测定多糖较为常用的方法,原理是多糖在硫酸的作用下,先分解成单糖,并脱水生成糖醛衍生物和苯酚缩合成有色化合物,在 490 nm 处测定多糖的量,方法简单可行,显色稳定,灵敏度好,但是苯酚具有不稳定性,容易被氧化,所用苯酚最好临时现配。

3.3 本实验结果表明浙产猕猴桃属植物中,叶的量普遍较低,而茎则较高,其中钹合猕猴桃茎含多糖的量最高,可以利用其茎或叶代替药用部位根,避免不可再生资源的破坏。人工种植也是一条很好的出路,但如果仅仅取其根来药用,那将是对药材资源的一种浪费,可以利用秋、冬季修剪下来的枝叶加以利用,这样就能大大提高其经济效益。对于野生的猕猴桃属植物也没有必要非取其根不可,利用其茎、叶而有效地保护现有的自然资源,从而更加科学合理地利用药材资源。

References:

- [1] Wang H Y, Liu J R, Dan J M, et al. Ultrasonic extraction and determination of *Lycium barbarum* polysaccharides from Xin Jiang [J]. *J Chin Med Mater* (中草药), 2002, 1(1): 42.
- [2] Zhao J, Zhong R, Wang H Z, et al. Extraction optimization of polysaccharide in *Morus alba* L. [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31(5): 347.
- [3] Zeng M, Zhang H M, Zheng S Q, et al. Assay of polysaccharide and content comparison in Gegen [J]. *Chin J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药学杂志), 2002, 19(2): 45.