

油产率较低。

研究结果表明提取方法不同,其挥发成分及其量差异很大。正己烷提取物产率最高,其植物蜡、泪柏醇量很高,分别占挥发成分的40%以上。超临界二氧化碳萃取物中植物蜡成分较少,其主要挥发成分为泪柏醇,高达70%。水蒸汽蒸馏法提取的精油中植物蜡几乎没有,泪柏醇量较低,这与文献报道结果基本一致^[3]。研究发现引种的鼠尾草中泪柏醇量很高,有开发价值。

对比分析表明水蒸汽蒸馏不适合提取二萜醇泪柏醇及植物蜡,而超临界CO₂萃取对二萜醇泪柏醇有很好的选择性,对植物蜡的提取率较低,泪柏醇

可作为高级龙涎香香料合成原料,因此利用超临界CO₂萃取分离技术不仅可以得到鼠尾草挥发油,还能得到价值高的泪柏醇。

References:

- [1] Cuvelier M, Berset C, Richard H. Antioxidative constituents in sage (*Salvia officinalis*) [J]. *J Agric Food Chem*, 1994, 42: 665-669.
- [2] Paula C, Manuel F F. Organ-and season-dependent variation in the essential oil composition of *Salvia officinalis* L. Cultivated at two different ways [J]. *J Agric Food Chem*, 2001, 49: 2908-2916.
- [3] Nativ D, Efraim L. Dynamics of yield components and essential oil production in a commercial hybrid sage (*Salvia officinalis* × *Salvia fruticosa* cv. *Neue Ya'ar* No. 4) [J]. *J Agric Food Chem*, 1999, 47: 4341-4345.

山麦冬多糖的分离纯化及单糖组成研究

韩凤梅,程伶俐,李路军,陈 勇*

(湖北大学 中药生物技术省重点实验室,湖北 武汉 430062)

山麦冬为百合科植物湖北麦冬 *Liriope spicata* (Thunb.) Lour. var. *prolifera* Y. T. Ma 的干燥块根,是湖北大宗地道药材。现代研究表明,其主要活性成分山麦冬多糖有降血糖、延缓衰老、抗疲劳、辅助抑制肿瘤、抗辐射等作用^[1,2]。而目前对于山麦冬多糖的分离纯化及单糖组成分析尚未见报道。本实验分离纯化得到了一种水溶性山麦冬多糖,并对其相对分子质量及单糖组成进行了研究。

1 材料与方法

1.1 主要仪器、试剂及材料:BSZ-160 自动部分收集器(上海青浦沪西仪器厂);TH-1000 梯度混合器(上海金达生化仪器有限公司);(2.5 cm×40 cm) 色谱柱(武汉大学玻璃仪器厂);UV-1601 紫外可见分光光度计(日本岛津公司);体积排阻色谱-多角度激光光散射仪(SEC-LLS, Wyatt Technology corporation, USA);7890 II 型气相色谱仪(上海天美科学仪器有限公司)。

山麦冬产于襄阳欧庙山麦冬药材基地,并经本室王万贤教授鉴定为湖北麦冬 *L. spicata* (Thunb.) Lour. var. *prolifera* Y. T. Ma。DEAE-纤维素(上海生化试剂公司);各种单糖均为国产生化试剂;正二十烷(GC, EINECS 204-018-1 TSCA);三甲基氯硅烷(CP, 中国医药集团上海化学

试剂公司);六甲基二硅氮烷(AR, 国药化学试剂有限公司);其余试剂均为分析纯。

1.2 多糖的提取、分离与纯化^[3,4]:将山麦冬洗净,60℃干燥2h,粉碎。称取100g置500mL圆底烧瓶中,加石油醚250mL于60~90℃回流1h脱脂,滤过,石油醚回收。滤渣挥干溶剂后以80%乙醇250mL浸渍过夜,80~90℃回流提取2次,每次1.5h,滤过,药渣加蒸馏水500mL浸1h后于90℃温浸提取40min,滤过,再用250mL蒸馏水90℃温浸30min,过滤,合并滤液,减压浓缩至75mL。用Savag法脱蛋白质,加1%活性炭脱色2次,抽滤,滤液加95%乙醇使含醇量达80%,冰箱静置过夜。过滤,残渣依次用95%乙醇、无水乙醇、乙醚、丙酮洗涤后于60℃烘干,得褐色山麦冬粗多糖7g。

用DEAE-纤维素柱分离制备精制山麦冬多糖。吸取0.5%上述山麦冬粗多糖水溶液2mL上DEAE-纤维素柱(2.5 cm×36 cm),待多糖渗入DEAE-纤维素中后,用蒸馏水洗脱,体积流量1mL/min,每3min收集1管,隔管用苯酚硫酸法检测,直至无洗脱峰为止。

1.3 多糖相对分子质量测定方法^[5]:多糖相对分子质量测定采用体积排阻色谱结合激光光散射检测器测定,实验条件为:G6000PWXL(7.8 mm×300

mm)与G4000PWX(7.8 mm×300 mm)体积排阻串联柱,示差折光检测器与多角度激光光散射仪连用检测,检测波长为632.8 nm,检测温度为25℃,流动相为0.9% NaCl,使用前用0.2 μm的超滤膜处理,体积流量为1 mL/min。精制山麦冬多糖样品用0.9% NaCl配制成5 mg/mL溶液,进样前用0.2 μm的超滤膜处理,进样体积为200 μL。

1.4 单糖组成分析方法^[4,6]:多糖的单糖组成分析采用气相色谱测定,实验条件:7890 I型气相色谱仪,SE-30弹性石英毛细管柱(30 m×0.32 mm×0.5 μm),FID检测器,载气N₂ 40 mL/min,H₂ 40 mL/min,空气400 mL/min,尾吹40 mL/min,柱前压0.08 MPa,柱温210℃,进样器温度260℃,检测器温度260℃,分流进样1 μL。以2 mol/L三氟乙酸2 mL溶解25 mg精制山麦冬多糖样品,封管于100℃水解6 h,取出,在70℃水浴中用氮气吹干浓缩,再置干燥器中24 h。以1 mL吡啶溶解后于冰水浴中依次加入0.8 mL六甲基二硅氮烷和0.4 mL三甲基硅烷,于20℃静置6 h,离心,取上清液直接进气相色谱分析。用标准三甲基硅烷化单糖对照,衍生方法同上,正二十烷作内标物,根据保留时间及峰面积大小计算各单糖的组成比例。

2 结果与分析

2.1 山麦冬多糖的分离纯化:用蒸馏水洗脱DEAE-纤维素柱得到一个山麦冬多糖组份,再用0~0.2 mol/L NaOH进行梯度洗脱,无多糖组分流出。加大上样浓度与上样量上柱6次,共上样3 g,收集多糖洗脱液,于流水中透析3 d,真空冷冻干燥后得精制山麦冬多糖1.62 g。精制山麦冬多糖在260和280 nm处无吸收,说明其中不含核酸和蛋白质。由此可见,山麦冬粗多糖中含精制山麦冬多糖54.0%,其余的46.0%可能为低聚糖和单糖等杂质。

2.2 理化性质:精制山麦冬多糖为白色无定形状固体,极易吸潮。溶于水,尤易溶于热水,不溶于高浓度乙醇、丙酮、乙醚等有机溶剂,水溶液呈透明粘稠状。硫酸呋唑反应呈阴性,说明不含糖醛酸,为中性多糖。

2.3 相对分子质量测定结果:精制山麦冬多糖相对分子质量测定结果:其数均相对分子质量(M_n)为8 787,重均相对分子质量(M_w)为9 242, Z 均相对分子质量(M_z)为9 586,分布宽度(M_w/M_n)为1.05。

2.4 单糖组成分析结果:4种混合标准单糖的三甲基硅烷衍生物的气相色谱图见图1,精制山麦冬多糖水解物的三甲基硅烷衍生物的气相色谱分析结果见图2。实验结果表明,精制山麦冬多糖是一个由单

—葡萄糖组成的均多糖,其中葡萄糖的峰有两个,后一个为其在衍生化过程中产生的异构峰。

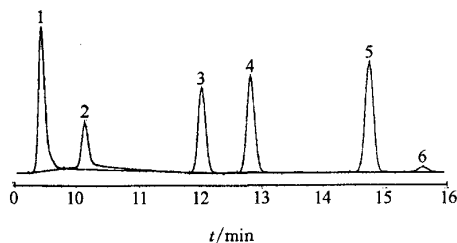
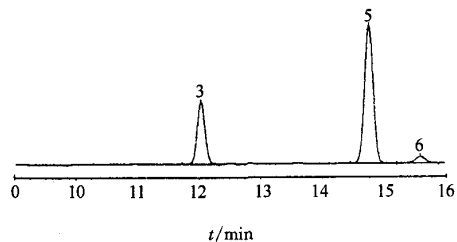


图1 混合标准单糖气相色谱图

Fig. 1 Gas chromatographic analysis of mixture of several standard monosaccharides



1-甘露糖 2-果糖 3,6-葡萄糖 4-半乳糖
5-正二十烷(内标)
1-man 2-fru 3,6-glc 4-gal
5-eicosane (internal standard)

图2 精制山麦冬多糖中单糖组分的气相色谱图

Fig. 1 Gas chromatogram of monosaccharide composition of refined *Radix Liriope* polysaccharide

3 讨论

水提山麦冬多糖主要是由单一葡萄糖组成的均多糖,其水溶性较好,且粘稠度非常高,极易吸潮,推测是麦冬中黏性物质的主要成分。用体积排阻色谱-多角度激光光散射法(SEC-LLS)测定其相对分子质量表明其重均相对分子质量为9 242。其呋唑反应呈阴性表明山麦冬多糖为中性多糖。有关其详尽的结构分析和生物活性还有待进一步深入研究。

References:

- [1] Ch P(中国药典) [S]. 2005.
- [2] Zheng Z H, Dong Z H, She J. *Modern Study and Application of Chinese Materia Medica* (中药现代研究与应用) [M]. Beijing: Xueyuan Press, 2000.
- [3] Tang L Q, Li C, Liu S, et al. Determination of Pachyman in *Radix Ophiogonis* content by anthrone-sulphuric acid colorimetry [J]. *Anhui Med Pharm J* (安徽医药), 2003, 7(1): 39-40.
- [4] Zhang W J. *Biochemistry Research Technique of Compound Polysaccharide* (合成多糖生化研究技术) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1987.
- [5] Peng Y F, Zhang L N, Xu X J. Characterization of molecular mass of six watersoluble polysaccharide-protein complexes from *Ganoderma Tsugae Mycelium* [J]. *Chin J Polym Sci* (中国聚合科学杂志), 2003, 21(3): 309-316.
- [6] Wang W, Zou Q G, Song Z, et al. Study of monosaccharide composition in polysaccharide peptid by capillary gas chromatography [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2003, 23(3): 219-222.