

蒙药阿嘎如-8 中多糖的研究

赵玉英¹, 宋娟娟¹, 赵玉琴², 徐秀廷¹, 海平¹

1 内蒙古民族大学化学学院, 内蒙古 通辽 028043

2 内蒙古赤峰林东中蒙医院, 内蒙古 林东 025450

摘要 介绍了提取阿嘎如-8 中水溶性多糖的方法, 并用硫酸-苯酚法测定了阿嘎如-8 的水溶性多糖含量。平均回收率为 101.80%, RSD 为 0.92%。用 GC 测定了阿嘎如-8 中水溶性多糖由阿拉伯糖、木糖、甘露糖和葡萄糖等组成。它们的摩尔比为: 0.40: 0.10: 5.67: 22.78。研究了它们的红外及紫外谱图。

关键词 多糖; 气相色谱; 提取; 阿嘎如-8

中图分类号: O657.7 文献标识码: A 文章编号: 1000-0593(2007)04-0827-03

引言

蒙医药是我国传统医药的重要组成部分, 纯属天然药物, 这些药物多数化学成分不明、药理作用不详, 仅凭药典、经验使用。要想发展蒙医药学, 必须利用现代科学技术手段, 对蒙药进行成分分析, 揭示它的生物效应, 对其药理及毒理进行研究, 找到蒙药独特疗效的科学依据。糖类化合物是一切生物体维持生命活动所需要能量的主要来源, 是生物体合成其他化合物的基本原料。从药用植物中发掘出许多有生物活性的多糖, 用于治疗免疫系统严重损伤的癌症、病毒感染的艾滋病、心脑血管疾病^[1, 2]等。文章在研究广枣多糖组分^[3]的基础上, 对阿嘎如-8 的水溶性多糖进行了研究, 为研制开发蒙药新制剂, 更好地发挥其药效提供理论依据。阿嘎如-8 用于心悸气短, 胸肋闷痛, 咳嗽, 前胸后背刺痛等症^[4], 是临床常用药。关于阿嘎如-8 化学组分及红外、紫外谱图的研究尚未见报导。

1 仪器及药品

HP5890 气相色谱仪, 721 型分光光度计(上海产)。阿嘎如-8 由内蒙古蒙药制药厂提供, 批号: 990102。木糖、半乳糖、葡萄糖、甘露糖、岩藻糖、鼠李糖和阿拉伯糖为上海试剂二厂产品, 核糖、阿洛糖和肌醇为进口试剂, 其他试剂均为分析纯, 双蒸馏水。

2 实验方法与结果

2.1 多糖的提取及含量测定

2.1.1 水溶性多糖的提取和样品的制备

称取阿嘎如-8 粉末 10.0 g, 用三氯甲烷、丙酮抽提除去色素以及有机试剂溶物, 将药渣风干放入 500 mL 蒸馏瓶中, 加双蒸馏水 300 mL 机械搅拌加热, 温度控制在 70~80 ℃, 提取 2 h, 共提取 3 次, 合并提取液, 用旋转蒸发仪减压浓缩至 15 mL, 加乙醇沉淀, 静置 24 h, 抽滤, 分别用无水乙醇 10 mL 洗 3 次、再用丙酮 10 mL 洗 3 次, 乙醚 10 mL 洗 1 次干燥得灰白色阿嘎如-8 粗多糖 1.22 g。经凝胶提纯得 0.905 g 多糖, 精密称取该多糖 0.0105 g, 置于 100 mL 容量瓶中, 加入 0.5 mol·L⁻¹ H₂SO₄ 20 mL 加热水解 2 h, 冷至室温, 稀释至刻度, 待测水溶性多糖含量用。

2.1.2 糖含量的测定

标准曲线的绘制: 精密称取葡萄糖对照品 100 mg, 制成 0.1 mg·mL⁻¹ 的对照品溶液, 分别稀释至 10.00, 20.00, 30.00, 44.00, 50.00 μg·mL⁻¹ 的 5 个不同浓度的对照品系列溶液, 精密吸取 1.0 mL 置 10 mL 容量瓶中, 加入 5% 苯酚 1.5 mL 混匀, 加入浓硫酸 7.5 mL, 加水至刻度, 旋涡混合 5 min, 再放置 20 min 后, 在 497 nm 波长处测定 A 值, 求得标准曲线的回归方程为 $c = 0.1581A - 0.004512$ ($r = 0.9997$), 在 3~70 μg 范围内符合 Beer 定律。糖含量的测定: 取上面制备的待测糖样品溶液 0.2 mL 左右, 按标准曲线的绘制方法测定 A 值, 由回归方程计算阿嘎如-8 糖含量为 93.0%, 其产率为 8.42%。

收稿日期: 2005-12-10, 修订日期: 2006-04-20

基金项目: 内蒙古自然科学基金项目(NJ04068) 和华东理工大学生物反应器工程国家重点实验室(F200-8-0218) 资助

作者简介: 赵玉英, 女, 1960 年生, 内蒙古民族大学化学学院教授 e-mail: zhaoyy1961@126.com

©1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.1.3 回收率实验

精密称取样品 5 mg 置于 50 mL 容量瓶中, 加入 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{H}_2\text{SO}_4$ 10 mL 加热水解 2 h, 冷至室温, 加入一定量葡萄糖对照品溶液, 稀释至刻度, 按“2.1.2”方法进行含量测定, 结果平均回收率为 101.80%, RSD 为 0.92%。

2.2 水溶性多糖的组分分析

2.2.1 各种标准单糖的气相色谱谱图

精密称取木糖、半乳糖、葡萄糖、甘露糖、阿拉伯糖、核糖、鼠李糖和岩藻糖约各 2 mg 配成 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合糖液, 另分别配制阿洛糖和肌醇的 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 溶液, 量取混合糖液 0.2 mL 依次加入 28% 浓氨水 0.05 mL、肌醇 0.05 mL 和阿洛糖 0.05 mL 混合, 量取 0.2 mL, 依次加入少量乙醇、氨水、四氢硼钠混合, 在 40°C 水浴加热 1 h, 再依次加入冰醋酸 10 滴、1-甲基咪唑 0.5 mL 和乙酸酐 5.0 mL 放置 10 min, 冰浴 10 min, 待分层后取出油层, 用氮气吹干, 然后用乙酸乙酯溶解, 直接进行气相色谱分析。

气相色谱条件: 色谱柱为 HPX70 毛细管柱, 检测器和进样口温度均为 270°C , 柱温为 $180 \sim 230^\circ\text{C}$, 9 min 的程序升温。采用峰面积内标(用肌醇和阿洛糖作内标)法定量。单糖标样的气相色谱图见图 1。

2.2.2 水溶性多糖的单糖组分分析

精密称取多糖约 10.0 mg, 加入 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫酸 10 mL 水解 3 h, 取该溶液 0.2 mL, 重复标准单糖的气相色谱分析方法, 气相色谱分析图见图 2。并将水溶性多糖的单糖组成及其含量列入表 1。水溶性多糖中单糖组成的摩尔比为: 阿拉伯糖: 木糖: 甘露糖: 葡萄糖 = 0.40: 0.10: 5.67: 22.78。

Table 1 The components and contents of dissolvable polysaccharide in Agari 8

多糖组成	阿拉伯糖	木糖	甘露糖	葡萄糖	总含糖量/%
含量/%	0.98	0.24	16.87	67.10	85.20

2.3 阿嘎日 8 多糖红外光谱的测定

采用溴化钾压片法, 常规扫描, 测得阿嘎日 8 水溶性多糖红外光谱, 见图 3。

图 3 显示了明显的多糖特征峰, 并将特征峰数据列于表 2 中。

Table 2 IR spectrum characteristic peak of Agari 8 polysaccharide

Absorption peak	Functional group	Structural characteristics
3 421.80	—OH	$\nu_{\text{O-H}}$ of OH
2 925.60	—CH ₂ —	$\nu_{\text{C-H}}$ of CH ₂
2 851.49	—C=O	$\nu_{\text{C=O}}$ of —C=O
1 628.00		
1 156.38	—C—O—C—	$\nu_{\text{C-O}}$ of —C—O—C—
1 082.06	—C—O—H	$\delta_{\text{O-H}}$ of C—O—H
1 020.49		
855.45	α 吡喃糖	$\delta_{\text{C-H}}$ of α 吡喃糖

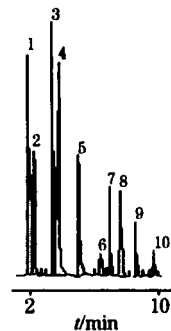


Fig 1 Chromatograms for chemical reference substance
1: Rhamnose; 2: Fucose; 3: Ribose; 4: Arabinose; 5: Xylose;
6: Sllose; 7: Mannose; 8: Galactose; 9: Glucose; 10: Inositol

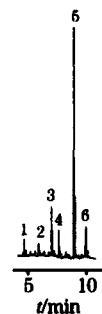


Fig 2 Chromatograms for dissolvable polysaccharide
1: Arabinose; 2: Xylose; 3: Allose;
4: Mannose; 5: Glucose; 6: Inositol

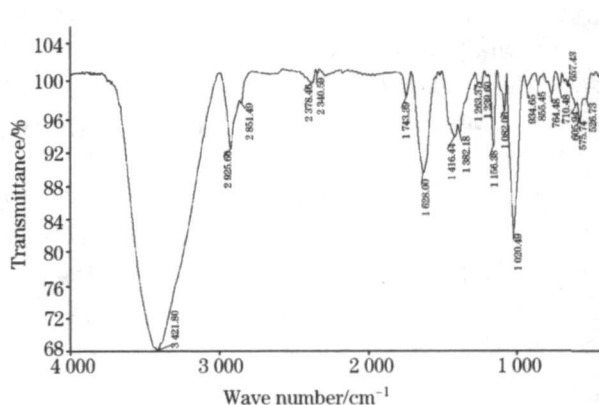


Fig 3 IR spectrum of Agari 8 polysaccharide

2.4 阿嘎日 8 多糖紫外光谱的研究

将阿嘎日 8 水溶性纯多糖进行紫外光谱分析, 在 260 nm 处有明显的糖吸收峰, 并没有杂峰。

3 讨论

(1) 阿嘎日 8 水溶性多糖产率为 8.42%, 从表 1 看, 其水溶性多糖由阿拉伯糖、木糖、甘露糖和葡萄糖等组成, 葡萄糖含量较高, 有一定量甘露糖, 少量木糖和阿拉伯糖。

(2) 将单糖转化成多羟基醇时, 用四氢硼钠还原, 在实际操作中可使四氢硼钠微过量, 再用冰乙酸分解过量的四氢硼钠, 否则会干扰酰化过程。

(3) 为了便于 GC 分析, 将多元醇酰化, 制成易挥发、对热稳定的衍生物。这个过程是多元醇与乙酸酐的反应, 该反应的好坏取决于反应条件, 最重要的条件之一是催化剂的使

用, 本实验用的是 1-甲基咪唑。

(4) 实验用苯酚现用现配, 标准曲线用苯酚的浓度与测定样品时用苯酚的浓度必须一致, 否则糖含量测不准确。

参 考 文 献

- [1] ZHAO Yur ying(赵玉英). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2005, 25(2): 314.
- [2] ZHAO Yur ying, ZHAO Yur qin, PIAO Guir jin, et al(赵玉英, 赵玉琴, 朴贵金, 等). Chinese Traditional and Herbal Drugs(中草药), 2003, 34(8): 1.
- [3] ZHAO Yur ying, HAI Ping, SUN Zhan cai, et al(赵玉英, 海平, 孙占才, 等). Chin J. Pharm. Anal.(药物分析杂志), 2001, 21(6): 440.
- [4] Edited by Health bureau of Inner Mongolia(内蒙古自治区卫生厅编). Inner Mongolia the Standards of Mongolian Medicine(内蒙古蒙成药标准). Chifeng: Inner Mongolia Science and Technology Publishing House(赤峰: 内蒙古科技出版社), 1984.
- [5] ZHAO Yur ying, ZHAO Yur qin, CHEN Yur hua, et al(赵玉英, 赵玉琴, 陈玉花, 等). Chinese Traditional Patent Medicine(中成药), 2004, 26(1).

Determination of Constituents of Polysaccharide and Contents of Saccharide from Mongolian Medicine Agar-8

ZHAO Yur ying¹, SONG Juanjuan¹, ZHAO Yur qin², XU Xiur ting¹, HAI Ping¹

1. Inner Mongolia Nationalities University, Tongliao 028043, China

2. Inner Mongolia Chifeng Lindong Traditional Mongolian and Chinese Medicine Hospital, Lindong 025450, China

Abstract The water soluble polysaccharide was extracted from Agar-8, and the contents of the water soluble polysaccharide were determined by phenyl hydrate sulfuric acid method. The average recovery was 101.80%. The RSD was 0.92%. The components of the water soluble polysaccharide were identified by gas chromatography with: arabinose, xylose, mannose and glucose in the molar ratio of 0.40: 0.10: 5.67: 22.78. Their IR and UV spectra were studied.

Keywords Polysaccharide; GC; Extraction; Agar-8

(Received Dec. 10, 2005; accepted Apr. 20, 2006)