

蒙药嘎日迪-15 中多糖的研究

崔毅¹, 白海泉², 赵玉英^{1*}, 乌兰格日乐¹, 宋娟娟¹, 徐秀廷¹

1. 内蒙古民族大学化学学院, 内蒙古 通辽 028043

2. 内蒙古科右中旗教研室, 内蒙古 兴安盟 029000

摘要 用热水提取蒙药嘎日迪-15 中水溶性多糖, 经 SephadexC-25 进行提纯精制得纯糖, 采用硫酸-苯酚法测定了其水溶性多糖含量。方法的平均回收率为 100.50%, RSD 为 0.82%。用 GC 测定了蒙药嘎日迪-15 中水溶性多糖主要由木糖、甘露糖、半乳糖、葡萄糖组成, 其摩尔比为 1.03 : 1.26 : 0.77 : 2.30。用溴化钾压片法测得的红外谱图显示多糖的特征吸收峰为 3 417.46, 2 928.65, 1 742.86, 1 643.69, 1 149.78, 1 078.19, 1 022.56, 834.57 cm^{-1} , 其中 1 078.19 和 1 022.56 cm^{-1} 为吡喃糖特征峰, 834.57 cm^{-1} 是 α -吡喃糖苷键的特征吸收峰。紫外谱图在 280 nm 处有明显的糖吸收峰, 说明有 C=O 键存在。

关键词 嘎日迪-15; 多糖; GC; 提取

中图分类号: O657 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-0593(2007)11-2246-03

引言

蒙医药是我国传统医药的重要组成部分。蒙药属天然药物, 多数化学成分不明、药理作用不详, 仅凭经验使用。目前我国乃至全世界越来越重视对传统医药的开发与利用。蒙医药的研究是当今新药发展的方向之一。对蒙药进行有效成分提取及衍生化合成, 揭示其生物活性, 找到其独特疗效的科学依据, 才能使其发展为现代医药科学。从植物及蒙成药中提取的水溶性多糖, 具有较好的免疫促进作用和一定的抗病毒、抗肿瘤、抗艾滋等生物活性^[1-3]。蒙成药嘎日迪-15 用于祛风, 舒筋活血、镇静安神, 除协日乌素等症^[4], 是临床常用药。目前用光谱学手段研究嘎日迪-15 的化学组分及结构特征方面尚未见报道。本文在研究广枣多糖组分^[5-8]的基础上, 对嘎日迪-15 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。

不久前, 孟庆勇^[9], 邓桂春^[10]等也曾用类似的方法研究过其他植物多糖。

1 仪器及药品

HP5890 气相色谱仪, 721 型分光光度计(上海产)。嘎日迪-15 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、阿拉伯糖为上海试剂

二厂产品, 核糖、阿洛糖、肌醇为进口试剂, 其他试剂均为分析纯, 水为双蒸馏水。

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

称取嘎日迪-15 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 $^{\circ}\text{C}$, 3 h 内提取 3 次, 合并提取液, 用旋转蒸发器减压浓缩至 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, 干燥得褐色嘎日迪-15 粗多糖 1.18 g。复溶, 加 3% 三氯乙酸至不再产生白色沉淀为止, 除去蛋白质。抽滤, 溶液浓缩, 加入 95% 的乙醇醇析, 静置过夜, 减压抽滤, 经葡聚糖凝胶(SephadexC-25)及透析提纯, 置于干燥器中干燥, 得 0.930 g 多糖, 精确称取其 0.095 5 g, 置于 100 mL 容量瓶中, 加入 0.5 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ H_2SO_4 20 mL 加热水解 2 h, 冷至室温, 稀释至刻度, 待测。

2.1.2 糖含量的测定及标准曲线的绘制

精密称取葡萄糖对照品 100 mg, 制成 0.1 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液, 分别稀释至 10.00, 20.00, 30.00, 44.00, 50.00 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 5 个不同浓度的对照品系列溶液, 精确吸

收稿日期: 2006-08-06, 修订日期: 2006-11-02

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-B-0218)资助

作者简介: 崔毅, 女, 1955 年生, 内蒙古民族大学化学学院教授 * 通讯联系人 e-mail: zhaoyy1961@126.com

取 1.0 mL 置 10 mL 容量瓶中, 加入 5% 苯酚 1.5 mL 混匀, 加浓硫酸 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。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, 由回归方程计算嘎日迪-15 糖含量为: 95.4%, 其产率为 8.42%。

2.1.3 回收率实验

精确称取样品 5 mg 置于 50 mL 容量瓶中, 加入 1 mol · L⁻¹ H₂SO₄ 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 节方法进行含量测定, 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 标准单糖的气相色谱谱图

精确称取木糖、半乳糖、葡萄糖、甘露糖、阿拉伯糖、核糖、鼠李糖、岩藻糖约各 2mg 配成 1 mg · mL⁻¹ 的混合糖液, 另分别配制阿洛糖、肌醇的 1 mg · 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, 进行气相色谱分析。采用峰面积内标法定量。图 1 为各单糖标样的气相色谱图。

气相色谱的条件为: 色谱柱为 HPX70 毛细管柱, 检测器和进样口温度均为 260 °C, 柱温为 160~260 °C, 程序升温为 15 °C · min⁻¹, 载气为 He, 流速为 25 mL · min⁻¹。

2.2.2 水溶性多糖的单糖组分分析

精确称取多糖约 10.0 mg, 加入 2 mol · 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, 得气相色谱分析图(见图 2)。表 1 为水溶性多糖的单糖组成及其含量。水溶性多糖中单糖组成的摩尔比为木糖: 甘露糖: 半乳糖: 葡萄糖 = 1.03 : 1.26 : 0.77 : 2.30。

Table 1 The components and contents of poly saccharide in Garidi-15 (%)

多糖组成	木糖	甘露糖	半乳糖	葡萄糖	总糖量
含量/%	11.90	18.05	11.96	53.5	95.4

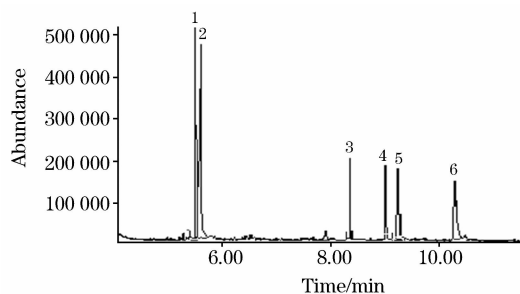


Fig. 1 Chromatograms for chemical reference substance

1: 木糖; 2: 鼠李糖; 3: 甘露糖; 4: 果糖; 5: 半乳糖; 6: 葡萄糖

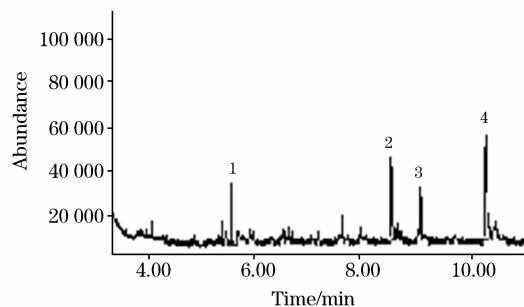


Fig. 2 Chromatograms for dissolvable polysaccharide

1: 木糖; 2: 甘露糖; 3: 半乳糖; 4: 葡萄糖

2.3 嘎日迪-15 多糖红外光谱的测定

采用溴化钾压片法, 利用常规扫描, 测得嘎日迪-15 水溶性多糖红外光谱。嘎日迪-15 多糖的红外光谱显示了多糖的红外光谱特征峰(见表 2), 在 3 417.46 cm⁻¹ 处最大的吸收峰是多糖中 O—H 的伸缩振动; 2 928.65 cm⁻¹ 吸收峰是多糖的 C—H 键伸缩振动; 在 1 742.86 cm⁻¹ 的吸收峰是多糖 COO⁻R 中的 C=O 和 C—O 的伸缩振动; 在 1 643.69 cm⁻¹ 附近的吸收峰是多糖中—COO⁻ 的 C=O 的非对称伸缩振动, 1 328.78 cm⁻¹ 是 C=O 的对称伸缩振动; 在 1 149.78 cm⁻¹ 处是非对称的 C—O—C 伸缩振动, 1 022.56 cm⁻¹ 处是 O—H 的变角振动; 950~400 cm⁻¹ 之间的吸收反映了糖环上的有关振动, 其中 1 078.19 和 1 022.56 cm⁻¹ 为吡喃糖特征峰, 834.57 cm⁻¹ 附近的一个吸收峰是 α -吡喃糖苷键的特征吸收峰。

Table 2 IR spectrum of garidi-15 polysaccharide

Absorption peak	Functional group	Structural characteristics
3 417.46	—OH	$\alpha_{\text{O—H}}$ of OH
2 928.65	—CH ₂ —	$\alpha_{\text{C—H}}$ of CH ₂
1 742.86	—COO ⁻	$\alpha_{\text{C=O}}$ of —COO ⁻
1 643.69		
1 149.78	C—O—C	$\alpha_{\text{C—O}}$ of C—O—C
1 078.19	C—O—H	$\delta_{\text{O—H}}$ of C—O—H
1 022.56		
834.57	α -吡喃糖	$\delta_{\text{C—H}}$ of α -吡喃糖

2.4 嘎日迪-15 多糖紫外光谱的研究

将嘎日迪-15 水溶性纯多糖进行紫外光谱分析, 在 280 nm 处有吸收峰, 说明该多糖有 C=O 键。

3 讨论

(1) 嘎日迪-15 水溶性多糖含量为 95.4%, 从表 1 看, 其水溶性多糖由木糖、甘露糖、半乳糖和葡萄糖等组成, 葡萄糖含量较高, 有一定甘露糖和半乳糖, 少量木糖。

(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, 将多元醇酐化, 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] XIE Ming-yong, NIE Xiao-ping, FU Bo-qiang, et al(谢明勇, 聂小平, 傅博强, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(9): 1710.
- [2] ZHANG Jian-hua, TIAN Geng-yuan(张健华, 田庚元). Acta Chimica(化学学报), 2003, 61(10): 1692.
- [3] WANG Yan, YANG Xiang-liang, DENG Cheng-hua, et al(王 雁, 杨祥良, 邓成华, 等). Prog. Biochem. Biophys.(生物化学与生物物理进展), 2000, 27(4): 411.
- [4] Edited by Health Bureau of Inner Mongolia(内蒙古自治区卫生厅编). The Standards of Mongolian Medicine of Inner Mongolia(内蒙古蒙成药标准). Chifeng: Inner Mongolia Science and Technology Publishing House(赤峰: 内蒙科技出版社), 1984.
- [5] ZHAO Yu-ying, ZHAO Yu-qin, PIAO Gui-jin, et al(赵玉英, 赵玉琴, 朴贵金, 等). Chinese Traditional and Herbal Drugs(中草药), 2003, 34(8): 704.
- [6] ZHAO Yu-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.
- [7] ZHAO Yu-ying(赵玉英). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2005, 25(2): 314.
- [8] ZHAO Yu-ying, ZHAO Yu-qin, CHEN Yu-hua, et al(赵玉英, 赵玉琴, 陈玉花 等). Chinese Traditional Patent Medicine(中成药), 2004, 26(1): 1.
- [9] MENG Qing-yong, WANG Ya-fei, JIE Xin-ming, et al(孟庆勇, 王亚飞, 揭新明, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(10): 1903.
- [10] DENG Gui-chun, HOU Song-mei, TIAN Dong-mei, et al(邓桂春, 侯松媚, 田东梅, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(3): 522.

Determination of Constituents of Polysaccharide and the Content of Saccharide in Mongolian Medicine Garidi-15

CUI Yi¹, BAI Hai-quan², ZHAO Yu-ying^{1*}, Wulangerile¹, SONG Juan-juan¹, XU Xiu-ting¹

1. Inner Mongolia Nationalities University, Tongliao 028043, China

2. Inner Mongolia KeYouZhongQi Teaching and Research Section, Xinganmeng 029000, China

Abstract The present paper introduces the method, with which the water-soluble polysaccharide was extracted with hot water from Garidi-15, the products were further purified with column chromatography on SephadexC-25, and the contents of water soluble polysaccharide were determined by phenyl hydrate-sulfuric acid method. The average recovery was 100.50%, and RSD was 0.82%. The components of water soluble polysaccharide were identified by gas chromatography as xylose, mannose, galactose and glucose in the molar ratio of 1.03 : 1.26 : 0.77 : 2.30. The water soluble polysaccharide was identified by IR spectrum and UV(200-400 nm) scanning spectrum. The IR spectrum indicates that there are characteristic absorption peaks of polysaccharides at 3 417.46, 2 928.65, 1 742.86, 1 643.69, 1 149.78, 1 078.19, 1 022.56 and 834.57 cm^{-1} , of which there are absorption peaks of pyranose at 1 078.19 and 1 022.56 cm^{-1} , and contain one characteristic absorption peak of α -pyranose indican band at 834.57 cm^{-1} . The UV scanning spectrum shows the obvious polysaccharide absorption peak at 280 nm, and indicates the existence of C=O bond.

Keywords Polysaccharide; GC; Extraction; Garidi-15

(Received Aug. 6, 2006; accepted Nov. 2, 2006)

* Corresponding author