

· 中药与天然药 ·

葛根多糖含量的比较测定

曾明¹ 张汉明¹ 郑水庆¹ 陶朝阳¹ 苏中武¹ (北京 100700 北京军区总医院药理科; ¹ 上海 200433 第二军医大学药学院)

摘要 目的: 测定不同来源葛根及同属植物根中多糖的含量, 为葛根的质量评价及资源利用提供科学依据。方法: 采用苯酚-浓硫酸反应后分光光度法测定多糖含量。结果和结论: 不同种葛及同种葛不同产地的多糖含量差异较大, 以粉葛的含量最高, 野葛则以南方产的明显高于北方产的。

关键词 葛根; 多糖; 分光光度法; 含量测定

Assay of polysaccharide and content comparison in Gegen

Zeng Ming (Zeng M), Zhang Hanming (Zhang HM), Zheng Shuiqing (Zheng SQ), et al (College of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433)

ABSTRACT OBJECTIVE: To determine polysaccharide contents in Pueraria root and other plants of Pueraria DC. from China. **METHODS:** Polysaccharide in Gegen was determined by UV spectrophotometer at 490 nm, with phenol-concentrated sulfuric acid as the color developer. **RESULTS and CONCLUSION:** The contents of polysaccharide in 21 samples of Pueraria root differed greatly, that in Pueraria thomsonii was the highest, and that in P. lobata grew in southern were higher than that grew in northern.

KEY WORDS Gegen, polysaccharide, UV spectrophotometer

葛根为豆科植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 和粉葛 *P. thomsonii* Benth. 的干燥根, 是一种常用中药, 具有解肌退热、生津透疹、升阳止泄等功效。葛根的主要化学成分有黄酮、皂苷、香豆素和多糖等。多糖类化合物是一种免疫调节剂, 它能激活免疫细胞, 提高机体的免疫功能, 而对正常细胞没有毒副作用; 临床上多用于抗肿瘤、治疗艾滋病和抗衰老^[1]。葛根淀粉含量丰富, 葛粉在民间一直作为食品或药用^[2]。为此, 我们采用苯酚-浓硫酸分光光度法对不同葛根的样品进行多糖的含量测定, 为葛根及同属植物资源的综合利用及质量评价提供科学依据。

1 仪器与试剂

UV-265FW 型紫外分光光度计(日本岛津)。葡萄糖为标准品, 其余试剂均为分析纯。

5% 苯酚溶液的配制 取苯酚 100g, 加铝片 0.1g 和碳酸氢钠 0.05g, 蒸馏, 收集 182℃ 馏分, 称取 10g, 加水溶解并稀释至 200.0ml, 摇匀, 置棕色瓶内, 放冰箱中备用。

对照品溶液的制备 精密称取 105℃ 干燥至恒重的标准无水葡萄糖 25mg, 加水溶解并稀释至 100ml, 摇匀。

2 方法

2.1 多糖的提取与精制

取过 40 目筛的野葛(采自辽宁旅顺)粉末 100g 置圆底烧瓶中, 加石油醚(沸程 60~90℃) 500ml, 回流提取 1h 以脱脂。过滤, 滤渣挥干溶媒后用 80% 乙醇 500ml 回流 1h, 过滤。

滤渣置圆底烧瓶中, 加蒸馏水 1500ml, 回流提取 1h, 趁热过滤, 减压浓缩至 150ml, 加 0.1% 活性炭脱色, 过滤, 加入 95% 乙醇使溶液含醇 80%, 静置过夜, 过滤, 沉淀物以无水乙醇、丙酮依次洗涤 8 次, 每次 5ml, 得到总多糖组分, 以 60℃ 烘干备用。

2.2 葛根多糖的含量测定

标准曲线的制备 精密量取对照品溶液 0.0, 2.0, 4.0, 8.0, 10.0, 12.0, 14.0ml, 分别置 50ml 容量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 各精取 2.0ml, 置具塞试管中, 加入 1.0ml 5% 苯酚溶液, 再垂直快速加入浓硫酸 5.0ml, 摇匀, 放置 5min, 沸水浴加热 15min, 取出, 流水速冷至室温, 于 490nm 波长处测吸收度, 以吸收度为横坐标(A), 葡萄糖对照品量为纵坐标(C), 得回归方程: $C = 1.590 \times 10^{-2} A - 1.417 \times 10^{-3}$, $r = 0.9993$ 。

换算因素测定 精密称取总多糖 100.0mg, 置 100ml 容量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为贮备液。精密量取贮备液 10.0ml, 置 100ml 容量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 此为供试品溶液。精密量取供试品溶液 2.0ml, 按标准曲线制备项下自“加入 1.0ml 5% 苯酚溶液……”起, 测

* 曾明: 男, 博士。于 1996 年、1999 年毕业于第二军医大学药学院, 先后获硕士、博士学位。1999~2001 年在华东师范大学化学与生命科学学院博士后流动站从事中药新药的研究和开发工作。

定吸收度,从回归方程中求出供试液中含量,按下式计算换算因素。

$J = W/c$ W 为实际总多糖量, c 为测得多糖液中总多糖含量。测得 $J = 1.43(n = 5)$ 。

样品液制备和含量测定 精密称取样品粉末(过 40 目筛) 0.3g, 80% 乙醇 100ml 回流提取 1h, 趁热过滤, 药渣用 8ml 180% 热乙醇洗涤 3 次, 药渣置圆底烧瓶中, 加蒸馏水 85ml, 回流 1h, 趁热过滤, 用 5ml 热水洗涤烧瓶和药渣, 待冷后移于 250ml 容量瓶中, 用蒸馏水稀释至刻度, 混匀置冰箱中备用。精密吸取各供试液 0.5ml, 按标准曲线制备项下自“加入 1.0ml 15% 苯酚溶液……”起, 测定吸收度。按回归方程求出供试液中葡萄糖含量, 按下式计算样品中多糖含量。

$$\text{多糖含量}(\%) = \frac{c \times F \times f}{M} \times 100\%$$

式中 c 为供试液葡萄糖浓度, F 为供试品溶液的稀释因素, f 为换算因素, M 为供试品质量。

加样回收率测定 精密称取葛根粉末 0.1g, 加入葛根总多糖 30.0mg, 按样品液制备和含量测定方法操作, 计算加样回收率, 结果为 100.41% ($n = 5$, $RSD = 1.16\%$)。

3 结果与讨论

3.1 结果

葛根及同属植物根中多糖的含量见表 1。

3.2 讨论

本实验测定方法的原理是先用 80% 乙醇提取以除去单糖、低聚糖、甙类等干扰性成分, 然后用水提取其中所含的多糖类成分。多糖在硫酸作用下, 先水解成单糖, 并迅速脱水生成糖醛衍生物, 然后和苯酚缩合成有色化合物, 用分光光度法于适当波长处测定其多糖含量。本法简便, 显色稳定, 灵敏度高, 重现性好。

从测试结果可知, 不同种葛及同种葛不同产地的葛多糖含量相差较大, 以粉葛含量最高; 其次是食用葛, 黄毛葛和密花葛的含量也较高; 野葛则南方江西、安徽、贵州产的明显的高于北方辽宁、河北产的。

刘灿坤^[3], 在分析了历代本草对葛根功效的记载后认为, 含淀粉量高的葛根(粉葛), 功效偏重于清热解肌, 生津止渴, 醒脾解酒; 含淀粉量少, 纤维性强的葛根(野葛), 侧重于解肌, 透疹、升阳止泻。临床应用时, 应根据不同的病症选用

不同品种的葛根。

过去对葛根的有效成分的研究多集中在黄酮类成分, 植物源的多糖类化合物由于它们的独特功能和低毒性, 因而在临床应用中显示出广阔的前景, 葛根多糖值得进一步的研究和开发。

参考文献

- 1 田庚元, 冯宇澄, 林颖. 植物多糖的研究进展. 中国中药杂志, 1995, 20(7): 441.
- 2 吴苏喜. 葛根的利用与开发前景. 中国野生植物, 1992, (2): 28.
- 3 刘灿坤, 王瑞杰. 论古今药用葛根的品种. 时珍国药杂志, 1997, 8(5): 389.

表 1 葛根及同属植物根中多糖的含量

No.	种	产地	采收时间	含量(%)
1	野葛 <i>P. lobata</i>	辽宁旅顺	1994-08	5.14
2	野葛 <i>P. lobata</i>	江西南昌	1994-08	14.68
3	野葛 <i>P. lobata</i>	陕西西安	1994-10	12.85
4	野葛 <i>P. lobata</i>	四川峨嵋	1994-11	9.02
5	野葛 <i>P. lobata</i>	河北井陘	1994-08	3.57
6	野葛 <i>P. lobata</i>	贵州岑巩	1994-08	16.97
7	野葛 <i>P. lobata</i>	安徽金寨	1994-10	18.72
8	野葛 <i>P. lobata</i>	山东泰安	1994-10	6.39
9	野葛 <i>P. lobata</i>	浙江临安	1994-05	10.60
10	野葛 <i>P. lobata</i>	浙江衢县	1997-08	10.41
11	粉葛 <i>P. thomsonii</i>	云南景洪	1995-01	15.38
12	粉葛 <i>P. thomsonii</i>	江西奉新	1994-08	38.73
13	粉葛 <i>P. thomsonii</i>	云南大理	1994-11	25.71
14	粉葛 <i>P. thomsonii</i>	云南丽江	1994-11	28.88
15	山葛 <i>P. montana</i>	广东博罗	1995-02	12.13
16	食用葛 <i>P. edulis</i>	云南巍山	1995-11	26.46
17	峨嵋葛 <i>P. omeiensis</i>	四川峨嵋	1994-11	6.66
18	三裂叶葛 <i>P. phaseoloides</i>	广东广州	1995-02	9.08
19	苦葛 <i>P. peduncularis</i>	云南巍山	1994-11	7.41
20	密花葛 <i>P. alopecuroides</i>	云南景洪	1994-11	25.50
21	黄毛葛 <i>P. calycina</i>	云南永胜	1994-11	20.96