

## 维药独尾草多糖含量的测定

张丽<sup>1</sup>, 谭勇<sup>1,2\*</sup>, 田丽萍<sup>1,2</sup>, 王珊珊<sup>1</sup>, 王金辉<sup>1,2,3</sup>

- (1. 石河子大学药学院, 新疆 石河子 832002;
2. 新疆特种植物药资源省部共建教育部重点实验室, 新疆 石河子 832002;
3. 沈阳药科大学中药学院, 沈阳 110016)

**[摘要]** 目的: 比较异翅独尾草 *Eremurus anisopterus* 在开花期和休眠期的多糖含量。方法: 采用水提醇沉法提取异翅独尾草多糖, 用苯酚-浓硫酸比色法测定多糖含量。结果: 异翅独尾草在开花期的多糖含量为 3.98%, 休眠期的多糖含量为 5.10%。结论: 异翅独尾草开花期比休眠期的多糖含量高 1.12%, 休眠期采收较为适宜。

**[关键词]** 异翅独尾草; 多糖类; 比色法; 采收期

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)07-0124-03

**[doi]** 10.11653/zgsyfjxzz2013070124

## Content Determination of Polysaccharide from Uighur Medicine *Eremurus*

ZHANG Li<sup>1</sup>, TAN Yong<sup>1,2\*</sup>, TIAN Li-ping<sup>1,2</sup>, WANG Shan-shan<sup>1</sup>, WANG Jing-hui<sup>1,2,3</sup>

- (1. College of Pharmacy, Shihezi University, Shihezi 832002, China;
2. Key Laboratory of Xinjiang Phytomedicine Resources of the Ministry of Education, Shihezi 832002, China;
3. College of Traditional Chinese Medicine, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

**[Abstract]** **Objective:** To compare the polysaccharide content from different *Eremurus anisopterus* at puberty and rest period. **Method:** The polysaccharide was extracted from the *Eremurus anisopterus* using water extraction and alcohol precipitation. **Result:** The polysaccharide content in flowering *E. anisopterus* is 3.98%, rest period polysaccharide content was 5.10%. **Conclusion:** Different *E. anisopterus* flowering period than rest period polysaccharide content as high as 1.12%, rest period recovery is relatively appropriate.

**[Key words]** *Eremurus anisopterus*; polysaccharide; colorimetry; Harvest time

异翅独尾草 *Eremurus anisopterus* 隶属于百合科吊兰族独尾草属, 主要分布于新疆的固定沙丘上<sup>[1-2]</sup>, 主要化学成份为蒽醌和多糖<sup>[3-4]</sup>。多糖化合物广泛存在于自然界植物体中, 不仅是机体重要的

供能物质, 还具有免疫调节、抗肿瘤、抗衰老、降血糖、抗凝血等作用<sup>[5]</sup>。目前, 我国学者已对独尾草的化学成分<sup>[6-7]</sup>进行了一些研究, 但多是对于独尾草中的蒽醌成分进行研究, 而对独尾草中的多糖研究报道较少。因此, 本研究采用苯酚-硫酸比色法<sup>[8]</sup>对异翅独尾草多糖含量进行测定, 为异翅独尾草多糖成分药理活性及资源开发提供科学依据。

### 1 仪器与试剂

**1.1 仪器** UV-2401 型紫外-可见分光光度计(日本岛津制作所), Sartorius BP 211 D 型电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司), DZKW 型电热恒温水浴锅(北京市永光明医疗仪器厂), SHZ-D9(Ⅲ)型循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司), EYBLA 型旋转蒸发仪(上海爱朗仪器有限公

**[收稿日期]** 20120826(006)

**[基金项目]** 石河子大学自然科学重点项目(ZRXX2009ZD05); 石河子大学“263”青年骨干教师项目(YX07011); 石河子大学研究生精品课程(2012YP-ke06)

**[第一作者]** 张丽, 在读硕士生, 从事生药学及天然药物活性成分研究, Tel: , E-mail: huluevev@sina.com

**[通讯作者]** \* 谭勇, 教授, 从事中药资源及天然产物活性成分研究, Tel: 0993-2057751, E-mail: xjtany@yahoo.com.cn

司),DHG-9240 电热恒温鼓风干燥箱(上海齐欣科学仪器有限公司),TG16-WS 台式高速离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司),KDM 型调温电热套(山东省鄞城永兴仪器厂)。

**1.2 试药** 开花期异翅独尾草于 2012 年 5 月初采自石河子 150 团,休眠期异翅独尾草于 2012 年 6 月中旬采自石河子 150 团,经药学院李鹏副教授鉴定为异翅独尾草;葡萄糖、苯酚、浓硫酸、95% 乙醇、石油醚、正丁醇、三氯甲烷等均为分析纯;水为去离子水。

## 2 方法与结果

**2.1 多糖的提取及精制** 称取异翅独尾草根粉末 10.00 g,置于索氏提取器中,用 120 mL 石油醚脱脂 3 h,再用 80% 乙醇 120 mL 回流 3 h,除去单糖和低聚糖,取药渣挥干溶剂后,用 200 mL 水煮 2 h,冷却至室温后,以 4 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 5 min,取上清液抽滤,滤液减压浓缩至约 30 mL,加氯仿-正丁醇(4:1)溶液 8 mL,置于具塞试管中,充分振摇 30 min 后,以 4 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 3 min,取上层液体再加入相当于其体积 1/4 的氯仿-正丁醇(4:1)溶液,重复上述过程直到界面无白色沉淀为止。取上层液体,边搅拌边加入 95% 乙醇至乙醇体积分数达到 80%,静置 12 h,减压抽滤得残渣,60 ℃ 烘干备用。

**2.2 5% 苯酚溶液的制备** 称取 5 g 苯酚,用少量水溶解,置于 100 mL 量瓶中,加水稀释并定容至刻度,摇匀,配成 5% 苯酚溶液。

**2.3 对照品溶液的制备** 精密称取干燥至恒重的葡萄糖对照品 100.0 mg,置于 100 mL 量瓶中,用去离子水溶解并定容至刻度,混匀。精密量取 10 mL 于 100 mL 量瓶中,用去离子水稀释至刻度,混匀,配成 0.1 g·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液。

**2.4 标准曲线的绘制** 精密吸取对照品溶液 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL 于 10 mL 具塞试管中,分别补加去离子水至 1 mL,依次加入 1 mL 5% 苯酚溶液和 5 mL 浓硫酸,摇匀,沸水浴 30 min,放至室温;另以去离子水 1 mL,同上操作为空白对照。在波长 490 nm 处<sup>[2]</sup> 测定吸光度 A。

以 A 为纵坐标,以葡萄糖对照品溶液质量浓度 C(g·L<sup>-1</sup>) 为横坐标,绘制标准曲线,进行线性回归。回归方程为  $A = 69.982C + 0.0162$  ( $R^2 = 0.9991$ ),结果表明葡萄糖对照品溶液的质量浓度在 0.004 3 ~ 0.011 4 g·L<sup>-1</sup> 与吸光度呈良好的线性关系。

**2.5 换算因子(f)的测定** 精密称取异翅独尾草多糖 10 mg,置于 100 mL 容量瓶中,用去离子水溶解

并定容至刻度,混匀。精密量取上述溶液 0.5 mL,置于 10 mL 具塞试管中,按标准曲线的制备项下的方法操作,测定 A,根据标准曲线方程计算质量浓度。按照下式计算换算因子<sup>[9]</sup>:

$$f = W / (C \times D)$$

式中 W 为异翅独尾草多糖的质量(mg),C 为根据标准曲线方程计算得到的测试液中单糖的质量浓度(g·L<sup>-1</sup>),D 为多糖的稀释体积(mL)。测得异翅独尾草在开花期的换算因子  $f = 1.55$  ( $n = 5$ , RSD 1.32%),在成熟期的换算因子  $f = 2.153$  ( $n = 5$ , RSD 1.02%)。

## 2.6 样品中多糖含量的测定

**2.6.1 样品溶液的制备** 精确称取异翅独尾草根粉末 1.0 g,置于索氏提取器中,用 50 mL 石油醚脱脂 3 h,再用 80% 乙醇 500 mL 回流 3 h,取药渣挥干溶剂后,用 100 mL 水煮 2 h,冷却至室温后,以 4 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 5 min,取上清液抽滤,滤液减压浓缩至约 30 mL,加氯仿-正丁醇(4:1)溶液 8 mL,置于具塞试管中,充分振摇 30 min 后,以 4 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 3 min,取上层液体再加入相当于其体积 1/4 的氯仿-正丁醇(4:1)溶液,重复上述过程直到界面无白色沉淀为止。取上层液体,边搅拌边加入 95% 乙醇至乙醇体积分数达到 80%,静置 12 h,减压抽滤得残渣,称重,并将残渣定溶到 100 mL 量瓶中。

**2.6.2 样品中多糖含量的测定** 从样品溶液中精密吸取 1 mL,置于 10 mL 具塞试管中,按标准曲线的制备项下的方法进行测定,测定吸光度,根据标准曲线方程计算质量浓度。按照下式计算样品中多糖的质量分数(%)<sup>[10]</sup>:

$$\text{样品中多糖的质量分数} = C \times D \times f / W \times 100\%$$

式中,C 为根据标准曲线方程计算得到的样品溶液中单糖的质量浓度(g·L<sup>-1</sup>),D 为样品的稀释体积(mL),f 为换算因子,W 为样品的质量(mg)。结果见表 1。

表 1 异翅独尾草多糖含量的测定

样品	多糖含量/%	RSD/%
开花期	3.98	0.36
休眠期	5.10	0.69

**2.6.3 精密度试验** 精密量取对照品溶液 0.4 mL,按标准曲线的制备项下的方法操作,测定 A,连续测定 5 次,RSD 0.38%,表明该方法精密度良好。

**2.6.4 重复性试验** 精密称取 6 份同一批异翅独尾草粉末,各 1.0 g,按供试品溶液的制备和标准曲

线的制备项下的方法操作,测定 A, RSD 1.59%, 结果表明该方法重现性良好。

**2.6.5 稳定性试验** 取样品溶液 1 mL,按标准曲线的制备项下的方法操作,每隔 10 min 测定 1 次 A。结果表明在 3 h 以内测定,其 RSD 0.58%,稳定性良好。

**2.6.6 加样回收率试验** 精密称取 60 ℃ 干燥恒重的精制独尾草粗多糖 20 mg,置于 100 mL 量瓶中定容。再吸取上述溶液 1.0 mL 定容至 10 mL 量瓶中。精密吸取多糖样品溶液 1.0 mL 共 9 份(每份含多糖 19.35 μg),置于 20 mL 试管中,分别精密加入样品含量的 80%,100%,120% 葡萄糖标准溶液 1.0 mL 各 3 份,按测定标准曲线的方法操作,计算加样回收率,结果见表 2。

表 2 葡萄糖加样回收率测定

加入量 /μg	测得量 /μg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
15	34.28	99.8		
15	34.30	99.85		
15	34.29	99.8		
20	39.31	99.9		
20	39.29	99.84	99.86	1.37
20	39.30	99.87		
25	44.30	99.89		
25	44.31	99.9		
25	44.31	99.9		

### 3 讨论

利用索氏提取器提取多糖提取效率高,但由于

提取液的黏性大,所以先将提取液离心将溶液与残渣分离,取上清液,再进行浓缩。

结果表明,异翅独尾草在开花期根中多糖含量为 3.98%,在休眠期根中多糖含量为 5.1%,休眠期的多糖含量比开花期高 1.12%。休眠期采收较为适宜。

### [参考文献]

[1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志. 第 14 卷[M]. 北京:科学出版社,1980:38.

[2] 新疆植物志编辑委员会. 新疆植物志. 第 6 卷[M]. 乌鲁木齐:新疆科技卫生出版社,1996.

[3] 相颖,刘金荣,李梅,等. 异翅类独尾草萜类成分的提取工艺[J]. 石河子大学学报,2007,25(2):214.

[4] 陈燕忠,符美燕,谢清春,等. 灰兜巴粗多糖的提取及含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(6):79.

[5] 丁宝金,金丽琴,吕建新. 多糖的生物活性研究进展[J]. 中国药学杂志,2004,39(8):561.

[6] 李冲,张应鹏,张承忠. 独尾草中的萜类成分[J]. 中国中药杂志,1999,24(09):550.

[7] 骆世洪. 两种沙生类短命独尾草化学成分消长规律[D]. 石河子:石河子大学. 2008.

[8] 张璐,翁立冬,刘莉,等. 苯酚-硫酸法测定乌梅多糖的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(6):107.

[9] 刘娜,朴惠善. 北五味子茎藤多糖的提取和含量测定[J]. 延边大学医学学报,2010,33(12):9.

[10] 厉博文,张东,杨岚,等. 紫萁贯众中多糖的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(10):41.

[责任编辑 顾雪竹]

## 欢迎订阅 2013 年度《中国实验方剂学杂志》

《中国实验方剂学杂志》由国家中医药管理局主管,中国中医科学院中药研究所和中国中西医结合学会中药专业委员会主办的学术刊物,已成为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)、“中国中文核心期刊”;“中国学术期刊综合评价数据库来源”期刊、“中国期刊网、中国学术期刊光盘版”全文收录期刊;并被评为“中国中医药优秀期刊”及“中国学术期刊优秀期刊”。本刊创刊于 1995 年 10 月,本着提高为主,提高与普及相结合的办刊方针,主要设置:工艺与制剂、化学与分析、资源与鉴定、药物代谢、药理、毒理、临床、综述、学术交流、信息等栏目,交流方剂的药效学、毒理学、药物动力学、药物化学、制剂学、质量标准、配伍研究、临床研究、学术专论以及方剂主要组成药物的研究成果与最新进展。本刊的读者对象是从事中西医药,尤其是方剂教学、科研、医疗、生产的高、中级工作者,以及中医药院校的高年级学生等。

本刊现为半月刊,16 开本,320 页,标准刊号:ISSN1005-9903;CN11-3495/R。每期定价 35 元,全年 840 元。国内外公开发行人,国内由北京市报刊发行局办理总发行,邮发代号:2-417;国外由中国国际图书贸易总公司办理发行,代号:SM4655。欢迎订阅。本刊编辑部也办理邮购。地址:北京市东直门内南小街 16 号,《中国实验方剂学杂志》编辑部,邮编:100700,联系电话:(010)84076882,电子邮件:syfx\_2010@188.com,网址:www.syfxzz.com。