

# 零陵香水溶性多糖组分的 GC-MS 分析

刘长松, 张贵君\*, 张智圆, 李奇豫, 董文茜, 李景松, 张雅楠  
(北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

**[摘要]** 目的: 鉴定零陵香水溶性多糖组分, 为建立专属性的质量评价指标和中药药效组分新药研发奠定基础。方法: 采用水提醇沉法制备零陵香粗多糖, Sevag 法除蛋白、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 脱色、透析得到精制多糖, 衍生化后用 GC-MS 分析。结果: 零陵香水溶性多糖主要组分依次为鼠李糖醇-阿拉伯糖-核糖-葡萄糖-木糖, 其相对含量比例为 1.03: 9.17: 4.74: 18.95: 17.11。结论: GC-MS 联用法可快速鉴定零陵香水溶性多糖组分。

**[关键词]** 零陵香; 水溶性多糖; 药效组分; GC-MS; 质量评价

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)19-0129-03

## Analysis of Water-soluble Polysaccharide Components from Herba Lysimachiae Foenum-graeti by GC-MS

LIU Chang-song, ZHANG Gui-jun\*, ZHANG Zhi-yuan, LI Qi-yu,  
DONG Wen-xi, LI Jing-song, ZHANG Ya-nan

(School of Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

**[Abstract]** **Objective:** Identifying the water-soluble polysaccharide components of Herba Lysimachiae

**[收稿日期]** 20120310(001)

**[第一作者]** 刘长松, 硕士, Tel: 15201391423, E-mail: changsong1104@yeah.net

**[通讯作者]** \* 张贵君, 教授/博导, 从事中药鉴定方法学、中药药效组分及药效组分质量评价体系研究, E-mail: guijunzhang@163.com

- [ 3 ] 于静, 邓雁如, 陈奇, 等. HPLC 测定金银花及金芪降糖片中 6 种成分的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(19): 57.
- [ 4 ] 孙勇如. 植物原生质体培养 [M]. 北京: 科学出版社, 1991: 172.
- [ 5 ] 张红梅, 王俊丽. 植物原生质体游离、培养及应用 [J]. 河北林果研究, 2002, 17(2): 376.
- [ 6 ] 李志勇. 细胞工程 [M]. 北京: 科学出版社, 2006: 42.
- [ 7 ] 张学英, 葛会波, 刘艳萌, 等. 草莓原生质体分离条件的研究 [J]. 分子植物育种, 2006, 4(6S): 147.
- [ 8 ] 周国海, 陈雪香, 雷勇, 等. 虎杖原生质体分离纯化及电融合初步研究 [J]. 西北植物学报, 2008, 28(6): 1145.
- [ 9 ] 张胜珍, 客绍英, 马作东, 等. 崧蓝叶肉原生质体游离与纯化研究 [J]. 中药材, 2009, 32(5): 664.
- [ 10 ] 廖嘉明, 王伯初, 王益川, 等. 拟南芥叶肉原生质体分离条件的优化研究 [J]. 西北植物学报, 2010, 30(6): 1271.
- [ 11 ] 刘昕, 余斌, 陈晓燕, 等. 提高甘草原生质体游离产量及分裂频率的研究 [J]. 草地学报, 2011, 19(2): 294.
- [ 12 ] 刘剑锋, 程云清, 陈智文. 高山红景天叶肉原生质体分离培养与植株再生 [J]. 中草药, 2009, 40(7): 1127.
- [ 13 ] 张小红, 闵东红, 邵景侠. 小麦愈伤组织诱导及原生质体的分离与纯化 [J]. 中国农学通报, 2010, 26(21): 49.
- [ 14 ] Xiaoxiao Peng, Weidong Li, Wenquan Wang, et al. Cloning and characterization of a cDNA coding a hydroxycinnamoyl-CoA quinate hydroxycinnamoyl transferase involved in chlorogenic acid biosynthesis in *Lonicera japonica* [J]. Planta Med, 2010, 76: 1921.
- [ 15 ] Xiaoxiao Peng, Weidong Li, Wenquan Wang, et al. Identification of *Lonicera japonica* by PCR-RFLP and allele-specific diagnostic PCR based on sequences of internal transcribed spacer regions [J]. Planta Med, 2009, 76: 497.

[责任编辑 邹晓翠]

Foenum-graeti, to establish the quality of specificity evaluation index and Chinese medicine's active components alignment, which laid the foundation of new drug development. **Method:** The preparation of polysaccharides was extracted by the methods of water extracting-alcohol precipitating, then Sevag method sinking in protein,  $H_2O_2$  bleaching and the use of dialysis method refined. The derivative change of the refined polysaccharide was analyzed by GC-MS. **Result:** The polysaccharide of Herba Lysimachiae Foenum-graeti is composed of rhamnitol, arabinose, ribose, glucose, and xylose, the proportion of it is 1.03:9.17:4.74:18.95:17.11. **Conclusion:** GC-MS could rapidly ascertain the water-soluble polysaccharide components of Herba Lysimachiae Foenum-graeti. The water-soluble polysaccharide of Herba Lysimachiae Foenum-graeti can be used as a component of the quality evaluation index and drug components of the new drug research based material.

[**Key words**] Herba Lysimachiae Foenum-graeti; water-soluble polysaccharide; active components alignment; GC-MS; quality evaluation

零陵香始载于《嘉佑本草》，其味甘、淡，性平，功能行气止痛，驱蛔。中医临床用其配伍的煎剂治疗伤寒、感冒头痛、胸腹胀满、鼻塞、牙痛等<sup>[1]</sup>。研究资料表明：零陵香有抑制流感病毒作用<sup>[2]</sup>，对其药效成分的分析主要是挥发油类<sup>[3]</sup>。本文采用 GC-MS 联用法对零陵香水溶性多糖组分进行了分析，旨在建立其专属性的质量评价指标并为中药药效组分<sup>[4]</sup>新药研发提供依据。

## 1 材料

TRACE DSQ 型 GC-MS(美国 Thermo 公司), BS 224S/210S 型分析天平, TU-1810 型紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司), 透析袋(截留相对分子质量为 3 500), 化学试剂均为分析纯。

零陵香为报春花科植物灵香草 *Lysimachia foenum-graetum* Hance. 的干燥全草, 市售品, 由北京中医药大学张贵君教授鉴定。

## 2 方法与结果

**2.1 多糖的提取与精制** 取零陵香 50 g, 依次分别用 10 倍量的石油醚、10 倍量的乙醇回流脱脂。取药渣挥干溶剂, 用 10 倍量水煎煮 2 次, 合并水煎液并浓缩至 200 mL, 离心 10 min ( $3\ 000\ r \cdot \min^{-1}$ ), 取上清液, 加入乙醇至醇含量为 80%, 4 ℃ 静置 24 h, 滤过。滤渣用丙酮、乙醚、乙醇适量依次洗涤, 干燥, 得粗多糖。

取粗多糖加适量蒸馏水溶解, 加入等量 Sevag 试剂, 振摇 20~30 min, 静置, 离心, 重复多次, 取上清液在 280 nm 处无紫外吸收<sup>[5]</sup>。用氨水将多糖液调 pH 至 8, 慢慢滴加 30%  $H_2O_2$  至多糖溶液呈浅黄色, 50 ℃ 水浴 2 h, 透析 24 h, 冻干, 得淡黄色多糖。

### 2.2 多糖组分的分析

**2.2.1 GC-MS 条件** DB-5 型石英毛细管柱(0.25

$\mu\text{m} \times 0.25\ \text{mm} \times 30\ \text{m}$ ), 进样口温度 250 ℃, 流量  $1\ \text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 离子源温度 250 ℃。升温程序: 120 ℃ 保持 5 min,  $20\ \text{℃} \cdot \text{min}^{-1}$  至 220 ℃, 保持 5 min,  $10\ \text{℃} \cdot \text{min}^{-1}$  至 250 ℃ 保持 10 min。右进样口温度 250 ℃, 分流比 1:10, 进样量 1  $\mu\text{L}$ , 扫描范围  $m/z$  20~600, 溶剂延迟 2 min, 见图 1。

**2.2.2 零陵香多糖的乙酰化** 取零陵香 10 mg, 精密称定, 溶于 3 mL  $2\ \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的三氟乙酸中, 100 ℃ 水浴 8 h, 60 ℃ 减压蒸干。加入少量甲醇减压蒸干, 反复 3 次除尽三氟乙酸。水解产物中加入 10 mg 盐酸羟胺和 0.7 mL 吡啶, 90 ℃ 水浴 30 min, 冷却至室温, 再加入 1 mL 乙酸酐, 90 ℃ 水浴 30 min, 冷却至室温后取上清液, 减压浓缩至干。乙酰化产物溶于 1 mL 氯仿中, 上机测定。

**2.2.3 多糖组分分析** 根据供试品各峰保留时间与标准质谱尼斯特谱库(NIST)对照分析, 确定其多糖主要组分依次为鼠李糖醇-阿拉伯糖-核糖-葡萄糖-木糖。采用归一化法进行数据处理, 计算出该多糖峰面积的组合百分比为 1.03:9.17:4.74:18.95:17.11(表 1)。

## 3 讨论

零陵香中挥发油类和色素类物质含量较高, 所以需脱脂处理。多糖除蛋白的方法主要有三氟乙酸法和 Sevag 法<sup>[6]</sup>、等电点沉淀法、加热变性法、膜过滤法。等电点沉淀法和膜过滤法效率低且要求高, 加热变性法和单一等电点不能满足除尽蛋白质的目的。对三氟乙酸法和 Sevag 法考察后发现, 后者效率更高且能完全除尽蛋白质。用  $H_2O_2$  法脱色, 既可以脱去结合型色素又可以脱去游离型色素, 脱色效果较好, 但在实验过程中要注意控制温度、pH、脱色时间等条件, 以防止多糖降解<sup>[7]</sup>。气质联用是目前国际上分析糖类的有效手段, 采用该技术首先要

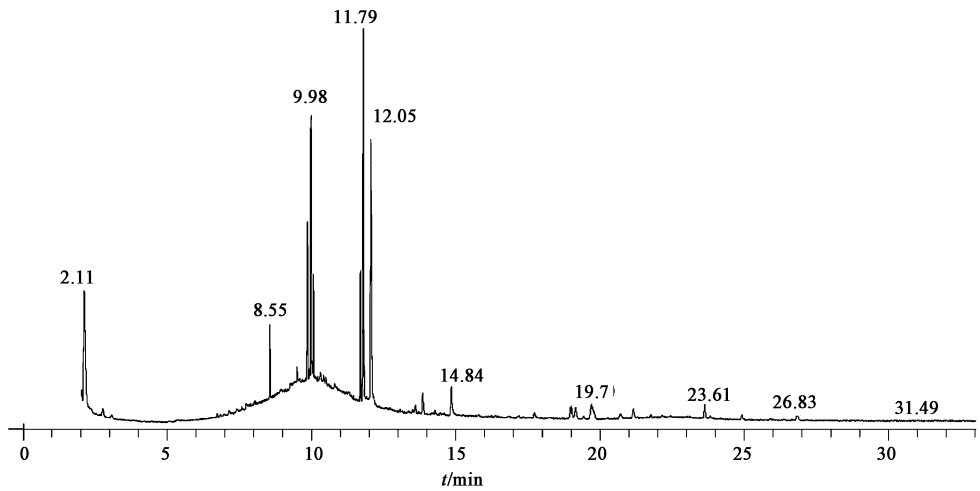


图1 零陵香多糖组分乙酰化总离子流色谱图

表1 零陵香多糖乙酰化衍生物 GC-MS 分析

名称	$t_R$ /min	单糖衍生物	峰面积/%
鼠李糖醇	9.49	1,4-diacetyl-3-acetoxymethyl-2,5-methylene-1-rhamnitol 1,4-二乙酰基-3-乙酰氧甲基-2,5-亚甲基-1-鼠李糖醇	1.03
阿拉伯糖	9.98	<i>D</i> -arabinonitrile, 2,3,4,5-tetraacetate 2,3,4,5-四乙酰化- <i>D</i> -氨基阿拉伯糖	9.17
核糖	10.05	<i>D</i> -ribonitrile, 2,3,4,5-tetraacetate 2,3,4,5-四乙酰化- <i>D</i> -氨基核糖	4.74
葡萄糖	11.79	2,3,4,5,6-penta- <i>O</i> -acetyl- <i>D</i> -gluconitrile 2,3,4,5,6-五- <i>O</i> -乙酰基- <i>D</i> -氨基葡萄糖	18.95
木糖	12.05	<i>D</i> -xylonitrile, 2,3,4,5-tetraacetate 2,3,4,5-四乙酰化- <i>D</i> -氨基木糖	17.11

分解多糖。TFA 酸度强,低浓度即可完全水解多糖,且其有很好的挥发性,加入少量的甲醇在旋转蒸干水解液时即可除去<sup>[8]</sup>,相对于硫酸处理更易控制损失更小。之后将多糖衍生化成为具有挥发性和热稳定性的物质,目前常用的衍生化方法有三甲基硅烷衍生法、糖腈乙酰酯衍生法。后者相对前者具有衍生物制备简便、试剂易得和操作简单等优点,并且每种糖都能得到单一的色谱峰,没有异构峰产生,具有定性和定量准确的优点<sup>[9]</sup>。

本实验根据供试品各峰保留时间与标准质谱尼斯特谱库(NIST)对照分析得出零陵香多糖主要由鼠李糖醇、阿拉伯糖、核糖、葡萄糖、木糖组成,其峰面积的百分比为 1.03:9.17:4.74:18.95:17.11。

#### [参考文献]

[1] 沈国芳. 零陵香及其混淆品的比较鉴别[J]. 中药材, 1998,2(2):72.

- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典. 下册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1986:2470.
- [3] 李向日,林瑞超. 不同产地零陵香挥发油成分的 GC-MS 分析[J]. 中成药,2007,29(6):853.
- [4] 张贵君,罗容,王奕洁. 中药药效组分理论与中药组分子学[J]. 中药材,2007,30(2):125.
- [5] 李雪华,龙盛京,谢云峰,等. 龙眼多糖荔枝多糖的分离提取及其抗氧化作用的探讨[J]. 广西医科大学学报,2004,21(3):342.
- [6] 赵俊凌,马洁,李戈,等. 齿瓣石斛多糖提取及脱蛋白工艺研究[J]. 时珍国医国药,2010,21(11):2841.
- [7] 刘洋,吴兆华,高慧媛,等. 金钱草多糖的分离纯化与结构研究[J]. 沈阳药科大学学报,2008,4(4):282.
- [8] 石磊,张冬梅,齐洁,等. 柳茶多糖的分离纯化及气相色谱-质谱分析[J]. 时珍国医国药,2009,20(9):2191.
- [9] 白妮斯,张静. 气相色谱分析多糖衍生化方法的研究与比较[J]. 食品工业科技,2011,2:322.

[责任编辑 邹晓翠]