

# 女贞子多糖的提取工艺及单糖组成

张明月, 邹一可, 王彩云, 王东\*  
(辽宁中医药大学, 辽宁 大连 116600)

**[摘要]** **目的:** 优选女贞子多糖的最佳提取工艺并测定其单糖组成及摩尔比。**方法:** 采用正交试验法, 以多糖提取率为评价指标, 对女贞子多糖的提取因素进行研究, 用苯酚-硫酸比色法对女贞子多糖进行含量测定。多糖经硫酸水解后, 水解产物利用高效液相色谱(HPLC)分析其单糖组成及摩尔比。**结果:** 女贞子多糖的最佳提取工艺为 10 倍量水, 回流提取 3 次, 3 h/次; 该多糖由鼠李糖、阿拉伯糖、甘露糖和葡萄糖 4 种单糖组成, 其摩尔比为 3.71:3.21:1.00:16.06。**结论:** 该方法简便、准确, 可用于女贞子多糖的单糖组成测定及质量控制。

**[关键词]** 女贞子多糖; 提取工艺; 单糖组成

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)03-0087-03

## Optimum Extracting Method and Monosaccharide Composition of Polysaccharide from *Ligustrum lucidum*

ZHANG Ming-yue, ZOU Yi-ke, WANG Cai-yun, WANG Dong\*  
(Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize the extraction process of polysaccharide from *Ligustrum lucidum* Ait. (PLLA) and analyze monosaccharide composition of PLLA. **Method:** With the extraction efficiency of polysaccharide as the index, an orthogonal design test was adopted to optimize the extraction process. The phenol-sulphuric acid colorimetric method was used to determine the content of PLLA. The PLLA was hydrolyzed by sulfuric acid, the

**[收稿日期]** 20110809(008)

**[第一作者]** 张明月, 硕士, 从事中药制剂分析, Tel:13674247273, E-mail:happyvivan0713@126.com

**[通讯作者]** \*王东, 博士, 教授, 从事中药药效物质基础和质量标准研究, Tel:13842099959, E-mail:wdtcm@163.com

### [参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010: 39.
- [2] 刘红亚, 崔红梅, 周绚. RP-HPLC 法测定川楝子药材中川楝素的含量[J]. 世界科学技术——中医药现代化, 2008, 10(3): 52.
- [3] 张廷模. 临床中药学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2004: 335.
- [4] 程雷, 雷勇, 梁媛媛, 等. 川楝子不同提取部位药效及毒性的比较研究[J]. 中药材, 2007, 30(10): 1276.
- [5] 谢帆, 张勉, 张朝凤, 等. 川楝子的化学成分研究[J]. 中国药学杂志, 2008, 43(14): 1066.
- [6] 赵东平, 杨文钰, 陈兴福. 阿魏酸的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(8): 1839.
- [7] 张志清, 帅瑾, 周利茗, 等. 超声波辅助碱醇提取麦麸中阿魏酸工艺优化[J]. 食品科学, 2010, 31(12): 83.
- [8] 吕光华, 程世琼, 陈金泉, 等. HPLC 测定川芎药材和饮片中游离阿魏酸和总阿魏酸的含量及其质量评价指标[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(2): 194.
- [9] 黄罗生, 郭健新, 刘咏梅, 等. HPLC 测定阿魏酸含量的探讨[J]. 中成药, 2004, 26(2): 134.
- [10] 王秀杰, 马琳. 中药材中阿魏酸的提取精制方法评价[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(1): 157.
- [11] 潘瑞乐, 陈迪华, 斯建勇, 等. 升麻炮制前后有效成分的比较研究[J]. 中成药, 2007, 29(9): 1335.
- [12] 赖永旭, 范时根. 正交实验法优选川芎饮片的生产工艺[J]. 华西药学杂志, 2005, 20(5): 446.
- [13] 宋金春, 胡传芹, 刘红, 等. 炮制对当归药材有效成分的影响[J]. 中国药学杂志, 2007, 42(14): 1052.

[责任编辑 蔡仲德]

hydrolyzate was assayed by HPLC. **Result:** The best extraction process of PLLA was added 10 times amount of water for 3 times and 3 hours for each time at the temperature of 100 °C. PLLA composed of rhamnose, arabinose, mannose, glucose and their molratio is 3. 71: 3. 21: 1. 00: 16. 06. **Conclusion:** The method is simple, quick and accurate. This method could be applied for the analysis of monosaccharide composition and quality control in PLLA.

[**Key words**] polysaccharide from *Ligustrum lucidum*; extraction process; monosaccharide composition

女贞子是木犀科植物女贞的干燥成熟果实<sup>[1]</sup>, 作为一味常用的固本扶正中药始载于《神农本草经》。现代药理研究<sup>[2]</sup>表明, 女贞子具有提高机体免疫功能、升高白细胞、降血糖血脂、抗菌消炎、降低眼压及保肝护肝和抗癌等作用。女贞子多糖是女贞子具有多种功效的物质基础之一, 近年来国内外学者对女贞子的研究主要集中在其脂溶性成分, 而对多糖的研究较少, 有关女贞子多糖的结构研究更是尚未见报道。本研究在确定女贞子多糖最佳提取工艺的基础上, 采用 HPLC 对女贞子多糖的单糖组成及摩尔比进行研究, 以期对女贞子多糖的分离纯化及药理作用研究提供前期工作基础。

### 1 材料

**1.1 仪器** RE52CS-1 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂), SHZ-D(Ⅲ)型循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司), DK-98-II A 型电热恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司), AY220 型 1/万电子分析天平(日本岛津公司), 日本岛津高效液相色谱系统(LC-6ATvp 输液泵, SEDEX 75 蒸发光散射检测器, 柱温箱, N2000 色谱数据工作站)。

**1.2 试药** 女贞子(批号 100926, 购自安徽省本草国药饮片有限公司), 经辽宁中医药大学王冰教授鉴定为木犀科植物女贞 *Ligustrum lucidum* Ait. 的干燥成熟果实。甘露糖(批号 F20080521), 鼠李糖(批号 F20080508), 葡萄糖(批号 F20080324), 阿拉伯糖(批号 WTCI20070926) 4 种单糖对照品均购自国药集团化学试剂有限公司。甲醇、乙腈为色谱纯; 苯酚(重蒸)、浓硫酸(95% ~ 98%) 等均为国产分析纯。

### 2 方法

**2.1 女贞子多糖提取工艺** 女贞子药材→粉碎→95%乙醇脱脂→回流提取→水提液过滤→合并滤液→减压浓缩→乙醇沉淀多糖→干燥→女贞子粗多糖。

**2.2 女贞子多糖的含量测定** 采用苯酚-硫酸法, 以葡萄糖为标准单糖绘制标准曲线, 得回归方程  $Y = 0.0093X + 0.0721$  ( $r = 0.9990$ )。

多糖提取率 =  $C \times$  稀释倍数  $\times$  体积(mL) / 女贞子样品质

量(g)  $\times 100\%$

C: 提取液中的多糖浓度 ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )。

**2.3 提取条件的优选** 分别称取女贞子 5.0 g, 根据多糖性能, 综合文献研究和预实验结果, 选用  $L_9(3^4)$  安排实验。因素水平见表 1。

表 1 女贞子多糖提取工艺的因素水平

水平	A 料液比	B 提取时间/h	C 提取次数	D 空白
1	1:10	1	1	
2	1:15	2	2	
3	1:20	3	3	

以多糖提取率为指标, 用正交试验方法对女贞子多糖的提取工艺进行优化。结果见表 2, 3。

表 2 女贞子多糖提取的正交试验设计及直观分析

试验号	A	B	C	D	多糖提取率/%
1	1	1	1	1	0.62
2	1	2	2	2	1.15
3	1	3	3	3	1.24
4	2	1	2	3	0.91
5	2	2	3	1	1.06
6	2	3	1	2	0.68
7	3	1	3	2	1.08
8	3	2	1	3	0.56
9	3	3	2	1	1.12
$K_1$	3.009	2.610	1.860	2.799	
$K_2$	2.649	2.769	3.180	2.910	
$K_3$	2.760	3.039	3.381	2.709	
$k_1$	1.003	0.870	0.620	0.933	
$k_2$	0.883	0.923	1.060	0.970	
$k_3$	0.920	1.013	1.127	0.903	
R	0.120	0.143	0.507	0.067	

**2.4 女贞子多糖的酸水解** 精密称取女贞子多糖 1.0 g, 加入  $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  硫酸 40 mL, 100 °C 恒温水解 9 h, 冷却后用碳酸钡调至中性, 过滤, 将滤液浓缩, 备用。

**2.5 单糖标准液的制备** 精密称取上述标准单糖各 0.05 g, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加蒸馏水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

表3 女贞子多糖提取方差分析

方差来源	偏差平方和	自由度	F比	F临界值	P
A	0.023	2	3.286	19.000	
B	0.031	2	4.429	19.000	
C	0.445	2	65.000	19.000	<0.05
误差	0.01	2			

## 2.6 HPLC分析单糖组成

**2.6.1 色谱条件** 色谱柱 COSMOSIL PACKED COLUMN Sugar-D,柱温 30 ℃,流动相乙腈-水(90:10),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,蒸发光散射检测器。

**2.6.2 实验方法** 女贞子多糖酸水解液及各标准单糖溶液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,精密吸取滤液各 10 μL,用于液相分析,与各标准单糖的液相色谱图比较,确定女贞子多糖的单糖种类。

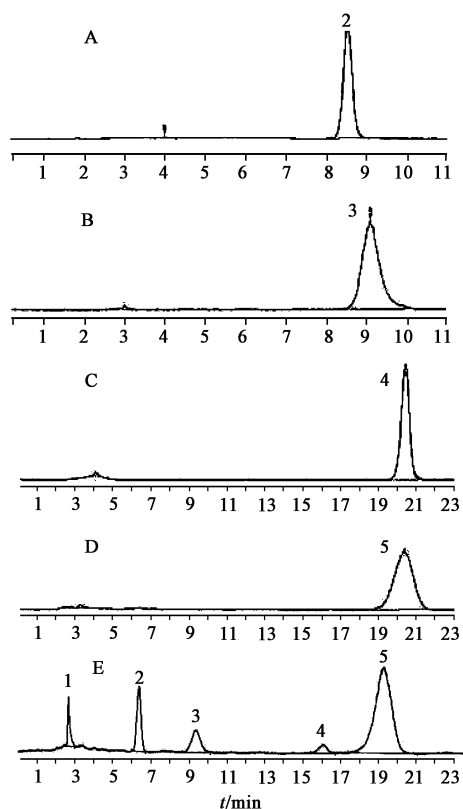
## 3 结果与讨论

**3.1 正交试验结果** 根据方差分析结果可知,各因素对女贞子多糖提取工艺的影响程度依次为 C > B > A,且 C 因素对多糖提取率的影响具有显著意义。直观分析表明,女贞子多糖的最佳提取工艺为 A<sub>1</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>,即加入 10 倍量水回流提取 3 次,3 h/次。

**3.2 女贞子多糖的 HPLC 分析结果** 女贞子多糖水解后经 HPLC 分析,并与标准单糖进行对照,结果表明,女贞子多糖由鼠李糖、阿拉伯糖、甘露糖和葡萄糖 4 种单糖组成,摩尔比为 3.71:3.21:1.00:16.06。其单糖种类与文献报道不同,可能是由于女贞子的品种和分析方法的不同所致。见图 1。

**3.3 讨论** 多糖的提取方法除水提外,还有碱水提和酶法提取等。但综合各因素分析,水提法成本较低,操作简单,故本研究采用该法提取女贞子多糖,且优选出的提取工艺操作简单,经济可行。

目前分析多糖的单糖组成主要有薄层色谱法,高效液相色谱法和气相色谱法<sup>[3]</sup>。气相色谱法虽有其优势,但由于糖类本身没有足够的挥发性,必须在气相分析前预先转化为易挥发、热稳定性好的衍生物,操作过程繁杂,且某些单糖及糖醛酸不易检出。薄层色谱法虽操作简单,但微量成分显色不明显。所以本研究采用高效液相色谱法测定女贞子多糖的单糖组成,方法简单,操作方便快捷,有利于更加深入研究女贞子多糖的性质。



A. 鼠李糖;B. 阿拉伯糖;C. 甘露糖;D. 葡萄糖;1. 溶剂峰

图1 女贞子多糖水解液 HPLC

根据单糖在紫外波长范围内无吸收的特点<sup>[4]</sup>,本研究在高效液相色谱系统中使用 Sugar-D 色谱柱进行分离及蒸发光散射检测器检测,得到了较为理想的分离效果和测定结果,为分析多糖的单糖组成提供了可供选择的检测方法。

## [参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010:43.
- [2] 靳晓明,董琳,范峰,等.女贞子化学成分与药理作用的研究进展[J].中医药信息,2008,25(1):40.
- [3] 黄纯,高向东,陈慧君,等.简易方法分析多糖的单糖组成[J].齐鲁药事,2005,24(10):607.
- [4] 许杜娟,夏泉,刘钢,等.高效液相法测定黄芪中性多糖的单糖组成[J].中国实验方剂学杂志,2008,14(9):4.

[责任编辑 蔡仲德]