

· 中药研究与应用 ·

AB-8 树脂和 D101 树脂纯化桑叶多糖的比较*

赵 骏, 连 娜, 王跃飞, 杨 静, 房士明, 龚亚东, 李青青

摘要: [目的] 试验针对有降血糖作用的水溶性桑叶多糖成分的纯化工艺进行比较。[方法] 桑叶的水煎液分别用两种大孔吸附树脂洗脱分离。用分光光度法分别测定两个采用不同树脂工艺所得水溶性桑叶多糖的含量。[结果] 采用 AB-8 树脂提取桑叶多糖产率与采用 D101 树脂提纯化桑叶多糖产率相比较不仅无显著差异, 而且产率也比较稳定。[结论] AB-8 树脂和 D101 树脂都可作为纯化桑叶多糖的工艺。

关键词: 桑叶多糖; 含量测定; AB-8 树脂; D101 树脂

Compare of polysaccharide in sangye purified AB-8 resin and D101 resin

Zhao Jun, Lian Na, Wang Yuefei, et al

(Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China)

Abstract: [Objective] To compare the different purification of water-soluble polysaccharide in sangye with lowering blood sugar effect. [Method] The elution separation of the decocted solution of sangye was done by two kinds of absorb resin with bigger foramen. The content of polysaccharide obtained by different methods was detected with spectrophotometry. [Results] There was no difference of productivity between using AB-8 resin and D101 resin. The productivity was stable. [Conclusion] AB-8 resin and D101 resin both can be used to purify polysaccharide in sangye.

Key words: polysaccharide in sangye; content determination; resin

中图分类号: R284.2 文献标识码: A 文章编号: 1005-7145(2003)02-0021-02

1 试验材料

1.1 试剂 无水乙醇、95%乙醇、硫酸、蒽酮、 α -萘酚试剂皆为分析纯。

1.2 材料 桑叶, 购于天津市华丰大药房。桑叶对照品, 购于天津药典公司(批号: 1123-200001)。AB-8大孔吸附树脂, 购于南开大学化工厂。D101大孔吸附树脂, 购于天津农药股份公司树脂公司。

1.3 仪器 DU530紫外分光光度计, 美国 Beckman 公司。

2 试验方法

2.1 桑叶多糖的提取

2.1.1 采用 AB-8 树脂处理的桑叶多糖提取 称取桑叶 30 g, 加水约 300 mL 煎煮 2 次, 1 h/次, 合并滤液, 浓缩至约 30 mL, 离心除去不溶物, 取上清液, 加 95%乙醇使含醇量达 80%, 于冰箱放置 48 h, 取出抽滤, 将沉淀加水溶解, 过大孔吸附树脂 AB-8 柱, 用蒸馏水洗至在洗脱液中加入 95%乙醇无沉淀为止。洗脱液浓缩, 加 10%量的活性炭脱色处理, 加入 95%乙醇使含醇量达 80%醇沉, 放置 48 h 后, 取出抽滤, 沉淀用无水乙醇、丙酮各洗 3 次, 室温晾干, 得到白色无定形粉末, 置于干燥器中备用。重复以

上试验 5 次, 得到 5 份桑叶水提取物样品^[1]。

2.1.2 采用 D101 树脂处理的桑叶多糖提取 称取桑叶 30 g, 加水约 300 mL 煎煮 2 次, 1 h/次, 合并滤液, 浓缩至约 30 mL, 离心除去不溶物, 取上清液, 加 95%乙醇使含醇量达 80%, 于冰箱放置 48 h, 取出抽滤, 将沉淀加水溶解, 过大孔吸附树脂 D101 柱, 用蒸馏水洗至在洗脱液中加入 95%乙醇无沉淀为止。洗脱液浓缩, 加 10%量的活性炭脱色处理, 加入 95%乙醇使含醇量达 80%醇沉, 放置 48 h 后, 取出抽滤, 沉淀用无水乙醇、丙酮各洗 3 次, 室温晾干, 得到白色无定形粉末, 置于干燥器中备用。重复以上试验 5 次, 得到 5 份桑叶水提取物样品^[2]。

2.2 桑叶多糖的含量测定

2.2.1 桑叶多糖对照品的制备 取桑叶对照药材 10 g, 加水约 100 mL 煎煮 2 次, 1 h/次, 合并滤液, 浓缩至约 10 mL, 离心除去不溶物, 取上清液, 加 95%乙醇使含醇量达 80%, 于冰箱放置 48 h, 取出抽滤, 将沉淀加水溶解, 过大孔吸附树脂 AB-8 柱, 用蒸馏水洗至在洗脱液中加入 95%乙醇无沉淀为止。洗脱液浓缩, 加 10%量的活性炭脱色处理, 加入 95%乙醇使含醇量达 80%醇沉, 放置 48 h 后, 取出抽滤, 沉淀用无水乙醇、丙酮各洗 3 次, 室温晾干, 得到白色无定形粉末, 置于干燥器中备用。

2.2.2 对照品溶液的配制 精称室温干燥至恒重的桑叶多糖 50 mg, 蒸馏水定容至 10 mL。

2.2.3 标准曲线的制备 分别精密吸取桑叶多糖对

* 基金项目: 天津市卫生局资助课题 (200011)

作者单位: 300193 天津中医学院

作者简介: 赵 骏 (1962-), 女, 副教授, 主要从事中药专业有机化学理论和实验教学。

照品溶液 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL,置于干燥具塞试管中,补加蒸馏水至 2.0 mL,摇匀。加入 0.2% 蒽酮-浓硫酸显色剂 4.0 mL,迅速摇匀,45 min 后,以蒸馏水 2.0 mL,加显色剂 4.0 mL 为空白,按分光光度法在 620 nm 处测定吸光度。得回归方程 $A=0.0006+$

2.3016C $r=0.9990$ 基本呈线性关系。结果见表 1。

2.2.4 提取物的多糖含量测定 精密称取桑叶多糖提取物 100 mg,蒸馏水定容至 10 mL,精密吸取 0.5 mL,按“标准曲线的制备”项下操作,测定 A 值并计算多糖含量。结果见表 2、表 3。

表 1 桑叶多糖标准液吸收度

	1	2	3	4	5	6
标液浓度 (g/L)	0.083	0.170	0.330	0.500	0.670	0.830
吸收度 (A)	0.216	0.357	0.756	1.143	1.601	1.875

表 2 AB-8 树脂提取工艺结果

	A	C (g/L)	总多糖产率 (%)	总提取物质量 (mg)	总多糖质量 (mg)	产率平均值 (%)	S
1	0.627	0.272	32.60	1 454.60	433.35	32.96	2.095
2	0.639	0.277	33.20	1 295.50	429.85		
3	0.699	0.303	36.40	1 410.00	513.42		
4	0.598	0.260	31.20	1 430.20	445.46		
5	0.603	0.262	31.40	1 480.60	465.02		

表 3 D101 树脂提取工艺结果

	A	C (g/L)	总多糖产率 (%)	总提取物质量 (mg)	总多糖质量 (mg)	产率平均值 (%)	S
1	0.643	0.279	33.50	1 470.60	492.55	33.44	1.790
2	0.603	0.262	31.40	1 430.30	449.22		
3	0.697	0.303	36.30	1 420.30	515.70		
4	0.629	0.273	32.80	1 510.10	494.75		
5	0.638	0.277	33.20	1 420.50	472.07		

2.3 桑叶多糖的定性鉴别试验

2.3.1 Fehling 试验 桑叶多糖检液 2 mL,加盐酸使 pH 值处于 3~4,加热煮沸 0.5 h,使产生水解反应,冷却后,调 pH 至中性,加入等量碱性酒石酸铜试剂,产生氧化亚铜红色沉淀较之前明显增多,呈阳性反应,表明含有桑叶多糖^[3-5]。

2.3.2 Molish 反应 取待测液 2 mL,加热浓缩,使溶于乙醇中,再加等体积的 10%α-萘酚乙醇液,摇匀,沿试管壁滴加浓硫酸,两液界面处产生紫红色环,表明有多糖存在。

2.3.3 蒽酮-浓硫酸反应 取待测液 2 mL,再加等体积的 0.2% 蒽酮-浓硫酸,溶液为蓝色透明溶液,表明有多糖存在。

3 讨论

由表 2、表 3 得知,桑叶药材样品通过 AB-8 大孔吸附树脂提取工艺,所得桑叶多糖平均产率为 32.96%,其产率平均方差 $S=2.095$;而通过 D101 大孔吸附树脂提取工艺,所得桑叶多糖平均产率为 33.44%,其产率平均方差 $S=1.790$ 。并且经过 t 检验,得 $|t|=0.390 < t_{\alpha}=1.895$,两个工艺所得的桑叶多糖产率没有显著差异 ($P>0.05$)。经过 F 检验,得 $F=1.073 < F_{0.05}=5.999$,两个工艺所得的桑叶多糖产率波动性无显著差异。但对 AB-8 树脂提取工艺和 D101

树脂提取工艺相比较,D101 树脂提取工艺更好些,产率稍高而且稳定性也好^[6-10]。

桑叶多糖为白色无定形粉末,吸湿性强。Molish 和蒽酮-浓硫酸反应呈阳性,表明此粉末确是多糖。Fehling 试验呈阳性,说明桑叶多糖中可能含有还原性多糖。

参考文献:

- [1] 俞明霞,姚仲青,江亚栋,黄芪提取液醇沉前后有效成分的含量比较分析[J].时珍国药研究,1995,6(2):19.
- [2] 赵骏,钟蓉,王洪章,等.桑叶多糖提取工艺优选[J].中草药,2000,31(5):347.
- [3] 张岚,任丽娟,顾玉诚.山豆根中性多糖 SSA 的分离纯化和性质[J].中草药,1993,24(1):8.
- [4] 方晓明,姚燕,夏淑霞,等.黄精多糖的提取及含量测定[J].时珍国药研究,1995,6(1):16.
- [5] 王瑞明,李先荣.黄芪地上部分(茎、叶)多糖含量测定[J].中成药,1999,21(6):254.
- [6] 王莹,赵毅民,张起凤,等.黄芪中一种新葡聚糖的分离纯化与化学结构研究[J].中草药,2001,32(11):962.
- [7] 王桂云,梁忠岩,张丽萍,等.沙棘果水溶多糖 JS1 的分离鉴定[J].中国药理学杂志,1999,34(4):229.
- [8] 赵文,任永凤.伊犁黄芪与蒙古黄芪成分的比较及多糖含量的测定[J].中草药,2001,32(2):122.
- [9] 周晶,刘景文,符敬伟,等.马齿苋中多糖的提取与含量测定[J].中草药,2001,32(2):124.
- [10] 李兰芳,张魁.酸枣仁中多糖的含量测定[J].河北中医,1996,18(4):20.

(收稿日期 2002-09-15)