

制何首乌多糖的纯度鉴定和理化性质研究

蒋秀红 王霆 崔永霞 梁生旺 申洪超

【摘要】 目的 对制何首乌多糖进行纯度鉴定和理化性质研究。方法 采用水提醇沉法提取制何首乌多糖,经过纤维素和凝胶柱层析纯化后,纯化后的多糖 PRPM-1、PRPM-2 和 PRPM-3 分别用 Sephadex G-100 柱层析和紫外吸收光谱检测其纯度;通过物理和化学方法分析多糖理化性质。结果 制何首乌多糖为均一多糖。结论 该测定方法准确,重复性好。

【关键词】 制何首乌;多糖;纯度鉴定;理化性质

Study on purity identification and physicochemical characteristics of polysaccharide from radix polygoni multiflori preparata JIANG Xiu-hong, WANG Ting, CUI Yong-xia, et al. Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China

【Abstract】 Objective To Study on purity identification and physicochemical characteristics of polysaccharide from radix polygoni multiflori preparata. **Method** A polysaccharide was obtained from Radix Polygoni Multiflori Preparata by method of water extraction and ethanol precipitation protein; the polysaccharide was separated with DEAE-52 column and Sephadex G-100 column; the result indicated that PRPM-1, PRPM-2 and PRPM-3 was homogeneous molecular weight assayed by UV scanning paaern and Sephadex G-100 column chromatography. **Result** The results showed PRPM-1, PRPM-2 and PRPM-3 were homogeneous polysaccharides. **Conclusion** The method of determination is reliable and has good repetitions.

【Key words】 Radix polygoni multiflori preparata; Polysaccharide; Purity identification; Physicochemical characteristics

何首乌为蓼科植物何首乌 (*Polygonum multiflorum* Thunb.) 的干燥块根。性微温,味苦、甘、涩。清蒸或用黑豆煮汁拌蒸后晒干入药为制首乌。目前研究报道的制何首乌主要活性成分为二苯乙烯苷、蒽醌类、磷脂类和多糖等^[1-3]。而制何首乌多糖是近年来发现的制何首乌块根的又一重要活性物质,近年来对何首乌多糖的生物活性评价研究表明,制何首乌多糖具有免疫调节、抗氧化、抗衰老和抗老年痴呆等生物活性作用^[4]。目前国内外对制何首乌多糖的研究多集中在粗多糖的提取及生物学活性方面,而对其分离纯化、纯度鉴定和结构分析等方面的研究还很少。鉴于此,本文对分离纯化后的制何首乌多糖进行纯度鉴定和理化性质研究,以期为首乌多糖精细化学结构解析、构效关系研究以及生物效应准确评价奠定物质基础。

1 材料

1.1 仪器 RE-52A 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);TGL-10B 飞鸽高速台式离心机(上海安亭科学仪器厂);UV-2450 SHIMADZU 紫外分光光度计(日本岛津);7200 可见分光光度计(上海尤尼柯

仪器有限公司);ZK-82A 真空干燥箱(上海市实验仪器总厂);METTLER AE240 电子分析天平(瑞士);KQ-100 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)

1.2 试药 制何首乌多糖 PRPM-1, PRPM-2 和 PRPM-3(本研究组自制);双氧水(天津市富宇精细化工有限公司);浓硫酸(西安化学试剂厂);苯酚(天津市四通化工厂);DEAE-52 纤维素 Whatman 公司;Sephadex G-100 瑞典 Pharmacia 公司;其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 制何首乌多糖 PRPM-1, PRPM-2 和 PRPM-3 的纯度鉴定 笔者从制何首乌中用水提醇沉法提取得到制何首乌粗多糖,经精制后得到制何首乌多糖各亚组分 PRPM-1;PRPM-2 和 PRPM-3 的干燥粉末,为了确定纯度,进行以下研究。目前常用于多糖纯度鉴定的方法有:凝胶过滤法、高压电泳法、超离心法、旋光测定法、毛细管电泳法和高效液相色谱(HPLC)法等。要确定某一多糖的均一性,通常必须采用 2 种以上的鉴定方法^[5]。本实验采用凝胶过滤法和紫外光谱检测法鉴定其纯度。

2.1.1 紫外光谱检测法鉴定纯度 将多糖各亚组分 PRPM-1, PRPM-2, PRPM-3 配成 1 mg/ml 的水溶液在紫外分光光度计 200 ~ 400 nm 波长处扫描。结

作者单位:450008 河南中医学院(蒋秀红 王霆 崔永霞);广东药学院(梁生旺 申洪超)

通讯作者:梁生旺 Email:swliang371@163.com

果见下图。

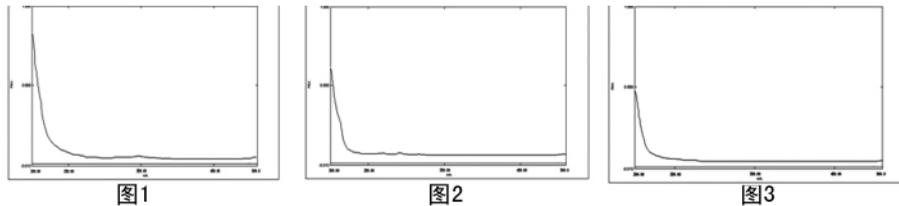
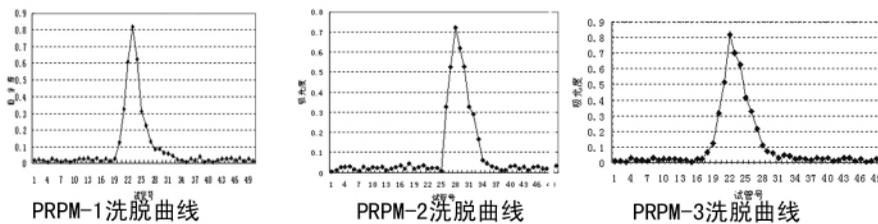


图1 PRPM-1 紫外吸收光谱图 图2 PRPM-2 紫外吸收光谱图 图3 PRPM-3 紫外吸收光谱图

由图 1 ~ 图 3 紫外光谱图可见,PRPM-1, PRPM-2, PRPM-3 在 280nm 和 260nm 处基本无吸收,表明它不含蛋白、多肽及核酸。

2.1.2 凝胶柱 SephadexG-100 鉴定 将溶胀好的 Sephadex G-100 装柱,用蒸馏水平衡一夜。称取经过纤维素和凝胶柱层析纯化后的多糖亚组分

PRPM-1, PRPM-2, PRPM-3 适量分别配制成多糖水溶液,上样,上样量为柱体积的 2% ~ 3%。以蒸馏水溶液洗脱,洗脱液流速为 0.4 ml/min,每 4 ml 收集 1 管,采用苯酚-硫酸法在 490 nm 处测定吸光度,以试管号为横坐标,吸光度为纵坐标,分别绘制洗脱曲线^[6,7] 结果见图。



PRPM-1, PRPM-2, PRPM-3 经葡聚糖凝胶 G-100 柱层析,洗脱曲线均呈单一对称峰形,结合其紫外扫描图,可证明各多糖亚组分为均一多糖。

2.2 多糖理化性质分析^[6]

2.2.1 性状 PRPM-1 和 PRPM-2 干品为白色松散粉末状;PRPM-3 干品为淡黄色粉末。

2.2.2 溶解性 低温干燥所得组分不易溶于冷水,在温水中溶解性较好;所有组分均不溶于乙醇、丙酮、乙醚、石油醚等有机试剂。

2.2.3 显色反应

表 1 制何首乌多糖 PRPM-1, PRPM-2 和 PRPM-3 理化性质

反应类型	反应结果	性质判定
碘反应	-	非淀粉多糖
斐林试剂	-	不含还原糖
三氯化铁	-	不含多酚类物质
双缩脲	-	不含多酚类物质

表 1 鉴定了制何首乌多糖 PRPM-1, PRPM-2, PRPM-3 的一般理化性质。

3 结论

3.1 何首乌多糖经过 SephadexG-100 凝胶柱层析和紫外光谱证明,洗脱曲线均呈单一对称峰形,可

证明各多糖亚组分为均一多糖。

3.2 PRPM-1 和 PRPM-2 干品为白色松散粉末状;PRPM-3 干品为淡黄色粉末。易溶于水,不溶于有机溶剂,不含蛋白质、核酸、糖醛酸等物质,为非淀粉类纯粹多糖。

参考文献

[1] 孙桂波, 纪凤兰, 徐惠波, 等. 何首乌的化学成分与药理作用研究进展. 长春中医药大学学报 2007 23(4).

[2] 罗瑞芝, 贾伟, 赵利斌, 等. 何首乌研究进展. 中草药 2005 36(7).

[3] 宋士军, 李芳, 岳华. 何首乌的抗衰老作用研究. 河北医科大学学报 2003 24(2):90-91.

[4] 苗明三, 方晓艳. 制何首乌多糖对衰老模型小鼠抗氧化作用的研究. 中药药理与临床 2002 18(5):23-24.

[5] 李雪华, 谢云峰, 周劲帆, 等. 荔枝多糖分离纯化及纯度鉴定. 广西医科大学学报 2005 22(3).

[6] 明建, 桂明英, 孙亚男, 等. 天麻水溶性多糖分离纯化及理化性质研究. 食品科学 2008 29(9).

[7] 何传波, 陈玲, 李琳, 等. 巴戟天多糖的分级纯化及结构分析. 华南理工大学学报(自然科学版) 2005 33(12).