

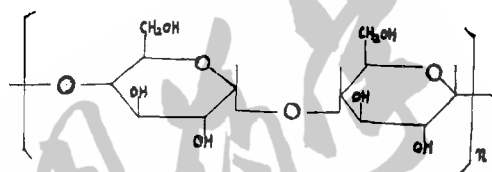
## 膜荚黄芪多糖的化学研究

杭州第二中药厂 陈启荣 林振华\* 丁祿霞\*

**提 要** 从膜荚黄芪的水提液中得一多糖,经酸水解、高碘酸钠氧化当量、Smith降解、乙酰解、红外光谱、 $^{13}\text{C}$ 核磁共振谱等项检测,确定此多糖为 $\alpha(1\rightarrow4)$ 葡聚糖。

膜荚黄芪(*Astragalus membranaceus* Bge.)为我国常用中药黄芪的两大品种之一。本药材的另一大品种蒙古黄芪(*A. mongholicus* Bge.)中多糖的化学研究已有详细报道<sup>[1,2]</sup>,膜荚黄芪中关于皂甙、黄酮及其它化学成分也已有一些研究报告<sup>[3,4]</sup>,唯多糖未见报道,为了研究膜荚黄芪多糖与免疫活性之间关系以及炮制对多糖成分的影响,本文对膜荚黄芪多糖的化学组成进行研究。

从膜荚黄芪水提液中分离、精制所得多糖为灰白色粉末,经葡聚凝胶G-75及G-200柱层析出现单一峰,薄层层析只见一个斑点。多糖经酸完全水解后纸层析只检出葡萄糖,经高碘酸钠氧化,每个无水葡萄糖单位氧化当量1.216M。红外光谱在 $855\text{cm}^{-1}$ 处强吸收,示 $\alpha$ -葡萄糖甙键特征。 $^{13}\text{C}$ 核磁共振谱显示六个碳峰,说明为相同甙键的己糖组成,各碳峰化学位移植与文献<sup>[5]</sup>的已知葡萄糖 $\alpha(1\rightarrow4)$ 甙键基本相同,因此此多糖可认为是 $\alpha(1\rightarrow4)$ 葡萄糖。乙酰解后薄层检出两个主要斑点,经葡萄糖和麦芽糖乙酰解对照,知两个主要斑点分别为五乙酰葡萄糖和八乙酰麦芽糖,可推论多糖组成主要是麦芽糖基,也即葡萄糖之间为 $1\rightarrow4$ 连结。Smith降解产物经纸层析,用甘油对照未见甘油斑点,示无 $1\rightarrow6$ 、 $1\rightarrow2$ 甙键或还原性末端葡萄糖基存在,此结果与核磁共振推断及乙酰解结果相符,因此此多糖化学结构确定为



### 实验部分

黄芪样品由浙江医科大学生药教研组鉴定为膜荚黄芪根。

#### 1. 多糖分离

膜荚黄芪1公斤,用80%乙醇回流提取三次,每次两小时,残渣 $80^{\circ}\text{C}$ 烘干,再用水加热煎煮三次,每次两小时,合并水煎液浓缩至1000ml,加乙醇至含醇60%,析出沉淀,放置24小时过滤,滤渣再溶于热水,滴加少许1%鞣酸沉淀蛋白质,再加活性炭稍加热过滤,滤液再加乙醇至60%,析出沉淀,24小时后滤取沉淀再重复操作两次得灰白色多糖粉末,略溶于水,能和碘显蓝色反应。

#### 2. 纯度检验

用葡聚凝胶G-75、G-200层析,上样量分别为2mg、5mg,溶于少量水上柱,层析柱 $18\times 400\text{mm}$ 用0.1%硼砂洗脱,流速 $0.5\text{ml}/\text{min}$ ,每小时收集一份,以N/10碘液检测,结果均为单一峰。薄层层析:硅胶G板,展开剂为乙酸乙酯-水-乙酸-甲酸(4.5:3.5:1.5:1),碘蒸气显色,示一个斑点,比旋度 $[\alpha]_{\text{D}}^{28} = +109^{\circ}(\text{C} = 0.0964 \text{ H}_2\text{O})$ 。

\* 浙江医科大学药系1985届毕业实习生

### 3. 多糖水解

称取多糖20mg加1N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10ml, 在沸水浴中加温, 用碘量法测量, 完全水解时间为3.5小时, 水解液用氢氧化钡中和, 滤除沉淀, 滤液纸层析。展开剂用: (1)正丁醇-乙酸-水(2:1:1); (2)乙酸乙酯-甲醇-乙酸-水(12:3:3:2); (3)乙酸乙酯-吡啶-水(2:1:0.4)。显色剂用苯胺-二苯胺-磷酸, 110℃烘10分钟, 葡萄糖呈蓝色斑点。

### 4. 氧化当量

称取多糖70mg加1%高碘酸钠水溶液10ml, 同时做一空白, 分别于24、40、48小时取试液0.1ml稀释至50ml, 于220nm处测吸收度, 从已知高碘酸钠溶液浓度标准曲线中求氧化液中高碘酸钠浓度, 计算每无水葡萄糖单位消耗高碘酸钠摩尔数, 24、40、48小时分别为1.156M、1.216M、1.216M。

### 5. 红外光谱和核磁共振谱

IR(cm<sup>-1</sup>): 2910(羟基)、1420、1160、1020、855(α-甙键)、760、710。

膜荚黄芪多糖D<sub>2</sub>O溶剂<sup>13</sup>CNMR δ (PPM): 100.439(C<sub>1</sub>)、77.794(C<sub>4</sub>)、74.118(C<sub>3</sub>)、72.379(C<sub>2</sub>)、72.032(C<sub>5</sub>)、61.325(C<sub>6</sub>)。

### 6. 乙酰解

取多糖50mg加醋酐-冰乙酸-浓硫酸(48:32:6)混合液8ml, 室温放置一星期, 然后在沸水浴上加热10分钟, 投入冰块, 用碳酸钠中和至中性, 氯仿提取, 提取液浓缩后薄层展开, 展开剂为苯-甲醇(96:4), 用5%硫酸的乙醇溶液显色, 110℃烘1小时。

### 7. Smith降解

取多糖70mg加1%高碘酸钠水溶液10ml, 暗处静置40小时, 加乙二醇4滴, 置透析膜中先常水透析12小时, 改用蒸馏水透析8小时, 加硼氢化钠30mg, 搅拌2小时, 静置过夜, 加乙酸除过量硼氢化钠, 再如上述透析一次, 透析液在水浴上蒸干, 加1N硫

酸水解6小时, 水解液用氢氧化钡中和, 滤除沉淀, 滤液于水浴上蒸干, 加少量乙醇溶解, 纸层析, 展开剂为乙酸乙酯-吡啶-水(10:4:3), 显色剂: 先喷3%高碘酸钠, 烘干后再喷联苯胺试液(0.5克联苯胺溶于20ml冰乙酸加无水乙醇至100ml)。

### 8. 葡萄糖含量测定

多糖用1N硫酸沸水浴上水解4小时, 冷却后按常规碘量法测定葡萄糖, 多糖样品按葡萄糖计算含量97.4%。另外水解液薄层展开, 展开剂为正丁醇-乙酸-水(2:1:1), 显色剂和3相同, 显色后反射法锯齿形薄层扫描, S<sub>x</sub>=3, λ<sub>S</sub>420nm, λ<sub>R</sub>700nm, 扫描速度20mm/min, 外标法葡萄糖对照, 多糖样品按葡萄糖计算含量为100.3%。

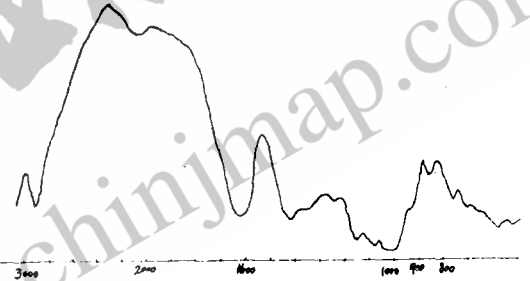


图1

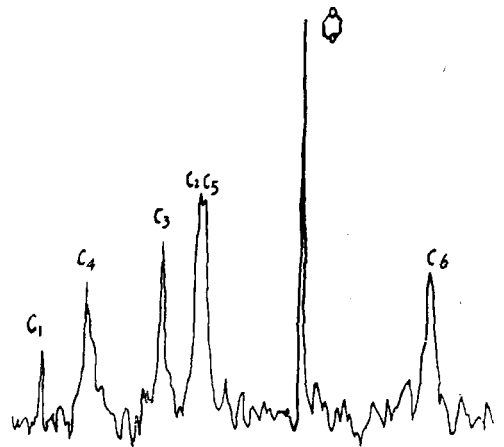


图2

(下转第10页)

( 上接第12页 )

### 参 考 文 献

- [1] 黄乔书等; 药学学报 17(3) 200 (1982)  
[2] 方圣鼎等; 有机化学 (2) 26 (1982)  
[3] 曹正中等; 中草药 16(6) 38 (1985)

- [4] Isao Kitagawa et/al.: Chem. pharm. Bull.  
31(2) 689 (1983)  
— *ibid.* 31(2) 698 (1983)  
— *ibid.* 31(2) 709 (1983)  
— *ibid.* 31(2) 716 (1983)  
[5] Pierre colson et. al.: J. Am. Chem. Soc.  
96(26) 8081 (1974)