

# 古汉养生精中生化成分的含量分析

郎晓怡 高向东<sup>1</sup> 赵国良<sup>2</sup> 谭丽华<sup>3</sup>

(湖南衡阳市药品检验所, 衡阳 421001;<sup>1</sup>中国药科大学生物制药教研室, 南京 210009;

<sup>2</sup>湖南衡阳市卫生局药政处, 衡阳 421001; <sup>3</sup>湖南衡阳中药厂, 衡阳 421001)

**摘要** 对古汉养生精原液和四味主要中药提取液进行了系统的分析研究。古汉养生精原液中总糖含量平均为 274.0 mg/ml; 水溶性多糖含量平均为 29.22 mg/ml; 经 DEAE 纤维素分离得两个混合蛋白吸收峰, 古汉养生精原液和两个混合蛋白溶液的 SOD 样物质的活力和过氧化氢酶样物质的活力分别为 1744.1905.739 u/ml 和 391.3, 121.4, 267.7 u/ml。古汉养生精中含有 16 种氨基酸, 总氨基酸含量为 2528 μmol/ml, 其中以谷氨酸的含量最高, 可达 719 μmol/ml。

**关键词** 古汉养生精; 多糖; 蛋白质; 超氧化物歧化酶; 氨基酸

古汉养生精是湖南衡阳中药厂与湖南省中医药研究院合作, 根据长沙马王堆出土竹简《养生方》, 再经科学组方由淫羊藿、黄精、黄芪、枸杞等 12 味中药组成, 具有补肾益脾、延年益寿、健脑安神的功效<sup>[1]</sup>。但对其中所含成分的分析研究未见文献报道。根据近期的研究表明, 中药中的许多生化成分是中药产生药理作用的主要活性物质之一<sup>[2]</sup>。因此, 本文对古汉养生精中的总糖、水溶性多糖、水溶性多肽、蛋白质、超氧化物歧化酶样物质的活性、过氧化氢酶样物质的活性、氨基酸成分等进行了系统分析研究, 并与部分主要组成中药成分进行了比较。

## 1 材料与仪器

古汉养生精原液(湖南衡阳中药股份有限公司提供, 未加防腐剂和矫味剂, 批号分别为 951129, 951201, 951204); 淫羊藿、黄精、黄芪、枸杞提取液(湖南衡阳中药股份有限公司提供, 分别取单味中药按制备工艺提取、浓缩成与古汉养生精原液相同的比例)。

蒽酮(上海试剂一厂); 考马斯亮兰 G250 (进口分装); DEAE 纤维素(进口分装); 连苯

三酚(贵州遵义化工厂); 其他试剂均为分析纯或生化试剂。

HP1050LC 系统, 氨基酸标准品(由惠普公司提供); 分析柱:Hypsil ODS 125 mm×4.0 mm, 流动相 A: 20 mmol/L NaAc(pH7.2)+0.6% THF(四氢呋喃)+0.02% TEA(三乙胺); B: 100 mmol/L NaAc(pH7.2)-乙腈-甲醇(100:175:225); 流速 1 ml/min, 柱温 40℃, 分析周期 72 min。

## 2 方法与结果

### 2.1 总糖、水溶性多糖的提取和含量测定

取古汉养生精原液 10 ml 置分液漏斗中, 以 Sevage 法(氯仿:正丁醇=4:1)除蛋白质 4~5 次, 取上清液对流动的蒸馏水透析 48 h, 取出后以 3 倍量乙醇沉淀, 离心(3000 r/min×15 min)得沉淀, 沉淀用蒸馏水溶解定容至 100 ml, 取此溶液 1 ml 再用蒸馏水定容至 100 ml 即为水溶性多糖待测溶液。

另取古汉养生精原液 1 ml 置 10 ml 容量瓶中, 用蒸馏水稀释至刻度, 取 1 ml 再用蒸馏水定容至 100 ml, 即为总糖待测溶液。

分别取淫羊藿、黄精、黄芪、枸杞各单药

提取液两份,按古汉养生精原液的处理方法处理,得水溶性多糖和总糖待测液。

总糖和多糖含量测定采用硫酸蒽酮法<sup>[3]</sup>。从表 1 看出,4 味中药的水溶性多糖含量的总和占原液中多糖含量的 16% 左右,说明其他 8 味中药水溶性多糖含量也较高。

Tab 1. The contents of total saccharide and soluble polysaccharides in GHYSJ and its major herbs' extractions

Sample	Total saccharide mg/ml	Soluble polysaccharides mg/ml
GHYSJ(951129)	278.0	29.01
GHYSJ(951201)	269.4	30.23
GHYSJ(951204)	274.6	28.41
<i>A. membranaceus</i> (Fisch) Bunge	10.30	0.79
<i>P. sibiricum</i> Redoute	45.76	0.53
<i>Lycium barbarum</i> , L.	17.96	0.89
<i>E. grandiflorum</i> Morr. et Decne	7.30	2.41

GHYSJ represents Gu Han Yang Sheng Jing

## 2.2 多肽、蛋白质类物质的分离、纯化及 SOD 样物质和过氧化氢酶样物质活性测定

取古汉养生精原液 10 ml 置透析袋中,对 0.05 mol/L 磷酸缓冲液(pH6.8)透析 24 h,取透析液上 DEAE-纤维素柱(事先用 pH6.8,0.05 mol/L 磷酸缓冲液平衡),分部收集流出液,上样完毕,以相同的缓冲液洗涤,再以含 1 mol/L NaCl 的 0.05 mol/L 磷酸缓冲液(pH6.8)洗脱,分部收集洗脱液,以考马斯亮兰色素结合法测定蛋白质含量,合并蛋白质含量较高的各管,以邻苯三酚自氧化法<sup>[4]</sup>测定其 SOD 样物质的活性。另采用 Beers 法<sup>[5]</sup>测定其过氧化氢酶样物质的活性,过氧化氢酶活力单位定义为:在 pH6.8 磷酸缓冲液,2℃ 条件下,每分钟分解 0.1 μmol 的过氧化氢所需的酶量为一个活力单位。采用相同的方法测定 4 味中药提取液中相关物质的活性。

从图 1 可见,在 DEAE-纤维素上柱流出液中含有一个较小的蛋白混合物峰 A,而洗脱后得到另一个较大的蛋白混合物峰 B。这两个峰均为与色素结合的蛋白质混合物。

表 2 结果表明,古汉养生精原液的 SOD 样活性明显低于两个蛋白质峰 A 和 B SOD

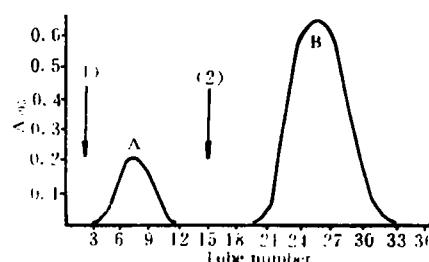


Fig 1. DEAE-cellulose chromatography of GHYSJ

(1) 0.05 mol/L pH 6.8 phosphate buffer; (2) 0.05 mol/L pH 6.8 phosphate buffer (contain 1 mol/L NaCl)

样活力之和,说明古汉养生精原液中可能还存某些促进邻苯三酚自氧化的物质。蛋白峰 B SOD 样活性较低,而过氧化氢酶样活性明显高于蛋白峰 A。4 味中药提取液中只有淫羊藿具有过氧化氢酶样活性。

Tab 2. Assay of SOD-like activity and catalase-like activity of GHYSJ and its major herbs' extractions

Sample	SOD-like activity	Catalase-like activity
	u/ml	u/ml
GHYSJ(951129)	1744.3	391.3
Protein A	1905.0	121.4
Protein B	739.3	276.7
<i>A. membranaceus</i> (Fisch) Bunge	135.6	—
<i>P. sibiricum</i> Redoute	123.3	—
<i>Lycium barbarum</i> , L.	98.6	27.1
<i>E. grandiflorum</i> Morr. et Decne	—	—

GHYSJ represents GU Han Yang Sheng Jing

## 2.3 古汉养生精原液中氨基酸含量分析

取古汉养生精原液 1.0 ml,在水浴上加热蒸干,加恒沸盐酸 2.0 ml,在充 N<sub>2</sub> 条件下封管,135℃ 水解 4 h,开管后定容至 10 ml,离心(10000 r/min,10 min),取上清液 1 μl 进样。样品分析采用柱前衍生化后进行反相层析分析。

从表 3 看出,原液中含有除 His 外的 16 种氨基酸(因使用酸水解,故 Trp 测不出),总含量为 2528.34 μmol/ml,且以 Glu 的含量最高,为 719.81 μmol/ml。

## 3 讨论

### 1) 对中药中具有某种生理和药用价值

Tab 3. The content of amino acids in GHYSJ

Amino acid	Content, $\mu\text{mol}/\text{ml}$
Asp	70.85
Glu	719.81
Ser	119.62
His	—
Gly	358.46
Thr	57.15
Ala	230.72
Agr	36.81
Tyr	21.78
Cys-Cys	560.96
Val	67.47
Met	4.72
Phe	41.47
Ile	41.16
Leu	68.13
Lys	37.32
Pro	91.91

的多肽和蛋白质的研究十分引人注目。如从枸杞水溶液中分离的两个多肽就具有十分明显的抗菌作用<sup>[6]</sup>。某些中药提取液中,还存在一些具有 SOD 样生物活性的蛋白质。从古汉养生精原液中就分离到两个蛋白质混合物。蛋白质混合物 A 的 SOD 样活性明显高于古汉养生精原液,其原因还有待于进一步研究。但初步认为,古汉养生精是由多味中药组成,故其提取液中可能还存在某些能促进邻苯三酚自氧化的物质,从而抵消了蛋白混合物 A 的某些 SOD 样活性。此外,古汉养生精还可

增加小鼠血红细胞中 SOD 活性(另文报道),这与其本身具有 SOD 样活性之间是否有必然的联系,还有待于进一步研究。

2) 过氧化氢酶存在于某些组织细胞微体中,最初就是从植物组织中分离得到的。过氧化氢酶在参与机体的防御功能、维护细胞的正常功能方面起重要的作用。因此,测定过氧化氢酶活性是研究“延年益寿”中药的重要药效学指标之一。古汉养生精因其较为特殊的制备工艺,故其仍具有一定的过氧化氢酶样活性。

### 参 考 文 献

- 1 谭丽华,王刚生. 古汉养生精临床研究. 湖南医药动态,1989,3:23
- 2 田庚元,冯宇澄,林颖. 植物多糖的研究进展. 中国中药杂志,1995,20(7):441
- 3 高向东,姚文兵,李隽等. 宁夏枸杞新品种“宁杞 1 号”中氨基酸和维生素 C、B<sub>1</sub> 的含量分析. 中国生化药物杂志,1995,16(3):130
- 4 谢卫华,姚菊芳,袁勤生. 邻苯三酚自氧化法测定超氧化物歧化酶活性的改进. 医药工业,1989,19(5):217
- 5 Beers RF. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *J Biol Chem.*, 1952,195:133
- 6 李虹奇. 活性多肽、蛋白质研究近况. 中草药,1993,24(3):317

## Analysis of Biochemical Substances in GHYSJ

Lang Xiaoyi, Gao Xiangdong<sup>1</sup>, Zhao Guoliang, Tan Lihua

Hengyang Institute for Drug Control, Hengyang 421001; <sup>1</sup>Department of Biochemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009

**Abstract** The contents of total saccharide and soluble polysaccharides were 274 and 29.22 mg/ml respectively in Gu Han Yang Sheng Jing(GHYSJ, ancient Chinese health-keeping essential). Two proteins(A and B) were separated from GHYSJ by DEAE-cellulose chromatography. The SOD-LI and catalase-LI activities of GHYSJ, protein A and B were 1744, 1905, 739 u/ml and 391.3, 121.4, 267.7 u/ml. There were at least 16 kinds of amino acid in GHYSJ.

**Key words** Gu Han Yang Sheng Jing; Polysaccharide; Superoxide dismutase; Catalase; Protein; Amino acid