

中药四叶参中的氨基酸分析*

The Analysis of Amino Acids in *Codonopsis lanceolata* Benth. et Hk. F

徐勤¹, 刘布鸣², 邓立东³, 白先群¹

XU Qin¹, LIU Bu-ming², DENG Li-dong³, BAI Xian-qun¹

(1. 桂林医学院药学院, 广西桂林 541004; 2. 广西中医药研究院, 广西南宁 530022; 3. 桂林医学院附属医院药剂科, 广西桂林 541001)

(1. Department of Pharmaceutical Analysis, Guilin Medical College, Guilin, Guangxi, 541004, China; 2. Guangxi Institute of Traditional Medical and Pharmaceutical Sciences, Nanning, Guangxi, 530022, China; 3. Department of Pharmacy, Guilin Medical College Affiliated Hospital, Guilin, Guangxi, 541001, China)

摘要: 用氨基酸分析仪分析中药四叶参 (*Codonopsis lanceolata* Benth. et Hk. F) 的氨基酸成分, 并比较四叶参中水解氨基酸和游离氨基酸含量。结果是, 四叶参中鉴定出 16 种氨基酸成分, 水解氨基酸总量为 5.70%, 游离氨基酸总量为 4.17%。四叶参中含有 16 种氨基酸, 结合状态和游离状态存在的氨基酸差异不大。

关键词: 成分分析 氨基酸 四叶参

中图分类号: O657, R282.5 文献标识码: A 文章编号: 1005-9164(2008)02-0176-02

Abstract The determination of amino acid in *Codonopsis lanceolata* Benth. et Hk. F by the automatic analyzer was presented in this article for the first time. And the content of free amino acid is compared to the content of hydrolyzed amino acid in *C. lanceolata*. 16 kinds of amino acids were identified. The amount of hydrolyzed amino and free amino acid were 5.70% and 4.17% respectively. The results showed that there are 16 kinds of amino acids in *C. lanceolata*, and there was little difference in the content of conjugated amino acids and free amino acids.

Key words analysis of chemical components, amino acid, *Codonopsis lanceolata* Benth. et Hk. F

四叶参 (*Codonopsis lanceolata* Benth. et Hk. F) 为桔梗科 (Campanulaceae) 党参属植物, 又名羊乳、羊奶参、轮叶党参、山海螺、羊奶等, 系草质缠绕藤本, 有白色液汁, 生于山地灌木林下沟旁或林中; 主要分布于广西、湖南、东北、山东、江浙等地, 其根可以食用, 也作为民间草药, 是药食两用植物^[1]。传统医学认为四叶参的根入药有补气通乳、养阴润肺、清热解毒、消肿排脓之功效, 用于益气体虚、气阴不足、自汗口渴、肺燥干咳等症^[1,2]。现代药理研究表明四叶参具有抗氧化、抗肿瘤、抗突变、保肝醒酒、增强免疫等作用^[2-3]。四叶参的主要化学成分有生物碱、甾萜类、黄酮、挥发油等^[2-5]。四叶参的氨基酸化学成分研究尚

未见有报道。我们采用自动氨基酸分析仪对四叶参中的氨基酸成分进行分析研究, 并比较水解氨基酸和游离氨基酸含量, 为四叶参的营养、保健价值研究和及其相关产品的开发利用, 提供一定的基础化学数据和理论依据。

1 实验部分

1.1 仪器、材料及试剂

L-8800 全自动氨基酸分析仪 (日本日立公司出品), 配置离子交换树脂分析柱 (4.6 mm × 60 mm) 及 Windows NT 色谱操作系统。KQ5200 超声清洗器 (江苏省昆山市超声仪器有限公司出品)。四叶参采自广西全州县, 经王育生教授鉴定为桔梗科党参属植物四叶参 (*Codonopsis lanceolata* Benth. et Hk. F)。氨基酸对照品是美国 Sigma 公司产品。盐酸、磺基水杨酸等试剂均为分析纯 (广州化学试剂厂出品)。

收稿日期: 2007-12-27

作者简介: 徐勤 (1971-), 女, 博士, 副教授, 主要从事药物分析研究工作。

* 广西青年科学基金项目 (桂科青 0447054) 资助。

1.2 氨基酸检测

1.2.1 水解氨基酸供试品溶液制备 取四叶参干品适量,粉碎,精密称取 0.2 g,置于安瓿中,精密加入 6 mol⁻¹ L⁻¹盐酸溶液 15 ml,抽真空后封口,置 110℃ 烘箱内加热水解 24 h,取出冷却,打开安瓿瓶,滤过,精密取滤液 1 ml,置 100℃水浴上蒸干,用蒸馏水定容至 25 ml,过 0.45 μm 微孔滤膜,取续滤液,即得

1.2.2 游离氨基酸供试品溶液制备 取四叶参干品适量,粉碎,精密称取 0.4 g,加入 5 ml 8% 磺基水杨酸溶液,置超声清洗器中超声处理 20 min,滤过,滤液置 25 ml 容量瓶中,加入蒸馏水稀释至刻度,过 0.45 μm 微孔滤膜,取续滤液,即得。

1.2.3 供试品溶液测定 取氨基酸混合对照品溶液和上述两种供试品溶液各 20 ml,分别注入氨基酸分析仪进行测定。

2 结果与分析

从四叶参中鉴定出 16 种氨基酸成分,水解氨基酸总含量为 5.07%,游离氨基酸总含量为 4.17% (表 1)。水解氨基酸含量略高于游离氨基酸含量,四叶参中的氨基酸以结合和游离形态存在,游离态的氨基酸含量较低些。胱氨酸未检出,可能四叶参的蛋白质组成中没有胱氨酸。精氨酸的含量在水解和游离两种不同的处理方法下测定结果差异不大,其含量最高均达

表 1 四叶参中游离氨基酸类型、含量和水解氨基酸含量

Table 1 The average content of amino acids in *Codonopsis lanceolata* Benth. et Hk F

氨基酸 Amino acids	水解氨基酸含量 Average content of hydrolyzed amino acid (%)	游离氨基酸含量 Average content of free amino acid (%)
门冬氨酸 Asp	0.23	0.04
苏氨酸 Thr*	0.11	0.35
丝氨酸 Ser	0.12	0.03
谷氨酸 Glu	0.76	0.11
脯氨酸 Pro	0.13	0.03
甘氨酸 Gly	0.11	0.01
丙氨酸 Ala	0.17	0.09
胱氨酸 Cys	未检出	未检出
缬氨酸 Val	0.12	0.02
蛋氨酸 Met	0.03	0.004
异亮氨酸 Ileu†	0.09	0.01
亮氨酸 Leu†	0.16	0.004
酪氨酸 Tyr	0.08	0.02
苯丙氨酸 Phē*	0.11	0.02
赖氨酸 Lys*	0.16	0.02
氮 (NH)	(0.14)	(0.03)
组氨酸 His*	0.11	0.06
精氨酸 Arg*	3.21	3.35
氨基酸总量	5.70	4.17

* : 为人体必需氨基酸 * : Human essential amino acids.

到了 3% 以上。四叶参中氨基酸含量较高,其中含有人体必需的 8 种氨基酸,而且还富含精氨酸、门冬氨酸、谷氨酸、亮氨酸等药效氨基酸,而这些氨基酸有很重要的药理作用,这与民间认为四叶参具有保健作用、可食用相符,也与中医认为其能防治疾病相吻合。

3 讨论

氨基酸是人体必需的营养成分。缺乏氨基酸时,人体正常的生长发育就会受到抑制或导致疾病。氨基酸除了组成蛋白质外,还有一些特殊药理功能^[6-7]。因此,中药中的氨基酸往往是治病的主要有效成分或辅助成份。本文对四叶参中水解氨基酸和游离氨基酸进行分析测定,结果共鉴定出 16 种氨基酸并测定其含量,水解氨基酸总含量为 5.07%,游离氨基酸总含量为 4.17%,水解氨基酸含量略高于游离氨基酸含量,四叶参中的氨基酸以结合和游离形态存在,游离态的氨基酸含量较低些,有部分氨基酸如胱氨酸、未检出,可能四叶参的蛋白质组成中没有胱氨酸,精氨酸的含量在水解和游离两种不同的处理方法下测定结果差异不大,其含量最高均达到了 3% 以上。四叶参中氨基酸含量较高,其中含有人体必需的 8 种氨基酸,而且还富含精氨酸、门冬氨酸、谷氨酸、亮氨酸等药效氨基酸,而这些氨基酸有很重要的药理作用,这与民间认为四叶参具有保健作用、可食用相符,也与中医认为其能防治疾病相吻合。如精氨酸 (Arg) 是人体必需的氨基酸,同时 Arg 亦是一种具有免疫调节作用的小分子化学物质,具有内分泌促分泌功能;另外,Arg 可以在体内转换生成瓜氨酸和一氧化氮 (NO),通过上述两个机制来发挥免疫上调作用^[8];Arg 具有免疫调节作用与四叶参能增强免疫功能的药理作用是相符的^[2]。

本研究采用自动氨基酸分析仪,对四叶参中氨基酸成分进行分析测定,方法简便,结果可靠,为四叶参药材的基础化学研究和进一步的开发利用提供了科学的数据。

致谢:

广西分析测试研究中心代做氨基酸测试,特此致谢!

参考文献:

- [1] 中国药科大学. 中药辞海 [M]. 北京: 中国医药出版社, 1993: 516.
- [2] 邓立东, 蒋学华, 徐勤, 等. 四叶参的研究进展 [J]. 中国药房, 2006, 17(23): 1824-1825.

(下转第 180 页 Continue on page 180)

3.4.5 加样回收率试验

取已测知薯蓣皂苷元含量的绵萆薢药材约

4.0g,精密称定,分别精密加入一定量的薯蓣皂苷元对照品溶液(2.05mg/ml),按供试品溶液制备方法制备待测溶液,按上述色谱条件测定,计算加样回收率,结果见表1

表1 加样回收率试验结果

Table 1 Determination results of recovery

序号 No.	原有量 Original (mg)	加入量 Added (mg)	测得量 Found (mg)	回收率 Recovery (%)	\bar{X} (%)	RSD (%)
1	1.825	2.05	3.905	101.45	100.92	1.30
2	1.597	2.05	3.616	98.48		
3	1.735	2.05	3.793	100.38		
4	2.053	2.05	4.140	101.79		
5	1.956	2.05	4.042	101.76		
6	2.008	2.05	4.092	101.69		

3.5 样品测定

分别取不同批次的绵萆薢药材约8g,精密称定,按供试品溶液制备方法制备,注入高效液相色谱仪,测定峰面积值,以外标一点法计算供试品中薯蓣皂苷元的含量,结果见表2

表2 绵萆薢药材薯蓣皂苷元含量(n=3)

Table 2 The diosgenin contents in *D. septemloba* (n=3)

批次 No.	含量 Content(%)	RSD (%)
1	0.049	
2	0.046	0.005
3	0.047	

4 结论

在薯蓣皂苷元的薄层鉴别实验中,曾试用过环己烷-乙酸乙酯(4:1)、三氯甲烷-丙酮(9:1)、三氯甲烷-乙酸乙酯(10:1)等展开剂,通过比较,采用本实验所用的三氯甲烷-乙酸乙酯(10:1)效果较好,斑点清晰,圆整

在薯蓣皂苷元的HPLC含量测定中,在制备供试品溶液时,分别用三氯甲烷-石油醚及醋酸乙酯进行萃取,结果表明以石油醚(60~90°C)40ml直接萃取4次的效果最优。本品薯蓣皂苷元的含量测定在供试品溶液制备时需进行水解,然后用石油醚进行多次萃取,萃取过程中的步骤较多,会影响方法的重复性

分别考察不同比例乙腈-水、乙腈-磷酸溶液等流动相,结果发现以乙腈-水(90:10)作流动相时,色谱峰形及分离度较好

参考文献:

- [1] 国家药典委员会.中国药典 2005版一部[M].北京:化学工业出版社,2005:232.
- [2] 李雪征,金光沫.萆薢的研究进展[J].中国野生植物资源,2002,21(5):A-10

(责任编辑:邓大玉)

(上接第177页 Continue from page 177)

- [3] 余雄英,任启生,宋新容.山海螺的研究进展[J].江西中医药,2004,35(3):60.
- [4] Chang Y K, Kim S Y, Han B H. Chemical studies on the alkaloidal constituents of *codonopsis lanceolata* [J]. *Yakhak Hoechi*, 1986, 30(1): 1.
- [5] Aladina N G, Elkin Y N, Chezian E A. Structure of codonoside B[J]. *Khim Prir Soedin*, 1989, 28(3): 368.
- [6] 宋彦梅,尹秋响,王静康.甘氨酸的应用及生产技术[J].

氨基酸和生物资源,2003,25(2):55-60.

- [7] 徐琪寿.氨基酸的药理研究进展[J].氨基酸和生物资源,1996,18(1):30-32.
- [8] 周忠信,张龙娟,黄晓卉.胃肠外营养添加精氨酸对肝癌术后患者免疫功能的影响[J].南方医科大学学报,2007,27(7):1094-1096.

(责任编辑:邓大玉)