

野生与野生抚育猫爪草药材的分析比较研究*

The Study on the Comparison Between Wild and Cultivated Radix *Ranunculus ternatus*陈 赤¹, 何开家², 刘布鸣², 林 霄², 蔡全玲²CHEN Chi¹, HE Kai-jia², LIU Bu-ming², LIN Xiao², CAI Quan-lin²

(1. 柳州市医药情报所, 广西柳州 545001; 2. 广西中医药研究院, 广西南宁 530022)

(1. Liuzhou Institute of Medical Information, Liuzhou, Guangxi, 545001, China; 2. Guangxi Institute of Chinese Medicine & Pharmaceutical Science, Nanning, Guangxi, 530022, China)

摘要: 对野生与野生抚育猫爪草药材进行理化鉴别、薄层色谱试验、紫外光谱试验、多糖和氨基酸含量测定试验。结果表明, 野生和野生抚育猫爪草的主要成分基本一致; 在多糖含量上, 野生猫爪草为 14.1%, 比野生抚育猫爪草的 10% 左右略高; 野生与野生抚育猫爪草的氨基酸种类基本一致, 野生猫爪草的总氨基酸含量为 7.19%, 比野生抚育的 9%~10% 稍低。野生猫爪草与野生抚育猫爪草基本一致, 无明显差异, 野生抚育猫爪草的有害物质检测符合规定。

关键词: 猫爪草 野生 抚育 理化性状 化学成分 多糖 氨基酸

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 1005-9164(2008)01-0070-05

Abstract The wild Radix *Ranunculus ternatus* and the cultivated samples were compared through physical and chemical identification test, TLC test, UV test, content of polysaccharides determination test and content of amino acid determination tests. The result showed that the major ingredients in wild and cultivated Radix *Ranunculus ternatus* were basically the same, the content of polysaccharides in wild Radix *Ranunculus ternatus* was 14.1%, a little higher than the cultivated sample which was about 10%. The wild and cultivated samples almost had the same type of amino acids, but the content of amino acid in wild samples was 7.19%, a little lower than the cultivated samples. So we believed that there was no significant difference in wild Radix *Ranunculus ternatus* and the cultivated samples, and the detection of harmful substances was qualified.

Key words Radix *Ranunculus ternatus*, wild, cultivated, physical and chemical property, chemical composition, polysaccharide, amino acids

猫爪草 (Radix *Ranunculus ternatus*) 系毛茛科植物小毛茛 (*Ranunculus ternatus* Thunb.) 的干燥块根, 收载于中国药典 2005 年版一部^[1]。猫爪草主产于河南信阳地区的信阳、横川、息县及驻马店地区的正阳、确山, 我国长江中、下游 (包括浙江、江苏、安徽、江西、广西、河南、湖北、湖南、四川、云南、贵州等省) 以及台湾地区均有分布, 在日本本州、四国、九州也有分布^[2,3]。猫爪草性温, 味甘、辛, 入肝、肺经, 具有消肿散结、清热解毒的功效, 用于治疗淋巴结核、淋巴结炎、肺结核、咽炎、淋巴瘤、甲状腺瘤、乳腺肿瘤、肺癌等疾病^[4,5]。本实验对野生和野生抚育猫爪草的植物性

理化特性和化学成分进行比较, 并且对其中的主要化学成分作定性和定量对比, 为广西猫爪草资源的开发和质量评价提供基础数据。

1 材料与仪器

1.1 药材

猫爪草野生样品和猫爪草野生抚育样品由广西柳州市医药情报所提供, 并经广西中医药研究院何开家副教授鉴定为毛茛科植物小毛茛 (*Ranunculus ternatus* Thunb.) 的干燥块根。

1.2 试剂

葡萄糖对照品 (中国药品生物制品检定所出品, 批号 110833-200302)、苯酚及其它试剂均为分析纯。18 种氨基酸混合标样储备液 (美国 sigma 公司出品)。

收稿日期: 2007-12-06

作者简介: 陈 赤 (1956-), 男, 副主任药师, 从事医药情报研究工作。

* 广西科技攻关项目 (桂科攻 0537017-10)、广西大型仪器协作共用专项资金项目 (447-2007-026) 资助。

1.3 仪器

紫外可见分光光度计 (PE Lambda12); 气相色谱仪 (岛津 GC14B); 液相色谱仪 (Waters515); 氨基酸自动分析仪 (日立 L-8800); 原子吸收光谱仪 (Z27000); 原子荧光光谱仪 (AFS-230)。

2 植物性状比较和理化特性鉴别

2.1 植物性状比较^[1]

野生样品和野生抚育样品均为干燥块根呈纺锤形,多5~6个簇生,形似猫爪,长3~10mm,直径2~3mm,顶端有黄褐色残茎或茎痕,表面黄褐色或灰黄色,久存色泽变深,微有纵皱纹,并有点状须根痕和残留须根;质坚实,断面类白色或黄白色,空心或实心,粉性;气微,味微甘。

两种样品相比较,仅是野生抚育样品表面偏褐色(即颜色较深),其余相同。生药学鉴别野生和野生抚育猫爪草的性状基本一致,并均符合中国药典2005年版一部猫爪草项下的规定^[1]。

2.2 理化性状鉴别

2.2.1 显微鉴别^[1] 野生样品和野生抚育样品的横切面上,表皮细胞切向延长,黄棕色,有的分化为表皮毛,微木化,皮层为20~30列细胞组成,壁稍厚,有纹孔;内皮层明显;中柱小,木质部、韧皮部各2束,间隔排列;薄壁细胞充满淀粉粒。野生和野生抚育样品显微鉴别相同,并均符合中国药典2005年版一部猫爪草项下的规定^[1]。

2.2.2 化学鉴别 分别取野生与野生抚育猫爪草药材样品,粉碎,各称取粉末1g,加95%乙醇10ml,水浴上加热20min,滤过,取续滤液2ml,加茚三酮试液1ml,水浴上加热数分钟,溶液均显紫红色。两种样品的化学鉴别反应相同。

2.2.3 荧光鉴别 分别取野生与野生抚育猫爪草粉末1g,加70%乙醇10ml,水浴上温热提取10min,滤过,取滤液2ml置试管中,在紫外光灯365nm下观察,溶液显黄绿色荧光。野生和野生抚育样品荧光鉴别结果相同。

3 主要化学成分的薄层色谱与紫外光谱比较

3.1 薄层色谱鉴别1

取野生和野生抚育猫爪草粉碎,各称取1g,分别加入甲醇10ml,加热回流30min,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣各加2ml乙醇溶解,作为供试品溶液。按照薄层色谱法(中国药典2005年版一部附录VI B)试验,分别吸取上述1种溶液各5~10 μ l,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶G薄层板上,以环己烷-

丙酮-醋酸乙酯(5:2:1)为展开剂,展开,晾干,喷以5%磷钼酸乙醇溶液显色,置110 $^{\circ}$ C下烘烤至斑点显色清晰。在两种供试品色谱相应的位置上显相同的蓝色斑点,斑点R_f值一致(见图1)。

3.2 薄层色谱鉴别2

取野生和野生抚育猫爪草粉碎,各称取0.5g,分别加入醋酸乙酯10ml,加热回流30min,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣各加2ml醋酸乙酯溶解,作为供试品溶液。按照薄层色谱法(中国药典2005年版一部附录VI B)试验,分别吸取上述2种溶液各5~10 μ l,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶G薄层板上,以甲苯-醋酸乙酯-甲酸(10:2:0.3)为展开剂,展开,晾干,喷以30%硫酸乙醇溶液显色,置105 $^{\circ}$ C下烘烤至斑点显色清晰。在两种供试品色谱相应的位置上显相同的紫色斑点,斑点R_f值一致(见图2)。

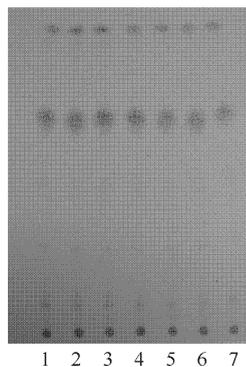


图1 甲醇提取物薄层色谱

Fig. 1 TLC plans of ethanol extraction

1 2 3为野生样品;4 5 6 7为野生抚育样品。

1 2 3 Wild samples; 4 5 6 7 Cultivated samples.

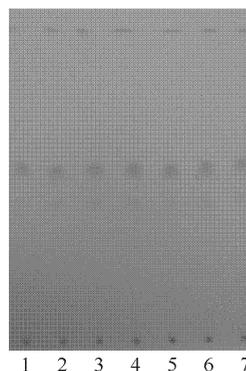


图2 醋酸乙酯提取物薄层色谱

Fig. 2 TLC plans of acetic ether extraction

1 2 3为野生样品;4 5 6 7为野生抚育样品。

1 2 3 Wild samples; 4 5 6 7 Cultivated sample.

3.3 紫外吸收光谱

取野生和野生抚育猫爪草粉碎,各称取0.5g,置锥形瓶中,加入20ml乙醇超声30min,滤过,取续滤液

1ml于10ml量瓶中,加乙醇定容至刻度,作为供试品溶液。以乙醇作为空白,在200~400nm范围内扫描,记录紫外吸收光谱。结果野生和野生抚育猫爪草的乙醇提取物紫外吸收光谱基本一致(图3)。

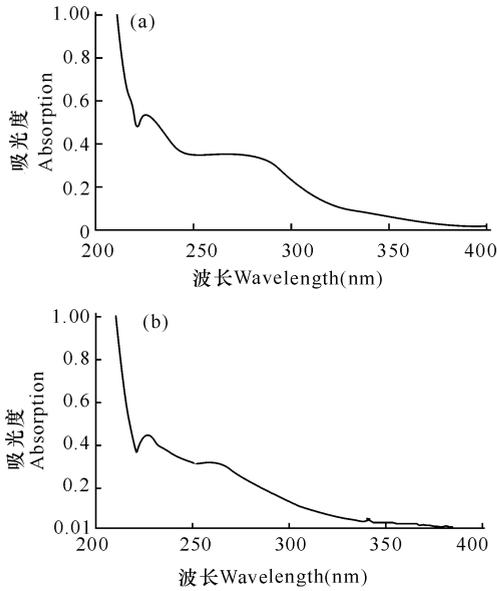


图3 乙醇提取物紫外吸收光谱

Fig. 3 UV absorption spectrum of ethanol extraction

(a)野生样品;(b)野生抚育样品

(a) Wild sample; (b) Cultivated sample.

3.4 薄层色谱与紫外吸收光谱对比结果

在两种不同的提取方法与不同的色谱条件下,薄层色谱对比试验中野生与野生抚育样品的薄层色谱斑点数目、颜色、大小、 R_f 值基本一致;野生和野生抚育猫爪草的乙醇提取物的紫外吸收光谱亦基本一致。结果表明野生与野生抚育的猫爪草中的主要化学成分基本相同。

4 多糖含量的比较实验

猫爪草中所含的多糖是重要的抗肿瘤活性成分,我们采用比色法^[6]对野生与野生抚育药材样品中的多糖进行对比实验。

4.1 样品溶液制备

分别精密称取干燥至恒重的野生与野生抚育药材样品各约0.2g,置索氏提取器中,依次用乙醚和乙醇各100ml回流提取2h,残渣挥干溶剂后连同滤纸置烧瓶中,加入50ml水,加热回流提取2h,趁热滤过,用少量热水洗涤滤器,合并滤液与洗液,放冷,转移至100ml容量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,作为样品溶液。

4.2 紫外可见光谱比较

分别精密吸取4项野生和野生抚育样品溶液各0.5ml,加蒸馏水使成1.0ml,再分别精密加入5%苯

酚溶液2.0ml,摇匀,迅速精密加入浓硫酸8.0ml,充分摇匀,放置5min,于40℃水浴加热20min,冷却至室温。同时以蒸馏水作空白,在300~600nm波长范围内扫描葡萄糖标准品溶液(5.4546g/ml)。野生与野生抚育猫爪草样品溶液的紫外可见吸收光谱的结果见图4和图5。

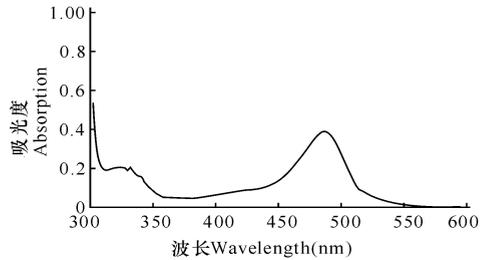


图4 葡萄糖对照品溶液紫外可见吸收光谱

Fig. 4 UV-vis absorption spectrum of glucose

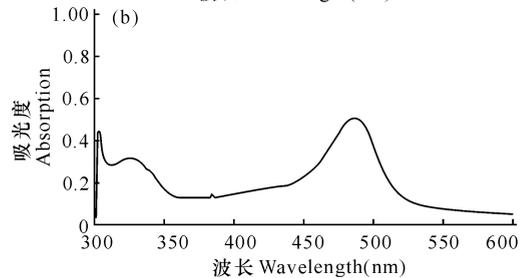
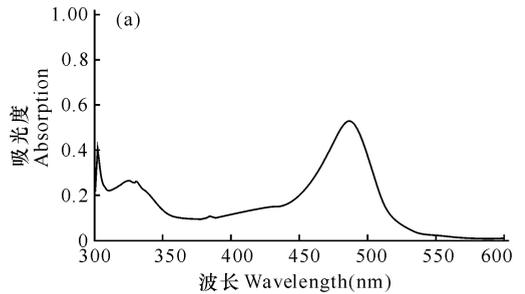


图5 样品溶液紫外可见吸收光谱

Fig. 5 UV-vis absorption spectrum of sample

(a)野生样品;(b)野生抚育样品

(a) Wild sample; (b) Cultivated sample.

比较紫外可见吸收光谱(图4和图5)可知,葡萄糖标准品溶液、猫爪草野生样品溶液与野生抚育样品溶液在490nm波长处均有最大吸收峰,其紫外可见吸收光谱亦基本一致,说明其多糖成分基本一致。

4.3 标准曲线制备

精密称取干燥至恒重的葡萄糖对照品约10mg,置100ml容量瓶中,用水溶解并定容至刻度作为对照品溶液。精密吸取对照品溶液0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8ml,置具塞试管中,分别加蒸馏水使其成1.0ml,再分别精密加入5%苯酚溶液2.0ml,摇匀,迅速精密加入浓硫酸8.0ml,充分摇匀,放置5min,于40℃水浴加热20min,冷却至室温。同时以蒸馏水作

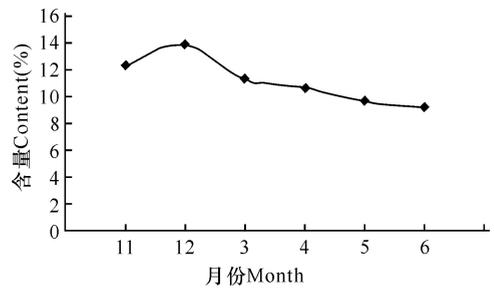


图6 不同采集期野生抚育猫爪草多糖含量

Fig. 6 The polysaccharide content of cultivated *Radix Ranunculus ternatus* in different collection Period

在分离柱 4.6mm×60mm(#2622),柱温 57℃,UV 检测器温度 136℃,氮气压力 37kPa,缓冲液流速 0.40ml min⁻¹,茚三酮流速 0.35 ml min⁻¹的实验条件下,称取试样粉末各 0.3g 于玻璃水解管中,准确移取 15ml 6mol/L HCl,缓缓加入水解管,充分浸泡样品后抽真空封管,将水解管置于 110℃ 恒温烘箱中水解 22h,冷却,将试液摇匀,开管,用移液管移取 1.0ml 滤液于蒸发皿中并在 100℃ 水浴锅上蒸干浓缩,完全转移定容 25ml,用滤纸过滤,后用 0.45μm 微孔滤膜过滤,取样置氨基酸分析仪样品瓶上机测试野生与野生抚育药材中的氨基酸种类和含量。结果(表 3)野生与野生抚育猫爪草的氨基酸种类基本一致,野生猫爪草的总氨基酸含量为 7.19%,比野生抚育的 9%~10% 稍低,在含量上两者略有差异。

表 3 野生与野生抚育猫爪草中 18 类氨基酸含量的比较

Table 3 The comparison of 18 kinds of amino acids content between wild and cultivated *Radix Ranunculus ternatus*

氨基酸 Amino acids	含量 Content(%)		
	野生样品 Wild sample	野生抚育样品(1) Cultivated sample(1)	野生抚育样品(2) Cultivated sample(2)
1. 门冬氨酸 Asp	0.79	1.08	1.08
2. 苏氨酸 Thr	0.45	0.60	0.61
3. 丝氨酸 Ser	0.42	0.54	0.57
4. 谷氨酸 Glu	0.98	1.22	1.26
5. 脯氨酸 Pro	0.40	0.52	0.46
6. 甘氨酸 Gly	0.49	0.64	0.65
7. 丙氨酸 Ala	0.50	0.63	0.60
8. 胱氨酸 Cys	0.13	0.14	0.16
9. 缬氨酸 Val	0.47	0.61	0.62
10. 蛋氨酸 Met	0.08	0.12	0.15
11. 异亮氨酸 Ile	0.35	0.51	0.50
12. 亮氨酸 Leu	0.60	0.84	0.84
13. 酪氨酸 Tyr	0.25	0.38	0.36
14. 苯丙氨酸 Phe	0.42	0.58	0.58
15. 赖氨酸 Lys	0.37	0.60	0.39
16. 氨 N H ₃	0.16	0.23	0.19
17. 组氨酸 His	0.13	0.20	0.18
18. 精氨酸 Arg	0.36	0.93	0.51
样品中总氨基酸含量	7.19	10.14	9.52

为空白,在 490nm 处测定吸收度,以吸收度为横坐标(Y),葡萄糖含量为纵坐标(X),得回归方程: $Y = 0.0785X + 0.0093, r = 0.9992$, 在 1.8182 ~ 7.2728 g/ml 范围内线性关系良好。

4.4 样品含量测定

分别精密吸取 4 项野生和野生抚育样品溶液各 0.5ml,加蒸馏水成 1.0ml,再分别精密加入 5% 苯酚溶液 2.0ml,摇匀,迅速精密加入浓硫酸 8.0ml,充分摇匀,放置 5min,于 40℃ 水浴加热 20min,冷却至室温。同时以蒸馏水作空白,在 490nm 处测定吸收度,同时以葡萄糖对照品溶液(5.4546 g/ml)作为随行标准,计算样品中多糖的含量。计算公式如下:

多糖含量(%) =

$$\frac{A_{\text{样}}/A_{\text{标}} \times C_{\text{标}} \times 11 \times 2 \times 100 \times 10^{-6}}{W_{\text{取样量}}} \times 100\%$$

4.5 多糖含量测定

按样品的含量测定方法测定野生与野生抚育猫爪草中的多糖含量结果见表 1

表 1 野生与野生抚育猫爪草多糖含量比较

Table 1 The comparison of polysaccharide content between wild and cultivated *Radix Ranunculus ternatus*

样品来源 Sample source	多糖含量 The content of polysaccharide(%)
野生 Wild sample	14.1
野生抚育 Cultivated sample	10.2
	9.3
	9.7

表 1 结果显示,野生和野生抚育猫爪草中的多糖含量基本一致。

4.6 不同采集期野生抚育猫爪草的多糖含量测定

取不同采集期的野生抚育猫爪草,按样品的含量测定方法测定的结果见表 2 和图 6

表 2 不同采集期野生抚育猫爪草多糖含量比较

Table 2 The polysaccharide content of cultivated *Radix Ranunculus ternatus* in different collection period

采集时间 Collection time (月 Month)	多糖含量 The content of polysaccharide (%)	采集时间 Collection time (月 Month)	多糖含量 The content of polysaccharide (%)
11	12.4	4	10.7
12	13.9	5	9.6
3	11.3	6	9.3

表 2 和图 6 结果显示,11 月、12 月期间采集的野生抚育猫爪草样品的多糖含量较高。

5 氨基酸含量的比较实验

采用氨基酸自动分析仪,按照检测方法 GB/

6 有害物质的测定

取野生抚育猫爪草样品适量,按行业标准^[7]方法,分别测定铅、镉、砷、汞、铜五种重金属元素含量的结果见表4

表4 野生抚育猫爪草中重金属元素测定结果

Table 4 The determination results of heavy metals in cultivated *Radix Ranunculus ternatus*

检测元素 Elements	检测结果 The determination results (mg/kg)	重金属总量 Total content of heavy metals (mg/kg)
铅 Pb	3.61	17.205
镉 Cd	0.072	
汞 Hg	0.013	
铜 Cu	12.86	
砷 As	0.65	

取野生抚育猫爪草样品适量,按行业标准^[7]方法,采用气相色谱法(中国药典2005年版一部附录IV Q有机氯农药残留测定法),分别测定农药六六六(BHC)、滴滴涕(DDT)、五氯硝基苯(PCNB)、艾氏剂(Aldrin)残留量的结果见表5

表5 猫爪草中有机氯农药残留测定结果*

Table 5 The determination results of organochlorine pesticide residues in *Radix ranunculus ternatus*

检测项目 Test items	检测结果 Results (mg/kg)
BHC	未检出 Not detected
DDT	未检出 Not detected
PCNB	未检出 Not detected
Aldrin	未检出 Not detected

* 方法最低检出限:六六六 0.20^μg/kg;滴滴涕 0.32^μg/kg;五氯硝基苯 0.035^μg/kg;艾氏剂 0.036^μg/kg

The lowest detection limit BHC 0.20^μg/kg; DDT 0.32^μg/kg; PCNB 0.035^μg/kg; Aldrin 0.036^μg/kg.

取野生抚育猫爪草样品适量,按行业标准^[7]方法,采用液相色谱法测定黄曲霉毒素 B1的结果为 0.50^μg/kg

上述野生抚育猫爪草有害物质的检测结果,符合

(上接第6页 Continue from page 66)

其回收率和精密度均符合定量分析的要求。从而也说明了该方法能够直接测定总黄酮的含量,不需用硝酸铝显色,且方法操作简便,是测定酸杨桃叶总黄酮含量较佳的方法。

参考文献:

[1] 黄成就,徐朗然.中国植物志:第4卷.[M].北京:科学出版社,1998 4-6.

WM/T 2-2004《药用植物及制剂外经贸绿色行业标准》的规定

7 结论

野生与野生抚育猫爪草的主要成分基本一致。在多糖含量上,野生猫爪草的多糖含量为 14.1%,比野生抚育猫爪草的 10%左右含量略高,野生与野生抚育猫爪草的氨基酸种类基本一致,在含量上略有差异,野生猫爪草的总氨基酸含量为 7.19%,比野生抚育的 9%~10%稍低。野生猫爪草与野生抚育猫爪草基本一致,无明显差异,野生抚育猫爪草有害物质检测符合规定。

致谢:

广西分析测试研究中心代测氨基酸和有害物质,谨此致谢。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会.中国药典.2005年版:一部[S].北京:化学工业出版社,2005:223.
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志:第28卷[M].北京:科学出版社,1979:302.
- [3] 全山丛,郑汉臣.中药猫爪草的商品鉴定及资源调查[J].中国中药杂志,1997,22(7):390-392.
- [4] 杨今祥.抗癌中草药制剂[M].北京:人民卫生出版社,1981:173.
- [5] 李嘉玉,刘道矩,刘济宽,等.中药猫爪草治疗颈淋巴结结核18例的分析[J].天津医药杂志,1964,6(11):958-962.
- [6] 王爱武,田景奎,袁久荣,等.不同产地猫爪草中多糖含量的比较[J].中国中医药信息杂志,2005,12(1):51-52.
- [7] 中华人民共和国商务部.中华人民共和国外经贸行业标准:药用植物及制剂外经贸绿色行业标准 WM/T 2-2004[S].北京:中国标准出版社,2005.

(责任编辑:邓大玉)

- [2] 周燕芳.超声波协同提取杨桃叶中黄酮的工艺研究[J].现代食品科技,2006,22(3):161-162.
- [3] 郑建仙.功能性食品:第2卷[M].北京:中国轻工业出版社,1999:429-434.
- [4] 梁生旺.中药制剂分析[M].北京:中国中医药出版社,2003:131.
- [5] 才让加.化学数据的一元线性回归分析[J].青海师范大学学报,2005,2:14-15.

(责任编辑:邓大玉)