

[文章编号] 1000-2782(1999)06-0108-05

蕁# 中薯蓣皂甙的分离及其对鸡痛风的作用

童德文,耿果霞,赵宝玉,陈正能,刘恩军

(西北农业大学动物科学与动物医学学院,陕西杨陵 712100)

[摘要] 从蕁# 中分离出一种白色针状结晶,经 TLC 和 MP 鉴定为薯蓣皂甙。蕁藜粉经乙醇提取后制成水剂,比色法测定薯蓣皂甙质量浓度为 $4.785\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。将 30 只痛风鸡随机分成 3 组,每组 10 只,第 I 组为对照;第 II 组每日用肾肿清按 $10\text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的比例拌料饲喂;第 III 组每日饮水中添加 52.5 mL 皂甙水剂。每间隔 3 d 颈静脉采血 $3\sim 5\text{ mL}$ /只,分别测定血液尿酸、血清钙、血清磷的含量。结果表明,第 II、III 组血液尿酸含量比第 I 组明显降低,差异显著 ($P < 0.05$);第 II、III 组血清钙和血清磷含量与第 I 组差异不显著 ($P > 0.05$);第 II 组血液尿酸、血清钙和血清磷含量与第 III 组差异不显著 ($P > 0.05$)。第 II 组和第 III 组治愈率分别为 60% 和 80%。

[关键词] 蕁# ;鸡痛风;尿酸;薯蓣皂甙

[中图分类号] S858.313.73² S858.316.5

[文献标识码] A

国内外学者对禽痛风的致病原因、临床症状、病理学变化、发生机理进行了大量研究^[1,2],预防和治疗药物也有报道^[3,4]。但临床上常见的西药,由于作用时间短或毒性问题,应用上受到限制;常见的中药大多为散剂或汤剂,由于搅拌不均或适口性差,也不能取得满意疗效。据国内外资料报道,中药蕁藜含有薯蓣皂甙,具有利尿通淋和明显的抗病毒作用,对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、链球菌具有明显的抑制作用^[5,6]。本研究试图从蕁藜中分离薯蓣皂甙,给痛风鸡饮水,以期能较好地清除异常的尿酸盐沉积,为探索防治禽痛风纯中药制剂提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

蕁藜和肾肿清均购自西北农业大学动物保健品总厂,34 只罗曼商品母鸡,90 日龄,购自武功镇一农户。

1.2 方 法

1.2.1 薯蓣皂甙的提取 称取蕁藜粉 400 g,加 $800\text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙醇回流 3 h,过滤,滤液减压浓缩至干,残留物用石油醚研磨脱脂至无色,用正丁醇处理后过滤,滤液减压蒸去部分正丁醇,加丙酮,静置 24 h,有大量淡棕色沉淀,沉淀物水洗后,用甲醇反复重结晶得到一种白色针状结晶。

1.2.2 薄层层析 (TLC) 和熔点 (MP) 测定 取结晶物,甲醇溶解,点于硅胶 G 和硅胶

[收稿日期] 1999-06-25

[基金项目] 西北农业大学青年基金资助项目

[作者简介] 童德文 (1967-),男,讲师,在读博士

GCM C-Na板,上行法展开,显色,观察斑点颜色,测定 R_f 值 熔点测定采用毛细管法

1.2.3 皂甙水剂制备及薯蓣皂甙含量测定 称取萆薢粉 300 g,800 mL L^{-1} 乙醇回流 3 次,每次 3 h,滤液减压浓缩至干后加入 2 100 mL蒸馏水,充分搅拌均匀,分装,100℃灭菌 20 min,4℃冰箱保存备用。取结晶物(作为标准品)和制备的皂甙水剂烘干物(样品)各 10 mg,加 5 mL甲醇溶解,取标准液 25,50,70,100,125 μ L,样品液 50,75,100 μ L于试管,热风吹干后,分别加 50 g $^{\circ}$ L^{-1} 香兰素冰乙酸 0.2 mL,高氯酸 0.8 mL,混匀后 60℃水浴 15 min,取出冷却后各加冰乙酸 5 mL,摇匀后于 550 nm 波长光下测定吸光度,绘制标准曲线,按公式 $A=V_1m/V_2M\times 100\%$ 计算皂甙水剂中薯蓣皂甙含量,其中 V_1 为样品液体积; V_2 为样品液取样体积; m 为标准曲线上样品液体积对应的薯蓣皂甙质量; M 为 10 mg 皂甙水剂烘干物对应的萆薢粉质量

1.2.4 动物试验 试验前观察 34只罗曼母鸡临床症状 7 d,对其中 4只进行了病理学检查,其余 30只随机分成 3组,每组 10只 第I 组为对照,第II 组每日用肾肿清按 10 g $^{\circ}$ kg^{-1} 的比例拌料饲喂,第III组每日饮水中加入 52.5 mL皂甙水剂。试验前(0 d)和试验后每间隔 3 d 分别从颈静脉采血 3~ 5 mL只,分别测定血液尿酸(磷钨酸比色法)、血清钙(EDTA络合滴定法)、血清磷(磷钼酸比色法)的含量。观察临床症状,并在第 34天扑杀全部鸡,进行病理学检查。

2 结 果

2.1 鉴定结果

TLC结果见表 1,熔点测定为 243~ 245℃.

表 1 TLC方法与结果

薄层板	展 开 剂	显色剂	斑点颜色	R_f 值
硅胶 G板	正丁醇-乙酸乙酯-水(4 $\colon$ 1 $\colon$ 5)	硫酸-甲醇(1 $\colon$ 1)	黑色	0.93
0.5% GCM C-Na 硅胶 G板	氯仿-甲醇-乙酸乙酯-水(7 $\colon$ 3 $\colon$ 1.5 $\colon$ 1)	100 g $^{\circ}$ L^{-1} 磷钨酸乙醇液	灰绿色	0.94
硅胶 G板	氯仿-甲醇-水(65 $\colon$ 15 $\colon$ 10)	100 g $^{\circ}$ kg^{-1} 硫酸	黑色	0.96
硅胶 G板	氯仿-正丁醇-甲醇-水(20 $\colon$ 40 $\colon$ 15 $\colon$ 20)	100 g $^{\circ}$ kg^{-1} 硫酸	黑色	0.97

2.2 薯蓣皂甙含量测定结果

标准品的吸光度分别为 0.056,0.121,0.182,0.247,0.313;样品的吸光度分别为 0.052,0.090,0.126,按标准品的吸光度绘制标准曲线(见图 1) 计算结果,薯蓣皂甙含量为 4.785 7 g $^{\circ}$ L^{-1} .

2.3 动物试验结果

2.3.1 临床症状与病理学变化 试验前全部罗曼母鸡临床表现为食欲不振,消瘦,精神萎顿,羽毛松乱,鸡冠苍白,排白色稀水样粪便。剖检可见肾脏肿大明显,

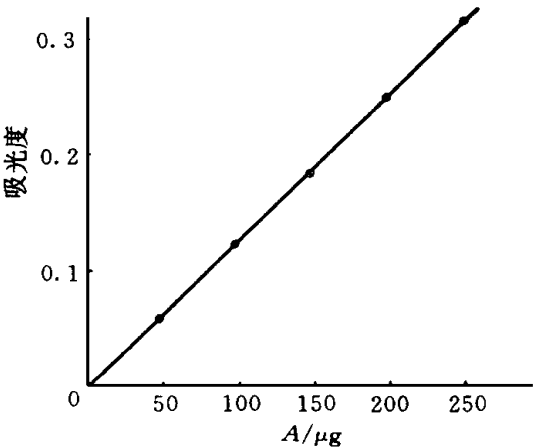


图 1 薯蓣皂甙含量与吸光度标准曲线

颜色变淡,呈花斑样外观,切开后有细小白色颗粒,输尿管肿大变硬,切开后有白色硬颗粒,心、肝、脾、肠浆膜表面有白色粉状颗粒,刮下后用显微镜观察,可见到尿酸盐结晶。病理组织学检查,肾组织间散有较多呈放射状的尿酸盐结晶,其周围聚集多量巨噬细胞和多核巨细胞,肾小管上皮细胞肿胀而使管腔狭窄或闭锁,部分肾小管上皮细胞脱落,间质有成纤维细胞增生。

2.3.2 血液尿酸、血清钙、血清磷测定结果 表 2~4表明,第Ⅱ、Ⅲ组血液尿酸含量与第Ⅰ组差异显著 ($P < 0.05$);第Ⅱ、Ⅲ组血清钙和血清磷含量与第Ⅰ组差异不显著 ($P > 0.05$);第Ⅱ组血液尿酸、血清钙和血清磷含量与第Ⅲ组差异不显著 ($P > 0.05$)。

表 2 血液尿酸测定结果 mg° L⁻¹

采血时间 /d	I 组	Ⅱ 组	Ⅲ组
0	188.7± 13.1	185.4± 16.3 ^b	192.3± 28.3 ^{Ab}
4	185.4± 27.2	141.2± 12.2 ^a	134.5± 5.4 ^{Aa}
8	193.7± 15.3	135.4± 8.9 ^a	106.7± 7.2 ^{Aa}
12	172.2± 21.4	128.5± 7.6 ^a	101.6± 8.3 ^{Aa}
16	154.4± 18.1	105.0± 6.5 ^a	93.0± 11.1 ^{Aa}
20	181.9± 11.2	93.4± 13.7 ^a	80.0± 12.3 ^{Aa}
24	110.3± 8.1	103.0± 5.6 ^a	74.0± 13.7 ^{Aa}
28	123.1± 21.5	81.2± 11.4 ^a	60.0± 18.6 ^{Aa}
32	102.4± 17.4	73.0± 12.2 ^b	70.5± 8.9 ^{Ab}

注: 1) 0 d为用药前,4~32 d均为用药后;2) 表中所列数据均为 $\bar{X} \pm S_x$;3) a表示与对照组相比差异显著 ($P < 0.05$),b表示与对照组相比差异不显著 ($P > 0.05$),A表示Ⅱ组与Ⅲ组差异不显著 ($P > 0.05$),下表同。

表 3 血清钙测定结果 mg° L⁻¹

采血时间 /d	I 组	Ⅱ 组	Ⅲ组
0	107.1± 31.4	110.7± 27.1 ^b	114.2± 25.4 ^{Ab}
4	109.5± 27.5	109.1± 18.3 ^b	105.6± 16.5 ^{Ab}
8	122.5± 18.3	120.0± 8.6 ^b	114.3± 11.2 ^{Ab}
12	138.5± 17.2	115.7± 9.0 ^b	117.5± 13.2 ^{Ab}
16	90.0± 13.2	92.5± 8.6 ^b	81.7± 8.6 ^{Ab}
20	109.1± 12.7	106.7± 11.2 ^b	103.9± 7.6 ^{Ab}
24	101.3± 18.9	95.5± 5.7 ^b	100.0± 5.7 ^{Ab}
28	105.5± 15.6	101.5± 9.1 ^b	106.2± 8.9 ^{Ab}
32	106.1± 8.3	101.5± 5.6 ^b	100.0± 7.1 ^{Ab}

表 4 血清磷测定结果 mg° L⁻¹

采血时间 /d	I 组	Ⅱ 组	Ⅲ组
0	112.4± 9.7	114.8± 9.1 ^b	113.7± 11.2 ^{Ab}
4	116.7± 9.6	115.5± 8.1 ^b	86.2± 8.2 ^{Ab}
8	77.9± 16.7	69.6± 3.2 ^b	59.0± 5.6 ^{Ab}
12	96.3± 12.7	95.0± 5.6 ^b	86.7± 7.2 ^{Ab}
16	75.6± 18.3	72.4± 7.1 ^b	80.4± 3.4 ^{Ab}
20	75.0± 17.2	62.0± 3.2 ^b	60.9± 4.3 ^{Ab}
24	65.1± 15.6	60.0± 3.0 ^b	59.2± 3.5 ^{Ab}
28	64.9± 12.2	64.8± 3.2 ^b	61.7± 3.3 ^{Ab}
32	74.8± 13.1	74.4± 2.8 ^b	65.4± 2.7 ^{Ab}

2.3.3 病理学变化 试验的第 33天,第Ⅱ、Ⅲ组试验前症状消失,第 34天扑杀,剖检未

见明显病变。病理组织学检查,第Ⅱ组有 4只鸡、第Ⅲ组有 2只鸡肾小管上皮细胞轻微肿胀,管腔内偶见少量的尿酸盐结晶,其他组织器官未见明显病变,第Ⅱ、Ⅲ组的治愈率分别为 60%、80%。

3 结论与讨论

本研究从蓼藜中分离出一种白色针状结晶, TLC和熔点测定结果与文献 [7], [8]报道的薯蓣皂甙相一致,初步鉴定结晶即为薯蓣皂甙。用试管比色法测定制备的皂甙水剂中,薯蓣皂甙的含量为 $4.7857\text{ g}^{\circ}\text{ L}^{-1}$ 。

动物试验结果表明,第Ⅱ、Ⅲ组血液尿酸的含量与第Ⅰ组差异显著 ($P < 0.05$),说明肾肿清和薯蓣皂甙均能有效地清除尿酸。血清钙和血清磷的含量,第Ⅱ、Ⅲ组与第Ⅰ组差异不显著 ($P > 0.05$),表明肾肿清和薯蓣皂甙对血清钙和血清磷影响不大,这与牟其云等^[9]的报道相一致。通过临床症状、病理学变化检查结果,第Ⅱ、Ⅲ组的治愈率分别为 60%、80%。表明薯蓣皂甙的治疗效果略优于肾肿清。

鸡痛风发生的原发性损伤部位及病变最严重的器官是肾脏^[1~4]。本试验结果表明,薯蓣皂甙能清除尿酸,加速尿酸排泄,促进肾功能恢复,治疗痛风。但在使用皂甙饮水剂治疗痛风时,还应该配合使用一些消炎、抗菌药物,加速肾脏功能恢复。有关皂甙水剂的协同用药还有待于进一步研究。

[参考文献]

[1] 程金科,范国雄.禽痛风研究进展[J].中国兽医科技,1989,15(6): 43~ 45.
[2] Wideman R J. Urolithiasis: emerging problem requiring attention (chickens) [J]. Poultry Digest, 1983, 42(9): 458 ~ 459.
[3] 曹光荣,张万海,李绍君,等.四种治疗禽痛风药物对鸡尿酸清除率的影响[J].中国兽医科技,1995,25(12): 33~ 34.
[4] 刘振军,丁 静,宋恒元,等.鸡尿酸盐沉着症[J].辽宁畜牧兽医,1998,28(2): 40~ 41.
[5] 中国医学科学院药物研究所.药物志(第一册)[M].北京:中国科技出版社,1979. 294~ 298.
[6] Hitchings G H. Antagonists of nucleic acid derivatives and medicinal agents [J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 1992, 32 : 1~ 6.
[7] 唐世蓉,吴余芬,庞自洁.盾叶薯蓣甙体皂甙的分离鉴定[J].植物学报,1983,25(6): 556~ 557.
[8] 黄伟光.滇产植物甙体皂甙元的含量及鉴定[J].植物学报,1979,21(2): 171~ 175.
[9] 牟其云,王建文,史效华.蛋鸡痛风的血清学病因分析[J].中国家禽,1998,20(3): 21~ 22.

Isolation of the dioscin from rhizoma dioscoreae colletii and it's effect on gout

TONG De-wen, GEN Guo-xia, ZHAO Bao-yu, CHEN Zheng-neng, LIU En-jun

(College of Animal Science and Veterinary Medicine, Northwestern
Agricultural University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract Dioscin, a white needle crystal isolated from Rhizoma Dioscoreae colletii,

was identified by TLC and M P. The powder of Rhizoma Dioscoreae colletii was extracted with 800 mL/L ethanol to prepare water agent of dioscin with the content of dioscin being $4.7857 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. 30 chicks were divided into 3 groups randomly, 10 chicks in each group. Group I was control, Group II was fed with forage containing 1 percent Shenzhongqing each day and Group III added 52.5 mL prepared water agent in drink water each day. Blood samples ($3 \sim 5 \text{ mL/chick}$) were collected from jugular vein with an interval of 3 days. The contents of uric acid, serum calcium and phosphorus were determined. The results revealed that the contents of uric acid in groups II and III were significantly lower than Group I ($P < 0.05$), but there was no significant difference between groups II and III ($P > 0.05$). The contents of serum calcium and phosphorus were noticed in Group II. There was no significant difference among three groups ($P > 0.05$). The cure rates of group II and III were 60 percent and 80 percent, respectively.

Key words rhizoma dioscoreae colletii; chicken gout; uric acid; dioscin