的,而不同的 SDS含量将会使蛋白质在电泳中产生不同的泳动度。

6.9 IFE中两性电解质的加入是为了在电泳支持物上产生“平滑”的 pH梯度,实践证明,只有在“平滑”的 pH梯度的胶柱上,才能获得分辨率理想的 IFE谱带。实际应用中,为简化操作和节省价格昂贵的两性电解质用量,同时满足“平滑” pH梯度形成的需要,可在 pH= 3.5~ 10的两性电解质中加入占载体总量 10% 的 pH= 5~ 7的两性电解质。此外,IFE中将样品液混入凝胶液中的加样方法既可简化操作,加大点样量,同时依据 IFE技术特点,还可避免样品在胶柱中单独占据的一段 pH梯度,从而扩大电泳分离范围,提高分辨率并缩短电泳时间。另一方面,由图 1可知: 正品蛇与伪品蛇的 IFE谱带尽管它们的主带数目相同,但它们的 IFE弱带正品蛇多于伪品蛇,且正品蛇的几个主带宽度几乎均大于伪品蛇的宽度,说明这些主带的 PI值是不同的。图 3是将胶条按 0.5米 /段切割而得到的 pH-胶柱长度的关系曲线。实际应用中欲作更精密的测定,胶条在电泳结束后可作染色、脱色处理,同时胶段应切割得更小并采用袖珍型 pH计测定各胶段浸泡液的 pH值。

参 考 文 献

1 袁晓华,等编著 . 植物生理生化实验 . 北京: 高等教育出版社, 1983. 36, 50
2 陈振江,等 . 中成药, 1996, 18(5): 42
3 徐康森,等 . 药物分析杂志, 1982, 2(4): 193
4 陈振江,等 . 中成药, 1998, 20(12): 31

(1999-07-16收稿)

# 榧子蛋白高效毛细管电泳法鉴别

第一军医大学南方医院 (广州 510515) 陈振德* 陈志良 侯连兵 许重远 郑汉臣**

摘 要 对国产榧属植物种子进行蛋白电泳鉴别。采用高效毛细管电泳法对榧属植物种子蛋白进行分析。榧属植物种子蛋白高效毛细管电泳谱图有明显的种间差异。高效毛细管电泳可作为中药榧子的鉴别方法。

关键词 榧子 高效毛细管电泳 生药鉴别

## Identification of Proteins from the Kernel of Torreya (*Torreya* Arn.) Nut by HPCE

Nanfang Hospital, the First Military Medical University (Guangzhou 510515) Chen Zhende, Chen Zhiliang, Hou Lianbing, Xu Chongyuan and Zheng Hanchen

**Abstract** To identify the proteins obtained from different species of *Torreya* Arn. nuts by HPCE, in order to distinguish their various origins. Results showed that the electrophorograms did show some differences which could be used for the pharmacognostic identification of *Torreya* Arn.

**Key words** *Torreya* Arn. nut HPCE pharmacognostic identification

红豆杉科榧属植物 *Torreya* Arn. 全世界有 8种和 8个栽培品种,我国有 5种, 8个栽培品种及 1个引进栽培种[1,2]。该属植物种子均富含优质脂肪油,可供食用或工业用[1~3]。其中,榧子始载于《神农本草经》,历版《中国药典》均收载,具有杀虫、消积、润肠、通便之功效。经笔者调查发现,云南榧子、巴山榧子等在产地也作为榧子应用,而《中国药典》对榧子只有性状描述,没有较理想的鉴定方法。我们拟以中药材细胞中普遍存在的、受遗传基因控制的蛋白分子为指标,用高效毛细管电泳 (HPCE)法来探索鉴别中药榧子的可行性。

## 1 材料与方法

1.1 材料: 榧子 *Torreya grandis*, 香榧子 *T. grandis* cv. *merrillii* 于 1996年 9月 27日采自浙江诸暨,采集人陈振德;九龙山榧子 *T. jiulongshanensis* 于 1997年 9月 28日采自浙江遂昌,采集人傅秋华;长叶榧子 *T. jackii* 于 1997年 9月 24日采自浙江仙

* Address: Chen Zhende, Nanfang Hospital of the First Military Medical University, Guangzhou
陈振德 男,博士、副教授、副主任药师、硕士生导师。1984年大学毕业, 1998年博士毕业。曾从事叶绿素主要降解产物紫红素 18-二氢卟吩 $p_6$及其衍生物的制备与肿瘤光生物活性和保肝作用的研究,此成果正在申请两项发明专利。攻读博士学位期间主要从事中国榧属植物资源、化学和药理的研究。发表论文 20余篇,参编 2部专著,已申请发明专利 1项,《大蒜除臭新工艺》获军队科技进步二等奖。《中国榧属植物资源、化学成分和药理活性的研究》获 2000年度国家自然科学基金资助,批准号: 39970893《中药复方防治术后腹膜粘连的新药研究》获 2000年度国家新药研究基金资助,批准号: 96-901-05-245 现主要从事中药材鉴定、资源及天然药物化学等方面的研究工作。
** 第二军医大学药学院

居,采集人朱志明;巴山榧子 *T. fargesii* 于 1997年 9月 25日采自湖北神农架,采集人石世贵;云南榧子 *T. yunnanensis* 于 1996年 9月 28日采自云南洱源,采集人寸润林;日本榧子 *T. nucifera* 于 1997年 9月 26日采自上海,采集人陈振德;并经作者鉴定,标本存放于第二军医大学药学院生药学教研室。

1.2 仪器与试剂 美国 BIO-RAD 公司 BioFocus™ 3000型 Capillary Ion Analyzer,配有紫外扫描检测器。熔融石英毛细管 75μm× 60 cm(河北永年光纤厂)。所用试剂均为分析纯。

1.3 电泳条件:电解缓冲液为 150 mmol/L硼酸盐溶液(pH 8.5);电压为 20 kV;温度 20℃;紫外检测波长 200 nm;重力进样,时间 5 s。开机后先用 0.1 mol/L氢氧化钠冲洗毛细管 2 min,再用去离子水冲洗 5 min,然后用缓冲液冲洗至基线平稳后开始进样。每两次进样之间设定缓冲液冲洗 2 min。

1.4 样品溶液的配制:取生药样品 0.5 g,加入蛋白提取液 5 mL,在冰浴中研磨成匀浆状,转移至离心管内,以 5 000 r/min离心 20 min,取上清液备用。Tris-甘氨酸蛋白提取液:Tris 0.6 g,甘氨酸 2.88 g,加蒸馏水溶解至 1 000 mL。碱性蛋白提取液:Tris-HCl 0.1 mol/L,0.1% 抗坏血酸,巯基乙醇 10 mmol/L,pH 8.0。酸性蛋白提取液:柠檬酸 80 mmol/L,$Na_2HPO_4$ 32 mmol/L,抗坏血酸 5 mmol/L,巯基乙醇 10 mmol/L,pH 2.8。

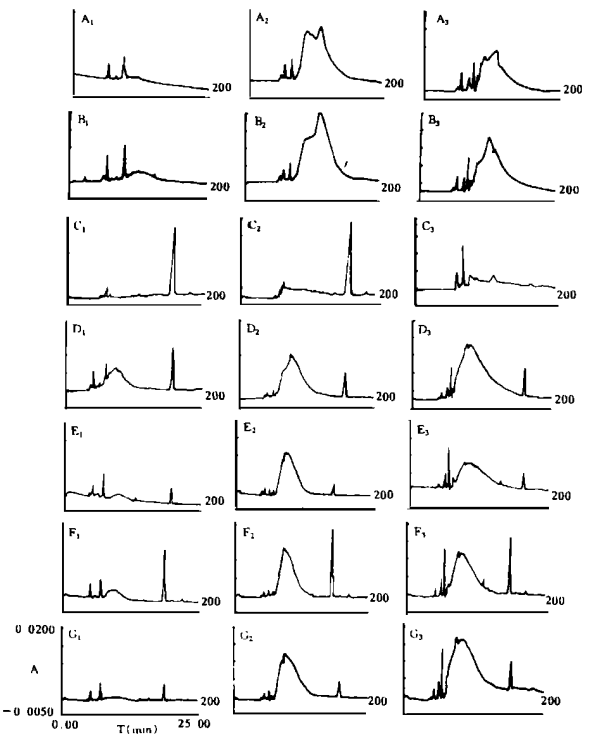
## 2 结果

2.1 在酸性提取液中,7种榧子在 4.0~ 10.0 min区间都有相似的两个吸收峰;在 18.0~ 20.0 min区间九龙山榧子、长叶榧子、日本榧子、巴山榧子和云南榧子都有 1个吸收峰,而榧子和香榧子无此吸收峰。

2.2 在中性提取液中,7种榧子在 4.0~ 15.0 min区间都有较相似的两个吸收峰;在 15.0~ 20.0 min区间九龙山榧子、长叶榧子、日本榧子、巴山榧子和云南榧子都有 1个吸收峰,而榧子和香榧子无此吸收峰。

2.3 在碱中性提取液中,九龙山榧子主要在 7.61~ 8.54 min处有两个吸收峰,榧子与香榧子在 18.00 min前有相似的吸收峰,但榧子在 18.66 min处有一吸收峰,而香榧子在 23.65 min处有一吸收峰;长叶榧子、日本榧子、巴山榧子和云南榧子在 14.00 min前有相似的吸收峰,但长叶榧子在 20.07 min有一吸收峰,日本榧子在 16.35 min和 20.47 min处各有一个吸收峰,巴山榧子在 14.40 min和 18.55 min处各有一个吸收峰,而云南榧子只在 19.04 min处有一吸收峰。

综合 3种提取液所检测的图谱,7种榧子有一些相似的特征峰,又有各自之间的差别,容易加以区别,详见表 1和图 1,特别是中药榧子与同属其它种子有较大差异。可见,HPCE可作为中药榧子的鉴别方法。




A-榧子 B-香榧子 C-九龙山榧子 D-长叶榧子
E-日本榧子 F-巴山榧子 G-云南榧子
1-酸性提取物 2-中性提取物 3-碱性提取物

图 1 榧属植物种子蛋白 HPCE图谱

表 1 榧属植物种子蛋白电泳图谱中各峰的迁移时间(min)

| 名 称 | 酸性提取液 | 中性提取液 | 碱性提取液 |
|---|---|---|---|
| 榧子 | 5.28, 7.38, 19.37 | 5.12, 5.68, 6.86, 7.50~ 14.00 | 5.35, 5.96, 7.43, 8.25, 8.60, 8.70~ 18.00, 18.66 |
| 香榧子 | 5.10, 5.60, 7.00 | 5.04, 5.58, 6.71, 7.10~ 15.00 | 5.10, 5.58, 6.83, 7.81~ 18.00, 23.65 |
| 九龙山榧子 | 7.13, 7.33, 19.55, 22.24 | 5.50, 7.23, 7.62, 7.97, 20.05 | 7.61, 8.54, 23.17 |
| 长叶榧子 | 5.27, 7.46, 19.73 | 5.28, 6.29, 7.10~ 14.80, 19.70 | 5.36, 6.51, 7.05, 7.39, 7.45~ 18.00, 20.07 |
| 日本榧子 | 5.38, 7.24, 7.33, 19.71 | 5.25, 6.14, 7.00, 7.10~ 13.80, 18.20 | 5.80, 6.57, 7.10, 7.20~ 14.00, 16.35, 20.47 |
| 巴山榧子 | 5.24, 7.12, 18.70 | 5.32, 6.20, 7.08, 7.00~ 15.00, 18.25 | 5.34, 6.34, 6.84, 7.60~ 14.00, 14.40, 18.55 |
| 云南榧子 | 5.35, 7.23, 18.77 | 4.79, 5.47, 6.42, 7.00~ 13.80, 19.87 | 5.14, 6.45, 6.9, 7.50~ 14.00, 19.04 |

**3** 讨论

3.1 HPCE是近年来迅速发展起来的一种重要分离技术,已在多肽、蛋白质、核酸、手性化合物等生物活性物质的分离分析方面显示了极为广阔的前景[4]。1997年胡平等报道提取菟丝子种子植物蛋白用 HPCE法进行生药鉴定,结果表明不同种间成分和含量上存在明显差异,认为根据种子植物蛋白的电泳图谱,可有效地鉴别菟丝子的来源[5]。1998年张朝晖等报道对 12种海马、海龙类药材采用 HPCE进行鉴别,结果表明种间区别较明显,认为该法速度快,分辨力强、重现性好[6]。

3.2 榧子与同属其它种子的 HPCE图谱有明显的差异,可有效地加以区别。因此,HPCE可作为中药榧子的鉴别方法之一。

参 考 文 献

1 中科院中国植物志编辑委员会 . 中国植物志 (第七卷 ). 北京: 科学出版社, 1978 456
2 陈振德,等 . 国外医药· 植物药分册, 1996, 11(4): 150
3 云南省植物研究所 . 云南经济植物 . 昆明: 云南人民出版社, 1974 77
4 胡 平,等 . 药学学报, 1997, 32(7): 549
5 李红旗,等 . 生物工程进展, 1995, 15(6): 40
6 张朝晖,等 . 中国中药杂志, 1998, 23(5): 259

(1999-05-19收稿
1999-10-15修回 )

# 盐碱地麻黄种植试验研究初报△

甘肃省治沙研究所 (武威 733000) 杨自辉* 王继和 胡明贵 刘虎俊 边克俭

摘 要 在盐碱地上进行麻黄种植试验, 0~ 30 cm土壤全盐量 1.2%时,麻黄生长良好,全盐量 1.6%以上时生长受抑制。中度盐碱地种植麻黄是可行的。

关键词 盐碱地 麻黄 种植

## Experiments on the Cultivation of Chinese Ephedra (*Ephedra sinica*) on Saline-Alkaline Soil

Institute for the Desert Control in Gansu Province (Wuwei 733000) Yang Zihui, Wang Jihe, Hu Minggui, Liu Hujun and Bian Kejian

**Abstract** Experimental cultivation of *Ephedra sinica* Stapf on saline-alkaline soil was attempted to relieve the ever decreasing supply of this natural herbal drug. The ground was turned over and washed for several years until the salt content decreased from 2% to≤ 1.2%. Furrows with a depth of 1~ 2 cm were ploughed and diammonium hydrogen phosphate fertilizer applied. It was covered with a layer of 0.5~ 1 cm sand after sowing with repeated watering. Results showed that *E. sinica* can grow better on a soil layer of 0-30 cm with≤ 1.2% salt content, but less satisfactory when the salt content exceed 1.6%. It could be concluded that *E. sinica* may be cultivated successfully on saline-alkaline soil with medium salt content.

**Key words** saline-alkaline soil *Ephedra sinica* Stapf cultivation

麻黄 *Ephedra sinica*是经济价值很高的药用植物,在广大的干旱沙区均有栽培,盐渍化沙地种植麻黄还未见有报道。麻黄在盐碱地的栽培与麻黄的抗干旱、耐瘠薄的特性有其共同的地方,因此,我们在临泽小泉子盐碱地进行了麻黄栽培试验研究。

**1** 试验区现状

试验区位于河西走廊中部临泽小泉子盐渍化沙地,属冲积洪积扇缘的潜水溢出带,土壤为灰棕漠土,盐化普遍,土壤全盐量 0~ 120 cm的深度为 30%~ 0.1%,主要盐分组成类型为 $SO_4^{2-}$、$Cl^-$、$Ca^{2+}$、$Na^+$[1]。地下水位 1~ 2 m,常处在地下水临界深度线上,故土壤盐分年动态变化规律是: 4月中旬盐分上升,5月有一个小的回落,夏季盐分下沉,在 8月达到最小,全年盐分 10月达到最大。

该区主要的植物有盐爪爪 *Kalidium foliarum*、猪毛菜 *Salsola ikonnikovii*、芦苇 *Phragmites communis*、赖草 *Leymus secalinus*等,属盐生植物和草甸植物类型。

试验区经过多年的淡水洗盐、排盐和翻晒改良,土壤含盐量有所下降,从 1994年的 2%下降到 1997

* Address: Yang Zihui, Gansu Institute of Desert Control, Wuwei
△"九· 五"国家重点科技攻关项目 (96-017-01-03)的部分内容