

三七及其混淆品蛋白多肽高效毛细管电泳法鉴别

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

摘要 目的:对三七及其混淆品进行蛋白多肽电泳鉴别。方法:采用高效毛细管电泳法对三七及其混淆品蛋白多肽进行分析。结果:三七及其混淆品蛋白多肽高效毛细管电泳谱图有明显的差异。结论:高效毛细管电泳可作为中药三七的生药鉴别方法。

关键词 三七 高效毛细管电泳 生药鉴别

Identification of Proteins from *Panax pseudo-ginseng* var. *notoginseng* and Its Confusable Varieties by HPCE

Nanfang Hospital, First Military Medical University (Guangzhou 510515) Hou Lianbing, Chen Zhende, Chen Zhiliang, Xu Chongyuan and Yang Xixiao

Abstract *Panax pseudo-ginseng* Wall. var. *notoginseng* (Burkill) Hoo et Tseng and its easily confusable varieties were distinguished by analysing their proteins with high-performance capillary electrophoresis (HPCE). Result of the analysis showed that their protein electrophotograms were obviously different and could be used for the pharmacognostic identification of *P. pseudo-ginseng* Wall. var. *notoginseng*.

Key words *Panax pseudo-ginseng* Wall. var. *notoginseng* (Burkill) Hoo et Tseng HPCE pharmacognostic identification

中药三七始载于《本草纲目》,为五加科 *Araliaceae* 植物 *Panax pseudo-ginseng* Wall. var. *notoginseng* (Burkill) Hoo et Tseng 人参三七的根,历版《中华人民共和国药典》均有收载。本品具有散瘀止血、消肿定痛之功效,用于咯血、便血、崩漏、外伤出血、胸腹刺痛、跌打肿痛等症。三七在止血与抗凝血、心血管系统、中枢神经系统、抗氧化与抗衰老、脂、糖、蛋白质与核酸代谢、抗炎、免疫系统、护肝利胆等方面具有广泛的药理作用^[1];也是云南白药等多种著名中成药处方中的主要药材之一。

三七为贵重中药,故民间出现以三七命名的药材种类繁多,如菊科的菊叶三七 *Gynura segetum* Merr., 景天科的景天三七 *Sedum aizoon* L., 五加科的竹节三七 *Panax japonicum* C. A. Mey. 等近 20 种^[2,3]。赵学敏的《本草纲目拾遗》就收载有 16 种,可见其混乱由来已久。三七多以药材外观、显微切片、粉末、理化等方法鉴别,操作繁杂,专属性不强。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多肽分子为指标,用近年来迅速发展新型分离分析技术高效毛细管电泳法来探索和论证

从分子水平鉴别三七的可行性。

1 材料与方 法

1.1 材料:三七购自广东省药材公司,菊叶三七采自江西九江,并经作者鉴定。

1.2 仪器与试剂:美国 BIO-RAD 公司 BioFocus™ 3 000 型 Capillary Ion Analyzer,配有紫外扫描检测器。熔融石英毛细管 75 μm × 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

* Address: Hou Lianbing, Nanfang Hospital, First Military Medical University, Guangzhou

侯连兵 男,1957年6月出生,药学硕士,副教授,副主任药师,硕士生导师。现任第一军医大学临床药理研究所副所长,南方医院药学部副主任。近年主要从事天然药物研究与开发以及中药药理学研究。主持研究 2000 年国家科技重点攻关项目 1 项,广东省重点科技攻关 2 项,获国家、二类新药证书 2 个,国家、军队科技进步奖 7 次。主编、副主编专著 7 部。发表各类研究论文 83 篇。

10 mmol/L, pH 8.0 酸性蛋白提取液: 柠檬酸 80 mmol/L, Na₂HPO₄ 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,三七在 5.21, 8.80和 9.17 min 处各有一吸收峰,而菊叶三七只在 11.08 min 处有一吸收峰。

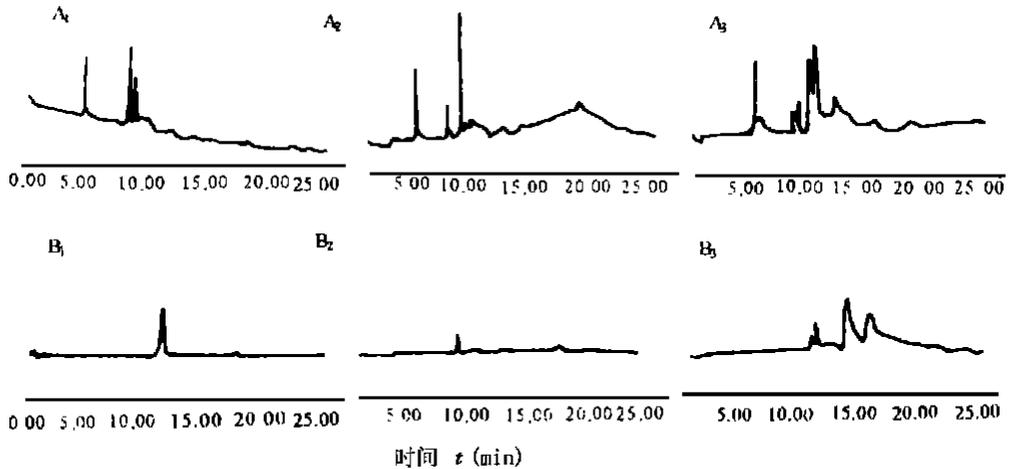
2.2 在中性提取液中,三七在 5.11, 7.72和 8.68 min 处各有一吸收峰,而菊叶三七只在 9.00 min 处

有一吸收峰

2.3 在碱性提取液中,三七在 5.53, 8.75, 8.97, 9.96, 10.33和 11.99 min 处各有一吸收峰,而菊叶三七在 10.41, 10.74, 13.40和 15.28 min 处各有一吸收峰

综合 3种提取液所检测的图谱,可以看出三七及其混淆品的 HPCE谱图存在显著差异,容易加以区别(见图 1),可作为中药三七的鉴别方法。

3 讨论



A-三七 B菊叶三七 1-酸性提取液 2-中性提取液 3-碱性提取液

图 1 三七和菊叶三七蛋白多肽 HPCE谱图

3.1 HPCE已用于多肽、蛋白质、核酸、手性化合物等生物活性物质的分离分析^[4]。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,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]。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 从我们应用 HPCE对三七及菊叶三七蛋白多肽检测结果看,三七及其混淆品在 3种提取液中的

HPCE吸收峰有明显的差异,本实验结果可供三七及其混淆品的鉴别作参考。

参考文献

- 1 梅全喜,毕焕新主编. 现代中药药理手册. 北京: 中国中医药出版社, 1998: 446
- 2 阎文玫主编. 中药材真伪鉴定. 北京: 人民卫生出版社, 1994: 16
- 3 沈保安主编. 中药鉴定现代研究. 北京: 中国中医药出版社, 1998: 73
- 4 李红旗,沈忠耀. 生物工程进展, 1995, 15(6): 40
- 5 胡平,罗国安,王如骥,等. 药学学报, 1997, 32(7): 549
- 6 张朝晖,范国荣,徐国钧,等. 中国中药杂志, 1998, 23(5): 25

(1999-08-10收稿)

不同产地猫豆中左旋多巴的含量比较

广西医科大学一附院药剂科(南宁 530027) 蒋伟哲* 周燕文 吴 闯
贺州人民医院药剂科 李 晓 云

摘 要 目的: 考察广西各产地猫豆的品质。方法: 采用紫外分光光度法测定猫豆中的左旋多巴含量。结果: 广西各产区猫豆品质不同,石山产区品质较好。结论: 石山地区适合发展猫豆产业。

* Address: Jiang Weizhe, First Affiliated Hospital, Guangxi University of Medical Sciences, Nanning

蒋伟哲 1991年毕业于武汉同济医科大学药学院,学士学位,现任主管药师,主要从事老年痴呆的中草药治疗研究及相关产品开发,承担多项省级自然科学基金课题研究。其中羟基喜树碱半合成生产工艺研究课题获科技进步一等奖。