

塞隆骨和虎骨的蛋白与氨基酸含量分析

张晓峰 魏立新 张宝琛

(中国科学院西北高原生物研究所, 西宁, 810001)

摘 要

本文测定了塞隆骨与虎骨的蛋白及胶原蛋白含量, 并测定其氨基酸的种类及含量。塞隆骨蛋白的含量为 36.1%, 胶原蛋白含量为 14.8%; 虎骨的蛋白含量为 29.7%, 胶原蛋白的含量为 21.6%, 并对其氨基酸的含量进行了对比分析。结果表明, 塞隆骨与虎骨的蛋白及胶原蛋白含量和氨基酸的种类、含量差别不大, 性质相似。

关键词: 塞隆骨; 虎骨; 骨蛋白; 胶原蛋白; 氨基酸

塞隆 (*Myospalax baileyi*) 骨为仓鼠科动物高原鼯鼠的干燥全骨架。塞隆骨有与虎骨相似的性味及功能 (叶宝林等, 1998)。虎骨已有逾千年的人药历史, 经历代用药经验积累, 组方繁多, 疗效肯定, 利用虎骨入药生产的中成药使用相当广泛, 近年来对于虎骨代用品的开发研究甚多 (王铮, 1975)。选择塞隆骨开展代虎骨研究是由于塞隆骨具备了中药材基本属性, 即它的性味、功能、中药归经与虎骨几乎完全一致的特点; 同时, 塞隆骨资源丰富, 立足国内, 又是我国特产的中药材, 又有了前期国家一类新药开发的研究基础。因此, 虎骨代用品首选塞隆骨做为对象, 研究其代用的可能性已有很好的基础。氨基酸是蛋白质的重要组成部分, 而蛋白质是生命科学中一类重要的生物大分子, 在生理、生化和医学等方面都有十分重要的意义。蛋白质、胶原蛋白、氨基酸的种类和化学成分是动物骨中的成分重要组成部分, 也是虎骨代用品研究的一个重要环节和依据。因此本文着重测定分析了塞隆骨与虎骨的蛋白质、胶原蛋白、氨基酸的种类和化学成分。

实 验 部 分

(1) 实验材料 1994 年秋在青海门源县采高原鼯鼠 2000 只, 经煮死刮净皮肉得塞隆 (高原鼯鼠 *Myospalax baileyi*) 骨的干燥全骨架。

虎 (*Panthera tigris altaica*) 骨干燥全骨架, 1994 年购自西宁人民公园。

* 国家“八五”科技攻关资助项目。

本文于 1998 年 2 月 16 日收到。

(2) 骨蛋白材料制备 塞隆骨与虎骨全骨粉碎过 64 孔筛, 50℃通风干燥 3 天, 称重各 1000g 备用。

(3) 测定方法 蛋白质及胶原蛋白的测定塞隆骨与虎骨的 A 和 B 部位蛋白及其胶原蛋白的含量测定参见中华人民共和国药典半微量氮测定法和中药药理实验方法学 (中华人民共和国药典, 1990; 李仪奎等, 1991), 蛋白含量按含氮量 17% 计算, 胶原蛋白含量以含羟脯氨酸 13.4% 计算。

氨基酸的测定 样品用 6 摩尔/升盐酸在恒温 110℃下水解 24 小时, 在 Sep-pak C18 柱上纯化处理后, 在 Water-AAA 氨基酸分析仪上进行氨基酸成分和含量分析。

分析条件 色谱柱为阳离子交换树脂柱 (4×300), 柱压 22.38~26.11 兆帕; 洗脱 A 液为 0.65 摩尔/升柠檬酸钠溶液 (pH 3.08), B 液为 0.25 摩尔/升硝酸钠溶液 (pH 9.80); 柱后反应液 A 液为 0.0001% 的次氯酸钠, B 液为 0.07% 邻苯二甲醛溶液, A、B 液均含硼酸钾; 流速 0.5 毫升/分, 反应温度 65℃; 荧光检测器激发波长 338 纳米, 发射波长 425 纳米。

试剂 所用试剂均为分析纯; 氨基酸标准样品为日本进口的混合试剂, 氨基酸标准样品的浓度为 0.25 微摩尔。

结果与讨论

塞隆骨与虎骨的蛋白及其胶原蛋白和氨基酸含量见表 1、表 2。

表 1 塞隆骨与虎骨的蛋白及其胶原蛋白含量 (%)

Table 1 Contents of protein and collagen in bone of Sailong and tiger

样 品 Samples	总氮 (%) Total N	蛋白质 (%) Protein	羟脯氨酸 (%) Hydroxyproline	胶原蛋白 (%) Collagen
Mb. bone	5.78	36.1	1.98	14.8
Pt. bone	4.75	29.7	2.90	21.6

Note: *Myospalax baileyi*—Mb., *Panthera tigris altaica*—Pt.

骨的胶原蛋白是骨中主要有机物组分, 是结缔组织中特有的一种蛋白质, 可以被胃蛋白酶—盐酸缓慢地消化, 在温度高于 40℃或先经胃酶作用之后的也可被胰蛋白酶消化。塞隆骨蛋白含量高于虎骨的蛋白含量, 但塞隆骨胶原蛋白含量却低于虎骨的胶原蛋白 (表 1)。二者总氮量、蛋白质、羟脯氨酸和胶原蛋白的含量虽有不同, 但所含蛋白组成种类基本相同。

测定结果表明, 塞隆骨和虎骨中分别检测出 16 种相同的游离氨基酸, 水解后再测定发现二者都增加 1 种蛋氨酸, 而氨基酸各种类也分别增加 1 倍。

表 2 塞隆骨与虎骨的氨基酸含量 (%)

Table 2 Contents of amino acids in bone of Sailong and tiger (%)

项 目 Item	塞隆骨 *	虎骨 *	塞隆骨	虎骨
	Sailong bone *	Tiger bone *	Sailong bone	Tiger bone
天门冬氨酸 Asp	0.914	0.932	2.82'	1.89
苏氨酸 Thr	0.480	0.646	1.30	0.883
丝氨酸 Ser	1.22	1.00	2.22	1.37
谷氨酸 Glu	1.31	1.36	6.95	2.92
脯氨酸 Pro	1.37	1.39	1.46	1.30
甘氨酸 Gly	1.29	0.877	3.52	2.46
丙氨酸 Ala	2.45	1.65	4.58	2.17
胱氨酸 Cys				
缬氨酸 Val	0.660	0.861	1.15	1.35
蛋氨酸 Met			0.506	0.503
异亮氨酸 Ile	0.441	0.649	0.690	1.04
亮氨酸 Leu	0.860	1.213	1.31	2.49
酪氨酸 Tyr	0.879	0.774	1.60	1.53
苯丙氨酸 Phe	0.351	0.529	0.810	1.83
组氨酸 His	0.691	0.493	0.385	1.28
赖氨酸 Lys	1.34	0.607	2.60	0.998
精氨酸 Arg	0.728	1.29	0.877	1.29
总量 T, A, A	15.01	13.11	32.78	25.04

注：“*”表示游离氨基酸 Note: star shows free amino acids

参 考 文 献

- 中华人民共和国药典, 1990, 半微量氮测定法, 45页, 人民卫生出版社.
 王铮, 1975, 虎骨及其代用品的探讨, 陕西新医药, 2: 51~54.
 叶宝林、郭鹏举, 1998, 青藏药用动物, 338页, 陕西科学出版社.
 李仪奎, 1991, 中药药理实验方法学, 结缔组织中胶原蛋白的含量及热收缩测定法, 215~216, 人民卫生出版社.

ANALYSIS ON PROTEINS AND AMINO ACIDS OF BONE OF SAILONG AND TIGER

Zhang Xiaofeng Wei Lixin Zhang Baochen

(Northwest Plateau Institute of Biology, The Chinese Academy of Sciences,
Xining, 810001)

Abstract

The contents of protein and collagen in the bone of Sailong and tiger were determined, of which amino acids component were analyzed. The content of protein and collagen in Sailong's bone were 36.1% and 14.8%, and in tiger's bone were 29.7% and 21.6%. There were no obvious different of the amino acids of two bones.

Key words: Bone of Sailong; Bone of Tiger; Proteins; Collagen; Amino acids