

# 利用Nested PCR-DNA定序方法鑑定酸棗仁藥材及其製劑

李蕙君 謝詠筌 呂康祖 劉宜祝 施養志 羅吉方

食品藥物管理局研究檢驗組

## 摘要

酸棗仁基原為鼠李科(Rhamnaceae)植物酸棗[Z*iziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chou]之乾燥成熟種子，常與外觀相似的滇棗仁(*Ziziphus mauritiana* Lam.)發生混用情形，本研究分析酸棗仁及滇棗仁ITS (Internal transcribed spacer)序列，建立酸棗仁藥材PCR-DNA定序方法、酸棗仁製劑Nested PCR-DNA定序方法，及Multiplex PCR快速篩選鑑別方法。結果顯示，50件藥材檢體中有24件檢出滇棗仁之DNA序列，其中4件未檢出酸棗仁序列，其餘20件為兩者混用；17件製劑檢體中則有11件混用滇棗仁。

**關鍵詞：**酸棗仁、Nested PCR-DNA定序、Multiplex PCR

## 前言

依據「中華中藥典」<sup>(1)</sup>記載，酸棗仁(*Ziziphi Spinosa* Semen)基原為鼠李科(Rhamnaceae)植物酸棗*Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chou之乾燥成熟種子。酸棗仁主要產於中國河北、陝西與遼寧，秋末冬初採收成熟果實，收集種子並曬乾。種子扁圓形或扁橢圓形，表面紫紅色或紫褐色，平滑而有光澤，平坦面有隆起縱線紋，種皮硬脆，常有破碎或裂紋。味甘酸，性平，入心、脾、肝、膽經，最早載於「神農本草經」，有養肝、寧心、安神及斂汗功效，故常用於治療虛煩不眠、驚悸怔忡及煩渴虛汗等<sup>(2)</sup>。現代醫學研究則顯示，酸棗仁萃取物或所含特定成分具有鎮靜安眠<sup>(3-6)</sup>、保護神經細胞之損傷<sup>(7)</sup>、抗焦慮作用<sup>(8,9)</sup>、免疫調控功能<sup>(10)</sup>等藥理作用。

鼠李科棗屬下植物約有170種<sup>(11)</sup>，由於商業性大量栽培，其栽培品系亦多。依據大陸近年抽樣調查結果，約有50%酸棗仁市售品混有誤用品滇棗仁(*Ziziphus mauritiana* Lam.)。滇棗仁種子扁圓近桃形，表面棕黃色且平坦面無縱線紋，然而外

形與酸棗仁不易區分，故欲建立分子生物鑑別方法以確保酸棗仁藥材之正確性。

## 材料及方法

### 一、檢體收集

自本局標本室取得酸棗仁及滇棗仁對照藥材各1件，中藥廠及北中南各地中藥房收購市售酸棗仁藥材共50件；另選含酸棗仁之方劑11種(包括單方1種及複方10種)，共取得17件檢體。

### 二、DNA萃取與純化

依照本局發表之萃取方法<sup>(12)</sup>，將藥材磨碎、製劑檢體之丸劑切碎而膠囊劑製劑倒出膠囊內容物，秤取檢體100 mg加入1 mL之lysis buffer (含100 mM三羥甲基氨基甲烷(Tris-HCl, BDH), pH 8.0、100 mM乙二胺四乙酸二鈉(EDTA, BDH)、1%十二烷基肌氨酸鈉(N-lauroyl sarcosine sodium salt, Sigma)及1 mg/mL蛋白酶K 56°C水浴1小時。加入1 mL苯酚-氯仿-異戊醇混合液(phenol : chloroform : isoamyl alcohol = 25 : 24 : 1, Amresco)混合，以12000 xg 離心5分鐘後取水層，加入150  $\mu$ L 65°C