依靠 ATP 能量代谢表明, 泡番荔枝辛辅助治疗和其他抗癌的治疗将有利于抑制多药抗药性细胞的发展, 从而得以治愈。

泡番荔枝辛的药理和生物活性, 给我们提供了一个治疗多药抗药性肿瘤细胞的一个很好的前景。然而, 由于含量低, 工业化生产并非易事。而且, 由于存在手性中心, 更多的工作是要除去空间异构体, 从而增加生产的难度。如何有效且经济的提取泡番荔枝辛依然是一个摆在化学家面前的一个挑战。

参考文献:

[1] Jolad S D, Hoffmann J J, Schram K H, *et al.* Uvaricin, a new antitumor agent from *Uvaria accuminata* (Annonaceae) [J]. *J Org Chem*, 1982, 47(3): 351-353.

[2] 符立梧, 潘启超, 梁永钜. 一种新番荔枝内酯单体 atemoy-acin-B 克服肿瘤多药抗药性[J]. *Acta Pharmaceutical Sinica*, 1999, 20(5): 435-439.

[3] 吴萍, 陈文森, 俞千, 等. 阿蒂莫耶根番荔枝内酯的研究

[J]. *有机化学*, 1999, 19: 46-52.

[4] Thomas R Hoye, Lushi Tan. Total synthesis of potent anti-tumor, bis-tetrahydrofuranly annonaceous acetogenins (+)-asimicin and (+)-Bullatacin[J]. *Tetrahedron Letters*, 1995, 36(12): 1981-1984.

[5] Mclughlin, Jerry L. Chemotherapeutically active acetogenins [P]. United States Patent: 5229419, 1993-07-20.

[6] Ahammadsahib K I, Hollingworth R M. Mode of action of bullatacin: a potent antitumor and pesticidal annonaceous acetogenin [J]. *Life Science*, 1993, 53: 1113-1120.

[7] 符立梧, 潘启超, 陈文林. 阿蒂莫耶根番荔枝内酯体外抗肿瘤作用[J]. *癌症*, 1997, 16(6): 409-410.

[8] Hui Y H, Rupprecht J K, Liu Y M. Bullatacin and bullatacinone: two highly potent bioactive acetogenins from *annona bullata* [J]. *J Nat Prod*, 1989, 52(3): 463-477.

[9] 符立梧, 潘启超, 梁永钜. 一种新番荔枝内酯单体 atemoy-acin-B 克服肿瘤多药抗药性[J]. *Acta Pharmaceutical Sinica*, 1999, 20(5): 435-439.

金钱白花蛇真伪鉴别研究综述

黄成勇

(广西柳州市药品检验所, 广西 柳州 545001)

摘要: 概述了近十余年来金钱白花蛇及其伪品的鉴别研究情况, 介绍了从传统到现代化的各种鉴别方法, 对一些鉴别内容及方法提出了进一步完善的想法。

关键词: 金钱白花蛇; 伪品; 鉴别

中图分类号: R282.740.3 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)04-0382-03

Survey of studies on identification of *Bungarus multicinctus multicinctus*

HUANG Cheng-yong

(Liuzhou Institute for Drug Control, Liuzhou Guangxi 545001, China)

Key words: *Bungarus multicinctus multicinctus* Blyth; adulterant; identification

金钱白花蛇为眼镜蛇科动物银环蛇 *Bungarus multicinctus multicinctus* Blyth 除去内脏的幼蛇干燥体^[1]。具有祛风、通络、止痉功能。由于金钱白花蛇价格较昂贵, 加之用药量的增加, 故而市场上其伪品及混淆品屡有所见。常见的伪品有同科动物金环蛇 *B. fasciatus* (Schneider)、游蛇科动物赤链蛇 *Dinodon rufozonatum* (Cantor)、黄链蛇 *D. flavozonatum* Pope、水赤链游蛇 *Natrix annularis* (Hallowell)、黑背白环蛇 *Lycodon ruhstrati* (Fischer)、双全白环蛇 *L. fasciatus* (Anderson)、百花锦蛇 *Elaphe moellendorffi* (Boettger)、铅色水蛇 *Enhydrys plumbea* Boie、中国水蛇 *E. chinensis* (Gray)、横纹后棱蛇 *Opisthotropis balteata* (Cope)、海蛇科动物青灰海蛇 *Hudrop his caerulea* (Shaw) 等 11 种或以具有横纹的蛇纵向割成数条后配以其它蛇头制成的

伪品及以其它幼蛇经白色油漆、退色药水涂制成的伪品^[2-6]。本文综述采用性状鉴别、鳞片鉴别、显微鉴别、理化鉴别、生物学技术鉴别等手段, 对金钱白花蛇进行真伪鉴别研究的情况。

1 性状鉴别

适用于鉴别蛇体完整者。根据蛇头部、盘径、蛇头与蛇体连接情况、白色环纹数、环纹宽度、蛇尾、脊棱、背鳞、毒牙有无等差异进行鉴别, 如党江川等^[2-5]鉴别了金钱白花蛇及其以上 11 种伪品, 并列有性状鉴别比较表, 可根据特征加以区别真伪。

张昌禧等^[7]提出了专属性较强、简易快捷的鉴别要领: 游蛇科动物无毒牙, 有颊鳞, 尾下鳞双行, 上唇鳞在 8 片以上, 无六角形脊鳞; 青灰海蛇黑色与黄白环纹相间, 深色部分

* 收稿日期: 2000-08-30

较浅色部分窄;金环蛇虽有毒牙,尾下鳞单行,但其体表的横斑为黄色,且与黑色环纹等宽,尾末端钝圆,尾下鳞为29~39片,明显少于金钱白花蛇。

对于伪制品,孙秀梅等^[6,8]报道:(1)如见到白色环纹明显不规则或形态呆板,超过2片鳞宽且有部分脱落,有的鳞片平滑,具光泽,则鉴别为其它幼蛇涂上了白色环纹的伪品。(2)用水将检品泡软,除去支撑的竹签,将蛇体展开观察,若见蛇头与蛇尾分开,蛇体两端有明显截断的痕迹,则可判断其为金钱白花蛇的伪制品。

另有一种掺伪品是将已煎煮过的金钱白花蛇掺入商品中,陆维承^[9]描述其特征为:圆盘较松,全体皆被药汁染成黄棕色,腹部及白色环纹处尤为明显,鳞片大多脱落,唯腹部尚存少许,因受热后,鳞片卷曲不平,质地坚脆,易断。以上鉴别特征较明显,可区别。

2 显微鉴别

适用于鉴别破碎状、粉末状及相关中成药样品,弥补了性状鉴别的不足。

2.1 粉末:利用粉末中角质鳞片、皮肤碎片、横纹肌纤维、骨碎片等显微特征进行鉴别。如翟延君等^[10]鉴别了金钱白花蛇及其伪品水赤链游蛇、赤链蛇、金环蛇,并列有粉末特征表,检索表及附图。

2.2 鳞片

2.2.1 光学显微镜显微:取背鳞用水装片,制表面片,观察外表面,根据背鳞形状、颜色、大小、纹理、脊鳞有无、圆孔数、游离端、网纹区、细纵条纹区、波纹区的差异进行鉴别。如翟延君等^[11-13]鉴别了金钱白花蛇及其伪品金环蛇、百花锦蛇、赤链蛇、水赤链游蛇,并列有检索表、显微特征比较表及其附图。

2.2.2 扫描电子显微镜显微:取背鳞经常规清洗、脱水、脱脂后,喷镀铂,制成标本,扫描电镜观察其表面结构、纹理,如何报作等^[12,13]鉴别了金钱白花蛇及其它来源品种金环蛇、百花锦蛇、蕲蛇。并列有检索表及扫描电镜图。

3 理化鉴别

蛇类药材主要含蛋白质、氨基酸类化学成分,但其所含成分有异同,故可据此区别真伪。

3.1 薄层层析:利用色谱斑点的差异进行鉴别。如李钦等^[14]用此法鉴别了金钱白花蛇及伪品水赤链游蛇,层析图谱显示两者有明显差异,可依此鉴别出伪品。平忠明^[15]用薄层层析法对金钱白花蛇、乌梢蛇、蕲蛇的脂溶性成分和水溶性成分分别进行了薄层层析,可作为鉴别金钱白花蛇的参考依据。

3.2 纸层析:利用纸层析不同的色谱斑点进行鉴别。如翟延君等^[11,14]鉴别了金钱白花蛇与伪品水赤链游蛇、赤链蛇、金环蛇。从图谱可知,金钱白花蛇与伪品的色谱斑点有明显差异,可用作区别真伪的依据。

3.3 紫外吸收光谱:根据紫外吸收光谱的差异进行鉴别。如翟延君等^[11,14]鉴别了金钱白花蛇及其伪品赤链蛇、水赤链游蛇、金环蛇,结果4种蛇石油醚浸液的紫外吸收曲线最大收

峰的波长、数目均不同,具有一定的鉴别意义。

采用薄层层析、纸层析和紫外吸收光谱法鉴别金钱白花蛇的药材方法简单,重现性好,可以补充形态、显微鉴别之不足,并为中成药中的金钱白花蛇鉴别提供参考。

4 生物学技术鉴别

4.1 蛋白粘度:蛋白质是动物机体内的一类高聚化合物,具有对流动的阻抗能力(即粘度)。不同种动物体内因蛋白质的组成及含量的不同,其蛋白粘度也有一定差异,可根据这种差异进行鉴别。刘训红等^[16]采用此法测定了金钱白花蛇等7种蛇类药材的蛋白粘度,结果表明实验误差 $RSD < 1.5\%$,7种蛇类药材的蛋白粘度有显著差异($P < 0.01$),其中包括金钱白花蛇与其成体(银环蛇)的蛋白粘度差异,可作为破碎状及中成药中的金钱白花蛇真伪鉴别方法之一。

4.2 聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)技术:根据PAGE谱带的位置和数目进行品种鉴别。如陈振江等^[17]用该技术鉴别了金钱白花蛇及其伪品水赤链游蛇、黄链蛇,并附有电泳图谱。图谱显示:金钱白花蛇及其伪品有显著差异,可作为鉴别依据。值得一提的是:刘训红等^[18]用此法做了7种蛇类的电泳分析,其中金钱白花蛇与其成体(银环蛇)的电泳谱带有一定差异:金钱白花蛇比银环蛇多了4条二级带、2条三级带。这可能是由于幼蛇长成成蛇后,其机体内蛋白质组成比例发生了一些变化,有的蛋白质含量降低而显示不出明显谱带,这也许从另一方面说明成蛇不能作金钱白花蛇药用,与我国传统用药习惯是相符的。

4.3 SDS-PAGE技术:SDS-PAGE技术是PAGE技术的改进。十二烷基硫酸钠(SDS)是阴离子型表面活性剂,它能按一定比例与蛋白质分子结合成带负电荷的复合物,再与PAGE技术结合,则谱带差异更加明显、清晰,并可测定蛋白质分子量。陈振江等^[17,19]用此技术鉴别了金钱白花蛇与其伪品水赤链游蛇。清晰的电泳图谱辅以特征性常数——相对分子质量,使金钱白花蛇的真伪鉴别更为理想、直观。

4.4 等电聚焦电泳(IFE)技术:用IFE测定其主要蛋白质成分的等电点,根据等电点的差异进行鉴别。陈振江等^[17]用此法鉴别了金钱白花蛇与其伪品水赤链游蛇。结果显示:正品与伪品的主要蛋白质的等电点明显不同,可作为鉴别依据之一。等电点的另一检测方法是采用一系列不同的缓冲液进行测定。刘训红等^[20]采用此法测定了金钱白花蛇等7种蛇类药材的等电点。实验表明,等电点数据准确可靠,重现性好($RSD < 0.5\%$),7种蛇类药材的等电点区别明显($P < 0.01$),其中包括金钱白花蛇与其成体(银环蛇)等电点的差异,可作为鉴别金钱白花蛇的参考依据。

4.5 聚合酶链反应(PCR)技术:PCR是一项快速体外基因扩增技术,在此基础上,王义权等^[21]首次成功地研究设计了一对高度特异性的金钱白花蛇鉴别引物——BuL-1和BuH-1,使所有的金钱白花蛇样品或含有金钱白花蛇的样品都能显著地扩增出DNA片断,而其他非金钱白花蛇样品均无扩增产物出现,这样便可以高度特异地鉴别被测物,且操作过程简单、快速。应用此技术鉴别了金钱白花蛇与伪品赤链蛇、

水赤链游蛇、百花锦蛇、金环蛇。

蛇类药材富含蛋白质,而蛋白质受遗传基因 DNA 的控制,信息含量较高。PCR 是在遗传信息的载体—DNA 水平上研究不同生物种类间的差异,用于金钱白花蛇的鉴别中,当引入一对高度特异性引物时,可百分之百检出金钱白花蛇,误检率和漏检率为零。无疑具有其独到的优越性。

5 小结

5.1 人们对金钱白花蛇的鉴别研究,已从传统的性状鉴别发展到鳞片鉴别、显微鉴别、理化鉴别、生物学技术鉴别。尤其是用 PCR 方法鉴别蛇类品种,准确性高,重现性好,与性状、显微、理化鉴别相比,具有无法比拟的优越性,也是鉴别金钱白花蛇真伪的最先进的技术手段之一。PCR 存在的不足之处是:由于生物体内的遗传信息不随生物发育的不同阶段而变化,同一个体的成、幼体阶段和同一个体的不同器官具有同样的遗传信息,因此 PCR 鉴别不能区别出个体的发育阶段和器官组织的种类,可结合性状鉴别等手段加以识别。

5.2 黄泽崧等^[22,23]曾详细研究了银环蛇的骨骼形态及组织特征,但其幼体即金钱白花蛇的骨骼特征是否与成体一致?有待于进一步考证。

5.3 姜大成等^[24]运用红外光谱对 16 组 54 种包括银环蛇在内的动物药材进行了鉴别研究,报道了银环蛇在 1 220 ~ 1 000 cm^{-1} 处有 3 个弱峰,但其幼蛇(金钱白花蛇)的红外光谱研究未见报道,两者是否相同?还需在这方面作进一步的研究、考证。

5.4 《中药鉴定学》^[25]中“金钱白花蛇”显微鉴别项下描述其背鳞有鳞棱、端窝等特征,而翟延君等^[11~13]通过对金钱白花蛇背鳞外表进行大量的显微观察研究,未发现其有鳞棱、端窝。希望能尽快核实。

5.5 根据目前使用的 2000 年版《中华人民共和国药典》收录的金钱白花蛇项下,其鉴别方法仅性状一种,建议再版时适当增加一些显微、理化鉴别,以提高鉴别的准确性。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 2000 版. 一部.
- [2] 党江川,刘志红. 金钱白花蛇及其几种伪品的鉴别[J]. 中草药, 1999, 30(10): 783-784.

- [3] 姚家祥,黄洁敏. 伪劣金钱白花蛇的鉴定[J]. 中药通报, 1985, 10(3): 16-17.
- [4] 何永澄. 六种伪品金钱白花蛇鉴别[J]. 四川中医, 1992, 10(5): 52.
- [5] 朱志峰,张淑英. 金钱白花蛇及其伪品的鉴别[J]. 陕西中医, 1992, 13(4): 185.
- [6] 张继庆. 金钱白花蛇伪品来源分析及防范措施[J]. 中国药房, 1994, 5(6): 46-47.
- [7] 张昌禧,滕青. 金钱白花蛇的鉴别要领[J]. 中药材, 1991, 14(6): 25-26.
- [8] 孙秀梅,高燕. 浅谈金钱白花蛇的真伪鉴别[J]. 山西中医, 1993, 9(5): 41-42.
- [9] 陆维承. 注意金钱白花蛇中掺伪煎煮品[J]. 中药材, 1995, 18(8): 419.
- [10] 翟延君,康廷国,冯夏红,等. 金钱白花蛇及其混淆品的粉末鉴别[J]. 中国中药杂志, 1998, 23(2): 71-73.
- [11] 翟延君,康廷国,冯夏红,等. 金钱白花蛇及其混淆品的鉴别[J]. 中国中药杂志, 1994, 19(3): 135-138.
- [12] 何报作,陈若泽. 中药白花蛇背部鳞片显微研究[J]. 中药材, 1992, 15(12): 20-23.
- [13] 王春根,张永萍,吴德康,等. 9 种药用蛇背鳞的显微研究[J]. 中药通报, 1987, 12(9): 8-11.
- [14] 李钦,张保国,方明月,等. 金钱白花蛇与其混淆品水赤链游蛇的鉴别[J]. 中国药学杂志, 1996, 31(3): 137-139.
- [15] 平忠旺. 乌梢蛇、蕲蛇、金钱白花蛇的薄层鉴别[J]. 中药材, 1987, (1): 31-32.
- [16] 刘训红,李俊松,王春根,等. 7 种蛇类药材蛋白质粘度的鉴别[J]. 中国中药杂志, 1993, 18(3): 136-137.
- [17] 陈振江,陈科力,王曦,等. 金钱白花蛇可溶性蛋白凝胶电泳图谱的研究[J]. 中草药, 2000, 31(5): 374-377.
- [18] 刘训红,王春根,王夏阳,等. 七种蛇类药材的理化鉴别研究[J]. 中国中药杂志, 1991, 16(7): 395-397.
- [19] 陈振江,李其兰,陈科力,等. SDS—PAGE 鉴别金钱白花蛇及其混伪品[J]. 中药材, 2000, 23(12): 471-472.
- [20] 刘训红,曹洪生,王春根,等. 7 种蛇类药材的等电点鉴别研究[J]. 中国中药杂志, 1992, 17(6): 329-330.
- [21] 王义权,周开亚,徐洛珊,等. 金钱白花蛇及其伪品的 Cyt b 基因片段序列分析和 PCR 鉴别研究[J]. 药科学报, 1998, 33(12): 941-947.
- [22] 黄泽崧,李振荣,赵丁,等. 八种药用去皮蛇类骨骼组织鉴别[J]. 中药材, 1989, 12(8): 14-16.
- [23] 黄泽崧,李振荣. 40 种蛇类动物骨骼的鉴别[J]. 中国中药杂志, 1992, 17(8): 457-459.
- [24] 姜大成,张洁,邓明鲁. 16 组 54 种动物药材的红外光谱鉴别研究[J]. 中草药, 1999, 30(2): 137-140.
- [25] 任仁安,陈瑞华,李家实,等. 中药鉴定学[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1986.

美国 ALPHA 实验室认可

美中国际合作中国企业

葡萄籽提取物

(原花青素 95%)

专业生产厂家

电话: 0086-022-26721040; 26723305; 26737125

传真: 0086-022-26721041

网址: <http://www.jf-natural.com.cn>

Tianjin Jianfeng Natural Product R & D Co., Ltd

天津尖峰天然产物公司

天津北辰科技园科园路