

kg), 对照组小鼠注射生理盐水。实验组小鼠存活都超过了 21 d, 而对照组小鼠没有存活超过 21 d 的(平均存活时间 10.5 d)。在肺组织实变程度及被感染小鼠肺组织病毒值方面, 实验组也明显低于对照组。但是在体外实验中甘草酸并没有显示出任何影响 A2 型流感病毒活性或复制的活性。过继性转移甘草酸给药小鼠脾的 T 细胞至其他暴露在流感病毒小鼠, 并与接种未致敏 T 细胞或甘草酸给药小鼠脾 B 细胞、巨噬细胞的小鼠对比, 在实验期间通过过继性转移的 T 细胞小鼠的存活率为 100%, 而对照组存活率为 0。并且, 甘草酸抗流感病毒活性在给予抗 γ 干扰素单克隆抗体小鼠时并没有体现。这意味着其抗流感病毒的活性是通过刺激 T 细胞产生 γ 干扰素实现的。

Crance 等^[21]研究了体外干扰素、利巴韦林、6-氮尿苷和甘草酸等化合物对致病的虫媒病毒的抗病活性。甘草酸在较高浓度(未达到有细胞毒性)可以抑制虫媒病毒的复制。

4 展望

甘草酸有抗病毒活性强、对正常细胞的毒性低以及对潜伏期病毒有杀伤性作用等诸多优良特性, 其作为抗病毒药物有着良好的前景。但其抗病毒机制复杂, 同时还存在着脂溶性低、口服生物利用度低等方面的缺点。长期使用甘草酸容易引起低血钾、腹泻、肾上腺皮质激素样不良反应。进一步阐明甘草酸的抗病毒作用机制, 以便更好地增强其生物活性、减轻其不良反应, 让其更好地发挥作用, 都是值得今后深入研究的问题。

References:

- [1] Takeda S, Ishihara K, Wakui Y, et al. Bioavailability study of glycyrrhizic acid after oral administration of glycyrrhizin in rats; relevance to the intestinal bacterial hydrolysis [J]. *J Pharm Pharmacol*, 1996, 48(9): 902.
- [2] Van Rossum T G, Vulto A G, De Man R A, et al. Review article: glycyrrhizin as a potential treatment for chronic hepatitis C [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 1998, 12(2): 199.
- [3] Van-Rossum T G, De-Jong F H, Hop W C, et al. Pseudo-aldosteronism induced by intravenous glycyrrhizin treatment of chronic hepatitis C patients [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2001, 16(7): 789.
- [4] Pompei R, Flore O, Marcialis M A, et al. Glycyrrhizic acid inhibits virus growth and inactivates virus particles [J]. *Nature*, 1979, 281(5733): 689-690.
- [5] Il'ina T V, Fediuk N V, Bachinskii A G, et al. Deter-

- mination of glycyrrhizic acid binding sites by a phage display method [J]. *Mol Biol (Mosk)*, 2003, 37(5): 861-867.
- [6] Romero M R, Efferth T, Serrano M A, et al. Effect of artemisinin/artesunate as inhibitors of hepatitis B virus production in an "in vitro" replicative system [J]. *Antivir Res*, 2005, 68(2): 75-83.
- [7] Sato H, Goto W, Yamamura J, et al. Therapeutic basis of glycyrrhizin on chronic hepatitis B [J]. *Antivir Res*, 1996, 30(2-3): 171-177.
- [8] Arase Y, Ikeda K, Murashima N, et al. The long term efficacy of glycyrrhizin in chronic hepatitis C patients [J]. *Cancer*, 1997, 79(8): 1494-1500.
- [9] Sekizawa T, Yanagi K, Itoyama Y. Glycyrrhizin increases survival of mice with herpes simplex encephalitis [J]. *Acta Virol*, 2001, 45(1): 51-54.
- [10] Lampi G, Deidda D, Pinza M, et al. Enhancement of anti-herpetic activity of glycyrrhizic acid by physiological proteins [J]. *Antivir Chem Chemother*, 2001, 12(2): 125-131.
- [11] Lin J C. Mechanism of action of glycyrrhizic acid in inhibition of Epstein-Barr virus replication in vitro [J]. *Antivir Res*, 2003, 59(1): 41-47.
- [12] Klass C M, Offermann M K. Targeting human herpesvirus-8 for treatment of Kaposi's sarcoma and primary effusion lymphoma [J]. *Curr Opin Oncol*, 2005, 17(5): 447-455.
- [13] Curreli F, Friedman-Kien A E, Flore O. Glycyrrhizic acid alters Kaposi sarcoma-associated herpesvirus latency, triggering p53-mediated apoptosis in transformed B lymphocytes [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(3): 642-652.
- [14] Cohen J I. Licking latency with licorice [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(3): 591-593.
- [15] Sasaki H, Takei M, Kobayashi M, et al. Effect of glycyrrhizin, an active component of licorice roots, on HIV replication in cultures of peripheral blood mononuclear cells from HIV-seropositive patients [J]. *Pathobiology*, 2002-2003, 70(4): 229-236.
- [16] Takei M, Kobayashi M, Li X D, et al. Glycyrrhizin inhibits R5 HIV replication in peripheral blood monocytes treated with 1-methyladenosine [J]. *Pathobiology*, 2005, 72(3): 117-123.
- [17] Chen F, Chan K H, Jiang Y, et al. In vitro susceptibility of 10 clinical isolates of SARS coronavirus to selected antiviral compounds [J]. *J Clin Virol*, 2004, 31(1): 69-75.
- [18] Clinat J, Morgenstern B, Bauer G, et al. Glycyrrhizin, an active component of licorice roots, and replication of SARS-associated coronavirus [J]. *Lancet*, 2003, 361(9374): 2045-2046.
- [19] Hoever G, Baltina L, Michaelis M, et al. Antiviral activity of glycyrrhizic acid derivatives against SARS-coronavirus [J]. *J Med Chem*, 2005, 48(4): 1256-1259.
- [20] Utsunomiya T, Kobayashi M, Pollard R B, et al. Glycyrrhizin, an active component of licorice roots, reduces morbidity and mortality of mice infected with lethal doses of influenza virus [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1997, 41(3): 551-556.
- [21] Crance J M, Scaramozzino N, Jouan A, et al. Interferon, ribavirin, 6-azauridine and glycyrrhizin: antiviral compounds active against pathogenic flaviviruses [J]. *Antivir Res*, 2003, 58(1): 73-79.

药品标准中薄层鉴别方法存在的问题商榷

张 萍, 肖新月, 张南平, 林瑞超

(中国药品生物制品检定所, 北京 100050)

薄层色谱法系将适宜的固定相涂布于玻璃板、塑料或铝基片上, 成均匀薄层。待点样、展开后, 与适宜的对照物按同法所得的色谱图作对比, 用以进行药品的鉴别、杂质检查

或定量的方法。薄层色谱分离一般是根据几种分离原理, 应用最多的是吸附和分配原理, 也有离子交换和凝胶渗透原理。薄层色谱作为一种常用的分析方法由来已久, 尽管进行

定量时的误差比高效液相色谱法、气相色谱法等分析方法误差大,但对中药材及中成药鉴别来讲,它具有操作简便、方法快捷、灵敏度高、用样较少、适用于复杂成分的分离及应用范围广等优点,是其他方法无可比拟的。影响薄层色谱分离效果的因素有薄层板的选择、制备及预处理、展开剂的选择和配制、样品溶液的预处理和制备、点样量、展开方式、显色以及检视条件等。在《中国药典》2005 年版一部中有 1 000 余种中药材及中成药采用了该方法进行定性及定量测定,这些都是各位专家学者辛勤劳动的结晶。然而在执行药品标准操作过程中发现,有些中药材品种的检验方法存在缺陷或不足,有很多需要补充完善的地方。

1 样品预处理方法

由于中药材成分复杂,常常由于成分之间的相互干扰而难以得到满意的分离效果,因此,样品的预处理过程是极其必要和重要的。以南板蓝根 *Strobilanthes cusia* 药材为例,在标化南板蓝根药材时,采用部颁标准《中药成方制剂》第五册“复方南板蓝根冲剂”鉴别(3)项下方法,其提取方法为药材粉末用水煎煮 30 min,放冷滤过,滤液用乙醚萃取,乙醚液浓缩至约 1 mL,得到南板蓝根对照药材溶液。同法处理待标化的南板蓝根药材,得到供试药材溶液。按照薄层色谱法,以石油醚-苯-丙酮(9.5:0.5:4)为展开剂展开,喷以 20% 磷钼酸乙醇试液,在 105℃ 加热 10 min,得到色谱图(图 1-A)。由图中可以看出,薄层条件适宜,但主斑点颜色浅,且前沿和原点附近斑点色深,认为主要问题出现在提取方法上;又经查阅文献南板蓝根中含有萜醌类成分^[1],该方法亦是针对该类成分来鉴别的,因而改用氯仿直接超声处理提取药材粉末,再以相同条件展开和显色,得到的色谱图(图 1-B)可见斑点颜色清晰且深,说明原提取方法存在缺陷,损失较多,其他非鉴别成分也较多,建议对原方法进行改进。又如,熟地黄药材,在《中国药典》2005 年版中,其样品预处理方法为用乙醇浸泡 24 h,滤过,滤液作为供试品溶液;另取 5-羟甲基糠醛对照品适量,加乙醇制成对照品溶液,该品种项下的薄层色谱方法试验,在药材相应的位置没有检出与对照品色谱一致的斑点,可见该方法并未将药材中的该斑点成分提取出来。因而笔者对其提取方法进行了改进:取本品粉末加盐酸溶液,振摇后放置过夜,加氯仿回流 8 h,放冷,分取氯仿层,以无水硫酸钠脱水,回收氯仿至约 1 mL,作为供试药材溶液;再以相同的以谱条件展开薄层板,得到的色谱图较好,见图 2。又以灯台叶药材为例,采用《国家药监局标准(试行)》WS-10280(ZD-0280)-2002“灯台叶片”鉴别(3)项下方法试验。取灯台叶药材样品,加水加热回流 1 h,滤过,滤液蒸干,残渣加 5% 稀乙醇溶液 5 mL 溶解,放置分层,取上清液制成供试品溶液。所用展开剂为醋酸乙酯-丙酮-乙醇-醋酸-水(1:1:8:1:0.5),改良碘化铋钾试液显色,日光下检视,看不到橙红色斑点。在此基础上,查阅文献,得知灯台叶中主要含有鸭脚树叶碱、狄他树皮米定、狄他树皮碱、氯化狄他碱等生物碱成分^[1]。针对这一类生物碱成分作了方法的改进,即残渣加 5% 稀乙醇约 15 mL,充分溶解,挥干乙醇后,水溶

液加氨水调 pH 9~10,用氯仿萃取 2 次,每次 10 mL,氯仿液挥至 1 mL,作为供试品溶液,相同条件展开、显色,得到的图谱橙红色斑点明显且清晰可见。

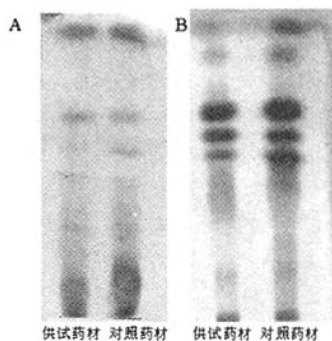


图 1 南板蓝根原方法(A)与改进方法(B)的薄层色谱

Fig. 1 TLC of *S. cusia* by original method (A)

and improved method (B)

2 不同药用部位

以独一味药材为例,根据《药材标准品种大全》记载,独一味在《部颁藏药》《甘肃省中药材标准》1995 年版以及《藏药标准》等均采用干燥全草入药,而在《四川省中药材标准》1979、1987 年版中均采用干燥根及根茎入药。在现行《中国药典》2005 年版一部中记载独一味药材的药用部位为干燥全草。为此,笔者考察了独一味药材干燥根及根茎和干燥全草两部分在薄层色谱图上的差异,见图 3。由图可见,全草与根及根茎的薄层差别明显,不可互相替换,因此,在使用独一味药材时,需注意是根及根茎入药还是全草入药,以免引起混淆。又以苦木为例,《中国药典》2005 年版收载苦木药材为苦木科植物苦木 *Picrasma quassioides* Benn. 干燥枝及叶,枝直径为 0.5~2 cm,而实际上药材市场现流通的多为较粗的树干,直径达 10~20 cm,几乎没有药典规定的细枝和叶作为药用,为此笔者做了两部分药用部位的比较,以此发现能否互相代替使用。按照《中国药典》2005 年版一部“苦木”鉴别(2)项下方法试验,得到的图谱见图 4,由图中可见,细枝中所含生物碱较粗枝少,二者不可混用,《中国药典》中苦木药材用细枝及叶入药用值得进一步考察。

3 检视条件

在《中国药典》2005 年版“七味铁屑丸”鉴别(5)项下,采用甘青青兰作对照药材,其检视条件为 10% 硫酸乙醇显色之后,日光下检视,得到的色谱图不理想;改用紫外 365 nm 波长检视,得到的色谱图清晰可见不同颜色的斑点,建议《中国药典》修订其检视条件。

4 展开剂系统

以生物碱类为例,常用的展开剂系统为氯仿-甲醇-氨水系列,笔者发现若采用氯仿-丙酮系列展开,同时用氨水饱和层析缸,展开效果会更好。如八角枫药材按《部颁标准》第 12 册“风湿定片”鉴别(2)项下方法试验,以氯仿-甲醇-浓氨试液(90:10:1)为展开剂,碘化铋钾显色,得到的色谱图有边缘效应,改用氯仿-丙酮(8:4)展开,氨蒸气饱和色谱缸,得



图 2 熟地黄

改进的 TLC

Fig. 2 TLC of
Radix Rehmanniae
Preparata by im-
proved method

到的色谱图,没有边缘效应。

5 贮存条件

以阿魏药材为例,《中国药典》2005 年版收载的阿魏药材为树脂入药,该药材在长时间贮存时(5 年左右),极易吸潮软化,结成黏稠的团块状,且蒜样特异气味不强烈亦不持久,进行薄层试验时,发现吸潮的阿魏药材在薄层板上没有与阿魏酸对照品相应的斑步,见图 5-A。同时又取样干燥的阿魏药材(未吸潮软化的硬块状干燥品),该药材有持久的蒜样特异气味,且贮存时间很短,同时进行 TLC 试验,得到的色谱图见图 5-B,色谱图显示该药材有与阿魏酸对应的斑点。提示在贮存某些药材时,应尽量密闭、防潮,以防有效成分的丢失。此类药材还有如猪胆粉、羊胆粉等在贮存时也应密闭、防潮。另外对于含有挥发性成分的药材,如荆芥、薄荷、乳香、没药、香薷等,由其所含挥发性成分及易挥发或转化,因



图 3 独一味

药材 TLC 图

Fig. 3 TLC of
Herba Lamiophlomis



图 4 苦木

TLC 图

Fig. 4 TLC
of *Ramulus et*
Folium Picrae

此在贮存过程中,应注意密闭、避光,同时建议对该类药材实行稳定性考察,进而实行有效期管理。

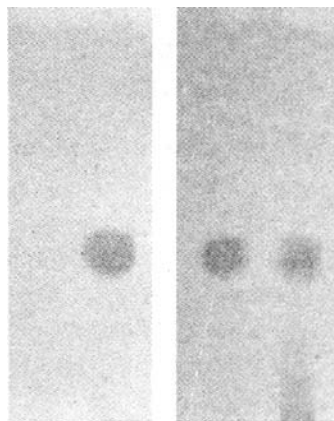


图 5 吸潮(A)与未吸潮(B)阿魏药材的 TLC

Fig. 5 TLC of hygroscopic *Resina Ferulae* (A)
and normal *Resina Ferulae* (B)

6 结语

近年来,在中药新药的研制和开发中,审批机构对质量标准的要求定位不断提高,明确提出必须对方中各药味进行薄层色谱鉴别方法的研究,这就大大推动了薄层色谱技术的发展。但也应该看到,在进行中药材薄层鉴别时影响因素多,存在的问题亦多。此外中药材本身就是一个大处方,所含成分极其复杂,成分间的干扰很大,其基础研究薄弱,有关中药材的质量标准尚须进一步提高。随着现代分析手段的逐步规范,薄层色谱技术也应逐步走向规范化管理,要注重所用器材的标准化和规范化,优化可选择的各种条件,以确保薄层色谱的分析效能,不断地完善中药材质量标准。相信在各位专家学者的共同努力下,薄层色谱技术在中药分析中的应用前景将更为广阔。

Reference:

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [J]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1977.

麝香的鉴别及应用

程黎晖

(浙江省温岭第一人民医院 药剂科,浙江 温岭 317500)

麝香是鹿科动物林麝 *Moschus berezouskii* Flerov、马麝 *M. sifanicus* Przewalski 或原麝 *M. moschiferus* Linnaeus 的成熟雄体香囊中的干燥分泌物,在《神农本草经》中被列为上

品,是珍贵的中药材。麝香腺长在雄麝脐和阴茎之间,外部微微隆起,成囊状,覆盖有细而疏的短毛。麝香味辛,性温,具有开窍、辟秽、通络、散瘀的作用。用于治疗中风、痰厥、中恶烦