·方药研究·

市售乌梢蛇的微性状鉴别研究

金捷凯[1],方成武[1,2],杨青山[1,2,3],陈梦轩[1],姚 强[1],丁振飞[1],洪稳稳[1],王 进[4]

(1.安徽中医药大学药学院,安徽 合肥 230012;2.安徽省中医药科学院 中药资源保护与开发研究所,安徽 合肥 230012;3.安徽道地中药材品质提升协同创新中心,安徽 合肥 230012;4.安徽亚泰天然植物科技有限公司,安徽 金寨 237344)

[**摘要**]**目的** 探寻一种简单有效的方法,以快速鉴别市售乌梢蛇的真伪。**方法** 通过微性状鉴定法,对市售乌梢蛇的真伪进行鉴别。**结果** 乌梢蛇在市场上的伪品有灰鼠蛇、滑鼠蛇、眼镜蛇、赤链华游蛇、白链蛇等。通过微性状鉴别研究发现,湖南和四川产乌梢蛇体背的单鳞蛇皮均呈紫黑色,腹部均呈淡蓝色,具杂乱分布的斑点群,且湖南产乌梢蛇中央纵线处为黄棕色,具整齐分布的黑色斑点群;乌梢蛇伪品的单鳞蛇皮在其色泽与斑纹上与正品具有明显差异。**结论** 微性状鉴别方法可有效且精准地鉴别市售乌梢蛇的真伪,弥补传统经验鉴别的不足。

[**关键词**]乌梢蛇;常见混伪品;微性状鉴定法

[**中图分类号**]R282.5 [DOI]10.3969/j.issn.2095-7246.2020.02.021

乌梢蛇又名黑梢蛇、乌蛇、剑脊蛇,为游蛇科动物乌梢蛇 *Zaocys dhumnades*(Cantor)除内脏的干燥体[1]。乌梢蛇是临床上常用动物类中药之一,多于夏、秋二季捕捉,剖开蛇腹,剥去蛇皮留头尾,除去内脏,盘成圆盘状,干燥。其性平,味甘,具祛风活络镇痛、除湿攻毒之功,临床用于风湿顽痹、麻木拘挛、口眼歪斜、中风、抽搐、痉挛、破伤风、麻风、疥癣、瘰疬、恶疮等[2]。现代研究[3-4]表明,乌梢蛇治疗类风湿关节炎具有显著疗效。

市场上乌梢蛇正品主要来源于四川、湖北、湖南、江西、江苏、安徽等地。因乌梢蛇资源有限,价格较高,而乌梢蛇伪品种类多样且价格低廉,导致伪品充斥市场,对临床疗效产生极大影响。目前已有学者对乌梢蛇与其伪品进行研究,已报道过的伪品有王锦蛇、灰鼠蛇、滑鼠蛇、红点锦蛇、赤链华游蛇、黑眉锦蛇等[5-9],但缺乏系统资料。前期抽样调查发现,市场上乌梢蛇混伪品大致为滑鼠蛇 *Ptyas mucosus*(Linnaeus)、灰鼠蛇 *Ptyas korros*(Schlegel)、舟山眼镜蛇 *Naja naja atra* Cantor、赤链华游蛇 *Sinonatrix annularis*(Hallowell)和白链蛇 *Dinodon septentrionalis*(Gunthe)。笔者通过中药微性状鉴定法[10]研究市场上乌梢蛇正伪品的微性状鉴别特征,为乌梢蛇药材的鉴别提供参考。

1 材料

1.1 样品 经研究鉴别收集到的样品为乌梢蛇(湖南和四川)、滑鼠蛇(湖南)、灰鼠蛇(国产和进口)、眼镜蛇、白链蛇、赤链华游蛇。市售乌梢蛇药材及常见伪品样品收集情况见表1。

1.2 仪器 Optec奥特光学SZ780连续变倍体视显微镜:重庆奥特光学仪器有限公司;佳能70D相

基金项目:国家自然科学基金项目(81303177)

作者简介:金捷凯(1994-),男,硕士研究生

通信作者:方成武(1961-),男,教授,cwfang1961@sina.com

into blank control group, model group, hydroprednisone group, and Shenqichongcao Capsule group, with 10 rats in each group. ELISA was used to measure the levels of phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) and serine/threonine protein kinase B (Akt) in serum and lung tissue before and after treatment. **Results** Compared with the blank control group, the model group had significant increases in the levels of Akt and PI3K in serum and lung tissue ($P<0.05$). Compared with the model group, the Shenqichongcao Capsule group and the hydroprednisone group had significant reductions in the levels of Akt and PI3K in serum and lung tissue ($P<0.05$), and the Shenqichongcao Capsule group had significantly lower levels than the hydroprednisone group ($P<0.05$). **Conclusion** Shenqichongcao Capsule can inhibit pulmonary fibrotic inflammatory response and delay the progression of pulmonary interstitial fibrosis by inhibiting the PI3K/Akt signaling pathway.

[**Key words**] Shenqichongcao Capsule; Pulmonary fibrosis; PI3K/Akt; Signaling pathway

表 1 实验药材样品信息

编号	样品名称	拉丁学名	收集地点
17011901	眼镜蛇(药材)	*Najanajaatra* Cantor	四川省宜宾市
17011902	灰鼠蛇(药材)	*Ptyas korros* (Schlegel)	亳州康美中药材市场
17011903	乌梢蛇(饮片)	*Zaocysdhumnades* (Cantor)	安徽亚泰药业有限公司
17022701	乌梢蛇(饮片)	*Zaocys dhumnades* (Cantor)	安徽亚泰药业有限公司
17022702	乌梢蛇(饮片)	*Zaocys dhumnades* (Cantor)	安徽亚泰药业有限公司
17050801	灰鼠蛇(药材)	*Ptyas korros* (Schlegel)	亳州康美中药材市场
17050802	赤链华游蛇(药材)	*Sinonatrix annularis* (Hallowell)	亳州康美中药材市场
17050903	白链蛇(药材)	*Dinodon septentrionalis* (Gunthe)	亳州康美中药材市场
17051004	乌梢蛇(药材)	*Zaocys dhumnades* (Cantor)	四川省达州市
17051001	舟山眼镜蛇(药材)	*Naja naja atra* Cantor	亳州康美中药材市场
17051102	滑鼠蛇(药材)	*Ptyas mucosus* (Linnaeus)	亳州康美中药材市场
18043001	乌梢蛇(药材)	*Zaocys dhumnades* (Cantor)	湖南省潜江市

机:日本佳能有限公司;烧杯、浸泡箱、镊子、接种针、剪刀、吸水纸、平板、重物。

1.3 试剂 自来水。

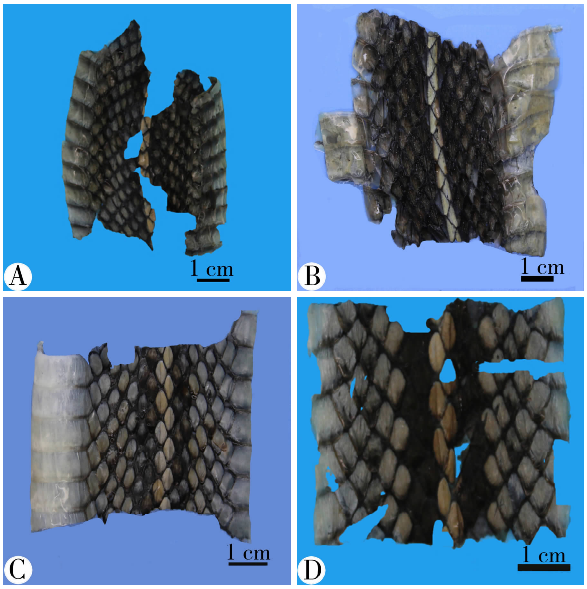
2 方法

2.1 预实验 本实验需要将蛇皮从蛇体剥离,在体视显微镜下观察研究。为达到实验要求,先设计预实验以探索浸泡时间与蛇皮剥离难易度大致关系。选取长度、大小相近的乌梢蛇饮片,随机均分为甲、乙、丙、丁 4 组。按照上述分组,将乌梢蛇饮片置于烧杯中。在烧杯内加入足量自来水完全淹没饮片,再用塑封袋包裹烧杯。控制浸泡时间:甲组浸泡 16 h、乙组 20 h、丙组 24 h、丁组 28 h。

2.2 微性状鉴别实验 在浸泡箱中注入适量水,将药材样品置于水中完全浸没并浸泡 24 h。取出药材样品去除头部及尾部,至上而下将蛇皮从蛇肉上慢慢剥离。将所得蛇皮置于吸水纸上展平,剥离时需注意蛇皮完整。再于蛇皮上方覆盖吸水纸,并在上方置一平板,压上重物置于干燥环境。次日更换吸水纸继续压置。重复 2～3 周至蛇皮干燥。参照 2015 年版《中华人民共和国药典》[11]“中药其他方法通则”项下中药的显微鉴别方法及中药微性状鉴定法[10]进行实验。将药材样品蛇皮置于体视显微镜下,观察其头部、体背部、腹部鳞片及去除鳞片各部位的微性状特征,并拍照记录。

3 结果

3.1 预实验结果 4 组饮片经鉴定均为正品乌梢蛇饮片。甲组乌梢蛇饮片剥蛇皮时,蛇皮紧紧连接蛇肉,难以剥离;乙组一部分蛇皮与蛇肉较易剥离,另一部分较难剥离,易剥烂,蛇皮剥离不整齐;丙组蛇皮与蛇肉较易剥离,蛇皮相对整齐;丁组蛇皮与蛇肉均酥软,难以剥离,气味严重。根据预实验结果,确定最佳浸泡时间为 24 h。4 组饮片蛇皮见图 1。



注:A. 甲组饮片蛇皮;B. 乙组饮片蛇皮;C. 丙组饮片蛇皮;D. 丁组饮片蛇皮

图 1 预实验结果

3.2 微性状鉴别实验结果

3.2.1 湖南产乌梢蛇微性状特征 湖南产乌梢蛇体前段中央纵线处单鳞蛇皮(将去除鳞片后,该枚鳞片下的蛇皮称为单鳞蛇皮)色泽为棕黄色,具整齐分布的黑色斑点群。蛇体后段单鳞蛇皮色泽为紫黑色,斑点群呈块状或片状,密集。腹部呈淡蓝色,具杂乱分布的斑点群。见图 2、图 3。

3.2.2 四川产乌梢蛇微性状特征 四川产乌梢蛇背部单鳞蛇皮呈紫黑色,色泽较湖南产乌梢蛇深。其腹部与湖南产乌梢蛇相似,呈淡蓝色,具杂乱分布的斑点群。见图 2、图 3。

3.2.3 灰鼠蛇微性状特征 灰鼠蛇单鳞蛇皮均呈黄色或淡黄色,单鳞蛇皮边缘亦为黑色,角隅处尤其明显。国产灰鼠蛇背部单鳞蛇皮中央具稀少黑色斑点。进口灰鼠蛇背部单鳞蛇皮中央斑点群分布密集,腹部单鳞蛇皮均呈黄色。见图 2、图 3。

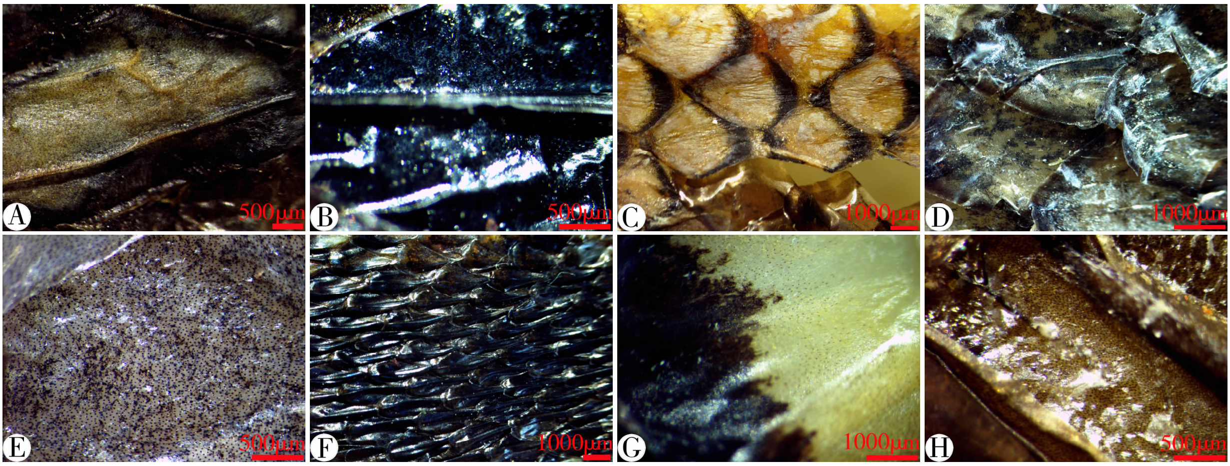
3.2.4 滑鼠蛇微性状特征 滑鼠蛇背部横纹处单鳞蛇皮呈黑色;无横纹处单鳞蛇皮呈淡黄色,具杂乱分布斑点群。其腹部单鳞蛇皮呈黄白色或黄色,具片状的斑团块。见图 2、图 3。

3.2.5 赤链华游蛇微性状特征 赤链华游蛇背部

单鳞蛇皮呈黑色；腹部单鳞蛇皮呈红色或黑色；背部与腹部均无斑点群。见图 2、图 3。

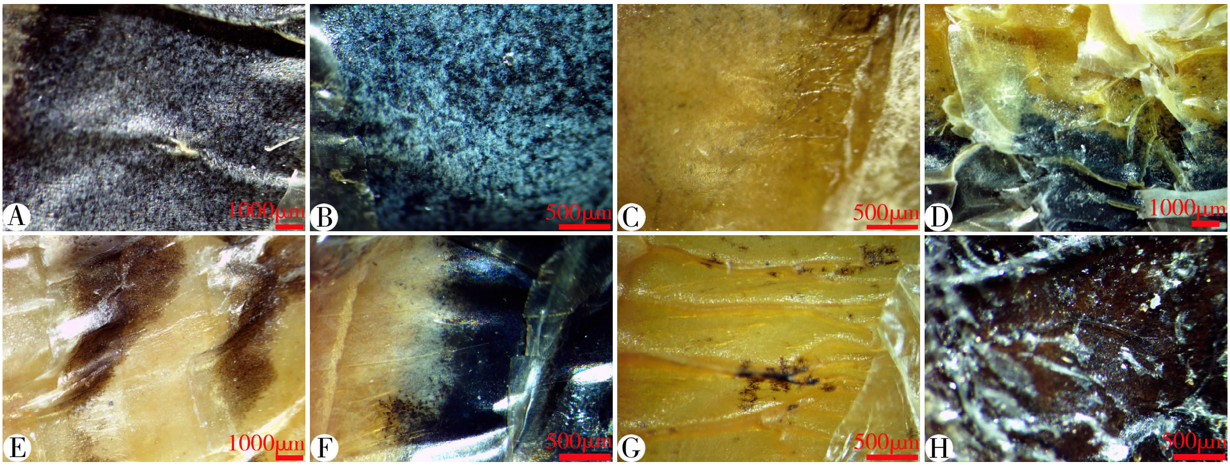
3.2.6 白链蛇微性状特征　白链蛇背部单鳞蛇皮呈白色或黑色，无斑点群。其腹部呈黄色，具斑团块，稀少。见图 2、图 3。

3.2.7 舟山眼镜蛇微性状特征　舟山眼镜蛇颈部白色斑纹处单鳞蛇皮具黑色斑点。背部单鳞蛇皮呈棕黄色，具整齐分布的黑色斑点群；背部白色横纹处微性状特征与眼镜状白色斑纹处一致；颈腹部白斑纹处单鳞蛇皮呈棕黄色；腹部单鳞蛇皮呈棕黄色。见图 2、图 3。



注：A. 湖南产乌梢蛇；B. 四川产乌梢蛇；C. 国产灰鼠蛇；D. 进口灰鼠蛇；E. 滑鼠蛇；F. 赤链华游蛇；G. 白链蛇；H. 舟山眼镜蛇

图 2　乌梢蛇及伪品背部微性状特征



注：A. 湖南产乌梢蛇；B. 四川产乌梢蛇；C. 国产灰鼠蛇；D. 进口灰鼠蛇；E. 滑鼠蛇；F. 赤链华游蛇；G. 白链蛇；H. 舟山眼镜蛇

图 3　乌梢蛇及伪品腹部微性状特征

4　讨论

乌梢蛇腹部单鳞蛇皮均呈淡蓝色，具杂乱分布的斑点群。其背部单鳞蛇皮分两种情况，湖南产乌梢背部中央纵线处单鳞蛇皮呈黄色，其余均为紫黑色。四川产乌梢蛇背部单鳞蛇皮呈紫黑色，颜色较湖南产乌梢蛇深。而乌梢蛇伪品微性状特征与乌梢蛇差别较大。见表 2。

表 2　市售乌梢蛇及其常见伪品微性状特征分种检索表

1. 单鳞蛇皮无斑点群。
    2. 背部单鳞蛇皮呈白色或黑色，腹部呈黄色，具斑团块，稀少 ………………………… 白链蛇 *Dinodon septentrionalis*（Gunthe）
    2. 背部单鳞蛇皮呈黑色；腹部单鳞蛇皮呈红色或黑色 ……………………… 赤链华游蛇 *Sinonatrix annularis*（Hallowell）
1. 单鳞蛇皮有斑点群。
    3. 腹部单鳞蛇皮呈淡蓝色，具杂乱分布斑点群 ………………………………………… 乌梢蛇 *Zaocys dhumnades*（Cantor）
    3. 腹部单鳞蛇皮呈黄色或棕黄色，无斑点群。
        4. 背部单鳞蛇皮呈棕黄色，具整齐分布的黑色斑点群 ……………………………… 舟山眼镜蛇 *Naja naja atra* Cantor
        4. 背部单鳞蛇皮呈黄色或黑色，具杂乱分布的黑色斑点群。
            5. 背部单鳞蛇皮边缘为黑色，角隅处尤其明显 ……………………………………………… 灰鼠蛇 *Ptyas korros*（Schlegel）
            5. 背部单鳞蛇皮横纹处呈黑色；无横纹处呈淡黄色 ……………………… 白链蛇 *Dinodon septentrionalis*（Gunthe）

乌梢蛇作为临床常用动物类中药，因其市场需求量大，价格昂贵，使得市场上混伪品种类繁多。经笔者调查收集，研究鉴定出有灰鼠蛇、滑鼠蛇、赤链华游蛇、白链蛇、舟山眼镜蛇等混伪种类。通过微性状鉴别研究发现：四川产和湖南产乌梢蛇体背的单鳞蛇皮均呈紫黑色，腹部均呈淡蓝色，具杂乱分布的斑点群，且湖南产乌梢蛇中央纵线处为黄棕色，具整齐分布的黑色斑点群。而伪品的微性状特征与之相比差异较大。微性状鉴别方法可有效且精准地鉴别乌梢蛇的真伪，弥补传统经验鉴别的不足，且简单便捷，值得推广。

参考文献：

［1］国家药典委员会.中华人民共和国药典：一部［M］.北京：中国医药科技出版社，2015：78.

［2］国家中医药管理局，中华本草编委会.中华本草：卷九［M］.上海：上海科学技术出版社，1999：416.

［3］彭德姣，陈玲.蛇油中脂肪酸成分的GC-MS分析［J］.蛇志，2013，25(4)：367-368.

［4］沈杰，鲍建芳，张之澧，等.乌梢蛇水解液对大鼠胶原性关节炎的防治作用［J］.上海免疫学杂志，2002，22(4)：257-259，229.

［5］金捷凯，杨青山，陈梦轩，等.市售乌梢蛇的基原鉴别研究［J］.中国中药杂志，2019，44(7)：1321-1326.

［6］窦忠健，郭焕.乌梢蛇及其伪品王锦蛇的鉴别研究［J］.新疆中医药，2005，23(1)：40.

［7］谢光宇.乌梢蛇及几种混伪品的鉴别［J］.海峡药学，2005，17(3)：99-100.

［8］杨昭华.乌梢蛇及几种混伪品的鉴别［J］.蛇志，2004，16(3)：65-66.

［9］肖寄平，黄青，陈人萍，等.乌梢蛇及其常见伪品的鉴别研究［J］.吉林中医药，2009，29(10)：884-885.

［10］周建理，杨青山.中药微性状鉴定法［J］.安徽中医学院学报，2011，30(1)：66.

［11］国家药典委员会.中华人民共和国药典：四部［M］.北京：中国医药科技出版社，2015：200.

（收稿日期：2019-09-16；编辑：张倩）

Microscopic Characteristic Identification of Commercially Available *Zaocys dhumnades*（Cantor）

JIN Jie-kai[1], *FANG Cheng-wu*[1,2], *YANG Qing-shan*[1,2,3], *CHEN Meng-xuan*[1], *YAO Qiang*[1], *DING Zhen-fei*[1], *HONG Wen-wen*[1], *WANG Jin*[4]

（1. *School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Anhui Hefei* 230012, *China*; 2. *Institute of Traditional Chinese Medicine Resources Protection and Development, Anhui Academy of Chinese Medicine, Anhui Hefei* 230012, *China*; 3. *Synergetic Innovation Center of Anhui Authentic Chinese Medicine Quality Improvement, Anhui Hefei* 230012, *China*; 4. *Anhui Yat Natural Plant Science and Technology Co., Ltd., Anhui Jinzhai* 237344, *China*）

［**Abstract**］**Objective** To establish a simple and effective method for the identification of the authenticity of *Zaocys dhumnades*（Cantor）. **Methods** The authenticity of *Zaocys dhumnades*（Cantor）was identified based on microscopic characteristics. **Results** The adulterants of*Zaocys dhumnades*（Cantor）sold on the market included *Ptyas korros*（Schlegel）, *Ptyas mucosus*（Linnaeus）, *Najanajaatra* Cantor, *Sinonatrix annularis*（Hallowell）, and *Dinodon septentrionalis*（Gunther）. The identification of microscopic characteristics showed purple black scales on the back of *Zaocys dhumnades*（Cantor）; *Zaocys dhumnades*（Cantor）produced in Hunan, China, had a yellow brown longitudinal line in the center, with orderly distributed black spots, and the abdomen was light blue with scattered spots. There were significant differences in color and stripes of single-scale snakeskin between the adulterants and the genuine product. **Conclusion** Microscopic characteristic identification can effectively and accurately identify the genuine *Zaocys dhumnades*（Cantor）and make up for the shortcomings of conventional identification method.

［**Key words**］*Zaocys dhumnades*（Cantor）; Common adulterant; Microscopic characteristic identification