

水蛭不同炮制品的成分对比分析

鲁 爽¹ 张元庆¹ 庞 博²

(1. 北京市西城区广外医院药剂科, 北京 100055; 2. 中国中医科学院广安门医院国际医疗部, 北京 100053)

【摘要】目的 对比水蛭不同炮制品的成分含量, 为临床提供用药依据。**方法** 对常用的水蛭炮制品分组实验, 用 HPLC 法测定各水蛭炮制品的成分含量。**结果** 各水蛭制品活性成分比较差异有统计学意义, 其中生水蛭粉的抗凝血酶活性 (11.59 U)、尿嘧啶 (0.257 mg/g)、次黄嘌呤 (1.478 mg/g) 含量最高 ($P<0.05$); 生水蛭煎煮组尿苷 (0.259 mg/g) 含量最高 ($P<0.05$); 酒制水蛭粉组黄嘌呤 (0.694 mg/g) 含量最高 ($P<0.05$); 烫水蛭粉各项含量低 ($P<0.05$)。**结论** 水蛭各炮制品成分含量有差异, 临床应根据适应证用其所长, 达到最优治疗效果。

【关键词】 水蛭; 炮制品; 成分; 含量

DOI: 10.16025/j.1674-1307.2022.05.009

水蛭, 又名蚂蝗, 为环节动物门水蛭科动物、柳叶蚂蝗及水蛭的干燥体。水蛭性平, 味咸、苦, 有小毒, 功效破血通经、逐瘀消癥^[1], 具有抗高血糖、抗血栓、抗炎等药理活性, 可用于治疗中风偏瘫、跌扑损伤^[2-5]。水蛭, 首载于《神农本草经》, 谓其“治恶血、瘀血、月闭, 破血痕积聚”。《伤寒论》中记载水蛭的炮制方法大致有净制、切、加辅料和不加辅料制几大类, 共十几种炮制方法; 现代对水蛭的炮制大多采用酒制、滑石粉烫、砂烫等方法^[6]。张仲景在《伤寒论》及《金匮要略》中配伍水蛭血证方有三, 即抵当汤、抵当丸、大黄蛰虫丸。其中, 前两方均注经“熬”制 (即焙干), 煎煮服用; 后方则为丸剂, 酒饮服之^[7]。可见炮制对于药效和药物性能起到了重要作用。现对水蛭的不同炮制品有效成分进行对比, 为临床应用提供参考。

1 材料

1.1 药品

水蛭药材 (批号 SB0261) 购自北京华邈药业有限公司, 由北京华邈中药工程技术开发中心按照《中国药典》(2015年版) 一部进行检验。性状: 符合水蛭的性状描述。鉴别: 采用薄层色谱法, 供试品在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同的紫红斑点; 紫外光灯 (365 nm) 下显相同的橙红色荧光斑点。检查: 二氧化硫残留量 12 mg/kg

(<150 mg/kg)、水分 11.7% (<18.0%)、总灰分 6.1% (<8.0%)、酸不溶性灰分 1.4% (<2.0%)、酸碱度 6.5 (应为 5.0~7.5); 重金属及有害元素中铅 5 mg/kg (<10 mg/kg)、镉 0.2 mg/kg (<1 mg/kg)、砷 3 mg/kg (<5 mg/kg)、汞 0.5 mg/kg (<1 mg/kg); 未检出黄曲霉毒素 B1 (<5 μg), 未检出黄曲霉毒素 G2、黄曲霉毒素 G1、黄曲霉毒素 B2 和黄曲霉毒素 B1 (总量 <10 μg)。含量测定: 本品每 1 g 含抗凝血酶活性 3.8 U, 结果符合规定 (≥3.0 U)。

炮制: ①酒制水蛭: 取水蛭药材, 加黄酒拌匀, 闷润 1~2 h, 至黄酒被吸尽, 置热锅内, 用文火炒干, 取出, 晾凉。参考《中国药典》(2015年版), 每 1 kg 水蛭段加黄酒 0.2 kg。②烫水蛭: 取滑石粉 40 g 置锅中, 加热至滑利状态时, 将 100 g 水蛭药材投入, 烫至鼓起, 取出, 筛去滑石粉, 放凉。③生水蛭粉: 将水蛭药材打粉过 100 目筛。④制水蛭粉: 将酒制水蛭打粉过 100 目筛。

1.2 仪器

超声波清洗机 (昆山市超声仪器有限公司), 电热套 (北京中兴伟业仪器有限公司), 尿嘧啶对照品 (批号 100469-201302)、次黄嘌呤对照品 (批号 140661-201704)、黄嘌呤对照品 (140662-200802)、尿苷对照品 (批号 110887-201803), 均购于中国食品药品检定研究院。Agilent 1200 型高效液相色谱仪, 配置四元梯度泵、在线脱气机、

基金项目: 中国中医科学院广安门医院所级科研基金课题 (2017S388)

作者简介: 鲁爽, 女, 38 岁, 大学本科, 主管药师。研究方向: 中药学。

通信作者: 庞博, E-mail: pangbotommy@hotmail.com

引用格式: 鲁爽, 张元庆, 庞博. 水蛭不同炮制品的成分对比分析[J]. 北京中医药, 2022, 41(5): 506-508.

DAD 检测器。Agilent HC-C18 色谱柱 (4.6 mm×250 mm), 乙腈、甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂均采用分析纯。均使用中国中医科学院广安门医院新药研发实验室仪器和试剂。

2 方法

2.1 药品提取

2.1.1 生水蛭: 取水蛭药材 40 g 加入 260 mL 水, 浸泡 30 min, 水煎 30 min (约 150 mL), 浓缩 80 °C 蒸干, 减压浓缩, 冷冻干燥, 计算干膏率。

2.1.2 酒制水蛭: 取酒制水蛭 40 g 加入 260 mL 水, 浸泡 30 min, 水煎 30 min (约 150 mL), 浓缩 80 °C 蒸干, 减压浓缩, 冷冻干燥, 计算干膏率。

2.1.3 烫水蛭: 取烫水蛭 40 g 加入 260 mL 水, 浸泡 30 min 水煎 30 min (约 150 mL), 浓缩 80 °C 蒸干, 减压浓缩, 冷冻干燥, 计算干膏率。

2.1.4 生水蛭粉: 取水蛭粉 4 g, 加入 26 mL 水 (50~60 °C)。

2.1.5 制水蛭粉: 取制水蛭粉 4 g, 加入 26 mL 水 (50~60 °C)。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液制备: 精密称取上述各对照品适量, 置容量瓶中, 加水溶解并定容至刻度, 摇匀, 即得混合对照品溶液 (尿嘧啶 46.3 μg/mL、次黄嘌呤 45.8 μg/mL、黄嘌呤 47.2 μg/mL、尿苷 39.6 μg/mL)。

2.2.2 供试品溶液的制备: 取水蛭粉末 (过 3 号筛) 约 2.0 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入水 50 mL, 摇匀, 称重; 回流提取 30 min, 取出, 冷却至室温, 称重, 用 5 mL 水补足失重, 摇匀, 10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液以 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。色谱图见图 1、图 2。

2.3 水蛭制品中尿嘧啶、次黄嘌呤、黄嘌呤、尿苷的含量测定

采用 HPLC 法进行测定。色谱柱: Agilent HC-C18 色谱柱 (PN 518905-902, 5 μm SN498823, 4.6 mm×250 mm); 流动相: 乙腈-10mmol 磷酸二

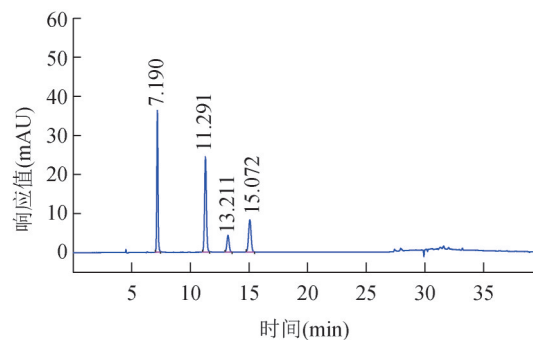


图1 标准品的HPLC色谱图

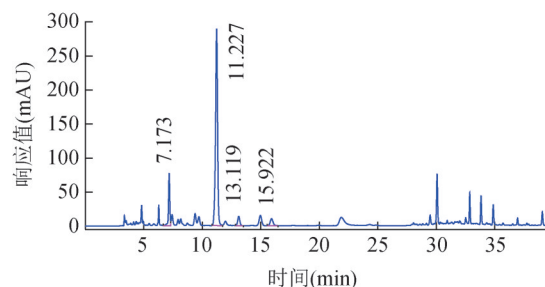


图2 水蛭样品的HPLC色谱图

氢钾溶液, 梯度洗脱 0~20 min (0.5 : 99.5); 20~40 min (20 : 80); 检测波长 254 nm。流速 0.8 mL/min, 柱温 30 °C, 进样体积 10 μL。

2.4 统计学方法

采用 SPSS22.0 软件进行统计学分析。炮制品活性成分组间两两比较采用独立样本 *t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

各水蛭制品活性成分比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 其中生水蛭粉的抗凝血酶活性、尿嘧啶、次黄嘌呤含量最高 ($P < 0.05$); 生水蛭煎煮的尿苷含量最高 ($P < 0.05$); 制水蛭粉的黄嘌呤含量最高 ($P < 0.05$)。见表 1。

4 讨论

中药炮制是中药从天然产物去粗取精、水火历练、成就药性的重要过程, 炮制后的中药饮片才能为临床辨证施治创造用药条件^[8]。水蛭是常

表1 各水蛭制品中尿嘧啶、次黄嘌呤、黄嘌呤、尿苷的含量

水蛭制品	抗凝血酶活性(U)	尿嘧啶(mg/g)	次黄嘌呤(mg/g)	黄嘌呤(mg/g)	尿苷(mg/g)
生水蛭煎煮	9.05	0.144	1.130	0.386	0.259*
制水蛭煎煮	9.19	0.209	1.218	0.412	0.119
烫水蛭煎煮	3.44	0.007	0.073	0.033	0.056
生水蛭粉	11.59*	0.257*	1.478*	0.499	0.139
制水蛭粉	9.19	0.172	0.898	0.694*	0.086

与其他水蛭制品比较, * $P < 0.05$

用的活血化瘀通络中药,张锡纯称之为“祛瘀血而不伤新血,纯系水之精华生成”“凡破血之药,多伤气分,惟水蛭味咸专入血分,于气分丝毫不损,而瘀血默消于无形,真良药也”。水蛭具有抗凝、抗血小板聚集、抗血栓形成、抗动脉粥样硬化、抗炎止痛、抗肿瘤、降低血液黏度、保护脑缺血再灌注损伤等多种药理作用^[9-10]。不同炮制品种水蛭,其药理作用存在很大差异。本研究结果显示,生水蛭粉的抗凝血酶活性、尿嘧啶、次黄嘌呤含量相对其他炮制品种更高。抗凝血酶不仅能阻止纤维蛋白原的凝固,亦可阻止凝血酶催化的进一步血凝反应,如对凝血因子 V、Ⅷ的活化及凝血诱导的血小板反应等的抑制,抗凝血酶的浓度决定了血液凝固能否被推迟或完全阻止。尿嘧啶是 RNA 特有的碱基,是氟尿嘧啶主要原材料,具有抗肿瘤、抗代谢的功效,可以干扰 DNA 的形成,抑制核糖核酸,可用于治疗癌症。次黄嘌呤,主要用作抗恶性肿瘤药 6-巯嘌呤的中间体。根据有效成分的理化性质,生水蛭适合用于治疗心脑血管疾病、急性弥漫性血管内凝血(DIC)、皮肤瘢痕、肾脏疾病、消化道癌症、乳腺癌、卵巢癌、恶性葡萄胎和膀胱癌以及皮肤癌。生水蛭煎煮方法的尿苷相对其他炮制品种含量更高,尿苷是制造氟尿嘧啶(S-FC)、脱氧核苷、碘苷(IDUR)、溴苷(BUDR)、氟苷(FUDR)等药物的主要原料,适合用于抗巨型红血球贫血,治疗肝、脑血管、心血管等疾病。制水蛭粉的黄嘌呤含量相对其他炮制品种含量更高,黄嘌呤是兴奋剂和支气管扩张剂的原料,用于治疗哮喘症状,所以制水蛭粉可用于有此兼症的患者。

临床中水蛭在治疗中风、高血压、血瘀、闭经、跌打损伤等方面具有显著疗效。查阅既往关于水蛭的文献,大都以生品水蛭本身的成分作为

研究对象,而未考虑水蛭不同炮制品之间的药理作用差异。而诊疗过程中水蛭通常用炮制品。因此,应基于临床上水蛭的实际用药情况,不断完善水蛭研究的设计思路,使研究结果对临床更具指导意义。

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,2020.
- [2] MOHAMMED AA, MOHAMMAD GA, MOHAMEDA, et al. In vivo anti-hyperglycemic activity of saliva extract from the tropical leech *Hirudinaria manillensis* [J]. Chin J Nat Med, 2013, 11(5): 488-493.
- [3] KASHIWAGI K, HASHIMOTO I, ABE Y, et al. Quantitative analysis of hemodynamics of congested island flaps under leech therapy [J]. J Med Invest, 2013, 60(3/4): 213-220.
- [4] KOEPPEN D, AURICH M, RAMPP T. Medicinal leech therapy in pain syndromes: a narrative review [J]. Wien Med Wochenschr, 2014, 164(5/6): 95-102.
- [5] MEDCALF RL. Desmoteplase: discovery, insights and opportunities for ischaemic stroke [J]. Br J Pharmacol, 2012, 165(1): 75-89.
- [6] 郭晓庆, 孙佳明, 张辉. 水蛭的化学成分与药理作用 [J]. 吉林中医药, 2015, 35(1): 47-50.
- [7] 高小威. 张仲景水蛭用法刍议 [J]. 中医学报, 2014, 29(10): 1429-1430.
- [8] 张世臣, 董玲. 从中药炮制立法的历史沿革寄语炮制法规建设 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(22): 4365-4369.
- [9] WANG X, NIU M, WU SN, et al. Leeches attenuate blood hyperviscosity and related metabolic disorders in rats differently than aspirin [J]. J Ethnopharmacol, 2019, 238: 111813-11815.
- [10] 刘涛, 朱宏涛, 戴黎明. 水蛭素调节断指再植大鼠皮瓣成活、血管生成、炎症因子表达的作用 [J]. 药物评价研究, 2018, 41(1): 73-77.

Comparative study on preferred application of processed leech products

LU Shuang, ZHANG Yuan-qing, PANG Bo

(收稿日期: 2021-09-30)