

地龙的研究进展

黄庆^{1,2}, 李志武³, 马志国⁴, 李荷^{1*}, 毛润乾^{2*}

(1. 广东药科大学基础学院, 广州 510006; 2. 广东省生物资源应用研究所 广东省动物保护与资源利用重点实验室, 广东省野生动物保护与利用公共实验室, 广州 510260;
3. 陆川县产地龙养殖场, 广西 玉林 537700; 4. 暨南大学, 广州 510632)

[摘要] 通过对近年来国内外有关地龙研究文献的整理和分析, 总结归纳了地龙的品种鉴定、药材质量控制、化学成分、药理作用及地龙人工养殖的最新研究进展。根据2015年版《中国药典》记载, 地龙包括参环毛蚓、通俗环毛蚓、威廉环毛蚓及栉首环毛蚓。目前的研究表明, 已有很多学者以地龙线粒体中细胞色素C氧化酶亚基I(CO I)与16S rDNA基因作为DNA条形码进行地龙品种的鉴别, 还运用了X射线衍射 Fourier 谱法及线粒体中12S rRNA基因作为分子标记来鉴定地龙品种, 其鉴定方法还需进一步研究。目前已建立起多种地龙药材质量的控制方法, 包括地龙 HPLC 指纹图、高效毛细管电泳特征图谱、酶活性为指标评价地龙药材质量及以灰关联度模型评价地龙药材质量等方法。地龙主要的化学成分包括蛋白质、氨基酸、酶类、脂类、微量元素、核苷酸等化合物, 其主要药理作用有平喘降压、解热镇痛、抗凝血、抗血栓、抗肿瘤、增强免疫等。地龙的主要药效成分包括地龙蛋白、酶类、氨基酸、微量元素等, 在有的药理作用中具体哪种成分发挥作用及其作用机制尚未明确, 还需进一步深入研究。有关地龙的人工养殖鲜有报道, 其养殖技术尚未成熟, 规范化人工养殖地龙还处于摸索阶段。目前对地龙的研究还不足, 使其具有广阔的研究和开发的前景。本文综述了近年来地龙的研究进展, 为地龙的进一步研究提供参考依据。

[关键词] 地龙; 药理作用; 药材质量控制; 研究进展

[中图分类号] R22; G353.11; R285; R284 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)13-0220-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20180946

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180214.2234.039.html>

[网络出版时间] 2018-02-23 1:13

Research Progress of Pheretima

HUANG Qing^{1,2}, LI Zhi-wu³, MA Zhi-guo⁴, LI He^{1*}, MAO Run-qian^{2*}

(1. School of Basic Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China;
2. Guangdong Key Laboratory of Animal Conservation and Resource Utilization, Guangdong Public Laboratory of Wild Animal Conservation and Utilization, Guangdong Institute of Applied Biological Resources, Guangzhou 510260, China; 3. Luchuan Pheretima Farm, Yulin 537700, China; 4. Jinan University, Guangzhou 510632, China)

[Abstract] By reviewing the paper on pheretima in recent years, the latest research progresses on the identification of cultivars, quality control of medicine, chemical constituents, pharmacological effects and artificial breeding were summarized in this paper. According to the 2015 edition of *Chinese Pharmacopoeia* records, pheretima includes *Pheretima aspergillum*, *P. vulgaris*, *P. guillelmi* and *P. pectinifera*. The present study showed that mitochondrial CO I and 16S rDNA gene of pheretima were used as DNA bar code to identify the

[收稿日期] 20171107(001)

[基金项目] 国家新兴产业重大工程包中药标准化项目(ZYBZH-Y-GD-13); 广东省科学院技术转移专项(2016G1FC0011)

[第一作者] 黄庆, 在读硕士, 从事微生物分子生物学研究, E-mail: huangqing248@163.com

[通信作者] *李荷, 博士, 教授, 从事微生物分子生物学研究, E-mail: lihe32@163.com;

*毛润乾, 博士, 研究员, 从事农业昆虫与害虫防治研究, E-mail: maorun@gdei.gd.cn

pheretima cultivars. X-ray diffraction Fourier pattern and 12S rRNA gene in mitochondria were used as molecular markers to identify cultivars. The identification methods needed further research. A variety of methods have been established for controlling the quality of medicine, including the HPLC fingerprint of pheretima, the characteristic map of high performance capillary electrophoresis, the enzyme activity as an index to evaluate the quality of medicine and the quality evaluation of medicine by the gray relational degree model. The main chemical composition of pheretima include protein, amino acids, enzymes, lipids, trace elements, nucleotides and others. Its main pharmacological effects include antiasthma, antihypertensive, antipyretic, anti-inflammatory, anticoagulant, antithrombotic, anti-tumor, enhancing immunity and so on. The main active ingredients of pheretima include protein, enzyme, amino acid, trace elements and so on. In some pharmacological actions, the active ingredients and mechanism of action are still unclear, so further research is needed. The artificial breeding of pheretima has rarely been reported; its breeding technology has not yet been refined, and the standardized artificial breeding technology is still in its exploration stage. The research on pheretima is still insufficient, with broad prospects for research and development. This paper may provide a reference for the further research on pheretima.

[Key words] Pheretima; pharmacological effects; quality control of medicine; research advances

地龙(Pheretima)为环节动物门钜蚓科动物,根据 2015 年版《中国药典》规定,地龙包括参环毛蚓、通俗环毛蚓、威廉环毛蚓或栉盲环毛蚓。地龙性寒、味咸,主治高热神昏、惊痫抽搐、关节痹痛、肢体麻木、半身不遂、肺热喘咳、水肿尿少等^[1]。近年来,有关地龙的研究均取得一定进展,市场中地龙商品种类较多,伪品混入现象严重,目前多以地龙线粒体中细胞色素 C 氧化酶亚基 I (CO I) 与 16S rDNA 基因作为 DNA 条形码进行地龙品种的鉴别,还有研究者采用了 X 射线衍射 Fourier 谱法及线粒体中 12S rRNA 基因作为分子标记来鉴定地龙品种,其鉴定方法尚未成熟。目前已建立了多种方法进行药材质量的控制,包括地龙生理盐水提取液、水煎液的 HPLC 指纹图谱、高效毛细管电泳特征图谱、酶活性为指标评价地龙药材质量及以灰关联度模型评价地龙药材质量等方法;地龙的有效成分大部分侧重于地龙蛋白及酶类的研究,而药理作用则重点研究其平喘、抗血栓及抗肿瘤作用,但各种药理作用机制还缺乏研究;有关地龙的人工养殖报道仅有 1 篇^[2],其养殖方面的研究基本上是空白。本文对地龙的品种鉴定、药材质量控制、化学成分、药理作用及人工养殖进行了较全面的综述,为地龙的进一步研究与开发提供参考,也为合理开发与应用地龙制剂提供科学依据。

1 品种分类与鉴定

1.1 品种分类 1872 年,参环毛蚓是最先被记录的中国蚯蚓品种,随着不断发现新品种,至 2005 年,中国已记录的陆栖蚯蚓有 9 科 28 属 306 种(含亚种)。地龙有 4 个品种,其中参环毛蚓 *Pheretima*

aspergillum 习称“广地龙”,主要分布于广东、广西、福建等地;通俗环毛蚓 *P. vulgaris*, 威廉环毛蚓 *P. guillelmi* 及栉盲环毛蚓 *P. pectinifera* 习称“沪地龙”,主要分布于江苏、浙江、上海等地。

1.2 品种鉴定 蚯蚓的品种较多,形态特征极其相似,这增加了中药材地龙的鉴定难度。活体地龙可结合传统形态学鉴定和分子鉴定进行鉴定,鲜地龙经加工成为地龙干品后,其形态特征已很难辨别真伪,因此,有必要建立一套系统的、准确的鉴定方法。目前在动物中较多采用线粒体基因片断作为 DNA 条形码,线粒体 CO I 基因是动物界公认 DNA 条形码。吕国庆等^[3]对中药材地龙的 CO I, 16S rDNA 片断进行分析,认为 CO I 更适合做为中药材地龙的 DNA 条形码,为中药材地龙的分子鉴定技术奠定了基础。李兰燕等^[4]采用 X 射线衍射 Fourier 谱法进行中药材广地龙鉴定,获得了广地龙的标准 X 射线衍射 Fourier 图谱及特征标记峰值。韦健红等^[5]选择了地龙线粒体中 CO I 与 16S rDNA 基因进行分子标记研究,通过物种鉴定及变异分析,发现 CO I 与 16S rDNA 基因能有效地运用于广地龙进行物种识别。陈维明等^[6]提出以地龙中线粒体 12S rRNA 基因作为分子标记,并筛选出一对高特异性鉴别引物(12 St/12 Sf),可不受实验材料的完整性、加工干燥等因素的影响完成准确鉴定。目前地龙的分子鉴定方法尚未成熟,有待进一步深入研究。

2 药材质量控制

目前市场销售的种药材地龙来源广泛,尤其加工炮制成中药材商品后,很难观察其形态特征,市场

较为混乱,掺伪现象较为普遍。姜文红等^[7]采用高效液相色谱法测定地龙药材生理盐水提取液,建立了地龙 HPLC 指纹图谱,确定了9个共有色谱峰。黄帅等^[8]对地龙水煎液进行了高效液相色谱分析,指认了11个共有特征峰,其中广地龙中黄嘌呤和腺苷的峰面积值高于沪地龙,尿苷、鸟苷和2'-脱氧鸟苷的峰面积值则低于沪地龙,可应用峰面积值差异来鉴别两种地龙。李峰等^[9]利用高效毛细管电泳法对地龙进行特征图谱研究,确认了8个特征色谱峰。刘涛等^[10]采用纤维蛋白原平板法,以尿激酶为参照,测定地龙蛋白酶的活性,以酶活性为指标评价地龙药材质量。李峰等^[11]应用灰关联度模型对不同品种的地龙进行质量分析,建立了以灰关联度模型评价地龙药材质量的方法。2015年版《中国药典》规定了中药材地龙检查项目,包括杂质、水分、总灰分、重金属等,尚未有含量测定项。魏银贵等^[12]检测了8批次药材地龙,杂质均超标,杂质过多导致了总灰分偏高和浸出物含量偏少。优质的地龙药材是发挥临床药效及用药安全的重要保障,规范化养殖和加工可保证地龙药材质量的稳定性,此外,应加强对中药材地龙质量的监管,杜绝掺杂造假现象。

3 化学成分

3.1 蛋白质和多肽 地龙富含多种蛋白质,地龙干品中蛋白质质量分数约为60%,如脂类蛋白、收缩血管蛋白、溶血蛋白、钙结合素蛋白等。已有研究人员从地龙体内提取出多种具有活性的肽类,如抗菌肽、肌肉运动活性肽、催产素相关肽^[13]等。段晓杰等^[14]对地龙提取液中蛋白质稳定性研究中,提出地龙提取液最佳保存条件为30℃,pH为7,提取过程中尽量减少无机盐及有机溶剂的使用。

3.2 氨基酸 地龙含有20种游离氨基酸,包含人体必须的8种氨基酸,总游离氨基酸含量可达8.629%,其中丙氨酸和亮氨酸含量最高。蒋艳红等^[15]分析比较地龙中游离氨基酸的提取方法,提出水提醇沉是最佳的提取方法。黄文芳等^[16]等利用指纹图谱技术对不同干燥方式的地龙氨基酸组分提取物进行分析,发现冷冻干燥法是地龙氨基酸组分提取物最适宜的干燥方法。丁红梅等^[17]建立了高效毛细管电泳进行6-氨基喹啉基-N-羧琥珀酰亚氨基甲酸酯(AQC)衍生后地龙氨基酸的分析方法,可用于地龙中氨基酸含量的快速测定。

3.3 酶类 地龙中富含溶栓酶、酯酶、过氧化氢酶、β-D 葡萄糖苷酶、卟啉合成酶以及过氧化物酶等。

蚓激酶首次由Mihara等^[18]分离出具纤溶活性的粗提物,具有抗凝、溶栓的双重活性。徐玉玲等^[19]对地龙渗漉工艺参数进行了优化,利用纤维蛋白原平板法可准确、快速地测定地龙中酶的活性,其最佳渗漉工艺参数为将地龙粉碎为粗粉,浸泡0.5h,渗漉速度为2 mL·min⁻¹,加8倍量60%乙醇进行渗漉。

3.4 脂类 地龙中含有多种脂肪酸,如月桂酸、硬脂酸、亚油酸、花生烯酸等,其中油酸、硬脂酸、花生烯酸含量较高。地龙中的不饱和脂肪酸有较高的药理活性,是治疗心血管疾病的重要成分。肖寄平等^[20]利用皂化法和有机溶剂提取法提取地龙脂肪酸,结果表明,皂化法提取的不饱和脂肪酸含量高于有机溶剂提取法。

3.5 微量元素 地龙富含多种微量元素,如钙、钾、镁、铁、锌、镉、硒、铬、钴、锰、铜、铅、镉、镍等。大平二号蚯蚓与广地龙中镁、铁、硒、铬的含量相差不大,但广地龙中锌、铜的含量高于大平二号,钙、钼的含量低于大平二号^[21],表明不同品种蚯蚓的微量元素存在着一定差异。

3.6 核苷酸 地龙含有较多人体代谢过程必须核苷酸,包括腺嘌呤、鸟嘌呤、黄嘌呤、次黄嘌呤、尿嘧啶等,研究表明,次黄嘌呤是地龙发挥平喘、降压作用的主要有效成分之一。不同产地的地龙中次黄嘌呤含量差异较大,广地龙中次黄嘌呤的含量高于沪地龙,其中广西产广地龙中次黄嘌呤含量约是广东产广地龙的2.3倍^[22]。李钟等^[23]采用HPLC对不同炮制的广地龙中次黄嘌呤含量测定,测得次黄嘌呤按含量高低依次为蛤粉制广地龙、黄酒制广地龙、白酒制广地龙、醋制广地龙、净制品。

3.7 其他 地龙还含有琥珀酸、透明质酸、类血小板活化因子、蚯蚓素等,其中琥珀酸具有平喘利尿的药理作用,是地龙中有效成分之一。何琳等^[24]高效采用毛细管电泳法测定广地龙琥珀酸的含量,其含量可达到0.8 mg·g⁻¹。张文斌等^[25]比较了地龙不同炮制品中琥珀酸的含量,其中生品中含量最高,建议临床应用地龙治疗支气管哮喘以生品为宜。

4 药理作用

4.1 平喘 地龙可松弛气管平滑肌、改善气道重塑,具有平喘止咳的功效。地龙发挥平喘作用的有效成分为琥珀酸和次黄嘌呤,其中琥珀酸为主要成分。由组胺引起的支气管收缩,地龙中的某种组分可阻滞组胺受体,对抗气管痉挛,对气管有较强的舒张作用^[26]。王文英等^[27]研究了五味地龙汤对喷入组胺致喘的豚鼠的平喘作用,结果表明五味地龙汤

可使哮喘潜伏期显著延长,减少肺溢流量,对豚鼠离体气管片引起的收缩有着显著的舒张作用;推测五味地龙汤可能是通过改善哮喘气道机械应力、抑制气道重建及激动体内 β -受体而起到平喘的作用。采用柱色谱将地龙分离成7个部位来进行研究其平喘作用,地龙平喘的活性部位是5%~15%甲醇的乙酸乙酯洗脱部位^[28]。

4.2 降压 地龙常用于治疗原发性高血压,其降压机制可能与脊髓以上的中枢神经系统或某些内感受器反射影响有关。有研究表明,地龙降压的主要物质为降压蛋白和活性多肽。程能能等^[29]从地龙脂质中分离得到一种类血小板活化因子物质,实验证实其有显著的降压效果,可能是重要的降压成分。李承德等^[30-31]初步探讨地龙降压蛋白治疗自发性高血压的作用机制,发现其降压机制可能与降低血浆中血管紧张素II,内皮素含量有关,还有可能与降低SHR血浆、肾脏局部醛固酮,升高血浆、肾脏局部6-酮前列腺素 $F_{1\alpha}$ (6-Keto-PGF $_{1\alpha}$)的含量有关。詹秀琴等^[32]利用聚偏氟乙烯(PVDF)膜分级分离后地龙匀浆液产物的降血压活性,膜分离产物的血管紧张素转换酶抑制活性随着相对分子质量降低而逐渐增大,以截留相对分子质量为4 000 Da的滤过液达到最大。

4.3 解热镇痛 地龙有着显著的解热镇痛作用,其解热机制可能是通过调节体温中枢达到解热效果。地龙发挥痛功效的活性物质可能为氨基酸,也有研究报告表明,地龙的镇痛作用可能与地龙体内的钙调素拮抗剂有关。陈斌艳等^[33]以老鼠为镇痛模型,兔为发热模型,探究地龙粉剂解热镇痛作用,结果表明地龙粉剂有显著的解热镇痛作用,且在镇痛作用上与扑热息痛的有协同作用。吕金胜等^[34]用75%乙醇回流得醇提取物,通过乙酸致小鼠扭体反应实验和热板法小鼠疼痛实验,发现地龙醇提取物明显减少乙酸致小鼠扭体次数,疼痛反应潜伏期显著延长。张天亮等^[35]采用Sephadex G25作为色谱填料对地龙粗提取液进行分离,得到一种非蛋白类物质为P4,其具有显著镇痛活性;对P4组分进行HPLC分析,得到5个主要色谱峰,其结构还需进一步鉴定。

4.4 抗凝血、抗血栓 地龙含有多种酶,其中纤溶酶、蚓激酶、蚓胶原酶等是抗凝血、抗血栓的主要活性成分。1983年Mihara等^[18]首次从地龙提取物中分离出具有抗凝、溶栓双重活性的蛋白质,证实为蚓激酶。研究表明,地龙及其复方可用于糖尿病肾病

的治疗,其主要是通过地龙的抗凝血、抗血栓作用和调节纤溶系统平衡等机制抑制血栓的形成,从而改善糖尿病肾病患者的血栓前状态^[36]。徐晓夏等^[37]分别以低、中、高不同剂量蚓激酶静脉输入已形成血栓的大鼠中,发现蚓激酶对血液凝血酶时间和血浆复钙时间均有延长作用,且与其剂量成依赖性关系,推测蚓激酶可能具有延长血栓形成时间和使血栓溶解变小的作用。何红等^[38]发现地龙提取物可延长小鼠凝血时间,有显著的抗凝血作用,并测定地龙提取物中游离氨基酸,结果表明提取物中富含的氨基酸可能是其抗凝血作用的有效成分。陶恩学等^[39]利用补阳还五汤对100例脑血栓患者进行治疗,以给予西药治疗为对照组,观察组在给予西药基础上林给予补阳还五汤,比较两组的临床疗效及患者的生活质量改善情况,结果表明,观察组的临床疗效及生活质量改善效果均显著好于对照组。

4.5 抗肿瘤 研究表明,地龙具有良好的抗肿瘤作用,近几年地龙抗肿瘤研究已成为热点之一。地龙的抗肿瘤成分大多为蛋白组分,其抗肿瘤机制较多,主要包括促进细胞凋亡、抑制肿瘤生长、抗氧化、免疫增强等。Hrzenjak等^[40]从赤子爱胜蚓中提取出糖脂蛋白混合物(G-90),发现其能明显地抑制肿瘤细胞的生长和促进细胞凋亡。Grdisa等^[41]对G-90进一步研究发现,其同时具有纤溶酶活性及抗氧化酶作用。李洪燕等^[42]发现剂量为0.2~1 g·kg⁻¹的蚯蚓纤溶酶可显著抑制人胃腺癌BGC823及乳腺癌B37裸鼠移植瘤的生长,证明蚯蚓纤溶酶具有一定的抗肿瘤作用。何道伟等^[43]发现蚯蚓提取物II对胰腺癌(Eca-109),宫颈癌(Hella)和红白血病(K562)细胞的增殖均有抑制作用,作者认为其主要机制是通过使肿瘤细胞受阻于G₀-G₁期,促进细胞凋亡,从而使DNA合成减少。李建生等^[44]以蕲蛇、地龙等鲜动物药组方的抗癌制剂(扶II号)对小鼠子宫颈癌中肺转移率、转移程度、淋巴结转移率及转移程度均有抑制作用,同时对小鼠肺腺癌的转移程度也有显著的抑制作用。

4.6 促创面愈合 地龙是我国传统中药,其断体后有很强的自愈能力和再生能力,在民间作为传统验方常用于治疗各种皮肤创伤。研究表明,地龙促创面愈合的作用主要与抗菌肽、抗氧化系成分和纤溶酶等活性物质的共同作用相关。胡海聪等^[45]将活体地龙断体后抽提得到不同时间点提取液,通过测定提取液对小鼠成纤维细胞增殖率,发现地龙断体

后提取液含有可促进成纤维细胞增生的物质,在再生期不同时间点提取液存在一定差异,其中第 3 天含量最高。汪文琪等^[46]通过创伤愈合率和苏木素-伊红(HE)染色观察断体后地龙提取液对小鼠皮肤切除性创伤的愈合效果,结果证明,断体地龙提取液可提高创面愈合率,加快愈合速度;通过免疫组化观察,推测地龙提取液促进创伤愈合的机制可能与炎症期和增殖期创伤部位碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)的表达增高有关。

4.7 增强免疫作用 地龙可调节机体的免疫功能。研究表明,地龙能显著地提高吞噬细胞的免疫活性,促进淋巴细胞转化,促进伤口愈合。傅炜昕等^[47]采用超滤和多种色谱方法从地龙体内分离纯化得到小相对分子质量免疫活性地龙肽 T,经离子交换色谱将地龙肽 T 分为地龙肽 A 和地龙肽 B 两部分,其中地龙肽 A 由 5 种蛋白组成,地龙肽 B 仅由一种蛋白构成;通过乳酸脱氢酶法测定小鼠 NK 细胞活性,发现地龙肽 A 和地龙肽 T 质量浓度为 100,10 mg·L⁻¹时可明显提高 NK 细胞的活性,且与免疫活性细胞因子白细胞介素-2(IL-2)有协同作用;地龙肽 A,B,T 还可以减弱由环磷酰胺等免疫抑制剂引起的免疫抑制作用。唐小云等^[48]从蚯蚓体内提取得到具有活性的小分子多肽(LP),用不同剂量 LP 给小鼠灌胃 7 d,发现 LP 剂量为 0.5,0.1 g·L⁻¹可促进淋巴细胞增殖和增强巨噬细胞细胞毒效应,可增强机体免疫功能,但给以高剂量如 2.0,5.0,10.0 g·L⁻¹时对小鼠的免疫功能表现为抑制作用。

4.8 对生殖系统作用 地龙可增强子宫平滑肌的收缩,对男性生殖系统同时具有杀精、强化精子的双重影响。有研究表明,地龙具有兴奋子宫平滑肌的作用,可增加子宫平滑肌张力及宫活动力。郑梅等^[49]采用 BL-420 生物信号系统记录地龙水煎剂对未孕大鼠离体子宫平滑肌运动情况,结果表明,地龙水煎剂对未孕大鼠离体子宫平滑肌具有兴奋作用,可增加子宫平滑肌收缩的最大张力、收缩时间及子宫活动力,并其机制可能是通过兴奋子宫平滑肌细胞膜上的 L 型电压依从性 Ca²⁺ 通道而起作用。1987 年,国内首次报道蚯蚓总酸和蚯蚓总碱能破坏精子结构,对人精子具有杀灭作用,地龙杀精液后的剩余物进行提取,并加工成地龙粉可用于治疗精液异常患者。张复夏等^[50]用地龙粉对 30 例精液异常患者进行治疗,结果证明,地龙粉可显著增强患者的精子浓度、存活率及活动率,具有提高精液质量、强化精子的作用。见表 1。

表 1 地龙主要的药理作用分析

Table 1 Main pharmacological effects of Pheretima

药理作用	主要物质	作用机制
平喘	琥珀酸、次黄嘌呤等	可能通过改善哮喘气道机械应力、抑制气道重建及激动体内 β-受体而起到平喘的作用
降压	降压蛋白、活性多肽、类血小板活化因子等	可能与脊髓以上的中枢神经系统或某些内感受器反射影响有关
解热镇痛	氨基酸等	可能通过调节体温中枢达到解热效果,与地龙体内的钙调素拮抗剂有关
抗凝血、抗血栓	纤溶酶、蚓激酶、蚓胶原酶等	可能通过抑制血小板聚集,促血管内皮细胞分泌组织型纤溶酶原激活物(t-PA),延长血栓形成时间和使血栓溶解变小
抗肿瘤	蛋白组分	增强机体免疫力,提高巨噬细胞吞噬能力,NK 细胞活力,拮抗化疗和放疗的免疫抑制等。
促创面愈合	抗菌肽、抗氧化系成分、纤溶酶等	可能与炎症期和增殖期创伤部位 bFGF 的表达增高有关
增强免疫作用	蛋白组分、活性多肽	通过提高吞噬细胞的免疫活性,促进淋巴细胞转化,促进伤口愈合
对生殖系统作用	蚯蚓总酸、蚯蚓总碱、地龙水煎剂	可能通过兴奋子宫平滑肌细胞膜上的 L 型电压依从性 Ca ²⁺ 通道而起作用

5 地龙人工养殖

随着我国中医药事业的发展,对中药资源的需求量日益增加。我国大部分的中药材来自野生,由于地龙生存环境的不断恶化,野生资源逐渐减少,人工养殖地龙将成为主要来源。地龙体型较大,喜阴湿,常栖于土壤深层,温度为 15 ~ 25 ℃,湿度为 50% ~ 70%,pH 为 6.0 ~ 7.0 条件下有利于地龙的生长繁殖。地龙主要以土壤中有有机质、禽畜粪便、腐烂瓜果等为食,粪豆类饲料需经发酵处理后方可添加。地龙为雌雄同体,异体交配,一般饲养 4 ~ 6 个月后可采收,寿命 13 年,1 年可产卵 3 ~ 4 次^[51]。近几年报道了许多有关如何养殖蚯蚓及提高产量的研究,其养殖的品种大多为赤子爱胜蚓,而对地龙的人工养殖报道甚少。徐晋佑等^[2]初次对广地龙进行人工养殖试验,比较了不同饲养方式、不同饲料配方及不同季节广地龙的产量,结果表明,地面养殖产量高于木箱养殖,鸡粪和牛粪更有利于广地龙的生

长繁殖,广地龙在春季生长速度较夏季快。目前地龙的人工养殖技术尚未成熟,如何提高人工养殖地龙的生存率和繁殖率是眼前急需解决的问题。因此,应建立规范化养殖基地,提高地龙的繁育技术,以提供优质的地龙药材资源。

6 结语

随着对地龙研究不断深入,品种的鉴定、药材质量控制、化学成分、药理作用及人工养殖等方面都取得一定进展,但仍存在很多问题亟待解决:①由于近年地龙商品价格上涨,市场伪品混入增加,加上蚯蚓品种较多,鉴别难度也不断加,掺伪品的混入严重影响了中药材药效和临床用药的安全性,如何加强市场监管,如何建立起准确、快速的鉴定方法是目前急需解决的难题。②地龙有平喘降压、解热镇痛、抗凝血、抗血栓、抗肿瘤等多种药理作用,临床上广泛用于治疗咳嗽和哮喘、原发性高血压病、癌症等,但多种药理作用的主要活性物质及其药理作用机制尚未确认,这也极大的限制了地龙资源的开发与利用,因此,还需深入研究其有效成分及探讨其作用机制。③随着环境恶化,野生来源的地龙逐渐减少,地龙的人工养殖将成为主要的来源,但人工养殖地龙还处于初级探索阶段,地龙的规范化人工养殖还需要进一步探索。目前对中药材地龙的研究和开发不足,使其具有巨大的开发潜力,在地龙的药理作用机制研究、养殖技术及地龙新产品开发等方面都具有广阔的前景。

[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,2015:122.

[2] 徐晋佑,蓝宗辉,曾逊生,等. 人工养殖参环毛蚓的试验研究[J]. 中药材科技,1983(4):14-18.

[3] 吕国庆,牛宪立,姬可平. 动物性中药材地龙 DNA 条形码初步研究[J]. 广东农业科学,2011,38(17):114-116.

[4] 李兰燕,王树春,吴云山,等. 广地龙的 X 射线衍射 Fourier 谱鉴定[J]. 中成药,2002,24(5):380-382.

[5] 韦健红,李薇,吴文如,等. 基于 CO I 与 16S rRNA 基因对广地龙的 DNA 分子鉴定研究[J]. 中国药房,2012,23(35):3274-3278.

[6] 陈维明,马梅,龚玲,等. 广地龙特异性 PCR 分子鉴定[J]. 广州中医药大学学报,2015,32(3):499-503.

[7] 姜文红,张清波. 地龙 HPLC 指纹图谱分析方法的研究[J]. 中医药学报,2006,34(6):13-14.

[8] 黄帅,徐风,杨平,杨雪雁,等. 地龙的 HPLC 特征图谱研究[J]. 中国药房,2015,26(21):2971-2974.

[9] 李峰,王成芳,包永睿. 地龙商品药材高效毛细管电泳特征图谱[J]. 中国医院药学杂志,2011,31(23):1916-1919.

[10] 刘涛,谭清红,王晓霞,等. 基于酶活性的地龙质量标准再评价研究[J]. 中药材,2014,37(9):1535-1537.

[11] 李峰,张振秋,刘威,等. 灰关联度模型的地龙商品药材质量评价研究[J]. 辽宁中医杂志,2016,43(9):1930-1932.

[12] 魏银贵,李建,程培秀. 掺伪地龙的质量分析[J]. 中国中医药现代远程教育,2013,11(17):160-161.

[13] Oumi T, Ukerm K, Matsushima O. Annetoein: an oxytoein-related peptide isolated from the earthworm, *Eisenia foetida* [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1994,198(1):393-399.

[14] 段晓杰,罗世林,汪文琪,等. 地龙提取液中蛋白质的稳定性研究[J]. 中医药信息,2017,34(2):31-33.

[15] 蒋艳红,刘敏彦,李向军,等. 地龙中游游离氨基酸的含量测定[J]. 中国中医药信息杂志,2003,10(2):36-36.

[16] 黄文芳,石召华,陈立军. 指纹图谱技术评价不同干燥方式对地龙氨基酸组分提取物的影响[J]. 药物评价研究,2015,38(3):297-301.

[17] 丁红梅,葛尔宁,许家栋. 高效毛细管电泳测定中药地龙中氨基酸含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(2):117-120.

[18] Mihara H, Akazawa T. Fibrinolytic enzyme extracted from the earthworm [J]. Thromb Haemost, 1983, 50:258-263.

[19] 徐玉玲,谭清红,伍利华,等. 地龙渗漉工艺参数优选[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(21):41-43.

[20] 肖寄平,张炜煜,杨雪,等. 地龙中脂肪酸成分研究[J]. 时珍国医国药,2010,21(11):2760-2762.

[21] 赵春桂,司世麟,庞敬萍. 蚯蚓微量元素含量测定[J]. 中药通报,1988,13(9):38-39.

[22] 李坚,龙晓英,何琳,等. HPLC 测定不同产地广地龙中次黄嘌呤的含量[J]. 中药材,2006,29(5):448-449.

[23] 李钟,黄艳玲,李文娜. 炮制对广地龙次黄嘌呤和肌苷含量的影响[J]. 中药材,2009,32(1):31-33.

[24] 何琳,龙晓英. 高效毛细管电泳法测定广地龙饮片中琥珀酸的含量[J]. 广东药学院学报,2007,23(2):124-125.

[25] 张文斌,校合香. 地龙不同炮制品中琥珀酸含量的比较[J]. 中国药事,2001,15(3):216.

[26] 襄萍,徐朝晖,战光绪,等. 药对麻黄地龙配比及平喘作用机制的研究[J]. 中国中药杂志,2006,31(3):236-239.

[27] 王文英,张德新,杜亚明,等. 五味地龙汤平喘作用研

- 究[J]. 四川中医, 2007, 25(1): 44-46.
- [28] 黄荣增, 吴娟, 陶群, 等. 地龙提取物柱层析各部位的平喘活性研究[J]. 中国药师, 2010, 13(11): 1557-1558.
- [29] 程能能, 马越鸣. 地龙中降压的类血小板活化因子物质[J]. 中国中药杂志, 1993, 18(12): 747-749.
- [30] 李承德, 康白, 毛淑梅, 等. 地龙降压蛋白对自发性高血压大鼠血管紧张素及内皮素含量的影响[J]. 中国医药导报, 2008, 5(21): 11-13.
- [31] 李承德, 康白, 毛淑梅, 等. 地龙降压蛋白对自发性高血压大鼠降压作用及其机制的影响[J]. 中华中医药杂志, 2008, 23(5): 450-452.
- [32] 詹秀琴, 戴启刚, 樊文玲. 地龙生物活性部位经膜分级分离后降压作用的比较研究[J]. 生物学通报, 2010, 45(9): 46-48.
- [33] 陈斌艳, 张蕾, 虞礼敏, 等. 地龙粉剂对小鼠、大鼠与兔的镇痛解热作用[J]. 上海医科大学学报, 1996, 23(3): 225-240.
- [34] 吕金胜, 吴畏, 孟德胜, 等. 地龙醇提物抗炎及镇痛作用的研究[J]. 中国药师, 2003, 6(1): 16-18.
- [35] 张天亮, 王霞. 地龙中镇痛活性物质的分离纯化与表征[J]. 中国现代医药杂志, 2014, 16(12): 9-13.
- [36] 李璐, 王永香, 王秀海, 等. 地龙及其复方治疗糖尿病肾病的机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(7): 227-234.
- [37] 徐晓夏, 俞腾飞. 蚓激酶在血栓形成过程中作用研究[J]. 阴山学刊: 自然科学版, 2014, 28(2): 26-28.
- [38] 何红, 车庆明, 孙启时, 等. 地龙提取物的抗凝血作用[J]. 中草药, 2007, 38(5): 733-735.
- [39] 陶恩学, 高汉义. 补阳还五汤结合西药治疗脑血栓[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(18): 181-183.
- [40] Hrzenjak T, Hrzenjak M, Kasuba V, et al. A new source of biologically active compounds-earthworm tissue (*Eisenia foetida*, *Lumbricus rubellus*) [J]. Comp Biochem Physiol Comp Physiol, 1992, 102(3): 441-447.
- [41] Grdisa M, Popovic M, Hrzenjak T. Glycolipoprotein extract (G-90) from earthworm *Eisenia foetida* exerts some antioxidant activity [J]. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol, 2001, 128(4): 821-825.
- [42] 李洪燕, 刘悦, 张福荣, 等. 蚯蚓纤溶酶的抗肿瘤作用[J]. 中国药理学通报, 2004, 20(8): 908-910.
- [43] 何道伟, 陈洪, 叶银英. 蚯蚓提取物体内和体外抗肿瘤作用的研究[J]. 中国生化药物杂志, 2005, 26(6): 353-355.
- [44] 李建生, 李惠珍, 薛克勋, 等. “扶E号”抑制癌细胞转移的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 1996, 2(2): 37-40.
- [45] 胡海聪, 李翠芬, 张硕峰, 等. 断体地龙再生期提取液对成纤维细胞增生作用的研究[J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(5): 1126-1128.
- [46] 汪文琪, 胡海聪, 张志千, 等. 断体地龙提取液促进小鼠创伤愈合作用研究[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2015, 17(7): 1449-1452.
- [47] 傅炜昕, 董占双, 李铁英, 等. 免疫活性地龙肽的制备及其对小鼠NK细胞活性的影响[J]. 中国医科大学学报, 2007, 36(6): 650-652.
- [48] 唐小云, 梁再赋, 杨丽群, 等. 地龙肽对小鼠免疫功能的影响[J]. 中国医科大学学报, 2003, 32(1): 21-23.
- [49] 郑梅, 杨榆青, 陈嵘, 等. 地龙水煎液对未孕大鼠离体子宫平滑肌作用的研究[J]. 中医药学刊, 2006, 24(3): 463-464.
- [50] 张复夏, 郭宝珠, 王惠云. 地龙粉治疗男性不育症30例[J]. 陕西中医, 1996, 17(10): 438-439.
- [51] 李恒, 邢桂菊, 梁雪峰. 地龙的养殖技术及发展前景[J]. 中国林副特产, 2006(3): 44-45.

[责任编辑 全燕]