

地龙化学成分及药理活性研究进展

商 焯, 齐丽娜, 金 华, 李 晋, 何 俊, 常艳旭*

天津中医药大学 天津市现代中药重点实验室, 天津 301617

摘要: 地龙是传统中药, 具有清热定惊、通络、平喘等功效, 临床常用于治疗高热神昏、肺热咳喘、半身不遂等。地龙所含化学成分众多, 其中氨基酸类、多肽类、核苷类和有机酸等类化合物为其主要活性成分。现代药理研究表明地龙具有抗炎、抗血栓、心脏保护、抗肿瘤和改善呼吸系统功能等作用。总结了近年来国内外有关地龙化学成分、药理活性相关文献, 对其研究进展进行综述, 为地龙的药物开发及临床应用提供依据。

关键词: 地龙; 化学成分; 抗血栓; 心脏保护; 抗肿瘤

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2022) 05-0989-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.05.024

Research development of *Pheretima* on chemical composition and pharmacological activity

SHANG Ye, QI Lina, JIN Hua, LI Jin, HE Jun, CHANG Yanxu

Tianjin State Key Laboratory of Modern Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

Abstract: *Pheretima* is a traditional Chinese medicine. It has the effects of clearing heat, calming convulsion, unblocking collaterals and relieving asthma. It is often used clinically for the treatment of high fever, dizziness, lung heat, cough asthma and hemiplegia. *Pheretima* contains many chemical components, among which amino acids, polypeptides, nucleosides and organic acids are the main ingredients. Modern pharmacological studies showed that *Pheretima* has anti-inflammatory, antithrombosis, cardioprotection, anti-tumor and respiratory system improvement effects. This article summarizes the research progress on chemical components and pharmacology of *Pheretima* in recent years for providing a basis for pheretima drug development and clinical application.

Key words: *Pheretima*; chemical composition; anti-thrombus; cardioprotection; anti-tumor

地龙(*Pheretima*)分为广地龙和沪地龙, 广地龙来源于钜蚓科动物参环毛蚓 *Pheretima aspergillum* E. Perrier 的干燥体, 主产地为广东、广西、海南等; 沪地龙为通俗环毛蚓 *P. vulgaris* Chen、威廉环毛蚓 *P. guillelmi* Michaelsen 或栉盲环毛蚓 *P. pectinifera* Michaelsen 的干燥体, 主产地为上海、江苏、山东等^[1]。地龙具有清热定惊、通络、平喘、利尿等功效, 临床多用于治疗高热神昏、关节痹痛、肢体麻木、半身不遂、肺热咳喘等症^[2]。地龙最初记载于汉代《神农本草经》, 称为“白颈蚯蚓”, 最佳采收期主要在夏末秋初^[1,3]。

地龙主要含有氨基酸类、多肽类、核苷类和脂

肪酸类等化学成分^[4]。现代研究表明地龙具有抗炎、抗血栓、抗纤维化和抗肿瘤等药理作用^[5-8]。地龙作为传统动物源中药之一, 临床应用药效显著, 是脑心痛胶囊^[9]、疏血通注射液^[10]、止咳平喘丸^[11]和复方地龙胶囊^[12]等中成药重要的原料, 已广泛用于治疗脑卒中^[13]、糖尿病^[14]、哮喘^[15]等病, 可改善高血压^[16]、高血糖^[17]、高血脂^[18]等症。笔者对地龙的化学成分及药理活性研究进展进行总结, 旨在为推进地龙的深入研究与临床安全用药奠定基础, 并为新药研发提供依据。

1 化学成分

地龙在临床上应用广泛, 早在1974年就已开展

收稿日期: 2021-12-02

基金项目: 国家重点研发计划资助项目(2019YFC1711000)

第一作者: 商 焯(1997-), 男, 硕士研究生在读, 主要从事中药质量标准研究。E-mail: sytjutcm@126.com

*通信作者: 常艳旭, 研究员, 研究方向为中药质量标准。E-mail: tcmcyx@126.com

相关活性成分的研究^[19]。地龙的主要化学成分包括氨基酸类、多肽类、核苷类和有机酸类等,《中国药典》2020年版以赖氨酸、亮氨酸和缬氨酸为地龙的薄层鉴别指标。

1.1 氨基酸类

地龙中含有包括人体必需氨基酸在内的20余种氨基酸类成分,包括环甲基色氨酸^[20]、*N*-(2-甲氧基苄基)丝氨酸^[21]、果糖苯丙氨酸^[21]和*N*-(甲氧羰基)-*L*-苯丙氨酸^[21]。甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、赖氨酸、精氨酸、 γ -氨基丁酸、脯氨酸、谷氨酸、蛋氨酸、色氨酸、苯丙氨酸、门冬氨酸、丝氨酸、组氨酸、胱氨酸、苏氨酸、酪氨酸、异亮氨酸、天门冬酰胺和羟脯氨酸在广地龙、沪地龙中均有分布^[4]。

1.2 肽及蛋白质类

研究人员从广地龙中鉴别出小分子肽段,包括环(*L*-脯氨酸-*L*-缬氨酸)^[20]、谷酰基苯丙氨酸^[20]、环(*L*-脯氨酸-*L*-缬氨酸)^[20]、谷酰基苯丙氨酸^[20]、环(*L*-脯氨酸-*L*-亮氨酸)^[20]、*L*-脯氨酰-*L*-亮氨酰-*L*-亮氨酰甘氨酸^[20]、环(*L*-脯氨酸-*L*-苯丙氨酸)^[20]、丙氨酰苯丙氨酸^[21]、亮氨酰苯丙氨酸^[21]和组氨酰天冬酰胺^[21]。地龙中蛋白质类成分包括蚓激酶^[4]、蚯蚓素^[22]和蚯蚓解热碱^[22]在广地龙、沪地龙中普遍存在。已有文献证实地龙肽及蛋白质类成分具有催产、抗菌、抗炎、镇痛的药理活性^[23-25]。

1.3 碱基及核苷类

地龙中碱基及核苷类成分包括尿嘧啶、次黄嘌呤、黄嘌呤、腺嘌呤、鸟苷、鸟嘌呤、肌苷、2'-脱氧鸟苷、腺苷、尿苷^[4]。此外,研究人员从广地龙中鉴定出腺苷酸琥珀酸核苷和3-苄基黄嘌呤^[21]。临床上常以核苷类药物用于治疗病毒性疾病,如带状疱疹、病毒性肝炎等^[26-27]。多项定量研究表明黄嘌呤和肌苷在地龙中含量较高,可为地龙标准化质量控制提供可靠依据^[28]。

1.4 有机酸类

地龙含有丰富的有机酸,分为饱和脂肪酸、不饱和脂肪酸和其他羧酸类成分。研究人员从广地龙中鉴别出5,8,11-二十碳三烯酸^[20]、二十碳五烯酸^[20]、9-氨基-1,3,9-壬烷二羧酸^[21]、3-甲基-2,6-二氧代-4-己烯酸^[21]、18-羟基-二十碳五烯酸^[21]、十二烷酸^[21]、十三烷酸^[21]、9-十四碳烯酸^[21]、肉豆蔻酸^[21]、亚麻酸^[21]、十五烷酸^[21]、4,7,10,13,16,19-二十二碳六烯酸^[21]、花生四烯酸^[21]、二十二碳五烯酸^[21]、亚油酸^[21]、棕榈酸^[21]、8,11,14-二十碳三烯酸^[21]、硬脂酸^[21]、10,13,16,19,22,25-十二碳六烯

酸^[21]、17-甲基-6-十八碳烯酸^[21]、十七烷酸^[21]、丙酸^[29]和2-甲基丁酸^[29]。从广地龙和沪地龙中均检测到神经酸^[4]、烟酸^[4]、琥珀酸^[4]、(*S*)-2-[(苄氧基)羰基]氨基}-5-羟乙基-5-戊烷酸^[30]、肉豆蔻烯酸^[31]、棕榈烯酸^[31]、油酸^[31]、花生酸^[31]、山萘酸^[31]、芥子酸^[31]、二十二碳四烯酸^[31]、鳕鱼酸^[31]、二十二碳六烯酸^[31]和二十四烷酸^[31]。目前已有文献证实脂肪酸具有显著的抗炎、抗肿瘤和调节血脂的药理活性^[32-34]。

1.5 无机元素类

地龙在土壤里生长发育过程中会富集土壤中的微量元素及重金属元素。微量元素如铁、铜和铬等^[35]在机体代谢过程中发挥重要作用。重金属元素如汞、铅和镉等^[36]是非必需金属元素,当超过一定浓度时会对人体产生毒副作用。《中国药典》2020年版规定地龙重金属含量不得超过30 mg·kg⁻¹。

1.6 其他成分

除上述成分外,研究人员还从地龙中检测出醛酮类成分(2-哌啶酮、糠醛等)^[21]、酰胺类成分(*N*-乙酰基苯甲酸乙酯、花生四烯酰胺等)^[21]、杂环类成分(2-甲基吡嗪、2-乙基吡嗪等)^[29]、磷脂类成分(溶血血小板激活因子C-18)^[20]和烃、醇、酚、甾等其他类型化学成分(新麦角甾烯、三甲胺等)^[29]。

2 药理活性

地龙为中医临床常用药材,历代古籍已明确记载其具有止咳平喘、祛瘀通络、清热化痰等多种功效。药理研究表明地龙具有抗炎、抗菌、抗病毒、抗肿瘤、抗纤维化等多种药理活性。近年来,随着对地龙化学成分及药理活性研究的深入,已成为国内外的研究热点,其对心脑血管系统、呼吸系统、神经系统、抗肿瘤、皮肤系统作用的药理研究较多。

2.1 对心脑血管系统作用

近年来,中国心脑血管系统疾病发病率和死亡率持续升高,每年造成死亡人数高达数十万人。地龙是祛瘀通脉3大圣药之一,具有活血化瘀、疏通经络的功效,对高血压、高血糖、高血脂、脑卒中等代谢、心脑血管疾病有良好的疗效^[37]。

2.1.1 抗血栓 有文献报道,地龙中与纤溶活性相关的组分主要为脂肪酸、蛋白质及一些游离氨基酸^[30, 38]。研究人员在地龙总蛋白中分离纯化出新型蚓激酶(PvQ),可使纤维蛋白溶解为可溶性多肽,其效价为247 U·g⁻¹,约为蚓激酶115 U·g⁻¹的2倍。在活体溶栓活性评价实验中,发现给予盐酸肾上腺素诱导的血管损伤血栓模型斑马鱼10 ng PvQ可显

著抑制血栓的形成,其抑制率可达67.3%^[6]。研究表明0.5~6.0 mmol·L⁻¹肌苷能浓度相关地抑制牛血清白蛋白和花生四烯酸诱导的血小板聚集,其半数抑制浓度(IC₅₀)分别为1.7、3.0 mmol·L⁻¹。同时,ip肌苷100、150 mg·kg⁻¹可减轻大鼠中动脉阻塞诱导的大鼠局灶性脑缺血。给模型小鼠颈静脉灌注肌苷400 mg·kg⁻¹可显著延长肠系膜小静脉血小板阻塞形成的潜伏期^[39]。

2.1.2 心脏保护作用 有学者发现地龙提取物31.25~250 mg·mL⁻¹预处理H9c2成心肌细胞24 h可显著抵抗高氯化钾诱导的纤维化介质细胞外信号调节激酶1/2(ERK1/2)、尿激酶纤溶酶原激活剂(uPA)、转录因子特化蛋白1(SP1)和结缔组织生长因子(CTGF)水平上调,进而抑制心肌纤维化。经免疫印迹(Western blotting)分析可知,地龙可恢复胰岛素样生长因子1受体(IGF-1R)和磷酸化蛋白激酶B(p-Akt)水平,上调磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(PI3K/Akt)通路,减轻高浓度氯化钾诱导的成心肌细胞线粒体损伤和促纤维化,抑制信息细胞凋亡^[40]。广地龙70%乙醇提取物62.5~500 μg·mL⁻¹与H9c2心肌细胞预孵育1 h后,用脂多糖(LPS)刺激24 h后以MTT法和乳酸脱氢酶(LDH)监测细胞存活率。结果表明地龙醇提取物可作用于死亡受体途径和线粒体依赖途径,激发抗凋亡蛋白B淋巴瘤-2(Bcl-2)和B淋巴瘤-2(Bcl-xL),下调促凋亡蛋白肿瘤坏死因子-α(TNF-α),从而剂量相关地抑制LPS诱导的心肌细胞凋亡^[41]。

2.1.3 改善代谢综合征 地龙及其复方具有改善血栓前状态、改善血液流变学特性、调节血脂代谢紊乱等药理活性,进而达到治疗糖尿病肾病的作用^[42]。研究人员使用地龙水煎剂0.25 g·kg⁻¹给大鼠iv给药,发现其血压迅速显著降低。同时,从地龙脂质中分离纯化出类血小板活化因子,并以生物检定法测得其含量约为90~130 ng·g⁻¹,且发现其对血小板活化因子(PAF)特异性拮抗剂CV6209有拮抗作用^[43]。给自发性高血压大鼠ig地龙降压胶囊25、50、100 mg·kg⁻¹ 15 d后血压显著下降,经聚合酶链式反应(PCR)检测血液mRNA,发现地龙蛋白主要改善组织缺氧和影响血小板活化及聚集相关的miRNAs(miRNA-233、miRNA-96、miRNA-130a、miRNA-155和miRNA34a-5p)表达,进而发挥降血压作用^[44]。针对高脂饮食诱发的高脂血症大鼠,连续ig地龙活性蛋白50、100、200 mg·kg⁻¹·d⁻¹共4周,可显著提高模型大鼠血清中高密度脂蛋白胆固醇

(HDL-C)水平,降低总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平,肝脏脂肪泡由密集分布于肝脏中转变为分布在肝小叶边缘位置。因而表明地龙可通过调节蛋白质酶、肝脂酶活性并加强肠内胆固醇代谢,发挥调血脂疗效^[18]。

2.2 对呼吸系统的作用

地龙性味咸寒,归肝、肺、膀胱经,具有清热祛风、通络平喘的功效,对哮喘^[45]和慢性阻塞性肺疾病等^[46]呼吸系统疾病有显著的改善及治疗作用。矽肺模型小鼠ip地龙提取物3 μg·d⁻¹,28 d后体内炎症细胞数量显著降低、肺泡结构破坏程度减轻。此外,在离体实验中发现地龙提取物可作用于人支气管上皮HBE细胞和人肺泡基底上皮A549细胞氧化应激相关通路,激活核因子E2相关因子2蛋白(Nrf2),避免二氧化硅破坏线粒体功能,抑制细胞凋亡^[7]。

气道重构是支气管哮喘的核心发病特征,地龙中琥珀酸与次黄嘌呤等成分具有抗炎、纤溶和抗组胺活性,可干预κB-转化生长因子β依赖通路、转化生长因子β/Smads信号途径和丝裂原活化蛋白激酶通路,对哮喘起到防治和逆转的作用^[47]。有学者为链霉素诱导的肺纤维化小鼠ig地龙70%乙醇提取物1.75、2.35、4.7 g·kg⁻¹,连续给药14 d后,地龙提取物组与醋酸泼尼松组小鼠右肺切片相似,说明地龙提取物可剂量相关地降低肺组织间隙充血和炎症细胞浸润程度。此外,该研究同时证实地龙可抑制体内转化生长因子β1(TGF-β1)和α-平滑肌收缩蛋白(α-SMA)因子表达,进而发挥抗肺纤维化的功效^[48]。

去除蛋白的广地龙水煎剂40~320 g·mL⁻¹与RAW264.7巨噬细胞共孵育2 h,与对照组相比其炎症介质前列腺素E₂(PGE₂)、TNF-α和促炎因子白细胞介素-1β(IL-1β)、白细胞介素-6(IL-6)水平显著降低,同时核因子-κB(NF-κB)的抑制蛋白(IκB)表达显著增强,一氧化氮合酶(iNOs)和环氧合酶-2(COX-2)的合成受到抑制,表明地龙中非蛋白质类成分可发挥抗哮喘活性^[5]。

2.3 对神经系统作用

有学者为坐骨神经缺损大鼠连续8周心脏注射地龙水提取物25.5 μL(31.25、125、500 μg·mL⁻¹),其神经横切面与对照组相比,髓轴突明显增多。在体外实验中,相同剂量地龙提取物与PC12神经细胞共孵育,可提升神经生长因子(NGF)诱导的细胞突起

生长上调生长蛋白 p43 和突触蛋白 I 表达,从而加快神经细胞损伤后恢复^[49]。

地龙 70% 乙醇提取物 31.25~1 000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 对神经细胞生长抑制剂丝裂原活化蛋白激酶 1(MEK1)、丝裂原活化蛋白激酶 2(MEK2)和 p38 通路酶抑制剂有拮抗作用。给药 24 h 可调节 RSC96 雪旺细胞 IGF-1 通路,抑制磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)蛋白表达,上调 ERK1/2 和 p38 介导的纤溶酶原激活剂(Pas)和基质金属蛋白酶 2/9(MMP2/9)水平,激活细胞迁移,从而发挥促进受损神经细胞再生作用,使细胞增殖率显著提高^[50]。

有文献指出长链不饱和脂肪酸可调控乙酰胆碱酯酶活性,维持神经细胞形态功能与信号传导的正常进行。地龙中含有丰富的长链不饱和脂肪酸,表明其可能通过此类成分发挥神经保护作用,但具体活性成分尚未见文献报道,有待进一步研究^[51]。

2.4 抗肿瘤

地龙及其复方常作为抗肿瘤药物应用于临床治疗。1994 年研制出的地龙胶囊对动物肿瘤抑制率高达 99%,临床中可显著减缓肺癌、食管癌恶化^[52]。地龙胶囊 50、100、200 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 给药 7 d 后,高剂量组 S180 荷瘤小鼠肿瘤显著减小;至给药 21 d,各组肿瘤显著减小,脏器指数显著提升。给荷瘤小鼠 ip 地龙胶囊连续 8 d,与对照组相比,血清中 TNF- α 水平显著升高,Bcl-2 与 Bcl 相关 X 蛋白(Bax)表达增强,小鼠 S180 肉瘤细胞生长显著被抑制^[53]。

有研究表明结肠癌模型小鼠持续给与地龙提取液 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$,12 d 后相比于对照组,其肿瘤组织体积增长速度明显减缓,血红蛋白 mRNA(CD31 和 CD105)表达水平显著降低,蛋白酪氨酸激酶(JAK)与转录激活子 3(STAT3)磷酸化水平显著降低。表明地龙可通过调节 JAK-STAT3 相关信号通路来发挥抗结肠癌的功效^[8]。

2.5 对皮肤系统作用

地龙促进创口愈合、减轻疤痕及治疗皮肤病的作用与其“收敛”功效显著相关^[54]。有研究将鲜地龙匀浆上清液(质量分数分别为 5% 和 10%)每天(第 1 天 4 h,后续 8 $\text{h}\cdot\text{d}^{-1}$)敷在 II 度烫伤小鼠表皮,直至伤口愈合。相比于空白对照组(23.6 \pm 1.7)d 伤口愈合时间,地龙组(18.6 \pm 1.3)d 与阳性药磺胺嘧啶银组(17.8 \pm 1.5)d,伤口愈合时间显著缩短,且组织水肿、炎症反应显著减轻,降低了感染率^[55]。此外,研究人员发现 sc 地龙注射液 4 $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 连续 7 d,可以抑制 McFarlane 皮瓣模型大鼠随意皮瓣坏死,

提高血管内皮生长因子表达,促进皮瓣新生血管形成,增加血管密度,产生促进伤口愈合的功效^[56]。

2.6 其他作用

地龙可治疗腰椎间盘突出和骨折等骨伤病,体外研究用广地龙水煎剂 0.5~6 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 处理成骨样细胞 MG-63,可上调碱性磷酸酶(ALP)、骨桥蛋白和骨钙蛋白表达,促进成骨细胞分裂,同时抑制其分化,从而加速新骨生成和骨伤愈合^[57]。地龙具有抗菌作用,自身会产生抗菌体液及蛋白,地龙冻干粉 20~60 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 对于金黄色葡萄球菌、奇异葡萄球菌和铜绿假单胞菌的生长均具有较强的抑制作用,当浓度达到 60 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,其抑菌活性与 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 氯霉素相当^[58]。

3 毒性研究

研究表明地龙应激分泌液与皮肤、黏膜接触不显示毒性,但透析后的蛋白质原液有剧毒,致死剂量为 0.242 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,静脉注射时可使昆明种小鼠出现呼吸急促、全身痉挛及立即死亡等中毒现象,聚丙烯酰胺凝胶电泳分析结果表明毒性蛋白主要的 2 条条带相对分子质量分别为 1.8×10^4 、 3.9×10^4 ^[59]。

研究人员从地龙饮片中提取得到的蛋白肽对大鼠未显示出毒性^[60],这可能是因为加工干燥等制备饮片过程中,一些毒性肽类及蛋白发生分解或失活,从而未表达出毒性。故而地龙在加工过程中应做好净制、干燥等炮制程序,降低毒性。另一方面,地龙可富集土壤中的重金属,对人体有一定损害,故而在收集时应做好重金属测评。

4 结语

地龙作为临床常用中药,药源丰富、疗效显著,已吸引国内外学者的广泛关注。通过查阅文献,归纳总结出地龙中的化学成分 99 个,其中氨基酸类成分 25 个、肽及蛋白质类成分 25 个、碱基及核苷类成分 12 个、有机酸类成分 37 个。地龙现代药理作用大多表现为呼吸系统、心脑血管系统及神经系统保护作用,临床多用于治疗哮喘、脑卒中及其后遗症等。

目前对于地龙对心脑血管的保护作用研究较为深入,地龙提取物可作用于 PI3K/Akt 等信号通路,调节 TNF- α 、ERK1/2 和 Akt 等关键蛋白,抑制血小板聚集与活化,改善微循环。地龙活性成分的研究主要集中于肽及蛋白质类和有机酸类成分。蚓激酶已成为临床常用的抗血栓药物,可有效溶栓,改善脑血管微循环。油酸、亚油酸等长链脂肪酸类具有多种药理活性,如调血脂、抗肿瘤、抗炎等,是

地龙治疗心脑血管系统疾病的重要物质基础。地龙定惊功效显著,对卒中后神经损伤恢复疗效较好,对卒中后造成的面瘫、截瘫^[54-55]等后遗症具有较好的应用前景。然而,目前有关地龙发挥神经系统保护作用的物质基础及药理作用机制研究尚不够深入。目前,揭示地龙对卒中后脑内神经保护与功能修复机制的研究报道较少,仅从细胞层面解释地龙可上调神经细胞生长相关蛋白表达水平促进神经细胞再生。今后,可通过建立酶、细胞和分子水平的药理模型,更加细致地明确地龙神经保护作用的活性成分及其体内代谢规律,以揭示治疗过程中关键的作用靶点和主要的作用通路。

2020年国家食品药品监督管理局药审中心发布的《中药新药研究各阶段药学研究技术指导原则(试行)》中明确指出中药复方制剂用饮片要求基原明确。目前虽有相关研究开展地龙基原鉴定及不同基原间差异性化学成分。然而,广地龙、沪地龙孰优孰劣,各自适应症与临床疗效有无区别尚无文献明确指出。另一方面,《中国药典》2020年版中“地龙”项下尚无含量测定项,其质量评价手段较为单一。因此,后续可建立适当病理模型,探究广地龙、沪地龙的药效学差异,同时结合现代分析手段,联用应用代谢组学、转录组学、网络药理学和分子对接等技术,明确地龙活性成分量效关系及其对各类疾病的作用机制、剂量范围等。同时在中医药特色理论指导下,筛选基于地龙不同功效和基原相关的质量标志物,建立多成分质量标准体系,从而为地龙的资源开发与利用、质量控制与分析、新药研发、中药二次开发和临床安全用药等奠定基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 关水清,周改莲,周文良,等.地龙的本草考证及现代研究概况[J].中国实验方剂学杂志,2020,26(10):205-212.
Guan S Q, Zhou G L, Zhou W L, et al. Herbal textual research and modern analysis of *Pheretima* [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2020, 26(10): 205-212.
- [2] 中国药典[S].一部.2020.
Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume I. 2020.
- [3] Bayley M, Overgaard J, Høj A S, et al. Metabolic changes during estivation in the common earthworm *Aporrectodea caliginosa* [J]. Physiol Biochem Zool, 2010, 83(3): 541-550.
- [4] Jing X Z, Wen Z Y, Shuang L R, et al. An intelligentized strategy for endogenous small molecules characterization and quality evaluation of earthworm from two geographic origins by ultra-high performance HILIC/QTOF MS(E) and Progenesis QI [J]. Anal Bioanal Chem, 2016, 408(14): 3881-3890.
- [5] Huang C Q, Li W, Zhang Q F, et al. Anti-inflammatory activities of *Guang-Pheretima* extract in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 murine macrophages [J]. BMC Complement Altern Med, 2018, 18(1): 46.
- [6] Yang W, Wang W, Ma Y, et al. Bioevaluation of *Pheretima vulgaris* antithrombotic extract, PvQ, and isolation, identification of six novel PvQ-derived fibrinolytic proteases [J]. Molecules, 2021, 26(16): 4946.
- [7] Yang J J, Wang T, Li Y, et al. Earthworm extract attenuates silica-induced pulmonary fibrosis through Nrf2-dependent mechanisms [J]. Lab Invest, 2016, 96(12): 1279-1300.
- [8] 刘松江,孙 娟,闫 璐.地龙提取液对小鼠结肠癌移植瘤血管新生的抑制作用[J].上海中医药大学学报,2018,32(1):70-73.
Liu S J, Sun Y, Yan J. Inhibition effects of Dilong extract on angiogenesis in mice with colon cancer xenograft [J]. J Shanghai Univ Tradit Chin Med, 2018, 32(1): 70-73.
- [9] Du K, Cui Y, Chen S, et al. An integration strategy combined progressive multivariate statistics with anticoagulant activity evaluation for screening anticoagulant quality markers in Chinese patent medicine [J]. J Ethnopharmacol, 2022, 287: 114964.
- [10] Wei J, Ma W, Yao G, et al. A High Throughput HPLC-MS/MS method for antihypertensive drugs determination in plasma and its application on pharmacokinetic interaction study with Shuxuetong Injection in rats [J]. Biomed Res Int, 2019, 2019: 7537618.
- [11] 唐俊江,陈明达,谢长宏,等.止咳平喘丸的质量控制及临床观察[J].内蒙古中医药,2017,36(9):9.
Tang J J, Chen M D, Xie C H, et al. Quality control and clinical observation of Zhike Pingchuan Pill [J]. Inner Mongolia J Tradit Chin, 2017, 36(9): 9.
- [12] 徐玉玲,伍 月,李鹏程,等.基于酶活性的复方地龙胶囊质量标准再评价研究[J].中草药,2017,48(7):1340-1343.
Xu Y L, Wu Y, Li P C, et al. Re-evaluation for quality standard of compound lumbrical capsule based on enzyme activity [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2017, 48(7): 1340-1343.
- [13] Li N, Yang F, Zhao Z, et al. Efficacy and safety of Naoxintong Capsule for acute ischemic stroke: A protocol

- for systematic review and Meta-analysis [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2021, 100(34): e27120.
- [14] 孔旭萍, 高继宁, 韩康, 等. 基于数据挖掘的高继宁教授治疗糖尿病肾病气阴两虚兼湿瘀证用药规律研究 [J]. *亚太传统医药*, 2021, 17(7): 155-158.
- Kong X P, Gao J N, Kang H, et al. Exploration of medication rules of Gao Jining treating diabetic kidney disease with both Qi and Yin deficiency and wet stasis syndrome based on data mining [J]. *Asia-Pac Tradit Med*, 2021, 17(7): 155-158.
- [15] 宿献周. 桑杏地龙汤治疗支气管哮喘热哮证50例 [J]. *光明中医*, 2020, 35(9): 1386-1388.
- Su X Z. Treatment of 50 cases of bronchial asthma with heat asthma syndrome with Sangxing Dilong Decoction [J]. *Guangming J Chin Med*, 2020, 35(9): 1386-1388.
- [16] 赵信科, 刘斌, 蒋虎刚, 等. 地龙降压胶囊对自发性高血压大鼠RAAS系统调控机制的研究 [J]. *中药药理与临床*, 2020, 36(2): 167-170.
- Zhao X K, Liu B, Jiang H G, et al. Regulating mechanism of Dilongjiangya Capsules on RAAS system in spontaneously hypertensive rats [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med*, 2020, 36(2): 167-170.
- [17] 何洋, 黄源达, 关焕玉, 等. 复方龙芪汤对2型糖尿病大鼠周围神经病变的作用和机制 [J]. *中华中医药学刊*, 2019, 37(11): 2694-2698.
- He Y, Huang Y D, Guan H Y, et al. Effect of compound Long-Qi decoction on peripheral neuropathy in type 2 diabetic rats [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2019, 37(11): 2694-2698.
- [18] 袁渊, 沈宏萍, 殷杰, 等. 地龙活性蛋白对实验性高血脂血症大鼠的调脂作用及其机制 [J]. *中国医院药学杂志*, 2018, 38(3): 239-241.
- Yuan Y, Shen H P, Yin J, et al. The effect and mechanism of earthworm active protein on lipid regulation in experimental hyperlipidemia rats [J]. *Chin J Hosp Pharm*, 2018, 38(3): 239-241.
- [19] 格小光, 蒋超, 田娜, 等. 基于DNA测序技术的市售地龙类药材基原调查与考证研究 [J]. *中国现代中药*, 2019, 21(9): 1206-1214.
- Ge X G, Jiang C, Tian N, et al. DNA sequencing to identify zoological origin of commercial pheretima from Chinese herbal markets and discussion on herbal textual research [J]. *Mod Chin Med*, 2019, 21(9): 1206-1214.
- [20] Tao F C, Yu H Z, Ji Y, et al. Investigation of the chemical compounds in *Pheretima aspergillum* (E. Perrier) using a combination of mass spectral molecular networking and unsupervised substructure annotation topic modeling together with in silico fragmentation prediction [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2020, 184: 113197.
- [21] 张玉, 董文婷, 霍金海, 等. 基于UPLC-Q-TOF-MS技术的广地龙化学成分分析 [J]. *中草药*, 2017, 48(2): 252-262.
- Zhang Y, Dong W T, Huo J H, et al. Analysis on chemical constituents of *Pheretima aspergillum* by UPLC-Q-TOF-MS [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2017, 48(2): 252-262.
- [22] Zhang H, Wang Y H, Cao H W, et al. Purification of a protein from coelomic fluid of the earthworm *Eisenia foetida* and evaluation of its hemolytic, antibacterial, and antitumor activities [J]. *Pharm Biol*, 2011, 49(3): 269-275.
- [23] Oumin T, Ukena K, Matsushima O, et al. Annelid oxytocin-related peptide, induces egg-laying behavior in the earthworm *Eisenia foetida* [J]. *J Exp Zool*, 1996, 276(2): 151-156.
- [24] Liu Y Q, Sun Z J, Wang C, et al. Purification of a novel antibacterial short peptide in earthworm *Eisenia foetida* [J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2004, 36(4): 297-302.
- [25] Li C L, Chen M R, Li X J, et al. Purification and function of two analgesic and anti-inflammatory peptides from coelomic fluid of the earthworm *Eisenia foetida* [J]. *Peptides*, 2017, 89: 71-81.
- [26] Sinkrot H, Smerat T, Najjar A, et al. Advanced prodrug strategies in nucleoside and non-nucleoside antiviral agents: A review of the recent five years [J]. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 2017, 22(10): 1736.
- [27] 杨忠玉. 自制地龙韭根膏治疗带状疱疹的临床效果观察 [J]. *内蒙古中医药*, 2014, 33(28): 7.
- Yang Z Y. Clinical observation of self-made Dilong Jiugen Ointment in the treatment of herpes zoster [J]. *Inner Mongolia J Tradit Chin Med*, 2014, 33(28): 7.
- [28] Sun J, Tian F, Zhang Y, et al. Chromatographic fingerprint and quantitative analysis of commercial *Pheretima aspergillum* (Guang Dilong) and its adulterants by UPLC-DAD [J]. *Int J Anal Chem*, 2019, 2019: 4531092.
- [29] 刘晓梅, 张存艳, 刘红梅, 等. 基于电子鼻和HS-GC-MS研究地龙腥味物质基础和炮制矫味原理 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(12): 154-161.
- Liu X M, Zhang C Y, Liu H M, et al. Study on material basis and processing principle of fishy smell of *Pheretima aspergillum* by electronic nose and HS-GC-MS [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2020, 26(12): 154-161.
- [30] Chu X P, Zhao T, Zhang Y Y, et al. Determination of 13 free fatty acids in *Pheretima* using ultra-performance LC-ESI-MS [J]. *Chromatographia*, 2009, 69(7/8): 645-652.
- [31] 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.
- Xiao J P, Zhang W Y, Yang X, et al. Study on fatty acids in *Pheretima* [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2010,

- 21(11): 2760-2762.
- [32] Chu X, Xu Z, Wu D, et al. *In vitro* and *in vivo* evaluation of the anti-asthmatic activities of fractions from *Pheretima* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2007, 111(3): 490-495.
- [33] Luu M, Riester Z, Baldrich A, et al. Microbial short-chain fatty acids modulate CD8⁺ T cell responses and improve adoptive immunotherapy for cancer [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 4077.
- [34] Basson A R, Chen C, Sagl F, et al. Regulation of intestinal inflammation by dietary fats [J]. *Front Immunol*, 2021, 11: 604989.
- [35] 李晓东. 不同品种地龙中微量元素及重金属元素含量分析 [J]. *黑龙江科技信息*, 2016(28): 94.
Li X D. Quantification of trace elements and heavy metals in different varieties of *Pheretima* [J]. *Heilongjiang Technol Inf*, 2016(28): 94.
- [36] 王艺舟, 曲国峰, 李敏, 等. 六种常见中药材钾、硫、铬、锰、钒、锆元素含量的研究 [J]. *核技术*, 2019, 42(6): 51-59.
Wang Y Z, Qu G F, Li M, et al. Potassium, sulfur, chromium, manganese, vanadium and zircon content in six species of Chinese traditional medicines [J]. *Nucl Tech*, 2019, 42(6): 51-59.
- [37] 万青. 祛瘀通脉三圣药 [J]. *心血管病防治知识*, 2009(6): 54-55.
Wan Q. Three holy herbs for removing blood stasis and clearing pulse [J]. *Prev Treat Cardiovasc Dis*, 2009(6): 54-55.
- [38] 于小钧, 张兵, 薛晴, 等. 2种地龙饮片不同提取法体外抗凝活性对比研究 [J]. *中国现代应用药学*, 2021, 38(23): 2955-2960.
Yu X J, Zhang B, Xue Q, et al. Comparative study on anticoagulant activity in vitro of two kinds of *Pheretima* by different extraction methods [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*, 2021, 38(23): 2955-2960.
- [39] George H, Lin K H, Chang Y, et al. Protective mechanisms of inosine in platelet activation and cerebral ischemic damage [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25(9): 1998-2004.
- [40] Huang P C, Shibu M A, Kuo C H, et al. *Pheretima aspergillum* extract attenuates high-KCl-induced mitochondrial injury and pro-fibrotic events in cardiomyoblast cells [J]. *Environ Toxicol*, 2019, 34(8): 921-927.
- [41] Li P C, Tien Y C, Day C H, et al. Impact of LPS-induced cardiomyoblast cell apoptosis inhibited by earthworm extracts [J]. *Cardiovas Toxicol*, 2015, 15(2): 172-179.
- [42] 马艳春, 周波, 宋立群, 等. 地龙成分对高糖刺激下人肾小球系膜细胞转化生长因子 β 1和结缔组织生长因子表达的研究 [J]. *中成药*, 2011, 33(3): 410-414.
Ma Y C, Zhou B, Song L Q, et al. Effects of earthworm on transforming growth factor of human glomerular mesangial cells stimulated by high glucose β 1 and connective tissue study on the expression of growth factor [J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2011, 33(3): 410-414.
- [43] 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, 764.
Cheng N N, Ma Y M. Platelet activating factor like substances in earthworm [J]. *Chin J Chin Mater Med*, 1993, 18(12): 747-749, 764.
- [44] 王碧莹, 李应东, 刘永琦, 等. 地龙降压胶囊对自发性高血压大鼠凝血相关的血小板miRNAs的影响 [J]. *中国民族民间医药*, 2020, 29(1): 13-20, 34.
Wang B Y, Li Y D, Liu Y Q, et al. Effect of Dilong Antihypertension Capsule on miRNAs of coagulation-related platelets in spontaneously hypertensive rats [J]. *Chin J Ethnomed Ethnopharm*, 2020, 29(1): 13-20, 34.
- [45] 李为民, 罗汶鑫. 我国慢性呼吸系统疾病的防治现状 [J]. *西部医学*, 2020, 32(1): 1-4.
Li W M, Luo W X. Progress in the prevention and treatment of chronic respiratory diseases [J]. *Med J West Chin*, 2020, 32(1): 1-4.
- [46] 张晶, 李明, 姜彩霞, 等. 地龙饮子加味治疗慢性阻塞性肺疾病临床观察 [J]. *临床医药文献电子杂志*, 2016, 3(20): 4109-4112.
Zhang J, Li M, Jiang C X, et al. Clinical observation on treating chronic obstructive pulmonary disease with Dilong Yinzi [J]. *J Clin Med*, 2016, 3(20): 4109-4112.
- [47] 张秋风, 李薇, 吴晓东. 气道重构的发病机制与地龙的药理作用 [J]. *医学综述*, 2018, 24(6): 1115-1120.
Zhang Q F, Li W, Wu X D. Research of pathogenesis of bronchial asthma airway remodeling and pharmacological effects of earthworm [J]. *Med Rev*, 2018, 24(6): 1115-1120.
- [48] 王慧慧, 蒙艳丽, 杨志敏, 等. 地龙对肺纤维化小鼠肺组织中纤维化因子TGF- β 1及 α -SMA表达的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2019, 44(24): 5473-5478.
Wang H H, Meng Y L, Yang Z M, et al. Effect of Dilong on expression of fibrogenic factors TGF- β 1 and α -SMA in lung tissue of mice with pulmonary fibrosis [J]. *Chin J Chin Mater Med*, 2019, 44(24): 5473-5478.
- [49] Chen C T, Lin J G, Lu T W, et al. Earthworm extracts facilitate PC12 cell differentiation and promote axonal sprouting in peripheral nerve injury [J]. *Am J Chin Med*, 2010, 38(3): 547-560.
- [50] Chang Y M, Shih Y T, Chen Y S, et al. Schwann cell migration induced by earthworm extract via activation of PAs and MMP2/9 mediated through ERK1/2 and p38 [J].

- Evid Based Complement Alternat Med, 2011, 2011: 395458.
- [51] Ren Y H, Houghton P, Hider R C. Relevant activities of extracts and constituents of animals used in traditional Chinese medicine for central nervous system effects associated with Alzheimer's disease [J]. J Pharm Pharmacol, 2006, 58(7): 989-996.
- [52] 孙朝阳. 抗癌新药地龙胶囊通过专家鉴定 [J]. 解放军医学情报, 1994(3): 56.
Sun C Y. Dilong Capsule, a new anticancer drug, passed expert appraisal [J]. Med inf Chin PLA, 1994(3): 56.
- [53] 何悦, 肖会敏, 康晓刚, 等. 地龙胶囊及其主成分对小鼠移植瘤S₁₈₀辐射增敏的研究 [J]. 西北药学杂志, 2019, 34(5): 622-628.
He Y, Xiao H M, Kang X G, et al. Study on the radiosensitizing effect of Dilong Capsules and its main components in S₁₈₀ sarcoma-bearing mice [J]. Northwest Pharm J, 2019, 34(5): 622-628.
- [54] 张理平. 浅探地龙的收敛功效 [J]. 福建中医药, 1992, 23(3): 56.
Zhang L P. The convergence effect of earthworm [J]. Fujian J Tradit Chin Med, 1992, 23(3): 56.
- [55] Zhang M, Li X, Liu Y, et al. Effects of extract of dilong (*Pheretima*) on the scalded skin in rats [J]. J Tradit Chin Med, 2006, 26(1): 68-71.
- [56] Xu L, Lin D, Cao B, et al. Effects of traditional Chinese medicine, Dilong Injection, on random skin flap survival in rats [J]. J Invest Surg, 2018, 31(1): 38-43.
- [57] Fu Y T, Chen K Y, Chen Y S, et al. Earthworm (*Pheretima aspergillum*) extract stimulates osteoblast activity and inhibits osteoclast differentiation [J]. BMC Complement Altern Med, 2014, 14: 440.
- [58] Prakash M, Gunasekaran G. Antibacterial activity of the indigenous earthworms *Lampito mauritii* (Kinberg) and *Perionyx excavatus* (Perrier) [J]. J Altern Complement Med, 2011, 17(2): 167-170.
- [59] 张祖珣, 何俐明, 于培兰, 等. 蚯蚓毒素及其去除方法的初步研究 [J]. 中国生化药物杂志, 2001, 22(3): 112-113.
Zhang Z X, He L M, Yu P L, et al. A preliminary study on the toxin of earthworm and the methods to take it off [J]. Chin J Biochem Pharm, 2001, 22(3): 112-113.
- [60] 朱振平, 刘志丹, 于婷, 等. 地龙蛋白肽30 d经口染毒对Wistar大鼠的亚急性毒性作用 [J]. 毒理学杂志, 2019, 33(2): 169-171.
Zhu Z P, Liu Z D, Yu T, et al. Subacute toxicity of earthworm protein peptide on Wistar rats after oral administration for 30 days [J]. J Toxicol, 2019, 33(2): 169-171.
- [61] 吕秀武, 区健刚, 董文韬, 等. 复方地龙胶囊治疗缺血性中风恢复期临床疗效分析 [J]. 黑龙江医药, 2020, 33(2): 296-297.
Lü X W, Qu J G, Dong W T, et al. Clinical analysis of Compound Dilong Capsule in the treatment of ischemic stroke in convalescent stage [J]. J Heilongjiang Med, 2020, 33(2): 296-297.
- [62] 郑彩平, 赵杨梅, 郭雨艳, 等. 虫药地龙治疗脑卒中偏瘫中医机理探讨 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(63): 279.
Zheng C P, Zhao Y M, Guo Y Y, et al. Discussion on the mechanism of traditional Chinese medicine in the treatment of hemiplegic cerebral apoplexy [J]. World Latest Med Inf, 2019, 19(63): 279.

[责任编辑 李红珠]