

蛴螬的化学成分及药理作用研究进展

董庆峰^{1,2}, 张崇禧¹, 张书锋^{2,3}, 张磊², 张汉明² (1. 吉林农业大学中药材学院, 吉林 长春 130118 2 第二军医大学药学院, 上海 200433 3 白求恩军医学院, 河北 石家庄 050081)

摘要 蛴螬在祖国传统医学中有着悠久的历史。有破血、行瘀、散结、通乳等功效, 用于治疗折损瘀痛、破伤风、喉痹、目翳等病症。目前蛴螬的具体化学成分不明确。现代药理研究表明该动物药具有抗肿瘤、保肝、治疗口疮等多种生物活性, 是一种极具研究和开发价值的动物药。

关键词 蛴螬; 化学研究; 药理研究; 临床应用

中图分类号: R282.74 **文献标识码**: A **文章编号**: 1006-0111(2008)01-00014-04

蛴螬为鳃金龟科动物东北大黑鳃金龟及其近缘动物的幼虫 (*Holotrichia dimphalia* larvae)^[1]。东北大黑鳃金龟又名大黑鳃角金龟、朝鲜黑金龟甲。分布于黑龙江至长江以南地区以及内蒙古、陕西等地。药材产于江苏、安徽、四川、河北、山东、河南和东北等地^[2]。在祖国传统中医药学中作为药材应用于临床, 具有广泛的用途。迄今有关蛴螬化学成分和药理活性方面的研究报道并不多。为了进一步研究和开发利用该动物药, 现将其化学、药理及临床应用方面的研究进展综述如下。

1 化学成分

通过对蛴螬化学成分进行系统预试验表明蛴螬中含有氨基酸、多肽或蛋白质、糖类、生物碱、有机酸盐、甾体化合物等多种化学成分^[3]。《中国药用昆虫集成》中记载蛴螬还含有脂肪、外细胞糖酶、蔗糖酶等多种酶^[4]。此外国外有文献报道蛴螬含有两种酚氧化酶原 (Propo-I 和 Propo-II) 和三种酚氧化酶原活化因子 (PPAF-I、PPAF-II 和 PPAF-III)^[5,6], 韩国学者 Piao 等^[7]还从蛴螬中得到了酚氧化酶原活化因子 PPAF-II 的高纯度单晶。

张庆镐等^[8]分析了蛴螬的矿物元素和维生素含量。结果表明蛴螬中含有多种对人体健康有益的矿物元素和维生素, Cu、Mn 含量非常丰富, Ca、Mg、Cr、Fe、Zn 和 B 族维生素的含量较高, K/Na 的比值也很高。另外有毒有害元素 Cd、Pb 的含量都小于 1%, 远低于国家限定范围^[8]。谢继锋^[9]利用 2,4-二硝基苯肼法测定了蛴螬脂肪体中抗坏血酸的含量, 达 0.1 mg/g 大大高于脊椎动物血浆中抗坏血

酸的含量。

2 药理学作用

2.1 对离体动物器官作用 蛴螬水浸液 1:10 000 浓度对兔冠状血管、离体兔耳血管、蟾蜍肺血管皆有收缩作用; 1:1 000 浓度能兴奋离体心脏, 浓度更高则导致舒张期停止; 1:1 000 以上能兴奋离体兔子子宫, 收缩蟾蜍内脏血管; 1:100 能抑制离体兔肠管。大剂量有利尿作用, 但对血压无影响 (急性兔试验)。

2.2 抗肿瘤作用 有研究表明蛴螬不同溶剂提取液具有一定的抗肿瘤活性。科研人员用蛴螬提取物对 S₁₈₀肉瘤细胞、人宫颈癌 HeLa 细胞和 MGC-803 胃癌细胞作了抗癌活性的研究, 取得了很好的实验结果。

李基俊等^[10]用生理盐水 15 mL/kg 0.66、1.32、2.64 g/kg 蛴螬提取液对接种 S₁₈₀肉瘤细胞的小鼠灌胃给药连续 10 d 后进行瘤重和光镜观察。发现 0.66、1.32、2.64 g/kg 的蛴螬提取液对 S₁₈₀肉瘤生长抑制率分别为 16%、29%、68%。高剂量组的抑制率和镜检淋巴细胞浸润坏死均高于对照组。由此看出蛴螬提取物对小鼠 S₁₈₀肉瘤有抑制作用并呈剂量依赖性。

宋莲莲等^[11]通过 MTT 法研究蛴螬石油醚提取物对人宫颈癌 HeLa 细胞增殖和凋亡作用的影响。发现随着作用时间延长和浓度的提高, 凋亡率升高 ($P < 0.01$); 表现为时间依赖性和剂量依赖性。说明蛴螬石油醚提取物对 HeLa 细胞具有抑制增殖及诱导凋亡作用。

金哲等^[12]做了蛴螬提取物对 MGC-803 胃癌细胞诱导凋亡和抑制作用方面的研究。用蛴螬提取物 (终浓度为 4 mg/mL) 作用于 MGC-803 胃癌细胞 24 h 后, 可见胞核固缩、胞核碎裂、凋亡小体形成等凋

作者简介: 董庆峰 (1979-), 男, 硕士生, E-mail: dongqingfeng@126.com

通讯作者: 张磊, E-mail: zhangle@snnu.edu.cn

张汉明, E-mail: hmzhang@snnu.edu.cn

亡形态学变化, MGC-803细胞的凋亡率和破膜率分别为 86.3% 和 41.9%, 均高于自然凋亡率和破膜率。由此研究者得出结论: 蛭螭提取物在体外对人 MGC-803胃癌细胞株有显著性抗增殖及诱导凋亡作用。

韩国学者 Kang等^[13]用蛭螭乙醇提取物对小鼠腹膜巨噬细胞进行了体外试验。采用多种剂量的乙醇提取物(0.1、1、10 μg/mL)作用于巨噬细胞 20 d 发现蛭螭乙醇提取物对巨噬细胞具有诱导杀灭肿瘤, 增加肿瘤坏死因子产量的作用, 并呈药物浓度依赖性。

孙百研等^[14]进行了蛭螭联用羟基喜树碱体外对人 MGC-803胃癌细胞株的抗增殖及药物敏感性的研究, 发现蛭螭联用羟基喜树碱在体外对人 MGC-803胃癌细胞株有显著性抗增殖作用, 说明蛭螭与其他药物合用具有很好的抗肿瘤作用。

蛭螭为中药抑癌灵口服液组方之一。李基俊等^[15]通过实验探讨抑癌灵抗肿瘤作及其作用机制。低、中、高剂量组对小鼠 S₁₈₀肉瘤的抑制率分别为 15%、35% 和 54%, 表明抑癌灵对小鼠 S₁₈₀实体瘤有明显的抑制作用。从实验结果中看出高剂量组的抑制率最好, 应进一步探讨其作用机制。

2.3 保肝作用 韩国学者 Oh等^[16]以水飞蓟素作阳性对照, 对蛭螭作了保肝作用的研究。用蛭螭单味药作用于由氯仿(200 μL/kg ip)和 β-D氨基半乳糖(600 mg/kg ip)诱导的急性损伤肝细胞, 降低了小鼠体内血浆中转氨酶的活性。研究者还发现肝硬化模型小鼠经过 4 周的蛭螭给药治疗后, 同时降低了血浆中丙氨酸转氨酶、天冬氨酸转氨酶以及碱性磷酸酶的活性和肝脏中羟脯氨酸的含量, 使模型小鼠肝脏切片的组织学外观得到了改善, 保肝作用要强于水飞蓟素。以上结果说明, 蛭螭在一定程度上可以降低肝细胞损害, 提示其可以用于肝硬化和急性肝损伤的治疗。

2.4 抗菌作用 抗菌肽(antimicrobial peptides, AMP)是具有抗菌活性短肽的总称。AMP 具有广谱抗菌活性, 对细菌有很强的杀伤作用, 尤其是其对某些耐药性病原菌的杀灭作用。蛭螭体内含有多种 AMP。1994 年韩国学者 Lee等^[17]从体内注射大肠杆菌的蛭螭血淋巴中纯化得到抗菌肽 hobtricin 2 实验表明这种蛋白能抑制革兰阴性菌的生长。次年他们又从蛭螭体内得到了抗菌肽 holotricin 1^[18] 和 hobtricin 3^[19], 通过实验表明 holotricin 1 对革兰阳性菌有很强的抗菌活性, 但对革兰阴性菌的抗菌活性不明显。2006 年韩国学者 Ju等^[20]从蛭螭的匀质无细胞的血浆中得到了脂多糖(lipopolysaccharide,

LPS)的识别蛋白(LPS recognition protein, LRP)。LRP 对大肠杆菌有凝固作用, 对金黄色葡萄球菌和白色念珠菌则无效。由此表明蛭螭在抗菌消炎方面有一定的应用前景。

3 临床应用

蛭螭在中医临床上有较广泛的应用。其单用治疗破伤风、口疮, 与其它药物组方治疗小儿哮喘、中风、血吸虫病肝硬化等症均取得了满意的疗效。可见蛭螭的临床应用潜力很大。

3.1 治疗破伤风 蛭螭在治疗破伤风方面有疗效显著, 治愈率高, 显效快的特点。治疗破伤风 14 例, 痊愈 11 例, 死亡 3 例。有效病例均在 15~30 min 张口自如, 喉痉挛消失或减轻, 口腔分泌物显著减少, 能吞咽食物和药物。

3.2 治疗口疮 一种方法是蛭螭单用治疗口疮。本法简便易行, 效果好^[21]。另一种方法是与其他药物配合使用, 治疗口疮。经治疗 1~3 d 痊愈 21 例, 4~5 d 痊愈 32 例, 5~7 d 痊愈 7 例, 无效 3 例, 治愈率 95%。蛭螭蛭矾散外治口疮具有高效速效之特点^[22]。

3.3 治疗小儿哮喘 蛭螭与多种药物组方, 外敷治疗小儿哮喘取得了满意的效果。杜全成^[23]用蛭螭等多味中药外敷涌泉穴治疗小儿支气管哮喘 72 例, 经治疗后 72 例全部缓解。其中用药 1 次完全缓解者 36 例, 2 次完全缓解者 24 例, 3 次完全缓解者 12 例。全部病例均随访, 3 年以上未见复发。

3.4 治疗中风 临床上应用蛭螭治疗中风, 取得了较好的疗效。王爱凤等^[24]应用含有蛭螭的血肿消口服液临床治疗中风病, 发现此方药能明显促进血肿吸收, 降低颅内压, 促进神经功能恢复。另外还能明显减少中风后呃逆、中枢性发热、出血后吸收热及应激性消化道出血的发生。

3.5 治疗血吸虫病肝硬化 傅昌格等^[25]用组方之一为蛭螭的软肝丸治疗血吸虫病肝硬化。临床观察表明软肝丸不仅在改善病人主症上疗效显著, 而且对血红蛋白、白细胞及血小板减少, 改善肝功能等方面都有很好的疗效。所治疗的 102 例中, 总有效率为 90.2%。50 例痊愈患者肝脏形态恢复正常, 42 例好转患者从 III、II 期恢复到 I 期; 软肝丸对 I、II、III 期疗效较好, 但是对晚期 IV 型伴有难治性腹水者疗效不够理想。

3.6 治疗咽喉肿痛、历节风和经闭 蓝雨田^[26]应用蛭螭治病已有多年经验。用蛭螭治疗咽喉肿痛、历节风和经闭, 消肿定痛速度快, 取得了令人满意的疗效。

3.7 其他临床应用 蛴螬为大黄蛰虫丸组方之一。大黄蛰虫丸的临床应用报道较多,治疗肝硬化、脑动脉硬化、席汉氏综合征等症^[27]。

刘焕华等^[28]用大黄蛰虫制剂治疗综合性手外伤,将综合性手外伤 152例随机平均分为治疗组和对照组。治疗组在常规治疗中加用大黄蛰虫酊、膏、液。结果表明治疗组在伤口愈合时间、疼痛持续时间、水肿时间和疤痕面积等方面显著优于对照组。同时治疗组(治疗中、治疗后)的甲襞微循环综合积分值、血液流变学及血清抗利尿激素(antidiuretic hormone, ADH)、皮质醇、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)结果均显著优于对照组。由此研究者认为大黄蛰虫制剂能显著改善甲襞微循环、血液流变学状态和降低血 ADH 水平,降低机体对创伤的应激性,内源性提高血浆 EGF 水平,对综合性手外伤有显著的促进愈合作用。

临床上有将蛴螬用水提取制成滴眼液治疗白内障、角膜翳,取得了较好的疗效^[29]。在中医临床应用逐瘀通经法治疗中、晚期肝硬化患者,常将蛴螬入药^[30]。

4 结语

我国蛴螬资源丰富,以其入药的组方在多种医药典籍中均有记载,各地民间也有应用。近年来与蛴螬相关的各项研究正在成为热点,相关研究报道提示其具有很多的药学用途,特别是在抗肿瘤和治疗肝病方面具有很大的开发前景。当前对于蛴螬的研究还主要集中在农业除害和基础分子生物学方面,具体化学成分尚不明确,药理及临床应用的研究也欠深入。鉴于此,未来的方向应该是在现有的研究基础上对蛴螬的各化学成分及相应的生物活性做进一步系统的研究,特别是注重对其抗肿瘤活性成分及其作用机制的探讨。与此同时要加强与天然产物相配合的整体动物和临床水平的药理研究,使其得到更加合理的应用。相信随着各方面研究水平的不断提高,蛴螬很有可能成为一种极有前途,应用更加广泛的动物药。

参考文献:

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会.中华本草[M].第25卷.上海:上海科学技术出版社,1999:8127.
- [2] 江苏新医学院.中药大辞典[M].下册.上海:上海科学技术出版社,1985:2379.
- [3] 阳长明,侯世祥,王新春,等.蛴螬与蛴螬滴眼液成分的研究[J].中药材,2000,23(12):769.
- [4] 蒋三俊.中国药用昆虫集成[M].北京:中国林业出版社,1999:186.

- [5] Kim MS, Baek MJ, Lee MH, et al. A new easter-type serine protease cleaves a masquerade-like protein during prophenoloxinase activation in *Holotrichia dimphalia* larvae [J]. J Biol Chem, 2002, 277(42): 39999.
- [6] Lee SY, Cho MY, Hyun JH, et al. Molecular cloning of cDNA for prophenoloxinase-activating factor I: a serine protease is induced by lipopolysaccharide or 1, 3-beta-D-glucan in coleopteran insect *Holotrichia dimphalia* larvae [J]. Eur J Biochem, 1998, 257(3): 615.
- [7] Piao SF, Kim DK, Park JW, et al. Overexpression and preliminary X-ray crystallographic analysis of prophenoloxinase activating factor II, a clip domain family of serine proteases [J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2005, 1752(1): 103.
- [8] 张庆镐,朴奎善,李基俊,等.蛴螬矿物元素和维生素含量分析[J].微量元素与健康研究,2002,19(1):30.
- [9] 谢继锋.蛴螬脂肪体中抗坏血酸含量的分析[J].安徽农业科学,1997,25(4):360.
- [10] 李基俊,孙抒,杨万山,等.蛴螬提取物对小鼠 S₁₈₀肉瘤的抑制作用[J].中华医学写作杂志,2003,10(15):1356.
- [11] 宋莲莲,孙抒,李香丹,等.蛴螬石油醚提取物对入宫颈癌 HeLa 细胞增殖和凋亡的影响[J].中草药,2006,3(6):884.
- [12] 金哲,孙抒,李基俊,等.蛴螬提取物体外对人 MGC-803 胃癌细胞株凋亡相关基因作用的研究[J].中国中医药科技,2004,11(2):90.
- [13] Kang NS, Park SY, Lee KR, et al. Modulation of macrophage function activity by ethanolic extract of larvae of *Holotrichia dimphalia* [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2002, 79(1): 89.
- [14] 孙百研,孙抒,金哲,等.蛴螬联用羟基喜树碱体外对人 MGC-803 胃癌细胞株抗增殖及药物敏感性的研究[J].中华临床医学实践杂志,2003,2(10):913.
- [15] 李基俊,孙抒,金哲,等.抑癌灵抗肿瘤作用的实验研究[J].中国中医药科技,2004,11(5):267.
- [16] Oh WY, Pyo S, Lee KR, et al. Effect of *Holotrichia dimphalia* larvae on liver fibrosis and hepatotoxicity in rats [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2003, 87(2-3): 175.
- [17] Lee SY, Moon HJ, Kurata S, et al. Purification and molecular cloning of cDNA for an inducible antibacterial protein of larvae of a coleopteran insect *Holotrichia dimphalia* [J]. J Biochem (Tokyo), 1994, 115(1): 82.
- [18] Lee SY, Moon HJ, Kawabata S, et al. A sapecin homologue of *Holotrichia dimphalia*: purification, sequencing and determination of disulfide pairs [J]. Biol Pharm Bull, 1995, 18(3): 457.
- [19] Lee SY, Moon HJ, Kurata S, et al. Purification and cDNA cloning of an antifungal protein from the hemolymph of *Holotrichia dimphalia* larvae [J]. Biol Pharm Bull, 1995, 18(8): 1049.
- [20] Ju JS, Cho MH, Brade L. A novel 40-kDa protein containing six repeats of an epidermal growth factor-like domain functions as a pattern recognition protein for lipopolysaccharide [J]. J Immunol, 2006, 177(3): 1838.
- [21] 张永发.蛴螬外用治疗小儿鹅口疮[J].中国民间疗法,1999(8):48.
- [22] 赵成春,赵全荣,张文敏,等.蛴螬蛭矾散治疗口疮 63例[J].中医外治杂志,1996(4):47.

3 结论

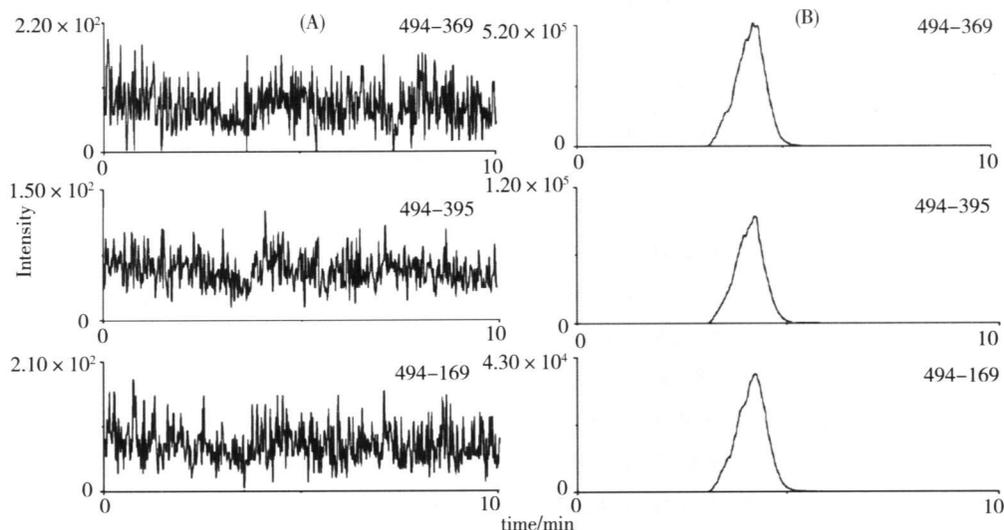


图 1 阴性样品 (A) 与格列本脲阳性的减肥类中药 (B) 的选择性离子流 (XIC) 色谱图

本文建立的高效液相色谱-串联质谱联用技术 (MRM 模式) 对 36 种分属于降糖、降压、壮阳、减肥等多类中药样品进行了快速测定, 可以在 10 min 内完成其中可能含有的格列本脲、西布曲明等 10 种化学药物的定性、定量分析。尽管中药样品成分复杂, 10 min 内无法达到良好的色谱分离, 但由于 MRM 模式确保了定性分析结果的专属性和定量分析的灵敏度, 在色谱分离不够完全的情况下, 仍能保证很高的定性、定量分析准确性。因而本实验建立的方法可用于多种不同样品中化学药物的检验。

当然随着化学药物非法添加的复杂性进一步提高^[7], 其种类可能更多, 这对一次分析完成所有可能的化学药物的检测提出了更高的要求, 需要在色谱分离、MRM 结果判别、分类检测等方面做进一步的研究, 才能更好地实现分析目标。

参考文献:

[1] 陈俊杰, 冯 军, 李焕德, 等. HPLC 法同时测定二甲双胍等

5 种降血糖药物 [J]. 中南药学, 2003, 1(1): 34.

[2] 任志强, 吴况明, 龙艾兵, 等. HPLC 法同时测定 3 种肾上腺皮质激素类药物及中药制剂中掺杂以上成分的快速鉴定 [J]. 中医药理学, 2006, 24(10): 1944

[3] 胡 娟, 郑春松, 朱新法. 减肥中成药中添加西布曲明西药成分的检测 [J]. 中国药理学杂志, 2006, 41(12): 945

[4] 颜 杰, 程振田, 马 彬, 等. 中药保健品中他达拉非的检测 [J]. 天津药学, 2006, 18(4): 9.

[5] The European Committee. Commission Decision of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results [J]. Official Journal of the European Communities 2002, 8 8

[6] Xing J, Xie CH, Lou HX. Recent applications of liquid chromatography-mass spectrometry in natural products bioanalysis [J]. J Pharm Biomed Anal 2007, 44(2): 368

[7] 陆 峰, 乐 健, 陈桂良, 等. 中药掺杂化学药物的分析及其对策 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(1): 6

收稿日期: 2007-03-30

(上接第 16 页)

[23] 杜成全. 中药穴位外敷治小儿哮喘 72 例 [J]. 国医论坛, 1993, (6): 26

[24] 王爱凤, 秦玉花, 王惠茹, 等. 血肿消口服液治疗中风病的临床疗效观察 [J]. 山东中医杂志, 2003, 22(9): 534.

[25] 傅昌格, 陈宗权, 洪祥云, 等. 软肝丸治疗血吸虫病肝硬化的临床研究 [J]. 湖北中医杂志, 2003, 25(1): 6.

[26] 蓝雨田. 运用几味虫类药的经验 [J]. 陕西中医函授, 1992, (4): 31

[27] 陶汉华. 关于大黄蛰虫丸几个问题的探讨 [J]. 山东中医药大学学报, 2004, 28(6): 417.

[28] 刘焕华, 于首元. 大黄磨虫丸对综合性外伤愈合作用的研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2002, 29(10): 608

[29] 阳长明, 侯世祥, 罗杰英, 等. 蛭螭滴眼液的工艺研究 [J]. 中成药, 2001, 23(4): 235.

[30] 张正习, 胡新林. 肝硬化病中医治疗六法 [J]. 湖南中医药学报, 2002, 8(7): 405.

收稿日期: 2007-03-06