

文章编号: 1001- 411X (2001) 03- 0086- 04

蚯蚓体内营养和药物有效成分的研究进展

徐凤彩, 高向阳, 王炜军, 詹福建

(华南农业大学生物技术学院, 广东 广州 510642)

摘要: 在简介了蚯蚓生物学功能的基础上, 着重介绍了蚯蚓体内的有效营养成分及几种重要酶(系)。对蚓纤溶酶、蚓激酶等的分离纯化、酶学性质、药理作用和临床研究以及蚯蚓对净化环境、保护自然生态平衡的作用等进行了详细的综述。

关键词: 蚯蚓; 生物学特点; 蚓纤溶酶; 蚓激酶
中图分类号: S899. 9; R282. 74 文献标识码: A

蚯蚓是环保动物之一, 世界上有蚯蚓 3 000 余种, 我国亦有 200 多种。李时珍在《本草纲目》中对蚯蚓的形态结构、生活习性 & 药用价值均有详细记载, 称之为“地龙”而入药, 并沿用至今。1837 年达尔文系统地阐述了蚯蚓在形成和改良土壤中的重要作用。近年来, 蚯蚓的生物学特点被人们逐一开发利用。许多国家如美国、日本、加拿大等都非常重视蚯蚓的养殖、应用和研究。我国自 20 世纪 80 年代以来也有一定的发展。蚯蚓不仅成为珍贵药物、高蛋白食品和饲料, 而且在土壤改良、消除公害、保护生态环境上, 在物质循环、生物多样性等方面发挥着特殊作用。

1 蚯蚓体内的药物有效成分

在我国, 很早以前就有用蚯蚓和蚓粪治病的记载。但对蚯蚓体内有效成分及药理作用的了解, 还

是运用近代科学技术分析研究的结果。

1.1 蚯蚓蛋白质和氨基酸

将蚯蚓洗净, 用流水浸泡 24 h 后, 在一定条件下利用其自身酶系自溶后, 离心, 所得上清液即蚯蚓原液。蚯蚓原液的提取率一般为 75% 以上。其中, 蛋白质占干质量的 56% ~ 65%, 其含量和营养价值优于大豆蛋白。游离氨基酸含量 $50 \sim 70 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 其组成表明, 蚯蚓中人体的 10 种必需氨基酸齐全, 并比肉类食品高。

1.2 蚯蚓的脂肪酸

蚯蚓冻干粉和体腔内液脂肪酸含量(表 1)的分析表明, 不饱和脂肪酸含量高, 饱和脂肪酸含量低。特别是具有抗癌、降血压、防止动脉硬化、养颜等作用的亚油酸含量更高, 而十三羧酸明显不同于别的动物。这些特点正符合当前人类健康食品结构的要求。

表 1 蚯蚓干粉和体腔液脂肪含量(w/ %)

Tab. 1 The content of fatty acid of earthworm powder and coelomic fluid

脂肪酸 fatty acid	蚯蚓粉 dry powder	体腔液 coelomic fluid	脂肪酸 fatty acid	蚯蚓粉 dry powder	体腔液 coelomic fluid
油酸 oleic acid	40. 76	41. 11	豆蔻酸 myristic acid	2. 16	1. 68
亚油酸 linoleic acid	20. 98	6. 16	10-亚甲基-12-C 酸 10-M-12-C acid	1. 38	1. 84
棕榈油酸 palmitoleic acid	19. 74	18. 43	月桂酸 lauric acid	1. 05	3. 58
13-C-脂肪酸 13-C-fatty acid	7. 10	11. 80	18-C 脂肪酸 18-C fatty acid	0. 88	3. 89
硬脂酸 stearic acid	4. 12	1. 84	15-C 脂肪酸 15-C fatty acid	0. 39	1. 57

1.3 蚯蚓的其他重要物质

每 100 mL 蚯蚓原液中, 核酸总量为 223. 5 mg, 其中 RNA 169. 55 mg、DNA 53. 5 mg。据测定, 每 100 mg 鲜蚯蚓含维生素: B₁ 0. 5 mg、B₂ 2. 5 mg, 均是豆饼的 10 倍、鱼粉的 14 倍以上。每 100 mL 原液中含维生

素: A 1. 164 mg、E 3. 146 mg、C 28. 8 mg。蚯蚓体内含微量元素亦较丰富, 且具特殊生理功能。如 Fe: 2 304. 71 $\mu\text{g/g}$ 、Mn: 59. 88 $\mu\text{g/g}$ 、Cu: 55. 27 $\mu\text{g/g}$ 、Zn: 10. 05 $\mu\text{g/g}$ 、Se: 0. 7 $\mu\text{g/g}$ 等, 它们与其他中药配伍后和药材中有机物络合发挥更大药理功效, 其中 Se 还

能促进细胞免疫作用. 此外, 蚯蚓尚含蚯蚓素(lumbricin)、蚯蚓碱(lumbrofolin)、蚯蚓毒素(terrestrolumbrolysin)以及嘌呤、胆碱、胆甾醇等主要特殊活性物质. 然而, 目前研究得最多的是蚯蚓的几种酶(系).

2 蚯蚓的几种主要酶(系)

2.1 溶栓酶系及其溶栓作用

目前发现蚯蚓具溶栓作用的酶至少有: 蚯蚓血纤蛋白溶酶(earthworm fibrinolytic enzyme, EFE, 蚓纤溶酶)、蚓激酶(lumbrokinas, e-PA)、蚯蚓胶原蛋白酶(earthworm collagenases, 蚓胶原酶).

(1) 蚓纤溶酶: 日本美原恒等用 DEAE-纤维素柱层析从蚯蚓水提取物中分离得到 3 种纤溶活性的蛋白酶以来, 已从不同种蚯蚓中获得该酶. 路英华等^[1]从钜齿远蚓(*Amyntas dancale*)获得 EFE, 可直接溶解血纤和血凝块. 证明该酶为非寡聚酶, 是糖蛋白, 属 Ser 蛋白酶. 周元聪等^[3]从赤子爱胜蚓(*Eisenia foetide*)中获得 EFE. 它受胰蛋白酶抑制剂抑制, 复经 DEAE-Sephacel-6B 柱层析, 得到至少 9 个具 EFE 活性峰, 为 Ser 蛋白酶. 宋关武等^[3]从夏威夷毛环蚓(*Pheretima hawayana*)分离得到 EFE, SDS-PAGE 显示均一, 能水解苯甲酰精氨酸酯(BAEE), 含中性糖 w 约 5%. 程牛亮等^[4]从双胸蚓(*Lumbricide bimas-tus*)中得到 EFE-II, 受利马豆胰蛋白抑制剂(LBTI)、二异丙基氟磷酸(DEP)抑制, 证明为 Ser 蛋白酶. 程牛亮等^[5]亦从双胸蚓中获得一种定名为 EFE-III 的酶. 吴蓉等^[6]以双胸蚓为材料, 经大豆胰蛋白酶抑制剂——Sephacel-4B 亲和层析和 DEAE-纤维素柱层析得具强溶纤活性、PAGE 均一的 EFE. 在常温操作下或 4℃下存放 2 a 活力不变. 同时证明为 Ser 蛋白酶. EFE 主要在蚯蚓内腔消化道浆液中, 其余部分检测不出 EFE 活性. 由于品种来源、分离方法和纯度不同, 上述报道中 EFE 的性质有所差异, 但其具有下列共同特性: (1)pI 值偏酸性、多组分、具有纤溶活性的蛋白酶. (2)酶活性在 pH 5~9、20~55℃范围内稳定, 可在常温下操作, 稳定性较尿激酶高. (3)酶活性不受 K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 、DTT、EDTA、LBTI、pCMB 抑制, 其中 Ca^{2+} 有促进, 而受 TLCK、苯甲脒、DFP、TI 抑制, 可见是 Ser 蛋白酶, 属胰蛋白酶类. (4)分子中含 w 约为 5% 中性糖(以己糖为主), 是一种糖蛋白.

(2) 蚓激酶: 它能激活纤溶蛋白酶原(plasminogen)使之成纤溶酶(plasmin), 这和尿激酶作用相似. 杨嘉树等^[7]从赤子爱胜蚓匀浆液经疏水层析等方法, 获得一种可在体外激活纤溶酶原的蛋白酶, 由 L 和 S-

两个亚基组成, 称 e-PA. 由质谱法测得 L 和 S-亚基相对分子质量分别为 24 600 和 15 550, L-不含 Lys、S-不含 Cys. L-N 端 25 个残基 VIGGTINASPGEIPWQLSQ-QRQSGSW-, 并与 Nakajima 等^[8]从正粉蚓(*Lumbricus rubellus*)中得到的具纤溶活性的 F-II 的 N-端只有 2 个残基(即 12 位的 I 和 E 及 21 位的 Q 和 X)不同, 而且相对分子质量相近(F-II: 24 000). 但 F-II 不具激活性, L 和 S-一起具有激酶活性, 而无 EFE 活性. 对 e-PA 的性质研究表明, e-PA 不一定是 Ser 或巯基蛋白酶; 当以纤溶酶为底物时可以切割 EFE 原碱性、中性氨基酸残基及 Met 的羧基端, 使之转变为 EFE. 以 BAEE 为底物时酶反应最适 pH 8.4, K_m 为 $1.18 \times 10^{-5} \sim 1.3 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$, K_{cat} 为 $13.80 \pm 4.02 \text{ s}^{-1}$. Pepstatin 对 e-PA 具不同程度的抑制, EDTA 无影响.

(3) 蚓胶原酶: 蚓胶原酶的研究报道较少, 钟良玮等^[9]从双胸蚓中分离到 3 种水解胶原的酶, 其中 II 是不具亚基的大分子糖蛋白, 酸性氨基酸含量高, 缺乏胱氨酸, 最适 pH 6~7, 最适温度 35~40℃, Ca^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Mn^{2+} 促进酶活性, 但受 Co^{2+} 、 Hg^{2+} 、EDTA、巯基化合物抑制, 相对分子质量为 92 900.

至此, 蚯蚓体内具溶纤活性的 3 种主要酶的基本面貌已较清晰, 它们都具降纤活性(如图 1). 已知链激酶、尿激酶虽已应用临床, 但它们有稳定性差、易失活、体内停留时间短、价格昂贵及导致出血等缺陷. 因此, 开发蚯蚓体内溶纤酶(系), 具有重要意义.

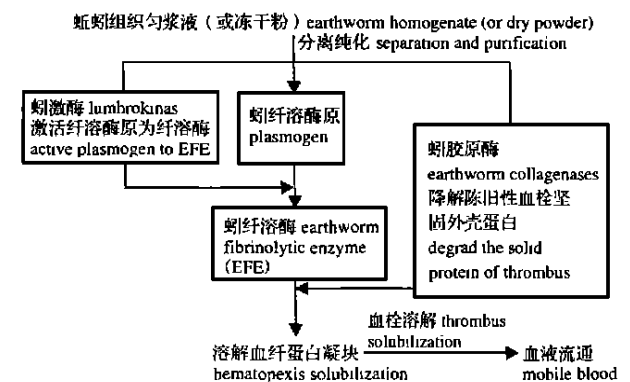


图 1 蚯蚓溶栓作用

Fig. 1 The effect of soluble thrombus from earthworm

2.2 药理及临床实验

1988 年郭斗涛等给 30 例成年高粘度综合症及脑血栓患者口服蚯蚓水提取物 30 mL/d, 14 d 为一疗程, 治疗后纤细胞压积、血浆、全血及全血还原粘度、纤维原蛋白原有明显改善, 血液流变学指标 JG 值明显改变(私人通信). 张绍章等^[10]报道, 蚯蚓提取物胶囊对 33 例食道癌和 155 例肺癌患者有辐射增效作用, 服用安全. 曾小澜等^[11]应用 ^3H TdR 掺入法研究

了蚯蚓提取物对多种瘤细胞的影响,表明它对骨髓瘤细胞有促进作用;对小鼠淋巴细胞、小鼠骨髓细胞、艾氏腹水瘤细胞、SI80 瘤细胞、正常人粒细胞急淋白血病细胞都起抑制作用。

张乃慧等^[12]对 48 例冠心病患者口服蚓激酶, 40 mg/次, 3 次/d, 饭前服用, 4 周为一疗程, 2 个月后, 所有患者全血粘度、细胞压积和纤维蛋白原均显著降低, 并无毒副作用。金利蓉等^[13]报道 51 例脑梗死病人饭前服用(40 mg/d)蚓激酶, 根据神经功能缺乏评分判断有效率在 80%以上, 且凝血水平、血浆及全血粘度、球蛋白溶解时间、血小板聚集功能显著下降。同时血浆纤溶酶原激酶、纤溶酶、纤维蛋白降解物均增高。而未发现出血、肝肾功能损害等副作用。刘俊^[14]报道, 40 例冠心病绞痛患者, 口服蚓激酶胶囊 400 mg/d, 疗程 8 周, 总有效率 70%。这些报道表明, 蚯蚓成分经消化道吸收入血, 能迅速溶解血栓、无毒、无出血等副作用, 给药方便, 价格便宜, 不失为一种理想的溶栓剂。

2.3 其他酶和功能蛋白

蚯蚓超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, EC 1.15.1.1, SOD), 为 Cu-Zn-SOD。每 100 g 鲜体可制得 11 150~17 910 U。全酶相对分子质量为 3 3000, 二聚体, 亚基由 156 个氨基酸残基组成, 不含 Tyr, N-端为 Ala, pI 值为 5.30~6.22。另有报道表明, 蚯蚓提取液中用 DEAE-SephadexA25 柱层析等分离到 Cx 的 2 组分, 并对其部分性质进行了研究。蚯蚓金属硫蛋白(metallothionein, MT)具有参与微量元素储存、运输和代谢、拮抗电离辐射、消除自由基及重金属毒害等多种作用, 可诱导合成。李令媛等^[15]用 CdCl₂ 诱导威廉环毛蚓(*Pheretima guillelmi*)后, 再经 DEAE-纤维素离子交换柱层析等分离得到 3 种蚓 MT, N-端分别为 Lys、Ala、Ala。对 3 种蚓 MT 的溶液构象进行了测定研究。

3 展望

蚯蚓以腐烂有机物为食, 动、植物残体必须经蚯蚓等土壤动物加工, 才能被土壤微生物进一步分解。一般苹果园干落叶 1 200 kg/hm², 入冬前 90%被蚯蚓拖入洞穴, 逐渐吞食。在温带森林中的落叶 2 501~3 660 kg/hm²、热带森林中的落叶 5 490~15 000 kg/hm², 主要由蚯蚓分解。蚯蚓挖穴松土破碎、分解有机物, 为土壤微生物生长繁殖创造了良好条件。目前许多国家利用蚯蚓来处理生活垃圾、有机废物和净化污染水体。美国洛杉矶市蚯蚓养殖场有 10 万余条, 每月可处理垃圾 75 000 t。加州一公司养殖 5

亿条, 每天处理垃圾 2 000 t。加拿大安大略省克劳克利用蚯蚓每天处理垃圾 20 t, 同时获得十几吨蚓粪和大量鲜蚓。在日本年产 10 000 t 纸厂, 每年大约有 45 000 t 废弃纸渣, 用蚯蚓处理可产 2 000 t 干蚓、15 000 蚓粪。蚯蚓蚕食的有机物和泥土, 产生的钙盐连同钙腺排出的碳酸钙可粘结土粒, 与蚯蚓粪便一起为植物生长创造了良好条件。还富集了养分, 一般腐殖质、N 素、速效 N、速效磷、速效钾分别增加 36%~150%、38%~230%、75%~110%、20%~68%、19%~36%。因此养殖蚯蚓是培育三高农业、脱贫致富、保护自然生态平衡的良措。

我国蚯蚓资源十分丰富, 但目前采集和养殖的蚯蚓只有 5%左右用做药物, 其余主要用于动物饲料和部分出口。因此加强蚯蚓的药用和营养保健方面的应用研究, 有着极大的潜力和发展前景。但目前存在: (1)酶制剂不纯, 限于服用。(2)需要研究和开发多种功能营养品, 目前的产品只是蚯蚓的冻干粉, 未经过提取制作, 而且价格较贵, 品种不齐全。(3)酶制剂用于临床, 在体内半衰期要长、无免疫原性、易于进入细胞。为此对酶分子需要采用化学修饰、固定化等酶工程技术进行改造, 这些方面及酶蛋白基因克隆的工作还有待于研究。

参考文献:

[1] 路英华, 金汝娥. 蚯蚓溶纤酶的提取、性质鉴定和溶凝血的研究[J]. 兰州大学学报, 1986, 22(1): 95-100.

[2] 周元聪, 朱洪, 陈远聪, 等. 赤子爱胜蚓溶纤酶分离纯化[J]. 生物化学与生物物理学学报, 1998, 20(1): 35-41.

[3] 宋关斌, 李清涟. 夏威环毛蚯蚓纤溶酶及部分性质研究[J]. 动物学报, 1996, 42(2): 146-156.

[4] 程牛亮, 王新亚, 郑国平, 等. 双胸蚯蚓纤溶酶 II 的纯化及性质研究[J]. 生物化学杂志, 1996, 8(2): 8-10.

[5] 程牛亮, 郑国平, 张祖珣, 等. 双胸蚯蚓纤溶酶 III 的纯化及性质研究[J]. 山西医学院学报, 1996, 27(2): 81-83.

[6] 吴蓉, 罗由泉, 陈石根. 双胸蚯蚓纤溶酶的分离纯化及性质研究[J]. 药物生物技术, 1998, 5(2): 84-88.

[7] 杨嘉树, 李令媛, 茹丙根. 蚯蚓体内一种纤溶酶原激活剂(e-PA)的分离纯化[J]. 生物化学与生物物理学报, 1998, 14(2): 156-160.

[8] NAKAJIMA N, MIHARA H. Characterization of potent fibrinolytic enzymes in earthworm, lumbricus, rubellus[J]. Biosci Biotech Biochem, 1993, 57: 1 726-1 730.

[9] 钟良玮, 张祖珣, 单鸿仁. 双胸蚯蚓胶原酶的萃取、纯化、性质及化学组成研究[J]. 生物化学杂志, 1991, 7(3): 291-196.

[10] 张绍章, 田 琼, 王克为, 等. 中药地龙胶囊对食道癌和肺癌的辐射增效作用[J] . 第四军医大学学报, 1992 13(2): 165—168.

[11] 曾小澜, 章碧玉, 麦羨霞, 等. 蚯蚓提取物对多种瘤细胞的作用[J] . 山西医学院学报, 1995, 26(2): 81—83.

[12] 张乃惠. 冠心病患者蚓激酶治疗后血流变指标的变化[J] . 中国血液流变学杂志, 1999, 1(1): 163—166.

[13] 金利蓉, 徐桂芝. 脑硬死的血纤状态和蚓激酶的作用[J] . 中国新药与临床杂志, 1999, 18(1): 104—107.

[14] 刘 俊, 周立民, 任 燕. 比较蚓激酶胶囊与丹参片治疗冠心病绞痛的疗效[J] . 中国新药和临床杂志, 1999, 18(4): 104—108.

[15] 李令媛, 马宏宝, 吕迎春, 等. 镉诱导威廉环毛蚓金属硫蛋白的分离纯化及特性研究[J] . 生物化学杂志, 1994, 10(4): 444—450.

Progress in the Study of Effective Component of Medication and Nutrition from Earthworm

XU Feng-cai, GAO Xiang-yang, WANG Wei-jun, ZHAN Fu-jian
(College of Biotechnology, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: In this paper, the general biological characters of earthworm were first introduced in brief. Then the effective components of medication and nutrition from earthworm were reviewed in detail, especially for several kinds enzymes which have potential application in medication. These included earthworm fibrinolytic enzyme(EFE), Lumbrokinase and so on. The purification, characters and medical function of these enzymes were concerned. Finally a conclusion was reached that exploration of earthworm would play important roles for high-tech agricultural development and environmental protection.

Key words: earthworm; biological characters; lumbrokinase; earthworm fibrinolgtic enzyme

【责任编辑 柴 焰】

(上接第 85 页)

[8] CHOW S, STEINER R P. Resistance to cyclic exposure at extreme low temperature of urea resin bonds[J] . Forest Prod J, 1974, 24(5): 35—38.

[9] 吴智慧. 木质材料干缩湿膨胀对表面装饰质量的影响[J] . 林产工业, 1994, 21(5): 13—16.

[10] 张延民, 矫国康译. 木质材料膨胀应力的测定[J] . 国外林业, 1994, 24(3): 32—33.

[11] 张 锦. 新型复合材料力学机理及其应用[M] . 北京: 北京航空航天大学出版社, 1991. 130—151.

Study of Particleboard Wet Stress

LI Kai-fu, GAO Zhen-zhong, SUN Jin
(College of Forestry, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: Particleboard gives rise to wet stress in the course of manufacture and use owing to the change of moisture content. The result shows that the wet stress caused by wet effect is about 0.21 MPa, accounting for 13.4% of the average interface combination intensity reduction value. Qualitative and quantitative appraisal of wet stress is critically important to enhance the combination stability at interface.

Key words: wet stress ; interface; particleboard; interface combination strength

【责任编辑 周志红】