

## 广地龙化学成分和药理作用的研究进展及其质量标志物(Q-Marker)的预测分析

李思维<sup>1,2,3</sup>, 郝二伟<sup>2,3,4#</sup>, 杜正彩<sup>2,3,4</sup>, 韦 玮<sup>2,3,4</sup>, 王星圆<sup>1,2,3</sup>, 陈静梅<sup>1,2,3</sup>, 侯小涛<sup>1,2,3\*</sup>, 邓家刚<sup>2,3,4\*</sup>

1. 广西中医药大学药学院, 广西 南宁 530200

2. 广西中药药效研究重点实验室, 广西 南宁 530200

3. 广西农作物废弃物功能成分研究协同创新中心, 广西 南宁 530200

4. 广西中医药大学 广西中医药科学实验中心, 广西 南宁 530200

**摘 要:** 广地龙 *Pheretima aspergillum* 为我国常用传统中药材, 主要分布于广西、广东, 为岭南地区道地药材。广地龙中化学成分包括蛋白质及多肽类、酶类、氨基酸及二肽类、核苷类、脂肪酸类、甾体化合物、溶血磷脂、无机元素等。传统认为广地龙蚓激酶、次黄嘌呤和琥珀酸为其主要药效成分。对广地龙化学成分、药理作用的研究进展进行总结, 并在此基础上, 分析酶类、核苷类、脂肪酸类等成分与药效的关联, 基于传统功效与现代药理作用预测其质量标志物(quality marker, Q-Marker), 初步确定纤溶活性蛋白、蚓激酶、蚯蚓纤溶酶、次黄嘌呤、肌苷、琥珀酸、多不饱和脂肪酸、氨基酸及二肽类成分为其可能的 Q-Marker。建议聚焦其有效成分, 结合成分化学物质组入血后的协同作用以及化学成分可测性, 建立专属性的测定方法, 为明确广地龙 Q-Marker 和制定科学的质量评价体系提供基础。

**关键词:** 广地龙; 药效物质基础; 质量标准; 质量标志物; 纤溶活性蛋白; 蚓激酶; 蚯蚓纤溶酶; 次黄嘌呤; 肌苷; 琥珀酸; 多不饱和脂肪酸; 氨基酸及二肽类

中图分类号: R282.710.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)08-2560-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.08.033

## Research progress on chemical components and pharmacological effects of *Pheretima aspergillum* and predictive analysis on quality marker

LI Si-wei<sup>1,2,3</sup>, HAO Er-wei<sup>2,3,4</sup>, DU Zheng-cai<sup>2,3,4</sup>, WEI Wei<sup>2,3,4</sup>, WANG Xing-yuan<sup>1,2,3</sup>, CHEN Jing-mei<sup>1,2,3</sup>, HOU Xiao-tao<sup>1,2,3</sup>, DENG Jia-gang<sup>2,3,4</sup>

1. Faculty of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China

2. Guangxi Key Laboratory of Efficacy Study on Chinese Materia Medica, Nanning 530200, China

3. Guangxi Collaborative Innovation Center of Study on Functional Ingredients of Agricultural Residues, Nanning 530200, China

4. Guangxi Scientific Experimental Center of Traditional Chinese Medicine, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China

**Abstract:** *Pheretima aspergillum*, a commonly used traditional Chinese medicine is mainly distributed in Lingnan areas of China, and Guangdong and Guangxi Provinces are its genuine producing areas. The chemical composition of *P. aspergillum* are proteins and peptides, enzymes, amino acids and dipeptides, nucleosides, fatty acid, steroids, lysoglycerophospholipids and inorganic elements, etc. Traditionally, lumbrokinase, hypoxanthine and succinic acid were considered as the main effective components of *P. aspergillum*. In this paper, the chemical composition and pharmacological effects of *P. aspergillum* were summarized. Based on above, the correlation between enzymes, nucleotides, fatty acid and pharmacodynamics was analyzed, and the quality marker (Q-Marker) of *P. aspergillum* were predicted based on traditional efficacy and modern pharmacology. As a result, the fibrinolytic protein, lumbrokinase, earthworm

收稿日期: 2021-09-22

基金项目: 中国(广西)-东盟药物创新中心建设及新药开发项目(桂科 AA19254033); 2020 年广西中药药效研究重点实验室(20-065-38)

作者简介: 李思维(1998—), 女, 硕士研究生, 主要从事中药分析学研究。E-mail: 847130235@qq.com

\*通信作者: 侯小涛, 博士生导师, 教授, 主要从事中药活性成分与质量控制研究。E-mail: xthou@126.com

邓家刚, 博士生导师, 广西终身教授, 主要从事中药基础理论与药效筛选研究。E-mail: dengjg53@126.com

#共同第一作者: 郝二伟, 男, 研究员, 博士, 主要从事中药药效筛选及基础理论研究。E-mail: 516110493@qq.com

fibrinolytic enzyme, hypoxanthine, inosine, succinic acid, polyunsaturated fatty acid, amino acids and dipeptides were preliminarily determined as the possible Q-Markers. It is suggested that specific determination methods should be established by focusing on the active constituents, combining with synergistic effect of chemical substances in blood and measurability of chemical substances, so as to provide basis for Q-Marker determination and quality assessment.

**Key words:** *Pheretima aspergillum* (E. Perrier); pharmacodynamic material basis; quality standard; quality marker; fibrinolytic protein; lumbrokinase; earthworm fibrinolytic enzyme; hypoxanthine; inosine; succinic acid; polyunsaturated fatty acid; amino acids and dipeptides

参环毛蚓 *Pheretima aspergillum* (E. Perrier) 为《中国药典》2020 年版地龙项下 4 种原动物之一，习称“广地龙”<sup>[1]</sup>。广地龙为钜蚓科 (Megascolecidae) 动物，主要分布于广西、广东，为岭南地区道地药材<sup>[2]</sup>。其性寒，味咸，归肝、脾、膀胱经，具有清热定惊、通络、平喘、利尿的功效，用于高热神昏、惊痫抽搐、关节痹痛、肢体麻木、半身不遂、肺热喘咳、水肿尿少。地龙始载于《神农本草经》，谓之“蚯蚓，味咸，寒，主蛇瘕，去三虫、伏尸、鬼注、蛊毒，杀长虫。仍自化作水。生平土。”《本草崇原》记载其“入药宜大而白颈，是其老者有力”。古人认为白颈蚯蚓为质量较好的药用药材，与现代研究中广地龙较土地龙药材质量好的观点相同，故古代药用蚯蚓“白颈蚯蚓”可能为“广地龙”一类<sup>[3]</sup>。古今记载表明广地龙在地龙品种中因个头大、质佳，具有极高的药用价值。广地龙富含氨基酸、蛋白质等营养物质，其体内消化酶系统可改善生态环境，有重要经济价值<sup>[4]</sup>。据药智网统计，以地龙组成的中药方剂达 321 种，中成药处方达 216 种，用于治疗昏迷无力、四肢麻木、风寒湿邪乘虚外袭、侵犯筋骨、风虚走注疼痛、经脉闭阻、咳嗽多痰、气滞血瘀、妇人产后头痛、小儿外肾肿硬及风热暴肿等证。近年来，由于广地龙价格迅速上涨，市场上地龙商品中品种众多，质量参差不齐<sup>[5]</sup>。中药的品种真伪、质量优劣均是其临床疗效的影响因素，中药质量控制是关乎中药临床使用安全性、有效性的基础和保障。刘昌孝院士<sup>[6]</sup>提出中药质量标志物 (quality marker, Q-Marker) 的新概念，为中药质量评价和中药标准化建设研究创建了新模式。本文对广地龙化学成分和药理作用的研究进展进行综述，并基于其清热定惊、通络、平喘、利尿之传统功效及降压、抗肿瘤、增强免疫、促创面愈合等药理作用，分析其药效物质基础，进而对广地龙的 Q-Marker 进行预测分析，为明确广地龙的 Q-Marker，以期开展基于 Q-Marker 理论的质量标准研究，制定合理的质量评

价体系提供科学依据。

## 1 化学成分

广地龙含有多种化学成分，主要包括蛋白质及多肽类、酶类、氨基酸及二肽类、核苷类、脂类、无机元素及其他化合物。其中蛋白质在广地龙中含量较大，为其主要药效成分之一。

### 1.1 蛋白质及多肽类

广地龙含有丰富的蛋白质和多肽，干品中蛋白质的质量分数约为 60%。包括珠蛋白 (1)、纤溶活性蛋白 (2)、肌动蛋白 (3)、肌球蛋白 (4)、原肌球蛋白 (5)、微管蛋白 (6)、核糖体蛋白 (7)、热休克蛋白 (8)<sup>[7]</sup>、金属硫蛋白 (9)<sup>[8]</sup> 等，肽类如 L-脯氨酰-L-亮氨酸-L-亮氨酸甘氨酸 (10)<sup>[9]</sup> 等。

### 1.2 酶类

广地龙含有丰富的酶类，主要包括蚓激酶 (11)<sup>[10]</sup>、内源性纤维素酶 (12)<sup>[11]</sup>、纤溶活性蛋白酶 EQY-1 (13)、EQY-2 (14)、EQY-3 (15)、EQY-4 (16)<sup>[12]</sup>、甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (17)、果糖二磷酸醛缩酶 (18)、胍乙基磷酸丝氨酸蛋白酶 (19)、钙 ATP 酶 (20)<sup>[7]</sup>、核苷磷酸化酶 (21)<sup>[13]</sup> 等。酶类是其体内抗凝血、抗血栓的重要活性成分。

### 1.3 氨基酸及二肽类

氨基酸是生命活动中最基本的物质，是生命代谢的物质基础。广地龙中含有 19 种游离氨基酸和 8 种二肽类成分，包含人体所必需的 8 种氨基酸，其中亮氨酸和谷氨酸含量最高<sup>[9,14-15]</sup>。研究表明，广地龙氨基酸含量及组成与其药理作用有关联。广地龙中氨基酸及二肽类化合物的化学结构见图 1，具体信息见表 1。

### 1.4 核苷类

广地龙中肌苷、次黄嘌呤的含量约占总核苷的 80%，以次黄嘌呤为代表的核苷类成分具有舒张支气管平滑肌、抗组胺、平喘等活性。核苷类成分是鉴别广地龙及其伪品的重要依据。研究表明，广地龙中肌苷、次黄嘌呤、尿苷、鸟苷、黄嘌呤、2'-脱

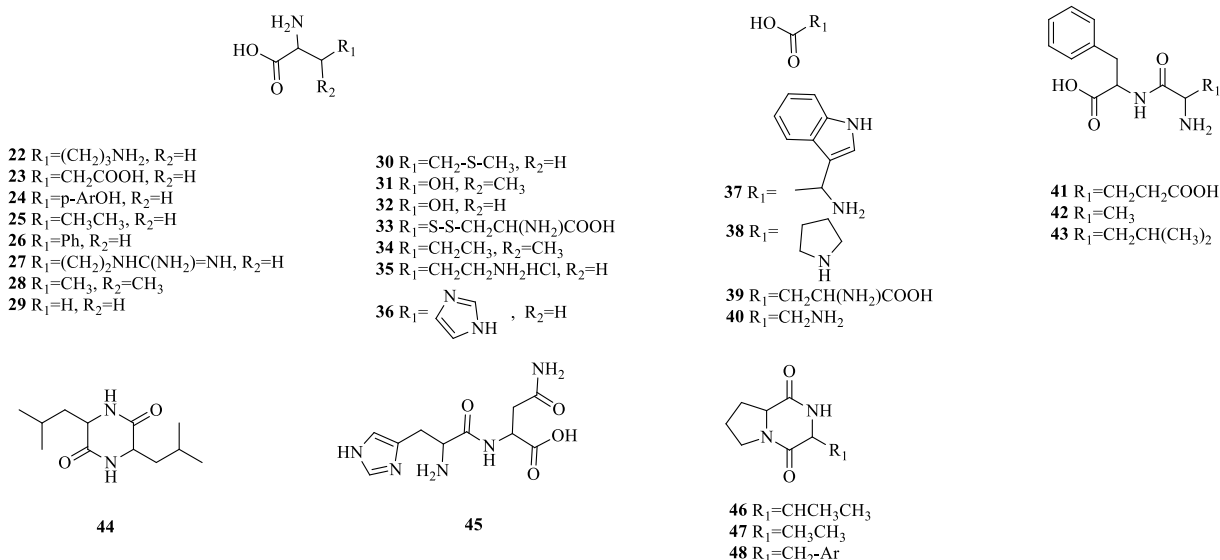


图 1 广地龙中氨基酸及二肽类成分的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of amino acids and dipeptides in *P. aspergillum*

表 1 广地龙中氨基酸类及二肽类成分

Table 1 Amino acids and dipeptides in *P. aspergillum*

| 编号 | 化合物名称           | 分子式                  | 文献      |
|----|-----------------|----------------------|---------|
| 22 | 赖氨酸             | $C_6H_{14}N_2O_2$    | 9,14-15 |
| 23 | 谷氨酸             | $C_5H_9NO_4$         | 9,14-15 |
| 24 | 酪氨酸             | $C_9H_{11}NO_3$      | 9,14-15 |
| 25 | 亮氨酸             | $C_6H_{13}NO_2$      | 9,14-15 |
| 26 | 苯丙氨酸            | $C_9H_{11}NO_2$      | 9,14-15 |
| 27 | 精氨酸             | $C_6H_{14}N_4O_2$    | 14-15   |
| 28 | 缬氨酸             | $C_5H_{11}NO_2$      | 14-15   |
| 29 | 丙氨酸             | $C_3H_7NO_2$         | 14-15   |
| 30 | 蛋氨酸             | $C_5H_{11}NO_2S$     | 14-15   |
| 31 | 苏氨酸             | $C_4H_9NO_3$         | 15      |
| 32 | 丝氨酸             | $C_3H_7NO_3$         | 15      |
| 33 | 胱氨酸             | $C_6H_{12}N_2O_4S_2$ | 15      |
| 34 | 异亮氨酸            | $C_6H_{13}NO_2$      | 15      |
| 35 | 鸟氨酸 HCl         | $C_5H_{13}ClN_2O_2$  | 15      |
| 36 | 组氨酸             | $C_6H_9N_3O_2$       | 15      |
| 37 | 色氨酸             | $C_{11}H_{12}N_2O_2$ | 9,14-15 |
| 38 | 脯氨酸             | $C_5H_9NO_2$         | 14-15   |
| 39 | 天冬氨酸            | $C_4H_7NO_4$         | 15      |
| 40 | 甘氨酸             | $C_2H_5NO_2$         | 15      |
| 41 | 谷氨酰苯丙氨酸         | $C_{14}H_{18}N_2O_5$ | 14      |
| 42 | 丙氨酰苯丙氨酸         | $C_{12}H_{16}N_2O_3$ | 14      |
| 43 | 亮氨酰苯丙氨酸         | $C_{15}H_{22}N_2O_3$ | 14      |
| 44 | 环缩二亮氨酸          | $C_{12}H_{22}N_2O_2$ | 14      |
| 45 | 组氨酰天冬酰胺         | $C_{10}H_{13}N_4O_3$ | 14      |
| 46 | 环(L-脯氨酰-L-缬氨酰)  | $C_{10}H_{16}N_2O_2$ | 9       |
| 47 | 环(L-脯氨酰-L-亮氨酰)  | $C_{11}H_{18}N_2O_2$ | 9       |
| 48 | 环(L-脯氨酰-L-苯丙氨酰) | $C_{14}H_{16}N_2O_2$ | 9       |

氧肌苷、尿嘧啶的含量均高于其伪品<sup>[16]</sup>, 李坚等<sup>[17]</sup>研究表明广西产广地龙次黄嘌呤含量比广东产广地龙含量高, 前者约为后者的 2.3 倍。广地龙中核苷类化合物见表 2。

### 1.5 脂肪酸类

广地龙中脂肪酸主要包括饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸, 不饱和脂肪酸有较高的药理活性。广地龙中琥珀酸成分具有平喘的药理活性, 是其主要药效成分之一。何琳等<sup>[19]</sup>利用高效毛细管电泳法测定广西产广地龙饮片次黄嘌呤的质量分数为 0.8 mg/g。脂肪酸类化合物见表 3。

表 2 广地龙中核苷类成分

Table 2 Nucleosides in *P. aspergillum*

| 编号 | 化合物名称            | 分子式                  | 文献      |
|----|------------------|----------------------|---------|
| 49 | 次黄嘌呤             | $C_5H_4N_4O$         | 9,14,18 |
| 50 | 黄嘌呤              | $C_5H_4N_4O_2$       | 9,18    |
| 51 | 尿苷               | $C_9H_{12}N_2O_6$    | 9,14,18 |
| 52 | 腺苷               | $C_{10}H_{13}N_5O_4$ | 9,14,18 |
| 53 | 鸟嘌呤              | $C_5H_5N_5O$         | 9,14    |
| 54 | 肌苷               | $C_{10}H_{12}N_4O_5$ | 9,14,18 |
| 55 | 鸟苷               | $C_{10}H_{13}N_5O_5$ | 14,18   |
| 56 | 尿嘧啶              | $C_4H_4N_2O_2$       | 18      |
| 57 | 胸腺嘧啶             | $C_5H_6N_2O_2$       | 18      |
| 58 | 2'-脱氧肌苷          | $C_{10}H_{12}N_4O_4$ | 18      |
| 59 | 2'-脱氧鸟苷          | $C_{10}H_{13}N_5O_4$ | 18      |
| 60 | 腺嘌呤              | $C_5H_5N_5$          | 14      |
| 61 | 腺苷酸琥珀酸核苷         | $C_{14}H_{17}N_5O_8$ | 14      |
| 62 | 3-苄基黄嘌呤          | $C_{12}H_{10}N_4O_2$ | 14      |
| 63 | 3-腺嘌呤-9-基-2-羟基丙酸 | $C_8H_9N_5O_3$       | 14      |

表 3 广地龙中脂肪酸类成分  
Table 3 Fatty acids in *P. aspergillum*

| 编号  | 化合物名称                             | 分子式                                              | 文献           |
|-----|-----------------------------------|--------------------------------------------------|--------------|
| 64  | 5,8,11-二十碳三烯酸                     | C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>   | 9,14         |
| 65  | 二十碳五烯酸                            | C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>   | 9,14         |
| 66  | 4,7,10,13,16,19-二十二碳六烯酸           | C <sub>22</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>   | 9,14         |
| 67  | 硬脂酸                               | C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>   | 9,14-15      |
| 68  | 9-氨基-1,3,9-壬烷二羧酸                  | C <sub>12</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>6</sub>  | 14           |
| 69  | (S)-2-[[[(苯氧基)羰基]氨基]-5-乙氧基-5-氧代戊酸 | C <sub>15</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>6</sub>  | 14           |
| 70  | 3-甲基-2,6-二氧化-4-己烯酸                | C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>     | 14,21        |
| 71  | 18-羟基-二十碳五烯酸                      | C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub>   | 14           |
| 72  | 十三烷酸                              | C <sub>13</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>   | 14-15        |
| 73  | 9-十四碳烯酸                           | C <sub>14</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>   | 14           |
| 74  | 肉豆蔻酸                              | C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>   | 14-15,20     |
| 75  | 亚麻酸                               | C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>   | 14           |
| 76  | 十五烷酸                              | C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>   | 14-15, 20-21 |
| 77  | 棕榈烯酸                              | C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>   | 14           |
| 78  | 花生四烯酸                             | C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>   | 14-15,20     |
| 79  | 二十二碳五烯酸                           | C <sub>22</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>   | 14           |
| 80  | 亚油酸                               | C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>   | 14-15,20     |
| 81  | 花生三烯酸                             | C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>   | 14-15,20     |
| 82  | 棕榈酸                               | C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>   | 14-15,20     |
| 83  | 8,11,14-二十碳三烯酸                    | C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>   | 14           |
| 84  | 油酸                                | C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>   | 14-15,20     |
| 85  | 十七烷酸                              | C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>   | 14-15, 20-21 |
| 86  | 10,13,16,19,22,25-十二碳六烯酸          | C <sub>28</sub> H <sub>44</sub> O <sub>2</sub>   | 14           |
| 87  | 17-甲基-6-十八碳烯酸                     | C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>   | 14           |
| 88  | 2-[(9Z)-9-十八碳二烯酰氧基]乙烷磺酸           | C <sub>20</sub> H <sub>38</sub> O <sub>5</sub> S | 14           |
| 89  | 月桂酸                               | C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>   | 14-15        |
| 90  | 12-甲基十三碳酸                         | C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>   | 15           |
| 91  | 12-甲基十四碳酸                         | C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>   | 15           |
| 92  | 14-甲基十五碳酸                         | C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>   | 15           |
| 93  | 14-甲基十六碳酸                         | C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>   | 15           |
| 94  | 十九碳烯酸                             | C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>   | 15           |
| 95  | 十九碳酸                              | C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>   | 15           |
| 96  | 花生烯酸                              | C <sub>20</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>   | 15           |
| 97  | 花生酸                               | C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>   | 15,20        |
| 98  | 琥珀酸                               | C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>     | 9,14         |
| 99  | 癸酸                                | C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>   | 22           |
| 100 | 10-甲基十二酸                          | C <sub>13</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>   | 22           |

## 1.6 甾体化合物

广地龙中含有甾体类化合物, 包括麦角甾-1,3,5,7-四烯-1-醇(101)、二氢麦角甾醇1(102)、胆甾-1,4-二烯-3-酮,20-羟基(103)<sup>[14]</sup>、(-)-5,7,22-三烯-1 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,20 $\beta$ -三羟基-9 $\alpha$ ,11 $\alpha$ -环氧-麦角甾烯醇(104)、(-)-1 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,20 $\beta$ -三羟基-5-麦角甾烯醇(105)<sup>[23]</sup>、胆固醇(106)、麦角甾-7,22-二烯-3-醇(107)、麦角甾-5,22-二烯-3-醇(108)、麦角甾-5-烯-3 $\alpha$ -醇(109)<sup>[20]</sup>等。

## 1.7 溶血磷脂

广地龙中的溶血磷脂由 2 大类组成, 包括溶血磷脂酰胆碱和溶血磷脂酰乙醇胺, 是甘油酯与 sn-1 或 sn-2 位置的游离甘油羟基相连的物质。广地龙中溶血磷脂类化合物见表 4。

## 1.8 无机元素

广地龙中含有锌、铬、铜、砷、镉、锡、锑、钡、汞、铅、铋等微量元素<sup>[24-25]</sup>, 铜、锌、铬元素参与人体生长代谢活动, 能在一定程度上改善机体糖代谢, 增强免疫能力, 促进人体生长发育等。重金属元素在广地龙体内富集程度是其用药安全性的重要决定因素。

## 1.9 其他类

Liu 等<sup>[23]</sup>基于抗菌活性导向, 首次从广地龙中分离得到一种生物碱(+)-5S-甲基,2S-(N-甲基吡咯烷)-丙酸(151)、和 1 种烷基寡糖(-)-6'''-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 6''')-[ $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基-(1' $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基-(1'' $\rightarrow$ 4')-吡喃葡萄糖基]-次甲基-3'''-N-噻唑酮(152)。此外, 广地龙还含有类似血小板活化因子(153)<sup>[26]</sup>, 呋喃磺酸类 5-乙基-2-己基呋喃-3-磺酸(154)、5-乙基-2-(1-羟基己基)呋喃-3-磺酸(155)<sup>[9]</sup>, 环戊烯酮 3,5,5-三甲基环戊烯-2-酮(156)、3-甲基-4-丙基-2-羟基环戊烷(157)<sup>[21]</sup>, 酯类 N-二扁桃酸乙酯(158)、十八烷酸乙酯(159)等成分<sup>[14]</sup>。

## 2 药理作用

广地龙性寒, 味咸, 归肝、脾、膀胱经, 其咸能降泄, 寒可除有余邪热, 为息风止痉药。其传统功效主要为清热定惊、通络、平喘、利尿, 常用于肝经热极风动之证, 善治高热惊痫抽搐、伤寒热极烦闷、狂躁不安, 长于通经活络, 善治热痹, 同时又可清肺平喘、解热疾而利小便, 用于肺热喘咳、水肿尿少等证。

### 2.1 基于传统功效的药理作用

2.1.1 清热定惊 对神经系统的影响。广地龙提取

表 4 广地龙中溶血磷脂类成分

Table 4 Lysoglycerophospholipids in *P. aspergillum*

| 编号  | 化合物名称                                                                                                                                                     | 分子式                                               | 文献 |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|----|
| 110 | 3,5,9-trioxa-4-phosphapentadecan-1-aminium,7-(hexyloxy)-4-hydroxy- <i>N,N,N</i> -trimethyl-,inner salt,4-oxide                                            | C <sub>20</sub> H <sub>44</sub> NO <sub>6</sub> P | 9  |
| 111 | 3-hydroxy-2-[(5 <i>E</i> ,8 <i>E</i> ,11 <i>E</i> ,14 <i>E</i> ,17 <i>E</i> )-5,8,11,14,17-icosapentaenoyloxy]propyl 2-(trimethylammonio) ethyl phosphate | C <sub>28</sub> H <sub>48</sub> NO <sub>7</sub> P | 9  |
| 112 | lysopc (20 : 5)                                                                                                                                           | C <sub>28</sub> H <sub>48</sub> NO <sub>7</sub> P | 9  |
| 113 | 1-hexadecanoylglycol-2-phosphocholine/isomer                                                                                                              | C <sub>23</sub> H <sub>48</sub> NO <sub>6</sub> P | 9  |
| 114 | 1- <i>O</i> -十四烷基- <i>sn</i> -甘油-3-磷酸胆碱                                                                                                                   | C <sub>22</sub> H <sub>48</sub> NO <sub>6</sub> P | 9  |
| 115 | 2-ammonioethyl(2-hexadecyl-1,3-dioxolan-4-yl)methyl phosphate                                                                                             | C <sub>22</sub> H <sub>46</sub> NO <sub>6</sub> P | 9  |
| 116 | 2-亚油酰基- <i>sn</i> -甘油-3-磷酸胆碱                                                                                                                              | C <sub>26</sub> H <sub>50</sub> NO <sub>7</sub> P | 9  |
| 117 | lpc(16 : 0/0 : 0)/isomer                                                                                                                                  | C <sub>24</sub> H <sub>50</sub> NO <sub>6</sub> P | 9  |
| 118 | 3-hydroxy-2-[(8 <i>Z</i> ,11 <i>Z</i> ,14 <i>Z</i> ,17 <i>Z</i> )-icosa-8,11,14,17-tetraenoyl]oxy}propyl(2-(trimethylammonio) ethyl)phosphate             | C <sub>28</sub> H <sub>50</sub> NO <sub>7</sub> P | 9  |
| 119 | 3-hydroxy-2-(pentadecyloxy)propyl(2-(trimethylammonio)ethyl)phosphate                                                                                     | C <sub>23</sub> H <sub>50</sub> NO <sub>6</sub> P | 9  |
| 120 | 溶血磷脂酰胆碱 (18 : 2)                                                                                                                                          | C <sub>26</sub> H <sub>50</sub> NO <sub>7</sub> P | 9  |
| 121 | lysopc (20 : 4)                                                                                                                                           | C <sub>28</sub> H <sub>50</sub> NO <sub>7</sub> P | 9  |
| 122 | (2 <i>R</i> )-2-hydroxy-3-(pentadecyloxy) propyl 2-(trimethylammonio) ethyl phosphate                                                                     | C <sub>23</sub> H <sub>50</sub> NO <sub>6</sub> P | 9  |
| 123 | (2 <i>R</i> )-1-[(2-aminoethoxy) (hydroxy) phosphoryl]oxy}-3-hydroxy-2-propanyl (11 <i>Z</i> ,14 <i>Z</i> ,17 <i>Z</i> )-11, 14,17-icosatrienoate         | C <sub>25</sub> H <sub>46</sub> NO <sub>7</sub> P | 9  |
| 124 | 溶血磷脂酰胆碱 (18 : 1)                                                                                                                                          | C <sub>26</sub> H <sub>52</sub> NO <sub>6</sub> P | 9  |
| 125 | 2-(stearoyloxy) ethyl 2-(trimethylammonio)ethyl phosphate/isomer                                                                                          | C <sub>24</sub> H <sub>48</sub> NO <sub>7</sub> P | 9  |
| 126 | 1- <i>O</i> -十六烷基-2-羟基- <i>sn</i> -甘油-3-磷酸胆碱异构体 I/III                                                                                                     | C <sub>24</sub> H <sub>52</sub> NO <sub>6</sub> P | 9  |
| 127 | (2 <i>R</i> )-3-[(2-aminoethoxy) (hydroxy) phosphoryl] oxy}-2-hydroxypropyl (11 <i>Z</i> ,14 <i>Z</i> ,17 <i>Z</i> )-11,14,17-icosatrienoate              | C <sub>25</sub> H <sub>46</sub> NO <sub>7</sub> P | 9  |
| 128 | 2-oleoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphorylcholine                                                                                                          | C <sub>26</sub> H <sub>52</sub> NO <sub>7</sub> P | 9  |
| 129 | ( <i>E</i> )-2-(heptadec-1-en-1-yloxy)-3-hydroxypropyl(2-(trimethylammonio)ethyl)phosphate                                                                | C <sub>24</sub> H <sub>48</sub> NO <sub>7</sub> P | 9  |
| 130 | 2-aminoethyl2-[(1 <i>E</i> )-1-hexadecen-1-yloxy]-3-hydroxypropyl hydrogen phosphate                                                                      | C <sub>21</sub> H <sub>44</sub> NO <sub>6</sub> P | 9  |
| 131 | (2 <i>R</i> )-3-[(1 <i>Z</i> )-1-heptadecen-1-yloxy]-2-hydroxypropyl 2-(trimethylammonio)ethyl phosphate                                                  | C <sub>24</sub> H <sub>48</sub> NO <sub>7</sub> P | 9  |
| 132 | oleoyl-lysophosphatidylcholine                                                                                                                            | C <sub>26</sub> H <sub>52</sub> NO <sub>7</sub> P | 9  |
| 133 | 2-aminoethyl(2 <i>R</i> )-3-[(1 <i>Z</i> )-1-hexadecen-1-yloxy]-2-hydroxypropyl hydrogen phosphate                                                        | C <sub>21</sub> H <sub>44</sub> NO <sub>6</sub> P | 9  |
| 134 | (2 <i>R</i> )-3-[(5 <i>E</i> )-5-heptadecen-1-yloxy]-2-hydroxypropyl 2-(trimethylammonio) ethyl phosphate                                                 | C <sub>24</sub> H <sub>48</sub> NO <sub>7</sub> P | 9  |
| 135 | 2-eicosadienoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphocholine                                                                                                      | C <sub>28</sub> H <sub>54</sub> NO <sub>7</sub> P | 9  |
| 136 | 1- <i>O</i> -十七烷基- <i>sn</i> -甘油-3-磷酸胆碱/异构体                                                                                                               | C <sub>25</sub> H <sub>54</sub> NO <sub>6</sub> P | 9  |
| 137 | ( <i>E</i> )-3-hydroxy-2-(octadec-1-en-1-yloxy) propyl[2-(trimethylammonio)ethyl]phosphate                                                                | C <sub>26</sub> H <sub>54</sub> NO <sub>6</sub> P | 9  |
| 138 | 2-aminoethyl 3-(hexadecyloxy)-2-methoxy propylhydrogenphosphate                                                                                           | C <sub>22</sub> H <sub>48</sub> NO <sub>6</sub> P | 9  |
| 139 | 1-eicosadienoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphocholine                                                                                                      | C <sub>28</sub> H <sub>54</sub> NO <sub>7</sub> P | 9  |
| 140 | (2 <i>R</i> )-3-[(2-aminoethoxy)(hydroxy)phosphoryl] oxy}-2-hydroxypropyl(11 <i>Z</i> ,14 <i>Z</i> )-11,14-icosadienoate                                  | C <sub>25</sub> H <sub>48</sub> NO <sub>7</sub> P | 9  |
| 141 | 2-ammonioethyl[(2 <i>R</i> ,4 <i>R</i> )-2-(14-methylpentadecyl)-1,3-dioxolan-4-yl] methyl phosphate/isomer                                               | C <sub>22</sub> H <sub>46</sub> NO <sub>6</sub> P | 9  |
| 142 | 2-[(2-propyloctadecanoyl)oxy]ethyl 2-(trimethylammonio)ethylphosphate                                                                                     | C <sub>27</sub> H <sub>54</sub> NO <sub>7</sub> P | 9  |
| 143 | lysopc (p-18 : 0)                                                                                                                                         | C <sub>26</sub> H <sub>54</sub> NO <sub>6</sub> P | 9  |
| 144 | 1-十七碳酰-甘油-3-磷酸胆碱                                                                                                                                          | C <sub>25</sub> H <sub>52</sub> NO <sub>7</sub> P | 9  |
| 145 | 2-aminoethyl(2 <i>R</i> )-3-[(13 <i>Z</i> )-13-docosen-1-yloxy]-2-hydroxypropyl hydrogen phosphate                                                        | C <sub>27</sub> H <sub>56</sub> NO <sub>6</sub> P | 9  |
| 146 | (2 <i>R</i> )-1-[(2-aminoethoxy)(hydroxy)phosphoryl]oxy}-3-hydroxy-2-propanyl(11 <i>E</i> )-11-icosenoate                                                 | C <sub>25</sub> H <sub>50</sub> NO <sub>7</sub> P | 9  |
| 147 | 1- <i>O</i> -十八烷基-2-羟基- <i>sn</i> -甘油-3-磷酸胆碱                                                                                                              | C <sub>26</sub> H <sub>56</sub> NO <sub>6</sub> P | 9  |
| 148 | 1-icosanoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphocholine                                                                                                          | C <sub>28</sub> H <sub>58</sub> NO <sub>7</sub> P | 9  |
| 149 | (2 <i>R</i> )-3-[(2-aminoethoxy)(hydroxy) phosphoryl]oxy}-2-hydroxypropyl(11 <i>Z</i> )-11-icosenoate                                                     | C <sub>25</sub> H <sub>50</sub> NO <sub>7</sub> P | 9  |
| 150 | lysopc [20 : 1(11 <i>Z</i> )]                                                                                                                             | C <sub>28</sub> H <sub>56</sub> NO <sub>7</sub> P | 9  |

物可调节大脑中动脉闭塞 (middle cerebral artery occlusion, MCAo) 模型大鼠皮层半暗带、缺血核心的脑源性神经营养因子蛋白, 减少皮质缺血核心区参与痛觉、中风和癫痫的肌原纤维酸性蛋白和 S100B 星形胶质细胞的活化, 增加神经元密度, 显著改善大鼠 MCAo 后的神经功能恢复<sup>[27]</sup>。以广地龙提取物外用、口服、口服同时外用治疗 Wistar 大鼠 II 级糖尿病溃疡, 发现局部给药对改善神经纤维密度效果最佳, 可能机制是其含有胰岛素样生长因子-1 (insulin-like growth factor-1, IGF-1) 的生物活性物质, 促进施万细胞的增殖、存活, 并向损伤神经远端迁移, 支持轴突再生<sup>[28]</sup>。广地龙不同提取部位可抑制小鼠自主活动, 具有催眠、抗惊厥作用<sup>[29]</sup>。脂类成分二十二碳五烯酸促进神经细胞 PC12 突起生长, 并与浓度呈正相关, 其机制可能与激活细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases, ERK) 和蛋白激酶 B 信号通路有关<sup>[30]</sup>。二十二碳五烯酸和二十碳五烯酸的实验结果表明, 二者能降低神经磷脂酶和半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (cystein-aspartate protease-3, Caspase-3) 的活性, 降低氧化应激导致的神经元功能障碍, 表现出神经保护作用<sup>[31]</sup>。

**2.1.2 通络 对循环系统、心血管系统的影响。**研究表明, 广地龙纤溶酶 (蚓纤溶酶、蚓激酶、蚓胶原酶) 是抗血栓活性的有效成分, 可使体外血栓形成的时间延长, 既抗凝又不影响止血, 有利于血栓的防治<sup>[32]</sup>。临床上用的多为口服制剂, 而口服的酶制剂在消化系统易被水解为氨基酸进入血液, 因而推测地龙纤溶酶口服时实际发挥疗效的物质可能是其水解产物。何红等<sup>[33]</sup>研究发现, 不含活性纤溶酶、主要含有丰富游离氨基酸的广地龙提取物具有抗凝血活性, 可明显延长小鼠凝血、出血时间及家兔离体血浆复钙时间。贺石林等<sup>[34]</sup>研究发现广地龙提取液体内外实验均可显著延长凝血酶时间, 体外实验能活化部分凝血活酶时间, 且延长血浆凝血酶原时间, 提示广地龙抗凝作用可能与凝血酶-纤维蛋白原反应的直接抑制相关, 且其醇提物抗凝血作用优于水提物<sup>[35]</sup>。吕金胜等<sup>[36]</sup>展开小鼠醋酸扭体及热板疼痛实验, 结果表明广地龙醇提物具有镇痛效果。研究表明, 广地龙水提液、醇提液可促进成骨细胞 MC3T3 的增殖、分化和基质矿化, 抑制骨吸收, 促进骨修复重建<sup>[37]</sup>。

**2.1.3 平喘 对呼吸系统的影响。**广地龙具有抗哮

喘作用, 广地龙水提物能有效地延长组胺和卵清蛋白诱发豚鼠哮喘的潜伏期, 具有潜在的抗支气管哮喘作用, 可能与其所含的寡肽成分相关<sup>[38]</sup>。利红宇等<sup>[39]</sup>利用乙酰胆碱引喘实验、酚红祛痰法、枸橼酸喷雾引咳考察不同炮制的广地龙平喘化痰止咳药效, 发现蛤粉制广地龙疗效最佳。考察广地龙提取液中次黄嘌呤和琥珀酸的止喘功效, 发现其对豚鼠有明显的抗组织胺和止喘作用<sup>[40]</sup>, 且广地龙可明显延长豚鼠由卵白蛋白引喘的潜伏期, 对乙酰胆碱组胺引起的豚鼠哮喘有极显著的抑制作用<sup>[41]</sup>。广地龙平喘的机制可能为有效抑制肺组织核因子- $\kappa$ B 信号的激活, 减轻气道高反应性和辅助型 T 细胞 2 型炎症反应<sup>[42]</sup>; 可抑制慢性哮喘肺组织中  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白及纤连蛋白表达<sup>[43]</sup>; 可下调气道上皮细胞转化生长因子- $\beta$ 1、Smad2 的表达, 通过抑制转化生长因子- $\beta$ 1/Smad2 信号通路, 降低肺成纤维细胞纤连蛋白的表达, 从而抑制气道重构<sup>[44]</sup>。

**2.1.4 利尿 对泌尿系统的影响。**《本草纲目》指出“其性寒而下行, 性寒故能解诸热疾, 下行故能利小便, 治足疾而通经络也。”广地龙热浸剂在给药后 1 h 利尿作用最明显, 作用能维持 1 h, 表明广地龙有利尿的功效<sup>[45]</sup>。

## 2.2 基于拓展功效的药理作用

**2.2.1 降压** 徐叔云等<sup>[46]</sup>在广地龙中分离出 3 种成分, 发现前 2 者有明显的降压活性, 降压机制可能是由于它们直接作用于脊髓以上的中枢神经系统或通过某些内感受器反射性地影响中枢神经系统, 引起部分内脏血管的扩张而使血压下降<sup>[47]</sup>。类似血小板活化因子物质被发现是广地龙降压的活性成分<sup>[26]</sup>。

**2.2.2 抗肿瘤** 炮制广地龙相对分子质量为 8000~14 000 的水溶性蛋白可以下调鼻咽癌组织基质金属蛋白酶-9 基因表达, 减少肿瘤组织血管生长密度, 抑制肿瘤生长转移<sup>[48]</sup>。蚯蚓纤溶酶有抑制肝癌 SMMC-7721 细胞生长的作用, 且能抑制肝癌细胞与纤连蛋白及内皮细胞的黏附, 其作用机制可能与蚯蚓纤溶酶能在基因及蛋白水平下调整整合素  $\beta$ 1 表达有关<sup>[49]</sup>。核苷类成分与色氨酸可协同抑制小鼠肉瘤 S<sub>180</sub> 细胞的生长, 具有抗肿瘤活性和放射增敏效应, 其作用机制可能与免疫调节、促进肿瘤坏死因子- $\alpha$  产生及调节 B 淋巴细胞瘤-2 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2) / Bcl-2 相关 X 蛋白凋亡通路有关<sup>[50]</sup>。广地龙成分肌苷能抑制胃癌 BGC-823 细胞内乳酸脱氢酶活性, 减少肿瘤细胞数量, 具有抗肿瘤活性<sup>[51]</sup>。

**2.2.3 增强免疫** 广地龙提取物能显著抑制人类免疫缺陷病毒-1 型 (human immunodeficiency virus-1, HIV-1) 包膜糖蛋白六螺旋束核心结构 gp416-HB 的形成, 抑制 HIV-1JR-FL 假型病毒的感染, 具有 HIV-1 融合抑制剂的关键活性<sup>[52]</sup>。广地龙也能显著刺激或促进脂多糖、刀豆球蛋白 A 诱导的淋巴细胞增殖, 也能显著升高小鼠脾淋巴细胞分泌免疫调节因子白细胞介素-2, 具有较明显的免疫调节活性<sup>[53]</sup>。

**2.2.4 促创面愈合** 何琳等<sup>[54]</sup>以广地龙凝胶剂治疗小鼠皮肤深 II 度烫伤, 发现其可降低小鼠烫伤创面水肿程度, 缩短小鼠深 II 度烫伤创面愈合时间, 对烫伤有促进结痂和愈合作用。广地龙断体后会产生促进成纤维细胞增生作用的物质, 从而促进创伤愈合<sup>[55]</sup>。

**2.2.5 对生殖系统作用** 广地龙水煎液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 (幅度)、收缩时间及子宫活动力, 此作用具有量效关系, 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  $\text{Ca}^{2+}$  通道而发挥作用<sup>[56]</sup>。徐叔云等<sup>[57]</sup>在广地龙中分离出引湿性、淡黄色针状结晶成分 III, 0.5~1.0 mg/kg 剂量下可收缩小肠、大肠, 间接地影响子宫活动; 1 mg/kg 剂量下子宫紧张度立即升高; 剂量加大到 8~10 mg/kg 时子宫紧张度立即升高、血压极速下降至零。

**2.2.6 抗炎** 广地龙醇提物对二甲苯致小鼠耳急性炎症肿胀、角叉菜胶和蛋清所致足跖肿胀和醋酸所致腹腔毛细血管通透性亢进均具有明显地抑制作用, 表明其具有显著的抗炎作用<sup>[36,58]</sup>。核苷类成分肌苷能够抑制实验性自体免疫性脑脊髓炎脊髓中的星形胶质细胞活性, 下调外周淋巴组织中炎症因子白细胞介素-17 水平, 具有抗炎活性<sup>[59]</sup>。

**2.2.7 其他** 广地龙可剂量相关性地下调心肌纤维化相关蛋白 ERK1/2、尿激酶型纤溶酶原激活物、转录因子特化蛋白-1、结缔组织生长因子的活化和表达, 提高线粒体抗凋亡蛋白 IGF-1R 和 p-IGF-1R 水平, 逆转高氯化钾诱导的心肌细胞凋亡和纤维化, 机制可能与 IGF-1/IGF-1R 通路的激活和 ERK 相关纤维化通路的抑制有关<sup>[60]</sup>。广地龙能降低脑缺血再灌注损伤后大鼠的脑组织 Caspase-3 蛋白表达, 明显缩小脑梗死面积, 有效降低各种氧自由基、脂质过氧化、炎性细胞因子水平, 降低神经元凋亡, 对大脑缺血再灌注损伤具有保护作用<sup>[61-62]</sup>。Liu 等<sup>[23]</sup>从广地龙中分离到新型麦角甾醇化合物具有抗菌活性。

### 3 广地龙 Q-Marker 的预测分析

中药药效物质基础是指中药及其复方中发挥作用的化学成分 (群), 是中药质量控制的基础与核心, 是发现中药 Q-Marker, 制定中药质量标准的重要依据<sup>[63-64]</sup>。刘昌孝院士<sup>[65-66]</sup>提出中药 Q-Marker 的核心理念, 进一步密切中药有效性-物质基础-质量控制标志性成分的关联度。通过中药药效物质基础研究, 明确中药的有效成分, 研究多种药效物质之间的相互影响和协同作用, 阐明其作用机制是中药质量稳定可控的基础和保证<sup>[67]</sup>。目前, 中药药效物质基础主要的研究方法包括血清药物化学、谱效学、药动学-药效学、代谢组学、生物色谱技术、仿生技术等<sup>[67-68]</sup>, 这些思路和方法在初步阐明中药活性组分方面各有优势。本文基于药效物质基础分析, 对广地龙质量进行客观科学评价及 Q-Marker 预测, 有利于建立广地龙药材科学合理的质量控制方法。

#### 3.1 基于传统功效的 Q-Marker 预测分析

传统功效 (功能主治) 是对中药有效性的概括, 也是临床用药的依据。地龙药用始载于《神农本草经》,《中国药典》2020 年版收载地龙包括广地龙和沪地龙 2 种, 具有清热定惊、通络、平喘、利尿的功效, 用于高热神昏、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。 $\alpha$ -亚麻酸、二十碳五烯酸等多不饱和脂肪酸具有抗动脉粥样硬化<sup>[69]</sup>、防治骨质疏松<sup>[70]</sup>、改善气道通气功能<sup>[71]</sup>等作用。琥珀酸具有抗癫痫<sup>[72]</sup>、解热、镇痛<sup>[73]</sup>、止喘活性<sup>[74]</sup>。肌苷具有镇痛活性<sup>[75]</sup>。蚓激酶<sup>[76-77]</sup>、纤溶活性蛋白酶 EQY-4<sup>[12]</sup>、胍乙基磷酸丝氨酸激酶、纤溶活性蛋白<sup>[7]</sup>具有抑制血小板聚集和溶栓活性。次黄嘌呤具有止喘活性<sup>[74]</sup>。氨基酸具有抗凝血作用<sup>[33]</sup>。琥珀酸的解热、抗癫痫作用与传统功效“清热定惊”一致; 多不饱和脂肪酸抗动脉粥样硬化、防治骨质疏松, 蚓激酶、纤溶活性蛋白酶 EQY-4、胍乙基磷酸丝氨酸激酶、纤溶活性蛋白抑制血小板聚集和溶栓活性, 氨基酸的抗凝血, 琥珀酸、肌苷的镇痛作用与传统功效“通络”一致; 次黄嘌呤和琥珀酸的止喘活性、多不饱和脂肪酸改善气道通气功能与传统功效“平喘”一致。基于广地龙的传统药效-药效物质基础分析, 以上几类成分与广地龙传统功效一致, 是其对应药效的物质基础, 可作为广地龙 Q-Marker 的主要选择。

#### 3.2 基于扩展功效的 Q-Marker 预测分析

现代研究表明, 广地龙具有降压、抗肿瘤、增

强免疫、促创面愈合、抗炎等药理作用。类似血小板活化因子具有降压作用<sup>[26]</sup>, 蚓激酶具有抗脑缺血损伤作用<sup>[78]</sup>, 甾体化合物(-)-5,7,22-三烯-1 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,20 $\beta$ -三羟基-9 $\alpha$ ,11 $\alpha$ -环氧-麦角甾烯醇、(-)-1 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,20 $\beta$ -三羟基-5-麦角甾烯醇具有抗菌作用<sup>[23]</sup>, 花生四烯酸、二十碳五烯酸是调节炎症的介质<sup>[79]</sup>, 尿嘧啶、次黄嘌呤、黄嘌呤等核苷类和色氨酸共同发挥抗肿瘤作用<sup>[50]</sup>, 肌苷具有抗炎、免疫调节<sup>[59]</sup>、抗肿瘤作用<sup>[51]</sup>。以上几类成分与广地龙扩展功效的药理活性一致, 是其对应的药效物质基础, 可作为广地龙 Q-Marker 选择的重要参考依据。

### 3.3 基于入血成分的 Q-Marker 预测分析

中药所含成分虽然复杂, 但只有被吸收入血的成分才能发挥作用, 这些成分包括中药所含成分的原型成分和代谢产物; 通过分析中药口服给药后血液中的成分, 确定中药的体内直接作用物质, 是快速、准确地研究确定中药药效物质基础的有效途径<sup>[80]</sup>。张玉等<sup>[21]</sup>采用超高效液相色谱-四级杆-飞行时间串联质谱方法研究广地龙提取物在大鼠中的入血成分, 共鉴定出 10 个原型成分和 3 个代谢产物。原型成分包含 1 个二肽类成分、1 个环二肽类成分、2 个饱和脂肪酸类成分、1 个多不饱和脂肪酸类成分、1 个胆甾烯酮类成分和其他 4 个含氮类物质。3 个代谢产物包括次黄嘌呤、不饱和有机酸及其酰胺类成分的代谢。大鼠血浆中检测到的入血成分, 可能是广地龙潜在的药效成分。二肽类和环二肽类是广泛存在于自然界中的 2 种最小的肽类物质, 文献报道其具有抗氧化<sup>[81]</sup>、抗菌<sup>[82]</sup>、抗肿瘤<sup>[83]</sup>、免疫调节<sup>[84]</sup>等活性。脂肪酸类成分包括饱和脂肪酸及不饱和脂肪酸, 研究发现其具有抗氧化<sup>[85]</sup>、抗肿瘤<sup>[86]</sup>、调节脂类代谢活性<sup>[87]</sup>。胆甾烯酮具有调血脂作用<sup>[88]</sup>。次黄嘌呤具有舒张支气管平滑肌<sup>[89]</sup>、调节脂质代谢<sup>[90]</sup>、抗肿瘤<sup>[91]</sup>活性。基于入血成分-药效物质基础分析, 表明广地龙中次黄嘌呤、脂肪酸类、胆甾烯酮类、二肽类和环二肽类是其抗哮喘、抗氧化应激、抗肿瘤、调节脂质代谢、免疫调节等作用的药效物质, 可预测以上成分可能是广地龙的 Q-Marker。

### 3.4 基于化学成分可测性的 Q-Marker 预测分析

化学成分可测性也是确定 Q-Marker 的重要依据。《中国药典》2020 年版规定了地龙的水分、总灰分、酸不溶性成分、重金属、黄曲霉毒素检查, 暂时未包含其主要成分的含量限定要求。根据以上分析, 蛋白质、酶、氨基酸、核苷酸、脂类及琥珀

酸是广地龙 Q-Marker 的重要选择。蛋白质含量测定常规可采用凯氏定氮法、双缩脲法、酚试剂法、紫外吸收法和考马斯亮蓝法等, 因灵敏度高、测定快速简便和干扰物少常选择考马斯亮蓝法<sup>[92-93]</sup>。广地龙中蚓激酶生物活性采用纤维蛋白原平板法、紫外分光光度法测定<sup>[94-95]</sup>。氨基酸的含量可采用氨基酸自动分析仪、柱前衍生高效毛细管电泳、柱前衍生高效液相色谱法, 现阶段氨基酸分析应用较广的是柱前衍生-高效液相色谱法<sup>[96-98]</sup>。核苷类易采用色谱法进行测定, 操作方便。众多学者已对广地龙部分化学成分进行了研究, 如采用反相高效液相色谱法同时测定广地龙中次黄嘌呤、黄嘌呤、尿嘧啶、尿苷等成分的含量<sup>[99]</sup>, 亲水相互作用色谱法同时测定广地龙中胞嘧啶、尿嘧啶、胞苷、鸟嘌呤、次黄嘌呤、黄嘌呤、尿苷、胸腺嘧啶、肌苷、鸟苷、2'-脱氧鸟苷胸苷、2'-脱氧核苷、2'-脱氧尿苷的含量<sup>[100]</sup>。琥珀酸无紫外吸收, 其含量可采用毛细管电泳电导法、高效毛细管电泳法测定、薄层扫描法测定<sup>[19,101-102]</sup>。

综上所述, 基于药效物质基础分析广地龙的 Q-Marker, 蛋白质类成分纤溶活性蛋白, 酶类成分蚓激酶、蚯蚓纤溶酶, 核苷类成分次黄嘌呤、肌苷, 脂肪酸类成分琥珀酸、多不饱和脂肪酸, 氨基酸及二肽类成分为其可能的主要药效物质基础, 可作为广地龙的 Q-Marker。宜进一步对其药动-药效、药效-代谢组学等进行深入研究, 探究其体内吸收、分布、代谢、排泄规律。聚焦其所含成分化学物质组入血后的协同作用, 建立专属性的测定方法, 探寻基于药效物质基础的广地龙的药效机制, 提高质量评价和质量控制的科学性。基于成分-功效-药理作用分析的广地龙 Q-Marker 预测关系见图 2。

## 4 结语

广地龙用药历史悠久, 具有广泛的生理活性和确切的疗效, 其多方面的药用价值具有广阔的开发利用前景。广地龙目前还没有成熟的人工养殖技术, 药材主要来源于野生资源。由于广地龙基原多样性、采集混乱、价值高, 其掺假现象十分严重, 市场上地龙商品掺假率高达 50%<sup>[103]</sup>, 且质量参差不齐。因此, 建立科学、合理的质量评价方法, 对广地龙的质量进行全面准确地评价并指导其资源的合理利用, 对广地龙产业的健康发展具有重要的现实意义。中药药效物质基础是其临床疗效的基础和保障, 对中药的临床使用具有重要的指导意义, 本文在对广地龙化学成分和药理作用研究进展综述的基础上,

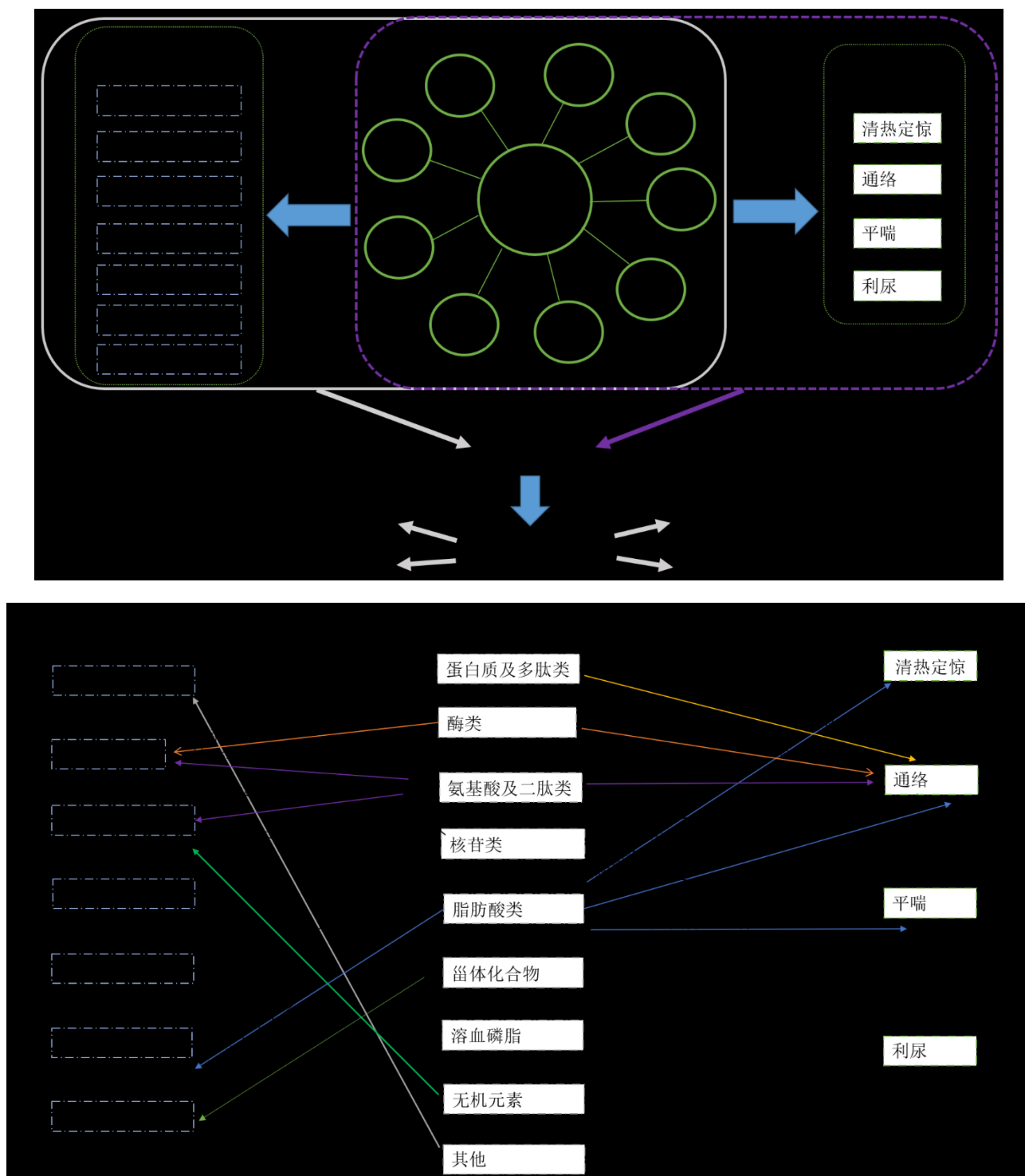


图 2 基于成分-功效-药理作用分析的广地龙 Q-Marker 预测关系图

Fig. 2 Prediction analysis diagram of *P. aspergillum* Q-Markers based on component-efficiency-pharmacologic action

以中药 Q-Marker 的理论为指导,并基于其传统功效及现代药理作用,分析其药效物质基础,进而对广地龙 Q-Marker 进行预测分析,初步确定纤溶活性蛋白、蚓激酶、蚯蚓纤溶酶、次黄嘌呤、肌苷、琥珀酸、多不饱和脂肪酸、氨基酸及二肽类成分为其可

能的 Q-Marker。建议聚焦其有效成分,结合成分化学物质组入血后的协同作用以及化学成分可测性,建立专属性的测定方法,为明确广地龙 Q-Marker 和制定科学的质量评价体系提供基础。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 127.
- [2] 孙洁, 魏劭恒, 毛润乾, 等. 广地龙古今入药品种对比研究 [J]. 中药材, 2018, 41(6): 1312-1316.
- [3] 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.
- [4] 刁治民, 王生财, 邓君, 等. 蚯蚓的经济价值及开发应用前景 [J]. 青海草业, 2005, 14(3): 7-12.
- [5] 黄庆, 黄海涛, 马志国, 等. 基于 RAPD 技术鉴定广地龙 [J/OL]. 基因组学与应用生物学, [2021-07-29]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1369.Q.20201019.1854.002.html>.
- [6] 刘昌孝, 陈士林, 肖小河, 等. 中药质量标志物(Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1443-1457.
- [7] 董洪霜, 张静娴, 胡青, 等. 基于纳升高效液相色谱-四极杆-线性离子阱-静电场轨道阱高分辨质谱技术研究广地龙中的蛋白质 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(2): 324-331.
- [8] 张秋风, 李薇, 龚玲, 等. 参环毛蚓 MT-2 基因及启动子的克隆研究 [J]. 中草药, 2016, 47(16): 2902-2908.
- [9] Cheng T, Zhang Y, Ye J, *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(30): 113197.
- [10] 徐兴, 索绪斌, 向兰, 等. 影响广地龙粗提液蚓激酶活力因素的研究 [J]. 广东药学院学报, 2016, 32(2): 159-163.
- [11] 胡亚冬, 谢春芳, 张琰, 等. 参环毛蚓肠道内源性纤维素酶的分离纯化及酶学性质分析 [J]. 暨南大学学报: 自然科学与医学版, 2010, 31(1): 89-94.
- [12] 张东方, 周美环, 单玉, 等. 参环毛蚓中纤溶活性蛋白酶研究 [J]. 药物生物技术, 2006, 13(1): 49-50.
- [13] 李菁, 龚玲, 李薇, 等. 参环毛蚓体内核苷磷酸化酶的活性测定及动力学分析 [J]. 中药新药与临床药理, 2014, 25(6): 721-724.
- [14] 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.
- [15] 王光忠, 胡迪, 陈敬炳, 等. 地龙类药材化学成分分析 [J]. 中药材, 1998, 21(3): 133-135.
- [16] Liu X M, Liu H M, Zhang C Y, *et al.* Combination of c oxidase subunit I based deoxyribonucleic acid barcoding and HPLC techniques for the identification and quality evaluation of *Pheretima aspergillum* [J]. *J Sep Sci*, 2020, 43(15): 2989-2995.
- [17] 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.
- [18] 黄帅, 徐风, 杨平, 等. 地龙的 HPLC 特征图谱研究 [J]. 中国药房, 2015, 26(21): 2971-2974.
- [19] 何琳, 龙晓英. 高效毛细管电泳法测定广地龙饮片中环琥珀酸的含量 [J]. 广东药学院学报, 2007, 23(2): 124-125.
- [20] 杨得坡, 王发松, 彭劲甫, 等. 参环毛蚓脂类挥发性成分分析 [J]. 中药材, 2000, 23(1): 31-33.
- [21] 张玉, 魏文峰, 霍金海, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术的广地龙血清药物化学初步研究 [J]. 中药材, 2017, 40(4): 848-853.
- [22] 徐晋佑, 郭焕桂, 黄兴华, 等. 气相色谱/质谱法研究华南参环毛蚓的脂肪酸 [J]. 华南师范大学学报: 自然科学版, 1991, 23(1): 73-76.
- [23] Liu H Q, Gao J Y, Lv B Y, *et al.* Anti-pathogens constituents and novel ergosterol derivatives with the broad-spectrum germicidal substances from earthworm, *Pheretima aspergillum* [J]. *Tetrahedron*, 2018, 74(42): 6079-6087.
- [24] 陈伟韬, 毕晓黎, 李养学, 等. 广地龙药材、汤剂及配方颗粒的元素分析 [J]. 中国药师, 2019, 22(11): 2102-2105.
- [25] 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.
- [26] 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.
- [27] Liu C H, Lin Y W, Tang N Y, *et al.* Effect of oral administration of *Pheretima aspergillum* (earthworm) in rats with cerebral infarction induced by middle-cerebral artery occlusion [J]. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 2012, 10(1): 66-82.
- [28] Kristianto H, Mardiaty N P. The effects of earthworms' (*Pheretima aspergillum*) ethanol extract toward the improvement of nerve fibers density in diabetic ulcers care degree II of rats Wistar [J]. *MNJ Malang Neurol J*, 2017, 3(2): 61-72.
- [29] 周园, 王涛, 周玖瑶. 地龙不同提取部位镇静催眠、抗惊厥作用的研究 [J]. 中药材, 2010, 33(7): 1146-1148.
- [30] 王光辉, 钟鸣, 张敏娜, 等. 二十二碳五烯酸对 PC12 细胞神经突起生长的诱导作用 [J]. 中华行为医学与脑科学杂志, 2017, 26(5): 390-394.
- [31] Kelly L, Grehan B, Chiesa A D, *et al.* The polyunsaturated fatty acids, EPA and DPA exert a protective effect in the hippocampus of the aged rat [J]. *Neurobiol Aging*, 2011, 32(12): 2318.e1-2318.15.
- [32] 毕燕芳, 马书林. 中药地龙中溶栓成分研究进展 [J]. 上海中医药杂志, 2004, 38(8): 60-62.
- [33] 何红, 车庆明, 孙启时. 地龙提取物的抗凝血作用 [J]. 中草药, 2007, 38(5): 733-735.
- [34] 贺石林, 彭延古, 李安国, 等. 地龙提取液的抗凝作用与毒性 [J]. 湖南医科大学学报, 1990, 15(2): 107-111.
- [35] 张砾岩, 李玲. 地龙抗血栓有效部位的提取方法初探 [J]. 中成药, 2010, 32(5): 758-761.
- [36] 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.
- [37] 丁佩惠, 唐琪, 陈莉丽, 等. 中药地龙提取液的促成骨作用及对实验性牙槽骨吸收疗效的研究 [J]. 浙江大学学报: 理学版, 2008, 35(6): 684-689.
- [38] Shi Q X, Wang X Y, Liu J Y, *et al.* Anti-asthma effect of an active components group from decoction of *Pheretima aspergillum* and its chemical composition characterized by liquid chromatography-quadrupole time of flight mass spectrometry [J]. *Iran J Pharm Res*, 2019, 18(2): 867-876.
- [39] 利红宇, 李钟, 黄艳玲, 等. 不同炮制的广地龙平喘化痰止咳药效比较 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21(6): 1464-1465.
- [40] 湖南医药工业研究所四室. 广地龙止喘成分的初步研究 [J]. 中草药通讯, 1974, 5(1): 16-20.
- [41] 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.
- [42] Huang C Q, Li W, Wu B, *et al.* *Pheretima aspergillum* decoction suppresses inflammation and relieves asthma in a mouse model of bronchial asthma by NF- $\kappa$ B inhibition [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 189: 22-30.
- [43] 王莉, 刘毅, 王芬, 等. 地龙对哮喘模型小鼠肺组织  $\alpha$ -SMA 及纤维蛋白的抑制作用 [J]. 中国病理生理杂志, 2009, 25(10): 1964-1968.
- [44] 李怀臣, 徐瑞娥, 杨艳娜, 等. 地龙注射液对屋尘螨致敏气道上皮细胞 TGF- $\beta$ 1/Smad2 表达的影响 [J]. 中国药理学杂志, 2010, 45(15): 1145-1149.
- [45] 黎莉, 甘明, 黎祥胜, 等. 地龙类药材药理作用比较 [J]. 中药材, 1997, 20(7): 361-363.
- [46] 徐叔云, 孙鼎兴, 尹留康, 等. 广地龙降血压和兴奋子宫的有效成分的研究 [J]. 安医学报, 1963(4): 175-180.
- [47] 徐叔云, 彭华民, 邢文鏊. 广地龙的降压作用和降压机制的探讨 [J]. 药学报, 1963, 10(1): 15-21.
- [48] 陈学东, 王若光, 尤昭玲, 等. 地龙抗鼻咽癌蛋白组分的蛋白芯片检测 [J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2008, 14(2): 96-97.
- [49] 沈珊珊, 陈洪, 张治国, 等. 蚯蚓纤溶酶对肝癌细胞黏附性影响的研究 [J]. 江苏中医药, 2008, 40(3): 80-83.
- [50] 何悦, 肖会敏, 康晓刚, 等. 地龙胶囊及其主成分对小鼠移植瘤 S<sub>180</sub> 辐射增敏的研究 [J]. 西北药学杂志, 2019, 34(5): 622-628.
- [51] 杨学军, 华益慰, 张新国, 等. 次黄嘌呤核苷对 BGC-823 人胃癌细胞株糖代谢调整作用观察 [J]. 中华肿瘤杂志, 1996, 18(1): 10-12.
- [52] Liu L H, Xu X Y, Liu Y H, *et al.* Screening HIV-1 fusion inhibitors based on capillary electrophoresis head-end microreactor targeting to the core structure of gp41 [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2016, 120: 153-157.
- [53] 刘英姿, 周铁忠. 地龙注射液免疫活性的体外研究 [J]. 安徽农业科学, 2009, 37(35): 17514-17515.
- [54] 何琳, 刘意, 张国兴, 等. 广地龙凝胶剂治疗烫伤的药效学研究 [J]. 海峡药学, 2009, 21(4): 39-41.
- [55] 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.
- [56] 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.
- [57] 徐叔云, 孙鼎兴, 尹留康, 等. 广地龙中促进子宫收缩的成分 [J]. 药学报, 1964(11): 729-734.
- [58] 朱道辰, 张苓花, 王运吉. 地龙抗炎有效部位的分离筛选 [J]. 大连轻工业学院学报, 2004, 23(1): 34-38.
- [59] Junqueira S C, Santos Coelho I, Lieberknecht V, *et al.* Inosine, an endogenous purine nucleoside, suppresses immune responses and protects mice from experimental autoimmune encephalomyelitis: A role for A2A adenosine receptor [J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(5): 3271-3285.
- [60] 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.
- [61] 李青, 肖移生, 侯吉华, 等. 地龙抗大鼠大脑局灶性脑缺血诱导的凋亡研究 [J]. 江西中医学院学报, 2010, 22(2): 63-66.
- [62] 肖移生, 侯吉华, 伍庆华, 等. 地龙对大鼠大脑局灶性脑缺血损伤保护作用研究 [J]. 中药药理与临床, 2009, 25(6): 62-64.
- [63] 吴茜, 毕志明, 李萍, 等. 基于整体观的中药药效物质基础的生物活性筛选/化学在线分析研究新进展 [J]. 中国药科大学学报, 2007, 38(4): 289-293.
- [64] 张铁军, 白钢, 陈常青, 等. 基于“五原则”的复方中药质量标志物(Q-marker)研究路径 [J]. 中草药, 2018, 49(1): 1-13.
- [65] 刘昌孝. 中药质量标志物(Q-Marker)研究发展的 5 年回顾 [J]. 中草药, 2021, 52(9): 2511-2518.
- [66] 张铁军, 刘昌孝. 新形势下中药新药研发的思路与策略 [J]. 中草药, 2021, 52(1): 1-8.
- [67] 毕肖林, 马世堂, 狄留庆, 等. 中药药效物质筛选与辨识的研究思路及进展 [J]. 中草药, 2018, 49(22): 5229-5234.
- [68] 张王宁, 李爱平, 李科, 等. 中药药效物质基础研究方法进展 [J]. 中国药理学杂志, 2018, 53(10): 761-764.
- [69] 赵银娇, 姚柳, 张栩, 等. Omega-3 多不饱和脂肪酸代谢产物的动脉粥样硬化拮抗机制 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2020, 28(6): 461-467.
- [70] 郭红燕, 雷涛. 多不饱和脂肪酸与骨质疏松症的相关性 [J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2017, 10(1): 88-91.
- [71] 史艳莉, 李翠娥, 代方梅, 等. n-3 多不饱和脂肪酸对运动性哮喘豚鼠气道炎症和气道高反应性的影响 [J]. 中国运动医学杂志, 2010, 29(6): 669-672.
- [72] 丛红群, 岳旺, 杨志宏, 等. 琥珀酸在海马 CA1 区对突触前 GABA 释放的影响 [J]. 神经解剖学杂志, 2009,

- 25(1): 6-10.
- [73] 黄黎, 任娜, 叶文华. 薯蓣有机酸的药理作用 [J]. 中药通报, 1985, 10(11): 38-40.
- [74] 王本祥. 现代中药药理学 [M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1997: 1104.
- [75] Nascimento F P, Figueredo S M, Marcon R, *et al.* Inosine reduces pain-related behavior in mice: Involvement of adenosine A1 and A2A receptor subtypes and protein kinase C pathways [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2010, 334(2): 590-598.
- [76] 张国平, 钱睿哲, 杨诗春. 蚓激酶抑制血小板聚集的实验观察 [J]. 中华医学杂志, 1998, 78(5): 394-395.
- [77] 徐国良, 李敏, 唐剑彬, 等. 一种蚓激酶活性成分的分离纯化及溶栓活性研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2010, 21(3): 263-266.
- [78] Ji H R, Wang L, Bi H, *et al.* Mechanisms of lumbrokinase in protection of cerebral ischemia [J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 590(1/2/3): 281-289.
- [79] 柳泽深, 姜悦, 陈峰. 花生四烯酸、二十二碳六烯酸和二十碳五烯酸在炎症中的作用概述 [J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(10): 3890-3899.
- [80] 闫广利, 孙晖, 张爱华, 等. 中药血清药物化学研究概况及其理论和方法拓展 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(17): 3406-3412.
- [81] 陈冲, 赵谋明, 孙为正. 含酪氨酸二肽在脂质体系中的抗氧化活性与供电子能力 [J]. 食品科学, 2021, 42(11): 1-7.
- [82] 任毅, 孟明民, 胡碧煌, 等. 含多巴环二肽 cyclo(DOPA-Ala)和 cyclo(DOPA-Gly)的合成及其抗菌活性 [J]. 海南大学学报: 自然科学版, 2018, 36(3): 241-247.
- [83] 强薇, 梅刚. 真菌中环二肽及其衍生物的抗肿瘤活性研究进展 [J]. 中国药房, 2014, 25(21): 2007-2010.
- [84] 田颖, 王刚. 脯-甘氨酸环二肽对小鼠免疫功能的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2014, 34(11): 3093-3094.
- [85] 师文文, 吕攀, 徐庆强, 等. 油酸在黄曲霉毒素诱导肝细胞损伤中的保护作用 [J]. 中国油料作物学报, 2019, 41(2): 267-274.
- [86] 薛欢, 王佩茹, 王秀丽.  $\omega$ -3 多不饱和脂肪酸对皮肤肿瘤的作用及机制研究进展 [J]. 中国皮肤性病学杂志, 2020, 34(10): 1201-1204.
- [87] 王雪, 闫素梅. 多不饱和脂肪酸对动物脂类代谢的调节作用与机制 [J]. 动物营养学报, 2019, 31(6): 2471-2478.
- [88] 朴惠顺, 金松哲, 方文龙. 胆甾烯酮对小鼠体重和血清脂质的影响 [J]. 延边医学院学报, 1994, 17(1): 15-16.
- [89] 谢新才, 孙悦. 中药临床 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2017: 257.
- [90] 顾效瑜, 李哲, 郑毅男, 等. 次黄嘌呤对小鼠脂质代谢的影响 [J]. 吉林农业大学学报, 2017, 39(3): 337-342.
- [91] Yoshida M, Hoshi A, Kureitani K. Prevention of antitumor effect of 5-fluorouracil by hypoxanthine [J]. *Biochem Pharmacol*, 1978, 27(24): 2979-2982.
- [92] 丁冠华, 李峰, 康廷国. 水蛭地龙药材商品中可溶性蛋白质的含量测定 [J]. 辽宁中医杂志, 2010, 37(6): 1100-1101.
- [93] 赵玉荣, 陈翠霞, 张黎民, 等. 常量法和微量法测定蛋白质含量综合性实验设计 [J]. 实验技术与管理, 2021, 38(2): 44-48.
- [94] 陆耀盈, 孙洁, 马志国. 广地龙药材中蚓激酶的生物活性测定 [J]. 海峡药学, 2020, 32(7): 56-58.
- [95] 李岚, 李文贵, 周清瑶, 等. 紫外分光光度法测定蚓激酶效价方法研究 [J]. 实用中西医结合临床, 2020, 20(10): 155-157.
- [96] 蒋艳红, 刘敏彦, 李向军, 等. 地龙中游离氨基酸的含量测定 [J]. 中国中医药信息杂志, 2003, 10(2): 36-37.
- [97] 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.
- [98] 裴福成, 李长新, 任桂萍. 柱前衍生 HPLC 法测定地龙中氨基酸的含量 [J]. 中医药学报, 2007, 35(3): 26-27.
- [99] 季倩, 高守红, 张汉明, 等. HPLC 法测定各沪产地龙和广地龙中次黄嘌呤、黄嘌呤、尿嘧啶和尿苷的含量 [J]. 第二军医大学学报, 2015, 36(4): 443-446.
- [100] Chen P, Li W, Li Q, *et al.* Identification and quantification of nucleosides and nucleobases in geosaurus and leech by hydrophilic-interaction chromatography [J]. *Talanta*, 2011, 85(3): 1634-1641.
- [101] 黄庆华, 龙晓英, 毋福海, 等. 广地龙中琥珀酸的毛细管电泳电导法测定 [J]. 中国现代应用药学, 2006, 23(6): 484-486.
- [102] 王光忠, 邹阳, 陈敬炳, 等. 薄层扫描法测定地龙类药材中琥珀酸的含量 [J]. 药物分析杂志, 1997, 17(4): 274-275.
- [103] Gu Y, Zhang J, Sun J, *et al.* Marker peptide screening and species-specific authentication of *Pheretima* using proteomics [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2021, 413(12): 3167-3176.

[责任编辑 崔艳丽]