

# 基于网络药理学探讨广地龙蛋白对肌肉减少症的作用机制

周子玲, 潘秋娟, 黎紫馨, 杨慧慧, 梁悦, 周立红\*

广西中医药大学公共卫生与管理学院预防医学系营养与食品卫生学教研室, 广西 南宁

收稿日期: 2026年3月26日; 录用日期: 2026年4月30日; 发布日期: 2026年5月13日

## 摘要

目的: 针对人口老龄化背景下肌肉减少症患病率持续攀升、现代医学缺乏特效靶向治疗药物的临床难题, 本研究依托网络药理学与分子对接技术, 系统探究广地龙蛋白干预肌肉减少症的潜在作用靶点与分子机制, 为传统中药的现代化应用及肌少症防治提供理论依据。方法: 本研究通过PubChem、Swiss Target Prediction、Uniprot等数据库, 筛选广地龙蛋白中34种核心活性成分(包含有机酸类、氨基酸类、碱基核苷类、酶类), 并规范化收集成分对应作用靶点; 利用GeneCards数据库检索肌肉减少症相关疾病靶点, 采用Venny 2.1软件获取药物靶点与疾病靶点的交集。借助STRING数据库构建蛋白互作(PPI)网络, 导入Cytoscape 3.10.3软件, 结合CytoHubba、MCODE插件进行拓扑学分析, 筛选核心作用靶点。运用AutoDock 4.2.6、PyMOL等软件开展分子对接验证, 检测关键活性成分与核心靶点的结合活性。结果: 本研究共筛选出广地龙蛋白干预肌肉减少症的交集靶点179个, 经拓扑分析确定ESR1、IL6、EGFR、GAPDH、BCL2为五大核心靶点。分子对接结果显示, 以结合能  $< 0 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$  为稳定结合判定标准, 广地龙蛋白内亮氨酸、赖氨酸、谷氨酸、次黄嘌呤、蚓激酶等关键成分, 与核心靶点均能形成稳定结合, 其中赖氨酸与EGFR结合能最低, 为  $-9.1 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ , 结合活性最优。机制分析证实, 广地龙蛋白可通过调控炎症反应、肌肉蛋白合成与分解、细胞凋亡、能量代谢、肌纤维再生等通路, 发挥多成分、多靶点、多途径协同的肌肉保护作用, 且具备药食同源、安全性高的应用优势。结论: 本研究揭示了广地龙蛋白通过多成分、多靶点、多通路协同干预肌肉减少症的作用机制, 验证了关键成分与核心靶点的强结合活性。广地龙蛋白药食同源、安全性佳, 在肌肉减少症营养干预、功能食品研发领域极具应用潜力, 也为中药防治老年性肌肉退行性疾病提供了科学依据与研究方向。

## 关键词

广地龙蛋白, 肌肉减少症, 网络药理学, 分子对接, 作用机制

\*通讯作者。

文章引用: 周子玲, 潘秋娟, 黎紫馨, 杨慧慧, 梁悦, 周立红. 基于网络药理学探讨广地龙蛋白对肌肉减少症的作用机制[J]. 中医学, 2026, 15(5): 64-78. DOI: 10.12677/tcm.2026.155252

# Exploring the Mechanism of Action of *Pheretima aspergillum* Protein on Sarcopenia Based on Network Pharmacology

Ziling Zhou, Qiujuan Pan, Zixin Li, Huihui Yang, Yue Liang, Lihong Zhou\*

Teaching and Research Office for Nutrition and Food Hygiene, Department of Preventive Medicine, School of Public Health and Management, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning Guangxi

Received: March 26, 2026; accepted: April 30, 2026; published: May 13, 2026

## Abstract

**Objective:** In response to the clinical challenges posed by the rising prevalence of sarcopenia in the context of an aging population and the lack of specific targeted therapeutic drugs in modern medicine, this study relies on network pharmacology and molecular docking technology to systematically explore the potential targets and molecular mechanisms of *Pheretima aspergillum* protein intervention in sarcopenia, providing a theoretical basis for the modern application of traditional Chinese medicine and the prevention and treatment of sarcopenia. **Methods:** This study screened 34 core active components (including organic acids, amino acids, nucleobases, nucleosides, and enzymes) from *Pheretima aspergillum* protein through databases such as PubChem, Swiss Target Prediction, and Uniprot, and standardized the collection of corresponding targets for these components. The GeneCards database was used to retrieve disease-related targets associated with sarcopenia, and Venny 2.1 software was employed to obtain the intersection of drug targets and disease targets. The protein-protein interaction (PPI) network was constructed using the STRING database, imported into Cytoscape 3.10.3 software, and combined with CytoHubba and MCODE plugins for topological analysis to identify core targets. Molecular docking verification was conducted using AutoDock 4.2.6, PyMOL, and other software to detect the binding activity of key active components with core targets. **Results:** This study identified a total of 179 intersecting targets for *Pheretima aspergillum* protein intervention in sarcopenia. Through topological analysis, ESR1, IL6, EGFR, GAPDH, and BCL2 were determined as the five core targets. Molecular docking results showed that, using a binding energy  $< 0$  kcal·mol<sup>-1</sup> as the criterion for stable binding, key components such as leucine, lysine, glutamic acid, hypoxanthine, and lumbrukinase in *Pheretima aspergillum* protein could form stable binding with core targets. Among them, lysine had the lowest binding energy with EGFR, at  $-9.1$  kcal·mol<sup>-1</sup>, indicating the best binding activity. Mechanism analysis confirmed that *Pheretima aspergillum* protein exerts a multi-component, multi-target, and multi-pathway synergistic muscle-protective effect by regulating pathways such as inflammation, muscle protein synthesis and decomposition, apoptosis, energy metabolism, and muscle fiber regeneration. It also possesses the application advantages of being both food and medicine, with high safety. **Conclusion:** This study reveals the mechanism of *Pheretima aspergillum* protein intervention in sarcopenia through multi-component, multi-target, and multi-pathway synergism, and verifies the strong binding activity of key components with core targets. *Pheretima aspergillum* protein, which is both food and medicine, boasts excellent safety. It holds great potential for application in nutritional intervention for sarcopenia and functional food research and development. Furthermore, it provides scientific evidence and research directions for traditional Chinese medicine in preventing and treating senile muscle degenerative diseases.

## Keywords

***Pheretima aspergillum* Protein, Sarcopenia, Network Pharmacology, Molecular Docking, Mechanism of Action**

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

### 1.1. 肌肉减少症的流行病学现状与发展趋势

#### 1.1.1. 全球及中国人口老龄化背景下的患病率变化

肌肉减少症(Sarcopenia), 又称年龄相关性肌肉衰减症, 简称肌少症, 是一种随年龄增加产生的退行性病变, 在老年人、体力活动缺乏者、慢性病患者、恶性肿瘤患者中发病率较高, 其特点是骨骼肌质量、力量减少及功能障碍[1]。随着全球人口老龄化进程的加速推进, 肌肉减少症已成为威胁老年人健康的核心问题之一。根据最新流行病学调查数据, 全球 60 岁及以上老年人群肌肉减少症患病率为 10%~27%, 亚洲人群患病率达 16.5%。预计到 2050 年, 全球肌肉减少症患者人数将高达 5 亿[2], 对全球公共卫生体系的巨大挑战。中国作为世界上老年人口最多的国家, 肌肉减少症的流行情况尤为严重。根据最新的系统评价和荟萃分析, 中国 60 岁及以上老年人群肌肉减少症患病率为 20.7% (95%CI: 18.3%~23.0%), 显著高于日本(9.9%)和韩国(13.5%)等亚洲邻国[3]。更为重要的是, 中国老年人肌肉减少症患病率呈现明显的上升趋势, 从 2014~2018 年的 19.2% 上升至 2019~2024 年的 21.4% [4]。年龄分层分析显示, 肌肉减少症患病率随年龄增长显著升高。60~69 岁人群患病率为 15.7%, 70~79 岁人群上升至 27.2%, 而 80 岁以上高龄人群患病率高达 45.4%, 部分研究报告甚至达到 50%~67.1% [4]。性别差异分析表明, 女性患病率(21.6%)略高于男性(19.2%), 这一差异在高龄人群中更为明显。地区分布特征显示, 中国南方地区患病率(21.7%)高于北方地区(19.0%), 农村地区患病率显著高于城镇地区。特别值得关注的是, 养老机构中老年人肌肉减少症患病率极高, 男性达 26.3%, 女性达 33.7%, 65.9% 的养老机构老年人存在肌肉减少症风险[5]。

#### 1.1.2. 疾病负担与社会经济影响

肌肉减少症不仅是一个医学问题, 更是一个严重的社会经济问题。该疾病与跌倒、骨折、失能及全因死亡率显著相关, 已成为我国老年人的重要健康负担。肌肉减少症患者的医疗费用是正常人的 2.5 倍, 每年给中国医疗系统造成的经济负担超过千亿元人民币[6]。研究表明, 肌肉减少症患者的跌倒风险增加 3 倍, 骨折风险增加 2 倍, 住院时间延长 50%, 出院后 30 天内再入院率增加 60% [7]。肌肉减少症导致老年人过早丧失劳动能力, 影响家庭收入和社会生产力。据统计, 50 岁以上人群因肌肉减少症导致的劳动能力丧失每年造成的经济损失超过百亿元。同时, 肌肉减少症还增加家庭照护负担[8]。从社会医疗保障角度看, 肌肉减少症患者的长期医疗需求对医保体系构成巨大压力。随着人口老龄化加剧和肌肉减少症患病率上升, 预计到 2030 年, 中国因肌肉减少症导致的医疗支出将超过 2000 亿元, 到 2050 年可能突破 5000 亿元[6]。

### 1.2. 现代医学治疗手段的局限性与挑战

#### 1.2.1. 现有治疗药物的不足

尽管肌肉减少症的重要性已被广泛认识, 但目前尚无美国 FDA 或中国国家药品监督管理局批准的专

门用于治疗肌肉减少症的药物。这一现状反映了该疾病治疗药物研发的巨大挑战。传统的激素替代治疗,包括睾酮、生长激素和脱氢表雄酮等,虽然在改善肌肉力量和质量方面显示出一定效果,但由于严重的副作用而限制了临床应用。睾酮补充治疗可能增加男性前列腺癌风险、女性男性化风险,以及总体心血管事件风险[9]。生长激素治疗的副作用包括水肿、关节疼痛、腕管综合征等,长期使用还可能增加糖尿病和心血管疾病风险。维生素 D 补充治疗是目前临床常用的辅助治疗手段,但其疗效存在争议[10]。选择性雄激素受体调节剂(Selective Androgen Receptor Modulators, SARMs)作为新一代合成代谢药物,正在临床试验中接受评估,目前仍缺乏足够的长期安全性和有效性数据。肌生成抑制蛋白抑制剂是另一个重要的药物研发方向,肌生成抑制蛋白抗体 LY2495655 显示出改善肌肉质量和力量的潜力,但该类药物的长期安全性仍需进一步评估。

### 1.2.2. 治疗策略的困境

当前肌肉减少症的治疗主要依赖非药物干预,包括运动训练和营养支持,但这些策略在实际应用中面临诸多困境。运动训练被认为是肌肉减少症治疗的基石,特别是抗阻训练对增加肌肉质量和力量具有明确效果。然而,许多老年患者由于合并多种慢性疾病、关节疼痛、平衡能力下降等原因,难以承受规律的运动训练。此外,运动训练需要长期坚持才能维持效果,而老年患者的依从性往往较低。营养支持,特别是蛋白质补充,是肌肉减少症治疗的另一重要手段。研究表明,充足的蛋白质摄入(1.2~1.5 g/kg 体重/天)对维持肌肉质量至关重要。然而,许多老年人存在食欲下降、消化吸收功能减退、经济条件限制等问题,难以达到推荐的蛋白质摄入量。此外,单纯的蛋白质补充效果有限,需要与运动训练相结合才能发挥最佳效果。多模式综合治疗虽然被认为是最有效的治疗策略,但在实际临床应用中面临诸多挑战。药物治疗的困境还体现在药物研发的高失败率上。肌肉减少症的发病机制复杂,涉及多个分子通路和细胞类型,单一靶点的药物治疗效果有限。同时,老年患者的药代动力学和药效学特征与年轻人存在显著差异,增加了药物研发的难度和风险。此外,老年患者常合并多种疾病,需要服用多种药物,药物相互作用的风险较高,进一步限制了新药的开发和应用。

## 1.3. 广地龙蛋白研究的创新价值与科学意义

### 1.3.1. 传统药物现代化的重要意义

在现代医学治疗手段面临诸多困境的背景下,从传统中药中寻找治疗肌肉减少症的有效成分具有重要的创新价值和科学意义。中医药在防治肌肉减少症方面具有独特优势,在“异病同治”和“治未病”等理论指导下,可采用调理脾胃、益气养血、强筋健骨等治法,运用针灸、推拿、中药等多种手段改善患者肌肉功能[11]。广地龙作为传统活血化瘀药物,在中医临床应用已有数千年历史。现代研究发现,广地龙含有丰富的蛋白质、多肽、酶类、氨基酸等生物活性成分,具有抗炎、抗氧化、抗血栓、改善微循环等多种药理作用[12]。特别是近年来的研究表明,广地龙蛋白在肌肉保护、促进肌肉修复等方面显示出独特的作用机制。传统药物现代化研究的意义在于,通过现代科学技术手段揭示传统药物的作用机制,为其临床应用提供科学依据,同时为新药研发提供重要线索。网络药理学作为一门新兴的交叉学科,能够从系统生物学角度研究药物与疾病的相互作用,为传统药物的现代化研究提供了强有力的工具。

### 1.3.2. 中西医结合治疗的发展前景

现代医学目前尚缺乏疗效确切的肌肉减少症靶向治疗药物,临床以营养支持与抗阻运动为基础干预,效果有限[13]。中西医结合治疗肌肉减少症代表了未来治疗策略的重要发展方向。骨骼肌是身体的蛋白质库,人体内 60%的蛋白质都以各种形式储存在骨骼肌内。因此,促进机体蛋白质合成,或补充骨骼肌所需蛋白质是治疗肌肉减少症的重要措施之一[14]。广地龙(蚯蚓)干作为无脊椎动物环节动物门钜蚓科动物

参环毛蚓的干燥体，是广西特色中药材之一，具有清热定惊、通络、平喘、利尿的功效。由于其药食同源性，几个世纪以来人们一直将地龙作为食物。研究发现地龙粉的蛋白质含量约占 60%，比稻谷中的蛋白质含量多出 6 倍，高出大豆 2 倍[15]。地龙蛋白很容易水解成游离氨基酸，水解体液含有蛋白质和游离氨基酸，富含维生素和矿物质[16]。广地龙药材中的地龙活性蛋白(Earth Worm Active Protein, EWAP)含有纤溶酶、蚓激酶、核酸、微量元素等多种生物活性成分[17]，具有抗凝血、抗纤维化、抗氧化等多方面的药理作用[18]。其具有的超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)则是生物体内最佳的自由基清除剂，能对抗自由基，在延缓人体衰老、预防疾病等方面发挥重要作用[17]。广地龙蛋白的研究正是中西医结合治疗模式的典型代表。通过网络药理学方法系统分析广地龙蛋白的化学成分、作用靶点和信号通路，能够预测其治疗肌肉减少症的分子机制。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 网络药理学方法的最新进展

网络药理学研究的基础是高质量的数据库资源。近年来，随着计算机技术和生物信息学的快速发展，中药网络药理学相关数据库在数据规模、功能模块、用户界面等方面都有了显著改进。BATMAN-TCM2.0 数据库于 2024 年 1 月发布，是该领域的重要突破。该数据库包含 17,068 个已知的中药成分-靶点相互作用(Ingredient-target Protein Interaction, TTI)，较 1.0 版本增加了 62.3 倍，并预测了约 230 万个高置信度的 TTI [19]。新版本的重要创新在于新增了基于疾病基因特征检索中药成分的反向查询功能，用户可以输入疾病相关的差异表达基因列表，快速筛选出可能对该疾病有效的中药成分[19]。TCMSP (Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database)作为最常用的中药系统药理学数据库，在化合物数量、药代动力学参数、靶点预测等方面持续更新。该数据库整合了化学信息、生物活性、靶点和药代动力学参数，为中药成分的筛选和靶点预测提供了全面的数据支持[20]。TCMID (Traditional Chinese Medicine Integrated Database)聚焦于中药复方研究，实现了复方-成分-疾病的多维关联，可直接链接到 DrugBank 和 OMIM 等国际知名数据库。该数据库的优势在于能够分析中药复方的协同作用机制，为复杂疾病的治疗提供新的思路。

除了专门的中药数据库，通用的生物医学数据库也在不断更新和完善。STRING 数据库在蛋白质相互作用网络构建方面持续改进，最新版本包含了更多物种的蛋白质相互作用数据，并提供了更加精确的相互作用评分系统。DisGeNET 数据库在疾病-基因关联数据方面不断扩充，为疾病相关基因的识别提供了丰富的资源。数据库整合技术的发展也为网络药理学研究带来了新的机遇。POINT 平台整合了多组学多层网络、先进算法(如 RWR 算法、深度学习 DTA/DTI 算法)和大规模知识图谱，为科研人员提供一站式网络药理学分析服务。该平台的创新之处在于采用了多层网络分析方法，能够同时考虑蛋白质-蛋白质相互作用、基因调控、代谢通路等多个层面的信息。

### 2.2. 分子对接技术的方法学改进

分子对接技术是网络药理学研究中验证药物-靶点相互作用的重要手段。近年来，主流分子对接软件在算法优化、参数设置、结果分析等方面都有了显著改进。AutoDock Vina 作为最常用的开源分子对接软件，其 1.2.0 版本在核心算法和用户界面方面都有了重要更新。该版本在保持高精度对接预测的同时，显著提高了计算效率，并增强了用户可扩展性[21]。软件支持多线程并行计算，能够充分利用现代计算机的多核处理器，大幅缩短对接时间。PyRx 作为 AutoDock Vina 的图形化界面，提供了更加友好的用户体验。该软件支持分子对接的全流程操作，包括分子预处理、对接参数设置、对接计算、结果分析等，并提供了直观的可视化界面用于查看对接结果[22]。Schrödinger 软件套件在分子对接领域一直处于领先地位。2025-2 版本的 Glide 模块引入了多项重要改进：优化的 Glide 评分函数提高了对接精度；Active Learning

Glide 功能能够通过机器学习算法自动优化对接参数, 提高筛选效率; Python API 支持使得用户能够编写脚本自动化对接过程, 大大提高了工作效率。分子对接软件的功能增强还体现在结果分析和可视化方面。现代软件不仅提供了对接得分, 还能计算结合自由能、进行能量分解分析、预测结合模式等。这些功能为理解药物-靶点相互作用机制提供了丰富的信息。

### 2.3. 地龙活性成分

根据徐凤彩[23]、黄敬文[24]和高焯[25]等人对地龙体内营养与药物有效成分的研究得出以下具体成分: (1) 有机酸类: 油酸、亚油酸、棕榈油酸、13-C-脂肪酸、硬脂酸、豆蔻酸、10-亚甲基-12-C 酸、月桂酸[26]; (2) 氨基酸类: 含量最高的氨基酸(aa)为谷氨酸和亮氨酸, 其次含量较高的氨基酸为赖氨酸、丙氨酸、精氨酸、天冬氨酸、缬氨酸[27]; (3) 碱基与核苷类: 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[25]; (4) 酶类: 蚯蚓纤溶酶(earthworm fibrinolytic enzyme, EFE)、蚓激酶(lumbrokinase) [28]、蚯蚓胶原蛋白酶(earthworm collagenases) [23]。对于蚯蚓纤溶酶和蚓激酶而言, 根据日本学者和我国学者徐凤彩[23]、吕飞[29]等人的实验结果证明该酶为非寡聚酶, 而是糖蛋白, 属于丝氨酸蛋白酶。因此, 本文将对表 1 中的 34 项活性成分进行研究[23]-[27]。

**Table 1.** Active components of earthworm  
**表 1.** 地龙活性成分

序号	名称	类别
1	油酸[26]	oleic acid
2	亚油酸	linoleic acid
3	棕榈油酸	palmitoleic acid
4	13-C-脂肪酸	tridecanoic acid
5	硬脂酸	stearic acid
6	豆蔻酸	myristic acid
7	10-亚甲基-12-C 酸	10-methylene-dodecanoic acid
8	月桂酸	lauric acid
9	赖氨酸[27]	lysine
10	精氨酸	arginine
11	缬氨酸	valine
12	脯氨酸	proline
13	谷氨酸[30]	glutamic acid
14	丙氨酸	alanine
15	$\gamma$ -氨基丁酸	gamma-aminobutyric acid
16	甘氨酸	glycine
17	天冬酰胺	asparagine
18	丝氨酸	serine

续表

19	苏氨酸	threonine	
20	亮氨酸[30] [26]	leucine	
21	异亮氨酸	isoleucine	
22	尿嘧啶	uracil	
23	次黄嘌呤[31]	hypoxanthine	
24	黄嘌呤	xanthine	
25	腺嘌呤	adenine	
26	鸟嘌呤	guanine	碱基与核苷类
27	鸟苷	guanosine	
28	肌苷	inosine	
29	2'-脱氧鸟苷	2'-deoxyguanosine	
30	腺苷	adenosine	
31	尿苷	uridine	
32	蚯蚓纤溶酶	earthworm fibrinolytic enzyme	
33	蚓激酶[28]	lumbrokinas	酶类
34	蚯蚓胶原蛋白酶	earthworm collagenases	

## 2.4. 网络药理学

### 2.4.1. 广地龙蛋白靶点筛选

在 PubChem 数据库获取广地龙蛋白的活性成分的 SDF 结构或 mol2 结构文件，再使用 Swiss Target Prediction 数据库分析每个成分所对应的靶点，以 Probability > 0 为筛选标准分别收集对应靶点。最后将所有靶点的名称根据 Uniprot 数据库规范化，并对其活性成分的相应靶点进行标准化处理。运用 Cytoscape 3.10.3 构建“药物-活性成分-靶点”网络图。

### 2.4.2. 肌少症疾病靶点筛选

通过 GeneCards 数据库，以“Sarcopenia”、“Muscle atrophy”为关键词，检索与肌少症相关的靶点，导入 Excel 表格中共有 563 个相关基因，删除重复数据 412 个，剩余 7595 个相关基因，即完成肌少症相关疾病基因的搜集。将疾病靶点与活性成分靶点上传到 Venny 2.1 软件分析得到两者的交集靶点。

### 2.4.3. 广地龙蛋白影响肌少症基因靶点筛选

将广地龙蛋白有效成分靶点和疾病靶点取交集，得到交集靶点利用 Cytoscape 3.10.3 软件绘制“药物-疾病-靶点”的网络图。

### 2.4.4. 广地龙蛋白调控肌少症关键靶点蛋白互作(PPD)网络图的构建

将交集靶点导入 String 数据库[32]构建和分析靶点蛋白互作网络，限定物种为人类(Human Sapiens)，设置置信度为 $\geq 0.4$ ，获取靶点其相互关系，并隐藏无相互作用的靶点，将获得的蛋白互作关系 string 结果图和 STV 格式的文件导出，再将 STV 格式的文件导入 Cytoscape 3.10.3 软件进行可视化分析，得到广地

龙蛋白治疗肌少症靶点 PPI 网络, 利用 CytoHubba、MCODE 插件进行拓扑分析, 分析参数包括度值 (Degree)、边缘渗透组件(EPC)和最大团中心性(MCC)。将不同分析方法下分数较高的靶点上传到 Venny 2.1 软件分析得到两者的交集靶点。MCC 在 CytoHubba 中具有更高的可信度[33]。

#### 2.4.5. 分子对接

将地龙蛋白组分与 PPI 网络中筛选到的靶基因进行分子对接验证。分别从 PubChem 数据库中下载小分子药物 SDF 格式的结构, 从 RCSB PDB 数据库下载蛋白质三维结构(分辨率  $\leq 3.0 \text{ \AA}$ )。PubChem 数据库作为 NIH 开发的化学分子信息资源库, 提供全面的化合物结构及生物活性数据; PDB 数据库则是国际权威的蛋白质三维结构档案库。

用 PyMOL 2.6 软件[34]去除蛋白水分子、去除原有配体、加氢, 优化蛋白结构用于对接计算。将小分子配体用 Chem3D 20.0 软件进行能量最小化(采用 MM2 力场), 并输出 mol2 格式。利用 AutoDock 4.2.6 软件[35]进行活性位点对接: 对蛋白进行去水、加氢原子、分配电荷、设置扭转键等处理, 确定对接盒子中心坐标及尺寸。采用 AutoDock Vina 算法[36]计算结合能, 该算法基于改进的评分函数和优化算法, 在计算效率和准确性方面优于传统方法[36]。最后利用 PyMOL 2.6 软件[34]进行可视化分析, 生成配体-受体相互作用三维图。

### 3. 结果

#### 3.1. 肌少症疾病靶点筛选

以“Sarcopenia”、“Muscle atrophy”为检索词在上述 GeneCards 数据库中进行检索收集相关靶点, 去重后得到 7595 个相关靶点, 将疾病靶点与活性成分靶点取交集, 使用 Venny 2.1 制作 Venn 图最终得出交集靶点 179 个。

#### 3.2. 广地龙蛋白组分调控肌少症关键靶点蛋白互作(PPI)网络图构建

将 179 个交集靶点导入 STRING 数据库(物种限定为 Homo sapiens, 置信度阈值设为  $\geq 0.4$ ), 构建蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络。将所得 TSV 格式数据导入 Cytoscape 3.10.3 软件[37]进行网络可视化, 获得广地龙蛋白治疗肌少症的靶点 PPI 网络。

采用 CytoHubba 及 MCODE 插件进行网络拓扑学分析, 筛选参数包括度值(Degree)、边渗透组件(EPC)及最大团中心性(MCC)。其中, MCC 算法在 CytoHubba 中具有更高的可靠性(图 1) [33]。将不同拓扑分析方法所得高分靶点上传至 Venny 2.1 平台进行交集分析, 取交集靶点中排名前五位的核心靶点, 分别为 ESR1、IL6、EGFR、GAPDH 及 BCL2 (图 2)。

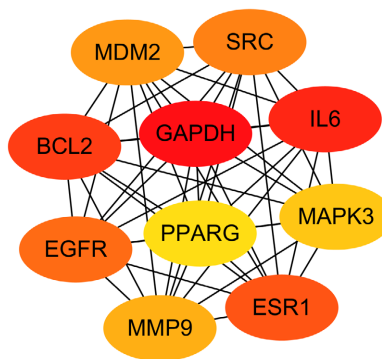


Figure 1. Top 10 influential genes in MCC  
图 1. MCC 前十影响基因

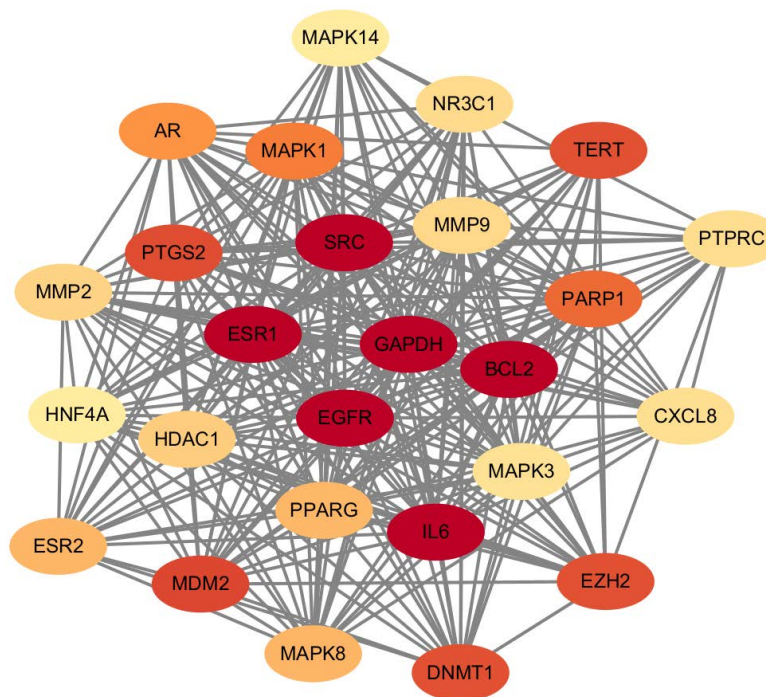


Figure 2. MCODE network diagram  
图 2. MCODE 网络图

### 3.3. 分子对接结果

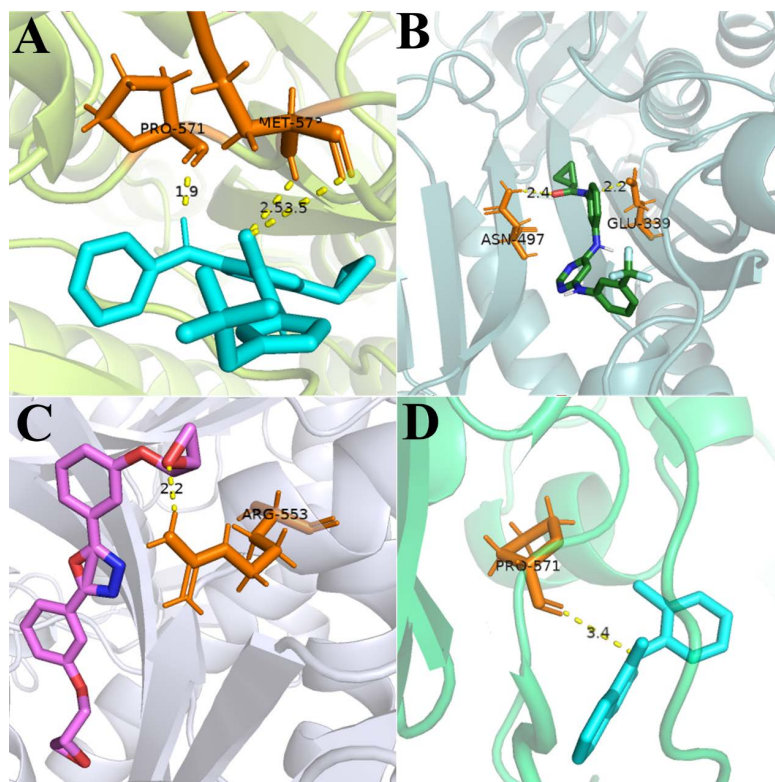
采用分子对接技术将地龙蛋白组分(亮氨酸、赖氨酸、谷氨酸、次黄嘌呤及蚓激酶)分别与 PPI 网络筛选的 5 个核心靶蛋白(ESR1、IL6、EGFR、GAPDH、BCL2)进行对接模拟。对接参数设置为：盒子中心坐标(4.004, 1.823, -3.319)，盒子尺寸均为 125.8 Å。以结合能  $< 0 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$  作为配体 - 受体稳定结合的判断标准，结合能越低表明相互作用可能性越大[38]。

如表 2 所示，所有对接结果的结合能均  $< 0 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ ，提示地龙蛋白各组分与核心靶点均具有良好的结合活性，初步证实该蛋白组分具有潜在的预防肌肉萎缩的作用。其中，赖氨酸与 EGFR 的结合能最低 ( $-9.1 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ )，为所有对接结果中的最优组合，提示地龙蛋白可能通过靶向调控 EGFR 发挥抗肌萎缩效应。结合能最优的前 4 组对接结果的三维构象见图 3。由于 BCL2 结合位点过多，蚓激酶无确切的蛋白质结构，因此，未对二者进行分子对接。

Table 2. Receptor-ligand binding energy

表 2. 蛋白受体与配体结合能

化合物名称	ESR1	IL	EGFR	GAPDH
亮氨酸	-5.9	-5.6	-7.1	-7.5
赖氨酸	-6.3	-8.5	-9.1	-8.1
谷氨酸	-4.9	-6.6	-7.7	-6.8
次黄嘌呤	-4.9	-5.3	-6.8	-5.9



A: 赖氨酸与 IL6, B: 赖氨酸与 EGFR, C: 赖氨酸与 GAPDH, D: 赖氨酸与 SCR。图中橙色表示氨基酸残基及名称代码, 黄色虚线表示氢键距离, 其他颜色代表赖氨酸。

**Figure 3.** Molecular docking diagram with the strongest binding ability  
**图 3.** 结合能力最强的分子对接图

## 4. 讨论

本研究运用网络药理学方法, 系统探讨了广地龙蛋白干预肌肉减少症的潜在作用机制。通过构建“成分-靶点-通路”网络及 PPI 拓扑分析, 筛选出 179 个交集靶点, 并确定 ESR1、IL6、EGFR、GAPDH、BCL2 为核心靶点; 分子对接进一步验证了关键活性成分与核心靶点的结合活性, 为广地龙蛋白防治肌肉减少症提供了理论依据。

### 4.1. 广地龙蛋白干预肌肉减少症的核心靶点分析

PPI 网络拓扑分析显示, GAPDH、IL6、BCL2 等靶点在广地龙蛋白调控肌肉减少症的网络中具有关键地位[39]。IL6 作为重要的炎症因子, 在肌肉减少症的发生发展中扮演双重角色: 一方面, 长期高水平的 IL6 可激活 JAK/STAT 信号通路, 促进肌肉蛋白分解代谢; 另一方面, 适度的 IL6 表达可通过调控卫星细胞增殖参与肌肉修复[1] [14]。本研究中广地龙蛋白多种氨基酸组分与 IL6 显示出较强的对接结合活性(结合能 $-5.6$ 至 $-8.5$  kcal·mol $^{-1}$ ), 提示其可能通过调节 IL6 介导的炎症微环境发挥肌肉保护作用。

GAPDH 作为糖酵解关键酶, 近年研究发现其具有调控细胞凋亡、自噬及炎症反应的非代谢功能[18]。在衰老骨骼肌中, GAPDH 的异常表达与线粒体功能障碍及氧化应激密切相关。亮氨酸、赖氨酸等支链氨基酸与 GAPDH 的结合能均 $<-7.0$  kcal·mol $^{-1}$ , 提示广地龙蛋白可能通过靶向 GAPDH 改善骨骼肌能量代谢紊乱。BCL2 作为经典的抗凋亡蛋白, 其表达下调是肌细胞凋亡增加的重要机制[14]; 谷氨酸与 BCL2 的对接结合能为 $-6.6$  kcal·mol $^{-1}$ , 提示广地龙蛋白可能通过维持 BCL2 表达水平抑制肌细胞凋亡。

值得注意的是, ESR1 (雌激素受体  $\alpha$ ) 和 EGFR (表皮生长因子受体) 亦被筛选为核心靶点。ESR1 通过调控 IGF-1/PI3K/Akt 信号通路影响肌肉蛋白质合成, 绝经后女性肌肉减少症发病率显著升高即与雌激素水平下降相关。EGFR 则参与调控卫星细胞活化与肌纤维再生[25]。广地龙蛋白与上述靶点的相互作用提示其可能通过多靶点协同机制发挥肌肉保护作用。

#### 4.2. 广地龙蛋白干预肌肉减少症的功能网络分析

广地龙蛋白干预肌肉减少症涉及的多个核心靶点构成复杂的调控网络。通过整合多个数据库的信息和采用先进的网络分析算法, 我们识别出了一些关键的功能网络。

在蛋白质合成方面, 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(Mammalian Target of Rapamycin, mTOR)是最重要的核心节点。mTOR 作为细胞内营养和能量状态的感受器, 通过 PI3K/Akt/mTOR 信号通路调控蛋白质合成。研究表明, 亮氨酸等必需氨基酸能够直接激活 mTORC1 信号通路, 这是肌肉蛋白质合成的“总开关” [40]。广地龙蛋白富含多种氨基酸, 特别是亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸等支链氨基酸, 这些氨基酸可能通过激活 mTOR 通路促进肌肉蛋白质合成。在蛋白质降解方面, 肌肉环指蛋白 1 (Muscle Ring Finger Protein 1, MuRF1) 和肌肉萎缩 F-box 蛋白(Muscle atrophy F-box protein, MAFbx) 是两个关键的 E3 泛素连接酶。这两个蛋白在肌肉萎缩过程中表达上调, 通过泛素-蛋白酶体系统促进肌纤维蛋白的降解。网络分析显示, 广地龙蛋白可能通过抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路下调 MuRF1 和 MAFbx 的表达, 从而减少肌肉蛋白的降解。在炎症调控方面, TNF- $\alpha$ 、IL-6、NF- $\kappa$ B 等是关键节点。研究表明, 慢性炎症是肌肉减少症的重要发病机制之一, TNF- $\alpha$  和 IL-6 等促炎因子能够激活 NF- $\kappa$ B 信号通路, 促进肌肉分解代谢。广地龙蛋白具有显著的抗炎活性, 能够抑制 TNF- $\alpha$ 、IL-6 等炎症因子的释放[12], 这可能是其治疗肌肉减少症的重要机制之一。在氧化应激方面, SOD、CAT、GPx 等抗氧化酶类是重要节点。氧化应激在肌肉衰老和肌肉减少症的发生发展中起重要作用。广地龙蛋白含有丰富的抗氧化成分, 能够清除自由基, 提高机体抗氧化能力。这可能有助于保护肌肉细胞免受氧化损伤, 维持肌肉功能。在能量代谢方面, 过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  共激活因子 1 $\alpha$  (Peroxisome Proliferator-activated Receptor  $\gamma$  Coactivator 1 $\alpha$ , PGC-1 $\alpha$ ) 是线粒体生物发生的主要调节因子。研究表明, PGC-1 $\alpha$  表达下降与肌肉减少症密切相关。广地龙蛋白可能通过上调 PGC-1 $\alpha$  的表达, 促进线粒体生物发生, 改善肌肉能量代谢。

#### 4.3. 关键活性成分的作用机制探讨

本研究筛选的 34 种广地龙活性成分中, 氨基酸类(尤其是亮氨酸、赖氨酸、谷氨酸)及蚓激酶显示出与核心靶点的广泛结合活性。亮氨酸作为支链氨基酸的代表, 是 mTOR 信号通路的关键激活剂, 可有效促进肌肉蛋白质合成并抑制泛素-蛋白酶体降解途径[26]。本研究中亮氨酸与 GAPDH、EGFR 的结合能分别为  $-7.5 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$  和  $-7.1 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ , 提示其可能通过多靶点协同增强肌肉合成代谢。赖氨酸作为必需氨基酸, 不仅是蛋白质合成的基本原料, 还参与肉碱合成及钙吸收调控[27]。赖氨酸与 IL6、EGFR 的结合能分别达到  $-8.5 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$  和  $-9.1 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ , 为所有对接结果中的最优组合之一, 提示其可能通过抑制 IL6 介导的炎症反应及激活 EGFR 相关再生通路发挥抗肌肉衰减作用。谷氨酸作为中枢神经系统主要兴奋性神经递质, 亦参与骨骼肌兴奋-收缩耦联调控; 其与 EGFR 的较强结合活性( $-7.7 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) 提示可能通过神经-肌肉接头功能改善缓解肌无力症状。蚓激酶作为广地龙特征性蛋白酶类成分, 具有抗凝、溶栓及抗炎等多重药理活性[25]。尽管本研究因结构限制未进行完整对接分析, 但既往研究表明蚓激酶可通过改善微循环、抑制血小板聚集改善骨骼肌血供, 并通过调控 TNF- $\alpha$ /IL6 炎症轴减轻肌肉组织损伤。次黄嘌呤作为嘌呤代谢中间产物, 与 EGFR、GAPDH 均显示出中等强度结合活性, 其具体机制有待进一步验证[31]。

## 4.4. 与最新研究成果的对比分析

### 4.4.1. 与其他天然产物的机制比较

近年来,越来越多的研究关注天然产物在肌肉减少症治疗中的应用。通过与其他天然产物的对比分析,我们可以更好地理解广地龙蛋白的独特优势和作用特点。在植物来源的天然产物方面,绿茶提取物、可可黄烷醇、姜黄素等显示出良好的肌肉保护作用。绿茶提取物富含儿茶素,能够增加肌卫星细胞密度,促进肌肉修复。可可黄烷醇具有类似的作用,能够提高 Pax7 阳性肌卫星细胞的比例。姜黄素通过调节 NF- $\kappa$ B 信号通路,抑制炎症反应,改善肌肉功能。与这些植物提取物相比,广地龙蛋白的优势在于其氨基酸组成更加全面,能够同时提供蛋白质合成的原料和多种生物活性成分。在海洋来源的天然产物方面,褐藻提取物、鱼油等富含  $\omega$ -3 脂肪酸,具有抗炎和肌肉保护作用。研究表明, $\omega$ -3 脂肪酸能够抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路,减少促炎因子的产生。与海洋来源的天然产物相比,广地龙蛋白的优势在于其含有更多种类的生物活性成分,包括蛋白质、多肽、酶类等,作用机制更加多样化。在益生菌方面,乳酸菌等益生菌通过调节肠道微生态,改善肌肉功能。研究发现,乳酸菌能够降低炎症因子 TNF- $\alpha$  水平,增加抗炎因子 IL-10 水平,同时还具有抗氧化作用。与益生菌相比,广地龙蛋白的优势在于其直接作用于肌肉组织,效果可能更加直接和迅速。在其他动物来源的天然产物方面,胶原蛋白、乳清蛋白等是常用的肌肉营养补充剂。这些蛋白质主要通过提供氨基酸来促进肌肉蛋白质合成。与这些单一成分的蛋白质相比,广地龙蛋白的优势在于其成分更加复杂多样,除了提供氨基酸外,还含有多种生物活性成分,具有多重作用机制。

### 4.4.2. 与现代药物开发策略的互补性

现代药物开发在肌肉减少症治疗方面面临诸多挑战,而广地龙蛋白的研究为解决这些挑战提供了新的思路和策略。在靶点选择方面,现代药物开发往往聚焦于单一靶点或少数几个靶点,而广地龙蛋白通过多靶点、多通路的作用机制发挥治疗作用。这种多靶点策略更适合于肌肉减少症这种发病机制复杂的疾病。研究表明,肌肉减少症涉及蛋白质合成/降解失衡、炎症、氧化应激、能量代谢障碍等多个病理过程,单一靶点的药物难以全面改善这些病理变化。在安全性方面,现代药物往往存在较多副作用,特别是激素类药物的安全性问题尤为突出。相比之下,广地龙作为传统中药,具有悠久的使用历史,安全性相对较好。研究表明,广地龙蛋白在实验中未引起器官重量和体重的异常变化,初步证实了其安全性[41]。在药物可及性方面,现代药物的研发成本高、周期长,许多新药价格昂贵,患者难以承受。广地龙作为天然产物,来源广泛,成本相对较低,具有更好的可及性。在个体化治疗方面,现代药物往往采用标准化的治疗方案,难以满足不同患者的个体化需求。广地龙蛋白可以通过调整剂量、改变剂型、与其他药物联合使用等方式,实现个体化治疗。在药物开发策略方面,广地龙蛋白的研究为新药开发提供了重要线索。通过深入研究其作用机制,我们可以识别出关键的药物靶点和生物标志物,为开发新型肌肉减少症治疗药物提供理论基础。同时,广地龙蛋白中的某些活性成分也可能被开发成单体药物或作为先导化合物进行结构优化。在治疗模式方面,广地龙蛋白的研究支持了中西医结合的治疗理念。将广地龙蛋白与现代医学的运动训练、营养支持等治疗手段相结合,可能产生协同效应,提高治疗效果。这种综合治疗模式代表了肌肉减少症治疗的发展方向。

## 4.5. 广地龙蛋白防治肌肉减少症的优势与特色

相较于现有营养干预方案,广地龙蛋白具有独特的成分优势与多靶点协同特点。首先,广地龙蛋白氨基酸组成均衡,谷氨酸与亮氨酸含量最高,且富含人体必需氨基酸赖氨酸,其蛋白质生物价优于植物蛋白来源。其次,广地龙蛋白同时含有蚓激酶等生物活性酶类及次黄嘌呤等核苷类成分,可通过“氨基酸-酶类-核苷”多组分协同发挥肌肉保护作用。此外,广地龙作为药食同源中药材,具有长期食用的

安全性基础,符合肌肉减少症长期营养干预的需求。

本研究发现广地龙蛋白核心靶点涉及炎症调控(IL6)、能量代谢(GAPDH)、细胞凋亡(BCL2)、激素信号(ESR1)及细胞再生(EGFR)等多个生物学过程,体现了中药多成分、多靶点、多途径的作用特点。这一网络调控模式与现代医学针对单一靶点的治疗策略形成互补,为肌肉减少症的综合干预提供了新思路。

#### 4.6. 研究局限与展望

本研究仍存在一定局限性:首先,网络药理学基于现有数据库及算法预测,筛选的活性成分及靶点需经体外细胞实验及体内动物实验验证。基于分子对接计算,本研究初步预测赖氨酸可能通过与EGFR铰链区Met793、IL-6界面Arg179/182、SRC催化域Glu310等关键残基的特异性相互作用,发挥多靶点调控作用。然而,鉴于计算方法本身的局限性,当前结果应被视为假说生成工具,而非对分子作用机制的确定性描述。未来研究需结合定点突变、生物物理表征及酶动力学实验,对上述假说进行严格验证,以明确这些氨基酸类化合物的真实作用机制。其次,分子对接仅模拟静态结合模式,未能反映动态构象变化及体内复杂环境因素。此外,广地龙蛋白具体起效剂量、给药方式及长期安全性评价有待临床研究证实。

展望未来,广地龙蛋白在肌肉减少症治疗领域具有广阔的应用前景和研究价值。在临床转化方面,建议开展多中心、随机对照临床试验,验证广地龙蛋白的疗效和安全性,特别是与运动训练、营养支持等传统治疗手段的协同效应。在机制研究方面,建议采用多组学技术(转录组学、蛋白质组学、代谢组学等)深入解析广地龙蛋白的作用机制,识别关键的生物标志物和作用靶点。在药物开发方面,建议基于广地龙蛋白的活性成分开发新型肌肉保护药物,或作为先导化合物进行结构优化。在产业化方面,建议建立标准化的提取、纯化、质量控制体系,开发适合不同人群的制剂形式。广地龙蛋白作为一种具有多重生物活性的天然产物,在肌肉减少症治疗中展现出巨大潜力。通过网络药理学等现代研究方法的深入分析,我们不仅预测了其作用机制,也为传统药物的现代化研究和中西医结合治疗提供了重要范例。随着研究的不断深入和技术的不断进步,广地龙蛋白有望成为肌肉减少症治疗领域的重要突破,为全球老龄化社会的健康事业做出重要贡献。

#### 5. 结论

本研究通过网络药理学方法预测了广地龙蛋白通过多成分协同调控IL6、GAPDH、BCL2等核心靶点干预肌肉减少症的潜在机制,为这一传统药食同源资源的现代应用提供了科学依据。广地龙蛋白作为一种高蛋白、低脂肪、富含生物活性成分的天然资源,在肌肉减少症营养干预及功能食品开发中具有广阔的应用前景。

#### 基金项目

广西中医药大学大学生创新训练计划项目(自治区级)“基于PI3K/Akt信号通路探讨广地龙蛋白延缓肌肉减少症小鼠肌肉衰减的机制”(S202410600148)。

#### 参考文献

- [1] Cruz-Jentoft, A.J., Bahat, G., Bauer, J., Boirie, Y., Bruyère, O., Cederholm, T., *et al.* (2018) Sarcopenia: Revised European Consensus on Definition and Diagnosis. *Age and Ageing*, **48**, 16-31. <https://doi.org/10.1093/ageing/afy169>
- [2] 中国抗癌协会肿瘤营养专业委员会, 中国医疗保健国际交流促进会临床营养健康学分会, 李增宁. 老年肌肉减少症患者筛查诊断与营养干预指南[J]. 肿瘤代谢与营养电子杂志, 2024, 11(1): 45-55.
- [3] Meng, S., He, X., Fu, X., Zhang, X., Tong, M., Li, W., *et al.* (2024) The Prevalence of Sarcopenia and Risk Factors in the Older Adult in China: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in Public Health*, **12**, Article ID: 1415398.

<https://doi.org/10.3389/fpubh.2024.1415398>

- [4] 中华医学会老年医学分会, 国家老年疾病临床医学研究中心(湘雅医院). 中国肌肉减少症诊疗指南(2024 版) [J]. 中华医学杂志, 2025, 105(3): 181-203.
- [5] Chen, Z., Li, W., Ho, M. and Chau, P. (2021) The Prevalence of Sarcopenia in Chinese Older Adults: Meta-Analysis and Meta-Regression. *Nutrients*, **13**, Article No. 1441. <https://doi.org/10.3390/nu13051441>
- [6] Ye, C., Zheng, X., Aihemaitijiang, S., Wang, R., Halimulati, M., Huang, X., et al. (2022) Sarcopenia and Catastrophic Health Expenditure by Socio-economic Groups in China: An Analysis of Household-based Panel Data. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, **13**, 1938-1947. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12997>
- [7] Bruyère, O., Beaudart, C., Ethgen, O., Reginster, J. and Locquet, M. (2019) The Health Economics Burden of Sarcopenia: A Systematic Review. *Maturitas*, **119**, 61-69. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2018.11.003>
- [8] Darvishi, A., Nikkhab, A., Shafiee, G., Daroudi, R. and Heshmat, R. (2024) Economic Burden of Sarcopenia-Related Disability in the Elderly Population: A Study in Iran. *BMC Research Notes*, **17**, Article No. 319. <https://doi.org/10.1186/s13104-024-06975-6>
- [9] Jang, J.Y., Kim, D. and Kim, N.D. (2023) Pathogenesis, Intervention, and Current Status of Drug Development for Sarcopenia: A Review. *Biomedicines*, **11**, Article No. 1635. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11061635>
- [10] Giustina, A. (2024) Vitamin D at the Crossroad of Prediabetes, Sarcopenia, and Risk of Falls. *The Lancet Healthy Longevity*, **5**, e239-e240. [https://doi.org/10.1016/s2666-7568\(24\)00032-1](https://doi.org/10.1016/s2666-7568(24)00032-1)
- [11] 黄馨懿, 郑力铭, 李韵宁, 等. 肌少症及其共病的中医药防治策略与未来研究方向[J]. 世界中医药, 2025, 20(18): 3191-3196.
- [12] 田林华, 姚琳, 冯丽娜, 等. 广地龙纯化蛋白促进创伤修复作用机制研究[J]. 世界中医药, 2023, 18(9): 1236-1239.
- [13] 肌肉减少症营养治疗指南[J]. 肿瘤代谢与营养电子杂志, 2015, 2(3): 32-36.
- [14] 杨玲, 杜娟, 刘荣雁, 等. 肌肉减少症病因学研究现状与展望[J]. 中国骨质疏松杂志, 2020, 26(11): 1689-1693.
- [15] 王春玲. 中药地龙的活性成分与药理作用研究[J]. 亚太传统医药, 2015, 11(7): 53-54.
- [16] 周维官. 地龙与地龙蛋白[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2020.
- [17] 袁渊, 沈宏萍. 地龙活性蛋白药理学作用研究进展[J]. 中国现代医药杂志, 2014, 16(3): 107-109.
- [18] 刘巧, 毕启瑞, 谭宁华. 地龙蛋白多肽类成分的研究进展[J]. 中草药, 2019, 50(1): 252-261.
- [19] Kong, X., Liu, C., Zhang, Z., Cheng, M., Mei, Z., Li, X., et al. (2024) BATMAN-TCM 2.0: An Enhanced Integrative Database for Known and Predicted Interactions between Traditional Chinese Medicine Ingredients and Target Proteins. *Nucleic Acids Research*, **52**, D1110-D1120. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad926>
- [20] Chen, Q., Chen, G. and Wang, Q. (2025) Application of Network Pharmacology in the Treatment of Neurodegenerative Diseases with Traditional Chinese Medicine. *Planta Medica*, **91**, 226-237. <https://doi.org/10.1055/a-2512-8928>
- [21] Bugnon, M., Röhrig, U.F., Goullieux, M., Perez, M.A.S., Daina, A., Michielin, O., et al. (2024) Swissdock 2024: Major Enhancements for Small-Molecule Docking with Attracting Cavities and Autodock Vina. *Nucleic Acids Research*, **52**, W324-W332. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae300>
- [22] Dallakyan, S. and Olson, A.J. (2015) Small-Molecule Library Screening by Docking with Pyrx. In: Hempel, J.E., et al., Eds., *Chemical Biology: Methods and Protocols*, Springer, 243-250. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2269-7\\_19](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2269-7_19)
- [23] 徐凤彩, 高向阳, 王炜军, 等. 蚯蚓体内营养和药物有效成分的研究进展[J]. 华南农业大学学报, 2001(3): 86-89.
- [24] 黄敬文, 高宏伟, 段剑飞. 地龙的化学成分和药理作用研究进展[J]. 中医药导报, 2018, 24(12): 104-107.
- [25] 商焯, 齐丽娜, 金华, 等. 地龙化学成分及药理活性研究进展[J]. 药物评价研究, 2022, 45(5): 989-996.
- [26] 黄庆, 李志武, 马志国, 等. 地龙的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(13): 220-226.
- [27] 郭征兵. 中药地龙的药理作用及活性成分分析[J]. 当代医学, 2017, 23(19): 199-200.
- [28] Mihara, H., Sumi, H., Yoneta, T., Mizumoto, H., Ikeda, R., Seiki, M., et al. (1991) A Novel Fibrinolytic Enzyme Extracted from the Earthworm, *Lumbricus rubellus*. *The Japanese Journal of Physiology*, **41**, 461-472. <https://doi.org/10.2170/jjphysiol.41.461>
- [29] 吕飞, 王春雷, 孙晋民. 蚓激酶的研究进展[J]. 中国生化药物杂志, 2000(3): 159-162.
- [30] 王艳丽, 宁宇, 丁莹. 地龙的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中医药信息, 2022, 39(12): 86-89.
- [31] 刘君怡. 地龙平喘有效部位的物质基础研究[D]: [硕士学位论文]. 武汉: 湖北中医药大学, 2016.
- [32] Szklarczyk, D., Gable, A.L., Lyon, D., Junge, A., Wyder, S., Huerta-Cepas, J., et al. (2019) STRING V11: Protein-Protein Association Networks with Increased Coverage, Supporting Functional Discovery in Genome-Wide Experimental Datasets.

- Nucleic Acids Research*, **47**, D607-D613. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1131>
- [33] Chin, C., Chen, S., Wu, H., Ho, C., Ko, M. and Lin, C. (2014) Cytohubba: Identifying Hub Objects and Sub-Networks from Complex Interactome. *BMC Systems Biology*, **8**, S11. <https://doi.org/10.1186/1752-0509-8-s4-s11>
- [34] Seeliger, D. and de Groot, B.L. (2010) Ligand Docking and Binding Site Analysis with PyMOL and Autodock/Vina. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, **24**, 417-422. <https://doi.org/10.1007/s10822-010-9352-6>
- [35] Morris, G.M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M.F., Belew, R.K., Goodsell, D.S., *et al.* (2009) AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated Docking with Selective Receptor Flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, **30**, 2785-2791. <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>
- [36] Trott, O. and Olson, A.J. (2010) Autodock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient Optimization, and Multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, **31**, 455-461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
- [37] Saito, R., Smoot, M.E., Ono, K., Ruscheinski, J., Wang, P., Lotia, S., *et al.* (2012) A Travel Guide to Cytoscape Plugins. *Nature Methods*, **9**, 1069-1076. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2212>
- [38] Hsin, K., Ghosh, S. and Kitano, H. (2018) Combining Machine Learning Systems and Multiple Docking Simulation Packages to Improve Docking Prediction Reliability for Network Pharmacology. *PLOS ONE*, **8**, e83922. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083922>
- [39] 刘文雅, 王曙东. 地龙药理作用研究进展[J]. 中国中西医结合杂志, 2013, 33(2): 282-285.
- [40] Kanzaki, K. and Wada, M. (2023) Effects of Leucine Ingestion and Contraction on the Sestrin/GATOR2 Pathway and mTORC1 Activation in Rat Fast-Twitch Muscle. *The Journal of Nutrition*, **153**, 2228-2236. <https://doi.org/10.1016/j.tjnut.2023.06.011>
- [41] 黄金连, 周子玲, 梁悦, 等. 广地龙对肌肉减少症小鼠肌肉衰减的影响[J]. 中医学, 2026, 15(2): 172-184.