

基于 HPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 结合网络药理学探讨金樱子抗糖尿病肾病大鼠的药效物质及作用机制研究

王 群, 王庆学, 李亚辉, 韩 伟*, 徐展翅, 宋信莉, 唐甜甜, 陈晓兰

贵州中医药大学 药学院, 贵州 贵阳 550025

摘要: **目的** 通过高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱 (HPLC-Q-Exactive Orbitrap MS) 技术结合网络药理学和实验验证, 探讨金樱子 *Rosa laevigata* 治疗糖尿病肾病的药效物质及作用机制。 **方法** 构建糖尿病肾病大鼠模型考察金樱子抗糖尿病肾病的药效, 并采用 HPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 技术分析金樱子在大鼠体内的入血成分; 基于已鉴定的入血成分, 利用网络药理学预测金樱子治疗糖尿病肾病的潜在作用机制, 并利用 Cytoscape 对网络药理学结果进行进一步分析。采用分子对接实验验证核心活性成分与关键靶点的结合能力, 同时借助糖尿病肾病大鼠模型验证核心信号通路的调控作用。 **结果** 金樱子能显著降低糖尿病肾病大鼠血糖 (FBG)、24 h 尿白蛋白 (24 h-U-Alb)、尿素氮 (BUN)、血肌酐 (Scr)、总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 水平 ($P < 0.05$) 及抑制白细胞介素-6 (IL-6)、白细胞介素 18 (IL-18)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 等炎症因子的分泌。鉴定出 19 个金樱子入血成分, 网络药理学分析显示, 金樱子发挥作用的生物学过程主要涉及 RNA 聚合酶 II 正向调控转录、信号转导、磷酸化、细胞增殖的正向调控、抑制凋亡过程、基因表达的正向调控等, 通过 STAT3、AKT1、PIK3R1、PIK3CA、GRB2、PTPN11、PIK3CB、EGFR 等核心靶点, 并调控癌症、PI3K-Akt、癌症中的蛋白聚糖、人巨细胞病毒感染、癌症中的 MicroRNAs、脂质与动脉粥样硬化等信号通路。分子对接验证实验表明, 金樱子关键活性成分与 STAT3、AKT1、PIK3R1 等核心靶点结合性较好。动物实验进一步证实, 金樱子能显著下调糖尿病肾病大鼠肾组织中 PI3K、Akt 与 p-Akt 蛋白的表达 ($P < 0.05$)。 **结论** 金樱子具有抗糖尿病肾病的药效作用。其主要活性成分为没食子酸、积雪草酸、羟基积雪草苷、 δ -生育酚、芹菜素、甘草素、鞣花酸、12-羟基茉莉酸、原花青素 B1。其抗糖尿病肾病分子机制可能与抑制炎症因子分泌及调节 PI3K-Akt 信号转导通路有关。

关键词: 金樱子; 糖尿病肾病; HPLC-Q-Exactive Orbitrap MS; 网络药理学; 分子对接; 积雪草酸; 芹菜素; 甘草素; 鞣花酸
中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2025)10-2786-14

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.10.007

Study on pharmacological substances and mechanisms of *Rosa laevigata* in treating diabetic nephropathy rats based on HPLC-Q-Exactive Orbitrap MS and network pharmacology

WANG Qun, WANG Qingxue, LI Yahui, HAN Wei, XU Zhanchi, SONG Xinli, TANG Tiantian, CHEN Xiaolan
School of Pharmacy, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China

Abstract: Objective To investigate the active substances and molecular mechanisms of *Rosa laevigata* in the treatment of diabetic nephropathy through HPLC-Q-Exactive Orbitrap MS, network pharmacology, and experimental validation. **Methods** Firstly, a diabetic nephropathy rat model was established to evaluate the therapeutic effect of *R. laevigata* on diabetic nephropathy, and the blood components of *R. laevigata* were analyzed using HPLC-Q-Exactive Orbitrap MS technology. Secondly, based on the blood components of *R. laevigata*, network pharmacology was used to analyze the potential mechanisms of *R. laevigata* in treating diabetic nephropathy, and further analysis of the network pharmacology results was performed using Cytoscape. Lastly, molecular docking and a diabetic

收稿日期: 2025-03-30

基金项目: 贵州省科技计划项目 (黔科合基础-ZK[2023]一般 416); 2023 年度贵州中医药大学学术新苗项目 (贵科合学术新苗[2023]-13 号); 贵州省卫生健康委科学技术基金项目 (黔卫健函[2024]24 号, gzwkj2024-514); 贵州省基础研究计划 (自然科学) 面上项目 (黔科合基础 MS[2025]172); 贵州省中医药管理局中医药、民族医药科学技术研究课题 (QZYY-2025-012); 贵州中医药大学药用高分子材料研究中心 (贵中医 ZX 合字[2024]071 号)

作者简介: 王 群, 博士, 副教授, 主要从事药食两用中药药效物质基础与药物代谢动力学研究。E-mail: gywq198856@163.com

***通信作者:** 韩 伟, 博士, 讲师, 主要从事中药药理研究。E-mail: gyzyxyhan@163.com

nephropathy rat model were employed to verify the key active components and core pathways. **Results** *R. laevigata* significantly reduced fasting blood glucose (FBG), 24-h urinary albumin (24 h-U-Alb), serum creatinine (Scr), blood urea nitrogen (BUN), triglyceride (TG), total cholesterol (TC), low-density lipoprotein cholesterol (LDL) ($P < 0.05$), and inhibited the secretion of inflammatory cytokines such as interleukin-6 (IL-6), interleukin-18 (IL-18), and tumor necrosis factor- α (TNF- α). Nineteen blood components of *R. laevigata* were identified. Network pharmacology analysis revealed that *R. laevigata*'s effects are primarily associated with various biological processes, including positive regulation of transcription by RNA polymerase II, signal transduction, phosphorylation, cell proliferation, inhibition of apoptosis, and gene expression. These effects are mediated through targets such as STAT3, AKT1, PIK3R1, PIK3CA, GRB2, PTPN11, PIK3CB, and EGFR, impacting signaling pathways related to cancer, PI3K-Akt, proteoglycans in cancer, human cytomegalovirus infection, microRNAs in cancer, and lipid and atherosclerosis. Molecular docking validation experiments further confirmed that the active components of *R. laevigata* exhibit strong binding affinities with key targets like STAT3, AKT1, and PIK3R1. Animal validation experiments showed that *R. laevigata* could down-regulate the expression of PI3K, Akt, and p-Akt proteins ($P < 0.05$). **Conclusion** *R. laevigata* has a therapeutic effect on diabetic nephropathy. The main active components of *R. laevigata* are gallic acid, asiatic acid, asiaticoside, δ -tocopherol, apigenin, liquiritigenin, ellagic acid, 12-hydroxyjasmonic acid, and procyanidin B1. Its molecular mechanism may be related to the inhibition of inflammatory cytokine secretion and the regulation of the PI3K-Akt signaling pathway. The results of this study can provide experimental evidence for the development and application of functional foods derived from *R. Laevigata*.

Key words: *Rosa laevigata* Michx.; diabetic nephropathy; HPLC-Q-Exactive Orbitrap MS; network pharmacology; molecular docking; asiatic acid; apigenin; liquiritigenin; ellagic acid

糖尿病肾病 (DN) 是糖尿病常见的并发症, 通常伴随肾小球硬化及肾小管间质纤维化。目前, DN 的发病机制尚不完全明确, 临床主要表现为水肿、持续性蛋白尿、肾功能下降、高血压等症状, 如得不到及时有效的治疗, 会导致肾功能进行性下降, 最终发展为末期肾衰竭, 严重危及生命, 而肾纤维化是导致终末期肾脏疾病的主要病理因素^[1-3]。西医治疗 DN 常用药物主要包括血管紧张素受体阻滞剂、血管紧张素转换酶抑制剂及直接肾素抑制剂, 然而, 这些药物在抑制肾脏纤维化方面效果有限, 且存在一定的局限性及不良反应。因此, 急需探索有效的 DN 防治策略, 以提升治疗效果。中医对 DN 的记载可追溯至《黄帝内经》之“消瘴”及“消渴病”继发的“肾劳、水肿、虚劳、关格、尿浊”等, 根据辨证分型对 DN 进行治疗已有上千年的历史。在改善 DN 各项客观指标、保护肾功能及长期疗效上, 中医药都展现出了显著的优势^[4-5]。

金樱子是蔷薇科植物金樱子 *Rosa laevigata* Michx. 的干燥果实。性平、味酸、甘、涩, 具有固崩止带、固精缩尿、涩肠止泻之功效, 用于治疗崩漏带下、遗精滑精及久泻久痢等症^[6-7]。2002 年, 中国卫生部正式将金樱子归入保健品行列, 属于药食两用植物^[8]。近年临床应用发现, 金樱子及其提取物在治疗糖尿病及其并发症、调节免疫、抗氧化、抗肾损伤、抗炎、抑制肾纤维化病变方面药效显著^[9-12]。但

金樱子发挥抗 DN 的活性成分及作用机制尚不明确, 限制了其深层次开发利用。故本研究首先采用 DN 大鼠模型考察金樱子防治 DN 的药效作用, 再运用高效液相色谱-四级杆-静电场轨道阱质谱 (HPLC-Q-Exactive Orbitrap MS) 结合网络药理学, 进一步探讨其发挥药理效应的活性成分及作用机制, 并对筛选出的核心通路进行验证, 以期阐明金樱子发挥抗 DN 的活性成分及作用机制, 为金樱子的新药研发及功能保健食品开发提供有价值的实验依据。

1 材料

1.1 仪器

H1-16KR 台式高速冷冻离心机, 购自湖南可成仪器设备有限公司; Multiskan FC 酶标仪, 购自美国 Thermo Scientific 公司; DK-20000-IIIL 电热恒温水浴锅, 购自菲斯福仪器(河北)有限公司; Chemray 800 全自动生化分析仪, 购自深圳雷杜生命科学股份有限公司; Vanquish 高效液相色谱仪、Q Exactive™ Hybrid Quadrupole-Orbitrap™ Mass Spectrometer 质谱仪, 购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; Microfuge 22R Centrifuge 低温高速离心机, 购自美国 Beckman Coulter 公司。

1.2 试剂

金樱子 (C0922208201) 购于贵阳济仁堂药业有限公司, 经贵州中医药大学徐展翅讲师鉴定为薔

薇科植物金樱子 *R. laevigata* Michx. 的干燥果实。罗格列酮 (国药准字 H20052465, 批号 20230815, 贵州圣济堂制药有限公司); 尿蛋白试剂盒 (C038-1) 购于南京建成生物工程研究所, 尿素氮、肌酐、三酰甘油 (TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 及总胆固醇 (TC) 检测试剂盒购于长春汇力生物科技有限公司 (C020-a、C075-d、C022-a、C046-a、C048-a); 蛋白酶抑制剂 (PMSF)、BCA 蛋白定量试剂盒、RIPA 裂解液、蛋白酶抑制剂、磷酸化蛋白酶抑制剂、5×蛋白上样缓冲液、1×TBST 缓冲液 (G0004) 购于武汉塞维尔生物科技有限公司; β -actin 兔多克隆抗体购于武汉塞维尔生物科技有限公司 (GB11001-100); PI3K、Akt 及 p-Akt (Ser473) 多克隆抗体均购于沈阳万类生物科技有限公司 (WL03380、WL0003b、WLP001a); HRP 标记的羊抗兔 IgG、HRP 标记的羊抗鼠 IgG 均购于武汉 Proteintech 有限公司 (SA00001-2、SA00001-1); 链脲佐菌素 (STZ, 货号 2230520002) 购于索莱宝生物有限公司。

1.3 动物

45 只 SPF 级雄性 SD 大鼠, 体质量 (220 ± 10) g, 购于长沙市天勤生物技术有限公司 [SCXK (湘) 2022-0411]。大鼠饲养在室温 $18 \sim 25$ °C、通风好、相对湿度适宜的环境中。每笼饲养 4 只, 由专人负责管理, 且定期进行动物房消毒。提供自由饮水与饲料, 实验操作严格按照国际标准进行。动物实验方案经贵州中医药大学实验动物伦理委员会批准 (伦理编号 2024110)。

2 方法

2.1 金樱子对 DN 大鼠的药效学实验

2.1.1 多糖的提取 根据《中国药典》2020 年版含量测定规定, 金樱子多糖以无水葡萄糖 ($C_6H_{12}O_6$) 计, 不得少于 25%。根据《中国药典》金樱子多糖的含量测定方法, 测得 3 批金樱子多糖含量为 (26.07 ± 0.76) %。称取 3 批合格的金樱子药材各 1 kg, 加 10 倍量 70%乙醇浸泡 30 min 后, 回流提取 2 次, 每次 1 h, 合并滤液, 回收乙醇, 浓缩、真空干燥得干浸膏 (136.25 ± 6.14) g^[13]。紫外分光光度法测得金樱子总黄酮含量为 (89.62 ± 4.22) mg·g⁻¹。

2.1.2 大鼠造模、分组及给药 SD 大鼠适应性喂养 1 周后, 随机选 8 只大鼠作为对照组, 喂食普通饲料。其余大鼠则喂养高糖高脂饲料 6 周。造模前禁食 12 h 后, 采用尾 iv STZ $33 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (溶于 pH 4.5 的 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 无菌柠檬酸钠缓冲液)^[14]。4 周

后测定大鼠空腹血糖 (FBG), 以 FBG 水平 $\geq 11.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 且出现明显蛋白尿视为造模成功的标准^[15]。其中, 5 只大鼠血糖低于 $11.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 无大鼠死亡, 32 只大鼠造模成功。

将造模成功大鼠随机分为: 模型组、罗格列酮组和金樱子高、低剂量 (1.51 、 $0.38 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组; 同周龄 SD 大鼠为对照组, 每组 8 只。根据相关文献报道^[16-17], 以 4 倍临床生药用量作为本实验的金樱子高剂量给药组 ($1.51 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 等量作为低剂量组 ($0.38 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$); 罗格列酮给药剂量为 $0.36 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 按给药剂量, 用蒸馏水将干浸膏配制成相应质量浓度的给药溶液, 给药组大鼠每日 1 次, 对照组给予同体积蒸馏水, 连续 ig 给药 8 周。

2.1.3 生化指标检测 实验过程中观察各组大鼠活动状态、摄食及排泄量状况等。末次给药后, 尾静脉采血测 FBG 后, 于腹主动脉取血, 血样在 4 °C 下 $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min, 收集上清。期间, 采用代谢笼收集大鼠 24 h 尿液, 尿液于 $1400 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 收集上清。取样完成后断颈处死大鼠, 取肾脏, 部分肾组织用于病理学、Western blotting 等检测, 其余肾组织于 -80 °C 保存备用。以酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定各组大鼠血清中细胞炎症因子 [白细胞介素-6 (IL-6)、白细胞介素-18 (IL-18)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)] 水平。采用全自动生化分析仪, 检测 BUN、血肌酐 (Scr)、TC、TG、LDL-C 水平。采用尿蛋白定量测试试剂盒测定各组大鼠尿总蛋白的量。

2.1.4 肾脏组织的病理学观察 将上述各组大鼠的右肾用 4%多聚甲醛固定后, 蒸馏水洗净。采用梯度酒精对肾组织进行脱水处理后, 进行浸蜡。将浸透蜡的组织块包裹在石蜡块中, 包埋好后, 进行切片、烤片及脱蜡处理。肾组织切片经 Masson 染色及苏木精-伊红 (HE) 染色处理后, 水洗, 经二甲苯透明、风干后中性树胶封片。在光学显微镜下观察肾脏组织的病理学变化。

2.2 金樱子入血成分分析

2.2.1 金樱子样品的制备 吸取“2.1”项下的金樱子药液 0.1 mg , 置于 1.5 mL 离心管中, 加入 1 mL 蒸馏水于样品中, 涡旋混匀 30 min, 离心取上清过 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜, 即得。

2.2.2 制备含药血清 选取 12 只雄性 SD 大鼠, 随机分为对照组和实验组, 每组各 6 只, 适应性喂养 1 周。实验前禁食不禁水 12 h。实验组以金樱子提

取物 ig 给药 ($1.51 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 每日 2 次, 连续 3 d; 对照组则给予等量蒸馏水。在最后一次给药后, 分别于 30、60、120 min, 从大鼠眼底静脉采血。血样静置 30 min 后, 以 $4\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 收集上清液。合并各时间点上清液, 即得血清供试品。置于 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱存储备用。实验前, 移取 $100 \mu\text{L}$ 血清样品于 1.5 mL 离心管中, 加入 $300 \mu\text{L}$ 乙腈于样品中, 涡旋混匀 30 min, 离心取上清, 经 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过, 即得。

2.2.3 HPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 分析 色谱柱为: ACQUITY UPLCR HSS T_3 ($2.1 \text{ mm} \times 100 \text{ mm}$, $1.8 \mu\text{m}$)。流动相为 0.1% 甲酸水 (A) 与 100% 甲醇 (B); 梯度洗脱 (0~1 min, 2% B; 1.0~5.5 min, 2% → 100% B; 5.5~14.0 min, 100% B; 14.0~14.1 min, 100% → 2%; 14.1~16.0 min, 2% B); 体积流量为 $0.3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 柱温 $40 \text{ }^\circ\text{C}$; 进样量 $5 \mu\text{L}$ 。

一级质谱参数: 分辨率: 70 000; 自动增益控制目标值: 1×10^6 ; 扫描范围: $150 \sim 1\,500 \text{ m/z}$; 二级质谱参数: 分辨率: 17 500; 自动增益控制目标值: 1×10^5 ; 最大离子注入时间: 50 ms; TopN: 10, 归一化碰撞能量: 10、30、55。采用 Xcalibur 4.4 软件进行质谱数据处理, 质量精度误差设置在 1.0×10^{-6} 以下。经过与金樱子样品、对照品、Pubchem、Massbank、人体代谢数据库等, 及文献中的碎片离子进行比对, 对金樱子入血成分进行分析。

2.3 网络药理学研究

2.3.1 入血成分靶点预测 以采用 HPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 技术鉴定出的金樱子入血成分为研究对象, 进行网络药理学研究。通过检索 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 获得各入血成分的 SDF 格式, 并采用 SwissTargetPrediction 数据库 (<http://swisstargetprediction.ch/>) 进行各活性成分的靶点预测。剔除重复靶点后, 获取各入血成分的相关作用靶点。

2.3.2 疾病靶点预测 以“diabetic nephropathy”为关键词, 通过 GeneCard、DisGeNET 和 OMIM 数据库进行检索, 筛选与 DN 相关的靶点, 剔除重复值后得到疾病靶点。

2.3.3 构建金樱子的“成分-疾病靶点-通路”网络 采用 Venny 工具 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>) 将入血成分的作用靶点与疾病靶点取交集, 得到其共同作用的靶点作为金樱子治疗 DN 的潜在靶点。为了进一步明确金樱子治疗 DN 的潜在靶点

之间的间接或直接的调控关系, 将潜在靶点导入 STRING 数据库 (<https://string-db.org/>) 中构建蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络, 设置“Homo sapie”, minimum required interaction score ≥ 0.9 , 并隐藏游离蛋白, 结果以 TSV 格式保存。将其导入可视化的 Cytoscape 3.9.1 软件构建“中药成分-疾病靶点-通路”网络图, 通过 CytoNCA 插件进行拓扑分析平均最短路径长度 (Average ShortestPathLength)、紧密中心性 (CC)、度 (Degree) 值、集中度 (Eccentricity)、介数中心线 (BC)、边的数目和相邻相关性 (NC) 等。Degree、BC 及 CC 数值越大, 该靶点在网络中的地位越重要。通过拓扑参数分析获得金樱子治疗 DN 的主要活性成分及靶点。

2.3.4 基因本体 (GO) 和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 运用 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/home.jsp>) 进行 KEGG 通路和 GO 功能富集分析。下载分析结果, 将其分别按 *P* 值和“Count”值 (每条通路中含有的潜在基因靶点的数量) 的大小进行排序, 筛选核心通路进行实验验证。

2.4 分子对接实验

在金樱子“成分-疾病靶点-通路”网络拓扑分析中, 筛选出主要活性成分并与 PPI 网络中排名前 5 的靶蛋白进行分子对接实验, 以评价关键活性成分与靶点之间的结合能力。通过检索 ZINC 和 PubChem 数据库获取关键活性成分的 SDF 格式文件, 从 PDB 数据库中检索关键靶点的蛋白结构, 并使用 Pymol-2.1.0 软件进行包括去除水分子和小分子配体等优化处理。随后, 用 AutoDock Tools-1.5.6 进行加氢和电荷处理, 另存为 pdbqt 格式文件。以关键靶点为受体, 活性成分作为配体, 利用 pyrx 软件中的 Vina-2.0 进行分子对接, 计算结合能并输出结果。最终利用 Discovery Studio 2020 Client (<https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer-download>) 软件进行结果可视化分析。其结合能值代表两者间的结合能, 结合能越低, 受体与配体间的结合越稳定。

2.5 核心通路验证实验

采用 Western blotting 技术检测肾脏组织中 PI3K-Akt 信号通路中关键蛋白 PI3K、p-Akt 与 Akt 蛋白的表达。从对照组、模型组、金樱子高剂量组中, 每组各随机选取 3 只大鼠的左肾组织碎片 50 mg , 加入 1 mL 组织蛋白裂解液 (RIPA : PMSF = 1 : 100), 冰浴匀浆, 待充分裂解, 于 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 下 $14\,000 \times g$

离心 15 min, 取上清即为总蛋白提取液, 用 BCA 法测定其蛋白浓度。将各组样品的总蛋白浓度调整到同一水平, 取蛋白样品与 1×SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液以 1:4 充分混匀, 100 °C 煮沸 5 min 使蛋白质变性。依据目标蛋白的相对分子质量, 按照凝胶制备试剂盒指导原则制备 SDS-PAGE 凝胶, 进行蛋白质分离。样品上样后, 通过电泳转移至膜上, 以脱脂奶封闭后, 加入一抗进行过夜孵育, TBST 洗膜后再加入二抗孵育 2 h, 随后用 TBST 缓冲液洗膜。加入 ECL plus 发光液, 与膜充分反应后, 置于凝胶成像系统中曝光, 进行拍照并保存。使用 Image Lab 软件选择条带并分析其灰度值, 结果以目标蛋白与内参蛋白(β -actin)灰度值之比表示, p-Akt 以目标蛋白与 Akt 蛋白灰度值之比表示。

3 结果

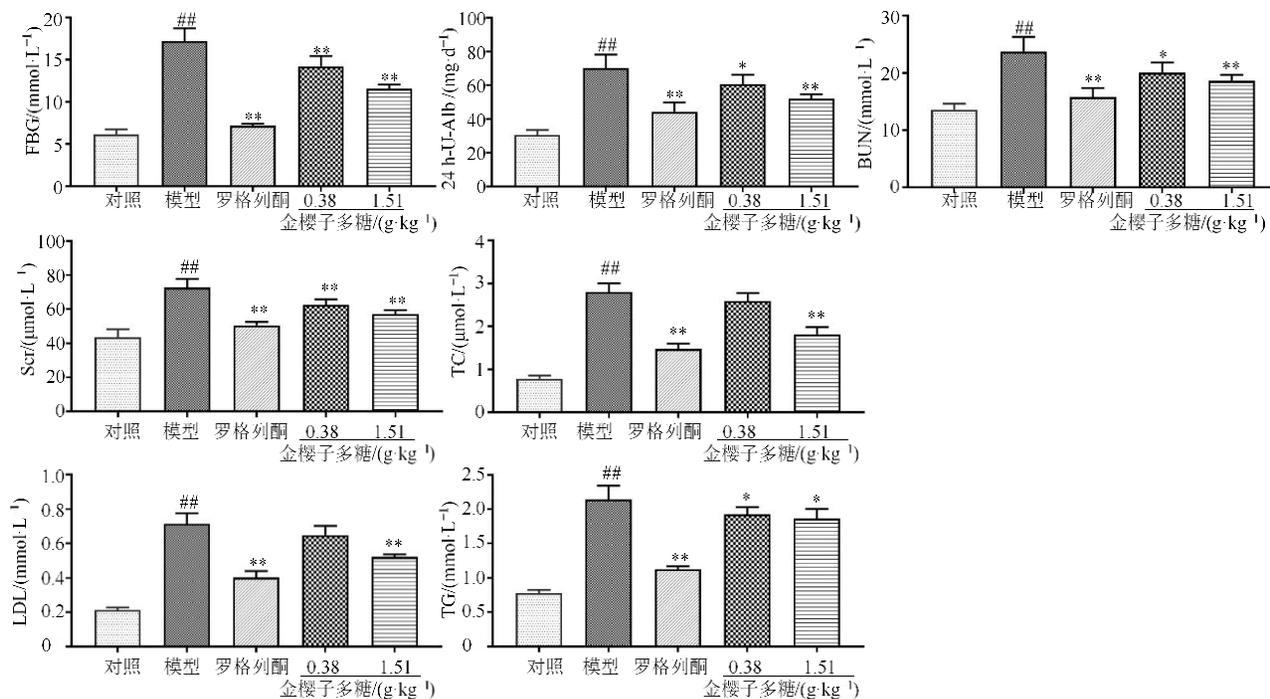
3.1 药效实验结果

3.1.1 各组大鼠相关生化指标的检测 对照组大鼠皮毛光泽, 精神状态好, 饮食和二便均正常。模型组大鼠血糖逐步升高; 呈明显的多饮、多食、多

尿等疾病症状, 后期出现不同程度的精神萎靡、体毛暗淡稀疏, 反应迟钝症状。与对照组比, 模型组大鼠 FBG、24 h U-Alb、Scr、BUN、TG、TC 及 LDL 显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比, 金樱子高剂量组均能显著降低模型大鼠上述药效指标 ($P < 0.05$ 、 0.01); 金樱子低剂量组 FBG、24 h U-Alb、Scr、BUN 及 TG 显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。见图 1。

3.1.2 各组大鼠血清中炎症因子 TNF- α 、IL-6、IL-18 的检测 与对照组比较, 模型组大鼠血清中 TNF- α 、IL-6、IL-18 显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 金樱子高、低剂量 (0.38 、 1.51 g·kg⁻¹) 组 IL-6、IL-18、TNF- α 水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。金樱子能显著降低 DN 模型大鼠血清中 IL-6、IL-18、TNF- α 等炎症因子水平。见图 2。

3.1.3 大鼠肾脏组织病理学观察 Masson 染色结果见图 3。主要是用来观察各组大鼠肾组织内纤维化病变。胶原纤维、软骨及黏液呈蓝色, 胞浆、肌肉、纤维素、红细胞呈红色, 细胞核呈蓝黑色。与模型组比较, 金樱子各给药组大鼠的肾纤维化程度明显减轻。

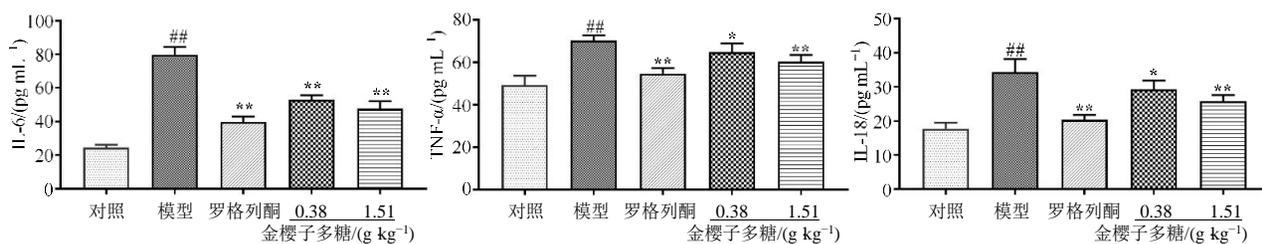


与对照组比较: $###P < 0.01$; 与模型组比较: $*P < 0.05$ $**P < 0.01$ 。

$###P < 0.01$ vs control group; $*P < 0.05$ $**P < 0.01$ vs model group.

图 1 各组大鼠给药 8 周后各项指标的检测结果 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 1 Detection results of various indicators after 8 weeks of administration in each group of rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)



与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ 。
^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group.

图 2 各组大鼠给药 8 周 IL-6、IL-18、TNF-α 等炎症因子的检测结果($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 2 Results of inflammatory factors such as IL-6, IL-18, and TNF-α in rat from each group after 8 weeks of administration ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

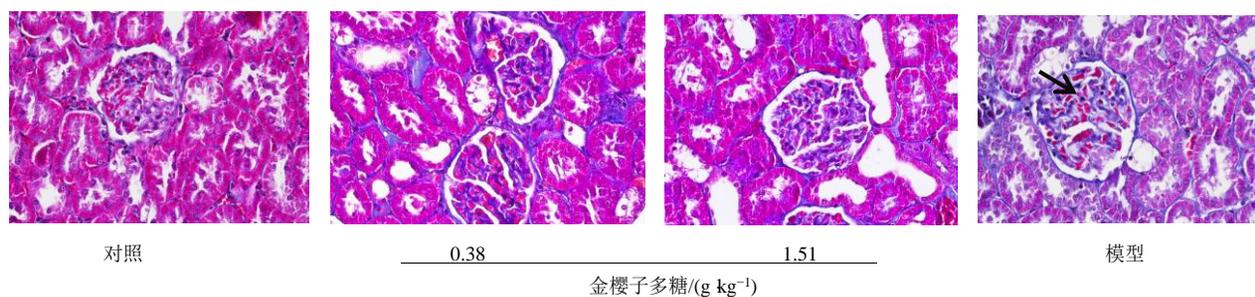


图 3 各组大鼠肾组织超微结构 (×400)

Fig. 3 Ultrastructural morphology of kidney tissues in different groups of rats (×400)

HE 染色结果见图 4。细胞核呈蓝色，胶原纤维、肌纤维、红细胞及细胞浆呈不同程度的红色。对照组肾小球系膜区未见明显改变，肾小球结构清晰。模型组大鼠肾小管扩张，肾小球体积增大；肾小球系膜基质增宽、增多，基底膜弥漫增厚。金樱子各给药组大鼠肾小球系膜轻度增生，肾组织损伤情况较模型组明显减轻。

3.2 金樱子入血成分

通过 HPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 高分辨率质

谱仪，在正、负离子模式下分别获取金樱子含药血清的质谱数据，总离子流图如图 5 所示。使用 Xcalibur 软件中定性浏览器打开质谱原始文件，获取质谱中化合物的加合离子准确质量数及其一级、二级质谱信息。根据化合物质谱裂解规律，经与人类代谢组数据库 (HMDB)、相关文献进行对比分析，筛选出分子式匹配、精确相对分子质量误差在 1.0×10^{-6} 内的潜在候选化合物。同时结合多级质谱碎片信息、对照品保留时间鉴别出金樱子入血成分 19 个。见表 1。

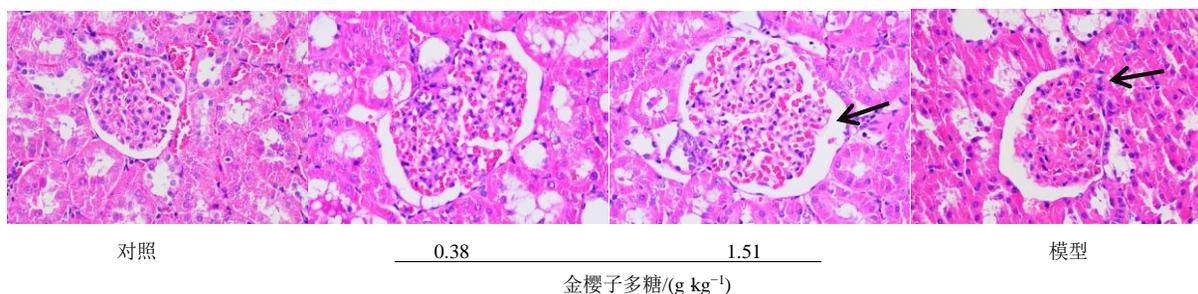


图 4 各组大鼠肾组织 HE 染色结果 (×400)

Fig. 4 HE staining results of kidney tissue in various groups of rats (×400)

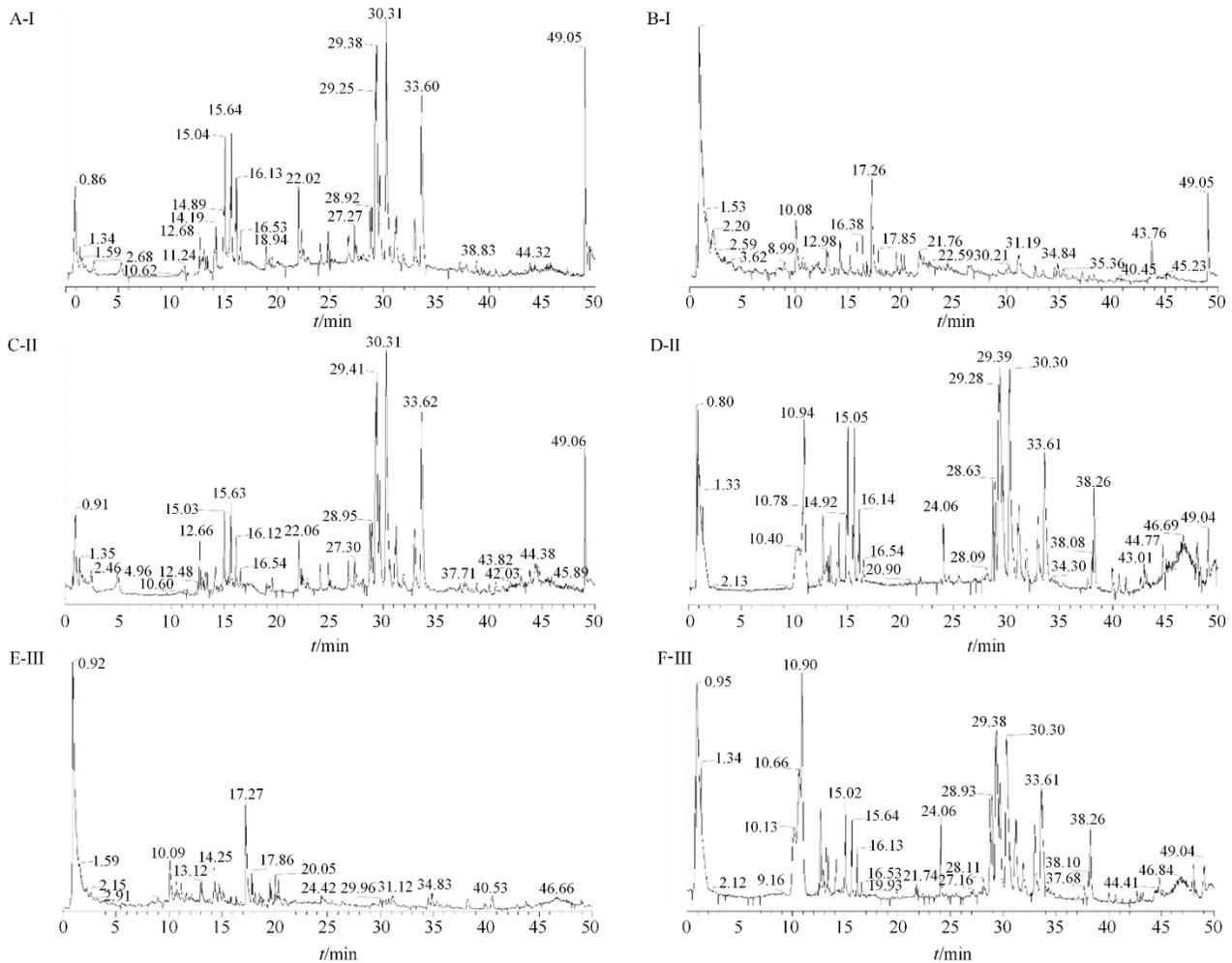


图 5 正离子模式 (A、C、E) 和负离子模式 (B、D、F) 下的空白血清 (I)、金樱子含药血清样品 (II) 和金樱子提取物 (III) 的总离子流色谱图

Fig. 5 Total ion chromatograms of *R. laevigata* blank serum (I), drug-containing serum samples (II), and *R. laevigata* extracts (III) under positive mode (A, C, E) and negative mode (B, D, F)

3.3 网络药理学研究

3.3.1 核心靶点及成分的筛选 通过检索 SwissTargetPrediction 获得 19 个入血成分所对应的靶点基因 650 个。通过 GeneCard、DisGeNET 和 OMIM 数据检索得 1 480 个与 DN 相关的靶点。采用 Venn 图分析, 筛选出 198 个药物和疾病共同靶点, 作为入血成分治疗 DN 的潜在靶点。为获得这些潜在靶点的交互作用, 将 198 个靶点导入 STRING 数据库 (<https://cn.string-db.org/>), 进行 PPI 网络分析, 构建了包含 207 个节点和 565 条连接的 PPI 网络图。将结果保存为 tsv 格式文件, 导入 Cytoscape 3.9.1 软件重构蛋白互作网络, 采用“CentiScape 2.2”以及“Analyze Network”进行网络拓扑属性, 并筛选关键靶点 (图 6)。选择 degree、

BC、CC 3 个参数均大于中位数的靶点作为关键靶点, 最终筛选得到 STAT3、AKT1、PIK3R1、PIK3CA、GRB2、PTPN11、PIK3CB、EGFR、PIK3CD 等关键靶点。

采用 Cytoscape 3.8.2 构建“药物成分-疾病-靶点”网络图 (图 7)。其中: 橙色三角形代表金樱子成分, 紫色菱形代表 DN, 蓝色长方形代表基因靶点。网络关系图中 Degree 值大于中位数 (20) 的成分有 9 个: 没食子酸、积雪草酸、羟基积雪草苷、 δ -生育酚、芹菜素、甘草素、鞣花酸、12-羟基茉莉酸、原花青素 B1 等, Degree 值分别为 100、90、80、66、49、35、33、32 及 29。以上 9 个成分在药效中可能贡献较大, 在治疗中发挥了主要作用。

3.3.2 生物功能富集分析 198 个药物-疾病共同靶点导入 DAVID 数据库进行 GO 功能富集分析和

表 1 金樱子入血成分解析结果

Table 1 Analysis results of components in *R. laevigata* that can enter the bloodstream

序号	t/min	成分	分子式	离子模式	理论值 m/z	实测值 m/z	误差/ (1×10 ⁻⁶)	离子碎片
1	3.11	没食子酸	C ₇ H ₆ O ₅	[M+H]	171.028 79	171.027 79	-2.85	90.310 82、97.028 98、108.085 77
2	21.70	积雪草酸	C ₃₀ H ₄₈ O ₆	[M-H]	503.337 81	503.336 18	-3.24	503.336 15
3	8.50	羟基积雪草苷	C ₄₈ H ₇₈ O ₂₀	[M+H]	503.337 81	503.338 81	1.99	409.313 02
4	4.84	芹菜素	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	[M-H]	269.045 54	269.045 16	-1.13	25.063 43、159.091 25、271.068 27
5	8.31	山奈酚	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	[M+H]	287.055 01	287.057 80	3.72	255.031 80、255.054 02
6	37.60	δ-生育酚	C ₂₉ H ₅₀ O ₂	[M+H]	431.388 35	431.386 29	-4.78	29.195 86、55.700 08、70.911 84、116.926 94
7	2.27	咖啡酸	C ₉ H ₈ O ₄	[M+H]	181.049 53	181.049 65	0.66	79.055 01、95.049 65、107.049 46
8	26.17	12-羟基茉莉酸	C ₁₂ H ₁₈ O ₄	[M+H]	227.127 78	227.127 71	-1.59	27.988 49、39.997 56、125.490 03、149.593 14
9	7.42	木犀草素	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	[M+H]	287.055 01	287.055 18	0.59	79.034 01、203.031 81、213.055 07
10	7.43	鞣花酸	C ₁₄ H ₆ O ₈	[M-H]	300.998 99	300.998 93	-0.20	29.013 31、201.018 89
11	8.35	儿茶素	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	[M-H]	289.071 76	289.070 58	-3.54	121.028 27、221.082 41、222.085 51
12	8.06	甘草素	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	[M+H]	257.080 83	257.080 87	-1.40	91.054 63、240.195 86、255.097 32
13	1.43	原儿茶酸	C ₇ H ₆ O ₄	[M+H]	155.033 88	155.034 12	1.57	71.012 50、96.968 32、99.007 29
14	8.44	乌苏酸	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	[M+H]	457.369 62	457.369 29	1.65	55.054 92、377.265 96、456.331 39
15	9.30	原花青素 B1	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	[M+H]	579.149 70	579.148 45	-1.34	65.039 60
16	3.93	茛菪亭	C ₁₀ H ₈ O ₄	[M+H]	193.049 53	193.049 64	0.57	55.018 80、57.034 33、81.033 85、95.049 29
17	15.85	丁香醛	C ₉ H ₁₀ O ₄	[M+H]	183.065 18	183.064 33	-2.64	95.048 83、105.032 92、140.009 89、
18	2.29	柚皮素	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	[M+H]	273.075 75	273.075 58	-1.95	55.761 51、217.048 07、273.093 02
19	11.97	根皮苷	C ₂₁ H ₂₄ O ₁₀	[M+H]	437.144 22	437.143 93	-1.53	159.326 28、216.178 99、437.233 18

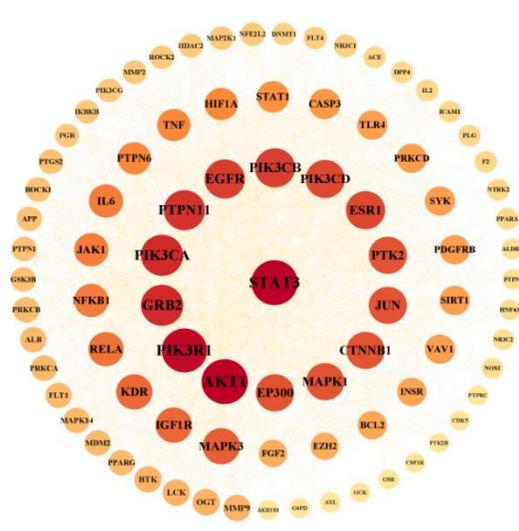


图 6 PPI 网络中的关键靶点

Fig. 6 Key Targets in PPI Network

KEGG 通路富集分析, 根据 $P < 0.05$ 后, 得到 864 个具有显著性意义的 GO 条目, 其中富集得到 660 条生物过程 (BP), 135 条分子功能 (MF), 69 条细胞组成 (CC), 通过 Count 值排序, 分别选取 BP、MF、CC 排名前 10 的条目进行可视化分析。结果如图 8-A

所示, BP 主要涉及 RNA 聚合酶 II 介导的转录的正调控 (positive regulation of transcription by RNA polymerase II)、磷酸化 (phosphorylation)、信号转导 (signal transduction)、细胞增殖的正调控 (positive regulation of cell population proliferation)、凋亡过程的负调控 (negative regulation of apoptotic process); MF 主要涉及 ATP 结合 (ATP binding)、金属离子结合 (metal ion binding)、相同蛋白质结合 (identical protein binding)、锌离子结合 (zinc ion binding)、蛋白质结合 (protein binding); CC 主要涉及细胞质 (cytoplasm)、质膜 (plasma membrane)、细胞核 (nucleus)、细胞溶胶 (cytosol)、核浆 (nucleoplasm) 等。

通过 DAVID 数据库的 KEGG 通路分析, 将结果分别依据 P 值和通路中潜在基因靶点数量 (Count) 进行排序, 筛选核心通路, 选择排名前 20 的通路进行展示, 见图 8-B。网络药理学结果显示金樱子发挥作用主要涉及的通路有癌症 (Pathways in cancer)、PI3K-Akt (PI3K-Akt signaling pathway)、癌症中的蛋白聚糖 (Proteoglycans in cancer)、人巨细胞病毒感染 (Human cytomegalovirus infection)、癌症中的 MicroRNAs (MicroRNAs in cancer)、脂

合能低于 $-29.33 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ，表明这些成分与蛋白质的亲和力较强。此外，利用 PyMoL 软件对部分对接结果进行了结构匹配分析。部分成分与靶蛋白的分子对接结果如图 9 所示。

3.5 核心通路验证实验

Western blotting 检测结果如图 10 所示。与对照组比，模型组 PI3K、p-Akt 及 Akt 蛋白表达水平显著升高 ($P<0.01$)。与模型组比，金樱子给药组 PI3K、p-Akt 及 Akt 的蛋白表达水平显著降低 ($P<0.05$)，结果提示金樱子能抑制 PI3K-Akt 信号通路的活化。

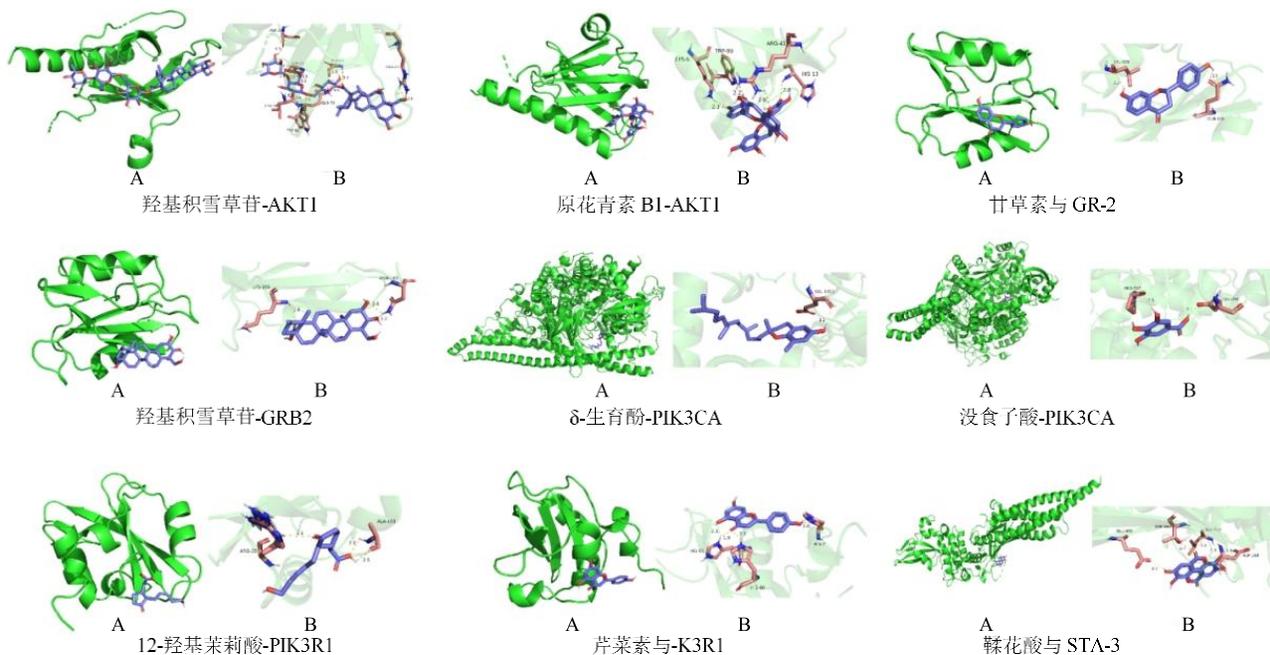
4 讨论

DN 在中医学中被归类为消渴病肾病，主要因脾虚无法有效统摄精微物质、肾虚封藏功能失调，导致痰热郁结与瘀血积聚于肾脉，精气下泄，引发蛋白尿^[18-19]。近年来的研究^[20]显示，炎症机制在 DN 的发病中起着重要作用。炎症因子会引发糖尿病患者的血管及微血管功能损害。IL-6 是一种多效性细胞因子，主要在炎症反应中表达，其水平升高表明肾功能受损^[21]。TNF- α 作为一种脂肪因子，参与全身炎症反应，其水平上升可促进 DN 的进展^[22]。IL-18 则是一种多功能促炎因子，能够促使肾小球系膜

表 2 分子对接结果

Table 2 Results of molecular docking

序号	成分	结合能/($\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$)				
		STAT3	AKT1	PIK3R1	PIK3CA	GRB2
1	芹菜素	-32.26	-26.40	-28.07	-36.87	-27.65
2	鞣花酸	-31.01	-27.24	-27.24	-38.13	-27.24
3	没食子酸	-23.88	-21.79	-21.37	-26.82	-22.21
4	甘草素	-31.43	-25.98	-27.24	-36.45	-27.65
5	积雪草酸	-33.52	-28.07	-31.43	-43.58	-28.49
6	羟基积雪草苷	-44.00	-38.55	-36.87	-51.54	-38.13
7	原花青素 B1	-37.29	-28.07	-29.75	-40.22	-31.43
8	δ -生育酚	-26.40	-20.11	-22.21	-32.26	-23.88
9	12-羟基茉莉酸	-19.69	-20.95	-23.05	-25.14	-22.63



A-化合物与靶蛋白的对接图；B-对接部位局部放大图。

A-Docking diagram of compound and target protein; B-Magnified view of the docking site.

图 9 主要成分与靶点对接可视化图

Fig. 9 Visualization of main components and target docking

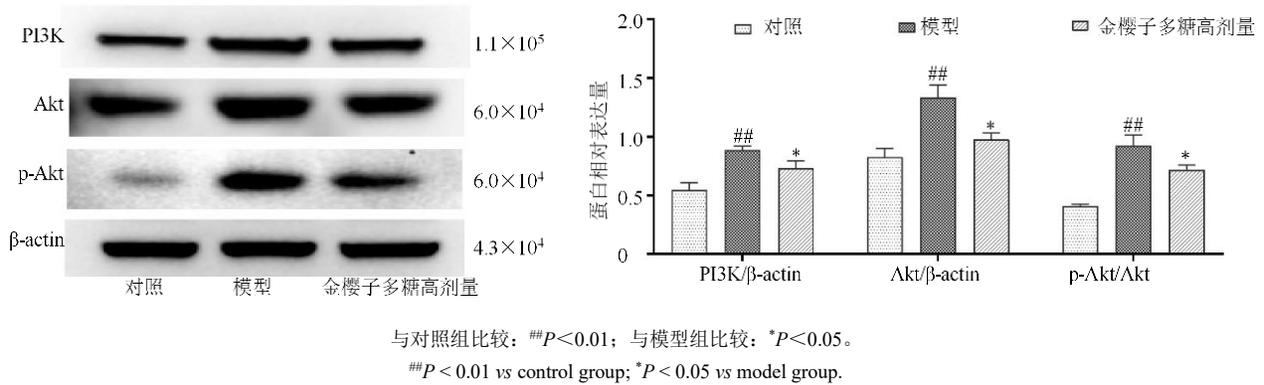


图 10 PI3K-Akt 信号通路关键蛋白的表达 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 10 Expression of key proteins in the PI3K-Akt signaling pathway ($\bar{x} \pm s, n=6$)

细胞持续分泌炎症因子，其表达水平与尿微量白蛋白水平密切相关^[23]。可见抑制 IL-6、TNF- α 、IL-18 等炎症因子的分泌，可延缓 DN 的发展。在本实验中，金樱子提取物能显著降低 DN 大鼠 FBG、24 h-U-Alb、Scr、BUN、TG、TC、LDL-C 水平；抑制 IL-6、IL-18、TNF- α 等炎症因子的分泌；HE 及 Masson 染色显示，给药治疗组大鼠肾纤维化程度较模型组显著减轻。实验结果提示，金樱子能显著延缓 DN 大鼠肾纤维化病变程度，其分子机制可能与抑制炎症因子 IL-6、IL-18、TNF- α 分泌有关。但金樱子作为中药，其在体内发挥抗 DN 作用的活性成分及其调控机制仍不明确，无法为临床安全、合理用药提供指导，制约了其深层次开发利用。基于血清药理学研究为科学探索中药的药效物质基础提供了可能性，因此本实验采用 HPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 技术对金樱子的入血成分进行了全面分析。然而，含量高的成分并不一定具有最佳的药效活性，需要结合网络药理学和生物信息学技术，对中药的作用靶点、活性成分群及其作用机制进行预测和验证。

网络药理学是运用中药化学数据库、靶点数据库、基因组数据库、知识发现工具对化学成分进行成分挖掘、网络靶点及通路预测的实验手法，旨在研究靶点、药物、疾病和途径之间复杂多样的关系^[24-27]。基于此，本实验以 HPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 实验所确定的 19 个金樱子入血成分为研究对象，进行潜在靶点的筛选预测。获得 198 个潜在作用靶点，对其进一步富集得到的 STAT3、AKT1、PIK3R1、PIK3CA、GRB2 等排名前 5 的核心作用靶点。据报道，肾小管细胞中活化的信号转导与转录激活因子 STAT3 在慢性肾脏疾病的发展中发挥着重要的作用^[28]。AKT1 在

降低血糖、改善肾功能过程中发挥着重要作用^[29]。PIK3R1 与 PIK3CA 是最常发生体细胞点突变的基因之一，在 DN 的肾损伤、恢复自噬并抑制细胞凋亡过程中起重要作用^[30]。生长因子受体结合蛋白 GRB2 可通过调控 EGFR 信号通路影响细胞增殖和凋亡，进而影响肾脏疾病的发生和发展。分子对接验证实验表明，STAT3、AKT1、PIK3R1、PIK3CA、GRB2 等排名前 5 的靶蛋白与没食子酸、积雪草酸、羟基积雪草苷、 δ -生育酚、芹菜素、甘草素、鞣花酸、12-羟基茉莉酸、原花青素 B1 等靶点之间结合能均小于 $-20.95 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ ，具有较好的结合性。金樱子活性成分可能通过 STAT3、AKT1、PIK3R1、PIK3CA、GRB2 等靶点发挥抗 DN 的作用。

网络药理学预测结果显示，金樱子发挥作用的生物学过程涉及 RNA 聚合酶 II 介导的转录的正调控、信号转导、磷酸化、细胞增殖的正调控、凋亡过程的负调控等。KEGG 通路富集得到癌症、PI3K-Akt、癌症中的蛋白聚糖、人巨细胞病毒感染、癌症中的 MicroRNAs、脂质与动脉粥样硬化、糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 等通路。癌症相关信号通路与 DN 的发生发展存在多个共同核心调控通路。蛋白聚糖 (PGs) 是一类由核心蛋白与糖胺聚糖 (GAGs) 链共价连接形成的复合糖蛋白，通过调控细胞信号传导、细胞外基质 (ECM) 重塑及肿瘤微环境 (TME) 动态平衡，在肾癌的发展中发挥着关键作用。但基于排名前 5 的核心靶蛋白 AKT1、PIK3R1、PIK3CA、GRB2 富集于 PI3K-Akt，故选择对 PI3K-Akt 通路进行验证。PI3K/Akt 信号通路是 DN 中一条重要的信号转导途径，调控疾病的发生发展^[31]。PI3K 由调节亚基 p85 和催化亚基 p110 组成，能够被多种细胞因子和物理化学因素激活。

其中, I型 PI3K 与外部刺激的关联性尤其显著, 且 I型 PI3K 中的 p110 α 也是调控体内胰岛素信号传递的重要分子^[32]。作为 PI3K/Akt 信号通路的核心, Akt 是 PI3K 下游的主要信号转导分子, 高糖状态会引起 PI3K/Akt 信号通路的激活, 该通路的过度激活会引发 DN 的发生、发展^[33]。且 PI3K/Akt 信号通路激活可参与多种肾脏疾病的发生发展, 抑制 PI3K/Akt 信号通路激活可抑制高糖诱导的肾小管上皮细胞间充质转化作用, 进而延缓 DN 的发展进程^[34]。PI3K/Akt 信号通路的激活在多种肾脏疾病的发病中发挥着重要的作用, 通过抑制该通路的活化, 可以阻止高糖引起的肾小管上皮细胞的间质转型, 进而减缓 DN 的进展^[35]。本实验研究结果显示 DN 大鼠肾组织中 PI3K、Akt、p-Akt 蛋白表达水平显著升高, 金樱子给药组相较于模型组 PI3K、Akt、p-Akt 蛋白表达水平显著降低。提示金樱子可能通过抑制 PI3K/Akt 信号通路活化从而延缓 DN 的发生及发展。但实验验证仅聚焦于 PI3K-Akt 通路及炎症因子的研究, 对其他潜在通路的调控未进行验证。此外, 核心靶点与没食子酸、积雪草酸、羟基积雪草苷等活性成分的结合仅通过分子对接进行验证, 下一步研究中, 将对其他调控通路及核心靶点与活性成分的结合进行深入探索, 更深入挖掘金樱子发挥抗 DN 的潜在机制。

本研究结合 HPLC-Q-Exactive Orbitrap MS、网络药理学、分子对接及实验验证, 系统性地探讨了金樱子在抗 DN 中的药理功效、关键活性成分及其分子机制, 并通过 DN 大鼠模型对所揭示的作用路径进行了验证。金樱子具有抗 DN 的药效作用, 没食子酸、积雪草酸、羟基积雪草苷、 δ -生育酚、芹菜素、甘草素、鞣花酸、12-羟基茉莉酸、原花青素 B1 等 9 个成分是其发挥药效的主要活性成分。其分子机制可能与抑制炎症因子分泌及调节 PI3K-Akt 信号转导通路有关。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Gong X X, Cao L H, Ni H X, et al. Chinese herbal medicine for the treatment of diabetic nephropathy: From clinical evidence to potential mechanisms [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 330: 118179.
- [2] Yang M, Wang X, Han Y C, et al. Targeting the NLRP3 inflammasome in diabetic nephropathy [J]. Curr Med Chem, 2021, 28(42): 8810-8824.
- [3] Sun H, Saeedi P, Karuranga S, et al. IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045 [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2022, 183: 109119.
- [4] 闫淼, 陈锐. 糖尿病肾病中医病因病机的研究概述 [J]. 吉林中医药, 2021, 41(6): 837-840.
Yan M, Chen R. A summary of the research on the etiology and pathogenesis of diabetic nephropathy in traditional Chinese medicine [J]. Jilin J Chin Med, 2021, 41(6): 837-840.
- [5] 陈聪聪, 秦雪梅, 杜冠华, 等. 中药有效组分“配伍艺术”的研究基础: 组分配比研究策略 [J]. 药学学报, 2019, 54(5): 808-817.
Chen C C, Qin X M, Du G H, et al. The “compatible art” of effective components from traditional Chinese medicine: Research on the compatibility and proportion of effective components [J]. Acta Pharm Sin, 2019, 54(5): 808-817.
- [6] Chen S, Wang L, Rong S, et al. Extraction, purification, chemical characterization, and in vitro hypoglycemic activity of polysaccharides derived from *Rosa laevigata* Michx. [J]. Int J Biol Macromol, 2024, 279(Pt 1): 135116.
- [7] Zhang T Y, Sun W J, Wang L X, et al. *Rosa laevigata* Michx. polysaccharide ameliorates diabetic nephropathy in mice through inhibiting ferroptosis and PI3K/Akt pathway-mediated apoptosis and modulating tryptophan metabolism [J]. J Diabetes Res, 2023, 2023: 9164883.
- [8] 杨金月, 华川, 李思思, 等. 基于肾藏精理论探讨补肾固精法治疗早期糖尿病肾脏疾病 [J]. 湖北中医杂志, 2020, 42(2): 39-42.
Yang J Y, Hua C, Li S S, et al. Exploration on treating early diabetic kidney disease with Bushen Gujing method based on the theory of kidney storing essence [J]. Hubei J Tradit Chin Med, 2020, 42(2): 39-42.
- [9] 武建发, 蒋汤轩, 李蕾, 等. 金樱子植物化学成分、药理作用及临床应用的研究进展 [J]. 中国野生植物资源, 2022, 41(6): 54-63.
Wu J F, Jiang T X, Li L, et al. Research progress on plant chemical constituents, pharmacological effects and clinical application of *Rosa Laevigata* Michx. [J]. Chin Wild Plant Res, 2022, 41(6): 54-63.
- [10] Peng S, Gu P F, Mao N N, et al. Structural characterization and in vitro anti-inflammatory activity of polysaccharides isolated from the fruits of *Rosa laevigata* [J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(4): 2133.
- [11] 刘盼英, 杨康, 杨洪涛. 金樱子在肾脏疾病治疗中的作用 [J]. 中医学报, 2020, 35(6): 1196-1201.
Liu P Y, Yang K, Yang H T. Effect analysis on Jinyingzi

- (*Rosa laevigata*) in treatment of renal disease [J]. Acta Chin Med, 2020, 35(6): 1196-1201.
- [12] 张家旭, 郭玉儿, 王信, 等. 金樱子活性成分、生物功能及其在食品应用中的研究进展 [J]. 食品科技, 2023, 48(1): 98-106.
Zhang J X, Guo Y E, Wang X, et al. Research progress on active ingredients, biological functions and their application in food of *Rosa laevigata* Michx. [J]. Food Sci Technol, 2023, 48(1): 98-106.
- [13] 林艳梅, 彭庆海, 陈杰, 等. 基于 NLRP3 炎性小体通路探讨金樱子乙醇提取物对系膜增生性肾小球肾炎大鼠的保护作用 [J]. 中国免疫学杂志, 2020, 36(5): 560-565.
Lin Y M, Peng Q H, Chen J, et al. Protective effect of ethanol extract of *Rosa laevigata* Michx. on mesangial proliferative glomerulonephritis in rats based on NLRP3 inflammatory corpuscle pathway [J]. Chin J Immunol, 2020, 36(5): 560-565.
- [14] 王惠玲, 雷迪, 赵思阳, 等. 水陆地黄胶囊通过 LKB1/AMPK/SIRT1 信号通路调控糖尿病肾病大鼠足细胞自噬的实验研究 [J]. 环球中医药, 2021, 14(12): 2142-2148.
Wang H L, Lei D, Zhao S Y, et al. Experimental study on regulating podocyte autophagy of diabetic nephropathy rats by Shuilu Dihuang Capsule through LKB1/AMPK/Sirt1 signaling pathway [J]. Glob Tradit Chin Med, 2021, 14(12): 2142-2148.
- [15] 刘瑞霞, 刁宗礼, 阴赅宏, 等. 丹芪合剂对糖尿病大鼠肾组织 Smurf 2 信号通路的调节作用研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(19): 208-212.
Liu R X, Diao Z L, Yin C H, et al. Effect and role of Danqi mixture on signal transduction of Smurf 2 in renal tissues of diabetic rats [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2013, 19(19): 208-212.
- [16] 王翼天, 顾成娟, 王涵, 等. 菟丝子、女贞子、金樱子治疗肾病蛋白尿经验: 全小林三味小方撷萃 [J]. 吉林中医药, 2020, 40(7): 861-864.
Wang Y T, Gu C J, Wang H, et al. Experience in treating proteinuria of nephropathy with *Cuscuta chinensis*, *Ligustrum thibeticum* and *Rosa laevigata*: Three prescription by professor TONG Xiaolin [J]. Jilin J Chin Med, 2020, 40(7): 861-864.
- [17] 王燕, 朱向东, 王欢, 等. 金樱子的临床应用及其用量探究 [J]. 吉林中医药, 2020, 40(6): 806-808.
Wang Y, Zhu X D, Wang H, et al. Clinical application and dosage of cherokee rose fruit [J]. Jilin J Chin Med, 2020, 40(6): 806-808.
- [18] 李娜, 王风云, 郑雁, 等. 三七总皂苷对糖尿病肾病大鼠肾纤维化的改善作用 [J]. 中成药, 2022, 44(9): 2995-2999.
Li N, Wang F Y, Zheng Y, et al. Effect of *Panax notoginseng* saponins on improving renal fibrosis in rats with diabetic nephropathy [J]. Chin Tradit Patent Med, 2022, 44(9): 2995-2999.
- [19] 胡峻豪, 刘明军. 2 型糖尿病的发病机制及中医药干预进展 [J]. 长春中医药大学学报, 2024, 40(9): 1049-1053.
Hu J H, Liu M J. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus and progress in Chinese medicine intervention [J]. J Changchun Univ Chin Med, 2024, 40(9): 1049-1053.
- [20] Wang P P, Guo R X, Bai X W, et al. Sacubitril/Valsartan contributes to improving the diabetic kidney disease and regulating the gut microbiota in mice [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2022, 13: 1034818.
- [21] 范栋晨, 麻丽娜, 孙新宇, 等. 益肾解毒通络胶囊治疗糖尿病肾病疗效观察及对炎症因子的影响 [J]. 新中医, 2023, 55(8): 86-90.
Fan D C, Ma L N, Sun X Y, et al. Observation on curative effect of Yishen Jiedu Tongluo Capsules on diabetic nephropathy and its effect on inflammatory factors [J]. New Chin Med, 2023, 55(8): 86-90.
- [22] 张翠平. 血清 OPG、TNF- α 、IL-6 水平与糖尿病肾病的关系 [J]. 检验医学与临床, 2022, 19(2): 189-192.
Zhang C P. The relationship between serum OPG, TNF- α and IL-6 levels and diabetic nephropathy [J]. Lab Med Clin, 2022, 19(2): 189-192.
- [23] 蔺建忠, 张磊, 王丹, 等. 参麦注射液联合贝前列素钠片对糖尿病肾病炎症因子及血流动力学的影响 [J]. 中医研究, 2020, 33(10): 14-19.
Lin J Z, Zhang L, Wang D, et al. Effect of Shenmai Injection combined with Beraprost Sodium Tablets on inflammatory factors and hemodynamics in patients with diabetic nephropathy [J]. Tradit Chin Med Res, 2020, 33(10): 14-19.
- [24] 程秋骆, 刘柳, 白长川, 等. 基于网络药理学探析 5 种经典方剂治疗肝细胞癌的作用机制 [J]. 临床肝胆病杂志, 2021, 37(8): 1848-1855.
Cheng Q L, Liu L, Bai C C, Cong Q W, Zhu Y. Mechanism of action of five classic prescriptions in treatment of hepatocellular carcinoma based on network pharmacology [J]. J Clin Hepatol, 2021, 37 (8): 1848-1855.
- [25] 廖韵诺, 赵凯丽, 郭宏伟. 中药网络药理学的应用与挑战 [J]. 中草药, 2024: 55(12): 4204-4213.
Liao Y N, Zhao K L, Guo H W. Application and challenges of network pharmacology research in traditional Chinese medicine [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024: 55(12): 4204-

- 4213.
- [26] 田书青, 王晓婷, 裴琳秀, 等. 基于网络药理学和实验验证探讨知母盐制后治疗糖尿病认知障碍的增效机制 [J]. 中草药, 2025, 56(5): 1640-1651.
Tian S Q, Wang X T, Pei L X, et al. Exploration on efficiency enhancing mechanism of salt-processing *Anemarrhenae Rhizoma* in treating diabetes cognitive impairment based on network pharmacology and experimental validation [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2025, 56(5): 1640-1651.
- [27] Liu Y S, Li X, Chen C, et al. Exploration of compatibility rules and discovery of active ingredients in TCM formulas by network pharmacology [J]. Chin Herb Med, 2024, 16(4): 572-588.
- [28] Li Y, Wang L, Zhang J M, et al. Integrated multi-omics and bioinformatic methods to reveal the mechanisms of sinomenine against diabetic nephropathy [J]. BMC Complement Med Ther, 2023, 23(1): 287.
- [29] Wang J W, Ma G Q, Zhang P P, et al. Mechanism of Huaiqihuang in treatment of diabetic kidney disease based on network pharmacology, molecular docking and *in vitro* experiment [J]. Medicine (Baltimore), 2023, 102(50): e36177.
- [30] 王峰, 张安兵. 基于 PI3K/AKT/FoxO1 信号通路探究补阳还五汤对痛风模型大鼠滑膜组织细胞凋亡及炎症反应的影响 [J]. 免疫学杂志, 2022, 38(7): 612-619.
Wang F, Zhang A B. Effects of Buyang Huanwu Decoction on synovial tissue cell apoptosis and inflammatory response in rats with gout based on PI3K/Akt/FoxO1 signaling pathway [J]. Immunol J, 2022, 38(7): 612-619.
- [31] 刘伟, 朴元林. 中药对糖尿病肾病 PI3K/Akt 信号通路影响的研究进展 [J]. 北京中医药, 2022, 41(8): 935-938.
- Liu W, Piao Y L. Research progress on the effects of traditional Chinese medicine on the PI3K/Akt signaling pathway in diabetic nephropathy [J]. Beijing J Tradit Chin Med, 2022, 41(8): 935-938.
- [32] 王宁, 李京涛, 常占杰, 等. PI3K/Akt 信号通路在胰岛素抵抗所致非酒精性脂肪性肝病中作用机制的研究进展 [J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2019, 28(11): 1308-1311.
Wang N, Li J T, Chang Z J, et al. Research progress of PI3K/Akt signal pathway in non-alcoholic fatty liver disease caused by insulin resistance [J]. Chin J Gastroenterol Hepatol, 2019, 28(11): 1308-1311.
- [33] Ye Y T, Zhong W, Sun P, et al. Apoptosis induced by the methanol extract of *Salvia miltiorrhiza* Bunge in non-small cell lung cancer through PTEN-mediated inhibition of PI3K/Akt pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2017, 200: 107-116.
- [34] 李锴, 朱志辉, 马医林, 等. miR-93-3p 对高糖诱导的肾小管上皮细胞损伤及炎症因子分泌的影响 [J]. 西部医学, 2020, 32(10): 1420-1431.
Li K, Zhu Z H, Ma Y L, et al. miR-93-3p inhibits high glucose-induced renal tubular epithelial cell damage and inflammatory factor secretion via PI3K/Akt signaling pathway [J]. Med J West China, 2020, 32 (10): 1424-1431.
- [35] 周磊, 艾望, 陈小娟, 等. 萝卜硫素对高糖诱导人肾小管上皮细胞增殖和凋亡的影响及机制 [J]. 中国药房, 2021, 32(24): 3000-3007.
Zhou L, Ai W, Chen X J, Wen C Y. Effects of sulforaphane on the proliferation and apoptosis of human renal tubular epithelial cells induced by high glucose and its mechanism [J]. China Pharm, 2021, 32(24): 3000-3007.

[责任编辑 齐静雯]