

基于斑马鱼模型与网络药理学的西洋参抗糖尿病肾病关键活性成分研究

张梦悦^{1,2}, 刘慧茹^{2,3}, 金雨萌^{1,2}, 徐鑫², 王亚茹², 王松松², 邓志鹏^{1*}, 韩利文^{2*}

1. 山东中医药大学 药学院, 山东 济南 250355

2. 山东第一医科大学 药学院(药物研究所), 山东 济南 250117

3. 天津中医药大学 中药学院, 天津 301617

摘要: **目的** 采用文献数据挖掘结合网络药理学方法, 预测西洋参治疗糖尿病肾病(DN)的活性成分及作用机制, 并建立 DN 斑马鱼模型进行实验验证。 **方法** 检索文献数据结合网络药理学及分子对接技术, 预测西洋参抗 DN 的有效成分及核心靶点; 构建优化的葡萄糖波动式诱导斑马鱼 DN 模型, 以二甲双胍为阳性药, 以肾水肿面积为指标评估造模是否成功, 并结合肾小球滤过率、血糖、糖化血清蛋白、胰岛素、肌酐、尿素氮水平及 HE 染色结果进行验证; 选取经文献数据挖掘结合网络药理学预测的关键活性成分拟人参皂苷 F₁₁ (PF₁₁) 为实验药物, 利用 DN 斑马鱼模型验证其对 DN 的治疗作用, 并进一步采用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 验证其对主要基因的调控作用。 **结果** 经 4%葡萄糖波动式诱导 4 d 建立 DN 斑马鱼模型, 与对照组相比, 模型组各考察指标均发生显著性变化 ($P < 0.05$ 、 0.01), 验证模型构建成功; 通过文献数据挖掘共得到 27 个西洋参入血成分, 经网络药理学筛选得到 64 个作用靶点, 利用蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络分析确定 PF₁₁ 为主要活性成分, 分子对接结果显示其与核心靶点均具有较强的结合力。 DN 斑马鱼模型验证结果表明, PF₁₁ 可显著提高 DN 模型斑马鱼胰岛素水平、抑制血糖升高, 降低尿素氮及肌酐水平, 改善肾水肿及肾小球滤过率 ($P < 0.05$ 、 0.01); qRT-PCR 结果进一步显示, PF₁₁ 能显著下调 DN 模型斑马鱼组织中信号传导及转录激活蛋白 3 (STAT3)、表皮生长因子受体 (EGFR) 的 mRNA 表达水平 ($P < 0.05$)。 **结论** 建立整合网络药理学预测-斑马鱼模型验证的抗 DN 活性成分筛选方法, 证实西洋参中的 PF₁₁ 具有显著的 DN 治疗作用。

关键词: 西洋参; 糖尿病肾病; 斑马鱼; 网络药理学; 分子对接; 拟人参皂苷 F₁₁

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2025)09-2494-13

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.09.011

Research on key active components of *Panax quinquefolium* against diabetic nephropathy based on zebrafish model and network pharmacology

ZHANG Mengyue^{1, 2}, LIU Huiru^{2, 3}, JIN Yumeng^{1, 2}, XU Xin², WANG Yaru², WANG Songsong², DENG Zhipeng¹, HAN Liwen²

1. School of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

2. School of Pharmaceutical Sciences (Institute of Materia Medica), Shandong First Medical University, Jinan 250117, China

3. School of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

Abstract: **Objective** To predict the active components, therapeutic effects, and mechanisms of *Panax quinquefolium* in treating diabetic nephropathy (DN), by integrates literature mining and network pharmacology, and conduct experimental validation using an established zebrafish DN model. **Methods** Integrating bibliographic mining with network pharmacology and molecular docking, predict the active components and core targets of *Panax quinquefolius* (American ginseng) for combating diabetic nephropathy (DN). To establish an optimized glucose fluctuation-induced diabetic nephropathy (DN) model in zebrafish, metformin served as the positive control drug. Model establishment success was assessed based on renal edema area and further validated by evaluating glomerular

收稿日期: 2025-02-14

基金项目: 国家中医药管理局科技司-山东省卫生健康委员会共建中医药科技项目 (GZY-KJS-SD-2023-088); 山东省自然科学基金资助项目 (ZR202211080026); 山东第一医科大学学术提升计划 (2019LJ003)

作者简介: 张梦悦 (2001—), 硕士研究生, 主要从事糖尿病肾病药效物质研究。E-mail: zmy13947@126.com

*通信作者: 韩利文 (1980—), 博士, 副研究员, 主要从事药物筛选及中药质量控制研究。E-mail: hanliwen08@126.com

邓志鹏 (1981—), 博士, 教授, 主要从事药物代谢研究。E-mail: depon2005@126.com

filtration rate, blood glucose, glycated hemoglobin, insulin, creatinine, and blood urea nitrogen levels, in conjunction with HE staining results. Subsequently, the key active ingredient, pseudoginsenoside F₁₁ (PF₁₁), was selected as the experimental drug through literature data mining combined with network pharmacology prediction. The therapeutic effect of PF₁₁ on DN was verified using the DN zebrafish model, and its regulatory effect on major genes was further confirmed by real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR). **Results** Zebrafish DN model was established by subjecting fish to a 4% glucose fluctuation regimen for four days. Compared with the control group, all the examined indicators in the model group showed significant changes ($P < 0.05, 0.01$), which verified the successful construction of the model. Through literature data mining, a total of 27 components of *Panax quinquefolius* that enter the bloodstream were obtained. After screening by network pharmacology, 64 target sites were identified. Using protein-protein interaction (PPI) network analysis, PF₁₁ was determined to be the main active component. Molecular docking results showed that it had strong binding force with the core target sites. The results of the DN zebrafish model verification indicated that PF₁₁ could significantly increase the insulin level of DN model zebrafish, inhibit the increase of blood sugar, reduce the levels of urea nitrogen and creatinine, and improve renal edema and glomerular filtration rate ($P < 0.05, 0.01$). The qRT-PCR results further showed that PF₁₁ could significantly down-regulate the mRNA expression levels of signal transduction and transcriptional activator protein 3 (STAT3) and epidermal growth factor receptor (EGFR) in the tissues of DN model zebrafish ($P < 0.05$). **Conclusion** Established an anti-DN active component screening method by integrating network pharmacology prediction and zebrafish model verification, and confirmed that PF₁₁ in *Panax quinquefolius* has a significant therapeutic effect on DN.

Key words: *Panax quinquefolium* L.; diabetic nephropathy; zebrafish; network pharmacology; molecular docking; pseudoginsenoside F₁₁

糖尿病肾病 (DN) 是 2 型糖尿病 (T2DM) 最常见且危害严重的并发症之一, 其病理机制以肾脏结构与功能进行性异常为显著特征。当前全球糖尿病患病率不断升高, 约 40% 的 T2DM 患者会并发 DN, 这一疾病负担已成为重要公共卫生问题。从发病机制来看, DN 的发病与遗传、饮食、糖代谢异常等诸多因素有关^[1-3]。目前 DN 的治疗方法主要是优化血糖管理、控制高血压及抑制肾素-血管紧张素-醛固酮系统^[4]。尽管这些措施可以在一定程度上延缓疾病发展, 但仍无法逆转肾脏器质性损伤, 因此, 发现安全有效的干预策略和治疗药物来阻止 DN 的进展依然是迫切需要解决的问题。

西洋参为五加科植物西洋参 *Panax quinquefolium* L. 的干燥根, 是我国常用的药食同源的中药材以及膳食补充剂。中医理论认为西洋参具有补气养阴功效, 可用于气虚阴亏, 内热消渴等症^[5]。现代研究表明, 西洋参在抗炎^[6]、抗氧化^[7]、抗疲劳^[8]、延缓衰老^[9]及糖尿病干预等领域展现出广泛药理作用。已有研究表明, 西洋参提取物可通过降低氧化应激、炎症反应和血脂异常等多重机制治疗 T2DM^[10]。Sen 等^[11]研究表明, 西洋参对 DN 的发生具有显著的预防作用。但其发挥药效的活性成分尚不十分明确。

网络药理学是近年来兴起的一门新兴交叉学科, 融合系统生物学、多向药理学、计算生物学、生物信息学等多学科方法, 可以从系统整体的角度

预测药物分子的作用靶点和信号通路。该技术通过数据挖掘构建“药物-靶点-疾病”的复杂网络, 但其本质是数据预测, 并不能替代生物学验证过程。斑马鱼作为新型模式脊椎生物, 与人类基因有 87% 的高度同源性^[12], 同时具有体型小、产卵量大、生长周期短、发育透明等特点, 可有效提高实验效率, 尤其适合进行大规模实验研究^[13]。当前 DN 斑马鱼造模方法主要为基因敲除^[14]、葡萄糖诱导^[15]等, 检测指标主要依赖于组织病理学染色^[15]、肾小球滤过率测定^[16]等。其中葡萄糖诱导的方法虽然操作简便, 但是持续的高糖环境会严重影响斑马鱼的存活率, 为实验研究带来一定的影响。因此改良现有的造模方法, 对满足天然产物中活性成分的快速筛选具有重要意义。基于此, 本研究整合网络药理学与分子对接技术预测潜在活性成分, 构建稳定的高糖诱导斑马鱼 DN 模型, 并首次将肾水肿面积作为量化评价指标, 旨在快速筛选西洋参中抗 DN 的关键活性成分, 为西洋参干预 DN 的深入研究提供参考。

1 材料

1.1 药品与试剂

D (+)-无水葡萄糖 (货号 FBP350101, 质量分数 $\geq 99.7\%$), 国药集团化学试剂有限公司; 盐酸二甲双胍 (货号 M794099, 质量分数 $\geq 98\%$), 上海麦克林生化科技有限公司; 拟人参皂苷 F₁₁ (PF₁₁, 货号 AB0347, 质量分数 $\geq 98\%$), 成都埃尔法生物科技有限公司; 琼脂糖凝胶、异硫氰酸荧光素葡聚

糖(货号 F861784, 相对分子质量 10 000), 上海麦克林生化科技有限公司; SparkZol Reagent(货号 AC0101-A)、SPARKscript II All-in-one RT SuperMix for qPCR(With gDNA Eraser)试剂盒(货号 AG0305-A)、2×SYBR Green qPCR Mix(With ROX)试剂盒(货号 AH0101-A), 山东思科捷生物技术有限公司; 斑马鱼肌酐 ELISA 科研试剂盒(货号 MB-500029A)、斑马鱼尿素氮 ELISA 科研试剂盒(货号 MB-500035A)、斑马鱼胰岛素 ELISA 科研试剂盒(货号 MB-21410A), 江苏酶标生物科技有限公司。

1.2 仪器

Accu-Chek Performa 型血糖仪, 罗氏诊断产品(上海)有限公司; SZX16 型体式显微镜, 日本 OLYMPUS 公司; PC-100 拉针仪, Narishige 科学仪器研究所; KP110 高速无油空压机, 宝时得科技有限公司; PCO-1500 微电脑数位气压式胚胎显微注射泵, 台湾 ZGENEBIO 生物科技有限公司; JY2002 型电子天平, 上海舜宇恒平科学仪器有限公司; Spectra Max ABS 酶标仪, 美谷分子仪器有限公司; DZF-1AS 真空干燥箱, 北京科伟永兴仪器有限公司; Roche LightCycler 480 型实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)仪, Roche Diagnostics 有限公司; 五层单排斑马鱼养殖系统, 上海海圣生物实验设备有限公司。

1.3 动物

AB 系斑马鱼由山东第一医科大学斑马鱼研究中心提供。成年斑马鱼在 28 °C 的斑马鱼养殖系统中饲养。在 14 h 光照/10 h 黑暗循环下, 每天喂养 2 次丰年虫。自然产卵获得胚胎。在产卵后 1 h 后收集, 并转移到系统养鱼水(5 mmol·L⁻¹ NaCl、0.17 mmol·L⁻¹ KCl、0.33 mmol·L⁻¹ CaCl₂、0.33 mmol·L⁻¹ MgSO₄、5%亚甲基蓝)中, 并置于 28.5 °C 的光培养箱中进行后续实验。

2 方法

2.1 网络药理学分析和分子对接验证

2.1.1 西洋参活性成分及其潜在靶点收集 通过 PubMed (<http://www.cnki.net>)、中国学术期刊全文数据库(CNKI) (<http://www.cnki.net>) 等数据库进行文献数据挖掘[检索式: (Panax quinquefolius) AND (plasma or serum) AND (metabolites)], 收集西洋参入血成分, 以入血成分作为西洋参潜在抗 DN 成分。在 PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 数据库中检索所筛选抗 DN 成分的标准

SMILES 数据, 将该数据输入 Swiss Target Prediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 在线靶点预测数据库, 以物种选择“Homo sapiens”阈值 ≥ 0.01 筛选成分靶点。通过 GeneCards (<http://www.genecards.org/>)、TTD (<http://bidd.nus.edu.sg/group/databases.htm>) 数据库, 根据关键词“diabetes nephropathy”收集 DN 相关靶点。将成分靶点与 DN 疾病靶点取交集, 得到西洋参潜在抗 DN 成分、抗 DN 靶点。

2.1.2 “成分-靶点-疾病”网络构建 整理归纳所得成分靶点及疾病靶点对应信息, 利用 Cytoscape 3.9.0 软件, 构建潜在抗 DN 成分与其抗 DN 靶点的网络关系拓扑图, 并对网络进行分析。

2.1.3 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络的构建 将西洋参潜在抗 DN 成分的抗 DN 靶点上传至 STRING 11.5 数据库 (<https://string-db.org>) 构建交集靶点 PPI 网络, 生物种类设定为“Homo sapiens”, 将最小相互作用阈值设为 0.9。利用 Cytoscape 3.9.1 软件中的 CentiScape 2.2 插件进行聚类 and 拓扑分析, 以拓扑分析的度值排序筛选出排名前 10 的核心节点作为西洋参治疗 DN 的关键靶点。

2.1.4 分子对接 根据“2.1.2”项下成分-靶点网络图中关键成分与 degree 值排名前 10 的靶点进行分子对接, 在 PubChem 上获取关键成分的 3D 结构, 在 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 获取关键靶点的 3D 结构, 通过 Autodock Tools 给蛋白受体加氢并确定活性口袋, 最后, 利用活性口袋中心区域的数值在 autodock vina 中进行分子对接, 并通过 pymol 进行可视化处理。

2.2 斑马鱼 DN 模型的优化

2.2.1 斑马鱼胚胎对不同质量分数葡萄糖的耐受性考察 在显微镜下选取发育正常的 12 hpf(胚胎在受精后 12 h)野生型 AB 系斑马鱼胚胎置于 12 孔板中, 每孔 15 尾, 设置不同质量分数葡萄糖(2%、4%、6%、8%)组和对照组(给予等量养鱼水), 每组平行 3 孔。将斑马鱼置于 28.5 °C 恒温恒湿培养箱中孵育, 将斑马鱼胚胎每日进行 12 h 葡萄糖溶液暴露和 12 h 正常养鱼水交替处理(每孔 2 mL), 持续处理 4 d, 记录各实验组畸形率、死亡率。

2.2.2 斑马鱼胚胎造模方式考察 在显微镜下筛选发育正常的 12 hpf 野生型 AB 系斑马鱼胚胎, 置于 6 孔板中, 每孔 30 尾, 设置 3%、4%、5%葡萄糖处理组及对照(葡萄糖溶液由养鱼水配制)组,

每组平行 3 孔。各组斑马鱼置于 28.5 °C 恒温恒湿培养箱中孵育,将斑马鱼胚胎每日进行 12 h 葡萄糖溶液暴露和 12 h 正常养鱼水交替处理(每孔 5 mL),分别持续 3、4、5 d,对照组更换等体积养鱼水。实验结束后用显微镜拍照,用 Image J 软件测量各实验组肾水肿面积。

2.2.3 斑马鱼 DN 模型肾水肿面积测定 在显微镜下选取发育正常的 12 hpf 野生型 AB 系斑马鱼胚胎至 6 孔板中,每孔 30 尾,设置对照组(给予等量养鱼水)、模型组(5%葡萄糖处理)、二甲双胍(阳性药, 220 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)组,每组平行 3 孔。每日进行 12 h 葡萄糖溶液暴露和 12 h 正常养鱼水交替处理(每孔 5 mL),持续造模 4 d。实验结束后用显微镜拍照,用 Image J 软件测量各实验组肾水肿面积。

2.2.4 斑马鱼 DN 模型肾小球滤过率测定 参照“2.2.3”项下方法获得 DN 斑马鱼模型,同时设置对照组(给予等量养鱼水)、二甲双胍(阳性药, 220 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)组。将获得的斑马鱼固定至琼脂糖凝胶上,采用显微注射方式将异硫氰酸荧光素葡聚糖(2.5%, 1 nL)注射到斑马鱼的居维叶静脉中^[17]。分别在注射后 10 min、2 h 在荧光显微镜下观察尾部静脉荧光强度,用 Image J 软件分析、统计尾侧区域荧光强度。以尾动脉荧光强度下降的百分比计算葡聚糖的清除率^[17]。

清除率=[荧光强度(10 min) - 荧光强度(2 h)]/荧光强度(10 min)

2.2.5 斑马鱼 DN 模型血糖和生化指标测定 参照“2.2.3”项下方法获得 DN 斑马鱼模型,同时设置对照组(给予等量养鱼水)、二甲双胍(阳性药, 220 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)组^[18]。收集斑马鱼,每组 10 尾,吸干斑马鱼水分,200 μL 纯水清洗 3 次,加入 100 μL 的无水乙醇,室温放置 15 min 后,60 °C 烘 2 h;加入 10 μL 的超纯水,室温放置 15 min 后,吸取 2 μL ,使用血糖仪进行葡萄糖含量测定^[19-20]。

收集斑马鱼,每组 30 尾,加入 200 μL 纯水清洗斑马鱼,重复 3 次。每组斑马鱼称质量,按 1 mg : 9 μL 加入 PBS (4 °C 预冷),研珠破碎后,以 2 500 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min,取上清适量,采用试剂盒测定斑马鱼糖化血清蛋白、肌酐、尿素氮、胰岛素含量。

2.2.6 DN 斑马鱼模型肾组织苏木精-伊红(HE)染色 随机选取“2.2.5”项下各组斑马鱼,每组 5 尾,固定于 4%中性甲醛,石蜡包埋,切片机切成合适厚

度进行 HE 染色,封片后置于光学显微镜下观察,采集图像并分析。

2.3 网络药理学结果实验验证

2.3.1 PF_{11} 对 DN 斑马鱼模型水肿面积的影响 选取发育正常的 12 hpf 野生型 AB 系斑马鱼胚胎随机分为对照组、模型组、二甲双胍(阳性药, 220 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)组、 PF_{11} 低、高剂量(30、60 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)组,共 5 组,每组 30 尾。除对照组外,均按“2.2.3”项下方法造模,二甲双胍组和 PF_{11} 组同时加入药物处理,持续造模 4 d。实验结束后用显微镜拍照,用 Image J 软件测量、分析,并统计各实验组肾水肿面积。

2.3.2 PF_{11} 对 DN 斑马鱼模型生化指标的影响 按照“2.2.5”项下样品处理方法获得样品,采用血糖仪测定血糖含量,采用试剂盒测定斑马鱼肌酐、尿素氮、胰岛素含量。

2.3.3 qRT-PCR 检测 $AKT1$ 、 $EGFR$ 、 $STAT3$ 、 $MAPK1$ mRNA 表达 选取发育正常的 12 hpf 野生型 AB 系斑马鱼胚胎随机分为对照组、模型组、 PF_{11} (60 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)组,每组随机挑选 60 尾斑马鱼于 1.5 mL EP 管中,每组平行实验 3 次, PBS 洗 3 次,吸干水分,投入液氮中速冻并进行组织破碎,使用 SparkZol Reagen 试剂对斑马鱼的总 RNA 进行提取, SPARKscript II All-in-one RT SuperMix for qPCR (With gDNA Eraser) 试剂盒用于反转录, 2 $\times$ SYBR Green qPCR Mix (With ROX) 试剂盒用于 cDNA 扩增, $\beta\text{-actin}$ 作为内参, qRT-PCR 检测 $AKT1$ 、 $EGFR$ 、 $STAT3$ 、 $MAPK1$ mRNA 表达,引物序列见表 1。结果用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法分析,其中对照组各基因的相对表达量设定为 1。

表 1 引物序列
Table 1 Primer sequences

基因名称		引物序列 (5'→3')
$\beta\text{-actin}$	F	GTGATGGACTCTGGTGATGGTGTG
	R	AGCCACGCTCGGTCCAGGATC
$AKT1$	F	AGCACAAGTTCTTCACTGGAATCG
	R	AAGTATCTGGTGTCTGTTTCTGATGTC
$EGFR$	F	TCCTGTCAATCAATGCCACCAAC
	R	GATCCAGTCCTGAAGTGTTAGTATGTG
$STAT3$	F	TCAACATCCTTGGCACTAACACTAAG
	R	GTCATATCAGAGAGGCATCACTATTG
$MAPK1$	F	AATTACCTGCTGTCCCTTCCTCTC
	R	CGCTTCCTCCACCTCAATCCTC

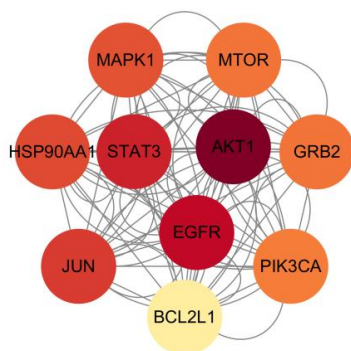


图 3 西洋参与 DN 交集靶点 PPI 网络图
Fig. 3 PPI network of intersection target of *Panax quinquefolium* and DN

MAPK1、MTOR、GRB2、PIK3CA、BCL2L1。

3.1.4 分子对接结果 分子与靶点彼此结合能越低，配体和受体蛋白之间的结合就会越稳定，当结合能小于 $-21\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 时，两者具有较强的结合活性；当结合能小于 $-29\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 时，两者具有强

烈的结合活性，研究结果见表 2、图 4，其中 PF₁₁ 与各靶点的整体结合能力较强。且 PF₁₁ 在成分靶点网络图中度值排名第 1，因此后续对 PF₁₁ 进行进一步验证。

3.2 斑马鱼 DN 模型建立

3.2.1 斑马鱼胚胎对不同质量分数葡萄糖的耐受研究 不同时间点观察葡萄糖处理后的斑马鱼的畸形率和存活率结果见图 5。在 1~3 d 时斑马鱼在各质量分数葡萄糖中存活率均为 100%，8%葡萄糖中畸形率达 50%。在 4 d 时斑马鱼在 6%葡萄糖中存活率均为 80%、畸形率 20%；在 8%葡萄糖中存活率 0。在 5 d 时斑马鱼在 6%葡萄糖中存活率为 40%、畸形率 60%；在 8%葡萄糖中存活率 0。因此，构建 DN 斑马鱼模型时葡萄糖的质量分数不得高于 6%。

3.2.2 造模方式的确定 综合斑马鱼对葡萄糖的耐受性，选取 3%、4%、5%葡萄糖溶液，分别诱导

表 2 活性成分与核心靶点分子对接结合能

Table 2 Molecular docking binding energy of active ingredient and core target

编号	靶点	PDB ID	成分	结合能/(kJ·mol ⁻¹)	编号	靶点	PDB ID	成分	结合能/(kJ·mol ⁻¹)
1	AKT1	7NH4	PF ₁₁	-37.65	6	MAPK1	6OPI	PF ₁₁	-33.47
			PRT ₅	-30.96				PRT ₅	-31.79
			Rh ₁	-33.89				Rh ₁	-36.81
			Rh ₂	-35.56				Rh ₂	-38.91
			Rg ₁	-28.86				Rg ₁	-33.47
2	EGFR	7OM4	PF ₁₁	-35.98	7	MTOR	8ER7	PF ₁₁	-36.40
			PRT ₅	-34.30				PRT ₅	-32.21
			Rh ₁	-32.63				Rh ₁	-26.03
			Rh ₂	-30.96				Rh ₂	-31.37
			Rg ₁	-30.96				Rg ₁	-30.54
3	STAT3	6NUQ	PF ₁₁	-34.72	8	GRB2	6WM1	PF ₁₁	-31.79
			PRT ₅	-28.03				PRT ₅	-27.19
			Rh ₁	-31.79				Rh ₁	-29.28
			Rh ₂	-33.05				Rh ₂	-31.37
			Rg ₁	-28.56				Rg ₁	-25.10
4	JUN	5TO1	PF ₁₁	-43.93	9	PIK3CA	8TSC	PF ₁₁	-45.18
			PRT ₅	-35.56				PRT ₅	-40.58
			Rh ₁	-33.05				Rh ₁	-38.49
			Rh ₂	-33.47				Rh ₂	-42.67
			Rg ₁	-30.96				Rg ₁	-35.14
5	HSP90AA1	7RY1	PF ₁₁	-38.07	10	BCL2L1	7YB7	PF ₁₁	-23.01
			PRT ₅	-37.65				PRT ₅	-32.21
			Rh ₁	-36.40				Rh ₁	-32.63
			Rh ₂	-35.98				Rh ₂	-30.96
			Rg ₁	-28.86				Rg ₁	-26.77

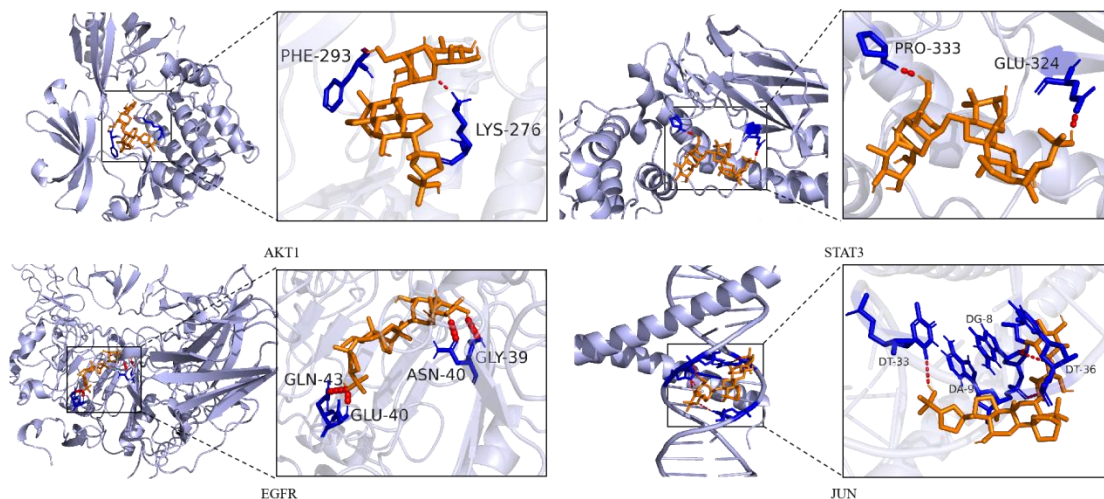


图 4 PF₁₁ 与相关靶点的对接可视化结果

Fig. 4 Visualization results of docking between PF₁₁ and relevant targets

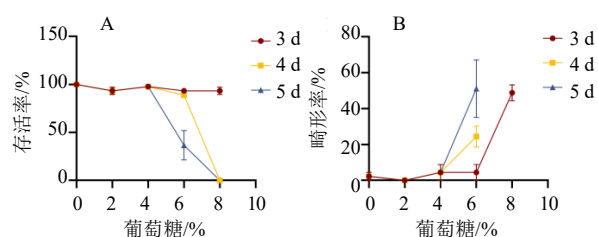
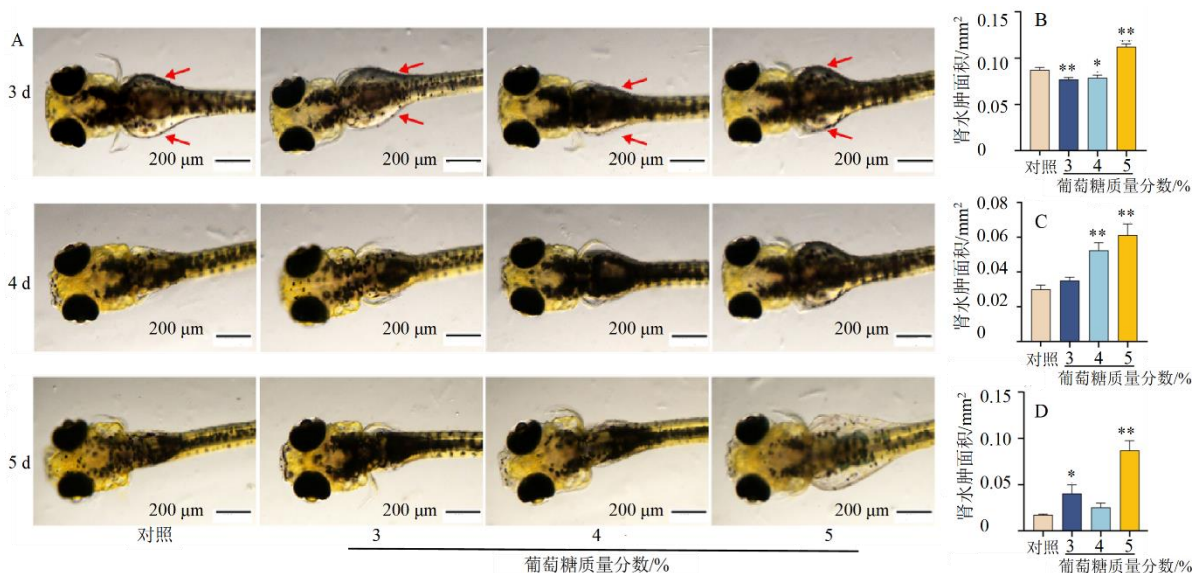


图 5 不同质量分数葡萄糖对斑马鱼存活率 (A)、畸形率 (B) 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 5 Effects of different mass fraction of glucose on survival rate (A) and deformity rate (B) of zebrafish ($\bar{x} \pm s, n=3$)

3、4、5 d 进行造模, 探究最终造模浓度及造模时间, 结果见图 6。已有研究表明, 斑马鱼幼鱼肾损伤后会出现肾包膜水肿、眼周水肿等特征^[30], 因此本研究以造模后斑马鱼幼鱼肾水肿面积作为肾损伤指标。造模 3 d 斑马鱼卵黄囊未吸收完全, 肾水肿面积未呈现质量浓度相关性递增趋势, 与造模 3、5 d 相比, 造模第 4 天时, 斑马鱼肾水肿面积随葡萄糖质量分数升高呈梯度增加 (图 6, 红色箭头指示肾水肿部位)。结合“3.2.1”项 4 d 时 6% 葡萄糖会导致斑马鱼幼鱼畸形率增多的结果, 同时为避免



A-不同造模条件斑马鱼表型; B-造模 3 d 时斑马鱼肾水肿面积; C-造模 4 d 时斑马鱼肾水肿面积; D-造模 5 d 时斑马鱼肾水肿面积; 与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

A-phenotypes of zebrafish under different modeling conditions; B-renal edema area of zebrafish at 3 d after modeling; C-renal edema area of zebrafish at 4 d after modeling; D-renal edema area of zebrafish at 5 d after modeling; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group.

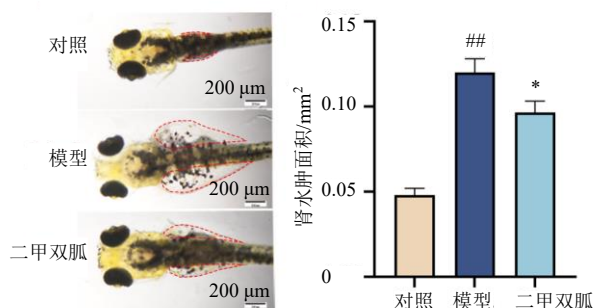
图 6 斑马鱼胚胎造模浓度和时间考察 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Fig. 6 Investigation on concentration and duration of embryo modeling in zebrafish ($\bar{x} \pm s, n=8$)

斑马鱼开口期摄食对葡萄糖质量分数测定的干扰，最终确定采用 4%葡萄糖溶液进行波动式诱导，造模时长为 4 d，用于后续实验。

3.2.3 斑马鱼 DN 模型的验证

(1) 肾水肿面积考察：结果如图 7 所示，与对照组相比，模型组肾水肿面积显著增大($P<0.01$)；与模型组比较，二甲双胍组肾水肿面积显著降低($P<0.05$)。

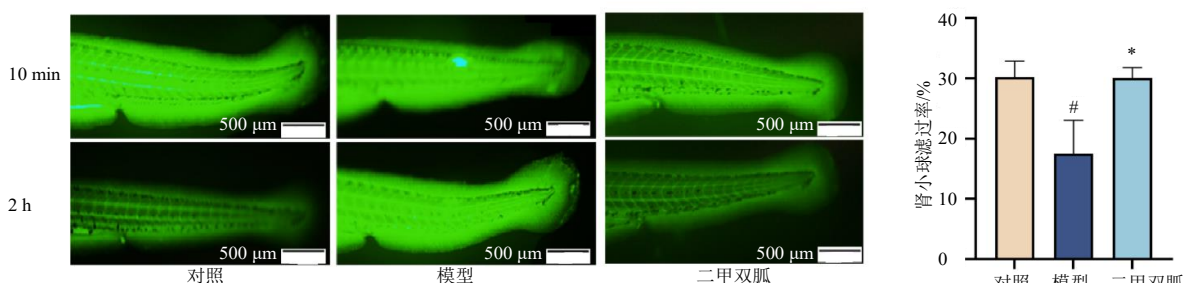


与对照组比较：^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较：^{*} $P<0.05$ 。

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

图 7 DN 斑马鱼模型肾水肿面积测定 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Fig. 7 Determination of renal edema area in zebrafish model of DN ($\bar{x} \pm s, n=8$)

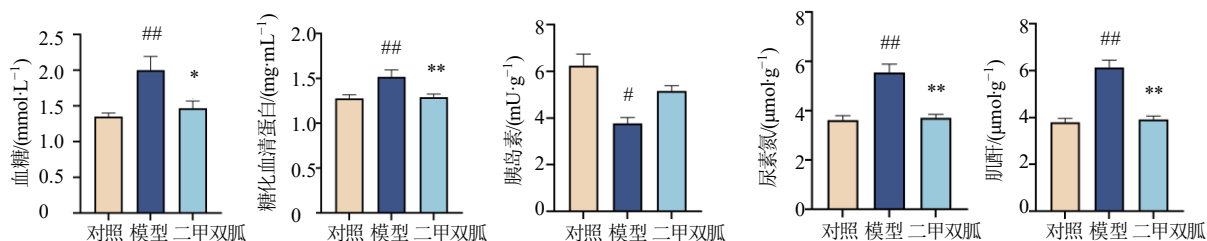


与对照组比较：[#] $P<0.05$ ；与模型组比较：^{*} $P<0.05$ 。

[#] $P<0.05$ vs control group; ^{*} $P<0.05$ vs model group.

图 8 DN 斑马鱼模型肾小球滤过率测定 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Fig. 8 Determination of glomerular filtration rate in zebrafish model of DN ($\bar{x} \pm s, n=8$)



与对照组比较：[#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较：^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ 。

[#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$ vs control group; ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ vs model group.

图 9 DN 斑马鱼模型血糖和生化指标考察结果 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 9 Examination results of blood sugar and biochemical indicators in DN zebrafish model ($\bar{x} \pm s, n=6$)

(2) 肾小球滤过率考察：DN 会导致肾脏滤过率显著下降，采用显微注射技术^[16]将异硫氰酸荧光素葡聚糖注射进斑马鱼的血管中，通过计算其清除率来探究 DN 斑马鱼的肾小球滤过率。结果如图 8 所示，与对照组相比，模型组肾小球滤过率显著下降($P<0.05$)，与模型组相比，二甲双胍组肾小球滤过率显著提高($P<0.05$)。

(3) 血糖和生化指标考察：从生化指标角度进一步验证以肾水肿面积作为 DN 的评价指标的有效性，结果如图 9 所示，与对照组相比，模型组斑马鱼血糖显著升高、胰岛素水平显著降低($P<0.05$ 、 0.01)，糖化血清蛋白作为评价血糖的长期指标^[32]在模型组斑马鱼体内显著升高($P<0.01$)。随着肾小球滤过率的降低，模型组肌酐、尿素氮在体内蓄积，其含量显著升高($P<0.01$)，表现出肾功能异常。与模型组相比，二甲双胍组血糖水平、糖化血清蛋白水平显著降低($P<0.05$ 、 0.01)，胰岛素水平有所提高，但无显著性差异，尿素及肌酐水平均显著性降低($P<0.01$)。

(4) HE 染色结果：如图 10 所示，对照组斑马鱼肾小球细胞排列整齐，形态正常，细胞核居中，

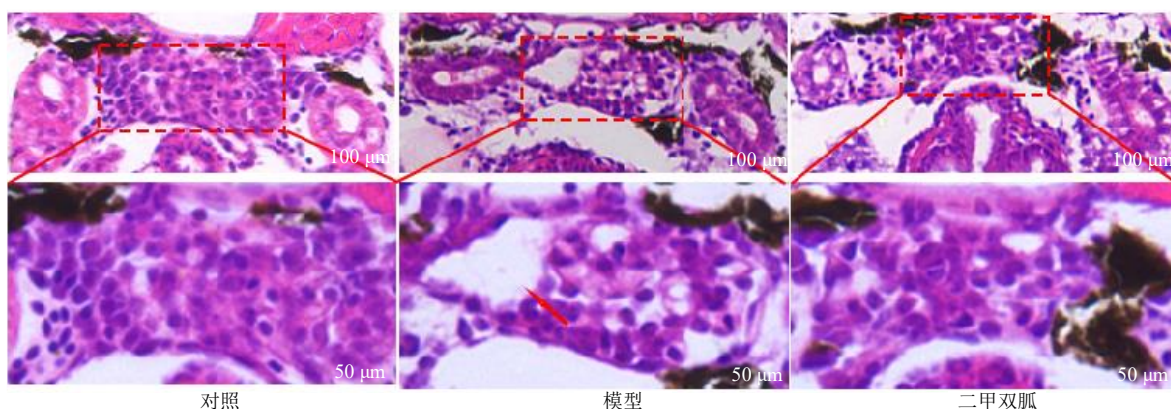


图 10 DN 斑马鱼模型肾组织 HE 染色 (×200)

Fig. 10 HE staining of kidney tissue of zebrafish model of diabetic nephropathy (×200)

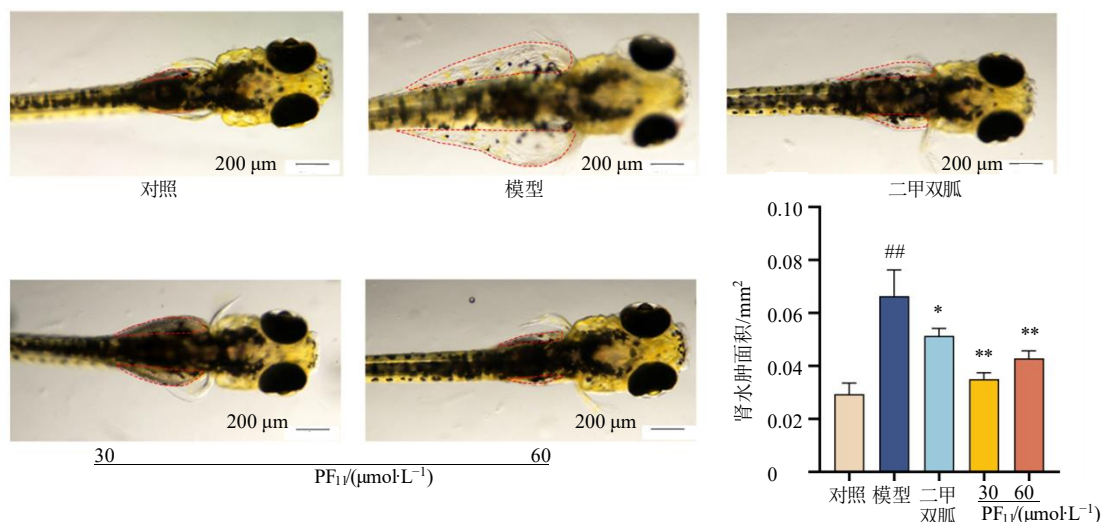
无空泡, 结构完整, 未见病理学改变; 而模型组斑马鱼肾小球细胞内可见大量空泡, 结构紊乱。与模型组相比, 二甲双胍组斑马鱼肾小球细胞内空泡明显减少。进一步表明该方法可以成功建立 DN 斑马鱼模型, 且具有简便、时间短, 节约成本等优势。

3.3 PF₁₁ 对 DN 斑马鱼的治疗作用

3.3.1 肾水肿面积考察 结果如图 11 所示, 与对照组相比, 模型组肾水肿面积显著增大 ($P < 0.01$); 与模型组相比, PF₁₁ 低、高剂量组均可以显著减小 DN 斑马鱼模型的肾水肿面积 ($P < 0.01$), 且与二甲双胍组相比无显著性差异。

3.3.2 生化指标考察 与对照组相比, 模型组血糖浓度显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组相比, 二甲双胍组与 PF₁₁ 高剂量组血糖浓度均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。与对照组相比, 模型组体内胰岛素水平显著降低 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 二甲双胍组胰岛素水平升高但不显著, PF₁₁ 高剂量组显著升高 ($P < 0.05$)。尿素氮、肌酐含量与肾小球滤过率水平呈负相关^[33], 与对照组相比, 模型组尿素氮、肌酐水平显著升高 ($P < 0.05$), 与模型组相比, 二甲双胍组和 PF₁₁ 低、高剂量组尿素氮水平均显著降低 ($P < 0.05$), 二甲双胍组和 PF₁₁ 高剂量组肌酐水平均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 且 PF₁₁ 高剂量组与二甲双胍组无显著性差异, 结果见图 12。

3.3.3 PF₁₁ 对 DN 斑马鱼模型 AKT1、EGFR、STAT3、MAPK1 mRNA 表达的影响 结果见图 13, 与对照组相比, 模型组斑马鱼组织中 EGFR、STAT3 mRNA 的转录水显著上调 ($P < 0.05$), AKT1、MAPK1

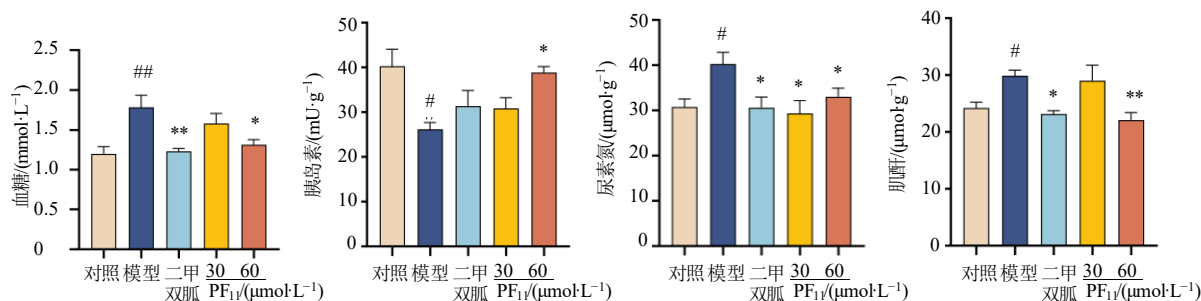


与对照组比较: ## $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

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

图 11 PF₁₁ 对 DN 斑马鱼肾水肿面积的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 11 Effect of PF₁₁ on renal edema area in zebrafish model of DN ($\bar{x} \pm s, n=6$)



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

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

图 12 PF₁₁ 改善 DN 斑马鱼模型生化指标 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 12 PF₁₁ improves biochemical index of zebrafish model of DN ($\bar{x} \pm s, n=6$)

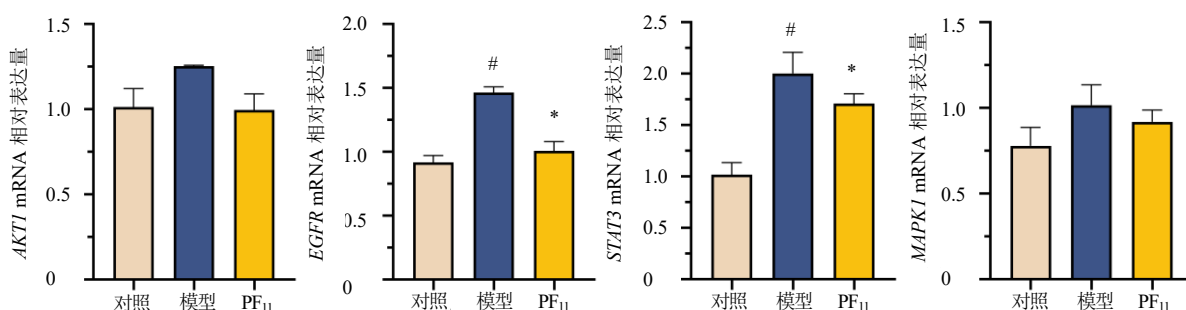


图 13 AKT1、EGFR、STAT3、MAPK1 基因的相对表达结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 13 Relative expression of AKT1, EGFR, STAT3, MAPK1 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

mRNA 转录水平略有升高,但无显著性差异;与模型组相比,PF₁₁ 组斑马鱼组织中 EGFR、STAT3 mRNA 表达显著下调 ($P < 0.05$),AKT1、MAPK1 mRNA 表达下调,但无显著性差异。

4 讨论

随着 DN 患病率的增加,全球研究人员正在通过构建多样化动物模型来研究 DN 的发病机制及防治方法。斑马鱼是一种小型热带淡水鱼,目前已经成为生物医学研究中广泛使用的动物模型。斑马鱼胚胎透明,在受精后 72 h 即可观察到器官基本完全^[34]。与人类肾脏不同,斑马鱼胚胎具有前肾,并在 48 h 胚胎期即具备基本血液过滤和渗透调节功能^[35]。其肾脏结构包含肾小球、两个近端和远端小管以及肾前导管,与哺乳动物肾单位具有形态相似性^[36]。目前 DN 的斑马鱼模型主要依赖于基因敲除、高糖诱导等方法,检测指标包括肾小管荧光标记,肾脏 HE 染色、肾小球滤过率等,目前尚无简单、直接的表型指标用于 DN 判定。本实验对现有的高糖诱导 DN 的造模方法进行改良,建立完善了 DN 斑马鱼模型,将斑马鱼胚胎置于含不同质量分

数葡萄糖溶液中波动式诱导 3、4、5 d,选用肾水肿面积作为直接的表型指标优化造模条件。结果表明,4%葡萄糖溶液波动式诱导至 4 d 时,斑马鱼肾水肿面积显著增加,采用 DN 常用药二甲双胍进行指标验证发现,水溶给予二甲双胍后, DN 模型斑马鱼肾水肿面积显著减小,血糖水平降低、胰岛素含量升高;采用异硫氰酸荧光素葡聚糖动态监测肾小球滤过率,证实 DN 模型斑马鱼肾小球滤过率降低。HE 染色结果表明,模型组斑马鱼肾小球出现大量空泡,肾小管上皮细胞排列紊乱,给予二甲双胍干预后空泡减少,肾小球结构恢复正常。上述结果表明,本研究中改良的新型 DN 斑马鱼模型,采用肾水肿面积作为新型指标,可以实现 DN 药物的快速筛选,且具有操作简便,造模快速,成本低廉等优势,可实现 DN 治疗药物的快速筛选。

西洋参常用于抗炎、抗疲劳、糖尿病及其并发症,但目前对于西洋参治疗 DN 的药效物质尚不十分明确。结合网络药理学和分子对接技术,以西洋参入血成分为研究对象,从多成分、多靶点整体分析探索其抗 DN 作用的物质基础。通过构建“西洋

参-活性成分-靶点”网络图,快速预测发现西洋参的主要核心成分为 PF₁₁、PRT₅、Rh₁、Rh₂、Rg₁。文献研究结果显示 Rh₁^[37]可以通过 AMPK/PI3K/Akt 介导的炎症和细胞凋亡信号通路改善 DN; Rh₂^[38]通过下调盘状结构域受体 1 抑制 DN 大鼠的肾纤维化和肾细胞凋亡, Rg₁^[39]通过抑制 T2DM 小鼠的 NOX4-MAPK 通路来缓解肾纤维化。PF₁₁ 已被证实对中枢神经系统疾病^[40-41]、心血管疾病^[42-43]以及顺铂诱导的肾损伤^[44]具有保护作用,但其对于 DN 的作用未见相关文献报道,本研究首次发现 60 μmol·L⁻¹ PF₁₁ 可以显著降低高糖诱导的 DN 模型斑马鱼肾水肿面积,降低血糖、尿素氮、肌酐水平,提高胰岛素含量,展现了 PF₁₁ 在改善 DN 方面的潜力。

通过 PPI 结果筛选出 AKT1、EGFR、STAT3、JUN、HSP90AA1、MAPK1、MTOR、GRB2、PIK3CA、BCL2L1 等西洋参抗 DN 的关键靶点。基于分子对接发现 PF₁₁ 与 AKT1、EGFR、STAT3、MAPK1 等蛋白对接结果良好,基于分子对接技术进一步研究发现,PF₁₁ 与 AKT1、EGFR、STAT3、MAPK1 等蛋白质的对接效果良好;鉴于上述靶点是 DN 研究中的主要靶点,本研究聚焦于探究 PF₁₁ 对这些靶点的作用机制。运用 qRT-PCR 技术发现,PF₁₁ 能够逆转 DN 斑马鱼模型中 *AKT1*、*EGFR*、*STAT3*、*MAPK1* mRNA 的表达水平。其中 *STAT3* 是 STAT 蛋白家族之一^[12], Janus 激酶 (JAK) /STAT 信号通路参与晚期糖基化终末产物 (AGE) 诱导的 NRK-49F (正常大鼠肾成纤维细胞) 细胞有丝分裂过程^[45],且 DN 患者的肾小球和肾小管间质样本中表达升高^[46]; EGFR 是受体酪氨酸激酶 ErbB 家族,在哺乳动物肾脏中广泛表达,其在 DN 模型中表达上调,抑制该信号通路可有效缓解 DN 进展^[47]。AKT1 是一种关键的调节性激酶,通过磷酸肌醇 3-激酶 (PI3K) -Akt 信号级联调控细胞生长和存活^[47]。抑制该通路可以通过激活足细胞自噬减轻 DN 损伤^[48]; MAPK1 为丝裂原活化蛋白激酶通路的重要组成部分,在糖尿病患者中,高糖可激活 MAPK 信号通路,引起 DN 患者肾小管间质损伤^[46]。上述结果表明,PF₁₁ 可能通过介导 STAT3/AKT1、MAPK1/EGFR 信号通路来发挥改善 DN 的作用。

综上所述,本研究建立了一种网络药理学预测-斑马鱼模型验证的整合方式用于抗 DN 活性成分筛选,通过优化 DN 斑马鱼模型,为 DN 治疗药物的

预测发现与快速筛选提供了实验基础。本研究首次证实西洋参中 PF₁₁ 对 DN 的治疗作用,为深入揭示西洋参防治 DN 的科学内涵提供了新的科学依据。后续研究中将进一步运用整体动物模型对 PF₁₁ 改善 DN 的药效和作用机制进行深入探究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Shen S Y, Zhong H Y, Zhou X S, et al. Advances in traditional Chinese medicine research in diabetic kidney disease treatment [J]. *Pharm Biol*, 2024, 62(1): 222-232.
- [2] Amatruda M, Gembillo G, Giuffrida A E, et al. The aggressive diabetic kidney disease in youth-onset type 2 diabetes: Pathogenetic mechanisms and potential therapies [J]. *Medicina (Kaunas)*, 2021, 57(9): 868.
- [3] Noor S, Mohammad T, Ashraf G M, et al. Mechanistic insights into the role of serum-glucocorticoid kinase 1 in diabetic nephropathy: A systematic review [J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 193(Pt A): 562-573.
- [4] Dwivedi S, Sikarwar M S. Diabetic nephropathy: Pathogenesis, mechanisms, and therapeutic strategies [J]. *Horm Metab Res*, 2025, 57(1): 7-17.
- [5] 中国药典 [S]. 二部. 2020. Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume II. 2020.
- [6] Feng Q X, Yan H J, Feng Y, et al. Characterization of the structure, anti-inflammatory activity and molecular docking of a neutral polysaccharide separated from American ginseng berries [J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 174: 116521.
- [7] Bai Y X, Cai G Z, Guo N, et al. UHPLC-HRMS based saponins profiling of three morphological regions in American ginseng (*Panax quinquefolium* L.) and their correlation with the antioxidant activity [J]. *Food Sci Biotechnol*, 2023, 33(7): 1685-1696.
- [8] 刘慧茹. 新型慢性疲劳综合征斑马鱼模型的多组学评价及西洋参关键活性成分的筛选发现 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2024. Liu H R. Multi-omics evaluation on a novel zebrafish chronic fatigue syndrome model and the key active ingredients screening of American Ginseng [D]. Jinan: Shandong University of Traditional Chinese Medicine, 2024.
- [9] Shi S, Shi R, Hashizume K. American ginseng improves neurocognitive function in senescence-accelerated mice: Possible role of the upregulated insulin and choline acetyltransferase gene expression [J]. *Geriatr Gerontol Int*,

- 2012, 12(1): 123-130.
- [10] Liu T T, Wang D, Zhou X F, et al. Study on the mechanism of American ginseng extract for treating type 2 diabetes mellitus based on metabolomics [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 960050.
- [11] Sen S, Chen S L, Feng B, et al. Preventive effects of North American ginseng (*Panax quinquefolium*) on diabetic nephropathy [J]. Phytomedicine, 2012, 19(6): 494-505.
- [12] 刘勇杰, 王平, 夏婧, 等. 基于斑马鱼模型及分子对接技术探究艾叶黄酮的降尿酸作用及药效活性成分 [J]. 中草药, 2024, 55(24): 8470-8478.
- Liu Y J, Wang P, Xia J, et al. Investigation of uric acid-lowering effect and bioactive components of flavonoids from *Artemisiae Argyi Folium* based on zebrafish model and molecular docking techniques [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(24): 8470-8478.
- [13] Cao Y, Chen Q Q, Liu Y N, et al. Research progress on the construction and application of a diabetic zebrafish model [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(6): 5195.
- [14] Wiggenhauser L M, Metzger L, Bennewitz K, et al. pdx1 knockout leads to a diabetic nephropathy-like phenotype in zebrafish and identifies phosphatidylethanolamine as metabolite promoting early diabetic kidney damage [J]. Diabetes, 2022, 71(5): 1073-1080.
- [15] Ahmed I, Ziab M, Da'as S, et al. Network-based identification and prioritization of key transcriptional factors of diabetic kidney disease [J]. Comput Struct Biotechnol J, 2023, 21: 716-730.
- [16] Gorgulho R, Jacinto R, Lopes S S, et al. Usefulness of zebrafish larvae to evaluate drug-induced functional and morphological renal tubular alterations [J]. Arch Toxicol, 2018, 92(1): 411-423.
- [17] She J Q, Yuan Z Y, Wu Y, et al. Targeting erythropoietin protects against proteinuria in type 2 diabetic patients and in zebrafish [J]. Mol Metab, 2018, 8: 189-202.
- [18] 劳乔聪. 斑马鱼糖尿病模型的建立及在评价青钱柳功效中的应用研究 [D]. 杭州: 浙江农林大学, 2018.
- Lao Q C. Study on validation of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) iljinskajain reducing glucose level in diabetic zebrafish model [D]. Hangzhou: Zhejiang A&F University, 2018.
- [19] Singh A, Castillo H A, Brown J, et al. High glucose levels affect retinal patterning during zebrafish embryogenesis [J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 4121.
- [20] 刘均, 李强, 谭蓉. 基于斑马鱼生物模型评价青钱柳的降糖作用 [J]. 现代食品科技, 2022, 38(5): 1-7, 164.
- Liu J, Li Q, Tan R. Evaluation of the hypoglycemic effects of *Cyclocarya paliurus* based on a zebrafish biological model [J]. Mod Food Sci Technol, 2022, 38(5): 1-7, 164.
- [21] Wan J Y, Wang C Z, Liu Z, et al. Determination of American ginseng saponins and their metabolites in human plasma, urine and feces samples by liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2016, 1015/1016: 62-73.
- [22] Liu J H, Dong Q H, Du G G, et al. Identification of metabolites in plasma related to different biological activities of *Panax ginseng* and American ginseng [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2022, 36(4): e9219.
- [23] 李广雷, 张志超, 魏雅蕾, 等. HPLC-ESI-MSⁿ 法测定大鼠口服西洋参枸杞子胶囊后入血成分 [J]. 中医药学报, 2016, 44(1): 15-17.
- Li G L, Zhang Z C, Wei Y L, et al. Determination of absorbed constituents in blood after taking oviductus ranae capsules in rats by HPLC-ESI-MSⁿ [J]. Acta Chin Med Pharmacol, 2016, 44(1): 15-17.
- [24] 杜光光. 口服人参、西洋参和三七的入血成分差异性研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2022.
- Du G G. The study on the difference of metabolites in plasma after oral administration of *Panax ginseng*, American ginseng and *Panax notoginseng* [D]. Changchun: Jilin University, 2022.
- [25] 张楠淇, 李平亚, 王翠竹, 等. 基于 UPLC-Q-TOF/MS 分析西洋参果总皂苷的入血成分 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(6): 117-124.
- Zhang N Q, Li P Y, Wang C Z, et al. Absorbed components analysis of total saponins from *Panacis quinquefolii Radix* fruit in rat serum by UPLC-Q-TOF/MS [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2017, 23(6): 117-124.
- [26] 胡晒平, 严建业, 伍红年, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 的西洋参提取物及入血成分分析 [J]. 中南药学, 2019, 17(6): 825-830.
- Hu S P, Yan J Y, Wu H N, et al. Identification of chemical constituents and absorbed components of American ginseng by UPLC-Q-TOF-MS [J]. Cent South Pharm, 2019, 17(6): 825-830.
- [27] 王文娟. 姜西洋参和西洋参化学成分及防治顺铂所致急性肾损伤作用的比较研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2024.
- Wang W J. Comparative study on the chemical constituents and the prevention and treatment of acute renal injury induced by cisplatin of ginger-processed American ginseng and American ginseng [D]. Changchun: Jilin University, 2024.
- [28] Wang C Z, Kim K E, Du G J, et al. Ultra-performance liquid chromatography and time-of-flight mass spectrometry analysis of ginsenoside metabolites in human

- plasma [J]. *Am J Chin Med*, 2011, 39(6): 1161-1171.
- [29] 朱洪萱, 黄天养, 余孝云, 等. 花旗参在大鼠体内的药代动力学特征研究 [J]. *遵义医科大学学报*, 2022, 45(4): 438-443.
Zhu H X, Huang T Y, Yu X Y, et al. Pharmacokinetic properties of American ginseng in rat [J]. *J Zunyi Med Univ*, 2022, 45(4): 438-443.
- [30] Xia Z S, Hao E W, Wei Y T, et al. Genipin induces developmental toxicity through oxidative stress and apoptosis in zebrafish [J]. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 2021, 241: 108951.
- [31] Ravindran S, Kuruvilla V, Wilbur K, et al. Nephroprotective effects of metformin in diabetic nephropathy [J]. *J Cell Physiol*, 2017, 232(4): 731-742.
- [32] 王宇箭. 桦褐孔菌水提取物抗氧化性和斑马鱼模型降血糖降血脂活性研究 [D]. 济南: 山东大学, 2021.
Wang Y J. Research on the antioxidant and hypoglycemic hypolipidemic activities of the extract from *Inonotus obliquus* [D]. Jinan: Shandong University, 2021.
- [33] 陈秀娟, 刘慧, 苏宝印. 芪地固肾丸治疗糖尿病肾病Ⅲ期疗效及对患者中医证候积分、肾功能和血清 eGFR、CRP 水平的影响 [J]. *陕西中医*, 2024, 45(5): 634-637.
Chen X J, Liu H, Su B Y. Therapeutic effect of Qidigushen Pill on diabetic nephropathy in the third stage and its influence on TCM syndrome score, renal function and serum eGFR and CRP levels [J]. *Shaanxi J Tradit Chin Med*, 2024, 45(5): 634-637.
- [34] Ebarasi L, Oddsson A, Hulténby K, et al. Zebrafish: A model system for the study of vertebrate renal development, function, and pathophysiology [J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2011, 20(4): 416-424.
- [35] Drummond I A. The zebrafish pronephros: A genetic system for studies of kidney development [J]. *Pediatr Nephrol*, 2000, 14(5): 428-435.
- [36] Sharchil C, Vijay A, Ramachandran V, et al. Zebrafish: A model to study and understand the diabetic nephropathy and other microvascular complications of type 2 diabetes mellitus [J]. *Vet Sci*, 2022, 9(7): 312.
- [37] Su W Y, Li Y, Chen X, et al. Ginsenoside Rh₁ improves type 2 diabetic nephropathy through AMPK/PI3K/Akt-mediated inflammation and apoptosis signaling pathway [J]. *Am J Chin Med*, 2021, 49(5): 1215-1233.
- [38] Shen B, Wang F, Zhou Y, et al. Ginsenoside Rh₂ inhibits renal fibrosis and renal cell apoptosis in rats with diabetic nephropathy by downregulating discoid domain receptor 1 [J]. *J South Med Univ*, 2021, 41(7): 1107-1113.
- [39] Ji P M, Shi Q F, Liu Y, et al. Ginsenoside Rg₁ treatment alleviates renal fibrosis by inhibiting the NOX4-MAPK pathway in T2DM mice [J]. *Ren Fail*, 2023, 45(1): 2197075.
- [40] Chu J X, Wang J, Cui L J, et al. Pseudoginsenoside-F₁₁ ameliorates okadaic acid-induced learning and memory impairment in rats via modulating protein phosphatase 2A [J]. *Mech Ageing Dev*, 2021, 197: 111496.
- [41] Zhu L, Hou X J, Che X H, et al. Pseudoginsenoside-F₁₁ attenuates cognitive dysfunction and tau phosphorylation in sporadic Alzheimer's disease rat model [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2021, 42(9): 1401-1408.
- [42] Gao Y F, Liu Y Y, Yang X, et al. Pseudoginsenoside-F₁₁ ameliorates thromboembolic stroke injury in rats by reducing thromboinflammation [J]. *Neurochem Int*, 2021, 149: 105108.
- [43] Hou Y, Yang D P, Wang X S, et al. Pseudoginsenoside-F₁₁ promotes functional recovery after transient cerebral ischemia by regulating the microglia/macrophage polarization in rats [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 99: 107896.
- [44] Wang H B, Kong L, Zhang J Q, et al. The pseudoginsenoside F₁₁ ameliorates cisplatin-induced nephrotoxicity without compromising its anti-tumor activity *in vivo* [J]. *Sci Rep*, 2014, 4: 4986.
- [45] Huang J S, Guh J Y, Chen H C, et al. Role of receptor for advanced glycation end-product (RAGE) and the JAK/STAT-signaling pathway in AGE-induced collagen production in NRK-49F cells [J]. *J Cell Biochem*, 2001, 81(1): 102-113.
- [46] Zheng C, Huang L, Luo W, et al. Inhibition of STAT3 in tubular epithelial cells prevents kidney fibrosis and nephropathy in STZ-induced diabetic mice [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(11): 848.
- [47] Chen S N, Li B, Chen L, et al. Uncovering the mechanism of resveratrol in the treatment of diabetic kidney disease based on network pharmacology, molecular docking, and experimental validation [J]. *J Transl Med*, 2023, 21(1): 380.
- [48] Zhang Y H, Xu L S, Lu Y R, et al. Protective effect of cordyceps sinensis against diabetic kidney disease through promoting proliferation and inhibiting apoptosis of renal proximal tubular cells [J]. *BMC Comp Med Ther*, 2023, 23(1): 109.

[责任编辑 孙英杰]