

基于网络药理学、分子对接和分子动力学模拟探究猪苓汤干预糖尿病肾病的潜在作用机制



陈佳琪, 吴槟辛, 凌恺恩

香港浸会大学中医药学院 (中国香港 999077)

【摘要】目的 通过网络药理学与分子对接、分子动力学模拟, 探索猪苓汤干预糖尿病肾病 (DKD) 的核心活性成分、关键靶点及调控机制。**方法** 利用 TCMSp、BATMAN-TCM 2.0 及 SwissTargetPrediction 数据库筛选猪苓汤活性成分及靶点; 从 GeneCards、TTD 及 DrugBank 数据库收集 DKD 相关靶点, 获取交集靶点; 构建蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 及“成分-靶点”网络, 筛选关键靶点和关键成分; 经基因本体 (GO) 功能和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析, 筛选关键通路; 构建“关键成分-关键靶点-关键通路”网络, 采用分子对接、分子动力学模拟分析核心成分与核心靶点结合活性。**结果** 筛选得到 polyporoid C、猪苓酸 C、啤酒甾醇和猪苓酮 E 4 种核心成分及磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸 3-激酶催化亚基 α (PIK3CA)、雷帕霉素靶蛋白 (mTOR)、丝裂原活化蛋白激酶 1 (MAPK1) 和蛋白激酶 C- α (PRKCA) 4 个核心靶点; mTOR 与核心成分结合能最低、活性最优, 分子对接和分子动力学模拟显示复合物稳定; polyporoid C 可靶向全部核心靶点, 聚焦磷脂酰肌醇 3-激酶/Akt 激酶 (PI3K/Akt) 主通路。**结论** 核心成分与核心靶点结合具备一定的结构稳定性, 猪苓汤通过调控相关通路发挥 DKD 干预作用。polyporoid C 的多靶点特性及 mTOR 的结合优势突出, 后续可围绕“polyporoid C-核心靶点-PI3K/Akt”主通路级联调控轴开展深入研究。

【关键词】 猪苓汤; 糖尿病肾病; 网络药理学; PI3K/Akt 信号通路

【中图分类号】 R285.5

【文献标识码】 A

Exploration of the potential mechanism of Zhuling decoction in the intervention of diabetic kidney disease based on network pharmacology, molecular docking and molecular dynamics simulation

CHEN Jiaqi, WU Binxin, LING Kai'en

School of Chinese Medicine, Hong Kong Baptist University, Hong Kong, China

Corresponding author: CHEN Jiaqi, Email: 25415794@life.hkbu.edu.hk

【Abstract】Objective To investigate the core active components, key targets, and regulatory mechanisms of Zhuling decoction in the intervention of diabetic kidney disease (DKD) using network pharmacology, molecular docking, and molecular dynamics simulation. **Methods** Active components and corresponding targets of Zhuling decoction were screened using the TCMSp, BATMAN-TCM 2.0, and Swiss Target Prediction databases. DKD-related targets were retrieved from the GeneCards, TTD, and DrugBank databases, and then intersected with the targets corresponding to the active components to obtain overlapping targets. A protein-protein

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202603102

通信作者: 陈佳琪, 硕士, Email: 25415794@life.hkbu.edu.hk

<https://yxqy.whuznhmedj.com>

interaction (PPI) network and a "component-target" network were constructed to identify key targets and key components. Gene ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analyses were performed to identify key pathways. A "key component-key target-key pathway" network was constructed, and the binding affinities between core components and core targets were shown via molecular docking and molecular dynamics simulation. **Results** Four core components, including polyporoid C, polyporenic acid C, cerevisterol, polyporusterone E and four core targets, including phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha (PIK3CA), mechanistic target of rapamycin (mTOR), mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1) and protein kinase C alpha (PRKCA) were identified. Among these, mTOR exhibited the lowest binding energy and the strongest binding affinity with the core components, and molecular docking and molecular dynamics simulation indicated that the complexes were stable. Polyporoid C could target all the core targets, mainly through the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/Akt signaling pathway. **Conclusion** Zhuling decoction intervenes in DKD by binding its core components to core targets with moderate structural stability, further regulating the activity of related signaling pathways. Polyporoid C presents obvious multi-target properties, and it exhibits preferable binding performance toward the mTOR target. Subsequent research can be carried out focusing on the cascade regulatory axis of "polyporoid C-core targets - PI3K-Akt signaling pathway".

【Keywords】 Zhuling decoction; Diabetic kidney disease; Network pharmacology; PI3K-Akt signaling pathway

糖尿病肾病 (diabetic kidney disease, DKD) 是糖尿病常见微血管并发症, 已成为全球终末期肾脏病的主要致病因素, 防控形势严峻^[1]。据统计, 约40%糖尿病患者会进展为DKD, 2021年全球患病人数已达1.076亿, 相关死亡人数超47.7万^[2]。DKD发病机制复杂, 临床以持续白蛋白尿、肾小球滤过率进行性下降为主要特征; 起病隐匿, 出现明显症状时肾损伤多已不可逆, 不仅增加患者风险, 还会带来沉重的家庭与社会医疗负担^[1]。

当前DKD治疗以综合干预为主, 包括控糖、血压管理、生活方式干预及心肾保护药物的联合应用。血管紧张素转换酶抑制剂与血管紧张素Ⅱ受体拮抗剂类药物可减轻肾小球高压、延缓肾功能减退^[3]。钠-葡萄糖协同转运蛋白2抑制剂能显著降低肾衰竭及肾脏相关死亡风险, 且其保护效应独立于降糖作用; 胰高血糖素样肽-1受体激动剂也显示出肾脏获益^[4]。临床常用DKD干预药物虽然能够缓解部分症状, 但存在靶点单一、长期应用受限等问题, 难以满足临床需求。

中医药具有多靶点、整体调节的特点, 在改善症状、保护肾功能方面具有独特优势^[5]。猪苓汤由猪苓、茯苓、泽泻、滑石、阿胶5味药材配伍而成, 具有利水渗湿、清热养阴之效, 常用于水热互结、阴虚内热所引发的小便不利等病症,

临床研究亦证实其可改善DKD症状并调节肾脏代谢紊乱^[6]。方中药味的活性成分具有利尿、抗炎、降糖及肾保护作用, 如猪苓含甾体类成分与多糖, 可调节电解质平衡并调节免疫^[7-8]; 茯苓具有抗炎^[9]、利尿活性; 泽泻三萜可利尿、调糖脂, 并有抗炎作用^[10]; 滑石可吸附毒素、辅助通淋; 阿胶富含胶原蛋白与多肽, 具有补血、抗氧化、抗炎效果^[11]。多种成分通过协同调节水盐代谢、抑制炎症与氧化应激等, 构成猪苓汤防治DKD的物质基础。

网络药理学、分子对接与分子动力学模拟是现代药物研究的重要方法, 本研究借助上述方法, 系统预测猪苓汤干预DKD的活性成分、核心靶点与信号通路, 探析其潜在作用机制, 旨在为DKD临床防治及猪苓汤的现代化开发提供参考。

1 资料与方法

1.1 猪苓汤活性成分的筛选

借助TCMSP数据库 (<https://old.tcmssp-e.com/tcmssp.php>)^[12], 对猪苓汤中猪苓、茯苓和泽泻的化学成分进行检索。以口服生物利用度 $\geq 30\%$ ^[13]、类药性 ≥ 0.18 ^[12]作为标准筛选其中的活性成分。

针对未被TCMSP数据库收录的滑石、阿胶, 通过BATMAN-TCM 2.0数据库 (<http://bionet.ncpsb.org.cn/batman-tcm/>)^[14]检索, 使用数据库

默认参数检索有效成分。此外,进一步结合已发表文献^[15-17],对猪苓汤的活性成分进行补充。随后,借助 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)^[18] 查询这些化合物的 SMILES 编号,通过 SwissADME 数据库 (<https://www.swissadme.ch/>)^[19],以胃肠道吸收为高 (high),且在 Lipinski、Ghose、Veber、Egan、Muegge 5 项药物相似性规则中至少满足 2 项为筛选标准^[20],筛选具有优良特性的活性成分。

1.2 猪苓汤活性成分靶点和 DKD 靶点的获取

有效成分的结构信息均来自 PubChem 数据库,并且以 PubChem CID (PubChem component ID) 号作为统一标识。通过 SwissTargetPrediction 平台 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>)^[21] 对有效成分的潜在靶点进行预测,并筛选出物种为“Homo sapiens”且“probability > 0”的靶点。最后将有效成分对应的靶点统一转化为 UniProt (<https://www.uniprot.org/>)^[22] 基因名。

以“diabetic kidney disease”和“diabetic nephropathy”为关键词,在 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>)^[23]、TTD 数据库 (Therapeutic Target Database, <http://db.idrblab.net/ttd/>)^[24] 和 DrugBank 6.0 数据库 (<https://go.drugbank.com/>)^[25] 中进行检索,将结果汇总去重作为 DKD 的潜在靶点。

1.3 猪苓汤治疗 DKD 的潜在靶点获取

整合预测的猪苓汤有效成分作用靶点,与从疾病数据库中获取的 DKD 疾病靶点,导入微生信在线分析平台 (<https://www.bioinformatics.com.cn/>),绘制韦恩图,得到交集靶点,作为猪苓汤干预 DKD 的潜在靶点。

1.4 药物-成分-靶点网络的构建和关键成分筛选

利用 Cytoscape 3.10.4 软件^[26] 构建药物-成分-靶点网络。设定关键节点筛选标准:介数中心性 (betweenness centrality)、接近中心性 (closeness centrality) 与度值 (degree) 均高于相应平均数阈值^[27]。将同时满足上述指标的有效成分初步筛选为猪苓汤干预 DKD 的关键成分。

1.5 蛋白质-蛋白质相互作用网络构建

通过 STRING 12.0 数据库 (<https://string-db.org/>)^[28] 构建交集靶点的蛋白质-蛋白质相互作用

(protein-protein interaction, PPI) 网络。参数设定物种为“Homo sapiens”,并将最低相互作用评分阈值调整为中等置信度 (0.400)。随后进一步导入 Cytoscape 3.10.4 软件进行可视化分析。设定介数中心性、接近中心性、度值三重筛选标准 (各指标阈值均高于对应平均值),筛选得到的靶点可认为是猪苓汤发挥抗 DKD 作用的潜在关键靶点。

1.6 基因本体功能和京都基因与基因组百科全书通路富集分析

将交集靶点导入 Metascape 分析平台 (<http://www.metascape.org/>)^[29],分别开展基因本体 (Gene Ontology, GO) 功能与京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 通路富集分析。其中,GO 功能富集分析涵盖生物过程 (biological process, BP)、分子功能 (molecular function, MF) 及细胞组分 (cellular component, CC) 分析。选取校正后 *P* 值最小的前 10 条通路,作为猪苓汤干预 DKD 的潜在关键通路。

1.7 关键成分-关键靶点-关键通路网络构建

将得到的潜在关键成分、关键靶点与关键通路导入 Cytoscape 3.10.4 软件,构建关键成分-关键靶点-关键通路网络。计算网络节点度值、介数中心性等核心指标,明确各节点间的相互作用强度。

1.8 分子对接

基于关键成分-关键靶点-关键通路网络,选取度值排名前 4 的活性成分与靶点蛋白进行分子对接。分子对接过程中未限定特定结合口袋,以蛋白质整体结构为对接区域,全面预测配体与靶蛋白的潜在结合模式。通过 RCSB PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>)^[30] 检索靶点蛋白的 X 射线晶体学结构,优先下载分辨率最优的蛋白质三维结构文件,从 PubChem 数据库获取 4 种核心成分的 SDF 格式结构文件,采用 OpenBabel 2.3.2 软件^[31] 转化为 Mol2 格式。然后对蛋白质和小分子成分分别预处理:用 PyMOL 3.0.3 软件去除蛋白质中的配体与水分子,通过 MGLTools 1.5.7^[32] 为二者补充氢原子,针对小分子配体进一步检测扭转键,完成后将蛋白质与小分子均输出为 pdbqt 格式,以适配对接计算需求。

利用 AutoDock Vina 1.1.2 软件^[33] 开展分子对

接, 设置每组对接次数为9次, 保留各成分-靶点组合的最优对接数据。最后, 采用PyMOL 3.0.3和Discovery Studio软件对分子对接获得的靶蛋白-小分子配体复合物结构进行可视化。

1.9 分子动力学模拟

使用GROMACS (2025.3) 软件^[34], 对分子对接筛选获得的最优复合物构象进行100 ns的分子动力学模拟。模拟体系置于周期性边界立方盒中, 采用AMBER14SB力场^[35], 以TIP3P水模型^[36]进行溶剂化。小分子拓扑文件由Sobtop软件^[37]生成, 并添加离子至生理浓度(150 mol/L NaCl)。模拟先采用共轭梯度算法进行500步能量最小化[收敛容差100.0 kJ/(mol·nm)], 步长0.01 nm], 随后依次进行100 ps(时间步长1 fs)限制性动力学模拟和100 ns(时间步长2 fs)的正式模拟。通过V-rescale控温(时间常数0.2 ps)维持在298.15 K, C-rescale法(时间常数0.5 ps/2.0 ps)将体系压力稳定至1.0 bar。采用LINCS约束氢键, PME处理长程静电(截断半径1.0 nm),

Verlet 截断处理范德华相互作用(截断半径1.0 nm), 并启用能量和压力色散校正。模拟过程中移除体系质心运动, 正式模拟阶段对蛋白-配体复合物进行角动量移除和独立温控耦合。

分别计算体系的均方根偏差(root mean square deviation, RMSD)、均方根波动(root mean square fluctuation, RMSF)、回转半径(radius of gyration, Rg)、溶剂可及表面积(solvent accessible surface area, SASA)及氢键数量等关键参数。基于RMSD与Rg构建二维及三维自由能地貌图(free energy landscape, FEL), 以评价复合物构象稳定性。

2 结果

2.1 猪苓汤活性成分

检索猪苓汤各药材的有效成分, 得到猪苓13个、茯苓15个、泽泻9个、滑石2个、阿胶15个, 去重后共获得51个有效成分, 猪苓汤活性成分见表1。

表 1 猪苓汤活性成分

Table 1. Bioactive components of Zhuling decoction

编号	活性成分	PubChem CID	分子式	来源药物
ZF1	啤酒甾醇 (cerevissterol)	10181133	C ₂₈ H ₄₆ O ₃	猪苓/茯苓
ZF2	麦角甾-7,22E-二烯-3β-醇 (ergosta-7,22E-dien-3beta-ol)	5283628	C ₂₈ H ₄₆ O	猪苓/茯苓
ZF3	过氧化麦角甾醇 (ergosterol peroxide)	5351516	C ₂₈ H ₄₄ O ₃	猪苓/茯苓
ZL1	麦角甾-6-烯-3β,5α,6β-三醇 [(22E,24R)-ergosta-6-en-3beta,5alpha,6beta-triol]	14236575	C ₂₈ H ₄₈ O ₃	猪苓
ZL2	(22E,24R)-麦角甾-7,22-二烯-3-酮 [(22E,24R)-ergosta-7,22-dien-3-one]	163081915	C ₂₈ H ₄₄ O	猪苓
ZL3	5α,8α-过氧麦角甾-6,22-二烯-3β-醇 [5alpha,8alpha-epidioxy-(22e,24r)-ergosta-6,22-dien-3beta-ol]	162977490	C ₂₈ H ₄₄ O ₃	猪苓
ZL4	麦角甾-7,22-二烯-3-酮 (ergosta-7,22-dien-3-one)	101449383	C ₂₈ H ₄₄ O	猪苓
ZL5	麦角甾-5,7,22-三烯-3β-醇 (ergosta-5,7,22-trien-3-ol)	12304314	C ₂₈ H ₄₄ O	猪苓
ZL6	猪苓酮E (polyporusterone E)	44575602	C ₂₈ H ₄₄ O ₅	猪苓
ZL7	猪苓酮G (polyporusterone G)	44449940	C ₂₈ H ₄₄ O ₅	猪苓
ZL8	polyporoid A ^[15]	44450022	C ₂₈ H ₄₄ O ₇	猪苓
ZL9	polyporoid B ^[15]	44450001	C ₂₈ H ₄₄ O ₇	猪苓
ZL10	polyporoid C ^[15]	44449996	C ₂₈ H ₄₆ O ₇	猪苓
FL1	(2R)-2-[(3S,5R,10S,13R,14R,16R,17R)-3,16-二羟基-4,4,10,13,14-五甲基-2,3,5,6,12,15,16,17-八氢-1H-环戊并[a]菲-17-基]-6-甲基庚-5-烯酸 [(2R)-2-[(3S,5R,10S,13R,14R,16R,17R)-3,16-dihydroxy-4,4,10,13,14-pentamethyl-2,3,5,6,12,15,16,17-octahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl]-6-methylhept-5-enoic acid]	10743008	C ₃₀ H ₄₆ O ₄	茯苓
FL2	栓菌酸 (trametenolic acid)	12309443	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	茯苓
FL3	去氢茯苓酸 [7,9(11)-dehydropachymic acid]	15226717	C ₃₃ H ₅₀ O ₅	茯苓
FL4	(2R)-2-[(3S,5R,10S,13R,14R,16R,17R)-3,16-二羟基-4,4,10,13,14-五甲基-2,3,5,6,12,15,16,17-八氢-1H-环戊并[a]菲-17-基]-5-异丙基-己-5-烯酸 [(2R)-2-[(3S,5R,10S,13R,14R,16R,17R)-3,16-dihydroxy-4,4,10,13,14-pentamethyl-2,3,5,6,12,15,16,17-octahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl]-5-isopropyl-hex-5-enoic acid]	15225964	C ₃₁ H ₄₈ O ₄	茯苓
FL5	猪苓酸C (cpolyporenic acid C)	9805290	C ₃₁ H ₄₆ O ₄	茯苓
FL6	3β-羟基-24-亚甲基-羊毛甾-8-烯-21-酸 (3beta-hydroxy-24-methylene-8-lanostene-21-oic acid)	73402	C ₃₁ H ₅₀ O ₃	茯苓

续表 1

编号	活性成分	PubChem CID	分子式	来源药物
FL7	茯苓酸 (pachymic acid)	5484385	C ₃₃ H ₅₂ O ₅	茯苓
FL8	茯苓新酸 A (poricoic acid A)	5471851	C ₃₁ H ₄₆ O ₅	茯苓
FL9	茯苓新酸 B (poricoic acid B)	5471852	C ₃₀ H ₄₄ O ₅	茯苓
FL10	茯苓新酸 C (poricoic acid C)	56668247	C ₃₁ H ₄₆ O ₄	茯苓
FL11	常春藤皂苷元 (hederagenin)	73299	C ₃₀ H ₄₈ O ₄	茯苓
FL12	去氢齿孔酸 (dehydroeburicoic acid)	15250826	C ₃₁ H ₄₈ O ₃	茯苓
ZX1	β-谷甾醇 (sitosterol)	12303645	C ₂₉ H ₅₀ O	泽泻
ZX2	泽泻醇 B (alisol B)	15558620	C ₃₀ H ₄₈ O ₄	泽泻
ZX3	泽泻醇 B 醋酸酯 (alisol, b, 23-acetate)	14036811	C ₃₂ H ₅₀ O ₅	泽泻
ZX4	16β-甲氧基泽泻醇 B 单乙酸酯 (16β-methoxyalisol B monoacetate)	162953612	C ₃₃ H ₅₂ O ₆	泽泻
ZX5	泽泻醇 C (alisol C)	101306923	C ₃₀ H ₄₆ O ₅	泽泻
ZX6	泽泻醇 C-23-醋酸酯 (alisol C monoacetate)	14036813	C ₃₂ H ₄₈ O ₆	泽泻
ZX7	1-亚油酸单甘油酯 (1-monolinolein)	6436630	C ₂₁ H ₃₈ O ₄	泽泻
ZX8	环氧泽泻烯 (alismoxide) [16]	10988340	C ₁₅ H ₂₆ O ₂	泽泻
ZX9	泽泻醇 A 24-乙酸酯 (alisol A 24-Acetate) [17]	76336194	C ₃₂ H ₅₂ O ₆	泽泻
HS1	decimemide	26929	C ₁₉ H ₃₁ NO ₄	滑石
HS2	2-甲基半胱氨酸 (2-methylcysteine)	9989321	C ₄ H ₉ NO ₂ S	滑石
EJ1	L-苯丙氨酸 (L-phenylalanine)	6140	C ₉ H ₁₁ NO ₂	阿胶
EJ2	L-苏氨酸 (L-threonine)	6288	C ₄ H ₉ NO ₃	阿胶
EJ3	DL-甲硫氨酸 [(+-)-methionine]	876	C ₅ H ₁₁ NO ₂ S	阿胶
EJ4	L-缬氨酸 (L-valine)	6287	C ₅ H ₁₁ NO ₂	阿胶
EJ5	L-赖氨酸 (L-lysine)	5962	C ₆ H ₁₄ N ₂ O ₂	阿胶
EJ6	DL-丙氨酸 (DL-alanine)	602	C ₃ H ₇ NO ₂	阿胶
EJ7	L-异亮氨酸 (L-isoleucine)	6306	C ₆ H ₁₃ NO ₂	阿胶
EJ8	5-氮杂尿嘧啶 [1,3,5-triazine-2,4(1H,3H)-dione]	6275	C ₃ H ₃ N ₃ O ₂	阿胶
EJ9	L-组氨酸 (L-histidine)	6274	C ₆ H ₉ N ₃ O ₂	阿胶
EJ10	L-谷氨酸 (L-glutamic acid)	33032	C ₅ H ₉ NO ₄	阿胶
EJ11	L-脯氨酸 (L-proline)	145742	C ₅ H ₉ NO ₂	阿胶
EJ12	L-亮氨酸 (L-leucine)	6106	C ₆ H ₁₃ NO ₂	阿胶
EJ13	L-天冬氨酸 (L-aspartic acid)	5960	C ₄ H ₇ NO ₄	阿胶
EJ14	(2S)-2,6-二氨基(4- ¹³ C) 己酸 [(2S)-2,6-diamino(4 ¹³ C)hexanoic acid]	11378574	C ₆ H ₁₄ N ₂ O ₂	阿胶
EJ15	甘氨酸 (glycine)	750	C ₂ H ₅ NO ₂	阿胶

注：ZL.猪苓；FL.茯苓；ZF.猪苓与茯苓共有成分；ZX.泽泻；EJ.阿胶。

2.2 猪苓汤活性成分靶点和 DKD 疾病靶点

对猪苓汤各中药的活性成分预测作用靶点，得到猪苓 326 个、茯苓 284 个、泽泻 316 个、滑石 114 个、阿胶 75 个靶点。经过去重处理，最终确定有效成分潜在靶点共 611 个。整合 GeneCards、TTD 和 DrugBank 结果，最终得到 2 325 个 DKD 相关疾病靶点。

2.3 猪苓汤干预 DKD 的潜在靶点

将猪苓汤的 611 个靶点基因与 DKD 的 2 325 个靶点基因进行交集处理（图 1），共获得 205 个交集靶点，作为猪苓汤干预 DKD 的潜在靶点。

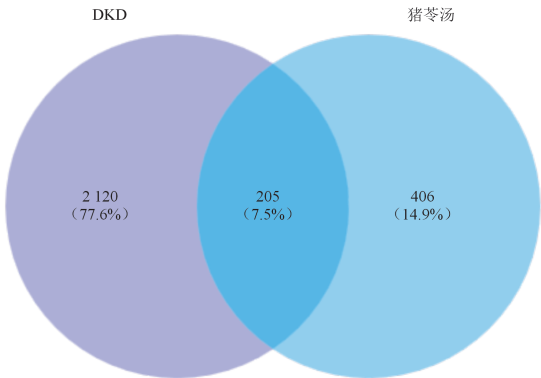


图 1 猪苓汤和 DKD 交集靶点的韦恩图
Figure 1. Venn diagram of intersecting targets between Zhuling decoction and DKD

2.4 药物-成分-交集靶点网络和关键成分筛选

猪苓汤干预DKD的药物-成分-交集靶点网络见图2。其中，橙色正六边形节点代表猪苓汤的组成药物，圆形节点代表潜在活性成分，浅紫色矩形节点代表共有成分，黄色矩形节点代表猪苓汤干预

DKD的潜在靶点。设定关键节点筛选标准：介数中心性 $\geq 0.028\ 584\ 823$ 、接近中心性 $\geq 0.329\ 053\ 918$ 、度值 $\geq 23.294\ 117\ 65$ ，将同时满足上述指标的有效成分作为猪苓汤干预DKD的潜在关键成分，见表2。

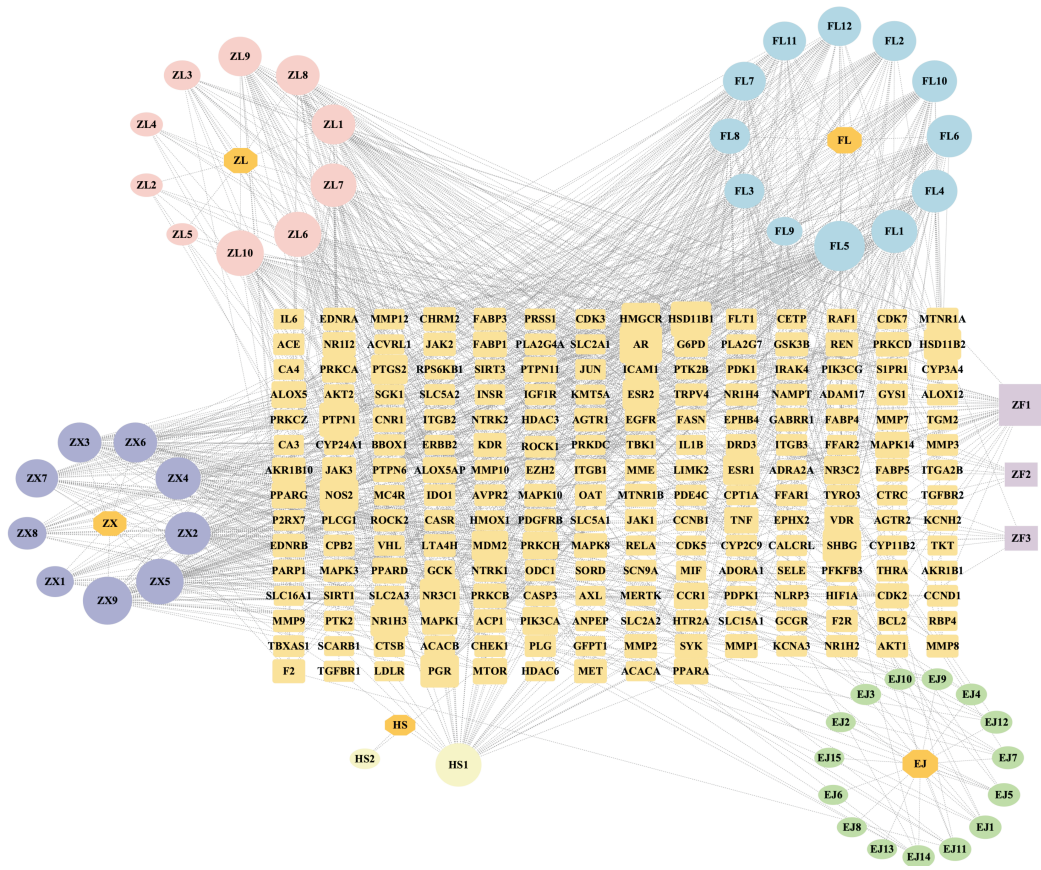


图 2 猪苓汤干预DKD的药物-成分-交集靶点网络图

Figure 2. Drug-component-intersecting target network for Zhuling decoction against DKD

注：ZL.猪苓；FL.茯苓；ZF.猪苓与茯苓共有成分；ZX.泽泻；HS.滑石；EJ.阿胶。

表 2 猪苓汤干预DKD的潜在关键成分

Table 2. Potential key components of Zhuling decoction for intervening DKD

编号	关键成分	介数中心性	接近中心性	度值
FL5	猪苓酸C (polyporenic acid C)	0.083 853 084	0.400 000 000	54
ZX9	泽泻醇A 24-乙酸酯 (alisol A 24-acetate)	0.078 658 025	0.390 390 390	50
ZL10	polyporoid C	0.066 706 064	0.382 352 941	46
ZX5	泽泻醇C (alisol C)	0.048 492 025	0.385 756 677	46
ZL6	猪苓酮E (polyporusterone E)	0.066 460 013	0.384 615 385	45
HS1	decimemide	0.148 256 731	0.367 231 638	42
ZL7	猪苓酮G (polyporusterone G)	0.061 481 119	0.377 906 977	42
FL1	(2R)-2-[(3S,5R,10S,13R,14R,16R,17R)-3,16-二羟基-4,4,10,13,14-五甲基-2,3,5,6,12,15,16,17-八氢-1H-环戊并[a]菲-17-基]-6-甲基庚-5-烯酸 [(2R)-2-[(3S,5R,10S,13R,14R,16R,17R)-3,16-dihydroxy-4,4,10,13,14-pentamethyl-2,3,5,6,12,15,16,17-octahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl]-6-methylhept-5-enoic acid]	0.033 858 910	0.377 906 977	42
ZX2	泽泻醇B (alisol B)	0.052 530 111	0.385 756 677	41
FL4	(2R)-2-[(3S,5R,10S,13R,14R,16R,17R)-3,16-二羟基-4,4,10,13,14-五甲基-2,3,5,6,12,15,16,17-八氢-1H-环戊并[a]菲-17-基]-5-异丙基-己-5-烯酸 [(2R)-2-[(3S,5R,10S,13R,14R,16R,17R)-3,16-dihydroxy-4,4,10,13,14-pentamethyl-2,3,5,6,12,15,16,17-octahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl]-5-isopropyl-hex-5-enoic acid]	0.033 411 886	0.380 116 959	41

续表 2

编号	关键成分	介数中心性	接近中心性	度值
ZX4	16β-甲氧基泽泻醇B单乙酸酯 (16β-methoxyalisol B monoacetate)	0.048 258 790	0.375 722 543	40
ZF1	啤酒甾醇 (cerevisterol)	0.035 635 508	0.374 639 769	39
FL10	茯苓新酸C (poricoic acid C)	0.033 347 666	0.374 639 769	39
ZL1	麦角甾-6-烯-3β,5α,6β-三醇 [(22e,24r)-ergosta-6-en-3beta,5alpha,6beta-triol]	0.040 235 904	0.374 639 769	36
ZX3	泽泻醇B醋酸酯 (alisol, b, 23-acetate)	0.038 815 071	0.374 639 769	36
ZL8	polyporoid A	0.037 039 414	0.374 639 769	36
ZX6	泽泻醇C-23-醋酸酯 (alisol C monoacetate)	0.033 856 063	0.374 639 769	36
ZL9	polyporoid B	0.051 865 921	0.373 563 218	35
FL7	茯苓酸 (pachymic acid)	0.044 404 594	0.372 492 837	34
ZX7	1-亚油酸单甘油酯 (1-monolinolein)	0.044 738 277	0.375 722 543	33

注: ZL.猪苓; FL.茯苓; ZF.猪苓与茯苓共有成分; ZX.泽泻; HS.滑石; EJ.阿胶。

2.5 PPI网络和关键靶点

将筛选得到的205个交集靶点开展PPI分析, PPI网络图见图3。以介数中心性 $\geq 0.005\ 309\ 362$ 、接近中心性 $\geq 0.494\ 000\ 089$ 、度值 $\geq 61.333\ 333\ 33$ (均高于对应平均数)为阈值筛选靶点, 作为猪苓汤干预DKD的潜在关键靶点。潜在关键靶点按照度值由大到小排列, 结果见表3。

2.6 GO功能富集分析

对205个交集靶点进行GO功能富集分析, 共产生2 614个条目, 包括BP条目2 253个、CC条目129个、MF条目232个, BP条目主要富集于激素刺激响应、细胞迁移正调控、酶联受体信号通路及蛋白磷酸化等过程; CC条目主要涉及受体复合物、膜微结构、粘着斑及蛋白激酶复合物等细胞组分; MF条目集中在蛋白激酶活性、磷酸转移酶活性及激酶结合等分子功能。按校正后的 P 值从小到大排列, 分别取前10个显著条目进行可

视化, 结果见图4。

2.7 KEGG通路富集分析

对205个交集靶点进行KEGG通路富集, 共获得217条通路。以校正后 P 值由小到大排序, 将前20条通路进行可视化, 结果见图5。选取前10条通路作为猪苓汤干预DKD的潜在关键通路。KEGG富集分析显示, 猪苓汤干预DKD的靶点主要富集于癌症通路、晚期糖基化终末产物-晚期糖基化终末产物受体 (advanced glycation end products-receptor for advanced glycation end products, AGE-RAGE)、磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B (phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)、癌症中的蛋白聚糖等信号通路, 其中以癌症通路 (hsa05200) 富集最为显著, 部分靶点涉及乙型肝炎等通路。其中关于DKD的通路可能为AGE-RAGE、PI3K/Akt、胰岛素抵抗、低氧诱导因子 (hypoxia-inducible factor, HIF-1) 等。

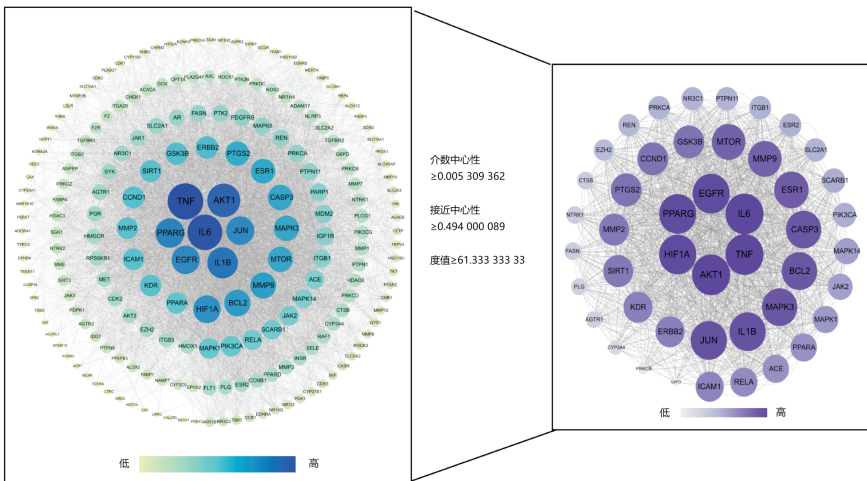


图 3 交集靶点PPI网络图
Figure 3. PPI network of intersecting targets

表 3 猪苓汤干预 DKD 的潜在关键靶点
Table 3. Potential key targets of Zhuling decoction for intervening DKD

靶点	介数中心性	接近中心性	度值
肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)	0.078 765 670	0.730 215 827	260
白细胞介素-6 (interleukin-6, IL6)	0.071 440 415	0.722 419 929	254
蛋白激酶B α (AKT serine/threonine kinase 1, AKT1)	0.052 349 716	0.700 000 000	238
白细胞介素-1 β (interleukin-1 beta, IL1B)	0.036 566 591	0.672 185 430	218
过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPARG)	0.052 912 916	0.656 957 929	204
表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)	0.029 759 716	0.646 496 815	196
Jun 原癌基因 (Jun proto-oncogene, JUN)	0.023 867 233	0.646 496 815	196
缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 alpha, HIF1A)	0.025 349 168	0.644 444 444	190
B 细胞淋巴瘤-2 (B-cell lymphoma 2, BCL2)	0.020 079 632	0.630 434 783	180
基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloproteinase 9, MMP9)	0.021 656 306	0.620 795 107	176
雷帕霉素靶蛋白 (mechanistic target of rapamycin kinase, mTOR)	0.014 294 195	0.626 543 210	170
丝裂原活化蛋白激酶 3 (mitogen-activated protein kinase 3, MAPK3)	0.019 592 461	0.622 699 387	170
胱天蛋白酶 3 (caspase 3, CASP3)	0.009 348 503	0.620 795 107	170
雌激素受体 α (estrogen receptor 1, ESR1)	0.021 009 168	0.613 293 051	164
前列腺素-内过氧化物合酶 2 (prostaglandin-endoperoxide synthase 2, PTGS2)	0.024 059 784	0.609 609 610	162
人表皮生长因子受体 2 (erb-b2 receptor tyrosine kinase 2, ERBB2)	0.008 905 473	0.597 058 824	146
糖原合酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase 3 beta, GSK3B)	0.010 220 475	0.597 058 824	144
沉默信息调节因子 1 (sirtuin 1, SIRT1)	0.009 903 047	0.591 836 735	140
细胞周期蛋白 D1 (cyclin D1, CCND1)	0.009 658 377	0.588 405 797	140
基质金属蛋白酶-2 (matrix metalloproteinase 2, MMP2)	0.008 596 445	0.583 333 333	138
激酶插入区受体 (kinase insert domain receptor, KDR)	0.018 229 963	0.591 836 735	138
细胞间黏附分子-1 (intercellular adhesion molecule 1, ICAM1)	0.007 412 411	0.581 661 891	138
过氧化物酶体增殖物激活受体 α (peroxisome proliferator-activated receptor alpha, PPARA)	0.016 836 814	0.583 333 333	134
丝裂原活化蛋白激酶 1 (mitogen-activated protein kinase 1, MAPK1)	0.007 988 748	0.578 347 578	130
磷脂酰肌醇-4,5 二磷酸 3-激酶催化亚基 α (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha, PIK3CA)	0.005 418 123	0.571 830 986	130
RELA 原癌基因 (RELA proto-oncogene, RELA)	0.005 894 099	0.570 224 719	124
B 类清道夫受体 1 (scavenger receptor class B member 1, SCARB1)	0.016 815 827	0.573 446 328	122
Janus 激酶 2 (Janus kinase 2, JAK2)	0.005 510 002	0.571 830 986	120
血管紧张素转换酶 (angiotensin-converting enzyme, ACE)	0.017 774 625	0.567 039 106	114
丝裂原活化蛋白激酶 14 (mitogen-activated protein kinase 14, MAPK14)	0.006 217 541	0.559 228 650	114
整合素 β 1 亚基 (integrin subunit beta 1, ITGB1)	0.006 480 525	0.559 228 650	108
蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型 11 (protein tyrosine phosphatase non-receptor type 11, PTPN11)	0.006 575 881	0.550 135 501	102
肾素 (renin, REN)	0.009 814 501	0.553 133 515	100
蛋白激酶 C- α (protein kinase C alpha, PRKCA)	0.009 258 087	0.551 630 435	100
脂肪酸合酶 (fatty acid synthase, FASN)	0.018 318 524	0.544 235 925	96
溶质载体家族 2 成员 1 (solute carrier family 2 member 1, SLC2A1)	0.010 828 296	0.542 780 749	92
核受体亚家族 3C 组成员 1 (nuclear receptor subfamily 3 group C member 1, NR3C1)	0.009 224 898	0.541 333 333	88
血管紧张素 II 1 型受体 (angiotensin II receptor type 1, AGTR1)	0.016 372 415	0.539 893 617	88
zeste 增强子同源物 2 (enhancer of zeste homolog 2, EZH2)	0.006 442 431	0.525 906 736	80
纤溶酶原 (plasminogen, PLG)	0.009 639 428	0.524 547 804	76
雌激素受体 β (estrogen receptor 2, ESR2)	0.006 375 241	0.527 272 727	76
组织蛋白酶 B (cathepsin B, CTSB)	0.007 118 155	0.519 181 586	72
细胞色素 P4503A4 (cytochrome P450 family 3 subfamily A member 4, CYP3A4)	0.012 489 771	0.534 210 526	72
神经营养因子受体酪氨酸激酶 1 (neurotrophic receptor tyrosine kinase 1, NTRK1)	0.006 432 669	0.511 335 013	64
葡萄糖-6 磷酸脱氢酶 (glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PD)	0.012 934 271	0.511 335 013	62
蛋白激酶 C- β (protein kinase C beta, PRKCB)	0.005 541 588	0.500 000 000	62

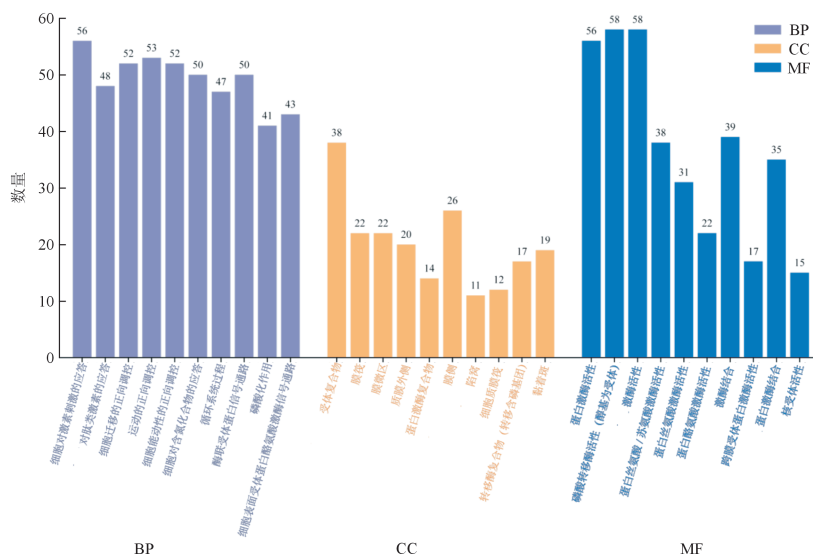


图 4 猪苓汤干预DKD的GO 富集分析图

Figure 4. GO enrichment analysis of Zhuling decoction intervening DKD

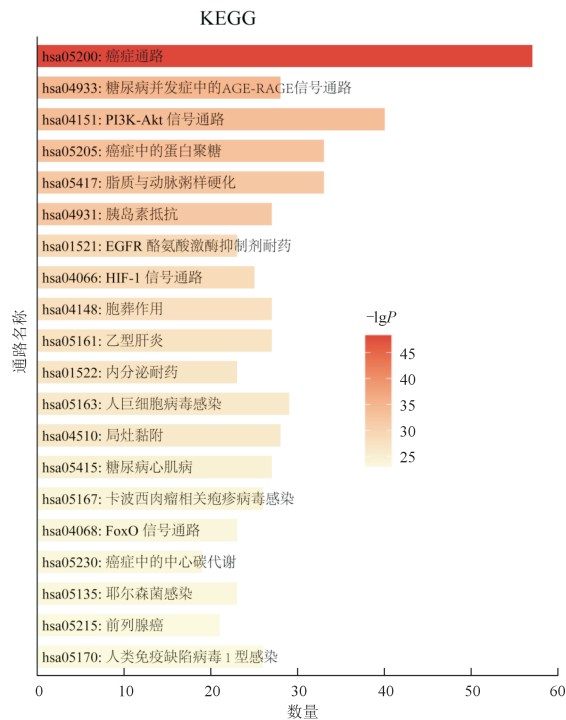


图 5 KEGG 富集结果

Figure 5. KEGG enrichment results

2.8 关键成分-关键靶点-关键通路网络

猪苓汤干预DKD的“关键成分-关键靶点-关键通路”网络见图6。将所有节点依据度值降序排列，筛选度值前10位的潜在关键靶点、关键成分，结果见表4和表5。排序结果有助于进一步识别猪苓汤干预DKD的潜在核心靶点及调控路径。

2.9 分子对接验证

基于“关键成分-关键靶点-关键通路”网络，分别筛选度值排名前4的节点作为潜在核心

成分与核心靶点。随后将4种潜在核心成分 (polyporoid C、猪苓酸C、啤酒甾醇、猪苓酮E)，分别与4个潜在核心靶蛋白 (PIK3CA: PDB 7L1C; MAPK1: PDB 2Y9Q; PRKCA: PDB 4DNL; mTOR: PDB 4DRI) 开展分子对接验证。对接结果显示，所有化合物与对应靶点的结合能均低于-5 kcal/mol，提示具有较强的亲和力^[38]，见表6。其中，mTOR与4个成分的结合能最低，表现出更为显著的结合能力。对mTOR与4个关键成分对接结果进行可视化，结果见图7。对接结果显示，各潜在核心成分与核心靶点均可形成稳定结合构象，可能在猪苓汤干预DKD的过程中发挥重要作用。

2.10 分子动力学模拟

选择分子对接中表现出最强的结合力的mTOR-啤酒甾醇进行分子动力学模拟，并对结果进行分析，见图8。RMSD是构象稳定性的核心评价指标，结果显示复合物体系在30 ns后趋于平衡，最终在0.25 nm附近小幅波动，表明小分子与靶蛋白结合稳定配体未发生明显解离 (图8-A)。R_g可用于反映蛋白质整体构象的改变程度，也可用于表征其内部结构的致密性。如图所示 (图8-B)，R_g始终维持在1.36 ~ 1.38 nm，无显著上升趋势，X、Y、Z 三轴方向 R_g 分别稳定在1.18、1.12、1.05 nm左右，说明蛋白结构紧凑，未出现解折叠或结构松散现象，三维构象保持良好。RMSF可以表示蛋白质中氨基酸残基的柔性大小。分析显示 (图8-C)，复合物的RMSF值相对较低 (大多

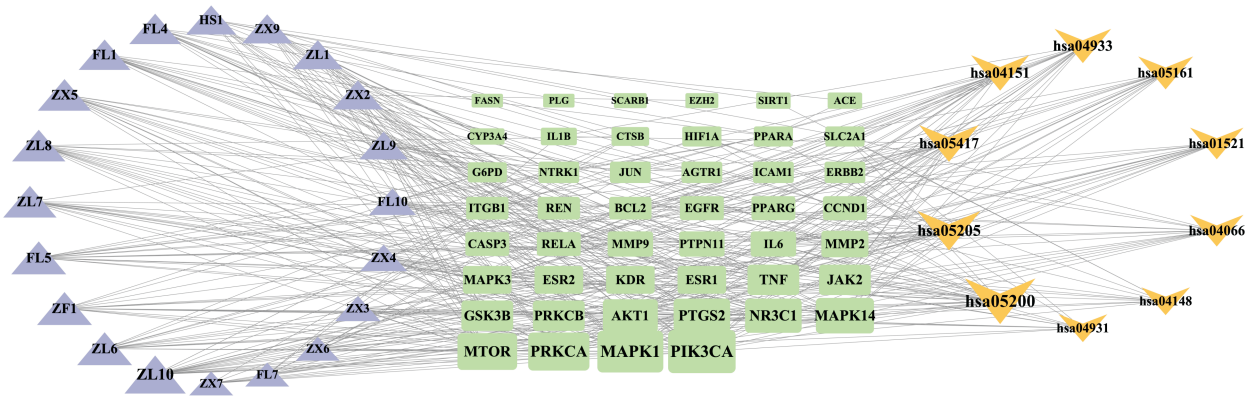


图 6 关键成分-关键靶点-关键通路网络图

Figure 6. Network of key components – key targets – key pathways

注：紫色三角形、绿色矩形、橙色V形节点，分别对应猪苓汤干预DKD的潜在关键成分、关键靶点及关键通路；ZL.猪苓；FL.茯苓；ZF.猪苓与茯苓共有成分；ZX.泽泻；HS.滑石；EJ.阿胶。

表 4 排名前10位的关键靶点

Table 4. Top 10 key targets

靶点	介数中心性	接近中心性	度值
PIK3CA	0.060 915 736 4	0.553 030 303 0	23
MAPK1	0.057 437 414 7	0.528 985 507 2	22
PRKCA	0.035 326 8908	0.500 000 000 0	19
mTOR	0.036 788 363 8	0.506 944 444 4	18
MAPK14	0.031 705 109 8	0.493 243 243 2	17
PTGS2	0.041 619 553 1	0.506 944 444 4	16
NR3C1	0.040 669 702 8	0.467 948 717 9	16
AKT1	0.023 277 300 3	0.480 263 157 9	15
TNF	0.028 355 615 3	0.467 948 717 9	13
GSK3B	0.026 105 862 2	0.480 263 157 9	13

表 5 排名前10位的关键成分

Table 5. Top 10 key components

编号	关键成分	介数中心性	接近中心性	度值
ZL10	polyporoid C	0.043 306 074 1	0.480 263 157 9	19
FL5	猪苓酸C	0.032 312 264 5	0.456 250 000 0	15
ZF1	啤酒甾醇	0.030 611 479 5	0.456 250 000 0	15
ZL6	猪苓酮E	0.030 118 319 8	0.456 250 000 0	15
ZL7	猪苓酮G	0.031 504 340 1	0.450 617 284 0	14
ZL8	polyporoid A	0.026 721 120 8	0.450 617 284 0	14
ZX5	泽泻醇C	0.018 031 065 3	0.450 617 284 0	14
FL4	(2R)-2-[(3S,5R,10S,13R,14R,16R,17R)-3,16-二羟基-4,4,10,13,14-五甲基-2,3,5,6,12,15,16,17-八氢-1H-环戊并[a]菲-17-基]-5-异丙基-己-5-烯酸	0.029 474 928 8	0.419 540 229 9	13
FL1	(2R)-2-[(3S,5R,10S,13R,14R,16R,17R)-3,16-二羟基-4,4,10,13,14-五甲基-2,3,5,6,12,15,16,17-八氢-1H-环戊并[a]菲-17-基]-6-甲基庚-5-烯酸	0.019 667 371 5	0.429 411 764 7	13
HS1	decimide	0.052 630 716 0	0.439 759 036 1	12

注：ZL.猪苓；FL.茯苓；ZF.猪苓与茯苓共有成分；ZX.泽泻；HS.滑石；EJ.阿胶。

在 0.23 nm 以下)，因此其灵活性较低，稳定性较高，SASA 曲线整体平稳，表明蛋白表面溶剂暴露面积无明显变化，说明配体对蛋白结构影响较小（图8-D）。氢键数量统计（图8-E）显示，配

表 6 分子对接结合能

Table 6. Binding energies of molecular docking

靶点蛋白	PDB ID	化合物	结合能 (kcal/mol)
PIK3CA	7L1C	polyporoid C	-7.3
		猪苓酸 C	-8.4
		啤酒甾醇	-9.4
		猪苓酮 E	-8.6
MAPK1	2Y9Q	polyporoid C	-7.9
		猪苓酸 C	-7.2
		啤酒甾醇	-8.6
		猪苓酮 E	-7.3
PRKCA	4DNL	polyporoid C	-6.4
		猪苓酸 C	-7.4
		啤酒甾醇	-6.6
		猪苓酮 E	-7.1
mTOR	4DRI	polyporoid C	-10.1
		猪苓酸 C	-9.9
		啤酒甾醇	-11.2
		猪苓酮 E	-10.6

体与蛋白在模拟全程氢键数量为0~4个，多数情况下维持1个，证实二者存在良好氢键相互作用。

以Rg和RMSD为坐标构建FEL，见图9。结果表明，复合物在特定Rg（1.36~1.37 nm）与RMSD（0.24~0.25 nm）范围内存在全局自由能最小值区域（深蓝色洼池），表明此构象下体系具备最优热力学稳定性。分子动力学模拟结果显示mTOR-啤酒甾醇复合物构象稳定。

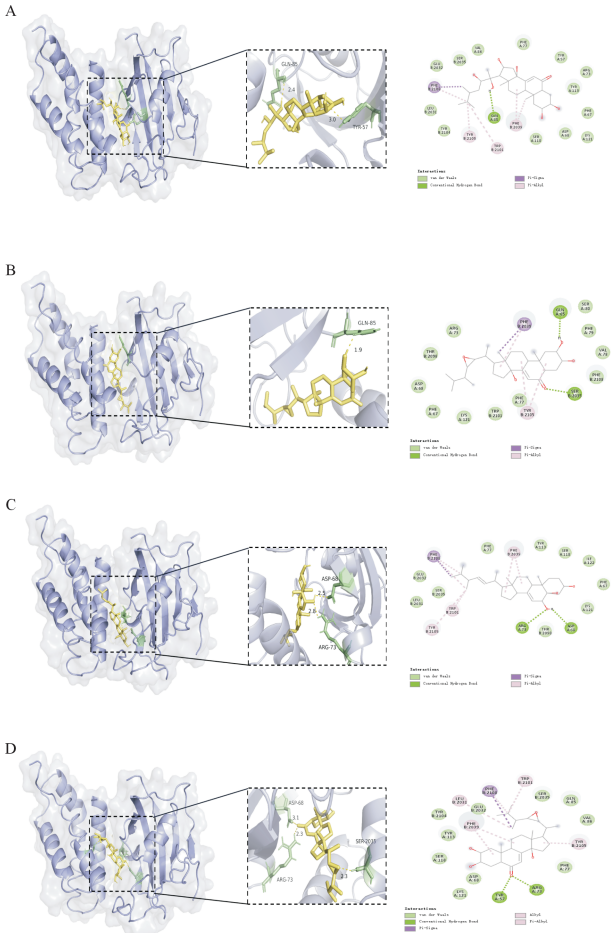


图 7 分子对接图

Figure 7. Molecular docking diagrams

注：A. mTOR-polyporoid C；B. mTOR-猪苓酸 C；C. mTOR-啤酒甾醇；D. mTOR-猪苓酮 E。

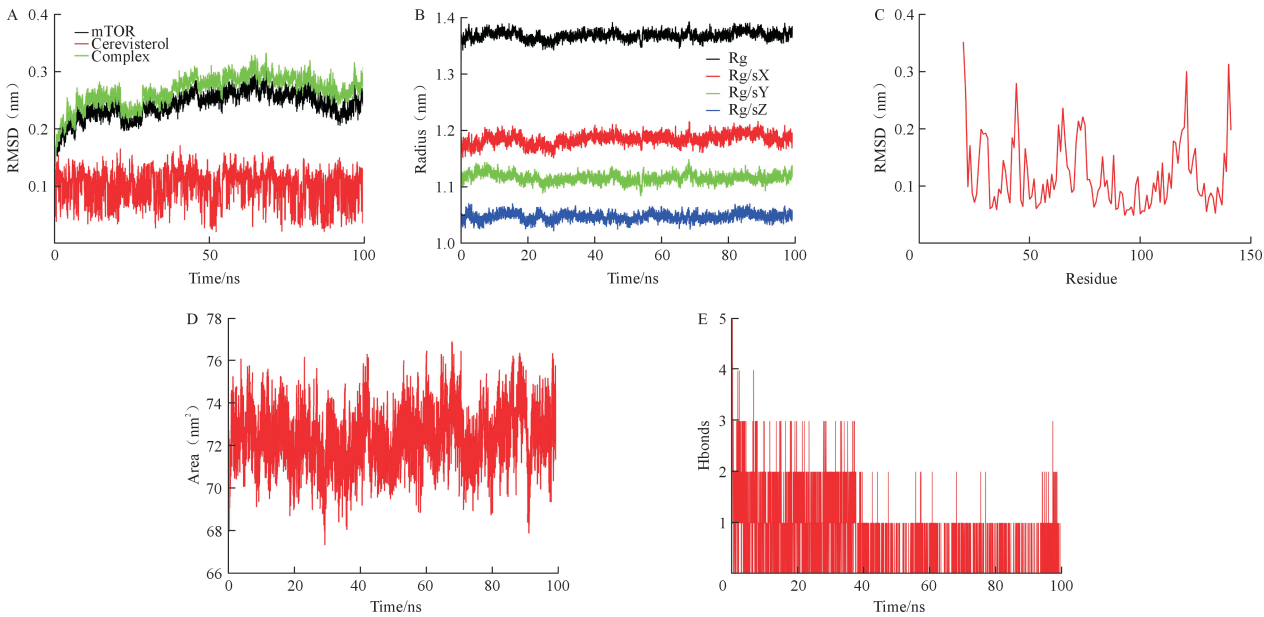


图 8 分子动力学模拟结果

Figure 8. Results of molecular dynamics simulation

注：A. RMSD；B. Rg；C. RMSF；D. SASA；E. 氢键数量。

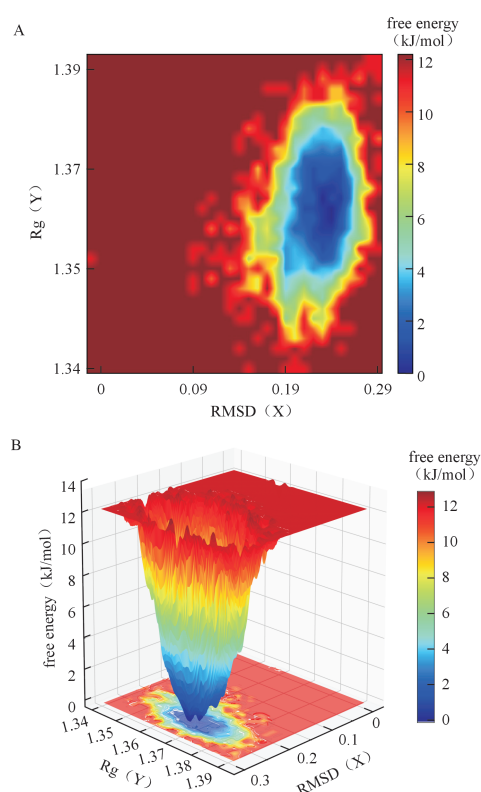


图9 自由能地貌图

Figure 9. Free energy landscape

注: A. 2D; B. 3D。

3 讨论

多年来, DKD 发病率下降及患者预后改善, 主要得益于糖尿病整体管理水平的进步。现阶段临床用于 DKD 的常规治疗手段存在作用靶点局限、远期应用耐受性不佳等短板, 远不能满足临床个体化、长期化的治疗需求。因此, 探索安全性高、疗效确切且不良反应少的药物, 是一种科学且符合临床需求的策略。

猪苓汤对泌尿系统疾病疗效显著, 在 DKD 干预中亦展现出良好应用前景, 但其内在药理机制尚未阐明。在猪苓汤干预 DKD 的关键成分-关键靶点-关键通路网络中, 本研究发现了 polyporoid C、猪苓酸 C、啤酒甾醇、猪苓酮 E 可能是猪苓汤干预 DKD 的核心成分。polyporoid C 是一种从猪苓中分离得到的麦角甾类成分, 具有抗炎作用, 可抑制佛波酯诱导的炎症及小鼠疼痛^[15]。猪苓酮 E 也属于麦角甾类成分, 其具有抗肿瘤活性, 对小鼠白血病 L1210 细胞有明显的细胞毒性作用^[39]。近年来麦角甾类化合物研究进展显著, 其药理作用主要包括抗炎、代谢调节与器官保护, 多通过调控氧化应激、炎症干预及细胞代谢发挥作

用^[40]。polyporoid C 与猪苓酮 E 可能存在类似作用机制, 具体仍需深入探究。啤酒甾醇是一种最初从酿酒酵母中分离得到的麦角甾型真菌代谢物, 具有良好的抗炎活性, 能够抑制丝裂原活化蛋白激酶/核因子- κ B/激活蛋白-1 (mitogen-activated protein kinase/nuclear factor- κ B/activator protein-1, MAPK/NF- κ B/AP-1) 信号通路并激活核因子 E2 相关因子 2/血红素氧合酶-1 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2/heme oxygenase-1, Nrf2/HO-1) 信号级联反应, 从而减轻脂多糖诱导的炎症反应^[41]。猪苓酸 C 是从茯苓菌核中分离得到的羊毛甾烷型三萜类化合物, 可通过阻断 AP-1 信号通路、下调诱导型一氧化氮合酶的表达, 从而抑制 NO 的生成, 发挥抗炎作用^[42]。由上推测, 猪苓汤可能通过上述四个潜在核心成分对 DKD 发挥干预作用。

PIK3CA、MAPK1、PRKCA、mTOR 可能是猪苓汤干预 DKD 的核心靶点。PIK3CA 编码 PI3K α 催化亚基, 可激活 Akt/mTOR 轴, 调控细胞生长与代谢。其异常激活是狼疮性肾炎、多囊肾病、DKD 等肾病的共性致病因素, 与足细胞损伤、肾小球硬化相关, 同时糖尿病高糖微环境可能会紊乱 PIK3CA 的表达水平^[43-44]。MAPK1 为 MAPK 通路关键分子, 研究发现 DKD 中高糖环境可使 MAPK1 表达增加, 同时下调磷酸弗林蛋白酶酸性氨基酸簇分选蛋白-2 (phosphofurin acidic cluster sorting protein-2, PACS-2), 破坏线粒体-内质网结构、引发线粒体功能异常, 甚至加重肾小管损伤与间质纤维化。而抑制 MAPK1 和上调 PACS-2 可改善肾组织病理损伤, 发挥肾保护作用^[45]。PRKCA 编码 PKC α , 参与细胞增殖、凋亡与炎症调控。在 DKD 病变中, 高糖介导 PKC α 过度激活, 促使活性氧大量生成, 驱动肾小球持续损伤^[46]。mTOR 作为重要丝氨酸/苏氨酸激酶, 结合不同的亚基可分别构成 mTOR 复合物 1 (mTORC1) 与 mTOR 复合物 2 (mTORC2)。高糖微环境可过度激活 mTORC1、阻断细胞自噬进程, 造成受损蛋白及细胞器蓄积, 最终推动肾间质纤维化进展^[47-48]。这 4 类靶点深度参与 DKD 病变过程, 为 DKD 靶向干预提供了可靠的潜在靶点。

KEGG 富集分析显示, 癌症通路、PI3K/Akt、AGE-RAGE 及 HIF-1 等通路参与猪苓汤对 DKD 的

调控,其中PI3K/Akt通路与蛋白尿、肾功能及足细胞凋亡密切相关。通路过度激活会造成系膜增生、足细胞损伤;通路活性不足则削弱细胞修复能力,两种失衡均会加重肾脏硬化与间质纤维化。已有体内外实验证实,中药活性物质可通过矫正该通路磷酸化水平,修复足细胞损伤、降低尿白蛋白,改善肾脏组织病理损伤^[49]。结合分子对接和分子动力学模拟结果,猪苓汤活性组分可结合PIK3CA、mTOR等核心靶点,协同调控PI3K/Akt通路,以此发挥肾脏保护效应。

值得注意的是,4个核心成分中, polyporoid C可同时调控4个核心靶点,为DKD靶向候选新药潜力成分。4个核心靶点共同汇聚于PI3K/Akt通路、HIF-1通路、EGFR酪氨酸激酶抑制剂耐药通路和癌症通路,4通路间存在明确的层级互作关系。经EGFR酪氨酸激酶抑制剂抑制EGFR活性后,细胞可通过旁路代偿机制,持续激活其下游的PI3K/Akt/mTOR等效应分子,导致耐药现象^[50];PI3K/Akt作为核心枢纽,可调控HIF-1 α 的蛋白稳定性与转录活性,参与缺氧应答及血管异常等病理过程^[51];上述通路的异常信号最终汇聚于癌症相关通路。PI3K/Akt通路为核心主通路,是polyporoid C发挥多靶点协同的关键枢纽。后续可围绕“polyporoid C-核心靶点-PI3K/Akt”主通路级联调控轴开展深入实验研究。

本研究还存在一定局限性:仅依靠数据库与文献筛选猪苓汤活性成分,未通过液质技术鉴定水煎液真实组分;数据库成分来源于单味药材,共煎后部分成分易降解、溶出不足,仅少数成分稳定存在;加之网络药理学存在数据、算法层面的预测偏差,相关靶点通路仅为理论推测。后续需结合汤剂成分检测、细胞与动物实验及代谢组学进一步验证,完善作用机制以支撑临床研究。

综上,本研究表明,猪苓汤干预DKD的潜在核心成分为polyporoid C、猪苓酸C、啤酒甾醇和猪苓酮E,潜在核心靶点为PIK3CA、MAPK1、PRKCA及mTOR,其中mTOR结合活性最强。猪苓汤可通过多成分协同作用于多靶点,调控PI3K/Akt等通路发挥肾保护作用,而polyporoid C可同时调控4个核心靶点,并汇聚于PI3K/Akt为主的通路,提示后续能够以“polyporoid C-核心靶点-PI3K/Akt”主通路级联调控为主要研究方向开展研究。

参考文献

- 1 Molitch ME, Adler AI, Flyvbjerg A, et al. Diabetic kidney disease: a clinical update from kidney disease: improving global outcomes[J]. *Kidney Int*, 2015, 87(1): 20–30. DOI: [10.1038/ki.2014.128](#).
- 2 Zhang L, Jiang L, Xu R, et al. Epidemiological research on diabetic nephropathy at global, regional, and national levels from 1990 to 2021: an analysis derived from the global burden of disease 2021 study[J]. *Front Endocrinol*, 2025, 16: 1647064. DOI: [10.3389/fendo.2025.1647064](#).
- 3 Natale P, Palmer SC, Navaneethan SD, et al. Angiotensin-converting-enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers for preventing the progression of diabetic kidney disease[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2024, 4(4): CD006257. DOI: [10.1002/14651858.CD006257.pub2](#).
- 4 Rabbani SA, El-Tanani M, Kumar R, et al. Repurposing diabetes therapies in CKD: mechanistic insights, clinical outcomes and safety of SGLT2i and GLP-1 RAs[J]. *Pharmaceuticals*, 2025, 18(8): 1130. DOI: [10.3390/ph18081130](#).
- 5 胡萍萍, 夏伟, 李颜鹏, 等. 马齿苋降糖作用的多靶点机制: 网络药理学预测与分子对接分析[J]. *药学前沿*, 2025, 29(12): 2000–2008. [Hu PP, Xia W, Li YP, et al. The multi-target mechanism of *Portulaca oleracea*'s hypoglycemic effect: network pharmacology prediction and molecular docking analysis[J]. *Frontiers in Pharmaceutical Sciences*, 2025, 29(12): 2000–2008.] DOI: [10.12173/j.issn.2097-4922.202507072](#).
- 6 张保国, 刘庆芳. 猪苓汤的现代药理研究与临床应用[J]. *中成药*, 2014, 36(8): 1726–1729. [Zhang BG, Liu QF. Modern pharmacological research and clinical application of Zhuling decoction[J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2014, 36(8): 1726–1729.] DOI: [10.3969/j.issn.1001-1528.2014.08.036](#).
- 7 Zhao Y, Xie R, Chao X, et al. Bioactivity-directed isolation, identification of diuretic compounds from *Polyporus umbellatus*[J]. *J Ethnopharmacol*, 2009, 126(1): 184–187. DOI: [10.1016/j.jep.2009.07.033](#).
- 8 Liu CP, Li X, Lai GN, et al. Mechanisms of macrophage immunomodulatory activity induced by a new polysaccharide isolated from *Polyporus umbellatus* (Pers.) Fries[J]. *Front Chem*, 2020, 8: 581. DOI: [10.3389/fchem.2020.00581](#).
- 9 Luo XY, Yu M, Li HJ, et al. Structural characteristics and potential antidepressant mechanism of a water-insoluble β -1, 3-glucan from an edible fungus *Wolfiporia cocos*[J]. *Carbohydr Polym*, 2025, 348: 122779. DOI: [10.1016/j.carbpol.2024.122779](#).
- 10 Tian T, Chen H, Zhao YY. Traditional uses, phytochemistry, pharmacology, toxicology and quality control of *Alisma orientale* (Sam.) Juzep: a review[J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 158: 373–387. DOI: [10.1016/j.jep.2014.10.061](#).
- 11 Wang D, Ru W, Xu Y, et al. Chemical constituents and bioactivities of *Colla corii asini*[J]. *Drug Discov Ther*, 2014, 8(5): 201–207. DOI: [10.5582/ddt.2014.01038](#).
- 12 Ru JL, Li P, Wang JA, et al. TCMSp: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. *J*

- Cheminform, 2014, 6(1): 13. DOI: [10.1186/1758-2946-6-13](https://doi.org/10.1186/1758-2946-6-13).
- 13 Tao W, Xu X, Wang X, et al. Network pharmacology-based prediction of the active ingredients and potential targets of Chinese herbal *Radix Curcumae* formula for application to cardiovascular disease[J]. J Ethnopharmacol, 2013, 145(1): 1–10. DOI: [10.1016/j.jep.2012.09.051](https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.09.051).
 - 14 Kong X, Liu C, Zhang Z, et al. BATMAN-TCM 2.0: an enhanced integrative database for known and predicted interactions between traditional Chinese medicine ingredients and target proteins[J]. Nucleic Acids Res, 2024, 52(D1): D1110–D1120. DOI: [10.1093/nar/gkad926](https://doi.org/10.1093/nar/gkad926).
 - 15 Sun Y, Yasukawa K. New anti-inflammatory ergostane-type ecdysteroids from the sclerotium of *Polyporus umbellatus*[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2008, 18(11): 3417–3420. DOI: [10.1016/j.bmcl.2008.04.008](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2008.04.008).
 - 16 Oshima Y, Iwakawa T, Hikino H. Alismol and alismoxide, sesquiterpenoids of *Alisma rhizomes*[J]. Phytochemistry, 1983, 22(1): 183–185. DOI: [10.1016/S0031-9422\(00\)80084-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)80084-9).
 - 17 Makabel B, Zhao Y, Wang B, et al. Stability and structure studies on alisol A 24-acetate[J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 2008, 56(1): 41–45. DOI: [10.1248/cpb.56.41](https://doi.org/10.1248/cpb.56.41).
 - 18 Kim S, Chen J, Cheng T, et al. PubChem 2023 update[J]. Nucleic Acids Res, 2023, 51(D1): D1373–D1380. DOI: [10.1093/nar/gkac956](https://doi.org/10.1093/nar/gkac956).
 - 19 Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules[J]. Sci Rep, 2017, 7: 42717. DOI: [10.1038/srep42717](https://doi.org/10.1038/srep42717).
 - 20 Wang H, Wei W, Liu J, et al. The characterization of traditional Chinese medicine natures and flavors using network pharmacology integrated strategy[J]. J Tradit Complement Med, 2024, 14(3): 343–349. DOI: [10.1016/j.jtcm.2023.12.004](https://doi.org/10.1016/j.jtcm.2023.12.004).
 - 21 Gfeller D, Michielin O, Zoete V. SwissTargetPrediction: a web server for target prediction of bioactive small molecules[J]. Nucleic Acids Res, 2014, 42(W1): W328–W332. DOI: [10.1093/nar/gku293](https://doi.org/10.1093/nar/gku293).
 - 22 Uniprot Consortium. UniProt: the universal protein knowledgebase[J]. Nucleic Acids Res, 2017, 45(D1): D158–D169. DOI: [10.1093/nar/gkw1099](https://doi.org/10.1093/nar/gkw1099).
 - 23 Stelzer G, Rosen N, Plaschkes I, et al. The GeneCards suite: from gene data mining to disease genome sequence analyses[J]. Curr Protoc Bioinform, 2016, 54(1): 1.30. 1–1.30. 33. DOI: [10.1002/cpbi.5](https://doi.org/10.1002/cpbi.5).
 - 24 Zhou Y, Zhang Y, Zhao D, et al. TTD: Therapeutic Target Database describing target druggability information[J]. Nucleic Acids Res, 2024, 52(D1): D1465–D1477. DOI: [10.1093/nar/gkad751](https://doi.org/10.1093/nar/gkad751).
 - 25 Knox C, Wilson M, Klinger C M, et al. DrugBank 6.0: the DrugBank knowledgebase for 2024[J]. Nucleic Acids Res, 2024, 52(D1): D1265–D1275. DOI: [10.1093/nar/gkad976](https://doi.org/10.1093/nar/gkad976).
 - 26 Shannon P, Markiel A, Ozier O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks[J]. Genome Res, 2003, 13(11): 2498–2504. DOI: [10.1101/gr.1239303](https://doi.org/10.1101/gr.1239303).
 - 27 Freeman LC. Centrality in social networks conceptual clarification[J]. Soc Netw, 1978, 1(3): 215–239. DOI: [10.1016/0378-8733\(78\)90021-7](https://doi.org/10.1016/0378-8733(78)90021-7).
 - 28 Szklarczyk D, Kirsch R, Koutrouli M, et al. The STRING database in 2023: protein–protein association networks and functional enrichment analyses for any sequenced genome of interest[J]. Nucleic Acids Res, 2023, 51(D1): D638–D646. DOI: [10.1093/nar/gkac1000](https://doi.org/10.1093/nar/gkac1000).
 - 29 Zhou Y, Zhou B, Pache L, et al. Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets[J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 1523. DOI: [10.1038/s41467-019-09234-6](https://doi.org/10.1038/s41467-019-09234-6).
 - 30 Rose PW, Prlić A, Altunkaya A, et al. The RCSB protein data bank: integrative view of protein, gene and 3D structural information[J]. Nucleic Acids Res, 2017, 45(D1): D271–D281. DOI: [10.1093/nar/gkw1000](https://doi.org/10.1093/nar/gkw1000).
 - 31 O’Boyle NM, Banck M, James CA, et al. Open Babel: an open chemical toolbox[J]. J Cheminform, 2011, 3: 33. DOI: [10.1186/1758-2946-3-33](https://doi.org/10.1186/1758-2946-3-33).
 - 32 Morris GM, Huey R, Lindstrom W, et al. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility[J]. J Comput Chem, 2009, 30(16): 2785–2791. DOI: [10.1002/jcc.21256](https://doi.org/10.1002/jcc.21256).
 - 33 Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading[J]. J Comput Chem, 2010, 31(2): 455–461. DOI: [10.1002/jcc.21334](https://doi.org/10.1002/jcc.21334).
 - 34 Páll S, Zhmurov A, Bauer P, et al. Heterogeneous parallelization and acceleration of molecular dynamics simulations in GROMACS[J]. J Chem Phys, 2020, 153(13): 134110. DOI: [10.1063/5.0018516](https://doi.org/10.1063/5.0018516).
 - 35 Maier JA, Martinez C, Kasavajhala K, et al. ff14SB: improving the accuracy of protein side chain and backbone parameters from ff99SB[J]. J Chem Theory Comput, 2015, 11(8): 3696–3713. DOI: [10.1021/acs.jctc.5b00255](https://doi.org/10.1021/acs.jctc.5b00255).
 - 36 Jorgensen WL, Chandrasekhar J, Madura JD, et al. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water[J]. J Chem Phys, 1983, 79(2): 926–935. DOI: [10.1063/1.445869](https://doi.org/10.1063/1.445869).
 - 37 Tian L. Sobtop (Version 1.0(dev5))[CP/OL]. [2026–03–15]. <http://sobereva.com/soft/Sobtop>.
 - 38 Gaillard T. Evaluation of AutoDock and AutoDock Vina on the CASF–2013 benchmark[J]. J Chem Inf Model, 2018, 58(8): 1697–1706. DOI: [10.1021/acs.jcim.8b00312](https://doi.org/10.1021/acs.jcim.8b00312).
 - 39 Ohsawa T, Yukawa M, Takao C, et al. Studies on constituents of fruit body of *Polyporus umbellatus* and their cytotoxic activity[J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 1992, 40(1): 143–147. DOI: [10.1248/cpb.40.143](https://doi.org/10.1248/cpb.40.143).
 - 40 Li L, Zhu Y, Cheng W, et al. Efficacy of ergosterol and ergosterol peroxide in different anti-inflammatory models—a comparison study[J]. Food Agric Immunol, 2024, 35(1): 2423638. DOI: [10.1080/09540105.2024.2423638](https://doi.org/10.1080/09540105.2024.2423638).
 - 41 Alam MB, Chowdhury NS, Sohrab MH, et al. Cerevisterol alleviates inflammation via suppression of MAPK/NF- κ B/AP-1 and activation of the Nrf2/HO-1 signaling cascade[J]. Biomolecules, 2020, 10(2):

199. DOI: [10.3390/biom10020199](https://doi.org/10.3390/biom10020199).
- 42 Cai TG, Cai Y. Triterpenes from the fungus *Poria cocos* and their inhibitory activity on nitric oxide production in mouse macrophages via blockade of activating protein-1 pathway[J]. Chem Biodivers, 2011, 8(11): 2135–2143. DOI: [10.1002/cbdv.201100013](https://doi.org/10.1002/cbdv.201100013).
- 43 Morin G, Isnard P, Canaud G. Drug repurposing in PIK3CA-related overgrowth spectrum: breakthroughs from overgrowth syndromes to kidney disease[J]. Kidney Int, 2026, 109(1): 64–72. DOI: [10.1016/j.kint.2025.08.041](https://doi.org/10.1016/j.kint.2025.08.041).
- 44 Rivero DA, Tomsich JL, Benegas PA, et al. Expression patterns of PIK3CA and PTEN in cancer and type 2 diabetes mellitus[J]. Gene, 2025: 149748. DOI: [10.1016/j.gene.2025.149748](https://doi.org/10.1016/j.gene.2025.149748).
- 45 Liu S, Han S, Wang C, et al. MAPK1 mediates MAM disruption and mitochondrial dysfunction in diabetic kidney disease via the PACS-2-dependent mechanism[J]. Int J Biol Sci, 2024, 20(2): 569–586. DOI: [10.7150/ijbs.89291](https://doi.org/10.7150/ijbs.89291).
- 46 Zheng X, Zhu Q, Ouyang J, et al. PACS2/PKC α /NOX4 pathway damaged the renal vascular endothelial barrier by promoting ROS production in diabetic nephropathy mice[J]. Mol Cell Biochem, 2025, 480(12): 6145–6156. DOI: [10.1007/s11010-025-05363-3](https://doi.org/10.1007/s11010-025-05363-3).
- 47 Yasuda-Yamahara M, Kume S, Maegawa H. Roles of mTOR in diabetic kidney disease[J]. Antioxidants, 2021, 10(2): 321. DOI: [10.3390/antiox10020321](https://doi.org/10.3390/antiox10020321).
- 48 Zhu Q, Wu X, Di Y, et al. The TXNIP-mTOR-autophagy axis in diabetic kidney disease: mechanistic insights and therapeutic implications[J]. Mol Biol Rep, 2025, 52(1): 839–851. DOI: [10.1007/s11033-025-10946-w](https://doi.org/10.1007/s11033-025-10946-w).
- 49 张艳, 柴子惠, 李羲子, 等. PI3K/Akt 信号通路在糖尿病肾病中的作用及中医药干预的研究进展[J]. 中国医药导报, 2025, 22(15): 53–56. [Zhang Y, Chai ZH, Li XZ, et al. Research progress on the role of PI3K/Akt signaling pathway in diabetic nephropathy and traditional Chinese medicine and pharmacy intervention[J]. China Medical Herald, 2025, 22(15): 53–56.] DOI: [10.20047/j.issn1673-7210.2025.15.09](https://doi.org/10.20047/j.issn1673-7210.2025.15.09).
- 50 Du Z, Kan H, Sun J, et al. Molecular mechanisms of acquired resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors in non-small cell lung cancer[J]. Drug Resist Updat, 2025, 82: 101266. DOI: [10.1016/j.drug.2025.101266](https://doi.org/10.1016/j.drug.2025.101266).
- 51 Zhang J, Yao M, Xia S, et al. Systematic and comprehensive insights into HIF-1 stabilization under normoxic conditions: implications for cellular adaptation and therapeutic strategies in cancer[J]. Cell Mol Biol Lett, 2025, 30(1): 2. DOI: [10.1186/s11658-024-00682-7](https://doi.org/10.1186/s11658-024-00682-7).

收稿日期: 2026 年 03 月 28 日 修回日期: 2026 年 06 月 02 日
本文编辑: 李 阳 冼静怡