

· 药物代谢 ·

## 基于代谢组学和网络药理学探究人参固本口服液治疗 肾纤维化的作用机制

江红<sup>1,2</sup>, 张瞳<sup>2</sup>, 张俊红<sup>2</sup>, 秦月雯<sup>2</sup>, 谢冬梅<sup>1</sup>, 王萍<sup>2\*</sup>, 许海玉<sup>2,3\*</sup>

(1. 安徽中医药大学, 合肥 230012; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700;  
3. 中国中医科学院国家药品监督管理局中医药研究与评价重点实验室, 北京 100700)

**[摘要]** 目的: 基于代谢组学和网络药理学开展人参固本口服液治疗肾纤维化小鼠的作用机制研究。方法: 将36只C57BL/6小鼠随机分为空白组、模型组、人参固本口服液组, 除空白组外, 均采用单侧输尿管结扎术制备小鼠单侧输尿管梗阻模型。术后人参固本口服液组灌胃给予4.2 g·kg<sup>-1</sup>浸膏粉的水溶液, 连续给药14 d, 空白组和模型组灌胃给予等量蒸馏水。末次给药后, 收集尿液, 采用超高效液相色谱-三重四极杆-串联质谱法(UPLC-QQQ-MS/MS)进行检测, 以0.1%甲酸水溶液为流动相A, 乙腈-异丙醇(70:30)为流动相B, 梯度洗脱(0~1 min, 5%B; 1~5 min, 5%~30%B; 5~9 min, 30%~50%B; 9~11 min, 50%~78%B; 11~13.5 min, 78%~95%B; 13.5~14 min, 95%~100%B; 14~16 min, 100%B; 16~16.1 min, 100%~5%B; 16.1~18 min, 5%B), 柱温40 °C, 流速0.4 mL·min<sup>-1</sup>, 电喷雾离子源(ESI), 采集范围m/z 50~900; 通过网络药理学对人参固本口服液成分的靶点与肾纤维化的靶点进行交互分析, 网络拓扑分析筛选出关键成分和关键靶点, 采用功能注释生物信息学分析数据库(DAVID)预测人参固本口服液治疗肾纤维化的信号通路。结果: 共鉴定出人参固本口服液治疗肾纤维化的7个差异代谢物, 涉及8条代谢通路。网络药理学分析发现, 人参固本口服液中36个核心成分与该7个差异代谢物相关, 主要为人参皂苷类、三七皂苷类及核苷酸类化合物。基于“药材-成分-靶点-通路”网络, 共筛选出23个关键靶点, 与差异代谢物共同涉及亚油酸代谢、精氨酸生物合成、三羧酸循环(TCA)、精氨酸与脯氨酸代谢等通路。结论: 该研究基于代谢组学和网络药理学技术, 确定了人参固本口服液治疗肾纤维化中7个差异代谢物、36个潜在药效成分、23个核心靶点和4条关键通路, 可为该药的临床应用及机制研究提供实验依据。

**[关键词]** 人参固本口服液; 代谢组学; 网络药理学; 肾纤维化; 超高效液相色谱-三重四极杆-串联质谱联用法(UPLC-QQQ-MS/MS); 代谢通路

**[中图分类号]** R22; R969.1; R28; O657 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2023)12-0142-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20230666 **[增强出版附件]** 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20230313.1531.004.html>

**[网络出版日期]** 2023-03-14 14:30:23

### Exploring Mechanism of Renshen Guben Oral Liquids in Treating Renal Fibrosis Based on Metabolomics and Network Pharmacology

JIANG Hong<sup>1,2</sup>, ZHANG Tong<sup>2</sup>, ZHANG Junhong<sup>2</sup>, QIN Yuewen<sup>2</sup>, XIE Dongmei<sup>1</sup>,  
WANG Ping<sup>2\*</sup>, XU Haiyu<sup>2,3\*</sup>

(1. Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 3. Key Laboratory for Research and Evaluation of Traditional Chinese Medicine of National Medical Products Administration, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

**[收稿日期]** 2022-12-26

**[基金项目]** 国家自然科学基金重点项目(81830111); 中国中医科学院科技创新工程项目(CI2021A04907)

**[第一作者]** 江红, 在读硕士, 从事中药整合药理学研究, E-mail: 3219789129@qq.com

**[通信作者]** \* 王萍, 博士, 研究员, 从事中药整合药理学研究, E-mail: hudielanwp@sina.com;

\* 许海玉, 博士, 研究员, 从事中医药大数据和中药整合药理学研究, Tel: 010-64014411, E-mail: hyxu@icmm.ac.cn

**[Abstract] Objective:** To investigate the mechanism of Renshen Guben oral liquids (RGOL) in treatment of mice with renal fibrosis based on metabolomics and network pharmacology. **Method:** C57BL/6 mice were randomly divided into control group, model group and RGOL group, 12 mice in each group. Except for the control group, mice in the other groups were induced into unilateral ureteral obstruction (UUO) model by UUO. After preparation of the model, an aqueous solution of 4.2 g·kg<sup>-1</sup> extract powder was administered by gavage to RGOL group for 14 d, and an equal amount of distilled water was administered by gavage to the control and model groups. After the last administration on the 14<sup>th</sup> day, urine was collected and detected by ultra-high performance liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry (UPLC-QQQ-MS/MS) with 0.1% formic acid aqueous solution as mobile phase A, and acetonitrile-isopropanol (70:30) as mobile phase B for gradient elution (0-1 min, 5%B; 1-5 min, 5%-30%B; 5-9 min, 30%-50%B; 9-11 min, 50%-78%B; 11-13.5 min, 78%-95%B; 13.5-14 min, 95%-100%B; 14-16 min, 100%B; 16-16.1 min, 100%-5%B; 16.1-18 min, 5%B), column temperature of 40 °C, flow rate of 0.4 mL·min<sup>-1</sup>, electrospray ionization (ESI), collection range of *m/z* 50-900. Through network pharmacology, the targets of components in RGOL and the targets of renal fibrosis were analyzed interactively, and the key components and key targets were screened by network topology analysis, and DAVID platform was used to predict the signaling pathways of RGOL for the treatment of renal fibrosis. **Result:** A total of 7 differential metabolites involving 8 metabolic pathways were identified in RGOL for the treatment of renal fibrosis. The network pharmacology revealed that 36 key components in RGOL were related to 7 differential metabolites, mainly ginsenosides, notoginsenosides and nucleotides. Based on the herbs-components-targets-pathways network, a total of 23 key targets related to the treatment of renal fibrosis by RGOL were highlighted, which together with the differential metabolites were involved in linoleic acid metabolism, arginine biosynthesis, tricarboxylic acid cycle (TCA), arginine and proline metabolism and other pathways. **Conclusion:** Based on metabolomics and network pharmacology, this study preliminarily identified 7 differential metabolites, 36 potential pharmacodynamic components and 23 key targets and 4 key pathways in RGOL for the treatment of renal fibrosis, providing an experimental basis for the clinical application and mechanism study of this preparation.

**[Keywords]** Renshen Guben oral liquids; metabolomics; network pharmacology; renal fibrosis; ultra-high performance liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry (UPLC-QQQ-MS/MS); metabolic pathways

慢性肾病(CKD)是公共卫生面临的一个重大挑战,目前世界上约有10%的人口患有此病,肾纤维化是CKD发展到终末期的共同病理变化过程,是多种进展性CKD的共同结果<sup>[1-2]</sup>。目前,临床用于治疗肾纤维化方面尚无特效药,绝大多数化药均存在一定的肝肾损伤。中成药及天然药物往往药性温和,具有较少不良反应,对于需长期服药维持的慢性疾病具有良好效果。

中医学将慢性肾脏病归属为“水肿、虚劳、癃闭、关格”范畴。肾纤维化病机多为本虚标实,以脾肾虚损为本虚,以浊毒、湿热、瘀血为标实,故中医治疗当以补气、温阳、滋阴养血为主<sup>[3]</sup>。人参固本口服液是由六味地黄丸加味而成,由人参、生地黄、熟地黄、山茱萸、山药、牡丹皮、泽泻、茯苓、天冬、麦冬10味中药组成。其中人参为君药,能大补元气,固脱生津;生地黄、熟地黄

能滋阴补肾、填精益髓;山茱萸能补益肝肾;山药能补益脾阴;天冬、麦冬可以滋阴润燥,具有抗疲劳、耐缺氧提高机体免疫力、清除自由基和抗脂质过氧化等作用<sup>[4]</sup>。临床用于肺肾阴虚气弱咳嗽、肾病综合征、气阴虚型慢性肾炎、白细胞减少等的治疗以及对气阴虚型肺结核进行辅助治疗<sup>[5-6]</sup>。研究表明,人参固本口服液联合泼尼松治疗肾病综合征疗效显著<sup>[7]</sup>,对阴虚模型动物滋阴补肾及抗氧化作用明显,可改善因肾虚所致内分泌腺体萎缩,平衡生理功能失调,并提高机体免疫<sup>[8]</sup>。

本课题组前期研究表明,人参固本口服液能有效调节肾纤维化小鼠炎症和肾功能相关蛋白的表达,但其通过调控代谢改善肾纤维化的具体作用机制尚未完全阐明。因此本研究为探索人参固本口服液治疗肾纤维化过程中代谢物与生理病理变化

的联系,基于单侧输尿管结扎法构建小鼠肾纤维化模型,采用代谢组学结合网络药理学技术,开展人参固本口服液治疗肾纤维化的作用机制研究,为临床治疗肾纤维化提供科学依据及实验基础,为探索中药复方的作用机制提供方法和策略。

## 1 材料

ACQUITY UPLC I-Class 型超高压液相色谱仪、Xevo TQ-S 型三重四极杆质谱仪、ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱(美国 Waters 公司),Eppendorf epMotion 5070/f 型移液工作站(德国 Humburg 公司),H1850R 型离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司),超高效液相色谱-三重四极杆-串联质谱联用法(UPLC-QQQ-MS/MS)代谢组学分析委托上海麦特绘谱公司完成。

人参固本口服液(鲁南厚普制药有限公司,10 mL/支,国药准字 Z10940013,批号 20201111),Q300 全靶向定量检测试剂盒(深圳市绘云生物科技有限公司,批号 R21009),异氟醚(青岛欧博方医药科技有限公司,批号 153717015),甲酸、甲醇、乙腈、异丙醇均为质谱纯,其余试剂为分析纯。

SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠 36 只,8 周龄,体质量(20±2)g,购自北京斯贝福生物技术有限公司,许可证号 SCXK(京)2019-0010。动物饲养于中国中医科学院西苑医院 SPF 级实验动物室,自然昼夜节律光照环境下,相对湿度 45%~55%,温度(22±2)°C,自由饮食,实验前适应性喂养 7 d。实验动物的相关操作符合实验动物管理条例。动物实验已经中国中医科学院西苑医院动物伦理委员会批准,批准编号 2021XLC001-2。

## 2 方法

**2.1 人参固本口服液浸膏粉的制备** 人参固本口服液由人参、生地黄、熟地黄、山茱萸、山药、泽泻、牡丹皮、茯苓、麦冬、天冬 10 味中药组成,按该制剂国家标准[WS3-260(Z-050)-2004(Z)]配比 1:2:2:2:4:2:2:2:2:2 进行制备。牡丹皮采用水蒸气蒸馏法提取挥发油,药渣及药液备用。人参、山茱萸用 10 倍量 60% 乙醇回流提取 2 次,第 1 次 1.5 h,第 2 次 1 h,合并乙醇液,减压过滤,滤液与药渣备用。取上述 2 项药渣,与其余 7 味加 10 倍水煎煮 2 次,第 1 次 1.5 h,第 2 次 1 h,减压过滤,合并煎液,减压浓缩,得到浸膏粉(4 g 生药≈1 g 浸膏粉),临用时每 0.42 g 加 1 mL 蒸馏水溶解。

**2.2 分组、造模及给药** C57BL/6 小鼠随机分为空白组、模型组、人参固本口服液组,每组 12 只。人

参固本口服液组按照临床等效剂量,小鼠等效剂量为 94.5 g/70 kg×12.33=16.6 g·kg<sup>-1</sup>,即灌胃给予浸膏粉 4.2 g·kg<sup>-1</sup>,1 d/次,连续灌胃 14 d,空白组、模型组灌胃给予等量的蒸馏水。除空白组外,其余各组小鼠均实施单侧肾输尿管结扎手术。小鼠用异氟醚麻醉,腹部备皮消毒后沿左侧腹方向开口逐层分离暴露左侧肾脏及左输尿管,近肾盂端和近输尿管端分别结扎,结扎点之间剪断输尿管,无渗血后丝线缝合关腹,小鼠完全苏醒后分笼饲养,连续 3 d 腹腔注射青霉素钠,预防感染。模型组小鼠出现肾脏组织纤维化病变,具体表现为肾小管扩张、间质炎细胞浸润、肾小管上皮细胞空泡变,提示造模成功<sup>[9]</sup>。

**2.3 尿液样品的采集与处理** 在模型建立的第 14 天将各组小鼠放置于代谢笼中,收集 12 h 尿液,于 3 000 r·min<sup>-1</sup>离心(离心半径 8 cm)15 min,取上清液于-80 °C 保存备用。分析前在室温条件下解冻,取原始尿液样本,每个样品中取 20 μL 混合作为质量控制(QC)样本。尿液与 QC 样品按文献[10-12]方法处理。

**2.4 色谱条件** ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm×100 mm,1.7 μm),0.1% 甲酸水溶液为流动相 A,乙腈:异丙醇(70:30)为流动相 B,梯度洗脱(0~1 min,5%B;1~5 min,5%~30%B;5~9 min,30%~50%B;9~11 min,50%~78%B;11~13.5 min,78%~95%B;13.5~14 min,95%~100%B;14~16 min,100%B;16~16.1 min,100%~5%B;16.1~18 min,5%B),柱温 40 °C,进样室温度 10 °C,流速 0.4 mL·min<sup>-1</sup>,进样量 5 μL。

**2.5 质谱条件** 采用电喷雾离子源(ESI),正、负离子采用多反应检测扫描(MRM)模式检测。正离子裂解电压 1.5 kV,负离子裂解电压 2 kV,离子源的温度 150 °C,脱溶剂气温度为 550 °C,脱溶剂气流速 1 000 L·h<sup>-1</sup>。质谱采集范围 *m/z* 50~900。

**2.6 代谢组学分析** 使用 TMBQ v1.0 软件对 UPLC-QQQ-MS/MS 尿液分析结果进行峰值提取、峰对齐和归一化等预处理。通过 iMAP v1.0 平台进行主成分分析(PCA)及正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA)。满足组间差异倍数(FC)>1.2 或<0.83,变量投影重要性(VIP)值>1 且 *P*<0.05 时,提示该物质为组间差异性代谢物。通过 Metaboanalyst 5.0 软件平台(<https://www.metaboanalyst.ca/>)进行差异代谢物相关代谢通路富集分析。

**2.7 人参固本口服液治疗肾纤维化网络药理学分析**  
**2.7.1 RSGB 治疗肾纤维化潜在靶点预测** 将课题组前期鉴定的人参固本口服液中所含化合物导入

TCMIP v2.0平台筛选相似性分数 $\geq 0.8$ 的基因。在基因数据库(GeneCards, <https://www.genecards.org/>)中通过关键词“Renal fibrosis”检索疾病相关靶点。通过在线韦恩图(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>)构建药物及疾病靶点的交集基因集。

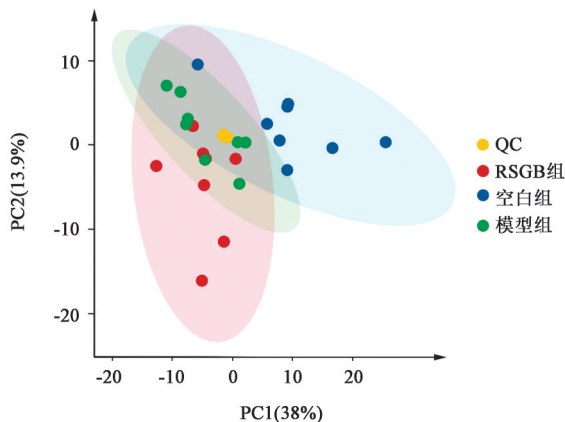
**2.7.2 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络分析** 将2.7.1项获得的交集基因集导入蛋白质相互作用数据库(<https://cn.string-db.org/>),选择“multiple names”,在“organism”中选择“homo sapiens”进行检索,设置“highest confidence $\geq 0.7$ ”获取靶基因相互作用网络图。

**2.7.3 京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析** 将交集基因集上传至功能注释生物信息学分析数据库(DAVID, <https://david.ncifcrf.gov/>),以“homo sapiens”为研究物种,选择京都基因与基因组百科全书(KEGG)进行通路富集分析,以 $P < 0.05$ 为筛选条件获得相关结果。

### 3 结果

#### 3.1 UPLC-QQQ-MS/MS数据的多元统计分析

UPLC-QQQ-MS/MS分别在正、负离子模式下对各组小鼠尿液进行代谢组学分析,总离子流图见增强出版附加材料。PCA结果显示,空白组、模型组及人参固本口服液组之间在一定程度上体现出互相分离的趋势,表明药物治疗对肾纤维化小鼠的代谢具有一定调控作用,见图1。OPLS-DA结果显示空白组与模型组、模型组与人参固本口服液组彼此分离,各实验组的组内样本相互之间聚集程度明显,随机置换测试( $n=200$ )结果显示,参数均满足 $R^2Y/Q^2$ 趋近于1,表明各组模型均无过度拟合,具有较好的解释及预测能力,见图2。



注:RSGB组.人参固本口服液组(图3同)

图1 不同组别的PCA散点

Fig. 1 PCA score plots of all groups

**3.2 差异代谢物挖掘及相关代谢途径富集** 按 $FC > 1.2$ 或 $< 0.83$ ,VIP $> 1$ 和 $P < 0.05$ 筛选得到7个差异代谢物,分别为L-精氨酸、马尿酸、麦芽三糖、亚油酸、二氢尿苷酸、莽草酸、顺式乌头酸。与空白组比较,模型组小鼠顺式乌头酸水平显著降低,其余6种代谢物水平均显著升高,经过人参固本口服液治疗后,这些差异代谢物水平均有明显回调( $P < 0.05$ ),见表1。通过MetaboAnalyst 5.0平台对7个差异代谢物进行通路富集分析,共筛选出8条代谢通路,主要涉及亚油酸代谢、精氨酸生物合成、三羧酸循环(TCA)等,见图3。

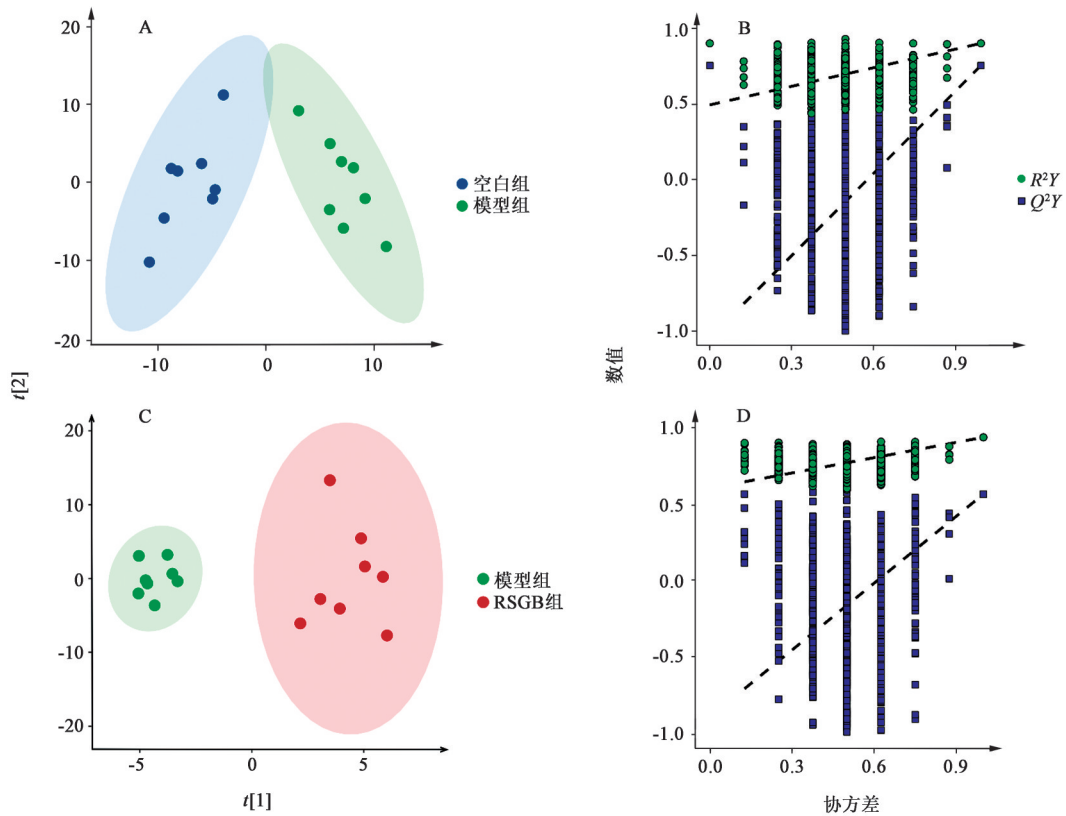
#### 3.3 人参固本口服液治疗肾纤维化的网络药理学研究

**3.3.1 潜在靶点预测** 通过TCMIP v2.0平台对课题组之前所鉴定的人参固本口服液成分进行靶标预测,得到人参固本口服液化学成分的潜在作用靶点1280个。借助GeneCards数据库获取6581个与肾纤维化相关靶点。二者交集靶点722个,韦恩图见增强出版附加材料。

**3.3.2 PPI网络构建** 将722个交集靶点导入蛋白质相互作用网络平台,筛选交互作用得分 $\geq 0.7$ 的靶点,得到671个靶点,利用Cytoscape 3.8.3进行可视化分析,构建PPI网络。以“连接度”的2倍中位数,“紧密度”“介度”的中位数为卡值,选取同时满足3个卡值的节点作为网络的核心靶点,最终得到138个核心靶点,PPI网络见增强出版附加材料。

**3.3.3 KEGG功能富集分析** 使用DAVID在线平台对138个核心基因进行通路富集分析,共富集得到200条信号通路,其中有18条通路为机体物质代谢通路。在前15条通路中,与代谢组学共同富集到TCA、精氨酸生物合成、精氨酸与脯氨酸代谢及亚油酸代谢等4条代谢通路,KEGG通路分析见增强出版附加材料。

**3.4 代谢组学与网络药理学联合分析** 经Cytoscape 3.8.3软件构建“药材-成分-靶点-通路”多维网络图,见增强出版附加材料。根据核心靶点所对应的化学成分靶点数目、靶点频次,筛选出36个核心成分,主要包括人参皂苷类、三七皂苷类及核苷酸类等。该网络体系中交集靶点共23个,其中苹果酸脱氢酶(MDH2)、琥珀酸脱氢酶A、B(SDHA、SDHB)、一氧化氮合酶1、2、3(NOS1、NOS2、NOS3)、人类乙醛脱氢酶(ALDH2)等关键靶点在人参固本口服液治疗肾纤维化中发挥了重要作用。



注:A.空白组和模型组 OPLS-DA;B.空白组和模型组 OPLS-DA 置换检验;C.模型组和人参固本口服液组 OPLS-DA;D.模型组和人参固本口服液组 OPLS-DA 置换检验

图2 OPLS-DA 筛选不同组别差异代谢物

Fig. 2 Screening of differential metabolites between groups by OPLS-DA

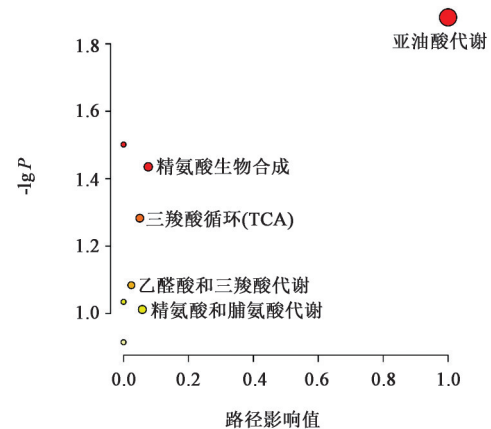
表1 不同组别尿液的內源性差异代谢物

Table 1 Endogenous differential metabolites in urine between groups

No.	代谢物	空白组/模型组				模型组/给药组			
		VIP 值	FC	变化趋势	P	VIP 值	FC	变化趋势	P
1	L-精氨酸	0.92	0.685	↓	0.026 7	1.48	1.335	↑	0.037 9
2	马尿酸	1.44	0.125	↓	0.000 1	1.23	2.592	↑	0.037 9
3	麦芽三糖	1.30	0.411	↓	0.004 6	1.84	3.248	↑	0.010 4
4	亚油酸	1.42	0.509	↓	0.002 9	1.49	1.331	↑	0.049 8
5	二氢尿苷酸	0.88	0.231	↓	0.006 9	2.82	13.934	↑	0.000 1
6	莽草酸	1.45	0.611	↓	0.002 1	2.45	1.751	↑	0.000 1
7	顺式乌头酸	1.68	2.238	↑	0.000 1	1.50	0.823	↓	0.010 4

#### 4 讨论

本研究首次采用 UPLC-QQQ-MS/MS 对人参固本口服液治疗肾纤维化的尿液进行靶向代谢组学的分析,结果显示人参固本口服液治疗肾纤维化可使L-精氨酸、马尿酸、麦芽三糖等7个生物标志物明显回调,提示人参固本口服液可以调节代谢紊乱,促进肾纤维化小鼠代谢水平趋于正常;同时对差异代谢物进



注:气泡颜色越红,P值越小;圆圈越大,路径影响值越大

图3 尿液差异生物标志物的代谢通路富集

Fig. 3 Metabolic pathway enrichment of urine differential biomarkers

行代谢通路分析,共得到8条通路,并结合网络药理学发现亚油酸代谢、精氨酸与脯氨酸代谢、精氨酸生物合成、TCA等4条通路被同时富集。

亚油酸代谢是肾小管上皮细胞的能量主要来源之一<sup>[13]</sup>,炎症和能量代谢紊乱将导致肾纤维化的发展<sup>[14]</sup>,因此恢复正常的肾组织脂肪酸代谢是治疗

肾纤维化的重要策略。此外,精氨酸是尿素循环产生的关键中间体,肾脏作为精氨酸的主要合成部位,在精氨酸代谢中起到关键作用,并有研究表明精氨酸代谢参与肾脏的炎症、组织修复和纤维化形成等过程<sup>[15-16]</sup>。本研究肾纤维化小鼠尿液中上述代谢物明显富集,人参固本口服液治疗后,其代谢水平明显上升,抑制了机体炎症和能量代谢反应的紊乱。在正常肾小管中,TCA是由线粒体中脂肪酸产生的中间产物驱动,这些中间产物支持TCA和氧化磷酸化来产生能量,当机体发生肾纤维化之后,TCA的中间产物会出现蓄积现象,导致能量代谢反应的紊乱,NLRP3炎症小体激活,使机体免疫力降低,加重肾纤维化<sup>[17-20]</sup>。本研究中肾纤维化小鼠体内出现顺式乌头酸等TCA中间产物蓄积现象,验证了这一说法,人参固本口服液通过缓解TCA代谢物积聚,有助于抑制炎症,调节能量代谢紊乱以及恢复机体的免疫力从而达到治疗肾纤维化的作用。

“药材-成分-靶点-通路”的网络结果筛选出人参固本口服液治疗肾纤维化的潜在效应物质,以人参皂苷、三七皂苷为主。人参皂苷Rb<sub>1</sub>通过腺苷酸活化蛋白激酶/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(AMPK/mTOR)途径改善体内外肾小管上皮细胞的自噬,也可以通过抑制免疫球蛋白重链结合蛋白(BIP)/真核翻译起始因子2 $\alpha$ (eIF2 $\alpha$ )/增强子结合蛋白同源蛋白(CHOP)信号传导介导的上皮间质转化(EMT)来改善肾纤维化的程度<sup>[21-22]</sup>。人参皂苷Rg<sub>1</sub>可通过抑制小鼠的还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶4(NOX4)和NOD样受体蛋白3(NLRP3)炎症小体的激活,来改善肾纤维化。并且人参皂苷Rg<sub>1</sub>和黄芪甲苷IV联合应用可以减轻肾纤维化大鼠的氧化应激反应,改善肾功能,且抑制转化生长因子- $\beta_1$ (TGF- $\beta_1$ )和Smads活性作用,调控TGF- $\beta_1$ /Smads信号通路,从而改善肾纤维化<sup>[23-25]</sup>。三七皂苷R<sub>1</sub>可通过下调丙二酰二醛氧化应激标记物和8-羟基鸟嘌呤水平以及过氧化物抗氧化酶水平,从而抑制肾缺血再灌注损伤诱导的炎症细胞因子的产生<sup>[26]</sup>。提示皂苷类成分可能是人参固本口服液治疗肾纤维化的主要效应物质。“药材-成分-靶点-通路”网络和PPI网络分析结果筛选得到MDH2、SDHA、SDHB、NOS1、NOS2、NOS3、ALDH2等23个人参固本口服液治疗肾纤维化的潜在核心靶点,在肾纤维化的模型中发现肾小管中NOS1、NOS2、NOS3、ALDH2的表达会显著减少,使用NOS的抑制剂可导致毛细血管损伤且加速肾纤维化,抑制ALDH2的表达可加重肾损伤<sup>[27-29]</sup>,表明人参固本口服液可能通过调节NOS1、

NOS2、NOS3、ALDH2的表达来治疗肾纤维化。

细胞内生命活动由基因、蛋白质及小分子代谢物共同参与,上游蛋白质等大分子的功能性变化最终体现在代谢层面<sup>[30-31]</sup>。本研究结合代谢组学和网络药理学,分析差异代谢物和潜在基因靶点的相关性,探讨人参固本口服液治疗肾纤维化的潜在作用机制,确定了人参固本口服液治疗肾纤维化中7个差异代谢物、36个潜在药效成分、23个核心靶点和4条关键通路,为人参固本口服液临床治疗肾纤维化提供理论依据。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

#### [参考文献]

- [1] XIANG Z, SUN H, CAI X, et al. The study on serum and urine of renal interstitial fibrosis rats induced by unilateral ureteral obstruction based on metabolomics and network analysis methods[J]. Anal Bioanal Chem, 2016, 408(10):2607-2619.
- [2] GAO C, BAI W F, ZHOU H B, et al. Metabolomic assessment of mechanisms underlying anti-renal fibrosis properties of petroleum ether extract from *Amygdalus mongolica* [J]. Pharm Biol, 2021, 59(1): 565-574.
- [3] 张明昊, 俎兆轩, 张童, 等. 金匱肾气丸对肾纤维化模型大鼠的干预作用及机制[J]. 中国药房, 2022, 33(15):1848-1853, 1859.
- [4] 高玉敏, 王名洲, 张文高, 等. 人参固本口服液研究[J]. 山东中医学院学报, 1994(5):348-351, 354.
- [5] 李冰冰, 王崑, 支运霞, 等. 基于网络药理学和分子对接分析人参固本口服液的物质基础和机制研究[J]. 河北医药, 2022, 44(2):297-302.
- [6] 王艺璇, 谭影影, 陈美琳, 等. 基于网络药理学和分子对接技术的人参固本口服液治疗乳腺癌作用机制研究[J]. 中国医院用药评价与分析, 2022, 22(3): 265-271.
- [7] 程国良, 张春铭, 林佳如. 人参固本口服液联合泼尼松治疗成人肾病综合征的疗效观察[J]. 世界中医药, 2019, 14(9):2325-2328.
- [8] 周恩平, 李运伦, 杨勇, 等. 人参固本口服液的药理实验研究[J]. 山东生物医学工程, 1997(4):45-48.
- [9] CHEVALIER R L, FORBES M S, THORNHILL B A. Ureteral obstruction as a model of renal interstitial fibrosis and obstructive nephropathy [J]. Kidney Int, 2009, 75(11):1145-1152.
- [10] JIA H, LIU C, LI D, et al. Metabolomic analyses reveal new stage-specific features of COVID-19 [J]. Eur Respir J, 2022, 59(2):2100284.

- [11] KE Q, SHI C, LV Y, et al. SGLT2 inhibitor counteracts NLRP3 inflammasome via tubular metabolite itaconate in fibrosis kidney[J]. *FASEB J*, 2022, 36(1): e22078.
- [12] XIE G, WANG L, CHEN T, et al. A metabolite array technology for precision medicine [J]. *Anal Chem*, 2021, 93(14): 5709-5717.
- [13] 马宏峰. 亚油酸对高脂小鼠脂质代谢的影响及其机制研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2007.
- [14] 张锐, 曾嘉, 邓志军, 等. PGC1 $\alpha$ 通过调控肾组织脂肪酸代谢在肾纤维化中发挥枢纽作用[J]. *中南大学学报: 医学版*, 2022, 47(6): 786-793.
- [15] BROSNAN M E, BROSNAN J T. Renal arginine metabolism[J]. *J Nutr*, 2004, 134(10 Suppl): 2791S-2797S.
- [16] BAI W, LIU Q, CHANG H, et al. Metabolomics reveals the renoprotective effect of *n*-butanol extract and amygdalin extract from *Amygdalus mongolica* in rats with renal fibrosis [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2021, 49(1): 556-564.
- [17] 田刚, 李超, 翟园园, 等. 基于血清靶向代谢组学研究蒲地蓝消炎口服液对脂多糖诱导的急性肺炎小鼠能量代谢的影响[J]. *南京中医药大学学报*, 2021, 37(1): 120-125.
- [18] 展俊平, 王慧莲, 苗喜云, 等. 基于TCA循环关键酶测定研究督灸治疗早期强直性脊柱炎患者关节活动度的疗效及机制[J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2022, 24(9): 3548-3555.
- [19] TANNAHILL G M, CURTIS A M, ADAMIK J, et al. Succinate is an inflammatory signal that induces IL-1 $\beta$  through HIF-1 $\alpha$ [J]. *Nature*, 2013, 496(7444): 238-242.
- [20] 俞晓忆, 周芷若, 谢媛, 等. 糖尿病肾病细胞模型三羧酸循环代谢异常和机制初探[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2017, 22(5): 481-489.
- [21] LIU X, CHEN J, SUN N, et al. Ginsenoside Rb<sub>1</sub> ameliorates autophagy via the AMPK/mTOR pathway in renal tubular epithelial cells *in vitro* and *in vivo*[J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 163: 996-1009.
- [22] NI Y H, DENG H F, ZHOU L, et al. Ginsenoside Rb<sub>1</sub> ameliorated bavachin-induced renal fibrosis via suppressing Bip/eIF2 $\alpha$ /CHOP signaling-mediated EMT [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 872474.
- [23] DU N, XU Z, GAO M, et al. Combination of ginsenoside Rg<sub>1</sub> and astragaloside IV reduces oxidative stress and inhibits TGF- $\beta$ <sub>1</sub>/Smads signaling cascade on renal fibrosis in rats with diabetic nephropathy [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2018, 12: 3517-3524.
- [24] SHEN X, DONG X, HAN Y, et al. Ginsenoside Rg<sub>1</sub> ameliorates glomerular fibrosis during kidney aging by inhibiting NOX4 and NLRP3 inflammasome activation in SAMP8 mice[J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 82: 106339.
- [25] XIE X S, YANG M, LIU H C, et al. Influence of ginsenoside Rg<sub>1</sub>, a panaxatriol saponin from *Panax notoginseng*, on renal fibrosis in rats with unilateral ureteral obstruction[J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2008, 9(11): 885-894.
- [26] ZHU T, WAN Q. Pharmacological properties and mechanisms of notoginsenoside R<sub>1</sub> in ischemia-reperfusion injury[J]. *Chin J Traumatol*, 2023, 26(1): 20-26.
- [27] SUN Y B, QU X, LI X, et al. Endothelial dysfunction exacerbates renal interstitial fibrosis through enhancing fibroblast Smad3 linker phosphorylation in the mouse obstructed kidney [J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e84063.
- [28] TANG S, HUANG T, JING H, et al. Aldehyde dehydrogenase-2 acts as a potential genetic target for renal fibrosis[J]. *Life Sci*, 2019, 239: 117015.
- [29] MIAO C, ZHU X, WEI X, et al. Pro- and anti-fibrotic effects of vascular endothelial growth factor in chronic kidney diseases[J]. *Ren Fail*, 2022, 44(1): 881-892.
- [30] 黄萍, 周祯祥, 李德顺, 等. 基于代谢组学和网络药理学探讨细辛-干姜药对对COPD大鼠肺、肝脂质代谢的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(18): 152-160.
- [31] 卞振华, 张文明, 唐静月, 等. 基于血清代谢组学和网络药理学研究酸枣仁提取物治疗失眠的效应物质及作用机制[J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(1): 188-202.

[责任编辑 李嘉麟]