DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20250917.001
网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/46.1089.R.20250917.1652.002

# 基于网络药理学、分子对接及动物实验探讨黄连治疗糖尿病肾病的作用机制

范超文[1],向 磊[2],韩慧子[3],柯尊丽[1],田维毅[1],俞 琦[1]✉
(1.贵州中医药大学基础医学院,贵州 贵阳 550025;2.贵州瑞和制药有限公司,贵州 黔南布依族苗族自治州 521200;3.山东工程职业技术大学,山东 济南 251600)

[摘要] **目的**:基于网络药理学、分子对接及动物实验探究黄连改善糖尿病肾病(diabetic kidney disease,DKD)的作用机制。**方法**:采用网络药理学和分子对接预测黄连作用于DKD的核心化合物和靶点。通过高脂饮食结合腹腔注射链脲佐菌素建立DKD大鼠模型以验证预测结果。实验分为正常(CON)组、模型(MOD)组及黄连低、中、高剂量组和二甲双胍(MET)组。称取大鼠体重,计算肾体比率;生化检测大鼠空腹血糖(fasting blood glucose,FBG)、24 h尿蛋白量(24-hour urinary total protein,24 h-UTP)以及血清肌酐(serum creatinine,SCR)、尿酸(uric acid,UA)、血尿素氮(blood urea nitrogen,BUN)水平;H&E、PAS和Masson染色及扫描电子显微镜观察大鼠肾组织病理结构变化;ELISA检测血清IL-1β、IL-18水平;Western blot检测肾组织TXNIP、Caspase-1、GSDMD蛋白表达水平。**结果**:网络药理学结果显示,黄连与DKD的交集靶点主要富集在NLR、MAPK和TNF信号通路。分子对接分析显示黄连活性成分黄连碱和甲基黄连碱与细胞焦亡核心靶点的结合亲和力最强。动物实验结果显示,相比于CON组,MOD组大鼠体重减少;肾体比率、FBG、24 h-UTP以及SCR、UA、BUN水平明显升高($P<0.05$);病理染色和扫描电子显微镜观察到肾小球系膜基质增多、基底膜增厚、足突广泛融合及足细胞丢失;IL-1β、IL-18、TXNIP、Caspase-1、GSDMD蛋白表达明显升高($P<0.05$)。与MOD组相比,黄连各剂量组及MET组的以上病理体征明显改善,细胞焦亡相关蛋白表达明显降低($P<0.05$)。**结论**:黄连可改善DKD的肾功能损伤及病理结构,并通过抑制Caspase-1途径缓解DKD的细胞焦亡。

[关键词] 黄连;糖尿病肾病;细胞焦亡;网络药理学;分子对接
[中图分类号] R285.5 [文献标志码] A [文章编号] 2097-5953(2026)20-1563-11

## Mechanism of Huang Lian treating diabetic kidney disease based on network pharmacology, molecular docking, and animal experiments

FAN Chaowen[1], XIANG Lei[2], HAN Huizi[3], KE Zunli[1], TIAN Weiyi[1], YU Qi[1]✉
(1. *School of Basic Medicine, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang* 550025, *China*; 2. *Guizhou Ruihe Pharmaceutical Co., Ltd., Qiannan Buyi and Miao Autonomous Prefecture* 521200, *China*; 3. *Shandong Vocational and Technical University of Engineering, Jinan* 251600, *China*)

[*Foundation Project*]: *This study was supported by the National Natural Science Foundation of China* (82060824); *Guizhou Provincial Department of Science and Technology Foundation* [*Qiankehe platform-KXJZ*(2024)034, *Qiankehe Foundation-ZK*(2021) *general* 542]
[*Author*] *FAN Chaowen, E-mail*: 760281655@qq.com.
[*Correspondence to*]: *YU Qi, Professor, Doctoral Supervisor, E-mail*: 756128099@qq.com.
*Received*: 2025-06-11 *Revised*: 2025-09-02 *JHMU*, 2026;32(20):1563-1573

**View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.**

[Abstract] **Objective**: To investigate the mechanism of Huang Lian improving diabetic kidney disease (DKD) through network pharmacology, molecular docking, and animal experiments. **Methods**: Network pharmacology and molecular docking were

[基金项目] 国家自然科学基金(82060824);贵州省科学技术基金[黔科合平台KXJZ(2024)034、黔科合基础-ZK(2021)一般 542]
[作者简介] 范超文,E-mail:760281655@qq.com。
[通讯作者] 俞琦,教授,博士研究生导师,E-mail:756128099@qq.com。
[收稿日期] 2025-06-11 [修回日期] 2025-09-02 网络出版时间:2025-09-18 07:09:57

employed to predict the core compounds and targets of Huang Lian in the treatment of DKD. A DKD rat model was established using a high-fat diet combined with intraperitoneal injection of streptozotocin to validate the predictions. The rats were divided into the normal control (CON) group, the model (MOD) group, the low-, medium-, and high-dose Huang Lian groups, and the metformin-treated (MET) group. Body weight and kidney-to-body weight ratio of the rats were measured. Levels of fasting blood glucose (FBG), 24-hour urinary total protein (24 h-UTP), serum creatinine (SCR), uric acid (UA), and blood urea nitrogen (BUN) levels were assessed biochemically. Histopathological changes in kidney tissues were examined using H&E, PAS, and Masson staining, and scanning electron microscopy. Serum levels of IL-1β and IL-18 were determined by ELISA. Protein expression levels of TXNIP, Caspase-1, and GSDMD in kidney tissues were detected by Western blot. **Results**: Network pharmacology analysis revealed that the overlapping targets of Huang Lian and DKD were mainly enriched in the NLR, MAPK, and TNF signaling pathways. Molecular docking showed that the active compounds coptisine and worenine of Huang Lian exhibited the highest binding affinities to key pyroptosis-related targets. Animal experiments showed that compared to the CON group, MOD group rats exhibited decreased body weight; significantly elevated kidney-to-body weight ratio, FBG, and 24 h-UTP, as well as SCR, UA, and BUN levels ($P<0.05$); histopathological observations and scanning electron microscopy revealed increased mesangial matrix, thickened glomerular basement membrane, extensive foot process fusion, and podocyte loss. Additionally, protein expression levels of IL-1β, IL-18, TXNIP, Caspase-1, and GSDMD were significantly upregulated ($P<0.05$). Compared to the MOD group, all Huang Lian-treated groups and the MET group showed significant improvements in the aforementioned pathological parameters, with significantly downregulated expression of pyroptosis-related proteins($P<0.05$). **Conclusion**: Huang Lian can ameliorate renal dysfunction and pathological structural damage in DKD by suppressing pyroptosis *via* inhibiting the Caspase-1 pathway.

[**Key words**] Huang Lian; Diabetic kidney disease; Cell pyroptosis; Network pharmacology; Molecular docking

糖尿病肾病(diabetic kidney disease,DKD)是糖尿病最常见的微血管并发症之一。其典型病理表现为肾小球基底膜增厚、系膜基质增多和足细胞减少[1]。预计到2030年全球糖尿病患病人数将达到6.43亿,约30%～40%的病例将发展为DKD[2]。DKD的发病机制错综复杂,涉及多种代谢、血流动力学和炎症免疫机制的共同作用,而细胞焦亡在肾脏炎症的形成中扮演着重要角色,现已成为改善DKD研究中的热点机制之一。

DKD属于中医消渴病中的下消范畴,以热邪入肾络,煎熬津液生湿,湿热搏结日久生痰成浊,阻滞气血,损伤肾络为主要病机。当肾络受损时,精微物质失于固摄,临床上常表现为水肿、蛋白尿等DKD的典型体征[3]。本课题组前期研究发现,黄连解毒汤可明显改善2型糖尿病的肠道屏障和胰岛损伤[4],也可通过调控NLRP3信号通路抑制动脉粥样硬化的主动脉细胞焦亡[5]。而黄连是黄连解毒汤中的君药,为清热燥湿,泻火解毒的苦寒之品,自古皆有治疗消渴的案例。如《肘后方》治消渴单用黄连作蜜丸服用;《本草纲目》记载:“治消渴,用酒蒸黄连”。在现代药理学研究中,从黄连中提取的多种天然活性成分(尤其是小檗碱)在DKD的治疗上均取得了一定进展[6]。此外,细胞焦亡引起的过度炎症与“热毒内蕴”的病机高度一致,也正契合黄连泻火解毒的功效[7]。

本研究采用网络药理学及分子对接分析预测黄连与DKD的细胞焦亡机制是否存在联系,并通过高脂饮食结合腹腔注射链脲佐菌素(streptozotocin,STZ)建立DKD大鼠模型以验证预测结果,旨在为黄连治疗DKD提供新的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

**1.1.1 实验动物** 共选取SPF级雄性SD大鼠76只,体重为180～300 g,周龄为7周。实验动物购于北京斯贝福生物科技有限公司[许可证号:SCXK(京)2019-0010]。动物饲养于贵州中医药大学实验动物研究中心[实验动物使用许可证号:syxk(黔)2021-0005),环境条件符合SPF级动物饲养标准。所有实验操作严格按照贵州中医药大学动物实验福利伦理审查委员会的规定执行(伦理编号:20220016)。

**1.1.2 药物及试剂**

**1.1.2.1 药物** 黄连购于北京同仁堂(产地:安徽亳州,批号:210401),经贵州中医药大学生药教研室鉴定为毛茛科植物黄连*Coptis chinensis* Franch.的干燥根茎,符合《中华人民共和国药典》2020年版收载标准。盐酸二甲双胍片(规格:0.5 g/片)由江苏默克制药有限公司生产(批号:ACD2142),研磨溶于蒸馏水用于阳性对照组给药。

**1.1.2.2 试剂和抗体** STZ(S0130)购于西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司;H&E(G1003)、Masson(G1006)、PAS(G1008)等染色试剂盒以及通用型组织固定液(G1101)、分化液(G1039)、电镜固定液(G1102)、PBS缓冲液(G0002)、1×TBST缓冲液(G2150)购于武汉赛维尔生物科技有限公司;大

鼠血清肌酐(serum creatinine,SCR)试剂盒(C011-2-1)、尿酸(uric acid,UA)试剂盒(C012-2-1)以及尿蛋白试剂盒(C035-2-1)购于南京建成生物工程研究所;大鼠血尿素氮(blood urea nitrogen,BUN)试剂盒(BC1535)和RIPA裂解液(R0010)购于北京索莱宝科技有限公司;大鼠白细胞介素-1β(interleukin-1,IL-1β)ELISA试剂盒(03-2023)、IL-18 ELISA试剂盒(03-2023)购于上海酶联生物科技有限公司;凝胶快速制备试剂盒(PG212)、ECL化学发光检测试剂盒(SQ202)、BCA蛋白浓度测定试剂盒(ZJ102)购于上海雅酶生物科技有限公司;抗β-actin(ABS132001)和山羊抗兔IgG-辣根过氧化物酶标记抗体(ABS20040)购于爱必信(上海)生物科技有限公司;抗膜打孔蛋白Gasdermin D(GSDMD,20770-1-AP)和抗Caspase-1(22915-1-AP)抗体购于武汉三鹰生物技术有限公司。

1.1.3 主要仪器 鱼跃血糖仪(江苏鱼跃医疗设备股份有限公司,590),多功能酶标仪(美国Thermo公司,1510-01061C),高通量组织研磨器(宁波新芝生物科技股份有限公司,18-G142),蛋白垂直电泳仪(美国Bio-Rad公司,G6004),低温离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司,H1850R),化学成像发光系统(美国Bio-Rad公司,ChemidocTM XRS)。

1.2 实验方法

1.2.1 网络药理学分析

1.2.1.1 黄连化合物筛选及已知靶点获取 以“Huang Lian”为关键词在BATMAN数据库中进行检索,同时设置Score cutoff≥0.84、调整后的$P$值<0.05、可药性分数≥0.1为筛选参数,得到具有已知靶点的化合物数据集[8]。从PubChem数据库中获取所有化合物的SMILES号,并将其导入SwissADME网站评估和预测化合物的ADME特性[9]。最终选取肠道吸收率为“高”以及同时满足五项类药性规则的化合物作为黄连的成分集,这些成分对应的已知靶点则作为成分靶点集。

1.2.1.2 DKD靶点收集与标准化 在GeneCards、DISEASES、TTD、CTD数据库中分别输入“Diabetic kidney disease”“Diabetic nephropathy”进行检索,以获取疾病相关靶点。将这些靶点进行合并、去重后基于Uniprot数据库标准化基因名得到疾病靶点集。

1.2.1.3 Venn分析及构建蛋白互作(protein protein interaction,PPI)网络 对成分靶点集和疾病靶点集中的基因名取交集得到交集靶点,通过微生信平台绘制Venn图[10]。将交集靶点输入STRING网站,设定物种为人类,置信分数≥0.4,同时去除游离节点,下载结果并导入Cytoscape软件中构建PPI网络图[11]。

1.2.1.4 京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes,KEGG)富集分析及筛选核心靶点和化合物 借助微生信在线工具对交集靶点进行KEGG富集分析,以调整后的$P$值<0.05为筛选标准,并取GeneRatio前20的信号通路绘制气泡图(排除癌症通路等无关通路,仅保留信号通路)。选取KEGG分析中与细胞焦亡相关的信号通路进一步探索。将富集在该信号通路下的基因进行PPI网络度值排序并作为研究的核心靶点,而作用于这些核心靶点的化合物则为核心化合物。

1.2.2 分子对接分析 分子对接分析全程在Anaconda的Python(v3.10.6)虚拟环境中完成。基于SMILES号,使用Molscrub(v0.1.1)批量生成化合物的3D结构模型,并进行能量最小化等优化操作。化合物的3D结构模型进一步通过Meeko(v0.6.1)进行处理,包括添加氢原子、计算Gasteiger电荷、识别可旋转键以及构建扭转树等步骤。从Uniprot数据库获取细胞焦亡核心靶点的3D模型。所得模型通过Pdbfixer(v1.11)进行修复与优化。随后,采用AMBER99SB力场在OpenMM(v8.2.0)中进行能量最小化处理。使用P2Rank(v2.5)预测经处理后的靶点蛋白模型的活性结合口袋,并选取评分与概率最高的口袋作为分子对接位点[12]。根据预测结果,在开源版PyMOL(v2.5.0)中使用插件GetBox获取对接网格盒子的中心坐标与尺寸参数,随后通过Meeko进行对接前处理。

批量分子对接分析采用QVina(v2.1)完成[13]。根据文献[14]设置Exhaustiveness最适参数为25,以获取所有核心化合物与所选核心靶点之间的最优结合构象及亲和力评分。将对接结果上传至Protein-Ligand Interaction Profiler在线平台以分析小分子-蛋白靶点复合物的相互作用模式。

1.2.3 动物实验验证

1.2.3.1 黄连水煎液制备 取黄连9 g的整数倍质量,于10倍质量的蒸馏水中浸泡30 min。武火煮沸后转文火煎煮30 min,纱布过滤得头煎药液。药渣再加入8倍质量的蒸馏水并重复上述操作,过滤得二煎药液。合并两次水煎液,置于水浴锅中浓缩至浓度为1.89 g/kg(高剂量)。过滤分装后,存放于−20 ℃冰箱中长期保存。

1.2.3.2 DKD大鼠模型建立 将76只雄性SD大鼠适应性饲养3 d后，随机选取6只作为正常（CON）组喂养基础饲料；其余70只作为造模组，喂食高脂高糖饲料。喂养4周后，所有大鼠禁食不禁水12 h。造模组腹腔注射30 mg/kg的STZ混合溶液，CON组注射同体积柠檬酸缓冲液。造模组继续高脂高糖饮食喂养8周后，收集造模组大鼠的24 h尿液，按试剂盒要求检测尿蛋白含量。最终，连续3次监测血糖≥16.7 mmol/L且24 h尿蛋白量（24-hour urinary total protein，24 h-UTP）＞30 mg的大鼠被判定为DKD造模成功[15]。

1.2.3.3 动物分组、给药及样本采集 剔除血糖或24 h-UTP不达标的大鼠，并排除造模和给药期间因死亡等原因无法继续实验的个体，最终筛选出30只成功构建DKD模型的大鼠，随机分为5组（$n$=6），分别为模型（MOD）组、黄连低剂量（HL-L）组、黄连中剂量（HL-M）组、黄连高剂量（HL-H）组和二甲双胍（MET）组。根据文献[16]中的换算方法，具体给药剂量为：HL-L组0.473 g/kg、HL-M组0.945 g/kg、HL-H组1.890 g/kg、MET组50 mg/kg[17]。灌胃体积统一为1 mL/100 g，CON组和MOD组给予同体积蒸馏水作为对照，每日上午大鼠进食后进行灌胃给药，连续6周，期间DKD模型大鼠继续喂养高脂高糖饲料直至实验结束。末次给药结束后，所有大鼠禁食不禁水24 h。在禁食12 h后检测空腹血糖（fasting blood glucose，FBG）值，随后将大鼠置于代谢笼中收集24 h尿液并记录总尿量。称取体重后，以30 mg/kg戊巴比妥钠腹腔注射麻醉大鼠，进行腹主动脉取血及双肾摘取。

1.2.3.4 大鼠FBG、肾体比率检测 使用采血针从大鼠尾尖静脉取血，将少量血液滴于血糖试纸上，并通过血糖仪读取血糖数值。若血糖仪显示“H1”，则默认记录为33.3 mmol/L。摘取肾脏后，用生理盐水漂洗干净，置于滤纸上吸干多余水分，随后使用精密电子秤称取肾脏湿重。计算肾体比的公式为：肾脏指数＝[肾脏质量（g）/体质量（g）]×100%。

1.2.3.5 大鼠24 h-UTP及BUN、SCR、UA等肾功能指标检测 将收集的24 h尿液以3 500 r/min离心10 min，取上清液。将冷冻保存的血清样品转移至4 ℃冰箱中过夜解冻后，3 000 r/min 4 ℃离心10 min，取上清。根据试剂盒说明书测定尿液中的24 h-UTP水平及血清中的BUN、SCR、UA含量。

1.2.3.6 ELISA检测大鼠血清IL-1β、IL-18水平 将冻存的血清样品转移至4 ℃冰箱中过夜解冻后，3 000 r/min 4 ℃离心10 min，取上清。根据试剂盒说明书，采用双抗体夹心ELISA对血清中的IL-1β和IL-18进行定量检测。

1.2.3.7 大鼠肾脏组织病理切片染色 将固定后的肾脏组织经梯度乙醇脱水、透明化处理，石蜡包埋后制备成石蜡切片，并于常温下保存备用。使用前对切片进行常规复水处理，随后分别进行H&E、PAS及Masson染色，最后在光学显微镜下观察并采集组织病理学图像。

1.2.3.8 大鼠肾脏组织扫描电子显微镜观察 将新鲜组织切块后投入电镜固定液中4 ℃固定。经0.1 mol/L磷酸缓冲液漂洗后，以1%锇酸室温避光后固定2 h，再次漂洗。组织依次经梯度乙醇脱水、丙酮过渡，与EPON 812包埋剂按比例渗透后包埋，60 ℃聚合48 h。制得树脂块后，用超薄切片机切片，铜网捞片。切片经醋酸铀和枸橼酸铅双染色后，在透射电子显微镜下观察并采集图像进行分析。

1.2.3.9 Western blot检测大鼠肾脏TXNIP、GSDMD和Caspase-1蛋白表达水平 取100 mg肾组织加入含蛋白酶和磷酸酶抑制剂的RIPA裂解液，冰上超声裂解后，经匀浆、离心获得上清液。采用BCA法计算浓度。取适量蛋白样品与5×loading buffer混合，100 ℃变性15 min后分装保存。根据目标蛋白分子量制备SDS-PAGE凝胶，每孔上样30 μg蛋白，160 V电泳后，在冰浴条件下使用PVDF膜（0.45 μm）进行湿转膜（280 mA，50 min）。转移蛋白后，用快速封闭液室温封闭40 min，TBST洗膜3次。抗β-actin（1∶10 000）、抗GSDMD（1∶5 000）、抗Caspase-1（1∶6 000）等一抗4 ℃孵育过夜，次日洗膜后室温孵育二抗1 h。ECL显色后，利用化学发光成像系统曝光并采集图像，Image Lab软件分析蛋白条带灰度值。

### 1.3 统计学处理

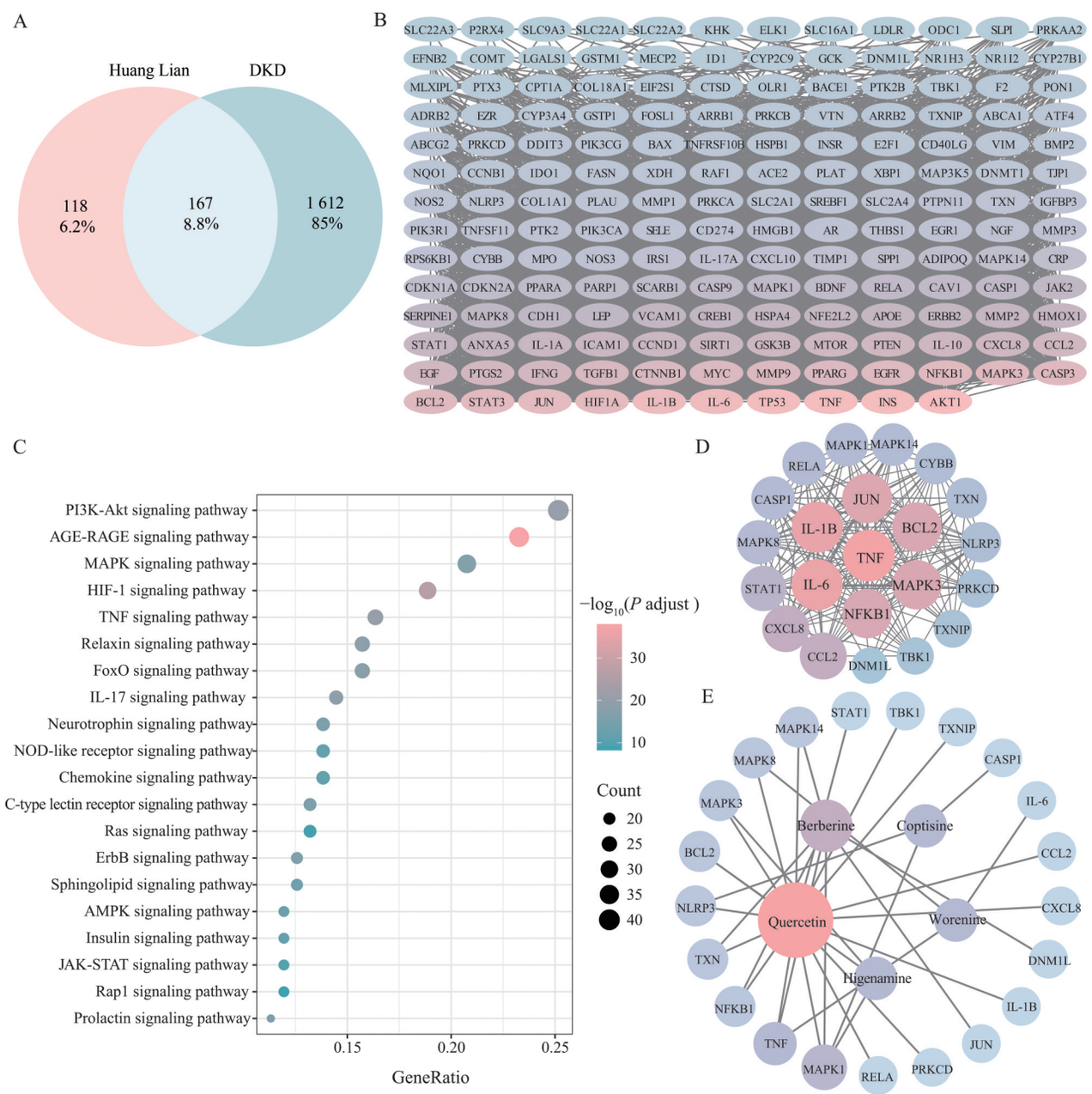
使用GraphPad Prism（v10.4.1）软件处理各组实验数据，计量数据以$\bar{x}\pm s$表示。组间比较采用单因素或双因素方差分析，事后多重比较当满足方差齐性时采用Tukey法，不满足方差齐性时则采用Games-Howell法。$P$＜0.05为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 网络药理学研究

黄连在BATMAN数据库中具有已知靶点的化合物共有26个，其中同时满足肠道吸收率为高以及五项类药性规则的化合物有13个。筛选后的黄连化合物与DKD的交集靶点共有167个（图1A）。交

集靶点输入STRING数据库并经Cytoscape分析及按度值排序后得到的PPI网络(图1B)。KEGG富集分析气泡图显示,交集靶点主要富集的焦亡相关信号通路包括NOD样受体(NOD-like receptor,NLR)信号通路、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase,MAPK)信号通路以及肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor,TNF)信号通路(图1C)。本研究选择最相关的NLR信号通路进行深入分析,将富集在该信号通路下的核心靶点进行PPI网络度值排序,排名前6位的靶点分别为TNF、IL-6、IL-1B、JUN、BCL2、MAPK3及NFKB1(图1D)。而作用于这些核心靶点的化合物共计5个,包括Berberine、黄连碱(Coptisine)、Higenamine、Quercetin、甲基黄连碱(Worenine),按化合物和靶点的度值关系进行排序(图1E)。



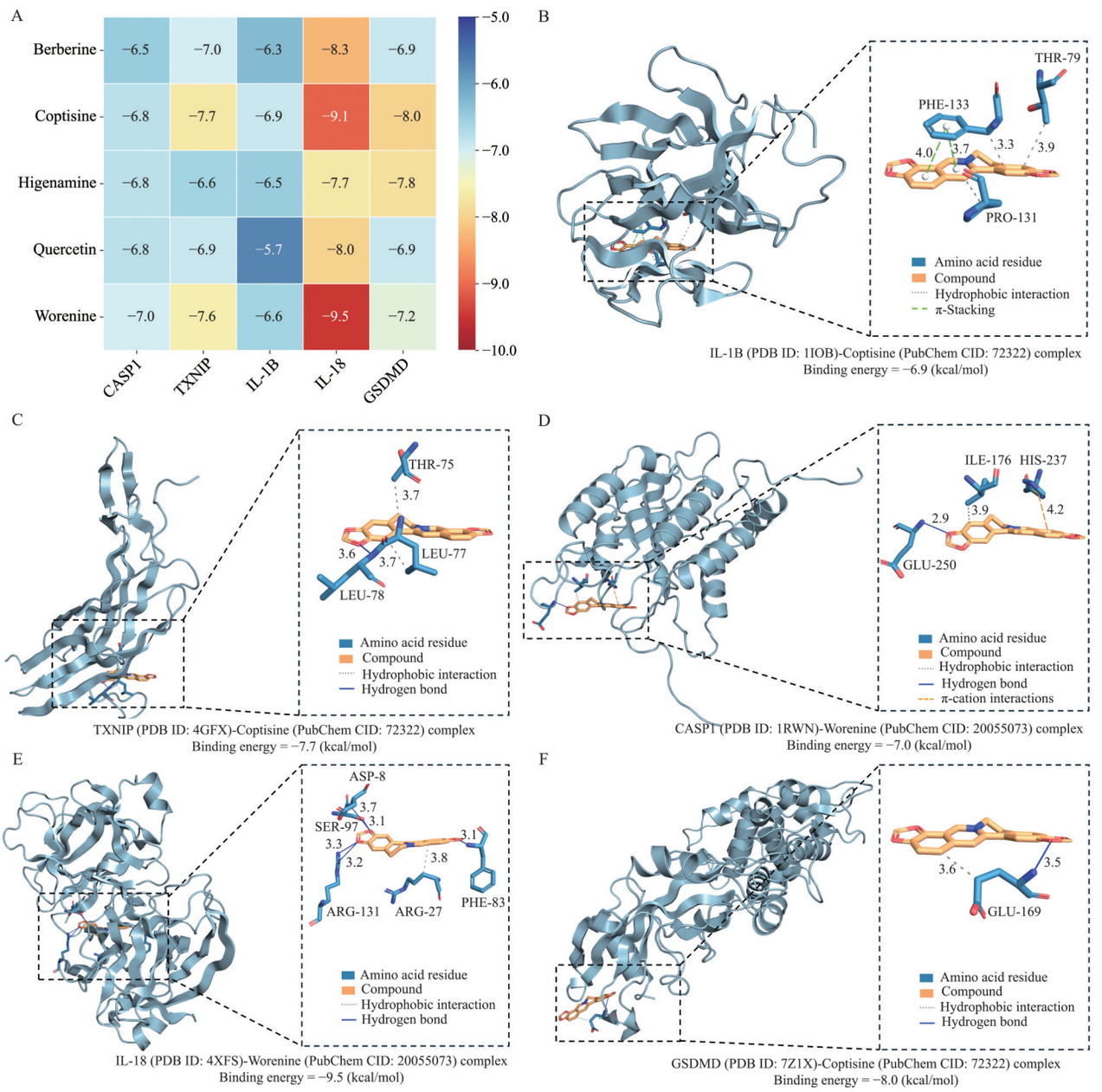

A:黄连和DKD交集靶点韦恩图;B:交集靶点PPI网络图;C:交集靶点的KEGG富集分析气泡图(仅显示GeneRatio前20的信号通路);D:富集于NOD样受体信号通路的核心靶点PPI网络图;E:作用于核心靶点的化合物-靶点网络图

**图1 黄连与糖尿病肾病的网络药理学分析**

**Fig 1 Network pharmacology analysis of Huang Lian and diabetic kidney disease**

### 2.2　分子对接分析

将细胞焦亡的核心靶点受体与黄连的核心化合物配体通过Qvina2进行两两分子对接，以最低结合能作为评估结合亲和力的指标。一般认为对接结合能＜－5 kcal/mol的配体与受体之间具有良好的结合亲和力，而＜－7 kcal/mol意味着两者的结合活性较强[18]。最低结合能热图（图2A）显示，所有核心化合物与靶点之间均有较好的结合潜力，其中Coptisine和Worenine与核心靶点间的结合亲和力最强（图2B～F），提示两者与焦亡靶点间的相互作用可能是黄连改善DKD的主要机制之一。




A：核心化合物和靶点最低结合能热图；B～E：IL-1B-Coptisine、TXNIP-Coptisine、CASP1-Worenine、IL-18-Worenine、GSDMD-Coptisine复合物3D互作图

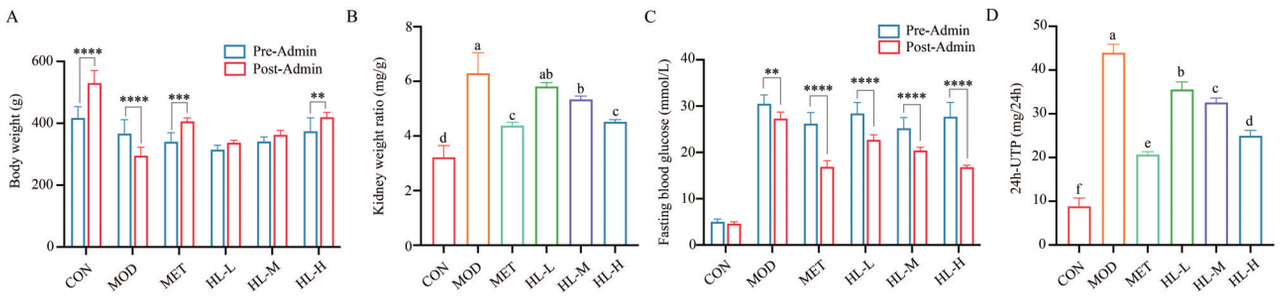
**图2　核心化合物与靶点的分子对接分析**

**Fig 2　Molecular docking analysis of key compounds and targets**

### 2.3　动物实验验证

**2.3.1**　大鼠一般情况　CON组大鼠毛色顺滑光亮，反应灵活迅速，饮食如常；MOD组大鼠均出现多饮、多食、多尿和体重下降，并伴有消瘦、毛色发黄无光泽以及精神萎靡动作滞缓等表现；黄连各剂量组大鼠均有不同程度的症状改善。

2.3.2 黄连改善DKD大鼠的体重、肾体比率、FBG及24 h-UTP 与给药前相比，给药后MOD组大鼠体重明显降低（$P<0.000\ 1$），FBG明显降低（$P<0.01$）。与CON组相比，MOD组大鼠体重明显降低，FBG、24 h-UTP以及肾体比率明显升高（$P<0.05$）。与MOD组相比，黄连各剂量组体重均有增加，肾体比率、FBG和24 h-UTP有所下降，其中HL-H组的改善最为明显（$P<0.05$）。结果提示黄连能在一定程度上改善模型大鼠的DKD体征，并且高剂量更佳，见图3A～D。

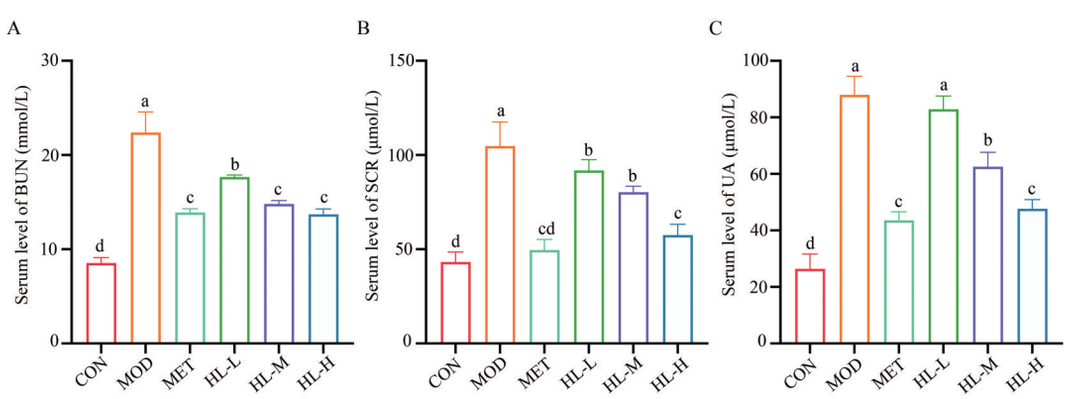



A：体重；B：肾体比率；C：FBG；D：24 h-UTP；含有相同字母标记的柱之间差异无统计学意义（$P>0.05$），反之具有明显差异（$P<0.05$），且字母的顺序代表平均值的大小；$^{**}P<0.01$，$^{***}P<0.001$，$^{****}P<0.000\ 1$

**图3 黄连对糖尿病肾病大鼠体重、肾体比率、FBG及24 h-UTP的影响**

**Fig 3 Effects of Huang Lian on body weight, kidney/body ratio, FBG, and 24 h-UTP in diabetic kidney disease rats**

2.3.3 黄连降低DKD大鼠血清BUN、SCR、UA水平 与CON组相比，MOD组大鼠血清BUN、SCR、UA水平明显升高（$P<0.05$）。与MOD组相比，除HL-L组的UA无明显差异外（$P>0.05$），黄连各剂量组的血清BUN、SCR、UA水平明显降低（$P<0.05$）。其中HL-H组对DKD大鼠肾功能各项指标的改善最为明显，并且与MET组差异无统计学意义（$P>0.05$），见图4A～C。



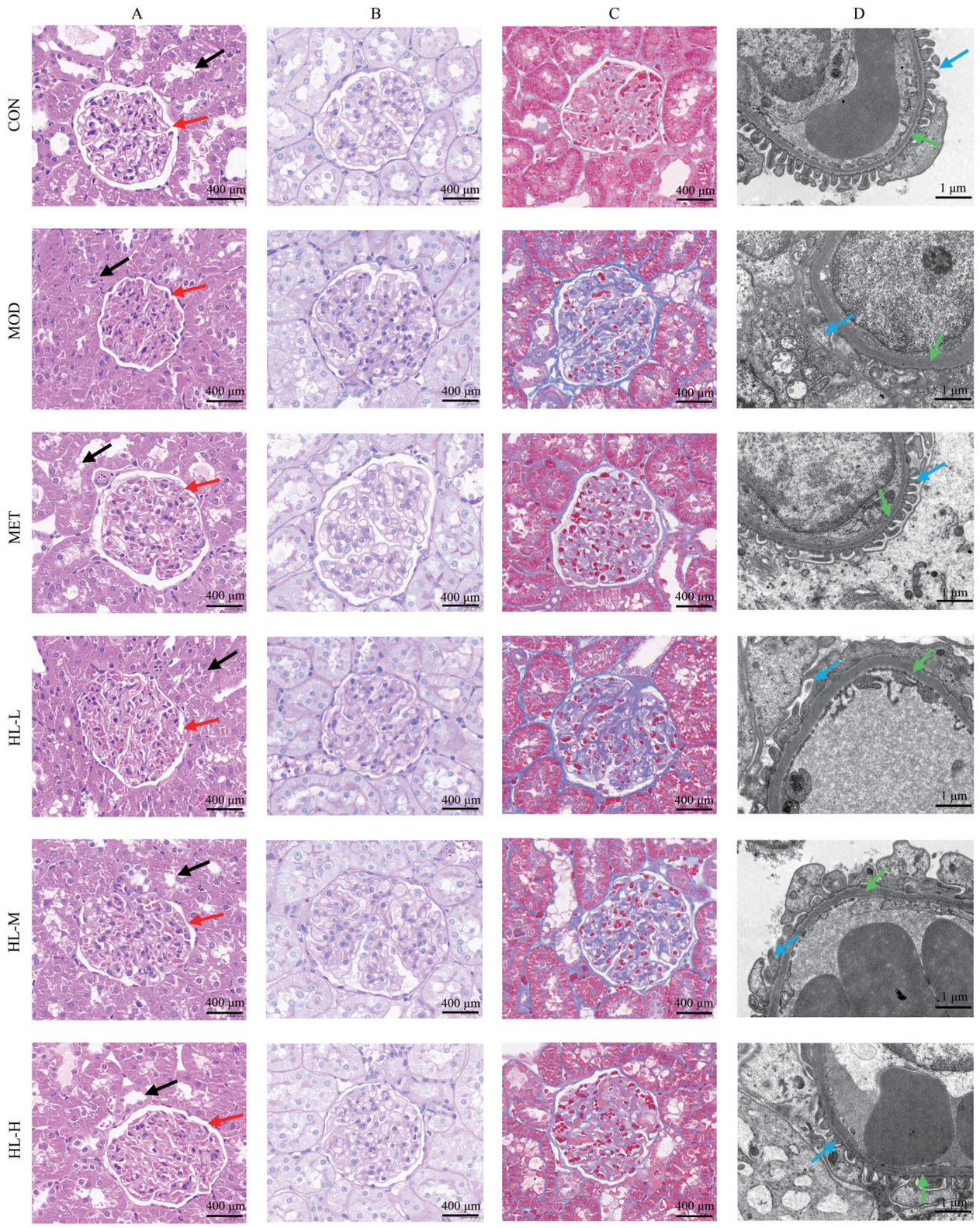

A：BUN；B：SCR；C：UA；含有相同字母标记的柱之间差异无统计学意义（$P>0.05$），反之具有明显差异（$P<0.05$），且字母的顺序代表平均值的大小

**图4 黄连对糖尿病肾病大鼠血清BUN、SCR、UA水平的影响**

**Fig 4 Effects of Huang Lian on serum BUN, SCR, and UA levels in diabetic kidney disease rats**

2.3.4 黄连改善DKD大鼠的肾组织病理损伤 肾组织病理染色及扫描电子显微镜结果显示，与CON组相比，MOD组大鼠肾小球直径缩小，肾小管明显萎缩，管腔狭窄（图5A）。此外肾小球内系膜基质增多，出现严重的紫红色糖原（图5B）及胶原（图5C）沉积，可见肾小球基底膜增厚、足突广泛融合、足细胞丢失的现象（图5D）。与MOD组相比，黄连各剂量组的病理变化均有不同程度减轻，以HL-H组和MET组的改善最为明显，HL-L和HL-M组次之。

2.3.5 黄连下调DKD大鼠IL-1β、IL-18、TXNIP、GSDMD、Caspase-1等细胞焦亡相关蛋白表达水平 与CON组相比，MOD组大鼠血清IL-1β、IL-18水平明显升高（$P<0.05$），肾组织TXNIP、GSDMD和Caspase-1蛋白表达水平明显升高（$P<0.05$）。与

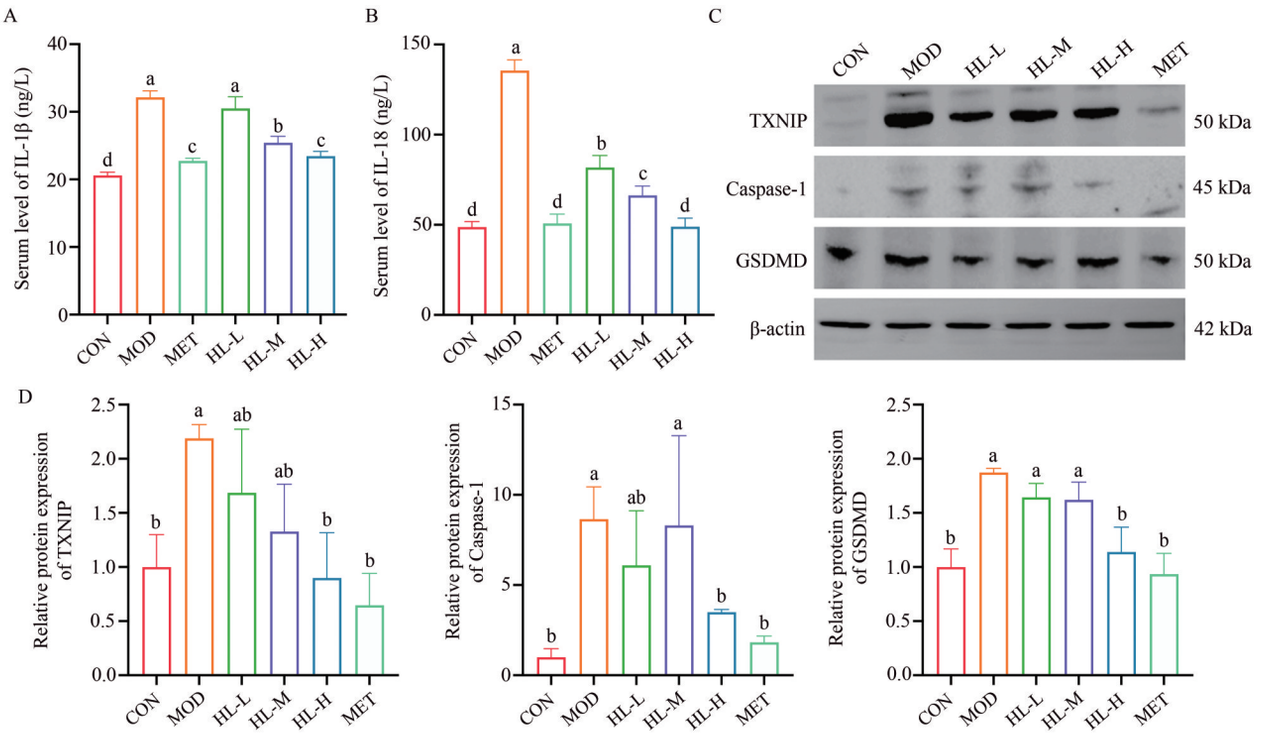



A～C：H&E染色、PAS染色、Masson染色光镜下视野（400×）；D：扫描电子显微镜下视野（8 000×）；红色箭头指示肾小球球腔；黑色箭头指示肾小管管腔；蓝色箭头指示足细胞足突；绿色箭头指示基底膜

**图5　黄连对糖尿病肾病大鼠肾组织病理损伤的影响**

**Fig 5　Effects of Huang Lian on renal histopathological injury in diabetic kidney disease rats**

MOD组相比，HL-H和MET组大鼠血清IL-1β、IL-18水平明显降低（$P<0.01$），肾组织TXNIP、GSDMD和Caspase-1蛋白表达明显降低（$P<0.05$），见图6A～D。




A、B：黄连对糖尿病肾病大鼠血清IL-1β、IL-18水平的影响；C：黄连对糖尿病肾病大鼠肾组织TXNIP、Caspase-1、GSDMD蛋白表达的影响；D：TXNIP、Caspase-1和GSDMD蛋白条带灰度值经标准化后的柱状图；含有相同字母标记的柱之间差异无统计学意义（$P>0.05$），反之具有明显差异（$P<0.05$），且字母的顺序代表平均值的大小

**图6　黄连对糖尿病肾病大鼠血清IL-1β、IL-18水平和肾组织TXNIP、GSDMD、Caspase-1蛋白表达水平的影响**

**Fig 6　Effects of Huang Lian on the serum levels of IL-1β and IL-18, and the kidney tissue protein expression levels of TXNIP, GSDMD, and Caspase-1 in diabetic kidney disease rats**

## 3　讨论

DKD是全球慢性肾病和终末期肾病的首要病因，明显影响糖尿病患者的发病率和死亡率。其主要特征是肾小球滤过屏障异常，导致蛋白尿、代谢物和离子渗漏到尿液中，并伴有基底膜增厚、间质纤维化和足细胞功能障碍等[19]。根据国际糖尿病联盟数据，DKD在20～79岁人群中影响达2.85亿人，相当于世界人口的6.4%，且预计到2030年，发展中国家糖尿病患者数量将增长70%[20]，DKD即将成为全球公共卫生事业的巨大负担。DKD的病理机制具有多信号通路、多靶点的特征，涉及代谢异常、自噬、氧化应激、炎症、纤维化以及细胞焦亡。由于其复杂的病理机制，尽管血管紧张素转换酶抑制剂和血管紧张素Ⅱ受体阻滞剂已长期用于临床，但长期以来治疗选择仍十分有限[21]。传统中药素以多靶点干预、副作用小以及经济负担较轻等优势著称，具有较大的临床应用潜力，或可成为DKD新药研发的重要方向之一。

DKD的病变是可逆的，并且在糖尿病环境长期正常化后，肾脏可以经历实质性的结构重塑。因此如二甲双胍等临床常用的降糖药对DKD也具有可观的疗效。而黄连在很早以前就有治疗糖尿病的记载，《本草经集注》有言：“俗方多用黄连治痢及渴”，多本经典著作治疗糖尿病的处方中都用到了黄连。现代药理学研究更是发现黄连的主要活性成分黄连素在降糖方面具有明显的效果，并且娄文娇等[22]的研究已肯定了黄连素治疗早期DKD的有效性和安全性。然而，传统的黄连水煎液能否改善DKD及通过哪些成分作用于何种分子机制仍未得到充分研究。

在高血糖环境下，肾脏细胞会产生大量活性氧，当活性氧超过抗氧化系统的清除能力后，作为一种关键的损伤相关分子模式，可间接或直接作用于NLR家族，如NLRP3，从而招募并激活Caspase-1[23]。Caspase-1依赖途径是细胞焦亡的经典通路，激活的Caspase-1可将无活性的IL-1β和IL-18前体剪切为成熟体，并通过剪切GSDMD执行细胞的穿孔破裂，进而使IL-1β和IL-18释放到细胞外，引发强烈的炎症反应[24]。抑制细胞焦亡可作为改善DKD炎症的关键策略，为DKD治疗药物的研发

提供新的方向。因此，本研究基于网络药理学、分子对接分析结合动物实验探究黄连改善DKD的作用机制是否与细胞焦亡有关。

网络药理学通过整合化合物、靶点和通路等多层次信息，结合分子对接分析，可深入挖掘药物的潜在作用靶点。为了提高预测的精准性，本研究并未采用传统的STP网站预测化合物靶点的方式，而是通过BATMAN数据库收集候选化合物已被验证过的靶点。结果显示，黄连与DKD之间存在167个交集靶点，其中有56个靶点富集在NLR、TNF、MAPK等细胞焦亡相关信号通路。本研究选择了细胞焦亡中的关键蛋白IL-1β、IL-18、GSDMD、TXNIP、CASP1与焦亡相关靶点所富集的5个核心化合物Worenine、Quercetin、Higenamine、Coptisine、Berberine进行分子对接分析，发现Coptisine和Worenine最有可能作用于细胞焦亡的关键蛋白。但当前仅有Coptisine通过抑制焦亡改善食管癌的研究[25]，Coptisine和Worenine对DKD的潜在治疗作用仍值得深入探索。

为了验证网络药理学和分子对接对黄连改善DKD分子机制的预测结果，本实验通过高脂饮食结合STZ腹腔注射建立大鼠DKD模型，灌胃不同剂量的黄连水煎液进行干预。实验发现，黄连能够明显恢复DKD大鼠的体重、肾体比率、FBG、24h-UTP及血清BUN、SCR、UA等肾功能指标。此外，肾脏组织病理染色结果也直观地显示了黄连对DKD肾小球和肾小管病理结构的改善作用，包括扩张肾小管、减少肾小球系膜基质、糖原和胶原沉积以及恢复肾小球基底膜和足突的正常形态。ELISA和Western blot结果显示，黄连可以明显下调TXNIP、Caspase-1、GSDMD等焦亡相关蛋白的表达水平，以及减少血清炎症因子IL-1β和IL-18水平。其中，TXNIP特异性参与NLR信号通路的激活，而Caspase-1是NLR信号通路调控细胞焦亡的下游效应分子，同时也是促进IL-1β、IL-18前体的成熟和释放以及介导GSDMD细胞膜穿孔的关键靶点[26]。该结果意味着黄连可能通过抑制Caspase-1依赖途径缓解DKD肾脏的细胞焦亡，从而发挥其病理改善作用。

综上所述，黄连能够明显改善DKD大鼠的肾功能指标，并缓解肾小管间质损伤及肾小球足细胞-基底膜复合体损伤等病理改变，其机制可能与抑制介导细胞焦亡的Caspase-1途径有关。基于此，未来可在体外模型中应用抑制剂或RNA干扰技术，进一步探究黄连对DKD的保护作用是否特异性地通过调控细胞焦亡通路实现。此外，Coptisine和Worenine是否是黄连抑制细胞焦亡的关键化合物也仍需实验验证。总之，黄连及其有效成分具有干预DKD进展的潜力，值得进一步开发为新型治疗策略的候选药物。

作者贡献度说明：

范超文、向磊、韩慧子：论文初稿撰写，数据收集、整理、统计分析及可视化；柯尊丽：实验和论文撰写指导；田维毅、俞琦：项目课题构思者和负责人，经费支持、论文修改及定稿。

所有作者声明不存在利益冲突关系。

## 参考文献

1 Yang YC, Liu JH, Shi QL, et al. Roles of mitochondrial dysfunction in diabetic kidney disease: New perspectives from mechanism to therapy [J]. Biomolecules, 2024, 14(6): 733.

2 Gupta S, Dominguez M, Golestaneh L. Diabetic kidney disease: An update[J]. Med Clin North Am, 2023, 107(4): 689-705.

3 杜钰芸，安晓飞. 从邪入肾络探讨糖尿病肾病中医病机[J]. 河南中医，2025，45(6)：811-816.
Du YY, An XF. Exploring the TCM pathogenesis of diabetic kidney disease from the perspective of pathogenic factors invading the renal collaterals [J]. Henan Tradit Chin Med, 2025, 45(6): 811-816.

4 韩雪，唐秋梅，王巍，等. 基于肠道菌群探讨黄连解毒汤治疗2型糖尿病的作用机制[J]. 中国中药杂志，2025，50(1)：197-208.
Han X, Tang QM, Wang W, et al. Mechanism of Huanglian Jiedu Decoction in treatment of type 2 diabetes mellitus based on intestinal flora [J]. Chin J Chin Mater Med, 2025, 50(1): 197-208.

5 许丽婷，于红红，许滔，等. 黄连解毒汤调控NLRP3炎症小体改善动脉粥样硬化的机制研究[J]. 中国免疫学杂志，2020，36(7)：815-820.
Xu LT, Yu HH, Xu T, et al. Mechanism of Huanglian Jiedu Decoction in regulating NLRP3 inflammasome to improve atherosclerosis[J]. Chin J Immunol, 2020, 36(7): 815-820.

6 Gong L, Wang R, Wang X, et al. Research progress of natural active compounds on improving podocyte function to reduce proteinuria in diabetic kidney disease[J]. Ren Fail, 2023, 45(2): 2290930.

7 吴文玉，李诺然，王凯，等. 中药抑制细胞焦亡治疗脓毒症急性肺损伤的研究进展与探析[J]. 中国中药杂志，2025，50(16)：4425-4436.

Wu WY, Li NR, Wang K, et al. Research progress and exploration of traditional Chinese medicine in treatment of sepsis-acute lung injury by inhibiting pyroptosis[J]. China J Chin Mater Med, 2025, 50(16): 4425-4436.

8 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.

9 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.

10 Tang D, Chen M, Huang X, et al. SRplot: A free online platform for data visualization and graphing[J]. PLoS One, 2023, 18(11): e0294236.

11 Szklarczyk D, Nastou K, Koutrouli M, et al. The STRING database in 2025: Protein networks with directionality of regulation[J]. Nucleic Acids Res, 2025, 53(D1): D730-D737.

12 Krivák R, Hoksza D. P2Rank: Machine learning based tool for rapid and accurate prediction of ligand binding sites from protein structure[J]. J Cheminform, 2018, 10(1): 39.

13 Alhossary A, Handoko SD, Mu Y, et al. Fast, accurate, and reliable molecular docking with QuickVina 2[J]. Bioinformatics, 2015, 31(13): 2214-2216.

14 Agarwal R, Smith JC. Speed *vs* accuracy: Effect on ligand pose accuracy of varying box size and exhaustiveness in AutoDock Vina[J]. Mol Inform, 2022, 42(2): e2200188.

15 李启航, 陈文斌, 孙珑昱, 等. 常用糖尿病肾病动物模型研究概述[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2020, 36(3): 257-262.
Li QH, Chen WB, Sun LY, et al. An overview of animal models of diabetic nephropathy[J]. Chin J Endocrinol Metab, 2020, 36(3): 257-262.

16 Wojcikowski K, Gobe G. Animal studies on medicinal herbs: Predictability, dose conversion and potential value[J]. Phytother Res, 2014, 28(1): 22-27.

17 陈烨, 贾崇高, 唐英骞, 等. 玉泉丸对糖尿病肾病大鼠GSK-3β/Nrf2通路及YKL-40表达的影响[J]. 中成药, 2022, 44(1): 61-66.
Chen Y, Jia CG, Tang YQ, et al. Effects of Yuquan Pills on GSK-3β/Nrf2 pathway and YKL-40 expression in diabetic nephropathy rats[J]. Chin Tradit Pat Med, 2022, 44(1): 61-66.

18 Ji L, Song T, Ge C, et al. Identification of bioactive compounds and potential mechanisms of scutellariae radix-coptidisrhizoma in the treatment of atherosclerosis by integrating network pharmacology and experimental validation[J]. Biomed Pharmacother, 2023, 165: 115210.

19 田亚, 张雄峰, 武婷. 基于网络药理学和分子对接探讨四妙丸治疗糖尿病肾病的作用机制[J]. 河南中医, 2025, 45(8): 1238-1245.
Tian Y, Zhang XF, Wu T. Exploring the mechanism of wonderfully effective four pills in treating diabetic nephropathy based on network pharmacology and molecular docking[J]. Henan Tradit Chin Med, 2025, 45(8): 1238-1245.

20 Bommer C, Sagalova V, Heesemann E, et al. Global economic burden of diabetes in adults: Projections from 2015 to 2030[J]. Diabetes Care, 2018, 41(5): 963-970.

21 Hu Q, Jiang L, Yan Q, et al. A natural products solution to diabetic nephropathy therapy[J]. Pharmacol Ther, 2022, 241: 108314.

22 娄文娇, 郭敬, 张帆, 等. 黄连素(小檗碱)治疗早期糖尿病肾病有效性和安全性系统回顾及Meta分析[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2022, 23(6): 510-513.
Lou WJ, Guo J, Zhang F, et al. Systematic review and meta-analysis of the efficacy and safety of berberine in the treatment of early diabetic nephropathy[J]. Chin J Integr Tradit West Nephrol, 2022, 23(6): 510-513.

23 Ma X, Ma J, Leng T, et al. Advances in oxidative stress in pathogenesis of diabetic kidney disease and efficacy of TCM intervention[J]. Ren Fail, 2023, 45(1): 2146512.

24 Fan Q, Li R, Wei H, et al. Research progress of pyroptosis in diabetic kidney disease[J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(13): 7130.

25 Qian C, Zhang X, Tian Y, et al. Coptisine inhibits esophageal carcinoma growth by modulating pyroptosis *via* inhibition of HGF/c-Met signaling[J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2025, 398(7): 8375-8389.

26 Vasudevan SO, Behl B, Rathinam VA. Pyroptosis-induced inflammation and tissue damage[J]. Semin Immunol, 2023, 69: 101781.

[本文编辑] 陈思润