

## • 数据挖掘与循证医学 •

## 基于数据挖掘、网络药理学、分子模拟和实验验证探究中药治疗糖尿病足溃疡用药规律及作用机制

毛永馨, 周莉, 秦菲, 姚唯唯, 叶得伟\*, 李博\*

广东药科大学, 广东省代谢病中西医结合研究中心(中医药研究所), 广东 广州 510006

**摘要:** 目的 通过数据挖掘、网络药理学、分子对接及动力学模拟和实验验证等方法研究中中药治疗糖尿病足溃疡(diabetic foot ulcer, DFU)的用药规律及其作用机制。方法 检索中国知网、万方数据库、维普数据库和《中国药典》筛选建立治疗DFU的中成药数据库。利用中医传承辅助平台分析其用药频次、性味归经等规律;对上述药物进行关联规则和聚类分析,筛选治疗DFU的核心药物。检索获取核心药物活性成分及其对应的DFU疾病靶点;构建上述靶点间网络关系并筛选核心靶点,同时进行基因本体(gene ontology, GO)和京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)富集分析;通过分子对接及动力学模拟预测评价核心靶点与其对应的活性成分间的结合能力及稳定性。利用CCK8评价活性成分对细胞增殖率的影响;定量聚合酶链反应(quantitative polymerase chain reaction, qPCR)检测黄芩苷对肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , *TNF- $\alpha$* )及木犀草素对磷脂酰肌醇-3-羟激酶(phosphatidylinositol-3-hydroxykinase, *PI3K*)、蛋白激酶B1 (protein kinase B1, *AKT1*)转录水平的影响;Western blotting检测木犀草素对PI3K及AKT蛋白磷酸化水平的影响。构建大鼠DFU模型用以评价黄芩苷及木犀草素ig治疗后创面愈合状况。结果 共筛选得到108种中成药,包含180味中药。寒性和甘味药使用频次最高,归经以肝经、脾经为主;聚类分析得到治疗DFU的5种新药物组合;进一步筛选得到当归、黄芪、冰片、丹参为核心药物,其主要活性成分有木犀草素、黄芩苷、槲皮素等,对应的核心作用靶点为TNF- $\alpha$ 、AKT1等;作用机制涉及PI3K-AKT、TNF、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinases, MAPK)等信号通路;分子对接和动力学模拟表明木犀草素、黄芩苷与AKT1、TNF- $\alpha$ 靶点具有较高的结合亲和力及稳定性。细胞实验显示,黄芩苷可剂量相关性降低脂多糖激活的TNF- $\alpha$ 转录表达;木犀草素处理后PI3K和AKT1的转录水平及蛋白磷酸化水平显著升高。与模型组相比,黄芩苷或木犀草素ig治疗能显著促进DFU大鼠的创面愈合。结论 筛选出治疗DFU的核心药物为当归、黄芪、冰片、丹参,主要发挥清热解毒、补气止痛的作用,核心成分为木犀草素、黄芩苷,通过作用于PI3K、AKT1和TNF- $\alpha$ 等通路靶点发挥疗效。

**关键词:** 中成药;糖尿病足溃疡;网络药理学;当归;黄芪;冰片;丹参;木犀草素;黄芩苷

**中图分类号:** R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2024)16-5559-14

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.16.018

## Exploring medication rule and mechanism of traditional Chinese medicine in treatment of diabetic foot ulcers based on data mining, network pharmacology, molecular simulation and experimental validation

MAO Yongxin, ZHOU Li, QIN Fei, YAO Weiwei, YE Dewei, LI Bo

Guangdong Metabolic Diseases Research Center of Integrated Chinese and Western Medicine (Chinese Medicine Research Institute), Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

**Abstract: Objective** To explore medication rule and mechanism of traditional Chinese medicine (TCM) in treatment of diabetic foot ulcer (DFU) through data mining, network pharmacology, molecular docking, molecular dynamics simulation, and experimental

收稿日期: 2024-04-13

基金项目: 广东省中医药局科研项目(20244044); 广东省中医药局科研项目(20241171)

作者简介: 毛永馨(1998—),女,硕士研究生,从事中西医结合糖脂代谢病基础转化应用研究。E-mail: mmmmao2023@126.com

\*通信作者: 李博,男,博士,副研究员,硕士生导师,从事药理学和中西医结合糖脂代谢病基础转化应用研究。E-mail: bo\_li\_2018@163.com

叶得伟,男,博士,教授,硕士生导师,从事药理学和中西医结合糖脂代谢病基础研究。E-mail: deweiye@gdpu.edu.cn

validation. **Methods** Retrieving the China National Knowledge Infrastructure, Wanfang Database, VIP Database, and the *Chinese Pharmacopoeia* and established the Chinese patent medicine database on the treatment of DFU. The medication frequency, properties and meridian tropism were analyzed by using the Traditional Chinese Medicine Inheritance Assisted Platform. The core TCMS for treating DFU were screened based on association rules and cluster analysis. The active ingredients in the core TCMS and their corresponding targets for DFU were subsequently retrieved and identified. The network relationship among the common targets was constructed and the core targets were screened, the gene ontology (GO) and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) enrichment analyses were conducted. The binding affinity and stability between core targets and their corresponding active ingredients were predicted and evaluated using molecular docking and dynamics simulations. CCK8 method was used to evaluate the effects of active ingredients on cell proliferation. The quantitative polymerase chain reaction (qPCR) was used to detect the effects of baicalin on tumor necrosis factor- $\alpha$  (*TNF- $\alpha$* ), and luteolin on phosphatidylinositol-3-hydroxykinase (*PI3K*), protein kinase B1 (*AKT1*) transcription levels; Western blotting was used to exam the effects of luteolin on PI3K and AKT protein phosphorylation level. The DFU rat model was established to evaluated the wound healing effects of baicalin or luteolin with gastric infusion. **Results** A total of 108 Chinese patent medicines were selected, involving 180 TCMS. Among them, the most frequently medicines were cold-natured and sweet-flavored and the main meridians were liver and spleen. Five novel drug combinations for treating DFU were identified by clustering analysis. Further screening results showed that, Danggui (*Angelicae Sinensis Radix*), Huangqi (*Astragali Radix*), Bingpian (*Borneolum*), Danshen (*Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*) were the core TCMS, and their main active ingredients were luteolin, baicalin, and quercetin. The corresponding core therapeutic targets included *TNF- $\alpha$* , *AKT1*, and the mechanisms involved signaling pathways such as PI3K-AKT, TNF and mitogen activated protein kinases (MAPK). The molecular docking and dynamics simulations showed that luteolin and baicalin exhibited higher binding affinity and stability with *AKT1* and *TNF- $\alpha$* , respectively. The cell experiments showed that baicalin reduced the expression of lipopolysaccharide-activated *TNF- $\alpha$*  transcription in a dose-dependent manner. The transcription levels and protein phosphorylation levels of *PI3K* and *AKT1* were significantly increased after luteolin treatment. Compared with the model group, intragastric administration of baicalin and luteolin can significantly promote wound healing in DFU model rats. **Conclusion** The core TCMS screened for DFU treatment were *Angelicae Sinensis Radix*, *Astragali Radix*, *Borneolum*, and *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*, which mainly played the role of clearing heat and detoxifying, supplementing *qi* and relieving pain luteolin and baicalin, as the core active ingredients, which exerted therapeutic effect by acting on PI3K, *AKT1* and *TNF- $\alpha$*  pathway targets.

**Key words:** Chinese patent medicine; diabetic foot ulcers; network pharmacology; *Angelicae Sinensis Radix*; *Astragali Radix*; *Borneolum*; *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*; luteolin; baicalin

随着我国经济生活水平提升,糖尿病(diabetes mellitus, DM)及其并发症患病率逐年攀升,糖尿病足溃疡(diabetic foot ulcers, DFU)是DM常见并发症之一,占DM患病人数的6.4%,50%~60%的DFU患者会发展为糖尿病足感染<sup>[1]</sup>,15%患者最终面临截肢风险<sup>[2]</sup>,而50%以上因DFU截肢的患者其死亡率显著提升<sup>[3]</sup>,超过多数癌症<sup>[4]</sup>,给个人、家庭及社会带来沉重经济和精神负担。DFU主要病因是当机体长期处于高血糖和代谢紊乱状况时,易诱发神经病变和不同程度的外周血管病变<sup>[5-6]</sup>,最终导致溃疡形成和深层组织坏死,其病程冗长,机制繁杂不明,涉及多种生理学过程<sup>[7]</sup>,使得临床有效治疗DFU面临困境。

目前临床上针对DFU主要采用生长因子疗法和激素疗法。生长因子疗法被证实可以温和改善伤口愈合,但高昂的成本限制了其广泛应用<sup>[8]</sup>。激素疗法虽见效较快,却面临机体激素水平失衡及病程反复的难题,且伤口愈合中的皮肤组织再生能力有

限,易导致伤口愈合缓慢<sup>[9]</sup>。此外,亦有其他辅助治疗手段,包括血管介入治疗、创面负压吸引、高压氧治疗及干细胞移植术治疗等<sup>[10]</sup>,但均面临医疗成本高、疗效不显著等诸多困境。

中医学上,DFU属于“脱疽”“脱痈”“筋疽”等范畴。关于DFU的记载最早见于《内经》:“发于足指,名曰脱痈。其状赤黑,死不治;不赤黑,不死。不衰,急斩之,不则死矣”<sup>[11]</sup>。宋朝朱端章的《卫生家宝方》中有“消渴患者足膝发恶疮,至死不救”<sup>[12]</sup>。现阶段,已有多种中药被证实可治疗DFU且临床疗效显著。相比于传统中药剂型,中成药在DFU患者长期服药过程中更具优势,具有剂型丰富、服用简便易于携带、廉价、不良反应少等特点。但中成药成分繁多,药物间相互作用复杂,且涉及众多作用靶点及生物机制,给临床对症选药及新药开发带来困惑。

本研究综合运用数据挖掘、网络药理学、分子对接和动力学模拟等多维数据分析方法,结合体内

外实验,系统探究了中成药治疗DFU的组方规律、核心药物及其活性成分与关键作用靶点,为后期开发治疗DFU的新药奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 数据挖掘

**1.1.1 数据来源** 检索中国知网、万方数据库、维普数据库和《中国药典》2020年版(以下简称“药典”)的“成方制剂和单味制剂”部分,以“糖尿病足,中成药”“糖尿病足溃疡,中成药”“糖尿病溃疡,中成药”为关键词检索,检索年限为各数据库建库至2023年7月。

#### 1.1.2 纳入与排除标准

(1) 纳入标准:纳入主治病症中含有“糖尿病溃疡”“糖尿病足”“糖尿病足溃疡”,且治疗中成药临床疗效明确,列出全部组成。若有种类相同但剂型不同的中成药,取一种剂型的中成药纳入。

(2) 排除标准:未给出复方组成成分的中成药。

**1.1.3 数据处理及方药数据库的建立与用药分析** 参照药典及《中华本草》对收集的中药名称进行标准化处理,如“白芨”规范为“白及”,“银花”规范为“金银花”。若为中药提取物、中药粉末、中药炮制品等则替换为对应的中药名称。

将经上述处理后的数据录入到中医传承辅助平台,建立方药数据库。运用中医传承辅助平台和SPSS对中成药数据库进行用药频数、性味归经、关联规则及聚类分析<sup>[13]</sup>。

## 1.2 网络药理学

**1.2.1 核心药物活性成分筛选及疾病靶点数据集建立** 在中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP, <https://old.tcm-sp-e.com/tcm-sp.php>)和草药-中医证候-西医证候-成分-靶标-疾病关联网络数据库(SymMap, <http://www.symmap.org/>)中检索核心药物的活性成分,以口服生物利用度(oral bioavailability, OB)  $\geq 30\%$ 和药物相似性(drug-like properties, DL)  $\geq 0.18$ 作为筛选条件<sup>[14]</sup>,合并去重后得到核心药物活性成分。将上述活性成分输入SwissTargetPrediction数据库,设定生物种类“homo sapiens”,条件设为“Probability > 0”,检索得到其对应的疾病靶点数据集。

**1.2.2 “核心药物-活性成分-靶点”网络构建及DFU靶点数据集建立** 将核心药物及其活性成分以及对应的疾病靶点导入Cytoscape软件,构建“核心药物-活性成分-靶点”的网络图。

以“diabetic foot ulcer”“diabetic ulcer”“diabetic foot”为关键词,分别在DisGeNET(<https://www.disgenet.org/>)、GeneCards(<https://www.genecards.org/>)、OMIM(<https://www.omim.org/>)、DrugBank(<https://go.drugbank.com/>)及TTD(<https://db.idrblab.net/ttd/>)5个疾病数据库中检索,合并去重后建立得到DFU疾病靶点数据库。

**1.2.3 活性成分治疗DFU疾病靶点的获取及“核心药物-活性成分-DFU疾病靶点”网络的构建** 汇总活性成分作用的疾病靶点和DFU疾病靶点,取共有靶点获得核心药物防治DFU作用靶点集。再将核心药物、DFU疾病靶点和核心药物活性成分导入Cytoscape软件,构建“核心药物-活性成分-DFU疾病靶点”网络图。

**1.2.4 蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络构建** 将核心药物治疗DFU的作用靶点导入STRING数据库(<https://cn.string-db.org/>),生物种类设定为“homo sapiens”,设定最小相互作用得分 $\geq 0.4$ ,将结果导入Cytoscape软件,构建PPI网络,进一步分析核心药物治疗DFU的作用靶点的网络拓扑性质参数,包括自由度(degree)、紧密度(closeness centrality)等。

**1.2.5 基因本体(gene ontology, GO)和京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)富集分析** 将核心药物治疗DFU的作用靶点导入DAVID数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>),进行GO和KEGG富集分析,GO分析包括生物过程(biological process, BP)、分子功能(molecular function, MF)和细胞组成(cell component, CC)3个部分。设定生物种类为“homo sapiens”,分析结果均以 $P < 0.05$ 表明差异具有统计学意义。再根据 $P$ 值排序,选择排名前20的条目进行可视化分析。

## 1.3 结合模式分析

从PDB蛋白质数据库(<https://www.rcsb.org/>)下载靶标蛋白[蛋白激酶B1(protein kinase B1, AKT1, PDB ID: 1UNR)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , PDB ID: 6OP0)]晶体结构,包含阳性化合物且构象分辨率最小,属于“homo sapiens”的晶体结构文件。使用Discovery Studio软件处理小分子及蛋白结构,设置分子对接结合口袋,进行分子对接计算。

将生成的蛋白-配体复合物构象转为拓扑文件,

利用 Gromacs 进行体系预平衡, 使用 Berendsen 方法将系统保持在 300 K 和 1 bar 的平衡环境中。体系平衡后设置步长为 2 fs, 共进行  $1 \times 10^7$  步, 总时长 20 ns, 进行分子动力学模拟。

#### 1.4 细胞实验

**1.4.1 细胞与试剂** 人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cells, HUVEC) 购买于中国科学院上海细胞库; 黄芩苷 (批号 D2114360, 质量分数 90%)、木犀草素 (批号 F2215580, 质量分数 98%) 购买于上海阿拉丁生化科技股份有限公司; DMEM 培养基、10%胎牛血清购买于英潍捷基 (上海) 贸易有限公司; 青霉素/链霉素溶液 (100 $\times$ ) 购买于特科思 (广州) 科技服务有限公司; 二甲基亚砜购买于上海碧云天生物科技有限公司; CCK8 购自 Selleck 公司; 磷脂酰肌醇-3-羟激酶 (phosphatidylinositol-3-hydroxykinase, PI3K, 货号 4292S)、p-PI3K (货号 4228S)、AKT1 (货号 9272S)、p-AKT1 (货号 9271S) 抗体均购于美国 Cell Signaling Technology 公司,  $\beta$ -actin (货号 sc-47778) 抗体购于 Santa Cruz Biotechnology 公司。

**1.4.2 CCK8 法检测黄芩苷和木犀草素对 HUVEC 细胞影响** 将 HUVEC 细胞按  $1 \times 10^4$  个/孔接种于 96 细胞培养板中。在培养 12 h 后分别加入实验设定浓度的黄芩苷和木犀草素, 处理 24 h 后每孔加入 10  $\mu$ L 的 CCK8 溶液, 孵育 2 h。同时设置空白组 (不加细胞和药物) 和对照组 (不加药物)。在酶标仪 450 nm 波长下检测吸光度 ( $A$ ), 计算细胞存活率。

$$\text{细胞存活率} = (A_{\text{实验}} - A_{\text{对照}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

**1.4.3 定量聚合酶链反应 (quantitative polymerase chain reaction, qPCR) 法检测  $TNF-\alpha$ 、PI3K、AKT1 转录水平** 采用 qPCR 法检测 HUVEC 细胞  $TNF-\alpha$ 、PI3K、AKT1 的 mRNA 表达, 反应条件为 95  $^{\circ}$ C 预变性 30 s; 95  $^{\circ}$ C 变性 10 s, 58  $^{\circ}$ C 退火、延伸 30 s, 45 个循环收集荧光信号, 采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算 mRNA 的相对表达量。为筛选 LPS 激活  $TNF-\alpha$  最优条件, 分别以 0.5、1.0  $\mu$ g/mL LPS 对 HUVEC 细胞诱导 12、24 h 后, 检测  $TNF-\alpha$  转录水平。

黄芩苷对细胞  $TNF-\alpha$  转录水平的影响实验将 HUVEC 细胞按  $2 \times 10^5$  个/孔接种于 12 细胞培养板中, 分为对照组 (PBS 溶液)、LPS 诱导组 (模型组)、LPS+黄芩苷低浓度 (6.25  $\mu$ mol/L) 组和 LPS+黄芩苷高浓度 (12.5  $\mu$ mol/L) 组。除对照组外, 其余各组分别加入 0.5  $\mu$ g/mL LPS 及对应浓度

的黄芩苷处理 24 h 后, 检测  $TNF-\alpha$  转录水平。另外, HUVEC 细胞分为对照组、木犀草素低浓度 (3.125  $\mu$ mol/L) 组和木犀草素高浓度 (6.25  $\mu$ mol/L) 组, 分别处理 HUVEC 细胞 24 h 后, 提取 mRNA 检测评估木犀草素对 PI3K 和 AKT1 转录水平的影响。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因	引物序列 (5'-3')
$\beta$ -actin	正向: CACCATTGGCAATGAGCGGTTC 反向: AGGTCCTTTCGGGATGTCCACGT
$TNF-\alpha$	正向: CTCTTCTGCCTGCTGCACTTTG 反向: ATGGGCTACAGGCTTGCTCACTC
PI3K	正向: GGTAATCGGAGGATAGGGCAGT 反向: CGGCAGTATGCTTCAAGGATGAC
AKT1	正向: TGGACTACCTGCACTCGGAGAA 反向: GTGCCGCAAAAGGTCTTCATGG

**1.4.4 Western blotting 法检测 PI3K、AKT1 蛋白磷酸化水平** 实验分为对照组、木犀草素低浓度组 (3.125  $\mu$ mol/L) 和高浓度组 (6.25  $\mu$ mol/L), 处理细胞 48 h 后提取蛋白, 采用二喹啉甲酸 (bicinchoninic acid assay, BCA) 法检测总蛋白含量。取 6  $\mu$ g 总蛋白进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 然后转膜至 PVDF 膜; 常温下封闭 2 h 后分别加入 PI3K、p-PI3K、AKT1、p-AKT1 及  $\beta$ -actin (内参) 抗体, 4  $^{\circ}$ C 过夜。TBST 洗涤后加入二抗, 室温孵育 2 h, 基于 Image J 进行蛋白条带灰度分析。

#### 1.5 动物实验

**1.5.1 DFU 模型的制备** 健康 SPF 级 SD 雄性大鼠, 体质量 250~280 g, 7 周龄, 购自广东维通利华实验动物技术有限公司 [许可证号 SCXK (粤) 2020-0051]。动物实验经广东药科大学实验动物伦理委员会审查批准 (编号 SPF2022377)。所有动物适应性喂养 1 周后, 一次性 ip 链脲佐菌素 55 mg/kg, 注射后 3、7 d 分别检测空腹血糖, 其值  $\geq 16.7$  mmol/L 视为糖尿病模型制备成功, 随后将其麻醉, 背部脱毛并剪切直径 10 mm 的圆形伤口, 建立 DFU 大鼠模型<sup>[15]</sup>。

**1.5.2 分组给药及愈合率检测** DFU 大鼠分为模型组、黄芩苷组和木犀草素组。用 CMC-Na 溶液配制需剂量的黄芩苷及木犀草素给药液。各组每天分别 ig CMC-Na 溶液 (模型组)、黄芩苷溶液 (100 mg/kg) 及木犀草素溶液 (100 mg/kg), 给药 9 d, 隔天拍照记录各组创面情况, 用 Image J 计算伤口

面积，并计算创面愈合率。

创面愈合率=(用药前创口面积-用药后创口面积)/用药前创口面积

1.6 统计学方法

实验数据采用 GraphPad Prism 进行分析。计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示，两组间比较采用  $t$  检验，以  $P < 0.05$  为差异有显著性， $P < 0.01$  为差异极显著。

2 结果

2.1 治疗 DFU 相关中成药数据挖掘

2.1.1 治疗 DFU 中成药频次分析 基于文献调研

检索，共录入治疗 DFU 的中成药 108 种，包含 180 味中药，使用频次共 689 次。用药频次排名靠前的中药有当归、黄芪、冰片、丹参、白芷等，见表 2。

2.1.2 治疗 DFU 药物性味归经分析 对 180 味中药进行性味归经统计分析。五味中以甘味、苦味药的使用频次较高；四气中以寒性药的使用频次最高，热性药物的使用频次最低（图 1-A、B，表 3）。药物归经涉及 12 条经络，经络使用频次前 6 位分别是肝经、脾经、心经、肺经、胃经、肾经（表 4，图 1-C）。

表 2 高频药物分布 (频数 ≥ 10 次)

Table 2 Distribution of high-frequency traditional Chinese medicines (frequency ≥ 10 times)

序号	中药	频次	频率/%	序号	中药	频次	频率/%
1	当归	25	3.63	10	大黄	13	1.89
2	黄芪	25	3.63	11	甘草	13	1.89
3	冰片	22	3.19	12	金银花	13	1.89
4	丹参	19	2.76	13	川芎	12	1.74
5	白芷	17	2.47	14	地黄	11	1.60
6	黄柏	15	2.18	15	黄连	10	1.45
7	血竭	15	2.18	16	黄芩	10	1.45
8	乳香	14	2.03	17	水蛭	10	1.45
9	三七	14	2.03	18	紫草	10	1.45

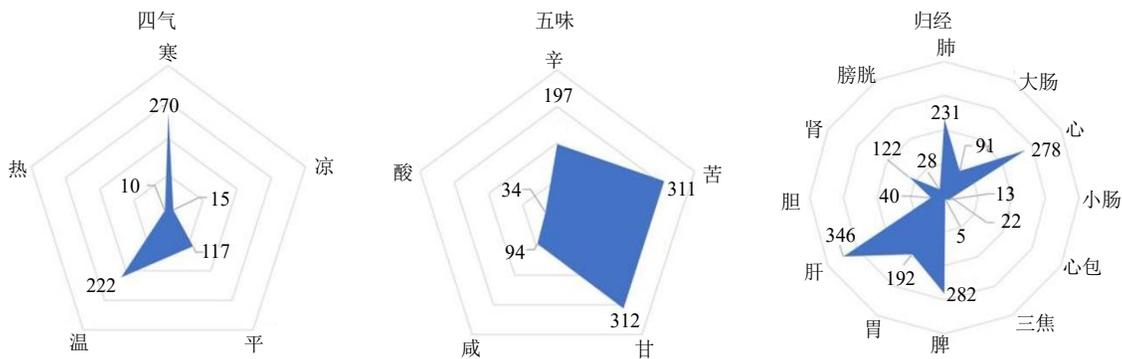


图 1 四气、五味、归经频次分布雷达图

Fig. 1 Radar maps of frequency distribution of four natures, five flavors and meridian tropism

2.1.3 治疗 DFU 方药关联规则分析 运用 SPSS 软件对方药进行关联规则分析，设置支持度为 6，置信度 0.6，得到强连接用药组合 39 对（图 2）。其中，所含药物均为频次排名前 4 的药对：当归-黄芪、丹参-黄芪、当归-丹参、当归-冰片。

2.1.4 方药聚类分析 运用 SPSS 软件对方药进行聚类分析，筛选核心药物处方，根据 K 均值聚类算法对数据进行分析，设置  $K=5$ ，得到 5 个核心药物

组合，排名第 1 的组合是“黄芪-丹参-当归-金银花-川芎-地黄”（表 5）。

根据方药分析结果，为进一步研究中成药治疗 DFU 的机制，选择频次排名前 4 位的中药当归、黄芪、冰片、丹参作为治疗 DFU 的核心药物进行后续作用机制研究。

2.2 核心药物治疗 DFU 机制研究

2.2.1 核心药物活性成分和作用靶点数据集 检

表3 处方中药物的性味频次分析

Table 3 Frequency analysis of four natures and five flavors of TCMs in prescription

四气	频次	频率/%	五味	频次	频率/%
寒	270	42.58	甘	312	32.91
温	222	35.01	苦	311	32.80
平	117	18.45	辛	197	20.78
凉	15	2.36	咸	94	9.91
热	10	1.57	酸	34	3.58

表4 处方中药物的归经分析

Table 4 Frequency analysis of meridian tropism of TCMs in prescription

归经	频次	频率/%	归经	频次	频率/%
肝经	346	20.96	大肠经	91	5.51
脾经	282	17.09	胆经	40	2.42
心经	278	16.84	膀胱经	28	1.69
肺经	231	14.00	小肠经	22	1.33
胃经	192	11.63	三焦经	13	0.78
肾经	122	7.39	心包经	5	0.30

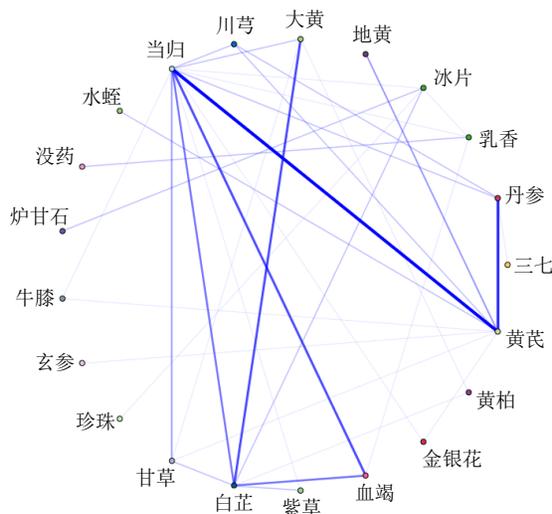


图2 处方中药物关联规则可视化分析

Fig. 2 Visual analysis of association rules of TCMs in prescription

表5 核心药物组合的聚类分析

Table 5 Cluster analysis of core TCMs combination

序号	核心组合	频次
1	黄芪-丹参-当归-金银花-川芎-地黄	45
2	冰片-乳香-血竭-白芷-当归-大黄	39
3	三七-朱砂-滑石-麝香-冰片-龙血竭	11
4	雄黄-煅石膏-珍珠-枯矾-麝香-冰片	7
5	石膏-龟甲-黄柏-升丹-象皮-地龙	6

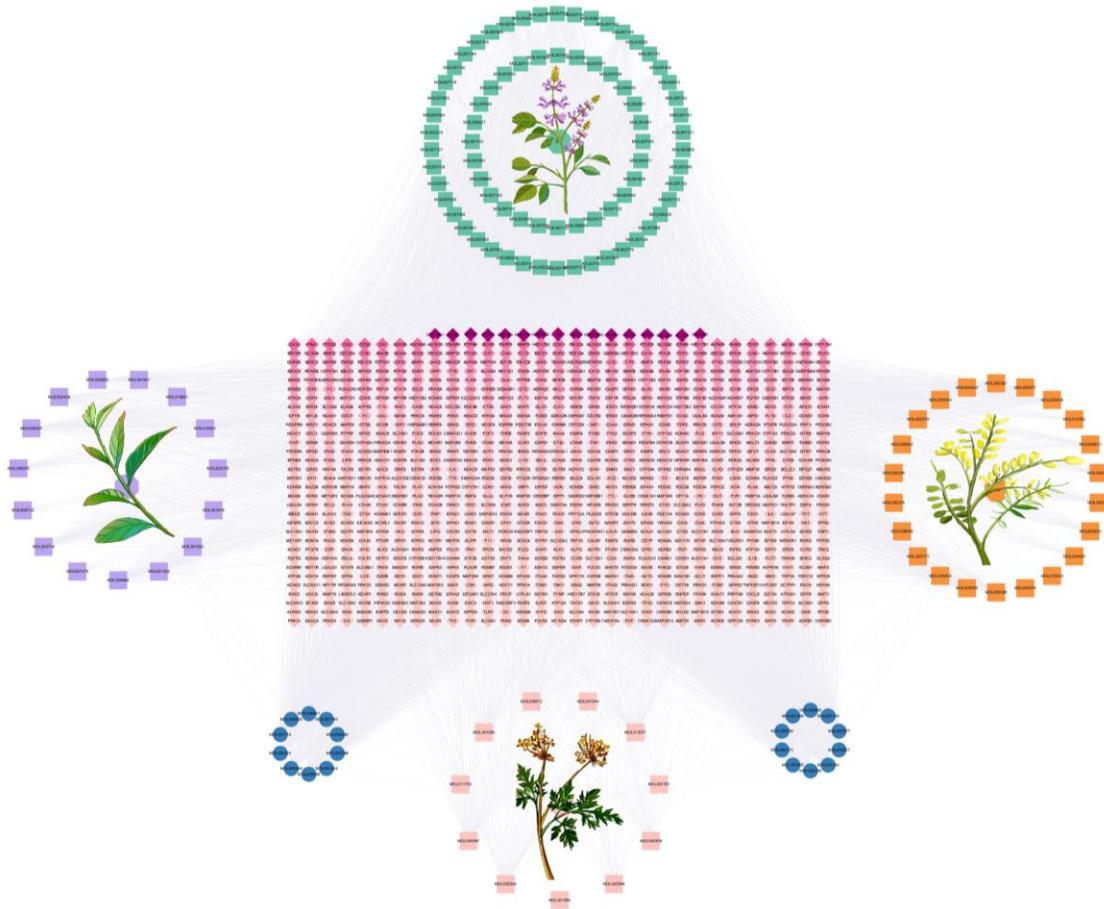
索 TCMSP 和 SymMap 数据库筛选得到核心药物活性成分,其中当归 22 个、黄芪 36 个、冰片 28 个和丹参 86 个,合并去重后共计 145 个活性成分。将活性成分导入 SwissTargetPrediction 数据库中检索得到其作用的疾病靶点,去重后共得到 1 030 个靶点。

2.2.2 “核心药物-活性成分-作用靶点”网络构建 将上述得到的核心药物、活性成分及疾病靶点数据导入 Cytoscape 软件制作“核心药物-活性成分-作用靶点”网络(图3)。关联度排名靠前的活性成分有槲皮素、黄芩苷、维生素 E 等。对应的疾病靶点

中排名靠前的包括 AKT3、蛋白激酶环磷酸鸟苷依赖性 1 (protein kinase cyclic guanosine monophosphate-dependent 1, PRKG1)、葡萄糖神经酰胺酶 2 (glucosylceramidase beta 2, GBA2) 等。

2.2.3 DFU 靶点及其与核心药物活性成分作用靶点交集靶点获取 在 DisGeNET 等 5 个疾病数据库中检索去重后,得到 833 个 DFU 相关靶点。将其与“2.2.2”中筛选获得的核心药物所对应疾病靶点取交集,分析后得到 174 个相关靶点,其中包含共有靶点 80 个(图4)。

2.2.4 “DFU 靶点-核心药物-活性成分-相关靶点”网络及 PPI 网络构建 为分析核心药物活性成分与 DFU 相关靶点间关系,用 Cytoscape 软件构建了“DFU 靶点-核心药物-活性成分-相关靶点”网络(图5)。结果显示度值排名前 5 的靶点有细胞色素 P450 家族 19 亚家族 A 成员 1 (cytochrome P450 family 19 subfamily A member 1, CYP19A1)、乙酰胆碱酯酶 (acetylcholinesterase, ACHE)、雌激素受



菱形代表核心药物映射的所有疾病靶点；正方形代表核心药物的活性成分（紫色、绿色、橙色、粉色分别代表冰片、丹参、黄芪、当归的活性成分）；圆形代表核心药物共有的活性成分。

The diamond represents all disease targets of core TCMs; The square represents active ingredients of core TCMs (purple, green, orange and pink represent active ingredients of *Borneolum*, *Salvia Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*, *Astragalus Radix* and *Angelicae Sinensis Radix* respectively); The circle represents common active ingredients of core TCMs.

图 3 “核心药物-活性成分-作用靶点”网络

Fig. 3 Network of “core TCMs-active components-action targets”

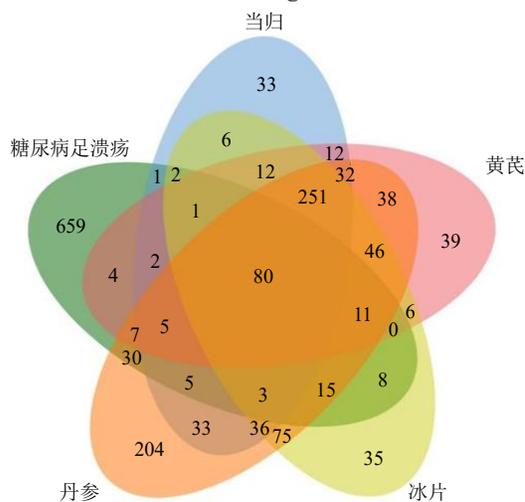
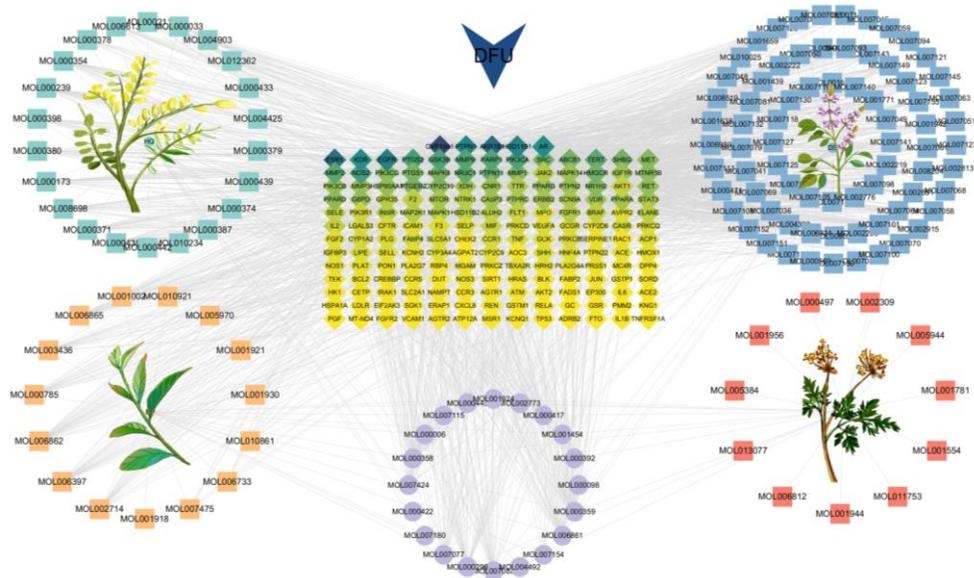


图 4 “核心药物活性成分作用靶点-DFU 靶点” Venn 图

Fig. 4 Venn diagram of “action targets of active ingredients in core TCMs-DFU targets”

体  $\beta$  (estrogen receptor beta, ESR2)、蛋白酪氨酸磷酸酶非受体 1 型 (protein tyrosine phosphatase non-receptor type 1, PTPN1) 和醛酮还原酶家族 1 成员 B (aldo-keto reductase family 1 member, BAKR1B1)。对应的活性成分有黄连素、山柰酚、木犀草素等。将上述活性成分对应的 DFU 相关靶点导入 Cytoscape 软件构建 PPI 网络 (图 6)。筛选到排名前 8 的靶点, 包括 TNF、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、AKT1、血管内皮生长因子 A (vascular endothelial growth factor A, VEGFA) 等, 将其作为关键靶点进行下一步分析。

**2.2.5 GO 和 KEGG 富集分析** 通过 DAVID 数据库进行 GO 功能富集分析, 设定  $P < 0.05$ , 共筛选出 772 个条目, 其中 BP 涉及条目 565 个, CC 含有条目 68 个, MF 包含条目 139 个 (图 7)。按  $P$  值

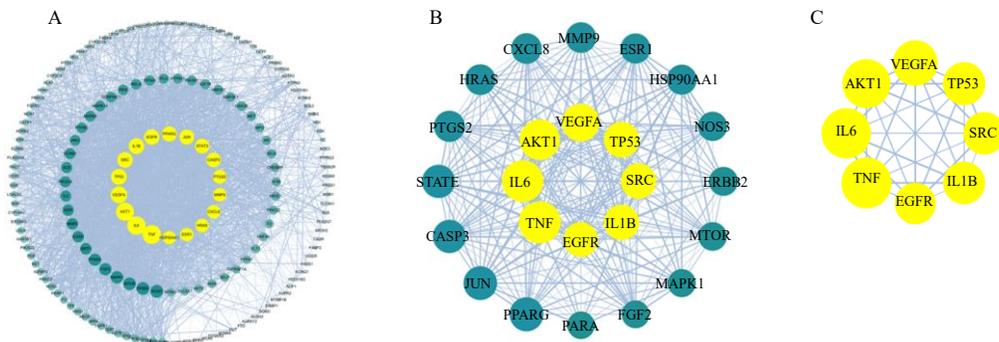


菱形代表核心药物映射的 DFU 靶点；正方形代表核心药物的活性成分（绿色、橙色、蓝色、红色分别代表黄芪、冰片、丹参、当归的活性成分）；圆形代表核心药物映射的疾病靶点与 DFU 靶点交集。

Diamond represents DFU targets of core TCMs mapping; Square represents active ingredients of core TCMs (green, orange, blue and red represent active ingredients of *Astragalus Radix*, *Borneolum*, *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* and *Angelicae Sinensis Radix* respectively); Circle represents intersection of disease target of core TCMs mapping with DFU targets.

图 5 “DFU 靶点-核心药物-活性成分-相关靶点”网络

Fig. 5 Network of “DFU target-core TCMs-active ingredients-intersection targets”

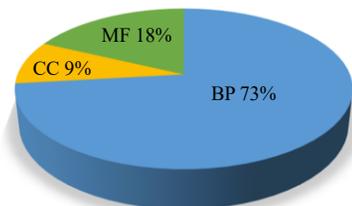


A-活性成分对应的 DFU 靶点 PPI 网络图；B-排名前 24 的靶点；C-排名前 8 的靶点。

A-PPI network diagram of DFU targets corresponding to active ingredients; B-top 24 targets; C-top eight targets.

图 6 PPI 网络图

Fig. 6 PPI network diagram



BP-生物过程；CC-细胞组成；MF-分子功能；图 8 同。  
BP-biological process; CC-cell component; MF-molecular function; same as fig.8.

图 7 GO 功能富集分析中各组分占比

Fig. 7 Each component proportion in GO function enrichment analysis

排序，选取排名前 20 的条目可视化展示（图 8）。其中，BP 主要涉及对炎症反应、丝裂原活化蛋白激酶（mitogen activated protein kinases, MAPK）级联的积极调节、血管生成的正向调节、对缺氧的反应等；CC 主要涉及质膜、细胞外间隙、细胞质、受体复合物等；MF 则有酶结合、蛋白酪氨酸激酶活性、胰岛素受体底物结合、血红素结合等。

174 个交集基因通过 KEGG 信号通路分析共富集到 167 个通路，按 P 值排名前 20 的信号通路主要涉及晚期糖基化终产物-晚期糖基化终产物受

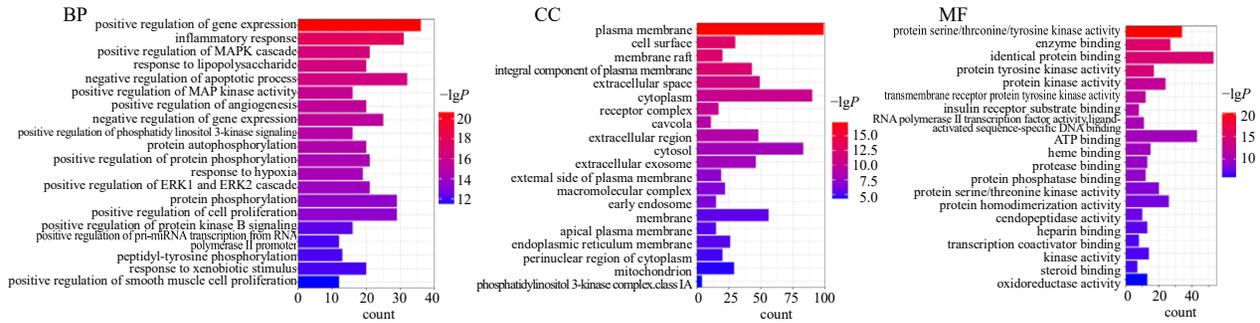


图 8 GO 功能富集分析

Fig. 8 GO functional enrichment analysis

体 (advanced glycation end products-receptor for advanced glycosylation end products, AGE-RAGE) 信号通路、血脂与动脉粥样硬化、缺氧反应因子-1 (hypoxia-inducible factor-1, HIF-1)、MAPK、TNF、PI3K-Akt 等信号通路等, 其与治疗 DFU 密切相关 (图 9)。

2.3 结合模式预测与分析

2.3.1 分子对接 PPI 结果表明, AKT1、TNF-α 为核心药物治疗 DFU 的主要靶点, 其对应的高频活性

成分分别为木犀草素、黄芩苷。借助分子对接进一步探究其相互作用模式 (图 10)。一般认为, 结合能力越强对接打分值越高。结果显示, AKT1 结合木犀草素的打分为 100.695, 与所对应的阳性化合物打分为 82.984; TNF-α 结合黄芩苷的打分为 153.154, 与所对应的阳性化合物对接打分为 169.272。各化合物所对接后的打分值均接近靶标蛋白与其原结晶配体阳性化合物打分值, 且结合位点类似。

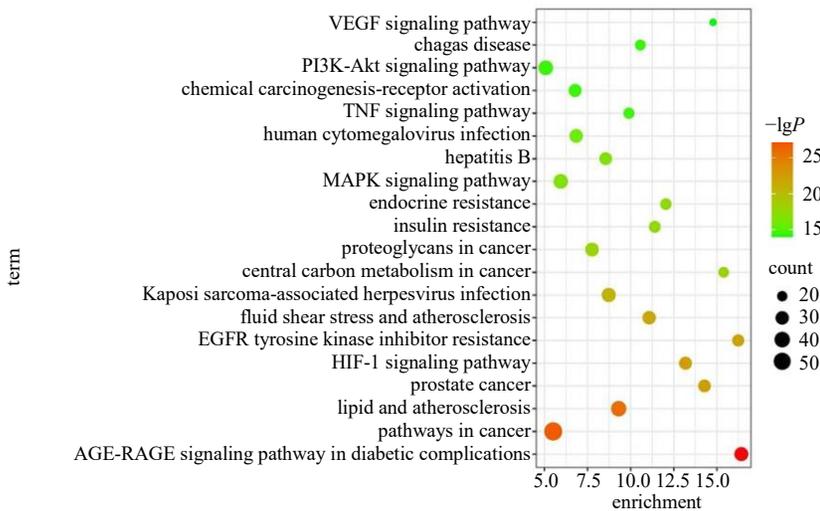
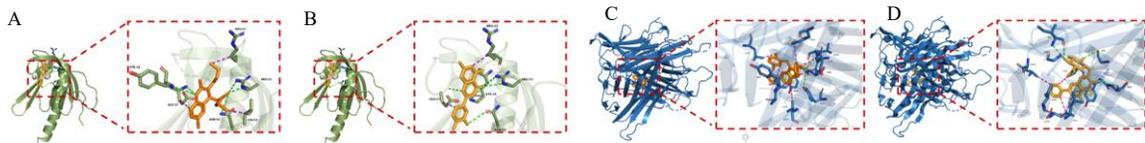


图 9 核心药物活性成分治疗 DFU 作用靶点的 KEGG 通路富集分析

Fig. 9 KEGG pathway enrichment analysis of targets of active ingredients in coreTCMs in treatment of DFU



A-AKT1 与其阳性化合物对接的构象; B-AKT1 与木犀草素对接的构象; C-TNF-α 与阳性化合物对接的构象; D-TNF-α 与黄芩苷对接的构象。  
A-conformation of AKT1 docking with its positive compound; B-conformation of AKT1 docking with luteolin; C-conformation of TNF-α docking with positive compound; D-conformation of TNF-α docking with baicalin.

图 10 关键靶点与其阳性化合物和活性成分的分子对接

Fig. 10 Molecular docking of key targets with their positive compounds and active ingredients

**2.3.2 分子动力学模拟** 利用分子模拟进一步探究活性成分与靶标蛋白结合的稳定性,通过分析复合物体系均方根偏差 (root-mean-square deviation, RMSD) 值可知,在 20 ns 模拟时间内,木犀草素与 AKT1、黄芩苷与 TNF- $\alpha$  对接的复合物稳定性与靶点和其原配体阳性化合物的复合物相类似, RMSD 值波动变化范围较小,表明活性成分与其对应靶点形成的复合物体系可在较长热力学环境下保持稳定与平衡 (图 11)。

## 2.4 实验验证研究

为进一步研究核心药物主要活性成分与其关键

作用靶点间的潜在作用机制,本研究通过体内外研究开展了实验验证。

**2.4.1 黄芩苷和木犀草素对 HUVEC 细胞增殖的影响** 对关键活性成分黄芩苷和木犀草素的生物安全性进行评价。结果 (图 12) 表明,黄芩苷在低浓度时对 HUVEC 没有明显影响,在 6.25  $\mu\text{mol/L}$  时表现出一定促进细胞增殖效果,但在 400  $\mu\text{mol/L}$  时显示出一定的细胞毒性。木犀草素在 3.125 和 6.25  $\mu\text{mol/L}$  时可促进 HUVEC 细胞的生长,但其浓度在 25  $\mu\text{mol/L}$  以上时,对 HUVEC 细胞的增殖有显著抑制作用。

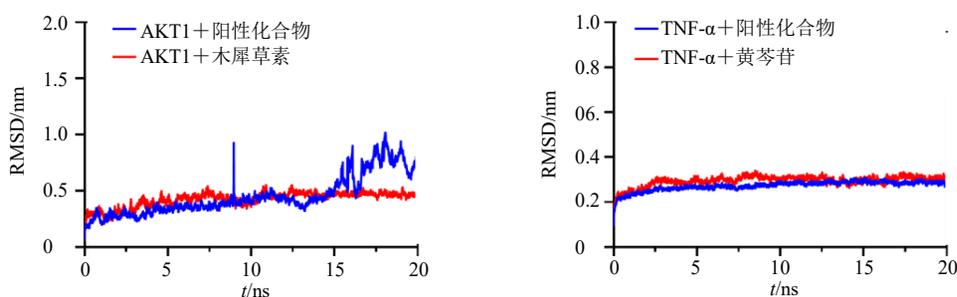
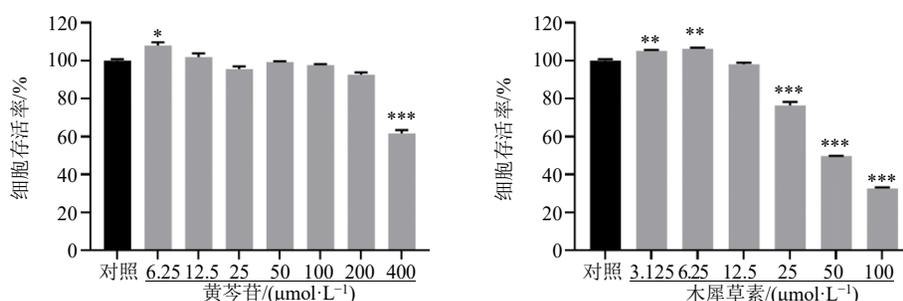


图 11 对接后复合物的分子动力学模拟

Fig. 11 Molecular dynamics simulation of post-docking complex



与对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$ 。

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$  vs control group.

图 12 黄芩苷和木犀草素对 HUVEC 细胞增殖的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

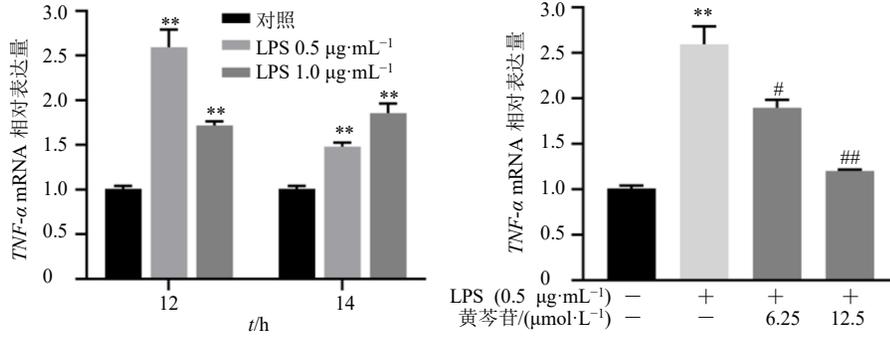
Fig. 12 Effects of baicalin and luteolin on HUVEC proliferation ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

**2.4.2 黄芩苷和木犀草素对关键靶点蛋白转录水平的影响** 为了进一步评估黄芩苷对 TNF- $\alpha$  转录水平的影响,利用不同质量浓度的 LPS 刺激 HUVEC 细胞 12、24 h,结果表明 0.5  $\mu\text{g/mL}$  的 LPS 刺激 12 h 后, TNF- $\alpha$  转录水平显著升高;在经过不同浓度黄芩苷处理后, TNF- $\alpha$  转录水平呈剂量相关性降低 (图 13)。

分子对接及分子动力学模拟结果显示,木犀草素可以与 AKT1 激动剂结合位点稳定结合 (图 10-

B、图 11); 而 GO 功能富集中 BP 分析结果表明,核心药物的活性成分对应的 DFU 关键靶点主要富集在 PI3K 等信号通路的正向调控生物过程中 (图 8)。实验结果同样也证实, HUVEC 细胞经不同浓度木犀草素处理后, PI3K 和 AKT1 转录水平呈剂量相关性升高 (图 14)。

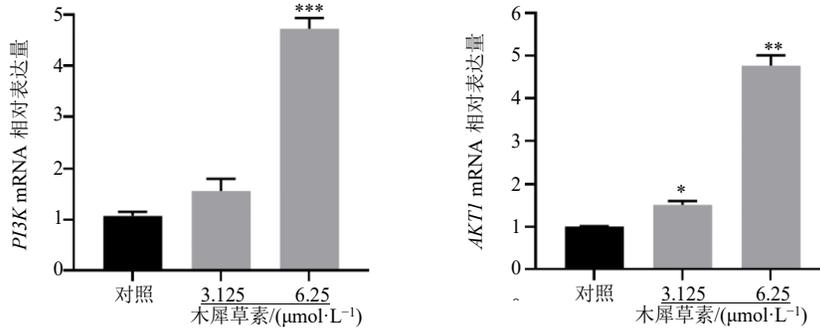
**2.4.3 木犀草素对关键蛋磷酸化白水平的影响** 结果 (图 15) 表明, 3.125  $\mu\text{mol/L}$  木犀草素处理 HUVEC 细胞后,其 p-AKT/AKT 和 p-PI3K/PI3K 水平升高,证明



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 13 黄芩苷对 LPS 诱导的 HUVEC 细胞  $TNF-\alpha$  转录水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

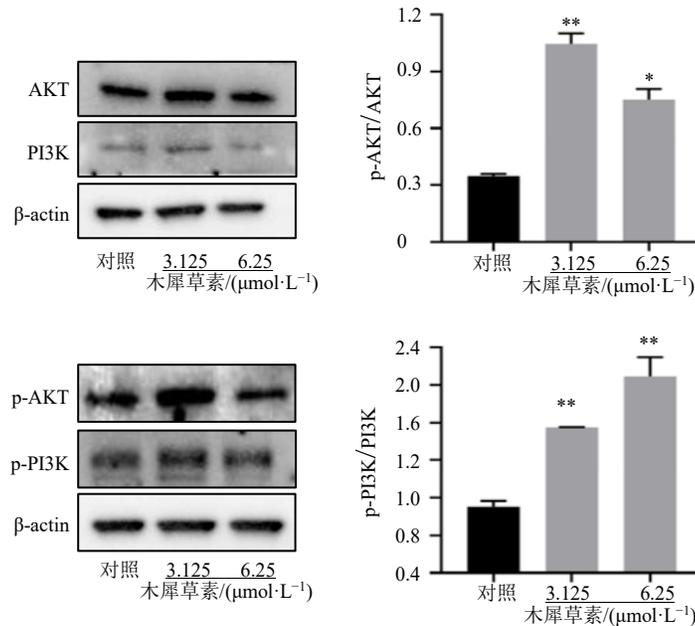
Fig. 13 Effect of baicalin on  $TNF-\alpha$  transcript level in LPS-induced HUVEC ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )



与对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$ 。  
\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$  vs control group.

图 14 木犀草素对 HUVEC 细胞  $PI3K$  和  $AKT1$  转录水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 14 Effect of luteolin on  $PI3K$  and  $AKT1$  transcript levels in HUVEC ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )



与对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$ 。  
\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs control group.

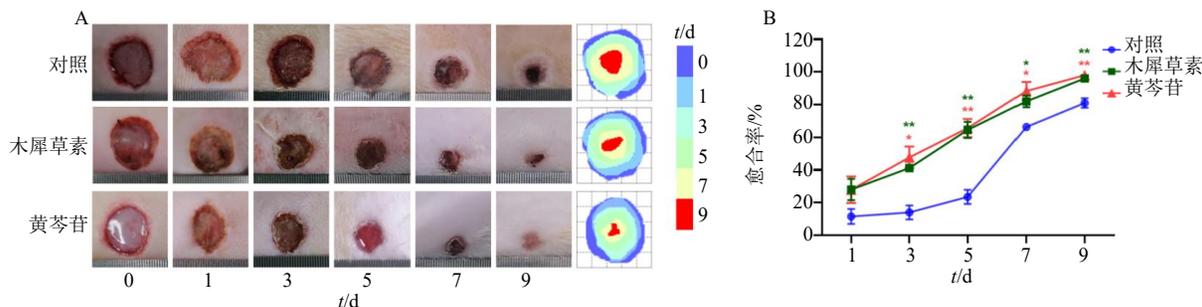
图 15 木犀草素对 HUVEC 细胞  $PI3K$  和  $AKT$  蛋白磷酸化水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 15 Effect of luteolin on  $PI3K$  and  $AKT$  protein phosphorylation level in HUVEC ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

该信号通路被激活；当使用 6.25  $\mu\text{mol/L}$  木犀草素处理细胞后，p-PI3K/PI3K 水平显著升高，但 p-AKT/AKT 水平相比于低浓度组有所降低，但仍高于对照组。

**2.4.4 DFU 大鼠创面愈合疗效评价** 建立 DFU 大鼠模型评估木犀草素和黄芩苷治疗效果。结果（图 16）

表明，与模型组相比，经 ig 木犀草素或黄芩苷治疗的 DFU 大鼠伤口创面从第 3 天起均有所缩小，其愈合率显著升高。在 ig 治疗 9 d 后，木犀草素或黄芩苷治疗组 DFU 大鼠创面接近愈合，两者愈合率并无明显差异，但均显著高于模型组。



A-第 0、1、3、5、7、9 天 DFU 大鼠创面愈合情况；B-DFU 大鼠创面愈合率；与对照组比较：\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$ 。

A-wound healing of DFU rats on days 0, 1, 3, 5, 7 and 9; B-wound healing rate of DFU rats; \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs control group.

图 16 木犀草素和黄芩苷对 DFU 大鼠创面愈合的影响 ( $n = 4$ )

Fig. 16 Effect of luteolin and baicalin on wound healing in DFU rats ( $n = 4$ )

### 3 讨论

现阶段，DFU 发病率逐年攀升，其可能成为 DM “最贵”并发症之一，给全球卫生系统带来极大负担<sup>[16-17]</sup>。中医关于 DFU 论述历史悠久，《素问·生气通天论》曾记载：“膏粱厚味，足生大疔”；《外科正宗·脱疽论第十八》云：“夫脱疽者，外腐而内坏也。此因平昔厚味膏粱熏蒸脏腑……其蕴蓄于脏腑者，终成燥热火症；其毒积于骨髓者，终为疽毒阴疮”。本虚标实、气血亏虚是 DFU 发生之根本，阴阳两虚是其发展之趋势，气机郁滞、瘀热化火和湿热蕴结是其发生之关键。相比于西医疗法，中医认为，结合整体观及结合局部辨证后施治，可达调节气血津液阴阳平衡，延缓 DFU 进程之功效。因此，基于中医理论指导下的中成药在 DFU 临床防治领域应用广泛，疗效显著。

本研究系统分析了临床治疗 DFU 中成药用药规律，得到核心药物当归、黄芪、冰片、丹参。当归性甘，善补血活血；黄芪性甘，善补气固表、抗菌、托毒、排脓、生肌。两药合用一走一守共奏补气生血、扶正托毒之功效<sup>[18]</sup>。冰片善清热解毒；丹参善活血，却不伤正。药性方面，选用寒性药为主，达到滋阴清热的功效；配伍使用甘味药，主要在于甘能满中、甘者生津、甘者入脾、甘能护中<sup>[19]</sup>。古书记载苦味药可泄、可燥，《金匱要略心典》曰：“苦者能泄能燥能坚”。临床上，DFU 患者常伴有脾运化功能失常，导致痰湿、血瘀等郁滞体内，郁久而

化为热毒，故应用苦味药以清热毒。而辛味药能散能行，可使体内郁积的痰湿等病理产物消散，促使津液正常输布，改善患者痰瘀互结之症状。此外，分析可知中成药中频次最高的药物组合为“黄芪-丹参-当归-金银花-川芎-地黄”。黄芪、当归可补气生血，扶正脱毒；丹参、川芎则活血化瘀、通络止痛；金银花、地黄可滋阴清热；且金银花清热解毒。用药规律分析证实，无论是频次最高的药物组合，或是筛选得到的核心中药，均对 DFU 4 大发病因素（虚、毒、湿、热）具有针对性，这也证实了中医理论指导下的精准用药与科学内涵。

为进一步探究中成药中核心药物治疗 DFU 的潜在机制，利用网络药理学系统分析了核心药物活性成分与其对应的 DFU 疾病靶点，证实其核心靶点包括了 AKT1、TNF- $\alpha$  和 IL-6 等炎症分子。临床研究发现，DFU 病程中伴有超长期炎症反应<sup>[20]</sup>，导致肉芽组织生长延缓，溃疡面愈合困难<sup>[21]</sup>。靶向激活 AKT1 或抑制 TNF- $\alpha$  已被证实可通过抗炎作用提升 DFU 治疗效果<sup>[22-23]</sup>。而在前期研究中，木犀草素与黄芩苷均被发现具有抗炎、抗氧化效果<sup>[24-26]</sup>。本研究通过分子对接及动力学模拟，证实了木犀草素与黄芩苷能够分别与 AKT1 和 TNF- $\alpha$  稳定结合，揭示其可能通过抗炎机制促进 DFU 创面愈合。通过 GO 和 KEGG 信号通路富集分析发现，PI3K-Akt、TNF、MAPK 以及 HIF-1 等信号通路可能是中成药治疗 DFU 的主要途径。这与之前研究发现的

PI3K/AKT、HIF-1、MAPK 信号通路可通过抗炎、抗菌, 促细胞增殖、迁移和血管生成等生物学功能, 协同提升 DFU 疗效相吻合<sup>[27-29]</sup>。本实验结果表明, 木犀草素能够显著上调 PI3K 和 AKT1 蛋白的转录及表达水平, 其可能通过激活对应信号通路而发挥治疗 DFU 的功效。而在 LPS 诱导 HUVEC 高表达 TNF- $\alpha$  细胞模型中<sup>[30]</sup>, 经黄芩苷处理后可显著降低 TNF- $\alpha$  表达水平, 提示黄芩苷能够有效抑制 TNF- $\alpha$  炎症因子, 其可能通过抗炎机制促进 DFU 愈合。

本研究利用数据挖掘、网络药理学结合分子模拟等数据分析技术, 系统分析探讨了临床上中成药治疗 DFU 的用药规律, 筛选得到了中成药治疗 DFU 的核心药物及主要活性成分, 以及其对应的关键作用靶点。借助分子对接和动力学模拟探究了活性成分与对应靶点间的结合亲和力及稳定性, 并通过实验证实了中成药主要活性成分治疗 DFU 的潜在作用机制。同时, 基于 DFU 动物模型进一步证实了活性成分对 DFU 的治疗效果。通过将大数据分析 with 实验验证相结合, 筛选发现并证实了中成药治疗 DFU 的关键活性成分及其潜在作用机制, 这为针对性开发治疗 DFU, 且机制明确、剂型丰富的新型中成药产品奠定了基础。然而, 本研究仅对排名靠前的活性成分及对应靶点开展了实验研究, 仍有许多关键成分及其涉及的靶点与信号通路有待进一步实验解析。此外, 通过反复感染创面构建 DFU 慢性动物模型, 将比现有模型更贴近临床病例, 这些不足将会在今后的研究中得到进一步完善。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Zhang P Z, Lu J, Jing Y L, *et al.* Global epidemiology of diabetic foot ulceration: A systematic review and meta-analysis [J]. *Ann Med*, 2017, 49(2): 106-116.
- [2] Jeffcoate W J, Vileikyte L, Boyko E J, *et al.* Current challenges and opportunities in the prevention and management of diabetic foot ulcers [J]. *Diabetes Care*, 2018, 41(4): 645-652.
- [3] Armstrong D G, Swerdlow M A, Armstrong A A, *et al.* Five year mortality and direct costs of care for people with diabetic foot complications are comparable to cancer [J]. *J Foot Ankle Res*, 2020, 13(1): 16.
- [4] Theocharidis G, Thomas B E, Sarkar D, *et al.* Single cell transcriptomic landscape of diabetic foot ulcers [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 181.
- [5] Armstrong D G, Boulton A J M, Bus S A. Diabetic foot ulcers and their recurrence [J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(24): 2367-2375.
- [6] Baltzis D, Eleftheriadou I, Veves A. Pathogenesis and treatment of impaired wound healing in diabetes mellitus: New insights [J]. *Adv Ther*, 2014, 31(8): 817-836.
- [7] Theocharidis G, Baltzis D, Roustit M, *et al.* Integrated skin transcriptomics and serum multiplex assays reveal novel mechanisms of wound healing in diabetic foot ulcers [J]. *Diabetes*, 2020, 69(10): 2157-2169.
- [8] Han G, Ceilley R. Chronic wound healing: A review of current management and treatments [J]. *Adv Ther*, 2017, 34(3): 599-610.
- [9] Kim E, Seo S H, Hwang Y, *et al.* Inhibiting the cytosolic function of CXXC5 accelerates diabetic wound healing by enhancing angiogenesis and skin repair [J]. *Exp Mol Med*, 2023, 55(8): 1770-1782.
- [10] 朱信霖, 扈东营, 陈显振, 等. 糖尿病足溃疡发病机制及治疗相关研究进展 [J/OL]. 中国皮肤性病学杂志, (2022-12-02) [2024-08-07]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1197.R.20221202.1306.003.html>.
- [11] 黄帝内经: 灵枢 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2018: 261-262.
- [12] 宋·朱端章辑, 杨雅西. 卫生家宝方 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2015: 191-194.
- [13] 曾佑燕, 李欣颖, 周莉, 等. 基于多维数据挖掘药食同源类中药治疗糖尿病足的用药规律及分子机制 [J]. *中草药*, 2024, 55(4): 1255-1267.
- [14] 丁敏, 何芳, 鲍敏, 等. 基于网络药理学和细胞实验探讨玉屏风散治疗慢性阻塞性肺病的作用机制 [J]. *中成药*, 2024, 46(7): 407-2414.
- [15] 刘亚坤, 李刚, 颜娟, 等. 紫檀芪对糖尿病性皮肤溃疡模型大鼠创面愈合的影响及机制 [J]. *中国药房*, 2023, 34(16): 1967-1971.
- [16] Sen C K. Human wounds and its burden: An updated compendium of estimates [J]. *Adv Wound Care*, 2019, 8(2): 39-48.
- [17] Almadani Y H, Vorstenbosch J, Davison P G, *et al.* Wound healing: A comprehensive review [J]. *Semin Plast Surg*, 2021, 35(3): 141-144.
- [18] 刘天宇. 基于文献研究对治疗 2 型糖尿病胰岛素抵抗中医用药规律分析 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2019.
- [19] 刘萍. 酸甘化阴配伍临床应用规律探讨 [J]. *中医杂志*, 2019, 60(11): 986-987.
- [20] Chen Y, Wang X, Tao S, *et al.* Research advances in smart responsive-hydrogel dressings with potential clinical diabetic wound healing properties [J]. *Mil Med Res*, 2023, 10(1): 37.

- [21] Sharma R, Sharma S K, Mudgal S K, *et al.* Efficacy of hyperbaric oxygen therapy for diabetic foot ulcer, a systematic review and meta-analysis of controlled clinical trials [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 2189.
- [22] Wang Z Y, Wang X S, Guo Z, *et al.* In silico high-throughput screening system for AKT1 activators with therapeutic applications in sepsis acute lung injury [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12: 1050497.
- [23] Sun Y, Gao C L, Liu H T, *et al.* Exploring the mechanism by which aqueous *Gynura divaricata* inhibits diabetic foot based on network pharmacology, molecular docking and experimental verification [J]. *Mol Med*, 2023, 29(1): 11.
- [24] Ding T, Yi T T, Li Y, *et al.* Luteolin attenuates lupus nephritis by regulating macrophage oxidative stress via HIF-1 $\alpha$  pathway [J]. *Eur J Pharmacol*, 2023, 953: 175823.
- [25] Dinda B, Dinda M, Dinda S, *et al.* An overview of anti-SARS-CoV-2 and anti-inflammatory potential of baicalein and its metabolite baicalin: Insights into molecular mechanisms [J]. *Eur J Med Chem*, 2023, 258: 115629.
- [26] Wu L, Lin Y D, Gao S Y, *et al.* Luteolin inhibits triple-negative breast cancer by inducing apoptosis and autophagy through SGK1-FOXO3a-BNIP3 signaling [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1200843.
- [27] Guo J, Hu Z B, Yan F J, *et al.* *Angelica dahurica* promoted angiogenesis and accelerated wound healing in db/db mice via the HIF-1 $\alpha$ /PDGF- $\beta$  signaling pathway [J]. *Free Radic Biol Med*, 2020, 160: 447-457.
- [28] Corrado C, Fontana S. Hypoxia and HIF signaling: One axis with divergent effects [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(16): 5611.
- [29] Qiu B, Lawan A, Xirouchaki C E, *et al.* MKP1 promotes nonalcoholic steatohepatitis by suppressing AMPK activity through LKB1 nuclear retention [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 5405.
- [30] Deng J, Xian D, Cai X, *et al.* Surface-engineered vanadium carbide MXenzyme for anti-inflammation and photoenhanced antitumor therapy of colon diseases [J]. *Adv Funct Mater*, 2023, 33(31): 2211846.

[责任编辑 潘明佳]