

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.02.012

西帕依固龈液治疗糖尿病足溃疡效果及网络药理学分析*

李茜^{1,2,3}, 郝梦¹, 李金耀², 李建德⁴, 刘婷⁴, 季志红⁵

(1. 新奇康药业股份有限公司, 新疆 乌鲁木齐 830011; 2. 新疆大学生命科学与技术学院, 新疆 乌鲁木齐 830049; 3. 新疆医科大学第四附属医院, 新疆 乌鲁木齐 830054; 4. 新疆奇沐医药研究院, 新疆 乌鲁木齐 830011; 5. 新疆中药 <民族药> 制药共性关键技术研究重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830011)

摘要:目的 探讨西帕依固龈液治疗糖尿病足溃疡(DFU)可能的药效成分及作用的靶点和机制。方法 取雄性SD大鼠40只,以高脂乳剂灌胃(每100g体重0.6mL,每天1次,连续30d)后,腹腔注射1%链脲佐菌素(60mg/kg,每天1次,连续3d),复合饱和氢氧化钠溶液腐蚀足部皮肤以复制DFU大鼠模型。26只建模成功大鼠随机分为模型组和给药组,各13只。另取10只大鼠设为空白组。治疗1,7,15d测量大鼠溃疡面积,计算溃疡抑制率;酶联免疫吸附法检测血清表皮生长因子(EGF)含量;显微镜下观察大鼠溃疡组织形态。通过文献检索并利用中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP)获取西帕依固龈液的活性成分及作用靶点,运用人类基因组数据库(Genecards)、药物数据库(DrugBank)、人类孟德尔遗传数据库(OMIM)和治疗靶点数据库(TTD)获取DFU相关靶点,获取药物-疾病的交集靶点,构建“成分-靶点”网络、蛋白相互作用(PPI)网络拓扑分析图,进行基因本体论(GO)功能富集和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析;对核心成分与核心靶点进行分子对接验证。结果 给药7,15d后,给药组大鼠溃疡面积明显小于模型组($P < 0.05$),给药15d时给药组溃疡抑制率为58.38%;与模型组比较,给药组EGF含量明显升高($P < 0.05$),可见毛囊再生,脂肪细胞增多。西帕依固龈液治疗DFU可能的有效成分有6个,主要为鞣花酸、没食子酸、没食子酸甲酯等;PPI网络包括29个交集靶点,平均Degree值9.66,获得9个中心节点,主要有TP53,VEGFA,CASP3等;富集分析结果表明,西帕依固龈液治疗DFU的靶点主要参与NF- κ B及PI3K-Akt等信号通路;核心成分与核心靶点的结合能均小于0kcal/mol。结论 西帕依固龈液对DFU有一定抑制作用,可能通过多成分-多靶点-多通路共同作用实现。

关键词:西帕依固龈液;糖尿病足溃疡;网络药理学;大鼠;动物实验;作用机制

中图分类号:R965 文献标志码:A 文章编号:1006-4931(2023)02-0048-08

Efficacy of Xipayi Mouth Rinse on Diabetic Foot Ulcer Based on the Network Pharmacology

LI Qian^{1,2,3}, HAO Meng¹, LI Jinyao², LI Jiande⁴, LIU Ting⁴, JI Zhihong⁵

(1. Xinqikang Pharmaceutical Co., Ltd., Urumqi, Xinjiang, China 830011; 2. School of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi, Xinjiang, China 830049; 3. The Fourth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang, China 830054; 4. Xinjiang Qimu Pharmaceutical Research Institute, Urumqi, Xinjiang, China 830011; 5. Xinjiang Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine <Ethnic Medicine> Pharmaceutical Common Key Technology Research, Urumqi, Xinjiang, China 830011)

Abstract: Objective To investigate the possible pharmacodynamic components, targets and mechanisms of Xipayi Mouth Rinse in the treatment of diabetic foot ulcer (DFU). **Methods** Forty male SD rats were selected and given intragastric administration of high-fat emulsion (0.6 mL/100 g, once a day for 30 d), and then they were intraperitoneal injection of 1% streptozotocin (60 mg/kg, once a day for 3 d), and then their foot skin was corroded by saturated sodium hydroxide solution to establish the DFU model rats. A total of 26 successfully modeled rats were randomly divided into the model group and the administration group, with 13 rats in each group. Another 10 rats were selected as the blank group. The area of ulcer was measured and the inhibition rate of ulcer was calculated after 1, 7 and 15 d of administration. The content of serum epidermal growth factor (EGF) was detected by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The morphology of ulcer tissue was observed under microscope. The active components and action targets of Xipayi Mouth Rinse were obtained by literature retrieval and Traditional Chinese Medicine Systematic Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP), and DFU-related targets and drug-disease intersection targets were obtained by the Genecards, DrugBank, Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) and Therapeutic Target Database (TTD) to construct a "component-target" network, topological graph of protein-protein interaction (PPI) network. Gene Ontology (GO) function enrichment and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were carried out. The key components were verified by molecular docking with the key targets. **Results** On the 7th and 15th day of administration, the area of ulcer in the administration group was significantly smaller than that in the model group ($P < 0.05$), and the inhibition rate of ulcer in the administration group was 58.38% on the 15th day of administration. Compared with those in the model group, the content of EGF in the administration group significantly increased ($P < 0.05$), the hair follicle regeneration and adipocyte

*基金项目:中国民族医药学会经典名方及大品种培育分会科研项目[PZ2020-04]。

第一作者:李茜,女,博士,主任药师,研究方向为新药及医院制剂研发,(电子信箱)2326193940@qq.com。

△通信作者:季志红,女,大学本科,高级工程师,研究方向为制药工艺及中药复方制剂研发,(电子信箱)2313039112@qq.com。

proliferation were observed in the administration group. There were six possible active components of Xipayi Mouth Rinse in the treatment of DFU, mainly including ellagic acid, gallic acid, methyl gallate, etc. PPI network included 29 intersection targets, with an average Degree of 9.66. Nine central nodes were obtained, mainly including TP53, VEGFA, CASP3, etc. Enrichment analysis showed that the target of Xipayi Mouth Rinse in the treatment of DFU mainly participated in the NF- κ B and PI3K-Akt and other signaling pathways. The binding energies of key components and key targets were less than 0 kcal/mol. **Conclusion** Xipayi Mouth Rinse has a certain inhibitory effect on DFU, which may be realized through the combined action of multiple components, multiple targets and multiple pathways.

Key words: Xipayi Mouth Rinse; diabetic foot ulcer; network pharmacology; rats; animal experiment; mechanism

糖尿病足溃疡(DFU)为严重的慢性糖尿病并发症,临床主要表现为伴有神经病变和周围血管病变的足部溃疡^[1]。DFU可导致感染、坏疽、截肢,甚至死亡,给患者带来身体痛苦和经济负担。目前主要治疗手段为在控制血糖基础上,清洁护理创面、控制感染、增加血流灌注和足部减压^[2]。中医将DFU归为“脱疽”,多以清热解毒、祛腐排脓、活血散瘀、消痈止痛为治疗原则^[3]。西帕依固龈液主要组成药材为没食子,具有清热解毒、化腐消痈、活血逐瘀功效,主要用于治疗牙周疾病引起的牙齿酸软、牙龈出血、口舌生疮,咽喉肿痛等病症^[4]。本研究中探讨了西帕依固龈液促进模型大鼠DFU愈合的效果,并结合网络药理学分析其作用机理,为后续研究该制剂治疗DFU的药物效应动力学和机制提供参考,同时为制剂的二次开发探索提供研究基础。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与动物

仪器:PL2002型分析电子天平(梅特勒-托利多仪器<上海>有限公司);EQ2016-037型显微镜(德国Leica公司)。

试剂:西帕依固龈液(新奇康药业股份有限公司,批号为191021,规格为每瓶100 mL);链脲佐菌素(STZ,美国西格玛奥德里奇公司,批号为190209)、柠檬酸、柠檬酸三钠均为分析纯;水为纯化水。

动物:SD大鼠50只,健康洁净级,雄性,5~7周龄,体质量(200±20)g,均购自新疆农业大学,实验动物生产许可证号SCXK(新)2018-0002,伦理批件号2019011。所有大鼠均于无特定病原体环境中饲养,温度(25±2)℃,相对湿度(50±5)%,人工光照12 h/12 h明暗交替,自由进食饮水,适应性喂养1周。

1.2 方法

1.2.1 动物实验

糖尿病模型建立:适应期结束后即称定大鼠体质量,并随机分为空白组(10只)及实验组(40只)。实验组采用饮食诱导+化学试剂诱导的方法建模,给予正常饮食、饮水,灌胃高脂乳剂饲料(每100 g体质量0.6 mL),每天1次,持续饲喂30 d,每5 d记录1次体质量,并观察大鼠形态变化;30 d后腹腔注射1% STZ溶液(60 mg/kg),

连续注射3 d后,禁食12 h,于次日清晨对实验组大鼠尾尖部针刺采血,使用血糖仪和试纸测量血糖,连续2次血糖>16.7 mmol/L即为糖尿病大鼠模型复制成功。

DFU模型建立:取糖尿病模型大鼠,对其左踝关节周围1.5 cm范围脱毛,后期用药阶段中每3 d重复脱毛1次,用棉签蘸取饱和氢氧化钠溶液涂抹于裸露皮肤持续30 s后,用生理盐水和清水多次反复清洗以建立足部溃疡模型。涂抹氢氧化钠时,注意控制涂抹面积大致相当且均匀,建模成功后,记录大鼠初始溃疡面积,并每7 d记录1次溃疡愈合情况。此期间给予所有大鼠正常饮食、饮水,不给予其他处理。

分组及给药:将实验组26只DFU模型大鼠随机分为模型组和给药组,各13只。模型组大鼠2次血糖平均值分别为(18.4±3.4)mmol/L、(18.3±3.4)mmol/L,给药组分别为(18.5±3.4)mmol/L、(20.0±3.3)mmol/L。给药组大鼠溃疡区域冲洗涂抹西帕依固龈液,每只2 mL,早晚各1次,先彻底冲洗溃疡面,再用棉签拭去多余液体。每次给药后以无菌纱布覆盖并固定。模型组及空白组大鼠给予等体积生理盐水。连续给药14 d。

检测指标:于治疗第1,7,15天采用计算机像素点法测量溃疡面积,计算溃疡面抑制率。溃疡抑制率(%)=(模型组大鼠溃疡面积-给药组大鼠溃疡面积)/模型组大鼠溃疡面积×100%。对大鼠腹主动脉采血,取血清,采用酶联免疫吸附(ELISA)法检测表皮生长因子(EGF)水平。取大鼠溃疡部位组织,固定于10%中性甲醛溶液中,脱水、透明、浸蜡、包埋、切片、苏木素-伊红(HE)染色、封片后,显微镜下观察组织形态并摄片。

统计学处理:采用SPSS 20.0统计学软件分析。计量资料以 $\bar{X} \pm s$ 表示,行 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

1.2.2 网络药理学

化学成分及靶点获取:以“没食子”为检索词,在中国知网、万方医学网以及Geen Medical等平台获取相关文献,总结整理没食子化学成分;将成分导入中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP, <https://tcmssp.com/tcmssp.php>),设置口服生物利用度(OB)≥30%进行筛选。根据现有文献报道补充没食子酸乙酯(OB=

25.61%),建立西帕依固龈液的成分数据库;通过TC-MSP获取成分的靶点,运用Uniprot数据库(<https://www.uniprot.org/>)下载靶点标准名称文件,对靶点进行标准化处理,构建西帕依固龈液的靶点数据库。

疾病靶点获取:以“Diabetic foot ulcer”为关键词,分别检索药物数据库(DrugBank, <https://go.drugbank.com/>)、人类基因组数据库(GeneCards, <https://www.genecards.org/>)、人类孟德尔遗传数据库(OMIM, <https://omim.org/>)、治疗靶点数据库(TTD, <https://go.drugbank.com/>)获取DFU相关靶点,去重后构建DFU的靶点数据库。

交集靶点获取:利用R语言3.6.1软件,整理前述2个靶点数据库文件,获取二者的交集靶点。

“成分-靶点”网络构建:将交集靶点、药物-成分关系、成分-靶点关系相关数据导入Cytoscape 3.8.0软件,构建“成分-靶点”网络。成分及靶点的形状大小反映Degree值大小。

蛋白质相互作用(PPI)网络构建及分析:利用String数据库(<https://string-db.org/>),选择“Multiple proteins”,导入交集靶点文件相关数据,物种选择“Homo sapiens”,参数设置为“最低要求评分0.4分”“删除游离节点”,获取PPI网络图。将PPI网络关系相关数据导入Cytoscape 3.8.0软件,以“Degree centrality, DC”“Closeness centrality, CC”“Betweenness centrality, BC”“Eigenvector centrality, EC”“Network centrality, NC”“local average Connectivity, LAC”为筛选条件,选取以上6个拓扑特征值均大于其相应中位数的靶点作为核心靶点,进行2轮分析,构建PPI拓扑分析图。

富集分析:利用R语言3.6.1软件的“dose bioconductor”“clusterprofiler bioconductor”“enrichplot bioconductor”“pathview bioconductor”包,对交集靶点进行基因本体论(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析,设定显著性条件为 $q.adjust < 0.05$,筛选显著的生物功能和信号通路,并制作气泡图和条形图。

分子对接验证:将“成分-靶点”网络与PPI中Degree值排名前3的成分与靶点进行对接。从PubChem数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)中下载配体文件,利用Chem3D软件对配体进行能量最小化处理。从蛋白质结构数据库(PDB, <http://www1.rcsb.org/>)中下载受体结构文件,利用PyMOL对受体进行去水和除杂等处理;通过AutoDockTools 1.5.6软件确定配体、受体结合的活性口袋相关参数,并进行半柔性分子对接。借助PyMOL绘制最佳对接模型图。结合能小于0 kcal/mol表明配体能和受体自发结合,结合能越小对接越好。小于-5.0 kcal/mol,表明结合性较好。

2 结果

2.1 动物实验

大鼠一般情况:大鼠体质量变化情况见表1。实验期间空白组大鼠体质量持续升高,给药组和模型组大鼠仅在前期饮食诱导期间升高。在糖尿病模型复制成功后,大鼠皆出现典型的“三多一少”症状。且大鼠表现毛色偏黄,暗淡无光泽,并有精神萎靡表现,其中1只大鼠出现厌食等抑郁相关症状。实验结束后,给药组大鼠溃疡面出现修复状态,溃疡颜色变淡,且未出现扩大现象;模型组大鼠溃疡颜色较深,其中个别溃疡面扩大。

表1 大鼠体质量变化情况($\bar{X} \pm s, g$)

Tab. 1 Changes of body mass in rats ($\bar{X} \pm s, g$)

组别	初始	饮食诱导30 d	建模前	建模后10 d	建模后15 d
空白组($n=10$)	198 ± 18	249 ± 34	254 ± 32	298 ± 45	324 ± 46
模型组($n=13$)	221 ± 23	233 ± 39	200 ± 24	191 ± 31	180 ± 30
给药组($n=13$)	217 ± 19	229 ± 19	212 ± 31	199 ± 21	186 ± 22

检测指标:给药7 d及15 d后给药组大鼠溃疡面积明显小于模型组($P < 0.05$),见表2。给药15 d时给药组大鼠溃疡抑制率为58.38%。与空白组比较,模型组EGF水平显著降低[(558.13 ± 87.84)pg/mL比(666.13 ± 134.21)pg/mL, $P < 0.05$];与模型组比较,给药组EGF水平显著升高[(638.82 ± 154.54)pg/mL比(558.13 ± 87.84)pg/mL, $P < 0.05$]。

表2 给药后大鼠溃疡面积比较($\bar{X} \pm s, mm^2, n=13$)

Tab. 2 Comparison of ulcer area of rats after administration ($\bar{X} \pm s, mm^2, n=13$)

组别	1 d	7 d	15 d
模型组	19.12 ± 4.22	17.27 ± 0.56	14.9 ± 5.27
给药组	19.25 ± 3.25	12.18 ± 0.64*	6.2 ± 5.27*

注:与模型组比较,* $P < 0.05$ 。

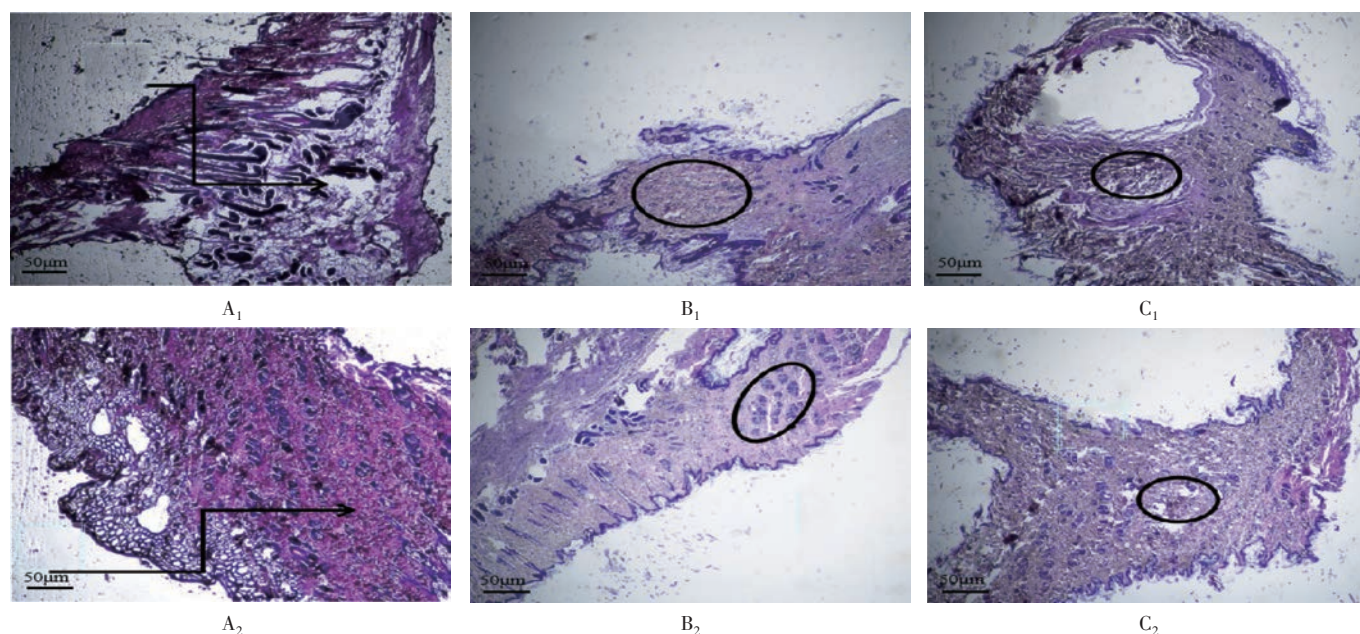
Note:Compared with those in the model group,* $P < 0.05$.

组织病理情况:结果见图1。空白组大鼠溃疡组织可见毛囊腺体下有脂肪组织,无修复,毛囊及表皮完整。模型组可见组织间有水肿,脂肪细胞少;有经修复形成的角质化新的凹凸面,溃疡面大;溃疡区域未见毛囊再生。给药组可见溃疡后的修复,毛囊再生过程不完善,且脂肪细胞较模型组增多。

2.2 网络药理学

2.2.1 化学成分及靶点筛选

通过文献挖掘及后续筛选,获得西帕依固龈液化学成分7个;作用靶点54个,去重后得40个。结果见表3。分别从DrugBank, GeneCards, OMIM, TTD数据库中获得DFU作用靶点2391, 170, 15, 3个,去重后共得靶点2429个。取交集共得到29个靶点,详见表4。



A₁, A₂. 空白组 B₁, B₂. 模型组 C₁, C₂. 给药组

图1 大鼠组织病理学观察(HE, × 200)

A₁, A₂. Blank group B₁, B₂. Model group C₁, C₂. Administration group

Fig. 1 Histopathological observation of rats (HE, × 200)

表3 西帕依固龈液化学成分及靶点数量

Tab. 3 Chemical composition and number of targets of Xipayi

Mouth Rinse			
TCMSP ID	化学成分	OB(%)	靶点数
MOL000513	没食子酸(Gallic acid)	31.69	15
MOL001002	鞣花酸(Ellagic acid)	43.06	20
MOL000569	间双没食子酸(Digallic acid)	61.85	3
MOL001906	没食子酸甲酯(Methyl gallate)	30.91	5
MOL000359	β-谷甾醇(β-sitosterol)	36.91	3
MOL001807	丁香酸(Cedar acid)	47.78	3
MOL001907	没食子酸乙酯(Progallin A)	25.61	5

表4 西帕依固龈液 - DFU 交集靶点

Tab. 4 Intersection targets of Xipayi Mouth Rinse - DFU

序号	靶点	序号	靶点	序号	靶点
1	PTGS1	11	VEGFA	21	AKR1B1
2	PTGS2	12	CDKN1A	22	ADRA1B
3	ADRA2A	13	MMP2	23	TOP2A
4	MAOB	14	MMP9	24	HSP90AA1
5	GRIA2	15	NFKBIA	25	CASP9
6	ADRB2	16	PTGS1	26	CASP3
7	MAOA	17	PTGS2	27	TP53
8	ESR1	18	ADRA2A	28	FASN
9	AR	19	MAOB	29	FASLG
10	RELA	20	GRIA2		

2.2.2 网络构建

“成分-靶点”网络:29个交集靶点与7个活性成分匹配后,最终得到6个具有抗DFU作用的活性成分,分

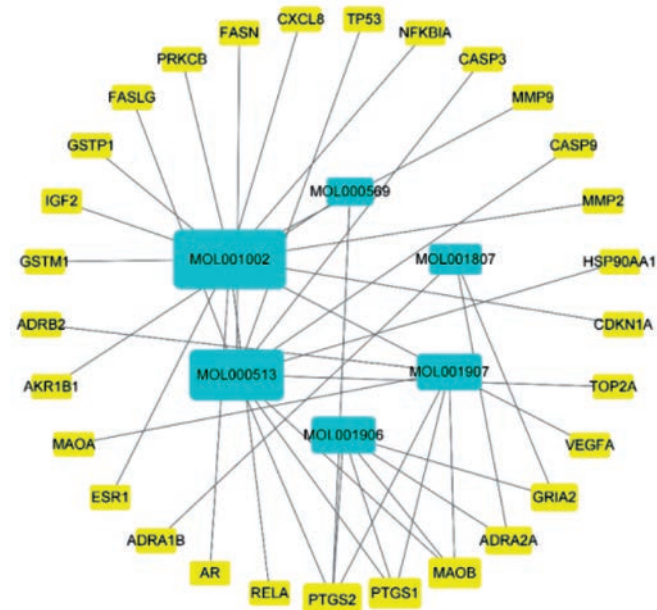


图2 西帕依固龈液 - DFU “成分-靶点”网络

Fig. 2 “Component-Target” network of Xipayi Mouth Rinse - DFU

别为鞣花酸(MOL001002)、没食子酸(MOL000513)、没食子酸甲酯(MOL001906)、没食子酸乙酯(MOL001907)、丁香酸(MOL001807)、间双没食子酸(MOL000569),结果见图2。

交集靶点 PPI 网络:29个交集靶点的 PPI 网络包括 29 个节点,140 条边,平均 Degree 值 9.66, PPI 富集 P 值 $< 1.0 \times 10^{-16}$; 将该网络关系导入 Cytoscape 3.8.0 软件进行拓扑分析,第一轮筛选阈值为 $BC \geq 6.67777778$,

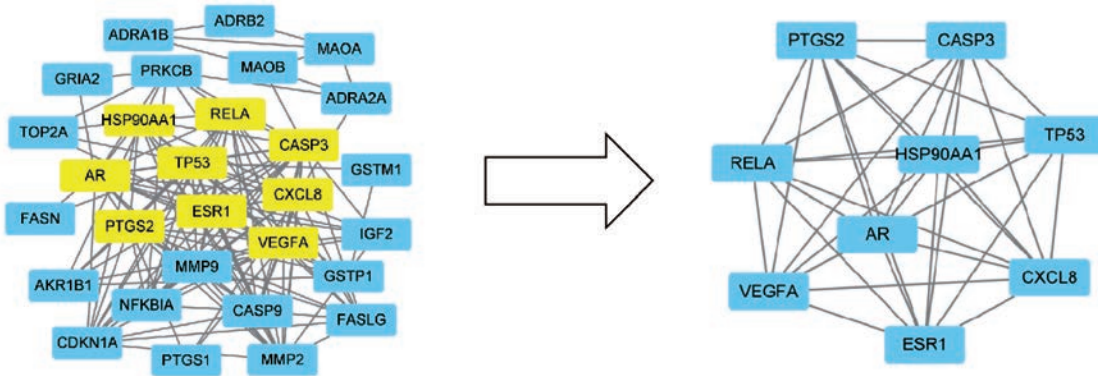


图3 PPI拓扑分析图

Fig. 3 PPI topological graph

CC $\geq 0.346\ 590\ 909$, DC ≥ 9 , EC $\geq 0.346\ 590\ 909$, LAC $\geq 6.888\ 888\ 889$, NC ≥ 7.75 ,共获得9个中心节点。详见图3。

2.2.3 富集分析

GO功能富集:共得到1 240(q . value < 0.05)个条目,包括生物过程(BP)1 094条,分子功能(MF)127条,细胞组分(CC)19条;可视化处理各部分注释结果的前10条,结果见图4。西帕依固龈液治疗DFU的靶点,主要参与调节对脂多糖、类固醇激素、细菌来源分子反应等过程的调控;作用主要体现在酰胺结合、RNA聚合酶II一般转录起始因子结合、肽结合等方面;主要集中于调控细胞质囊泡腔、囊泡腔、小窝等部位。

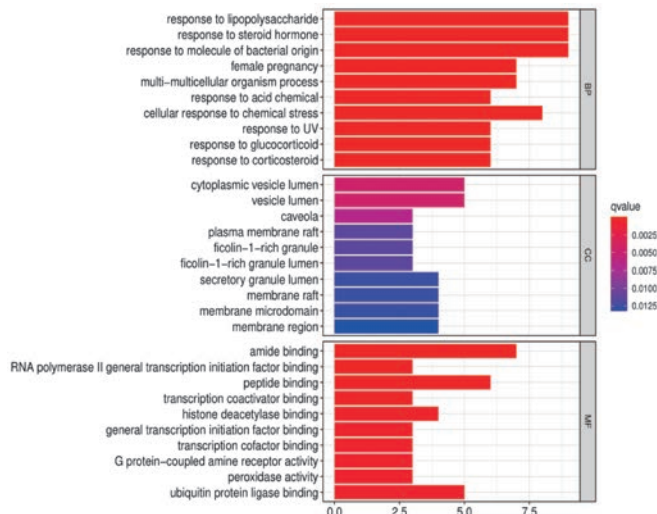


图4 西帕依固龈液 - DFU的GO功能富集可视化分析

Fig. 4 Visualization analysis of GO function enrichment of Xipayi Mouth Rinse - DFU

KEGG通路富集:共得到124条(q . value < 0.05)信号通路,将前30条通路进行可视化处理,结果见图5。主要涉及前列腺癌、铂类耐药、乙型肝炎、人类巨细胞病毒感染、癌症中的蛋白多糖、膀胱癌、卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染、流体剪切应力和动脉粥样硬化、小细胞肺癌、IL-17信号通路等。提示西帕依固龈液可能通过调节多个通路发挥治疗DFU的作用。

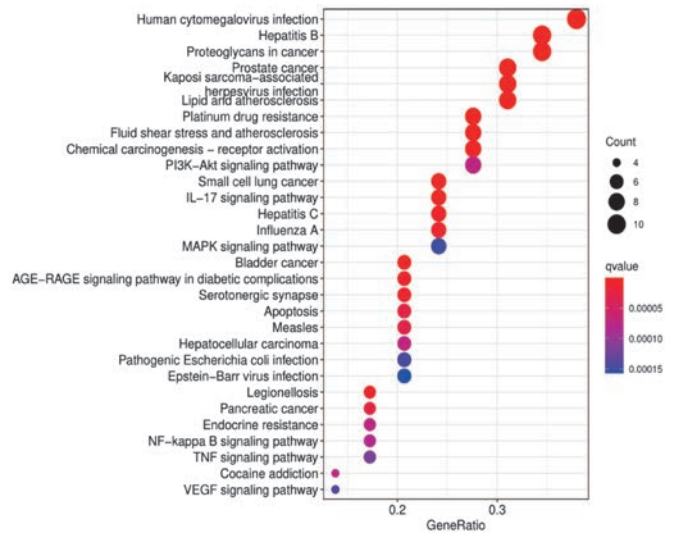


图5 西帕依固龈液 - DFU的KEGG通路富集可视化分析

Fig. 5 Visualization analysis of KEGG pathway enrichment of Xipayi Mouth Rinse - DFU

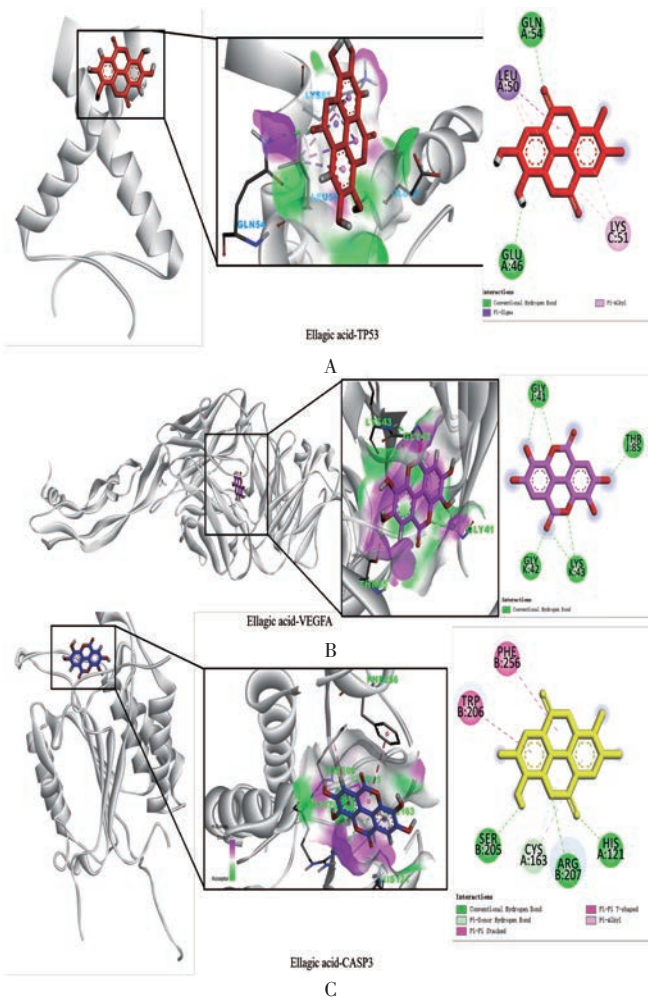
2.2.4 分子对接

鞣花酸、没食子酸、没食子酸甲酯分别与细胞肿瘤抗原(TP53)、血管内皮生长因子A(VEGFA)、半胱氨酸蛋白酶-3(CASP3)进行分子对接,结合能均小于0 kcal/mol。分子对接结果见表5及图6至图8。

表5 核心成分与核心靶点的分子对接结果

Tab. 6 Results of molecular docking between key components and key targets

TCMSP ID	配体	受体	PDB 编号	结合能(kcal/mol)
MOL001002	鞣花酸 (Ellagic acid)	TP53	1A1U	-6.6
		VEGFA	1BJ1	-8.0
		CASP3	1GFW	-7.2
MOL000513	没食子酸 (Gallic acid)	TP53	1A1U	-4.5
		VEGFA	1BJ1	-6.1
		CASP3	1GFW	-5.3
MOL001906	没食子酸甲酯 (Methyl gallate)	TP53	1A1U	-4.4
		VEGFA	1BJ1	-5.9
		CASP3	1GFW	-5.1



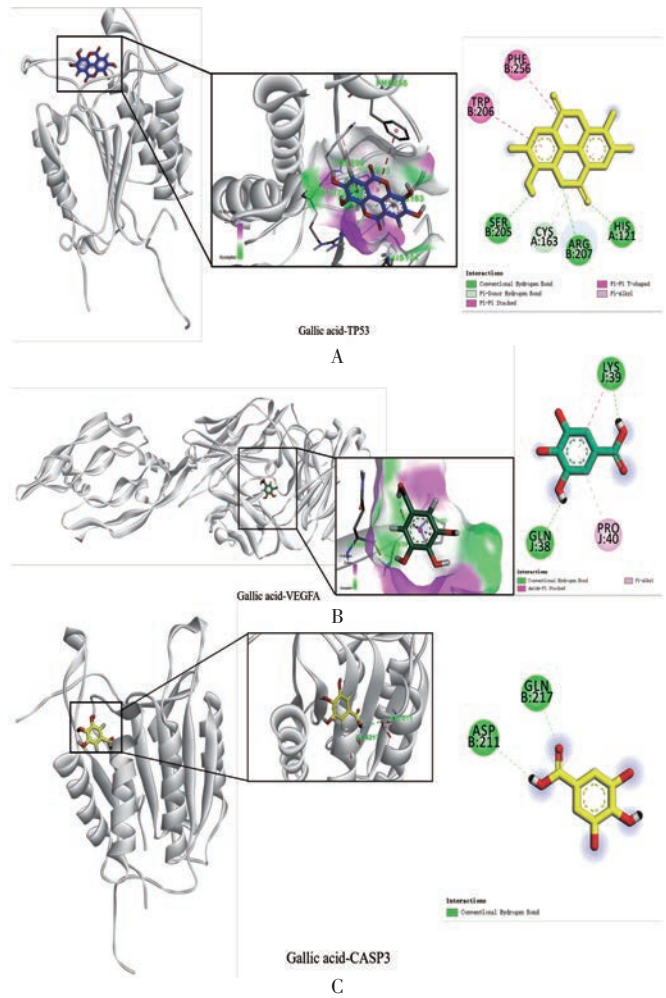
A. 鞣花酸-TP53 B. 鞣花酸-VEGFA C. 鞣花酸-CASP3
图6 鞣花酸-核心靶点的分子对接结构图

A. Ellagic acid-TP53 B. Ellagic acid-VEGFA C. Ellagic acid-CASP3
Fig. 6 Molecular docking structure of ellagic acid-key targets

3 讨论

DFU多种病因共存,目前尚未完全阐明其发病机制。目前普遍认为其主要与足周围神经病变、血管病变及足部感染有关。DFU发生的主要危险因素之一是足周围神经病变,其主要累及感觉神经、运动神经和自主神经,尤其末梢神经病变。血管病变亦是影响DFU预后的重要因素之一,其中包括微血管病变和大血管病变。动脉粥样硬化是大血管病变的主要病理改变,多数学者考虑DFU的主要发病机制之一是下肢动脉硬化。感染是DFU的发生并趋于加重的重要原因之一,其增加局部耗氧及促凝物质产生,加重缺血,从而加重坏疽^[5]。

测量DFU模型大鼠溃疡面积采用计算机像素点法(以中国人民银行1角硬币为参照物)。于电脑绘图工具中分别圈索出溃疡区域与硬币区域,记录像素点。以溃疡区域像素点和硬币像素点的比值乘以硬币的面积,即得大鼠足部溃疡区域的面积。溃疡创面的愈合是创面修复的过程。脂肪细胞对创面修复有重要作用,能分



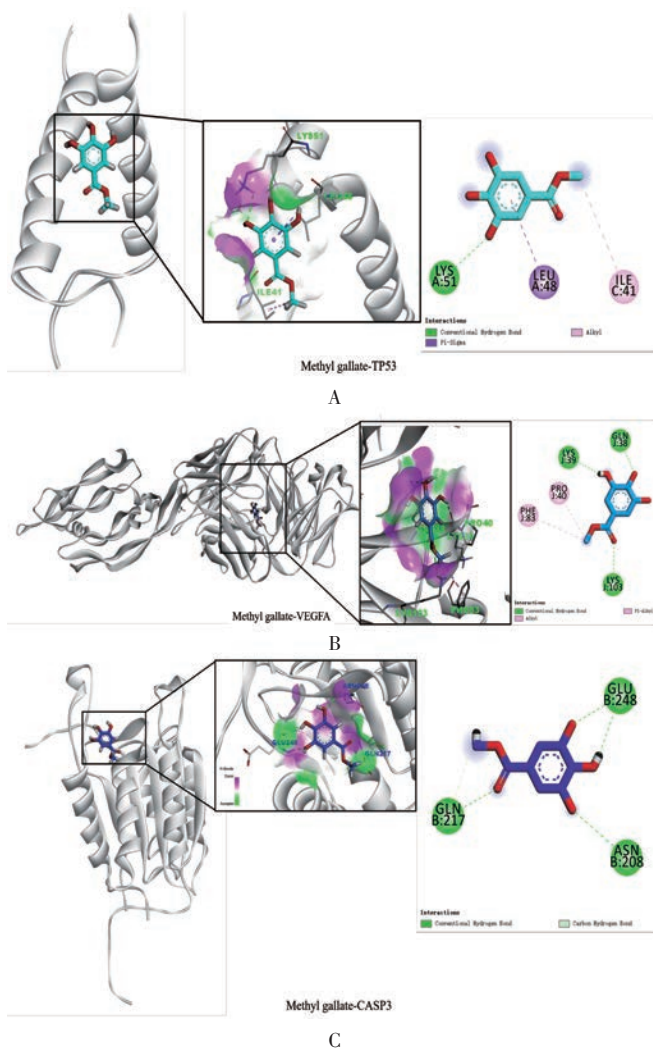
A. 没食子酸-TP53 B. 没食子酸-VEGFA C. 没食子酸-CASP3
图7 没食子酸-核心靶点的分子对接结构图

A. Gallic acid-TP53 B. Gallic acid-VEGFA C. Gallic acid-CASP3
Fig. 7 Molecular docking structure of gallic acid-key targets

泌合成转化生长因子1、血管内皮生长因子、肿瘤坏死因子- α 、骨形成蛋白等60多种蛋白^[6],从而促进表皮细胞的增殖和分化,进而形成良好的表皮层结构。毛囊与皮肤创面的修复及瘢痕的形成具有密切关系,其再生程度可反映溃疡创伤深部及表层的修复情况。关于毛囊与创伤修复的研究证实,毛囊单位可有效促进创面愈合^[7-8]。

有研究表明,EGF可增加DFU患者伤口处的胶原含量,促进肉芽组织快速形成,有利于伤口的愈合。本研究中也发现,西帕依固龈液可显著增加DFU模型大鼠的EGF水平,促进创面愈合^[9-12]。

没食子作为西帕依固龈液主要组成药材,其主要活性成分为没食子酸、鞣花酸等成分,具有固涩、收敛、燥湿、止血、消炎等功效^[13]。成分-靶点网络显示,西帕依固龈液抗DFU的核心成分可能是鞣花酸、没食子酸等。鞣花酸属鞣质类成分,具有抗炎、抗氧化、抗菌、降糖、调脂作用^[14-16]。没食子酸具有显著的抗炎、抗菌、



A. 没食子酸甲酯 - TP53 B. 没食子酸甲酯 - VEGFA
C. 没食子酸甲酯 - CASP3

图8 没食子酸甲酯 - 核心靶点的分子对接结构图

A. Methyl gallate - TP53 B. Methyl gallate - VEGFA C. Methyl gallate - CASP3

Fig. 8 Molecular docking structure of methyl gallate - key targets

抗病毒、抗氧化等作用,对心血管系统疾病、神经系统疾病、糖尿病、肝纤维化和肿瘤等具有防治作用^[17-18]。PPI网络显示,TP53, VEGFA, CASP3等为核心靶点。TP53具有调控细胞分裂和增殖的作用。VEGFA在血管的生成和发生及内皮细胞生长中有重要作用,可诱导内皮细胞增殖、促进细胞迁移、抑制凋亡并诱导血管通透性,对生理和病理性血管生成均必需。CASP3在细胞凋亡的执行阶段起关键作用,与癌症的发生、衰老、心血管疾病的发生等有重要联系。KEGG富集分析显示,PI3K - Akt, NF - κ B信号通路等为核心通路。PI3K / Akt信号通路可介导多种细胞信号传递并调节细胞自噬、增殖、转录、翻译等多个过程^[19]。PI3K - Akt - mTOR信号通路有独立的激活剂,介导内皮细胞迁移、促进新生血管形成,从而促进DFU愈合^[20]。细胞外囊泡是PI3K -

Akt - mTOR信号通路的激活剂之一,可通过激活PI3K - Akt - mTOR通路,加速血管内皮细胞的迁移,增加伤口的血管密度,从而促进糖尿病小鼠的创面愈合^[21-22]。NF - κ B是一种异源性二聚体,它不仅与慢性低度炎症相关还与糖尿病等代谢性疾病相关。DFU创面愈合可由JNK - NF - κ B - NLRP3信号通路介导,NF - κ B, NLRP3活化时可使糖尿病创面的炎症细胞浸润,延长炎症持续状态,减慢糖尿病创面的愈合速度^[19]。

综上所述,西帕依固龈液可通过减少足部溃疡面积,增加病灶组织的脂肪细胞和再生毛囊数量,发挥抗大鼠DFU作用。其作用机制可能与西帕依固龈液中鞣花酸、没食子酸等核心成分作用于TP53, VEGFA, CASP3等核心靶点,继而影响PI3K - Akt, NF - κ B等信号通路有关。本研究为后续西帕依固龈液治疗DFU的药物效动力学及机制研究奠定了基础,并为西帕依固龈液二次开发利用研究提供参考依据。

参考文献

- [1] 宋海玲,林家煜,林臻好,等. 当前糖尿病足溃疡防治面临的挑战与机遇[J]. 糖尿病新世界, 2021, 24(7): 195 - 198.
- [2] 王俊,尤巧英,李宏辉,等. 糖尿病足溃疡的治疗进展[J]. 中华糖尿病杂志, 2021, 13(5): 449 - 453.
- [3] 刘欣,王云飞. 中医药治疗糖尿病足溃疡的研究进展[J]. 海南医学院学报, 2021, 27(16): 1277 - 1280.
- [4] 马璇,范晨阳,季志红,等. 西帕依固龈液成分鉴定及其治疗复发性阿弗他溃疡作用机制的网络药理学研究[J]. 中国药业, 2022, 31(2): 41 - 45.
- [5] 邱铁涛,张春玲,陈露,等. 糖尿病足溃疡的发病机制及难愈合原因分析[J]. 贵阳中医学院学报, 2017, 39(1): 98 - 101.
- [6] 王西樵,陆树良. 脂肪组织与创伤修复[J]. 中华烧伤杂志, 2006, 22(1): 71 - 73.
- [7] 申霄,元发芝. 毛囊单位移植促进创面愈合[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12(53): 10500 - 10504.
- [8] ISKANDAR ID. New treatment option for non - healing diabetic foot ulcers approved by the US FDA[J]. Diabetes, Obesity & Metabolism, 2016, 18(3): 310.
- [9] MENDOZA - MARÍ Y, GARCÍA - OJALVO A, FERNÁNDEZ - MAYOLA M, et al. Epidermal growth factor effect on lipopolysaccharide - induced inflammation in fibroblasts derived from diabetic foot ulcer[J]. Scars Burn Heal, 2022, 8: 20595131211067380.
- [10] ZHANG K, LI Y, HE J, et al. Therapeutic Effect of Epidermal Growth Factor Combined With Nano Silver Dressing on Diabetic Foot Patients[J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 627098.
- [11] GARCIA HERRERA AL. Intralesional Administration of Human Recombinant Epidermal Growth Factor Improves Healing and Reduces Amputations in Patients with Severe Diabetic Foot Ulcers[J]. Curr Ther Res Clin Exp, 2017, 85: 29 - 30.
- [12] IŞIKGÖZ TAŞBAKAN M, YILDIRIM ŞİMSİR I, MERMER S,