

基于网络药理学和转录组学探讨宣肺达郁颗粒对急性肺损伤的保护作用

田 欢¹, 祁庆瑞², 翟秉涛³, 王艾佳³, 岳宝森¹, 张维英^{1*}, 赵 锋^{1*}
(1. 西安市中医医院, 赵锋全国老药工传承工作室, 陕西 西安 710021; 2. 甘肃省中医医院药剂科, 甘肃 兰州 730050; 3. 陕西中医药大学, 陕西省中药基础与新药研究重点实验室, 陕西 西安 712046)

摘要: **目的** 探讨宣肺达郁颗粒对急性肺损伤的保护作用。**方法** UHPLC-QE-MS 技术筛选宣肺达郁颗粒主要成分。LPS 滴鼻法诱导小鼠急性肺损伤模型, ELISA 法检测血清及肺泡灌洗液 (BALF) 中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平, 检测肺组织湿/干比重, BCA 法检测 BALF 中总蛋白含量, HE 染色观察肺组织形态变化。采用网络药理学预测宣肺达郁颗粒的潜在靶基因, 筛选出治疗急性肺损伤的交集靶点, 构建“药物-成分-靶点”网络及 PPI 网络, GO、KEGG 富集相关通路及分子对接预测宣肺达郁颗粒与核心靶点的结合能力。转录组学选择干预急性肺损伤的关键信号通路, Western blot 法和 IHC 法验证相关结果。**结果** 共鉴定出 800 种成分。宣肺达郁颗粒能降低急性肺损伤小鼠血清及 BALF 中炎症因子 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平 ($P<0.01$), 肺湿干重比 ($P<0.01$) 及 BALF 中总蛋白含量 ($P<0.05$), 改善肺组织病理变化。宣肺达郁颗粒关键成分为 6-姜烯酚、光甘草定、槲皮素、山柰酚、黄芩素, 关键信号通路为 PI3K/Akt 信号通路。与模型组比较, 宣肺达郁颗粒中、高剂量组 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 宣肺达郁颗粒可能通过调节 PI3K/Akt/mTOR 信号通路, 实现对急性肺损伤小鼠的保护作用。**关键词:** 宣肺达郁颗粒; 急性肺损伤; PI3K/Akt/mTOR 信号通路; 网络药理学; 转录组学
中图分类号: R285.5; R966 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2025)10-3459-08
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.10.043

急性肺损伤是由严重感染、创伤等多种致病因素导致肺上皮细胞病变, 进一步造成肺间质水肿, 影响肺泡正常功能的呼吸系统疾病^[1-2], 目前临床治疗方法主要为呼吸支持和药物干预, 后者主要针对急性肺损伤的病理表现, 包括血管扩张剂、抗炎药、表面活性物质、利尿药、抗生素等^[3-4]。中药具有整体调节、多层次、多靶点的特点, 对其研究的不断深入有助于为急性肺损伤的治疗提供新方向^[5-6]。

宣肺达郁颗粒由党参、苦杏仁、桂枝、半夏、茯苓、干姜、甘草、砂仁、陈皮、五味子、浙贝母、白芍、醋鳖甲、百合、桃仁组成, 具有清降肺胃、升达肝脾、宣通气机等功效, 可治疗新型冠状病毒感染后遗症、慢性阻塞性肺疾病等肺部疾病^[7-9], 为西安市中医医院院内制剂, 用于肺炎、病毒性肺炎恢复阶段和肺纤维化^[10]。课题组前期建立了宣肺达郁颗粒质量控制方法, 但关于其治疗急性肺损伤作用机制的研究较少^[11-12]。因此, 本研究采用生物信息学与转录组学相结合的方法研究宣肺达郁颗粒治疗急性肺损伤的作用机制, 以期为其进一步临床应用提供参考。

1 材料

1.1 试剂与药物 宣肺达郁颗粒 (批号 20221120、20221130、20221214) 由西安市中医医院制剂科提供; 地

塞米松片 (批号 LB2245) 购自浙江仙琚制药股份有限公司。脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) (批号 abs47014848) 购自爱必信 (上海) 生物科技有限公司。白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) (批号 MM-0163M1)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) (批号 MM-0040M1)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) (批号 MM-0132M1) ELISA 试剂盒均购自江苏酶免实业有限公司; BCA 蛋白定量试剂盒 (批号 AR1189) 购自武汉博士德生物工程有限公司; 蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) (批号 9272)、p-Akt (批号 9271)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) (批号 2972)、p-mTOR (批号 2971)、磷脂酰肌醇-3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) (批号 4292)、p-PI3K (批号 4228)、 β -actin 抗体均购自美国 Cell Signaling Technology 公司; 山羊抗兔 IgG (A0208, 1:5 000)、山羊抗小鼠 IgG (A0216, 1:4 500) 均购自上海碧云天生物技术有限公司。

1.2 动物 60 只 SPF 级雄性昆明小鼠, 5~6 周龄, 体重 (25 $\pm$ 2) g, 购自成都达硕实验动物有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (川) 2020-0030], 饲养于陕西中医

收稿日期: 2025-07-08
基金项目: 国家中医药管理局赵锋全国老药工传承工作室建设项目 (国中医药人教函 [2024] 255 号); 陕西省中医药管理局重点科学研究项目 (2021-02-22-010)
作者简介: 田 欢 (1992—), 女, 硕士, 主管中药师, 从事临床中药学、中药药效物质基础研究。E-mail: 18149412681@163.com
* 通信作者: 张维英 (1985—), 女, 主管中药师, 从事中药质量控制研究。E-mail: 395988977@qq.com
赵 锋 (1965—), 男, 主任中药师, 从事临床中药学研究。E-mail: zdf6369@126.com

药大学 [实验动物使用许可证号 SYXK (陕) 2022-008], 温度 (25±1)℃, 相对湿度 (50±5)%, 实验期间小鼠自由进食饮水。本实验经陕西中医药大学实验动物伦理委员会批准 (编号 SUXMDL20220630001)。

1.3 仪器 Vanquish 超高效液相色谱仪、Orbitrap Explori 120 质谱仪、Multiskan Sky 全波长酶标仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); Agilent 2100 生物分析仪 (美国 Agilent 公司); DYY-6C 电泳仪 (北京六一生物科技有限公司); Tanon 5200 全自动化学发光图像分析系统 (上海天能生命科学有限公司); BSA124S-CW 电子天平 [万分之一, 赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司]; Eclipse E100 正置光学显微镜 (日本 Nikon 公司)。

2 方法

2.1 UHPLC-QE-MS 条件 UPLC BEH C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm); 流动相 0.1% 甲酸 (A) -乙腈 (含 0.1% 甲酸) (B), 梯度洗脱 (0~3.5 min, 5%~15% B; 3.5~6 min, 15%~30% B; 6~6.5 min, 30% B; 6.5~12 min, 30%~70% B; 12~12.5 min, 70% B; 12.5~18 min, 70%~100% B; 18~25 min, 100% B; 25~30 min, 100%~5% B); 体积流量 0.4 mL/min; 进样量 5 μL。

Full Scan-dd MS2 全扫描模式; 鞘气体积流量 30 arb; 辅助气体积流量 10 arb; 毛细管温度 350℃; 全质谱分辨率 70 000; MS/MS 分辨率 17 500; 碰撞能量在 NCE 模式下 15%~30%~45% 循环; 喷雾电压 5.5、-4.0 kV。

2.2 动物实验

2.2.1 分组与造模 60 只小鼠按随机数字表法分为空白组、模型组、地塞米松组 (0.675 mg/kg) 及宣肺达郁颗粒低、中、高剂量组 (3.375、6.75、13.5 g/kg), 每组 10 只, 灌胃给予相应药物, 剂量为 20 mL/kg, 每天 1 次, 连续 7 d, 空白组、模型组小鼠灌胃给予等体积生理盐水。末次给药 12 h 后, 除空白组外其余各组小鼠均采用 5 mg/kg LPS 滴鼻造模, 移液枪吸取 LPS 溶液, 左手控制住小鼠头部, 右手轻轻推移液枪, 枪头可见吸取的小液滴, 将其缓慢滴入小鼠鼻腔, 至液体滴注完成, 松开小鼠, 腹部朝上, 使其呼吸顺畅; 空白组小鼠滴注等体积无菌生理盐水。

2.2.2 生物样本采集 造模 24 h 后, 各组小鼠腹腔注射戊巴比妥钠麻醉, 摘眼球取血, 静置, 离心, 收集血清, -80℃ 冷冻保存。无菌条件下脱颈处死小鼠, 暴露气管、双肺及心脏, 气管插管后注入无菌 PBS 溶液, 分 3 次进行支气管肺泡灌洗, 每次 0.8 mL, 灌洗后反复抽吸 2 次, 随即注入无菌 EP 管中, 肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 回收率应大于 85%, 静置, 离心, 取上清液, -80℃ 冷冻保存; 剪开胸部皮肤, 充分暴露胸腔, 分离肺组织, 右肺用 4% 多聚甲醛固定, 左肺上叶用于测定肺湿干重比, 剩余肺组织 -80℃ 冷冻保存。

2.2.3 肺湿干重比检测 取小鼠左肺上叶, 称定湿重, 置于烤箱中 110℃ 干燥至恒重, 称定干重, 计算肺湿干重比, 公式为肺湿干重比 = (肺组织湿重/肺组织干重) × 100%。

2.2.4 ELISA 法检测血清及 BALF 中 IL-6、IL-1β、TNF-α 水平 按照试剂盒说明书, 取小鼠血清及 BALF, 检测 IL-6、IL-1β、TNF-α 水平。

2.2.5 BCA 法总蛋白含量测定 按照试剂盒说明书, 使用 BCA 蛋白定量试剂盒测定 BALF 中总蛋白含量。

2.2.6 HE 染色观察肺组织形态 小鼠右肺经 4% 多聚甲醛固定后乙醇脱水浸蜡, 二甲苯透明, 石蜡包埋, 切片, 常规脱蜡, 水化, 苏木素染色, 返蓝, 伊红染色, 脱水, 中性树脂封片, 置于显微镜下观察并拍照。

2.3 网络药理学

2.3.1 活性成分筛选及靶点预测 将 UHPLC-QE-MS 分析得到的化学成分和 TCMSP 数据库 (<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>) 分析得到者进行筛选和归属, 以口服生物利用度 (OB) ≥ 30%、类药性 (DL) ≥ 0.18 为标准, 获得活性成分靶点, 结合 HERB (<https://ngdc.cncb.ac.cn>)、SwissTargetPrediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 数据库预测相关靶点并删去重复者。在 GeneCards (<https://www.genecards.org/>)、OMIM (<http://www.omim.org/>) 数据库中, 以 “acute lung injury” 为关键词检索疾病靶点, 再使用 Venny 2.1.0 工具 (<http://www.liuxiaoyu.cn/>) 将活性成分靶点与疾病靶点取交集。

2.3.2 “药物-成分-靶点” 网络图构建 取 “2.3.1” 项下交集靶点, 使用 Cytoscape 3.8.2 软件构建药物-成分-靶点网络图, Network Analyzer 插件对活性成分进行筛选。

2.3.3 PPI 网络构建 将交集靶点导入 STRING 数据库 (<https://cn.string-db.org/>), 置信度设置为 0.900, 得到蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络, 导入 Cytoscape 3.8.2 软件, 利用 Tools-Network Analyzer 进行拓扑分析, 以度值大小排序筛选出核心靶点。

2.3.4 GO、KEGG 富集分析 将交集靶点导入 Metascape 平台 (<https://metascape.org/gp/-index.html>) 进行基因本体 (gene ontology, GO) 功能注释、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。

2.3.5 分子对接 通过 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 获得核心成分二维结构, Chem3D 软件完成优化, 在 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 下载核心蛋白 3D 结构。再使用 AutoDock 软件进行分子对接, PyMOL 软件对结果进行可视化展示。

2.4 转录组学研究 使用 Trizol 试剂盒提取总 RNA, Agilent 2100 生物分析仪评估质量, 不含 RNase 的琼脂糖凝胶电泳法检测纯度。对 cDNA 文库进行质量控制, 导入 Illumina Novaseq6000 软件, 由广州基迪奥生物科技有限公司测序。再以 $P < 0.05$ 、 $|\text{Fold Change}| \geq 1.2$ 为条件, 筛选差异表达基因 (differentially expressed genes, DEGs), 并进行 GO、KEGG 富集分析, 以 $P < 0.05$ 为筛选显著富集结果的临界值。

2.5 IHC 法检测肺组织 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR 蛋白表

达 将肺组织切片，常规脱蜡至水，0.01 mol/L 枸橼酸-柠檬酸钠缓冲液（pH=6.0）热诱导修复，室温自然冷却，3% H₂O₂ 抑制内源性过氧化物酶，10% 山羊血清室温封闭 30 min，分别在 37 ℃ 下孵育 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR 抗体（1：200）2 h，PBS 洗涤后滴加 EnVision 试剂，37 ℃ 孵育 30 min，PBS 洗涤后 DAB 显色，苏木素染核，0.4% 盐酸酒精分化，吹干，中性树脂封片，在显微镜下随机选取每张切片 3 个视野，通过 Image J 软件分析阳性面积比。

2.6 Western blot 法检测肺组织 p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt、p-mTOR、mTOR 蛋白表达 用含蛋白酶和磷酸酶抑制剂的 RIPA 缓冲液裂解小鼠肺组织，提取蛋白，BCA 法检测蛋白含量，取等量进行变性，加入蛋白上样缓冲液后冷冻保存。制备聚丙烯酰胺凝胶，上样，电泳，湿转法转移至 PVDF 膜，5% BSA 室温封闭 1 h，分别加入 p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt、p-mTOR、mTOR 抗体（1：1 000），4 ℃ 孵育过夜，次日加入二抗（1：5 000），室温孵育 1 h，使用 Tanon 5200 全自动化学发光图像分析系统显影。以 β-actin 为内参，通过 Image J 软件计算蛋白相对表达量。

2.7 统计学分析 通过 SPSS 26.0、GraphPad Prism 9.0 软件进行处理，计量资料以 ($\bar{x}\pm s$) 表示，多组间比较采用单因素方差分析和 Tukey 事后检验，组间两两比较采用 *t* 检验。*P*<0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 UHPLC-QE-MS 分析 共鉴定出 800 种成分，总离子流图见图 1，其中活性成分 62 种，来源分别为白芍 5 种、陈皮 5 种、五味子 2 种、半夏 1 种、茯苓 2 种、干姜 2 种、桂枝 3 种、党参 5 种、百合 1 种、砂仁 1 种、浙贝母 3 种、炙甘草 8 种，并且同时来源于 2 种及以上中药的 24 种，具体见表 1。

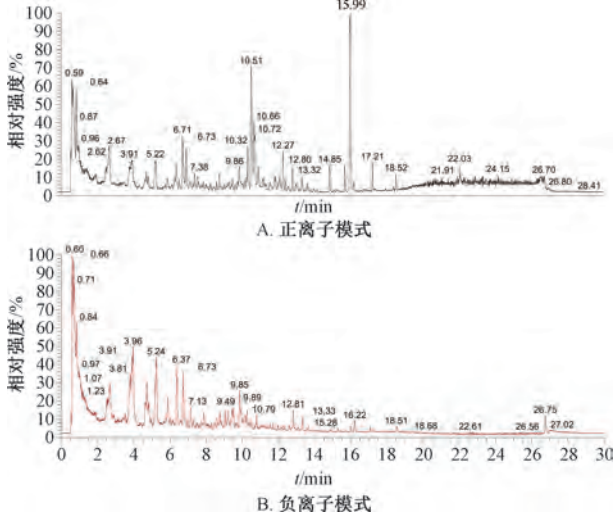


图 1 宣肺达郁颗粒 UHPLC-QE-MS 总离子流图

表 1 宣肺达郁颗粒活性成分来源

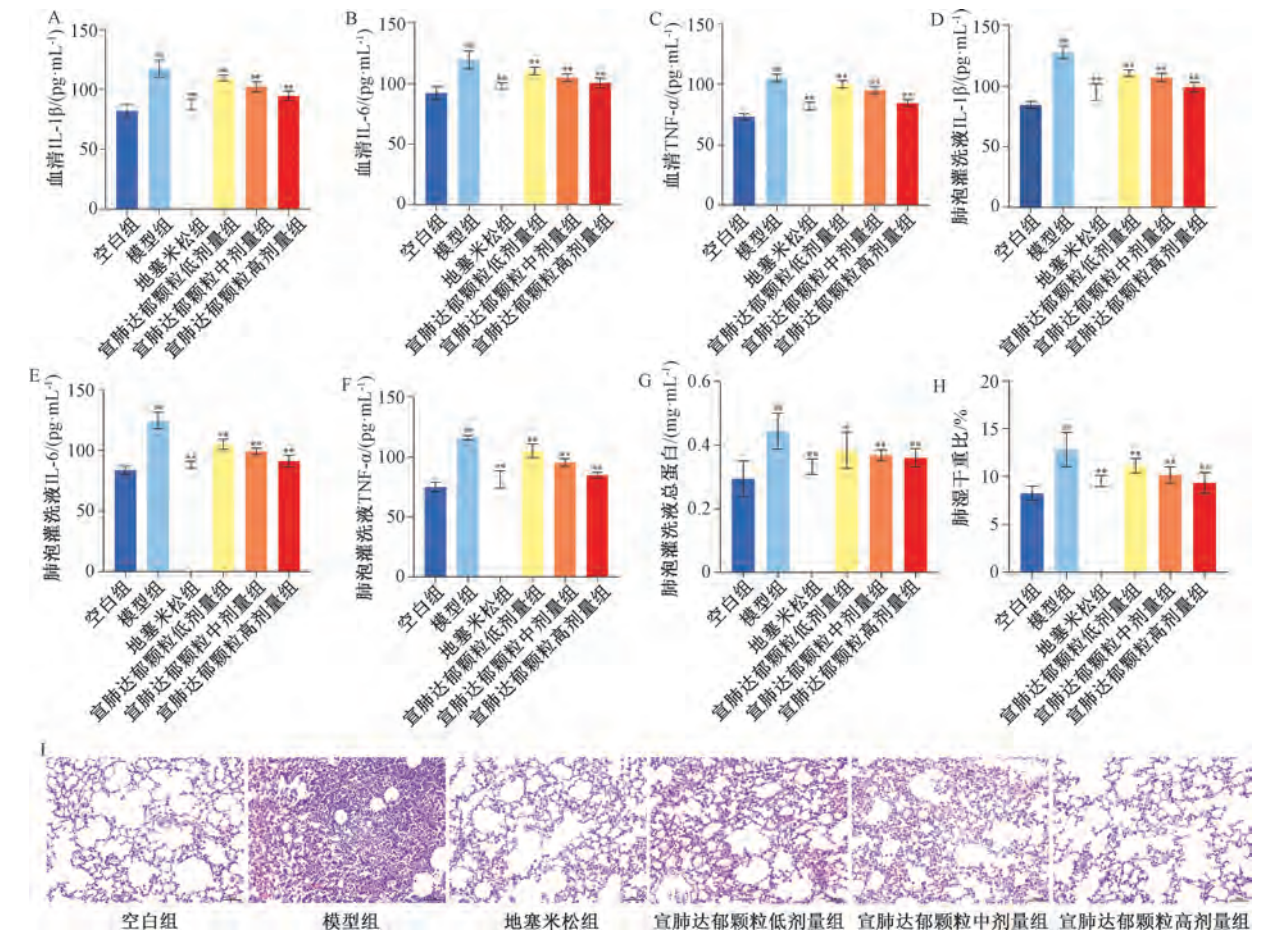
名称	来源	名称	来源	名称	来源
芍药内酯苷	白芍	阿魏酸	党参	柚皮素	陈皮、炙甘草
东莨菪内酯	白芍	黄豆黄素	党参	亚油酸	桃仁、茯苓
水杨酸	白芍	党参炔苷	党参	百里酚	陈皮、桂枝
芍药苷	白芍	烟酸	党参	香兰素	陈皮、砂仁
羟基芍药苷	白芍	汉黄芩苷	百合	丁香脂素	党参、浙贝母
橙皮苷	陈皮	吉马酮	砂仁	大黄素	党参、百合
异香草酸	陈皮	贝母甲素	浙贝母	咖啡酸	半夏、砂仁
柠檬苦素	陈皮	贝母乙素	浙贝母	6-姜烯酚	半夏、干姜
川陈皮素	陈皮	贝母辛	浙贝母	鞣花酸	茯苓、砂仁
黄柏酮	陈皮	18β-甘草次酸	炙甘草	光甘草定	炙甘草、苦杏仁
戈米辛 G	五味子	甘草素	炙甘草	甘草查尔酮 B	炙甘草、苦杏仁
五味子酚	五味子	甘草苷	炙甘草	异甘草苷	炙甘草、苦杏仁
黄芩素	半夏	桑辛素	炙甘草	樟脑	白芍、桂枝、砂仁
茯苓酸	茯苓	乔松素	炙甘草	没食子酸	白芍、茯苓、砂仁
茯苓新酸 A	茯苓	水仙苷	炙甘草	山柰酚	白芍、干姜、炙甘草
姜烯酮 A	干姜	刺芒柄花素	炙甘草	三磷酸腺苷	半夏、桃仁、浙贝母
姜辣素	干姜	光甘草酮	炙甘草	香草酸	半夏、党参、砂仁
肉桂酸	桂枝	异欧前胡素	白芍、百合	槲皮素	五味子、干姜、砂仁、炙甘草
苯乙烯	桂枝	苦杏仁苷	桃仁、苦杏仁	芦丁	五味子、干姜、砂仁、炙甘草
胡芦巴碱	桂枝	柚皮苷(异橙皮苷)	陈皮、炙甘草	油酸	桃仁、半夏、茯苓、干姜、桂枝、砂仁
白术内酯Ⅲ	党参	常春藤皂苷元	桃仁、茯苓		

3.2 动物实验 与空白组比较，模型组小鼠血清及 BALF 中 TNF-α、IL-1β、IL-6 水平升高（*P*<0.01）；与模型组比较，宣肺达郁颗粒各剂量组、地塞米松组小鼠血清及 BALF 中 TNF-α、IL-1β、IL-6 水平降低（*P*<0.01），见图 2A~2F。与空白组比较，模型组小鼠 BALF 中总蛋白含量及肺湿干重比升高（*P*<0.01），提示造模后肺组织通透性增加，引

起肺部水肿；与模型组比较，宣肺达郁颗粒各剂量组、地塞米松组小鼠 BALF 中总蛋白含量及肺湿干重比降低（*P*<0.05，*P*<0.01），见图 2G~2H。HE 染色显示，空白组小鼠肺泡结构完整，肺泡腔清晰，肺泡壁无增厚，未见明显病理改变；与空白组比较，模型组小鼠肺组织结构松散，有大量炎性细胞浸润，肺泡壁间质有明显增厚、出血等病理

现象；与模型组比较，宣肺达郁颗粒各剂量组、地塞米松组小鼠肺组织有一定程度好转，肺组织充血减轻，出血、

炎性细胞浸润减少，肺泡壁间质增厚改善，见图 2I。



注：与空白组比较，##*P*<0.01；与模型组比较，**P*<0.05，***P*<0.01。
图 2 宣肺达郁颗粒对急性肺损伤小鼠药效的影响 ($\bar{x}\pm s$, *n* = 10)

3.3 网络药理学

3.3.1 潜在作用靶点预测 共得到宣肺达郁颗粒活性成分靶点 799 个，急性肺损伤相关靶点 1 276 个，取交集，得到 191 个潜在作用靶点，见图 3A。

3.3.2 PPI 网络构建与分析 由图 3B 可知，共包含 191 个节点、4 941 条边，平均结点度为 51.7，排名前五的靶点为 GAPDH、Akt1、IL-6、TNF、EGFR。

3.3.3 “药物-成分-靶点”网络图构建 由图 3C 可知，排名前五的活性成分为 6-姜烯酚、光甘草定、槲皮素、黄芩素、山奈酚。

3.3.4 GO、KEGG 富集分析 GO 富集分析共获得 2 168 个条目，其中分子生物学功能（molecular function，MF）153 个，涉及蛋白激酶活性、蛋白络氨酸激酶活性、激酶结合等；生物学过程（biological process，BP）1 921 个，涉及细胞迁移的正向调节、对激素的反应、对脂多糖的反应等；细胞学组分（cellular component，CC）94 个，涉及受体复合体、膜的侧面、薄膜筏等，选取富集前 10 位的条目进行可视化，见图 4A。KEGG 富集分析共得到 209 条信号通路，选取前 20 条进行可视化，见图 4B，主要涉及癌症途径、

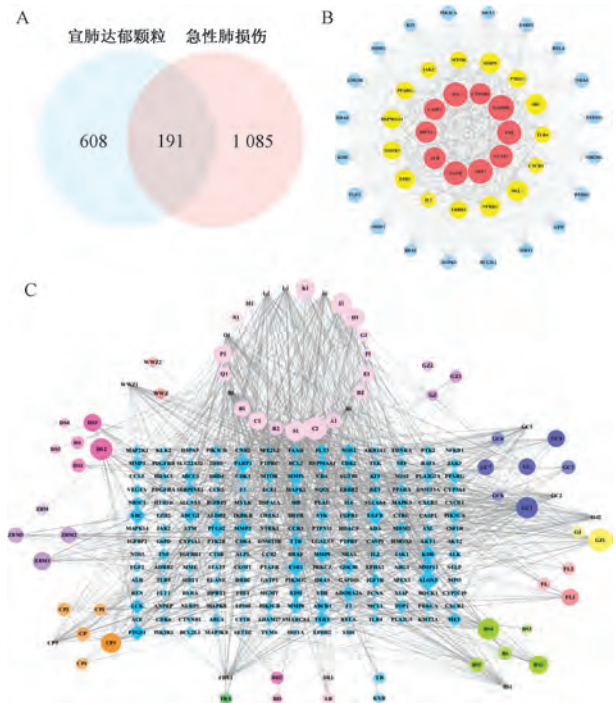


图 3 宣肺达郁颗粒干预急性肺损伤的网络药理学图

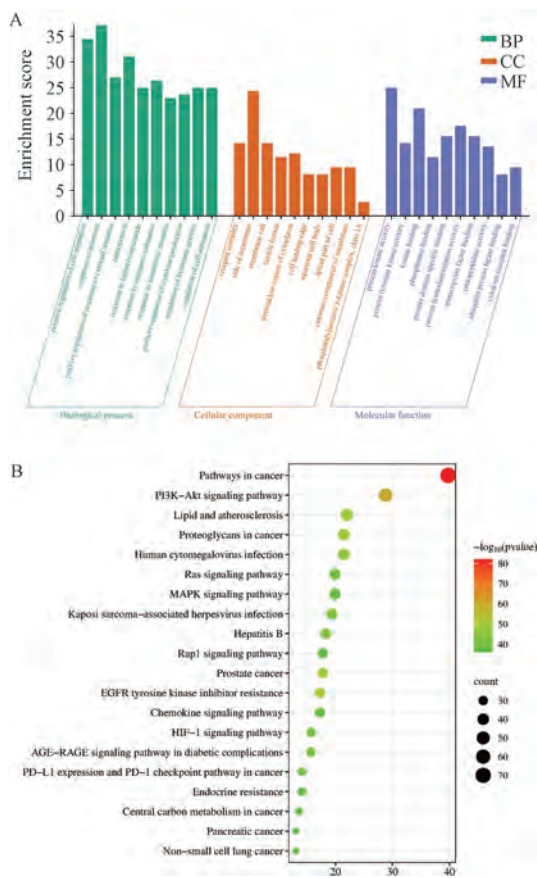


图 4 宣肺达郁颗粒干预急性肺损伤的 GO、KEGG 富集分析图

PI3K-Akt 信号通路、癌症中的蛋白聚糖、人巨细胞病毒感染、Ras 信号通路、MAPK 信号通路等。

3.3.5 分子对接 将 6-姜烯酚、光甘草定、槲皮素、黄芩素、山柰酚与 Akt1、GAPDH、TNF、IL-6、EGFR 核心靶点进行对接，结合能以热图形式展示，见图 5。由此可知，度值排名前五的关键成分与核心靶点均能较好地对接，结合能均小于-5.0 kcal/mol，其中槲皮素、山柰酚、黄芩素结合能最低，即对接效果最佳。

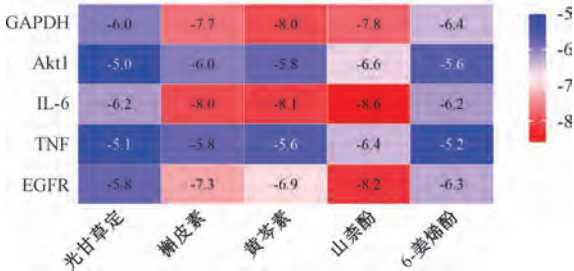


图 5 宣肺达郁颗粒核心成分与靶点蛋白对接结合能的热图

3.4 转录组学研究 与空白组比较，模型组共检测出3 420 个 DEGs，其中 1 303 个上调，2 117 个下调，见图 6A~6C；与宣肺达郁颗粒高剂量组比较，模型组共检测到 515 个 DEGs，其中 223 个上调，292 个下调，见图 6D~6F。宣肺达郁颗粒可逆转 96 个由造模引起改变的 DEGs，其中 56 个

上调，40 个下调，可能是宣肺达郁颗粒治疗急性肺损伤的关键 DEGs，见图 6G。

对 96 个 DEGs 分别进行 GO、KEGG 富集分析，以 $P<0.05$ 筛选排名靠前的结果并进行可视化。GO 富集分析显示，56 个上调 DEGs 主要参与甲状腺素刺激的细胞反应、细胞对 L-苯丙氨酸衍生物的反应、肝星状细胞活化等分子功能，见图 7A；40 个下调 DEGs 主要参与对细菌的反应、对其他微生物的反应、对外界生物刺激的反应等生物学过程，参与糖胺聚糖结合等生物学过程，见图 7B。

KEGG 富集分析显示，56 个上调 DEGs 主要富集在半胱氨酸和蛋氨酸代谢、昼夜节律、铁死亡等信号通路，见图 7C；40 个下调 DEGs 主要富集在丙酮酸代谢、2 型糖尿病、中性粒细胞外陷阱形成、PI3K-Akt、AMPK、Apelin 等信号通路，见图 7D。

将转录组学 DEGs 富集通路和网络药理学 KEGG 富集分析结果相结合，共同富集通路包括 PI3K-Akt、Apelin、胰岛素、AMPK 信号通路等。其中，PI3K/Akt 信号通路为显著富集的关键共有通路，它通过调控细胞自噬、细胞凋亡、炎症、氧化应激等途径干预急性肺损伤^[13]，并且 mTOR 作为 PI3K/Akt 信号通路的下游效应蛋白，在急性肺损伤疾病进展中起着重要的调节作用^[14]。因此，本研究选择 PI3K/Akt/mTOR 信号通路进行实验验证。

3.5 宣肺达郁颗粒对急性肺损伤小鼠肺组织 PI3K/Akt/mTOR 信号通路蛋白表达的影响 与空白组比较，模型组小鼠肺组织 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR 蛋白表达升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，宣肺达郁颗粒中、高剂量组与地塞米松组小鼠肺组织 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR 蛋白表达降低 ($P<0.01$)，见图 8。与空白组比较，模型组小鼠肺组织 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 蛋白表达升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，宣肺达郁颗粒中、高剂量组及地塞米松组小鼠肺组织 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，见图 9。

4 讨论

急性肺损伤是一种持续而不受控制的肺部炎症反应，在 LPS 刺激下，肺部巨噬细胞、中性粒细胞的浸润可导致急性炎症，加重肺水肿程度^[15-16]。LPS 造模可复制性高，与临床发病过程类似，因此本研究选用鼻内滴注 LPS 构建急性肺损伤模型。炎症因子（如 TNF-α、IL-1β、IL-6）参与肺部炎症的发展；肺湿干重比是肺水肿的重要指标，也是炎症的典型症状；BALF 中总蛋白含量是反映肺损伤程度的重要指标之一。本研究结果显示，宣肺达郁颗粒能降低小鼠肺湿干重比、BALF 总蛋白含量、炎症细胞因子水平、病理变化，从而减轻 LPS 诱导的肺水肿及肺损伤。

本研究采用 UHPLC-QE-MS 技术明确宣肺达郁颗粒的主要成分，再囊括文献中明确指出有药用价值的活性物质，可提高网络药理学预测的准确性。结果显示，宣肺达郁颗粒中 6-姜烯酚、光甘草定、槲皮素、黄芩素、山柰酚可能在抗急性肺损伤中发挥重要作用，其中 6-姜烯酚能通过调

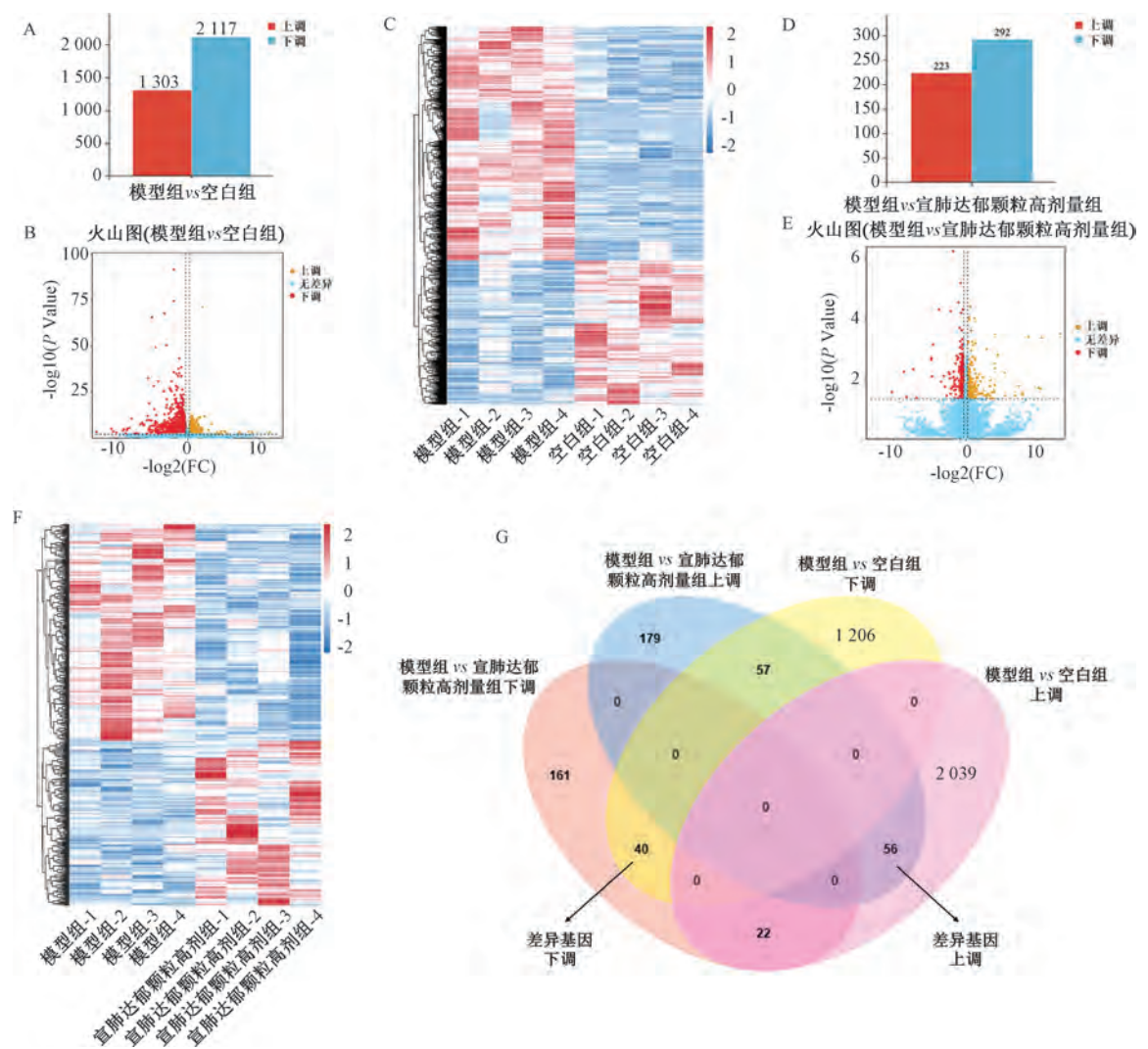


图 6 宣肺达郁颗粒干预急性肺损伤的转录组学图 (n=4)

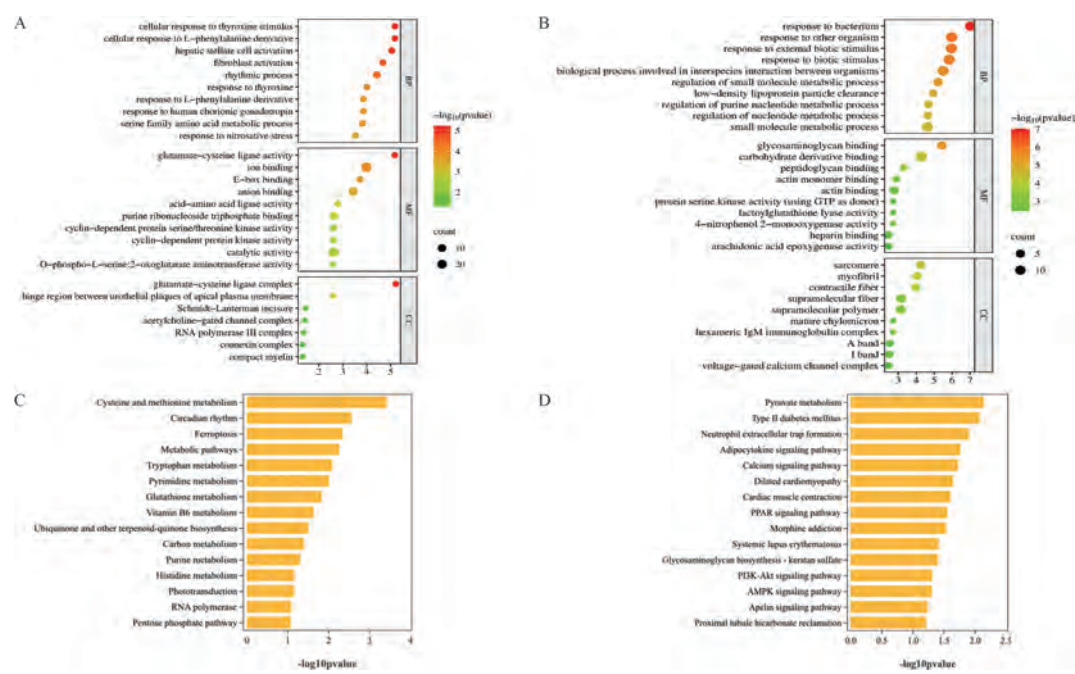
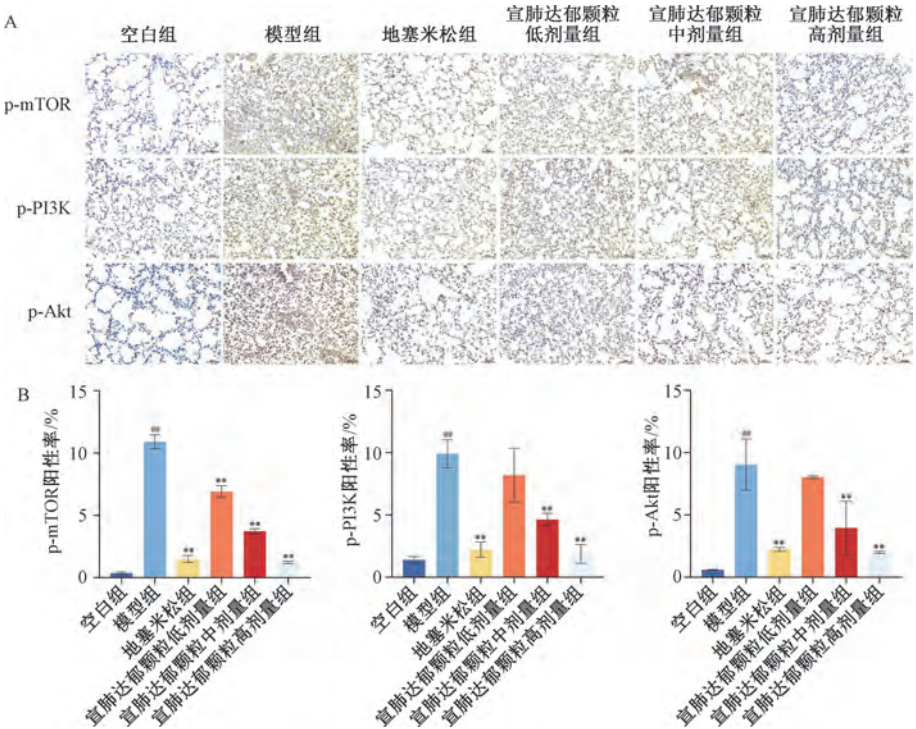
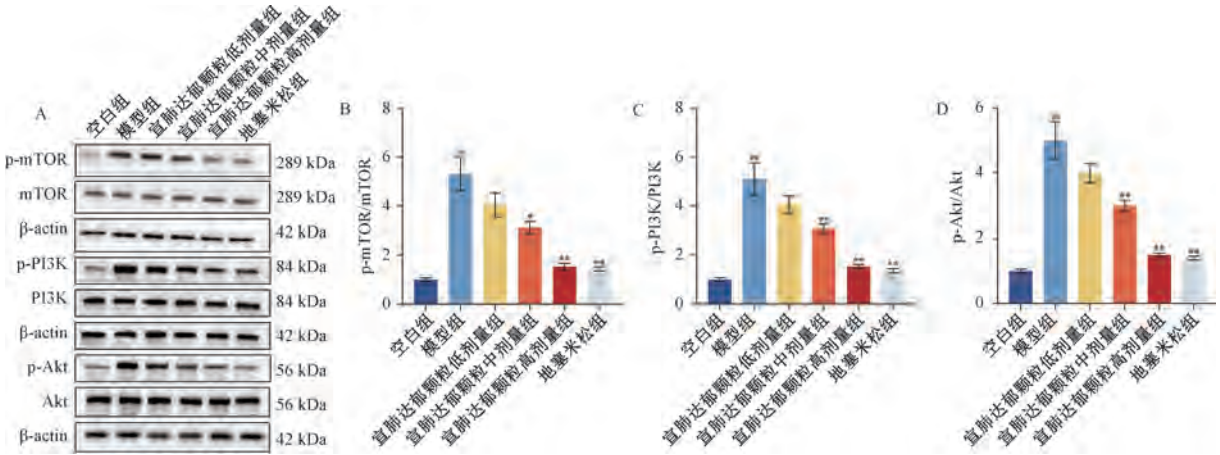


图 7 宣肺达郁颗粒干预急性肺损伤的 GO、KEGG 富集分析图



注：与空白组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{**} $P<0.01$ 。

图 8 宣肺达郁颗粒对急性肺损伤小鼠肺组织 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)



注：与空白组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ，^{**} $P<0.01$ 。

图 9 宣肺达郁颗粒对急性肺损伤小鼠肺组织 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 蛋白表达影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

节核因子- κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 和 p-c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 蛋白表达, 抑制 HMC-1 细胞中促炎细胞因子 TNF- α 、IL-6、IL-8 的产生^[17]; 光甘草定能通过抑制 p38MAPK、ERK 信号通路, 降低 TNF- α 、IL-18 水平, 改善 LPS 诱导的大鼠肺损伤^[18]; 槲皮素能抑制铁死亡, 降低 TNF- α 、IL-6 水平, 从而减轻 LPS 诱导的急性肺损伤^[19]; 黄芩素能通过调控巨噬细胞中 Drp1 依赖的线粒体分裂, 抑制 LPS 诱导的急性肺损伤^[20]; 山柰酚能通过降低 TNF- α 、IL-6、PI3K、Akt1 蛋白、mRNA 表达, 减轻急性低血压缺氧所致肺损伤^[21]。分子对接结果显示, 6-姜烯酚、光甘草定、槲皮素、黄芩素、山柰酚与核

心靶点均能较好地对接。网络药理学结合转录组学发现, 宣肺达郁颗粒的治疗作用可能与 PI3K/Akt 信号通路密切相关。研究表明, PI3K/Akt/mTOR 通路参与调节急性肺损伤相关的细胞凋亡、增殖、自噬、代谢等一系列生理活动, 抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号传导, 可改善急性肺损伤^[22-24]; 本实验结果显示, 宣肺达郁颗粒能通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的激活来改善 LPS 诱导的小鼠急性肺损伤。

综上所述, 宣肺达郁颗粒可能通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的激活来发挥作用, 为其作为抗急性肺损伤药物应用于临床提供了一定的参考依据。然而, 本研究也存在局限性, 虽然该制剂有充分的临床安全应用证据,

但缺乏安全性评价相关的动物实验；PI3K/Akt/mTOR 信号通路等多种代谢途径之间是否存在一定关系，以及 PI3K/Akt/mTOR 通路能否通过细胞自噬和细胞凋亡途径干预急性肺损伤也不明确，今后需深入探索。

参考文献：

[1] Long M E, Mallampalli R K, Horowitz J C. Pathogenesis of pneumonia and acute lung injury[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2022, 136(10): 747-769.

[2] Butt Y, Kurdowska A, Allen T C. Acute lung injury: A clinical and molecular review[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2016, 140(4): 345-350.

[3] He Y Q, Zhou C C, Yu L Y, *et al.* Natural product derived phytochemicals in managing acute lung injury by multiple mechanisms[J]. *Pharmacol Res*, 2021, 163: 105224.

[4] Zhang J G, Guo Y M, Mak M, *et al.* Translational medicine for acute lung injury[J]. *J Transl Med*, 2024, 22(1): 25.

[5] Chen Y B, Liu Q, Xie H, *et al.* Is Chinese medicine injection applicable for treating acute lung injury and acute respiratory distress syndrome? A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials[J]. *Chin J Integr Med*, 2020, 26(11): 857-866.

[6] Ding Z H, Zhong R X, Xia T Y, *et al.* Advances in research into the mechanisms of Chinese materia medica against acute lung injury[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 122: 109706.

[7] 孙洁, 杨震, 郝建梅. 国医大师杨震运用宣肺达郁汤治疗新型冠状病毒感染后遗症经验[J]. *吉林中医药*, 2024, 44(9): 1016-1019.

[8] 戚志强, 宋阳, 郭沛华, 等. 宣肺达郁汤联合常规西药治疗痰热壅肺型慢性阻塞性肺疾病的效果观察[J]. *疾病监测与控制*, 2021, 15(1): 18-20; 24.

[9] 赵锋, 杨震, 刘素香, 等. 宣肺达郁汤治疗新型冠状病毒肺炎恢复阶段临床研究[J]. *陕西中医*, 2020, 41(7): 846-848.

[10] 吕楠, 岳宝森, 张炜华, 等. 基于网络药理学和分子对接技术的宣肺达郁汤用于新型冠状病毒肺炎恢复期治疗的作用机制研究[J]. *中国药师*, 2021, 24(11): 2002-2011.

[11] 祁庆瑞, 翟秉涛, 田欢, 等. 宣肺达郁颗粒质量标准研究[J]. *中国药业*, 2023, 32(24): 109-113.

[12] 刘少雄. 基于 ACE2/Ang (1-7)/Mas 通路探讨宣肺达郁汤对急性肺损伤的影响及其机制研究[D]. 兰州: 甘肃中医药大学, 2023.

[13] 王依澜, 黄德美, 王飞, 等. 中药活性成分调节 PI3K/Akt

信号通路在急性肺损伤治疗中的研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(6): 223-236.

[14] Yang B, Ma L, Wei Y L, *et al.* Isorhamnetin alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibiting mTOR signaling pathway[J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2022, 44(3): 387-399.

[15] 乔勃伟, 徐贺, 段万石. 川芎嗪通过调控 Txnip/TRX/NF- κ B 通路对急性肺损伤小鼠的保护作用研究[J]. *中国中医急症*, 2024, 33(7): 1174-1177.

[16] 孙亚楠, 周禹, 刘雯丽, 等. 巴瑞替尼对脂多糖诱导小鼠急性肺损伤的治疗作用研究[J]. *解放军医学院学报*, 2024, 45(6): 638-643.

[17] Sohn Y, Han N Y, Lee M J, *et al.* [6] -Shogaol inhibits the production of proinflammatory cytokines *via* regulation of NF- κ B and phosphorylation of JNK in HMC-1 cells[J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2013, 35(4): 462-470.

[18] Zhang L P, Zhao Y, Liu G J, *et al.* Glabridin attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibiting p38MAPK/ERK signaling pathway[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(12): 18935-18942.

[19] Deng S H, Li J, Li L, *et al.* Quercetin alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibiting ferroptosis *via* the Sirt1/Nrf2/Gpx4 pathway[J]. *Int J Mol Med*, 2023, 52(6): 118.

[20] Jiang C, Zhang J C, Xie H W, *et al.* Baicalein suppresses lipopolysaccharide-induced acute lung injury by regulating Drp1-dependent mitochondrial fission of macrophages[J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 145: 112408.

[21] Li N, Cheng Y, Jin T, *et al.* Kaempferol and ginsenoside Rg1 ameliorate acute hypobaric hypoxia induced lung injury based on network pharmacology analysis[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2023, 480: 116742.

[22] Liu Z J, Wei J H, Sun H B, *et al.* Plumbagin ameliorates LPS-induced acute lung injury by regulating PI3K/AKT/mTOR and Keap1-Nrf2/HO-1 signalling pathways[J]. *J Cell Mol Med*, 2024, 28(13): e18386.

[23] Luo C, Ye Y H, Lv A Q, *et al.* The impact of Astragaloside IV on the inflammatory response and gut microbiota in cases of acute lung injury is examined through the utilization of the PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. *PLoS One*, 2024, 19(7): e305058.

[24] Sun X X, Xiang H X, Liu Z, *et al.* Jingfang Granules alleviates bleomycin-induced acute lung injury through regulating PI3K/Akt/mTOR signaling pathway[J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 318(Pt A): 116946.