

基于网络药理学、分子动力学模拟以及体外实验探讨补骨脂二氢黄酮甲醚治疗肺炎的作用机制

张 旬¹, 蒋 经¹, 房佳慧², 孙文魁^{2*}

1. 成都市第八人民医院 成都医学院附属老年医院, 四川 成都 610083

2. 成都医学院 检验医学院, 四川 成都 610500

摘要: **目的** 基于网络药理学、分子动力学模拟以及体外实验验证的方法, 探讨补骨脂二氢黄酮甲醚治疗肺炎潜在作用机制。**方法** 通过 GeneCards、TTD、DisGeNET 数据库筛选肺炎相关靶点, 经 UniProt 数据库进行标准化处理, 获取疾病相关靶点; 利用 CTD、PharmMapper、SwissTarget Prediction 数据库预测补骨脂二氢黄酮甲醚的作用靶点; 取疾病与药物靶点交集, 获得潜在治疗靶点, 并借助 Cytoscape 3.7.1 构建“疾病-靶点-药物”调控网络; 通过 STRING 数据库构建蛋白质相互作用 (PPI) 网络, 利用仙桃学术平台进行基因本体 (GO) 功能与京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析; 采用 AutoDock Vina、PyMOL 等软件完成分子对接, 运用 GROMACS 进行分子动力学模拟以验证结合稳定性。以脂多糖 (LPS) 诱导的 A549 细胞建立肺炎模型, 利用 CCK-8 检测补骨脂二氢黄酮甲醚对 A549 细胞增殖影响, 划痕实验检测补骨脂二氢黄酮甲醚对 A549 细胞迁移影响, ELISA 实验检测补骨脂二氢黄酮甲醚对 A549 细胞中炎症因子表达影响, qRT-PCR 实验检测补骨脂二氢黄酮甲醚对 A549 细胞中核心靶点以及信号通路相关靶点 mRNA 的表达, Western blotting 实验检测补骨脂二氢黄酮甲醚对 A549 细胞中关键信号通路蛋白表达影响。**结果** 共筛选出肺炎相关靶点 2 538 个, 补骨脂二氢黄酮甲醚作用靶点 369 个, 共同靶点 106 个。PPI 网络分析提示肿瘤坏死因子 (TNF)、白细胞介素 (IL)-6、IL-1 β 、蛋白激酶 B1 (Akt1)、白蛋白 (ALB)、B 细胞淋巴瘤因子-2 (Bcl-2) 为核心靶点。富集分析表明其作用机制可能与磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶 B (PI3K/Akt) 和叉头框蛋白 O (FoxO) 等信号通路密切相关。分子对接结果显示, 补骨脂二氢黄酮甲醚与核心靶点结合能均低于 -5.0 kcal/mol, 分子动力学模拟显示补骨脂二氢黄酮甲醚 - Akt1 复合物达到平衡状态, 表明补骨脂二氢黄酮甲醚与 Akt1 的结合稳定, 进一步验证分子对接结果的可靠性。细胞实验表明, 与模型组相比, 补骨脂二氢黄酮甲醚 25.0、50.0 μ mol/L 组细胞存活率、细胞迁移率、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IFN- γ 水平显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001)。与模型组比较, 补骨脂二氢黄酮甲醚 25.0、50.0 μ mol/L 组 TNF、IL-6、IL-1 β 、PI3K mRNA 及补骨脂二氢黄酮甲醚 50.0 μ mol/L 组 Akt1 mRNA 相对表达量显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001), 而补骨脂二氢黄酮甲醚 50.0 μ mol/L 组 ALB、Bcl-2 mRNA 相对表达量显著升高 ($P < 0.01$ 、0.001)。与模型组相比, 补骨脂二氢黄酮甲醚 25.0、50.0 μ mol/L 组 p-Akt/Akt 及补骨脂二氢黄酮甲醚 50.0 μ mol/L 组 p-PI3K/PI3K 明显降低 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001)。**结论** 通过网络药理学、分子动力学模拟以及体外实验探究发现补骨脂二氢黄酮甲醚可能通过多靶点和多通路发挥治疗肺炎的作用。

关键词: 补骨脂二氢黄酮甲醚; 肺炎; 网络药理学; 分子动力学模拟; 体外实验; 肿瘤坏死因子; 白细胞介素-6

中图分类号: R285; R286.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674 - 5515(2026)05 - 1214 - 13

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2026.05.003

Mechanism of bavachinin in treatment of pneumonia based on network pharmacology, molecular dynamics simulation, and *in vitro* experiments

ZHANG Xun¹, JIANG Jing¹, FANG Jiahui², SUN Wenkui²

1. Chengdu Eighth People's Hospital, Chengdu Medical College Affiliated Geriatric Hospital, Chengdu 610083, China

2. School of Laboratory Medicine, Chengdu Medical College, Chengdu 610500, China

Abstract: Objective To explore the potential mechanism of bavachinin in treatment of pneumonia based on network pharmacology, molecular dynamics simulation, and *in vitro* experiments methods. **Methods** Pneumonia-related targets were screened through the

收稿日期: 2026-02-27

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31701104); 成都医学院-新都区人民医院联合基金项目 (2022LHXD-03)

作者简介: 张 旬, 女, 从事中药治疗微生物相关及炎症疾病方向研究。E-mail: zhangxun111zx@163.com

*通信作者: 孙文魁, 男, 副教授, 主要从事小分子药物治疗炎症及自身免疫性疾病方向研究。E-mail: sunwenkui126@126.com

GeneCards, TTD, and DisGeNET databases, and standardized using the UniProt database to obtain disease-related targets, the targets of action of bavachinin were predicted using the CTD, PharmMapper, and SwissTarget Prediction databases. Intersection of disease and drug targets was taken to obtain potential therapeutic targets, and a “disease-target-drug” regulatory network was constructed using Cytoscape 3.7.1. PPI network was constructed through the STRING database, and GO and KEGG pathway enrichment analysis were performed using the Xiantao Academic Platform. Molecular docking was completed using AutoDock Vina and PyMOL, and molecular dynamics simulation was conducted using GROMACS to verify binding stability. A pneumonia model was established using lipopolysaccharide to induce A549 cells. The effect of bavachinin on the proliferation of A549 cells was detected using CCK-8, the effect of bavachinin on A549 cells migration detected by scratch assay, the impact of bavachinin on the expression of inflammatory factors in A549 cells was measured by ELISA, and the mRNA expression of core targets and targets related to the signaling pathway, the effects of bavachinin on the expression of key signaling pathway proteins in A549 cells detected by western blotting experiment.

Results A total of 2 538 pneumonia-related targets were screened, 369 targets of action for bavachinin, and 106 common targets. PPI network analysis suggests that TNF, IL-6, IL-1 β , Akt1, ALB, and Bcl-2 were core targets. Enrichment analysis indicates that its mechanism of action may be closely related to signaling pathways such as PI3K/Akt and FoxO. Molecular docking results showed that the binding energy of bavachinin to the core targets were lower than -5.0 kcal/mol. Molecular dynamics simulations indicated that the bavachinin-Akt1 complex reached equilibrium, demonstrating the stable binding between the two molecules and further validating the reliability of the docking results. Cell experiments showed that compared with the model group, the cell survival rate, cell migration rate, levels of TNF- α , IL-1 β , IL-6, and IFN- γ in the 25.0 and 50.0 $\mu\text{mol/L}$ bavachinin groups were significantly lower ($P < 0.05, 0.01, 0.001$). Compared with the model group, the relative expression levels of *TNF*, *IL-6*, *IL-1 β* , *PI3K* mRNA in the 25.0 and 50.0 $\mu\text{mol/L}$ bavachinin groups, and *Akt1* mRNA in the 50.0 $\mu\text{mol/L}$ bavachinin group were significantly lower ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), while the relative expression levels of *ALB* and *Bcl-2* mRNA in the 50.0 $\mu\text{mol/L}$ bavachinin group were significantly higher ($P < 0.01, 0.001$). Compared with the model group, the p-Akt/Akt and p-PI3K/PI3K in the 25.0 and 50.0 $\mu\text{mol/L}$ bavachinin groups were significantly lower ($P < 0.05, 0.01, 0.001$).

Conclusion Through network pharmacology, molecular dynamics simulation, and *in vitro* experiments, it was found that bavachinin may exert therapeutic effects on pneumonia through multi-target and multi-pathway mechanisms.

Key words: bavachinin; pneumonia; network pharmacology; molecular dynamics simulation; *in vitro* experiment; TNF; IL-6

肺炎是一种由细菌、病毒或理化刺激等因素引起的急性肺部炎症性疾病, 病变常累及肺泡、肺间质乃至肺叶, 在老年与婴幼儿群体中发病率较高。该病若进展至晚期, 可出现脓毒症、呼吸衰竭等严重并发症^[1-2]。世界卫生组织指出, 肺炎是导致呼吸系统感染相关死亡的主要原因之一^[3]。目前临床治疗仍以抗感染为核心, 常用药物包括抗生素、抗病毒药及抗真菌药等, 但普遍存在耐药性与药物不良反应等问题^[4-5]。此外, 对症支持治疗如氧疗、补液和营养管理也是肺炎综合管理的重要部分^[6]。近年来, 中药因其多靶点、整体调节的特点以及良好的安全性, 在抗炎、免疫调节等方面显示出独特优势。采用中药干预肺炎, 不仅有助于减轻临床症状、改善患者预后, 还可能减少对抗生素的依赖, 为肺炎的防治提供新的策略与研究方向^[7-8]。

补骨脂是豆科植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* L. 的干燥成熟果实, 具有温肾壮阳、温脾止泻、纳气平喘的功能^[9]。补骨脂二氢黄酮甲醚是补骨脂中提取的主要黄酮成分^[10-11]。它具有多种药理作用, 包括抗肿瘤、抗炎、抗氧化、抗菌、抗病毒、免疫

调节和抗阿尔茨海默病的效果^[12-15]。作为一种活性天然化合物, 补骨脂二氢黄酮甲醚展示出重要的抗炎活性, Matsuda 等^[14]发现, 补骨脂二氢黄酮甲醚通过抑制在脂多糖激活的巨噬细胞中一氧化氮 (NO) 的产生, 展现出抗炎作用。有研究提示补骨脂二氢黄酮甲醚可以抑制 GATA 结合蛋白 3 (GATA-3) 的表达, 从而减少过敏性炎症和气道高反应性, 最终发挥抗炎和抗哮喘的作用^[16]。网络药理学已被广泛应用于中药研究领域, 为中药的作用机制及新药的研发指明了方向^[17-18]。本研究通过网络药理学、分子动力学模拟技术和体外细胞实验, 深入探讨了补骨脂二氢黄酮甲醚在治疗肺炎中的作用机制, 为后续补骨脂二氢黄酮甲醚的抗肺炎实验研究提供理论依据。

1 网络药理学研究

1.1 肺炎相关作用靶点筛选

通过检索 GeneCards (<https://www.genecards.org/>)、TTD (<https://db.idrblab.net/ttd/>)、DisGeNET (<http://www.disgenet.org/>) 数据库, 以 “pneumonia” 为关键词, 获取与肺炎相关的潜在靶点。合并各数

数据库结果并去除重复项，最终整理得到肺炎相关靶点基因集。

1.2 补骨脂二氢黄酮甲醚作用靶点筛选

基于 CTD (<https://ctdbase.org/>)、PharmMapper (<http://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/>)、Swiss Target Prediction (<http://swisstargetprediction.ch>) 数据库，预测补骨脂二氢黄酮甲醚的潜在作用靶点。对初步筛选得到的靶点信息进行标准化处理，统一通过 UniProt 数据库 (<https://www.uniprot.org>) 进行基因名和蛋白质编号的校正与归一化。

1.3 补骨脂二氢黄酮甲醚治疗肺炎的靶点筛选

将补骨脂二氢黄酮甲醚相关靶点与肺炎相关靶点集导入仙桃学术平台 (<https://www.xiantaozi.com>)，绘制韦恩图并提取交集靶点，作为补骨脂二氢黄酮甲醚治疗肺炎的潜在作用靶点。

1.4 “疾病 - 靶点 - 药物”网络构建

借助 Cytoscape 3.7.1 软件构建“疾病 - 靶点 - 药物”网络。节点包括肺炎、补骨脂二氢黄酮甲醚及其潜在作用靶点，边表示三者之间的相互作用关系。根据节点的度 (degree) 值评估其在网络中的重要性，degree 值越高则节点越关键。

1.5 基因本体 (GO) 功能富集分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 富集分析

使用 R 3.6.3 软件中的 clusterProfiler、org.Hs.eg.db 和 ggplot2 包，对潜在靶点进行 GO 和 KEGG 富集分析。GO 分析涵盖生物过程 (BP)、细胞组分 (CC) 和分子功能 (MF)。采用 Benjamini-Hochberg (BH) 方法对 *P* 值进行校正。

1.6 蛋白质互作 (PPI) 网络构建与核心靶点筛选

将潜在靶点导入 STRING 数据库 (<https://cn.string-db.org>)，设置物种为“人”，相互作用置信度阈值 ≥ 0.4 ，已隐藏了无连接的孤立节点，构建蛋白质互作网络。结果以 TSV 格式导出，并通过 Cytoscape 3.7.1 进行可视化。基于 CytoNCA 插件中的度中心性 (DC)、中介中心性 (BC)、接近中心性 (CC)、网络中心性 (NC) 和特征向量中心性 (EC) 作为 5 项拓扑指标，筛选各指标排名前 10 位的靶点，取交集作为核心靶点。

1.7 分子对接验证

从蛋白质数据库 (PDB, <https://www.rcsb.org/>) 获取核心靶点的三维结构文件 (mol2 格式)。使用 AutoDock 工具对蛋白质进行预处理，包括去除水分子、添加极性氢、分配电荷等。使用 AutoDock

Vina 进行分子对接，结合能 < -4.25 kcal/mol ($1 \text{ cal} = 4.2 \text{ J}$) 视为有结合活性，结合能 < -5.0 kcal/mol 表明结合良好，结合能 < -7.0 kcal/mol 表明结合能力显著^[19]。对接结果采用 PyMOL 进行可视化。

1.8 分子动力学模拟

蛋白质 - 配体复合物的分子动力学模拟在 GROMACS 2025.2 中进行，采用 CHARMM36 力场和 TIP3P 水模型进行溶剂化。经过能量最小化和 NVT/NPT 平衡后，进行 100 ns 的生产模拟。分析包括蛋白主链 $\text{C}\alpha$ 原子均方根偏差 (RMSD)、回旋半径 (Rg)、残基均方根波动 (RMSF)、溶剂可及表面积 (SASA) 及蛋白-配体间氢键数目。采用分子力学泊松 - 玻尔兹曼表面积 (MM-PBSA) 方法计算结合自由能 (ΔG_{bind})，进一步构建二维 (2D) 及三维 (3D) 自由能地貌图 (FEL)，以可视化复合物构象稳定性。地貌图以回旋半径 (Rg) 和均方根偏差 (RMSD) 为坐标，显示体系在构象空间中的自由能分布。深蓝色低洼区域指示全局自由能最小值，对应最优热力学稳定构象。

2 体外实验验证

2.1 材料

2.1.1 细胞株 肺癌人类肺泡基底上皮细胞 (A549 细胞) (3 代以内) 购于上海碧云天生物 (货号: C6053)。

2.1.2 药物 补骨脂二氢黄酮甲醚购于上海融禾医药科技发展有限公司 (质量分数 $\geq 99\%$ ，货号 THT078)。

2.1.3 试剂 RPMI Medium 1640 培养基购于北京 Solarbio 公司 (货号 31800); LPS 来源于大肠杆菌购于 Sigma 公司 (货号 L6529-IMG); 细胞增殖与毒性检测试剂盒 (CCK-8) 购于凯基生物 (货号 KGA9306-1000); 肿瘤坏死因子子- α (TNF- α) 试剂盒 (货号 UE1744)、白细胞介素 (IL) - 1β 试剂盒 (货号 UE1731)、IL-6 试剂盒 (货号 UE1737)、干扰素- γ (IFN- γ) 试剂盒 (货号 UE1743) 均购自通用生物; SteadyPure 通用型 RNA 提取试剂盒购于湖南艾瑞科生物 (货号 AG21022); Genius 2X SYBR Green Fast qPCR Mix (NoROX) 购于武汉爱博泰克 (货号 RK21205); ABScript III RT Master Mix for qPCR 购于武汉爱博泰克 (货号 RK20428)。引物序列: TNF: 5'-AAATGGCCTCCCTCTCATCAGT-3' (上游), 5'-GGTGGTTTGCTACGACGTGG-3' (下

游); IL-6: 5'-CAATAACCACCCCTGAC-3'(上游), 5'-GCTACATTTGCCGAAGA-3'(下游); IL-1 β : 5'-TACCTGTCCTGCGTGTGAA-3'(上游), 5'-TGCT TGAGAGGTGCTGATGT-3'(下游); 蛋白激酶 B1 (Akt1): 5'-CTGAGATTGTGTCAGCCCTGGA-3'(上游), 5'-CACAGCCCCGAAGTCTGTGATCTTA-3'(下游); 白蛋白 (ALB): 5'-TGCAACTCTTCGTGAAA CCTATG-3'(上游), 5'-ACATCAACCTCTGGGTCT CACC-3'(下游); B 细胞淋巴瘤-2 (Bcl-2): 5'-GGT GCCACCTGTGGTCCACCTG-3'(上游), 5'-CTTCA CTTGTGGCCCAGATAGG-3'(下游); 磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K): 5'-GATGAGGTGAGGAACGAAG-3'(上游), 5'-GCAGAGGACTTGTGTC-3'(下游); β -肌动蛋白 (β -actin): 5'-GGCTGTATCCCTCCA TCG-3'(上游), 5'-CCAGTTGGTAACAATGCCAT GT-3'(下游)。上述引物由通用生物合成。RIPA 裂解液 (上海碧云天生物技术有限公司, 货号 P0013B), β -actin 抗体 (上海碧云天生物技术有限公司, 货号 AF0003); PI3K 抗体 (货号 HY-P80867)、p-PI3K (Tyr467/Tyr199) 抗体 (货号 HY-P80846)、Akt 抗体 (货号 HY-P85759)、p-Akt (Thr308) 抗体 (货号 HY-P80789) 均购自上海 MCE 公司。

2.1.4 仪器 基础电泳仪、荧光定量 PCR 仪 (CFX96) 均购自美国 Bio-Rad 公司; Centri-fuge 5424R 型冷冻离心机购自德国 Eppendorf 公司; 全波长酶标仪购自德国 Biotek 公司; IX71 型倒置荧光显微镜购自日本 Olympus 公司; Gel Doc XR+ 型号凝胶成像仪购自美国 Bio-Rad 公司; 恒温干燥箱购自美国 Thermo Heraeus 公司; DW-86L626 (-80 °C) 冰箱购自中国海尔。

2.2 细胞培养

将 A549 细胞复苏, 转接于含青霉素 100 U/mL、链霉素 10 μ g/mL、10%胎牛血清的 RPMI Medium 1640 培养液中, 细胞接种于 T25 培养瓶并置于 37 °C、5% CO₂ 恒温培养箱内培养。收集对数生长期的 A549 细胞进行后继实验。

2.3 药物浓度筛选及实验分组

(1) LPS 浓度筛选: 将 A549 细胞悬液以 3×10^5 个/孔密度接种在 96 孔板中, 在细胞贴壁后分别加入 0.0、0.5、1.0、2.0、4.0 μ g/mL LPS 作用 6 h, 利用 CCK-8 检测细胞活力, 筛选最佳 LPS 浓度构建最适炎症损伤模型。

(2) 补骨脂二氢黄酮甲醚浓度筛选: CCK8 检

测补骨脂二氢黄酮甲醚对 A549 细胞影响, 将 A549 细胞以 3×10^3 个/孔密度接种在 96 孔板中。培养细胞 12 h 后加入 0.0、12.5、25.0、50.0、100.0 μ mol/L 补骨脂二氢黄酮甲醚, 处理 24 h 后每孔加入 10 μ L 的 CCK-8 溶液, 孵育 2 h。在酶标仪 450 nm 波长下检测吸光度 (A) 值, 计算细胞存活率, 实验重复 3 次。筛选出最佳药物浓度后将细胞分为对照组、模型组、补骨脂二氢黄酮甲醚 (25、50 μ mol/L) 组。

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

2.4 CCK-8 检测补骨脂二氢黄酮甲醚对 A549 细胞活力影响

将对数生长期的 A549 细胞以 3×10^3 个/孔密度接种在 96 孔板中, 在培养 12 h 贴壁生长后, 将细胞分为对照组、模型组、补骨脂二氢黄酮甲醚 (25、50 μ mol/L) 组, 每组设 3 个复孔, 对照组细胞不做干预; 模型组、补骨脂二氢黄酮甲醚组细胞加入 LPS 作用 24 h, 置于 37 °C、5% CO₂ 恒温培养箱内培养达到预定检测时刻后, 按照 1:10 比例向培养体系中加入 CCK-8 试剂, 孵育 2 h。按 2.3 项下方法计算细胞存活率。

2.5 划痕实验检测补骨脂二氢黄酮甲醚对 A549 细胞迁移影响

将 A549 细胞以 1×10^5 个/孔密度接种在 6 孔板中, 分组同 2.4 项下。将铺板细胞放于 37 °C、5% CO₂ 培养箱内培养 12 h, 使用 200 μ L 枪头垂直于已消毒灭菌的直尺在各孔进行“十”字分割。吸取 1 mL PBS 缓冲液清洗各实验孔 3 次, 镜下观察划痕确保无细胞碎片。40 倍显微镜下拍照记录 0 h 划痕处细胞状态。对照组细胞不做干预, 模型组、补骨脂二氢黄酮甲醚组细胞加入 LPS 在 37 °C、5% CO₂ 培养箱继续培养 6、12 h 后, 40 倍显微镜下拍照记录 6、12 h 的划痕处细胞状态。使用 Image J 软件算得划痕的面积并计算细胞迁移率。

2.6 ELISA 检测补骨脂二氢黄酮甲醚对 A549 细胞中炎症因子影响

将 A549 细胞以 1×10^5 个/孔密度接种在 6 孔板中, 分组同 2.4 项下。在培养 12 h 贴壁生长后, 吸弃培养基, 对照组细胞不做干预; 模型组、补骨脂二氢黄酮甲醚组细胞加入 LPS 作用 24 h, 置于 37 °C、5% CO₂ 恒温培养箱内培养达到预定检测时刻后, 使用 EP 管收集六孔板中的上清培养基, 并做好标记。在 4 °C、1000 r/min 的冷冻离心机中离心 10 min, 收集上清液。将上清液存放于 4 °C 的冰

箱，后续操作遵循 ELISA 试剂盒说明书。

2.7 qRT-PCR 检测补骨脂二氢黄酮甲醚对 A549 细胞中核心靶点和信号通路相关靶点 mRNA 表达影响

将 A549 细胞以 1×10^5 个/孔密度接种在 6 孔板中，分组同 2.4 项下。在培养 12 h 贴壁生长后，吸弃培养基，对照组细胞不做干预；模型组、补骨脂二氢黄酮甲醚组细胞加入 LPS 作用 24 h，置于 37°C 、5% CO_2 恒温培养箱内培养达到预定检测时刻后，使用 RNA 提取试剂盒提取细胞样本的 RNA。利用 ND2000 微量分光光度计检测 RNA 浓度。总 RNA 加入量定为 $1\ \mu\text{g}$ ，推算对应的体积并吸取至 PCR 管中，加入 $4\ \mu\text{L}$ $5 \times \text{ABScript III RT Mix}$ ，吸取 Nuclease-free H_2O 补至 $20\ \mu\text{L}$ ，按照 ABclonal 的 Genious $2 \times \text{SYBR Green Fast qPCR Mix}$ 试剂说明书操作。以 $\beta\text{-actin}$ 作为内参基因，采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算目的基因的相对表达量。

2.8 Western blotting 检测补骨脂二氢黄酮甲醚对 A549 细胞中关键信号通路蛋白表达影响

将 A549 细胞以 1×10^5 个/孔密度接种在 6 孔板中，分组同 2.4 项下。在培养 12 h 贴壁生长后，吸弃培养基，对照组细胞不做干预；模型组、补骨脂二氢黄酮甲醚组细胞加入 LPS 作用 24 h，置于 37°C 、5% CO_2 恒温培养箱内培养达到预定检测时刻后，收集离心细胞，裂解提取总蛋白并测定蛋白浓度。进行 10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳、转膜后封闭。将膜分别与对应的一抗 ($1:1000$) 于 4°C 孵育过夜，用 TBST 缓冲液洗涤 3 次，每次 5 min，用二抗 ($1:1000$) 在室温孵育 1 h，TBST 缓冲液洗涤 3 次后用 ECL 曝光液进行反应。使用凝胶成像系统进行成像，Image J 软件分析图像灰度值。

2.9 统计学方法

使用 GraphpadPrism8.0 统计学软件处理数据，所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间比较采用 t 检验和单因素方差分析。

3 网络药理学研究结果

3.1 肺炎相关靶点筛选

基于 GeneCards、TTD、DisGeNET 数据库，分别筛选获得 2 505、27、69 个肺炎相关靶点，合并去重后共得到 2 538 个潜在肺炎作用靶点。

3.2 补骨脂二氢黄酮甲醚作用靶点预测

利用 CTD、PharmMapper、SwissTarget Prediction 数据库预测补骨脂二氢黄酮甲醚的作用

靶点，分别筛选得到 20、262、100 个作用靶点，结合 UniProt 数据库标准化处理，最终确定 369 个补骨脂二氢黄酮甲醚相关靶点。

3.3 共同作用靶点筛选

对补骨脂二氢黄酮甲醚与肺炎相关靶点取交集，通过韦恩图分析得到 106 个共同作用靶点，作为补骨脂二氢黄酮甲醚治疗肺炎的潜在作用靶点，见图 1。

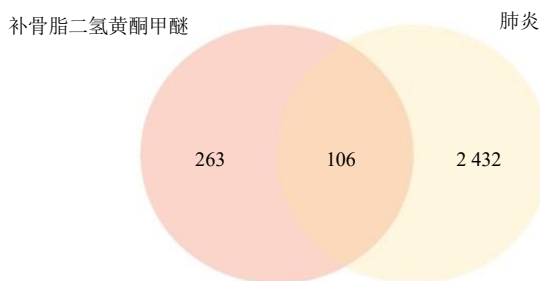


图 1 肺炎与补骨脂二氢黄酮甲醚作用靶点韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of the action targets of pneumonia and bavaisinin

3.4 “疾病 - 靶点 - 药物”网络构建

利用 Cytoscape 3.7.1 软件构建“疾病 - 靶点 - 药物”网络，该网络共包含 108 个节点与 213 条边。直观展示补骨脂二氢黄酮甲醚与肺炎之间的多靶点调控关系，见图 2。

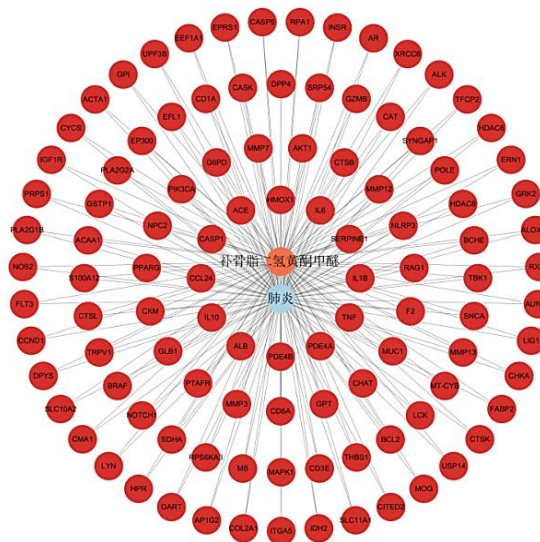


图 2 “疾病 - 靶点 - 药物”网络图

Fig. 2 Network diagram of “disease-target-drug”

3.5 GO 功能富集分析

将 106 个共同靶点导入仙桃学术数据库进行 GO 富集分析 ($P < 0.05$)，共识别到 1 304 条 BP、

35 条 CC 及 73 条 MF 条目。排名前 10 位的条目以柱状图展示, 见图 3。BP 主要包括类固醇激素反应、脂多糖反应等; CC 主要包括分泌颗粒腔、细胞质囊泡腔等; MF 主要包括丝氨酸型肽酶活性、丝氨酸水解酶活性等。

3.6 KEGG 通路富集分析

KEGG 分析共得到 142 条通路, 选取富集程度前 20 位的通路绘制气泡图, 见图 4。显著富集的通路包括脂质与动脉粥样硬化、PI3K/Akt 信号通路、阿尔茨海默病等, 其中 PI3K/Akt 与叉头框蛋白 O (FoxO) 信号通路与肺炎密切相关。

3.7 PPI 网络分析

通过 STRING 数据库构建 PPI 网络, 包含 103 个节点与 817 条边。进一步基于 DC、EC、BC、CC 及 NC 筛选核心靶点, 得到 TNF、IL-6、IL-1 β 、Akt1、ALB、Bcl-2 6 个关键靶点, 见图 5 和表 1。

3.8 分子对接验证

将补骨脂二氢黄酮甲醚与上述核心靶点进行分子对接分析, 结合能均低于 -5.0 kcal/mol, 其中部分靶点结合能小于 -7.0 kcal/mol。通常认为, 当结合

能 < -5.0 kcal/mol 时, 表明该成分与核心靶点蛋白之间具有良好的结合能力; 而结合能 < -7.0 kcal/mol 则提示该物质与核心靶点蛋白之间具有显著的结合活性, 提示补骨脂二氢黄酮甲醚与核心靶点具有较强的结合活性, 对接结果通过 PyMOL 进行可视化, 见图 6。

3.9 分子动力学模拟

分子对接结果显示, 补骨脂二氢黄酮甲醚与 Akt1 之间存在最佳结合能, 因此本研究使用分子动力学模拟验证其结构稳定性。结果如图 7A 所示, 模拟结果表明, 复合物在 20 ns 后趋于平衡。RMSD 能够反映复合物在模拟期间整体结构的变化幅度; RMSD 值越小, 说明结合物的构象变化越少, 从而揭示系统具有较高的动态稳定性。RMSD 值在 0.25~0.4 nm 波动, 均值为 0.33 nm, 显示出较高的结合稳定性。相关研究指出, RMSF 值在 0.1~0.3 nm 的波动表明对接复合物的相对稳定性。RMSF 结果显示, 波动范围在 0.0~0.3 nm, 其中 110~120 和 130~140 氨基酸残基的构象变化较大, 可能显示出较大的柔性。Rg 代表蛋白质-配体复合物中所

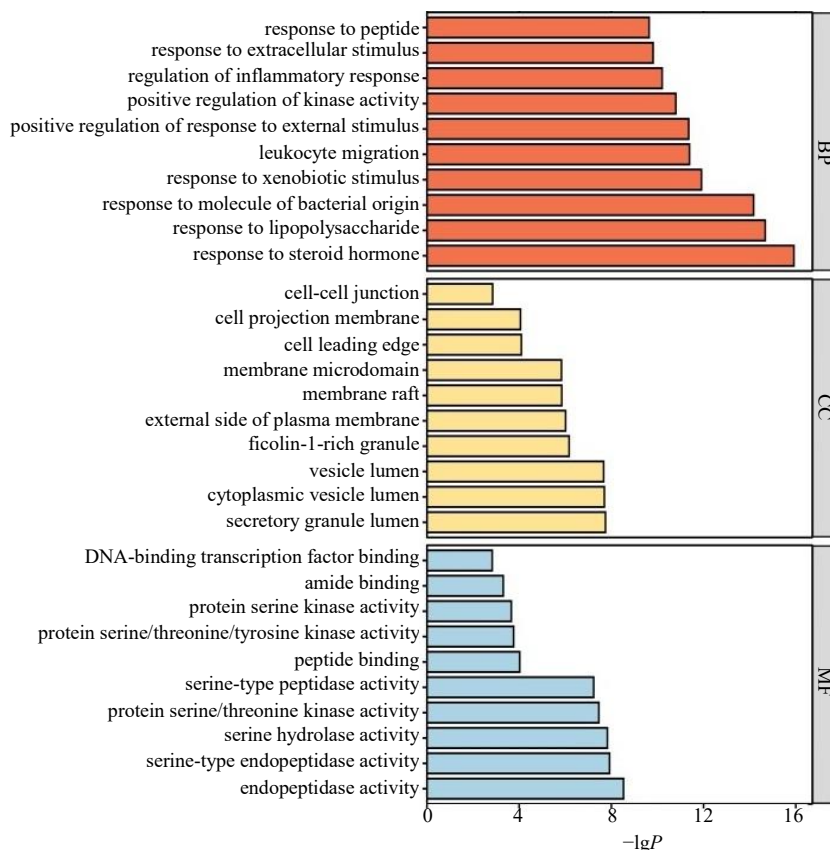


图 3 GO 功能分析

Fig. 3 GO function analysis

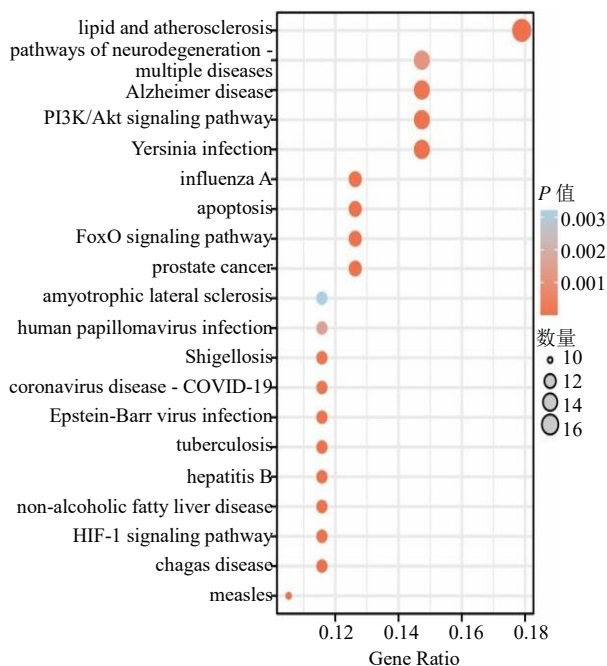


图 4 KEGG 通路分析
Fig. 4 KEGG channel analysis

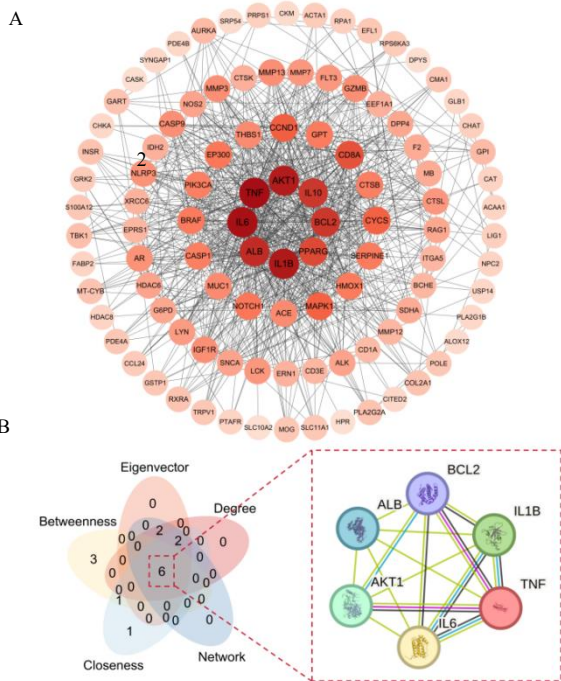


图 5 关键靶点基因的 PPI 网络 (A)、5 种算法交集靶点网络 (B)
Fig. 5 PPI network of key target genes (A), and results of the intersection of five algorithms with the target (B)

有原子质心与整个复合物质心的平均距离, 用于表征蛋白质的紧凑性。Rg 均值为 1.42 nm, 波动幅度小, 表明复合物保持了相对紧凑的结构。SASA 均

表 1 核心靶点分析结果信息

Table 1 Core target analysis results information

靶点	DC	EC	BC	CC	NC
TNF	64	0.24	1 065.75	0.71	56.67
IL-6	63	0.24	909.88	0.70	56.65
IL-1β	60	0.23	949.82	0.69	51.83
Akt1	59	0.23	1 177.14	0.68	49.77
ALB	53	0.21	1 074.93	0.65	41.12
Bcl-2	49	0.21	381.51	0.61	41.27

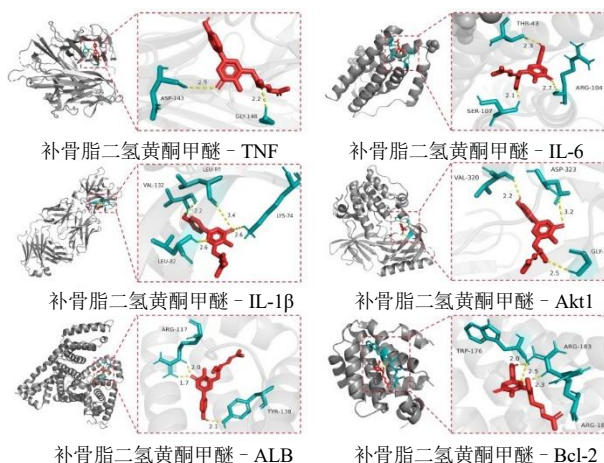


图 6 补骨脂二氢黄酮甲醚与核心靶点分子对接可视化图
Fig. 6 Molecular docking visualization of bavachinin with core target molecules

值为 76.8 nm², 曲线在 40 ns 后趋于平衡, 说明复合物结构稳定。氢键数量为 0~3 个, 表明小分子与靶蛋白之间存在着良好的氢键相互作用。

本研究通过构建 2D 与 3D 自由能地貌图 (FEL), 系统分析体系在构象空间中的能量分布特征 (图 7B)。图中以 Rg 和 RMSD 为反应坐标, 定量表征构象演变的自由能变化。分析显示, 复合物体系在特定 Rg (1.42 nm) 与 RMSD (0.3 nm) 范围内形成了 1 个单一且尖锐的最低能量区, 表明两者结合后存在一个结构紧凑且稳定的构象, 并表明出补骨脂二氢黄酮甲醚与 Akt1 发生相互作用的最可能位点。以上分析结果均表明, 在 100 ns 的分子动力学模拟中, 补骨脂二氢黄酮甲醚与 Akt1 复合物均达到平衡状态, 表明补骨脂二氢黄酮甲醚与靶蛋白 Akt1 的结合稳定, 进一步验证分子对接结果的可靠性。

4 体外实验结果

4.1 不同浓度 LPS 和补骨脂二氢黄酮甲醚对 A549 细胞的影响

为筛选诱发炎症反应的最适 LPS 浓度, 用 0、

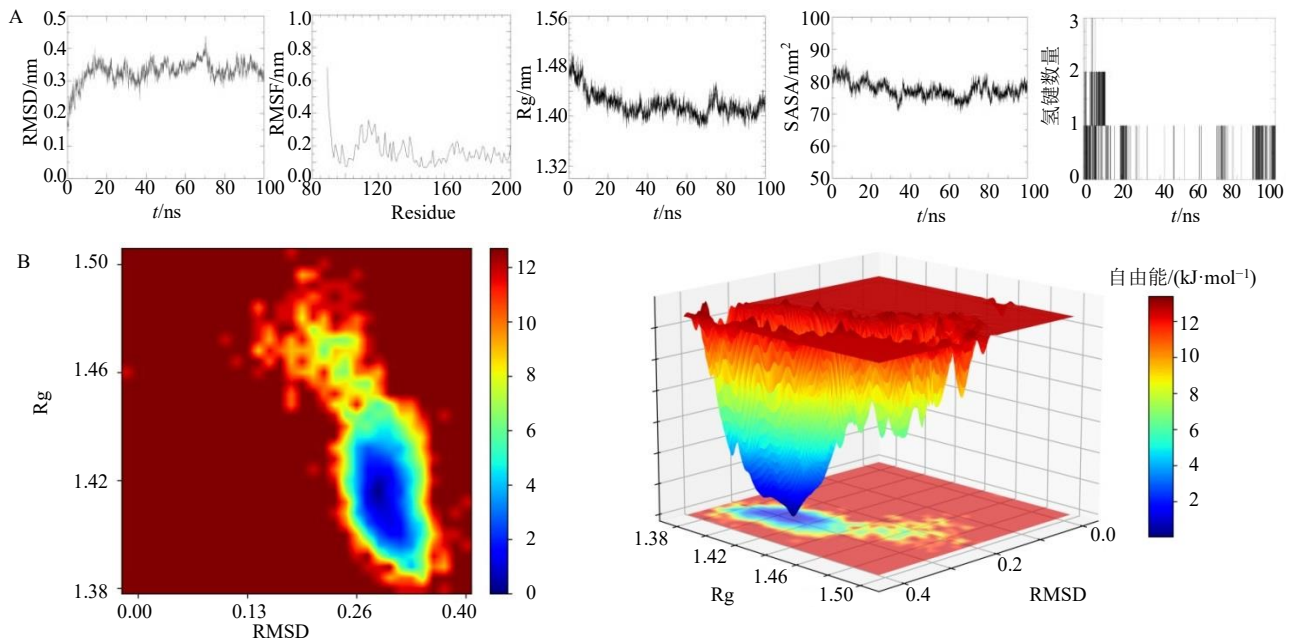


图 7 补骨脂二氢黄酮甲醚 - Akt1 动力学模拟 (A) 与自由能分析图 (B)

Fig. 7 Dynamical simulation (A) and free energy analysis (B) of bavachinin - Akt1

0.5、1.0、2.0、4.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ LPS 刺激 A549 细胞 6 h 后, CCK-8 检测细胞活力, 结果见图 8。后续选用 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ LPS 为体外炎症造模条件。为明确补骨脂二氢黄酮甲醚对 A549 细胞的生物安全性。利用 0、12.5、25.0、50.0、100.0 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 补骨脂二氢黄酮甲醚检测其对 A549 细胞活力影响。补骨脂二氢黄酮甲醚在 100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 时表现出较小的细胞毒性 ($P < 0.01$)。后续选用 25.0、50.0 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 作为补骨脂二氢黄酮甲醚实验浓度。

4.2 CCK-8 检测补骨脂二氢黄酮甲醚对 LPS 诱导的 A549 细胞活力的影响

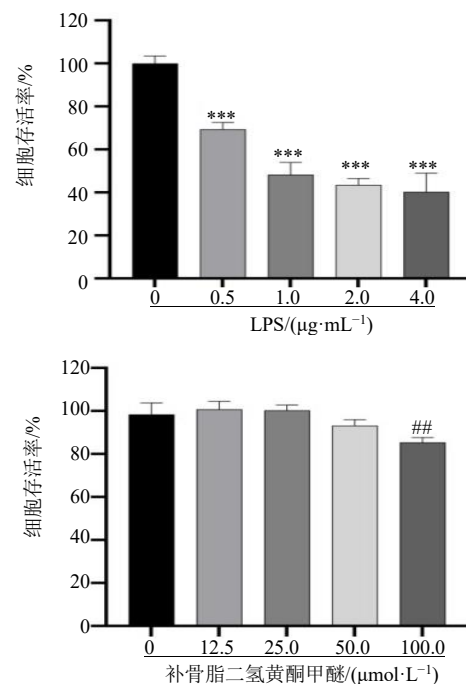
CCK-8 检测补骨脂二氢黄酮甲醚对 A549 细胞存活率的影响, 结果如图 9 所示, 与模型组相比, 补骨脂二氢黄酮甲醚 (25.0、50.0 $\mu\text{mol}/\text{L}$) 组细胞存活率显著升高 ($P < 0.05$ 、0.001)。

4.3 划痕实验检测补骨脂二氢黄酮甲醚对 A549 细胞迁移的影响

划痕实验检测补骨脂二氢黄酮甲醚对 A549 细胞迁移能力的影响。如图 10 所示, 干预 6、12 h 后, 与模型组相比, 补骨脂二氢黄酮甲醚 25.0、50.0 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 组细胞迁移率显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01)。

4.4 ELISA 检测补骨脂二氢黄酮甲醚对 A549 细胞中炎症因子的影响

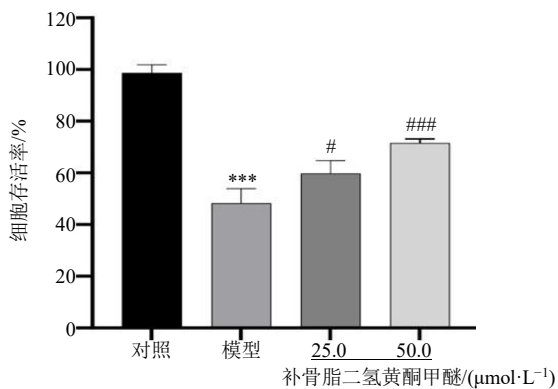
通过 ELISA 检测细胞培养上清液中的细胞因子水平。结果显示, 与模型组比较, 补骨脂二氢黄



与 LPS 0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 组比较: *** $P < 0.001$; 与补骨脂二氢黄酮甲醚 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组比较: ## $P < 0.01$ 。

*** $P < 0.001$ vs LPS 0.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ group; ## $P < 0.05$ vs bavachinin 0.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ group.

图 8 不同浓度 LPS 对 A549 细胞影响、不同浓度补骨脂二氢黄酮甲醚对 A549 细胞影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)Fig. 8 Effects of different concentrations of LPS on A549 cells and different concentrations of bavachinin on A549 cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)



与对照组比较: *** $P < 0.001$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ### $P < 0.001$ 。
 *** $P < 0.001$ vs control group; # $P < 0.05$ ### $P < 0.001$ vs model group.

图 9 CCK-8 实验检测补骨脂二氢黄酮甲醚对 A549 细胞活力影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
 Fig. 9 CCK-8 experiment to detect the effect of bavachinin on the viability of A549 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

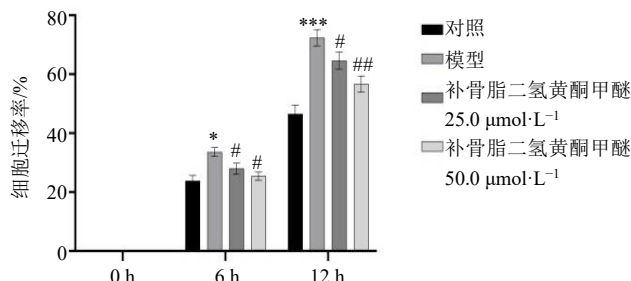
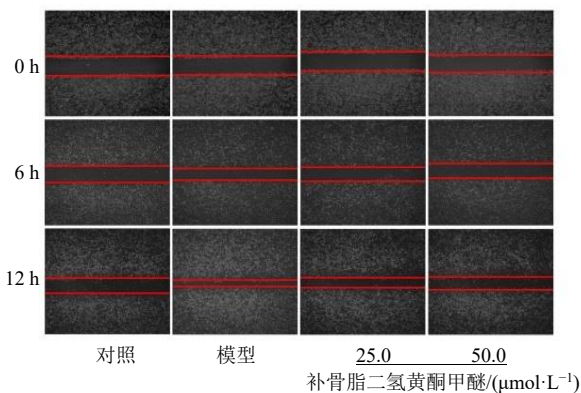
酮甲醚 (25.0、50.0 $\mu\text{mol/L}$) 组 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IFN- γ 水平显著降低 ($P < 0.01$ 、0.001), 见图 11。

4.5 qRT-PCR 检测补骨脂二氢黄酮甲醚对 A549 细胞靶点和信号通路相关靶点 mRNA 表达的影响

为探究补骨脂二氢黄酮甲醚对核心靶点和信号通路相关靶点的调控作用, 通过 qRT-PCR 验证相关靶点的 mRNA 水平。与模型组比较, 补骨脂二氢黄酮甲醚 25.0、50.0 $\mu\text{mol/L}$ 组 TNF、IL-6、IL-1 β 、PI3K mRNA 及补骨脂二氢黄酮甲醚 50.0 $\mu\text{mol/L}$ 组 Akt1 mRNA 相对表达量显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001), 而补骨脂二氢黄酮甲醚 50.0 $\mu\text{mol/L}$ 组 ALB、Bcl-2 mRNA 相对表达量显著升高 ($P < 0.01$ 、0.001), 见图 12。

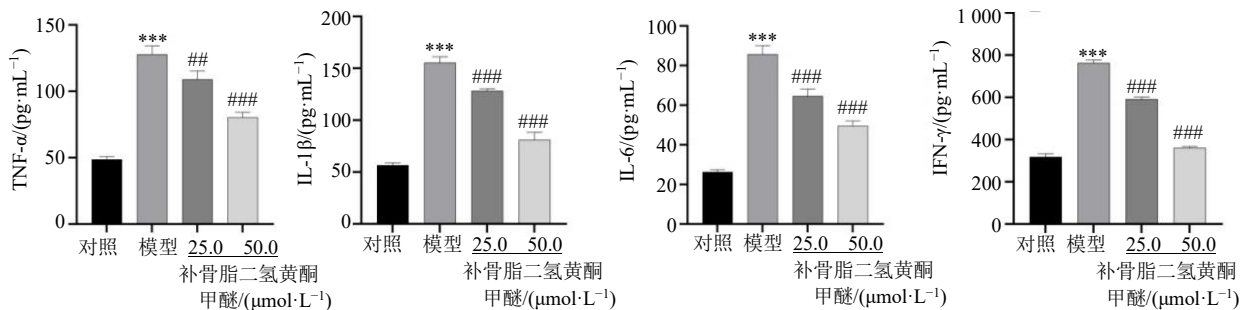
4.6 Western blotting 检测补骨脂二氢黄酮甲醚对 A549 细胞中关键信号通路蛋白表达影响

为验证补骨脂二氢黄酮甲醚对关键通路蛋白



与对照组比较: * $P < 0.05$ *** $P < 0.001$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ 。
 * $P < 0.05$ *** $P < 0.001$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group.

图 10 划痕实验检测补骨脂二氢黄酮甲醚对 A549 细胞迁移的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
 Fig. 10 Effect of bavachinin on A549 cells migration detected by scratch assay ($\bar{x} \pm s, n = 3$)



与对照组比较: *** $P < 0.001$; 与模型组比较: ### $P < 0.001$ #### $P < 0.001$ 。
 *** $P < 0.001$ vs control group; ### $P < 0.001$ #### $P < 0.001$ vs model group.

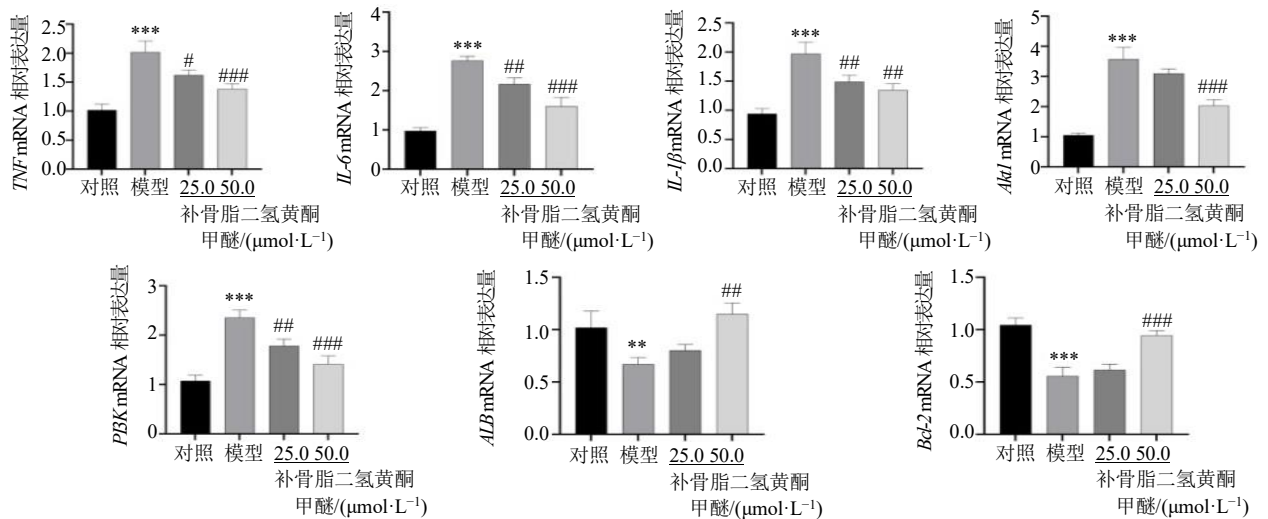
图 11 ELISA 实验检测补骨脂二氢黄酮甲醚对 A549 细胞中炎症因子的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
 Fig. 11 Detection of the effect of bavachinin on inflammatory factors in A549 cells by ELISA experiment ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

表达影响,通过 Western blotting 方法检测 PI3K/Akt 信号通路相关蛋白表达。与模型组相比,补骨脂二氢黄酮甲醚 25.0、50.0 $\mu\text{mol/L}$ 组 p-Akt/Akt 及补骨脂二氢黄酮甲醚 50.0 $\mu\text{mol/L}$ 组 p-PI3K/PI3K 明显

降低 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001),见图 13。

5 讨论

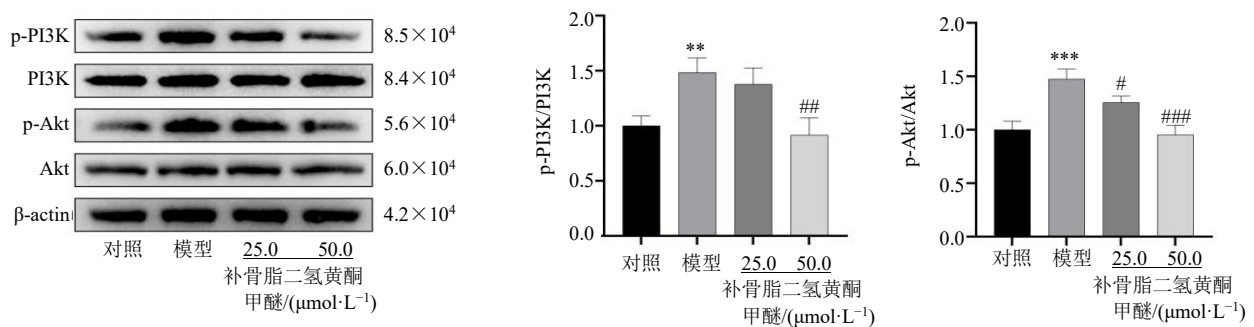
肺炎是一种严重的呼吸系统感染,全球范围内对公共健康构成了重大威胁。儿童和老年人免疫功



与对照组比较: *** $P < 0.001$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ 。
*** $P < 0.001$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs model group.

图 12 qRT-PCR 实验检测补骨脂二氢黄酮甲醚对 A549 细胞中相关靶点 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 12 Effects of bavachinin on the expression of related target mRNA in A549 cells detected by qRT-PCR experiment ($\bar{x} \pm s, n = 3$)



与对照组比较: ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ 。
** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs model group.

图 13 Western blotting 实验检测补骨脂二氢黄酮甲醚对 A549 细胞中关键信号通路蛋白表达影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 13 Effects of bavachinin on the expression of key signaling pathway proteins in A549 cells detected by Western blotting experiment ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

能低下,肺炎可能导致肺外并发症,如心血管系统和神经系统损害等并发症,从而增加死亡风险^[20]。目前抗生素治疗和支持性护理等方法被广泛用于应对肺炎。然而,由于病原体的多样性和耐药性问题,现有的治疗方法在疗效和安全性方面仍存在一定的局限性^[21]。因此,探索新的治疗策略显得尤为

重要。基于前期研究的结果,补骨脂二氢黄酮甲醚展现出良好的抗炎和免疫调节活性,可能有助于改善肺炎患者的预后^[15]。本研究通过网络药理学方法,系统地分析了补骨脂二氢黄酮甲醚与肺炎相关靶点的相互作用,通过构建“药物-靶点-疾病”网络,进行功能富集分析,揭示其在肺炎治疗中的

潜在机制，为后续的临床研究奠定理论基础。

本研究通过 GeneCards 等疾病及药物靶点预测数据库，筛选出补骨脂二氢黄酮甲醚作用于肺炎相关的靶点共 106 个。利用 Cytoscape 软件进行拓扑分析后，筛选出补骨脂二氢黄酮甲醚在肺炎治疗中的关键靶点，包括 TNF、IL-6、IL-1 β 、Akt1、ALB 和 Bcl-2。TNF、IL-6、IL-1 β 被认为是重要的促炎细胞因子，它们在肺炎初期被病原体激活后迅速上调。TNF 通过与其受体结合，激活核因子- κ B (NF- κ B) 和丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路，从而促进中性粒细胞和巨噬细胞向肺部的募集，以清除病原体^[22]。然而，过量的 TNF 可能导致“细胞因子风暴”，进而引发急性肺损伤或急性呼吸窘迫综合征^[23]。本实验结果提示补骨脂二氢黄酮甲醚抑制 LPS 诱导 A549 肺炎模型中 PI3K/Akt 通路，可导致 NF- κ B 和激活蛋白-1 (AP-1) 的活性降低，可能减少 TNF- α 的转录。此外，IL-6 和 IL-1 β 通过协同作用增强炎症反应：IL-6 促进肝细胞合成急性期蛋白质（如 C-反应蛋白），而 IL-1 β 则直接参与发热和组织损伤的过程^[24]。研究表明，在社区获得性肺炎患者中，血清 TNF、IL-6、IL-1 β 水平的升高与疾病的严重性及死亡率呈正相关^[25]。PI3K/Akt 信号通路中活化的 Akt 可能通过调节 mTOR 通路进而调节 IL-6 的合成，抑制 PI3K/Akt 信号可从多重效果下调 IL-6 表达^[26]。Akt1 作为 PI3K/Akt 信号通路的关键分子，在肺炎中发挥着双重作用。一方面，Akt1 的激活可促进细胞的存活和增殖，通过抑制凋亡途径来维持肺泡上皮细胞和内皮细胞的完整性^[27]；另一方面，Akt1 可能增强炎症反应，如通过调控 NF- κ B 的活性^[28]。在实验性肺炎模型中，Akt1 缺陷的小鼠表现出更为严重的炎症损伤，这一现象提示其在免疫反应平衡中的重要性^[29]。ALB 作为一种重要的血浆蛋白，在肺炎中常因全身炎症反应而水平降低。低白蛋白血症与营养不良、毛细血管渗漏及免疫抑制相关，可能加重肺水肿，并增加并发症的风险，如脓毒症或延长住院时间^[30]。Bcl-2 作为抗凋亡蛋白，主要调控免疫细胞（如 T 淋巴细胞和巨噬细胞）的存活，通过抑制细胞凋亡信号维持免疫细胞的功能。在肺炎进程中，Bcl-2 表达上调可能保护免疫细胞免受过度凋亡，从而维持有效的宿主防御；其活性失调也可能导致慢性炎症或免疫耐受^[31]。本研究利用补骨脂二氢黄酮甲醚作用于 LPS 诱导的 A549 肺炎细胞模型，并通过 qRT-PCR 检测了上述

靶点的表达变化，结果显示药物能有效抑制 TNF、IL-1 β 这类促炎相关靶点，并有效上调 ALB、Bcl-2 这类维持免疫细胞功能的靶点。综上所述，TNF、IL-6、IL-1 β 、Akt1、ALB、Bcl-2 作为补骨脂二氢黄酮甲醚治疗肺炎的潜在靶点，揭示了肺炎的分子基础，为生物标志物的开发和个性化治疗提供了新的研究方向。

GO 富集分析结果显示，补骨脂二氢黄酮甲醚干预肺炎的靶点影响多种 BP，如对类固醇激素反应、脂多糖反应，且主要在细胞质参与 BP。研究表明，补骨脂二氢黄酮甲醚能抑制 LPS 诱导的 IL-6 分泌水平，同时抑制 NF- κ B 和 MAPKs 活性，从而发挥抗炎的作用^[32]。为探索补骨脂二氢黄酮甲醚治疗肺炎的相互作用，本研究进行了 KEGG 富集分析。结果提示补骨脂二氢黄酮甲醚主要调节脂质与动脉粥样硬化、PI3K/Akt 与 FoxO 等几个关键信号通路，从而发挥调控细胞增殖、凋亡等方面的药理作用。在肺炎感染初期，病原体相关分子模式（如脂多糖）激活 Toll 样受体后，将 PI3K 被招募至 TLR 信号复合物中，通过 Akt 通路增强 NF- κ B 的活性，进一步放大炎症反应。同时，PI3K/Akt 通路还参与调控巨噬细胞的存活和功能，促进中性粒细胞的募集^[33]。本研究细胞实验结果提示，补骨脂二氢黄酮甲醚能缓解炎症模型抑制的细胞活力，抑制炎症模型迁移能力，还能下调关键通路蛋白的表达，并且能下调炎症模型引起的炎症因子含量。这些结果均在提示补骨脂二氢黄酮甲醚治疗肺炎的作用机制可能通过 PI3K/Akt 信号通路介导调控炎症反应。

为进一步验证网络药理学分析的结果，本研究采用了分子对接和分子动力学模拟技术，以评估补骨脂二氢黄酮甲醚与核心靶点之间的结合能及其稳定性。分子对接结果显示，补骨脂二氢黄酮甲醚与核心靶点的结合能均 < -5.0 kcal/mol，表明该药物与靶点之间具有良好的结合性能。提示补骨脂二氢黄酮甲醚可能通过 Akt1、TNF 等靶点发挥其治疗肺炎的作用。鉴于补骨脂二氢黄酮甲醚与 Akt1 的具有最低结合能，本研究选择该复合物进行分子动力学模拟。基于 RMSD、RMSF、RG、SASA 的分析结果显示，补骨脂二氢黄酮甲醚与 Akt1 之间存在较高的结合亲和力，且复合物的结构稳定且致密。上述发现表明，在静态和动态的分子层面上，补骨脂二氢黄酮甲醚 - Akt1 作为一种具有显著抑制活性的高生物活性化合物，为补骨脂二氢黄酮甲

醚治疗肺炎提供了坚实的理论基础。

综上所述,本研究探究了补骨脂二氢黄酮甲醚通过调控 PI3K/Akt 信号轴进而影响 LPS 诱导的肺炎模型的保护作用。本研究筛选出了多个靶点,并基于这些靶点构建“药物-靶点-疾病”网络,从而为靶向治疗策略的制定提供了新的思路。此外,分子对接和分子动力学模拟结果显示了补骨脂二氢黄酮甲醚与核心靶点的强结合能力,体外细胞实验进一步验证了其在肺炎治疗中的应用潜力。这些发现不仅为肺炎的药物开发提供了新的方向,而且为个体化治疗奠定了基础。未来的研究应进一步探讨补骨脂二氢黄酮甲醚在体内实验中的生物学功能,并结合临床数据进行有效验证,以推动肺炎的治疗策略进展。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Reynolds J H, McDonald G, Alton H, et al. Pneumonia in the immunocompetent patient [J]. *Br J Radiol*, 2010, 83(996): 998-1009.
- [2] 罗成, 叶远航, 盛国光, 等. 肺炎相关信号通路及中医药治疗的研究进展 [J]. *世界中医药*, 2023, 18(12): 1778-1783.
- [3] Lee K Y, Youn Y S, Lee J W, et al. Mycoplasma pneumoniae pneumonia, bacterial pneumonia and viral pneumonia [J]. *J Pediatr*, 2010, 86(6): 448-450.
- [4] 王龙, 王广军, 梁群. 重症肺炎发病机制及中西医治疗研究进展 [J]. *长春中医药大学学报*, 2023, 39(11): 1275-1279.
- [5] Chen N S, Zhou M, Dong X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: A descriptive study [J]. *Lancet*, 2020, 395(10223): 507-513.
- [6] 李世华, 王育学. 龚廷贤医学全书 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2015: 364-365.
- [7] Xu Q Q, Yu D D, Fan X D, et al. Chinese medicine for treatment of COVID-19: A review of potential pharmacological components and mechanisms [J]. *Chin J Integr Med*, 2025, 31(1): 83-95.
- [8] 胡琳丽, 张欣, 华隽. 中医药在疾病预防、治疗、康复中的独特优势 [J]. *中医药管理杂志*, 2021, 29(20): 238-239.
- [9] 中国药典 [S]. 一部. 2025: 202.
- [10] 王静宜, 吕明月, 殷佳, 等. 补骨脂炮制历史沿革和机制研究进展及质量标志物 (Q-Marker) 预测 [J]. *中草药*, 2023, 54(17): 5759-5772.
- [11] Chen Q H, Li Y, Chen Z L. Separation, identification, and quantification of active constituents in *Fructus Psoraleae* by high-performance liquid chromatography with UV, ion trap mass spectrometry, and electrochemical detection [J]. *J Pharm Anal*, 2012, 2(2): 143-151.
- [12] Chen X, Yang Y, Zhang Y. Isobavachalcone and bavachinin from *Psoraleae Fructus* modulate A β 42 aggregation process through different mechanisms *in vitro* [J]. *FEBS Lett*, 2013, 587(18): 2930-2935.
- [13] Hung S Y, Lin S C, Wang S Z, et al. Bavachinin induces G2/M cell cycle arrest and apoptosis via the ATM/ATR signaling pathway in human small cell lung cancer and shows an antitumor effect in the xenograft model [J]. *J Agric Food Chem*, 2021, 69(22): 6260-6270.
- [14] Matsuda H, Kiyohara S, Sugimoto S, et al. Bioactive constituents from Chinese natural medicines. XXXIII. Inhibitors from the seeds of *Psoralea corylifolia* on production of nitric oxide in lipopolysaccharide-activated macrophages [J]. *Biol Pharm Bull*, 2009, 32(1): 147-149.
- [15] Nepal M, Choi H J, Choi B Y, et al. Anti-angiogenic and anti-tumor activity of bavachinin by targeting hypoxia-inducible factor-1 α [J]. *Eur J Pharmacol*, 2012, 691(1-3): 28-37.
- [16] Chen X, Wen T, Wei J, et al. Treatment of allergic inflammation and hyperresponsiveness by a simple compound, bavachinin, isolated from Chinese herbs [J]. *Cell Mol Immunol*, 2013, 10(6): 497-505.
- [17] 廖韵诺, 赵凯丽, 郭宏伟. 中药网络药理学的应用与挑战 [J]. *中草药*, 2024, 55(12): 4204-4213.
- [18] Zhao W B, Wang B Y, Li S, et al. Network pharmacology for traditional Chinese medicine in era of artificial intelligence [J]. *Chin Herb Med*, 2024, 16(4): 558-560.
- [19] Hsin K Y, Ghosh S, Kitano H. Combining machine learning systems and multiple docking simulation packages to improve docking prediction reliability for network pharmacology [J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e83922.
- [20] Choby B A, Hunter P. Respiratory infections: Community-acquired pneumonia [J]. *FP Essent*, 2015, 429: 11-21.
- [21] Weiterer S, Störzinger D, Bernhard M, et al. Antibiotikatherapie der nosokomialen pneumonie [J]. *Anaesthesist*, 2011, 60(3): 269-281.
- [22] Akhter N, Wilson A, Arefanian H, et al. Endoplasmic reticulum stress promotes the expression of TNF- α in THP-1 cells by mechanisms involving ROS/CHOP/HIF-1 α and MAPK/NF- κ B pathways [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(20): 15186.

- [23] Montazersaheb S, Hosseiniyan Khatibi S M, Hejazi M S, *et al.* COVID-19 infection: An overview on cytokine storm and related interventions [J]. *Virologia*, 2022, 19(1): 92.
- [24] Schultheiß C, Willscher E, Paschold L, *et al.* The IL-1 β , IL-6, and TNF cytokine triad is associated with post-acute sequelae of COVID-19 [J]. *Cell Rep Med*, 2022, 3(6): 100663.
- [25] Paats M S, Bergen I M, Hanselaar W E, *et al.* Local and systemic cytokine profiles in nonsevere and severe community-acquired pneumonia [J]. *Eur Respir J*, 2013, 41(6): 1378-1385.
- [26] Habanjar O, Bingula R, Decombat C, *et al.* Crosstalk of inflammatory cytokines within the breast tumor microenvironment [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(4): 4002.
- [27] Siddika T, Shao R, Heinemann I U, *et al.* Delivery of AKT1 phospho-forms to human cells reveals differential substrate selectivity [J]. *IUBMB Life*, 2024, 76(9): 632-646.
- [28] Wu Z W, Mehrabi Nasab E, Arora P, *et al.* Study effect of probiotics and prebiotics on treatment of OVA-LPS-induced of allergic asthma inflammation and pneumonia by regulating the TLR4/NF- κ B signaling pathway [J]. *J Transl Med*, 2022, 20(1): 130.
- [29] Liu G W, Bi Y J, Wang R N, *et al.* Kinase AKT1 negatively controls neutrophil recruitment and function in mice [J]. *J Immunol*, 2013, 191(5): 2680-2690.
- [30] Zhao J J, Wang J Y, Wei B, *et al.* Exploration of the clinical parameters as predictive biomarkers and their potential roles in the regulation of inflammation in elderly septic patients with pneumonia [J]. *J Inflamm Res*, 2025, 18: 7369-7380.
- [31] Shaukat A, Hanif S, Shaukat I, *et al.* Upregulated-gene expression of pro-inflammatory cytokines, oxidative stress and apoptotic markers through inflammatory, oxidative and apoptosis mediated signaling pathways in Bovine Pneumonia [J]. *Microb Pathog*, 2021, 155: 104935.
- [32] Chen T, Dong L, Wu Y, *et al.* Bavachinin alleviates allergic rhinitis by modulating gut microbiota and inhibiting NLRP3-mediated epithelial pyroptosis through PI3K/AKT/NF- κ B signaling pathway [J]. *Cell Signal*, 2025, 135: 112026.
- [33] Gu M D, Pang Z. Luteolin inhibits inflammation and M1 macrophage polarization in the treatment of *Pseudomonas aeruginosa*-induced acute pneumonia through suppressing EGFR/PI3K/AKT/NF- κ B and EGFR/ERK/AP-1 signaling pathways [J]. *Phytomedicine*, 2025, 141: 156663.

[责任编辑 高源]