

【实验研究】

基于网络药理学和实验验证探讨升降散治疗急性肺损伤作用及机制

杨静容, 翁丽丽, 方 晶, 肖春萍, 侯晓琳*

长春中医药大学 药学院, 吉林 长春 130117

摘要: **目的** 基于网络药理学和动物实验探究升降散治疗急性肺损伤 (ALI) 的作用机制。**方法** 在中药系统药理学分析平台数据库 (TCMSP) 和 Swiss Target Prediction 数据库中检索升降散的成分及靶点, 在基因数据库 (Gene Cards) 中检索 ALI 的疾病靶点。将药物与疾病交集靶点上传至 STRING 数据平台进行蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 分析, 运用 DAVID 网站进行基因本体 (GO) 富集分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路分析。体内实验, 除对照组外, 升降散各给药组分别 ig 给药 20 mL·kg⁻¹ 药液 (散剂、水煎液高、低剂量分别为 175、350 mg·kg⁻¹), 每天早晚各 1 次, 共连续给药 14 d; 地塞米松组第 12 天开始 ip 地塞米松 (5 mg·kg⁻¹), 连续给药 3 d; 除对照组外, 其余各组第 15 天分别向气管内滴注 1 mg·mL⁻¹ 脂多糖 (5 mg·kg⁻¹) 进行造模, 观察肺组织病理损伤情况, ELISA 法检测白细胞介素-6 (IL-6)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 水平, 实时荧光半定量聚合酶链式反应 (qRT-PCR) 法检测 Toll 样受体 4 (TLR4)、磷酸化-丝裂原活化蛋白激酶 p38 (p38-MAPK)、细胞外调节蛋白激酶 (ERK)、c-Jun 氨基末端激酶 (JNK-1) mRNA 表达量, Western blotting 法检测核因子 κ B (NF- κ B) 和人核因子 κ B 抑制蛋白 α (I κ B α) 表达量。**结果** 网络药理学预测出升降散活性成分 32 个, 关键靶点 292 个, ALI 疾病靶点有 1 454 个, 两者交集靶点 95 个; 升降散治疗 ALI 的关键靶点主要参与 NF- κ B、MAPK 等信号通路。通过 ALI 小鼠模型实验结果显示, 升降散能够显著减轻 ALI 小鼠肺部组织炎症, 改善肺泡间隔及肺泡壁增厚程度; 降低血清中炎症因子 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 的水平 ($P < 0.05$ 、 0.01); 下调 TLR4、p38-MAPK、ERK、JNK-1 mRNA 的表达量 ($P < 0.05$ 、 0.01); Western blotting 结果表明升降散可通过抑制 NF- κ B 蛋白磷酸化水平 ($P < 0.01$), 激活 I κ B α 蛋白 ($P < 0.01$), 缓解 ALI。**结论** 升降散能够基于多成分、多靶点、多通路的特点相互协同治疗 ALI, 其机制可能与 NF- κ B、MAPK 等信号通路有关, 且散剂治疗 ALI 的作用优于水煎液。

关键词: 升降散; 急性肺损伤; 网络药理学; NF- κ B 信号通路; 散剂; 水煎液**中图分类号:** R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2024) 04-0687-14**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.04.003

To explore effect and mechanism of Shengjiang Powder in treatment of acute lung injury based on network pharmacology and experimental verification

YANG Jingrong, WENG Lili, FANG Jing, XIAO Chunping, HOU Xiaolin

School of Pharmaceutical Sciences, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China

Abstract: Objective To explore the mechanism of Shengjiang Powder in the treatment of acute lung injury (ALI) based on network pharmacology and animal experiments. **Methods** The components and targets of Shengjiang Powder were searched in Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Analysis Platform Database (TCMSP) and Swiss Target Prediction Database, and the disease targets of ALI were searched in Gene Cards Database. The drug-disease intersection targets were uploaded to the STRING data platform for protein interaction analysis. Gene ontology (GO) enrichment analysis and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway analysis were performed using the DAVID website. In order to further explore the effect of Shengjiang Powder on ALI, a mouse ALI model was established to observe the pathological damage of lung tissue. In addition to the control group, each administration group of Shengjiang Powder was ig administered with 20 mL·kg⁻¹ drug solution (the doses of powder, water decoction and its high and low dose groups were 175 and 350 mg·kg⁻¹, respectively, once a day in the morning and evening, for a total of 14 days). On the 12 th day, dexamethasone (5 mg·kg⁻¹) was injected intraperitoneally for three days. On the 15th day, 1 mg·mL⁻¹ lipopolysaccharide (5 mg·kg⁻¹) was instilled into the trachea for modeling. The levels of interleukin 6 (IL-6),

收稿日期: 2023-12-28**基金项目:** 中医药事业传承发展资金支持项目 (吉中医药发[2021]11号)**第一作者:** 杨静容(2000—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药品质鉴定、质量标准及其开发利用。E-mail: 764003912@qq.com***通信作者:** 侯晓琳(1987—), 女, 硕士, 实验师, 从事中药化学与资源开发研究。E-mail: 278526400@qq.com

interleukin 1 β (IL-1 β) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were detected by ELISA. The mRNA expressions of Toll-like receptor 4 (TLR4), phosphorylated-mitogen-activated protein kinase p38 (p38-MAPK), extracellular regulated protein kinases (ERK), c-Jun N-terminal kinase (JNK-1) were detected by RT-PCR. Protein expressions of nuclear factor kappa B (NF- κ B) and human nuclear factor κ B inhibitory protein α (I κ B α) were detected by Western blotting. **Results** It was predicted that there were 32 active components, 292 key targets, 1 454 ALI disease targets and 95 intersection targets of Shengjiang Powder and ALI. The key targets of Shengjiang Powder in the treatment of ALI were mainly involved in NF- κ B, MAPK and other signaling pathways. The results of ALI mouse model showed that Shengjiang Powder could significantly reduce the inflammation of lung tissue in ALI mice and improve the thickening of alveolar septum and alveolar wall. Shengjiang Powder could reduce the content of inflammatory factors IL-6, IL-1 β and TNF- α in serum. The expression of TLR4, p38-MAPK, ERK and JNK-1 mRNA was down-regulated. Western blotting results showed that Shengjiang Powder could activate I κ B α protein and alleviate ALI by inhibiting the phosphorylation level of NF- κ B protein. **Conclusion** Shengjiang Powder can synergistically treat ALI based on the characteristics of multi-component, multi-target and multi-pathway. The mechanism may be related to NF- κ B, MAPK and other signaling pathways, and the effect of Shengjiang Powder on ALI is better than that of water extract.

Key words: Shengjiang Powder; acute lung injury; network pharmacology; NF- κ B signaling pathway; powder; water decoction

升降散首见于杨璩的《伤寒温疫条辨》，由大黄、僵蚕、蝉蜕、姜黄4味药组成^[1]，主要功效为升清降浊、散风清热，是治疗瘟疫十五方之首^[2]。现代研究表明，升降散对呼吸、消化、代谢及内分泌系统疾病的治疗均有良好作用^[3-7]，可显著降低血清炎症因子水平，治疗痰热壅肺型重症肺炎^[8]。急性肺损伤(ALI)是指急性呼吸衰竭的临床症状，具有较高的发病率和死亡率^[9]，在其发展过程中，激活了肺组织中的中性粒细胞、巨噬细胞等，释放出大量致炎因子，并破坏了上皮-血管间的屏障结构^[10]。因此，抑制炎症因子的过度释放及修复屏障结构的完整性为治疗ALI的主要方向。研究发现，治疗ALI的作用机制可能与调控核因子- κ B(NF- κ B)、Toll样受体4(TLR4)及丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)等通路有关^[11-13]。有研究表明升降散对流感病毒FM1感染小鼠有良好治疗效果^[14]，并发现升降散中存在可以有效保护肺部功能的抗炎、抗菌、抗病毒类活性成分^[15]。

网络药理学在人工智能和大数据的时代下发展迅速，针对药物与疾病进行相关性研究，为发现药物作用机制及新药研发等提供新的技术支持^[16]，近年来越来越广泛应用于中药复方制剂的物质基础和作用机制研究中^[17]。本研究基于网络药理学筛选升降散治疗ALI的作用通路，并采用气管内滴注脂多糖(LPS)方法制备小鼠ALI模型^[18-21]，并给予升降散散剂及水煎液进行干预，旨在探讨升降散治疗ALI作用及机制，为升降散的临床应用提供理论依据。

1 材料

1.1 药品

升降散散剂(大黄总蒽醌质量分数为1.59%，批号：20211201，购于长春中医药大学创新实践中心

药厂)；僵蚕为蚕蛾科昆虫家蚕 *Bombyx mori* Linnaeus 4~5龄的幼虫感染(或人工接种)白僵菌 *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillant 而致死的干燥体；蝉蜕为蝉科昆虫黑蚱 *Cryptotympana pustulata* Fabricius 的若虫羽化时脱落的皮壳；姜黄为姜科植物姜黄 *Curcuma longa* L. 的干燥根茎；大黄为蓼科植物药用大黄 *Rheum officinale* Baill. 的干燥根和根茎，药材均购于吉林省北药药材加工有限公司，均经长春中医药大学翁丽丽教授鉴定为正品，按《中国药典》2020年版检测均合格。酒僵蚕参考宋代《小儿药证直决》^[22]首次记载酒僵蚕：“酒浸，炒黄”。经文献与古籍考证，参照《中华本草》^[23]、《中药大辞典》^[24]及《中国药典》2020年版四部(炮制通则0213)，首先通过单因素试验考察炮制加酒量，以浸出物作为考察指标；其次通过L₉(34)正交试验优选酒僵蚕炮制最佳工艺，以闷润时间、炒制时间、炒制温度为3个因素，以酒僵蚕外观性状评分、浸出物含量及蛋白质含量为考察指标，运用多指标综合加权评分法进行最终评价，得酒僵蚕炮制工艺：酒僵蚕饮片100 g加入12 g黄酒拌匀，闷润45 min，在120℃下炒制25 min，炒黄，取出晾干。并按照上述工艺炮制酒僵蚕饮片，所得饮片符合《中国药典》2020年版规定。

1.2 试剂

LPS(批号：720P035)由索莱宝生物科技有限公司提供；乌来糖(批号：A24HS192734)由上海源叶生物科技有限公司提供；小鼠白细胞介素1 β (IL-1 β)(批号：MM-0039M1)、小鼠白细胞介素6(IL-6)(批号：MM-0163M1)、小鼠肿瘤坏死因子 α (TNF- α)(批号：MM0132M1)均由江苏酶免实业有限公司提供；

RIPA裂解液(批号:P0013B)由碧云天生物技术有限公司提供; β -actin抗体(批号:20536-1-AP)、兔源I κ B α 多克隆抗体(批号:00095768)、兔源NF- κ B多克隆抗体(批号:00086772)均由武汉三鹰生物技术有限公司提供;兔源磷酸化NF- κ B(p-NF- κ B)多克隆抗体(批号:17)由美国Cell Signaling公司提供。

1.3 动物

SPF级C57BL/6雄性小鼠,体质量(20 ± 2)g,购自辽宁长生生物技术股份有限公司;实验动物生产许可证号为SCXK(辽)2020-0001,实验均遵照《中华人民共和国实验动物管理条例》执行,并已通过长春中医药大学动物伦理委员会批准(批准编号:2022557)。

2 方法

2.1 升降散治疗ALI的网络药理学分析

2.1.1 升降散活性成分及其点的筛选 运用中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP, <http://tcmbspw.com/tcmssp.php>),筛选大黄、姜黄中口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$ 和类药性(DL) ≥ 0.18 的有效成分。在中国科学院化学数据库(www.organchem.csdb.cn)项下的“中药与化学成分数据库”中检索僵蚕、蝉蜕的活性成分,合并以上数据库得到的活性成分及对应靶点,再通过Uniprot数据库(<https://www.uniprot.org/>)将靶蛋白标准化。

2.1.2 升降散治疗ALI的靶点预测 使用GeneCards数据库(<https://www.genecards.org/>)获取ALI相关疾病靶点,检索词为“acute lung injury”,筛选条件为Relevance Scores ≥ 10 ;使用Venny2.1.0软件(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny>),对成分与疾病靶点取交集,所得即为升降散治疗ALI的潜在靶点。

2.1.3 蛋白质-蛋白质互作网络(PPI)的构建及关键靶点的筛选 在STRING数据库(<https://cn.string-db.org/>)导入升降散治疗ALI的潜在靶点,得到PPI文件,导入到Cytoscape 3.7.2软件中,按度值大小对靶点进行排序。

2.1.4 基因本体(GO)注释及京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析 利用DAVID网站(<https://david.ncifcrf.gov/>),对“2.1.3”项下获得的蛋白信息进行汇总,进行GO和KEGG富集分析,得到具有显著差异($P < 0.01$)的富集和通路,借助微生物信平台(<http://www.bioinformatics.com.cn>)绘制GO和KEGG气泡图。

2.2 升降散散剂和水煎液对ALI模型小鼠的影响

2.2.1 升降散散剂和水煎液的制备 取升降散散剂,加入0.5%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)溶液适量,制备成8.75、17.50 mg $\cdot$ mL $^{-1}$ 的低、高质量浓度的混悬药液。升降散水煎液的制备:按升降散处方称取僵蚕(酒炒)7.46 g、蝉蜕3.73 g、姜黄1.119 g、大黄14.92 g,加12倍水经煎煮、浓缩、滤过等处理,制成每毫升含原药材0.7 g的水煎液,再制成8.75、17.50 mg $\cdot$ mL $^{-1}$ 的低、高质量浓度的水煎液(其中大黄总蒽醌质量分数为1.42%)。

2.2.2 造模与分组 将70只C57BL/6小鼠随机分为对照组,模型组,地塞米松(阳性对照)组,升降散散剂(简称散剂)低、高剂量(175、350 mg $\cdot$ kg $^{-1}$)组,升降散水煎液(简称水煎液)低、高剂量(175、350 mg $\cdot$ kg $^{-1}$)组,共7组,每组10只。适应性喂养3 d后,对照组与模型组ig等体积的0.5% CMC-Na溶液,散剂低、高剂量组,水煎液低、高剂量组分别ig给药20 mL $\cdot$ kg $^{-1}$ 药液,每天早晚各1次,共连续给药14 d,地塞米松组第12天开始ip地塞米松(5 mg $\cdot$ kg $^{-1}$),连续给药3 d。第15天采用20%乌来糖(0.05 g $\cdot$ kg $^{-1}$)麻醉后,对照组给予等体积生理盐水,其余组分别向气管内滴注1 mg $\cdot$ mL $^{-1}$ LPS(5 mg $\cdot$ kg $^{-1}$ [25-26])进行造模,记录体质量。造模6 h内,每2小时观察动物状态1次,18 h后再记录1次体质量。

2.2.3 一般体征观察 观察造模前后各组小鼠体质量变化、精神状态、毛发情况、自由活动度、呼吸频率、肺部是否有喘鸣音、口眼分泌物是否增多等。

2.2.4 肺湿质量指数测定 造模后18 h记录小鼠体质量,ip 20%乌来糖麻醉,暴露胸腔,取小鼠全肺,去除残存的支气管和结缔组织,滤纸吸干水分后称重记录,计算肺湿质量指数。

肺湿质量指数=全肺湿质量/造模18 h后体质量

2.2.5 苏木精-伊红(HE)染色观察肺组织病理改变 每组随机取6只小鼠ip 20%乌来糖麻醉,将小鼠左肺组织置于4%多聚甲醛溶液,选取左肺上叶,石蜡包埋横切,切片厚度为4~6 μ m,HE染色观察肺组织病理改变情况。采用美国胸科协会(ATS)病理评分系统[20]对肺组织病理学变化进行评分,评分标准见表1。

2.2.6 血清中炎症因子水平检测 小鼠ip 20%乌来糖麻醉后,眼球取血,将全血于4 $^{\circ}$ C放置24 h,3 000 r $\cdot$ min $^{-1}$ 离心15 min,取上清,-80 $^{\circ}$ C冻存,用ELISA法检测血清IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平。

2.2.7 肺组织Toll样受体4(TLR4)、细胞外信号调

表1 ATS对ALI的病理评分系统

Table 1 Pathological scoring system of ALI by ATS

参数	每个视野的得分标准		
	0	1	2
A-肺泡腔内中性粒细胞数	无	1~5个	>5个
B-肺间质内中性粒细胞数	无	1~5个	>5个
C-透明膜形成	无	1个	>1个
D-肺泡腔中填充蛋白质碎片的数量	无	1个	>1个
E-肺泡间隔增厚的程度	<2X	2X~4X	>4X

总分 = (20×A+14×B+7×C+7×D+2×E)/视野数×100;
X表示程度(增厚肺泡间隔的个数), <2X为不增厚, 2X~4X为轻度增厚(+), >4X为中度增厚(++).

Total score = (20 × A + 14 × B + 7 × C + 7 × D + 2 × E) / visual field × 100; 'X' was used to represent the degree (number of thickened alveolar septa), < 2X is not thickened, 2X-4X were mild thickening (+), and > 4X was moderately thickened (++) .

节激酶(ERK)、c-Jun氨基末端激酶(JNK-1)、p38丝裂原活化蛋白激酶(p38-MAPK)mRNA表达检测取少量肺组织,置于含有液氮的研钵中,注入裂解液,按照说明书提取总RNA。反转录反应:采用TB Green qPCR法进行反转录cDNA,按说明书操作,得到反转录产物cDNA,置于-80℃保存。实时荧光半定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,见表2。

使用QuantStudioTM 5型实时荧光定量聚合酶链式反应仪对目的基因进行扩增,以GAPDH为内参,反应结束后使用QuantStudio™ Design & Analysis Software进行分析,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法,根据 C_t 值计算目的基因的相对表达量。

2.2.8 Western blotting 检测肺组织 IκBα、NF-κB 和 p-NF-κB 蛋白表达 参考文献报道方法^[27],按以下步骤进行。取肺组织,研磨均匀,在冰上静置30 min

使其充分裂解,于4℃条件下以12 000 r·min⁻¹离心15 min,取上清液,采用BCA法测定蛋白浓度。将定量后的蛋白质与5×蛋白质上样缓冲液混合,95℃变性10 min后,-20℃保存。蛋白经煮沸变性后,将蛋白转移至PVDF膜;以5%脱脂奶粉封闭1.5 h,漂洗后再加入IκBα、NF-κB、p-NF-κB、β-actin一抗(稀释度均为1:1 000),室温孵育2.5 h;PBST洗膜3次,每次15 min,加入二抗(稀释度为1:6 000),室温孵育1 h;PBST洗膜3次,每次15 min,加入ECL化学发光试剂,采用全自动化学发光成像分析仪成像。采用Image J 6.0软件进行分析,对结果(3次平行)进行整理和统计学分析,以目标蛋白与内参的灰度值比值表示目标蛋白的表达水平。

2.2.9 统计学方法 采用SPSS 21.0进行统计分析,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析(ANOVA)。利用GraphPad Prism 8.0和Adobe Illustrator绘图。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 网络药理学结果

3.1.1 升降散的活性成分及其靶点 通过TCMSP平台,以OB≥30%和DL≥0.18为筛选条件,筛选出升降散中姜黄活性成分3个、大黄活性成分16个,结果见表3。通过中国科学院化学数据库查询升降散中僵蚕、蝉蜕活性成分,根据Lipinski规则^[28],通过SwissADME数据库筛选活性成分,口服药物筛选条件应满足3个及以上,即氢键受体≤5,氢键给体≤10,可旋转的氢键≤10,脂水分配系数lg P_{ow} ≤5,类药性分析结果见表4,得到僵蚕活性成分15个、蝉蜕活性成分18个。

经过TCMSP数据库、Swiss Target Prediction预测,共获取活性成分关键靶点292个,其中僵蚕、蝉

表2 qRT-PCR引物序列及扩增长度

Table 2 qRT-PCR primer sequence and amplification length

引物名称	引物序列	引物长度/bp
TLR4	上游:5'-AGGCAGCAGGTGGAATTGTA-3'	174
	下游:5'-GGTCCAAGTTGCCGTTTCTT-3'	
ERK	上游:5'-CCAACAGGCCTATCTTCCCA-3'	165
	下游:5'-ACCTGTTCCATGGCACCTTA-3'	
JNK-1	上游:5'-TGAGCTTCTCTGTACTGGCG-3'	124
	下游:5'-TACTGTGTACGCCATGCTG-3'	
p38-MAPK	上游:5'-CACACTGCTGCTTCCTCACT-3'	122
	下游:5'-TGTCGGTGATGTCAGATGGC-3'	
GAPDH	上游:5'-TGTGTCCGTCGTGGATCTGA-3'	150
	下游:5'-TTGCTGTTGAAGTCGCAGGAG-3'	

表 3 姜黄和大黄活性成分
Table 3 Active ingredients of *Curcumae Longae Rhizoma* and *Rhei Radix et Rhizoma*

药物	编号	化合物	OB/%	DL
姜黄	MOL000493	菜油甾醇(campesterol)	37.58	0.71
	MOL000953	胆甾醇(CLR)	37.87	0.68
	MOL000449	豆甾醇(stigmasterol)	43.83	0.76
大黄	MOL002235	泽兰黄醇(eupatin)	50.80	0.41
	MOL002251	柠黄质(mutatochrome)	48.64	0.61
	MOL002259	大黄素甲醚-8-O-β-龙胆二糖苷(physcion diglucoside)	41.65	0.63
	MOL002260	原花青素-B-5,3'-O没食子酸酯(procyanidin B-5,3'-O-gallate)	31.99	0.32
	MOL002268	大黄酸(rhein)	47.07	0.28
	MOL002276	番石榴苷E(sennoside E_qt)	50.69	0.61
	MOL002280	决明素乙醚-8-O-β-D-(6'-O-草酰)葡萄糖苷[torachrysone-8-O-beta-D-(6'-O-oxayl)-glucoside]	43.02	0.74
	MOL002281	决明内酯(toralactone)	46.46	0.24
	MOL002288	大黄素-8-β-D-葡萄糖苷(emodin-1-O-beta-D-glucopyranoside)	44.81	0.80
	MOL002293	番泻苷D(sennoside D_qt)	61.06	0.61
	MOL002297	大黄素-8-β-D-吡喃(daucosterol_qt)	35.89	0.70
	MOL002303	掌叶大黄二蒽酮A(palmidin A)	32.45	0.65
	MOL000358	β-谷甾醇(β-sitosterol)	36.91	0.75
	MOL000471	芦荟大黄素(aloe-emodin)	83.38	0.24
	MOL000554	没食子酸-3-O-(6'-O-没食子酰)葡萄糖苷[gallic acid-3-O-(6'-O-galloyl)-glucoside]	30.25	0.67
	MOL000096	(-)-儿茶素[(-)-catechin]	49.68	0.24

蛻、姜黄、大黄中活性成分的个数分别为7、15、3、7，僵蚕与蝉蛻均有的成分3个，活性成分和靶点数目见表5。

3.1.2 升降散治疗 ALI 的潜在靶点 通过 Gene Cards 数据库得到 1 454 个 ALI 相关疾病靶点。将 ALI 相关靶点与升降散中活性成分 292 个靶点进行交互，共得升降散治疗 ALI 的潜在靶点 95 个。韦恩图见图 1。

3.1.3 活性成分-关键靶点-疾病网络 将数据集导入 Cytoscape 3.7.2 可视化，获得活性成分-ALI-靶点网络，如图 2 所示，网络图直观地展示了 4 种药物与其化学成分和治疗 ALI 作用靶点之间的关系。

3.1.4 PPI 及关键靶点 构建的 PPI 网络见图 3。经 Cytoscape 3.7.2 软件拓扑分析，按度(degree)值大小排列。排名较高的靶点主要为肿瘤坏死因子(TNF)、IL-1β 及丝裂原活化蛋白激酶 3(MAPK3)等炎症及细胞内传递因子等，见表 6。

3.1.5 关键靶点 GO 富集分析 筛选后得到 95 个交集靶点，应用 DAVID 数据库，得到 GO 条目，包含生物过程(BP)条目 273 个，细胞组成(CC)条目 42 个，以及分子功能(MF)条目 59 个，分别占 73.0%、11.2%、15.8%。根据 P 值由小到大排序，取前 10 条

富集，可视化分析见图 4。BP 主要集中在凋亡、迁移、对脂多糖的反应及 ERK 级联反应等通路；CC 主要涉及大分子复合物、膜筏、细胞外空间、质膜、胞外区及细胞质等；MF 主要涉及酶结合、肽酶活性、跨膜受体蛋白酪氨酸激酶活性等。

3.1.6 关键靶点 KEGG 通路分析 利用 DAVID 数据库对获得的 95 个核心靶点进行 KEGG 通路富集分析，P 值越小，显著性越强。根据 P 值由小到大排序和关键靶点综合排序，共得到 120 条相关通路。选取前 20 条通路进行可视化分析，见图 5。主要包括 NF-κB、MAPK、TNF 等炎症、细胞增殖信号通路。

3.2 动物实验验证结果

3.2.1 小鼠一般状态观察 与对照组比较，模型组小鼠精神状态较差、活跃度低、自主活动少、呼吸频率显著增加，呼吸困难，肺部有喘鸣音，眼角分泌物增多。与模型组比较，地塞米松组小鼠症状改善，接近对照组小鼠状态；散剂高剂量组、水煎液高剂量组小鼠较模型组状态有明显改善，自主活动增多，但没有地塞米松组和对照组小鼠活泼，且眼角分泌物稍多。

3.2.2 肺湿质量指数 结果(图 6)显示，与对照组

表4 僵蚕和蝉蜕活性成分

Table 4 Active components of *Bombyx Batryticatus* and *Cicadae Periostracum*

药物	化合物	CAS号	氢键受体	氢键给体	可旋转的氢键	lgP _{ow}	Lipinski
僵蚕	天冬氨酸(aspartic acid)	6899-03-2	5	3	3	-2.05	Yes
	白僵菌环三肽(beauverolide A)	75920-37-5	5	3	10	4.22	Yes
	白僵菌环四肽(bassianin)	54278-73-8	5	3	7	3.83	Yes
	亮氨酸(leucine)	61-90-5	3	2	3	-0.38	Yes
	3-羟基犬尿氨酸(3-hydroxykynurenine)	484-78-6	5	4	4	-1.04	Yes
	棕榈油酸(palmitoleic acid)	373-49-9	2	1	13	4.92	Yes
	棕榈酰胺(palmitamide)	629-54-9	1	1	14	4.83	Yes
	赖氨酸(lysine)	56-87-1	4	3	5	-1.19	Yes
	白僵菌环三肽D(beauverolide D)	75899-63-7	5	3	8	3.60	Yes
	白僵菌环三肽E(beauverolide E)	75947-01-2	5	3	9	3.57	Yes
	白僵菌环三肽Ea(beauverolide Ea)	75899-62-6	5	3	9	3.57	Yes
	白僵菌环三肽F(beauverolide F)	75947-00-1	5	3	10	4.46	Yes
	白僵菌环三肽Fa(beauverolide Fa)	75899-61-5	5	3	10	4.46	Yes
	白僵菌环三肽H(beauverolide H)	62995-90-8	5	3	9	3.45	Yes
	白僵菌环三肽Ja(beauverolide Ja)	76265-41-3	5	4	10	4.48	Yes
蝉蜕	天冬氨酸(aspartic acid)	6899-03-2	5	3	3	-2.05	Yes
	甘氨酸(glycine)	56-40-6	3	2	1	-1.69	Yes
	丙氨酸(alanine)	56-41-7	3	2	1	-1.46	Yes
	β-丙氨酸(β-alanine)	107-95-9	3	2	2	-0.97	Yes
	甲硫氨酸(methionine)	59-51-8	3	2	4	-0.58	Yes
	异黄嘌呤(isoxanthopterin)	529-69-1	4	3	0	-0.98	Yes
	鸟氨酸(ornithine)	70-26-8	4	3	4	-1.79	Yes
	丝氨酸(serine)	6898-95-9	4	3	2	-1.97	Yes
	异亮氨酸(isoleucine)	7004-09-3	3	2	3	-0.40	Yes
	苏氨酸(threonine)	72-19-5	4	3	2	-1.67	Yes
	谷氨酸(glutamic acid)	6899-05-4	5	3	4	-1.68	Yes
	苯丙氨酸(phenylalanine)	63-91-2	3	2	3	-0.01	Yes
	亮氨酸(leucine)	61-90-5	3	2	3	-0.38	Yes
	γ-氨基丁酸(γ-aminobutyric acid)	56-12-2	3	2	3	-0.72	Yes
	脯氨酸(proline)	147-85-3	3	2	1	-0.92	Yes
	赖氨酸(lysine)	56-87-1	4	3	5	-1.19	Yes
	酪氨酸(tryosine)	60-18-4	4	3	4	-0.49	Yes
	缬氨酸(valine)	72-18-4	3	2	3	-0.78	Yes

相比,模型组小鼠肺湿质量指数显著升高($P<0.01$),说明造模后出现肺水肿情况;与模型组相比,散剂和水煎液高剂量组、地塞米松组小鼠肺湿质量指数极显著降低($P<0.01$),散剂、水煎液低剂量组显著降低($P<0.05$)。

3.2.3 小鼠肺部组织病理学观察 结果(图7)显示,对照组小鼠肺部结构清晰完整,没有明显渗出物出现于肺泡腔中,肺泡壁光滑;模型组肺组织损

伤严重,有大量炎性细胞出现于肺泡腔中,肺泡间隔和肺泡壁明显增厚,偶见红细胞,部分肺泡腔塌陷。各给药组中,地塞米松组肺组织损伤情况最轻,水肿现象较少出现,炎性浸润程度最轻,肺泡间隔及肺泡壁增厚情况已有明显改善。与模型组比较,散剂、水煎液高剂量组减轻肺组织炎症作用较为明显($P<0.01$),肺泡间隔及肺泡壁增厚的趋势均有所缓解,炎性细胞渗出减少,提示升降散干预下

表 5 活性成分及靶点数目
Table 5 Number of active ingredients and targets

编号	化合物	靶点/ 个	来源
JC1	白僵菌环三肽(beauverolide A)	10	僵蚕
JC2	3-羟基犬尿氨酸(3-hydroxykynurenine)	3	僵蚕
JC3	棕榈油酸(palmitoleic acid)	55	僵蚕
JC4	棕榈酰胺(palmitamide)	12	僵蚕
CT1	丙氨酸(alanine)	1	蝉蜕
CT2	甲硫氨酸(methionine)	18	蝉蜕
CT3	异黄嘌呤(isoxanthopterin)	2	蝉蜕
CT4	鸟氨酸(ornithine)	23	蝉蜕
CT5	异亮氨酸(isoleucine)	28	蝉蜕
CT6	谷氨酸(glutamic acid)	29	蝉蜕
CT7	苯丙氨酸(phenylalanine)	27	蝉蜕
CT8	γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid)	25	蝉蜕
CT9	脯氨酸(proline)	11	蝉蜕
CT10	酪氨酸(tyrosine)	22	蝉蜕
CT11	缬氨酸(valine)	15	蝉蜕
CT12	苏氨酸(threonine)	1	蝉蜕
JH1	菜油甾醇(campesterol)	5	姜黄
JH2	胆甾醇(CLR)	1	姜黄
JH3	豆甾醇(stigmasterol)	10	姜黄
DH1	泽兰黄醇(EUPATIN)	13	大黄
DH2	大黄酸(rhein)	4	大黄
DH3	决明内酯(toralactone)	2	大黄
DH4	大黄素-8- β -D-吡喃(daucosterol_qt)	1	大黄
DH5	β -谷甾醇(β -sitosterol)	28	大黄
DH6	芦荟大黄素(aloe-emodin)	13	大黄
DH7	(-)-儿茶素[(-)-catechin]	3	大黄
G1	天冬氨酸(aspartic acid)	1	僵蚕 蝉蜕
G2	亮氨酸(leucine)	4	僵蚕 蝉蜕
G3	赖氨酸(lysine)	1	僵蚕 蝉蜕

能明显保护肺组织完整,减少损伤几率。肺组织病理学变化评分结果见表 7,与对照组比较,模型组病理损伤得分较高,肺组织损伤严重($P<0.01$);与模型组比较,各给药组肺组织损伤情况均有改善($P<0.01$)。

3.2.4 血清中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平比较 网络药理学结果显示 TNF、IL-1 β 等炎症因子是升降散治疗 ALI 的关键靶点,为进一步探究升降散的药效作用,阐明作用机制,进行相关检测。结果见图 8,与

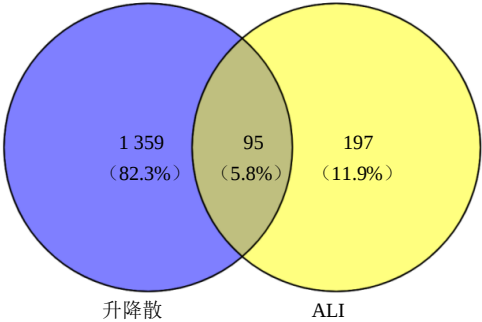
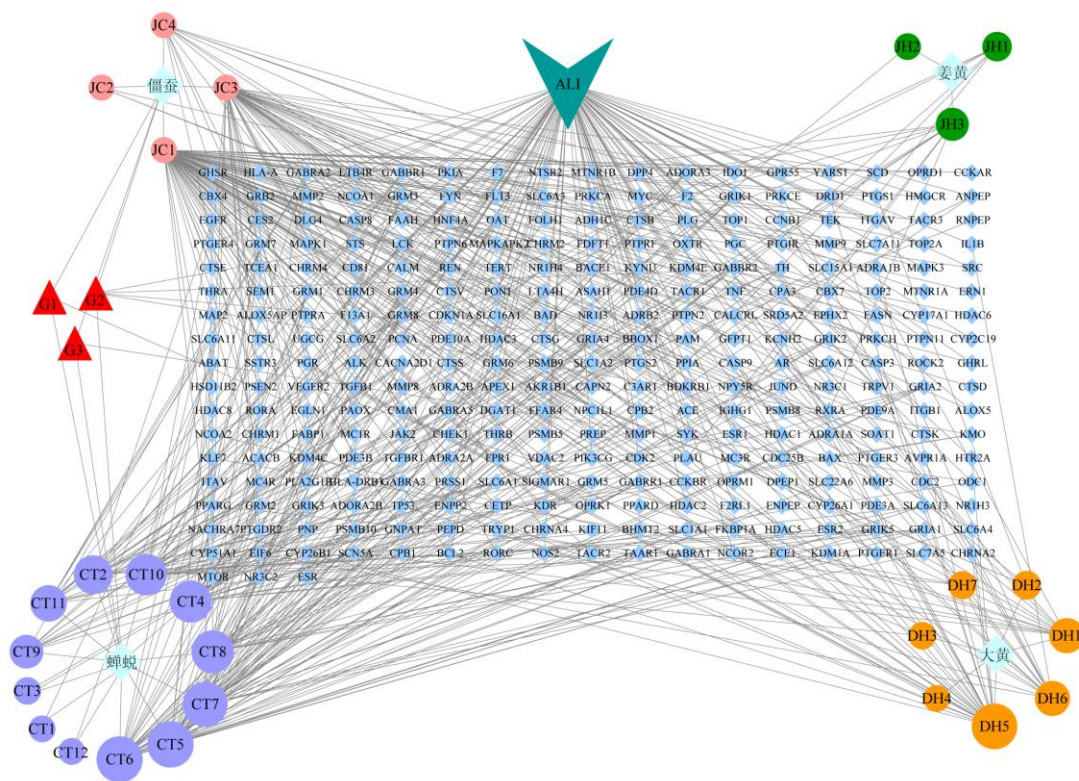


图 1 升降散活性成分靶点-疾病靶点韦恩图
Fig. 1 Venn diagram of active component target-disease target of Shengjiang Powder

对照组相比,模型组小鼠血清中各炎症因子水平均显著上升($P<0.01$);与模型组比较,散剂、水煎液低剂量组中 TNF- α 水平分别降低 11.68%、10.12%($P<0.05$),地塞米松组及散剂、水煎液高剂量组分别降低 20.75%、17.85%、12.17%($P<0.01$);地塞米松组及散剂低和高剂量组、水煎液低和高剂量组,IL-1 β 分别降低 38.16%、15.51%、30.97%、17.45%、30.80%($P<0.01$);散剂、水煎液低剂量组 IL-6 分别降低 5.76%、5.60%($P<0.05$),地塞米松组及散剂、水煎液高剂量组分别降低 19.51%、14.48%、9.73%($P<0.01$)。结果显示,升降散给药后能明显改善炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平,从而抑制肺组织炎症。此外,对于炎症因子水平的改善作用,散剂效果更强。

3.2.5 小鼠肺组织 TLR4、p38-MAPK、ERK、JNK-1 mRNA 表达变化 TLR4、p38-MAPK、ERK 和 JNK-1 等调控炎症因子和细胞凋亡,是关键靶点对应的基因。故在检测小鼠血清中炎症因子的基础上,检测 TLR4、p38-MAPK、ERK 和 JNK-1 mRNA 在小鼠肺组织中的表达水平。结果(图 9)表明,与对照组相比,模型组 TLR4、p38-MAPK、ERK 和 JNK-1 mRNA 表达均显著增加($P<0.01$)。与模型组相比,散剂低剂量组 TLR4、p38-MAPK 和 ERK mRNA 表达显著下降($P<0.05$ 、 0.01),JNK-1 mRNA 无显著变化;水煎液低剂量组 TLR4 和 ERK mRNA 表达显著下降($P<0.05$),p38-MAPK 和 JNK-1 mRNA 无显著变化;地塞米松组、散剂高剂量组 TLR4、p38-MAPK、ERK 和 JNK-1 mRNA 均显著下降($P<0.01$);水煎液高剂量组 TLR4 和 JNK-1 mRNA 表达显著下降($P<0.01$),p38-MAPK 和 ERK mRNA 表达无显著变化。结果表明,升降散预防 ALI 作用机制为下调 TLR4、p38-MAPK、ERK 和 JNK-1 等 mRNA 表达水平,主要集中在凋亡、核内转录因子等通路。



JC-僵蚕; JH-姜黄; CT-蝉蜕; DH-大黄; G-药材共有成分。

JC-*Bombyx Batryticatus*; JH-*Curcuma Longae Rhizoma*; CT-*Cicadae Periostacum*; DH-*Rhei Radix et Rhizoma*; G-common ingredients of medicinal materials.

图 2 活性成分-靶点-疾病网络

Fig. 2 Active ingredient-target-disease network diagram

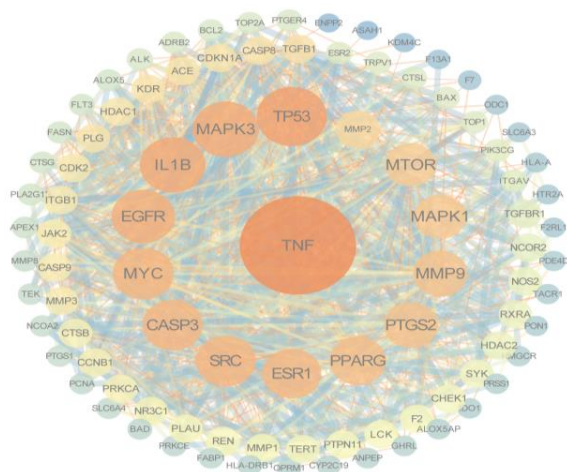


图 3 PPI 网络

Fig. 3 PPI network

3.2.6 小鼠肺组织中 I κ B α 、NF- κ B、p-NF- κ B 蛋白表达变化 对小鼠肺组织中 I κ B α 、NF- κ B、p-NF- κ B 蛋白表达进行 Western blotting 检测。结果(图 10)显示,与对照组比较,模型组 I κ B α 蛋白表达下降较为明显($P < 0.01$),NF- κ B 磷酸化程度显著增加($P < 0.01$)。与模型组相比,地塞米松组、散剂组和水煎

液组 I κ B α 蛋白表达呈现上调趋势,NF- κ B 磷酸化水平呈现下调趋势($P < 0.05, 0.01$)。其中散剂高剂量组 I κ B α 蛋白极显著上调($P < 0.01$),NF- κ B 磷酸化水平极显著下调($P < 0.01$)。结果表明,升降散可通过抑制 NF- κ B 磷酸化、激活 I κ B α 蛋白表达产生抗炎作用,且散剂高剂量组与地塞米松组治疗效果相近,这提示治疗效果具有剂量相关关系,且与水煎液组相比,散剂治疗可能通过 NF- κ B 通路发挥更好的抗炎作用,与网络药理学预测结果一致。

4 讨论

4.1 基于网络药理学预测升降散对 ALI 的防治作用机制

本研究利用网络药理学的方法筛选出升降散 32 种活性成分,292 个关键靶点,确定了豆甾醇、胆甾醇、泽兰黄醇等是升降散的重要活性成分,且有研究表明,植物甾醇类成分^[29]对 LPS 诱导的炎症损伤有保护作用。通过 Venn 图确定了升降散与 ALI 有 95 个交集靶点,成分-靶点网络表明,升降散在 ALI 治疗中作用于多个靶点并产生协同效应。PPI

表 6 关键靶点
Table 6 Key target

编号	名称	度值
1	肿瘤坏死因子(Tumor necrosis factor, TNF)	68
2	肿瘤蛋白 P53(Tumor protein p53, TP53)	65
3	丝裂原活化蛋白激酶 3(Mitogen-activated protein kinase 3, MAPK3)	62
4	白细胞介素 1 β (Interleukin 1 beta, IL1 β)	61
5	表皮生长因子受体(Epidermal growth factor receptor, EGFR)	55
6	MYC 原癌基因(MYC Proto-oncogene, MYC)	54
7	半胱天冬酶 3(Caspase3, CASP3)	54
8	SRC 原癌基因(SRC proto-oncogene, SRC)	53
9	雌激素受体 1(Estrogen receptor 1, ESR1)	53
10	过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (Peroxisome proliferator activated receptor gamma, PPARG)	52

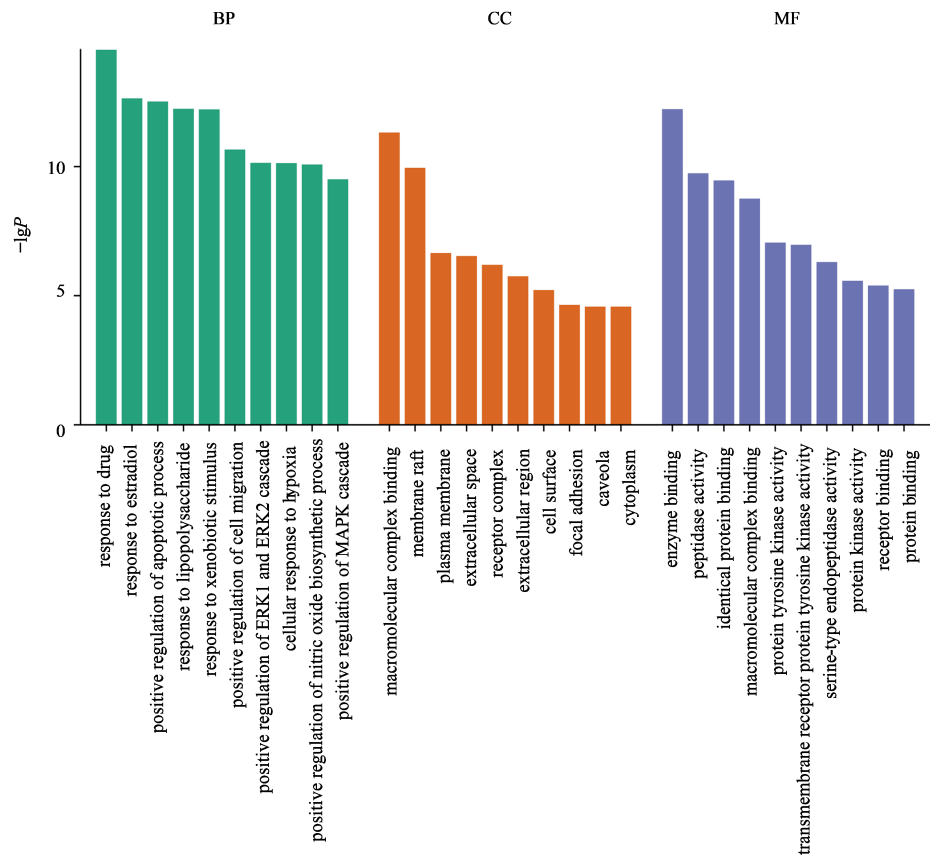


图 4 GO 分析
Fig. 4 GO analysis

网络显示,关键靶点包括 TNF、MAPK3、IL-1 β 等,其中 ALI 病程发展与 IL-1 β 密切相关,它是表征肺部炎症反应的关键介质,可作用于 IL-1 受体,激活 MAPK 和 NF- κ B 信号通路发挥抗炎作用^[30-31]。经 GO 和 KEGG 通路分析表明关键靶点主要集中在 NF- κ B、MAPK、TNF 等通路。近年来研究证实,TLR4/NF- κ B 信号通路与机体抗炎免疫机制密切相关,Toll 样受体是具有天然免疫和获得性

免疫的识别受体,TLR4 是其中之一,能够促进机体产生获得性免疫,NF- κ B 是普遍存在于胞浆中的炎症转录因子,其激活是肺部炎症疾病的重要特征之一^[32]。基于上述论断,可以推测升降散治疗 ALI 的过程可能与炎症、免疫等通路相关联。

4.2 体内实验验证升降散对 ALI 小鼠的保护作用
为进一步探究升降散对 ALI 的治疗作用,验证

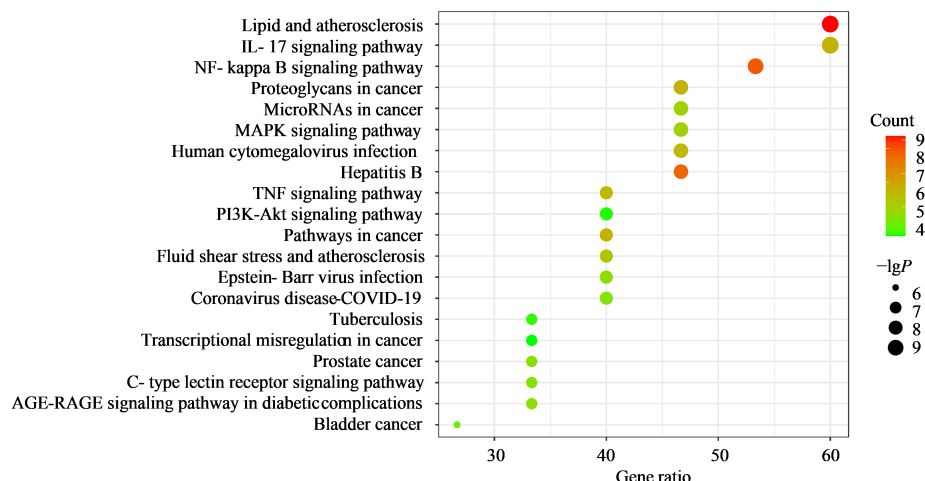
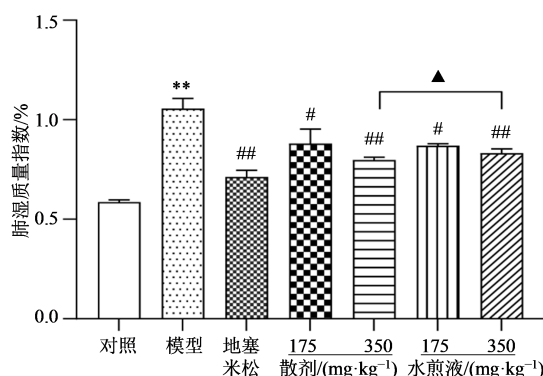


图5 KEGG分析
Fig. 5 KEGG analysis

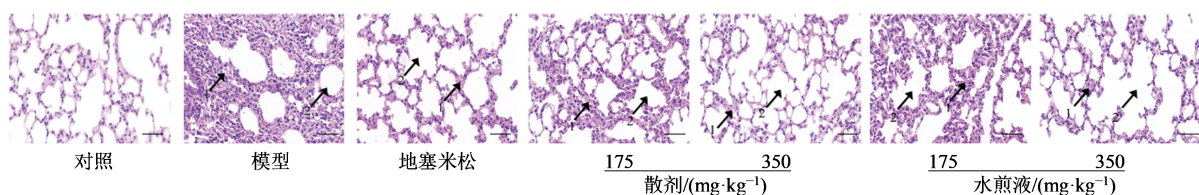


与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$; 与升降散散剂组比较: ▲ $P < 0.05$ 。
** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group; ▲ $P < 0.05$ vs powder group.

图6 各组小鼠肺湿质量指数($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 6 Lung wet mass index of mice in each group($\bar{x} \pm s, n=10$)

网络药理学结果,本研究以LPS诱导ALI小鼠为研究对象,不同剂型及剂量升降散进行干预,结果发现各给药组能够有效降低ALI小鼠TNF- α 、IL-6及IL-1 β 水平,可能与改善肺部病理状态相关,这进一步证实网络药理学预测TNF、IL-1 β 是关键靶点;TLR4、p38-MAPK、ERK和JNK-1 mRNA的表达量随着给药剂量的增加而降低,提示升降散可抑制NF- κ B/TLR4/MAPK信号通路的激活,KEGG和GO富集分析结果得到验证;升降散可通过抑制NF- κ B磷酸化、激活I κ B α 蛋白表达发挥抗炎作用,再次证实网络药理学预测结果。这亦与常加松等^[33]研究中升降散可显著抑制细胞NF- κ B表达的结果相一致。



1-炎症浸润;2-肺泡腔塌陷。

1-inflammatory infiltration; 2-alveolar collapse.

图7 升降散对ALI小鼠肺组织病理学变化的影响(HE, ×400)

Fig. 7 Effect of Shengjiang Powder on pathological changes of liver tissue in mice with ALI (HE, ×400)

4.3 升降散散剂与水煎液药效差异的探讨

升降散古方为散剂,但现代研究大多为将组方制成颗粒剂等既保证便捷性又不失生物利用度的剂型,为进行剂型改进的初步研究,本研究按原处方量将方中4味药共煎,考察是否会因姜黄等药材中的亲脂性成分溶出度不同而导致药效差异。结果显示,散剂对ALI小鼠的炎

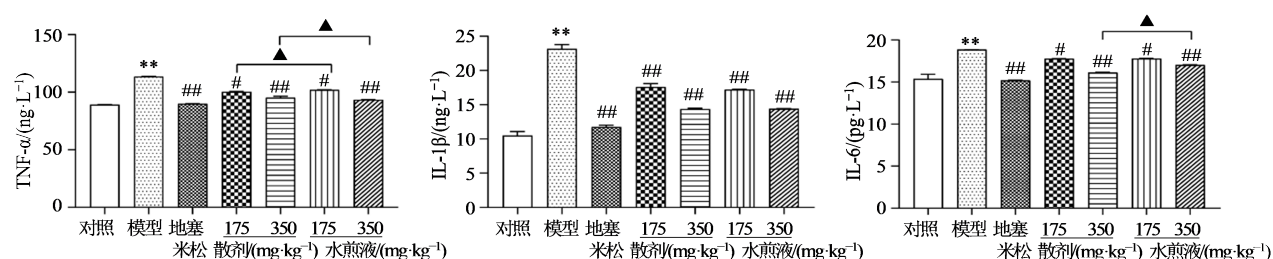
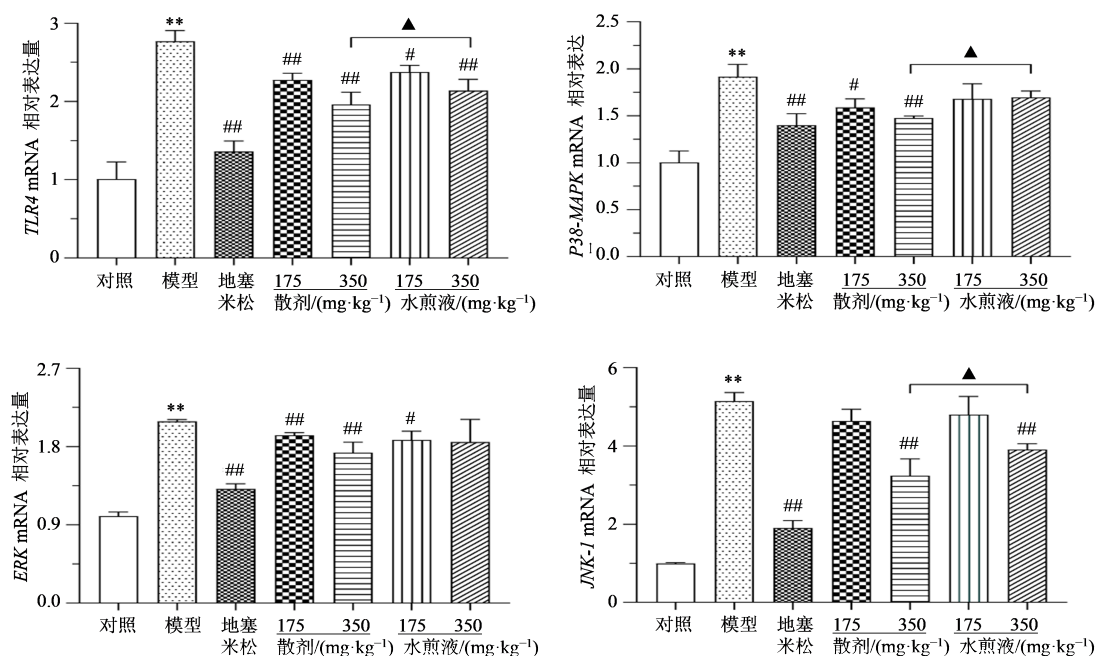
症因子抑制、NF- κ B/TLR4/MAPK等信号通路下调及抑制NF- κ B磷酸化的作用均优于水煎液,且散剂高剂量组与地塞米松组治疗效果相近,这提示高剂量时,升降散散剂可能发挥更好的抗炎作用。故对古方的剂型改进应不单考量化学表征,应把药效物质和作用机制作为不可或缺的关注点。

表 7 各组小鼠肺组织病理评分比较($\bar{x} \pm s, n=6$)Table 7 Comparison of pathological scores of lung tissue in each group($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	病理损伤评分
对照	—	0.011 7±0.015 4
模型	—	0.142 2±0.001 6**
地塞米松	5	0.045 3±0.00 90##
升降散散剂	3.5	0.088 6±0.004 3##
	7.0	0.059 7±0.005 3##
升降散水煎液	3.5	0.080 8±0.010 8##
	7.0	0.066 1±0.009 7##

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

本研究基于网络药理学和实验验证探讨了升降散对 ALI 的治疗作用及其机制。研究表明,升降散通过多靶点、多通路的方式,可能通过调节炎症反应、抑制细胞凋亡等途径,在 ALI 的治疗中发挥积极作用。本研究揭示了升降散在 ALI 治疗中的可能作用机制,为临床治疗提供了新的理论依据和药物选择,有助于提高治疗效果。此外,本研究明确了升降散的关键生物活性成分和作用靶点,为后续相关药物的研发提供了重要参考。但仍存在以下局限性:(1)网络药理学预测虽然能提供大量潜在作用靶点和通路,但这些预测结果需要进一步的实验

与对照组比较:** $P < 0.01$;与模型组比较:## $P < 0.01$;与升降散散剂组比较:▲ $P < 0.05$ 。** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group; ## $P < 0.01$ vs model group; ▲ $P < 0.05$ vs powder group.图 8 各组小鼠血清中 TNF-α、IL-1β、IL-6 水平($\bar{x} \pm s, n=10$)Fig. 8 Levels of TNF-α, IL-1β and IL-6 in serum of mice in each group($\bar{x} \pm s, n=10$)与对照组比较:** $P < 0.01$;与模型组比较:## $P < 0.01$;与升降散散剂组比较:▲ $P < 0.05$ 。** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group; ## $P < 0.01$ vs model group; ▲ $P < 0.05$ vs powder group.图 9 小鼠肺组织中 TLR4、p38-MAPK、ERK 和 JNK-1 mRNA 表达变化($\bar{x} \pm s, n=10$)Fig. 9 Changes of TLR4, p38-MAPK, ERK and JNK-1 mRNA expression in lung tissue of mice($\bar{x} \pm s, n=10$)

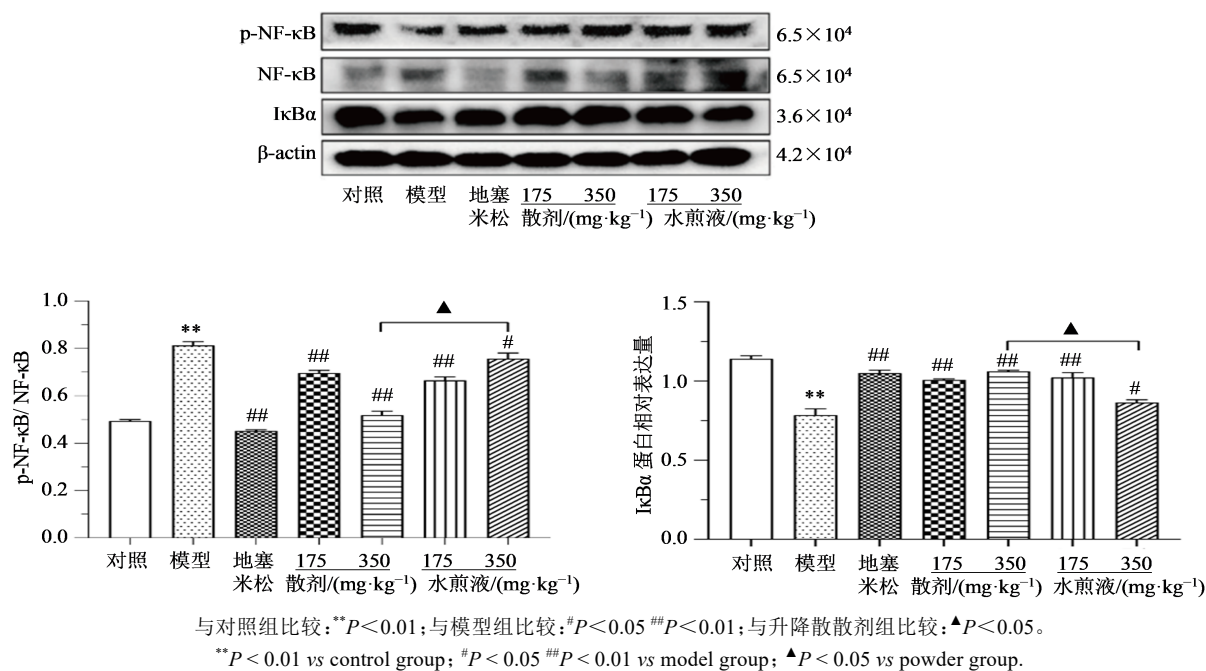


图10 小鼠肺组织中IκBα、NF-κB、p-NF-κB蛋白表达变化 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 10 Changes of IκBα, NF-κB and p-NF-κB protein expression in lung tissue of mice ($\bar{x} \pm s, n=3$)

验证才能确定其准确性。(2)实验研究主要基于体外或动物模型,与人体内环境存在差异,因此,尽管在实验层面证实了升降散的有效性,但在人体内的确切疗效和安全性还需进一步的临床试验来验证。(3)该研究可能未能全面涵盖升降散的所有有效成分和作用途径,对其复杂多元化的药效作用机制还有待更深入的研究探索。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 赵岩松. 杨栗山传世名方 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2013.
Zhao Y S. Yang Lishan 'S Famous Prescription Handed Down from Generation to Generation [M]. Beijing: China Pharmaceutical Science and Technology Press, 2013.
- [2] 中国政府网. 关于印发新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第三版)的通知 [EB/OL]. (2022-01-22)[2022-03-01]. http://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2020-01/23/content_5471832.htm.
Chinese Government Network. Notice on the issuance of the pneumonia diagnosis and treatment program for novel coronavirus infection (trial version 3) [EB/OL]. (2022-01-22)[2022-03-01]. http://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2020-01/23/content_5471832.htm.
- [3] 王凯, 马颖, 柯珺, 等. 基于数据挖掘对升降散、清瘟败毒饮性味规律的研究 [J]. 上海医药, 2023, 44(03):

75-79.

Wang K, Ma Y, Ke J, et al. Based on data mining, the study on the law of taste and taste of Shengjiang Powder and Qingwen Baidu Drink [J]. Shanghai Pharmaceutical, 2023, 44(3): 75-79.

- [4] 刘菊, 崔瑛, 白明学, 等. 基于中医药古籍文献的升降散关键信息考证研究 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2022, 24(10): 4116-4124.
Liu J, Cui Y, Bai M X, et al. Research on key information of Shengjiangsan based on ancient Chinese medicine books [J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol, 2022, 24(10): 4116-4124.
- [5] 贾明月, 张小燕, 肖懿瑶, 等. 升降散辨析及临床应用 [J]. 中日友好医院学报, 2022, 36(6): 360-361, 363.
Jia M Y, Zhang X Y, Xiao S Y, et al. Discrimination and clinical application of Shengjiang Powder [J]. J China Jpn Friendsh Hosp, 2022, 36(6): 360-361, 363.
- [6] 李文飞, 谢鸣. 升降散临床应用研究进展 [J]. 世界中医药, 2022, 17(22): 3275-3282.
Li W F, Xie M. Research progress in clinical application of Shengjiang Powder [J]. World Chin Med, 2022, 17(22): 3275-3282.
- [7] 李修齐, 谢云雪, 赵启亮, 等. 升降散联合西医常规治疗脓毒症的系统评价 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(7): 1559-1568.
Li X Q, Xie Y X, Zhao Q L, et al. Systematic evaluation of Shengjiang Powder combined with conventional western medicine in treatment of sepsis [J]. Drug Eval

- Res, 2023, 46(7): 1559-1568.
- [8] 任洪丽, 孙秀娟, 苏婉, 等. 升降散汤药对痰热壅肺型重症肺炎患者的临床疗效及血清炎症因子的影响 [J]. 检验医学与临床, 2021, 18(3): 296-299.
- Ren H L, Sun X J, Su W, et al. The effect of Shengjiang Powder Decoction on the clinical efficacy and serum inflammatory factors in the patients with lung type severe pneumonia of phlegm heat stagnation type [J]. Lab Med Clin, 2021, 18(3): 296-299.
- [9] 代耀兰. 鱼腥草破壁饮片抗内毒素作用研究 [D]. 成都: 西南交通大学, 2019.
- Dai Y L. Anti-lipopolysaccharide Effect of the Ultrafine Granular Powder of Houttuynia Cordata Thunb [D]. Chengdu: Southwest Jiaotong University, 2019.
- [10] 都丽. 氧化前胡素对小鼠急性肺损伤的抗炎抗氧化作用及分子机制研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2022.
- Du L. Anti-inflammatory and Antioxidant Effects and Mechanisms of Oxypeucedanin on Acute Lung Injury in Mice [D]. Changchun: Jilin University, 2022.
- [11] 房尚萍, 袁冉, 孙任珂, 等. 敲除 S1PR3 可缓解小鼠的急性肺损伤: 基于抑制 MAPK 信号通路 [J]. 南方医科大学学报, 2022, 42(12): 1815-1821.
- Fang S P, Yuan R, Sun R K, et al. Knockout of S1PR3 attenuates acute lung injury in mice by inhibiting the MAPK pathway [J]. J South Med Univ, 2022, 42(12): 1815-1821.
- [12] 徐玲文, 王华兵, 王倩, 等. 黄芩苷对脓毒症急性肺损伤小鼠 TLR4/NF- κ B 通路及 Treg/Th17 平衡的影响 [J]. 中国免疫学杂志, 2022, 38(15): 1813-1818, 1823.
- Xu L W, Wang H B, Wang Q, et al. Effects of Baicalin on TLR4/NF- κ B pathway and Treg/Th17 balance in mice with sepsis-induced acute lung injury [J]. Chin J Immunol, 2022, 38(15): 1813-1818, 1823.
- [13] 柯维强, 陈小玲, 蔡杨靖. 基于 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路探讨积雪草酸对急性肺损伤大鼠氧化应激和 NLRP3 炎症小体的影响 [J]. 现代中西医结合杂志, 2023, 32(4): 483-489.
- Ke W Q, Chen X L, Cai Y J. Effect of Asiatic acid on oxidative stress and NLRP3 inflammasome in rats with acute lung injury through TLR4/MyD88/NF- κ B pathway [J]. Mod J Integr Tradit Chin West Med, 2023, 32(4): 483-489.
- [14] 刘建军, 孙向党. 升降散加减治疗重症肺炎 11 例观察 [J]. 中医药学刊, 2001, 19(2): 149.
- Liu J J, Sun X D. Observation on 11 cases of severe pneumonia treated by Shengjiang Powder [J]. Study J Tradit Chin Med, 2001, 19(2): 149.
- [15] 赵院院, 曹利华, 李秀敏, 等. 升降散治疗 COVID-19 的网络药理学机制 [J]. 重庆理工大学学报(自然科学), 2021, 7(7): 201-208, 222.
- Zhao Y Y, Cao L H, Li X M, et al. Based on network pharmacology analysis of Sheng-Jiang-San for the treatment of new coronavirus pneumonia potential mechanism [J]. J Chongqing Univ Technol Nat Sci, 2021, 7(7): 201-208, 222.
- [16] 王颖, 台安宁, 吴国泰, 等. 网络药理学常见不同富集方法比较研究: 以当归补血汤治疗贫血为例 [J]. 中国医药导刊, 2022, 24(4): 398-405.
- Wang Y, Tai A N, Wu G T, et al. Comparative study on different enrichment methods in network pharmacology—Taking the treatment of *Anemia* with Danggui Buxue Decoction as an example [J]. Chin J Med Guide, 2022, 24(4): 398-405.
- [17] 牛明, 张斯琴, 张博, 等. «网络药理学评价方法指南»解读 [J]. 中草药, 2021, 52(14): 4119-4129.
- Niu M, Zhang S Q, Zhang B, et al. Interpretation of *Network Pharmacology Evaluation Method Guidance* [J]. Chin Tradit Herb Drug, 2021, 52(14): 4119-4129.
- [18] 薛磊. 急性肺损伤治疗策略的现状与未来 [J]. 上海医学, 2021, 44(8): 571-575.
- Xue L. Treatment strategy of acute lung injury: Present and future [J]. Shanghai Med J, 2021, 44(8): 571-575.
- [19] Zhu W L, Huang X P, Qiu S, et al. MiR-142-5p encapsulated by Serum-Derived extracellular vesicles protects against acute lung injury in septic rats following remote ischemic preconditioning via the PTEN/PI3K/Akt axis [J]. J Innate Immun, 2022, 14(5): 532-542.
- [20] 陈英华, 吕嘉文, 翟启良, 等. LPS 直接及间接作用致小鼠急性肺损伤模型的建立 [J]. 中国临床解剖学杂志, 2015, 33(4): 439-443.
- Chen Y H, Lv J W, Zhai Q L, et al. Building the acute lung injury mouse model by LPS direct and indirect challenge [J]. Chin J Clin Anat, 2015, 33(4): 439-443.
- [21] 陈俭双, 朱艳慧, 胥芷灵, 等. 鼻腔滴注与气管滴注脂多糖建立小鼠急性肺损伤模型的比较研究 [J]. 中药药理与临床, 2022, 38(2): 222-227.
- Chen J S, Zhu Y H, Xu Z L, et al. Comparison of acute lung injury mice model established by intranasal and intratracheal instillation of lipopolysaccharide [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2022, 38(2): 222-227.
- [22] 钱乙. 小儿药证直诀 [M]. 北京: 中国医药科学技术出版社, 2021.
- Qian Y. *Children's Medicine Certificate Straight Formula* [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2021.
- [23] 国家中药管理局编委会. 中华本草 [M]. 上海: 科学技术出版社, 1999.
- Editorial Board of State Administration of Traditional

- Chinese Medicine. *Chinese Materia Medica* [M]. Shanghai: Science and Technology Press, 1999.
- [24] 南京中医药大学. 中药大辞典 [M]. 第2版. 上海: 上海科学技术出版社, 2014.
- Nanjing University of Chinese Medicine. *Dictionary of Traditional Chinese Medicine* [M]. 2nd Ed. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2014.
- [25] Chen H, Bai C X, Wang X D. The value of the lipopolysaccharide-induced acute lung injury model in respiratory medicine [J]. *Expert Rev Respir Med*, 2010, 4 (6): 773-783.
- [26] Du Z A, Sun M N, Hu Z S. Saikosaponin a ameliorates LPS-induced acute lung injury in mice [J]. *Inflammation*, 2018, 41(1): 193-198.
- [27] 尉雅洁, 刘明飞, 孙成宏, 等. 基于网络药理学和动物实验探究荆防颗粒对高尿酸血症的治疗作用及机制 [J]. *中草药*, 2023, 54(3): 808-816.
- Yu Y J, Liu M F, Sun C H, et al. Therapeutic effect and mechanism of Jingfang Granules on hyperuricemia based on network pharmacology and animal experiments validation [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2023, 54(3): 808-816.
- [28] 张洁, 谭初兵, 徐为人. Lipinski五规则的研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2011, 34(6): 451-455.
- Zhang J, Tan C B, Xu W R. Advances in studies on Lipinski's five rules [J]. *Drug Eval Res*, 2011, 34(6): 451-455.
- [29] 赵云博, 王宁静, 胡永员, 等. 植物甾醇对脂多糖诱导小鼠炎症的抑制作用 [J]. *中国油脂*, 2022, 47(5): 105-110.
- Zhao Y B, Wang N J, Hu Y Y, et al. Inhibition of phytosterols on lipopolysaccharide-induced inflammation in mice [J]. *China Oils Fats*, 2022, 47(5): 105-110.
- [30] 刘莉, 张军, 李婷, 等. 陕西汉中地区不同吸烟肺癌患者临床特点及血清肿瘤标志物水平变化 [J]. *公共卫生与预防医学*, 2022, 33(1): 146-149.
- Liu L, Zhang J, Li T, et al. Clinical characteristics and changes of serum tumor markers in lung cancer patients with different smoking in Hanzhong [J]. *J Public Health Prev Med*, 2022, 33(1): 146-149.
- [31] Rébé C, Ghiringhelli F. Interleukin-1 β and cancer [J]. *Cancers*, 2020, 12(7): 1791.
- [32] 韩红, 陈旭霞, 逯建立, 等. 基于TLR4/NF- κ B信号通路探讨重组BPI对肺炎支原体感染小鼠肺炎炎症反应的影响 [J]. *中国比较医学杂志*, 2022, 32(8): 90-97.
- Han H, Chen X X, Lu J L, et al. The effect of recombinant BPI on pneumoniae in mice infected with *Mycoplasma pneumoniae* and the TLR4/NF- κ B signaling pathway [J]. *Chin J Comp Med*, 2022, 32(8): 90-97.
- [33] 常加松, 魏凯峰, 潘云. 升降散治疗急性肺损伤作用的实验研究 [J]. *广州中医药大学学报*, 2008, 25(1): 54-55, 59.
- Chang J S, Wei K F, Pan Y. Experimental study of Shengjiang Powder on treating acute lung injury [J]. *J Guangzhou Univ Tradit Chin Med*, 2008, 25(1): 54-55, 59.

[责任编辑 刘东博]