

# 基于“TLR3-ACE2-代谢”网络探讨香囊药对“苍术-白芷”挥发油的鼻黏膜免疫防御效应

宁艳梅<sup>1,2,3,4,5</sup>, 完玛草<sup>1</sup>, 吴溪玮<sup>1</sup>, 谢敏<sup>1,3</sup>, 张金保<sup>1,2,4</sup>, 王瑞琼<sup>1,2,4</sup>, 赵金玉<sup>1</sup>, 李姝璇<sup>1</sup>, 刘东玲<sup>1,2,3,4\*</sup>, 吴国泰<sup>1,2,4\*</sup>

1. 甘肃中医药大学, 甘肃 兰州 730000

2. 甘肃省中药药理与毒理学重点实验室, 甘肃 兰州 730000

3. 甘肃省高校中(藏)药化学与质量研究省级重点实验室, 甘肃 兰州 730000

4. 陇药产业创新研究院, 甘肃 兰州 730000

5. 敦煌医学与转化教育部重点实验室, 甘肃 兰州 730000

**摘要:**目的 探讨香囊核心药对“苍术-白芷”挥发油通过 Toll 样受体 3 (Toll-like receptor 3, TLR3)/血管紧张素转化酶 2 (angiotensin-converting enzyme 2, ACE2)/分泌型免疫球蛋白 A (secretory immunoglobulin A, sIgA) 轴调控脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的免疫抑制人鼻上皮细胞 (human nasal epithelial cells, HNEpC) 模型的免疫-代谢交互机制, 旨在从免疫稳态重建的视角阐释香囊蕴含的“芳香辟秽”理论的分子内涵。方法 系统整合中国知网、万方等数据库文献, 梳理香囊现代研究脉络。采用水蒸气蒸馏法提取苍术-白芷挥发油, 并以气相色谱-质谱 (GC-MS) 联用技术鉴定其活性成分; 通过蛋白质印迹法分析苍术-白芷挥发油成分对 LPS 诱导的人鼻上皮细胞免疫抑制模型中 TLR3、ACE2、sIgA 等鼻黏膜免疫相关标志物的影响。结合代谢组学与网络药理学方法, 探讨香囊药对“苍术-白芷”挥发油在鼻黏膜代谢和免疫双维度的调控机制。结果 挥发油是中药香囊防治新型冠状病毒肺炎 (corona virus disease 2019, COVID-19) 及其他呼吸系统传染病的重要成分; 鼻上皮细胞是香囊发挥鼻黏膜免疫防御功能的重要单位; “苍术-白芷”为香囊的高频用药及核心药对。蛋白质印迹分析显示, 苍术-白芷挥发油能够逆转 LPS 诱导的 HNEpC 上 sIgA 信号抑制, 并下调 ACE2/TLR3 表达 ( $P < 0.01$ )。代谢组学分析显示, LPS 诱导的免疫抑制 HNEpC 模型中多条代谢通路显著紊乱, 尤其涉及精氨酸、鞘脂和核苷酸代谢。苍术-白芷挥发油可能通过正向调节这些代谢通路, 促进屏障功能、提升 sIgA 及免疫信号传递; 负向抑制类固醇代谢, 以助于解除免疫抑制状态; 调控核黄素和抗坏血酸代谢以提供能量和抗氧化支持及维持上皮细胞免疫应答的持续性, 而显示对鼻黏膜的免疫防御效应的潜在影响。网络药理学分析显示, 苍术-白芷挥发油可能通过调节脾酪氨酸激酶 (splenic tyrosine kinase, SYK)、磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸 3-激酶催化亚基  $\delta$  (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit delta, PIK3CD) 及丝裂原活化蛋白激酶 8 (mitogen-activated protein kinase 8, MAPK8) 免疫轴, 具有促进鼻黏膜 sIgA 分泌的潜在能力 (体现“正气”充盈); 同时通过一氧化氮合酶 2 (nitric oxide synthase, NOS2)/NO 抗菌及代谢重塑机制具备清除病原的潜力 (体现“除邪”效应), 与“香者气之正, 正气盛则除邪辟秽”理论相符。免疫防御相关蛋白与代谢效应相关蛋白存在互作关系, 且 MAPK8 显示关键调控作用; 2 类效应蛋白的关键靶点与 ACE2、TLR3 呈现蛋白互作, 进一步表明苍术-白芷挥发油作用于鼻黏膜发挥免疫防御作用与 ACE2/TLR3 轴调控密切相关。结论 香囊药对“苍术-白芷”挥发油通过“正气 (免疫代谢)-邪秽 (病原入侵)”双重轴线调控鼻黏膜免疫防御作用, 展示了中医“芳香辟秽”理论的“香者气之正, 正气盛则除邪辟秽”的现代科学意义。

**关键词:** 芳香辟秽; 中药香囊; 苍术; 白芷; 挥发油; HNEpC; ACE2/TLR3; 代谢组学; 鼻黏膜; 免疫防御

**中图分类号:** R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2025)21-7859-24

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.21.018

## Exploration of nasal mucosal immune defense effect of volatile oils from sachet herb pair “*Atractylodis Rhizoma-Angelicae Dahuricae Radix*” based on “TLR3-ACE2-metabolism” network

收稿日期: 2025-08-11

**基金项目:** 甘肃省自然科学基金项目 (24JRRA1022); 甘肃省高等学校创新基金项目 (2022B-114); 敦煌医学与转化教育部重点实验室开放课题项目 (DHYX24-24); 甘肃省高校中(藏)药化学与质量研究重点实验室开放基金项目 (zzy-2024-04); 甘肃省中药药理与毒理学重点实验室开放基金项目 (ZDSYS-KJ-2024-006); 2025 年甘肃省高校教师创新基金项目 (2025B-115); 兰州市青年科技人才创新项目 (2024-QN-129); 国家级大学生创新创业训练计划项目 (202410735015)

**作者简介:** 宁艳梅, 女, 博士, 副教授, 硕士生导师。Tel: 18793128998 E-mail: Hiningyanmei@qq.com

**\*通信作者:** 刘东玲, 教授, 博士生导师。Tel: 13669385403 E-mail: 290788154@qq.com

吴国泰, 教授, 硕士生导师。Tel: 13919102724 E-mail: 1018830451@qq.com

NING Yanmei<sup>1, 2, 3, 4, 5</sup>, WAN Macao<sup>1</sup>, WU Xiwei<sup>1</sup>, XIE Min<sup>1, 3</sup>, ZHANG Jinbao<sup>1, 2, 4</sup>, WANG Ruiqiong<sup>1, 2, 4</sup>, ZHAO Jingyu<sup>1</sup>, LI Shuxuan<sup>1</sup>, LIU Dongling<sup>1, 2, 3, 4</sup>, WU Guotai<sup>1, 2, 4</sup>

1. Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

2. Gansu Key Laboratory of Chinese Medicine Pharmacology and Toxicology, Lanzhou 730000, China

3. Key Laboratory of Chemistry and Quality for TCM of College of Gansu Province, Lanzhou 730000, China

4. Longyao Industry Innovation Research Institute, Lanzhou 730000, China

5. Key Laboratory of Dunhuang Medicine, Ministry of Education, Lanzhou 730000, China

**Abstract: Objective** To investigate the immuno-metabolic interaction mechanism of the core medicinal pair “Cangzhu (*Atractylodis Rhizoma*)-Baizhi (*Angelicae Dahuricae Radix*)” volatile oil from Xiangnang (sachet) on the lipopolysaccharide (LPS)-induced immunosuppressed human nasal epithelial cell (HNEpC) model via the Toll-like receptor 3 (TLR3)/ angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2)/secretory immunoglobulin A (sIgA) axis. This aims to elucidate the molecular connotation of the “fragrance to avoid filth” theory embedded in sachet from the perspective of immune homeostasis reconstruction. **Methods** Databases including CNKI and Wanfang were systematically integrated to outline the modern research context of sachet. Volatile oils from the core pair “*Atractylodis Rhizoma-Angelicae Dahuricae Radix*” were extracted via steam distillation, and their active components identified using GC-MS. Western blotting analysis assessed the impact of the volatile oils on nasal mucosal immune markers (TLR3, ACE2, sIgA) in the LPS-induced immunosuppressed human nasal epithelial cells (HNEpC) model. Metabolomics combined with network pharmacology methods were employed to reveal the regulatory mechanism of the core pair volatile oil across nasal mucosal metabolism and immune dimensions. **Results** Volatile oils are pivotal components in Chinese medicinal sachets for preventing and treating coronavirus disease 2019 (COVID-19) and other respiratory infectious diseases; nasal epithelial cells may serve as critical units enabling these sachets to exert nasal mucosal immune defense functions; “*Atractylodis Rhizoma-Angelicae Dahuricae Radix*” constitutes both the most frequently used herbs and the core herb pair in such sachets. Metabolomics analysis showed that in LPS-induced immunosuppressed HNEpC models, multiple metabolic pathways were significantly disrupted, especially involving arginine, sphingolipid, and nucleotide metabolism. The volatile oil of “*Atractylodis Rhizoma-Angelicae Dahuricae Radix*” may regulate these metabolic pathways positively, promoting barrier function, enhancing sIgA and immune signal transmission; negatively inhibiting steroid metabolism to help relieve the immunosuppressive state; and regulating riboflavin and ascorbic acid metabolism to provide energy and antioxidant support, and maintain the persistence of epithelial cell immune response, thereby showing an impact on the immune defense effects of the nasal mucosa. Network pharmacology analysis indicated the volatile oil have potential to promoting sIgA expression in the nasal mucosa [manifesting as “vital *qi* (*Zhengqi*) enrichment”] through the spleen tyrosine kinase (SYK)/phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit delta (PIK3CD)/mitogen-activated protein kinase 8 (MAPK8) immune axis. It also exhibits pathogenic clearance potential [manifesting as “eliminating pathogenic factors (*xie*)”] via nitric oxide synthase (NOS2)/NO antimicrobial and metabolic remodeling mechanisms, aligning with the theory “*qi* of aromatic substances is healthy *qi*, and the healthy *qi* is strong, so the evil is eliminated and the filth is avoided” An interaction exists between immune defense-related proteins and metabolic effect-related proteins, with MAPK8 playing a crucial regulatory role. Key targets from both effect groups interact with ACE2 and TLR3, further indicating the core pair volatile oil’s action on nasal mucosal immune defense is closely tied to ACE2/TLR3 axis regulation. **Conclusion** The volatile oil of the sachet herb pair “*Atractylodis Rhizoma-Angelicae Dahuricae Radix*” modulates nasal mucosal immune defense through a dual-axis framework of “*Zhengqi* (immune-metabolic regulation)-pathogenic insults (microbial invasion)”, thereby demonstrating the modern scientific significance of the TCM theory “fragrance to avoid filth” (*qi* of aromatic substances is healthy *qi*, and the healthy *qi* is strong, so the evil is eliminated and the filth is avoided).

**Key words:** fragrance to avoid filth; traditional Chinese medicine sachet (xiangnang); *Atractylodis Rhizoma*; *Angelicae Dahuricae Radix*; volatile oil; HNEpC; ACE2/TLR3; metabolomics; nasal mucosa; immune defense

中药香囊根植于中医外治法中的“衣冠疗法”，是预防与治疗呼吸系统疾病的重要实践形式。免疫低下人群对呼吸道传染性疾病普遍易感，自新型冠状病毒肺炎（corona virus disease 2019, COVID-19）疫情爆发以来，国家卫健委及多地政府推荐采用香囊等中医疗法进行预防，实践证实其可有效降低感

染风险<sup>[1]</sup>。课题组前期研究指出，香囊承载着中医“芳香辟秽”理论的核心内涵——“香者气之正，正气盛则除邪辟秽”（《神农本草经百种录》）<sup>[2]</sup>，即芳香中药挥发油通过鼻黏膜免疫途径（“正气”）构筑防御屏障，但其具体分子机制尚未阐明。

从现代免疫学视角，人鼻上皮细胞（human nasal

epithelial cells, HNEpC) 作为鼻黏膜屏障的核心执行者,通过紧密连接蛋白形成物理屏障<sup>[3-4]</sup>,并表达关键免疫调控靶点。研究表明,血管紧张素转化酶 2 (angiotensin-converting enzyme 2, ACE2) 在呼吸道黏膜上皮高表达<sup>[5]</sup>,除作为严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2) 入侵受体外<sup>[6]</sup>,还通过降解血管紧张素 II (angiotensin II, AngII) 调控炎症平衡<sup>[7-8]</sup>,并与先天免疫抗病毒基因关联<sup>[9]</sup>,提示其兼具“病毒受体-免疫调节”双重功能。鼻黏膜的模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRRs) 如 Toll 样受体 3 (Toll-like receptor 3, TLR3) / 维甲酸诱导基因-1 (retinoic acid-inducible gene-1, RIG-I), 构成抗病毒第一道防线<sup>[5]</sup>,其中 TLR3 作为 HNEpC 识别病毒双链核糖核酸 (double-stranded RNA, dsRNA) 的关键受体,可激活干扰素- $\beta$  通路<sup>[10-11]</sup>。值得注意的是,TLR3 的激活状态与 ACE2 表达存在复杂关联:TLR3 适度激活,有益于早期病毒的识别和清除;但 TLR3 的过度激活可能间接促进 ACE2 的表达,从而增强其病理作用<sup>[12-13]</sup>,形成“病毒入侵增强→炎症放大→持续激活”的“正反馈环”。这一“TLR3-ACE2 轴”的双向调控特性,使其成为平衡抗病毒防御与免疫病理的关键靶标。此外,挥发油成分可抑制 TLR3 信号传导,阻断其诱导的 ACE2 异常上调<sup>[14]</sup>。同时,TLR3 通过磷脂酰肌醇-3-羟激酶 (phosphatidylinositol-3-hydroxykinase, PI3K) 通路调控能量/糖代谢,直接影响分泌型免疫球蛋白 A (secretory immunoglobulin A, sIgA) 分泌及上皮屏障功能<sup>[13]</sup>,提示“TLR3-代谢-免疫”轴可能是鼻黏膜防御的深层调控机制。

综上所述,香囊处方中药挥发油可能通过干预“TLR3-ACE2-代谢”协同调控网络,重塑鼻黏膜免疫防御稳态。本研究通过文献计量学分析,提取香囊核心药对“苍术-白芷”,以脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的 HNEpC 免疫抑制模型为载体,并整合网络药理学与非靶向代谢组学技术,探讨该药对挥发油经三重靶点 (TLR3/ACE2/sIgA) 介导的香囊“芳香辟秽”作用的代谢-免疫耦联机制,为中医药现代化应用提供科学依据。

## 1 材料

### 1.1 知识平台、数据库及软件

中国知网平台 (<https://www.cnki-net/>); 万方数据知识服务平台 (<https://g-wanfangdata-com-cn/>); 维

普经纶知识服务平台 (<https://k-vipslib-com/>); 中医世家网站 (<https://www.zysj.com.cn/>); 中医传承辅助平台 (Traditional Chinese Medicine Inheritance Support System, TCMISS V2.5); 中药系统药理学平台 (<https://www.tcmsp-e.com/#/database>); PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>); FAFdrugs4 数据库 (<http://fafdrugs4.mti.univ-paris-diderot.fr/>); STITCH 数据库 (<http://stitch.embl.de/>); SwissTargetPrediction 数据库 (<http://swisstargetprediction.ch/>); SEA 数据库 (<http://sea.bkslab.org/>); Metascape 数据库 (<http://metascape.org/>); GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>); String 数据库 (<https://cn.string-db.org/>); PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>); PLIP 网站 (<https://projects.biotech.tu-dresden.de/plip-web/plip/index>); Cytoscape\_v3.6.0 软件; Chem3D 19.0 软件; PyMOL 软件; Excel 软件。

### 1.2 细胞

HNEpC, 购于北纳创联生物科技有限公司 (BNCC), 编号: 356247。

### 1.3 药材

白芷饮片 (兰州百宝药业有限责任公司, 批号 20240918)、苍术饮片 (兰州百宝药业有限责任公司, 批号 20241202) 经甘肃中医药大学侯嘉副教授分别鉴定为伞形科植物白芷 *Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. 的干燥根、菊科植物北苍术 *Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz. 的干燥根茎, 符合《中国药典》2020 版规定。

### 1.4 药品与试剂

磷酸盐缓冲盐溶液 (phosphate-buffered saline, PBS; Servicebio 公司, 批号 20190912); 含酚红的胰蛋白酶-EDTA 消化液 (Trypsin-EDTA phenol red; Servicebio 公司, 批号 CR2011123); 伊格尔最低必需培养基 (Eagle's minimum essential medium, EMEM; Cytiva 公司, 批号 AG29719235); 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS; Cellma 公司, 批号 20200628); CCK8 试剂 (NCM Biotech 公司, 批号 20220507); 预染 Marker (Thermo Scientific 公司, 批号 01011775); 5×蛋白上样缓冲液 (批号 HP201012)、电泳液 (批号 20201118)、转膜液 (批号 20201118)、ECL 发光液 (批号 CR2012200)、瑞帕裂解液 (RIPA lysis buffer, RIPA, 批号 CR2101120), 均购自 Servicebio 公司; 聚偏二氟乙

烯膜 (polyvinylidene fluoride membrane, PVDF; Millipore 公司, 批号 R1AB91893, 0.265 m×3.75 m); 聚山梨酯-20 (批号 916R014)、十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳试剂盒 (批号 20191218)、脱脂奶粉 (批号 702F0515)、BCA 蛋白定量试剂盒 (批号 20191022), 均购自索莱宝公司; 山羊抗兔二抗 (批号 B0202)、山羊抗鼠二抗 (批号 RS0001)、 $\beta$ -肌动蛋白 ( $\beta$ -actin, 批号 B1401), 均购自 Immunoway 公司。抗体: ACE2 (Sino Biological 公司, 批号 HA14AU3102)、sIgA (BIOSS 公司, 批号 BA01122660)、TLR3 (江苏佰嘉生物科技有限公司, 批号 IPB14393)。

## 1.5 仪器

挥发油测定器 (北京中兴生物科技有限责任公司); DTH 型搅拌恒温电热套 (常州荣冠实验分析仪器厂); KC-08 型中药粉碎机 (武义海纳电器有限公司); Agilent 7890B-5977 型气相色谱-质谱仪 (安捷伦科技有限公司); RCX41 型生物倒置显微镜 (宁波舜宇光电信息有限公司); DNP-9022 型恒温培养箱 (美国 Lab Companion); LDZX-50KBS 型灭菌锅 (上海申安医疗器械厂); SW-CJ-1FD 型超净工作台 (AIRTHCH 公司); 101-1AB 型台式电热恒温鼓风干燥箱 (天津市泰斯特仪器有限公司); DYCZ-40G 型 Western blotting 转膜仪 (北京六一生物科技公司); DYCZ-25D 型 Western blotting 电泳仪 (北京六一生物科技公司); DYY-6D 型 Western blotting 电源 (北京六一生物科技公司); 5424R 型高速冷冻离心机 (德国 Eppendorf); DW-HL528 型超低温冰箱 (中科美菱低温科技公司); SK-O180-E 型摇床 (美国 Scilogex 公司); iMark 型酶标仪 (美国 Bio Rad 公司); DNP-9022 型恒温培养箱 (上海精宏设备公司); MiniChemi 610 型化学发光成像仪 (北京赛智科技有限公司); HH-S1 型恒温水浴锅 (上海冠胜仪器有限公司); PH400 型 pH 仪 (Alalis 公司); BSA224s 型分析天平 (赛多利斯科学仪器公司); Touch Imager pro 型 E-BLOT 成像仪 (易亨特生命科学有限公司)。

## 2 方法与结果

### 2.1 中药香囊现代应用特征与规律分析

**2.1.1 中药香囊现代研究文献计量学分析** 以“中药”“香囊”为关键词共检索到 111 篇文献, 分析结果显示, 其与“新型冠状病毒肺炎”“中药香囊挥发油”“新型冠状病毒”呈现主要相关, 见图 1-A。进

一步以“香囊”“新型冠状病毒”为关键词共检索到 64 篇文献, 结果显示与“中医药防治”“中医药预防”“疫情防控”“治未病”等关键词呈现相关性, 见图 1-B; “治未病”的文献显示其与预防呈主要相关, 见图 1-C。以上结果显示中药香囊应用于 COVID-19 主要发挥预防作用。

又以“香囊”“预防”为关键词共检索到 221 篇文献, 结果显示主要在呼吸系统感染性疾病发挥作用, 见图 1-D。而鼻是呼吸系统的起始部位, 也是呼吸道感染的首要部位; 因此又以“香囊”“鼻”为关键词共检索到 14 篇文献, 香囊对鼻腔的作用研究中鼻黏膜显示出优势, 见图 1-E。以上结果表明香囊主要对呼吸系统感染性疾病发挥预防作用, 鼻黏膜为作用的主要部位。以“鼻黏膜”“效应”为关键词共检索到 441 篇文献, 结果显示鼻黏膜上皮细胞和鼻黏膜免疫具有显著的关系, 见图 1-F。以上数据检索年限为数据库建库至 2024 年 10 月。

### 2.1.2 中药香囊处方药用规律及核心药对分析

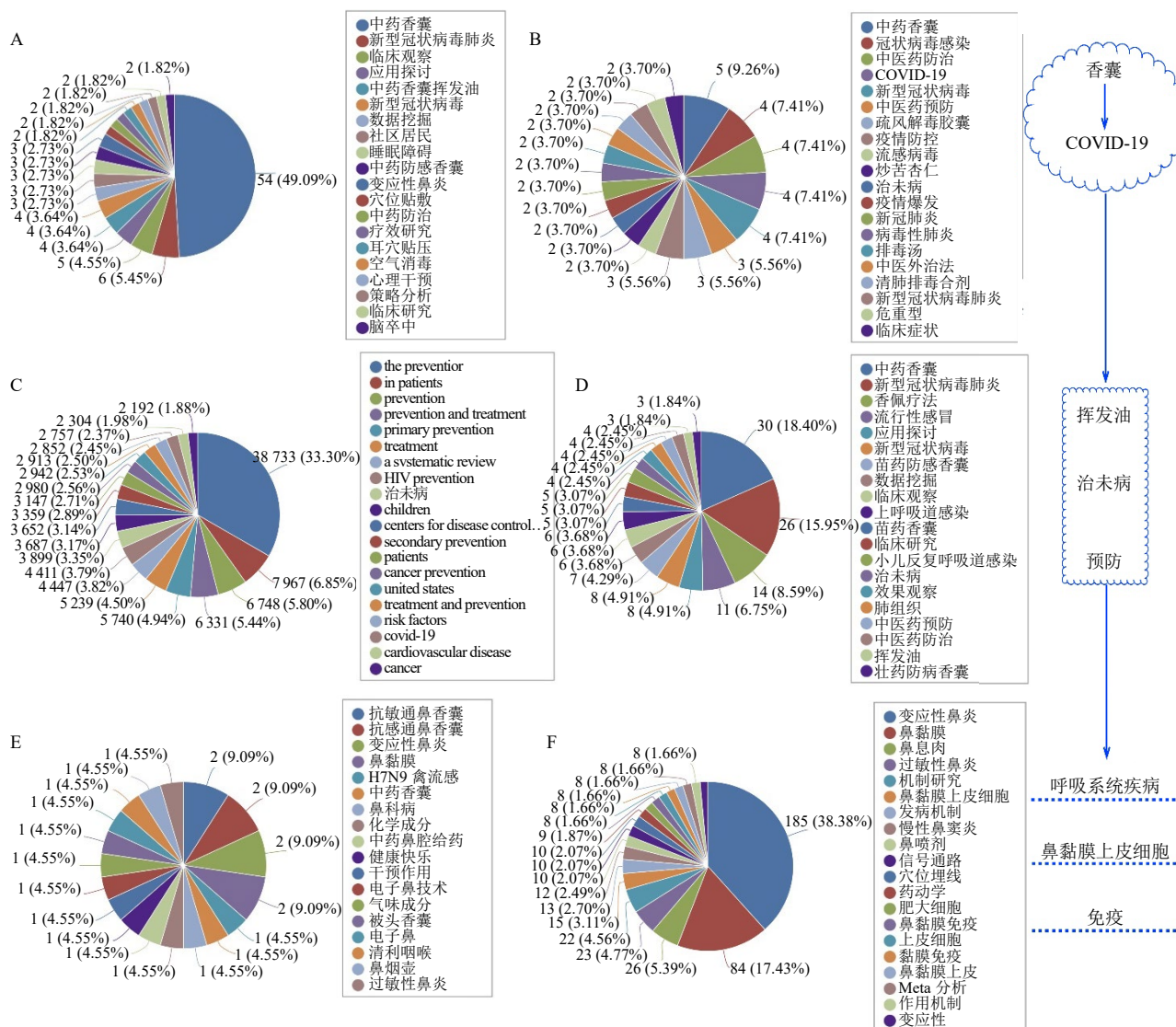
(1) TCMISS 数据库分析方法: 通过中国知网、万方、维普文献数据库、中医智库网站及中医世家网站, 以“香囊”“香包”检索处方, 检索年限为数据库建库至 2024 年 10 月。汇总去重复后, 以《中国药典》2020 年版<sup>[15]</sup>对方剂中中药名称进行规范。纳入的处方录入 TCMISS 数据库, 设定支持度为 5、置信度为 0.8, 对药物组合及用药关联规则进行分析, 得到高频药物关联规则网络。

(2) 香囊处方药用频次: 共筛选出方剂 91 首, 涉及中药饮片 284 味, 总用药频次 797 次, 用药频次>2 的中药 38 味, 排名前 5 的依次是苍术、白芷、艾叶、藿香、丁香 (表 1)。

(3) 基于关联规则的香囊处方组方规律: 共有 16 条记录 (16 种药物组合), 包含 8 种中药 (表 2); 共得到 22 条用药规则 (表 3), 关联规则的网络见图 2, 核心关联规则为白芷、苍术配伍。

### 2.2 中药香囊药对“苍术-白芷”挥发油成分分析

**2.2.1 挥发油制备** 按照《中国药典》2020 年版四部通则 2204 挥发油测定法中水蒸气蒸馏法分别提取苍术、白芷和苍术-白芷的挥发油。分别称取苍术 500 g、白芷 500 g、苍术-白芷 (1:1 混合) 500 g, 各样本混匀后, 加 7 倍量蒸馏水, 浸泡 12 h, 微沸提取 6 h。苍术挥发油提取率为 0.24%, 挥发油呈棕褐色; 白芷提取率为 0.04%, 挥发油呈淡



A-以“中药”和“香囊”为主题文献的关键词分布；B-以“香囊”和“新型冠状病毒”为主题文献的关键词分布；C-以“治未病”为主题文献的关键词分布；D-以“香囊”“预防”为主题文献的关键词分布；E-以“香囊”“鼻”为主题文献的关键词分布；F-以“鼻黏膜”“效应”为主题文献的关键词分布。

A-distribution of keywords in literature with themes of“traditional Chinese medicine” and “sachet”; B-distribution of keywords in literature with themes of “sachet” and “SARS-CoV-2”; C-distribution of keywords in literature with theme of “preventive treatment of disease”; D-distribution of keywords in literature with themes of “sachet” and “prevention”; E-distribution of keywords in literature with themes of “sachet” and “nose”; F-distribution of keywords in literature with themes of “nasal mucosa” and “effect”.

图 1 香囊现代应用特征与规律分析

Fig. 1 Analysis of characteristics and laws of modern applications of sachets

黄色；苍术-白芷挥发油的提取率为 0.2%，挥发油呈黄褐色，均 4℃避光保存备用。

**2.2.2 挥发油 GC-MS 检测条件** 采用 HP-5MS 石英毛细管柱（30 m×0.25 mm，0.25 μm），载气为氦气（纯度为 99.999%），体积流量 1 mL/min；进样量 1 μL；分流比 50：1；进样口温度 250℃；升温程序：50℃保持 1 min，以 5℃/min 升至 240℃，保持 1 min，继续以 5℃/min 升至 280℃，保持 1 min。

质谱条件：电离方式 EI，离子模式 ESI，电子

能量为 70 eV，四级杆温度 280℃，离子源温度 220℃，扫描范围 50~650 amu，溶剂延迟为 5 min。

**2.2.3 样品溶液的配制** 分别取各组挥发油样本 100 mg 溶解于 200 μL 醋酸乙酯溶液中，充分震荡混合均匀后，使用 13 000 r/min 转速离心 10 min，取上清液 100 μL 装入进样瓶，进行 GC-MS 检测。

**2.2.4 挥发油成分及相对含量分析** GC-MS 数据采集完成后，使用 Mass Hunter（VB.07.00）软件通过自动去卷积查找化合物，查找参数为信噪比 2；



表 1 香囊方中药物使用频次

| Table 1 Frequency of drug use in sachet prescriptions |      |    |    |      |    |
|-------------------------------------------------------|------|----|----|------|----|
| 序号                                                    | 中药名称 | 频次 | 序号 | 中药名称 | 频次 |
| 1                                                     | 苍术   | 15 | 14 | 柴胡   | 5  |
| 2                                                     | 白芷   | 11 | 15 | 木香   | 4  |
| 3                                                     | 艾叶   | 11 | 16 | 黄芪   | 4  |
| 4                                                     | 藿香   | 10 | 17 | 雄黄   | 4  |
| 5                                                     | 丁香   | 9  | 18 | 大黄   | 4  |
| 6                                                     | 细辛   | 8  | 19 | 紫苏   | 3  |
| 7                                                     | 石菖蒲  | 8  | 20 | 辛夷   | 3  |
| 8                                                     | 冰片   | 7  | 21 | 樟脑   | 3  |
| 9                                                     | 甘松   | 6  | 22 | 白豆蔻  | 3  |
| 10                                                    | 山奈   | 6  | 23 | 佩兰   | 3  |
| 11                                                    | 肉桂   | 6  | 24 | 草果   | 3  |
| 12                                                    | 檀香   | 6  | 25 | 川芎   | 3  |
| 13                                                    | 薄荷   | 6  | 26 | 红花   | 2  |
|                                                       |      |    | 27 | 乳香   | 2  |
|                                                       |      |    | 28 | 甘草   | 2  |
|                                                       |      |    | 29 | 吴茱萸  | 2  |
|                                                       |      |    | 30 | 贯众   | 2  |
|                                                       |      |    | 31 | 羌活   | 2  |
|                                                       |      |    | 32 | 山药   | 2  |
|                                                       |      |    | 33 | 高良姜  | 2  |
|                                                       |      |    | 34 | 白芍   | 2  |
|                                                       |      |    | 35 | 桂枝   | 2  |
|                                                       |      |    | 36 | 三七   | 2  |
|                                                       |      |    | 37 | 白术   | 2  |
|                                                       |      |    | 38 | 菊花   | 2  |

表 2 香囊处方中高频次药物组合

| Table 2 High-frequency medicine combinations in sachet prescriptions |         |    |    |             |    |
|----------------------------------------------------------------------|---------|----|----|-------------|----|
| 序号                                                                   | 药物模式    | 频次 | 序号 | 药物模式        | 频次 |
| 1                                                                    | 白芷, 苍术  | 8  | 9  | 细辛, 丁香      | 6  |
| 2                                                                    | 藿香, 苍术  | 8  | 10 | 苍术, 檀香      | 5  |
| 3                                                                    | 艾叶, 苍术  | 7  | 11 | 苍术, 丁香      | 5  |
| 4                                                                    | 艾叶, 藿香  | 7  | 12 | 藿香, 石菖蒲     | 5  |
| 5                                                                    | 艾叶, 白芷  | 6  | 13 | 艾叶, 白芷, 苍术  | 5  |
| 6                                                                    | 白芷, 藿香  | 6  | 14 | 艾叶, 藿香, 苍术  | 5  |
| 7                                                                    | 苍术, 石菖蒲 | 6  | 15 | 白芷, 藿香, 苍术  | 5  |
| 8                                                                    | 细辛, 苍术  | 6  | 16 | 藿香, 苍术, 石菖蒲 | 5  |

表 3 香囊方中药物组合的关联规则分析

| Table 3 Association rule analysis of herb combinations in sachet prescriptions |            |       |    |            |       |
|--------------------------------------------------------------------------------|------------|-------|----|------------|-------|
| 序号                                                                             | 关联规则       | 置信度   | 序号 | 关联规则       | 置信度   |
| 1                                                                              | 檀香→苍术      | 0.833 | 12 | 艾叶, 藿香→苍术  | 0.714 |
| 2                                                                              | 艾叶, 白芷→苍术  | 0.833 | 13 | 藿香→艾叶      | 0.700 |
| 3                                                                              | 白芷, 藿香→苍术  | 0.833 | 14 | 丁香→细辛      | 0.667 |
| 4                                                                              | 苍术, 石菖蒲→藿香 | 0.833 | 15 | 艾叶→苍术      | 0.636 |
| 5                                                                              | 藿香→苍术      | 0.800 | 16 | 艾叶→藿香      | 0.636 |
| 6                                                                              | 石菖蒲→苍术     | 0.750 | 17 | 石菖蒲→藿香     | 0.625 |
| 7                                                                              | 细辛→苍术      | 0.750 | 18 | 白芷, 苍术→艾叶  | 0.625 |
| 8                                                                              | 细辛→丁香      | 0.750 | 19 | 藿香, 苍术→艾叶  | 0.625 |
| 9                                                                              | 白芷→苍术      | 0.727 | 20 | 藿香, 苍术→白芷  | 0.625 |
| 10                                                                             | 艾叶, 苍术→白芷  | 0.714 | 21 | 白芷, 苍术→藿香  | 0.625 |
| 11                                                                             | 艾叶, 苍术→藿香  | 0.714 | 22 | 藿香, 苍术→石菖蒲 | 0.625 |

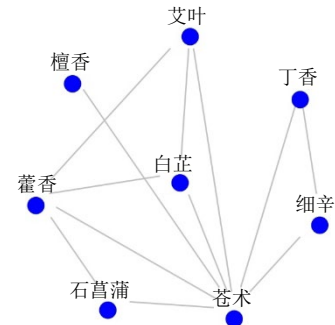


图 2 香囊方中高频中药的关联规则网络

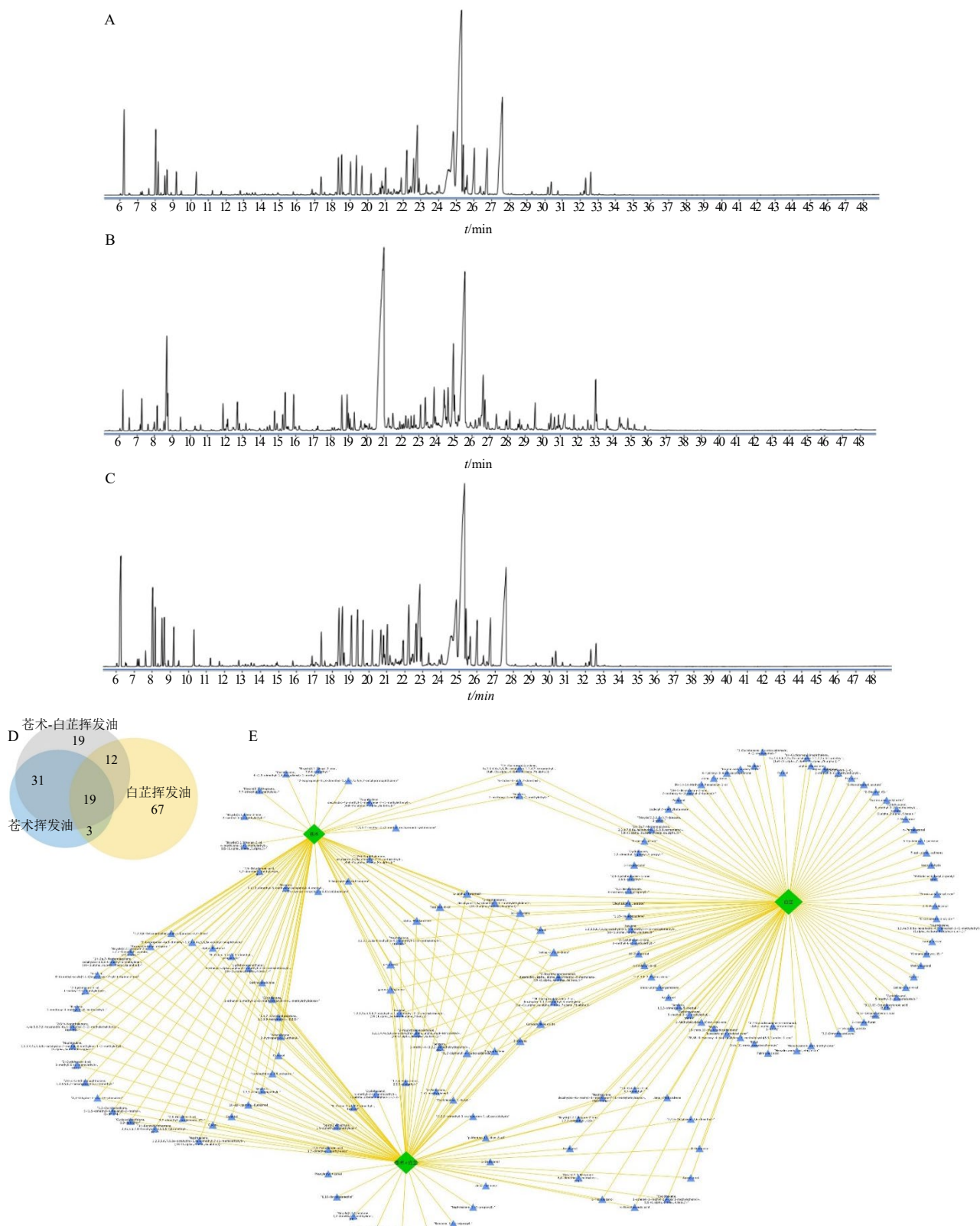
Fig. 2 Association rules network for high-frequency herbs in sachet prescriptions

锐度阈值设置为 25%; 绝对强度阈值设置为 500 个点; 相对高度设置为 0.1%。使用 NIST 11 数据库进行自动搜库, 分数阈值为 70; 绝对强度阈值为 100 个点, 相对高度设置为 0.5%。化合物名称按照数据库中打分顺序, 默认名称为排在第 1 的化合物, 异构体比照文献进行核对。分析苍术、白芷及苍术-白芷挥发油的成分及相对含量。苍术挥发油鉴定出 66 个成分, 白芷挥发油中鉴定出 101 个成分, 苍术-白芷挥发油鉴定出 81 个成分, 其中 3 组挥发油中具有 19 个共有成分。苍术-白芷挥发油与苍术挥发油具有 31 个共有成分; 与白芷挥发油具有 12 个共有成分; 19 个新产生成分。具体信息见图 3。

**2.2.5 挥发油活性成分分析** 通过 PubChem 数据库分别检索苍术、白芷和苍术-白芷挥发油成分对应的 Canonical SMILES (线性结构表达式) 信息, 输入 FAFdrugs4, 通过 ADMET [吸收 (absorption)、分布 (distribution)、代谢 (metabolism)、排泄 (excretion)、毒性 (toxicity)] 信息预测具有药效特征的活性成分。苍术、白芷和苍术-白芷挥发油中分别筛选出具有药效特征的活性成分为 31 个、50 个和 38 个, 汇总去重复后共计 79 个活性成分。其中 3 组挥发油中具有 9 个共有活性成分。苍术-白芷挥发油与苍术挥发油具有 16 个共有活性成分; 与白芷挥发油具有 4 个共有活性成分; 9 个新产生成分。见图 4。以上数据检索年限为数据库建库至 2025 年 4 月。

**2.3 中药香囊药对“苍术-白芷”挥发油对 HNEpC 上 TLR3/ACE2/sIgA 轴的影响分析**

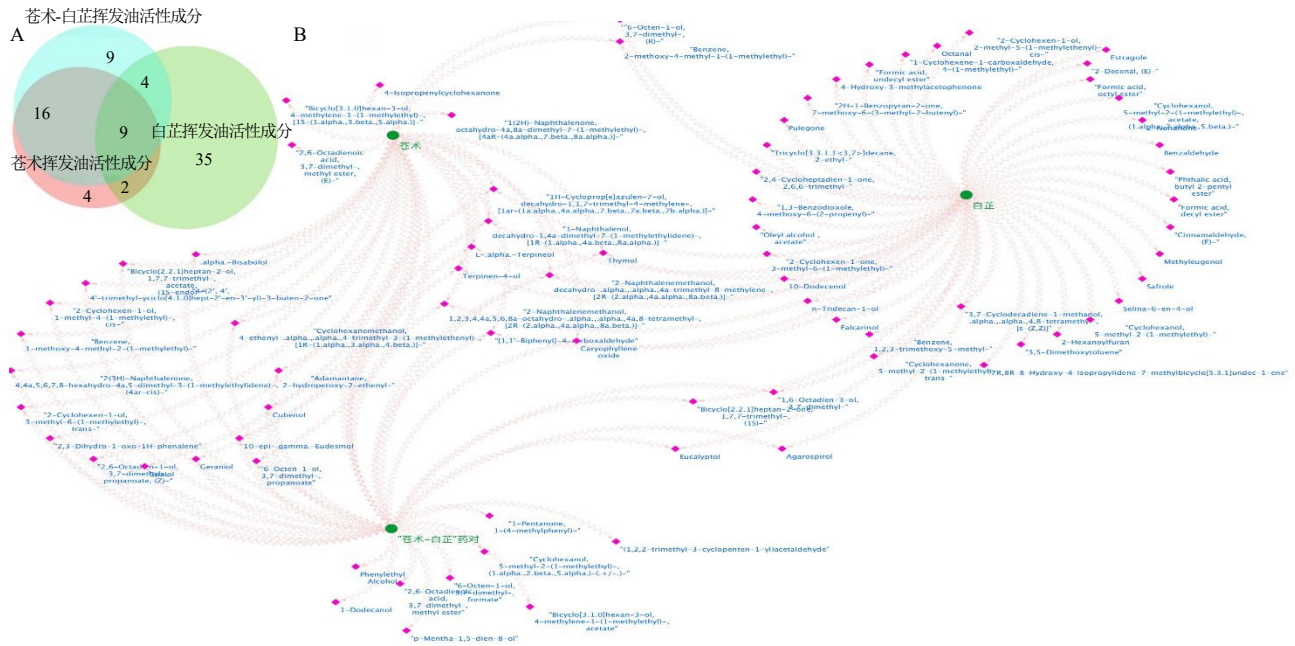
ACE2 在 HNEpC 上高表达, 其功能具有显著的“双重性”——既是介导 SARS-CoV-2 等呼吸道病毒入侵的关键受体 (体现“邪秽/病原入侵”), 又



A-苍术挥发油色谱图; B-白芷挥发油色谱图; C-苍术-白芷挥发油色谱图; D-各组挥发油成分交集韦恩图; E-各组挥发油成分交集网络图。  
A-chromatogram of *Atractylodis Rhizoma* volatile oil; B-Chromatogram of *Angelicae Dahuricae Radix* volatile oil; C-chromatogram of *Atractylodis Rhizoma*-*Angelicae Dahuricae Radix* volatile oil; D-Venn diagram of the intersection of volatile oil components in each group; E-network diagram of intersection of volatile oil components in each group.

图 3 苍术-白芷挥发油成分分析

Fig. 3 Composition analysis of volatile oil from *Atractylodis Rhizoma*-*Angelicae Dahuricae Radix*



A-各组挥发油活性成分交集韦恩图；B-各组挥发油活性成分交集网络图。

A-Venn diagram of intersection of active components in volatile oils from each group; B-network diagram of intersection of active components of volatile oils in each group.

图 4 苍术-白芷挥发油中活性成分分析

Fig. 4 Analysis of bioactive components in volatile oil of *Atractylodis Rhizoma-Angelicac Dahuricae Radix*

参与降解 AngII 以调控局部炎症平衡（体现“免疫调节/正气”的维持）<sup>[5-9]</sup>。TLR3 作为 HNEpC 识别 dsRNA 的核心模式识别受体，是启动抗病毒天然免疫应答的关键前哨分子，且与 ACE2 的表达/激活状态存在复杂的内在关联<sup>[10-14]</sup>。sIgA 作为黏膜适应性免疫的核心效应分子，直接介导病原体的中和与清除<sup>[13]</sup>，是鼻黏膜“正气充盈”（屏障功能健全）的核心生物标志物。基于此，本研究将 TLR3（病原感知）、ACE2（入侵控制与免疫调节枢纽）和 sIgA（防御效应执行）整合为“感知-调节-效应”轴（TLR3/ACE2/sIgA 轴）。该轴涵盖病原识别（TLR3）→入侵与内稳态调控（ACE2 的双重性）→免疫清除（sIgA）的完整通路，其内在关联（如 TLR3 激活对 ACE2 的调控）为研究鼻黏膜免疫防御的动态机制提供了核心框架。

**2.3.1 细胞培养、分组、造模及给药浓度筛选** HNEpC 经胰酶消化后，用 EMEM 完全培养基调整细胞密度为  $5 \times 10^5$  个/mL，以每孔 100  $\mu$ L 接种于 96 孔板中，置于 37  $^{\circ}\text{C}$  含 5%  $\text{CO}_2$  恒温培养箱培养 24 h。

实验分为空白组、模型组、苍术挥发油组、白芷挥发油组、苍术-白芷挥发油组，每组 4 个复孔。

用 EMEM 基础培养基将 5 mg/mL LPS 稀释至 5  $\mu\text{g/mL}$ ，除空白组外，余组每孔加入稀释后的 LPS 100  $\mu\text{L}$ ，放入培养箱培养 72 h 造模。

造模后，用 EMEM 基础培养基将白芷挥发油、苍术挥发油、苍术-白芷挥发油配制成不同浓度梯度（250、500、1 000  $\mu\text{g/mL}$ ），按每孔 100  $\mu\text{L}$  加入到对应组的细胞孔内，置于 37  $^{\circ}\text{C}$  培养箱培养 24 h，进行药物干预。空白组和模型组则加入等体积的 EMEM 培养基。

**2.3.2 CCK-8 法检测细胞存活率** 向每孔加入 10  $\mu\text{L}$  CCK8 溶液，将培养板用锡箔纸包裹放入培养箱中，避光孵育 1 h。用酶标仪测定在 450 nm 处的吸光度（A）值，计算细胞存活率。

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

结果显示，模型组可显著抑制 HNEpC 的细胞活性（ $P < 0.01$ ）。与模型组比较，各挥发油组可显著提高 HNEpC 的细胞存活率（ $P < 0.01$ ），尤其以 500  $\mu\text{g/mL}$  剂量组的效果显著（ $P < 0.01$ ），而且在相同的剂量（500  $\mu\text{g/mL}$ ）下，苍术-白芷挥发油效果最显著。40 $\times$ 物镜下随机选择 3 个以上视野拍照，并采用细胞成像分析法观察细胞形态结构的变化，见图 5。结果显示，空白组细胞贴壁良好，形态正



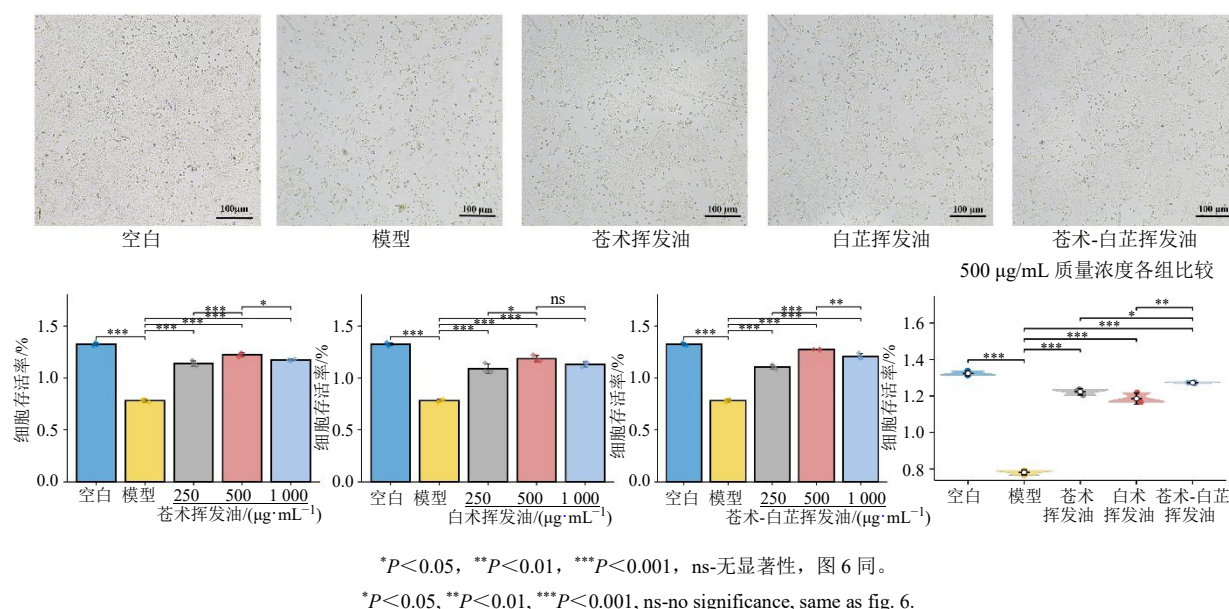


图 5 各组挥发油对细胞存活率的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3; \times 200$ )

Fig. 5 Effect of volatile oils from each group on cell survival rate ( $\bar{x} \pm s, n=3; \times 200$ )

常, 连接紧密; 模型组细胞出现大量变圆、收缩和脱落, 贴壁细胞显著减少, 可见大量细胞碎片, 表明 LPS 建模成功。与模型组相比, 各给药组均显示出不同程度的保护效应。苍术挥发油组和白芷挥发油组的细胞脱落减少, 形态有所恢复, 而苍术-白芷挥发油组 (500 µg/mL) 的细胞形态改善最为明显, 其细胞贴壁、伸展状态及密度均最接近空白组, 进一步佐证了 CCK-8 的实验结果, 即苍术-白芷对细胞活性具有最佳的保护效果。

**2.3.3 Western blotting 检测 sIgA、ACE2、TLR3 蛋白表达** 按照 Western blotting 分析方法检测每组 500 µg/mL 剂量下 sIgA、ACE2、TLR3 的蛋白表达量。分别取每组挥发油 500 µg/mL 剂量下的细胞至 2 mL 离心管中, 加入裂解液 200 µL, 冰上充分裂解。4 °C、12 000 r/min 离心 15 min。转移上清至新的离心管。然后应用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度, 浓度确定后经凝胶电泳后转膜、封闭, 后加入一抗 (1:1 000) 4 °C 孵育过夜, 滴加二抗 (1:2 000) 室温孵育 2 h。滴加化学发光检测试剂反应后上机显色。最后使用 Image J 软件分析蛋白条带灰度值, 计算各组蛋白的相对表达水平。

结果显示, 与空白组比较, 模型组的 sIgA 表达明显下降 ( $P<0.05$ ); 挥发油干预后, 各组 sIgA 表达出现明显上调 ( $P<0.01$ ), 尤其以苍术-白芷挥发油组的效果显著 ( $P<0.01$ )。与空白组比较, 模型组的 ACE2、TLR3 表达明显上调 ( $P<0.001$ ); 挥

发油干预后, 各组 ACE2、TLR3 表达呈现下降趋势, 白芷挥发油和白芷挥发油无显著差异, 苍术-白芷挥发油的效果显著 ( $P<0.001$ )。见图 6。

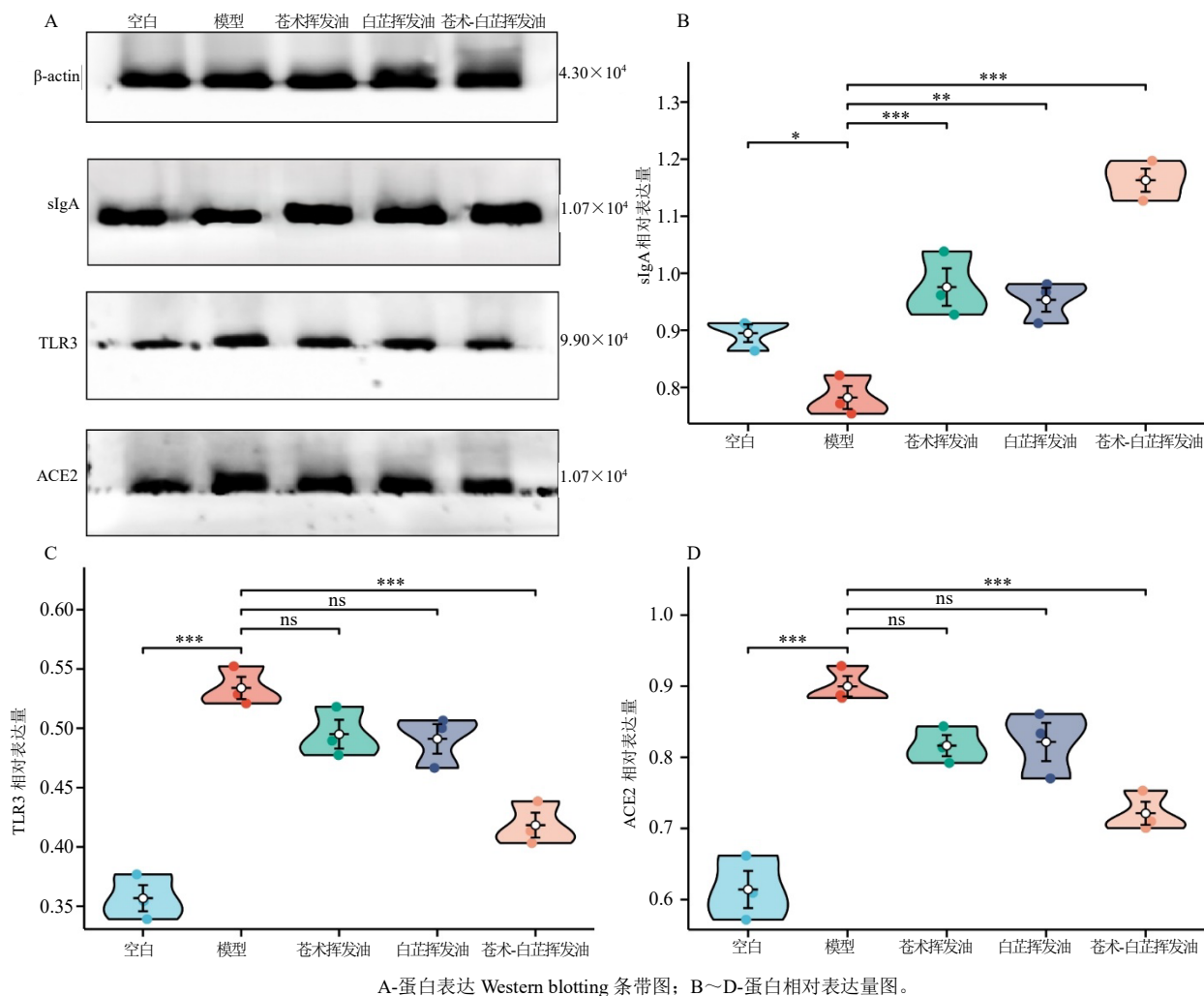
**2.3.4 统计学方法** 实验数据采用 SPSS 22.0 统计软件分析, 以  $\bar{x} \pm s$  表示数据结果, 采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 进行组间数据比较。

## 2.4 中药香囊药对“苍术-白芷”挥发油对 LPS 诱导免疫抑制 HNEpC 模型影响的代谢组学分析

**2.4.1 差异代谢物筛选和多元统计分析** 综合药效结果, 苍术-白芷挥发油组的效果更显著, 故以空白组、模型组、苍术-白芷挥发油组作进一步代谢组学分析。

(1) 色谱条件: 采用 Vanquish 超高效液相色谱系统 (Thermo Fisher Scientific), 配备 Waters ACQUITY UPLC BEH Amide 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.7 µm); 流动相为含 25 mmol/L 乙酸铵和 25 mmol/L 氨水的水溶液 (A)-乙腈 (B); 梯度洗脱: 0~3.5 min, 95% A; 3.5~6.0 min, 95%~85% A; 6.0~12 min, 85%~70% A; 12~18 min, 70%~30% A; 18~25 min, 30%~0 A。自动进样器温度 4 °C; 进样体积 2 µL。

(2) 质谱条件: 采用 Orbitrap Exploris 120 质谱仪, 在 Xcalibur 软件 (版本 4.4) 控制下进行一级、二级质谱数据采集; 离子源为 ESI 源; 正离子模式喷雾电压 3.8 kV, 负离子模式-3.4 kV; 鞘气流量 50 arb, 辅助气流量 15 arb; 毛细管温度 320 °C; 全扫



A-蛋白表达 Western blotting 条带图; B~D-蛋白相对表达量图。  
A-Western blotting band diagram of protein expression; B-D-diagrams of protein relative expression levels.

图 6 各组挥发油对 sIgA、ACE2、TLR3 蛋白表达的影响

Fig. 6 Effects of volatile oils from each group on protein expression of sIgA, ACE2, and TLR3

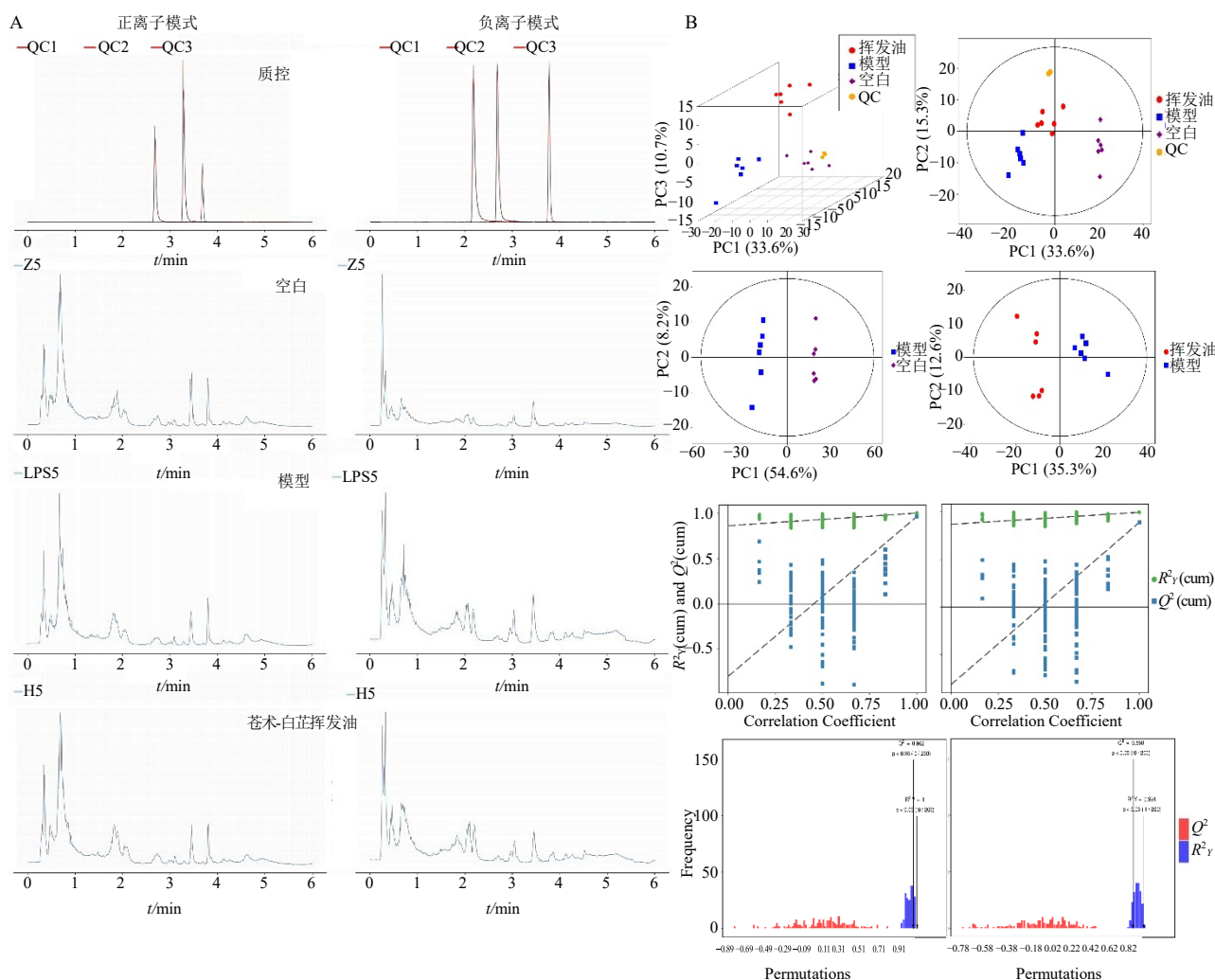
描分辨率 60 000, 二级扫描分辨率 15 000; 碰撞能量为 10、30、60 eV (NCE 模式)。

(3) 数据处理: 原始数据经 ProteoWizard 软件转成 mzXML 格式后, 使用百趣生物 (www.biotree.cn) 自主编写的 R 程序包 (内核为 XCMS) 进行峰识别、峰提取、峰对齐和积分等处理, 然后与 Biotree DB(V2.1) 自建二级质谱数据库匹配进行物质注释, 算法打分的 Cutoff 值设为 0.3。

(4) 化学模式识别: 每组取 6 个样本, 并设 3 个质控组。如图 7-A 所示, 共提取 12 057 个峰, 经过数据预处理后保留 9 655 个峰, 整体轮廓存在一定的差异。使用 SIMCA 软件 (V16.0.2, Sartorius Stedim Data Analytics AB, Umea, Sweden), 对数据进行对数 (log) 转换加中心化 (CTR) 格式化处理, 然后进行自动建模分析。在主成分分析 (principal

components analysis, PCA) 得分图中, 各组样本均有明显的聚类趋势; 为进一步评价药效差异, 对每组样本进行有监督的偏最小二乘判别分析 (partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA), 样本数据均呈现有效区分度, 组间存在显著差异; 置换检验结果柱状图均显示  $P < 0.05$ , 说明模型最优, 见图 7-B。筛选变量投影重要性 (variable importance projection, VIP) 值  $\geq 1$ 、 $P < 0.05$  的差异代谢物。利用人类代谢组数据库 (human metabolome database, HMDB) 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 数据库鉴定代谢物信息。

**2.4.2 差异代谢物鉴定及通路分析** 采用 OPLS-DA 模型第 1 主成分的 VIP  $> 1$ , 并结合  $t$  检验的  $P < 0.05$  来寻找差异代谢物, 以火山图的形式进行可视化。



A-离子流图; B-多元统计分析。

A-ion current diagram; B-multivariate statistical analysis.

图 7 各组差异代谢物筛选及多元统计分析

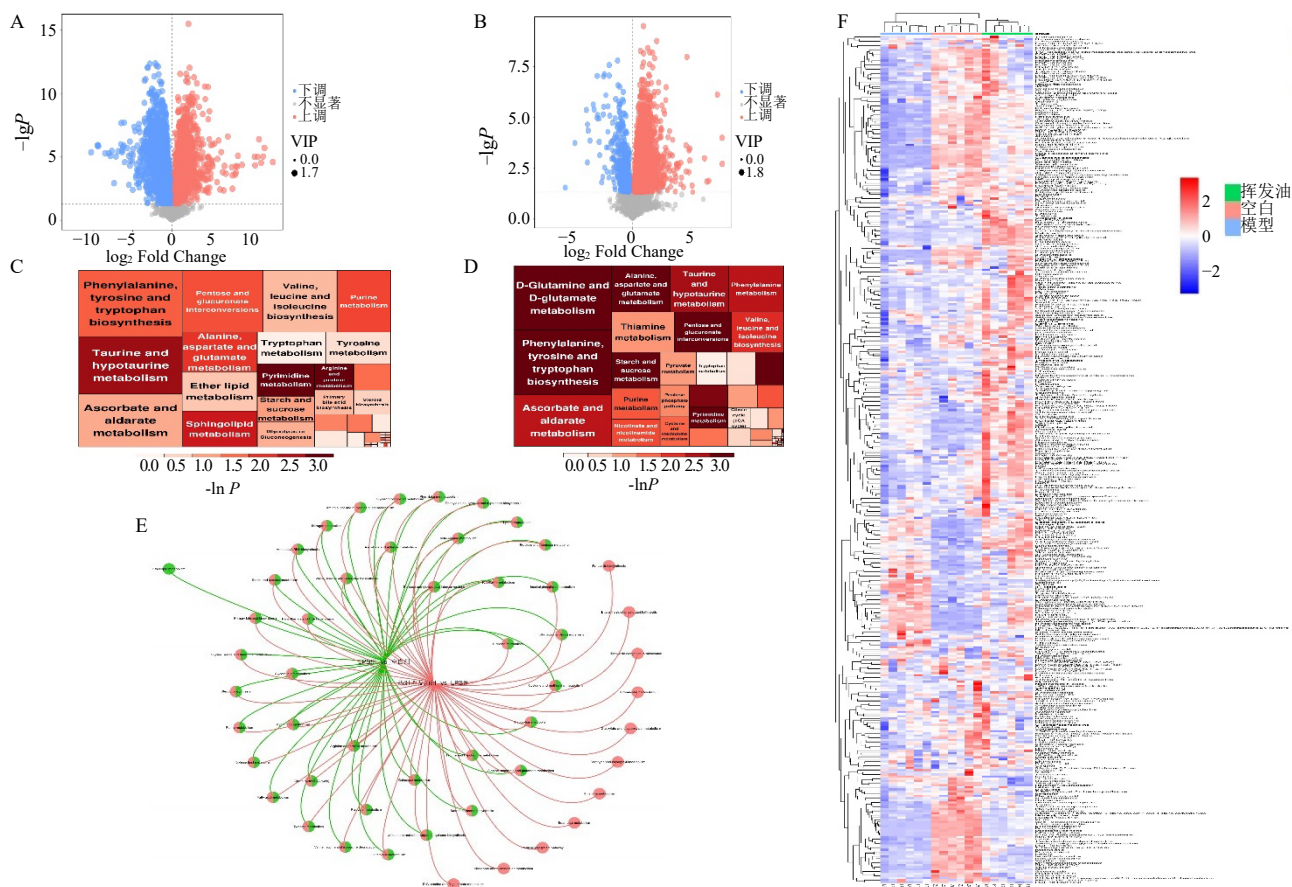
Fig. 7 Screening of differential metabolites in each group and multivariate statistical analysis

进一步将各组差异代谢物按照定量值计算欧式距离矩阵,分别进行组间层次聚类分析,筛选显著差异代谢物,以热图进行可视化。整体分 2 类效应组,第 1 类效应组结果显示,模型组与对照组有 205 个差异代谢物,为免疫低下 HNEpC 模型的生物标志物,主要富集在嘧啶代谢 (pyrimidine metabolism)、精氨酸与脯氨酸代谢 (arginine and proline metabolism)、牛磺酸与亚牛磺酸代谢 (taurine and hypotaurine metabolism)、鞘脂代谢 (sphingolipid metabolism) 及丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢 (alanine, aspartate and glutamate metabolism) 等 40 条代谢通路上;第 2 类效应组结果显示,苍术-白芷挥发油组与模型组有 191 个差异代谢物,为挥发油影响免疫低下 HNEpC 模型的生物标志物,主要富

集在嘧啶代谢、淀粉与蔗糖代谢 (starch and sucrose metabolism)、精氨酸与脯氨酸代谢、氮代谢 (nitrogen metabolism) 及丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢等 50 条代谢通路上;2 类效应组共有 39 条为交集代谢通路,为苍术-白芷挥发油组作用于免疫低下 HNEpC 模型的主要代谢通路。见图 8。

2 类效应组具有 126 个交集差异代谢物,为挥发油影响免疫抑制 HNEpC 模型的生物标志物。进一步分析可知,有 56 个代谢物显著上调,主要富集在鞘脂代谢、精氨酸生物合成 (arginine biosynthesis)、嘧啶代谢、核黄素代谢 (riboflavin metabolism)、嘌呤代谢 (purine metabolism)、甘油磷脂代谢 (glycerophospholipid metabolism)、抗坏血酸与醛糖酸代谢 (ascorbate and aldarate metabolism)、戊糖与葡萄





A-模型组与空白组差异代谢物火山图；B-模型组与苍术-白芷挥发油组差异代谢物火山图；C-模型组与空白组差异代谢物通路富集分析；D-模型组与苍术-白芷挥发油组差异代谢物通路富集分析；E-2 类效应组交集代谢通路分析；F-代谢物表达热图。

A-volcano plot of differential metabolites between model group and control group; B-volcano plot of differential metabolites between model group and *Atractylodis Rhizoma-Angelicae Dahuricae Radix* volatile oil group; C-pathway enrichment analysis of differential metabolites between model group and control group; D-pathway enrichment analysis of differential metabolites between model group and *Atractylodis Rhizoma-Angelicae Dahuricae Radix* volatile oil group; E-analysis of overlapping metabolic pathways in class two effect groups; F-heatmap of metabolite expression levels.

图 8 各组差异代谢物鉴定及通路分析

Fig. 8 Identification and pathway analysis of differential metabolites in each group

糖醛酸相互转化 (pentose and glucuronate interconversions)、酪氨酸代谢 (tyrosine metabolism) 等 28 条代谢通路上；有 5 个显著下调的代谢物，主要富集在戊糖与葡萄糖醛酸相互转化、硫辛酸代谢 (lipoic acid metabolism)、嘧啶代谢、类固醇生物合成 (steroid biosynthesis) 等 4 条代谢通路。见图 9。

### 2.4.3 代谢通路关联生物效应分析

(1) 挥发油活性成分关联生物靶点分析：将 79 个活性成分的 Canonical SMILES 信息分别输入 STITCH、SwissTargetPrediction、SEA、TCMSP 数据库，进行化合物靶点预测，共预测出 552 个靶点。其中苍术 333 个、白芷 473 个、药对 372 个，三者共有靶点 284 个。构建“中药-活性成分-靶点”关联属性，导入 Cytoscape\_v3.6.0 软件进行网络拓扑分析可视化，见图 10。

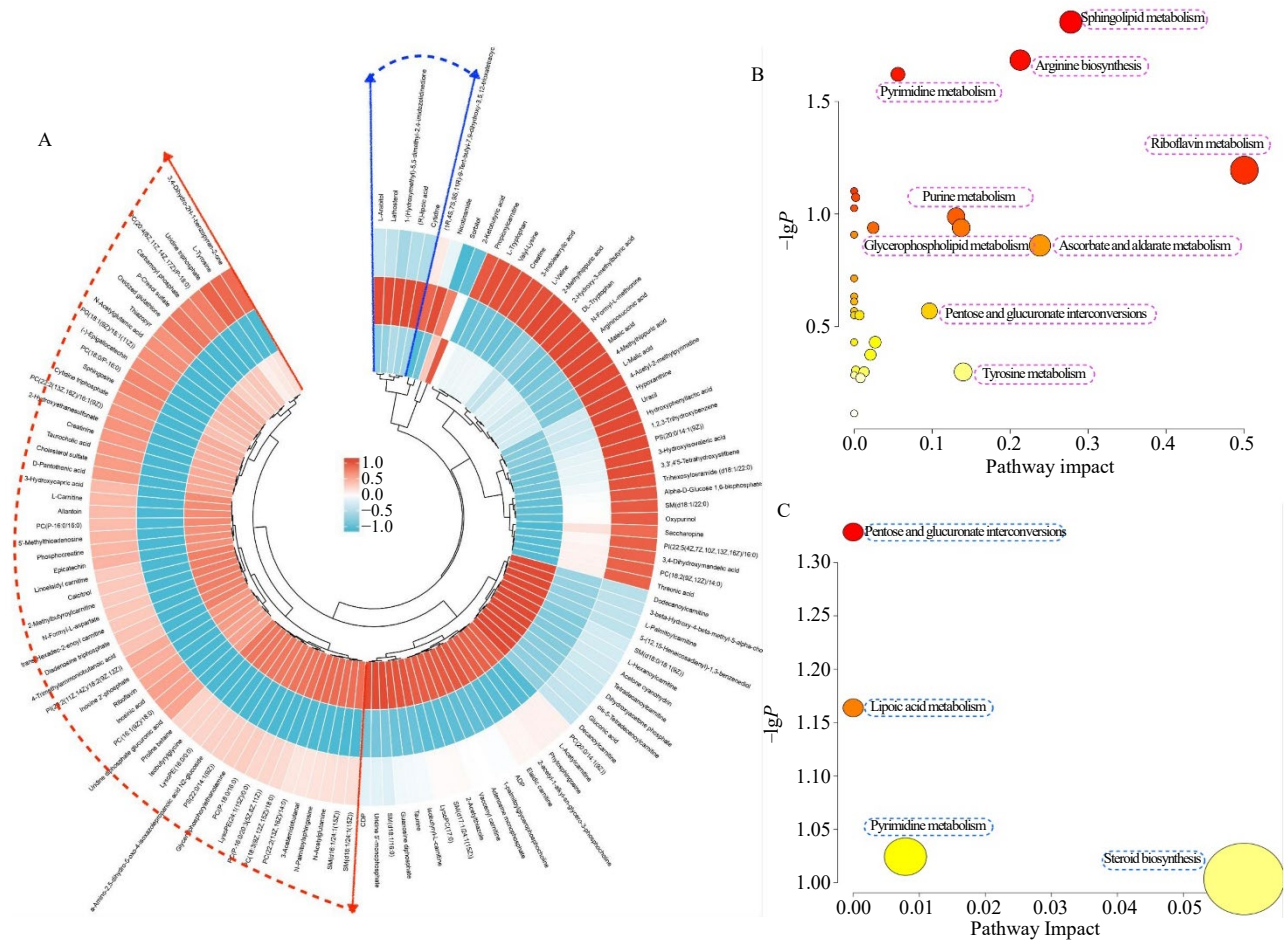
(2) HNEpC 关联生物靶点分析：通过

DisGeNET、GeneCards 数据库，以“human nasal epithelial cells”为关键词检索 GeneCards 数据库，以靶点在疾病中的相关性评分 (relevance scores) > 0 为条件进行筛选，获取 HNEpC 关联靶点 11 810 个。

(3) 代谢通路关联生物靶点分析：将 39 条交集代谢通路分别输入 KEGG PATHWAY Database 平台 (<https://www.kegg.jp/kegg/pathway.html>)，查询关联生物基因信息，共获得 39 条交集代谢通路相关机制靶点 1 101 个。

(4) 挥发油活性成分作用于 HNEpC 的潜在代谢靶点生物效应分析：将代谢通路靶点与 HNEpC 靶点和苍术-白芷挥发油活性成分靶点取交集，共获得 62 个交集靶点，为苍术-白芷挥发油作用于 HNEpC 产生相关代谢通路效应的潜在靶点，见图 11-A。将 62 个交集靶点导入 String 数据库，以相互





A-苍术-白芷挥发油影响免疫抑制 HNEpC 模型代谢生物标志物分析; B-上调代谢物通路富集分析; C-下调代谢物通路富集分析。  
A-Analysis of metabolic biomarkers in immunosuppressive HNEpC model affected by *Atractylodis Rhizoma-Angelicae Dahuricae Radix* volatile oil; B-enrichment analysis of up-regulated metabolite pathways; C-enrichment analysis of down-regulated metabolite pathways.

图9 苍术-白芷挥发油影响免疫抑制 HNEpC 模型的生物标志物及其代谢途径分析

**Fig. 9** Analysis of biomarkers and metabolic pathways of *Atractylodis Rhizoma-Angelicae Dahuricae Radix* volatile oil affecting immunosuppressed HNEpC model

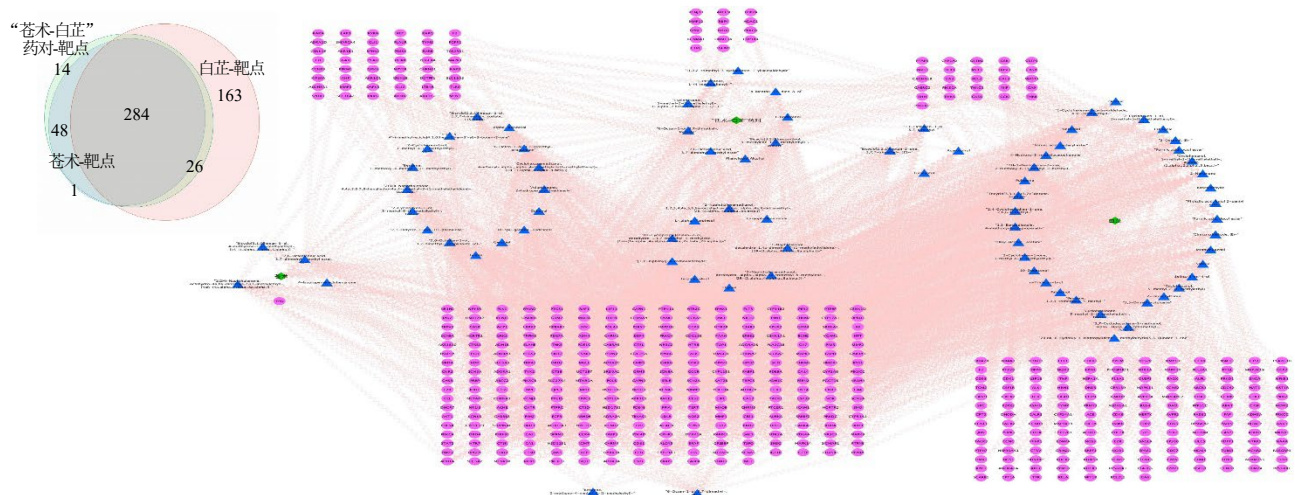
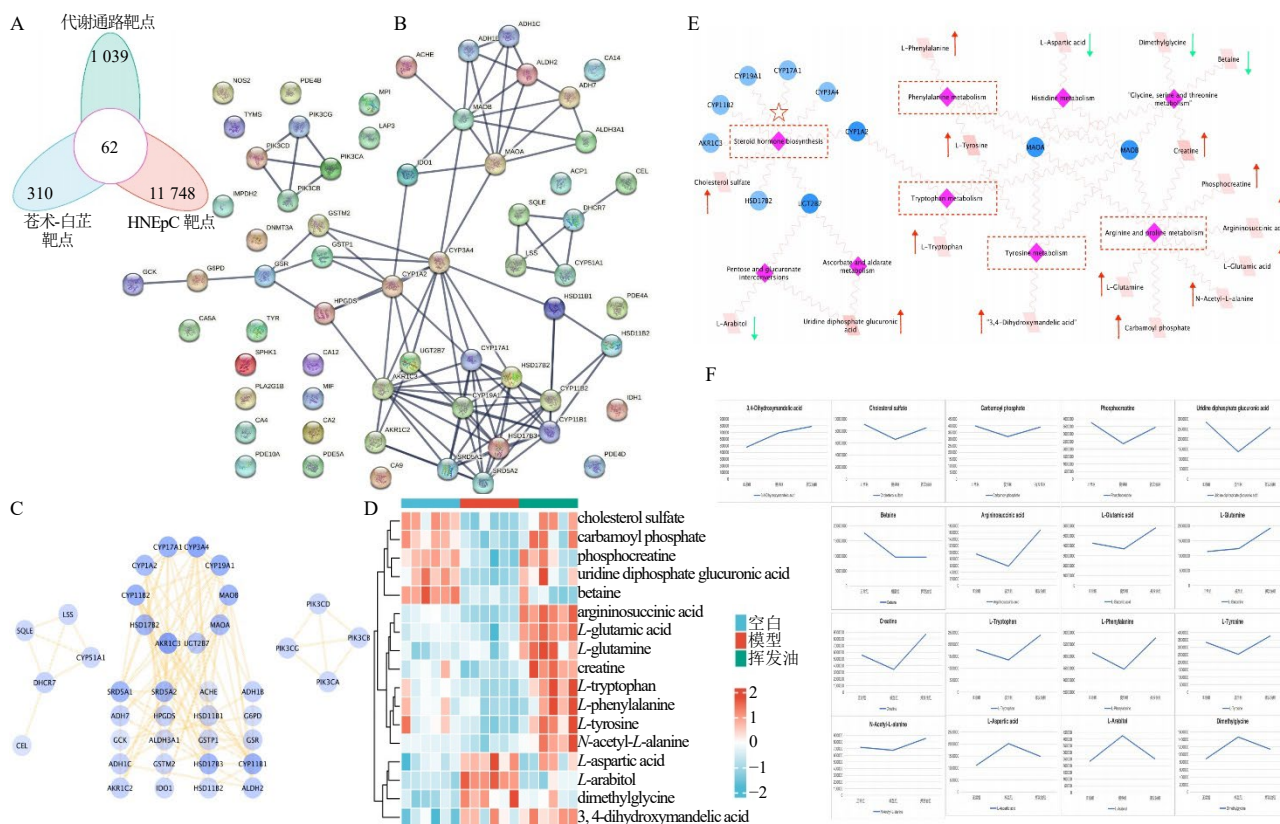


图 10 苍术-白芷挥发油“活性成分-靶点”网络分析

**Fig. 10** Network analysis of “active components-targets” of volatile oil from *Atractylodis Rhizoma-Angelicae Dahuricae Radix*



A-“苍术-白芷挥发油-HNEpC-代谢通路”靶点交集韦恩图；B-苍术-白芷挥发油作用于 HNEpC 的代谢通路靶点 PPI 网络；C-紧密相关代谢通路靶点蛋白互作网络图；D-靶点关联代谢物含量热图；E-“代谢物-靶点-代谢通路”网络图；F-代谢物表达折线图。

A-Venn diagram of target intersections of “*Atractylodis Rhizoma-Angelicac Dahuricae Radix* volatile oil-HNEpC-metabolic pathway”; B-PPI network of metabolic pathway targets of *Atractylodis Rhizoma-Angelicac Dahuricae Radix* volatile oil acting on HNEpC; C-protein-protein interaction network diagram of targets in closely related metabolic pathways; D-heat map of content of metabolites associated with targets; E-“metabolite-target-metabolic pathway” network diagram; F-line graph of metabolite expression.

图 11 苍术-白芷挥发油作用于 HNEpC 的代谢靶点效应分析

Fig. 11 Analysis of metabolic target effects of volatile oil from *Atractylodis Rhizoma-Angelicac Dahuricae Radix* on HNEpC

作用分数 (interaction score) 为 0.900 获取靶点蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络 (图 11-B), 共获取紧密关联靶点 39 个; 以度值、介数中心度值、接近中心度值为参照, 筛选排名前 10 的靶点作为关键靶点, 依次为细胞色素 P450 3A4 (cytochrome P450 family 3 subfamily A member 4, CYP3A4)、醛酮还原酶家族 1 成员 C3 (aldo-keto reductase family 1 member C3, AKR1C3)、CYP1A2、CYP17A1、CYP19A1、单胺氧化酶 B (monoamine oxidase B, MAOB)、羟类固醇 17 $\beta$ -脱氢酶 2 (hydroxysteroid 17 $\beta$ -dehydrogenase 2, HSD17B2)、单胺氧化酶 A (monoamine oxidase A, MAOA)、CYP11B1、CYP11B2 (图 11-C)。构建“关键代谢靶点-代谢通路-代谢物”关联属性 (图 11-E), 导入 Cytoscape\_v3.6.0 软件进行网络拓扑分析可视化, 可见 10 个关键代谢通路靶点共关联 9 条代谢通路,

17 个代谢物, 与之关联的核心代谢物为尿苷二磷酸葡萄糖醛酸 (uridine diphosphate glucuronic acid)、L-阿拉伯糖醇 (L-arabitol)、L-天冬氨酸 (L-aspartic acid)、N,N-二甲基甘氨酸 (dimethylglycine)、甜菜碱 (betaine)、3,4-二羟基扁桃酸 (3,4-dihydroxymandelic acid)、L-酪氨酸 (L-tyrosine)、L-苯丙氨酸 (L-phenylalanine)、磷酸肌酸 (phosphocreatine)、N-乙酰-L-丙氨酸 (N-acetyl-L-alanine)、肌酸 (creatine)、L-谷氨酸 (L-glutamic acid)、精氨酸琥珀酸 (argininosuccinic acid)、氨基甲酰磷酸 (carbamoyl phosphate)、L-谷氨酰胺 (L-glutamine)、L-色氨酸 (L-tryptophan)、硫酸胆固醇 (cholesterol sulfate), 为苍术-白芷挥发油活性成分调节免疫抑制 HNEpC 模型的关键代谢物及代谢通路。17 个代谢物表达热图见图 11-D, 整体呈现促进趋势见图 11-F。

## 2.5 中药香囊药对“苍术-白芷”挥发油作用于 HNEpC 的“免疫-代谢”互作鼻黏膜效应分析

**2.5.1 挥发油活性成分关联 HNEpC 免疫防御效应分析** 将药对挥发油活性成分的 372 靶点与 11 810 个 HNEpC 关联靶点取交集,共获得 310 个交集靶点,为苍术-白芷挥发油作用于 HNEpC 的潜在靶点。

将 310 个交集靶点导入 String 数据库,以 interaction score 为 0.900 获取靶点 PPI 网络,共获取紧密关联靶点 216 个,主要富集到与烯烃化合物、含氧化合物、氮化合物、有机环状化合物及细胞对以上成分的反应相关生物过程;进一步将 216 个紧密关联靶点导入 Metascape 数据库进行生物功能富集分析,设置筛选条件为  $P < 0.01$ 、错误发现率(false discovery rate, FDR)  $< 0.01$ 。结果显示,216 个靶点主要富集到细胞对氮化合物的响应 (cellular response to nitrogen compound)、癌症中的信号通路 (pathways in cancer)、注意缺陷多动障碍与自闭症谱系障碍通路 (ADHD and autism ASD pathways)、细胞对有机环化合物的响应 (cellular response to organic cyclic compound)、激素水平的调控 (regulation of hormone levels)、类固醇代谢过程 (steroid metabolic process)、对外源刺激的响应 (response to xenobiotic stimulus)、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 级联的调控 (regulation of MAPK Cascade)、化学致癌-受体激活 (chemical carcinogenesis-receptor activation)、血液循环 (blood circulation) 等生物功能上,为苍术-白芷挥发油作用于 HNEpC 影响鼻黏膜的潜在生物功能。见图 12。

进一步在富集到的 2 705 条生物功能中,以“defense”为关键词筛选与防御相关的生物功能,共得到防御反应的负调控 (negative regulation of defense response)、防御反应中的呼吸爆发 (respiratory burst involved in defense response)、防御反应的正调控 (positive regulation of defense response)、行为防御反应 (behavioral defense response)、对细菌的防御反应 (defense response to bacterium) 5 条相关途径,关联 35 个靶点,占总靶点的 16.2%。见图 13-A。

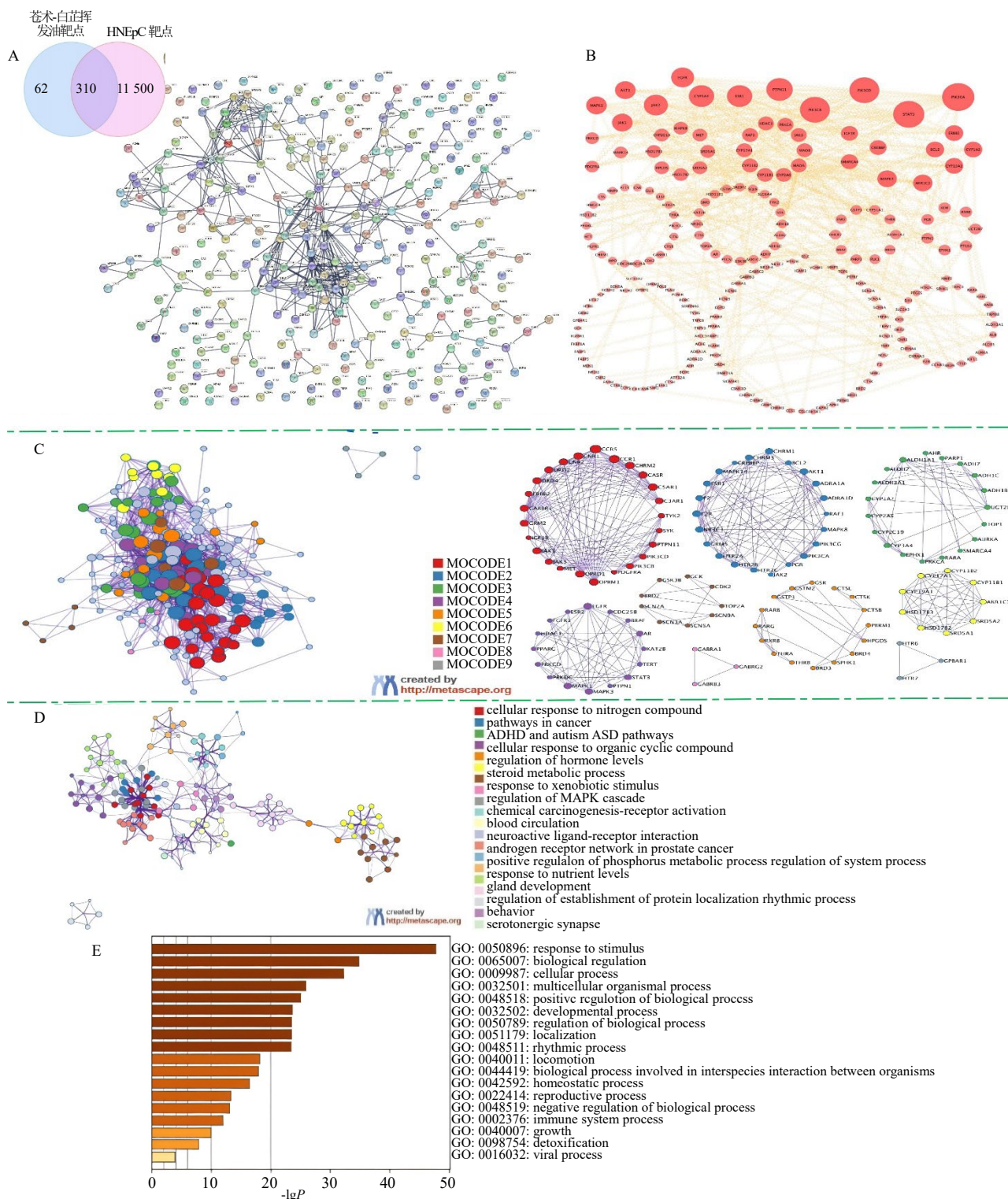
将 35 个防御靶点导入 Metascape 数据库进行生物功能富集分析,得到 969 条生物功能,与免疫反应的调节相关。进一步以“immune”为关键词筛选与免疫相关的生物功能,得到 28 条相关通路,关

联 30 个靶点,占防御靶点的 85.7%;以度值、中心度值、接近中心度值为条件参数,排名前 10 的靶点依次是脾酪氨酸激酶 (spleen tyrosine kinase, SYK)、一氧化氮合酶 2 (nitric oxide synthase 2, NOS2)、磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸 3-激酶催化亚基  $\delta$  (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit delta, PIK3CD)、蛋白激酶 C  $\delta$  型 (protein kinase C delta, PRKCD)、蛋白激酶 DNA 激活催化亚基 (protein kinase DNA-activated catalytic subunit, PRKDC)、组织蛋白酶 S (cathepsin S, CTSS)、环磷酸腺苷效应元件结合蛋白结合蛋白 (cAMP-response element binding protein binding protein, CREBBP)、核受体亚家族 1 H 组成员 4 (nuclear receptor subfamily 1 group H member 4, NR1H4)、MAPK8、B 细胞淋巴瘤 2 (B-cell lymphoma 2, BCL2),为苍术-白芷挥发油作用于 HNEpC 影响鼻黏膜免疫防御作用的潜在关键靶点,见图 13-B。

**2.5.2 挥发油作用于 HNEpC 发挥免疫防御效应的核心成分分析** 将 30 个免疫防御靶点映射到“中药-活性成分-靶点”网络,发现与 38 个成分有关联;构建网络拓扑关系,以度值、中心度值、接近中心度值为条件参数,排名前 10 的成分见表 4,为苍术-白芷挥发油作用于 HNEpC 发挥鼻黏膜免疫防御作用的核心成分,主要为酯类、醇类和酮类成分,见图 13-C。以上数据检索年限为数据库建库至 2025 年 4 月。

**2.5.3 挥发油核心成分对 HNEpC 上 TLR3/ACE2/sIgA 轴影响的分子对接分析** 进一步将苍术-白芷挥发油作用于 HNEpC 发挥鼻黏膜免疫防御作用的核心成分与关键靶点及 TLR3、ACE2 进行分子对接,以验证核心成分对 HNEpC 上 TLR3/ACE2/sIgA 轴的影响。从 PubChem 数据库下载核心成分的配体 3D 结构,并在 Chem3D 软件上进行 MM2 力场最小化,以优化力学结构。从 PDB 数据库下载分辨率较高的受体晶体结构,并用 PyMOL 软件对其进行去除水分子、分离蛋白和小分子处理;通过 PDB 数据库中对对应蛋白晶体的链接文献提供结合位点信息,计算分子对接中心位置的坐标 (X, Y, Z)。应用 AutoDock vina 软件进行分子对接,对接参数为 Grid size:  $X = 100$ 、 $Y = 100$ 、 $Z = 100$ , Spacing = 0.375, Num\_modes = 10。将结合最好的结果保存为 pdb 文件,导入 PLIP 网站确定结合位点,并下载 Pymol 格式的结果文件,运用 PyMOL 软件进行对接结果的可





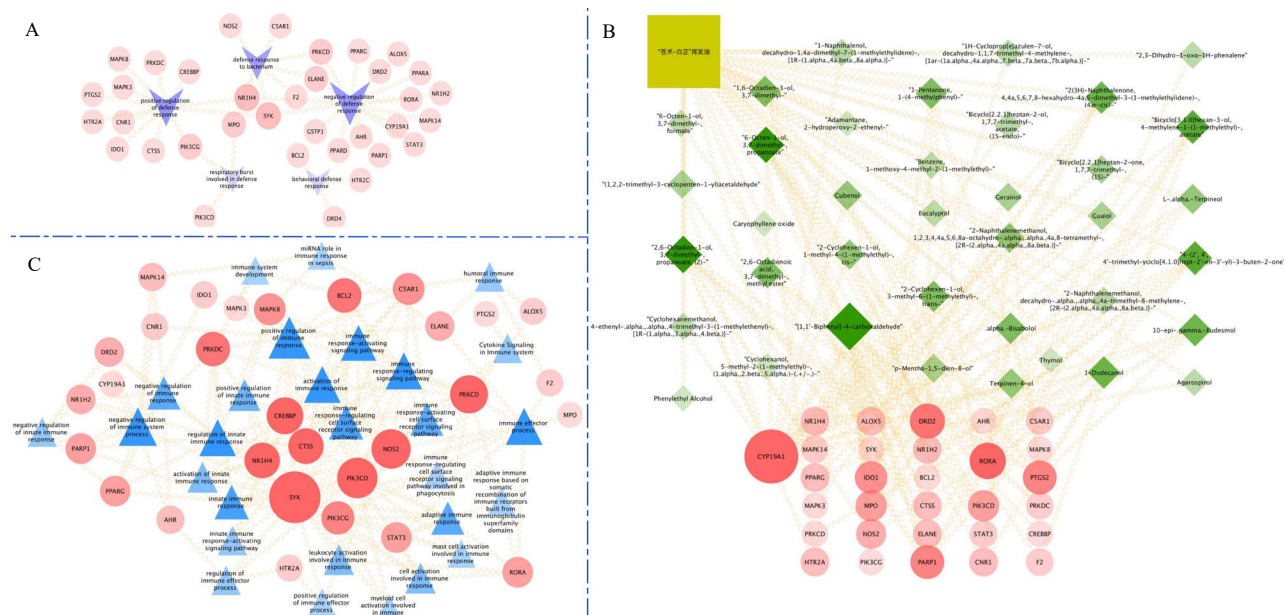
A-“苍术-白芷挥发油-HNEpC”靶点交集韦恩图；B-苍术-白芷挥发油作用于 HNEpC 的靶点 PPI 网络；C-紧密相关靶点 PPI 网络图；D-苍术-白芷挥发油作用于 HNEpC 靶点的 Metascape 数据库 PPI 网络；E-基于 Metascape 数据库的紧密相关靶点生物功能富集。

A-Venn diagram of target intersections of “*Atractylodis Rhizoma-Angelicac Dahuricae Radix* volatile oil-HNEpC”; B-PPI network of targets of *Atractylodis Rhizoma-Angelicac Dahuricae Radix* volatile oil acting on HNEpC; C-PPI network diagram of closely related targets; D-PPI network of targets of *Atractylodis Rhizoma-Angelicac Dahuricae Radix* volatile oil acting on HNEpC from Metascape database; E-biological function enrichment of closely related targets based on Metascape database.

图 12 苍术-白芷挥发油活性成分作用于 HNEpC 的潜在生物效应分析

Fig. 12 Analysis of potential biological effects of active components in volatile oil from *Atractylodis Rhizoma-Angelicac Dahuricae Radix* on HNEpC





A-苍术-白芷挥发油的 HNEpC 防御效应“靶点-通路”网络；B-苍术-白芷挥发油的 HNEpC 免疫防御效应“靶点-通路”网络；C-苍术-白芷挥发油的 HNEpC 免疫防御效应“靶点-成分”网络。

A-“target-pathway” network of defensive effect of *Atractylodis Rhizoma-Angelicac Dahuricae Radix* volatile oil on HNEpC; B-“target-pathway” network of immune defensive effect of *Atractylodis Rhizoma-Angelicac Dahuricae Radix* volatile oil on HNEpC; C-“target-component” network of immune defensive effect of *Atractylodis Rhizoma-Angelicac Dahuricae Radix* volatile oil on HNEpC.

图 13 苍术-白芷挥发油作用于 HNEpC 发挥免疫防御作用的活性成分效应分析

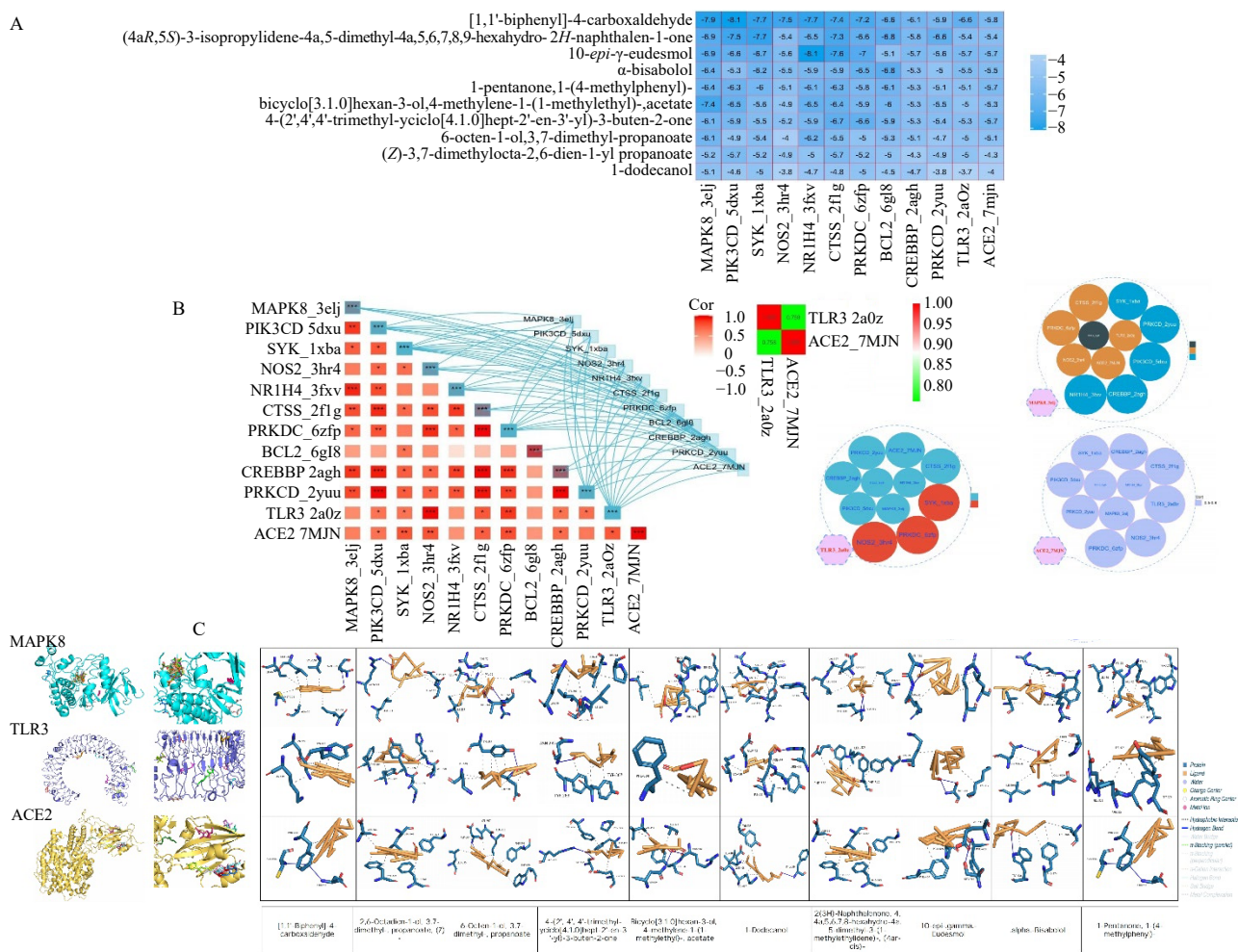
Fig. 13 Effect analysis of active component in volatile oil from *Atractylodis Rhizoma-Angelicac Dahuricae Radix* on HNEpC in exerting immune defense functions

表 4 苍术-白芷挥发油调节 HNEpC 免疫防御效应的核心成分信息

Table 4 Information of core component in volatile oil from *Atractylodis Rhizoma-Angelicac Dahuricae Radix* on HNEpC in regulating immune defense effect

| 序号 | 化合物英文名称                                                                            | 化合物中文名称                                      | 分类  | 分子式                                            | 相对百分含量/% | 网络拓扑数据 |       |    |
|----|------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|-----|------------------------------------------------|----------|--------|-------|----|
|    |                                                                                    |                                              |     |                                                |          | 中心度    | 接近中心度 | 度  |
| 1  | [1,1'-biphenyl]-4-carboxaldehyde                                                   | [1,1'-联苯]-4-甲醛                               | 脂肪醛 | C <sub>13</sub> H <sub>8</sub> ClFO            | 2.31     | 0.215  | 0.511 | 18 |
| 2  | (Z)-3,7-dimethylocta-2,6-dien-1-yl propanoate                                      | (Z)-3,7-二甲基-2,6-亚辛基-1-醇丙酸酯                   | 酯类  | C <sub>13</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub> | 0.09     | 0.061  | 0.463 | 10 |
| 3  | 6-octen-1-ol-3,7-dimethyl-propanoate                                               | 6-辛烯-1-醇-3,7-二甲基丙酸酯                          | 酯类  | C <sub>13</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub> | 0.17     | 0.059  | 0.456 | 9  |
| 4  | 4-(2',4',4'-trimethyl-yciclo[4.1.0]hept-2'-en-3'-yl)-3-buten-2-one                 | 4-(2',4',4'-三甲基-1,2-庚烯-3'-基)-3-丁烯-2-酮        | 酮类  | C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> O              | 2.19     | 0.047  | 0.444 | 7  |
| 5  | bicyclo[3.1.0]hexan-3-ol-4-methylene-1-(1-methylethyl)- acetate                    | 双环[3.1.0]己-3-醇-4-亚甲基-1-(1-甲基乙基)-乙酸酯          | 酯类  | C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub> | 0.12     | 0.038  | 0.444 | 7  |
| 6  | 1-dodecanol                                                                        | 月桂醇                                          | 醇类  | C <sub>12</sub> H <sub>26</sub> O              | 1.80     | 0.050  | 0.439 | 6  |
| 7  | (4aR,5S)-3-isopropylidene-4a,5-dimethyl-4a,5,6,7,8,9-hexahydro-2H-naphthalen-1-one | (4aR,5S)-4a,5-二甲基-3-亚异丙基-5,6,7,8-四氢-4H-萘-2-酮 | 酮类  | C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O              | 0.34     | 0.046  | 0.439 | 6  |
| 8  | 10-epi-γ-eudesmol                                                                  | 表桉叶油醇                                        | 萜类  | C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O              | 3.09     | 0.024  | 0.439 | 6  |
| 9  | α-bisabolol                                                                        | α-红没药醇                                       | 醇类  | C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O              | 1.16     | 0.041  | 0.433 | 5  |
| 10 | 1-pentanone 1-(4-methylphenyl)                                                     | 4-甲基苯戊酮                                      | 酮类  | C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O              | 0.03     | 0.024  | 0.433 | 5  |

或螺旋间隙(图 14-C), 且其结合构象较为相似: 主要通过疏水作用与一系列非极性残基[如苯丙氨酸(PHE)、亮氨酸(LEU)、酪氨酸(TYR)、脯氨酸(PRO)、异亮氨酸(ILE)等]结合, 并通过氢键与极性残基[如谷氨酸(GLU)]形成稳定结合。sIgA 已被证实是鼻黏膜适应性免疫的核心效应分子<sup>[17]</sup>, 其分泌受上游信号(TLR3-MAPK 通路)调控。对接结果表明, 挥发油核心成分可同时靶向结合 TLR3/免疫防御靶点/ACE2(图 14-C), 结合前述实验结果(挥发油下调 TLR3/ACE2 并提升 sIgA), 分子对接进一步从结构互作层面支持了苍术-白芷挥发油通过调控 TLR3/ACE2 轴影响下游 sIgA 分泌的潜在机制(即作用于整条通路的多个关键节点)。



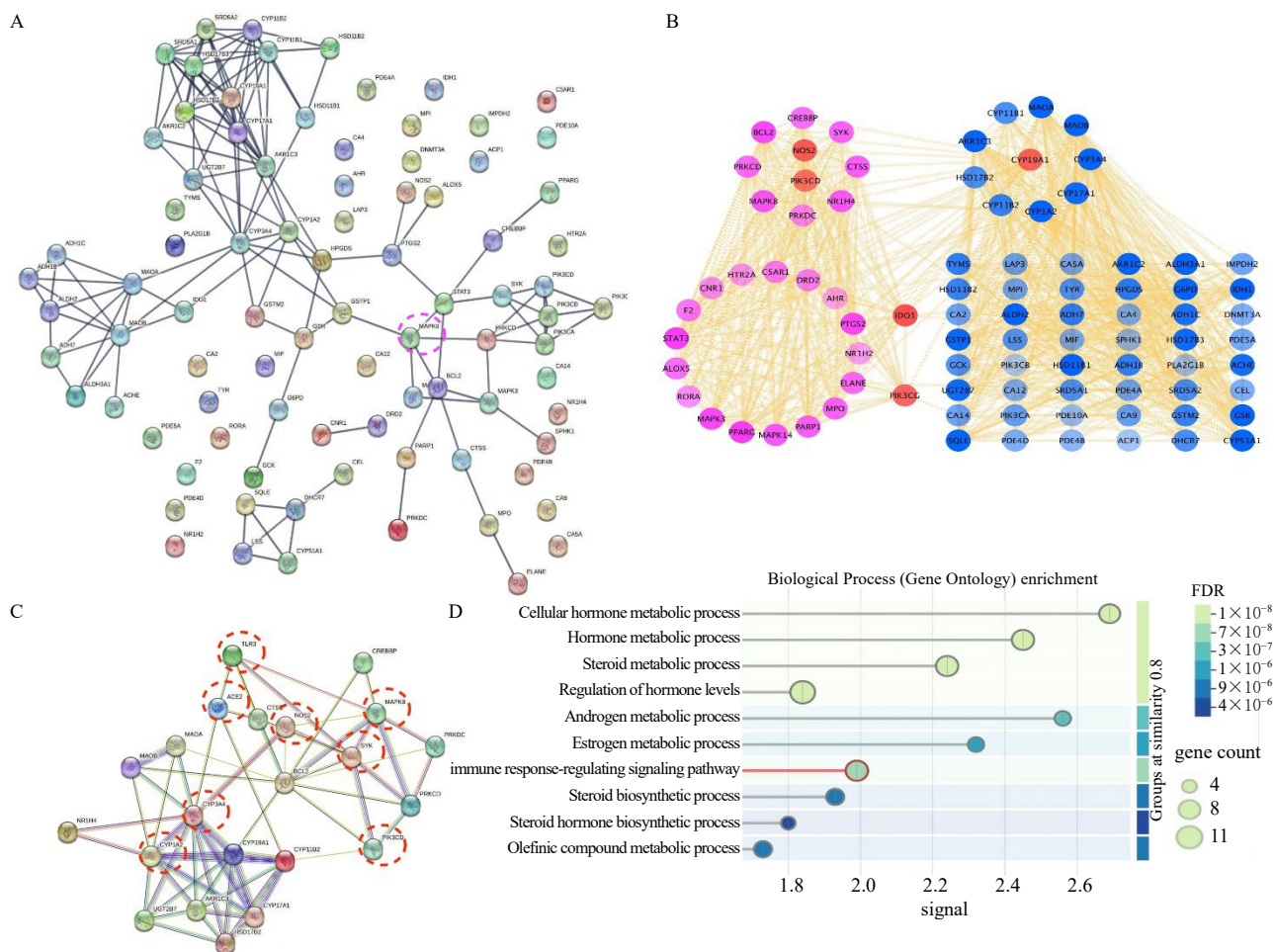
A-heat map of molecular docking scores; B-target correlation analysis; C-molecular docking structure diagram and binding site diagram.

**Fig. 14** Molecular docking analysis of effects of core components in volatile oil from *Atractylodis Rhizoma-Angelicae Dahuricae Radix* on TLR3/ACE2/sIgA axis in HNEpC



**2.5.4 挥发油活性成分关联 HNEpC 上“TLR3-ACE2-代谢”网络的免疫防御效应整合分析** 将 62 个代谢效应靶点与 30 个免疫防御靶点合并, 获得苍术-白芷挥发油调节 HNEpC “免疫-代谢”效应的靶点集合, 其中磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸 3-激酶催化亚基  $\gamma$  (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit gamma, PIK3CG)、PIK3CD、NOS2、吲哚胺 2,3-双加氧酶 1 (indoleamine 2,3-dioxygenase 1, IDO1)、CYP19A1 为共有靶点, 汇总整合后为 87 个靶点。将 87 个靶点导入 String 数据库, 可见免疫防御靶点与代谢效应靶点具有 PPI

关系, 并且显示 MAPK8 的关键调控作用, 证实苍术-白芷挥发油作用于免疫抑制 HNEpC 模型的“免疫-代谢”效应。进一步将免疫防御效应关键靶点与代谢通路关键靶点合并输入 String 数据库, 显示 2 类靶点的生物学效应关系。通过 String 数据库进行 PPI 分析, 将苍术-白芷挥发油作用于 HNEpC 发挥免疫防御作用的 10 个关键靶点、10 个代谢过程关键靶点与 ACE2、TLR3 整合分析, 进一步显示苍术-白芷挥发油作用于 HNEpC 通过 ACE2/TLR3 轴靶点调控, 代谢重编程后发挥潜在鼻黏膜免疫防御的作用。见图 15。



A-苍术-白芷挥发油调节 HNEpC “免疫-代谢”效应的靶点集合 PPI 网络; B-苍术-白芷挥发油调节 HNEpC “免疫-代谢”效应的靶点网络; C-“免疫-代谢”效应的关键靶点与 ACE2 和 TLR3 整合互作网络; D-“免疫-代谢-ACE2-TLR3”靶点网络生物功能富集。

A-PPI network of target sets for regulation of HNEpC “immune-metabolism” effects by volatile oils from *Atractylodis Rhizoma-Angelicae Dahuricae Radix*; B-target network for regulation of HNEpC “immune-metabolism” effects by volatile oils from *Atractylodis Rhizoma-Angelicae Dahuricae Radix*; C-integrated interaction network between key targets of “immune-metabolism” effects and ACE2 and TLR3; D-biological function enrichment of “immune-metabolism-ACE2-TLR3” target network.

图 15 苍术-白芷挥发油作用于 HNEpC 上“TLR3-ACE2-代谢”网络的免疫防御效应整合分析

Fig. 15 Integrative analysis of immune defense effects of volatile oil from *Atractylodis Rhizoma-Angelicae Dahuricae Radix* on “TLR3-ACE2-metabolism” network in HNEpC



### 3 讨论

21 世纪全球最严重的 2 次疫情的暴发, 凸显重大传染病防控的紧迫性, 而中医药在此过程中展现出独特优势<sup>[19-20]</sup>。“芳香辟秽”作为中医核心防疫理论, 《本草正义》记载: “芳香辟秽, 胜四时不正之气”, 强调通过芳香物质固护人体“正气”(免疫防御)以抵御“外邪”(病原体)。这一理念在《神农本草经百种录》中进一步升华为“香者气之正, 正气盛则除邪辟秽”, 从气化层面诠释了免疫防御的本质。课题组前期研究证实, 香囊作为“芳香辟秽”理论的载体, 其挥发油可通过鼻黏膜屏障增强“正气”<sup>[2]</sup>; 而现代研究揭示, TLR3-ACE2 轴正是衔接“芳香辟秽-免疫防御”的关键靶标: TLR3 识别病毒 dsRNA, 启动干扰素通路(正气激活); ACE2 介导病毒入侵, 调控炎症平衡(外邪入侵与内稳态调节)。研究显示, TLR3 信号传导直接驱动免疫代谢重编程(如 PI3K 通路调控能量代谢)<sup>[3-14]</sup>, 这为阐释“芳香辟秽”的深层机制提供了全新视角——挥发油可能通过代谢重编程重塑 TLR3-ACE2 免疫稳态。因此, 本研究整合代谢组学技术揭示香囊药对苍术-白芷挥发油经鼻黏膜“免疫-代谢”双维度调控实现“芳香辟秽”作用的科学本质。

基于中国知网文献计量学主题聚类分析(图 1)显示, 中药香囊的现代应用与 COVID-19 紧密联系, 挥发油是主要的物质基础。香囊中的挥发性成分可能通过提升机体免疫力和改善呼吸道健康来发挥预防感染的作用。这为中药香囊在 COVID-19 等呼吸系统传染性疾病预防中的应用提供了重要的理论依据和实践支持<sup>[1,21-23]</sup>。同时, 文献分析亦印证了香囊作为中医“治未病”实践的现代价值——《素问·四气调神大论》强调“圣人不治已病治未病”, 晋代葛洪《内篇·地真》曰: “消未起之患, 医之于无事之前”。结果亦显示, 香囊的预防作用主要在呼吸系统感染性疾病中发挥, 并凸显了鼻作为作用起始点的重要性, 鼻黏膜作为关键屏障, 其免疫机制(如上皮细胞反应)是未来研究的潜力所在<sup>[24]</sup>。这种“经鼻代谢免疫调控”的模式, 正是“香者气之正, 正气盛则除邪辟秽”理论在现代生物学维度的体现——挥发油经鼻黏膜吸收后, 通过代谢重编程重塑免疫防御屏障, 为“芳香辟秽”理论中“未病先防”的理念提供分子诠释。

关键药物的确定是方剂研究的核心, 有助于明确方剂的主要用途和治疗方向, 并揭示药物与病症的关系, 指导临床实践<sup>[25-26]</sup>。药对是方剂最小的组成

单位, 其形成基于中医药理论, 由 2 味中药组成的独特配伍。药对如桥梁一般, 将单味中药与方剂联系起来, 体现了方剂组成的核心<sup>[27-28]</sup>。利用 TCMISS 数据库对 91 首香囊处方进行中药频次及关联规则分析, 结果表明, 香囊处方涉及 284 味中药, 排名前 5 的中药依次为苍术、白芷、艾叶、藿香和丁香, 其中“苍术-白芷”为核心药对。苍术和白芷均具香气, 属于芳香中药<sup>[15]</sup>。苍术性燥烈芳香, 具有燥湿健脾、祛风除湿的功效, 《本草正义》述: “苍术, 芳香辟秽, 胜四时不正之气; 故时疫之病多用之”。白芷解表散寒、燥湿止带, 《本草纲目》载: “白芷, 色白味辛, 行手阳明; 性温气厚, 行足阳明; 芳香上达, 入手太阴肺经”。《本草正义》曰: “白芷, 气味辛温, 芳香特甚, 最能燥湿”。苍术和白芷配伍常用于辟秽防疫, 《清嘉录》言: “男女佩戴辟瘟丹, 或焚于室中, 益以苍术、白芷、大黄、芸香之属, 皆以辟疫祛毒”。因此, 本研究以中药香囊现代应用特征与规律为指引, 将苍术-白芷、挥发油、HNEpC 确立为香囊通过“芳香辟秽”发挥免疫防御效应的研究对象。

中药的药效以化学成分为物质基础<sup>[29]</sup>。复方作用本质是单味药活性组分与配伍新生化合物共同构成的“有效物质组群”协同效应<sup>[30]</sup>, 通过 GC-MS 解析苍术、白芷及其药对挥发油成分发现, 苍术、白芷及其药对挥发油中既具有单味药的独有成分, 亦有共有成分, 说明中药配伍后挥发性成分也可以发生化学反应, 产生新的化学成分<sup>[31]</sup>, 均为香囊配伍后发挥作用的有效物质组群。鼻黏膜是覆盖鼻腔内部的黏膜组织, 由上皮层(最表层)、固有层(结缔组织)和黏膜下层(腺体/血管)构成。鼻黏膜上皮细胞特指鼻黏膜表层的假复层纤毛柱状上皮细胞, 是鼻黏膜的功能核心单元, 其通过分泌 sIgA 来中和病原体, 并表达 TLR3 受体以识别病毒 RNA 并启动免疫应答<sup>[3-4,10-11]</sup>。作为鼻黏膜屏障与免疫功能的核心执行者, HNEpC 通过调控关键效应分子维持黏膜稳态。本研究以 sIgA(黏膜免疫防御分子)<sup>[32]</sup>、ACE2(病毒入侵受体)和 TLR3(炎症信号放大器)为靶标, 发现 LPS 刺激可破坏三者平衡: 显著抑制 sIgA 表达, 同时上调 ACE2/TLR3 表达。LPS 是革兰阴性菌外膜的主要成分, 作为强有力的免疫刺激剂<sup>[33-35]</sup>, 其作用机制可能与激活 Toll 样受体 4(toll-like receptor 4, TLR4)信号通路有关。TLR4 激活后可触发下游促炎细胞因子[如肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6(interleukin-

6, IL-6)] 的释放, 诱导强烈的炎症反应<sup>[36]</sup>。这种过度炎症一方面可直接破坏上皮屏障功能, 抑制 sIgA 信号的产生, 导致“免疫疲惫”状态; 另一方面, 研究显示 LPS 通过 TLR4 激活髓样分化蛋白 88 (myeloid differential protein 88, MyD88)/核因子- $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 信号通路, 进而促进上皮细胞 TLR3 的转录, 形成“细菌-病毒防御交叉”机制, 可能增加病毒易感性<sup>[36]</sup>。同时, LPS 诱导的 ACE2 上调可能通过 AngII 积累加剧炎症, 进一步损害上皮完整性。在此病理背景下, 苍术-白芷挥发油逆转 LPS 诱导的 sIgA 信号抑制。考虑到 HNEpC 主要合成 sIgA 的分泌成分 (SC/pIgR) 而非 IgA 本身, 这一结果提示挥发油可能通过上调 pIgR 表达增强 sIgA 转运能力, 而据相关研究显示, 苍术挥发油可调节免疫细胞活性<sup>[37-38]</sup>, 本研究则进一步揭示了其对黏膜免疫转运功能的影响。同时, 苍术-白芷挥发油下调 ACE2/TLR3, 则显示苍术-白芷挥发油可能通过抑制 TLR4-MyD88 信号轴, 阻断“ACE2/TLR3 $\uparrow$ →AngII 积累→上皮完整性破坏→sIgA $\downarrow$ ”的免疫抑制循环。由此可见, 苍术-白芷挥发油对鼻黏膜的 ACE2/TLR3 免疫防御效应显示出显著的调节作用, 其机制可能包括 2 方面: 一是通过抑制过度炎症反应 (如减轻 TLR4 信号通路的异常活化), 从而缓解 LPS 引发的免疫抑制状态; 二是可能直接增强上皮细胞功能, 维护黏膜屏障完整性, 从而促进 sIgA 的分泌。因此, 苍术、白芷及其药对挥发油可能提升 sIgA (维护黏膜免疫稳态, 即“正气”充盈) 与下调 ACE2/TLR3 (减少病原体入侵门户和炎症信号放大, 即“除邪”), 对鼻黏膜的免疫防御效应产生影响。这一效果契合中医“香者气之正, 正气盛则除邪辟秽”的理论内涵。

为探讨苍术-白芷挥发油作用于 HNEpC 上 ACE2/TLR3/sIgA 轴, 可能引起的鼻黏膜免疫防御效应, 本研究进行了代谢组学分析。结果显示, LPS 诱导的免疫抑制 HNEpC 模型中, 嘧啶代谢、精氨酸与脯氨酸代谢、牛磺酸代谢、鞘脂代谢及丙氨酸-天冬氨酸-谷氨酸代谢通路发生显著紊乱。经苍术-白芷挥发油干预后, 鞘脂代谢 (sphingolipid metabolism)、精氨酸生物合成 (arginine biosynthesis)、核苷酸代谢 (嘧啶/嘌呤代谢) 等关键通路呈现代谢物上调。其中核苷酸代谢 (嘧啶/嘌呤) 通路上调为 sIgA 生成提供 RNA 模板及信号分子合成基础, 支持免疫信号转录与扩增; 核苷酸代谢促进免疫信号分子 (如干

扰素、趋化因子) 的转录和释放, 间接招募并激活免疫细胞<sup>[39-41]</sup>, 实现免疫增强效应。精氨酸作为 NO 前体, 其代谢增强可提升 NO 合成效率; NO 具有直接抗菌作用, 并通过调节紧密连接蛋白增强上皮屏障完整性<sup>[39]</sup>。鞘脂 (如神经酰胺) 和甘油磷脂是细胞膜核心成分, 其代谢上调可增强上皮细胞间连接, 形成物理屏障并促进免疫突触形成<sup>[42-44]</sup>。精氨酸合成促进 HNEpC 局部抗菌作用, 鞘脂代谢加固黏膜屏障, 协同提升 sIgA 的病原体中和能力, 从而增强黏膜屏障功能。核黄素 (riboflavin, 维生素 B2) 是黄素腺嘌呤二核苷酸 (flavin adenine dinucleotide, FAD) 与黄素单核苷酸 (flavin mononucleotide, FMN) 的前体, 驱动线粒体电子传递链产生三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP), 为免疫相关蛋白合成供能<sup>[45-46]</sup>。抗坏血酸通过清除活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 减轻上皮氧化损伤, 维持免疫信号传导效率<sup>[41,47]</sup>。能量代谢增强 HNEpC 的免疫应答持续性, 抗氧化通路抑制 LPS 诱导的炎症损伤, 维持免疫稳态。此外, 挥发油干预后戊糖/糖醛酸互变、类固醇生物合成等通路显著下调: 类固醇激素 (如糖皮质激素) 可抑制 NF- $\kappa$ B 等促炎通路, 导致免疫耐受<sup>[39,47]</sup>, 其合成下调能解除免疫抑制状态, 促进 HNEpC 释放炎症信号。戊糖/糖醛酸互变是双相调节通路, 既参与核苷酸合成 (支持免疫), 也参与毒素解毒 (如 LPS 葡萄糖醛酸化)<sup>[37,42]</sup>, 其部分上调可能提供核苷酸前体, 部分下调或减少免疫抑制性代谢物。综上, 苍术-白芷挥发油可能通过多通路协同调节鼻黏膜的免疫防御效应: 正向促进 (鞘脂/精氨酸/核苷酸代谢)→增强屏障功能、sIgA 上调及免疫信号传递; 负向抑制 (类固醇代谢)→解除免疫抑制状态; 能量/抗氧化支持 (核黄素/抗坏血酸)→维持上皮细胞免疫应答持续性, 契合“芳香辟秽”的理论内核。

基于中药“成分-靶点-效应”轴解析原则<sup>[29,48-49]</sup>, 本研究构建“挥发油-代谢-免疫”三角网络模型, 揭示苍术-白芷挥发油通过 ACE2/TLR3 免疫代谢枢纽, 调控鼻黏膜防御的机制。结果显示, 苍术-白芷挥发油活性成分不但与 HNEpC 具有生物效应联系, 并且参与防御相关的生物过程, 主要涉及免疫相关途径, 提示其可通过免疫防御生物过程促进鼻黏膜 sIgA 分泌, 与“香者气之正, 正气盛则除邪辟秽”的理论内涵相符合。SYK、PIK3CD、MAPK8、NOS2 为关键免疫防御效应的调控靶点。研究显示,

SYK/PIK3CD 轴可激活 B 细胞受体信号通路, 促进浆细胞分化与 sIgA 分泌<sup>[50]</sup>; MAPK8 (JNK1) 调节 T 细胞活化与炎症平衡, 其过度激活可被 BCL2 抑制以维持细胞存活, 并调控黏液蛋白表达<sup>[51]</sup>; NOS2 催化精氨酸生成 NO, 直接杀伤病原体并增强黏膜屏障 (“除邪” 效应)<sup>[50]</sup>。代谢靶点与免疫效应呈现交互作用, 如 L-谷氨酰胺经 CYP3A4 代谢, 为免疫细胞提供碳/氮源, 支持 sIgA 合成<sup>[52]</sup>; HSD17B2 下调免疫抑制性类固醇 (如皮质醇), 解除 NF- $\kappa$ B 通路抑制<sup>[53]</sup>; 精氨酸琥珀酸提供 NO 合成前体, 协同 NOS2 增强抗菌效应<sup>[54]</sup>。“免疫-代谢” 网络具有双向整合效应, 其中, MAPK8 可磷酸化免疫靶点 (SYK) 和代谢酶 (CYP1A2), 协调防御与能量供应<sup>[55]</sup>, 为 “免疫-代谢” 交互效应的核心枢纽; 免疫防御靶点 (SYK/NOS2) 与代谢靶点 (CYP3A4) 均与 ACE2/TLR3 存在蛋白互作, 提示挥发油可能通过 ACE2/TLR3 轴调控免疫抑制。综上所述, 苍术-白芷挥发油通过 SYK-PIK3CD-MAPK8 免疫轴, 具有促进鼻黏膜 sIgA 表达的潜在作用 (“正气” 充盈), 并且经 NOS2/NO 抗菌及代谢重编程, 具有清除病原的潜在能力 (“除邪” 效应), 契合 “香者气之正, 正气盛则除邪辟秽” 理论。免疫防御靶点与代谢效应

靶点具有蛋白互作关系, 并且显示 MAPK8 具有关键调控作用, 2 种效应组的关键靶点与 ACE2、TLR3 呈现蛋白互作关系, 进一步表明苍术-白芷挥发油作用于鼻黏膜发挥免疫防御作用与 ACE2/TLR3 轴靶点调控有关。根据分子对接分析, 苍术-白芷挥发油中的关键气味活性成分如 (Z)-3,7-二甲基-2,6-亚辛基-1-醇丙酸酯、4-(2',4',4'-三甲基-1,2-庚烯-3'-基)-3-丁烯-2-酮、月桂醇等与 HNEpC 免疫防御靶点 (如 TLR3、ACE2) 展现显著结合潜力 (图 14)。这些成分通过疏水相互作用锚定靶蛋白中的非极性残基 (Phe、Leu、Tyr、Pro、Ile), 并通过氢键结合极性残基 (Glu), 提示其占据关键功能结构域。可能通过调控靶点活性 (如抑制 TLR3 过度活化、调节 ACE2 功能平衡), 促进内源性抗病毒免疫反应, 从而增强鼻黏膜防御屏障<sup>[10-13]</sup>。上述酯类、醇类、酮类成分是挥发油中典型芳香性物质<sup>[56-57]</sup>。其与免疫靶点的互作机制, 从分子层面阐释了中医 “芳香辟秽” 理论中 “香气物质 (香者气之正) → 免疫调节 (正气盛) → 清除病原 (除邪辟秽)” 的科学内涵<sup>[2]</sup>。通过以上分析, 基于 HNEpC 的 “TLR3-ACE2-代谢” 网络香囊药对 “苍术-白芷” 挥发油的鼻黏膜免疫防御效应机制见图 16。

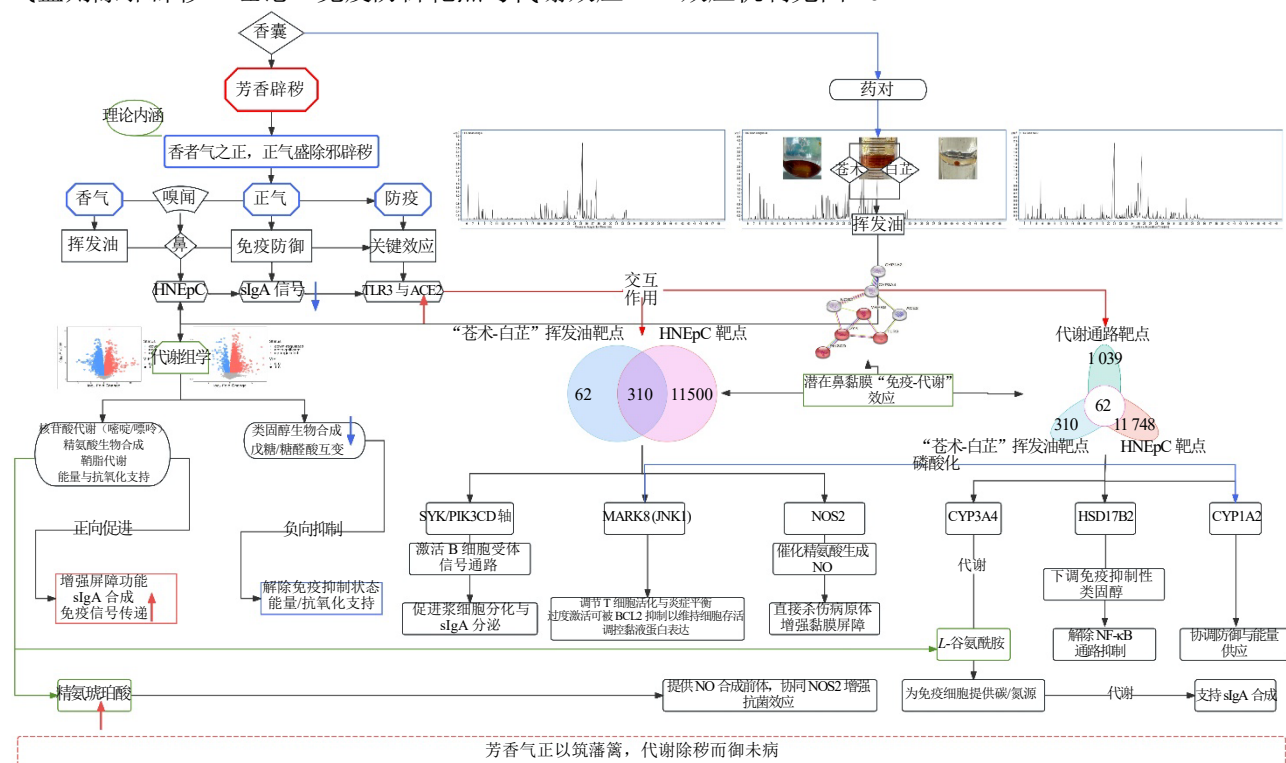


图 16 基于 HNEpC 的 “TLR3-ACE2-代谢” 网络探讨香囊药对 “苍术-白芷” 挥发油的鼻黏膜免疫防御效应

Fig. 16 Exploring nasal mucosal immune defense effect of volatile oil from sachet herb pair “*Atractylodes Rhizoma-Angelicae Dahuricae Radix*” based on “TLR3-ACE2-metabolism” network in HNEpC



香囊药对“苍术-白芷”挥发油可影响鼻黏膜的功能核心单元鼻上皮细胞的 ACE2/TLR3/sIgA 轴,显示对鼻黏膜免疫防御效应的调节。苍术-白芷挥发油通过鼻黏膜“免疫-代谢”交互作用,增强黏膜对病原体的中和能力(“正气”),并阻断病毒入侵通路(“除邪”),从分子层面诠释了香囊“芳香辟秽”作用“香-气-正”内涵的现代转化,彰显“芳香气正以筑藩篱,代谢除秽而御未病”的中医防疫智慧,为香囊基于“芳香辟秽”理论的现代化应用提供实验依据,并为呼吸道黏膜免疫防御提供新的策略。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 张询, 万娜, 黄小英, 等. 芳香中药在抗新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 中的应用 [J]. 中草药, 2021, 52(11): 3408-3417.
- [2] 宁艳梅, 完玛草, 谢敏, 等. 基于鼻黏膜屏障探讨中医“芳香辟秽”理论的“物质-效应”机制 [J]. 中草药, 2025, 56(5): 1687-1707.
- [3] Zhang N, Van Crombruggen K, Gevaert E, *et al.* Barrier function of the nasal mucosa in health and type-2 biased airway diseases [J]. *Allergy*, 2016, 71(3): 295-307.
- [4] Kojima T, Go M, Takano K I, *et al.* Regulation of tight junctions in upper airway epithelium [J]. *Biomed Res Int*, 2013, 2013: 947072.
- [5] Xu H, Zhong L, Deng J X, *et al.* High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa [J]. *Int J Oral Sci*, 2020, 12(1): 8.
- [6] Gao S, Zhang L L. ACE2 partially dictates the host range and tropism of SARS-CoV-2 [J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2020, 18: 4040-4047.
- [7] Gutiérrez-Chamorro L, Riveira-Muñoz E, Barrios C, *et al.* SARS-CoV-2 infection modulates ACE2 function and subsequent inflammatory responses in swabs and plasma of COVID-19 patients [J]. *Viruses*, 2021, 13(9): 1715.
- [8] Jia K X, Li Y J, Liu T G, *et al.* New insights for infection mechanism and potential targets of COVID-19: Three Chinese patent medicines and three Chinese medicine formulas as promising therapeutic approaches [J]. *Chin Herb Med*, 2023, 15(2): 157-168.
- [9] Sunnak W, Huang N, Bécavin C, *et al.* SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes [J]. *Nat Med*, 2020, 26(5): 681-687.
- [10] Andersen J M, Al-Khairi D, Ingalls R R. Innate immunity at the mucosal surface: Role of toll-like receptor 3 and toll-like receptor 9 in cervical epithelial cell responses to microbial pathogens [J]. *Biol Reprod*, 2006, 74(5): 824-831.
- [11] Tengroth L, Millrud C R, Kvarnhammar A M, *et al.* Functional effects of Toll-like receptor (TLR) 3, 7, 9, RIG-I and MDA-5 stimulation in nasal epithelial cells [J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e98239.
- [12] Bagheri-Hosseinabadi Z, Rezazadeh Zarandi E, Mirabzadeh M, *et al.* mRNA expression of toll-like receptors 3, 7, 8, and 9 in the nasopharyngeal epithelial cells of coronavirus disease 2019 patients [J]. *BMC Infect Dis*, 2022, 22(1): 448.
- [13] Ohkuni T, Kojima T, Ogasawara N, *et al.* Poly(I:C) reduces expression of JAM-A and induces secretion of IL-8 and TNF- $\alpha$  via distinct NF- $\kappa$ B pathways in human nasal epithelial cells [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2011, 250(1): 29-38.
- [14] Hose L, Schürmann M, Sudhoff H. Upregulation of key factors of viral entry of Corona- and influenza viruses upon TLR3-signaling in cells from the respiratory tract and clinical treatment options by 1,8-cineol [J]. *Phytother Res*, 2024, 38(9): 4453-4466.
- [15] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 4-409.
- [16] Trott O, Olson A J. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading [J]. *J Comput Chem*, 2010, 31(2): 455-461.
- [17] Olimpio F, Andreata-Santos R, Rosa P C, *et al.* *Lactobacillus rhamnosus* restores antiviral signaling and attenuates cytokines secretion from human bronchial epithelial cells exposed to cigarette smoke and infected with SARS-CoV-2 [J]. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 2023, 15(6): 1513-1528.
- [18] Tiwari S K, Wang S B, Smith D, *et al.* Revealing tissue-specific SARS-CoV-2 infection and host responses using human stem cell-derived lung and cerebral organoids [J]. *Stem Cell Reports*, 2021, 16(3): 437-445.
- [19] 全小林, 陈晓光, 李爱国, 等. 中西医结合治疗 SARS 的临床疗效分析 [J]. 中国医药学报, 2003, 18(10): 603-608.
- [20] Li Q W, Wang H, Li X Y, *et al.* The role played by traditional Chinese medicine in preventing and treating COVID-19 in China [J]. *Front Med*, 2020, 14(5): 681-688.
- [21] 吕沛宛, 王赛男, 唐祖宣. 艾灸早期介入防治新型冠状病毒肺炎可行性分析 [J]. 中医学报, 2020, 35(3): 473-476.
- [22] 杨锦程, 常丹丹, 简美玲, 等. 香囊的药理研究和临床应用进展 [J]. 香料香精化妆品, 2024(2): 27-33.
- [23] 马思淼, 李玉霞, 杨楠, 等. 中医芳香疗法在辟疫方面的研究进展 [J]. 中国民间疗法, 2023, 31(24): 120-123.
- [24] 鲍羿岐, 刘洋, 崔娜, 等. 小分子干扰 RNA 抑制鼻黏膜上皮细胞血管紧张素转换酶 2 的表达 [J]. 中国实验诊断学, 2022, 26(11): 1702-1705.
- [25] 陈鑫. 基于聚类的中药方剂网络核心药物分析技术研究 [D]. 成都: 成都信息工程大学, 2022.
- [26] 翁家俊, 谢奕霖, 张轩硕, 等. 基于数据挖掘和网络药理学技术的《中医方剂大辞典》含连翘组方规律及其抗炎机制分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(22): 181-193.

- [27] 宋佳, 高晓霞, 田俊生, 等. 中药药对配伍机制的现代研究 [J]. 中草药, 2017, 48(21): 4367-4374.
- [28] 李蕙质, 周小玲, 杨玉杰, 等. 数据挖掘算法在中药方剂研究中的应用现状 [J]. 中国药房, 2024, 35(1): 112-118.
- [29] 张廷, 崔瑛, 申玲玲, 等. 中药药性复杂性与药性物质研究的思考 [J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(3): 585-587.
- [30] 康静, 杨丽丽, 刘建勋, 等. 中药复方拆方研究的现状及展望 [J]. 中华中医药杂志, 2024, 39(7): 3580-3585.
- [31] 王蕾, 曹雪晓, 栗焕焕, 等. 中药化学成分分子识别与自组装在中药研究中的应用 [J]. 中草药, 2020, 51(2): 516-521.
- [32] Papareddy P, Herwald H. From immune activation to disease progression: Unraveling the complex role of serum amyloid A proteins [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2025, 83: 77-84.
- [33] 李荣芳, 李晓文, 王吉, 等. 细菌脂多糖及其免疫应激研究进展 [J]. 中兽医医药杂志, 2015, 34(4): 23-26.
- [34] Mangoni M L, Epand R F, Rosenfeld Y, et al. Lipopolysaccharide, a key molecule involved in the synergism between temporins in inhibiting bacterial growth and in endotoxin neutralization [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(34): 22907-22917.
- [35] Gomes N E, Brunialti M C, Mendes M E, et al. Lipopolysaccharide-induced expression of cell surface receptors and cell activation of neutrophils and monocytes in whole human blood [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2010, 43(9): 853-858.
- [36] Heymann F, Tacke F. Immunology in the liver: From homeostasis to disease [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2016, 13(2): 88-110.
- [37] Na-Bangchang K, Karbwang J. Traditional herbal medicine for the control of tropical diseases [J]. *Trop Med Health*, 2014, 42(2 Suppl): 3-13.
- [38] Wang X, Wang J, Pang F. Analysis on the selection of herbs in TCM COVID-19 treatment protocols between Malaysia and China [J]. *Int J Gen Med*, 2023, 16: 3655-3663.
- [39] Ganeshan K, Chawla A. Metabolic regulation of immune responses [J]. *Annu Rev Immunol*, 2014, 32: 609-634.
- [40] Moreno-Altamirano M M B, Kolstoe S E, Sánchez-García F J. Virus control of cell metabolism for replication and evasion of host immune responses [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2019, 9: 95.
- [41] Papareddy P, Herwald H. From immune activation to disease progression: Unraveling the complex role of Serum Amyloid A proteins [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2025, 83: 77-84.
- [42] Talty R, Olin K. Metabolism of innate immune cells in cancer [J]. *Cancers*, 2021, 13(4): 904.
- [43] Nair-Gill E, Wiltzius S M, Wei X X, et al. PET probes for distinct metabolic pathways have different cell specificities during immune responses in mice [J]. *J Clin Invest*, 2010, 120(6): 2005-2015.
- [44] Thwe P M, Pelgrom L R, Cooper R, et al. Cell-intrinsic glycogen metabolism supports early glycolytic reprogramming required for dendritic cell immune responses [J]. *Cell Metab*, 2017, 26(3): 558-567.e5.
- [45] Chao T, Wang H P, Ho P C. Mitochondrial control and guidance of cellular activities of T cells [J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 473.
- [46] Zhao H X, Raines L N, Huang S C. Molecular chaperones: Molecular assembly line brings metabolism and immunity in shape [J]. *Metabolites*, 2020, 10(10): 394.
- [47] Delmastro-Greenwood M M, Piganelli J D. Changing the energy of an immune response [J]. *Am J Clin Exp Immunol*, 2013, 2(1): 30-54.
- [48] 李根, 曹世杰, 张继超, 等. 点击化学在中药活性成分靶点鉴定中的应用进展 [J]. 中草药, 2019, 50(4): 984-991.
- [49] 曾克武. 药物靶点鉴定方法学及其在中药活性成分靶点发现中的应用 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2019, 33(10): 930.
- [50] Li A, Zhao F F, Zhao Y X, et al. ATF4-mediated GDF15 suppresses LPS-induced inflammation and MUC5AC in human nasal epithelial cells through the PI3K/Akt pathway [J]. *Life Sci*, 2021, 275: 119356.
- [51] Choi Y S, Na H G, Bae C H, et al. Ghrelin downregulates lipopolysaccharide/leptin-induced MUC5AC expression in human nasal epithelial cells [J]. *Clin Exp Otorhinolaryngol*, 2023, 16(1): 49-58.
- [52] Wang X H, Zhang Z H, Cai X L, et al. Lipopolysaccharide induces autophagy by targeting the AMPK-mTOR pathway in human nasal epithelial cells [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 96: 899-904.
- [53] Qing X, Zhang Y Q, Peng Y, et al. MiR-142-3p regulates inflammatory response by contributing to increased TNF- $\alpha$  in chronic rhinosinusitis with nasal polyposis [J]. *Ear Nose Throat J*, 2021, 100(1): NP50-NP56.
- [54] Cheng J, Luo X Q, Chen F S. Quercetin attenuates lipopolysaccharide-mediated inflammatory injury in human nasal epithelial cells via regulating miR-21/DMBT1/NF- $\kappa$ B axis [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2022, 44(1): 7-16.
- [55] Cheng X, Xu S S, Han F R, et al. The molecular mechanism of resveratrol in the treatment of chronic rhinosinusitis through a combination of network pharmacology and *in vitro* validation [J]. *Chem Biol Drug Des*, 2025, 105(3): e70057.
- [56] 陈春宇, 董汉玉, 纪瑞锋, 等. 基于中医药理论的芳香类中药防治新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 的作用探讨 [J]. 中草药, 2020, 51(11): 3051-3061.
- [57] 罗晶, 田鑫, 刘波, 等. 芳香中药精油成分在心血管疾病中的应用 [J]. 中草药, 2020, 51(1): 245-255.

[责任编辑 潘明佳]