© 2026 国际老年医学杂志编辑部 © 2026 Editorial Office of *International Journal of Geriatrics*

网络药理学联合代谢组学探究疏清颗粒治疗甲型 H1N1 流感的作用机制*

张思宇 孟 窈 王紫嫣 王国强 王 放 董智勇**
吉林大学基础医学院，吉林 长春 130021

［摘 要］ **目的** 联合网络药理学和代谢组学探究疏清颗粒（SG）抗甲型 H1N1 流感的作用机制。**方法** 筛选 SG 和甲型流感相关靶点，构建蛋白质互作（PPIs）网络并进行通路富集；建立甲型 H1N1 流感小鼠模型，实时荧光定量 PCR（RT-qPCR）检测炎性因子表达情况；苏木素-伊红染色观察肺部病理变化；非靶向代谢组学分析血清差异代谢物及相关通路。**结果** 筛选出 SG 抗流感靶点 114 个，富集到 Influenza A、肿瘤坏死因子（TNF）和核因子（NF）-κB 等核心通路；SG 干预后小鼠肺部炎性因子的 mRNA 表达量显著降低，炎症浸润明显改善；血清代谢组学鉴定出 48 个差异代谢物，联合分析得到 5 条代谢通路。**结论** SG 可能通过花生四烯酸、槲皮素等活性成分靶向炎症通路，调控代谢相关过程，减轻甲型 H1N1 流感引发的肺部炎症。

［关键词］ 甲型 H1N1 流感病毒；肺炎；疏清颗粒；代谢组学；细胞因子风暴
doi：10.3969/j.issn.1674-7593.2026.06.005

Exploring the mechanism of Shuqing Granule in treating Influenza A (H1N1) based on network pharmacology combined with metabolomics

Zhang Siyu, Meng Yao, Wang Ziyan, Wang Guoqiang, Wang Fang, Dong Zhiyong**
College of Basic Medical Sciences, Jilin University, Changchun 130021, China
** Corresponding author: Dong Zhiyong, email: dongzy@jlu.edu.cn

［**Abstract**］ **Objective** To explore the anti-influenza A (H1N1) mechanism of Shuqing Granules (SG) by combining network pharmacology and metabolomics. **Methods** Targets related to SG and influenza were screened, followed by the construction of a protein-protein interaction (PPIs) network and pathway enrichment analysis. A mouse model of Influenza A (H1N1) infection was established, and the expression of inflammatory factors was detected by real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR). Pulmonary pathological changes were observed by hematoxylin-eosin staining, and serum differential metabolites and related pathways were analyzed by untargeted metabolomics. **Results** A total of 114 anti-influenza targets of SG were identified, which were significantly enriched in core pathways such as Influenza A, tumor necrosis factor (TNF) and nuclear factor (NF)-κB signaling pathways. After the SG intervention, the mRNA expression levels of inflammatory factors in mice were markedly downregulated, and inflammatory infiltration in lung tissues was significantly ameliorated. Untargeted metabolomics identified 48 differential metabolites in serum, and 5 metabolic pathways were obtained through integrated analysis. **Conclusion** SG may target inflammatory pathways via active components such as arachidonic acid and quercetin, regulate metabolism-related processes, and thereby alleviate pulmonary inflammation induced by Influenza A (H1N1) infection.

［**Key words**］ Influenza A (H1N1) virus; Viral pneumonia; Shuqing Granules; Metabolomics; Cytokine storm

流行性感冒（简称“流感”）是由流感病毒诱发的急性呼吸道传染病，呈全球传播态势，主要通过飞沫、接触等途径在人群中快速传播，对人类呼吸系统健康构成了广泛威胁。其中，甲型流感病毒因传播力强、致病性高，是流感防控的重点对象，每年导致 300 万～500 万人感染[1]。由流感病毒引起的病毒性肺炎的发病机制为病毒从上呼吸道侵入后扩散至肺部，诱发炎症反应并损伤肺功能。高传染性与高致死率并存的病毒性肺炎疫情，已多次引发公共卫生危机，对各国医疗资源储备构成了严峻考验[2-3]。

流感病毒具有高度遗传变异性，导致疫苗研发始终滞后于病毒变异速度，难以实现精准防控；常用抗病毒药物会诱导产生耐药毒株，显著削弱

收稿日期：2025-12-16 修回日期：2026-02-02 录用日期：2026-02-03
* 吉林省科技发展计划项目（20210401084YY）
** 通信作者：董智勇，电子邮箱 dongzy@jlu.edu.cn

治疗效果[4]。甲型流感病毒可激活先天免疫系统，招募先天免疫细胞及炎性因子至感染部位，形成的“细胞因子风暴”与失控性促炎反应密切相关；而免疫失调引发的过度炎症会进一步加重肺部炎症，诱发急性肺损伤[5-6]。因此，研发新型、高效的抗流感药物，对当前流感防治具有重要现实意义与临床价值。

中医药在治疗呼吸道病毒感染性疾病中具有显著的优势[7]。对中药实施二次开发的“老药新用”模式，是新药研发工作中一种快速且高效的可行方案。疏清颗粒（Shuqing Granules，SG）是临床用于清热解毒的复方中药制剂，其主要成分为大青叶、桑叶、芦根、甘草及石膏等[8]。多项研究证实，SG 具有明显的抗病毒作用[9-10]。但其是否通过多成分代谢产物参与甲型 H1N1 流感病毒感染时的免疫调节作用机制尚不明确。本研究拟联合网络药理学和血清代谢组学技术，通过关键作用靶点及代谢通路分析，揭示 SG 治疗甲型 H1N1 流感的作用机制，为 SG 应用于流感治疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 雌性 6～8 周龄 BALB/c 小鼠，体质量（20±2）g，购自长春市亿斯实验动物技术有限责任公司，实验动物许可证号 SYXK（吉）2018-0001，饲养于吉林大学基础医学院实验动物中心，适应性喂养 5 d 后开始正式实验。

1.1.2 病毒 甲型 H1N1 流感病毒株（毒株编号 A/Puerto Rico/8/1934）保存于吉林大学基础医学院病原生物学教研室。

1.1.3 试剂与仪器 试剂：SG（吉林华康药业股份有限公司，生产批号 Z10980132）；Trizol（美国 Ambion 公司，货号 15596-026）；4%多聚甲醛（中国 Solarbio 公司，货号 P1110）；实时荧光定量 PCR（Real-time quantitative polymerase chain reaction，RT-qPCR）试剂盒（瑞士 Roche 公司，货号 04913-001）；逆转录试剂盒（美国 Thermo 公司，货号 K1622）；花生四烯酸（对照品）（美国 Sigma 公司，货号 23401）；α-亚麻酸（货号 111631）、亚油酸（货号 111622）均购自中国食品药品检定研究院。仪器：RT-qPCR 仪（美国 Ap-plied biosystems 公司，型号 Step One）；全波长酶标仪（美国 Bioteck 公司，型号 Step One）；高速低温组织研磨仪（中国 Servicebio 公司，型号 SWE-FP PLUS）；低温高速离心机（美国 Thermo 公司，型号 Fresco21）；电热恒温水浴锅（上海博迅医疗生物仪器股份有限公司，型号 HSS）；电热恒温干燥箱（上海医用恒温设备厂，型号 DHG-9053A）。

1.2 方法

1.2.1 网络药理学分析 使用 TCMSP 数据库查询 SG 主要成分的化合物，以限制类药性（Drug-likeness，DL）≥0.18、生物利用度（Oral bioavailability，OB）≥30%为条件筛选活性化合物并查询其靶点，利用 Uniprot 数据库得到标准化的蛋白名称；通过 MalaCard 和 GeneCards 数据库，以“Influenza”为关键词查询疾病靶点；使用 venny2.1.0 网站绘制 SG 和流感交集靶点韦恩图；将交集靶点输入 STRING 数据库构建蛋白质互作（Protein-protein interactions，PPIs）网络图；利用 Cytoscape 3.9.0 软件根据 Degree 值筛选关键靶点；在 Metascape、Omicshare 数据库中进行基因本体论（Gene Ontology，GO）和京都基因与基因组百科全书（Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes，KEGG）信号通路富集分析[8]。

1.2.2 小鼠半数致死量测定 用磷酸盐缓冲液（Phosphate buffer saline，PBS）将病毒逐级稀释，配制成 10^{-1}、10^{-2}、10^{-3}、10^{-4}、10^{-5}、10^{-6} 倍共 6 个浓度的病毒液，同时设置对照组。将小鼠随机分为 7 组（每组 10 只），每只小鼠经鼻腔滴入 50 μL 病毒液，观察并记录小鼠状态及死亡情况。按 Reed-Muench 公式计算小鼠半数致死量（Median lethal dose，LD_{50}）值。

1.2.3 实验分组、造模以及给药方法 BALB/c 小鼠被随机分为 6 组（每组各 10 只）：正常对照组、模型组、SG 低剂量组（250 mg/mL）、SG 中剂量组（500 mg/mL）、SG 高剂量组（1 000 mg/mL）及连花清瘟阳性对照组（500 mg/mL）。建立模型：对各组实验实施鼻腔给药（正常对照组除外），每只缓慢滴入 40 μL 含 10 倍的 LD_{50} 流感病毒液，正常对照组以相同方式滴鼻等量 PBS。给药方法：在病毒感染前 3 d 开始，药物治疗组每天 1 次灌胃给药（剂量 0.2 mL/只），病毒感染前 2 h 给药，连续给药 5 d。正常对照组及模型组给予等量生理盐水。

1.2.4 肺组织病理学损伤检测 处死小鼠，小鼠肺组织固定于 4%多聚甲醛中，梯度乙醇脱水后进行石蜡包埋，切片厚度 5 μm。石蜡切片进行脱蜡、水化，使用苏木素-伊红染色（Hematoxylin-eosin，HE）进行染色，在光学显微镜下观察肺部病理变化及组织结构并拍照记录。

1.2.5 炎性因子基因的相对表达量检测 取小鼠肺组织 30～50 mg，加入 1 mL Trizol 溶液充分匀浆，提取总 RNA；再将 RNA 逆转录成 cDNA 模板，使用 SYBRs Green Master Mix 试剂盒进行 RT-qPCR 反应。将 β-肌动蛋白（Beta-actin，β-actin）作为内参基因，采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值法计算肿瘤坏死因子-α（Tumor necrosis factor α，TNF-α）、双链 RNA 依赖性蛋白激酶（Protein kinase RNA-activated，PKR）、趋化因子配体 10（C-X-C motif chemokine ligand 10，CXCL10）、白细胞介素-10（Interleukin-10，IL-10）、白细胞介素-6（Interleukin-6，IL-6）、白细胞介素-1β（Interleukin-1β，IL-1β）以及核因子-κB（Nuclear factor-κB，NF-κB）的相对表达量，引物序列见表 1。

表 1　引物序列

Tab. 1　Primer sequence

基因	正向引物	反向引物
β-actin	5′-GATCAAGATCATTGCTCCTCCTG- 3′	5′-AGGGTGTAAAACGCAGCTCA- 3′
TNF-α	5′-CGCTCTTCTGTCTACTGAACTTCGG- 3′	5′-GTGGTTTGTGAGTGTGAGGGTCTG- 3′
PKR	5′-ATGCACGGAGTAGCCATTACG- 3′	5′-TGACAATCCACCTTGTTTTCGT- 3′
*CXCL*10	5′-CCAAGTGCTGCCGTCATTTTC- 3′	5′-GGCTCGCAGGGATGATTTCAA- 3′
IL-10	5′-CTTACTGACTGGCATGAGGATCA- 3′	5′-GCAGCTCTAGGAGCATGTGG- 3′
IL-6	5′-CTTCTTGGGACTGATGCTGGTGAC- 3′	5′-TCTGTTGGGAGTGGTATCCTCTGTG- 3′
IL-1*β*	5′-GAAATGCCACCTTTTGACAGTG- 3′	5′-TGGATGCTCTCATCAGGACAG- 3′
NF-κB	5′-ATGGCAGACGATGATCCCTAC- 3′	5′-TGTTGACAGTGGTATTTCTGGTG- 3′

1.2.6　代谢组学　血清样品：各组取 100 μL 解冻后的小鼠血清，加入 500 μL 甲醇溶液涡旋振荡 5 min，4 ℃条件下 13 000 r/min 离心 10 min（离心半径≈8.6 cm），取上清进行冷冻干燥，得到残渣，向其中加入 100 μL 甲醇溶液（甲醇∶水=5∶1）复溶，得待测样本。色谱条件：ACQUITY UPLC BEH C18 柱（1.7 μm，100 mm×2.1 mm），流动相 A 为 0.1%甲酸水溶液；流动相 B 为 0.1%甲酸乙腈溶液，梯度洗脱（0~2.0 min，90%~10% A、10%~90% B；>2.0~26.0 min，保持 10% A、90% B；>26.0~28.0 min，10%~90% A、90%~10% B；>28.0~28.5 min，90%~10% A、10%~90% B），柱温 30 ℃，流速 0.4 mL/min。质谱条件：采用电喷雾离子源（Electrospray ionization，ESI）在 ESI^+、ESI^-两种模式下分别检测，扫描范围 100~1 500 Da，毛细管电压 3.5 kV（ESI^+）、2.5 kV（ESI^-），离子源温度为 150 ℃，进样量 5 μL[11]。

1.3　统计学方法

采用 GraphPad Prism 软件完成数据的分析，实验所得计量资料符合正态分布，两组比较选用独立样本 *t* 检验，多组比较选用单因素方差分析（组间两两比较采用 Tukey 检验），检验水准 $\alpha=0.05$。

2　结果

2.1　SG 治疗甲型 H1N1 流感的活性成分及靶点筛选

经筛选后共获得 SG 活性成分 132 种，关键活性成分见表 2。按药材来源分：甘草 92 种、桑叶 29 种、大青叶 10 种、芦根 1 种、石膏 1 种。预测得到 SG 活性成分靶点 1 077 个，甲型 H1N1 流感相关靶点 810 个，两者映射得到交集靶点 114 个，见图 1。

表 2　SG 关键活性成分

Tab. 2　Core bioactive constituents of SG

来源	编号	化合物	OB(%)	DL
大青叶	MOL002309	靛玉红(indirubin)	48.59	0.26
桑叶/甘草	MOL000098	槲皮素(quercetin)	46.43	0.28
大青叶/桑叶	MOL000358	β-谷甾醇(beta-sitosterol)	36.91	0.75
甘草	MOL000422	山柰酚(kaempferol)	41.88	0.24
甘草	MOL004328	柚皮素(naringenin)	59.29	0.21
桑叶	MOL001439	花生四烯酸(arachidonic acid)	45.57	0.20
芦根	MOL000449	豆甾醇(stigmasterol)	43.83	0.76

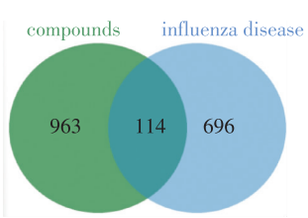


图 1　SG 活性成分-甲型 H1N1 流感交集靶点韦恩图

Fig. 1　Venn diagram of intersection targets between active components of SG and Influenza A (H1N1) virus

2.2　SG 治疗甲型 H1N1 流感的 PPIs 网络构建与分析

使用 SG 与甲型 H1N1 流感的 114 个交集靶点构建 PPIs 网络，见图 2。该网络由 114 个靶点对应节点和 1 459 条蛋白互作关系边构成，平均度值为 25.6。度值较高的节点在调控网络中连接性越强，其生物学功能越关键。NF-κB 与 TNF、IL-6 蛋白存在直接相互作用关系，提示其可能是介导 SG 抗甲型 H1N1 流感病毒效应的核心通路。

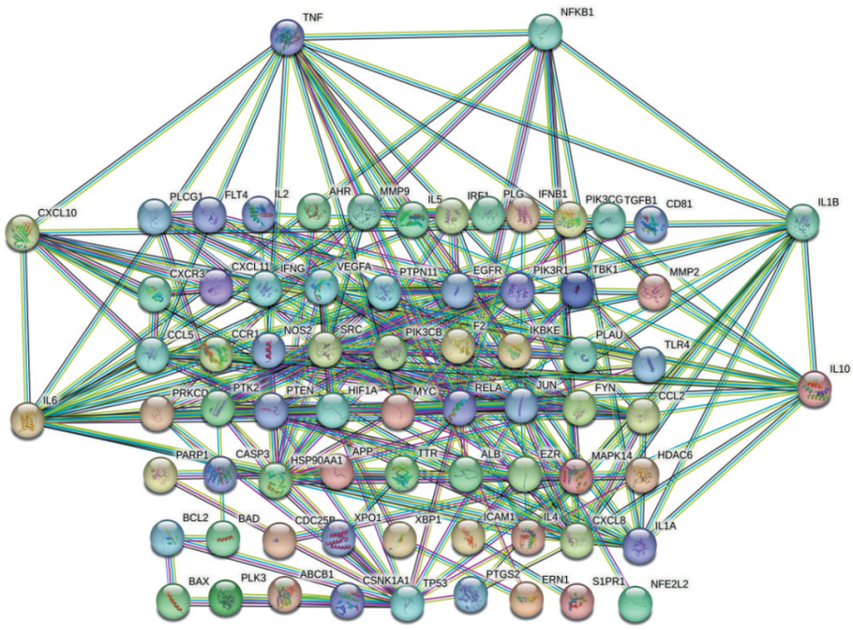


图 2　SG 活性成分-甲型 H1N1 流感靶点 PPIs 网络图

Fig. 2　PPIs network of SG active ingredients and Influenza A (H1N1) targets

2.3　GO 和 KEGG 功能分析

取 SG 与甲型 H1N1 流感交集靶点进行 GO 功能注释和 KEGG 富集分析，见图 3。GO 分析共富集得到 55 条功能信息（$P<0.01$），提示 SG 可能通过影响生物过程（Biological process）、细胞过程（Cellular process）及应激反应（Response to stimulus）等，发挥抗甲型 H1N1 流感病毒感染的作用。

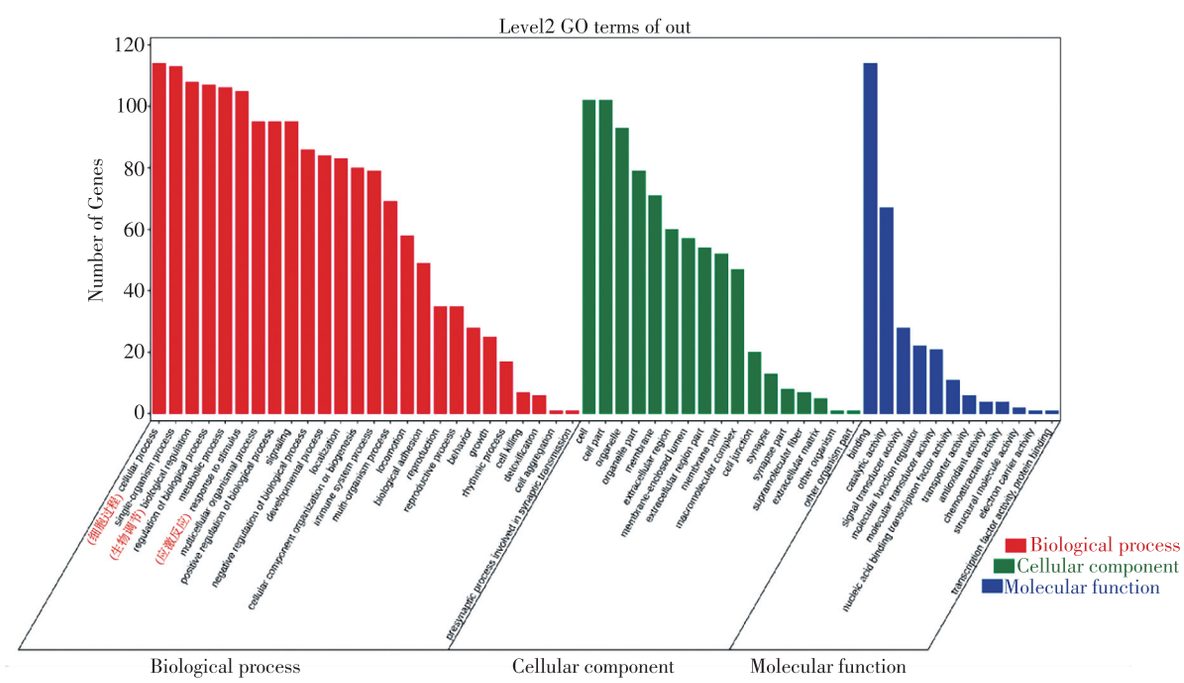


图 3　SG 抗甲型 H1N1 流感靶点 GO 富集分析直方图

Fig. 3　Histogram of GO enrichment analysis for SG anti-influenza A (H1N1) targets

KEGG 通路分析显示，经 $P<0.01$ 且 count>10 筛选得到 83 条富集显著通路，结合现有文献报道及通路与甲型 H1N1 流感发生发展的关联性，选取核心通路绘图，见图 4。其中，TNF 信号通路（TNF signaling pathway）和甲型流感病毒（Influenza A virus）通路中富集的靶标数量相对较多，前

者是调控机体炎症反应、免疫细胞活化的关键通路，能够通过介导炎性因子释放、调控免疫应答强度参与病毒感染后的宿主防御与病理损伤过程；后者是病毒与宿主相互作用的核心通路。这提示上述通路可能是 SG 发挥抗甲型 H1N1 流感病毒作用的核心通路。

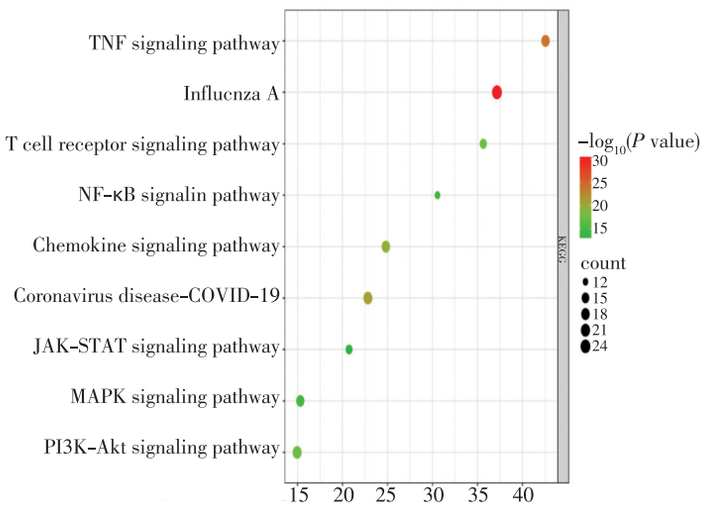


图 4　SG 抗甲型 H1N1 流感靶点 KEGG 富集通路气泡图

Fig. 4　Bubble plot of KEGG enrichment pathways for SG anti-influenza A (H1N1) targets

2.4　小鼠 LD_{50} 测定

当病毒稀释度为 10^{-3}～10^{-1} 时，模型组小鼠全部死亡（死亡率为 100%），见表 3；当稀释度为 10^{-4} 时，小鼠死亡率为 90%；进一步稀释至 10^{-5} 和 10^{-6} 时，实验组小鼠无死亡情况（死亡率为 0）。计算得该病毒对小鼠的 LD_{50} 为 $10^{-4.5}$，即甲型 H1N1 流感病毒原液稀释至 $10^{-4.5}$ 倍，接种 40 μL 可使半数小鼠死亡。

表 3　甲型 H1N1 流感病毒对小鼠的 LD_{50} 测定

Tab. 3　Determination of the LD_{50} of the Influenza A (H1N1) virus in mice

病毒稀释度（倍）	样本量	存活数（只）	死亡数（只）	死亡率（%）
10^{-1}	10	0	10	100
10^{-2}	10	0	10	100
10^{-3}	10	0	10	100
10^{-4}	10	1	9	90
10^{-5}	10	10	0	0
10^{-6}	10	10	0	0

2.5　SG 对甲型 H1N1 流感病毒感染小鼠肺部炎症及病理损伤的影响

正常对照组小鼠肺泡结构清晰规整，肺支气管无损伤；模型组小鼠肺组织呈现严重病变特征，可见大量炎性细胞浸润，肺泡结构破坏明显，肺间质、细支气管壁及肺壁均出现增厚现象；连花清瘟阳性对照组小鼠肺泡结构较清晰，炎性细胞浸润相对减少；SG 各剂量组肺部炎性损伤均较模型组明显减轻，改善情况与 SG 浓度呈剂量依赖性，见图 5。综上所述，SG 各剂量治疗组均能显著改善甲型 H1N1 流感病毒感染引发的肺部炎性病变，其治疗效果与连花清瘟阳性对照组相近。

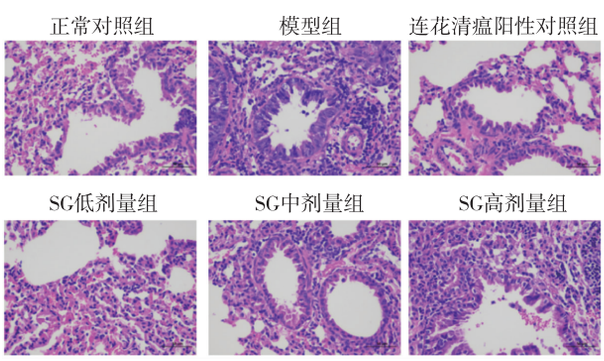
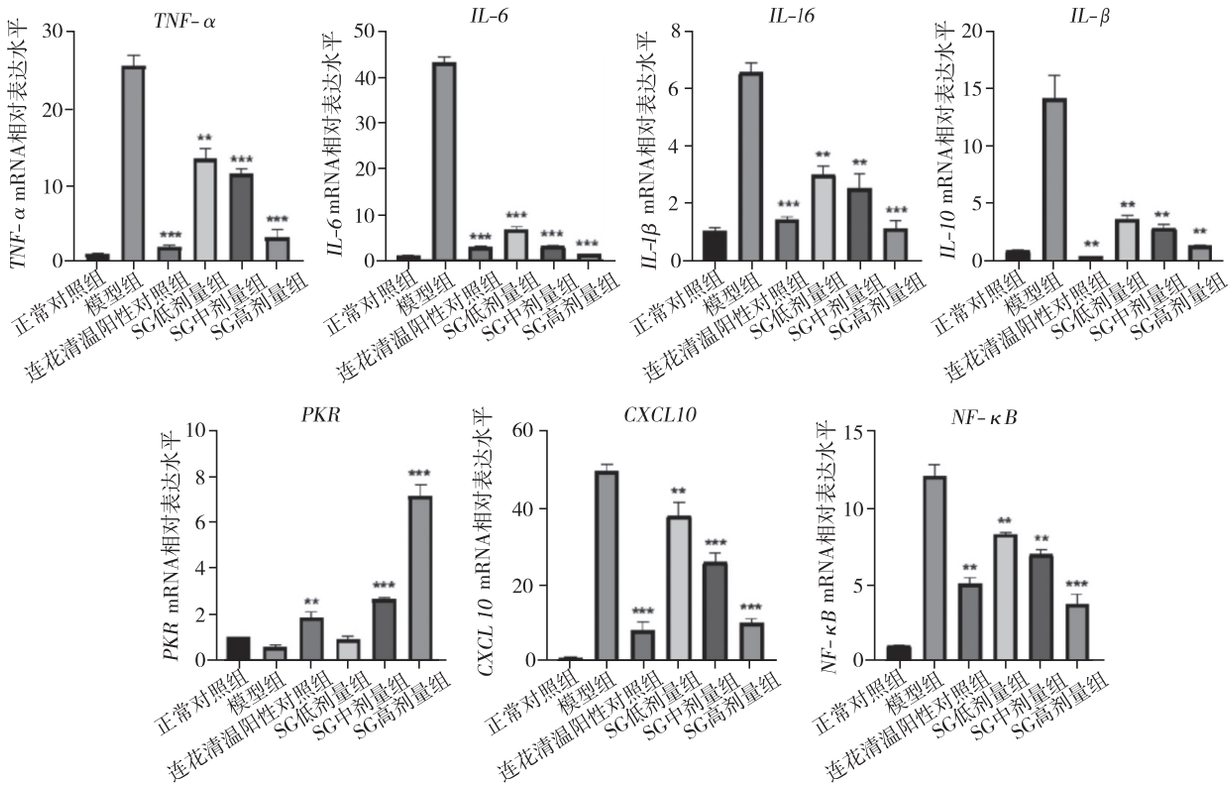


图 5　SG 对甲型 H1N1 流感病毒感染小鼠肺组织的病理影响（HE 染色，1 标尺 = 50 μm）

Fig. 5　Effects of SG on lung histopathology in mice infected with Influenza A (H1N1) virus (HE staining, 1 scale unit = 50 μm)

2.6　SG 对甲型 H1N1 流感病毒感染小鼠肺部炎性因子表达的影响

除 *PKR* 以外，与正常对照组比较，模型组小鼠肺组织中炎性因子水平均明显升高，见图 6，提示流感病毒感染引发小鼠肺部炎症反应，并伴随细胞因子风暴发生。与模型组比较：SG 各治疗组 *NF-κB*、*TNF-α*、*IL-6*、*IL-1β*、*CXCL10* mRNA 表达水平均显著降低（$P<0.01$）；SG 中剂量、高剂量组中，*PKR* mRNA 水平明显上升（$P<0.001$）。结果提示 SG 可以抑制炎性因子 mRNA 表达，从而抑制甲型 H1N1 流感引起的肺部炎症。



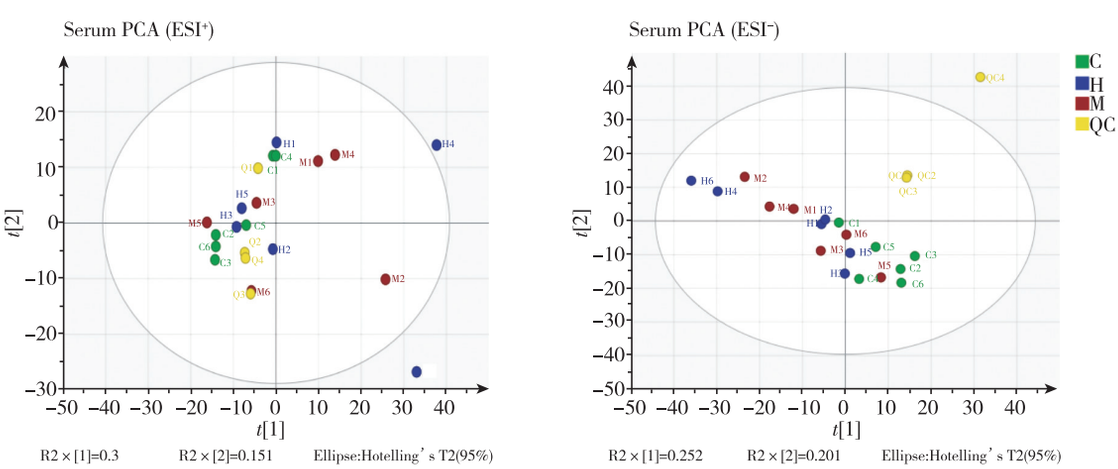
注：与模型组比较 $^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$，$^{***}P<0.001$。

图 6　SG 对甲型 H1N1 流感病毒感染相关炎性因子 mRNA 表达的影响

Fig. 6　Effects of SG on mRNA expression of inflammatory factors related to Influenza A (H1N1) virus infection

2.7　代谢组学分析

2.7.1　主成分分析　对各组样本进行主成分分析（Principal component analysis，PCA），见图 7。在 ESI^{+}、ESI^{-}离子模式下，同组样本均可良好聚集且处于中间区域，表明样本制备方法与仪器检测体系较为可靠，满足代谢组学后续检测分析的基本要求。



注：C 为正常对照组，M 为模型组，H 为 SG 高剂量组，QC 为质控样本。

图 7　ESI^{+}与 ESI^{-}离子模式下血清代谢物谱的 PCA 载荷图谱

Fig. 7　PCA loading plot of metabolic profiles in serum under ESI^{+} and ESI^{-} ion modes

从整体上看，SG 高剂量组小鼠代谢表型与模型组小鼠存在明显差异，SG 高剂量组样本位于正常对照组和模型组之间，且在 ESI^{+}模式下更趋近于正常对照组。上述结果提示，SG 对甲型 H1N1 流感病毒感染小鼠异常代谢轮廓具有一定的调控作用，代谢表型趋向正常生理状态。

2.7.2　血清差异代谢物分析　以 VIP＞1 且 $P<0.05$ 为筛选标准得到这组样本间的显著差异代谢

物。与正常对照组比较，模型组共鉴定出 147 种显著差异代谢物，见表 4。与模型组比较，SG 高剂量组共筛选出 48 种显著差异代谢物，两者共有差异代谢物 7 个：特丁非隆（Tebufelone）、羟基十八碳二烯酸（hydroxyoctadecadienoic acid）、盐酸屈他维林（Drotaverine）、6-脱氧-γ-山竹素（6-Deoxy-gamma-mangostin）、12（r）-羟基二十碳三烯酸［12（r）-Hydroxyeicosatrienoic acid］、8（9）-EpETE、［20：4（7E，9E，11Z，13E）-3OH（5S，6R，15S）/P-18：1（9Z）］，见表 5。

表 4 正常对照组-模型组血清样本中鉴定的差异性代谢物

Tab. 4 Differential metabolites identified in serum samples from the normal group-the model group

序号	名称	质量偏差（ppm）	实测值（Da）	保留时间（min）	*P* 值	VIP	注释 HMDB
1	Norethindrone acetate	0	341.211	15.68	0.005	2.066	HMDB0255731
2	Tebufelone	1	301.216	15.70	0.005	2.096	HMDB0258763
3	Octadeca-8,10,12-trienoic acid	1	279.232	16.01	0.003	2.073	HMDB0246901
4	Drotaverine	1	398.233	24.09	0.006	1.848	HMDB0015669
5	PE-NMe［20：5(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)/20：2(11Z,14Z)］	3	804.551	28.26	<0.001	2.291	HMDB0113493
6	PS［18：1(12Z)-2OH(9,10)/18：1(9Z)］	8	820.527	29.03	<0.001	2.176	HMDB0281581
7	17-phenyl-18,19,20-trinor-prostaglandin D2	8	385.199	15.68	<0.001	2.116	HMDB0062679
8	8(9)-EpETE	1	317.212	15.70	<0.001	2.060	HMDB0341284
9	LysoPE［22：4(7Z,10Z,13Z,16Z)/0：0］	1	528.309	15.82	<0.001	1.985	HMDB0011523
10	hydroxyoctadecadienoic acid	3	295.227	16.02	<0.001	2.048	HMDB0253281
11	PC［20:4(7E,9E,11Z,13E)-3OH(5S,6R,15S)/P-18：1(9Z)］	0	838.560	16.70	<0.001	2.024	HMDB0289778
12	LysoPE(0：0/18：0)	1	480.310	16.70	<0.001	1.764	HMDB0011129
13	12(r)-Hydroxyeicosatrienoic acid	5	321.242	17.42	<0.001	1.955	HMDB0258142
14	LysoPC(17：0/0：0)	0	508.341	19.10	<0.001	1.903	HMDB0012108
15	1-pentadecanoyl-glycero-3-phosphate	4	395.219	20.70	<0.001	2.023	HMDB0062324
16	Promestrienum	0	327.233	20.71	<0.001	1.763	HMDB0256803
17	4-Amino-8-(2-fluoro-6-methoxyphenyl)-N-propylcinnoline-3-carboxamide	3	353.141	20.80	<0.001	2.020	HMDB0248777
18	6-Deoxy-gamma-mangostin	2	379.156	21.38	<0.001	1.868	HMDB0038552
19	all-cis-7,10,13,16,19-docosapentaenoate	5	329.247	21.39	<0.001	2.015	HMDB0304261
20	12-Hydroxy-12-octadecanoylcarnitine	4	442.352	22.76	<0.001	1.801	HMDB0013154

表 5 模型组-SG 高剂量组血清样本中鉴定的差异性代谢物

Tab. 5 Differential metabolites identified in serum samples of the model group - high-dose SG group

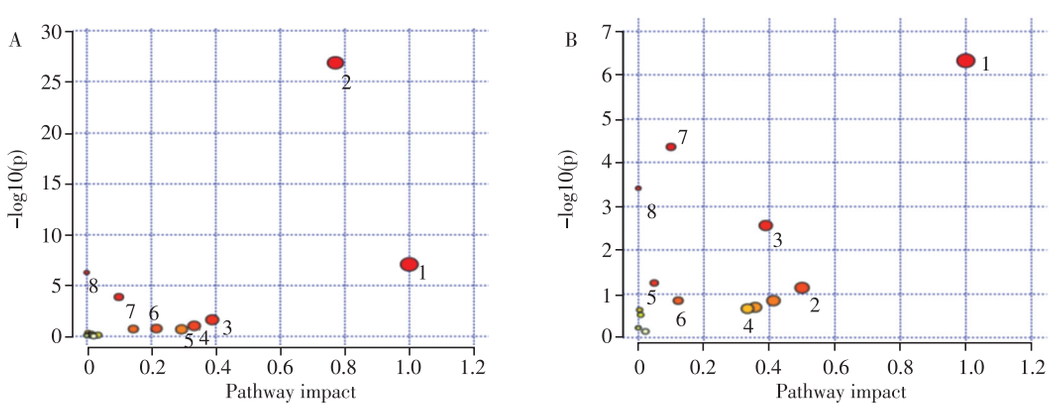
序号	名称	质量偏差（ppm）	实测值（Da）	保留时间（min）	*P* 值	VIP	注释 HMDB
1	Tebufelone	1	301.216	15.7	<0.001	1.716	HMDB0258763
2	PE［P-16：0/14：1(9Z)］	6	646.477	16.85	<0.001	1.992	HMDB0011336
3	Itopride	4	359.195	16.85	0.005	1.940	HMDB0253722
4	Methandriol	2	305.247	17.41	0.008	2.229	HMDB0254517
5	3-(4-Carboxybenzylidene)-6-hydroxycamphor	5	301.142	24.15	0.004	2.585	HMDB0245779
6	Drotaverine	1	398.233	27.05	<0.001	2.616	HMDB0015669
7	Betamethasone	5	393.209	27.92	0.003	2.953	HMDB0014586
8	PC［18：1(12Z)-2OH(9,10)/DiMe(9,3)］	8	830.561	28.14	0.003	3.027	HMDB0289272

续表 5

序号	名称	质量偏差（ppm）	实测值（Da）	保留时间（min）	*P* 值	VIP	注释 HMDB
9	Embelin	3	293. 175	12. 08	0. 028	2. 159	HMDB0251767
10	9,10-Epoxyoctadecanoic acid	1	313. 238	13. 44	0. 014	2. 239	HMDB0061650
11	17-Aminogeldanamycin	1	544. 266	15. 62	0. 003	2. 607	HMDB0259661
12	17-phenyl-18,19,20-trinor-prostaglandin E2	8	385. 199	15. 68	0. 004	2. 641	HMDB0062612
13	8(9)-EpETE	1	317. 212	15. 70	0. 024	2. 107	HMDB0341284
14	9-Hpode	3	311. 222	15. 80	0. 020	2. 309	HMDB0242602
15	PC(TXB2/P-16∶0)	0	830. 555	15. 80	0. 026	2. 215	HMDB0289464
16	hydroxyoctadecadienoic acid	3	295. 227	16. 02	<0. 001	3. 387	HMDB0253281
17	(8S,9S,10R,13S,14S,17S)-17-(1,1-Dihydroxyethyl)-10,13-dimethyl-1,2,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydrocyclopentaphenanthren-3-one	0	331. 228	16. 38	0. 017	2. 317	HMDB0260195
18	Methyl palmoxirate	5	297. 242	16. 40	0. 013	2. 494	HMDB0254605
19	PC[20∶4(7E,9E,11Z,13E)-3OH(5S,6R,15S)/P-18∶1(9Z)]	0	838. 56	16. 70	<0. 001	3. 102	HMDB0289778
20	12(r)-Hydroxyeicosatrienoic acid	5	321. 242	17. 42	0. 005	2. 564	HMDB0258142

注：取 *P* 值排名前 20 的代谢物。

2. 7. 3 差异代谢通路分析 经代谢通路富集分析共得到 8 条与流感病毒感染密切相关的显著差异代谢通路，见图 8。其中亚油酸代谢、花生四烯酸代谢、视黄醇代谢变化较为显著（Impact>0. 1 且 *P*<0. 05）。三者均可参与机体的免疫反应，如亚油酸代谢产物可抑制病毒复制；花生四烯酸代谢通路是炎性因子的核心来源，其代谢产物可调节感染部位的免疫细胞募集与活化；视黄醇及其衍生物可促进树突状细胞成熟。本结果提示 SG 可能通过调控以上代谢通路发挥抗甲型 H1N1 流感的作用。



注：A 为正常对照组-模型组紊乱代谢通路，B 为模型组-高剂量 SG 组紊乱代谢通路；1 为亚油酸代谢，2 为花生四烯酸代谢，3 为视黄醇代谢，4 为 α-亚麻酸代谢，5 为鞘脂类代谢，6 为甘油磷脂代谢，7 为类固醇激素生物合成，8 为不饱和脂肪酸的生物合成。

图 8 血清差异代谢通路分析

Fig. 8 Analysis of differential metabolic pathways in serum

2. 8 网络药理学和代谢组学联合分析

通过联合网络药理学分析所筛选的核心作用靶点，与代谢组学检测鉴定出的显著差异代谢物，构建“靶点-代谢物”关联分析网络，见图 9。两者共同富集且具有统计学意义的代谢通路有花生四烯酸（Arachidonic acid）代谢通路、α-亚麻酸（Alpha-linolenic acid）代谢通路等。此外，关键作用靶点包括 TNF、IL-6、CXCL10 及 IL-10 等；关键生物标志物包括花生四烯酸和 α-亚麻酸等，上述核心靶点、特征性生物标志物与筛选出的差异代谢通路协同作用，共同构成了 SG 调控甲型 H1N1 流感病毒感染进程的潜在分子机制网络，提示三者在 SG 抗甲型 H1N1 流感病毒效应中具有密切的关联。

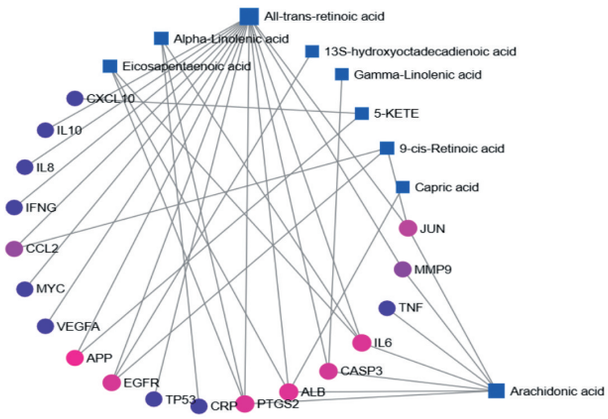


图 9　代谢组学和网络药理学联合分析网络

Fig. 9　Metabolomics and network pharmacology integrated analysis network

3　讨论

甲型流感病毒可感染人类、猪、鸟类及其他动物，常导致季节性流行病。病毒表面蛋白易发生抗原漂移是其引发全球间歇性大流行和耐药性问题的重要诱因[12]。在临床治疗中，流感的干预手段多以疫苗接种及抗病毒药物治疗为主，此方案虽有一定疗效，但存在诸多局限性，如新型病毒疫苗的研发滞后于新型病毒出现、病毒易耐药性以及部分药物的毒副作用等，因此探索更加安全且效果稳定的治疗策略对于流感病毒的防治具有重要意义[13]。

中药复方凭借多成分协同、多靶点作用、多途径调控的独特优势，在流感的临床治疗中展现出显著的潜力[14]。本研究基于网络药理学技术对中药复方 SG 的成分进行解析，明确了甘草、桑叶、大青叶、芦根、石膏单味药物的有效活性成分。各单味药物的抗流感病毒活性均已得到研究验证：甘草兼具化痰止咳、清热解毒之效，是治疗呼吸系统疾病的常用药材，是连花清瘟颗粒、麻杏石甘汤等经典抗流感方剂的核心配伍药材；桑叶已被证实可明显缓解流感的相关症状并减轻肺部的病理损伤；大青叶主治温病发热、咽喉肿痛等症状，其水提物在体外可以显著抑制病毒活性[15-17]。值得注意的是，相较于既往研究，本研究新鉴定出 SG 复方中芦根和石膏的有效活性成分，为阐释 SG 抗流感机制扩充了新的潜在靶点[18]。有研究经分析获得 SG 复方中关键活性成分，包括花生四烯酸、槲皮素、柚皮素、β-谷甾醇、山柰酚、靛玉红等。其中槲皮素抗甲型 H1N1 流感的作用已经证实，且可通过减轻炎症反应、增强抗氧化能力治疗肺部感染，而花生四烯酸可通过抑制病毒 RNA 复制发挥抗病毒作用[19-20]。

重症流感的病理进程不仅与病毒复制直接相关，更与机体过度炎症反应引发的“细胞因子风暴”密切相关，细胞因子风暴是肺损伤发生发展的核心驱动机制[21]。中药治疗既可有效缓解流感临床症状，又能调节机体免疫状态[14]。SG 对免疫反应的调控可能是其发挥抗甲型 H1N1 流感作用的潜在机制。本研究中拓扑学结果表明，SG 抗甲型流感的关键靶点包括 NF-κB、TNF、IL-6、IL-1β、IL-10、CXCL10 等，通路富集分析也证实 TNF、NF-κB 等通路在 SG 抗甲型流感中发挥作用。炎性因子如 TNF-α、IL-6 及 IL-1β 等在流感病程加重及肺炎的发生发展中起关键作用。有研究发现，阻断 TNF-α 可显著降低重症流感动物模型中炎性因子和趋化因子的水平；IL-1β 可能激活炎症小体从而加剧细胞因子风暴的发展；机体 IL-6 的表达与流感病情的严重程度呈正相关[22]。因此，抗炎治疗有助于减少甲型 H1N1 流感病毒感染引起的病毒性肺炎。

本研究发现，甲型 H1N1 流感病毒感染导致病毒性肺炎的过程中小鼠肺部炎性因子水平升高，各剂量的 SG 干预后，*NF-κB* 、*TNF-α*、*IL-6*、*CXCL10*、*IL-1β* 和 *IL-10* 表达均显著下调，SG 可通过抗炎及调节机体免疫功能发挥抗甲型 H1N1 流感病毒的作用。值得注意的是，SG 可明显恢复甲型 H1N1 流感病毒感染导致的 *PKR* 表达水平下降。PKR 是抗病毒反应的关键因子，其可抑制病毒 mRNA 翻译并触发细胞凋亡[23]。综上所述，SG 可通过抑制细胞因子风暴、改善机体过度免疫所致的病理损害，发挥抗甲型 H1N1 流感病毒性肺炎的作用。

代谢组学分析共鉴定出 7 个差异代谢物。其中特丁非隆是一种双重环氧合酶（CO）/5-脂氧加氧酶（LO）抑制剂，能够抑制炎性因子 IL-1β 和 TNF-α 的合成[24]。羟基十八碳二烯酸是一种由亚油酸衍生的生物活性脂质，在脂质代谢、氧化应激和凋亡等细胞过程中发挥重要作用[25]。上述代谢物均在甲型 H1N1 流感及 SG 抗甲型 H1N1 流感进程中发挥关键作用。

花生四烯酸所构成的复杂脂质介质网络，可驱动多条生物合成级联反应，其中对机体炎症反应的调控作用尤为突出。其下游代谢产物（如 TNF-α、IL-6、IL-1β 等）在介导细胞因子风暴形成和清除病毒感染细胞的过程中扮演着关键角色[26]。本研究联合网络药理学与代谢组学分析发现，花生四烯酸代谢通路与 SG 抗甲型 H1N1 流感作用存在最为显著的相关性。提示，SG 可能通过调控花生四烯酸代谢途径，进而干预甲型 H1N1 流感病毒感染的病理进程，但花生四烯酸代谢与流感所致细胞因子风暴的具体相互作用机制仍有待后续深入探究。

综上所述，SG 可能通过其关键活性成分靶向 TNF、NF-κB 等炎症相关通路，调控花生四烯酸代谢等核心代谢途径，改善甲型 H1N1 流感病毒感染引发的肺部炎症，为 SG 的临床应用及甲型 H1N1 流感病毒性肺炎的新型治疗策略提供了科学依据。

参考文献

[1]　Jain R, Sharma H, Pena L, et al. Influenza virus: genomic insights, evolution, and its clinical presentation

[J]. Microb Pathog, 2025,205:107671.

[2] Xi S, Li Y, Yue L, et al. Role of Traditional Chinese Medicine in the management of viral pneumonia[J]. Front Pharmacol, 2020,11:582322.

[3] Pagliano P, Sellitto C, Conti V, et al. Characteristics of viral pneumonia in the COVID-19 era: an update[J]. Infection, 2021,49(4):607-616.

[4] Kumari R, Sharma S D, Kumar A, et al. Antiviral approaches against influenza virus[J]. Clin Microbiol Rev, 2023,36(1):e0004022.

[5] Barrett D. IL-6 blockade in cytokine storm syndromes [J]. Adv Exp Med Biol, 2024,1448:565-572.

[6] Gu Y, Hsu A C, Pang Z, et al. Role of the innate cytokine storm induced by the Influenza A virus[J]. Viral Immunol, 2019,32(6):244-251.

[7] Bai Y, Liu T, Zhang S, et al. Traditional Chinese Medicine for viral pneumonia therapy: pharmacological basis and mechanistic insights[J]. Int J Biol Sci, 2025,21(3):989-1013.

[8] 张思宇. 基于网络药理学和代谢组学探究疏清颗粒对 H1N1 流感病毒感染小鼠的保护作用及机制[D]. 长春:吉林大学, 2023.
Zhang S Y. Protective effect and mechanism of Shuqing Granules on H1N1 Influenza virus-infected mice based on network pharmacology and metabolomics[D]. Changchun: Jilin University, 2023.

[9] Guo X, Zheng H, An Y, et al. Network pharmacology and experiment verification-based strategy for exploring the mechanisms of Shuqing Granule in the treatment of COVID-19[J]. Pharmaceuticals (Basel), 2025,18(8):1216.

[10] 呼洁, 王鑫磊, 张超, 等. 疏清颗粒对 EV71 的体外抗病毒研究[J]. 湖南中医药大学学报,2013,33(12):3,7.
Hu J, Wang X L, Zhang C, et al. The antiviral activity of Shu Qing granules against enterovirus 71 in vitro[J]. J Tradit Chin Med Univ Hunan,2013,33(12):3,7.

[11] Yuan Y, Wang C, Wang G, et al. Airway microbiome and serum metabolomics analysis identify differential candidate biomarkers in allergic rhinitis[J]. Front Immunol, 2021,12:771136.

[12] Raza M A, Ashraf M A, Amjad M N, et al. The peculiar characteristics and advancement in diagnostic methodologies of Influenza A virus[J]. Front Microbiol, 2024,15:1435384.

[13] Jones J C, Yen H L, Adams P, et al. Influenza antivirals and their role in pandemic preparedness[J]. Antiviral Res, 2023,210:105499.

[14] 吴文玉, 吴鹏, 李诺然, 等. 中医药治疗流行性感冒的研究进展[J]. 南京中医药大学学报, 2025,41(11):1613-1632.
Wu W Y, Wu P, Li N R, et al. Research progress of Traditional Chinese Medicine in the treatment of influenza [J]. J Nanjing Univ Chin Med, 2025, 41(11): 1613-1632.

[15] 李葆林, 麻景梅, 田宇柔, 等. 甘草中新发现化学成分和药理作用的研究进展[J]. 中草药, 2021, 52(8): 2438-2448.
Li B L, Ma J M, Tian Y R, et al. Research progress on newly discovered chemical components and pharmacological effects in Glycyrrhiza uralensis[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2021, 52(8):2438-2448.

[16] 孙经梦, 刘骏, 李炯, 等. 桑叶提取物对小鼠感染甲型流感病毒 FM1 的预防与治疗作用研究[J]. 中药材, 2013, 36(11): 1837-1842.
Sun J M, Liu J, Li J, et al. Protective and therapeutic effects of mulberry leaf extract on mice infected with Influenza A virus FM1[J]. J Chin Med Mater, 2013, 36(11): 1837-1842.

[17] 冯琦, 刘义钢, 何琴, 等. 大青叶水提物对牛传染性鼻气管炎病毒的体外增殖抑制活性评价[J]. 畜牧兽医学报,2024,55(11):5287-5298.
Feng Q, Liu Y G, He Q, et al. Evaluation of the inhibitory activity of folium isatidis aqueous extract on the in vitro proliferation of infectious bovine rhinotracheitis virus [J]. Acta Veterinaria Et Zootechnica Sinica, 2024, 55(11):5287-5298.

[18] 王紫嫣. 基于 MAPK 信号通路探究疏清颗粒抗甲型流感病毒 H1N1 的作用[D]. 长春:吉林大学, 2019.
Wang Z Y. Anti-influenza A virus H1N1 effect of Shuqing Granules based on MAPK signaling pathway[D]. Changchun:Jilin University, 2019.

[19] 李文斌, 杨春, 李洁, 等. 槲皮素治疗肺部感染的药理作用研究进展[J]. 现代药物与临床,2025,40(10):2666-2671.
Li W B, Yang C, Li J, et al. Research progress on pharmacological effects of quercetin in treatment of pulmonary infections[J]. Drugs & Clinic,2025,40(10):2666-2671.

[20] Liu Q, Bengmark S, Qu S. Nutrigenomics therapy of hepatisis C virus induced-hepatosteatosis[J]. BMC Gastroenterol, 2010,10:49.

[21] Yuan S, Jiang S C, Zhang Z W, et al. Quantification of cytokine storms during virus infections[J]. Front Immunol, 2021,12:659419.

[22] Morris G, Bortolasci C C, Puri B K, et al. The cytokine storms of COVID-19, H1N1 Influenza, CRS and MAS compared. Can one sized treatment fit all? [J]. Cytokine, 2021,144:155593.

[23] Cesaro T, Michiels T. Inhibition of PKR by Viruses[J]. Front Microbiol, 2021,12:757238.

[24] Sietsema W K, Kelm G R, Deibel R M, et al. Absorption, bioavailability, and pharmacokinetics of tebufelone in the rat[J]. J Pharm Sci, 1993,82(6):610-612.

[25] Song Y, Hai E, He L, et al. Linoleic acid metabolite 13-Hydroxyoctadecadienoic acid as a biphasic ferroptosis modulator in granulosa cells: multi-omics analysis of ovine atretic follicles[J]. Front Cell Dev Biol, 2025, 13:1610621.

[26] Sala A, Proschak E, Steinhilber D, et al. Two-pronged approach to anti-inflammatory therapy through the modulation of the arachidonic acid cascade[J]. Biochem Pharmacol, 2018,158:161-173.