

乃孜来颗粒镇咳祛痰及改善急性咽炎的药效与机制研究



张伟怡^{1, 2#}, 曙丽盼·木拉提^{2#}, 黄磊¹, 彭雅荣¹, 姚旭¹, 李俊¹,
阿吉艾克拜尔·艾萨^{1, 2}

1. 新疆银朵兰药业股份有限公司 (乌鲁木齐 830013)

2. 新疆医科大学药学院 (乌鲁木齐 830011)

【摘要】目的 评价乃孜来颗粒的镇咳、祛痰及改善急性咽炎作用,并结合非靶向代谢组学与转录组学初步探讨其机制。**方法** 采用浓氨水诱导的小鼠咳嗽模型和酚红排泄模型,分别考察乃孜来颗粒对咳嗽潜伏期、2 min 内咳嗽次数以及气道酚红排泌量的影响,并利用非靶向代谢组学分析模型对照组与乃孜来颗粒高剂量组之间的差异代谢物及相关通路;另采用氨水涂抹法建立大鼠急性咽炎模型,HE 染色法观察咽部黏膜病理改变,采用免疫组化检测肿瘤坏死因子 α (TNF- α)和环氧合酶-2 (COX-2)表达,并结合全血转录组学分析相关炎症通路。**结果** 乃孜来颗粒可显著延长模型小鼠咳嗽潜伏期、减少咳嗽次数,并增加气道酚红排泌量;非靶向代谢组学分析筛选出6种与祛痰效应相关的差异代谢物,其作用主要富集于花生四烯酸代谢、自噬及甘油磷脂代谢等通路;乃孜来颗粒能改善急性咽炎大鼠咽部的炎症反应,使黏膜增厚得到改善,炎症细胞浸润减少,免疫组化分析也显示其能降低TNF- α 和COX-2的表达,全血基因转录组学结果进一步揭示其作用机制可能与TNF信号通路、辅助性T细胞17细胞分化及T细胞活化等过程相关。**结论** 乃孜来颗粒具有良好的镇咳祛痰作用,改善急性咽炎大鼠咽部黏膜的作用。

【关键词】 乃孜来颗粒;镇咳祛痰;急性咽炎;肿瘤坏死因子- α ;环氧合酶-2

【中图分类号】 R285.5

【文献标识码】 A

Pharmacological effects and mechanisms of Naizilai granules in relieving cough, resolving phlegm, and ameliorating acute pharyngitis

ZHANG Weiyl^{1,2#}, SHULIPAN·Mulatia^{2#}, HUANG Lei¹, PENG Yarong¹, YAO Xu¹, LI Jun¹,
AJIAIKEBAIER·Aisa^{1,2}

1. Xinjiang Yindolan Pharmaceutical Co., Ltd, Urumqi 830013, China

2. College of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China

#Co-first authors: ZHANG Weiyl and SHULIPAN·Mulatia

Corresponding authors: LI Jun, Email: xjydljszx@163.com; AJIAIKEBAIER·Aisa, Email: haji@ms.xjb.ac.cn

【Abstract】Objective To evaluate the effects of Naizilai granules in relieving cough, resolving phlegm and ameliorating acute pharyngitis, and to preliminarily explore their underlying

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202603081

基金项目: 新疆维吾尔自治区科技重大专项 (2022A03008、2025A03007); 药品监管科学全国重点实验室课题 (2025SKLDRS0304)

#共同第一作者

通信作者: 李俊, 高级工程师/高级经济师, Email: xjydljszx@163.com

阿吉艾克拜尔·艾萨, 博士, 教授, 中国工程院院士, 博士研究生导师, Email: haji@ms.xjb.ac.cn

<https://yxqy.whuznhmedj.com>

mechanisms using untargeted metabolomics and transcriptomics. **Methods** The antitussive effect was assessed using a concentrated ammonia water-induced mouse cough model, by measuring cough latency and the number of coughs within 2 min, while the expectorant effect was assessed in a phenol red excretion model by measuring the amount of phenol red excreted in the airway. Untargeted metabolomics was performed to identify differential metabolites and related metabolic pathways between the model control group and the high-dose Naizilai granules group. In a separate rat model of acute pharyngitis induced by topical ammonia application, pharyngeal mucosal pathology was examined via HE staining. The expression of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and cyclooxygenase-2 (COX-2) was determined by immunohistochemistry, and inflammation-related signaling pathways were further investigated using whole-blood transcriptomic analysis. **Results** Naizilai granules significantly prolonged cough latency and reduced cough frequency in mice. It also increased phenol red secretion from the airways. Metabolomics analysis identified six differential metabolites associated with the expectorant effect, which were primarily enriched in arachidonic acid metabolism, autophagy, and glycerophospholipid metabolism pathways. In rats with acute pharyngitis, Naizilai granules ameliorated inflammatory responses, reduced mucosal thickening, and decreased inflammatory cell infiltration. Immunohistochemical analysis further demonstrated that the granules downregulated the expression of TNF- α and COX-2 in pharyngeal tissues. Whole-blood transcriptomic analysis further revealed that its mechanism of action may be associated with the TNF signaling pathway, Th17 cell differentiation, and T cell activation. **Conclusion** Naizilai granules demonstrate good antitussive and expectorant effects, and can effectively alleviate ammonia-induced acute pharyngitis in rats

【Keywords】 Naizilai granules; Antitussive and expectorant; Acute pharyngitis; Tumor necrosis factor- α ; Cyclooxygenase-2

急性咽炎以喉咙痛、咳嗽和吞咽困难为特征，是一种常见的临床病症^[1]。其主要由细菌或病毒感染引发，也可由物理或化学刺激物诱导。急性咽炎起病较急，初觉咽干、灼热、瘙痒，可伴有咳嗽及咽部分泌物增多，继而出现咽痛或吞咽痛，逐渐加重，影响吞咽。严重时，咽炎会影响整个喉咙和邻近的淋巴组织，并可能导致严重的全身并发症^[2]。急性咽炎发生过程中，局部炎症反应可刺激咽部及气道导致咳嗽反射增强以及促进黏液分泌增加^[3]。因此，改善咳嗽及促进痰液排出不仅能够缓解患者症状，还有助于减轻炎症相关不适、促进症状恢复，提示镇咳祛痰作用与改善急性咽炎具有一定关联^[4]。目前，急性咽炎的治疗以缓解症状和针对病因的药物干预为主，但抗菌药物治疗仅能使部分患者获益，且其应用需权衡治疗效果与潜在的不良反应及耐药风险^[5]。因此，开发具有抗炎、镇咳祛痰作用的候选药物，对于改善急性咽炎相关症状具有重要意义。

乃孜来颗粒源于国医大师巴黑·玉素甫多年

临床实践经验的总结，是其二十余年诊疗过程中形成的特色复方。该制剂由一枝蒿、神香草、天山堇菜、莴苣子、破布木果、洋甘菊、大枣及薄荷等8味药材配伍而成，主要用于治疗病毒引起的上呼吸道感染、发热、头痛、鼻塞、咳嗽、流鼻涕等症状，临床疗效显著。前期已完成制备工艺、药效学和毒理学等相关研究^[6]，但尚未系统研究其具体药理作用机制。中药复方具有多成分、多靶点和多通路协同作用的特点，其整体药效机制往往难以通过单一指标充分阐释^[7]。近年来，转录组学、代谢组学及多组学整合分析逐渐应用于中药复方研究，可从基因表达和代谢网络等不同层面解析药物干预后的生物学变化，为揭示其潜在作用机制和关键靶点提供新的研究思路^[8]。本研究在已有单味药研究^[9]的基础上，对乃孜来颗粒进行整体药效评价，并综合运用非靶向代谢组学与转录组学技术，旨在从系统生物学角度揭示其镇咳祛痰及抗急性咽炎的分子机制，期望发现复方特有的关键炎症通路和代谢调控靶点，为中药复方现代化研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 主要仪器

QExactive HF-X 质谱仪和超高效液相色谱仪购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; 5424R 离心机 (德国 Eppendorf 公司); MU-G02-0448 恒温金属混匀仪 (杭州米欧仪器有限公司); MS105 DM 十万分之一电子天平 (瑞士 Mettler Toledo 公司); CentriVap 离心浓缩仪 (美国 Labconco 公司); KQ5200E 超声清洗仪 (昆山市超声仪器有限公司); 移液器 (德国 Eppendorf 公司); Biomek i5 自动化工作站 (美国 Beckman Coulter 公司); Mini HES 膜仪 (苏州 Monad 生物科技有限公司); 多功能酶标仪 (瑞士 Tecan Trading AG 公司); 正置光学显微镜 (日本 Nikon 公司)。

1.2 主要药品与试剂

乃孜来颗粒 (新疆银朵兰药业股份有限公司, 规格: 6 g/袋, 批号: Y220808); 复方乙酰水杨酸片 (山东新华制药股份有限公司, 规格: 每片含阿司匹林 0.22 g, 批号: 2512293); 氨溴特罗口服液 (北京韩美药品有限公司, 规格: 120 mL/瓶, 批号: H20040317); 醋酸地塞米松片 (遂成药业股份有限公司, 规格: 0.75 mg/片, 批号: H41021038); 蓝芩口服液 (扬子江药业集团有限公司, 规格: 10 mL/支, 批号: Z20063795); 环氧化酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2, 北京 Bioss 公司, 批号: bsm-52502R); 肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α , 赛维尔生物, 批号: GB115701); 苯酚红、浓氨水、碳酸氢钠购自天津北联, 均为分析纯。

1.3 实验动物

昆明小鼠, 72 只, 雌雄各半, 体重 18~22 g; SD 大鼠, 30 只, 雄性, 体重 180~200 g, 均购自新疆医科大学动物中心, SPF 级, 生产许可证号: SCXK (新) 2023-0001。动物实验方案已获得新疆医科大学动物中心实验动物管理和使用委员会批准 (伦理审批号: IACUC-20240723-03)。

1.4 方法

1.4.1 镇咳模型构建及血液采集

采用浓氨水喷雾诱导的小鼠咳嗽模型^[10], 取 36 只昆明小鼠 (雌雄各半), 随机分为正常对照组、模型对照组、阳性对照组 (氨溴特罗口服液, 5.77 mL/kg) 及乃孜来颗粒低 (200 mg/kg)、

中 (400 mg/kg)、高 (800 mg/kg) 剂量组, 每组 6 只。乃孜来颗粒给药剂量基于前期药效学实验及临床等效剂量换算确定。乃孜来颗粒采用纯化水配制, 低、中、高剂量对应药液质量浓度分别为 20、40、80 mg/mL, 按 10 mL/kg 的灌胃体积给药, 并根据小鼠实际体重调整给药量。所有动物每日灌胃给药 1 次, 连续 7 d, 模型对照组与正常对照组灌服等体积蒸馏水。于末次给药 1 h 后, 将模型组与各给药组小鼠个体置入透明喷雾舱, 以定量浓氨水恒压喷雾刺激 5 s, 随后立即记录其咳嗽潜伏期与 2 min 内咳嗽次数 (以腹肌收缩和张口动作为标志)。正常对照组小鼠不接受浓氨水喷雾刺激, 其设置用于反映小鼠正常生理状态下的基础咳嗽情况, 并作为模型建立及药物干预效果评价的参照, 同时排除实验环境和操作过程对咳嗽反应的影响。数据采集完毕后, 小鼠经麻醉后摘眼球取血, 收集全血样本。

1.4.2 祛痰模型构建及气管酚红含量测定

本研究采用酚红排泄法^[10]考察乃孜来颗粒的祛痰作用, 另取 36 只昆明小鼠 (雌雄各半), 实验分组与给药同“1.4.1”项。末次给药 30 min, 除正常对照组外, 其余小鼠均腹腔注射 0.5 % 酚红溶液 (20 mL/kg)。注射 30 min 后, 小鼠经麻醉处理采集全血, 静置后分离血清, 于 -80 °C 保存备用, 用于后续非靶向代谢组学分析。随后处死小鼠, 立即分离自甲状软骨至支气管分叉处的完整气管。将气管样本置于 2 mL 生理盐水中, 经涡旋振荡 5 min 后, 加入 1 mL 碳酸氢钠溶液 (50 g/L) 碱化, 离心 ($250 \times g$) 10 min。最后使用酶标仪在 546 nm 处检测上清液的吸收度, 依据酚红标准曲线换算得出酚红排泄量, 即为祛痰量。

1.4.3 非靶向代谢组学分析

取祛痰模型实验中采集的血清样本, 解冻后准确量取 50 μ L 血清, 加入 300 μ L 20% 乙腈甲醇 (含内标) 进行蛋白沉淀, 涡旋 3 min 后, 于 4 °C 离心 ($13\,500 \times g$) 10 min, 收集上清液, -20 °C 静置 30 min 后再离心 ($13\,500 \times g$) 离心, 取最终上清液转移至自动进样器专用样品管中进样分析。液相色谱条件: Waters ACQUITY Premier HSST3 色谱柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μ m); 流动相为 0.1 % 甲酸水溶液 (A) 和 0.1% 甲酸乙腈溶液 (B); 流速: 0.4 mL/min; 柱温: 40 °C; 进样量: 4 μ L^[11]。

1.4.4 氨水涂抹致大鼠急性咽炎模型的建立

30只SD大鼠随机分为5组,每组6只,分别为正常对照组、模型对照组、乃孜来颗粒高剂量组(800 mg/kg)、醋酸地塞米松组(5 mg/kg)和蓝芩口服液组(3 mg/kg)。除正常对照组外均用15%氨水点涂,建立急性咽炎模型,具体操作:尽量向下牵引鼠下颌骨使口腔张开到最大程度,止血钳轻柔地牵拉出舌头暴露出咽部,并用浸透但不滴液体的加长棉棒均匀涂抹咽部10 s,正常对照组大鼠则用生理盐水代替。此项造模方法已通过预实验验证,观察到模型对照组大鼠出现摄食减少、精神萎靡及咽喉黏膜红肿、充血,并结合苏木精-伊红(HE)染色显示的典型急性炎症病理改变,证实了本方法可成功复制急性咽炎模型。正式实验连续造模3 d,每天2次,第4天开始灌胃给药每天1次,连续给药5 d,模型对照组与正常对照组灌服等量蒸馏水。

1.4.5 急性咽炎模型大鼠咽部组织病理学观察

末次给药后,处死急性咽炎模型实验各组大鼠,迅速取咽部组织,置于4%多聚甲醛固定液中固定。固定完成后,组织经过脱水、透明及石蜡包埋步骤以制备切片。切片经二甲苯脱蜡,并经梯度乙醇逐级复水至蒸馏水后,进行HE染色,随后经梯度乙醇脱水、二甲苯透明,并采用中性树脂封片。由不知晓分组的观察者使用光学显微镜,重点评估咽部黏膜的完整性、上皮细胞形态及炎症细胞浸润程度。

1.4.6 急性咽炎模型大鼠咽部组织免疫组化分析

石蜡切片经脱蜡水化、抗原修复、阻断过氧化酶、封闭后,滴加TNF- α 和COX-2一抗(稀释比例1:200),4℃孵育过夜;次日加HRP标记兔二抗(稀释比例1:500),DAB显色,苏木精复染,中性树脂封片。光镜下检测观察阳性表达并对图像进行ImageJ分析,比较各组TNF- α 和COX-2阳性表达的差异。

1.4.7 急性咽炎模型大鼠全血转录组学分析

采集氨水诱导急性咽炎模型大鼠各组全血样本,提取总RNA并检测其浓度和完整性。合格RNA经poly(A) mRNA富集、片段化、反转录、

接头连接及聚合酶链式反应扩增后构建文库,并在DNBSEQ-T7平台进行测序。采用fastp对原始数据进行质控,去除接头序列及低质量reads;将获得的clean reads比对至大鼠参考基因组,并进行基因表达定量。基于基因表达矩阵开展组间差异表达分析,筛选差异表达基因,进一步进行基因本体(Gene Ontology, GO)功能富集和京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)通路富集分析,以探讨急性咽炎及药物干预相关的基因表达变化和潜在生物学机制^[12]。

1.5 统计学分析

采用GraphPad Prism 10.6.1和R软件进行数据分析。连续型数据经Shapiro-Wilk检验符合正态分布后,以 $\bar{x} \pm s$ 表示;多组间比较采用ANOVA单因素方差分析,采用Dunnnett's检验进行事后多重比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。代谢组学数据采用主成分分析(principal component analysis, PCA)评价样本总体分布及组间分离趋势,并采用偏最小二乘法判别分析(partial least squares discriminant analysis, PLS-DA)筛选差异代谢物,以变量投影重要性(variable importance in projection, VIP)值 > 1 且 $P < 0.05$ 为差异代谢物筛选标准。转录组数据采用DESeq2进行差异表达分析,并采用Benjamini-Hochberg方法进行多重检验校正,以错误发现率(false discovery rate, FDR) < 0.05 且 $|\log_2FC| \geq 1$ 作为差异表达基因筛选标准。

2 结果

2.1 乃孜来颗粒镇咳作用

在浓氨水诱导的小鼠咳嗽模型中,乃孜来颗粒各剂量均表现出一定的镇咳作用,能延长小鼠的咳嗽潜伏期。与模型对照组相比,乃孜来颗粒中、高剂量组和阳性对照组差异均有统计学意义($P < 0.05$),且乃孜来颗粒中、高剂量组与阳性对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。此外,与模型对照组相比,乃孜来颗粒中、高剂量组与阳性对照组小鼠咳嗽次数均显著减少($P < 0.05$),且乃孜来颗粒中、高剂量组与阳性对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。观察期内正常对照组未出现咳嗽反应,咳嗽次数为0次/2 min。结果见图1。

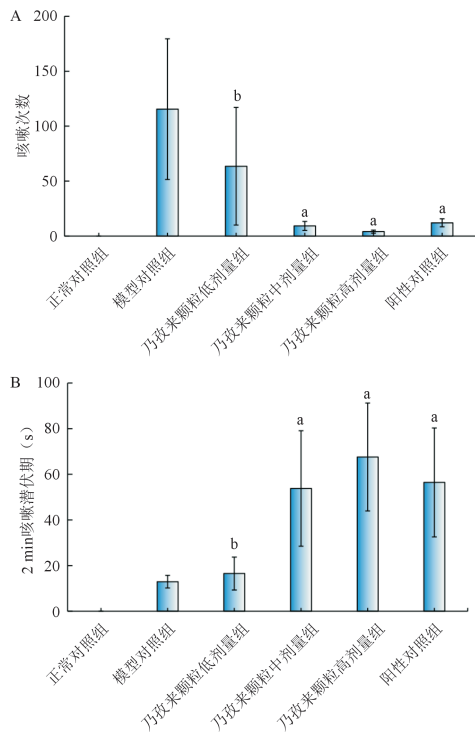


图1 乃孜来颗粒对浓氨水引咳小鼠咳嗽次数和潜伏期的影响 ($n = 6$)

Figure 1. Effects of Naizilai granules on cough frequency and latency in mice induced by concentrated ammonia water ($n = 6$)

注: A. 咳嗽次数; B. 2 min 咳嗽潜伏期; 与模型对照组比较, $^aP < 0.05$; 与阳性对照组比较, $^bP < 0.05$ 。

2.2 乃孜来颗粒祛痰作用

酚红排泄小鼠模型结果显示, 与模型对照组相比, 乃孜来颗粒低、中、高剂量组和阳性对照组小鼠的酚红排泄量均显著增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 且与阳性对照组相比, 乃孜来颗粒低、中、高剂量组酚红排泄量差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。结果见图2。

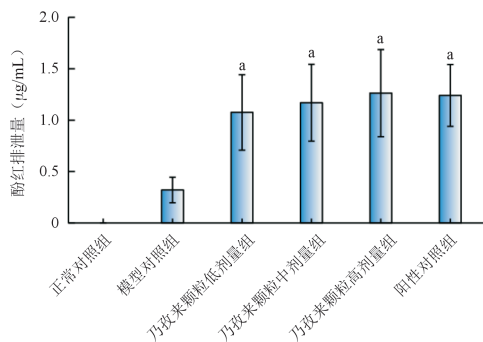


图2 乃孜来颗粒对酚红诱导小鼠咳痰的影响 ($n = 6$)

Figure 2. Effect of Naizilai granules on phenol red excretion in mice ($n = 6$)

注: 与模型对照组比较, $^aP < 0.05$ 。

2.3 血清非靶向代谢组学分析

2.3.1 数据质控

为评估乃孜来颗粒对酚红排泄祛痰模型小鼠血清代谢紊乱的调节作用, 比较酚红排泄祛痰试验中的模型对照组与乃孜来颗粒高剂量组之间的代谢差异。首先进行PCA, 正、负离子模式下的PCA得分图显示2组样本呈现分离趋势, 但存在部分重叠 (图3-A、B)。为进一步最大化组间差异, 构建PLS-DA进行综合评估, 图3-C、D显示, 在正、负离子模式下, 2组均实现了清晰分离。

2.3.2 关键差异代谢物分析

在酚红诱导祛痰模型小鼠中, 非靶向代谢组学分析结果显示, 以VIP值 > 1 且 $P < 0.05$ 为筛选标准, 模型对照组与乃孜来颗粒高剂量组间共鉴定出257个差异代谢物, 其中89个代谢物水平升高, 168个代谢物水平降低, 结果见图4。

为直观展示乃孜来颗粒对酚红排泄祛痰模型小鼠关键差异代谢物的调控作用, 从模型对照组与乃孜来颗粒高剂量组比较所得的差异代谢物中, 按照VIP值 > 1 且 $P < 0.05$ 的标准进行筛选, 并结合代谢物变化趋势及生物学意义, 选取关键差异代谢物绘制相对含量聚类热图 (图5)。结果显示, 与模型对照组相比, 乃孜来颗粒高剂量组中前列腺素A₂、血栓素B₂等代谢物整体呈下调趋势。

2.3.3 差异代谢物KEGG富集分析

KEGG富集分析结果显示, 酚红诱导祛痰模型中, 乃孜来颗粒高剂量组与模型对照组的差异代谢物主要涉及花生四烯酸代谢、自噬以及甘油磷脂代谢等通路, 这些通路可能为乃孜来颗粒改善酚红排泄模型小鼠血清代谢紊乱的主要途径 (图6)。

花生四烯酸代谢通路中富集了多种差异代谢物, 且该通路炎症介质生成及呼吸道分泌调节密切相关, 因此选取该通路进行重点分析。以VIP值 > 1 、 $P < 0.05$, 并具有明确KEGG通路注释为筛选标准, 结合代谢物变化趋势及其与祛痰作用的生物学关联, 筛选花生四烯酸代谢通路中的关键差异代谢物。结果显示, 与酚红排泄祛痰模型对照组相比, 乃孜来颗粒高剂量组中前列腺素A₂、血栓素B₂、N-乙基甘氨酸、(±)12-羟基-5Z, 8Z, 10E, 14Z-二十碳四烯酸和2-花生四烯酰基甘油及花生四烯酸-d₈代谢物水平均降低, 结果见图7。

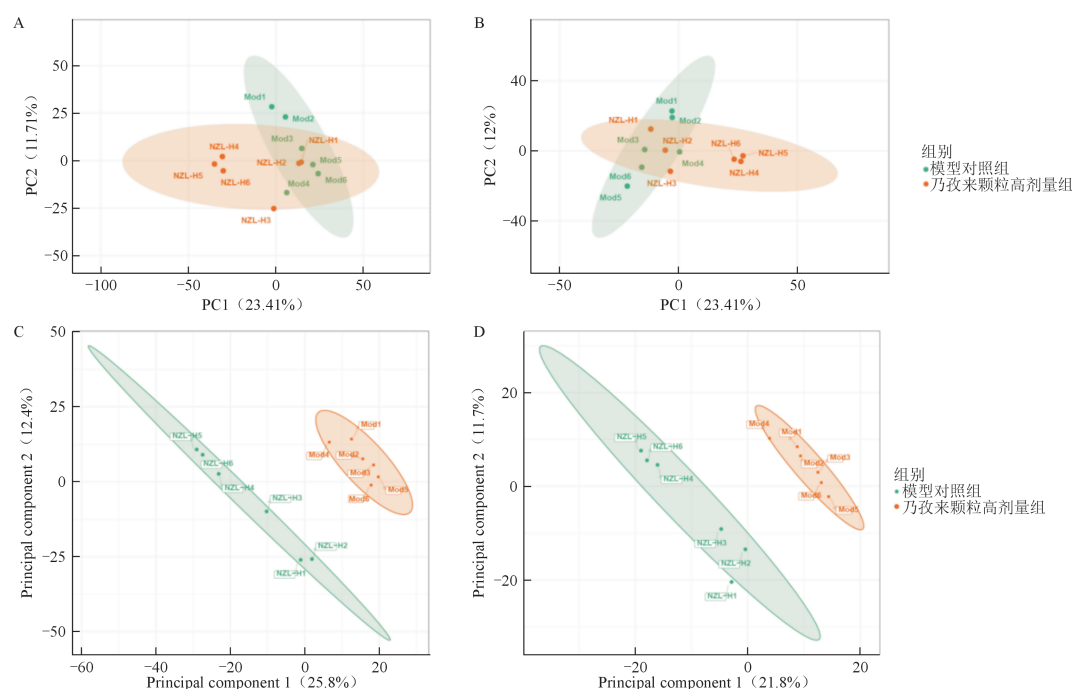


图3 各组样本PCA和PLS-DA得分图

Figure 3. PCA and PLS-DA score plots of samples from different groups

注：A. 正离子模式下PCA分析；B. 负离子模式下PCA分析；C. 正离子模式下PLS-DA分析；D. 负离子模式下PLS-DA分析。

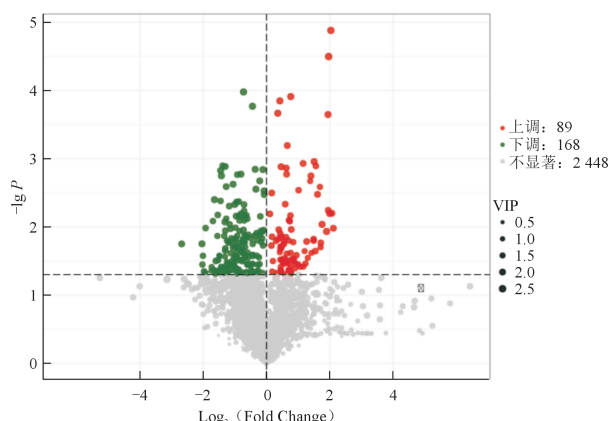
图4 模型对照组与乃孜来颗粒高剂量组
差异丰度代谢物火山图

Figure 4. Volcano plot of differentially abundant metabolites between the Mod and NZL-H groups

2.4 乃孜来颗粒改善急性咽炎

HE染色结果显示，与正常对照组（图8-A）相比，模型对照组（图8-B）大鼠咽喉组织中局部结构紊乱，可见较多黏膜层上皮细胞坏死（黑色箭头），胞核固缩溶解，伴有较多淋巴细胞浸润（蓝色箭头），固有层中腺泡数量多，大小不一。蓝芩口服液组（图8-E）大鼠可见较多的黏膜上皮细胞坏死（黑色箭头），胞核固缩深染、碎裂，胞质嗜酸性增强，固有层结缔组织排列不规则，可见少量的淋巴细胞浸润（蓝色箭头）。

乃孜来颗粒高剂量组（图8-C）与醋酸地塞米松组（图8-D）大鼠咽部组织结构有明显改善，视野内可见黏膜上皮细胞完整，排列规则，细胞形态正常，固有层结缔组织排列规则，未见明显的炎性细胞浸润。

2.5 转录组学分析

2.5.1 各组差异基因分析

差异表达基因火山图结果见图9，以 $|\log_2FC| \geq 1$ 且 $FDR < 0.05$ 为筛选标准，与模型对照组相比，醋酸地塞米松组共筛选出603个差异表达基因，其中上调290个、下调313个；乃孜来颗粒高剂量组共筛选出92个差异表达基因，其中上调32个、下调60个。结果提示，醋酸地塞米松和乃孜来颗粒高剂量干预均可引起急性咽炎模型大鼠全血转录表达谱发生改变，且醋酸地塞米松组差异表达基因数量多于乃孜来颗粒高剂量组。

2.5.2 各组差异表达基因KEGG富集分析

由图10可知，差异表达基因KEGG富集分析结果显示，醋酸地塞米松组与乃孜来颗粒高剂量组均富集于TNF和缺氧诱导因子-1（hypoxia-inducible factor-1, HIF-1）等信号通路，提示2种干预均可影响炎症及免疫相关信号通路。乃孜来颗粒高剂量组富集通路主要涉及抗原呈递、

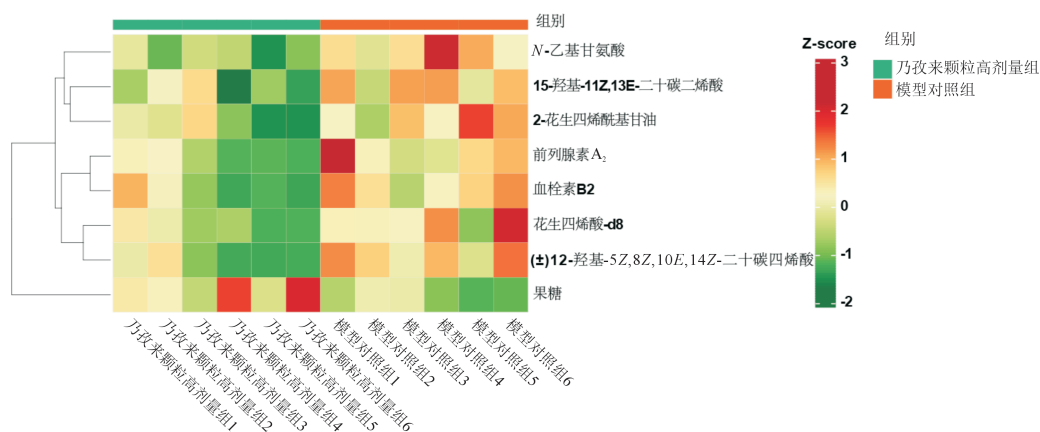


图5 差异代谢物聚类热图

Figure 5. Clustering heatmap of differential metabolites

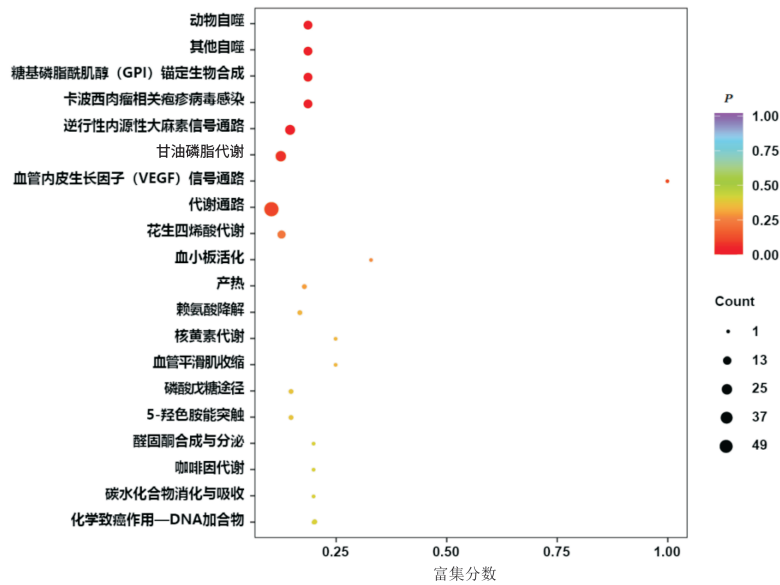


图6 差异代谢物KEGG富集分析图

Figure 6. KEGG enrichment analysis of differential metabolites

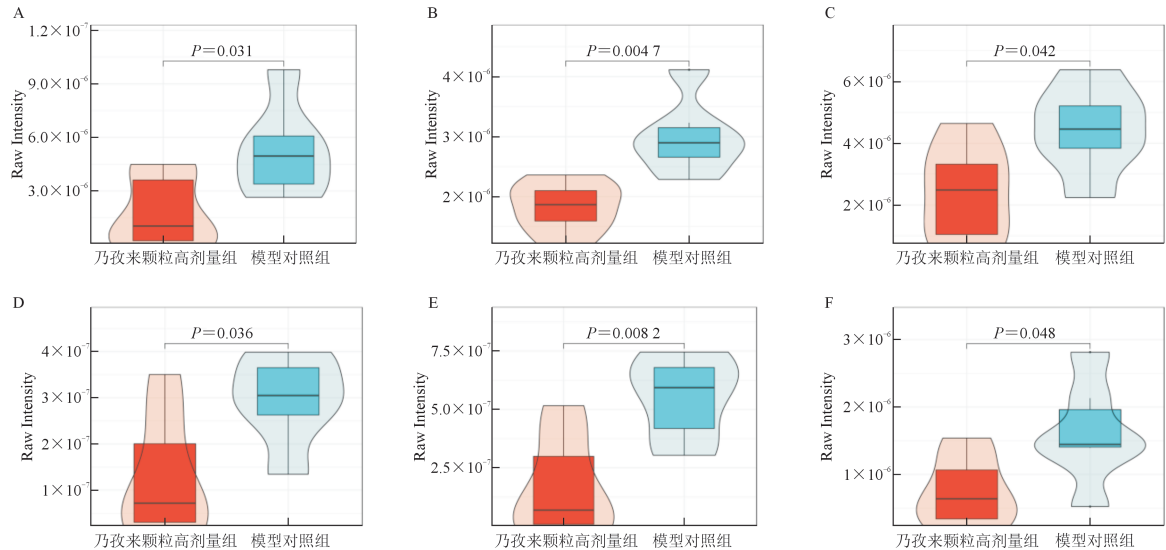


图7 差异代谢物小提琴图

Figure 7. Violin plots of differential metabolites

注：A. 前列腺素A₂；B.N-乙基甘氨酸；C.2-花生四烯酰基甘油；D. 血栓素B₂；E. (±)12-羟基-5Z,8Z,10E,14Z-二十碳四烯酸；F. 花生四烯酸-d8。

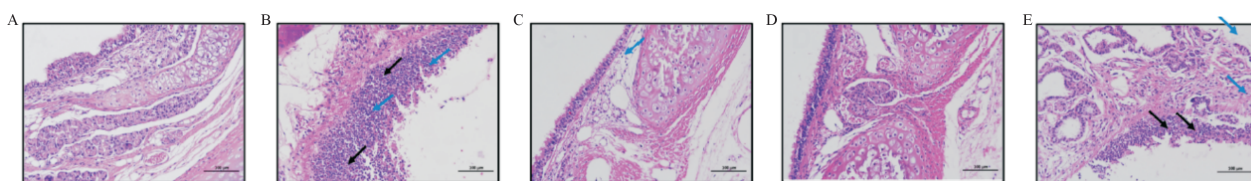


图8 各组大鼠咽部黏膜病理结果 (HE, 200×)

Figure 8. Histopathological results of the pharyngeal mucosa in rats from each group (HE, 200×)

注: A. 正常对照组; B. 模型对照组; C. 乃孜来颗粒高剂量组; D. 醋酸地塞米松组; E. 蓝莓口服液组。

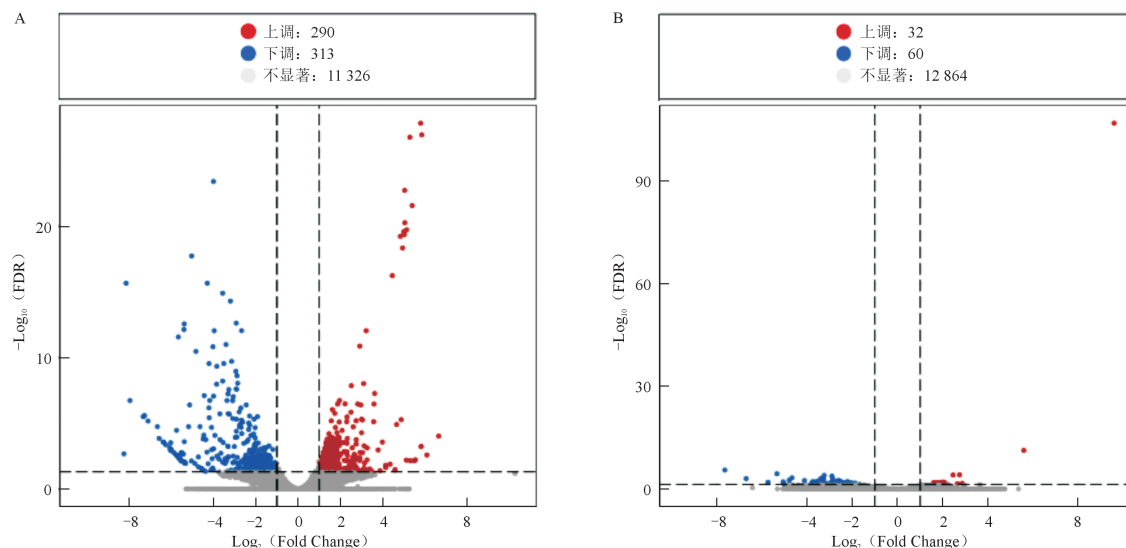


图9 各组间差异表达基因比较结果

Figure 9. Comparative analysis of differentially expressed genes among groups

注: A. 模型组 vs. 醋酸地塞米松组; B. 模型组 vs. 乃孜来颗粒高剂量组

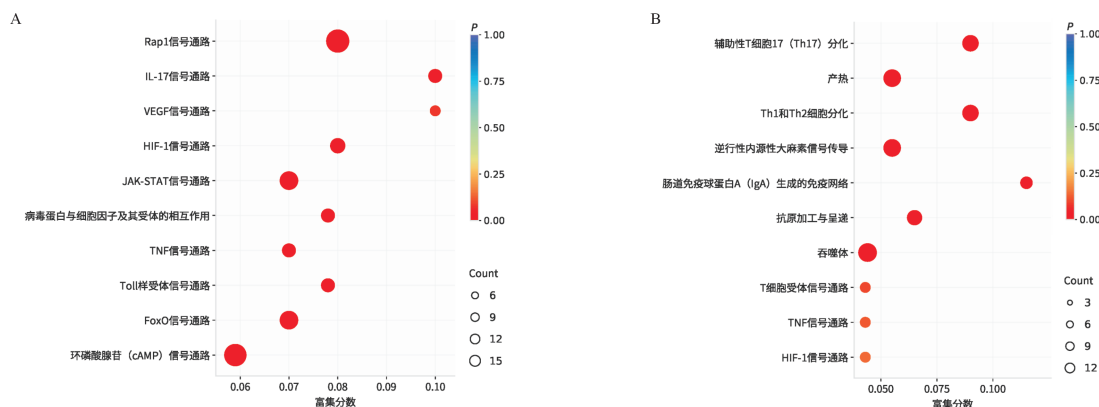


图10 各组间差异表达基因KEGG富集分析

Figure 10. KEGG enrichment analysis of differentially expressed genes among groups

注: A. 模型组与醋酸地塞米松组差异基因; B. 模型组与乃孜来颗粒高剂量组差异基因。

T细胞分化、黏膜免疫及吞噬等免疫调节过程; 醋酸地塞米松组富集通路主要涉及白细胞介素-17 (interleukin-17, IL-17)、Janus 激酶 (Janus kinase, JAK) -信号转导及转录激活蛋白 (signal transducer and activator of transcription, STAT)、Toll 样受体及血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 等炎症和免疫相

关信号通路。

2.6 乃孜来颗粒对大鼠咽部黏膜 TNF- α 和 COX-2 表达的影响

免疫组化结果显示, 与正常对照组相比, 模型对照组大鼠咽部黏膜中 TNF- α 与 COX-2 的阳性表达 (棕黄色) 均显著增强; 而经乃孜来颗粒高剂量与醋酸地塞米松干预后, 2 种炎症因子的

表达水平均出现明显下降,提示二者均能有效抑制咽部黏膜炎症模型中TNF- α 与COX-2的过度

表达,且2组间TNF- α 与COX-2的阳性表达差异无统计学意义($P>0.05$)。具体见图11。

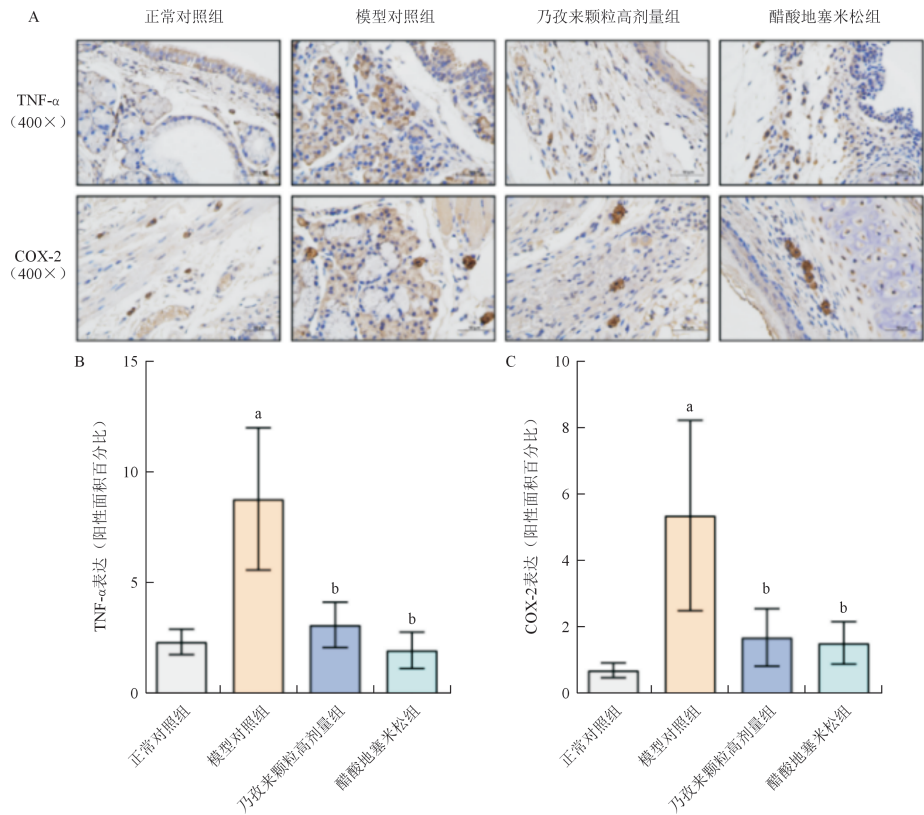


图 11 大鼠咽部黏膜 TNF- α 与 COX-2 表达结果比较 ($n=6$)

Figure 11. Comparison of TNF- α and COX-2 expression in rat pharyngeal mucosa ($n=6$)

注: A. 各组大鼠咽部组织 TNF- α 和 COX-2 免疫组化染色代表图 (400 $\times$); B-C. 各组大鼠咽部组织 TNF- α 和 COX-2 免疫组化阳性面积百分比分析结果; 与正常对照组比较, $^aP<0.05$; 与模型对照组比较, $^bP<0.05$ 。

3 讨论

乃孜来颗粒具有良好的抗炎、镇痛作用,为综合评价乃孜来颗粒镇咳、祛痰及改善急性咽炎的药效作用,本文通过浓氨水引咳模型、酚红排泄模型以及氨水涂抹大鼠咽喉致急性咽炎模型进行药效学评价。结果显示,乃孜来颗粒能显著延长浓氨水引咳模型小鼠的咳嗽潜伏期,并减少 2 min 内咳嗽次数。同时,乃孜来颗粒还能显著促进酚红排泄模型小鼠的呼吸道酚红排泄量,并改善急性咽炎大鼠咽部病理改变。上述结果表明,乃孜来颗粒具有镇咳、祛痰及改善急性咽炎的药效作用,其对呼吸道症状及咽部炎症均具有一定的改善作用。

COX-2 及其下游产物血栓素 A2 形成的通路与炎症相关疾病的关系近年来成为国内外学者的研究热点。当外源致炎物质侵入机体时,细胞内磷脂酶 A2 易被激活,作为生物活性物质生成限

速酶的磷脂酶 A2,将花生四烯酸分解为游离形式并释放至细胞液^[13]。游离型花生四烯酸及其代谢物,比如白三烯类物质、血栓素 B2、前列腺素及羟基二十碳四烯酸均为重要炎症介质,在多种疾病发生发展中发挥关键作用^[14]。本研究代谢组学结果显示,乃孜来颗粒高剂量组与模型对照组相比,差异代谢物主要富集于自噬、甘油磷脂代谢及花生四烯酸代谢等通路,且前列腺素 A₂、血栓素 B2 等相关代谢物水平降低,提示花生四烯酸代谢可能参与乃孜来颗粒的药效发挥。

近年来,多组学联合分析已成为揭示中药复方多靶点、多通路作用机制的重要研究策略,可从基因表达、代谢变化等多个层面系统解析药物作用特点^[15]。本研究综合运用转录组学与代谢组学技术,从多维度初步探讨了乃孜来颗粒的改善急性咽炎、止咳祛痰的作用机制。TNF- α 已被公认为炎症反应的核心调控因子,具有强大的促炎活性,可诱导包括 COX-2 在内的多种炎症介质

表达^[16]。乃孜来颗粒高剂量组差异表达基因主要富集于TNF信号通路、Th17细胞分化及T细胞活化等炎症和免疫调节相关通路。免疫组化结果进一步显示，乃孜来颗粒高剂量组可降低急性咽喉炎大鼠咽部黏膜TNF- α 及COX-2的阳性表达。结合代谢组学、转录组学及免疫组化结果推测，乃孜来颗粒的镇咳、祛痰及改善急性咽喉炎作用可能与炎症信号调控、炎症因子表达降低及代谢重塑有关。将进一步深入研究上述靶点基因及蛋白表达变化，探究其具体机制。

乃孜来颗粒由一枝蒿、神香草、天山堇菜、莴苣子、破布木果、洋甘菊、大枣和薄荷等多种药材组成，为其多途径协同作用提供了物质基础。一枝蒿、神香草等药材已被报道具有抗炎、抗氧化活性^[17-18]。本研究将镇咳、祛痰药效评价与急性咽喉炎模型相结合，并联合代谢组学、转录组学及免疫组化，从药效、代谢物、炎症通路和蛋白表达等多个层面初步揭示乃孜来颗粒的作用特点。但本研究仍存在一定局限性。首先，多组学分析结果主要基于生物信息学富集分析和相关性证据，尚缺乏对关键靶点及信号通路的功能学验证；其次，转录组学检测样本来源于全血，不能完全反映咽部局部组织的基因表达变化；此外，本研究采用的镇咳、祛痰及急性咽喉炎模型分别独立建立，仅能从不同角度评价乃孜来颗粒的药效作用，3种模型之间的内在联系及共同作用机制仍需进一步研究。同时，本研究主要评价了乃孜来颗粒高剂量的多组学变化，不同剂量间的分子机制差异尚有待进一步阐明。后续研究将结合咽部局部组织转录组及蛋白表达检测，开展细胞和动物功能实验，并通过关键靶点干预、基因敲降或抑制剂验证等方式，对TNF信号通路、COX-2及花生四烯酸代谢等关键通路进行深入研究，以进一步阐明乃孜来颗粒镇咳、祛痰及改善急性咽喉炎的分子机制，为其临床应用提供更充分的实验依据。

参考文献

- Han X, Sun C, Ding H, et al. Integration of transcriptomics and metabolomics reveals the mechanism of Glycyrrhizae Radix Et Rhizoma extract inhibiting CCL5 in the treatment of acute pharyngitis[J]. *Phytomedicine*, 2025, 137: 156360. DOI: [10.1016/j.phymed.2024.156360](https://doi.org/10.1016/j.phymed.2024.156360).
- Xu M, Hu TY, Li DC, et al. Yan-Hou-Qing formula attenuates ammonia-induced acute pharyngitis in rats via inhibition of NF- κ B and COX-2[J]. *BMC Complement Med Ther*, 2020, 20(1): 280. DOI: [10.1186/s12906-020-03077-1](https://doi.org/10.1186/s12906-020-03077-1).
- 李雪, 刘丹丹, 苏小娟, 等. 利咽止咳汤合养阴清肺汤治疗小儿急性咽喉炎所致难治性咳嗽疗效观察[J]. *现代中西医结合杂志*, 2024, 33(11): 1559-1562. [Li X, Liu DD, Su XJ, et al. Clinical efficacy observation of Liyan Zhike decoction combined with Yangyin Qingfei decoction in the treatment of refractory cough caused by acute pharyngitis in children[J]. *Modern Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine*, 2024, 33(11): 1559-1562.] DOI: [10.3969/j.issn.1008-8849.2024.11.018](https://doi.org/10.3969/j.issn.1008-8849.2024.11.018).
- Pellegrino R, Timitilli E, Verga MC, et al. Acute pharyngitis in children and adults: descriptive comparison of current recommendations from national and international guidelines and future perspectives[J]. *Eur J Pediatr*, 2023, 182(12): 5259-5273. DOI: [10.1007/s00431-023-05211-w](https://doi.org/10.1007/s00431-023-05211-w).
- Spinks A, Glasziou PP, Del Mar CB. Antibiotics for treatment of sore throat in children and adults[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2021, 12(12): CD000023. DOI: [10.1002/14651858.CD000023.pub5](https://doi.org/10.1002/14651858.CD000023.pub5).
- 吴涛. 维药乃孜来颗粒制备工艺、质量标准及药理作用研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2017. <https://d.wanfangdata.com.cn/thesis/Ch1UaGVzaXNOZXdtb2xyOVMyMDI2MDkxNjA5NDMzMhIiwTMjNTQ5OTEaCGl6bXJqeHY0>.
- 杨洪军, 李贤煜, 陈鹏, 等. 中药复方的现代基础研究进展述评附视频[J]. *中国科学基金*, 2024, 38(3): 387-395. [Yang HJ, Li XY, Chen P, et al. Review on the progress of modern basic research on traditional Chinese medicine compound prescriptions[J]. *Bulletin of the National Natural Science Foundation of China*, 2024, 38(3): 387-395.] DOI: [10.16262/j.cnki.1000-8217.20240416.001](https://doi.org/10.16262/j.cnki.1000-8217.20240416.001).
- Chen C, Wang J, Pan D, et al. Applications of multi-omics analysis in human diseases[J]. *MedComm*, 2023, 4(4): e315. DOI: [10.1002/mco2.315](https://doi.org/10.1002/mco2.315).
- Zhang W, Mulatia S, Zhang M, et al. Esculetin inhibited fever, pain, and inflammatory responses via binding to HSC70[J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 350: 120022. DOI: [10.1016/j.jep.2025.120022](https://doi.org/10.1016/j.jep.2025.120022).
- 王新红, 张迟, 周丽, 等. 基于代谢组学的桔梗总皂苷镇咳祛痰作用机制研究[J]. *药学报*, 2022, 57(3): 757-765. [Wang XH, Zhang C, Zhou L, et al. The antitussive and expectorant mechanism of Platycodon total saponins based on metabolomics[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2022, 57(3): 757-765.] DOI: [10.16438/j.0513-4870.2021-0719](https://doi.org/10.16438/j.0513-4870.2021-0719).
- Zhang J, Xin H, Wang W, et al. Investigating the modulatory effects of lactoferrin on depressed rats through 16S rDNA gene sequencing and LC-MS metabolomics analysis[J]. *Sci Rep*, 2024, 14: 22111. DOI: [10.1038/s41598-024-72793-2](https://doi.org/10.1038/s41598-024-72793-2).
- Love MI, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2[J]. *Genome Bio*, 2014, 15: 550. DOI: [10.1186/s13059-014-0550-8](https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8).
- Zhang Y, Liu Y, Sun J, et al. Arachidonic acid metabolism in health and disease[J]. *MedComm*, 2023, 4(5): e363. DOI: [10.1002/mco2.363](https://doi.org/10.1002/mco2.363).
- Dong Y, Liu Y, Tang J, et al. Zhisou powder displays therapeutic

- effect on chronic bronchitis through inhibiting PI3K/akt/HIF-1 α /VEGFA signaling pathway and reprogramming metabolic pathway of arachidonic acid[J]. J Ethnopharmacol, 2024, 319(Pt 1): 117110. DOI: [10.1016/j.jep.2023.117110](https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.117110).
- 15 宋海津, 宋琦, 窦宝凯, 等. 多组学联合解析桂枝汤调节脂质代谢表征辛温效应的分子机制附视频[J]. 药学前沿, 2026, 30(1): 30–41. [Song HJ, Song Q, Dou BK, et al. Exploration of the molecular mechanism of Guizhi Tang's regulation on liver lipid metabolism based on multi-omics analysis[J]. Frontiers in Pharmaceutical Sciences, 2026, 30(1): 30–41.] DOI: [10.12173/j.issn.2097-4922.202511020](https://doi.org/10.12173/j.issn.2097-4922.202511020).
- 16 Duan YW, Chen SX, Li QY, et al. Neuroimmune mechanisms underlying neuropathic pain: the potential role of TNF- α -necroptosis pathway[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(13): 7191. DOI: [10.3390/ijms23137191](https://doi.org/10.3390/ijms23137191).
- 17 康瑜, 张亚杰, 沈晓丽, 等. 神香草提取物抗炎作用机制研究[J]. 中药材, 2022, 45(1): 187–193. [Kang Y, Zhang YJ, Shen XL, et al. Anti-inflammatory mechanism of extract from the aboveground parts of *Hyssopus cuspidatus*[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2022, 45(1): 187–193.] DOI: [10.13863/j.issn1001-4454.2022.01.033](https://doi.org/10.13863/j.issn1001-4454.2022.01.033).
- 18 邢天骄, 彭凌峰, 马丹阳, 等. 新疆一枝蒿不同部位水提物的体外抗炎效果[J]. 中国兽医杂志, 2024, 60(2): 112–119. [Xing TJ, Peng LF, Ma DY, et al. In vitro anti-inflammatory effect of water extracts from different parts of *Artemisia rupestris* L. [J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2024, 60(2): 112–119.] <https://d.wanfangdata.com.cn/periodical/CiBQZXJpb2RpY2FsQ0hJU29scjkyMDI2MDkxNTE0MjIxORIPemdzeXp6MjAyNDYMD E3GghzNHlqNzVuaw%3D%3D>.

收稿日期: 2026 年 03 月 24 日 修回日期: 2026 年 06 月 23 日

本文编辑: 李 阳 沈静怡