

# 蒲公英抗呼吸道合胞病毒作用及基于网络药理学的机制研究



刘春晖, 崔清华

山东中医药大学海洋中药研究院-青岛中医药科学院 (山东青岛 266041)

**【摘要】目的** 在细胞和动物水平考察蒲公英醇提物抗呼吸道合胞病毒 (RSV) 的作用, 预测其作用机制并进行实验验证。**方法** 通过细胞病变效应 (CPE) 结合 MTT 法, 以治疗指数 (SI) 为指标考察蒲公英醇提物的体外抗病毒作用。利用小鼠 RSV 感染模型, 以体重变化率、肺指数、肺组织切片、肺部病毒载量为指标考察蒲公英醇提物的体内抗病毒作用。通过网络药理学预测蒲公英醇提物抗 RSV 的作用机制, RT-qPCR 技术检测表皮生长因子 (EGFR)、丝裂原活化蛋白激酶 3 (MAPK3)、信号转导与转录激活因子 3 (STAT3)、白细胞介素 (IL)-6 的表达水平, ELISA 法检测肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 水平, Western Blot 法检测核因子  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 蛋白表达水平, 对网络药理学预测的靶点和通路结果进行验证。**结果** 体外实验结果表明, 蒲公英醇提物半抑制浓度 ( $IC_{50}$ ) 为 0.005 mg/mL, SI 值 > 200.2, 且随质量浓度增加, 抗 RSV 效果越明显。体内实验结果表明, 蒲公英醇提物显著缓解 RSV 感染带来的小鼠体重下降, 降低肺病毒载量及 EGFR、STAT3、MAPK3、NF- $\kappa$ B、TNF- $\alpha$  水平, 改善肺部病症情况。网络药理学结果筛选到蒲公英的 57 个化学成分和 RSV 疾病靶点 1 507 个, 取交集后得到 55 个共同靶点。蛋白互作网络分析得到 EGFR、MAPK3、STAT3、IL-6 等核心靶点。GO 功能和 KEGG 通路富集分析得到程序性死亡受体 1 (PD-1)/程序性死亡配体-1 (PD-L1)、IL-17 等信号通路。RT-qPCR 结果显示, 蒲公英醇提物能够降低 EGFR、STAT3、MAPK3 mRNA 水平。ELISA 检测结果显示, 蒲公英醇提物能够降低 TNF- $\alpha$  水平。Western Blot 结果显示, 蒲公英醇提物能够降低 NF- $\kappa$ B 蛋白表达水平。**结论** 蒲公英醇提物具有较好的体内外抗 RSV 作用, 其作用机制可能是通过作用于 EGFR、MAPK3、STAT3、IL-6 等靶点, 并通过 PD-1/PD-L1、IL-17 等信号通路, 影响 NF- $\kappa$ B、TNF- $\alpha$  等炎症因子的水平发挥抗 RSV 效果。

**【关键词】** 蒲公英; 呼吸道合胞病毒; 网络药理学; 表皮生长因子; 信号转导与转录激活因子 3; 丝裂原活化蛋白激酶 3; 白细胞介素 6

**【中图分类号】** R969

**【文献标识码】** A

Anti-respiratory syncytial virus effect of Dandelion and investigation of mechanism based on network pharmacology

LIU Chunhui, CUI Qinghua

Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Research Institute of Marine Traditional Chinese Medicine-Qingdao Academy of Chinese Medical Sciences, Qingdao 266041, Shandong Province, China

Corresponding author: CUI Qinghua, Email: cuiqinghua1122@163.com

**【Abstract】Objective** This study aims to investigate the anti-respiratory syncytial virus (RSV) effect and predict the mechanism of Dandelion alcohol extract *in vitro* and *in vivo* experiments, predict

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202505057

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (82274204)

通信作者: 崔清华, 教授, 硕士研究生导师, Email: cuiqinghua1122@163.com

<https://yxqy.whuznhmedj.com>

the mechanism and carry out experimental verification. **Methods** Firstly, through cytopathic effect (CPE) combined with MTT assay, the *in vitro* antiviral effect of Dandelion alcohol extract was investigated using selectivity index (SI) as the indicator. Using a mouse RSV infection model, the *in vivo* antiviral effect of Dandelion alcohol extract was investigated based on indicators such as body weight change rate, lung index, lung tissue section, and lung viral load. The mechanism of Dandelion alcohol extract was predicted by network pharmacology. RT-qPCR was used to verify the levels of EGFR, MAPK3, STAT3, and IL-6 relative mRNA, ELISA was used to verify the levels of related inflammatory factors (TNF- $\alpha$ ), and Western Blot was used to verify the levels of NF- $\kappa$ B to validate the target and pathway results predicted by network pharmacology. **Results** The results of *in vitro* experiments showed that IC<sub>50</sub> was 0.005 mg/mL and SI value of Dandelion alcohol extract were >200.2, and the anti-RSV effect became more obvious with the increase of mass concentration. The *in vivo* experimental results showed that Dandelion alcohol extract significantly reduced the weight loss of mice caused by RSV infection, decreased the viral load in the lungs, lowered the level of EGFR, MAPK3, STAT3, IL-6, NF- $\kappa$ B, and TNF- $\alpha$ , and improved the lung conditions. The network pharmacology results screened 57 chemical components of Dandelion and 1 507 RSV disease targets, and after taking the intersection, 55 common targets were obtained. Protein-protein interaction network analysis identified core targets such as EGFR, MAPK3, STAT3 and IL-6. GO function and KEGG pathway enrichment analysis obtained PD-1/PD-L1 and IL-17 and other signaling pathways. The result of RT-qPCR showed that Dandelion alcohol extract could reduce the level of EGFR, MAPK3, and STAT3. The ELISA results showed that the dandelion alcohol extract could reduce the TNF- $\alpha$  levels. The Western Blot results indicated that the dandelion alcohol extract could decrease the expression level of NF- $\kappa$ B protein. **Conclusion** Dandelion alcohol extract has good anti-RSV effect *in vitro* and *in vivo*. Its mechanism may involve targeting EGFR, MAPK3, STAT3, IL-6, and other targets, and modulating signal pathways such as PD-1/PD-L1 and IL-17, in turn, influences the levels of inflammatory factors like NF- $\kappa$ B and TNF- $\alpha$ , contributing to its anti-RSV effects.

**【Keywords】** Dandelion; Respiratory syncytial virus; Network pharmacology; Epidermal growth factor receptor; Signal transducer and activator of transcription 3; Mitogen-activated protein kinase 3; Interleukin 6

呼吸道合胞病毒 (respiratory syncytial virus, RSV) 是一种能够引起呼吸道感染的合胞体单链 RNA 病毒, 该病毒是全球范围内引起各类人群急性下呼吸道疾病的主要病原体之一<sup>[1]</sup>, 具有发病性急、传染性强等特点<sup>[2]</sup>。据统计, 这种病毒每年在全球范围内会导致 3 000 万次急性下呼吸道感染<sup>[3]</sup>, 大约 25% 因 RSV 住院的患者需要重症监护, 其中 6.6% 的住院患者发生死亡<sup>[4]</sup>。虽然目前已有疫苗在投入研究和使用的, 因其安全性仍存在一些隐患<sup>[5]</sup>, 中医药作为中国传统医学的重要组成部分, 具有毒副作用小、资源丰富、抗病毒功效强等特点<sup>[6]</sup>, 同时秉持着整体观和辨证论治理念在抗病毒治疗中有着独特的优势<sup>[7]</sup>。

蒲公英为菊科植物蒲公英 *Taraxacum mongolicum* Hand. -Mazz.、碱地蒲公英 *Taraxacum borealisinense* Kitam. 或同属数种植物的干燥全草<sup>[8]</sup>。作为我国药食同源中药材之一, 蒲公英中富含黄酮类、酚酸类、萜类等成分, 具有清热解毒、抗炎、抗氧化和调节免疫等多种功效<sup>[9]</sup>。依据现有文献和研究<sup>[10-11]</sup>, 蒲

公英的主要成分及其药理活性见表 1。

体外研究发现, 蒲公英提取物具有显著的抗 RSV 活性<sup>[12]</sup>, 且具有良好的生物安全性。但该提取物抗 RSV 的机制尚未清楚, 本研究综合采用多种策略, 深入探讨蒲公英的抗 RSV 特性。具体而言, 结合细胞病变效应 (cytopathic effect, CPE) 和 MTT 法评估蒲公英醇提物体外抗 RSV 的作用, 同时利用 RSV 感染小鼠模型进一步探究蒲公英醇提物的体内抗 RSV 的作用。为深入揭示蒲公英抗 RSV 的作用机制, 本文利用网络药理学技术和 RSV 感染小鼠模型探讨蒲公英抗 RSV 的作用机制, 以为蒲公英抗 RSV 的研究提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器

Spectra Max M5 型酶标仪 (美国 Molecular Device 公司); BSC-150011B2-X 型生物安全柜 (济南鑫贝西生物科技有限公司); YAMATO 细胞恒温培养箱和 TDD5M 型台式离心机 (长沙平凡仪器

表1 蒲公英的主要成分及其药理活性  
Table 1. The main constituents of Dandelion and their pharmacological activities

| 类别  | 化合物名称                                | 分子式                                             | 类别  | 化合物名称             | 分子式                                             |
|-----|--------------------------------------|-------------------------------------------------|-----|-------------------|-------------------------------------------------|
| 黄酮类 |                                      |                                                 | 33  | 单咖啡酰酒石酸           | C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> O <sub>9</sub>  |
| 1   | 木犀草素                                 | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>  | 34  | 4-咖啡酰奎宁酸          | C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>  |
| 2   | 槲皮素                                  | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>  | 35  | 3-O-咖啡酰基奎尼酸       | C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>  |
| 3   | 槲皮素-7-O-β-D-葡萄糖苷                     | C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub> | 36  | 3,5-O-二咖啡酰基奎尼酸    | C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub> |
| 4   | 槲皮素-3',4',7-三甲醚                      | C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>7</sub>  | 37  | 3,4-O-二咖啡酰基奎尼酸    | C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub> |
| 5   | 槲皮素-3-O-β-D-半乳糖苷                     | C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub> | 萜类  |                   |                                                 |
| 6   | 槲皮素-3-O-β-D-葡萄糖苷                     | C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>17</sub> | 38  | 蒲公英甾醇             | C <sub>30</sub> H <sub>50</sub> O               |
| 7   | 槲皮素-7-O-[β-D-吡喃葡萄糖基(1→6)-β-D-吡喃葡萄糖苷] | C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub> | 39  | 蒲公英甾酮             | C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O               |
| 8   | 槲皮素-3,7-O-β-D-二吡喃葡萄糖苷                | C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>17</sub> | 40  | 蒲公英甾醇             | C <sub>30</sub> H <sub>50</sub> O               |
| 9   | 木犀草素-3'-甲醚                           | C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>  | 41  | β-香树脂醇            | C <sub>30</sub> H <sub>50</sub> O               |
| 10  | 木犀草素-7-鼠李糖苷                          | C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub> | 42  | 新羽扇豆醇             | C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O               |
| 11  | 木犀草素-3'-β-D-葡萄糖苷                     | C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub> | 43  | 羽扇豆醇              | C <sub>30</sub> H <sub>50</sub> O               |
| 12  | 木犀草素-3'-β-D-龙胆二糖苷                    | C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub> | 44  | 齐墩果酸              | C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>3</sub>  |
| 13  | 木犀草素-3'-O-β-D-葡萄糖苷                   | C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub> | 45  | 蒲公英甾醇乙酸酯          | C <sub>32</sub> H <sub>52</sub> O <sub>2</sub>  |
| 14  | 木犀草素-7-O-β-D-芸香糖苷                    | C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub> | 46  | 蒲公英内酯-1'-β-D-葡萄糖苷 | C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> O <sub>9</sub>  |
| 15  | 木犀草素-7-O-β-D-龙胆糖苷                    | C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub> | 47  | 豆甾醇               | C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O               |
| 16  | 木犀草素-7-O-β-D-半乳糖苷                    | C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub> | 48  | 豆甾醇-7-醇           | C <sub>29</sub> H <sub>46</sub> O               |
| 17  | 芹菜素                                  | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>  | 49  | α-香树脂醇            | C <sub>30</sub> H <sub>50</sub> O               |
| 18  | 芹菜素-7-O-β-D-葡萄糖苷                     | C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub> | 50  | 款冬二醇              | C <sub>30</sub> H <sub>50</sub> O <sub>2</sub>  |
| 19  | 芸香苷                                  | C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub> | 其他类 |                   |                                                 |
| 20  | 香叶木素                                 | C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>  | 51  | β-谷甾醇             | C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O               |
| 酚酸类 |                                      |                                                 | 52  | β-香树脂醇            | C <sub>30</sub> H <sub>50</sub> O               |
| 21  | 没食子酸                                 | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>    | 53  | 异岩藻甾醇             | C <sub>28</sub> H <sub>46</sub> O               |
| 22  | 没食子酸甲酯                               | C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>5</sub>    | 54  | 菜油甾醇              | C <sub>28</sub> H <sub>48</sub> O               |
| 23  | 对羟基苯甲酸                               | C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> O <sub>3</sub>    | 55  | 蒲公英酸              | C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>  |
| 24  | 咖啡酸                                  | C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>    | 56  | 蒲公英苦素             | C <sub>16</sub> H <sub>28</sub> O <sub>4</sub>  |
| 25  | 丁香酸                                  | C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>   | 57  | 倍半萜内酯             | C <sub>34</sub> H <sub>50</sub> O <sub>12</sub> |
| 26  | 阿魏酸                                  | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>  | 58  | 蒲公英内酯β-D-葡萄糖苷     | C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> O <sub>9</sub>  |
| 27  | 原儿茶酸                                 | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>    | 59  | 四氢日登内酯B           | C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>5</sub>  |
| 28  | 对香豆酸                                 | C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>    | 60  | 蒲公英甾醇乙酸酯          | C <sub>32</sub> H <sub>52</sub> O <sub>2</sub>  |
| 29  | 绿原酸                                  | C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>  | 61  | 款冬二醇              | C <sub>30</sub> H <sub>50</sub> O <sub>2</sub>  |
| 30  | 菊苣酸                                  | C <sub>22</sub> H <sub>18</sub> O <sub>12</sub> | 62  | 5α-豆甾-7-烯-3β-醇    | C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O               |
| 31  | 对羟基苯乙酸甲酯                             | C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>   | 63  | 倍半萜内酯             | C <sub>34</sub> H <sub>50</sub> O <sub>12</sub> |
| 32  | 对羟基苯乙酸乙酯                             | C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>  |     |                   |                                                 |

仪表有限公司)；CKX53 型倒置显微镜(日本 Olympus 公司)；A51638 实时荧光定量 PCR 仪(赛默飞世尔生物科技有限公司)；Tanon 4600 全自动化学发光分析系统(上海天能生命科学有限公司)。

1.2 主要药品与试剂

蒲公英产地安徽亳州(安徽孚明中药饮片有限公司,批号:230901),经鉴定为菊科植物蒲公英 *Taraxacum mongolicum* Hand. -Mazz 的干燥全草;利巴韦林(北京索莱宝科技有限公司,批号:1023A021);DMEM 培养液(批号:6124153)和 MTT(批号:40206ES7)购自百赛生物技术有限公司;0.25% EDTA 胰酶(美国 Gibco 公司,批号:17892);二甲基亚砜(DMSO,美

国 AMresco 公司,批号:231227);肿瘤坏死因子 α(tumor necrosis factor-α, TNF-α, 批号:202412)检测试剂盒购自上海源桔生物科技有限公司;SPARKeasy 组织/细胞 RNA 快速提取试剂盒(含基因组 DNA 清除柱,货号:AC0202-A)、SPARKscript II RT Plus Kit(with gRNA Earser, 货号:AG0304-A)、2×SYBR Green qPCR Mix(with ROX, 货号:AH0104-A)均购自山东思科捷生物科技有限公司。

1.3 细胞及病毒毒种

人非小细胞肺癌(A549)细胞购自上海生博生物医药科技有限公司;RSV 由山东省医学科学院基础医学研究所提供,保存于山东中医药大学青岛中医药科学院实验室。



## 1.4 动物

4周龄 BALB/c 雌性小鼠 36 只, 体重 13~15 g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物生产许可证号: SCXK(京)2016-0006, 实验动物使用许可证号: SYXK(鲁)2017-0022, 本研究经山东中医药大学海洋中药研究院审批通过(伦理批件号: SDUTCM20240810625)。

## 1.5 蒲公英醇提物制备

取 200 g 蒲公英饮片置于圆底烧瓶中, 加 10 倍量 50% 乙醇, 加热回流提取 1 h, 提取 2 次, 收集提取液合并, 离心 ( $425 \times g$ , 10 min), 抽滤, 减压浓缩(温度 75~85℃、真空度 -0.08~-0.09 Mpa), 冷冻干燥 48 h, 即得蒲公英醇提物的干浸膏粉。

## 1.6 体外抗病毒作用研究

### 1.6.1 细胞培养

将 A549 细胞自 -80℃ 取出后, 置于 37℃ 水浴环境中进行快速解冻。以  $106 \times g$ 、3 min 对细胞悬液进行离心处理。离心结束后, 去除上清液, 向细胞沉淀中加入新鲜配置的细胞培养液, 轻柔地吹打细胞团块, 使其分散成单个细胞。将细胞悬液转移至细胞培养皿中, 并在标准培养条件下培养 6 h。更换新鲜的培养液, 继续培养细胞。当观察到细胞达到约 80% 的单层汇合度时, 按照 1:3 的比例进行传代培养, 以扩增细胞数量<sup>[13]</sup>。

### 1.6.2 病毒扩增

在 A549 细胞的汇合度达到大约 70% 时, 移除当前培养基, 使用 PBS 冲洗 1 遍细胞, 加入 200  $\mu$ L 病毒液(RSV), 轻轻摇动培养皿以确保病毒溶液分布均匀, 将细胞置于恒温培养箱中培养。期间每 15 min 轻摇 1 次培养皿。2 h 后弃去含有病毒液的培养基, 使用 PBS 冲洗 1 遍细胞, 加入 10 mL 含 2% 胎牛血清的 DMEM 培养液。48 h 内, 每日使用显微镜观察细胞状态。培养结束后, 将培养皿密封起来进行多次(3~4 次)冻融循环, 以释放细胞内的病毒颗粒。完成冻融循环后, 将培养皿中的内容物转移至离心管中,  $106 \times g$  离心 3 min, 收集上清液并分装, 在 -80℃ 下保存备用。

### 1.6.3 病毒毒力测定

将 A549 细胞均匀接种于 96 孔板中, 并置于预设条件(温度 37℃、5% CO<sub>2</sub>、相对湿度 75%)的细胞培养箱中培养 12 h。将“1.6.2”项下病毒液按照 10 倍比稀释 7 个浓度, 逐一加入细胞中,

每种稀释度设置 6 个重复孔, 并将整个 96 孔板重新置于细胞培养箱中培养 48 h。培养期间, 密切关注并记录细胞的病变情况, 最终按照 Reed-Muench 公式计算各病毒滴度半数细胞感染量(50% tissue culture infective dose, TCID<sub>50</sub>)。

### 1.6.4 细胞毒性测定

在培养 12 h 后的 A549 细胞中加入按照 3 倍比稀释 8 个浓度的蒲公英醇提物, 设置空白对照组, 并且每个处理组均进行了 3 次重复实验。48 h 后观察细胞病变情况, MTT 法检测细胞活性。用酶标仪在 490 nm 处检测光密度(OD)值, 并用 GraphPad Prism 5 软件作图拟合药半数细胞毒性浓度(concentration of cytotoxicity 50%, CC<sub>50</sub>)。

### 1.6.5 抗病毒活性测定

在培养 12 h 后的 A549 细胞中加入按照 3 倍比稀释 8 个浓度的蒲公英醇提物, 感染病毒, 设置空白对照组和模型组, 每组设置 3 个复孔, 置于细胞培养箱中培养 48 h, 观察细胞病变情况, MTT 法检测细胞活性, 酶标仪检测 OD 值, 最后通过 GraphPad Prism 5 软件作图拟合药物半最大效应浓度(concentration for 50% of maximal effect, EC<sub>50</sub>)。

## 1.7 CPE 实验

A549 细胞经过胰酶消化后, 重悬, 接种于 96 孔板中。设置空白对照组、模型组、阳性药物组(利巴韦林)和蒲公英醇提物组, 每个处理组设置 3 个复孔, 置于细胞培养箱中培养 24 h 后, PBS 冲洗, 药物组加药液(每孔 100  $\mu$ L), 模型组和空白对照组加同体积培养液, 培养 48 h 后观察各组 CPE 情况并采集图像。

## 1.8 体内抗病毒作用和初步机制研究

### 1.8.1 造模及给药

将 BALB/c 小鼠随机分成 6 组, 每组 6 只, 分别标记为空白对照组、模型组、阳性药物组(利巴韦林)、蒲公英醇提物低、中、高剂量组。给予小鼠 3 d 适应期后, 按照既定治疗方案给药, 阳性药物组和蒲公英醇提物各剂量组每天灌胃相应的药物 0.2 mL/次, 2 次/d, 模型组和空白对照组灌胃等体积生理盐水。在给药第 1 天, 所有小鼠均使用异氟烷进行麻醉处理, 滴鼻给予病毒 100  $\mu$ L ( $1.2 \times 10^8$  TCID<sub>50</sub>/mL), 连续滴鼻 2 d, 空白对照组滴鼻等体积对照培养液。

1.8.2 小鼠体重变化率的测定

每天上午 9:00 检测小鼠体重作为小鼠当天体重,连续检测 5 d,记录小鼠的体重变化率。

1.8.3 样品处理和指标检测

于灌胃第 5 天末次给药 1 h 后,称重并经眼球取血。脱颈处死,解剖取肺,称定肺重,计算肺指数。取部分肺组织保存在 -80℃,用于 RT-PCR 检测;另取部分浸入 4% 多聚甲醛,供制作组织切片使用<sup>[14]</sup>。

1.8.4 肺组织切片的制备

将肺组织用多聚甲醛固定,经乙醇梯度脱水,二甲苯透化,石蜡包埋后制片。烘干切片,进行 HE 染色,最后在显微镜下观察病变情况。

1.8.5 RT-qPCR检测小鼠肺组织中病毒载量

经 SPARKeasy 组织/细胞 RNA 快速提取试剂盒(含基因组 DNA 清除柱)提取总 RNA,并利用微量分光光度计测定 RNA 的浓度与纯度,通过 SPARKscript II RT Plus Kit 对所提 RNA 进行

逆转录,得到的 cDNA 产物经 2×SYBR Green RT-qPCR Mix 试剂盒进行扩增。反应条件设置为 94℃、2~3 min 初始变性以及 40 个扩增循环(94℃、10 s、和 60℃、30 s)。以肽基脯氨酰异构酶 A(peptidylprolyl isomerase A, PPIA)为内参,通过 2<sup>-ΔΔCT</sup> 法计算和分析各实验组病毒 mRNA 相对表达水平,实验中使用的引物序列如表 2 所示。

1.8.6 RT-qPCR检测小鼠肺组织中表皮生长因子、信号转导与转录激活因子3、丝裂原活化蛋白激酶3和白细胞介素6水平

取“1.8.5”项下所得的 cDNA 产物经 2×SYBR Green qPCR Mix 试剂盒进行扩增。反应条件为 94℃、2~3 min 初始变性以及 40 个扩增循环(94℃、10 s 和 60℃、30 s)。以 β-肌动蛋白(β-actin)为内参,通过 2<sup>-ΔΔCT</sup> 法计算和分析各实验组基因 mRNA 相对表达水平,实验中使用的引物序列如表 2 所示。

表2 引物序列

Table 2. Primer sequence

| 名称      | 正向引物                   | 反向引物                    |
|---------|------------------------|-------------------------|
| β-actin | GTGACGTTGACATCCGTAAAGA | GTAACAGTCCGCCTAGAAGCAC  |
| RSV-N   | ATACACCATCCAACGGAGCAC  | GTGTCTTCTCTTCTTAACCTA   |
| EGFR    | GCCATCTGGGCCAAAGATACC  | GTCTTCGCATGAATAGGCCAAT  |
| STAT3   | AGGAGTCTAACAACGGCAGCCT | GTGGTACACCTCAGTCTCGAAG  |
| MAPK3   | CTGGACCGGATGTTAACCCTTA | CTGGTTCATCTGTCGGATCATAG |
| IL-6    | TTCACAAGTCGGAGGCTTA    | CAAGTGCATCATCGTTGTTT    |
| PPIA    | CGCTTGCTGCAGCCATGGTC   | CAGCTCGAAGGAGACGCGCG    |

注: EGFR: 表皮生长因子(epidermal growth factor receptor); STAT3: 信号转导与转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription 3); MAPK3: 丝裂原活化蛋白激酶3(mitogen-activated protein kinase 3); IL: 白细胞介素(interleukin)。

1.8.7 TNF-α的测定

将小鼠的血液样本置于 4℃过夜后在 4℃、956×g 条件下离心 20 min,取上清,ELISA 法检测血清中 TNF-α 水平。

1.8.8 NF-κB蛋白表达水平的测定

取“1.8.3”项下小鼠肺组织,置于研磨机充分研磨,加入裂解液置于冰上裂解 30 min,离心,收集上清液。加入蛋白缓冲液,置于沸水中变性 5 min,进行 SDS-PAGE 电泳(70 V 电泳 30 min,120 V 电泳 60 min)转移至预活化的 PVDF 膜上。封闭 15 min,TBST 清洗 3 次。封闭后的 PVDF 膜置于一抗(稀释比例 1:3 000)中,4℃过夜,回收一抗,TBST 清洗。加入二抗(稀释比例 1:5 000)孵育 60 min,回收液体后,用 TBST 清洗。随后滴加显影液,置于全自动化学发光分析仪中成像,最后使用 Image J 软件分析条带灰度值。

1.9 统计学分析

通过 Graphpad Prism 5 软件进行 two-way ANOVA 分析,数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

1.10 网络药理学

1.10.1 蒲公英活性成分筛选

根据蒲公英活性成分的现有研究<sup>[15]</sup>,结合中药与化学成分数据库([https://organchem.cs.db.cn/ssdb/main/tcm\\_introduce.asp](https://organchem.cs.db.cn/ssdb/main/tcm_introduce.asp))进行活性成分筛选,检索词为“蒲公英”。

1.10.2 潜在靶点预测

将“1.10.1”获取的化学成分导入 SwissTargetPrediction 平台进行蒲公英活性成分的靶点预测。在 GeneCards(<https://www.Genecards.org/>)和 Online Mendelian Inheritance in Man(OMIM,<https://www.omim.org/>)数据库检索“respiratory

syncytial virus”并收集 RSV 靶点数据；将靶点上传至 Venny 平台 (<https://biomarker.bioinfo.cnio.es/tools/venny/>) 绘制韦恩图，得到蒲公英和 RSV 的相关靶点<sup>[16]</sup>。

### 1.10.3 蛋白互作网络

将蒲公英和 RSV 的相关靶点导入 String 数据库 (<https://string-db.org/>)，进行蛋白互作 (protein-protein interaction, PPI) 分析，将数据导入 Cytoscape 3.7.2 软件，进行可视化，获取度 (degree) 值大于中位数的靶点，制备 PPI 网络图。

### 1.10.4 富集分析

在 Matescape 平台 (<https://metascape.org/gp/index.html#/main/step1>) 中进行 GO 和 KEGG 富集分析，排序后筛选前 10 的条目，导入微生信平台 (<https://www.bioinformatics.com.cn/>) 进行可视化处理<sup>[17]</sup>。

## 2 结果

### 2.1 蒲公英醇提物体外抗病毒结果

#### 2.1.1 病毒毒力结果

以 A549 为宿主细胞，测得 RSV 的毒力为  $1.2 \times 10^8$  TCID<sub>50</sub>。

#### 2.1.2 蒲公英醇提物的体外抗病毒结果

图 1 为不同质量浓度的蒲公英对 A549 细胞的细胞毒性和抗 RSV 的药效结果。通过 GraphPad Prism 5 软件作图拟合其  $CC_{50} > 1$  mg/mL，表明蒲公英醇提物对 A549 细胞的细胞毒性较低， $IC_{50} = 0.005$  mg/mL， $SI > 200.2$ ，蒲公英醇提物具有较宽的有效、安全浓度范围。

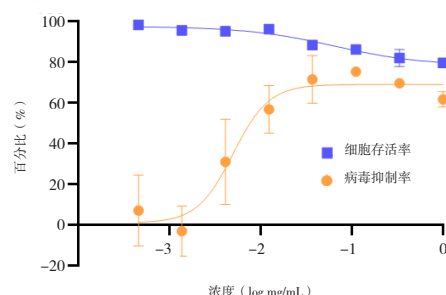


图1 蒲公英醇提物体外抗RSV药效 ( $n=3$ )

Figure 1. The anti-RSV effect of Dandelion alcohol extract ( $n=3$ )

#### 2.1.3 CPE 结果

图 2 结果显示，质量浓度为 0.125 mg/mL 的蒲公英醇提物组与模型组相比 CPE 数目明显减少，表明其对 RSV 感染细胞有较强的抑制作用。

### 2.2 蒲公英醇提物的体内抗病毒结果

#### 2.2.1 小鼠体重变化率

根据每天记录的小鼠体重数据计算体重变化率。结果显示，空白对照组小鼠体重持续增长，而其他组小鼠在感染后第 2 天起体重显著降低，这一趋势持续至第 3 天。此后，各组小鼠体重均开始恢复 (图 3)。

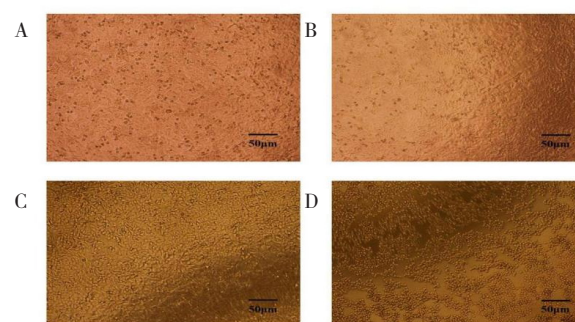


图2 CPE

Figure 2. CPE

注：A. 蒲公英醇提物组；B. 阳性药物组；C. 空白对照组；D. RSV 病毒模型组。

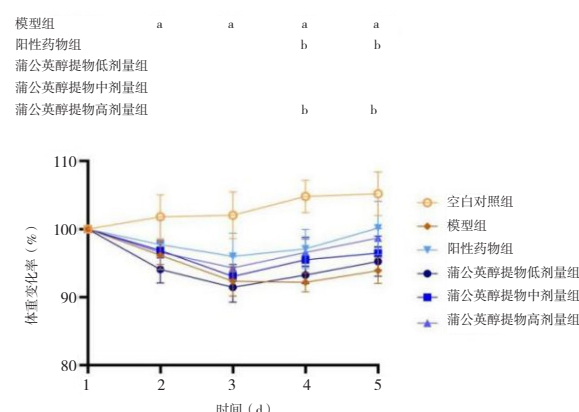


图3 小鼠体重变化率曲线 ( $n=6$ )

Figure 3. The curve of mice weight change rate ( $n=6$ )

注：与空白对照组相比，<sup>a</sup> $P < 0.05$ ；与模型组相比，<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

#### 2.2.2 小鼠肺指数变化

模型组小鼠肺指数较空白对照组显著升高 ( $P < 0.05$ )；经药物治疗后，蒲公英醇提物组和阳性药物组小鼠肺指数均明显降低 ( $P < 0.05$ )。具体见图 4。

#### 2.2.3 小鼠肺组织切片

各组小鼠的肺部特征呈现出显著差异，空白对照组的小鼠肺泡结构清晰，肺泡腔内未见渗出物 (图 5A)，表明肺处于正常状态。模型组小鼠呈现显著的病理改变，包括肺泡壁增厚，肺泡腔缩小乃至近乎消失，以及肺泡腔内及肺间质有明显出血，伴有炎性细胞浸润 (图 5B)。



蒲公英醇提取物低、中、高剂量组与阳性药物组小鼠肺泡壁增生情况有所缓解，肺泡形态趋于正常，肺泡腔出血情况减轻，炎性细胞浸润情况减轻（图 5C~5F）。

2.2.4 小鼠肺病毒载量

模型组小鼠肺组织病毒含量较空白对照组显著增加（ $P<0.05$ ）；蒲公英醇提取物中、高剂量组和阳性药物组小鼠肺组织中病毒载量较模型组明显降低（ $P<0.05$ ）。具体见图 6。

2.3 网络药理学

2.3.1 蒲公英活性成分和靶点筛选结果

在中药与化学成分数据库中检索“蒲公英”，获得 57 个化学成分，将这些成分导入

SwissTargetPrediction 数据库，去重后得到 608 个靶点。

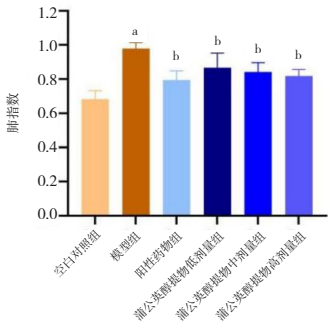


图4 蒲公英醇提取物对小鼠肺指数的影响（ $n=6$ ）  
Figure 4. Effect of Dandelion alcohol extract on lung index of mice ( $n=6$ )

注：与空白组相比，<sup>a</sup> $P<0.05$ ；与模型组相比，<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

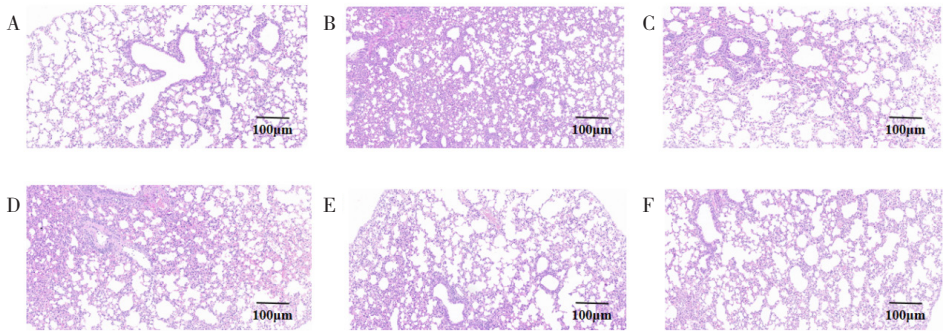


图5 小鼠肺组织切片  
Figure 5. Lung tissue slice of mice

注：A. 空白对照组；B. 模型组；C. 阳性药物组；D. 蒲公英醇提取物低剂量组；E. 蒲公英醇提取物中剂量组；F. 蒲公英醇提取物高剂量组。

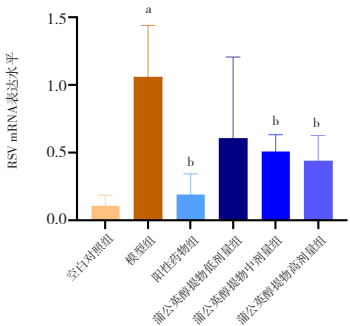


图6 小鼠肺组织病毒载量（ $n=6$ ）  
Figure 6. The virus load of mice lung tissue ( $n=6$ )  
注：与空白组相比，<sup>a</sup> $P<0.05$ ；与模型组相比，<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

2.3.2 RSV靶点

在 GeneCards 和 OMIM 数据库中检索“respiratory syncytial virus”，分别得到 1 341 和 186 个疾病靶点，将靶点进行去重处理，最终得到 1 507 个去重靶点。

2.3.3 PPI网络

如图 7 所示，韦恩图揭示了蒲公英成分靶点和 RSV 靶点的交集，共确定了 55 个共同靶点。PPI 网络包含 55 个节点，439 条边，根据

Cytoscape 3.7.2 软件分析结果，筛选出了大于 degree 值中位数（15.96）的 13 个基因（图 8）。PPI 网络中，较大的目标靶点和更深的颜色与

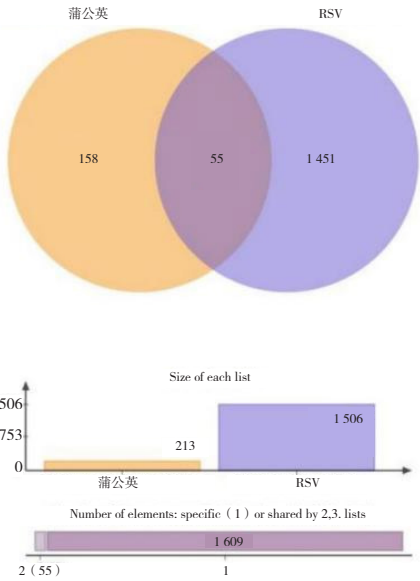


图7 蒲公英和RSV的关键靶点韦恩图  
Figure 7. Venn diagram of key target for Dandelion in the treatment of RSV

更高的 degree 值有关。*EGFR*、*PRKCA*、*IL-6*、*STAT3*、*MAPK3* 等基因在网络中占据核心位置，表明其可能是蒲公英抗 RSV 的核心靶点。

### 2.3.4 富集分析结果

将蒲公英-RSV 相关靶点导入 DAVID 数据库进行分析，取前 10 条在微生信平台 (<https://www.bioinformatics.com.cn/>) 进行可视化，结果见图 9。分析结果 ( $FDR < 0.05$ ) 共涉及生物学过

程 800 条目、细胞成分 59 条、条分子功能 75。*KEGG* 通路分析共识别出 145 条通路，主要与肿瘤中程序性死亡受体 1 (programmed cell death protein 1, PD-1) 的表达和程序性死亡配体 -1 (programmed cell death ligand 1, PD-L1) 检查点通路、*IL-17* 信号通路有关，提示上述信号通路可能为蒲公英抗 RSV 的核心通路。

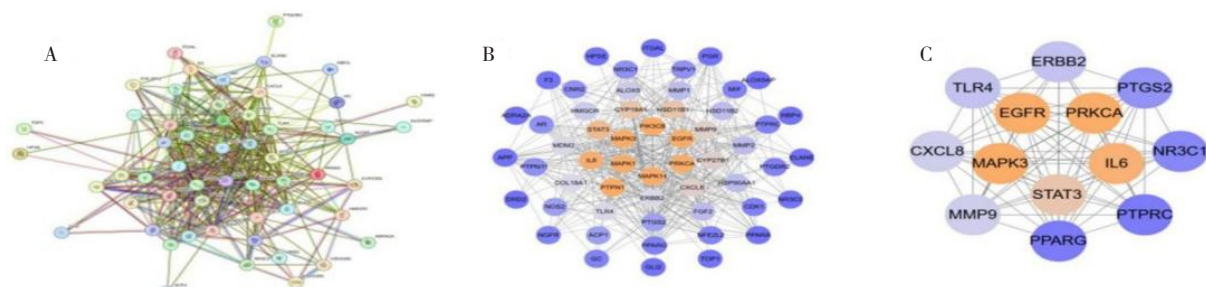


图8 PPI网络

Figure 8. PPI networks

注：A. 交集靶点TSV文件；B. 交集靶点PPI网络；C. 核心靶点PPI网络。

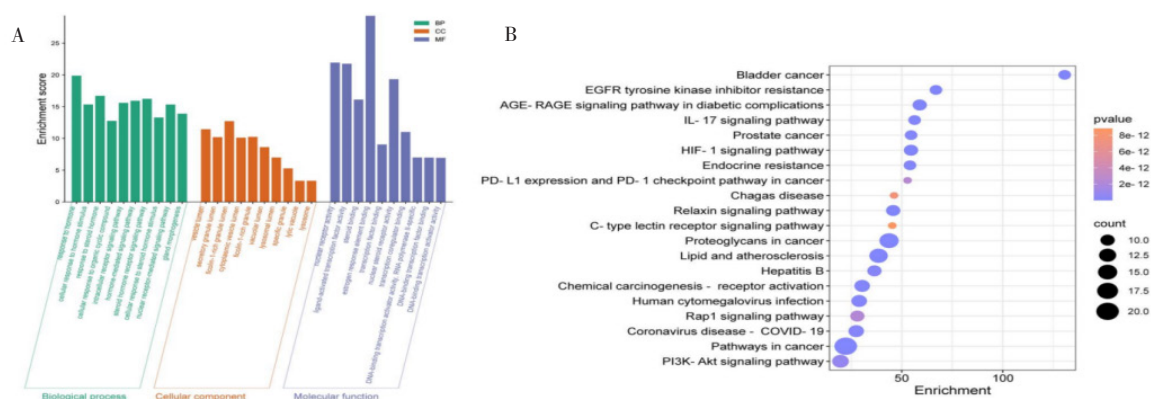


图9 GO功能、KEGG功能富集分析

Figure 9. Go and KEGG enrichment analysis

注：A. GO功能；B. KEGG功能。

## 2.4 体内实验验证

### 2.4.1 *EGFR*、*STAT3*、*MAPK3*、*IL-6*水平

PPI 网络分析得到 *EGFR*、*STAT3*、*MAPK3*、*IL-6* 等核心靶点。如图 10 显示，模型组小鼠肺组织中 *EGFR*、*STAT3*、*MAPK3*、*IL-6* mRNA 相对表达量较空白对照组显著升高 ( $P < 0.05$ )，表明小鼠感染 RSV 后可以引起 *EGFR*、*STAT3*、*MAPK3*、*IL-6* mRNA 水平的升高；与模型组相比，阳性药物组和蒲公英醇提物给药组能够降低 *EGFR*、*STAT3*、*MAPK3*、*IL-6* mRNA 相对表达量 ( $P < 0.05$ )。

### 2.4.2 小鼠血清中 *TNF-α* 水平

与空白对照组相比，模型组小鼠血清 *TNF-α* 水平显著上升 ( $P < 0.05$ )；与模型组相

比，蒲公英醇提物给药组低、中、高剂量组和阳性药物组可显著降低小鼠血清中 *TNF-α* 水平 ( $P < 0.05$ )，且高剂量组与阳性药物组水平相当 (图 11)。以上结果表明，蒲公英醇提物可以显著降低 RSV 感染小鼠的炎症水平。

### 2.4.3 *NF-κB* 蛋白表达水平

与空白对照组相比，模型组小鼠肺组织中 *NF-κB* 蛋白表达水平显著上升 ( $P < 0.05$ )，表明小鼠感染 RSV 后可引起 *NF-κB* 蛋白的表达增加；与模型组相比，蒲公英醇提物给药低、中、高剂量组和阳性药物组都可以降低小鼠肺组织中 *NF-κB* 蛋白的表达 ( $P < 0.05$ ) (图 12)。这一结果表明蒲公英醇提物可以影响 *NF-κB* 蛋白表达，进而改善肺部病症 [18-19]。



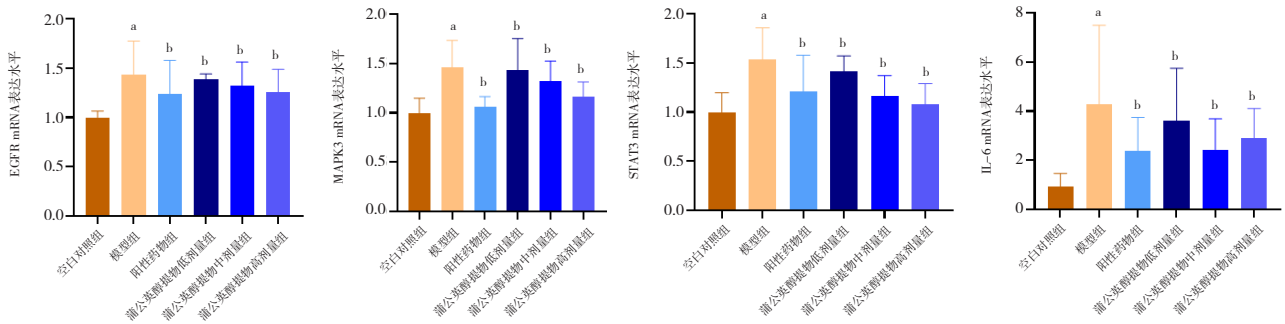


图10 EGFR、STAT3、MAPK3、IL-6 mRNA表达水平 (n=6)

Figure 10. The mRNA expression levels of EGFR、STAT3、MAPK3, and IL-6 mRNA (n=6)

注：与空白组相比，<sup>a</sup>*P*<0.05；与模型组相比，<sup>b</sup>*P*<0.05。

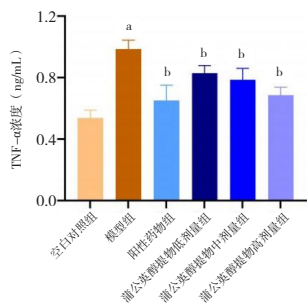


图11 TNF-α水平 (n=6)

Figure 11. The level of TNF-α (n=6)

注：与空白组相比，<sup>a</sup>*P*<0.05；与模型组相比，<sup>b</sup>*P*<0.05。

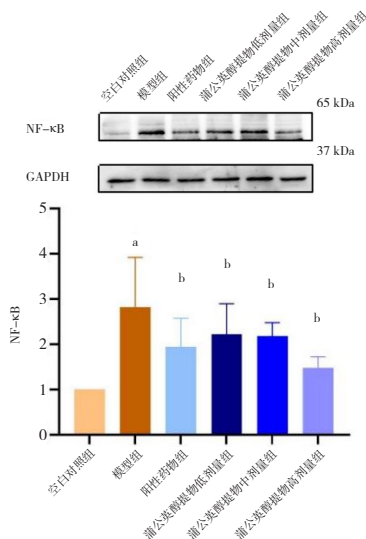


图12 NF-κB蛋白表达水平 (n=6)

Figure 12. The expression level of NF-κB (n=6)

注：与空白组相比，<sup>a</sup>*P*<0.05；与模型组相比，<sup>b</sup>*P*<0.05。

### 3 讨论

黄芩和连翘作为传统的清热解毒类中药，在抗 RSV 作用领域已积累了较多成果，其作用机制和活性成分特征为理解蒲公英抗 RSV 作用提供了重要参照。同时，作为药食同源中药，蒲公英的安全性更高，且适用人群更加广泛。本研究表

明，蒲公英具有体内外 RSV 效果。PPI 网络分析结果显示，蒲公英可通过调控 EGFR、MAPK3、STAT3 及 IL-6 等关键分子靶点，从而发挥抗 RSV 的作用。RSV 主要侵袭气道上皮细胞，感染后会导致该细胞出现显著的病理学改变<sup>[20]</sup>。研究表明，EGFR 的异常激活会削弱气道上皮细胞对病毒感染的防御能力。在 RSV 感染过程中，EGFR 信号通路被激活，导致细胞间紧密连接蛋白的表达降低，同时促进黏蛋白 MUC5AC 的过度表达，进而损害气道黏膜屏障的完整性<sup>[21]</sup>。MAPK3 属于 MAPK 家族，是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶，在细胞应激反应和黏附调控中发挥重要作用<sup>[22]</sup>，发挥着调节细胞生长分化、炎症反应等多种重要的细胞病理、生理过程的作用<sup>[23]</sup>。研究发现，抑制 IL-6/STAT3 通路可降低小鼠炎症反应、氧化应激和肺组织损伤，改善肺功能<sup>[24]</sup>。IL-6 是成纤维细胞、外周血单核细胞、巨噬细胞等促炎细胞因子，在慢性炎症、自身免疫、内皮细胞功能障碍、血管形成和纤维生成中发挥作用<sup>[25]</sup>。

基于 KEGG 信号通路分析结果，蒲公英醇提取物抗 RSV 的机制可能涉及 PD-L1/PD-1 免疫检查点通路及 IL-17 等相关信号通路的调控。PD-1/PD-L1 通路作为重要的免疫调节途径，可通过抑制 T 细胞的细胞毒作用参与免疫逃逸过程，这一机制在肿瘤微环境中已被广泛证实<sup>[26]</sup>。IL-17 信号通路通过介导 NF-κB 的活化，首先激活核因子 κB 激活剂 1，随后触发 MAPK 级联反应。这一信号转导过程最终促使细胞核内多种炎症相关因子的表达上调，包括促炎细胞因子（IL-1β、IL-6、TNF-α）、抗菌肽以及基质金属蛋白酶等<sup>[27]</sup>。实验研究表明，IL-17 基因缺陷型小鼠表现出中性粒细胞趋化能力显著降低，同时对细菌感染的易感性明显增加。这些发现为 IL-17 在炎症调控

网络中的关键作用提供了直接证据<sup>[28]</sup>。本研究的 ELISA 检测结果显示, 蒲公英醇提物可能是通过调控 PD-1/PD-L1 通路和 IL-17 通路, 抑制 TNF- $\alpha$  水平, 从而发挥抗 RSV 的效果。

本研究通过对比 RSV 感染细胞与药物干预后细胞的 CPE 数量, 探究了蒲公英醇提物有体外抗 RSV 的作用, 还通过体内小鼠感染 RSV 模型, 以小鼠体重变化率、小鼠肺指数、肺组织切片、肺部病毒载量为指标, 证明了蒲公英醇提物具有体内抗 RSV 的作用, 通过网络药理学预测了蒲公英抗 RSV 的关键靶点和相关通路, 最后通过 ELISA 法检测血清中 TNF- $\alpha$  水平, Western Blot 法检测 NF- $\kappa$ B 蛋白表达水平, 实时荧光 RT-qPCR 技术检测小鼠肺组织中 EGFR、MAPK3、STAT3、IL-6 mRNA 的相对表达量对预测通路和核心靶点进行实验验证。充分展现了蒲公英多成分、多靶点、多通路协调抗 RSV 的优势, 对中药新药研发和抗 RSV 的研究具有参考意义。

## 参考文献

- 1 van Royen T, Rossey I, Sedeyn K, et al. How RSV proteins join forces to overcome the host innate immune response[J]. *Viruses*, 2022, 14(2): 419. DOI: [10.3390/v14020419](https://doi.org/10.3390/v14020419).
- 2 张盈, 杨丽蓉, 王晨. 儿童呼吸道合胞病毒感染的临床特征分析[J]. *热带病与寄生虫学*, 2024, 22(4): 248–251. [Zhang Y, Yang LR, Wang C. Clinical characterization of respiratory syncytial virus infection in children[J]. *Journal of Tropical Diseases and Parasitology*, 2024, 22(4): 248–251.] DOI: [10.20199/j.issn.1672-2302.2024.04.012](https://doi.org/10.20199/j.issn.1672-2302.2024.04.012).
- 3 侯宪邦, 黄娱婕, 张子瑾. NSAIDs 抗 RSV 作用机制的网络药理学分析[J]. *包头医学院学报*, 2024, 40(10): 12–18. [Hou XB, Huang YJ, Zhang ZJ. Network pharmacological analysis of the anti-RSV mechanism of NSAIDs[J]. *Journal of Baotou Medical College*, 2024, 40(10): 12–18.] DOI: [10.16833/j.cnki.jbmc.2024.10.003](https://doi.org/10.16833/j.cnki.jbmc.2024.10.003).
- 4 徐翰, 黄蓉, 邓爱露, 等. 小柴胡颗粒对呼吸道合胞病毒感染小鼠免疫系统的影响[J]. *中国病原生物学杂志*, 2024, 19(2): 144–148. [Xu H, Huang R, Deng AL, et. Effect of Xiaochaihu granules on the immune system of mice infected with respiratory syncytial virus[J]. *Journal of Parasitic Biology*, 2024, 19(2): 144–148.] DOI: [10.13350/j.ejpb.240204](https://doi.org/10.13350/j.ejpb.240204).
- 5 刘斯宇, 王富珍, Fleming-Dutra K, 等. 美国关于妊娠期使用呼吸道合胞病毒疫苗预防婴儿呼吸道合胞病毒相关下呼吸道疾病的建议[J]. *中国疫苗和免疫*, 2024, 30(3): 377–382. [Liu SY, Wang FZ, Fleming-Dutra K, et al. Use of the Pfizer respiratory syncytial virus vaccine during pregnancy for the prevention of respiratory syncytial virus-associated lower respiratory tract disease in infants: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices–United States[J]. *Chinese Journal of Vaccines and Immunization*, 2024, 30(3): 377–382.] DOI: [10.19914/j.CJVI.2024061](https://doi.org/10.19914/j.CJVI.2024061).
- 6 刘日慧, 刘晓凤, 伍晓乐, 等. 中药抗病毒作用机制的研究进展[J]. *国外医药 ( 抗生素分册 )*, 2024, 45(4): 226–238. [Liu RH, Liu XF, Wu XL, et al. Research progress on antiviral mechanism of effects of traditional Chinese medicine preparations against viral diseases[J]. *World Notes on Antibiotics*, 2024, 45(4): 226–238.] DOI: [10.3969/j.issn.1001-8751.2024.04.002](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-8751.2024.04.002).
- 7 魏清筠, 陈姣, 周谦, 等. 中药抗呼吸道病毒感染性疾病的研究述评[J]. *南京中医药大学学报*, 2024, 40(10): 1141–1148. [Wei QJ, Chen J, Zhou Q, et al. Review on chinese medicine against respiratory viral infectious disease research[J]. *Journal of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine*, 2024, 40(10): 1141–1148.] DOI: [10.14148/j.issn.1672-0482.2024.1141](https://doi.org/10.14148/j.issn.1672-0482.2024.1141).
- 8 中国药典 2020 年版. 一部[S]. 2020: 367.
- 9 石爱文, 姚佳靖, 王庆, 等. 蒲公英化学成分和药理作用研究进展及其质量标志物预测分析[J]. *中华中医药学刊*, 2024, 42(9): 38–45, 259. [Shi AW, Yao JJ, Wang Q, et al. Research progress of chemical composition and pharmacological effects of Pugongying (*Taraxaci herba*) and its quality marker prediction analysis[J]. *Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine*, 2024, 42(9): 38–45, 259.] DOI: [10.13193/j.issn.1673-7717.2024.09.008](https://doi.org/10.13193/j.issn.1673-7717.2024.09.008).
- 10 张怡情, 黄清霞, 冯旭, 等. 蒲公英化学成分、药理作用及质量标志物预测分析[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2025, 27(2): 59–67. [Zhang YQ, Huang QX, Feng X, et al. Chemical components and pharmacological actions of Pugongying (*Taraxaciliterba*) and predictive analysis on Q-markers[J]. *Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine*, 2025, 27(2): 59–67.] DOI: [10.13194/j.issn.1673-842X.2025.02.011](https://doi.org/10.13194/j.issn.1673-842X.2025.02.011).
- 11 刘亦菲, 刘兆薇, 任一冉, 等. 蒲公英化学成分、药理作用研究进展及质量标志物预测分析[J]. *中华中医药学刊*, 2024, 42(8): 132–141. [Liu YF, Liu ZW, Ren YR, et al. Research progress in chemical composition and pharmacological effects of Pugongying (*Taraxacum officinale*) and predictive analysis of quality markers[J]. *Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine*, 2024, 42(8): 132–141.] DOI: [10.13193/j.issn.1673-7717.2024.08.028](https://doi.org/10.13193/j.issn.1673-7717.2024.08.028).
- 12 岳路路, 高敏, 张秋红, 等. 复方黄柏液体外抗病毒试验初步研究[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2016, 18(11): 20–22. [Yue LL, Gao M, Zhang QH, et al. Preliminary study on antiviral effect *in vitro* of compound Huangbai fluid[J]. *Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine*, 2016, 18(11): 20–22.] DOI: [10.13194/j.issn.1673-842x.2016.11.006](https://doi.org/10.13194/j.issn.1673-842x.2016.11.006).
- 13 李忠原, 李保宏, 刘苗苗, 等. 甘草对 5 种病毒的抑制作用及抗 RSV 活性部位的筛选[J]. *中成药*, 2022, 44(8): 2503–2509. [Li ZY, Li BH, Liu MM, et al. Effects of *Glycyrrhiza uralensis* on inhibiting five viruses and screening of its active anti-RSV fraction[J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2022, 44(8): 2503–2509.] DOI: [10.3969/j.issn.1001-1528.2022.08.013](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1528.2022.08.013).
- 14 李忠原. 甘草总皂苷颗粒的制备工艺及抗病毒作用研

- 究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2022. DOI: [10.27282/d.cnki.gsdzu.2022.000958](https://doi.org/10.27282/d.cnki.gsdzu.2022.000958).
- 15 洪博, 刘荣宏, 侯玉娇, 等. 蒲公英药材 UPLC 指纹图谱及 10 个成分含量测定研究[J]. 药物分析杂志, 2023, 43(11): 1858–1865. [Hong B, Liu RH, Hou YJ, et al. Study on UPLC fingerprint of Taraxaci herba and determination of ten components[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2023, 43(11): 1858–1865.] DOI: [10.16155/j.0254-1793.2023.11.07](https://doi.org/10.16155/j.0254-1793.2023.11.07).
- 16 许义方, 许文昌. 基于网络药理学和分子对接技术探讨阳和汤治疗类风湿性关节炎的作用机制[J]. 中医临床研究, 2025, 17(4): 95–104. [Xu YF, Xu WC. Exploration on mechanism of the Yanghe decoction in the treatment of rheumatoid arthritis based on network pharmacology and molecular docking technology[J]. Clinical Journal of Chinese Medicine, 2025, 17(4): 95–104.] DOI: [10.3969/j.issn.1674-7860.2025.04.017](https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-7860.2025.04.017).
- 17 侯长周, 张建锋, 安海, 等. 栀子抗呼吸道合胞病毒作用及基于网络药理学和分子对接的机制研究[J]. 药物评价研究, 2024, 47(9): 1985–1994. [Hou CZ, Zhang JF, An H, et al. Anti-respiratory syncytial virus effect of Gardeniae fructus and investigation of mechanism based on network pharmacology and molecular docking[J]. Drug Evaluation Research, 2024, 47(9): 1985–1994.] DOI: [10.7501/j.issn.1674-6376.2024.09.005](https://doi.org/10.7501/j.issn.1674-6376.2024.09.005).
- 18 林锋, 刘伦旭. 辅助性 T 细胞 17、白介素-17 与肺癌关系的研究进展[J]. 中国胸心血管外科临床杂志, 2019, 26(1): 92–96. [Lin F, Liu LX. Research progress on the relationship between T helper cell 17, interleukin-17 and lung cancer[J]. Chinese Journal of Clinical Thoracic and Cardiovascular Surgery, 2019, 26(1): 92–96.] DOI: [10.7507/1007-4848.201803038](https://doi.org/10.7507/1007-4848.201803038).
- 19 徐炎, 丁樱, 李东林, 等. 基于 PD-1/PD-L1 探讨麻杏石甘汤平衡肺部炎症与免疫微环境紊乱的机制研究[J]. 时珍国医国药, 2024, 35(11): 2518–2522. [Xu Y, Ding Y, Li DL, et al. The mechanism of Ma Xing Shi Gan Tang in balancing lung inflammation and immune microenvironment disorder based on PD-1/PD-L1[J]. Journal of Lishizhen Traditional Chinese Medicine, 2024, 35(11): 2518–2522.] <https://www.cnki.com.cn/Article/CJFDTOTAL-SZGY202411003.htm>.
- 20 Farrag MA, Almajhdi FN. Human respiratory syncytial virus: role of innate immunity in clearance and disease progression[J]. Viral Immunol, 2016, 29(1): 11–26. DOI: [10.1089/vim.2015.0098](https://doi.org/10.1089/vim.2015.0098).
- 21 Ueki IF, Min-Oo G, Kalinowski A, et al. Respiratory virus-induced EGFR activation suppresses IRF1-dependent interferon  $\lambda$  and antiviral defense in airway epithelium[J]. J Exp Med, 2013, 210(10): 1929–1936. DOI: [10.1084/jem.20121401](https://doi.org/10.1084/jem.20121401).
- 22 Li S, Han X, Lu Z, et al. MAPK cascades and transcriptional factors: regulation of heavy metal tolerance in plants[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(8): 4463. DOI: [10.3390/ijms23084463](https://doi.org/10.3390/ijms23084463).
- 23 Fan WL, Yang LY, Hsieh JC, et al. Prognostic genetic biomarkers based on oncogenic signaling pathways for outcome prediction in patients with oral cavity squamous cell carcinoma[J]. Cancers (Basel), 2021, 13(11): 2709. DOI: [10.3390/cancers13112709](https://doi.org/10.3390/cancers13112709).
- 24 Jie XL, Luo ZR, Yu J, et al. Pi–Pa–Run–Fei–Tang alleviates lung injury by modulating IL–6/JAK2/STAT3/IL–17 and PI3K/AKT/NF– $\kappa$ B signaling pathway and balancing Th17 and Treg in murine model of OVA-induced asthma[J]. J Ethnopharmacol, 2023, 317: 116719. DOI: [10.1016/j.jep.2023.116719](https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.116719).
- 25 范卫锋, 梁博伟, 梁周, 等. 基于网络药理学和分子对接技术探讨冬虫夏草治疗肺纤维化的作用机制[J]. 今日药学, 2024, 34(10): 770–778. [Fan WF, Liang BW, Liang Z, et al. Mechanism of Cordyceps Sinensis in treatment of pulmonary fibrosis based on network pharmacology and molecular docking technology[J]. Pharmacy Today, 2024, 34(10): 770–778.] DOI: [10.12048/j.issn.1674-229X.2024.10.006](https://doi.org/10.12048/j.issn.1674-229X.2024.10.006).
- 26 Wankowicz SAM, Werner L, Orsola A, et al. Differential expression of PD–L1 in high grade T1 vs muscle invasive bladder carcinoma and its prognostic implications[J]. J Urol, 2017, 198(4): 817–823. DOI: [10.1016/j.juro.2017.04.102](https://doi.org/10.1016/j.juro.2017.04.102).
- 27 Lucaciu LA, Ilieş M, Vesa ŞC, et al. Serum interleukin (IL)–23 and IL–17 profile in inflammatory bowel disease (IBD) patients could differentiate between severe and non-severe disease[J]. J Pers Med, 2021, 11(11): 1130. DOI: [10.3390/jpm11111130](https://doi.org/10.3390/jpm11111130).
- 28 Berry SPD, Dossou C, Kashif A, et al. The role of IL–17 and anti-IL–17 agents in the immunopathogenesis and management of autoimmune and inflammatory diseases[J]. Int Immunopharmacol, 2022, 102: 108402. DOI: [10.1016/j.intimp.2021.108402](https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.108402).

收稿日期: 2025 年 05 月 18 日 修回日期: 2025 年 06 月 24 日  
本文编辑: 李 阳 钟巧妮