

基于网络药理学、分子对接和分子动力学模拟探究双黄连治疗呼吸道合胞病毒感染的作用机制



任栓汕, 张宇芹, 牟静, 尹淑清, 王玲玲

西华大学社会工作与健康管理学院 (成都 610039)

【摘要】目的 利用GEO数据集、网络药理学、分子对接及分子动力学模拟探讨双黄连 (SHL) 抗呼吸道合胞病毒 (RSV) 感染的作用机制。方法 通过TCMSP和TCMID数据库筛选出SHL的活性成分及其潜在靶点, 从GEO、GeneCards、OMIM和TTD数据库中获取RSV感染的疾病靶点, 并获取SHL与RSV感染的共同作用靶点; 通过蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络分析获得核心作用靶点; 利用基因本体论 (GO) 功能与京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析获得关键通路信号, 构建药物-成分-靶点-通路网络, 最后通过AutoDockTools 1.5.6和AutoDock Vina 4.2进行分子对接与分子动力学模拟, 验证SHL关键活性成分与核心靶点之间结合亲和力。结果 研究共获得35个SHL活性成分和326个基因靶点, SHL的关键活性成分为圣草酚、山柰酚、木犀草素和槲皮素。PPI网络分析显示, SHL与RSV感染核心靶点为信号转导及转录激活因子1 (STAT1)、AKT丝氨酸/苏氨酸激酶1 (AKT1)、前列腺素内过氧化物合酶2 (PTGS2) 等10个靶点。通过KEGG富集分析和药物-成分-靶点-通路网络发现, SHL抗病毒的主要靶点作用于肿瘤坏死因子 (TNF)、缺氧诱导因子 (HIF) 和磷脂酰肌醇3-激酶-蛋白激酶B (PI3K-Akt) 信号通路上。分子对接与分子动力学模拟证实, SHL活性成分与这些靶点之间具有显著的结合亲和力。结论 SHL可通过圣草酚、山柰酚、木犀草素和槲皮素作用于TNF、HIF和PI3K-Akt信号通路治疗RSV感染。

【关键词】双黄连; 呼吸道合胞病毒; GEO数据集; 网络药理学; 分子对接; 分子动力学模拟; 蛋白质-蛋白质相互作用

【中图分类号】 R966

【文献标识码】 A

Investigation of the mechanisms of action of Shuanghuanglian in treating respiratory syncytial virus infection based on network pharmacology, molecular docking and molecular dynamics simulations

REN Shuanshan, ZHANG Yuqin, MOU Jing, YIN Shuqing, WANG Lingling

School of Social Work and Health Management, Xihua University, Chengdu 610039, China

Corresponding author: WANG Lingling, Email: wanglingling@mail.xhu.edu.cn

【Abstract】Objective To investigate the mechanism of action of Shuanghuanglian (SHL) against respiratory syncytial virus (RSV) infection based on GEO datasets, network pharmacology, molecular docking, and molecular dynamics simulations. Methods The active ingredients of SHL and their potential targets were screened through the TCMSP and TCMID databases, while the disease targets of RSV infection were obtained from the GEO, GeneCards, OMIM, and TTD databases. The common targets of SHL and RSV infection were then identified. Core target

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202601016

通信作者: 王玲玲, 博士, 讲师, Email: wanglingling@mail.xhu.edu.cn

<https://yxqy.whuzhmedj.com>

molecules were identified through protein-protein interaction (PPI) network analysis; the key signaling pathway signals were acquired through GO functional and KEGG pathway enrichment analyses; a drug-component-target-pathway network was constructed; and finally, molecular docking and molecular dynamics simulation were performed by AutoDockTools 1.5.6 and AutoDock Vina 4.2 to verify the binding affinity between the key active components of SHL and the core action targets. **Results** A total of 35 active components and 326 gene targets of SHL were obtained in this study. The primary bioactive components of SHL included eriodictyol, kaempferol, luteolin, and quercetin. PPI network analysis identified 10 core targets for SHL in treating RSV, including signal transducer and activator of transcription 1 (STAT1), AKT serine/threonine kinase 1 (AKT1), and prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (PTGS2). KEGG enrichment and network analysis indicated that the antiviral effects of SHL are primarily mediated through the TNF, HIF, and PI3K-Akt signaling pathways. Molecular docking and MD simulations confirmed that the active components of SHL exhibit significant binding affinity with these core targets. **Conclusion** This study reveals the potential mechanism of action of SHL in treating RSV infection, which involves the synergistic action of eriodictyol, kaempferol, luteolin, and quercetin on the TNF, HIF, and PI3K-Akt signaling pathways.

【Keywords】 Shuanghuanglian; Respiratory syncytial virus; GEO data; Network pharmacology; Molecular docking; Molecular dynamics simulation; Protein-protein interaction

呼吸道合胞病毒 (respiratory syncytial virus, RSV) 为单股负链RNA病毒, 是引起婴幼儿、孕妇及老年人等下呼吸道感染的重要病原体, 可导致支气管炎、肺炎等疾病, 且与慢性阻塞性肺疾病、哮喘等远期后遗症相关, 严重影响患者生活质量^[1-2]。2019年, RSV引起0~5岁儿童急性下呼吸道感染约3 300万例, 其中住院360万例, 死亡2.63万例^[3]。RSV感染被认为是儿童和老年人感染肺炎、支气管炎以及细支气管炎的主要诱因^[4-7]。目前, 虽有针对老年人的RSV疫苗(如Abrysvo)及利巴韦林等临床治疗药物, 但因成本较高, 且可能引发吉兰-巴雷综合征等严重不良反应, 使其应用受到限制^[8-11]。因此, 研发安全高效的新型抗RSV药物具有重要意义。

传统中药在抗病毒治疗中具有疗效明确、不良反应少的特点, 展现出良好的潜力^[12]。双黄连(Shuanghuanglian, SHL)由金银花、黄芩、连翘组成, 临床上常用于治疗细菌与病毒引起的急性上呼吸道感染^[13-14]。研究表明, SHL具有广谱抗病毒作用, 如通过抑制严重急性呼吸综合征冠状病毒2(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)的3-糜蛋白酶样蛋白酶(3-chymotrypsin-like protease, 3CLpro)阻断病毒复制; 其活性成分绿原酸、黄芩苷等可抑制人腺病毒III型, 并通过肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)信号通路发挥抗甲型H1N1流感病

毒效应^[15-19]。尽管SHL已应用于呼吸道感染治疗, 但其抗RSV感染的活性成分及分子机制仍有待深入研究^[16]。随着系统生物学与生物信息学的发展, 网络药理学已成为阐释中药多成分-多靶点-多通路作用模式的重要工具^[17]。相较于传统的“病-靶-药”原则, 网络药理学能从网络视角评估并揭示生物系统、药物与疾病间复杂的相互作用, 现已被广泛应用于中药作用机制研究^[18-19]。本研究整合网络药理学、GEO(Gene Expression Omnibus)数据分析、分子对接及分子动力学模拟方法, 系统分析SHL治疗RSV感染的潜在作用机制。

1 资料与方法

1.1 SHL活性成分与治疗靶点

检索中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP, <https://tcmsp-e.com/>)和中药整合数据库(TCMID, <http://tcm.cmu.edu.tw/>), 以口服生物利用度 $\geq 30\%$ 和类药性 ≥ 0.18 为条件, 筛选SHL的活性成分。利用TCMSP的相关靶点模块识别SHL活性成分对应的靶点, 通过UniProt数据库(<https://www.uniprot.org/>)将靶点名称转换为Gene Symbol名称, 确保基因识别的标准化。

1.2 RSV疾病靶点数据库构建

通过分析GEO数据库(www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/)中的数据集GSE228327, 选取4个经RSV感

染24 h的人气道上皮细胞样本与4个未感染的正常对照样本,提取其mRNA表达谱数据。采用R4.5.1软件中的DESeq包,以 $\log_2FC > 1$ 且 $P < 0.05$ 筛选差异表达基因。利用ggplot2和pheatmap包绘制火山图和热图,对筛选差异基因进行可视化分析。同时以“respiratory syncytial virus”为检索词,在GeneCards (<http://www.genecards.org/>)、在线人类孟德尔遗传(OMIM, <http://www.omim.org/>)和治疗靶点数据库(TTD, <http://db.idrblab.net/ttd/>)收集RSV相关疾病靶点信息,构建RSV感染的疾病靶点,剔除重复靶点后获得最终疾病靶点。通过Venny 2.1.0工具获取RSV疾病相关靶点与SHL活性成分共有靶点。

1.3 药物-成分-靶点网络

将药物、活性成分、疾病靶点导入Cytoscape 3.9.1 (<https://www.cytoscape.org/>)构建并可视化药材、成分和靶点网络。

1.4 蛋白质-蛋白质相互作用网络

将得到的交集靶点导入STRING数据库 (<http://string-db.org>),选择物种为“Homo sapiens”,置信度阈值设为 ≥ 0.4 。利用Cytoscape构建蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络。计算每个节点的度中心性、接近中心性和介数中心性,以高于这3个指标的中位值为阈值,筛选出核心靶点。同时运用Cytoscape的CytoHubba插件识别核心靶点,利用MCODE插件进行子簇分析得到评分最高的4个基因簇。

1.5 基因本体与京都基因与基因组百科全书富集分析

采用R 4.5.1对获得的交集靶点进行基因本体论(gene ontology, GO)功能与京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)富集分析,设定错误发现率 < 0.05 且 $P < 0.05$ 为显著性阈值,并对分析结果进行可视化呈现。

1.6 成分-靶点-通路网络

选取KEGG显著富集的前20信号通路为重点研究对象,探讨药物、活性成分、核心靶点的关系。利用Cytoscape构建成分-靶点-通路网络并进行可视化。

1.7 分子对接验证

选取SHL活性成分中对应基因靶点最多的圣草酚、山柰酚、木犀草素和槲皮素与PPI网络获

得的核心靶点进行分子对接研究。采用AutoDockTools 1.5.6和AutoDock Vina 4.2进行对接操作。首先从TCMSP数据库获取核心化合物的mol2格式结构文件,通过ChemOffice软件转化为三维模型并进行结构能量最小化,经AutoDock Tools软件加氢处理后保存为pdbqt格式;其次从RCSB PDB数据库 (<https://www.pdb.org/>)下载靶点蛋白晶体结构,利用PyMOL 1.7.2.1 (<https://pymol.org/2/>)进行去水、加氢处理,在AutoDockTools中针对各靶点蛋白活性位点制备对接网格盒并保存为pdbqt格式;接着使用AutoDock Vina进行靶点蛋白与活性化合物的分子对接,以对接打分值评估蛋白与化合物间的结合亲和力;最后通过PyMOL和Discovery Studio 2020可视化分析活性化合物的相互作用与结合模式。

1.8 分子动力学模拟

为探究对接评分前5的配体-蛋白复合物的动态行为与稳定性,采用GROMACS 2021.4进行分子动力学模拟。选用AMBER 99 SB力场模拟原子间相互作用。模拟步骤包括:在恒粒子数、体积和温度条件下进行1 ns平衡,使系统在热力学温度300 K条件下达到平衡;随后进行100 ns模拟,每100 ps记录一次轨迹,共获得1 000帧。通过对轨迹数据的分析,生成均方根偏差(root mean square deviation, RMSD)和均方根涨落(root mean square fluctuation, RMSF)图,深入解析复合物在模拟过程中的稳定性与构象变化。

2 结果

2.1 药物-成分-靶点网络

筛选得到35个SHL活性成分,其中金银花11个、黄芩11个、连翘13个成分,因受到数据库限制,有23个活性成分找到了对应靶点基因(各组基因分别对应6、9、8个成分)。共获得619个基因靶点,经去重后共获得326个基因靶点。SHL药物-成分-靶点网络包含331个节点和2 288条边,其中活性成分圣草酚、山柰酚、木犀草素和槲皮素与成分作用靶点对应最多(图1)。

2.2 SHL与RSV感染相关疾病靶点

数据集GSE228327中共鉴定出3 434个RSV感染相关差异基因,其中1 800个基因表达上调,1 634个基因表达下调(图2-A)。从这些差异基因选取了前5个上调基因以及前22个上调基因进

行热图展示 (图2-B)。将获得的RSV差异基因与 GeneCards、OMIM 和 TTD 数据库的疾病靶点合并去重后, 最终获得 4 368 个 RSV 感染相关疾病靶

点。将 SHL 活性成分靶点与 RSV 疾病靶点取交集, 确定了 95 个潜在在 SHL 抗 RSV 感染的共同作用靶点 (图2-C)。

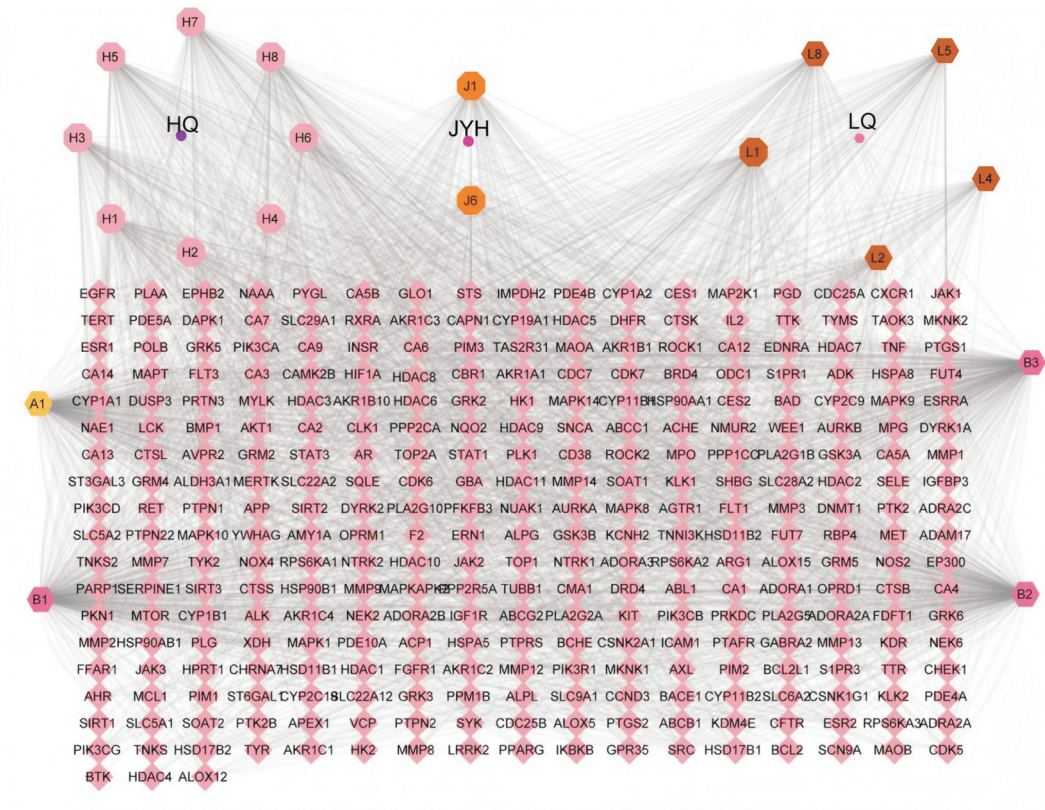


图1 SHL 药物-成分-靶点网络图

Figure 1. Drug-ingredient-target network of SHL

注: JYH 表示金银花, HQ 表示黄芩, LQ 表示连翘; A1、B1、B2、B3 分别对应圣草酚、山柰酚、木犀草素和槲皮素。

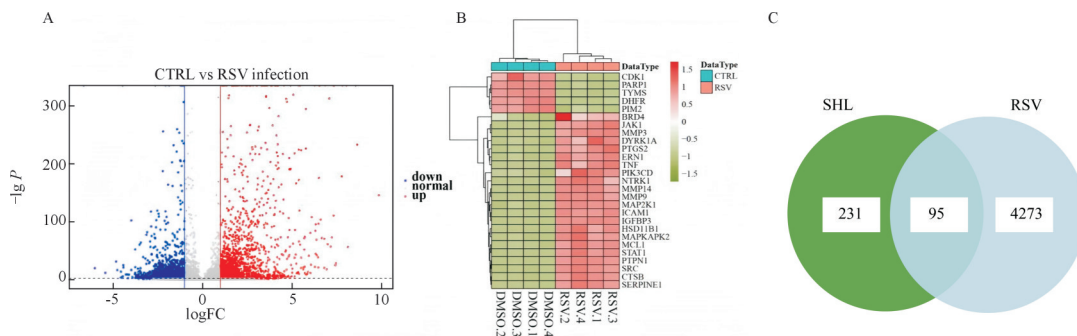


图2 SHL 与 RSV 感染疾病共同作用靶点

Figure 2. Common targets of SHL and RSV infection diseases

注: A. 差异基因火山图, 红色代表上调基因, 蓝色代表下调基因; B. 热图, 显示 27 个差异表达, 行代表基因, 列对应样本; C. SHL 与 RSV 共同作用靶点的 Venny 图。

2.3 PPI 网络分析

SHL 与 RSV 感染疾病共同作用靶点 PPI 网络包含 95 个节点, 1 236 条边 (图3-A)。以度中心性中位值作为阈值, 最终鉴定出信号转导及转录激活因子 1 (signal transducer and activator of transcription 1, STAT1)、AKT 丝氨酸/苏氨酸激酶 1 (AKT serine/

threonine kinase 1, AKT1)、前列腺素内过氧化物合酶 2 (prostaglandin-endoperoxide synthase 2, PTGS2)、非受体酪氨酸激酶 (SRC proto-oncogene, non-receptor tyrosine kinase, SRC)、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mechanistic target of rapamycin,

mTOR)、热休克蛋白 90 Alpha 家族 A 类成员 1 (heat shock protein 90 alpha family class A member 1, HSP90AA1)、缺氧诱导因子 1 α 亚基 (hypoxia-inducible factor 1 alpha subunit, HIF1A)、信号转导及转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 和 TNF 10 个核心靶点 (图

3-B)。进一步利用 MCODE 插件对 PPI 网络进行模块分析, 共识别出 4 个功能显著聚集的模块。其中, Cluster 1 为核心模块, 包含 27 个节点与 628 条边, 相互作用最为密集; Cluster 2、3、4 分别包含 6、12、3 个节点, 揭示了网络中其他紧密连接的功能单元 (图 3-C)。

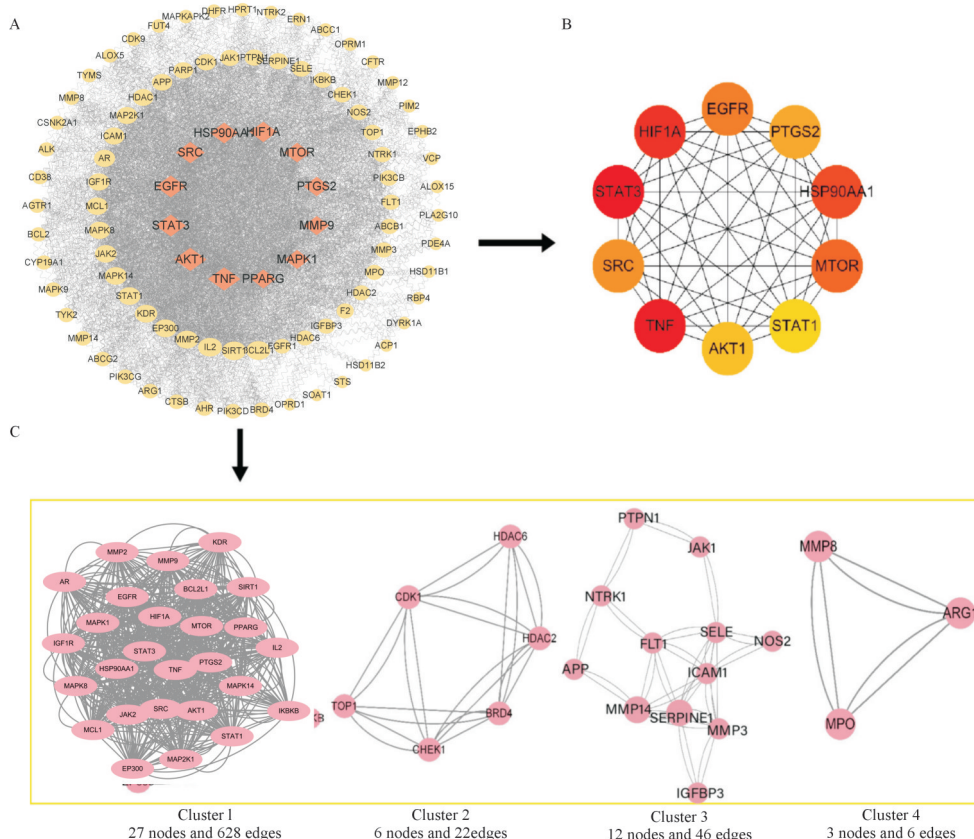


图 3 PPI 网络

Figure 3. PPI network

注: A. 包含一级和二级靶点的 PPI 网络图; B. 核心基因; C. 子簇分析。

2.4 GO 与 KEGG 富集分析

GO 富集分析获得 509 个生物过程 (biological process, BP)、74 个分子功能 (molecular function, MF) 和 111 个细胞组分 (cellular component, CC)。各类型富集度前 10 的条目 (图 4)。BP 中最显著的 5 个条目包括: RNA 聚合酶 II 启动子转录正调控 (基因表达起始的关键过程)、信号转导、药物反应、细胞凋亡负调控以及 DNA 模板转录正调控。MF 方面突出显示了蛋白质结合、酶结合和转录因子活性等关键作用。CC 分析表明相关过程主要发生在细胞质、细胞核、细胞溶质和质膜等部位。

KEGG 通路富集分析共发现 150 个显著富集信号通路, 前 20 个信号通路主要包括环境信息处

理 (如 PI3K-Akt 信号通路、TNF 信号通路)、细胞过程 (如凋亡/Apoptosis)、生物体系统 (如 Th17 细胞分化、催乳素信号通路) 以及人类疾病 (如乙型肝炎、癌症通路) 4 大类别。其中, PI3K-Akt、TNF 和 HIF-1 信号通路富集分数较高且差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 提示 SHL 可能通过调控炎症反应和免疫应答来发挥抗病毒作用。

2.5 药物-成分-靶点-通路网络

选取 KEGG 分析前 20 条信号通路及其对应靶点和 SHL 活性物构建药物-靶点网络图 (图 5-A), 网络包含 98 个节点和 631 条边。其复杂的网络连通性表明, 同一成分可作用于多个靶点, 而不同成分也可协同作用于同一通路。通过桑基图进一

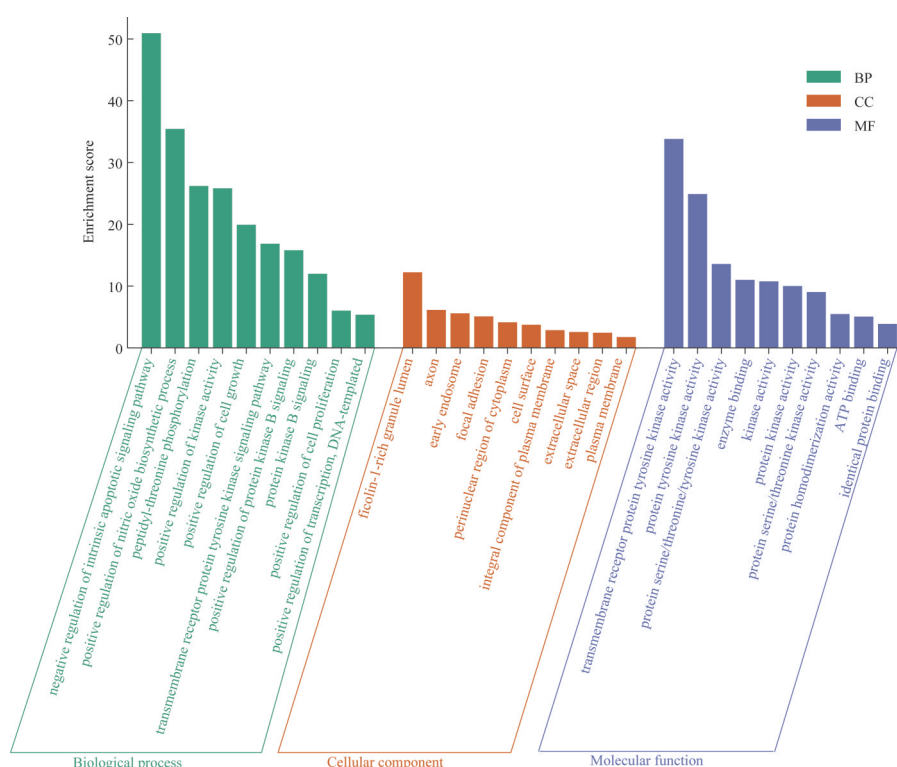


图4 GO富集分析

Figure 4. GO enrichment analysis

步分析了核心靶点与主要信号通路之间的对应关系（图5-B）。其中主要核心靶点 AKT1、PTGS2、HIF1A、EGFR、STAT3 分别参与 20、18、17、16、15 条通路。TNF 信号通路、HIF 信号通路和 PI3K-Akt 信号通路在 GO 和 KEGG 数据库中的显著富集提示，SHL 可能通过上述这些通路发挥抗 RSV 作用。SHL 抗 RSV 感染的作用具有明显的“多靶点、多通路”特征，且 AKT1 和 PTGS2 是其中最关键的效应节点。

2.6 分子对接验证

为验证网络药理学结果，采用分子对接技术评估活性成分与靶点的相互作用。选取 PPI 网络中 STAT1、AKT1、PTGS2、SRC、EGFR、MTOR、HSP90AA1、HIF1A、STAT3 和 TNF 核心靶点与山柰酚、槲皮素、木犀草素和圣草酚 4 种化合物进行对接分析。使用 Autodock Vina 4.2 软件进行分子对接模拟，对接构象空间坐标及靶点化合物详细信息见表 1。通过 PyMOL-1.7.2.1 和 Discovery Studio 2020 可视化化合物-靶点相互作用模式（图 6）。对接结合能范围为 -4.08~ -7.3 kcal/mol，表明复合物具有稳定结合特性。其中 AKT1 与圣草酚的结合自由能达 -7.3 kcal/mol，其结合亲和力主要来源于与 LEU238、

ARG216、ARG242 残基形成的氢键，与 SER146、TYR147、PHE220、ASN144、GLU140 残基的范德华相互作用，以及与 ASN144 残基的共价键。此外，木犀草素、槲皮素和山柰酚与 AKT1、HIF1A 也显示出强结合活性，这些化合物可作为候选药物分子。

2.7 分子动力学模拟

为探究主要化合物与靶蛋白的结合稳定性，对 PTGS2 (5F19)-山柰酚和 AKT1 (7NH5)-圣草酚复合物进行了 100 ns 分子动力学模拟。通过分析蛋白质 RMSD 值 ($\leq 3 \text{ \AA}$ 为可接受范围)，考察复合物构象随时间演化的情况。结果显示，PTGS2-山柰酚复合物的 RMSD 在 1-2 \AA 范围内持续波动，该复合物在 100 ns 模拟中具有良好动态稳定性（图 7-A），氨基酸残基的 RMSF 波动均未超过 3 \AA ，活性位点残基 (154、229-231、233-234、236-237、436-438、440、443) 的波动值相对较低（图 7-B）。AKT1-圣草酚复合物，RMSD 在 0.4-2.9 \AA 区间波动，该复合物同样保持良好动态稳定性（图 7-C），其 RMSF 虽存在明显波动，但整体仍保持高度柔性（图 7-D）。本研究中对接结果可靠性较好，且未观察到温度或压力对复合物构象的影响，模拟的可信度较高。

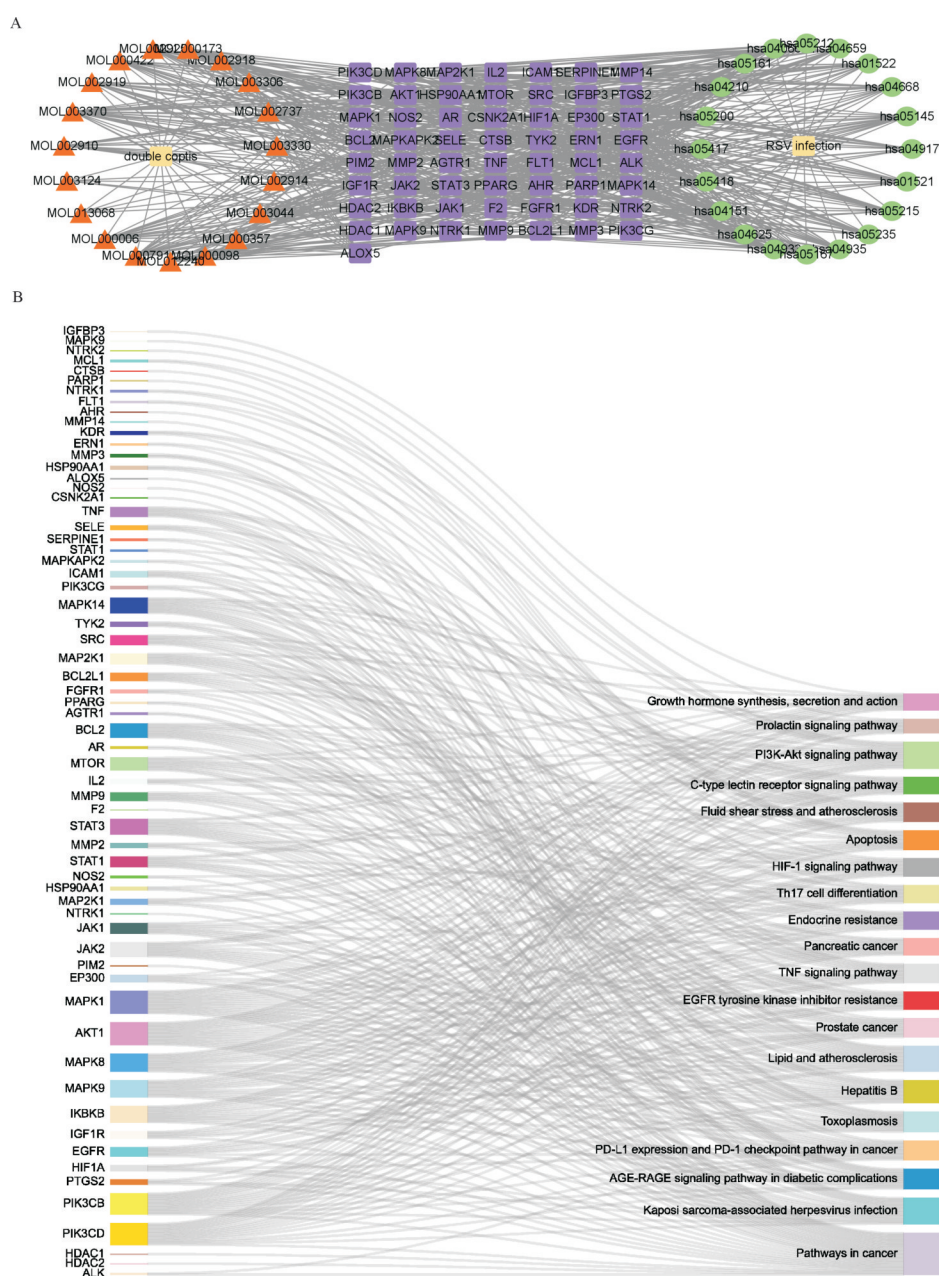


图5 SHL 治疗 RSV 感染的功能富集与整合网络分析

Figure 5. Functional enrichment and integrated network analysis of SHL in the treatment of RSV infection

注：A. SHL 治疗 RSV 感染机制相关的“成分-靶点-通路”网络图，紫色节点代表靶点，粉色节点代表成分，绿色节点代表通路；B. 桑基图展示 SHL 治疗 RSV 感染过程中治疗靶点与 KEGG 通路的关联，左侧矩形节点为治疗靶点，右侧矩形节点为 KEGG 通路，连线表示靶点与通路间的关联。

表 1 SHL 前 4 种活性成分与 10 个核心靶点的分子对接结果

Table 1. Molecular docking results of the top 4 active ingredients of SHL and 10 hub genes

靶点	PDB ID	结合能 (kcal/mol)			
		槲皮素	木犀草素	山柰酚	圣草酚
STAT1	7nuf	-4.08	-4.04	-5.22	-4.37
AKT1	7nh5	-6.51	-6.72	-4.18	-6.51
STAT3	6tlc	-5.29	-6.47	-7.39	-5.32
SRC	1o4a	-6.43	-6.01	-5.57	-5.29
EGFR	1xkk	-6.52	-5.35	-6.36	-5.77
MTOR	1aue	-4.17	-6.64	-5.72	-5.04
HSP90AA1	1BYQ	-4.40	-5.03	-5.84	-4.11
HIF1A	1h2k	-6.41	-6.65	-7.11	-5.97
TNF	4mxw	-4.07	-5.15	-5.03	-4.97
PTGS2	5f19	-4.82	-5.14	-7.30	-4.96

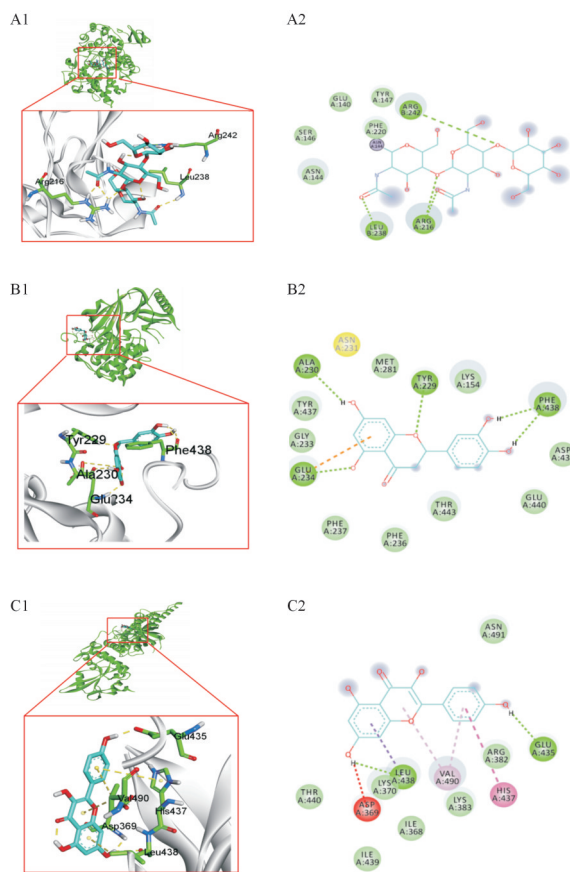


图6 关键靶点与活性化合物的对接构象图

Figure 6. Docking conformations between key targets and active compounds

注：A1、B1、C1分别为圣草酚-AKT1、山柰酚-PTGS2、山柰酚-STAT3的对接模式；A2、B2、C2分别为上述对应复合物的二维相互作用图。

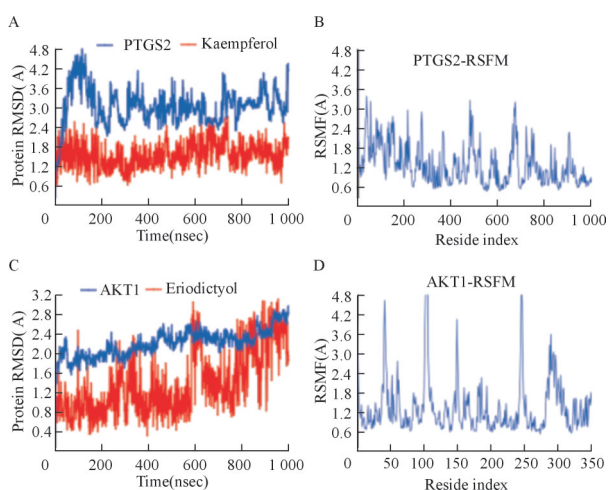


图7 分子动力学模拟RMSD与RMSF图

Figure 7. RMSD and RMSF plots of molecular dynamics simulations

注：A、B为山柰酚-PTGS2 (5F19) 复合物在100 ns模拟中的RMSD与RMSF变化；C、D为圣草酚-AKT1 (7NH5) 复合物在100 ns模拟中的RMSD与RMSF变化。

3 讨论

RSV是一种副黏病毒科RNA病毒，是引致呼吸道感染的重要病原体，尤其对5岁以下儿童危害显著，可引发婴幼儿严重的下呼吸道感染及病毒性肺炎^[2-3]。该病毒潜伏期约2~8 d，主要通过飞沫与接触传播^[20]。临床及实验研究显示，SHL及其活性成分对RSV感染具有潜在治疗作用，但其具体药效物质与作用机制尚不明确^[21]。为此，本研究联合运用网络药理学、GEO数据分析、分子对接及分子动力学模拟等方法，分析SHL抗RSV的潜在作用靶点与机制。

基于TCMSP及TCMID数据库，结合ADME筛选标准，共获得35个活性化合物。通过GeneCards与GEO数据库分析获得4 368个RSV感染相关靶点。经“药物-成分-交集基因”网络构建与度中心性分析，最终筛选出4个核心活性成分：圣草酚、山柰酚、木犀草素、槲皮素。有研究表明，这些成分在急性肺损伤等呼吸道相关疾病中具有治疗潜力，其中，山柰酚被报道可有效抑制RSV感染^[22-24]。木犀草素通过调控miR-155/SOCS1/STAT1信号通路来抑制RSV复制^[25]。槲皮素对RSV具有显著抗病毒活性，并可能通过嘌呤代谢缓解肺部炎症^[26]。以上证据表明，SHL中的活性成分在抗RSV方面已显示出明确的治疗潜力。

利用网络药理学结合GEO数据，共确定了10个关键靶点，包括STAT3、TNF、HIF1A、HSP90AA1、MTOR、EGFR、SRC、PTGS2、AKT1和STAT1。这些靶点在TNF、HIF和PI3K-Akt等与免疫反应和炎症相关的通路中显著富集。TNF通路在免疫炎症反应中起关键作用，TNF- α 是单核巨噬细胞产生的重要炎症因子，是TNF信号通路中的核心因子。有研究发现，TNF- α 可抑制RSV感染单核细胞，并在与其他细胞因子协同作用时表现出较强的抗病毒活性^[27-29]。此外HIF-1 α 是连接病毒感染与细胞代谢的关键节点，降低HIF-1 α 的表达已被证明可减少RSV病毒复制^[30]。RSV感染能通过一氧化氮的释放，在人气道上皮细胞和实验小鼠模型中，RSV可触发HIF-1 α 活化，导致细胞代谢重编程并增强病毒复制^[31-33]。研究发现，RSV通过激活磷脂酰肌醇3-激酶/Akt细胞内信号通路以增强病毒复制，而Akt抑制剂Akt-IV能有效阻断此过程^[34]。此外，

PI3K-AKT-mTOR 通路已被证实能在体外促进 RSV 病毒复制^[35]。综上所述, TNF、HIF 和 PI3K-Akt 通路是本网络中可能影响免疫应答、炎症及代谢过程的主要通路。

SHL 作为经典中药复方制剂, 其整体疗效源于黄芩、金银花、连翘 3 味药材中多种活性成分的协同作用, 这一特点类似于与中医药“君臣佐使”的配伍原则。其核心成分, 如山柰酚、木犀草素、槲皮素、圣草酚等, 可能共同作用于 TNF、PI3K-Akt 和 HIF-1 等与 RSV 感染密切相关的信号通路。这种协同作用可能体现在两个层面, 在药效学层面, 不同成分可针对同一通路的上下游或多个互补通路发挥叠加或增强效应。研究显示, SHL 可通过降低 TNF- α 、IL-6 等多种炎症因子, 并调节免疫细胞亚群(如 CD3⁺ 细胞)功能, 实现抗炎与免疫调节的双重效益^[36-38]。在药代动力学层面来讲, 复方中不同成分可能通过相互影响而改善彼此的溶解性、稳定性或组织分布, 从而提高整体生物利用度。未来研究需通过设计成分组合的体外与体内实验, 并借助多组学整合分析技术, 通过实验证实这些成分在关键通路上的相互协同作用, 从而系统揭示 SHL 复方多靶点、多途径协同治疗呼吸道感染作用机制。

分子对接和分子动力学模拟结果表明, 圣草酚、槲皮素和山柰酚对 AKT1、EGFR 和 HIF1A 表现出显著的结合活性, 提示这些化合物可能在增强 SHL 治疗 RSV 的效果中发挥作用。此外, 分子动力学模拟分析了圣草酚与 AKT1 以及山柰酚与 PTGS2 的结合相互作用。这些复合物的 RMSD 值持续波动在 3 Å 以下, 证明了圣草酚-AKT1 和山柰酚-PTGS2 的有效结合。

本研究仍然存在一定的局限性。第一, 结论主要基于对单一 GSE228327 数据集 ($n=8$) 的生物信息学分析, 样本量较小且为体外感染模型, 这种感染模型与临床多时间点、异质性感染状态的一致性存在差别, 因此其作用意义还有待进一步确认。第二, KEGG 富集分析揭示了 TNF、PI3K-Akt 等关键通路, 但这种基因富集分析仅能提示通路关联, 无法明确 SHL 对其调控的具体方向(激活或抑制), 需要进一步通过干扰或过表达等实验来确定具体的调控关系。第三, 分子动力学模拟仅针对 PTGS2-山柰酚和 AKT1-圣草酚

这两对核心复合物进行, 虽具有示例意义, 但未能覆盖所有预测的核心靶点-成分对, 系统性的验证有待加强。第四, 目前所有预测均源于计算模拟分析, 缺乏体内外实验的直接验证。未来研究应通过体外结合实验、动物模型及临床样本队列, 结合多组学分析, 系统验证 SHL 关键成分与核心靶点的相互作用及其调控方向, 为临床转化提供实验依据。

参考文献

- 1 李岩昇, 吕娜, 马祝青. 人呼吸道合胞病毒感染的预防和治疗研究进展[J]. 生物技术进展, 2024, 14(1): 26-34. [Li YY, Lyu N, Ma ZQ. Research progress in the prevention and treatment of human respiratory syncytial virus infection[J]. Current Biotechnology, 2024, 14(1): 26-34.] DOI: 10.19586/j.2095-2341.2023.0140.
- 2 Rosas-Salazar C, Chirkova T, Gebretsadik T, et al. Respiratory syncytial virus infection during infancy and asthma during childhood in the USA (INSPIRE): a population-based, prospective birth cohort study[J]. Lancet, 2023, 401(10389): 1669-1680. DOI: 10.1016/s0140-6736(23)00811-5.
- 3 Li Y, Wang X, Blau DM, et al. Global, regional, and national disease burden estimates of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in children younger than 5 years in 2019: a systematic analysis[J]. The Lancet, 2022, 399(10340): 2047-2064. DOI: 10.1016/S0140-6736(22)00478-0.
- 4 Qiu X, Xu S, Lu Y, et al. Development of mRNA vaccines against respiratory syncytial virus (RSV)[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2022, 68: 37-53. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2022.10.001.
- 5 Borchers AT, Chang C, Gershwin ME, et al. Respiratory syncytial virus—a comprehensive review[J]. Clin Rev Allergy Immunol, 2013, 45(3): 331-379. DOI: 10.1007/s12016-013-8368-9.
- 6 Gatt D, Martin I, Alfouzan R, et al. Prevention and treatment strategies for respiratory syncytial virus (RSV)[J]. Pathogens, 2023, 12(2). DOI: 10.3390/pathogens12020154.
- 7 Papi A, Ison MG, Langley JM, et al. Respiratory syncytial virus prefusion F protein vaccine in older adults[J]. N Engl J Med, 2023, 388(7): 595-608. DOI: 10.1056/NEJMoa2209604.
- 8 Agac A, Kolbe S M, Ludlow M, et al. Host responses to respiratory syncytial virus infection[J]. Viruses, 2023, 15(10): 1999. DOI: 10.3390/v15101999.
- 9 Jenkins VA, Hoet B, Hochrein H, et al. The quest for a respiratory syncytial virus vaccine for older adults: thinking beyond the F protein[J]. Vaccines (Basel), 2023, 11(2): 382. DOI: 10.3390/vaccines11020382.
- 10 Mir WAY, Shrestha DB, Rana W, et al. Successful treatment of respiratory syncytial virus infection in an immunocompromised patient with ribavirin[J]. Cureus, 2021, 13(8): e16930. DOI: 10.7759/cureus.16930.
- 11 Ohmit SE, Moler FW, Monto AS, et al. Ribavirin utilization and clinical effectiveness in children hospitalized with respiratory

- syncytial virus infection[J]. *J Clin Epidemiol*, 1996, 49(9): 963–967. DOI: [10.1016/0895-4356\(96\)00137-0](https://doi.org/10.1016/0895-4356(96)00137-0).
- 12 Chen Z, Ye SY. Research progress on antiviral constituents in traditional Chinese medicines and their mechanisms of action[J]. *Pharm Biol*, 2022, 60(1): 1063–1076. DOI: [10.1080/13880209.2022.2074053](https://doi.org/10.1080/13880209.2022.2074053).
- 13 Gao Y, Fang L, Cai R, et al. Shuang–Huang–Lian exerts anti-inflammatory and anti-oxidative activities in lipopolysaccharide-stimulated murine alveolar macrophages[J]. *Phytomedicine*, 2014, 21(4): 461–469. DOI: [10.1016/j.phymed.2013.09.022](https://doi.org/10.1016/j.phymed.2013.09.022).
- 14 Kong XT, Fang HT, Jiang GQ, et al. Treatment of acute bronchiolitis with Chinese herbs[J]. *Arch Dis Child*, 1993, 68(4): 468–471. DOI: [10.1136/adc.68.4.468](https://doi.org/10.1136/adc.68.4.468).
- 15 Xu Z, Li K, Pan T, et al. Lonicerin, an anti-*algE* flavonoid against *Pseudomonas aeruginosa* virulence screened from Shuanghuanglian formula by molecule docking based strategy[J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 239: 111909. DOI: [10.1016/j.jep.2019.111909](https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.111909).
- 16 Ma Q, Liang D, Song S, et al. Comparative study on the antiviral activity of Shuang–Huang–Lian Injectable Powder and its bioactive compound mixture against human adenovirus III *in vitro*[J]. *Viruses*, 2017, 9(4): 79. DOI: [10.3390/v9040079](https://doi.org/10.3390/v9040079).
- 17 Guo B, Zhao C, Zhang C, et al. Elucidation of the anti-inflammatory mechanism of Er Miao San by integrative approach of network pharmacology and experimental verification[J]. *Pharmacol Res*, 2022, 175: 106000. DOI: [10.1016/j.phrs.2021.106000](https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.106000).
- 18 Casas AI, Hassan AA, Larsen SJ, et al. From single drug targets to synergistic network pharmacology in ischemic stroke[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(14): 7129–7136. DOI: [10.1073/pnas.1820799116](https://doi.org/10.1073/pnas.1820799116).
- 19 Jiao G, Fan X, Wang Y, et al. Dissection of the active ingredients and potential mechanism of Han–Shi–Yu–Fei–decoction in treating COVID–19 based on *in vivo* substances profiling and clinical symptom-guided network pharmacology[J]. *ACS Omega*, 2022, 7(41): 36598–36610. DOI: [10.1021/acsomega.2c04589](https://doi.org/10.1021/acsomega.2c04589).
- 20 Jones JM, Fleming–Dutra KE, Prill MM, et al. Use of nirsevimab for the prevention of respiratory syncytial virus disease among infants and young children: recommendations of the advisory committee on immunization practices–United States, 2023[J]. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2023, 72(34): 920–925. DOI: [10.15585/mmwr.mm7234a4](https://doi.org/10.15585/mmwr.mm7234a4).
- 21 杜海涛, 孙铁锋, 王平, 等. 清热药抗呼吸道合胞病毒的研究进展 [J]. *中成药*, 2019, 41(10): 2435–2441. [Du HT, Sun TF, Wang P, et al. Research progress of antipyretic drugs against respiratory syncytial virus[J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2019, 41(10): 2435–2441.] DOI: [10.3969/j.issn.1001-1528.2019.10.031](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1528.2019.10.031).
- 22 Zhuang Z, Wen J, Zhang L, et al. Can network pharmacology identify the anti-virus and anti-inflammatory activities of Shuanghuanglian oral liquid used in Chinese medicine for respiratory tract infection? [J]. *Eur J Integr Med*, 2020, 37: 101139. DOI: [10.1016/j.eujim.2020.101139](https://doi.org/10.1016/j.eujim.2020.101139).
- 23 Shivakumar D, Williams J, Wu Y, et al. Prediction of absolute solvation free energies using molecular dynamics free energy perturbation and the OPLS force field[J]. *J Chem Theory Comput*, 2010, 6(5): 1509–1519. DOI: [10.1021/ct900587b](https://doi.org/10.1021/ct900587b).
- 24 Periferakis A, Periferakis AT, Troumpata L, et al. Kaempferol: a review of current evidence of its antiviral potential[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(22): 16299. DOI: [10.3390/ijms242216299](https://doi.org/10.3390/ijms242216299).
- 25 Wang S, Ling Y, Yao Y, et al. Luteolin inhibits respiratory syncytial virus replication by regulating the MiR–155/SOCS1/STAT1 signaling pathway[J]. *Virology*, 2020, 17(1): 187. DOI: [10.1186/s12985-020-01451-6](https://doi.org/10.1186/s12985-020-01451-6).
- 26 Sun YL, Zhao PP, Zhu CB, et al. Integrating metabolomics and network pharmacology to assess the effects of quercetin on lung inflammatory injury induced by human respiratory syncytial virus[J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 8051. DOI: [10.1038/s41598-023-35272-8](https://doi.org/10.1038/s41598-023-35272-8).
- 27 Franke G, Freihorst J, Steinmüller C, et al. Interaction of alveolar macrophages and respiratory syncytial virus[J]. *J Immunol Methods*, 1994, 174(1–2): 173–184. DOI: [10.1016/0022-1759\(94\)90020-5](https://doi.org/10.1016/0022-1759(94)90020-5).
- 28 Neuzil KM, Tang YW, Graham BS. Protective role of TNF–alpha in respiratory syncytial virus infection *in vitro* and *in vivo*[J]. *Am J Med Sci*, 1996, 311(5): 201–204. DOI: [10.1097/0000441-199605000-00001](https://doi.org/10.1097/0000441-199605000-00001).
- 29 Sankuntaw N, Punyadee N, Chantratita W, et al. Coinfection with respiratory syncytial virus and rhinovirus increases IFN–lambda 1 and CXCL10 expression in human primary bronchial epithelial cells[J]. *New Microbiol*, 2024, 47(1): 60–67. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38700885/>.
- 30 Morris DR, Qu Y, Agrawal A, et al. HIF–1alpha modulates core metabolism and virus replication in primary airway epithelial cells infected with respiratory syncytial virus[J]. *Viruses*, 2020, 12(10): 1088. DOI: [10.3390/v12101088](https://doi.org/10.3390/v12101088).
- 31 Kilani MM, Mohammed KA, Nasreen N, et al. RSV causes HIF–1 alpha stabilization via NO release in primary bronchial epithelial cells[J]. *Inflammation*, 2004, 28(5): 245–251. DOI: [10.1007/s10753-004-6047-y](https://doi.org/10.1007/s10753-004-6047-y).
- 32 Haeblerle HA, Dürrstein C, Rosenberger P, et al. Oxygen-independent stabilization of hypoxia inducible factor (HIF)–1 during RSV infection[J]. *PLoS One*, 2008, 3(10): e3352. DOI: [10.1371/journal.pone.0003352](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003352).
- 33 Chen LF, Cai JX, Zhang JJ, et al. Respiratory syncytial virus co-opts hypoxia-inducible factor–1alpha-mediated glycolysis to favor the production of infectious virus[J]. *mBio*, 2023, 14(5): e0211023. DOI: [10.1128/mbio.02110-23](https://doi.org/10.1128/mbio.02110-23).
- 34 Dunn EF, Fearn R, Connor JH. Akt inhibitor Akt–IV blocks virus replication through an Akt-independent mechanism[J]. *J Virol*, 2009, 83(22): 11665–11672. DOI: [10.1128/jvi.01092-09](https://doi.org/10.1128/jvi.01092-09).
- 35 Utpal BK, Mokhfi FZ, Zehravi M, et al. Resveratrol: a natural compound targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway in neurological diseases[J]. *Mol Neurobiol*, 2025, 62(5): 5579–5608. DOI: [10.1007/s12035-024-04608-4](https://doi.org/10.1007/s12035-024-04608-4).
- 36 梁玉婷, 吕婧, 刘璐, 等. 基于 UPLC–Q–Exactive Orbitrap–MS

- 联合网络药理学探究双黄连解热抗炎的作用机制[J]. 中国医院药学杂志, 2022, 42(6): 573-581, 589. [Liang YT, Lyu J, Liu L, et al. Based on UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS combined with network pharmacology to explore the antipyretic and antiinflammatory mechanism of Shuanghuanglian[J]. Chinese Journal of Hospital Pharmacy, 2022, 42(6): 573-581, 589.] DOI: [10.13286/j.1001-5213.2022.06.01](https://doi.org/10.13286/j.1001-5213.2022.06.01).
- 37 郑锋, 陆凤娟, 徐颖, 等. 双黄连颗粒联合阿奇霉素干混悬剂治疗小儿支原体肺炎的临床疗效观察 [J]. 中药材, 2015, 38(2): 416-418. [Zheng F, Lu FJ, Xu Y, et al. Clinical observation of Shuanghuanglian granule combined with azithromycin dry suspension in the treatment of Mycoplasma pneumoniae in children[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2015, 38(2): 416-418.] DOI: [10.13863/j.issn1001-4454.2015.02.052](https://doi.org/10.13863/j.issn1001-4454.2015.02.052).
- 38 李徽, 王春彤, 赵占秋, 等. 病毒性心肌炎患者血清 miR、Th 指标变化及双黄连注射液干预效果研究 [J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(17): 3909-3911. [Li H, Wang CT, Zhao ZQ, et al. Changes of serum miR and Th indexes of patients with viral myocarditis and intervention effect of Shuanghuanglian Injection[J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2016, 26(17): 3909-3911.] DOI: [10.11816/cn.mi.2016-161252](https://doi.org/10.11816/cn.mi.2016-161252).
- 收稿日期: 2026年01月15日 修回日期: 2026年03月24日
本文编辑: 李 阳 钟巧妮