

芪翘清瘟解毒颗粒减轻H1N1感染小鼠肺损伤的作用机制

姜付泉^{1,2}, 刘铜华^{1*}, 秦灵灵¹, 吴丽丽¹, 刘京锋²

(1. 北京中医药大学, 北京 100029; 2. 北京市和平里医院, 北京 100013)

[摘要] 目的: 探讨芪翘清瘟解毒颗粒(QQQW)对甲型H1N1流感病毒感染所致小鼠病毒性肺炎的保护作用及分子机制。方法: 将36只Balb/c雄性小鼠随机分为空白组、模型组、QQQW低(1.25 g·kg⁻¹)、中(2.5 g·kg⁻¹)、高(5 g·kg⁻¹)剂量组, 奥司他韦组(20 mg·kg⁻¹), 每组6只。除空白组外, 其余各组以1.5倍半数致死剂量(LD₅₀)的H1N1病毒滴鼻建立肺炎模型, 攻毒后2 h开始给药, 每日1次, 连续7 d, 末次给药后24 h检测相关指标。通过苏木素-伊红(HE)染色结合病理评分评估肺组织病理损伤, 采用液相色谱-质谱联用(LC-MS)技术鉴定入血原型成分, 结合网络药理学预测核心靶点与通路, 通过人非小细胞肺癌A549细胞实验, 采用细胞增殖与活性检测(CCK-8)法、流式细胞术凋亡检测及蛋白免疫印迹法(Western blot)辅助机制验证。结果: 与空白组比较, 模型组小鼠肺、脾指数, 肺组织病理评分及血清白细胞介素(IL)-17、IL-6、IL-1β、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)水平均显著升高(P<0.01), 肺组织磷酸化(p)-磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/PI3K、p-蛋白激酶B(Akt)/Akt、p-糖原合成激酶3β(GSK3β)/GSK3β显著降低(P<0.01); 与模型组比较, QQQW各剂量组上述脏器指数、病理评分及促炎因子水平均明显降低(P<0.05), QQQW高剂量组效果与奥司他韦组差异无统计学意义, 且QQQW高剂量组可显著上调肺组织PI3K/Akt/GSK3β信号通路磷酸化蛋白比值(P<0.01)。细胞实验中, 与H1N1感染模型组比较, 100 mg·L⁻¹QQQW可显著提升A549细胞活力、降低凋亡率, 上调通路磷酸化蛋白比值(P<0.01), 该效应可被PI3K抑制剂LY294002逆转(P<0.01)。网络药理学显示GSK3β为QQQW关键靶点, PI3K/Akt为核心通路。结论: QQQW(1.25~5 g·kg⁻¹)可通过激活PI3K/Akt/GSK3β信号通路, 剂量依赖性减轻H1N1感染引起的肺组织炎症与损伤, 其中高剂量QQQW(5 g·kg⁻¹)效果与奥司他韦(20 mg·kg⁻¹)相当。

[关键词] 芪翘清瘟解毒颗粒; H1N1流感病毒; 磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)/糖原合成激酶3β(GSK3β)信号通路; 肺损伤; 网络药理学

[中图分类号] R256;R259;R285 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2026)12-0119-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20260825

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.r.20260305.1552.006>

[网络出版日期] 2026-03-06 09:10:58 [增强出版附件] 内容详见<http://www.syfjxzz.com>或<http://cnki.net>



Mechanisms of Qiqiao Qingwen Jiedu Granules in Alleviating Lung Injury in H1N1-infected Mice

JIANG Fuquan^{1,2}, LIU Tonghua^{1*}, QIN Lingling¹, WU Lili¹, LIU Jingfeng²

(1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

2. Beijing Hepingli Hospital, Beijing 100013, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the protective effects and molecular mechanisms of Qiqiao Qingwen Jiedu granules (QQQW) against viral pneumonia induced by H1N1 influenza virus infection in mice. **Methods:** Thirty-six male Balb/c mice were randomly assigned to six groups ($n = 6$ per group), *i.e.*, blank control, model, QQQW low-dose (1.25 g·kg⁻¹), QQQW medium-dose (2.5 g·kg⁻¹), QQQW high-dose (5 g·kg⁻¹), and oseltamivir (20 mg·kg⁻¹). Except for the blank control, mice in the remaining groups were intranasally inoculated with H1N1 virus at $1.5 \times LD_{50}$ to establish a pneumonia model. Drug administration

[收稿日期] 2025-11-07

[基金项目] 北京市科学技术委员会项目(2021159纵);教育部科技部高等学校学科创新引智计划项目(B20055);北京市和平里医院院级课题(2024206)

[第一作者] 姜付泉,在读博士,主治医师,从事中医药防治肺系、内分泌及代谢疾病的临床及实验研究,E-mail:jiangfuquan915@163.com

[通信作者] *刘铜华,博士,教授,主任医师,博士生导师,从事中医药防治内分泌及代谢疾病的临床及实验研究,E-mail:thliu@vip.163.com

began 2 hours after infection, once daily for 7 consecutive days, and relevant indicators were assessed 24 hours after the final dose. Lung pathological damage was evaluated using hematoxylin-eosin (HE) staining combined with histopathological scoring. Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) was used to identify blood-absorbed prototype components, and network pharmacology was applied to predict core targets and signaling pathways. Human non-small cell lung cancer A549 cells were used for *in vitro* verification, including cell counting kit-8 (CCK-8) assay, flow cytometry for apoptosis, and Western blot. **Results:** Compared with the blank control, the model group showed significant increases in lung and spleen indices, lung pathological scores, and serum interleukin (IL)-17, IL-6, IL-1 β , and tumor necrosis factor (TNF)- α levels ($P<0.01$), along with significant decreases in phosphorylated phosphatidylinositol 3-kinase (p-PI3K)/PI3K, phosphorylated protein kinase B (p-Akt)/Akt, and phosphorylated glycogen synthase kinase 3 β (p-GSK3 β)/GSK3 β ratios in lung tissue ($P<0.01$). All QQQW dose groups significantly reduced organ indices, pathological scores, and pro-inflammatory cytokine levels ($P<0.05$), with the high-dose group showing effects comparable to oseltamivir. The high-dose QQQW group significantly upregulated phosphorylated protein ratios in the PI3K/Akt/GSK3 β pathway ($P<0.01$). In A549 cells, 100 mg·L⁻¹ QQQW significantly increased cell viability, decreased apoptosis, and upregulated phosphorylated protein ratios in this pathway compared with the H1N1 infection model group ($P<0.01$). These effects were reversed by the PI3K inhibitor LY294002 ($P<0.01$). Network pharmacology analysis identified GSK3 β as a key target and PI3K/Akt as the core pathway of QQQW. **Conclusion:** QQQW (1.25-5 g·kg⁻¹) dose-dependently alleviates H1N1-induced lung inflammation and tissue damage by activating the PI3K/Akt/GSK3 β signaling pathway. The high dose (5 g·kg⁻¹) shows comparable efficacy to oseltamivir (20 mg·kg⁻¹).

[Keywords] Qiqiao Qingwen Jiedu Granules; H1N1 influenza virus; phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt)/glycogen synthase kinase 3 β (GSK3 β) signaling pathway; lung injury; network pharmacology

甲型流感病毒(IAV)是高度传染性呼吸道感染的主要原因,对公众健康构成严重威胁^[1-2]。病毒感染机体后,不仅引发高热、咳嗽等急性呼吸道症状,更可导致严重的病毒性肺炎、急性呼吸窘迫综合征等并发症,甚至死亡^[3-4]。目前,临床针对流感病毒的治疗以西药神经氨酸酶抑制剂(如奥司他韦)为主,但其存在病毒易产生耐药性、治疗窗口期窄及潜在不良反应等问题^[5]。因此,从传统医药中寻找有效、安全的抗流感药物替代或补充方案,具有重要的现实意义^[6]。

中医药在防治瘟疫方面积累了丰富的经验,其“整体观”和“辨证论治”的理念在应对病毒性传染病方面显示出独特优势。流行性感冒属于中医“疫病”“温病”范畴,病机多为疫毒袭表,内蕴肺胃^[7-8]。本课题组前期研制的芪翘清瘟解毒颗粒(QQQW,曾作为“新型冠状病毒预防冲剂”应用),其组方理论溯源至明代吴又可《温疫论》中“本气充满,邪不易入,本气适逢亏欠,呼吸之间,外邪因而乘之”的温疫发病核心理论,据此确立“扶正固本、清热解毒”的核心治则,为课题组基于经典温疫理论结合现代病毒性呼吸道感染防治需求的原创复方。该配方曾作为预防用药,在冬奥会、残奥会期间为4 000余名志愿者和服务人员提供防护;在治疗方面,对万余例新冠病毒感染患者的临床观察表明,该药能快速缓解发热、咽痛、周身酸痛等症状。近期应用亦证实其对甲型流感同样具有显著疗效。然而,当前中医药抗流感研究多聚焦于整体药效评价或单一成分机制解析,缺乏“药效物质基础-核心

作用靶点-关键信号通路”的系统性关联研究,难以充分阐释中药复方“多成分、多靶点、多通路”的协同作用特点。基于此,本研究构建了“整体药效-物质基础-分子机制”的系统性研究框架:整合液相色谱-质谱联用(LC-MS)入血成分精准鉴定、网络药理学靶点-通路预测、分子对接相互作用验证及细胞-动物层面的功能学实验,系统揭示QQQW多成分协同靶向调控单一核心通路的作用模式。具体研究路径首先通过动物实验明确QQQW对H1N1感染小鼠肺炎的治疗效果;其次采用LC-MS技术识别药物入血原型成分及代谢产物并明确其来源;再结合网络药理学方法,构建“成分-靶点-通路”多维网络,筛选Top 10核心靶点;通过分子对接验证入血成分与核心通路蛋白的结合能力;最后在细胞与分子层面(蛋白+基因水平)验证关键信号通路磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)/糖原合成激酶3 β (GSK3 β)的调控机制。

1 材料

1.1 细胞与动物 SPF级Balb/c雄性小鼠42只,7~8周龄,体质量(20 \pm 2)g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号SCXK(京)2024-0001。所有小鼠于SPF级屏障环境中分笼饲养,室内温度(22 \pm 2) $^{\circ}$ C,相对湿度(50 \pm 5)% ,自由摄食饮水。传至第5代对数生长期的人非小细胞肺癌A549细胞(典型培养物保藏中心,编号BTCC-1012)。

1.2 伦理 本研究所有动物实验程序均经北京迈德康纳生物技术有限公司动物伦理委员会审查批准(批准号MDKN-2025-052),并严格按照北京市实

验动物管理委员会的实验动物护理和使用指南进行。

1.3 药物与试剂 QQW由本课题组自主研制,处方组成包括黄芪、连翘、白术、醋五味子、鱼腥草、天花粉、防风,委托北京康仁堂药业有限公司标准化制备为配方颗粒,生产批号分别为黄芪配方颗粒22026071、连翘配方颗粒22030551、白术配方颗粒22032091、醋五味子配方颗粒22039621、鱼腥草配方颗粒22040081、天花粉配方颗粒22041031、防风配方颗粒22023901,其质量符合《国家药品监督管理局国家药品标准》;磷酸奥司他韦胶囊(宜昌东阳光长江药业股份有限公司,国药准字H20065415,批号6032408008,规格75 mg,10粒装);H1N1流感病毒A/Puerto Rico/8/34(PR8)(北纳创联生物科技有限公司,货号10-210-500);苏木素-伊红(HE)染色试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,货号G1120);兔源PI3K、Akt、磷酸化(p)-Akt、 β -肌动蛋白(β -actin)一抗(武汉三鹰生物技术有限公司,货号分别为67071-1-Ig、10176-2-AP、66444-1-Ig、66009-1-Ig);p-PI3K一抗(北京博奥森生物技术有限公司,货号bs-6417R);GSK3 β 、p-GSK3 β 一抗(货号分别为9315、5558);辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔免疫球蛋白(Ig)G(H+L)、HRP标记山羊抗小鼠、二喹啉甲酸(BCA)蛋白浓度测定试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,货号分别为A0208、A0216、P0011);细胞增殖与活性检测(CCK-8)法检测试剂盒(北京拜尔迪生物技术有限公司,批号BN15201);膜联蛋白V-异硫氰酸荧光素(FITC)/碘化丙啶(PI)细胞凋亡检测试剂盒(南京凯基生物技术有限公司,批号KGA104);PI3K抑制剂LY294002、Akt激活剂740Y-P(美国MCE公司,货号分别为S1105、10010639)。

1.4 仪器 HistoCore BIOCUT型石蜡切片机(上海徠卡仪器有限公司);Eclipse Ci-L型正置光学显微镜(日本Nikon公司);muLISKANMK3型酶标仪(赛默飞世尔科技公司);SANYO(XD-101)型CO₂恒温培养箱(日本SANYO公司);SW-CJ-1FD型超净工作台(苏州净化设备有限公司);80-2型台式低速离心机(上海医疗器械股份有限公司);C6型流式细胞仪(美国BD公司);IX73型荧光倒置显微镜(日本奥林巴斯公司);VE-180型垂直电泳槽、VE-586型转移电泳槽、5260Muti型全自动化学发光成像分析系统(上海天能科技有限公司);ACQUITY UPLC I-Class型超高效液相色谱系统、SYNAPT G2-

S HDMS型高分辨质谱仪(美国Waters公司)。

2 方法

2.1 动物分组与造模 36只SPF级Balb/c雄性小鼠适应性饲养1周后,按随机数字表法分为6组($n=6$):空白组,模型组,QQW低($1.25 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、中($2.5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、高($5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)剂量组,奥司他韦组($20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)。药物低、中、高剂量参考临床成人抗流感中药推荐剂量[每日 $15 \text{ g}\cdot(60 \text{ kg})^{-1}$],按小鼠-人体表面积换算公式(小鼠剂量=成人剂量 \times 成人表面积/小鼠表面积)计算^[9]。除空白组外,其余各组小鼠于实验第0天,经异氟烷轻度麻醉后,参照文献[10]方法,以含1.5倍半数致死剂量(LD₅₀)的H1N1 PR8病毒液50 μL 滴鼻感染,建立流感病毒性肺炎模型,以小鼠出现精神萎靡、活动减少、毛发蓬乱、呼吸急促等典型流感样症状为初步造模成功指征,经肺组织病理切片显示肺泡结构破坏、炎性细胞浸润等特征为造模成功判定标准。空白组以等体积生理盐水滴鼻。滴鼻后立即将小鼠鼻尖朝上悬吊,待其自然苏醒,以确保病毒液充分吸入气道。为确保入血成分分析样本量充足且数据可靠,额外设置入血分析专用分组:配方颗粒组($0.1 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ QQW)、含药血清组($5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ QQW)、空白血清组(Control组), $n=3$ 。

2.2 给药 于滴鼻感染后2 h开始给药。各给药组按上述剂量予以相应药物灌胃,空白组与模型组予以等体积生理盐水灌胃。每日1次,连续给药7 d。

2.3 样本采集与处理 动物处死前1 d禁食不禁水,取材前每只小鼠进行体质量测量,每只小鼠取肺组织测湿质量,脏器系数计算为肺组织湿质量/小鼠体质量。于末次给药后24 h腹腔注射过量戊巴比妥钠麻醉处死小鼠。分离完整肺组织,取部分左肺组织于4%多聚甲醛溶液中固定,用于后续石蜡包埋及HE染色。另取部分右肺组织于-80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱冻存,用于分子检测。入血成分分析样品处理:末次给药24 h后取小鼠腹主动脉血进行血清样本处理,室温静置30 min待血液凝固,4 $^{\circ}\text{C}$ 、1 500 $\times g$ 离心15 min分离血清,取血清100 μL 用9倍体积预冷甲醇沉淀蛋白,超声萃取后离心过滤;颗粒样本取0.1 g粉末用含0.1%甲酸的80%甲醇超声提取,同法离心过滤;另混合空白与含药血清滤液各50 μL 制备3份质量控制(QC)样本,以峰面积相对标准偏差(RSD) $<15\%$ 验证仪器稳定性。

2.4 肺组织病理学观察 将4%多聚甲醛固定后的肺组织经脱水、透明、石蜡包埋后,制成4 μm 厚切

片。按HE染色试剂盒说明书进行操作,于光学显微镜下观察肺组织病理形态变化,包括肺泡结构、炎性细胞浸润、出血等情况。采用半定量评分标准,从4个维度进行评估:①肺泡结构完整性(0分为结构完整;1分为轻度紊乱;2分为中度破坏;3分为重度破坏);②炎性细胞浸润程度(0分为无浸润;1分为少量浸润;2分为中度浸润;3分为大量浸润);③出血范围(0分为无出血;1分为局部点状出血;2分为局灶性出血;3分为弥漫性出血);④水肿程度(0分为无水肿;1分为轻度水肿;2分为中度水肿;3分为重度水肿)。总分0~12分,分数越高提示肺损伤越严重。评分由2名不知情的病理科医师采用双盲法独立评分,若评分差异>1分,由第3名医师复核确定最终分数。

2.5 色谱条件 ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm);流动相A为0.1%甲酸水溶液,B为0.1%甲酸乙腈溶液;柱温35℃;流速0.4 mL·min⁻¹;进样量2 μL;梯度洗脱程序设置如下:初始阶段,流动相A占比95%、B占比5%,曲线为6;0.5 min时,流动相比例及曲线保持初始条件不变;1.0 min时,流动相A占比降至80%、B占比升至20%,曲线为6;4.0 min时,流动相A占比降至40%、B占比升至60%,曲线为6;6.0 min时,流动相A占比降至1%、B占比升至99%,曲线为6;8.0 min时,流动相比例及曲线保持6.0 min时条件不变;8.1 min时,流动相A占比回升至95%、B占比降至5%,曲线为6;10.0 min时,流动相比例及曲线保持8.1 min时条件不变,完成梯度洗脱。

2.6 质谱条件 采用电喷雾电离源;数据采集模式为MSe;质量扫描范围 m/z 50~1 200;正、负离子模式分别独立采集;毛细管电压正离子3.0 kV、负离子-2.5 kV;锥孔电压30 V;碰撞能量20~80 V;离子源温度120℃;脱溶剂气温度600℃;采用亮氨酸脑啡肽溶液进行实时质量校正。

2.7 数据处理与入血成分筛选 原始数据经Progenesis QI软件进行峰识别、保留时间校正、峰对齐及归一化处理;数据库比对采用四大中药及小分子数据库联合验证:中药数据库2.0、中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)、中药分子机制生物信息学分析工具(BATMAN-TCM)、PubChem,通过匹配精确分子量(误差≤5 ppm)、二级质谱碎片离子信息及化合物保留时间进行成分鉴定;经QC(剔除QC/Blank>3的干扰峰)后,合并正、负离子模式数据作为最终数据集。对于原型入血成分筛选:首先,

在PFKL组中筛选信号强度≥10的成分定义为药材成分;其次,在Drug组中筛选信号强度>0的成分记为集合D;随后,筛选在Control组信号为0且Drug组信号>10的成分记为集合C1,同时筛选在Control组信号非零但(Drug/Control>1)且 $P<0.05$ 的成分记为集合C2;最后,将集合C1与C2取并集得到集合C,再与集合D取交集,最终获得入血原型成分。

2.8 细胞培养与分组干预 A549细胞采用含10%胎牛血清、100 U·mL⁻¹青霉素及100 mg·L⁻¹链霉素的DMEM/F12完全培养基,于37℃、5%CO₂及饱和湿度的培养箱中常规培养。待细胞生长至80%~90%汇合时,使用0.25%胰蛋白酶进行消化传代。为建立H1N1病毒感染模型,将H1N1病毒液稀释至1×10⁻⁴ 50%组织培养感染剂量(TCID₅₀)。取对数生长期A549细胞,以4.5×10⁴个/mL密度接种于培养板中,培养24 h贴壁后,按以下分组进行干预,模型组:加入H1N1病毒稀释液感染细胞;QQQW组:加入H1N1病毒稀释液感染细胞,同时给予100 mg·L⁻¹ QQQW;LY294002组:加入H1N1病毒稀释液感染细胞,同时给予100 mg·L⁻¹ QQQW及PI3K抑制剂LY294002(25 μmol·L⁻¹);740Y-P组:加入H1N1病毒稀释液感染细胞,同时给予Akt激活剂740Y-P(20 μmol·L⁻¹)。所有组别在感染H1N1 1 h后,弃去病毒液,更换为含相应药物的维持液(含2%胎牛血清的DMEM/F12培养基),继续培养至24 h后进行检测。

2.9 CCK-8法检测细胞活力 取对数生长期的A549细胞,以4.5×10⁴个/mL密度接种于96孔板,每孔100 μL。待细胞贴壁后进行分组处理。继续培养12 h后,每孔加入CCK-8溶液10 μL,于培养箱内避光孵育3 h。使用酶标仪在450 nm波长下测定各孔吸光度 A 。细胞活力=($A_{\text{给药组}} - A_{\text{空白组}}$)/($A_{\text{模型组}} - A_{\text{空白组}}$)×100%。此外,为确定QQQW细胞安全浓度及抗H1N1作用条件,设Control组、H1N1组、不同质量浓度药物组(10、20、50、100、200 mg·L⁻¹等)及奥司他韦组(5 μmol·L⁻¹),采用上述相同CCK-8法检测细胞存活率,筛选安全浓度范围及最佳实验浓度。

2.10 细胞凋亡检测 收集各组细胞,用1×Binding Buffer 300 μL重悬细胞,加入Annexin V-FITC和PI染色液各5 μL,避光孵育15 min,随后使用流式细胞仪检测细胞凋亡率。

2.11 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测蛋白表达 提取各组细胞总蛋白,采用BCA法测定蛋白浓

度。取蛋白样品 50 μg 进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)电泳,随后将蛋白转至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜,用5%脱脂奶粉封闭2 h,加入相应一抗(稀释比例为 PI3K 1:1 000、p-PI3K 1:500、Akt 1:2 000、p-Akt 1:2 000、GSK3 β 1:1 000、p-GSK3 β 1:1 000、 β -actin 1:10 000),4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。用 TBST 洗膜后,加入相应二抗(1:1 000),37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 2 h,最后采用增强化学发光(ECL)法显影,使用 Image J 软件分析条带灰度值。

2.12 统计学分析 采用 SPSS 26.0 统计软件进行数据处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用单因素方差分析(ANOVA),若方差齐,组间两两比较采用最小显著性差异法(LSD);若方差不齐,则采用 Dunnett's T_3 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 QQQW 对 H1N1 感染小鼠的肺组织损伤的影响

3.1.1 QQQW 对 H1N1 感染小鼠的脏器指数的影响 与空白组比较,模型组小鼠肺脏指数、脾脏指数均显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,QQQW 低剂量组小鼠肺脏指数、脾脏指数无明显变化,QQQW 中剂量组肺脏指数显著降低($P < 0.01$),QQQW 高剂量组及奥司他韦组小鼠肺脏指数、脾脏指数均显著降低($P < 0.01$);QQQW 高剂量组小鼠肺脏指数、脾脏指数与奥司他韦组与模型组差异无统

计学意义。见表 1。

表 1 QQQW 对 H1N1 感染小鼠的脏器指数影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

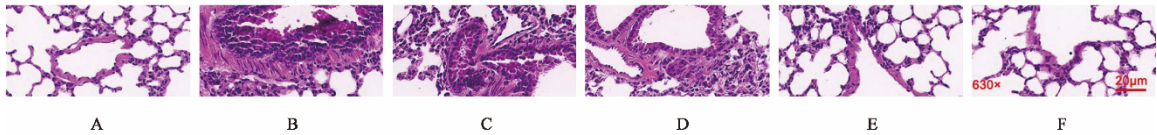
Table 1 Effect of QQQW on general status and organ indices of mice infected with H1N1 influenza virus ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	肺脏指数	脾脏指数
空白组		0.58 \pm 0.08	0.32 \pm 0.03
模型组		1.63 \pm 0.18 ¹⁾	0.59 \pm 0.09 ¹⁾
QQQW 低剂量组	1.25	1.43 \pm 0.22	0.51 \pm 0.04
QQQW 中剂量组	2.5	1.26 \pm 0.10 ³⁾	0.48 \pm 0.10
QQQW 高剂量组	5.0	1.03 \pm 0.21 ³⁾	0.40 \pm 0.06 ³⁾
奥司他韦组	0.02	0.87 \pm 0.16 ³⁾	0.37 \pm 0.05 ³⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$ (表 2-表 6 同)

3.1.2 QQQW 对 H1N1 感染小鼠的肺组织病理损伤的影响

空白组小鼠肺组织结构完整、清晰,肺泡间隔无增厚,未见明显炎性细胞浸润;与空白组比较,模型组小鼠肺组织出现肺泡结构严重破坏、肺泡间隔显著增厚、大量炎性细胞浸润及出血现象,肺组织病理评分显著升高,差异具有统计学意义($P < 0.01$);与模型组比较,QQQW 低剂量组小鼠肺组织病理损伤有所减轻,病理评分明显降低,差异具有统计学意义($P < 0.05$);与模型组比较,QQQW 中、高剂量组及奥司他韦组小鼠肺组织病理损伤显著减轻,病理评分均显著降低($P < 0.01$)。见图 1、表 2。



注:A.空白组;B.模型组;C.QQQW 低剂量组;D.QQQW 中剂量组;E.QQQW 高剂量组;F.奥司他韦组(图 2 同)

图 1 QQQW 对 H1N1 感染小鼠的肺组织病理影响 (HE, $\times 400$)

Fig. 1 Pathological changes of lung tissue in H1N1-infected mice (HE, $\times 400$)

表 2 QQQW 对 H1N1 感染小鼠的肺组织病理评分的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 2 Effect of QQQW on pathological scores of lung tissue in H1N1-infected mice ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	组织病理学评分/分
空白组		0.38 \pm 0.63
模型组		9.91 \pm 0.48 ¹⁾
QQQW 低剂量组	1.25	8.34 \pm 1.59 ²⁾
QQQW 中剂量组	2.5	5.67 \pm 0.51 ³⁾
QQQW 高剂量组	5.0	2.12 \pm 0.52 ³⁾
奥司他韦组	0.02	1.96 \pm 0.74 ³⁾

3.1.3 QQQW 对 H1N1 感染小鼠中炎症因子水平的影响 与空白组比较,模型组小鼠血清促炎因子

IL-17、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平及抗炎因子 IL-4、IL-10 水平均显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,QQQW 低剂量组小鼠血清 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平明显降低($P < 0.05$);QQQW 中、高剂量组及奥司他韦组小鼠血清促炎因子 IL-17、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平均显著降低($P < 0.01$),抗炎因子 IL-4、IL-10 水平均显著升高($P < 0.01$)。见表 3。

3.2 基于网络药理学与入血成分分析 QQQW 的潜在作用机制

3.2.1 正负离子模式下的成分图谱 为深入探讨 QQQW 发挥药效的物质基础及潜在作用机制,本研究首先采用 LC-MS 技术对给药后小鼠血清中的药

表3 QQQW对H1N1感染小鼠中炎症因子水平的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	IL-17	IL-6	IL-1 β	TNF- α	IL-4	IL-10
空白组		13.23±2.32	43.92±56.12	7.61±16.12	5.20±7.12	8.80±20.12	19.78±6.12
模型组		39.50±7.14 ¹⁾	239.54±28.12 ¹⁾	171.56±9.87 ¹⁾	59.55±7.89 ¹⁾	116.72±12.34 ¹⁾	74.47±15.67 ¹⁾
QQQW低剂量组	1.25	35.73±5.06	205.24±29.12 ²⁾	150.43±14.12 ²⁾	46.29±5.12 ²⁾	125.20±20.12	87.16±16.78
QQQW中剂量组	2.5	27.26±6.95 ³⁾	189.28±27.45 ³⁾	138.53±14.56 ³⁾	41.34±10.23 ³⁾	132.22±20.45 ³⁾	102.96±8.45 ³⁾
QQQW高剂量组	5.0	20.42±5.97 ³⁾	169.11±44.12 ³⁾	98.86±28.45 ³⁾	38.31±7.45 ³⁾	150.68±24.56 ³⁾	123.83±13.56 ³⁾
奥司他韦组	0.02	14.11±5.78 ³⁾	156.34±21.78 ³⁾	84.58±9.87 ³⁾	30.83±4.12 ³⁾	165.43±17.89 ³⁾	141.67±18.23 ³⁾

物成分进行分析。在正、负离子模式下(QQQW入血成分质谱峰见增强出版附加材料)鉴定到多个源自QQQW复方的原型成分及其代谢产物(QQQW入血成分基本信息见增强出版附加材料),包括筋骨草素C、大蒜烯、黄柏素等,这些入血成分被视为潜在的药效物质基础。

3.2.2 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络的构建 基于以上入血成分,通过TCMSP、GeneCard等数据库筛选出其潜在的作用靶点,并与H1N1流感相关疾病靶点取交集,获得QQQW治疗流感的核心潜在靶点信号转导和转录激活因子3(STAT3)、GSK3 β 、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)、原癌基因Jun(JUN)、热休克蛋白90 α 1(HSP90AA1)、PI3K调节亚基(PI3KR)、神经营养因子受体酪氨酸激酶1(NTRK1)等。QQQW-活性成分-H1N1流感相关疾病基因网络图构建及治疗H1N1流感的核心靶点见增强出版附加材料。

3.2.3 关键靶点基因本体(GO)、京都基因与基因组百科全书(KEGG)生物功能注释 对核心靶点进行GO功能富集分析和KEGG通路富集分析。GO分析结果显示,这些靶点显著富集于炎症反应、细胞

凋亡过程的正向调控、病毒反应等生物过程。KEGG通路分析结果提示,PI3K/Akt信号通路、流感病毒感染通路等可能是QQQW的关键作用通路。QQQW对IAV感染小鼠差异蛋白的功能富集见增强出版附加材料。

3.3 QQQW对H1N1感染小鼠中PI3K/Akt/GSK3 β 信号通路的影响 研究表明GSK3 β 的异常激活与流感肺损伤正相关,H1N1感染会通过下调p-Akt降低其磷酸化水平引发炎症与凋亡。为验证网络药理学预测结果,采用Western blot检测了肺组织PI3K/Akt/GSK3 β 信号通路关键蛋白的磷酸化水平。与空白组比较,模型组p-PI3K、p-Akt及p-GSK3 β 蛋白表达均显著下调,差异具有统计学意义($P<0.01$),而PI3K、Akt及GSK3 β 蛋白表达无明显变化。经药物干预后,与模型组比较,QQQW中、高剂量组及奥司他韦组p-PI3K、p-Akt及p-GSK3 β 蛋白表达均显著上升,差异具有统计学意义($P<0.01$),且高剂量QQQW的效果与奥司他韦组相近。该结果证实,调控PI3K/Akt/GSK3 β 信号通路是QQQW缓解H1N1感染所致肺损伤的重要分子机制之一。见表4、图2。

表4 QQQW对H1N1感染小鼠肺组织PI3K/Akt/GSK3 β 通路相关蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	p-PI3K/PI3K	p-Akt/Akt	p-GSK3 β /GSK3 β
空白组		0.91±0.07	0.90±0.07	0.89±0.07
模型组		0.29±0.05 ¹⁾	0.27±0.06 ¹⁾	0.31±0.06 ¹⁾
QQQW低剂量组	1.25	0.38±0.07	0.36±0.10	0.44±0.06 ²⁾
QQQW中剂量组	2.5	0.56±0.05 ³⁾	0.54±0.08 ³⁾	0.57±0.06 ³⁾
QQQW高剂量组	5.0	0.68±0.09 ³⁾	0.71±0.07 ³⁾	0.72±0.05 ³⁾
奥司他韦组	0.02	0.78±0.06 ³⁾	0.74±0.08 ³⁾	0.74±0.04 ³⁾

3.4 QQQW体外抗H1N1病毒作用的探究

3.4.1 细胞安全浓度确定及抗H1N1作用条件筛选 CCK-8法检测显示,QQQW作用A549细胞12h时各浓度均无增殖抑制作用;作用24h时,1~

100 mg·L⁻¹QQQW细胞存活率 $\geq 95\%$,200 mg·L⁻¹后存活率略降。故确定1~100 mg·L⁻¹为安全浓度范围。见表5。

3.4.2 抗H1N1作用条件筛选 与空白组比较,模

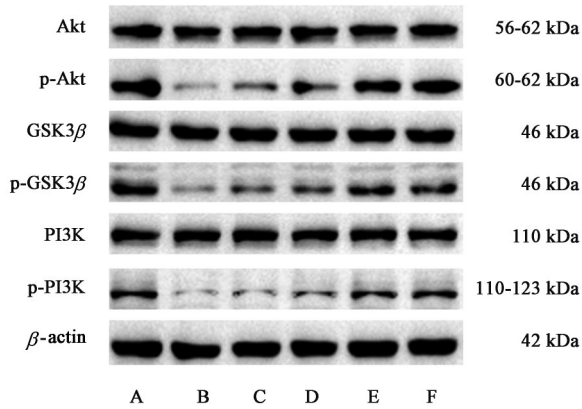


图2 各组小鼠肺组织相关蛋白表达电泳

Fig. 2 Electrophoretogram of expression of related proteins in lung tissue of mice in each group

表5 QQQW对A549细胞的增殖抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 5 Cytotoxicity of QQQW on A549 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	12 h	24 h
空白组		0.89±0.03	1.38±0.05
QQQW组	1	0.87±0.01	1.32±0.03
	10	0.86±0.02	1.19±0.05
	20	0.85±0.03	1.23±0.06
	50	0.85±0.03	1.28±0.06
	100	0.85±0.02	1.41±0.05
	200	0.82±0.05	1.35±0.03 ²⁾
	500	0.82±0.01	1.51±0.01 ³⁾

型组A549细胞活力显著降低($P<0.01$);与模型组比较,QQQW低、中、高剂量组及奥司他韦组细胞活力均明显升高($P<0.05, P<0.01$);QQQW高剂量组细胞活力与奥司他韦组与模型组相比差异无统计学意义,选定 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 为QQQW抗H1N1的最佳实验浓度。见表6。

表6 抗H1N1作用条件筛选 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 6 Screening of conditions for anti-H1N1 activity ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	浓度	细胞活力/%
空白组		99.80±2.00
模型组		69.15±3.07 ¹⁾
QQQW低剂量组	$10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	73.04±1.65 ²⁾
QQQW中剂量组	$20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	82.81±3.95 ³⁾
QQQW高剂量组	$50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	92.81±2.98 ³⁾
奥司他韦组	$5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	92.84±2.46 ³⁾

3.4.3 通路调控剂对H1N1感染A549细胞活力的影响 与模型组比较,QQQW组A549细胞活力显著升高($P<0.01$);与模型组比较,740Y-P组细胞活力显著升高($P<0.01$);与QQQW组比较,LY294002

组细胞活力显著降低($P<0.01$),740Y-P组细胞活力差异无统计学意义。见表7。

表7 通路调控剂对H1N1感染A549细胞活力的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 7 Effect of pathway regulators on viability of H1N1-infected A549 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	细胞活力/%
模型组	99.96±1.86
QQQW组	125.50±3.79 ¹⁾
LY294002组	113.36±2.79 ²⁾
740Y-P组	123.38±4.32 ¹⁾

注:QQQW组浓度 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,LY294002组浓度 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + 25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$;740Y-P组浓度 $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$;与模型组比较¹⁾ $P<0.01$;与QQQW组比较²⁾ $P<0.01$ (表8、表9同)

3.4.4 通路调控剂对H1N1感染A549细胞凋亡的影响 与H1N1组比较,QQQW组、740Y-P组A549细胞凋亡率显著降低($P<0.01$);与QQQW组比较,LY294002组细胞凋亡率显著升高($P<0.01$),740Y-P组细胞凋亡率差异无统计学意义。见表8。

表8 通路调控剂对H1N1感染A549细胞凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 8 Effect of pathway regulators on apoptosis of H1N1-infected A549 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	细胞凋亡率/%
H1N1组	26.24±1.63
QQQW组	9.02±1.33 ¹⁾
LY294002组	16.42±1.12 ²⁾
740Y-P组	10.24±1.74 ¹⁾

3.4.5 QQQW对通路蛋白表达的调控 与H1N1组比较,QQQW组、740Y-P组A549细胞p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-GSK3β/GSK3β均显著升高($P<0.01$);与QQQW组比较,LY294002组细胞p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-GSK3β/GSK3β均显著降低($P<0.01$),740Y-P组细胞各磷酸化蛋白比值差异无统计学意义。见表9、图3。

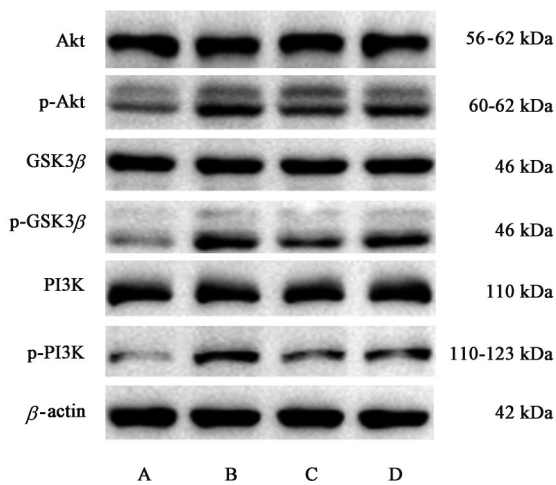
表9 QQQW对H1N1感染A549细胞PI3K/Akt/GSK3β通路相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 9 Effect of QQQW on expression of PI3K/Akt/GSK3β pathway-related proteins in A549 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	p-PI3K/PI3K	p-Akt/Akt	p-GSK3β/GSK3β
H1N1组	0.61±0.04	0.36±0.04	0.44±0.04
QQQW组	1.09±0.06 ¹⁾	0.91±0.05 ¹⁾	0.91±0.04 ¹⁾
LY294002组	0.83±0.04 ²⁾	0.57±0.05 ²⁾	0.65±0.05 ²⁾
740Y-P组	1.02±0.05 ¹⁾	0.85±0.03 ¹⁾	0.80±0.04 ¹⁾

4 讨论

IAV感染是严重威胁全球公共卫生的呼吸道传



注: A.H1N1组; B.QQQW组; C.LY294002组; D.740Y-P组

图3 各组细胞相关蛋白表达电泳

Fig. 3 Electrophoretogram of expression of related proteins in cells in each group

染病,其致病过程不仅涉及病毒直接损伤,更与宿主过度免疫炎症反应密切相关^[11-12]。当前主流抗病毒药物如奥司他韦虽能抑制病毒复制,但存在耐药性及免疫调节局限等问题^[13-14]。中医药在防治疫病方面历史悠久,其扶正祛邪与整体调节的理念为应对病毒性疾病提供了独特思路。近年来,多项研究致力于揭示中药复方抗流感的机制。明雨等^[15]的研究表明,解表清里方可通过调控 Toll 样受体(TLR)7/丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)/核转录因子- κ B(NF- κ B)信号通路减轻甲流肺炎;GUO等^[16]发现大黄在宣白承气汤中能通过修复肠-肺屏障功能来预防重症肺炎。本研究聚焦于前期在临床实践中显示出良好防护效果的QQQW,系统评价其对H1N1感染小鼠肺炎模型的治疗作用,并从“药效-物质-机制”多个层面探讨其作用机制。

LC-MS技术与网络药理学方法的结合已成为阐释中药复方作用机制的重要研究策略。LC-MS能够全面表征中药复杂体系中的入血成分,识别其潜在的药效物质基础^[17-18];网络药理学则通过构建成分-靶点-通路多维网络,揭示中药多成分、多靶点、多通路协同作用的特点^[19]。在 IAV 研究领域,该方法已成功应用于多个中药复方的作用机制解析,如蓝芩口服液可通过调节 TLR4/PI3K/Akt/NF- κ B 信号通路发挥抗流感病毒性肺炎作用^[20],ZHANG 等^[21]报道短柔毛麝香可通过调节 TLR/髓样分化因子 88(MyD88)/NF- κ B 信号级联介导 IAV 引起的肺损伤。本研究不仅通过 LC-MS 技术明确了 QQQW 的入血成分,还通过网络药理学预测其核

心作用靶点主要富集于炎症反应、细胞凋亡等生物过程,KEGG 通路分析进一步提示 PI3K/Akt 信号通路可能是其关键作用通路之一,这为理解该复方的抗 IAV 机制提供了新的视角。

GSK3 β 是本研究通过入血成分分析确定的 QQQW 核心靶点之一,研究表明 GSK3 β 的异常激活与流感肺损伤正相关,抑制后可减轻炎症和凋亡,此外 H1N1 感染会通过下调 p-Akt 降低其磷酸化水平引发炎症与凋亡^[22]。PI3K/Akt 信号通路作为细胞内重要的信号转导网络,在流感病毒感染过程中发挥着复杂的调控作用。从促生存保护作用来看,生理状态下 PI3K/Akt 通路的适度激活是维持细胞稳态、抵御外界损伤的关键机制。在 IAV 感染早期,宿主细胞可通过激活该通路启动抗凋亡程序:一方面,p-Akt 可直接磷酸化凋亡相关蛋白,抑制线粒体凋亡通路的激活^[23];另一方面,p-Akt 可通过调控 GSK3 β 减少促炎因子的过度释放,避免炎症风暴对肺组织的二次损伤^[24]。已有研究证实,在 IAV 感染的小鼠模型中,通过 Akt 激活剂干预可显著降低肺组织细胞凋亡率,减轻肺泡结构破坏^[1],这与本研究中“H1N1+740Y-P 组细胞活力显著回升、凋亡率降低”的结果高度一致,进一步验证了 PI3K/Akt 信号通路在流感感染中的保护性作用。

然而,该通路同时存在被病毒劫持利用的风险。IAV 为实现自身复制与免疫逃逸,可通过其编码的非结构蛋白主动调控 PI3K/Akt 通路。研究表明,IAV 的 NS1 蛋白可与 PI3K 的调控亚基 p85 直接结合,诱导通路的异常激活——这种激活并非为了保护宿主细胞,而是通过促进病毒 RNA 的核输出、抑制 I 型干扰素的产生,为病毒复制创造有利微环境^[25-26]。此外,PI3K/Akt 通路的过度激活还可能通过上调葡萄糖转运体的表达,增加细胞内葡萄糖代谢速率,为病毒复制提供充足的能量底物^[27],这也是病毒劫持宿主通路的重要机制之一。本研究结果显示,H1N1 感染模型组小鼠肺组织中 p-PI3K、p-Akt、p-GSK3 β 的表达水平显著降低,这一现象看似与“病毒激活通路”的结论矛盾,实则反映了 IAV 感染不同阶段通路的动态调控特征:在感染早期(1~2 d),病毒可能通过 NS1 短暂激活 PI3K/Akt 通路以利于复制;但随着感染进展(7 d,本研究采样时间点),持续的病毒损伤与过度炎症反应会导致通路功能耗竭。一方面,大量炎性因子会抑制 PI3K 的催化活性^[28];另一方面,病毒对宿主细胞的破坏会导致通路关键蛋白的合成减少,最终表现为通路磷

酸化水平下降,失去对细胞的保护作用。而QQQW干预后,可显著上调p-PI3K、p-Akt、p-GSK3 β 的表达水平,且这种调控具有“适度性”特征:与模型组比较,药物组通路激活水平仅恢复至接近空白组,同时伴随血清IL-6、TNF- α 水平降低、肺组织炎性浸润减轻。这提示QQQW并非简单“激活”或“抑制”通路,而是通过其多成分协同作用,逆转病毒感染后期的通路功能耗竭,同时避免通路被病毒劫持利用,既通过激活通路发挥抗凋亡、抗炎的保护作用,又通过调控通路激活强度,防止为病毒复制提供有利条件。

进一步结合细胞实验结果分析,当加入PI3K抑制剂LY294002后,QQQW的促细胞活力、抗凋亡效应被显著削弱,这直接证明药物对H1N1感染细胞的保护作用依赖于PI3K/Akt通路的激活;而与病毒劫持通路导致复制增强的机制不同,本研究中药物激活通路后未观察到病毒载量的升高,反而通过下调促炎因子、抑制细胞凋亡改善了感染结局,这进一步说明药物对通路的调控具有靶向保护性,可区别于病毒对通路的劫持性激活。

综上所述,本研究证实QQQW能有效缓解H1N1感染所致肺炎症状,其作用机制可能与激活PI3K/Akt/GSK3 β 信号通路、抑制肺部过度炎症反应有关。本研究不仅从实验角度验证了该制剂的药效,也为其临床-基础-再临床的研究路径提供了机制层面的支持,为进一步拓展其应用于病毒性呼吸道传染病的防治提供了科学依据。本研究仍存在一定的局限性。尽管通过网络药理学和蛋白印迹初步确定了PI3K/Akt/GSK3 β 通路的关键角色,但对于复方中具体是哪几种核心成分驱动了这一调控过程,尚不明确。基于此,后续的研究将重点围绕分子水平开展实验,为深入阐明QQQW的分子机制提供坚实证据,并推动其临床应用与发展。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] ZHANG X, ZHANG Y, WEI F. Research progress on the nonstructural protein 1 (NS1) of influenza A virus [J]. *Virulence*, 2024, 15(1): 2359470.

[2] 沈潇, 黄璐丹, 李良宵, 等. 甲型流感病毒并发肺炎危险因素及预测指标研究[J]. *病毒学报*, 2025, 41(6): 1890-1897.

SHEN X, HUANG L D, LI L X, et al. Risk factors and predictive indicators of pneumonia complicated by influenza A virus infection[J]. *Chin J Virol*, 2025, 41(6): 1890-1897.

[3] UYEKI T M, HUI D S, ZAMBON M, et al. Influenza [J]. *Lancet*, 2022, 400(10353): 693-706.

[4] 税丹, 杜永丽, 罗好菲, 等. 甲型流感病毒诱发的肺损伤致病机制及预防措施研究进展[J]. *病毒学报*, 2025, 41(5): 1573-1580.

SHUI D, DU Y L, LUO Y F, et al. Research progress on the pathogenic mechanism and preventive measures of lung injury induced by influenza A virus[J]. *Chin J Virol*, 2025, 41(5): 1573-1580.

[5] LIU J W, LIN S H, WANG L C, et al. Comparison of antiviral agents for seasonal influenza outcomes in healthy adults and children: A systematic review and network Meta-analysis[J]. *JAMA Netw Open*, 2021, 4(8): e2119151.

[6] 游泓, 宋远瑛. 中药药对在流行性感治疗中的应用[J]. *医药导报*, 2022, 41(5): 675-679.

YOU H, SONG Y Y. Application of traditional Chinese medicine pairs in the treatment of influenza[J]. *Herald Med*, 2022, 41(5): 675-679.

[7] 张欣悦. 基于药效模型探究防治呼吸道病毒性感染的组方规律及核心药味[D]. 扬州: 扬州大学, 2025.

ZHANG X Y. Exploring the formulation rules and core medicinal flavors for preventing and treating respiratory viral infections based on pharmacodynamic models[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2025.

[8] 吴范武, 周芳菲, 闫昕, 等. 中医温病学经典理论的现代阐释[J]. *华北理工大学学报: 医学版*, 2023, 25(3): 226-229.

WU F W, ZHOU F F, YAN X, et al. Modern interpretation of classic theories of traditional Chinese medicine febrile disease [J]. *J North China Univ Sci Technol: Med Ed*, 2023, 25(3): 226-229.

[9] REAGAN-SHAW S, NIHAL M, AHMAD N. Dose translation from animal to human studies revisited[J]. *FASEB J*, 2008, 22(3): 659-661.

[10] CHOI D, JANG S J, CHOI S, et al. Oral administration of *Limosilactobacillus reuteri* KBL346 ameliorates influenza virus A/PR8 infection in mouse [J]. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 2025, 17(5): 3546-3558.

[11] RASHID F, XIE Z, LI M, et al. Roles and functions of IAV proteins in host immune evasion [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1323560.

[12] CHAUHAN R P, GORDON M L. An overview of influenza A virus genes, protein functions, and replication cycle highlighting important updates [J]. *Virus Genes*, 2022, 58(4): 255-269.

[13] YANG Z, ZHAN Y, LI Z, et al. Efficacy and safety of onradivir in adults with acute uncomplicated influenza A infection in China: A multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled and oseltamivir-controlled, phase 3 trial [J]. *Lancet Respir Med*, 2025, 13(7): 597-610.

[14] 莫琴仙. 金叶败毒颗粒抗甲型流感病毒及调控病毒相关炎症反应作用的研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2025.

MO Q X. Study on the anti-influenza A virus effect of Jinyebaidu granules and its regulation of virus-related inflammatory response [D]. Guangzhou: Southern Medical

- University, 2025.
- [15] 明雨, 马一川, 姚睿祺, 等. 解表清里方通过调控 TLR7/ MAPK/NF- κ B 通路对甲流病毒感染所致肺炎的防治作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(11): 173-181.
- MING Y, MA Y C, YAO R Q, et al. Preventive and therapeutic effects of Jiebiao Qingli decoction on pneumonia induced by influenza A virus infection via regulating TLR7/ MAPK/NF- κ B pathway [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2025, 31(11): 173-181.
- [16] GUO L, BAO W, YANG S, et al. Rhei Radix et Rhizoma in Xuanbai-Chengqi decoction strengthens the intestinal barrier function and promotes lung barrier repair in preventing severe viral pneumonia induced by influenza A virus [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 319(Pt 2): 117231.
- [17] GONG S, HUANG R, WANG M, et al. Comprehensive analysis of the metabolomics and transcriptomics uncovers the dysregulated network and potential biomarkers of triple negative breast cancer [J]. J Transl Med, 2024, 22(1): 1016.
- [18] 吴文杰, 周伟娥, 张元, 等. LC-MS/MS 技术在中药化学成分分析中的应用 [J]. 时珍国医国药, 2016, 27(11): 2735-2737.
- WU W J, ZHOU W E, ZHANG Y, et al. Application of LC-MS/MS technology in the analysis of chemical components of traditional Chinese medicine [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2016, 27(11): 2735-2737.
- [19] ZHANG P, ZHANG D, ZHOU W, et al. Network pharmacology: Towards the artificial intelligence-based precision traditional Chinese medicine [J]. Brief Bioinform, 2023, 25(1): bbad518.
- [20] 陈子豪. 蓝芩口服液化学成分分析及抗流感病毒性肺炎药效的初步研究 [D]. 桂林: 广西师范大学, 2025.
- CHEN Z H. Analysis of chemical components of Lanqin oral liquid and preliminary study on its efficacy against influenza A viral pneumonia [D]. Guilin: Guangxi Normal University, 2025.
- [21] ZHANG J, WU B, YANG N, et al. The mechanism of action in *Mussaenda pubescens* (Yuye Jinhua) against influenza A virus: Evidence from *in vitro* and *in vivo* studies [J]. Phytomedicine, 2025, 145: 157070.
- [22] EHRHARDT C, WOLFF T, PLESCHKA S, et al. Influenza A virus NS1 protein activates the PI3K/Akt pathway to mediate antiapoptotic signaling responses [J]. J Virol, 2007, 81(7): 3058-3067.
- [23] ANANDAN A, AK M U, SAIKA S, et al. Shikonin ameliorates rotenone-induced neurotoxicity through inhibition of apoptosis via IGF-1R/PI3K/Akt pathway in a Parkinson's disease-associated SH-SY5Y cell model [J]. Mol Neurobiol, 2025, 62(7): 8912-8930.
- [24] 郭雨菲, 王成祥, 孙慧媛, 等. 荆银双解散基于 PI3K/Akt 信号通路治疗甲型流感病毒感染小鼠的作用机制研究 [J]. 北京中医药, 2025, 44(1): 68-75.
- GUO Y F, WANG C X, SUN H Y, et al. Mechanism of Jingyin Shuangjie powder in treating influenza A virus-infected mice based on PI3K/Akt signaling pathway [J]. Beijing J Tradit Chin Med, 2025, 44(1): 68-75.
- [25] HUANG H M, YANG H H, QIN Y C, et al. IAV NS1 carried by exosomes promotes IL-10 production by the PI3K-Akt-GSK3 β -CREB pathway [J]. Microb Pathog, 2025, 206: 107777.
- [26] NEPAL S, HOLMSTROM E D. Single-molecule-binding studies of antivirals targeting the hepatitis C virus core protein [J]. J Virol, 2023, 97(10): e0089223.
- [27] LI D, YANG J, SHEN Y, et al. Enterovirus A71-induced glycolysis is essential for viral replication by activating PI3K/Akt pathway [J]. Microb Pathog, 2025, 203: 107505.
- [28] ZHAO Z, LI J, FENG Y, et al. Host DNA demethylation induced by DNMT1 inhibition up-regulates antiviral OASL protein during influenza A virus infection [J]. Viruses, 2023, 15(8): 1646.

[责任编辑 张丰丰]