裴科, 林喆, 刘萌萌, 等. 基于网络药理学探讨哈蟆油改善慢性疲劳综合征的作用机制 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(6): 346−358. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025020168

PEI Ke, LIN Zhe, LIU Mengmeng, et al. Mechanism of Action of *Oviductus ranae* in Alleviating Chronic Fatigue Syndrome Based on Network Pharmacology[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(6): 346−358. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025020168

· 营养与保健 ·

基于网络药理学探讨哈蟆油改善慢性疲劳综合征的作用机制

裴　科, 林　喆, 刘萌萌, 苗钰康, 郭文韬, 王雨辰, 林　贺, 律广富*

（长春中医药大学, 吉林长春 130117）

摘　要: 目的：研究哈蟆油改善慢性疲劳综合征（chronic fatigue syndrome，CFS）的作用机制。方法：本研究采用 TCMSP、BATMAN、GeneCards 等数据库以“哈蟆油”和“CFS”为关键词筛选相关活性成分及作用靶点，利用分子对接评估其活性成分与靶点的结合能力。同时，采用力竭游泳和慢性束缚交替应激实验制备 CFS 小鼠模型，给予不同剂量哈蟆油混悬液（800、400、200 mg/kg）灌胃两周后，检测小鼠血清、肌肉、肝脏和脑组织中的生化指标及炎症因子表达，考察哈蟆油对 CFS 的改善作用。结果：实验共筛选出 5 个符合条件的活性成分和 8 个改善 CFS 的核心靶点，其中，哈蟆油改善 CFS 的作用与 IL-17/TRAF-6 信号通路相关。进一步分子对接结果表明，哈蟆油中的菜油甾醇（Campesterol）可能是发挥抗疲劳作用的主要成分。体内动物实验结果表明，哈蟆油对 CFS 模型小鼠具有显著的治疗效果，能够有效改善其行为学指标和生理生化异常。在行为学方面，与模型组相比，给药组小鼠的体重和饮食量显著增加，糖水偏好率明显提高（P<0.01 或 P<0.05）。通过多项行为学测试发现：在强迫游泳实验（FST）和悬尾实验（TST）中，给药组小鼠的不动时间显著缩短（P<0.01）；在旷场实验（OFT）中，运动速度、运动总距离和站立次数均显著增加（P<0.01 或 P<0.05）；在水迷宫实验（MWM）中，逃避潜伏期明显缩短，同时运动距离和目标象限停留时间显著延长（P<0.01 或 P<0.05）。生化指标检测结果显示，给药组小鼠的尿素氮（BUN）、IL-6、TNF-α、COX-2 和 MDA 水平显著降低，而 SOD 和 GSH-Px 活性明显升高（P<0.01 或 P<0.05）。此外，肌肉组织中乳酸含量也显著降低（P<0.01 或 P<0.05）。Western blot 结果显示，给药组小鼠体内 IL-17A、TRAF-6、ACT-1、TAK-1、IKKβ、IκBα、NF-κB、C/EBPβ 关键信号蛋白的表达水平均显著下调（P<0.01 或 P<0.05），同时下游炎症因子 IL-6、TNF-α 和 COX-2 的表达也明显降低（P<0.01 或 P<0.05）。这些结果表明，哈蟆油可能通过抑制 IL-17/TRAF-6/NF-κB 信号通路的活化，减轻氧化应激和炎症反应，从而改善 CFS 症状。结论：哈蟆油通过调控 IL-17/TRAF-6 信号通路改善 CFS，为 CFS 的临床治疗提供了新的思路。

关键词: 哈蟆油, 慢性疲劳综合征, 网络药理学, IL17/TRAF6 信号通路, 体内实验

中图分类号: TS201.4　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)06−0346−13

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025020168　　本文网刊:

Mechanism of Action of *Oviductus ranae* in Alleviating Chronic Fatigue Syndrome Based on Network Pharmacology

PEI Ke, LIN Zhe, LIU Mengmeng, MIAO Yukang, GUO Wentao, WANG Yuchen, LIN He, LÜ Guangfu*

（Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China）

Abstract: Objective: This study aimed to investigate the therapeutic mechanism of *Oviductus ranae* (OR) in chronic fatigue syndrome (CFS). Methods: Active ingredients and potential targets of OR were screened using TCMSP, BATMAN, and GeneCards databases with the keywords "OR" and "CFS". Molecular docking was performed to assess binding affinities between bioactive compounds and their targets. A mouse model of CFS was constructed using an exhausting swim and

收稿日期: 2025−02−24

基金项目: 吉林省科学技术发展计划项目（YDZJ202501ZYTS770）。

作者简介: 裴科（1996−）, 男, 博士研究生, 研究方向: 中药药理学, E-mail: 1306713701@qq.com。

*** 通信作者:** 律广富（1984−）, 男, 博士, 副教授, 研究方向: 中药学, E-mail: lvgf@ccucm.edu.cn。

chronic restraint stress. Mice were treated with OR suspension (800, 400, or 200 mg/kg) via oral gavage for 14 days. Biochemical parameters and inflammatory markers were analyzed in serum, muscle, liver and brain tissue. Results: Five bioactive compounds and eight core targets associated with CFS improvement were identified. OR exerts its therapeutic effect primarily through modulation of the IL-17/TRAF6 signaling pathway. Molecular docking results indicated that campesterol, a component of OR, exhibits the strongest binding affinity, suggesting its role as a key active ingredient. Results from *in vivo* animal experiments demonstrated that OR had a significant therapeutic effect on CFS model mice, effectively improving their behavioural indicators and resolving their physiological and biochemical abnormalities. In terms of behavioural aspects, the mice in the administered group showed significant increases in body weight and diet, as well as a significant increase in sugar-water preference (P<0.01 or P<0.05), compared with the model group. Several behavioural tests revealed that, in the forced swimming test (FST) and the tail suspension test (TST), the administered group's immobility time was significantly shorter (P<0.01). In the open-field test (OFT), locomotion speed, total locomotion distance and the number of times standing up were all significantly increased (P<0.01 or P<0.05). In the Morris Water Maze (MWM), avoidance latency was significantly shorter. Concurrently, the movement distance and residence time in the target quadrant were significantly prolonged (P<0.01 or P<0.05). The assay results of the biochemical indicator showed that BUN levels, IL-6 levels, TNF-α levels, COX-2 levels and MDA levels were significantly reduced, while SOD activity and GSH-Px activity were significantly increased in the administered group of mice (P<0.01 or P<0.05). Additionally, lactic acid content in muscle tissue decreased significantly (P<0.01 or P<0.05). Studies of the molecular mechanism suggested that OR may exert therapeutic effects by modulating the IL-17/TRAF6 signalling pathway. Conclusion: OR ameliorates CFS by modulating the IL-17/TRAF6 signaling pathway, thereby providing a novel perspective for the clinical management of CFS.

Key words: oviductus ranae; chronic fatigue syndrome; network pharmacology; IL17/TRAF6 signaling pathway; *in vivo* experiments

慢性疲劳综合征（chronic fatigue syndrome, CFS）是一种以持续或反复发作的严重疲劳为主要特征的疾病，病程通常超过半年。其典型症状包括失眠、全身性疼痛、记忆力减退、协调能力下降、行动迟缓及反应迟钝等多系统功能异常[1−2]，并且流行病学调查表明，日本和英国的 CFS 患病率超过 2%，CFS 不仅导致机体功能障碍，还可能引起免疫系统和神经内分泌系统紊乱[3−4]。随着现代生活节奏的加快，CFS 的发病率逐年上升，对患者的身心健康造成显著损害，严重降低其生活质量。世界卫生组织已将疲劳列为 21 世纪危害人类健康的主要因素之一[5]，因此，CFS 的机制研究及干预策略已成为医学界关注的重点，改善疲劳症状是当前亟待解决的重要问题。

目前医学上对 CFS 的解释还不完全清楚[6]。CFS 会导致代谢紊乱、肠道菌群失调及营养失衡等营养学相关机制，随着现代生活方式改变，饮食结构不合理、精神压力增加等因素加剧了 CFS 的流行，营养干预作为非药物手段的重要性日益凸显，代谢紊乱与营养干预相关，能量代谢异常会导致细胞线粒体功能受损、三羧酸循环效率降低及糖脂代谢失衡，使细胞能量供应不足；CFS 会导致关键营养素缺乏，例如 ω-3 多不饱和脂肪酸，而维生素及多酚类物质可中和自由基，减轻氧化应激损伤，含有维生素、镁等成分的食品，通过协同作用提升代谢效率，缓解疲劳[7−8]；西医对 CFS 的治疗手段主要包括药物治疗等，临床常用药物大多都与神经系统相关，多具有药物依赖性和毒副作用，治疗效果不佳，所以大家渐渐把目光放到了中医药治疗 CFS 上，这为临床治疗本病提供了新思路[9]。

CFS 目前的治疗主要以缓解症状为主，缺乏特效药物。西医常用抗抑郁药、免疫调节剂等，但疗效有限且伴随较多副作用。相比之下，中医药在改善疲劳方面具有独特优势。研究表明，人参、黄芪等补益类中药可通过调节免疫、抗氧化等途径改善 CFS 症状。补益类中药在缓解疲劳方面具有显著优势，常见的补益类药物具有抗氧化应激、抗炎和免疫调节等功效[10−11]。哈蟆油是中国林蛙（*Rana temporaria chensinensis* David）雌蛙干燥的输卵管，未被列入药食同源目录，但一直食用至今，现代研究证实，哈蟆油的营养成分与生物活性物质符合保健食品功能需求，它含 48% 以上蛋白质、18 种氨基酸（含 8 种必需氨基酸）、多不饱和脂肪酸、维生素（A、D、E 等）及微量元素（锌、硒、镁等），兼具营养强化与代谢调节作用，在现代营养学与保健食品领域展现出独特价值[12−14]。综上所述，因其历史积淀与现代营养学验证，成为 CFS 干预的理想选择，传统上用于缓解精神疲乏等症状，这些特性与 CFS 的病理机制高度相关，提示哈蟆油在改善 CFS 方面具有潜在的应用价值。已有研究表明，哈蟆油匀浆水溶液和蛋白酶解物具有显著的抗疲劳作用[15−17]，然而，针对哈蟆油改善 CFS 的研究较为有限，其活性成分、作用靶点及分子机制尚未系统阐明。尽管 CFS 的发病机制涉及免疫系统、HPA 轴、单胺神经内分泌系统、线粒体功能以及能量代谢等多个方面，但具体机制尚不明确，这极大地限制了其在临床中的进一步应用，仍需进一步研究。本研究旨在通过网络药理学和分子对接技术筛选哈蟆油改善 CFS 的活性成分及其作用靶点，并通

过动物实验验证其药效及作用机制。研究结果将为哈蟆油改善 CFS 提供科学依据，为其在临床中的应用奠定理论基础，同时也为 CFS 的治疗提供新的思路和方法。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

哈蟆油　通化鼎参药业提供，长春中医药大学药学院中药鉴定教研室鉴定为中国林蛙雌蛙干燥的输卵管；甲醇　北京化工厂提供；全蛋白提取试剂盒、BCA 试剂盒　索莱宝生物科技有限公司；制胶试剂盒　雅酶生物科技有限公司提供；蛋白质常规分子量标记、β-actin、白介素-17A(IL-17A)、泛素连接酶(TRAF-6)、核因子 κB 激活剂(ACT-1)、转化生长因子激酶 1(TAK-1)、核因子 κB 抑制物激酶 β(IKKβ)、核因子 κB 抑制蛋白 α(IKBα)、核因子 κB(NF-κB)、增强子结合蛋白 β(C/EBPβ)、白介素 6(IL-6)、肿瘤坏死因子 α(TNF-α)、环氧合酶-2(COX-2)抗体　武汉三鹰生物有限公司；超敏 ECL 化学发光试剂盒　碧云天生物；PVDF 膜　美国伯乐公司；尿素氮(BUN)、IL-6、TNF-α、环氧合酶-2(COX-2)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)　江苏酶联免疫生物试剂有限公司；肝糖原、肌糖原试剂盒　南京建成生物有限公司；雄性 ICR 小鼠 60 只(体重 18~22 g)，由长春市亿斯实验动物技术有限责任公司提供，生产许可证号：SCXK-(吉)2011-0004；基础饲料也由该公司提供，生产许可证号：SCXK-(吉)2010-0001；饲养在实验动物部，使用许可证号：SYXK(吉)2010-0011。

TMV-100S 行为试验系统　成都泰盟仪器公司；Epoch-2 酶标仪　美国伯腾公司；041BR103094 电泳仪　美国伯乐公司；Q9-Aliance 凝胶成像系统　英国 UVItec 公司。

1.2 实验方法

1.2.1　哈蟆油有效成分及靶点筛选和疾病相关靶点的获取　通过查阅大量文献和书籍，归类总结出哈蟆油化学成分，之后再借助 BATMAN 数据库和 TCMSP 搜索哈蟆油的全部靶点，按所需条件筛选哈蟆油活性成分(口服生物利用度≥30%、药物依赖性≥0.18)[18−19]，同时通过 TCMSP 获取活性成分对应的靶点蛋白；利用 UniProt 平台将靶点蛋白全称转变成相对应的基因名，搜索时以“人类”(Homo sapiens)为物种来源。以“CFS”为检索词，通过 GeneCard、CTD、DisGeNET 数据库获取疾病靶点。找到 3 个疾病数据库中共有疾病靶点与哈蟆油作用靶点之间的交集，即哈蟆油改善疲劳的潜在靶点，通过 R 语言软件绘制韦恩图[20−22]。

1.2.2　哈蟆油-疲劳-成分-靶点网络的构建和网络拓扑学分析　将哈蟆油活性成分、治疗疲劳的潜在靶点导入 Cytoscape 制作“哈蟆油-疲劳-成分-靶点”网络，然后再利用 Cytoscape 中的插件进行成分靶点网络拓扑学分析，以 degree 值大于中位数为条件筛选的 2 个有效成分，6 个靶点，为下一步分析做准备[23]。

1.2.3　蛋白互作网络(PPI)构建、GO 功能富集和 KEGG 通路分析　药物-疾病共有靶点被导入 String 数据库[24−25]，以“medium confidence>0.4”为相互作用阈值，默认其余设置构建 PPI 网络。使用 DAVID 和 Metascape 数据库联合进行 GO 富集分析，再利用 KEGG 网站进行通路分析，并都以 P 值为筛选条件，选择排名前五的通路与关键靶点做分析，获得与之最相关的通路和物质基础[26−27]。

1.2.4　成分结构绘制和分子对接　将化学成分绘制并按照 degree 值选取排在前三位的哈蟆油化学成分与核心靶点进行分子对接，利用 pubchem 导出保存文件至.sdf 格式，转到.mol2 格式，然后导入 PyMOL，进行加氢，去水等一系列修饰，导出保存文件至.pdb 格式；运用 PDB 平台(https://www.rcsb.org/)获取靶点的 3D 结构，并保存文件至.pdb 格式，将小分子化合物和关键靶点导入 Autodock 软件进行分子对接，最后用 PyMOL等软件分析对接强度[28−30]。

1.2.5　动物实验分组、造模和给药　将 60 只小鼠平均分成空白组，模型组，哈蟆油高、中、低剂量三组[25,28,31]，每组 12 只(避免造模过程中死亡，至少保证每组十只)，除了空白组外，其余小鼠进行应激造模，利用力竭游泳和慢性束缚交替应激对雄性小鼠进行造模，使小鼠在水温 22±3 ℃ 的光滑内壁玻璃桶中每天游泳 10 min，连续 28 d 通过行为学实验评价模型，发现模型组小鼠静止不动时间增加、活动减少以及出现绝望焦虑样状态，说明模型成功，然后以小鼠与人体表面积折算小鼠的等效给药量，用药比设置为 1:2:4 的低、中、高剂量组，按照浓度将哈蟆油粉末分别用水稀释，然后进行灌胃给药；空白组给予等体积生理盐水；哈蟆油高、中、低组每日给予浓度为 800、400、200 mg/kg 的哈蟆油混悬液灌胃，连续灌胃 14 d，所有动物实验操作都经过长春中医药大学实验动物伦理委员会批准(2024742)。

1.2.6　观察指标

1.2.6.1　一般状态观察和行为学检测　实验整个过程中，每日观察小鼠的体重、饮食量、糖水偏好、精神状态以及行为情况等一般状态。每日进行体重测定，每周进行饮食量测定，记录并进行比较。

参考文献[32−35]描述的方法，有所改动，最后一次给药之后 30 min，进行相关行为学检测，将小鼠放入黑色无盖的旷场箱中，记录小鼠 5 min 内移动总路程、运动平均速度、站立次数(两只前腿全脱离箱底)；第 2 d 进行小鼠悬尾实验，该实验主要用于评价模型成功与否，以及受试药干预是否有效，将小鼠固定在试验箱上，使其呈倒挂状态，通过软件记录

5 min 内不动时间；第 3 d 进行强迫游泳实验，记录 5 min 内漂浮不动时间；随后一周进行水迷宫训练和正式实验，记录小鼠从入水到爬上平台所需时间（超过 120 s，按 120 s 算）以及有效区域滞留时间。

1.2.6.2　生化指标检测　禁食不禁水 12 h 后，先用异弗烷将小鼠麻醉，再进行眼球取血，于 4 ℃ 下 3000 r/min 离心 15 min 获得血清，−80 ℃ 保存备用，用试剂盒检测血清中 BUN、MDA、SOD、GSH-Px、IL-6、TNFα、COX-2 浓度，肌肉中乳酸的浓度，肝脏中肝糖原和肌糖原的含量。

1.2.6.3　蛋白免疫印迹检测相关蛋白指标　通过网络药理学预测，得到相关通路和靶点，利用蛋白免疫印迹检测相关蛋白表达，取小鼠脑组织，加入裂解液，在冰水中研磨、裂解，12000 r/min 离心 15 min，取上清液，采用 BCA 的方法定量蛋白质，然后制成相应浓度样品，先制备分离胶和浓缩胶，再加 20 μL 对应样品，然后在 100 V 下电泳 90 min，在 400 mA 下转膜 40 min，脱脂奶粉封闭 2 h，用 TBST 洗膜三次，按蛋白分子量剪膜，按照抗体稀释比例加入一抗稀释液，加入制备完的一抗 IL-17A、ACT-1、IKKβ、IKBα、TRAF6、TAK-1、NF-κB、C/EBPβ、IL-6、TNF-α、COX-2、β-actin，冰箱 4 ℃ 孵育过夜，第二天先用 TBST 洗涤 3 次每次 5 min，再加入二抗室温孵育 2 h，孵育结束后再用 TBST 洗涤 3 次，在避光条件下加入 ECL 试剂，最后使用凝胶成像系统成像。

1.3　数据处理

采用 SPSS 对数据进行统计分析，数据以平均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）的形式表示，单因素方差分析用于多组间比较，t 检验用于两两比较，用 Image J 软件分析蛋白免疫印迹条带灰度值，$P<0.05$ 为差异有统计学意义，$P<0.01$ 有显著差异性。

2　结果与分析

2.1　网络药理学和分子对接结果

2.1.1　哈蟆油的活性成分及相关靶点和 CFS 相关靶点　本研究通过筛选共获得哈蟆油 32 个活性成分，其中符合口服生物利用度和药物依赖性条件的有 5 个（表 1）。这些活性成分对应的潜在靶点共 218 个。通过 GeneCards数据库检索获得 7558 个与 CFS 相关的靶点，DisGeNET 数据库检索获得 118 个 CFS 相关靶点，CTD 数据库检索获得 536 个 CFS 相关靶点。将各数据库检索结果进行整合并与哈蟆油的靶点取交集，最终筛选出 8 个哈蟆油干预 CFS 的潜在关键靶点（IL-18、COMT、NR3C1、IL-1B、IL-6、IL-10、PTGS-2、TH）。这一结果为后续研究哈蟆油改善 CFS 的作用机制提供了重要线索。

表 1　哈蟆油核心成分

Table 1　Oviductus ranae (OR) core ingredients

Mol ID	分子名称	分子量	口服生物利用度(%)	成分转运速率	血脑屏障	药物依赖性
MOL007348	维生素K1	450.77	47.60	1.53	0.81	0.66
MOL002773	β-胡罗卜素	536.96	37.18	2.25	1.52	0.58
MOL000493	菜油甾醇	400.76	37.58	1.31	0.93	0.71
MOL000449	豆固醇	412.77	43.83	1.44	1.00	0.76
MOL000359	β-谷甾醇	414.79	36.91	1.32	0.99	0.75

2.1.2　药物-疾病-成分-靶点构建和 PPI 网络以及网络拓扑学分析　通过 Cytoscape 软件构建哈蟆油-

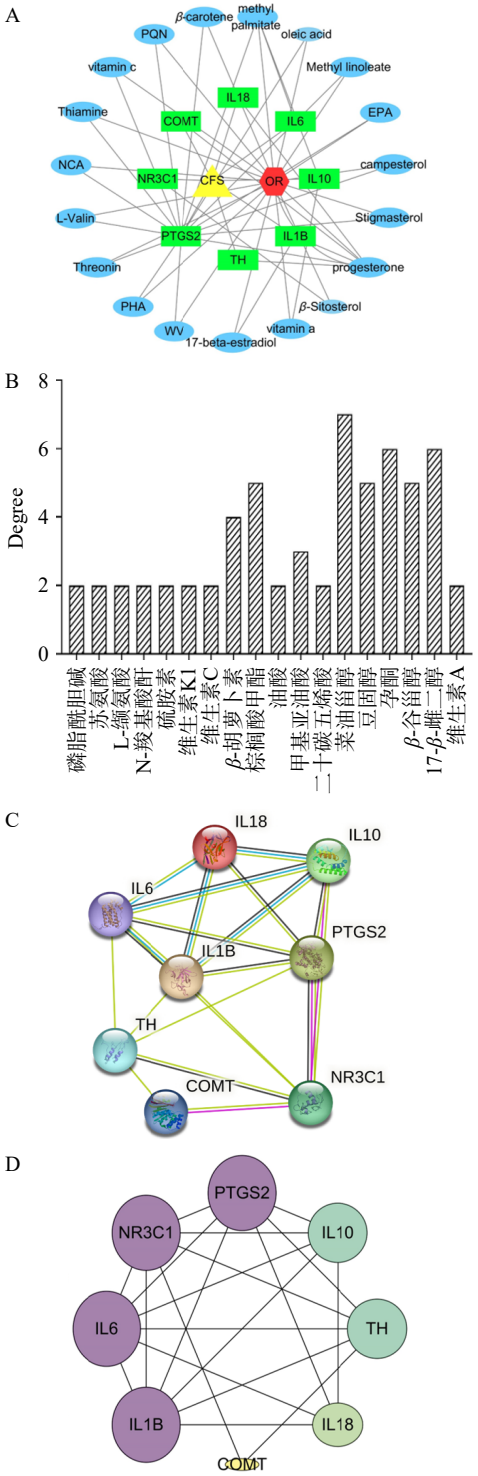


图 1　PPI 网络，药物-疾病-成分-靶点网络和拓扑学分析

Fig.1　PPI network diagrams, Drug-disease-component-target network diagram and component topology analyses

注：A：药物-疾病-成分-靶点网络；B：成分拓扑学分析；C：PPI 网路图；D：靶点拓扑学分析。

CFS-成分-靶点网络和成分拓扑学分析见图 1(按 degree 值排序取前 18 个),其中度值排在前三位的是菜油甾醇、17-β-雌二醇、孕酮;将 8 个交集核心靶点导入至 STRING 数据库,构建出 PPI 网络,通过 PPI 网络图显示,共有 8 个节点,781 条边,平均节点度为 4.51,将这 8 个靶点进行网络拓扑学分析;度值由大到小的靶点是 IL-1B、IL-6、NR3C1、PTGS-2、IL-10、TH、IL-18、COMT,推测这些靶点可能是治疗 CFS 的关键靶点。

2.1.3 哈蟆油治疗 CFS 的 GO 富集和 KEGG 通路分析 GO 富集分析得到 58 个生物学进程(按 $P<0.01$ 取前 4 个)、4 个细胞学组分、4 个分子功能,KEGG 通路分析得到 32 个通路(表 2),结果如图 2A 所示,哈蟆油治疗 CFS 的生物学进程主要包括炎症反应、生长因子活力、蛋白结合、活性反应、细胞因子活性、氧化应激等;如图 2B 所示,信号通路主要为 IL-17 信号通路、NF-κB 通路、阿尔兹海默症、TNF 信号通路等;通路与关键靶点的分析如图 2C 热图所示,IL-17 信号通路与 IL-18, IL-10 蛋白关系密切,TNF 信号通路和 NOD 样受体信号通路与关键蛋白相关性较大,NF-κB 通路与 IL-1B, PTGS-2 蛋白相关性较大,ACE-RAGE 信号通路与 IL-1B, IL-6 蛋白相关性较大,从以上所有数据提示,哈蟆油的有效成分可能通过 IL-17 信号通路、氧化应激等而发挥相互联合治疗的潜在作用机制(图 3)。

表 2 哈蟆油治疗慢性疲劳综合征的潜在通路

Table 2 Potential pathways in the treatment of CFS with OR

信号通路	*P*value
IL-17 signaling pathway	1.0254×10^{-10}
AGE-RAGE signaling pathway	1.32025×10^{-9}
NOD-like receptor signaling pathway	7.85608×10^{-5}
NF-kappa B signaling pathway	9.26072×10^{-5}
TNF signaling pathway	1.11146×10^{-4}
Lipid and atherosclerosis	2.42619×10^{-4}
Human cytomegalovirus infection	5.88903×10^{-4}
Salmonella infection	7.36521×10^{-4}
Amoebiasis	8.79045×10^{-4}
Alzheimer disease	9.38366×10^{-4}
PI3K-Akt signaling pathway	1.028559×10^{-3}
MAPK signaling pathway	1.208223×10^{-3}
VEGF signaling pathway	1.420703×10^{-3}
Inflammatory bowel disease	1.524149×10^{-3}
Cellular senescence	1.541343×10^{-3}
JAK-STAT signaling pathway	1.821069×10^{-3}
AMPK signaling pathway	2.027217×10^{-3}
Estrogen signaling pathway	2.130708×10^{-3}
EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance	2.219202×10^{-3}
Th17 cell differentiation	2.918831×10^{-3}
HIF-1 signaling pathway	0.024261899
Cytokine-cytokine receptor interaction	0.025261899
Pathways of neurodegeneration-multiple diseases	0.030889031
Colorectal cancer	0.032251914
Bladder cancer	0.032714909
Graft-versus-host disease	0.033360456
FoxO signaling pathway	0.037561737
Endocrine resistance	0.039544123
Thyroid hormone synthesis	0.040043078
C-type lectin receptor signaling pathway	0.040043078
Parathyroid hormone synthesis, secretion and action	0.046272634
Toll-like receptor signaling pathway	0.048634643

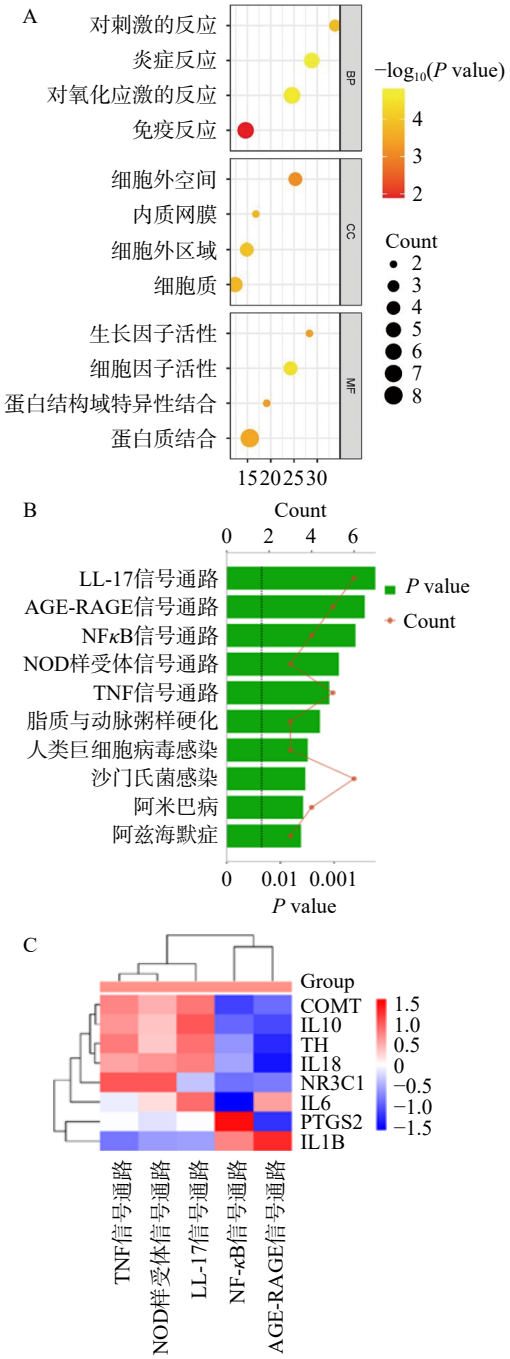


图 2 GO 富集分析气泡图和 KEGG 通路分析图

Fig.2 Bubble plots of GO enrichment analysis and KEGG pathway histograms for OR intervention CFS

2.1.4 分子对接结果 哈蟆油中 degree 值排前三的活性成分与通路相关靶点进行对接,由表 3 可见,分子对接结合能均<−5 kJ/mol,对接结果具有较好的可靠性,将结合构象的相互作用进行可视化展示,见图 4。

2.2 哈蟆油对 CFS 小鼠的基本状况和行为学的影响

如图 5 所示,造模前各组小鼠的体重、饮食量及

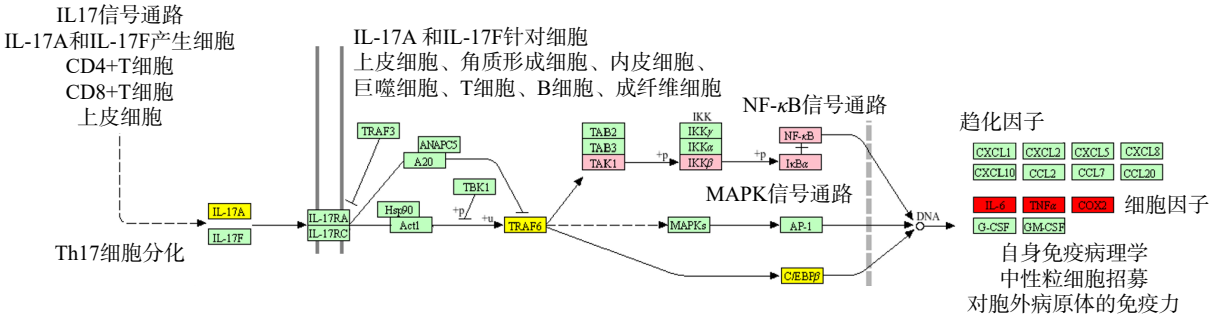


图 3　IL-17 信号通路

Fig.3　IL-17 signalling pathway

表 3　小分子成分与大分子蛋白的分子对接结合能

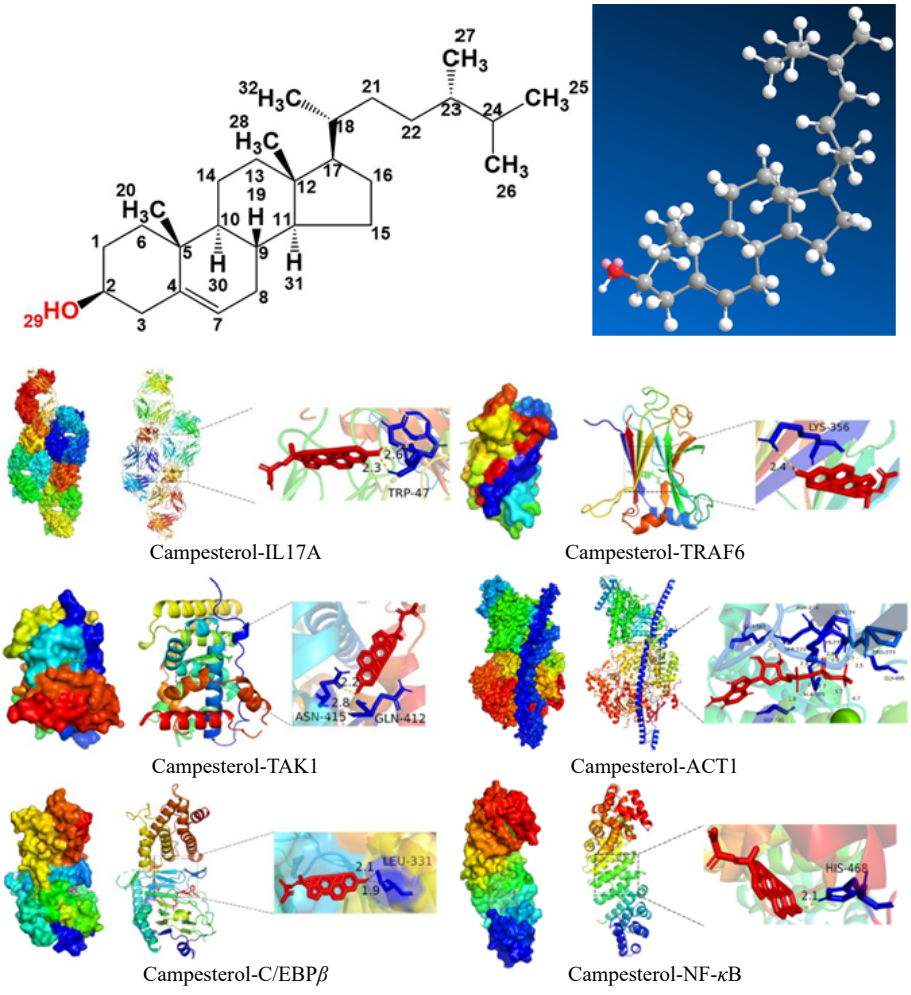
Table 3　Molecular docking binding energy of small molecule components to large proteins

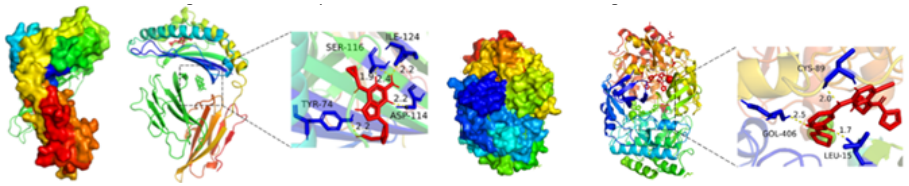
通路蛋白	菜油甾醇(kJ/mol)	17-β-雌二醇(kJ/mol)	孕酮(kJ/mol)
IL 17A	−12.67	−10.27	−11.07
C/EBPβ	−11.77	−4.27	−3.89
TAK1	−11.32	−4.12	−3.12
ACT1	−10.34	−1.24	−2.23
NF-κB	−9.65	−3.15	−4.05
IKKβ	−8.37	−1.07	−1.27
IKBα	−7.09	−2.05	−3.19
TARF6	−8.03	−3.23	−4.51

糖水偏好均无显著差异。造模 4 周后，模型组小鼠体重增长明显减缓，饮食量显著下降，糖水偏好程度减弱，此外，如表 4 和图 6 所示，造模后模型组小鼠在旷场试验中的运动速度、运动距离及站立次数均显著减少，水迷宫实验中，模型组小鼠的逃避潜伏期显著延长，有效区停留时间显著缩短（P<0.01），在强迫游泳实验和悬尾实验中的不动时间显著延长。给予哈蟆油后，上述指标均得到显著改善，表明哈蟆油能够显著改善 CFS 模型小鼠的体重、饮食量、糖水偏好、运动能力及行为学表现，可以缓解疲劳状态。其作用机制可能与调节能量代谢、改善肌肉功能及中枢神经系统功能有关。

2.3　生化分析结果和蛋白免疫印记结果

2.3.1　哈蟆油对 CFS 小鼠血清中 MDA、SOD 和 GSH-Px 的影响　如图 7 所示，与空白组相比，CFS





Campesterol-IKKβ　　Campesterol-IKBα

图 4　Campesterol 的 2D,3D 结构式和分子对接模式图

Fig.4　Campesterol 2D,3D structured and diagram of molecular docking patterns

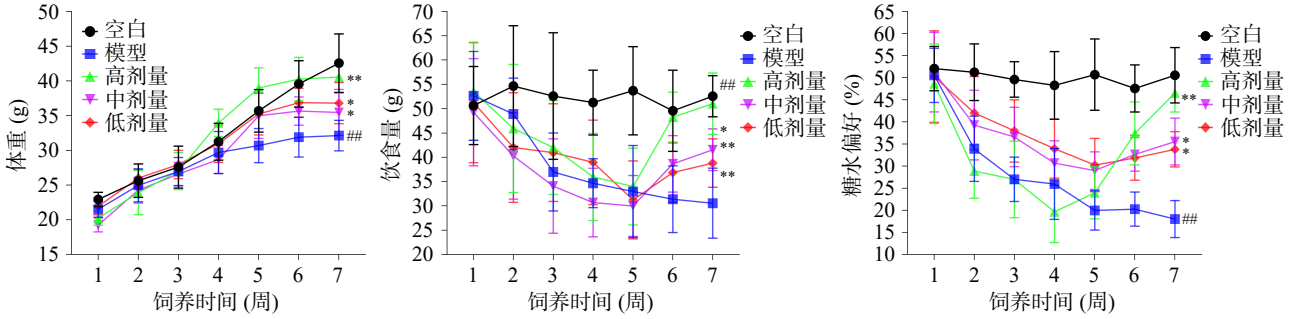


图 5　各组小鼠体重、饮食量、糖水偏好结果

Fig.5　Results of body weight, dietary intake, and sucrose preference of mice in each group

注: 与空白组比较, $^{\#\#}P$<0.01; 与模型组比较, $^{*}P$<0.05, $^{**}P$<0.01, 图 6~图 9 同。

表 4　水迷宫实验结果

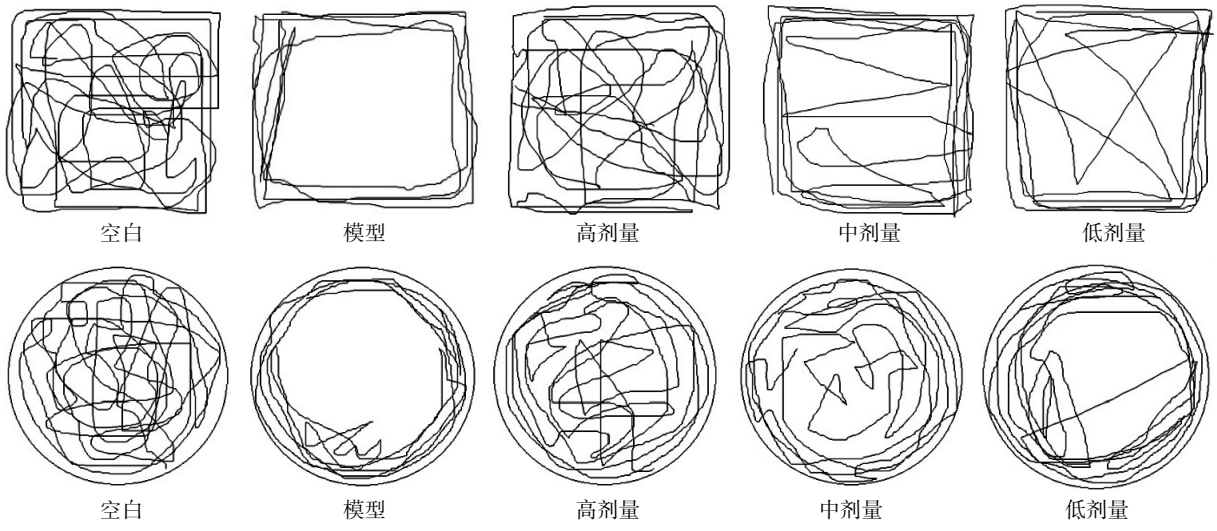
Table 4　Results of morris water maze test

组别	n	潜伏期(s)	滞留时间(s)	运动距离(cm)
空白	10	16.21±1.26	89.31±9.26	2578.45±72.43
模型	10	98.24±8.19$^{\#\#}$	22.03±4.17$^{\#\#}$	1012.39±65.29
高剂量	10	47.27±6.29**	69.72±7.28**	2025.88±59.27**
中剂量	10	66.36±8.06*	52.24±5.17*	1671.49±83.13*
低剂量	10	75.57±7.39*	42.32±6.39*	1352.67±60.41*

注: 与空白组比较, $^{\#\#}P$<0.01; 与模型组比较, $^{*}P$<0.05, $^{**}P$<0.01。

模型组小鼠血清中 MDA 含量显著升高, SOD 和 GSH-Px 的含量显著降低(P<0.01), 给予哈蟆油干预后, 上述指标均得到不同程度的改善, 与模型组相比, 实验组小鼠血清中 MDA 含量显著降低, SOD 和 GSH-Px 的含量显著升高(P<0.05 或 P<0.01), 体内氧化应激降低, 导致自由基(例如活性氧 ROS)的生成大量减少, 脂质过氧化反应消除, 减少 MDA 等代谢产物的生成, 所以 MDA 含量的减少也反映了 CFS 小鼠体内脂质过氧化程度的降低, SOD 和 GSH-Px 是机体内具有清除自由基作用的抗氧化酶, 给药后 CFS 状态下的自由基的生成会减少, 进而抗氧化酶消耗也减少, 同时可以缓解过度的氧化应激, 激活抗氧化酶的活性, 恢复 SOD 和 GSH-Px 含量, 一系列结果表明哈蟆油可能通过清除自由基、增强抗氧化酶活性来缓解氧化应激, 进而缓解 CFS。

2.3.2　哈蟆油对 CFS 小鼠血清中 IL6、TNF-α 和 COX-2 的影响　如图 8 所示, 与空白组相比, CFS 模型组小鼠血清中 IL-6、TNF-α 和 COX-2 的含量显著升高(P<0.01); 与模型组相比, 实验组小鼠血清中 IL-6、TNF-α 和 COX-2 含量显著降低(P<0.05 或 P<0.01), 因为 CFS 模型小鼠体内促炎性细胞因子 IL-6 和 TNF-α 被哈蟆油抑制, COX-2 含量降低, 进一步抑制前列腺素的合成, 减轻了炎症反应, 恢复



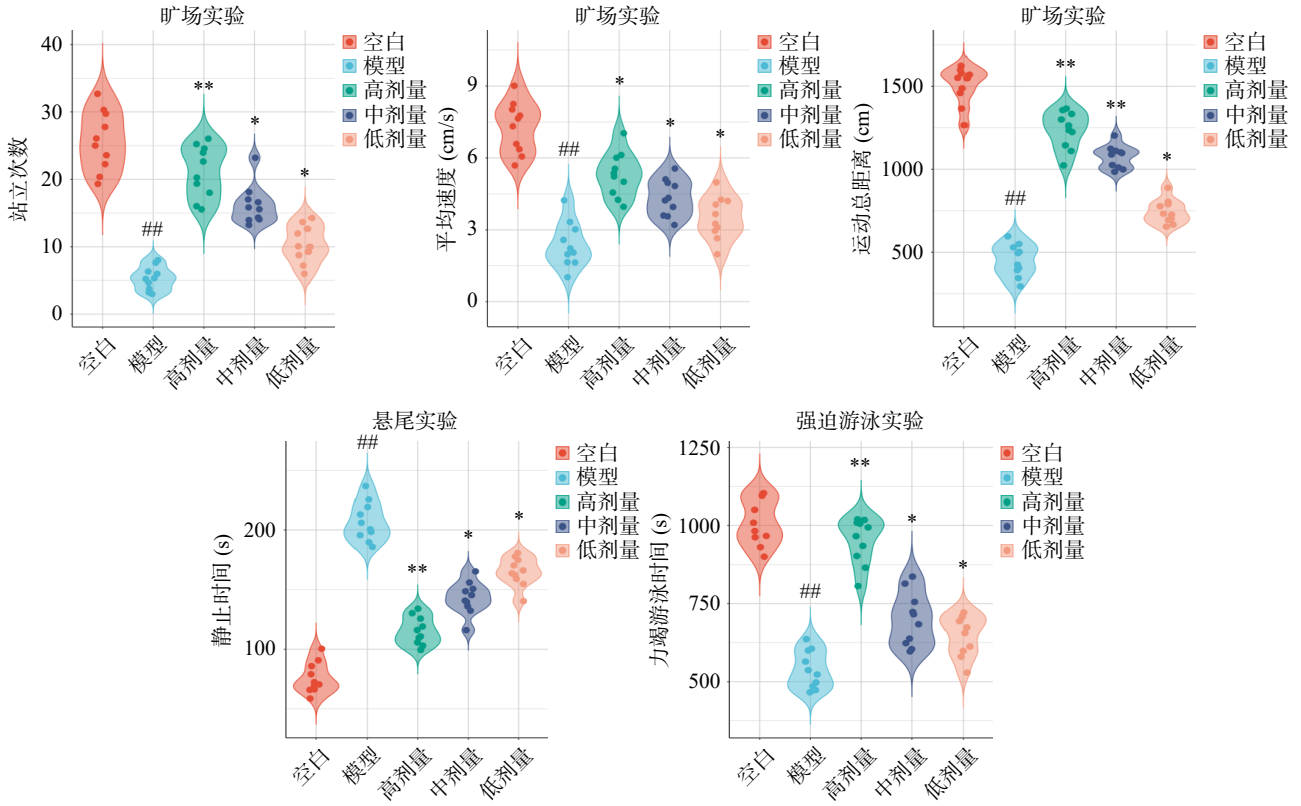


图 6　哈蟆油对小鼠行为学结果的影响

Fig.6　Effects of OR on behavioral outcomes in mouse

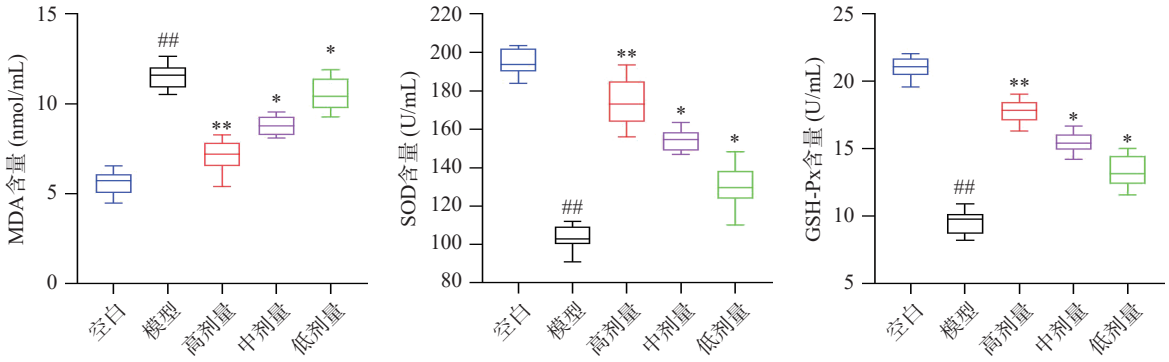


图 7　小鼠血清中的 MDA、SOD 和 GSH-Px 含量

Fig.7　MDA, SOD and GSH-Px contents in mouse serum

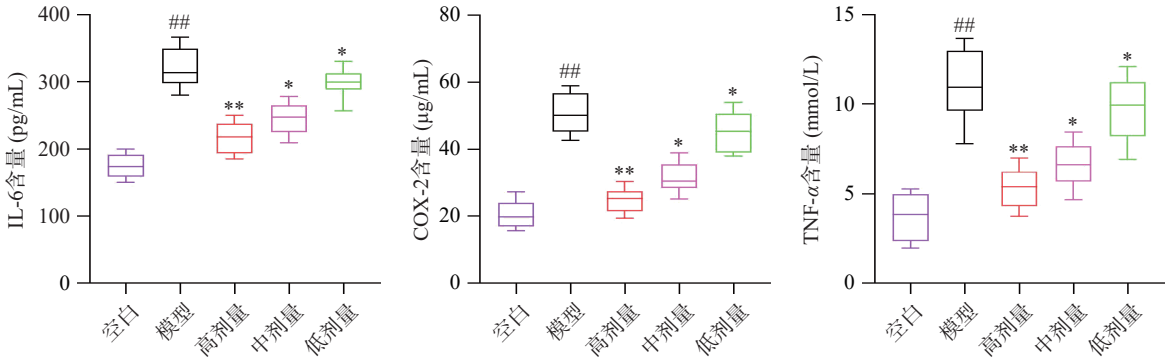


图 8　小鼠血清中的 IL6、TNF-α 和 COX-2 含量

Fig.8　IL6, TNF-α and COX-2 contents in mouse serum

CFS 小鼠的免疫系统失调以及神经内分泌紊乱，说明其可以减轻炎症反应造成的 CFS。

2.3.3　哈蟆油对 CFS 小鼠血清中 BUN 和肌肉中乳酸浓度、肝糖原和肌糖原的影响　如图 9 所示，与模

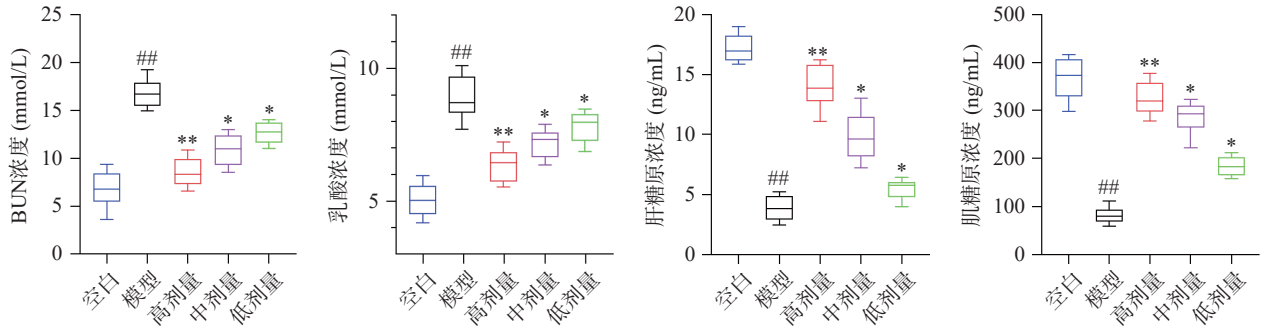
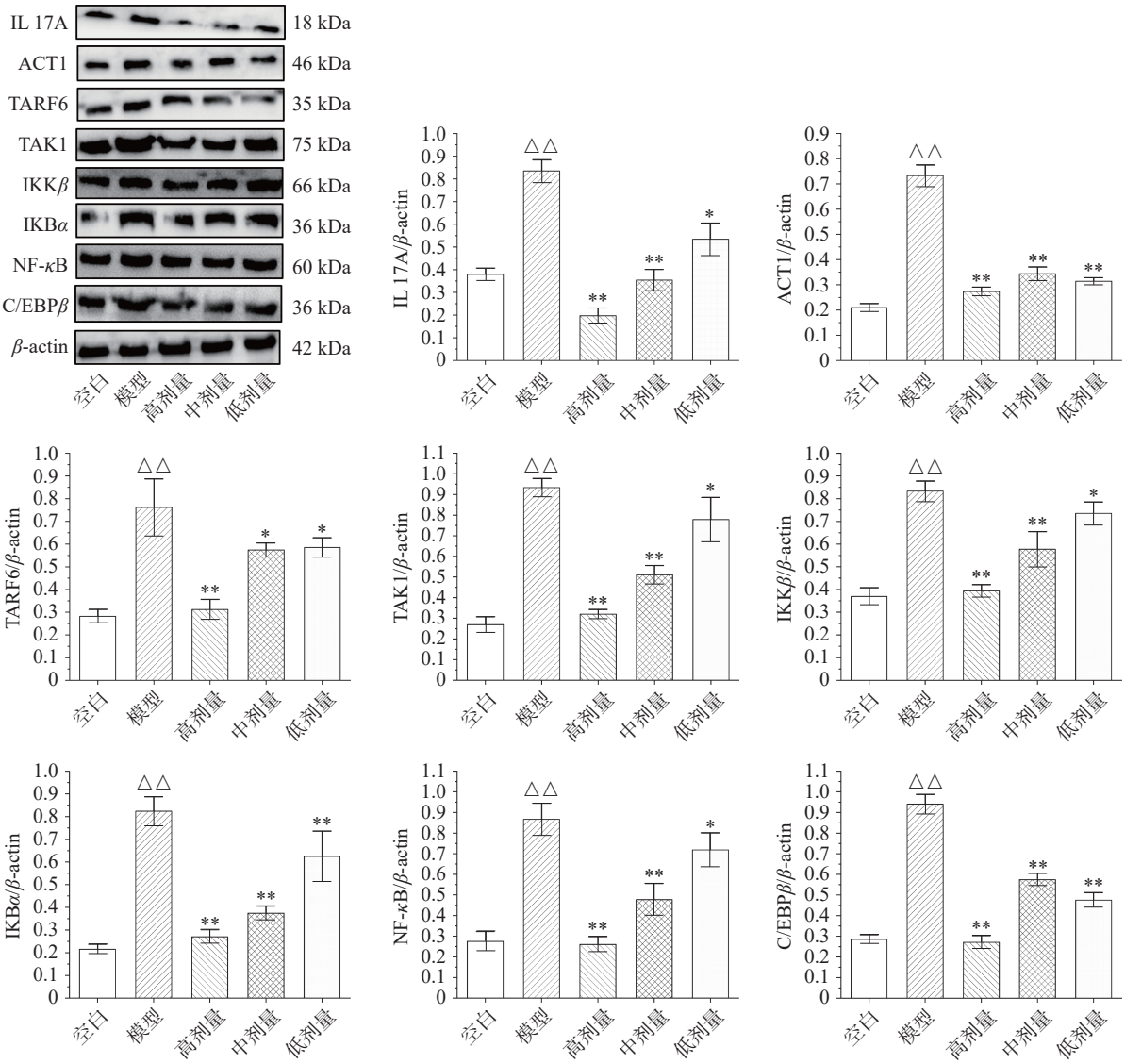


图 9　小鼠血清 BUN 浓度和肌肉中乳酸、肝糖原和肌糖原的浓度

Fig.9　Serum BUN concentration and muscle concentrations of lactate, liver glycogen and myoglycogen in mice

型组相比，给药组小鼠血清中 BUN 含量和肌肉中乳酸含量显著降低，肝脏和肌肉中的糖原储备显著增加（$P<0.05$ 或 $P<0.01$），并改善了 CFS 模型小鼠的能量代谢紊乱，减少了肌肉蛋白分解以及肾脏排泄功能下降会产生过量的 BUN，恢复能量代谢途径损伤，糖酵解活性上升，进而降低乳酸生成，增加糖原合成，缓解机体出现疲劳症状，哈蟆油可能通过改善肾功能和能量代谢恢复。

2.3.4　哈蟆油对 CFS 小鼠脑内 IL17/TRAF6 通路蛋白表达的影响　如图 10 所示，与模型组相比，给药组小鼠脑组织中，通路相关蛋白 IL-17A、TRAF6、ACT-1、TAK-1、IKKβ、IKBα、NF-κB、C/EBPβ、IL-6、TNF-α 及 COX-2 的表达水平显著降低（$P<0.05$ 或 $P<0.01$），提示 IL-17/TRAF-6 信号通路的激活会引发神经炎症反应，哈蟆油阻断上游信号传导抑制这条通路，进而抑制炎症因子的表达，表明哈蟆油可以减轻小鼠脑内存在显著的炎症反应，从而改善 CFS 相关的疲劳、认知功能障碍及行为异常，为其改善 CFS 症状提供了分子机制依据。这一发现为哈蟆油在 CFS 治疗中的应用提供了重要的理论支持。



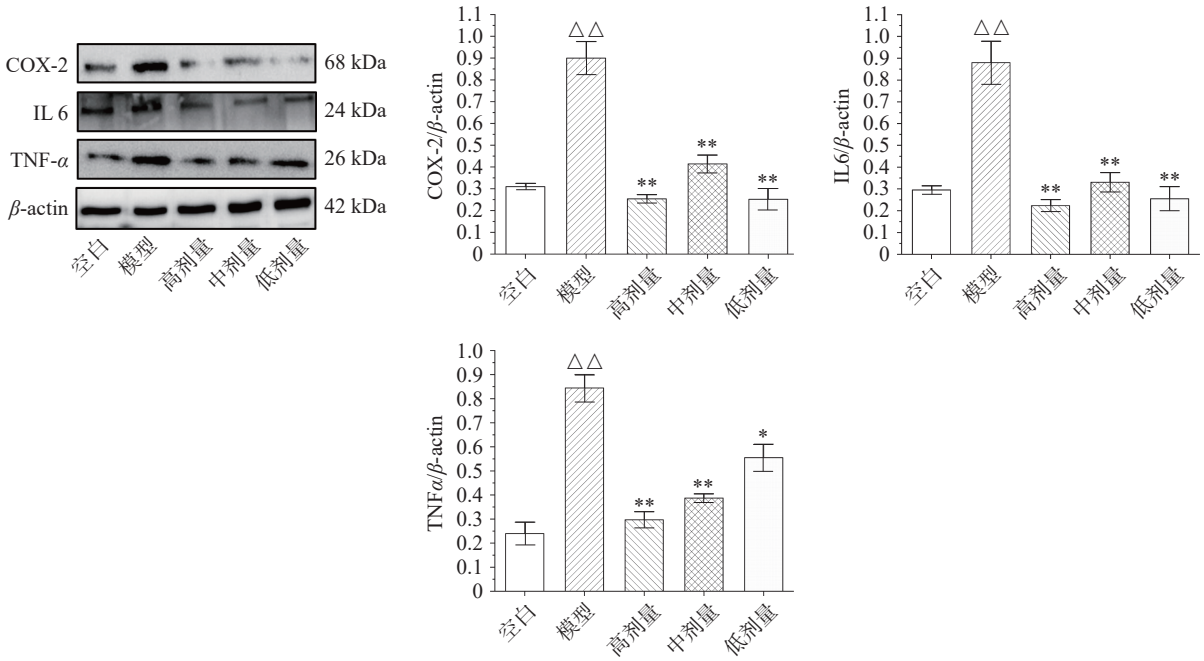


图 10　不同处理组小鼠脑内 IL17/TRAF6 通路相关蛋白表达水平及定量分析

Fig.10　Expression levels and quantitative analysis of IL-17/TRAF6 pathway-related proteins in the brains of mice from different treatment groups

注：△△表示与空白组比较，$P<0.01$；*表示与模型组比较，$P<0.05$，**表示 $P<0.01$。

3　讨论与结论

在网络药理学结果分析中，发现 IL-1B、IL-6、NR3C1、PTGS2、IL-10 等靶点被识别为哈蟆油干预 CFS 的核心基因，GO 和 KEGG 分析表明哈蟆油可能通过 IL-17 信号通路、NF-κB 通路、AGE-RAGE 信号通路、TNF 信号通路等发挥抗疲劳作用，并且核心基因与通路之间有联系；GO 富集分析表明哈蟆油干预疲劳与炎症，氧化应激，免疫等相关，分子对接结果表明，哈蟆油可能通过 IL-17A/TRAF-6 通路改善 CFS。

根据 CFS 临床上的心理（抑郁，失望心态等）和生理（体力或智力上的疲劳，难以集中注意力，记忆力下降等）症状，与模型小鼠的行为学结果做对比，行为学研究结果显示，在小鼠经历疲劳模型制备后，由于过度劳累，小鼠的饮食量明显降低，对糖水的偏好程度下降，出现快感缺失，在水中漂浮时间明显增加，运动速度明显减慢，空间探索能力下降，经过哈蟆油的干预，这种情况有所改善，CFS 小鼠的糖水偏好率，运动速度和活跃程度，逃避潜伏期，以及学习记忆能力都有了明显改善。综上所述，通过以上结果可以进一步证明，哈蟆油具有缓解 CFS 的作用，并对小鼠的空间探索能力、学习记忆能力、身心疲劳程度和情绪产生积极的影响。

当机体处于疲劳状态时，糖酵解过程会被加速，导致乳酸产生增加，此时，果糖磷酸激酶的活性会受到抑制，进而导致糖酵解速度的变慢，影响肌力的产生[36]。另外，蛋白质经过有氧代谢后会产生 BUN，当机体中糖酵解反应不够时，蛋白质或氨基酸经过尿素循环代谢产生 BUN，因此，乳酸和 BUN 被认为是疲劳时重要的生化指标，乳酸的堆积和糖酵解的加速会消耗机体的糖原来维持体内的血糖水平和能量供应，从而缓解疲劳[37]。本研究发现，哈蟆油能降低乳酸和 BUN 的含量，同时提高肝糖原和肌糖原的含量，这使得机体能够维持动态平衡的血糖水平，并通过糖酵解和无氧酵解来提供能量，从而减轻疲劳。另外，哈蟆油还能提高抗氧化酶（如 SOD 和 GSH-Px）的活性，这两种酶能够清除和修复氧化自由基，从而增强细胞的抗氧化能力[38]。此外，哈蟆油还能减少肌细胞中的 MDA 和乳酸的生成，进一步提高抗氧化活性，减少疲劳对细胞的损害。研究还发现，机体抗氧化系统被损伤后，线粒体 DNA 的氧化损伤可能导致线粒体功能紊乱，降低 ATP 的合成能力，进而形成疲劳状态[39]。一些研究通过建立小鼠 CFS 模型，发现该模型中小鼠的外周血中促炎因子（如 IL-1B、IL-6 和 TNF-α）的水平升高，而低氧浓度暴露有助于恢复这些炎症因子的水平[40]。另外，一些研究表明，可以通过降低炎症因子的含量来抑制炎症反应和改善疲劳症状，而具体机制涉及减少代谢产物的积累以及改善细胞炎症等因素[36]。实验结果表明哈蟆油可以降低 CFS 小鼠血清中 IL6、TNF-α、COX-2、MDA 的含量和肌肉中的乳酸含量，升高血清中 SOD、GSH-Px 的含量，证明哈蟆油还可以改善 CFS 相关生化指标。

IL-17A 是 IL-17 家族中首个被发现且研究最广泛的成员，它与多种自身免疫和炎症疾病相关，如疲劳性骨折、急性肝损伤和牙周炎[41−42]。研究表明 IL-17A 通过与细胞表面受体 IL-17RA 结合，激活 ACT-1 蛋白，进而 ACT-1 可以结合泛素化 TRAF-6

从而激活 NF-κB 转录因子，促进炎症基因的表达。TRAF-6 在 NF-κB 信号转导中起着重要的调节作用，并在炎症产生后发生聚集，激活 NF-κB 信号通路。研究表明，通过抑制 TRAF-6 可以调节 NF-κB 信号通路[43−46]。IL-17A/TRAF-6 信号通路是一种重要的细胞信号传导路径，它参与调节免疫系统的炎症反应和免疫应答[47−49]，这些促炎因子在 CFS 的发生和发展中起重要作用。IL-6 属于急性反应因子，在炎症和伤害等病理情况下会增加[50]。TNF-α 可以刺激 IL-6 的产生，二者通常协同刺激急性反应，血清 TNF-α 和 IL-6 水平可作为反映 CFS 严重程度的指标，并与 BUN 水平呈正相关[51]。研究已证实，促炎因子 TNF-α 和 IL-6 参与慢性炎症的形成，可能引发类似疲劳和抑郁的症状，成功建立的 CFS 模型表明，其特征为促炎因子 TNF-α 和 IL-6 水平升高和免疫功能下降[52]。在生理条件下，PTGS-2 在肾脏和大脑组织中表达下调，然而，在病理条件下，例如癌症组织中，PTGS-2 的表达也会上调，PTGS-2 的主要功能是负责炎症前列腺素的产生，炎症条件下，PTGS-2 的上调与细胞黏附增加、细胞表型改变、细胞凋亡抵抗以及肿瘤血管生成等过程相关[53−54]。本研究结果表明，哈蟆油可以通过抑制 IL-17A/TRAF-6 信号通路，下调 ACT-1、TAK-1、NF-κB、C/EBPβ 的表达，降低炎症因子表达水平和氧化应激，缓解疲劳。

本研究综合运用网络药理学、分子对接技术及小鼠 CFS 模型，对哈蟆油的活性成分及其作用机制进行了系统性探究。通过网络药理学分析，筛选出哈蟆油潜在活性成分 5 个，并预测其可能通过 IL-1B、IL-6、NR3C1、PTGS-2、IL-10 等多个核心靶点，以及抗氧化、免疫调节等多环节发挥防治 CFS 的作用。分子对接结果显示，哈蟆油活性成分与上述靶点具有较高的结合能，进一步支持了网络药理学的预测结果。体内实验验证表明，哈蟆油能够显著改善 CFS 模型小鼠的行为学表现及生理指标。这些结果表明，哈蟆油通过调控 IL-17/TRAF-6 信号通路抑制神经炎症反应，从而缓解 CFS 症状，为哈蟆油在 CFS 治疗中的应用提供了科学依据，同时也为 CFS 的中医治疗策略提供了新的理论支持。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] FUKUDA K, STRAUS S E, HICKIE I, et al. The chronic fatigue syndrome: A comprehensive approach to its definition and study. International Chronic Fatigue Syndrome Study Group[J]. Annals of Internal Medicine, 1994, 121(12): 953−959.

[2] 瞿超艺, 冯亦唯, 徐旻霄, 等. 不同氧疗手段对机体运动能力的影响及相关机理研究进展[J]. 中国运动医学杂志, 2021, 40(5): 393−401. [QU Chaoyi, FENG Yiwei, XU Minxiao, et al. Research progress on the influence of different oxygen therapy methods on the body's sports ability and related mechanisms[J]. Chinese Journal of Sports Medicine, 2021, 40(5): 393−401.]

[3] 潘泗红, 张振贤, 黄瑶, 等. 慢性疲劳综合征流行病学、病因及病机的研究进展[J]. 临床医学研究与实践, 2024, 9(21): 195−198. [PAN Sihong, ZHANG Zhenxian, HUANG Yao, et al. Research progress on epidemiology, etiology and pathogenesis of chronic fatigue syndrome[J]. Clinical Research and Practice, 2024, 9(21): 195−198.]

[4] 蒙秀东, 李昕, 陈波, 等. 慢性疲劳综合征发病机制的研究进展[J]. 医学综述, 2020, 26(2): 361−365. [MENG Xiudong, LI Xin, CHEN Bo, et al. Research progress in pathogenesis of chronic fatigue syndrome[J]. Medical Recapitulate, 2020, 26(2): 361−365.]

[5] 杨星哲, 李峰, 毛萌, 等. 中医药治疗疲劳的研究进展[J]. 世界中医药, 2022, 17(5): 748−752. [YANG Xingzhe, LI Feng, MAO Meng, et al. Research progress on anti-fatigue effect of Chinese medicine[J]. World Chinese Medicine, 2022, 17(5): 748−752.]

[6] 刘欣怡, 刘占东. 慢性疲劳综合征相关焦虑及抑郁的研究进展[J]. 中国全科医学, 2023, 26(35): 4477−4482. [LIU Xinyi, LIU Zhandong. Research progress of anxiety and depression related to chronic fatigue syndrome[J]. Chinese General Practice, 2023, 26(35): 4477−4482.]

[7] 张琳, 马巧琳, 于冬冬, 等. 基于线粒体代谢的针灸治疗慢性疲劳综合征的研究进展[J]. 环球中医药, 2024, 17(6): 1199−1204. [ZHANG Lin, MA Qiaolin, YU Dongdong, et al. Research progress of acupuncture treatment of chronic fatigue syndrome based on mitochondrial metabolism[J]. Global Traditional Chinese Medicine, 2024, 17(6): 1199−1204.]

[8] 顾元嘉, 谢芳芳, 管翀, 等. 肠道菌群对慢性疲劳综合征中枢神经系统的调控机制[J]. 世界中医药, 2023, 18(21): 3109−3112,3117. [GU Yuanjia, XIE Fangfang, GUAN Chong, et al. Mechanism of intestinal flora regulating the central nervous system of patients with chronic fatigue syndrome[J]. World Chinese Medicine, 2023, 18(21): 3109−3112,3117.]

[9] 杨星哲, 李峰, 吴凤芝, 等. 长航疲劳西医发病机制及中医证候特点研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(3): 1591−1595. [YANG Xingzhe, LI Feng, WU Fengzhi, et al. Research progress on the pathogenesis of western medicine and syndrome characteristics of traditional Chinese medicine on long navigation fatigue[J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2022, 37(3): 1591−1595.]

[10] AMIEL C R T, EHLERT U, FISCHER S. Variation in genes and hormones of the hypothalamic-pituitary-ovarian axis in female mood disorders-A systematic review and meta-analysis[J]. Frontiers in Neuroendocrinology, 2021, 62: 100929.

[11] 李梦民, 刘滔, 罗婷, 等. 疲劳评价与食源性抗运动疲劳成分研究进展[J]. 食品工业科技, 2025, 46(2): 394−402. [LI Mengmin, LIU Tao, LUO Ting, et al. Research progress of fatigue evaluation and foodborne anti-sport fatigue components[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(2): 394−402.]

[12] 卫功庆, 王艺锟. 哈蟆油的化学成分、药理作用及产品开发研究进展[J/OL]. 经济动物学报, 1−9[2026-01-14]. https://link.cnki.net/urlid/22.1258.S.20240426.1638.004. [WEIGongqing, WANG Yikun. Research progress on chemical components, pharmaceutical functions and product development of oviductus ranae[J/OL]. Journal of Economic Animal, 1−9[2026-01-14]. https://link.cnki.net/urlid/22.1258.S.20240426.1638.004.]

［13］田圆，孙敬蒙，张炜煜. 哈蟆油化学组成、药理作用机制及其制剂研究进展［J］. 特产研究，2023，45(2)：154−163,168.［TIAN Yuan, SUN Jingmeng, ZHANG Weiyu. Research progress on chemical composition, mechanism of pharmacol-ogical activities and formulations of ranae oviductus［J］. Special Wild Economic Animal and Plant Research, 2023, 45(2)：154−163,168.］
［14］朱丽婷，许亮，张振秋，等. 哈蟆油药材中氨基酸含量与商品规格等级相关性研究［J］. 中华中医药学刊，2021，39(12)：86−91.［ZHU Liting, XU Liang, ZHANG Zhenqiu, et al. Correlation between amino acid content of ranae oviductus and commodity specifications［J］. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2021, 39(12)：86−91.］
［15］蔡悦萍，张贵君，武亚楠，等. 哈蟆油匀浆水溶液抗疲劳作用研究［J］. 环球中医药，2015，8(11)：1337−1339.［CAI Yueping, ZHANG Guijun, WU Yanan, et al. Study on the anti fatigue effect of oviductus ranae homogenate solution［J］. Global Traditional Chinese Medicine, 2015, 8(11)：1337−1339.］
［16］潘黛安，张鹤，董颖，等. 哈蟆油蛋白酶解物抗疲劳功效研究［J］. 食品研究与开发，2016，37(13)：1−4.［PAN Daian, ZHANG He, DONG Ying, et al. Study on the anti-fatigue effect of oviductus ranae protein hydrolyzate［J］. Food Research and Development, 2016, 37(13)：1−4.］
［17］刘豪，沈娟，刘文彬，等. 诃子水提物对高尿酸肾病大鼠的保护作用及机制研究［J］. 中药药理与临床，2024，40(10)：56−64.［LIU Hao, SHEN Juan, LIU Wenbin, et al. Protective effects and mechanisms of CHEBULAE FRUCTUS water extract in rats with hyperuricemic nephropathy［J］. Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica, 2024, 40(10)：56−64.］
［18］周容，左代英，杨明. 基于网络药理学及分子对接探讨复方柳菊片治疗肺结核的作用机制［J］. 中医临床研究，2023，15(33)：102−110.［ZHOU Rong, ZUO Daiying, YANG Ming. The action mechanism of compound Liuju tablets in the treatment of pulmonary tuberculosis based on network pharmacology and molecular docking［J］. Clinical Journal of Chinese Medicine, 2023, 15(33)：102−110.］
［19］PEI Ke, LU Jing, LI Yong, et al. Action mechanisms of *Oviductus ranae* on perimenopausal depression model mice *via* regulation of phosphoinositol 3 kinase/AKT signalling［J］. Materials Express, 2023, 13(2)：230−245.
［20］李唯嘉，马超，刘萌萌，等. 哈蟆油酶解物激活 MAPK/ERK 信号凋亡途径修复皮质酮诱导 HT-22 细胞损伤作用［J］. 现代食品科技，2024，40(6)：43−52.［LI Weijia, MA Chao, LIU Mengmeng, et al. Hydrolysate of oviductus ranae activates MAPK/ERK signaling apoptosis pathway to repair corticosterone-induced damage in HT-22 cells［J］. Modern Food Science & Technology, 2024, 40(6)：43−52.］
［21］刘成，扶姣梅，方杨，等. 基于网络药理学和分子对接探讨补中益气汤治疗慢性疲劳综合征的机制［J］. 实用中医内科杂志，2023，37(7)：54−58,183−187.［LIU Cheng, FU Jiaomei, FANG Yang, et al. Mechanism of Buzhong Yiqi decoction in treating chronic fatigue syndrome based on network pharmacology and molecular docking［J］. Journal of Practical Traditional Chinese Internal Medicine, 2023, 37(7)：54−58,183−187.］
［22］左蕾蕾，黄琳，孙华楠，等. 结合广泛靶向代谢组学、网络药理学和分子对接技术研究金槐米对酒精性肝损伤保护作用机制［J］. 食品工业科技，2025，46(16)：384−395.［ZUO Leilei, HUANG Lin, SUN Huanan, et al. Integrating widely targeted metabolomics, network pharmacology, and molecular docking to investigate the protective mechanisms of from *Styphnolobium japonicum* cv. Jinhuai's flower bud against alcohol-induced liver injury［J］. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(16)：384−395.］
［23］郑海云，王志钢，王少南，等. 燕窝阿胶复方改善小鼠睡眠功能及作用机制研究［J］. 食品工业科技，2025，46(19)：388−397.［ZHENG Haiyun, WANG Zhigang, WANG Shaonan, et al. Effect of sleep-improvement and mechanism of Yanwo Ejiao compound in mice［J］. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(19)：388−397.］
［24］刘辉，周安妮，胡胜男，等. 小麦肽改善慢性疲劳综合征大鼠认知功能障碍［J］. 食品科学，2022，43(19)：137−143.［LIU Hui, ZHOU Anni, HU Shengnan, et al. Wheat peptide ameliorates cognitive impairment of chronic fatigue syndrome rats［J］. Food Science, 2022, 43(19)：137−143.］
［25］杨洋，朱婧，张静媚，等. 基于网络药理学附子归芍颗粒防治慢性疲劳综合征的作用机制［J］. 今日药学，2022，32(8)：583−590,595.［YANG Yang, ZHU Jing, ZHANG Jingmei, et al. Mechanism of Fuzi Guishao Granules in preventing and treating chronic fatigue syndrome based on network pharmacology［J］. Pharmacy Today, 2022, 32(8)：583−590,595.］
［26］叶怀宇，宋奇，张君，等. 基于代谢组学、网络药理学及分子对接技术探究芪蓟肾康汤治疗紫癜性肾炎的作用机制［J］. 中华中医药杂志，2022，37(9)：5419−5424.［YE Huaiyu, SONG Qi, ZHANG Jun, et al. Exploration on the mechanism of Qiji Shenkang Decoction in the treatment of purpuric nephritis based on metabolomics, network pharmacology and molecular docking technology［J］. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2022, 37(9)：5419−5424.］
［27］雷格格，乔雨雨，同小雨，等. 天麻粉对小鼠的抗疲劳作用［J］. 食品工业科技，2025，46(18)：408−414.［LEI Gege, QIAO Yuyu, TONG Xiaoyu, et al. Anti-fatigue effect of *Gastrodia powder* on mice［J］. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(18)：408−414.］
［28］彭元怀，王睿，王凤妮，等. 基于 Keap1/Nrf2/ARE 信号通路研究虾头自溶活性多肽对小鼠抗疲劳的作用及其机制［J］. 食品工业科技，2025，46(5)：364−370.［PENG Yuanhuai, WANG Rui, WANG Fengni, et al. Investigation the effects and mechanisms of autolytic active peptides from shrimp head on anti-fatigue in mice based on the Keap1/Nrf2/ARE signaling pathway［J］. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(5)：364−370.］
［29］ALI MOHAMED A E A, AYOUB I I, UTHIRAPATHY S, et al. The microbiota-gut-brain axis in myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome：A narrative review of an emerging field［J］. European Journal of Translational Myology, 2025, 35(1)：13690.
［30］宋琦，高强. 野菊蒿提取物对 CFS 大鼠抗疲劳、运动行为能力和免疫力的影响［J］. 分子植物育种，2023，21(10)：3433−3438.［SONG Qi, GAO Qiang. Effects of extracts of *Chrysanthemum coronarium* on anti-fatigue, motor behavior and immunity in the CFS rats［J］. Molecular Plant Breeding, 2023, 21(10)：3433−3438.］
［31］WANG Kun, WEI Fangjiao, CUI Deyu, et al. Therapeutic effect and mechanism of Jingfang Granules on chronic fatigue syndrome based on intestinal flora and metabolomics［J］. China Journal of Chinese Materia Medica, 2024, 49(24)：6735−6745.
［32］SONG J H, WON S K, EOM G H, et al. Improvement effects of myelophil on symptoms of chronic fatigue syndrome in a reserpine-induced mouse model［J］. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(19)：10199.

[33] 齐庆文, 陈大琳, 郝家翔, 等. 生脉金刺梨饮对慢性疲劳综合征小鼠的影响[J]. 中国民族民间医药, 2023, 32(5): 19−22. [QI Qingwen, CHEN Dalin, HAO Jiaxiang, et al. Effects of Shengmai jincili Yin on chronic fatigue syndrome mice[J]. Chinese Journal of Ethnomedicine and Ethnopharmacy, 2023, 32(5): 19−22.]
[34] 刘长征, 雷波. 艾灸神阙穴对慢性疲劳综合征大鼠运动能力的影响[J]. 右江医学, 2022, 50(9): 653−656. [LIU Changzheng, LEI Bo. Effect of moxibustion at Shenque point on exercise capacity of rats with chronic fatigue syndrome[J]. Youjiang Medical Journal, 2022, 50(9): 653−656.]
[35] ZHANG Haijing, ZHAO Chunhui, HOU Jinli, et al. Red ginseng extract improves skeletal muscle energy metabolism and mitochondrial function in chronic fatigue mice[J]. Frontiers in Pharmacology, 2022, 13: 1077249.
[36] FAN Huijie, TAN Zhangbin, HUA Yue, et al. Deep sea water improves exercise and inhibits oxidative stress in a physical fatigue mouse model[J]. Biomedical Reports, 2016, 4(6): 751−757.
[37] 杨燕, 孙忠人, 冯楚文, 等. 基于蛋白组学探讨针刺治疗慢性疲劳综合征的作用机制[J]. 辽宁中医杂志, 2022, 49(5): 154−157. [YANG Yan, SUN Zhongren, FENG Chuwen, et al. Probing into mechanism of acupuncture treatment of chronic fatigue syndrome based on proteomics[J]. Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine, 2022, 49(5): 154−157.]
[38] ZHOU Yaping, WU Qi, YU Wen, et al. Gastrodin ameliorates exercise-induced fatigue *via* modulating Nrf2 pathway and inhibiting inflammation in mice[J]. Food Bioscience, 2023, 51: 102262.
[39] 李佩晨, 石李, 沈乎醒, 等. 基于 Th17/IL-17A 信号通路探究二冬消渴方缓解 2 型糖尿病相关干眼大鼠眼表炎症的机制[J]. 中医药信息, 2023, 40(5): 1−11,31. [LI Peichen, SHI Li, SHEN Huxing, et al. Mechanism of EDXKF in relieving ocular surface inflammation of type 2 diabetes related dry eyes in rats based on Th17/IL-17A signaling pathway[J]. Information on Traditional Chinese Medicine, 2023, 40(5): 1−11,31.]
[40] XIA Mengting, CUI Xing. p769: *Astragalus* polysaccharide regulates angiogenesis in patients with aplastic disorders by interfering with il17a expression[J]. HemaSphere, 2023, 7(S3): e98679c5.
[41] 袁健梅, 芦丹妮, 王佳俊, 等. 牛黄通过抑制 IL-17/IL-17RA/Act1 信号通路治疗溃疡性结肠炎的作用及机制研究[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(9): 2500−2511. [YUAN Jianmei, LU Danni, WANG Jiajun, et al. Effect and mechanism of Bovis *Calculus* on ulcerative colitis by inhibiting IL-17/IL-17RA/Act1 signaling pathway[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2023, 48(9): 2500−2511.]
[42] 沈烨琦, 王中秀, 谭静怡, 等. 白介素-17 诱导自噬促进破骨前体细胞分化的机制[J]. 浙江大学学报(医学版), 2021, 50(2): 162−170. [SHEN Yeqi, WANG Zhongxiu, TAN Jingyi, et al. TRAF6/ERK/p38 pathway is involved in interleukin-17-mediated autophagy to promote osteoclast precursor cell differentiation[J]. Journal of Zhejiang University (Medical Sciences), 2021, 50(2): 162−170.]
[43] 梁运特, 孙平良, 廖志远, 等. 安肠汤通过 TRAF6/IRAK1/NF-κB 信号通路对溃疡性结肠炎大鼠的抑制作用研究[J]. 西部中医药, 2023, 36(4): 1−7. [LIANG Yunte, SUN Pingliang, LIAO Zhiyuan, et al. Inhibitory effects of anchang decoction on rats with ulcerative colitis *via* TRAF6/IRAK1/NF-κB signaling pathway[J]. Western Journal of Traditional Chinese Medicine, 2023, 36(4): 1−7.]
[44] SAMAHA M M, NOUR O A, SEWILAM H M, et al. Diacerein mitigates adenine-induced chronic kidney disease in rats: Focus on TLR4/MYD88/TRAF6/NF-κB pathway[J]. Life Sciences, 2023, 331: 122080.
[45] YANG Pei, QIAN Feiya, ZHANG Mingfei, et al. Th17 cell pathogenicity and plasticity in rheumatoid arthritis[J]. Journal of Leukocyte Biology, 2019, 106(6): 1233−1240.
[46] MOJTABAVI S, SAED A, ABOULFAZLI S, et al. Evaluation of curcumin effect on Il6, Sirt1, TNFα and NFκB expression of liver tissues in diabetic mice with STZ[J]. Journal of Diabetes & Metabolic Disorders, 2023, 22(1): 205−215.
[47] LIU Chuhan, YAN Lu, QIAN Yiyun, et al. The extract of acanthopanacis cortex relieves the depression-like behavior and modulates IL-17 signaling in chronic mild stress-induced depressive mice[J]. Dose-response, 2023, 21(1): 15593258221148817.
[48] GADO S E, EL-KHOULY R M, AHMAD A M, et al. The association between IL17, fatigue and quality of life in psoriatic arthritis patients[J]. Expert Review of Clinical Immunology, 2021, 17(5): 539−544.
[49] 李湖帆, 钟琴, 马武开, 等. 苗药金乌健骨胶囊对胶原诱导关节炎模型大鼠肠道、滑膜炎症及 IL-17α/TRAF6/NF-κB 信号通路的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2023, 43(8): 1379−1387. [LI Hufan, ZHONG Qin, MA Wukai, et al. Effects of Jinwu Jiangu Capsule, the Miao medicine, on intestinal and synovial inflammation and IL-17α/TRAF6/NF-κB signaling pathway in rats with collagen-induced arthritis[J]. Journal of Traditional Chinese Medicine University of Hunan, 2023, 43(8): 1379−1387.]
[50] 钟晓玲, 童伯瑛, 惠倩倩, 等. 针灸治疗慢性疲劳综合征的机制研究进展与思考[J]. 世界中医药, 2023, 18(24): 3603−3607. [ZHONG Xiaoling, TONG Baying, HUI Qianqian, et al. Research progress and reflection on the mechanisms of acupuncture and moxibustion treatment for chronic fatigue syndrome[J]. World Chinese Medicine, 2023, 18(24): 3603−3607.]
[51] 谢亚娜, 嵇波, 张琴, 等. 电针对肝郁脾虚型慢性疲劳综合征大鼠血清炎症因子及肠道菌群的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2021, 28(11): 63−68. [XIE Yana, JI Bo, ZHANG Qin, et al. Effects of electroacupuncture on serum inflammatory cytokines and intestinal flora in chronic fatigue syndrome rats with liver depression and spleen deficiency[J]. Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine, 2021, 28(11): 63−68.]
[52] 张翼飞, 吴凤芝, 张泽涵, 等. 基于数据挖掘和网络药理学探讨慢性疲劳综合征的中药处方用药规律及潜在作用机制[J]. 现代中医临床, 2022, 29(1): 51−59. [ZHANG Yifei, WU Fengzhi, ZHANG Zehan, et al. TCM prescription rules and potential mechanism of chronic fatigue syndrome based on data mining and network pharmacology[J]. Modern Chinese Clinical Medicine, 2022, 29(1): 51−59.]
[53] 刘飞祥, 林子璇, 张怀亮, 等. 人参抗疲劳的作用机制和潜在靶点研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(24): 5479−5487. [LIU Feixiang, LIN Zixuan, ZHANG Huailiang, et al. Analysis of anti-fatigue mechanism and potential targets of ginseng[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2019, 44(24): 5479−5487.]
[54] 李颖, 张霄峰, 赵敏, 等. 化瘀宁坤汤对盆腔炎大鼠 TLR4/NFκB/COX2 信号通路及炎症反应的影响[J]. 长春中医药大学学报, 2022, 38(2): 165−170. [LI Ying, ZHANG Xiaofeng, ZHAO Min, et al. Effects of Huayu Ningkun Decoction on the TLR4/NF-κB/COX2 signaling pathway and inflammatory responses in rats with the pelvic inflammatory disease[J]. Journal of Changchun University of Traditional Chinese Medicine, 2022, 38(2): 165−170.]