

# 基于网络药理学和分子对接的玉屏风散预防新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 活性化合物的研究

詹群璋<sup>1</sup>, 黄英杰<sup>1</sup>, 林树红<sup>1</sup>, 褚庆民<sup>2\*</sup>

1. 广州中医药大学第一临床医学院, 广东 广州 510405

2. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405

**摘要:** **目的** 采用网络药理学和分子对接技术探寻玉屏风散预防新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 的活性化合物, 以期将其更好地应用于临床。 **方法** 在中药系统药理学分析平台 (TCMSP) 网站检索玉屏风散中黄芪、白术、防风 3 味中药的全部有效成分及作用靶点, 通过 String 数据库生成玉屏风散的蛋白与蛋白相互作用 (PPI) 网络, 用 Cytoscape 3.6.1 软件进行数据分析提取 PPI 网络中的 Hub 网络, 通过 String 数据库的 analysis 功能进行 KEGG 通路分析, 用 ChemOffice、PyMOL、Auto Dock 软件进行分子对接。 **结果** 限定筛选条件为口服生物利用度 (OB)  $\geq 30\%$ 、类药性 (DL)  $\geq 0.18$  共得到 45 个活性成分, 筛选得到玉屏风散的潜在靶点 345 个, 关键靶点共 15 个, 通过 KEGG 通路分析得到 50 条通路, 筛选得到 25 条主要通路, 包含 PI3K-Akt 信号通路、Ras 信号通路、HIF-1 信号通路、MAPK 信号通路和 T 细胞受体信号通路等。 **结论** 玉屏风散中的活性化合物能通过抑制新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 蛋白与血管紧张素转化酶 II (ACE2) 结合, 作用于 PIK3R1、IGF1R 等靶点, 调节多条信号通路, 起到预防 COVID-19 的作用。

**关键词:** 玉屏风散; 新型冠状病毒; 新型冠状病毒肺炎; 网络药理学; 分子对接; 槲皮素; 山柰酚; 异鼠李素; 表儿茶素; 熊竹素

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)07-1731-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.07.007

## Study on active compounds of Yupingfeng San for prevention of coronavirus disease 2019 (COVID-19) based on network pharmacology and molecular docking

ZHAN Qun-zhang<sup>1</sup>, HUANG Ying-jie<sup>1</sup>, LIN Shu-hong<sup>1</sup>, CHU Qing-min<sup>2</sup>

1. First School of Clinical Medicine, Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510405, China

2. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China

**Abstract:** **Objective** To find out the active compounds of Yupingfeng San for the prevention and treatment of the coronavirus pneumonia disease 2019 (COVID-19) using network pharmacology and molecular docking, with a purpose to find a better clinical use of Yupingfeng San. **Methods** The effective ingredients and targets of *Astragali Radix*, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* and *Saposhnikovia Radix* were searched from the traditional Chinese medicine system pharmacology analysis platform (TCMSP) website, and the protein and protein interactive network of Yupingfeng San was established using the String database (PPI). Cytoscape 3.6.1 software was used for data analysis to extract the Hub network from the PPI network. The KEGG pathway analysis was performed using the String database and the molecular docking was performed using ChemOffice, PyMOL, and Auto Dock software. **Results** A total of 45 effective ingredients were obtained with limited screening conditions [oral bioavailability (OB)  $\geq 30\%$ ; drug-like (DL)  $\geq 0.18$ ], and 345 potential targets and 15 key targets of Yupingfeng San were screened. A total of 50 pathways were obtained by KEGG pathway analysis, among which 25 main pathways were selected, including PIK3R1 target regulation PI3K-Akt signaling pathway, Ras signaling pathway, HIF-1 signaling pathway, and MAPK signaling pathways and T cell receptor signaling pathways. **Conclusion** The active compounds in Yupingfeng San can inhibit the combination between SARS-CoV-2 protein and angiotensin-converting enzyme II (ACE2), thus regulating multiple signal pathways (PIK3R1, IGF1R, etc), which plays a role in the prevention of COVID-19.

收稿日期: 2020-02-19

基金项目: 广州中医药大学第一临床医学院创新强院团队孵化计划 (2018XXDT01)

作者简介: 詹群璋, 本科生, 研究方向为中医学。E-mail: 904633026@qq.com

\*通信作者 褚庆民, 主治医师, 医学博士。Tel: 13929504676 E-mail: 13929504676@163.com

**Key words:** Yupingfeng San; SARS-CoV-2; COVID-19; network pharmacology; molecular docking; quercetin; kaempferol; isorhamnetin; epicatechin; jaranol

2019 年 12 月,新型冠状病毒肺炎(COVID-19)疫情在武汉爆发并迅速传播,这种新型冠状病毒被命名为 SARS-CoV-2<sup>[1]</sup>。SARS-CoV-2 具有传染性强、潜伏期长等特点<sup>[2-3]</sup>,感染患者常见体征为呼吸道症状,发热、咳嗽、气促和呼吸困难等,严重者可致肺炎、严重急性呼吸综合征、肾衰竭,甚至死亡。目前对于 SARS-CoV-2 所致疾病仍没有特异治疗方法<sup>[4-6]</sup>,且运用常规的抗病毒化学药物治疗可能会给患者造成后遗症<sup>[7]</sup>。而中医具有整体观、辨证论治等特点,可以根据 COVID-19 的临床证候进行治疗,因此各地区陆续发布中医药防治 COVID-19 的方案。从收集到的各省市卫生健康委员会、中医药管理局、中医医院预防方 93 首中发现,各地预防处方的核心药物包括黄芪、防风、白术、金银花、连翘、藿香、陈皮、苍术、桔梗、甘草<sup>[8]</sup>,功效以补虚、清热、化湿为主,从应用方剂上来看,其中以黄芪、白术、防风组方的“玉屏风散”应用最为广泛。如《湖北省中医院新型冠状病毒肺炎中医药防治方案(第三版)》推荐的病毒性肺炎及流感的预防方便是在玉屏风为主方基础上加味,江西省、陕西省同样如此<sup>[9-11]</sup>。全国各省、直辖市、自治区公布的预防、治疗 COVID-19 方案中大多采用玉屏风散加减预防 COVID-19<sup>[12-13]</sup>。

玉屏风散出自朱丹溪《丹溪心法》,由黄芪、白术、防风 3 味药组成,具有补益肺气、固表止汗之功效,临床常用于治疗过敏性鼻炎、上呼吸道感染属表虚不固而外感风邪者<sup>[14]</sup>,体现中医“祛邪扶正”的基本原则。方中黄芪甘温,内补脾肺之气,外可固表止汗,为君药;白术健脾益气,助黄芪以加强益气固表之功,为臣药;佐以防风走表而散风邪,合黄芪、白术以益气祛邪。全方有补中寓疏,散中寓补之意<sup>[15]</sup>。现代临床及药理研究显示,玉屏风散具有防治呼吸道感染的作用,临床上主要用于呼吸道感染,且玉屏风散具有调节细胞因子,升高 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>等作用,能增强患者的免疫力<sup>[16-18]</sup>。

网络药理学是基于系统生物学的理论,对生物系统的网络分析,选取特定信号节点进行多靶点药物分子设计的新学科。网络药理学强调药物对信号通路的多途径调节,筛选有效的靶点,从而提高新药临床试验的成功率,节省药物的研发费用<sup>[19]</sup>。分

子对接是通过受体的特征以及受体和药物分子之间的相互作用方式来进行药物设计的方法,主要研究分子间相互作用,并预测其结合模式和亲和力<sup>[20-21]</sup>。据文献报道<sup>[22-23]</sup>, SARS-CoV-2 蛋白与人体内血管紧张素转化酶 II (ACE2) 具有显著亲和力,两者结合导致病毒侵入机体而致病,故本研究选取 SARS-CoV-2 3CL 水解酶(3CLpro)和 ACE2 进行分子对接,从分子角度进一步验证玉屏风散的预防效果;运用网络药理学方法获取玉屏风散的潜在靶点,进一步富集分析,得到玉屏风散的核心活性化合物,最后进行分子对接,预测玉屏风散预防 COVID-19 的作用机制,为玉屏风散防治 COVID-19 提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 玉屏风散的成分收集

借助中药系统药理学分析平台(TCMSP)(<http://tcmsp.com/>),以“白术”“防风”“黄芪”为关键词检索玉屏风散中的化学成分,根据 TCMSP 数据库提供活性成分筛选标准([http://tcmsp.com/load\\_intro.php?id=29](http://tcmsp.com/load_intro.php?id=29)),以口服生物利用度(OB)≥30%、类药性(DL)≥0.18 为活性成分的筛选条件,筛选出符合条件的活性成分,保存其成分的详细信息。

### 1.2 活性化合物及靶标蛋白的筛选

从 Pubchem 中检索筛选出玉屏风散的活性成分,找出其对应的 smile 号,保存为 SDF 文件,上传至 SwissTargetPrediction 数据库(<http://www.swisstargetprediction.ch/>),基于反向分子对接原理,依据成分的 2D/3D 结构进行靶点预测,得到玉屏风散的预测靶点。

### 1.3 靶标蛋白基因名的确定及化合物-靶点网络的构建

将玉屏风散的预测靶点信息导入 String 数据库,设定物种为“Homo sapiens”,获取全部蛋白-蛋白相互作用(PPI)关系,通过 Cytoscape (3.6.1)(<http://www.cytoscape.org/>)软件,构建化合物-靶点网络,分析化合物和靶点网络。

### 1.4 Hub 网络的提取

通过 Cytoscape (3.6.1) 软件 Tools 模块中 NetworkAnalyzer-Network Analysis-Analyze Network 进行网络分析获取相关拓扑参数,首先选取节点连

接度 (degree) 的 2 倍中位数为筛选标准, 其次以节点介度 (betweenness)、节点紧密度 (closeness) 和邻域连通性 (neighborhood connectivity) 的中位数作为筛选依据, 提取出 Hub 网络。

### 1.5 靶点的通路分析

为了进一步了解上述筛选出的靶标蛋白基因的功能及在信号通路中的作用, 将筛选得到的玉屏风散作用靶点导入 String 数据库 (<https://string-db.org/>), 通过输入靶基因名称列表并限定物种为人, 进行 GO (gene ontology) 生物学过程 (BP)、分子功能 (MF) 富集分析和 KEGG (Kyoto encyclopedia of genes and genomes) 信号通路富集分析, 并用在线绘图网站 Omishare Tools (<http://www.omicshare.com/tools/index.php/>) 将其结果可视化。

### 1.6 成分-靶点分子对接

先用 ChemOffice 软件构建化合物的 3D 结构保存为 mol2 格式并使其能量最小化。从 PDB 数据 (<https://www.rcsb.org/>) 下载 3CLpro 和 ACE2 的 3D 结构 PDB 格式, 运用 PyMOL 软件对蛋白质进行去水、加氢等操作, 利用 Auto Dock 软件将化合物及靶蛋白格式转换为 pdbqt 格式, 最后运行 Vina 进行对接。结合能小于 0 说明配体与受体可以自发结合。

## 2 结果

### 2.1 活性化合物的筛选

通过 TCMSP, 以  $OB \geq 30\%$  且  $DL \geq 0.18$  检索得到黄芪、防风、白术活性化合物共 45 个, 其中 20 个来自黄芪, 7 个来自白术, 18 个来自防风。筛

选后的玉屏风散活性化合物基本信息见表 1。

### 2.2 化合物-靶点相互作用网络

在 SwissTargetPrediction 数据库中筛选得 43 种活性化合物, 依据成分的 2D/3D 结构进行靶点预测, 筛选出 345 个靶点作为玉屏风散的预测靶点。在 Cytoscape 3.6.1 软件中导入玉屏风散的活性成分与相关的靶点, 构建玉屏风散化合物-靶点网络, 见图 1。

### 2.3 PPI 及 Hub 网络构建

把 345 个玉屏风散的靶点导入 String 数据库形成 PPI 关系。选取度的 2 倍中位数及节点介度、节点紧密度、邻域连通性的中位数作为筛选依据, 通过 Cytoscape 3.6.1 软件, 得到 Hub 中的靶标, 即玉屏风散发挥作用的关键靶点, 绘出玉屏风散的 PPI 及 Hub 网络, 见图 2。

将度的 2 倍中位数作为筛选依据, 得核心靶点 15 个。按照度值, Hub 网络从大到小排序分别为 AR、KDR、MCL1、MMP2、PIK3R1、IL2、CDK1、ABCG2、IGF1R、APP、MET、ABCB1、PARP1、CYP19A1、PLG。

### 2.4 玉屏风散和核心靶点的交集化合物

玉屏风散中不同药材存在相同的活性化合物, 通过在线韦恩图 (图 3) 求得, 表儿茶素为黄芪、白术所共有; 槲皮素、山柰酚、表儿茶素、毛蕊异黄酮、刺芒柄花素、 $\beta$ -谷甾醇、谷甾醇、异鼠李素、熊竹素为核心靶点所属化合物, 其所对应的核心靶点个数见图 4。其中排名前 5 的化合物为槲皮素、山柰酚、异鼠李素、表儿茶素、熊竹素。

表 1 玉屏风散中部分活性化合物基本信息

Table 1 Basic information of some active compounds in Yupingfeng San

| 药材 | 编号        | 化学成分                                                                                                          | OB/%  | DL   | 相对分子质量 |
|----|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|------|--------|
| 防风 | MOL000011 | (2R,3R)-3-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)-5-methoxy-2-methylol-2,3-dihydropyrano [5,6-H] [1,4] benzodioxin-9-one | 68.83 | 0.66 | 386.38 |
|    | MOL011730 | 11-hydroxy-sec-O-beta-d-glucosylhamaudol_qt                                                                   | 50.24 | 0.27 | 292.31 |
|    | MOL011732 | 川白芷内酯 (anomalin)                                                                                              | 59.65 | 0.66 | 426.50 |
|    | MOL011737 | divaricataacid                                                                                                | 87.00 | 0.32 | 320.32 |
|    | MOL011740 | divaricatol                                                                                                   | 31.65 | 0.38 | 334.35 |
|    | MOL001941 | ammidin                                                                                                       | 34.55 | 0.22 | 270.30 |
|    | MOL011747 | 色酮醇 (Iedebouriellol)                                                                                          | 32.05 | 0.51 | 374.42 |
|    | MOL011749 | 珊瑚菜内酯 (phelloptorin)                                                                                          | 43.39 | 0.28 | 300.33 |
|    | MOL011753 | 5-O-甲基具阿米醇 (5-O-methylvisamminol)                                                                             | 37.99 | 0.25 | 290.34 |
|    | MOL002644 | 珊瑚菜素 (phellopterin)                                                                                           | 40.19 | 0.28 | 300.33 |
|    | MOL000359 | 谷甾醇 (sitosterol)                                                                                              | 36.91 | 0.75 | 414.79 |

续表 1

| 药材 | 编号        | 化学成分                                                                                                                                                                                                                                                   | OB/%   | DL   | 相对分子质量 |
|----|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|------|--------|
| 防风 | MOL000173 | 汉黄芩素 (wogonin)                                                                                                                                                                                                                                         | 30.68  | 0.23 | 284.28 |
|    | MOL000358 | $\beta$ -谷甾醇 (beta-sitosterol)                                                                                                                                                                                                                         | 36.91  | 0.75 | 414.79 |
|    | MOL001494 | mandenol                                                                                                                                                                                                                                               | 42.00  | 0.19 | 308.56 |
|    | MOL001942 | 异欧前胡素 (isoimperatorin)                                                                                                                                                                                                                                 | 45.46  | 0.23 | 270.30 |
|    | MOL003588 | 别欧前胡素 (prangenidin)                                                                                                                                                                                                                                    | 36.31  | 0.22 | 270.30 |
|    | MOL007514 | methyl icos-11,14-dienoate                                                                                                                                                                                                                             | 39.67  | 0.23 | 322.59 |
|    | MOL013077 | 紫花前胡素 (decursin)                                                                                                                                                                                                                                       | 39.27  | 0.38 | 328.39 |
| 黄芪 | MOL000211 | 白桦脂酸 (mairin)                                                                                                                                                                                                                                          | 55.38  | 0.78 | 456.78 |
|    | MOL000239 | 熊竹素 (jaranol)                                                                                                                                                                                                                                          | 50.83  | 0.29 | 314.31 |
|    | MOL000296 | 常春藤皂苷元 (hederagenin)                                                                                                                                                                                                                                   | 36.91  | 0.75 | 414.79 |
|    | MOL000033 | (3 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>R</i> ,13 <i>R</i> ,14 <i>S</i> ,17 <i>R</i> )-10,13-dimethyl-17-[(2 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )-5-propan-2-yl]octan-2-yl]-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1 <i>H</i> -cyclopenta [a] phenanthren-3-ol | 36.23  | 0.78 | 428.82 |
|    | MOL000354 | 异鼠李素 (isorhamnetin)                                                                                                                                                                                                                                    | 49.60  | 0.31 | 316.28 |
|    | MOL000371 | 3,9-di- <i>O</i> -methylnissolin                                                                                                                                                                                                                       | 53.74  | 0.48 | 314.36 |
|    | MOL000374 | 5'-hydroxyiso-muronulatol-2',5'-di- <i>O</i> -glucoside                                                                                                                                                                                                | 41.72  | 0.69 | 642.67 |
|    | MOL000378 | 7- <i>O</i> -methylisomucronulatol                                                                                                                                                                                                                     | 74.69  | 0.30 | 316.38 |
|    | MOL000379 | 9,10-dimethoxypterocarpan-3- <i>O</i> - $\beta$ - <i>D</i> -glucoside                                                                                                                                                                                  | 36.74  | 0.92 | 462.49 |
|    | MOL000380 | (6 <i>aR</i> ,11 <i>aR</i> )-9,10-dimethoxy-6 <i>a</i> ,11 <i>a</i> -dihydro-6 <i>H</i> -benzofurano[3,2- <i>C'</i> ]chromen-3-ol                                                                                                                      | 64.26  | 0.42 | 300.33 |
|    | MOL000387 | 联苯双酯 (bifendate)                                                                                                                                                                                                                                       | 31.10  | 0.67 | 418.38 |
|    | MOL000392 | 刺芒柄花素 (formononetin)                                                                                                                                                                                                                                   | 69.67  | 0.21 | 268.28 |
|    | MOL000398 | 异黄烷酮 (isoflavanone)                                                                                                                                                                                                                                    | 109.99 | 0.30 | 316.33 |
|    | MOL000417 | 毛蕊异黄酮 (calycosin)                                                                                                                                                                                                                                      | 47.75  | 0.24 | 284.28 |
|    | MOL000422 | 山柰酚 (kaempferol)                                                                                                                                                                                                                                       | 41.88  | 0.24 | 286.25 |
|    | MOL000433 | 叶酸 (folic acid)                                                                                                                                                                                                                                        | 68.96  | 0.71 | 441.45 |
|    | MOL000438 | (3 <i>R</i> )-3-(2-hydroxy-3,4-dimethoxyphenyl)chroman-7-ol                                                                                                                                                                                            | 67.67  | 0.26 | 302.35 |
|    | MOL000439 | isomucronulatol-7,2'-di- <i>O</i> -glucosiole                                                                                                                                                                                                          | 49.28  | 0.62 | 626.67 |
|    | MOL000442 | 1,7-dihydroxy-3,9-dimethoxy pterocarpene                                                                                                                                                                                                               | 39.05  | 0.48 | 314.31 |
|    | MOL000098 | 槲皮素 (quercetin)                                                                                                                                                                                                                                        | 46.43  | 0.28 | 302.25 |
| 白术 | MOL000020 | 12-千里光酰基-8-反式白术三醇 (12-senecieryl-2 <i>E</i> ,8 <i>E</i> ,10 <i>E</i> -atractylentriol)                                                                                                                                                                 | 62.40  | 0.22 | 312.39 |
|    | MOL000021 | 14-乙酰基各里光酰基-8-反式白术三醇 (14-acetyl-12-senecieryl-2 <i>E</i> ,8 <i>E</i> ,10 <i>E</i> -atractylentriol)                                                                                                                                                    | 60.31  | 0.31 | 355.44 |
|    | MOL000022 | 14-乙酰基-12-千里光酰基-8-顺式折术三醇 (14-acetyl-12-senecieryl-2 <i>E</i> ,8 <i>Z</i> ,10 <i>E</i> -atractylentriol)                                                                                                                                                | 63.37  | 0.3  | 356.45 |
|    | MOL000028 | $\alpha$ -香树脂醇 ( $\alpha$ -amyrin)                                                                                                                                                                                                                     | 39.51  | 0.76 | 426.80 |
|    | MOL000033 | (3 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>R</i> ,13 <i>R</i> ,14 <i>S</i> ,17 <i>R</i> )-10,13-dimethyl-17-[(2 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )-5-propan-2-yl]octan-2-yl]-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1 <i>H</i> -cyclopenta [a] phenanthren-3-ol | 36.23  | 0.78 | 428.82 |
|    | MOL000049 | 3 $\beta$ -乙酰氧基苍术酮 (3 $\beta$ -acetoxyatractylone)                                                                                                                                                                                                     | 54.07  | 0.22 | 274.39 |
|    | MOL000072 | 8 $\beta$ -乙氧基白术内酯 III (8 $\beta$ -ethoxy atractylenolide III)                                                                                                                                                                                         | 35.95  | 0.21 | 276.41 |

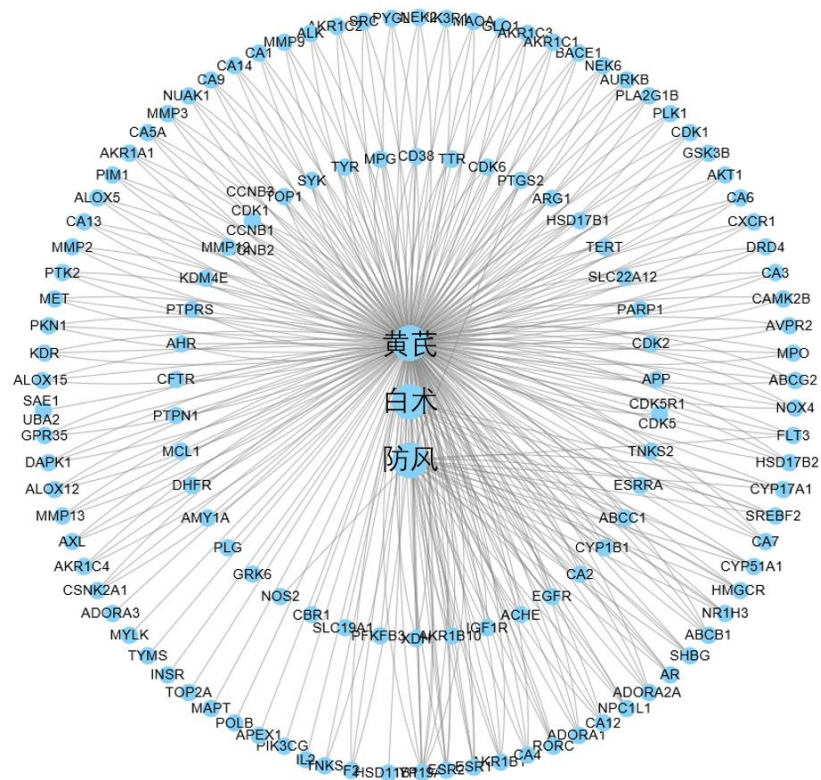


图 1 玉屏风散药材-靶点网络

Fig. 1 Herbs-target network of Yupingfeng San

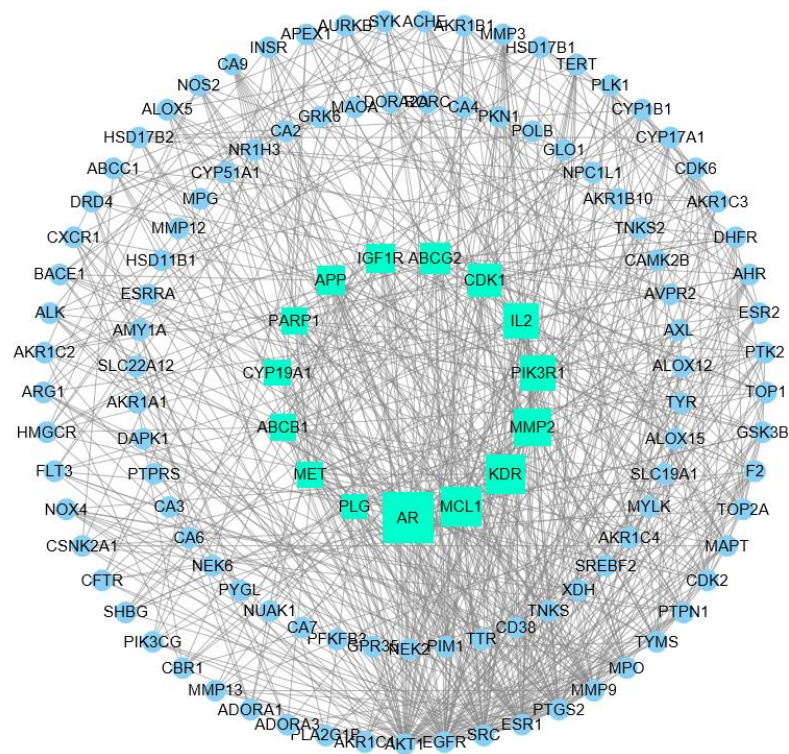


图 2 玉屏风散的 PPI 及 Hub 网络

Fig. 2 PPI and Hub network of Yupingfeng San

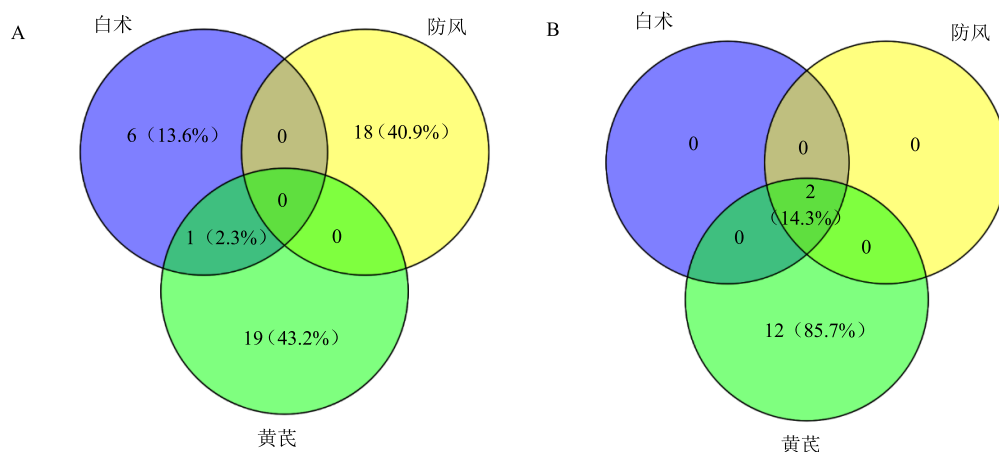


图 3 玉屏风散中交集化合物 (A) 和核心靶点所对应化合物的交集 (B) 分布

Fig. 3 Distribution of intersection compounds (A) and compounds belonging to core target (B) in Yupingfeng San

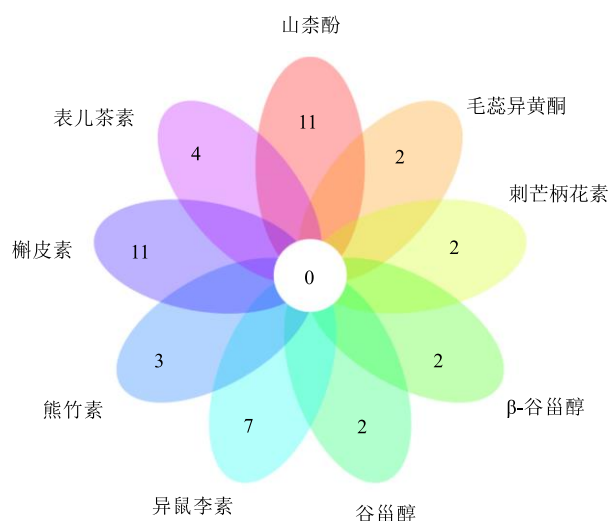


图 4 化合物所对应核心靶点花瓣图

Fig. 4 Petals diagram of core targets corresponding to compounds

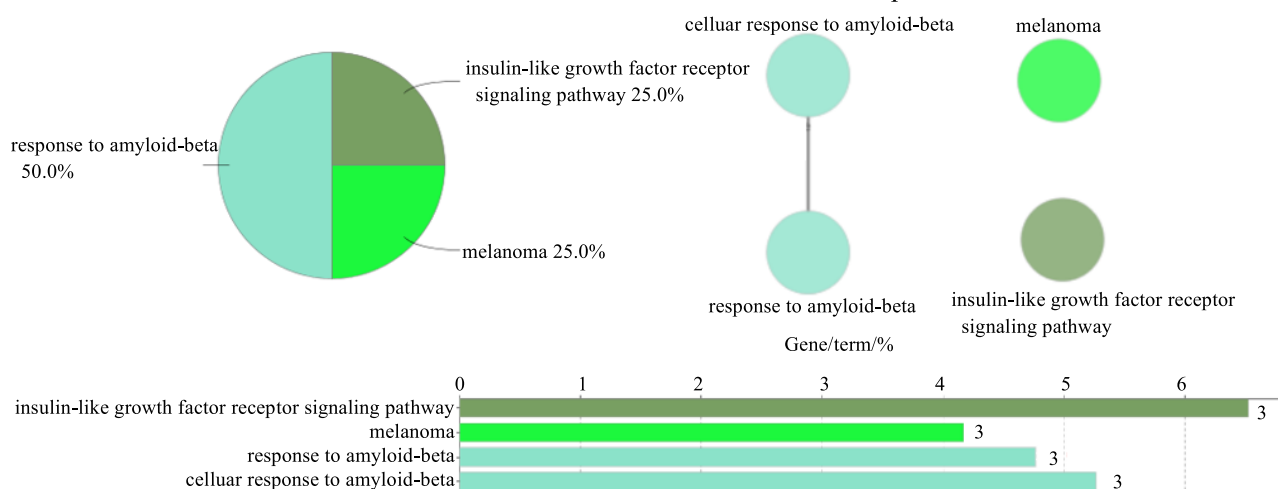


图 5 ClueGO 分析

Fig. 5 ClueGO analysis

## 2.5 GO 富集分析和 KEGG 通路分析

应用 Cytoscape 3.6.0 中的 ClueGO 插件进行 GO 富集中的 BP、MF 分析和 KEGG 通路分析, 将通路值限定为  $P \leq 0.05$ , 得到 4 个功能组别 (图 5)。结果显示, 其主要富集在胰岛素样生长因子受体信号通路 (insulin-like growth factor receptor signaling pathway)、淀粉样  $\beta$  蛋白反应 (response to amyloid-beta)、细胞对淀粉样蛋白的反应 (cellular response to amyloid-beta)、黑素瘤 (melanoma) 等。

将核心靶标导入 String 数据库, 并限定物种为人, 进行 BP、MF 富集分析和 KEGG 信号通路富集分析, 得到 GO 条目 321 个, 其中 BP 276 个、MF 45 个。通过 KEGG 通路富集筛选得到 25 条, 见图 6。

## 2.6 分子对接结果分析

将玉屏风散中排序前 5 的核心活性化合物与 SARS-CoV-2 3CLpro 和 ACE2 进行分子对接, 一般



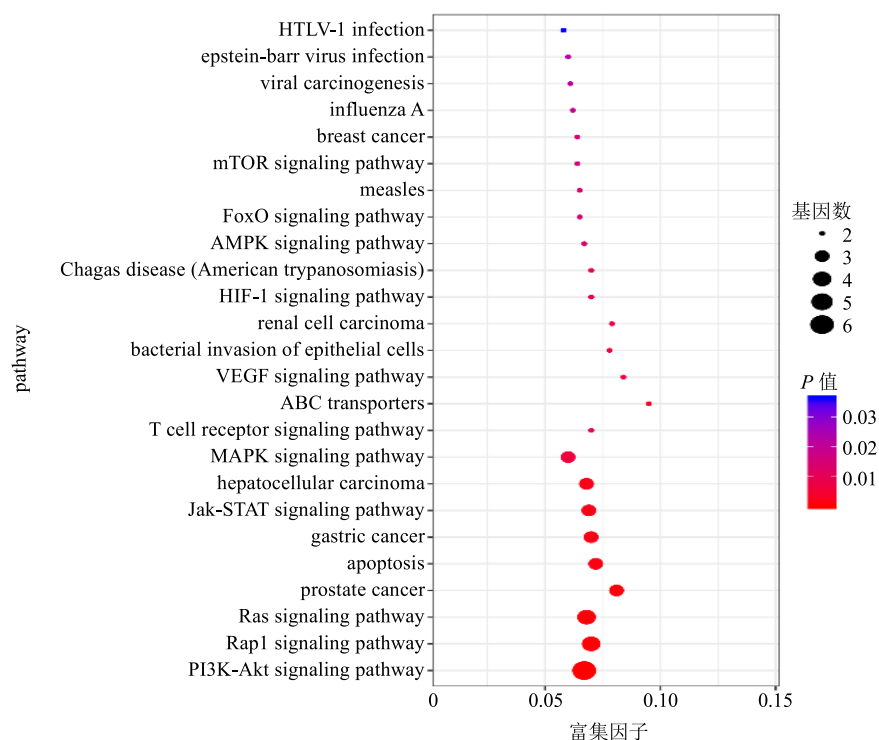


图 6 玉屏风散作用核心靶点 KEGG 富集分析的 25 条通路

Fig. 6 Twenty-five pathways of core targets of Yupingfeng San by KEGG enrichment analysis

认为配体与受体结合的构象稳定时能量越低，发生的作用可能性越大。分子对接结果显示玉屏风散中核心活性化合物与 SARS-CoV-2 3CLpro 的分子对接结合能远大于 0，和 ACE2 的分子对接结合能小于 0，由此表明玉屏风散中核心活性化合物与 3CLpro 不能较好地结合，和 ACE2 有较好的结合活性，结果见表 2 和图 7。

### 3 讨论

《黄帝内经》<sup>[24]</sup>曰：“正气存内，邪不可干”。在很早的时期，中医便重视“正气”，认识到正气是

抵御外邪入侵的重要因素。COVID-19 属中医学疫病范畴，《肘后备急方》中言：“岁中有疠气，兼夹鬼毒相注”，即认为本病是外感乖戾之气而得，当其侵犯人体时，正气必然会与之斗争，从而祛邪不致患病。同时，在诊疗过程中，正气也是促使患者抵抗病毒，恢复健康的重要因素，与现代医学的免疫力、抗体、康复能力等相似。结合以往研究发现，服用玉屏风散组的急性脑血管病住院患者相对于未服用组，其医院获得性肺炎未发生率从 56.25% 升高至 82.14%<sup>[25]</sup>，表明玉屏风散提高免疫功能作用显

表 2 玉屏风散中核心化合物分子对接的结合能

Table 2 Binding energies of core compound molecules in Yupingfeng San

| 编号        | 化合物  | 化学式                                            | 相对分子质量 | CAS 号                          | 结合蛋白   | 结合能/(kJ·mol <sup>-1</sup> ) |
|-----------|------|------------------------------------------------|--------|--------------------------------|--------|-----------------------------|
| MOL000422 | 山柰酚  | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub> | 428.70 | 520-18-3                       | 3CLpro | 29.2                        |
|           |      |                                                |        |                                | ACE2   | -4.3                        |
| MOL000098 | 槲皮素  | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub> | 302.23 | 73123-10-1、74893-81-5、117-39-5 | 3CLpro | 34.2                        |
|           |      |                                                |        |                                | ACE2   | -4.5                        |
| MOL000354 | 异鼠李素 | C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub> | 316.26 | 480-19-3                       | 3CLpro | 30.0                        |
|           |      |                                                |        |                                | ACE2   | -4.4                        |
| MOL000033 | 表儿茶素 | C <sub>30</sub> H <sub>52</sub> O              | 428.70 | 64997-52-0                     | 3CLpro | 75.2                        |
|           |      |                                                |        |                                | ACE2   | -4.5                        |
| MOL000239 | 熊竹素  | C <sub>17</sub> H <sub>14</sub>                | 314.29 | 3301-49-3                      | 3CLpro | 43.2                        |
|           |      |                                                |        |                                | ACE2   | -4.4                        |

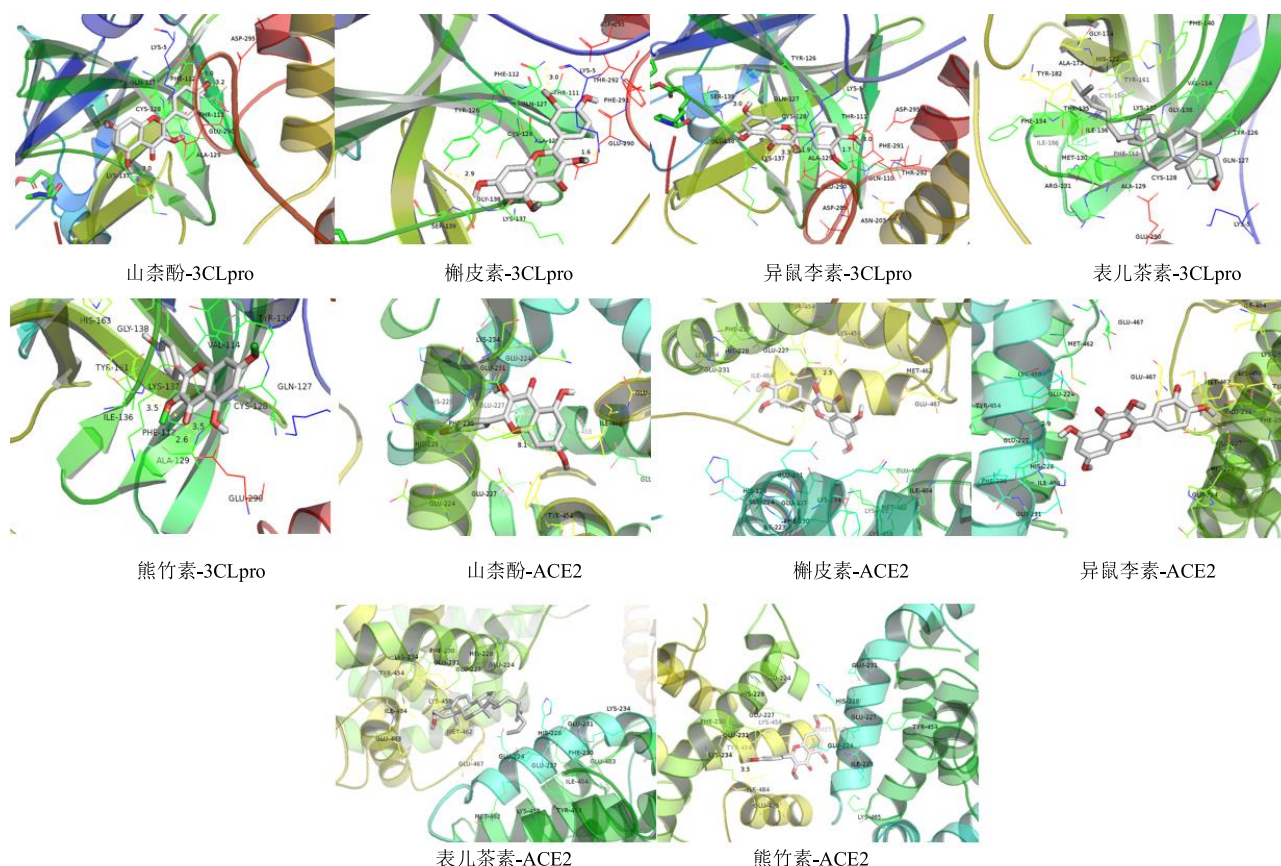


图 7 玉屏风散中核心活性化合物与 SARS-CoV-2 3CLpro 和 ACE2 的分子对接模式

Fig. 7 Molecular docking diagram of SARS-CoV-2 3CLpro with core compounds of Yupingfeng San

著；另有动物实验显示，预防性给药玉屏风散对人偏肺病毒在小鼠肺内复制水平和炎性病理损害有明显的抑制作用<sup>[26]</sup>。因此，作为中医益气固表代表方的玉屏风散，在预防疫病中有重要的地位。在此次 COVID-19 疫情的临床用药中，玉屏风散主要用于健康人体、体弱及密切接触患者的人群的预防，以及 COVID-19 患者畏寒怕冷、体质偏弱等的治疗。

根据 KEGG 对信号通路的分类，将得到的信号通路分成 2 部分，一部分是疾病通路（即 KEGG 中属于 Human Diseases 部分的通路），另一部分是其他通路。研究结果显示排在前面的大部分是感染类疾病（infectious diseases），图 6 结果表明玉屏风散的靶标富集的通路包括了与 COVID-19 感染源类似（即病毒感染）的疾病如南美锥虫病、EB 病毒、甲型流感、HTLV-I 感染、麻疹；与 COVID-19 致病特点（破坏人体免疫功能）类似的疾病如胃癌、肾细胞癌、乳腺癌等<sup>[27-29]</sup>。说明玉屏风散可能对病毒感染及肺部损伤有一定的作用。其他通路中多数通路，如 PI3K-Akt 信号通路、Ras 信号通路、HIF-1 信号

通路、MAPK 信号通路等是和免疫反应、炎症反应相关的信号通路<sup>[30-32]</sup>，说明玉屏风散可能对调节免疫、消除炎症具有一定的作用。

从分子对接分析结果可知，玉屏分散中 5 个核心化合物与 SARS-CoV-2 3CLpro 叠合效果较差，和 ACE2 的结合能较接近，结合效果较好。据文献报道<sup>[22-23]</sup>，SARS-CoV-2 蛋白与人体内 ACE2 具有显著亲和力，导致病毒侵入机体而致病，据分子对接结果推测玉屏分散可能通过抑制 ACE2 与 SARS-CoV-2 的表达蛋白结合，发挥防治效果。KEGG 分析得出的与传染性疾病相关通路中均涉及 PIK3R1 靶点；与免疫和炎症相关通路中均涉及 IGF1R 靶点，且均是山奈酚和槲皮素的作用靶点。玉屏风散中核心活性化合物是否通过作用于 PIK3R1 靶点调节 PI3K-Akt 信号通路、Ras 信号通路、HIF-1 信号通路、MAPK 信号通路和 T 细胞受体信号通路等通路，从而起到抗 COVID-19 的作用需要进一步研究。

综上所述，本研究应用网络药理学和分子对接的方法对玉屏风散中化学成分、作用靶点和其核心



活性化合物以及与 SARS-CoV-2 3CLpro 和 ACE2 结合能进行了探索性研究,结果显示玉屏风散通过多靶点、多通路发挥防治 COVID-19 的作用。鉴于网络药理学和分子对接的局限性,玉屏风散防治 COVID-19 的效果有待临床进一步研究。

#### 参考文献

- [1] 姚 璜, 杨盛力, 魏守蓉. 新形势下应对新型冠状病毒, 防控为首 [J/OL]. 医药导报, [2020-02-14]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/42.1293.R.20200211.2022.005.html>.
- [2] 周 红, 胡晓红, 黄 潇, 等. 新型冠状病毒肺炎疫情影响下治疗药物监测实验室的感染防控策略 [J/OL]. 医药导报, [2020-02-16]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/42.1293.R.20200210.2219.006.htm>.
- [3] 宋 杲, 成梦群, 魏贤文. 新型冠状病毒 (COVID-19) 治疗药物体内外研究及药物研发进展 [J/OL]. 病毒学报, [2020-02-16]. <https://doi.org/10.13242/j.cnki.bingduxuebao.003646>.
- [4] 王凌航. 新型冠状病毒感染的特征及应对 [J/OL]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, [2020-02-14]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.9284.r.20200212.1113.002.html>.
- [5] 李 婧, 马小兵, 沈 杰, 等. 基于文献挖掘与分子对接技术的抗新型冠状病毒中药活性成分筛选 [J]. 中草药, 2020, 51(4): 845-850.
- [6] 范逸品, 王燕平, 张华敏, 等. 试析从寒疫论治新型冠状病毒 (COVID-19) 感染的肺炎 [J/OL]. 中医杂志, [2020-02-16]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2166.R.20200206.1519.007.html>.
- [7] 鲁京硕. 传染性非典型肺炎后遗症的治疗体会 [J]. 中华中医药杂志, 2007, 22(10): 732-733.
- [8] 蒋燕君, 连妍洁, 李 君, 等. 基于数据挖掘的各地区中医药预防新型冠状病毒感染的肺炎组方用药规律研究 [J]. 世界中医药, [2020-02-23]. <http://cnki.gzzzy.qfcl.com:2222/kcms/detail/11.5529.R.2020022>.
- [9] 巴元明, 李晓东, 闵晓俊, 等. 湖北省中医院新型冠状病毒肺炎中医药防治方案 (第三版) [J/OL]. 湖北中医杂志, [2020-03-03]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/42.1189.R.20200302.1503.003.html>.
- [10] 江西省中医药管理局. 关于印发江西省新型冠状病毒感染的肺炎中医药防治方案 (试行) 的通知 [EB/OL]. [2020-01-27] <http://www.jxhfp.gov.cn/doc/2020/01/27/137793.shtml>.
- [11] 陕西省中医药管理局. 关于印发新型冠状病毒感染的肺炎中医药治疗方案 (试行第二版) 的通知 [EB/OL]. [2020-02-02]. [http://sxwjw.shaanxi.gov.cn/art/2020/2/art\\_10\\_67602.html](http://sxwjw.shaanxi.gov.cn/art/2020/2/art_10_67602.html).
- [12] 蒋鹏飞, 李书楠, 刘 培, 等. 全国各地区新型冠状病毒肺炎中医防治方案分析 [J/OL]. 中医学报, [2020-03-03]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/41.1411.R.20200302.1856.010.html>.
- [13] 徐 旭, 张 莹, 李 新, 等. 各地区中医药预防新型冠状病毒 (COVID-19) 肺炎方案分析 [J]. 中草药, 2020, 51(4): 866-872.
- [14] 高 原. 针刺配合玉屏风散加减治疗过敏性鼻炎患者效果观察 [J]. 国际感染病学: 电子版, 2019, 8(4): 149-150.
- [15] 邓中甲. 方剂学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2011.
- [16] 李红念, 梅全喜, 戴卫波, 等. 玉屏风散的临床应用与药理作用研究进展 [J]. 广州中医药大学学报, 2016, 33(2): 284-287.
- [17] 双 丽. 增用玉屏风散对支气管哮喘患者疗效及 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 水平的影响 [J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2019, 40(6): 679-681.
- [18] 张毅斌, 王 静. 桂枝龙牡汤合玉屏风散加减治疗小儿反复感冒疗效观察 [J]. 四川中医, 2019, 37(6): 156-158.
- [19] Zhang Y Q, Mao X, Guo Q Y, et al. Network pharmacology-based approaches capture essence of Chinese herbal medicines [J]. *Chin Herb Med*, 2016, 8(2): 107-116.
- [20] 赵丽琴, 肖军海, 李 松. 分子对接在基于结构药物设计中的应用 [J]. 生物物理学报, 2002, 18(3): 263-270.
- [21] Rajkumar R, Udayakumar D. The bioisosteric modification of pyrazinamide derivatives led to potent antitubercular agents: Synthesis via click approach and molecular docking of pyrazine-1,2,3-triazoles [J]. *Bioor Med Chem Lett*, 2020, doi: 10.1016/j.bmcl.2019.126846.
- [22] Xu X T, Chen P, Wang J F, et al. Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission [J/OL]. *Sci China Life Sci*, [2020-02-15]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5841.q.20200204.1852.046.html>.
- [23] Menachery V D, Yount B L, Debbink K, et al. SARS-like cluster of circulating bat coronavirus pose threat for human emergence [J]. *Nat Med*, 2015, 21(12): 1508-1513.
- [24] 王洪图, 贺 娟. 黄帝内经素问白话解 [M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015.
- [25] 严 理, 陈咸川, 郭 健, 等. 玉屏风散预防急性脑血管病患者医院获得性肺炎的随机对照临床研究 [J]. 中西医结合学报, 2010, 8(1): 25-29.
- [26] 李荣培, 余春梅, 陈 昕, 等. 玉屏风散预防人偏肺病毒感染的实验研究 [J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(10):

- 2288-2291.
- [27] Ryungsa K, Manabu E, Kazuaki T. Cancer immunoediting from immune surveillance to immune escape [J]. *Immunology*, 2007, doi: 10.1111/j.1365-2567.2007.02587.x.
- [28] 刘浩然, 叶章群. 肾癌基础研究新进展 [J]. 现代泌尿生殖肿瘤杂志, 2017, 9(5): 257-261.
- [29] Yamaguchi R, Tanaka M, Yano A, *et al.* Tumor-infiltrating lymphocytes are important pathologic predictors for neoadjuvant chemotherapy in patients with breast cancer [J]. *Human Pathol*, 2012, 43(10): 1688-1694.
- [30] Cooray S. The pivotal role of phosphatidylinositol 3-kinase-Akt signal transduction in virus survival [J]. *J Gen Virol*, 2004, 85(Pt 5): 1065-1076.
- [31] Kaplan F M, Kugel C H, Dadpey N, *et al.* SHOC2 and CRAF mediate ERK1/2 reactivation in mutant NRAS-mediated resistance to RAF inhibitor [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(50): 41797-41807.
- [32] 陈洪菊, 唐彬秩, 屈 艺, 等. mTOR 信号通路调节 HIF-1 $\alpha$  及 VEGF [J]. 生命的化学, 2011, 31(6): 838-843.