

基于网络药理学与分子对接方法的疏风解毒胶囊治疗新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 的作用机制与活性成分研究

曹 灿¹, 崔 瑛^{1,2*}, 楚玉玺¹, 史银玥¹, 巫晓慧¹, 王晓尧¹, 余万冰¹

1. 河南中医药大学, 河南 郑州 450046

2. 河南中医药大学 呼吸疾病中医药防治省部共建协同创新中心, 河南 郑州 450000

摘要: 目的 采用网络药理学与分子对接法探索疏风解毒胶囊治疗新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 的潜在作用机制与活性成分。方法 借助 TCMSP 数据库检索疏风解毒胶囊组成药材板蓝根、虎杖、连翘、芦根、败酱草、马鞭草、柴胡、甘草的化学成分和作用靶点, 通过 Swiss Target Prediction 数据库剔除可能性为 0 的靶点。以“冠状病毒 (coronavirus)”“肺炎 (pneumonia)”“咳嗽 (cough)”“发热 (fever)”为检索词在 GeneCards 及 OMIM 数据库中检索疾病相应靶点。通过 Uniprot 数据库校正靶点名称, 取疏风解毒胶囊与疾病靶点交集, 进而运用 Cytoscape 3.7.2 软件构建中药-化合物-靶点网络进行可视化, 通过 DAVID 数据库进行 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析, 预测交集靶点作用机制, 并绘制柱状图及气泡图进行可视化。然后将所有化合物与新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 3CL 水解酶进行对接, 选取结合能最小的前 5 个化合物与血管紧张素转化酶 II (ACE2) 进行对接。结果 中药-化合物-靶点网络包含了 8 种中药, 157 个化合物和相应靶点 260 个, 关键靶点涉及 PTGS2、ESR1、AR 等。GO 功能富集分析得到条目 393 个 ($P < 0.05$), KEGG 通路富集分析筛选得到 139 条信号通路。分子对接结果显示 6-(3-氧咪唑-2-亚立德) 咪唑 [2,1-b] 喹啉-12-酮、荷包牡丹碱、大黄素甲醚葡萄糖苷、双氢轮叶十齿草碱和甘草异黄酮 5 个核心化合物与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶及 ACE2 的结合能较推荐化学药小。结论 疏风解毒胶囊中的化合物能通过与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶及 ACE2 结合作用于 PTGS2、ESR1、AR 等靶点调节人巨细胞病毒感染、卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染、IL-17 信号通路等信号通路、小细胞肺癌等发挥治疗 COVID-19 作用。

关键词: 网络药理学; 疏风解毒胶囊; 新型冠状病毒肺炎; 分子对接; 6-(3-氧咪唑-2-亚立德) 咪唑 [2,1-b] 喹啉-12-酮; 荷包牡丹碱; 大黄素甲醚葡萄糖苷; 双氢轮叶十齿草碱; 甘草异黄酮

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)09-2283-14

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.09.002

Investigation on mechanism and active components of Shufeng Jiedu Capsule in treatment of COVID-19 based on network pharmacology and molecular docking

CAO Can¹, CUI Ying^{1,2}, CHU Yu-xi¹, SHI Yin-yue¹, WU Xiao-hui¹, WANG Xiao-yao¹, YU Wan-bing¹

1. Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

2. Respiratory Disease Prevention and Treatment Province Ministry Co Construction Collaborative Innovation Center, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China

Abstract: Objective To explore the novel coronavirus disease 2019 (COVID-19) treatment mechanism and active ingredients of Shufeng Jiedu Capsule by network pharmacology and molecular docking. **Methods** TCMSP databases were used to search the chemical composition and target of Shufeng Jiedu Capsule, which was composed of *Isatidis Radix*, *Polygonum cuspidatum*, *Forsythia suspensa*, *Phragmites Rhizoma*, *Patrinia*, *Verbena officinalis*, *Bupleurum chinense*, and *Glycyrrhiza uralensis*. The Swiss target prediction database was used to remove the target with possibility of 0. The corresponding targets of the disease were searched in the GeneCards and OMIM databases with the key words of “coronavirus”, “pneumonia”, “cough”, and “fever”. Through the UniProt databases to correct the name of the target point, take the intersection of Shufeng Jiedu Capsule and the disease target point, then use the software of Cytoscape 3.7.2 to build the network of traditional Chinese medicine-compound-target for visualization,

收稿日期: 2020-03-12

基金项目: 河南省 2020 年新型冠状病毒防控应急攻关项目 (201100310400); 河南省 2020 年新型冠状病毒防控应急攻关项目 (201100310500); 国家自然科学基金项目 (81473368)

作者简介: 曹 灿, 硕士研究生, 从事中药药性及中药抗焦虑研究。E-mail: cczyahz@126.com

*通信作者 崔 瑛, 教授, 博士生导师, 主要从事中药药性及中药抗焦虑研究。E-mail: cyexin@126.com

through DAVID databases to carry out the GO function enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis, predict the interaction mechanism of the target, and draw the column and bubble chart for visualization. The novel coronavirus (SARS-CoV-2) 3CL hydrolase was then docking with all compounds and the first five compounds with the least binding energy were selected for docking with angiotensin-converting enzyme II (ACE2). **Results** The traditional Chinese medicine-compound-target compound target network contains eight kinds of traditional Chinese medicine-compound-target, 157 compounds and 260 corresponding targets. The key targets were PTGS2, ESR1, AR, etc. There were 393 items in GO functional enrichment analysis ($P < 0.05$), and 139 signaling pathways in KEGG pathway enrichment analysis. Molecular docking results showed that SARS-CoV-2 3CL hydrolase and ACE2 binding energy of the five core compounds, including 6-(3-oxoindolin-2-ylidene) indolo [2,1-b] quinazolin-12-one, bicuculline, physciondiglucoside, dihydroverticillatine, and licoisoflavanone, was smaller than that of recommended chemical drugs, and the binding energy to ACE2 was similar to that of the recommended chemical drug. **Conclusion** The compounds in Shufeng Jiedu Capsule can regulate the signaling pathway of human cytomegalovirus infection, Kaposi's sarcoma associated herpesvirus infection, IL-17 signaling pathway, small cell lung cancer, etc. to treat COVID-19 by binding with SARS-CoV-2 3CL hydrolase and ACE2.

Key words: network pharmacology; Shufeng Jiedu Capsule; COVID-19; molecular docking; 6-(3-oxoindolin-2-ylidene) indolo [2,1-b] quinazolin-12-one; bicuculline; physciondiglucoside; dihydroverticillatine; licoisoflavanone

从 2019 年 12 月开始, 新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 疫情相继在全球暴发, 成为全球关注的公共卫生事件, 引发 COVID-19 的病原是与严重急性呼吸道综合征冠状病毒 (SARS-CoV) 同属 β 属的新型冠状病毒 (SARS-CoV-2), COVID-19 以发热、干咳、乏力为主要表现, 严重可出现呼吸困难、休克等症状, 且尚未发现特效药^[1]。我国在抗击 COVID-19 疫情过程中发现中医治疗 COVID-19 疗效显著^[2], 国家和各地方政府均出台了一些针对 COVID-19 的诊疗方案, 推荐了一批针对 COVID-19 防治用途的中药, 包括单味药、复方及中成药等。疏风解毒胶囊、藿香正气口服液等中成药在《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案 (试行)》第四~七版^[1,3-5]中均被推荐使用, 其中疏风解毒胶囊被推荐用于症状为乏力伴发热的患者使用。疏风解毒胶囊由板蓝根、虎杖、连翘、芦根、败酱草、马鞭草、柴胡、甘草 8 味药材组成, 常用于治疗急性上呼吸道感染属风热证, 症见发热、恶风、咽痛、头痛、鼻塞、流涕、咳嗽等, 具有疏风清热、解毒利咽的功效。研究表明板蓝根^[6]、虎杖^[7]、连翘^[8]等均有抗流感病毒的药理作用, 且瞿香坤等^[9]对疏风解毒胶囊联合阿比多尔治疗 COVID-19 进行回顾性研究, 表明疏风解毒胶囊联合化学药治疗 COVID-19 疗效确切, 但其作用机制不清楚, 因此有必要进行深入研究。

网络药理学可整合中药、中药成分和成分靶点, 构建中药-成分-靶点网络, 并利用相关数据库深入分析靶点涉及的基因、蛋白、信号通路等, 为中药尤其是复方中药有效成分及作用机制研究奠定了基础^[10]。分子对接技术可通过预测受体与药物

分子之间的相互作用方式、结合能等预测药物与受体之间的结合稳定性, 可作为药物筛选、设计的重要手段。SARS-CoV-2 3CL 水解酶是控制 SARS-CoV-2 复制的主要蛋白酶, 现已作为 SARS-CoV-2 的药物发现靶点^[11]。SARS-CoV-2 比 SARS-CoV 更有效地识别人血管紧张素转化酶 II (ACE2), 从而提高了 SARS-CoV-2 在人与人之间传播的能力^[12], 且 83% 的 ACE2 表达细胞为肺泡上皮 II 型细胞 (AEC2), 因此 ACE2 已成为 COVID-19 的治疗药物筛选的重要靶点^[13]。本研究通过网络药理学方法筛选出疏风解毒胶囊作用靶点、预测疏风解毒胶囊的核心活性成分, 进而运用 Chemoffice、Pymol、Auto Dock 软件将化合物与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶及 ACE2 进行分子对接, 预测疏风解毒胶囊治疗 COVID-19 的作用机制, 为疏风解毒胶囊防治 COVID-19 提供理论依据, 为进一步的新药研发奠定基础。

1 材料

本研究使用的数据库、分子平台及软件相关信息见表 1。

2 方法

2.1 疏风解毒胶囊中成分收集

借助 TCMSP 数据库, 分别以“板蓝根”“虎杖”“连翘”“芦根”“败酱草”“马鞭草”“柴胡”“甘草”为关键词搜索疏风解毒胶囊中的成分。

2.2 活性成分及靶标蛋白的筛选

口服生物利用度 (OB) 和类药性 (DL) 是评价药物吸收、分布、代谢、排泄 (ADME) 中的药动学参数, 选取 $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$ ^[14] 为筛选条件, 并增加文献报道中具有明确抗炎、抗病毒等药

表 1 数据库、分析平台及软件信息

Table 1 Information of database, analysis platform and software

名称	网址	版本
中药系统药理学分析平台 (TCMSP)	http://tcmospw.com/tcmosp.php	—
UniProt 数据库	https://www.uniprot.org/	—
DAVID 数据库	https://david.ncifcrf.gov/	6.8
PubChem	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/	—
Swiss Target Prediction	http://www.swisstargetprediction.ch/	—
GeneCards	https://www.genecards.org/	—
OMIM	https://www.omim.org/	—
Venny 2.1	https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html	2.1
Cytoscape 软件	https://cytoscape.org/	3.7.2
PDB 数据库	https://www.rcsb.org/	—
Auto Dock	—	1.5.6
Chemoffice	—	16.0
Pymol	—	—
Graphpad Prism	—	8.0.1
Omicshare 数据库	http://www.omicshare.com/	—
ETCM 数据库	http://www.nrc.ac.cn:9090/ETCM/index.php/Home/Index/	—

效的成分,将检索所得各个药材成分于 TCMSP 数据库中检索相关靶点,从 PubChem 数据库下载筛选出化合物 2D 结构,导入 Swiss Target Prediction 在线数据库中,剔除可能性为 0 的靶点,进而剔除结果中无有效靶点的成分。

2.3 COVID-19 疾病靶点筛选

分别以“coronavirus”“pneumonia”“cough”“fever”为检索词在 GeneCards 及 OMIM 数据库中检索疾病相应靶点,合并去重后得到 COVID-19 的相关靶点。

2.4 靶点基因名的校正及疏风解毒胶囊与 COVID-19 共同靶点筛选

借助 Uniprot 数据库校正“2.2”项获得的疏风解毒胶囊成分靶点与“2.3”项获得的疾病靶点,并利用在线韦恩图 Venny 2.1 取交集,获得交集靶点。

2.5 中药-化合物-靶标网络的构建

将疏风解毒胶囊所含中药、化合物及交集靶点用 Cytoscape 3.7.2 软件构建中药-化合物-靶点网络,对其进行分析,结合在线韦恩图 Venny 2.1,得出不同药物之间的交集化合物。

2.6 靶点的通路分析

为了进一步了解交集基因的功能以及在信号通路中的作用,将筛选得到的交集靶点导入 DAVID 数据库,通过输入名称列表并限定物种为“Homo sapiens”,设定阈值 $P < 0.05$,进行 GO 生物学过程富集分析和 KEGG 信号通路富集分析,选取前 20 个条目,将其结果利用 Graphpad Prism 绘制成柱状图,使用 Omicshare 数据库绘制气泡图,进行可视化。

2.7 成分-靶点分子对接

从 PubChem 数据库下载中药-化合物-靶点网络中的化合物 2D 结构,利用 Chemoffice 软件转化为 3D 结构,并保存为 mol 格式;从 RSCB PDB 数据库下载 SARS-CoV-2 3CL 水解酶和 ACE2 的 3D 结构 pdb 格式文件,运用 Pymol 软件移除靶蛋白中的配体和非蛋白分子(如水分子),再保存为 pdb 格式文件。将化合物 SARS-CoV-2 3CL 水解酶和 ACE2 转化为 pdbqt 格式文件。最后运用 Auto dock vina 对所有化合物与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶进行对接,结果参考宗阳等^[15]所设标准,选取结合能 ≤ -5.0 kJ/mol 作为疏风解毒胶囊治疗 COVID-19 的活性成分筛选依据,进而选取结合能最小的 5 个成分作为疏风解毒胶囊的核心活性成分,与 ACE2 进行对接。

2.8 中药-归经网络的构建

通过检索《中国药典》2015 年版^[16]、《中华本草》^[17]及 ETCM 数据库,获得疏风解毒胶囊所含板蓝根、虎杖、连翘、芦根、败酱草、马鞭草、柴胡、甘草等 8 味中药的归经,构建疏风解毒胶囊中药-归经网络。

3 结果

3.1 活性化合物的筛选结果

通过 TCMSP 检索到疏风解毒胶囊中的化合物共 1 151 个,其中 169 个来自板蓝根,62 个来自虎杖,150 个来自连翘,31 个来自芦根,52 个来自败酱草,58 个来自马鞭草,349 个来自柴胡,280 个来自甘草。经 $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$ 筛选、剔除无靶点成分后,所得化合物中,板蓝根 34 个、虎杖 10 个、连翘 20 个、芦根 1 个、败酱草 12 个、马鞭草 11 个、柴胡 13 个、甘草 89 个。疏风解毒胶囊中筛选所得化合物基本信息见表 2。

3.2 疏风解毒胶囊成分靶点与 COVID-19 疾病靶点交集结果

疏风解毒胶囊筛选的成分对应的靶点有 296 个,按“2.3”项方法筛选到与 COVID-19 相关的靶

表 2 筛选得到的疏风解毒胶囊成分基本信息

Table 2 Basic information of ingredients of Shufeng Jiedu Capsule after screening

中药	MOL ID	成分名称	OB/%	DL
败酱草	MOL000006	luteolin	36.16	0.25
败酱草	MOL000098	quercetin	46.43	0.28
败酱草	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75
败酱草	MOL000359	sitosterol	36.91	0.75
败酱草	MOL000422	kaempferol	41.88	0.24
败酱草	MOL000449	stigmasterol	43.83	0.76
败酱草	MOL001677	asperglaucide	58.02	0.52
败酱草	MOL001678	bolusanthol B	39.94	0.41
败酱草	MOL001689	acacetin	34.97	0.24
败酱草	MOL001697	sinoacutine	63.39	0.53
败酱草	MOL001790	linarin	39.84	0.71
败酱草	MOL002322	isovitexin	31.29	0.72
板蓝根	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75
板蓝根	MOL000359	sitosterol	36.91	0.75
板蓝根	MOL000449	stigmasterol	43.83	0.76
板蓝根	MOL000953	cholest-5-en-3beta-ol	37.87	0.68
板蓝根	MOL001689	acacetin	34.97	0.24
板蓝根	MOL001721	isaindigodione	60.12	0.41
板蓝根	MOL001722	2-O-beta-D-glucopyranosyl-2H-1,4-benzoxazin-3 (4H)-one	43.62	0.31
板蓝根	MOL001733	eupatorin	30.23	0.37
板蓝根	MOL001734	3-[(2R,3R,5R,6S)-3,5-dihydroxy-6-(1H-indol-3-yloxy)-4-oxooxan-2-yl] methoxy]-3-oxopropanoic acid	85.87	0.47
板蓝根	MOL001735	dinatin	30.97	0.27
板蓝根	MOL001736	(-)-taxifolin	60.51	0.27
板蓝根	MOL001749	bis[(2R)-2-ethylhexyl] benzene-1,2-dicarboxylate	43.59	0.35
板蓝根	MOL001750	glucobrassicin	66.02	0.48
板蓝根	MOL001755	24-ethylcholest-4-en-3-one	36.08	0.76
板蓝根	MOL001756	quindoline	33.17	0.22
板蓝根	MOL001767	hydroxyindirubin	63.37	0.30
板蓝根	MOL001771	poriferast-5-en-3beta-ol	36.91	0.75
板蓝根	MOL001774	ineketone	37.14	0.30
板蓝根	MOL001779	sinoacutine	49.11	0.46
板蓝根	MOL001781	indigo	38.20	0.26
板蓝根	MOL001782	(2Z)-2-(2-oxoindolin-3-ylidene) indolin-3-one	48.40	0.26
板蓝根	MOL001783	2-(9-((3-methyl-2-oxopent-3-en-1-yl)oxy)-2-oxo-1,2,8,9-tetrahydrofuro [2,3-h] quinolin-8-yl) propan-2-yl acetate	64.00	0.57
板蓝根	MOL001790	linarin	39.84	0.71
板蓝根	MOL001792	liquiritigenin	32.76	0.18
板蓝根	MOL001793	(E)-2-[(3-indole)cyanomethylene]-3-indolinone	54.59	0.32
板蓝根	MOL001798	neohesperidin_qt	71.17	0.27
板蓝根	MOL001800	rosasterol	35.87	0.75
板蓝根	MOL001803	sinensetin	50.56	0.45
板蓝根	MOL001810	6-(3-oxoindolin-2-ylidene) indolo [2,1-b] quinazolin-12-one	45.28	0.89
板蓝根	MOL001814	(E)-3-(3,5-dimethoxy-4-hydroxy-benzylidene)-2-indolinone	57.18	0.25
板蓝根	MOL001820	(E)-3-(3,5-dimethoxy-4-hydroxybenzylidene)-2-indolinone	65.17	0.25
板蓝根	MOL001828	3-[(3,5-dimethoxy-4-oxo-1-cyclohexa-2,5-dienylidene)methyl]-2,4-dihydro-1H-pyrrolo [2,1-b] quinazolin-9-one	51.84	0.56
板蓝根	MOL001833	glucobrassicin-1-sulfonate_qt	42.52	0.24
板蓝根	MOL002322	isovitexin	31.29	0.72

续表 2

中药	MOL ID	成分名称	OB/%	DL
柴胡	MOL000098	quercetin	46.43	0.28
柴胡	MOL000354	isorhamnetin	49.60	0.31
柴胡	MOL000422	kaempferol	41.88	0.24
柴胡	MOL000449	stigmasterol	43.83	0.76
柴胡	MOL001645	linoleyl acetate	42.10	0.20
柴胡	MOL002776	baicalin	40.12	0.75
柴胡	MOL004598	3,5,6,7-tetramethoxy-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl) chromone	31.97	0.59
柴胡	MOL004609	areapillin	48.96	0.41
柴胡	MOL004624	longikaurin A	47.72	0.53
柴胡	MOL004653	(+)-anomalin	46.06	0.66
柴胡	MOL004718	α -spinasterol	42.98	0.76
柴胡	MOL012297	puerarin	24.03	0.69
柴胡	MOL013187	cubebin	57.13	0.64
甘草	MOL000098	quercetin	46.43	0.28
甘草	MOL000211	mairin	55.38	0.78
甘草	MOL000239	jaranol	50.83	0.29
甘草	MOL000354	isorhamnetin	49.60	0.31
甘草	MOL000359	sitosterol	36.91	0.75
甘草	MOL000392	formononetin	69.67	0.21
甘草	MOL000417	calycosin	47.75	0.24
甘草	MOL000422	kaempferol	41.88	0.24
甘草	MOL000497	licochalcone a	40.79	0.29
甘草	MOL000500	vestitol	74.66	0.21
甘草	MOL001484	inermine	75.18	0.54
甘草	MOL001792	liquiritigenin	32.76	0.18
甘草	MOL002311	glycyrol	90.78	0.67
甘草	MOL002565	medicarpin	49.22	0.34
甘草	MOL003656	lupiwighteone	51.64	0.37
甘草	MOL003896	7-methoxy-2-methyl isoflavone	42.56	0.20
甘草	MOL004328	naringenin	59.29	0.21
甘草	MOL004805	(2S)-2-[4-hydroxy-3-(3-methylbut-2-enyl) phenyl]-8,8-dimethyl-2,3-dihydropyrano [2,3-f] chromen-4-one	31.79	0.72
甘草	MOL004806	euchrenone	30.29	0.57
甘草	MOL004808	glyasperin B	65.22	0.44
甘草	MOL004810	glyasperin F	75.84	0.54
甘草	MOL004811	glyasperin C	45.56	0.40
甘草	MOL004814	isotrifoliol	31.94	0.42
甘草	MOL004815	(E)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-(2,2-dimethylchromen-6-yl) prop-2-en-1-one	39.62	0.35
甘草	MOL004820	kanzonols W	50.48	0.52
甘草	MOL004824	(2S)-6-(2,4-dihydroxyphenyl)-2-(2-hydroxypropan-2-yl)-4-methoxy-2,3-dihydrofuro [3,2-g] chromen-7-one	60.25	0.63
甘草	MOL004827	semilicoisoflavone B	48.78	0.55
甘草	MOL004828	glepidotin A	44.72	0.35
甘草	MOL004829	glepidotin B	64.46	0.34
甘草	MOL004833	phaseolinisoflavan	32.01	0.45
甘草	MOL004835	glypallichalcone	61.60	0.19
甘草	MOL004838	8-(6-hydroxy-2-benzofuranyl)-2,2-dimethyl-5-chromenol	58.44	0.38
甘草	MOL004841	licochalcone B	76.76	0.19
甘草	MOL004848	licochalcone G	49.25	0.32
甘草	MOL004849	3-(2,4-dihydroxyphenyl)-8-(1,1-dimethylprop-2-enyl)-7-hydroxy-5-methoxy-coumarin	59.62	0.43

续表 2

中药	MOL ID	成分名称	OB/%	DL
甘草	MOL004855	licoricone	63.58	0.47
甘草	MOL004856	gancaonin A	51.08	0.40
甘草	MOL004857	gancaonin B	48.79	0.45
甘草	MOL004863	3-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-8-(3-methylbut-2-enyl) chromone	66.37	0.41
甘草	MOL004864	5,7-dihydroxy-3-(4-methoxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl) chromone	30.49	0.41
甘草	MOL004866	2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-6-(3-methylbut-2-enyl) chromone	44.15	0.41
甘草	MOL004879	glycyrrin	52.61	0.47
甘草	MOL004882	licocoumarone	33.21	0.36
甘草	MOL004883	licoisoflavone	41.61	0.42
甘草	MOL004884	licoisoflavone B	38.93	0.55
甘草	MOL004885	licoisoflavanone	52.47	0.54
甘草	MOL004891	shinpterocarpin	80.30	0.73
甘草	MOL004898	(E)-3-[3,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-enyl) phenyl]-1-(2,4-dihydroxyphenyl) prop-2-en-1-one	46.27	0.31
甘草	MOL004903	liquiritin	65.69	0.74
甘草	MOL004904	licopyranocoumarin	80.36	0.65
甘草	MOL004905	3,22-dihydroxy-11-oxo-delta (12)-oleanene-27-alpha-methoxycarbonyl-29-oic acid	34.32	0.55
甘草	MOL004907	glyzaglabrin	61.07	0.35
甘草	MOL004908	glabridin	53.25	0.47
甘草	MOL004910	glabranin	52.90	0.31
甘草	MOL004911	glabrene	46.27	0.44
甘草	MOL004912	glabrone	52.51	0.50
甘草	MOL004913	1,3-dihydroxy-9-methoxy-6-benzofurano [3,2-c] chromenone	48.14	0.43
甘草	MOL004914	1,3-dihydroxy-8,9-dimethoxy-6-benzofurano [3,2-c] chromenone	62.90	0.53
甘草	MOL004915	eurycarpin A	43.28	0.37
甘草	MOL004924	(-)-medicocarpin	40.99	0.95
甘草	MOL004935	sigmoidin-B	34.88	0.41
甘草	MOL004941	(2R)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman-4-one	71.12	0.18
甘草	MOL004945	(2S)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl)chroman-4-one	36.57	0.32
甘草	MOL004948	isoglycyrol	44.70	0.84
甘草	MOL004949	isolicoflavonol	45.17	0.42
甘草	MOL004957	isoformononetin	38.37	0.21
甘草	MOL004959	1-methoxyphaseollidin	69.98	0.64
甘草	MOL004961	quercetinder	46.45	0.33
甘草	MOL004966	3'-hydroxy-4'-O-methylglabridin	43.71	0.57
甘草	MOL004974	3'-methoxyglabridin	46.16	0.57
甘草	MOL004978	2-[(3R)-8,8-dimethyl-3,4-dihydro-2H-pyrano [6,5-f] chromen-3-yl]-5-methoxyphenol	36.21	0.52
甘草	MOL004980	inflatocoumarin A	39.71	0.33
甘草	MOL004985	icos-5-enoic acid	30.70	0.20
甘草	MOL004988	kanzonol F	32.47	0.89
甘草	MOL004989	6-prenylated eriodictyol	39.22	0.41
甘草	MOL004990	7,2',4'-trihydroxy-5-methoxy-3-aryl coumarin	83.71	0.27
甘草	MOL004991	7-acetoxy-2-methylisoflavone	38.92	0.26
甘草	MOL004993	8-prenylated eriodictyol	53.79	0.40
甘草	MOL004996	gadelaidic acid	30.70	0.20
甘草	MOL005000	gancaonin G	60.44	0.39
甘草	MOL005001	gancaonin H	50.10	0.78
甘草	MOL005003	licoagrocarpin	58.81	0.58
甘草	MOL005007	glyasperins M	72.67	0.59
甘草	MOL005008	glycyrrhiza flavonol A	41.28	0.60

续表 2

中药	MOL ID	成分名称	OB/%	DL
甘草	MOL005012	licoagroisoflavone	57.28	0.49
甘草	MOL005016	odoratin	49.95	0.30
甘草	MOL005017	phaseol	78.77	0.58
甘草	MOL005018	xambioona	54.85	0.87
甘草	MOL005020	dehydroglyasperins C	53.82	0.37
虎杖	MOL000006	luteolin	36.16	0.25
虎杖	MOL000098	quercetin	46.43	0.28
虎杖	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75
虎杖	MOL000492	(+)-catechin	54.83	0.24
虎杖	MOL002259	physciodiglucoside	41.65	0.63
虎杖	MOL002268	rhein	47.07	0.28
虎杖	MOL002280	torachryson-8-O-beta-D-(6'-oxayl)-glucoside	43.02	0.74
虎杖	MOL013281	6,8-dihydroxy-7-methoxyxanthone	35.83	0.21
虎杖	MOL013287	physovenine	106.21	0.19
虎杖	MOL013288	picralinal	58.01	0.75
连翘	MOL000006	luteolin	36.16	0.25
连翘	MOL000098	quercetin	46.43	0.28
连翘	MOL000173	wogonin	30.68	0.23
连翘	MOL000211	mairin	55.38	0.78
连翘	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75
连翘	MOL000422	kaempferol	41.88	0.24
连翘	MOL000449	stigmasterol	43.83	0.76
连翘	MOL000522	arctiin	34.45	0.84
连翘	MOL000791	bicuculline	69.67	0.88
连翘	MOL003283	(2R,3R,4S)-4-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)-7-methoxy-2,3-dimethylol-tetralin-6-ol	66.51	0.39
连翘	MOL003290	(3R,4R)-3,4-bis [(3,4-dimethoxyphenyl) methyl] oxolan-2-one	52.30	0.48
连翘	MOL003295	(+)-pinoresinol monomethyl ether	53.08	0.57
连翘	MOL003305	phillyrin	36.40	0.86
连翘	MOL003306	pinoresinol monomethyl ether	85.12	0.57
连翘	MOL003308	(+)-pinoresinol monomethyl ether-4-D-beta-glucoside_qt	61.20	0.57
连翘	MOL003315	3beta-acetyl-20,25-epoxydammarane-24alpha-ol	33.07	0.79
连翘	MOL003322	forsythinol	81.25	0.57
连翘	MOL003330	(-)-phillygenin	95.04	0.57
连翘	MOL003347	hyperforin	44.03	0.60
连翘	MOL003370	onjixanthone I	79.16	0.30
芦根	MOL000449	stigmasterol	43.83	0.76
马鞭草	MOL000006	luteolin	36.16	0.25
马鞭草	MOL000098	quercetin	46.43	0.28
马鞭草	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75
马鞭草	MOL000422	kaempferol	41.88	0.24
马鞭草	MOL000449	stigmasterol	43.83	0.76
马鞭草	MOL002773	beta-carotene	37.18	0.58
马鞭草	MOL002881	diosmetin	31.14	0.27
马鞭草	MOL002933	5,7,4'-trihydroxy-8-methoxyflavone	36.56	0.27
马鞭草	MOL005229	artemetin	49.55	0.48
马鞭草	MOL005503	cornudentanone	39.66	0.33
马鞭草	MOL008752	dihydroverticillatine	42.69	0.84

点 9 191 个,二者交集韦恩图见图 1。用交集得到的 260 个靶点反向筛选疏风解毒胶囊成分,剔除不作用于这 260 个靶点的成分,得到作用于 COVID-19

相关靶点的成分 157 个。

3.3 中药-化合物-靶点相互作用网络构建

如图 2 所示,疏风解毒胶囊中药-化合物-靶点

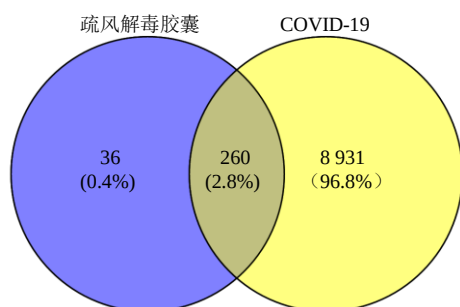


图 1 疏风解毒胶囊靶点与 COVID-19 靶点 Venn 图

Fig. 1 Venn diagram of Shufeng Jiedu Capsule targets and COVID-19 targets

网络共有药物成分 157 个, 共有靶点 260 个, 每个化合物平均与 15.71 个靶点关联, 每个靶点平均与 9.48 个化合物关联, 因此疏风解毒胶囊存在一个化合物与多个靶点作用, 同时也存在不同化合物作用于同一个靶点的现象, 这正是中医药多成分、多靶点的重要证据。从化合物角度分析, 有 35 个化合物的作用靶点 ≥ 20 个, 其中作用靶点 ≥ 30 个的化合物有 15 个, 作用靶点排名前 10 位的化合物分别

为 MOL000098 (槲皮素)、MOL000358 (β -谷甾醇)、MOL000422 (山柰酚)、MOL000449 (豆甾醇)、MOL000006 (木犀草素)、MOL012297 (葛根素)、MOL001689 (刺槐素)、MOL000497 (甘草查耳酮甲)、MOL000173 (汉黄芩素)、MOL003896 (7-甲氧基-2-甲基异黄酮), 分别能与 141、102、56、56、54、50、46、43、41、38 个靶点蛋白发生作用。从靶点的角度分析, 有 30 个靶点与 20 个或 20 个以上的化合物相互作用, 其中作用 ≥ 30 个化合物的靶点有 25 个, 排名前 10 的靶点为 PTGS2、ESR1、AR、NOS2、PTGS1、NCOA2、F10、PPARG、PRSS1、SCN5A, 分别能与 141、94、90、83、80、79、75、73、73、73 个化合物发生相互作用。

3.4 疏风解毒胶囊各药材交集化合物

由图 2 中药-化合物-靶点网络, 结合在线韦恩图 (图 3) 结果可知败酱草、柴胡、甘草、虎杖、连翘、马鞭草共有 MOL000098 (槲皮素), 败酱草、板蓝根、柴胡、芦根、马鞭草共有 MOL000449 (豆甾醇), 败酱草、板蓝根、虎杖、连翘、马鞭草共有 MOL000358

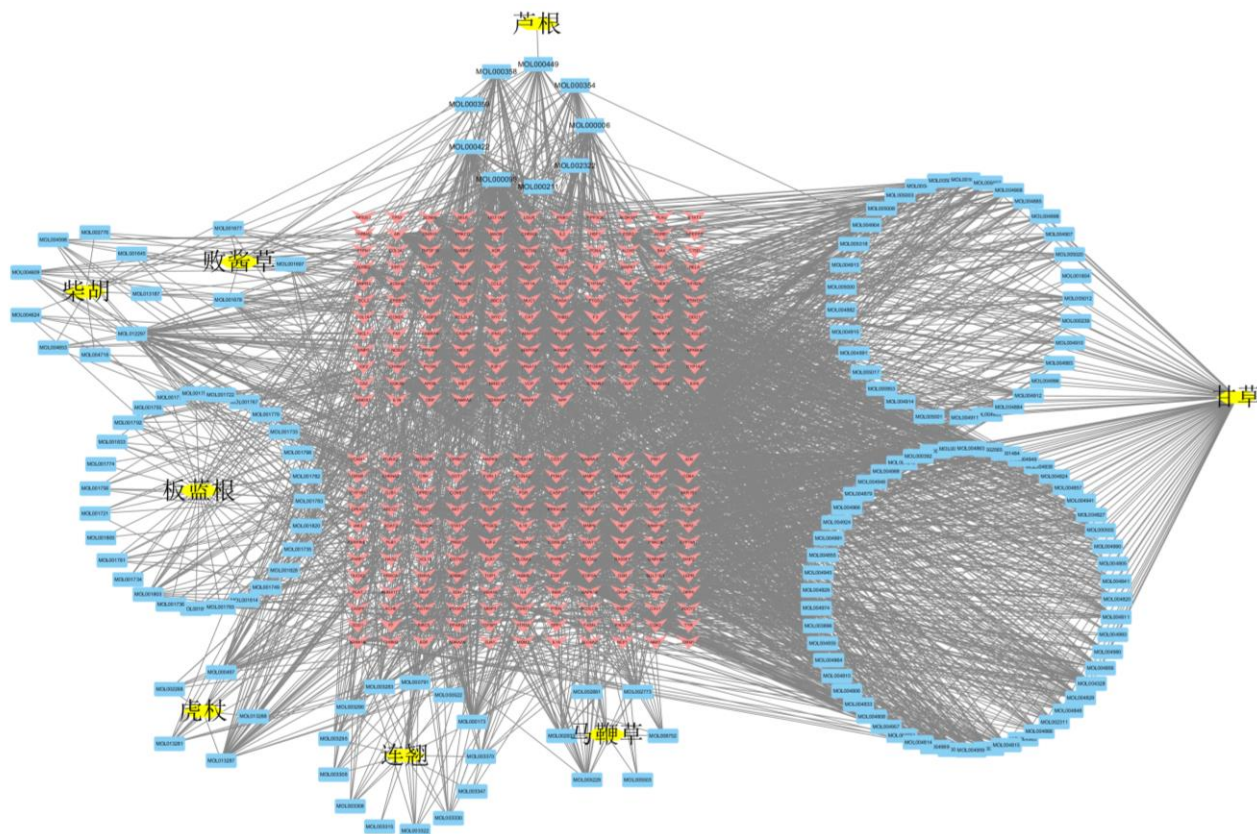


图 2 疏风解毒胶囊中药-化合物-靶点网络

Fig. 2 Chinese material medica-compound-target network of Shufeng Jiedu Capsule

(β -谷甾醇), 败酱草、柴胡、甘草、连翘、马鞭草共有 MOL000422 (山柰酚), 败酱草、虎杖、连翘、马鞭草共有 MOL000006 (木犀草素), 败酱草、板蓝根、甘草共有 MOL000359 (谷甾醇), 败酱草、板蓝根共有 MOL002322 (异牡荆素)、MOL001790 (芳樟素)、

MOL001689 (刺槐素), 柴胡、甘草共有 MOL000354 (异鼠李素), 甘草、连翘共有 MOL000211 (丁子香酚)。

3.5 靶点功能通路可视化

通过数据库 DAVID 进行的 GO 功能富集分析, 结果 (图 4) 得到 GO 条目 393 个 ($P < 0.05$), 其

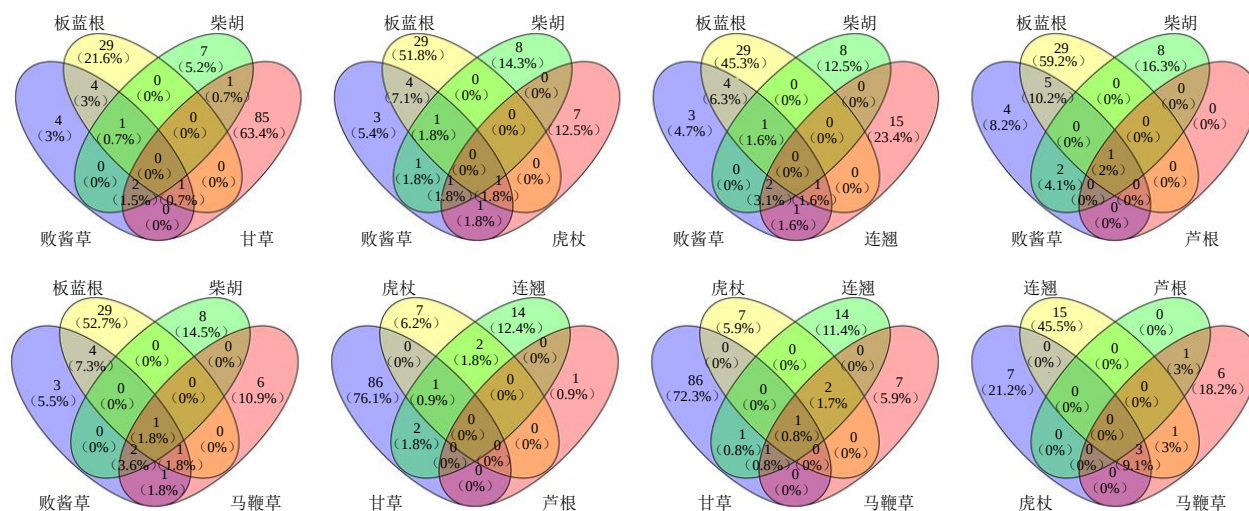


图 3 疏风解毒胶囊各药材交集化合物分布

Fig. 3 Distribution of intersection compounds in Shufeng Jiedu Capsule

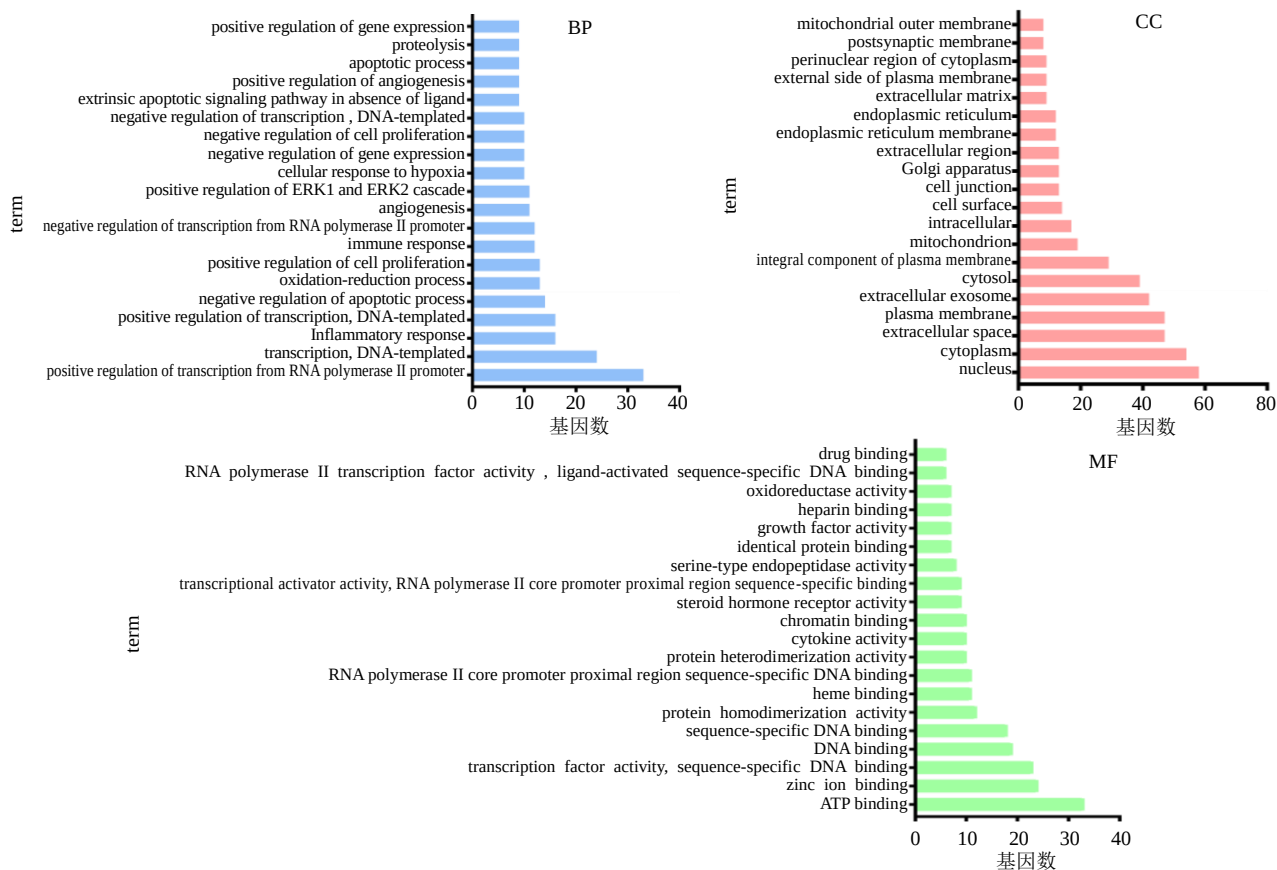


图 4 疏风解毒胶囊 GO 富集分析中 BP、CC、MF 前 20 个功能

Fig. 4 Top 20 functions of BP, CC, and MF in GO enrichment analysis of Shufeng Jiedu Capsule

中生物过程 (BP) 条目 286 个, 细胞组成 (CC) 条目 47 个, 分子功能 (MF) 条目 60 个, 分别占 72.77%、11.96%、15.27%。

KEGG 通路富集分析筛选得到 139 条 ($P < 0.05$) 信号通路, 关系较大的有人巨细胞病毒感染、卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染、IL-17 信号通路、小细胞肺癌等, 其中人巨细胞病毒感染涉及

PTGS2、RELA、CDKN1A、BAX、CASP3 等基因; 卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染涉及 PTGS2、RELA、CDKN1A、BAX、CASP3 等基因; IL-17 信号通路涉及 PTGS2、RELA、CASP3、CASP8、IKBKB 等基因; 小细胞肺癌通路涉及等 NOS2、PTGS2、RELA、BCL2、CDKN1A 等基因, 富集因子较大的 20 个通路可视化结果见图 5。

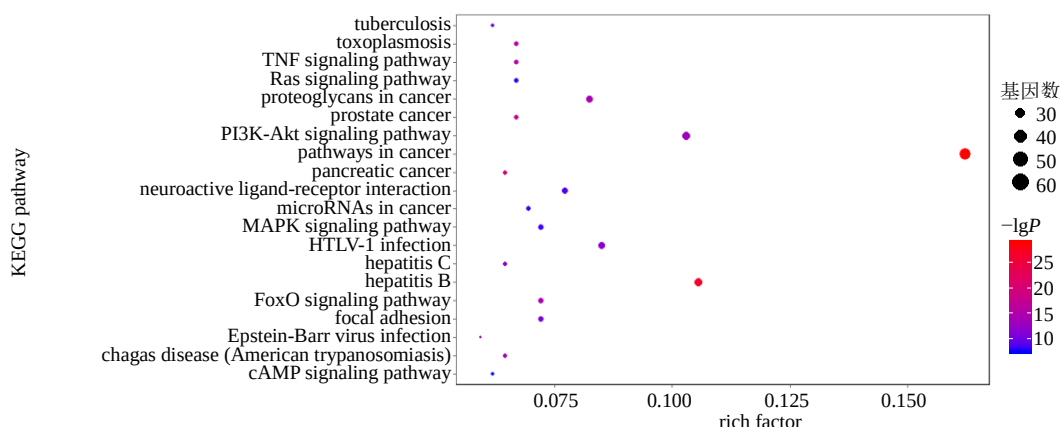


图 5 疏风解毒胶囊 KEGG 富集分析前 20 条通路

Fig. 5 Top 20 pathways of enrichment analysis of KEGG in Shufeng Jiedu Capsule

3.6 疏风解毒胶囊中核心活性成分与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶和 ACE2 的分子对接结果分析

一般认为配体与受体结合能越低, 构象越稳定, 发生作用可能性越大。本研究中分子对接结果显示, 中药-化合物-靶点网络中的 157 个与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶的结合能均远小于 -5 kJ/mol, 与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶结合能最低的 5 个化合物分别为 6-(3-氧吲哚-2-亚立德) 吲哚 [2,1-b] 喹啉-12-酮、荷包牡丹碱、大黄素甲醚葡萄糖苷、双氢轮叶十齿草碱和甘草异黄烷酮, 可作为疏风解毒胶囊的核心活性成分, 如表 3 所示。将疏风解毒胶囊中结合能最低的 5 种成分与 ACE2 进行分子对接, 参考文献报道^[18], 收集目前具有抗 SARS-CoV-2 活性化学药, 将这些化学药与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶和 ACE2 进行分子对接, 结果显示本研究所得出的 5 个核心化合物与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶和 ACE2 的结合能远小于目前所报道具有抗 SARS-CoV-2 活性的化学药, 结果见表 3 和图 6。

3.7 疏风解毒胶囊中药归经分析

如图 7 所示, 中药-归经网络中肺的连接数为 5, 其次为肝、胃, 连接数为 4, 心的连接数为 3, 可见疏风解毒胶囊主要作用部位在肺经, 其次为肝、胃、

心经。

4 讨论

COVID-19 属于中医学“疫病”范畴, 感受疫毒之邪为其主要致病因素, 入里化热为重要病机转归^[19], 遂转变为“温热病”, 叶天士《温热论》^[20]有“温邪上受, 首先犯肺, 逆传心包”和“盖伤寒之邪, 留恋在表, 然后化热入里; 温邪则化热最速。未传心包, 邪尚在肺”的论述, 且《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第三版)》指出, 本病属于中医疫病范畴, 病因为感受疫戾之气, 病位在肺, 基本病机特点为“湿、热、毒、瘀”^[21]。通过疏风解毒胶囊中药归经网络分析结果可知, 疏风解毒胶囊发挥作用时以肺经为主导, 且兼顾其他经络与脏腑, 可防止邪气向肝、胃、心经等传递。

疏风解毒胶囊中板蓝根味苦性寒, 能清热解毒、凉血利咽, 且具有治疗瘟疫时毒的作用; 虎杖味微苦, 性微寒, 有清热解毒、止咳化痰之功, 可用于治疗肺热咳嗽; 连翘味苦微寒, 有清热解毒、疏散风热的功效, 可用于风热感冒及温病初起、温病入营及高热烦渴等病证(症); 芦根味甘性寒, 具有清热泻火、生津止渴的功效, 可用于热病烦渴、肺热咳嗽等病证(症)治疗; 败酱草味辛苦, 性微寒,

表 3 疏风解毒胶囊中核心活性成分及目前临床报道有效化合物与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶及 ACE2 的结合能
Table 3 Binding energy of core active components in Shufeng Jiedu Capsule and effective compounds reported in clinical reports with SARS-CoV-2 3CL hydrolase and ACE2

化合物	化学式	相对分子质量	CAS 号	与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶结合能/(kJ·mol ⁻¹)	与 ACE2 结合能/(kJ·mol ⁻¹)
6-(3-氧吲哚-2-亚立德) 吲哚 [2,1-b] 喹唑啉-12-酮 {6-(3-oxoindolin-2-ylidene) indolo [2,1-b] quinazolin-12-one}	C ₂₃ H ₁₃ N ₃ O ₂	363.39	97457-31-3	-38.94	-27.22
荷包牡丹碱 (bicuculline)	C ₂₀ H ₁₇ NO ₆	300.36	485-49-4	-36.01	-25.12
大黄素甲醚葡萄糖苷 (physciondiglucoside)	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₅	608.60	84268-38-2	-35.17	-24.70
双氢轮叶十齿草碱 (dihydroverticillatine)	C ₂₅ H ₂₉ NO ₅	423.55	10215-02-8	-34.33	-23.87
甘草异黄烷酮 (licoisoflavanone)	C ₂₀ H ₁₈ O ₆	354.38	66067-26-3	-33.91	-25.12
格列本汀 F (glyasperin F)	C ₂₀ H ₁₈ O ₆	354.38	145382-61-2	-32.66	—
芸苔葡萄糖硫苷 (glucobrassicin)	C ₁₆ H ₂₀ N ₂ O ₉ S ₂	448.52	4356-52-9	-32.24	—
甘草素 L[3-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-8-(3-methylbut-2-enyl) chromone]	C ₂₀ H ₁₈ O ₆	354.38	129145-50-2	-32.24	—
夏姆比奥纳 (xambioona)	C ₂₅ H ₂₄ O ₄	388.49	82345-36-6	-32.24	—
光甘草宁 (glabranin)	C ₂₀ H ₂₀ O ₄	356.40	41983-91-9	-31.82	—
瑞德西韦	C ₂₇ H ₃₅ N ₆ O ₈ P	602.60	1809249-37-3	-33.91	-22.61
利巴韦林	C ₈ H ₁₂ N ₄ O ₅	244.20	36791-04-5	-25.12	-17.59
利托那韦	C ₃₇ H ₄₈ N ₆ O ₅ S ₂	720.90	155213-67-5	-25.96	-17.59
硝唑尼特	C ₁₂ H ₉ N ₃ O ₅ S ₂	307.28	55981-09-4	-24.70	-19.26
洛匹那韦	C ₃₇ H ₄₈ N ₄ O ₅	628.80	192725-17-0	-28.05	-24.28
法匹拉韦	C ₅ H ₄ FN ₃ O ₂	157.10	259793-96-9	-20.10	-16.75
氯喹	C ₁₈ H ₂₆ ClN ₃	318.90	54-05-7	-23.03	-17.59

具有清热解毒之功，可用于治疗肺痈；马鞭草味苦性凉，具有解毒之功，可用治喉闭，柴胡能疏散退热，可减轻发热；甘草可清热解毒、祛痰止咳并调和诸药，可用于治疗咳嗽痰多，并可缓和其他药物的苦寒之性，全方共奏“疏风清热，解毒利咽、止咳”之功，且败酱草、马鞭草均有活血之功，马鞭草、芦根均有利水之效，活血可以化瘀，利水方能祛湿，因此，此方可针对 COVID-19 的“湿、热、毒、瘀”奏效，且刘兰英等^[22]研究发现 COVID-19 患者的心理状态存在一定问题，柴胡又有疏肝解郁之效，可一定程度上调节患者的情志，使患者更快康复。

本研究采用网络药理学方法对疏风解毒胶囊所含板蓝根、虎杖、连翘、芦根、败酱草、马鞭草、柴胡、甘草 8 味中药的所含成分及靶标进行了网络

分析，将所有成分与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶进行对接，选择结果中结合能最小的 5 个成分作为疏风解毒胶囊治疗 COVID-19 的核心活性成分，并与 ACE2 进行对接，研究疏风解毒胶囊治疗 COVID-19 的作用机制。由图 2 得出的连接靶点排名前 10 的化合物中槲皮素、β-谷甾醇、山柰酚、豆甾醇、木犀草素、刺槐素 6 个化合物存在于多个中药中，且葛根素是可作用于 ACE2 的单体化合物，并已被证实与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶和 ACE2 具有良好的亲和力^[23]。分子对接筛选得到的 5 个核心化合物 6-(3-氧吲哚-2-亚立德) 吲哚 [2,1-b] 喹唑啉-12-酮、荷包牡丹碱、大黄素甲醚葡萄糖苷、双氢轮叶十齿草碱、甘草异黄烷酮分别来自于板蓝根、连翘、虎杖、马鞭草、甘草，关于 5 个成分的药理作用和含量均鲜

6-(3-氧吲哚-2-亚立德) 吲哚[2,1-b] 喹啉-12-酮-SARS-CoV-2 3CL 水解酶

6-(3-氧吲哚-2-亚立德) 吲哚[2,1-b] 喹啉-12-酮-ACE2

荷包牡丹碱-SARS-CoV-2 3CL 水解酶

荷包牡丹碱-ACE2

大黄素甲醚葡萄糖苷-SARS-CoV-2 3CL 水解酶

大黄素甲醚葡萄糖苷-ACE2

双氢轮叶十齿草碱-SARS-CoV-2 3CL 水解酶

双氢轮叶十齿草碱-ACE2

甘草异黄烷酮-SARS-CoV-2 3CL 水解酶

甘草异黄烷酮-ACE2

图6 疏风解毒胶囊核心活性化合物与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶和 ACE2 的结合模式图

Fig. 6 Binding pattern of core active compound of Shufeng Jiedu Capsule with SARS-CoV-2 3CL hydrolase and ACE2

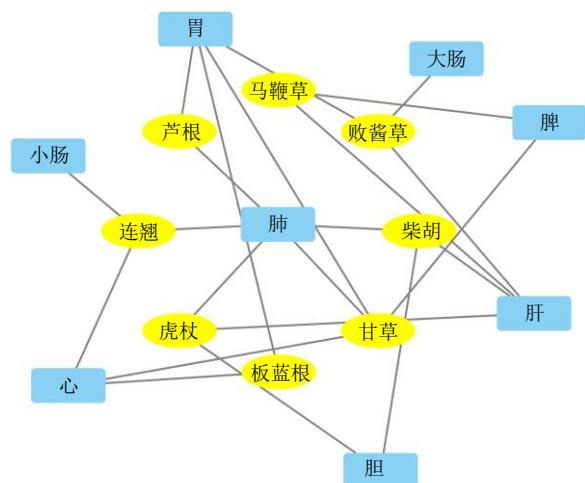


图 7 疏风解毒胶囊中药-归经网络

Fig. 7 Shufeng Jiedu Capsule Chinese materia medica meridian return network

见报道,可能是由于这些成分不属于这些药物的常见成分,故而少有研究,研究表明荷包牡丹碱可有效抑制人肺腺癌细胞^[24],说明研究内容少的化合物也确有良好药理作用,因此应加强中药中不常见化合物的研究。分子对接结果表明所有化合物与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶的结合能均远小于-5 kJ/mol,说明这些化合物均能较好地与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶结合发挥治疗 COVID-19 的作用,且中药发挥作用依赖于多成分,因此对于中药,不应专注于某一化合物,而应考虑整体性。从网络药理学及分子对接结果可知,疏风解毒胶囊组方中的 5 个核心活性成分 6-(3-氧吡啶-2-亚立德) 吡啶 [2,1-b] 喹啉-12-酮、荷包牡丹碱、大黄素甲醚葡萄糖苷、双氢轮叶十齿草碱、甘草异黄酮与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶的结合能分别为-38.94、-36.01、-35.17、-34.33、-33.91 kJ/mol,包括黄酮、生物碱和蒽醌类成分,结合能远小于目前临床推荐的化学药(化学药结合能最低的瑞德西韦为-33.91 kJ/mol)。由于 ACE2 是 SARS-CoV 及 SARS-CoV-2 的宿主细胞受体, SARS-CoV-2 通过其表达的 S-蛋白与人体 ACE2 结合,从而导致病毒侵入机体而致病^[25]。因此又将这 5 种成分与 ACE2 进行了分子对接,结果显示 6-(3-氧吡啶-2-亚立德) 吡啶 [2,1-b] 喹啉-12-酮、荷包牡丹碱、大黄素甲醚葡萄糖苷、双氢轮叶十齿草碱、甘草异黄酮与 ACE2 的结合能分别为-27.22、-25.12、-24.70、-23.87、-25.12 kJ/mol,普遍小于目前推荐的化学药(化学药结合能最低的

洛匹那韦为-24.28 kJ/mol)。KEGG 分析得出的与肺和病毒最为相关的 4 条通路中均涉及 PTGS2 和 RELA 等基因,且均是 6-(3-氧吡啶-2-亚立德) 吡啶 [2,1-b] 喹啉-12-酮、荷包牡丹碱、大黄素甲醚葡萄糖苷、双氢轮叶十齿草碱、甘草异黄酮的作用靶点。疏风解毒胶囊核心活性成分是否通过作用于 PTGS2 和 RELA 等靶点调节人巨细胞病毒感染、卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染、IL-17 信号通路、小细胞肺癌通路,从而起到抗 COVID-19 的作用,需要进一步研究。

本研究应用网络药理学和分子对接法,对疏风解毒胶囊中核心活性成分与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶及 ACE2 的结合能进行测定,并对疏风解毒胶囊治疗 COVID-19 的潜在作用机制进行了预测,结果表明,疏风解毒胶囊通过多成分、多靶点、多途径、多通路作用于 SARS-CoV-2 及 ACE2 发挥治疗 COVID-19 作用。由于目前网络药理学和分子对接结果仅是预测结果,其确切机制及疗效还需要待实验研究和临床试验验证。

参考文献

- [1] 国家卫生健康委员会. 关于印发新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第七版)的通知 [EB/OL]. [2020-03-04]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/zhengcwj/202003/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989.shtml>.
- [2] 央视新闻. 中医抗疫·传承数千年民族智慧 [EB/OL]. [2020-02-29]. <http://news.cctv.com/2020/02/29/ARTI0fqW6EQuc6vyWravXSh1200229.shtml>.
- [3] 国家卫生健康委员会. 关于印发新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第四版)的通知 [EB/OL]. [2020-01-27]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/zhengcwj/202001/4294563ed35b43209b31739bd0785e67.shtml>.
- [4] 国家卫生健康委员会. 关于印发新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第五版)的通知 [EB/OL]. [2020-02-05]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/zhengcwj/202002/3b09b894ac9b4204a79db5b8912d4440.shtml>.
- [5] 国家卫生健康委员会. 关于印发新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第六版)的通知 [EB/OL]. [2020-02-19]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/zhengcwj/202002/8334a8326dd94d329df351d7da8aefc2.shtml>.
- [6] Liu Y F, Chen M H, Guo Q L, et al. Antiviral glycosidic bisindole alkaloids from the roots of *Isatis indigotica* [J] *Asian Nat Prod Res*, 2015, 17(7): 689-704.
- [7] Lin C J, Lin H J, Chen T H, et al. Correction: *Polygonum cuspidatum* and its active components inhibit replication of the influenza virus through toll-like receptor 9-induced

- interferon beta expression. [J] *PLoS One*, 2015, 10(4): e0125288.
- [8] Law A H, Yang C L, Lau A S, *et al.* Antiviral effect of forsythoside A from *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl fruit against influenza A virus through reduction of viral M1 protein. [J]. *Ethnopharmacology*, 2017, 209: 236-247.
- [9] 瞿香坤, 郝树立, 马景贺, 等. 疏风解毒胶囊联合阿比多尔治疗新型冠状病毒肺炎的回顾性研究 [J]. 中草药, 2020, 51(5): 1167-1170.
- [10] 向净匀, 吴杰, 王琰, 等. 基于网络药理学的黄芩素、京尼平抗脑缺血作用机制研究 [J]. 中草药, 2019, 50(23): 5802-5811.
- [11] Chen Y W, Yiu C B, Wong K Y. Prediction of the SARS-CoV-2 (2019-nCoV) 3C-like protease (3CL pro) structure: Virtual screening reveals velpatasvir, ledipasvir, and other drug repurposing candidates [J]. *F1000 Res*, 2020, 9: 129.
- [12] Wan Y, Shang J, Graham R, *et al.* Receptor recognition by the novel coronavirus from Wuhan: An analysis based on decade-long structural studies of SARS coronavirus [J]. *Virology*, 2020, doi: 10.1128/JVI.00127-20.
- [13] Zhang H, Penninger J M, Li Y, *et al.* Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target [J]. *Intensive Care Med*, 2020, 46(4): 586-590.
- [14] 刘树森, 孙文斌, 李文兰, 等. 基于网络药理学的黄连-吴茱萸药对抗癌及治疗心脑血管疾病机制研究 [J]. 中草药, 2020, 51(1): 109-117.
- [15] 宗阳, 丁美林, 贾可可, 等. 基于网络药理学和分子对接法探寻达原饮治疗新型冠状病毒(2019-nCoV)肺炎活性化合物的研究 [J]. 中草药, 2020, 51(4): 836-844.
- [16] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [17] 《中华本草》编委会. 中华本草 [M] 上海: 上海科学技术出版社, 1998.
- [18] 姚运秀, 贺桢翔, 刘晓凤, 等. 基于网络药理学和分子对接技术的抗病毒颗粒治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的潜在物质基础研究 [J]. 中草药, 2020, 51(6): 1386-1396.
- [19] 邓燕君, 刘博文, 贺桢翔, 等. 基于网络药理学和分子对接法探索藿香正气口服液预防新冠病毒肺炎(COVID-19)活性化合物研究 [J]. 中草药, 2020, 51(5): 1113-1122.
- [20] 清·叶桂, 薛雪著, 张志斌整理. 温热论·湿热论 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2017.
- [21] 国家卫生健康委员会. 关于印发新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第三版)的通知 [EB/OL]. [2020-01-23]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/yqfkdt/202001/f492c9153ea9437bb587ce2ffcbee1fa.shtml>.
- [22] 刘兰英, 杨蒋伟, 韩梅, 等. 中医视角下的新型冠状病毒肺炎疫情心理危机干预技术 [J/OL]. 世界科学技术—中医药现代化, [2020-03-12]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5699.R.20200302.1307.002.html>.
- [23] 宗阳, 丁美林, 马世堂, 等. 以血管紧张素转换酶 II (ACE2) 为受体挖掘治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)潜在中药及单体成分 [J]. 中草药, 2020, 51(5): 1123-1129.
- [24] 刘岩, 张虹, 金雪, 等. 荷包牡丹碱对人肺癌 A549 细胞生长及端粒酶活性的抑制作用 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2011, 25(6): 543-546.
- [25] Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, *et al.* SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor [J]. *Cell*, 2020, 181: 1-10.