

# 基于网络药理学和分子对接技术探究金银花入血成分干预新型冠状病毒肺炎的作用机制

刘畅<sup>1</sup>, 周枝<sup>2</sup>, 尹志刚<sup>3</sup>, 周英<sup>1,2\*</sup>

1. 贵州中医药大学 药学院/药食两用资源应用与开发研究中心, 贵州 贵阳 550025

2. 贵州省药食同源植物资源开发工程技术研究中心, 贵州 贵阳 550025

3. 贵州大学 生命科学学院, 贵州 贵阳 550025

**摘要:** **目的** 通过网络药理学和分子对接技术探究金银花入血成分干预新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 的作用机制。 **方法** 通过 Swiss Target Prediction 和 Similarity Ensemble Approach 数据库检索金银花中入血成分的作用靶点, 利用 GeneCards 数据库和 CTD 数据库检索 COVID-19 靶点基因, 利用 Cytoscape 3.7.1 软件构建金银花入血成分-靶点网络, 利用 DAVID 工具对金银花抗 COVID-19 靶标基因进行 GO 生物学过程富集分析, 应用 KOBAS 3.0 工具对金银花抗 COVID-19 靶标基因进行 KEGG 通路富集分析。 **结果** 筛选出金银花 10 个入血成分金丝桃苷、7-甲氧基香豆素、3-O-阿魏酰奎尼酸、绿原酸、新绿原酸、隐绿原酸、对酞酸二甲酯、癸二酸二丁酯、十六碳烯酸、herboxidiene, 可能通过作用于磷酸肌醇 3 激酶调控亚基 1 (PIK3R1)、B 细胞  $\kappa$  轻链基因增强子核因子 1 (NFkB1)、鼠肉瘤病毒癌基因 (HRAS)、白细胞介素 6 (IL6)、肿瘤坏死因子 (TNF)、肿瘤蛋白 p53 (TP53)、胱天蛋白酶 3 (CASP3)、生长因子受体结合蛋白 2 (GRB2)、糖原合酶激酶 3 $\beta$  (GSK3 $\beta$ )、禽肉瘤病毒 17 的假定转化基因 (JUN)、丝裂原活化蛋白激酶 10 (MAPK10)、丝裂原活化蛋白激酶 14 (MAPK14)、丝裂原活化蛋白激酶 8 (MAPK8) 等关键靶点干预 27 条关键信号通路, 主要涉及免疫、炎症、病毒、神经系统等相关通路。分子对接结果显示金丝桃苷与新型冠状病毒 3CL (SARS-CoV-2 3CL) 水解酶和血管紧张素转化酶 2 (ACE2) 结合最为稳定。 **结论** 金银花中入血成分可通过干预与抗炎、抗病毒、免疫、解热、止痛、镇静等相关的蛋白及通路发挥抗 COVID-19 的作用。

**关键词:** 金银花; 网络药理学; 分子对接; 新型冠状病毒肺炎; 金丝桃苷; 7-甲氧基香豆素; 3-O-阿魏酰奎尼酸; 绿原酸; 新绿原酸; 隐绿原酸

中图分类号: R286.4

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2022)02-0264-11

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2022.02.006

## Explore mechanism of blood components *Lonicerae Japonicae Flos* intervening COVID-19 based on network pharmacology and molecular docking technology

LIU Chang<sup>1</sup>, ZHOU Zhi<sup>2</sup>, YIN Zhi-gang<sup>3</sup>, ZHOU Ying<sup>1,2</sup>

1. School of Pharmacy/Research Center for Application and Development of Medicine and Food Dual-use Resources, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China

2. Guizhou Engineering Center for Innovative Traditional Chinese Medicine and Ethnic Medicine, Guiyang 550025, China

3. College of Life Science, Guizhou University, Guiyang 550025, China

**Abstract: Objective** To explore the mechanism of *Lonicerae Japonicae Flos* (LJF) intervening COVID-19 by network pharmacology and molecular docking. **Methods** The potential targets of ingredients in serum of LJF were searched by Swiss Target Prediction and Similarity Ensemble Approach platform, and to predict and screen the therapeutic targets of COVID-19 through GeneCards and CTD databases. Ingredients in serum-target pathway network model was established by Cytoscape 3.7.1 software. GO biological process enrichment analysis of anti-COVID-19 target genes in *Lonicerae Japonicae Flos* was performed by DAVID, and KEGG pathway enrichment analysis of anti-COVID-19 target genes in in serum of *Lonicerae Japonicae Flos* was performed by

收稿日期: 2021-11-02

基金项目: 贵州省科技计划项目 (黔科合基础-ZK[2021]一般 515); 贵州中医药大学 2021 年大学生创新创业训练计划项目 (贵中医大创合字 (2021) 16 号)

作者简介: 刘畅, 女, 讲师, 主要从事药用植物基因组学、次生代谢调控及中药药效物质基础与质量控制研究。E-mail: 19liuchang@163.com

\*通信作者: 周英, 女, 教授, 主要从事中药药效物质基础与质量控制研究及中药新药的研究开发。E-mail: yingzhou71@126.com

KOBAS 3.0. **Results** Ten ingredients in serum of *Lonicerae Japonicae Flos* such as hyperoside, 7-methoxycoumarin, 3-*O*-feruloylquinic acid, chlorogenic acid, neochlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, dimethyl terephthalate, dibutyl sebacate, hexadecenoic acid, herboxidiene involved in PIK3R1, NFKB1, HRAS, IL6, TNF, TP53, CASP3, GRB2, GSK3B, JUN, MAPK10, MAPK14, MAPK8, PRKCA, and affected 27 mainly pathways involved in immune, inflammation, virus, nervous system, and so on. The molecular docking showed that the binding energy of hyperoside with the SARS-CoV-2 3CL hydrolase and ACE2 were most stable. **Conclusion** Ingredients in serum of *Lonicerae Japonicae Flos* may interfere proteins and pathways related to anti-inflammatory, antiviral immunity, antipyretic, analgesic and sedation to play a role against COVID-19.

**Key words:** *Lonicerae Japonicae Flos*; network pharmacology; molecular docking; COVID-19; hyperoside, 7-methoxycoumarin; 3-*O*-feruloylquinic acid; chlorogenic acid; neochlorogenic acid; cryptochlorogenic acid; dimethyl terephthalate

新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 是由新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 感染而引起的急性呼吸道传染性疾病, 属于中医疫病范畴<sup>[1]</sup>。中医辨治以治毒、痰、湿、虚为主, 治肺为关键, 兼顾脾胃, 化痰止咳平喘、补气和化湿为主。国家和各个省 (自治区、直辖市) 公布的 COVID-19 中医诊疗方案涉及 241 种中成药, 使用频率较高的中药材有甘草、连翘、金银花等<sup>[2]</sup>, 中成药双黄连口服液、连花清瘟胶囊、痰热清注射液等均含有金银花、黄芩等<sup>[1]</sup>。将治疗严重急性呼吸综合征 (SARS) 和 COVID-19 的 10 种高频中药化合物与血管紧张素转化酶 II (ACE2) 进行分子对接, 得分值较高的化合物归属中药最多的是金银花、连翘和甘草<sup>[3]</sup>。

金银花为忍冬科忍冬属植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 初开的花或干燥花蕾, 主要化学成分包括有机酸类、黄酮类、三萜类及环烯醚萜等, 具有抗炎、抗病毒、抗氧化、保肝等功效<sup>[4]</sup>。研究表明, 金银花具有抗登革热病毒 (DENV2)、甲型流感病毒 (FM1)、乙型肝炎病毒 (HBV) 等作用<sup>[5-7]</sup>。金银花在《新编国家中成药》(第 2 版) 清热类和解毒类药中出现频率排第 3 位<sup>[8]</sup>。金银花作为药食同源中药在防治 COVID-19 疫情中发挥了重要作用<sup>[2]</sup>, 可作为预防 COVID-19 的日常食用中药材。

中药血清药物化学主要研究药物在体内吸收成分的种类和代谢情况等, 对中药药效物质进行快速、准确的分析鉴定<sup>[9]</sup>。本课题组前期基于血清药物化学理论, 利用 UPLCQ-TOF-MS 技术对大鼠 ig 金银花后血中移行成分进行分析, 共指出 12 个入血成分, 鉴定 6 个原型成分和 6 个代谢成分<sup>[10]</sup>。研究表明, 采用分子对接技术研究清肺排毒汤的入血成分, 12 个入血成分作用于 55 个 COVID-19 相关的靶点, 其中黄芩苷、甘草酸、橙皮苷、金丝桃苷是清肺排毒汤发挥效应的关键化合物<sup>[11-13]</sup>。因此, 本研究采用网络药理学和分子对接技术探究金银花入血成

分干预 COVID-19 的作用机制, 为通过食疗预防 COVID-19 提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 收集金银花入血成分靶点和疾病靶点

利用 ALOGPS 2.1 (<http://www.vcclab.org/lab/alogps/>) 平台, 将金银花血中移行成分结构图转化为标准的 Canonical SMILES 格式, 将其输入 SwissTargetPrediction 平台和 Similarity ensemble approach (SEA) 数据库, 预测入血成分的靶点。利用 GeneCards 数据库和 CTD 数据库检索“COVID-19”“novel coronavirus pneumonia”“novel coronavirus 2019”等, 筛选并删除重复靶点基因。

### 1.2 构建成分-靶点网络图和蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络图

将金银花入血成分靶点与 COVID-19 进行交集比对, 获得入血成分-疾病靶点, 利用 Cytoscape 3.7.1 软件构建成分-靶点网络。为了分析靶点间的相互作用, 将候选靶点导入 String 数据库, 获得靶点间相互作用关系, 保存为 TSV 格式, 把其中条目 node1 和 node2 数据导入 Cytoscape 3.7.1 软件, 计算度 (degree) 值, 分析网络拓扑参数, 筛选出关键蛋白靶点, 并利用 MCODE 插件进行 Cluster 模块分析。

### 1.3 功能富集分析与通路富集分析及构建成分-靶点-通路网络图

利用 DAVID 工具 (<https://david.ncifcrf.gov/>) 对金银花抗 COVID-19 靶标基因进行基因本体 (GO) 生物学过程富集分析  $P < 0.05$  的通路。应用 KOBAS3.0 (<http://kobas.cbi.pku.edu.cn/>) 工具对金银花抗 COVID-19 靶标基因进行京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析  $P < 0.05$  的通路, 筛选金银花抗 COVID-19 靶标基因可能的生物学功能及相关通路, 利用 Cytoscape 3.7.1 软件构建成分-靶点-通路网络图。

### 1.4 分子对接实验

从 PDB 数据库下载 COVID-19 水解酶和血管紧张素转化酶 II (ACE2) 的 3D 结构式, 利用 pymol 软件移去配体和非蛋白分子, 通过 PubChem 平台中查询、下载金银花中入血成分核心配体结构的 mol2 格式。将其分别导入 SwissDock 对接软件得到二者的结合能量 ( $\Delta G$ ),  $\Delta G$  越低表明它们之间越稳定, 利用 UCSFchimera 软件进行可视化。

## 2 结果与分析

### 2.1 金银花中入血成分的鉴定

基于血清药物化学理论, 本课题组前期利用 UPLCQ-TOF-MS 技术对大鼠 ig 金银花后血中移行成分进行分析<sup>[10]</sup>, 共指出 12 个入血成分, 具体

信息见表 1, 鉴定出 6 个原型成分和 6 个代谢成分, 原型成分为 7-甲氧基香豆素(7-methoxycoumarin)、3-*O*-阿魏酰奎尼酸(3-*O*-feruloylquinic acid)、金丝桃苷(hyperoside)、绿原酸(chlorogenic acid)、新绿原酸(neochlorogenic acid)、隐绿原酸(cryptochlorogenic acid), 代谢成分为对酞酸二甲酯(dimethyl terephthalate)、癸二酸二丁酯(dibutyl sebacate)、十六碳烯酸(hexadecenoic acid)、herboxidiene、2-propenoic acid, 2-methyl-, polymer with 2-ethylhexyl 2-propenoate and methyl 2-methyl-2-propenoate、3-[(1*S*,2*S*,6*S*)-6-isopropeny-1,3-dimethyl-[(*S*)-3-methyl-5-(2*R*,3*R*,4*S*,5*S*)-3,4,5-trihydroxy-etrahydro-pyran-2-yloxy)-pentyl]-cyclohex-3-enyl]-propionic acid。

表 1 金银花的入血成分

Table 1 Ingredients in serum of *Lonicerae Japonicae Flos*

编号	$t_R$ /min	分子式	离子模式	相对分子质量( $m/z$ )	主要二级碎片离子( $m/z$ )	化合物
1	0.361	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	174.956 1	146.961 2, 145.930 7, 143.935 7, 130.965 7	7-甲氧基香豆素
2	4.614	C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	367.103 3	335.888 6, 307.855 1, 192.053 7, 174.955 1, 134.037 2, 93	3- <i>O</i> -阿魏酰奎尼酸
3	5.605	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	463.052 4	301.922 2, 271.919 1	金丝桃苷
4	5.739	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	193.050 7	174.955 3, 145.930 5, 134.892 1	对酞酸二甲酯
5	6.497		[M-H] <sup>-</sup>	186.056 0	168.887 5, 142.066 3	未知
6	6.778		[M-H] <sup>-</sup>	188.071 8	145.930 5, 125.872 5, 116.929 0	未知
7	8.596	C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O <sub>6</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	369.228 9	352.852 8, 339.125 6, 325.201 4, 257.175 6, 242.175 4	2-propenoic acid, 2-methyl-, polymer with 2-ethylhexyl 2-propenoate and methyl 2-methyl-2-propenoate
8	9.354	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	355.264 4	337.252 7, 163.039 8, 145.102 7	新绿原酸
9	9.370	C <sub>25</sub> H <sub>42</sub> O <sub>7</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	453.286 1	425.289 9, 407.280 7, 263.128 1	3-[(1 <i>S</i> ,2 <i>S</i> ,6 <i>S</i> )-6-isopropeny-1,3-dimethyl-[( <i>S</i> )-3-methyl-5-(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> )-3,4,5-trihydroxy-etrahydro-pyran-2-yloxy)-pentyl]-cyclohex-3-enyl]-propionic acid
10	9.551	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	355.264 4	337.252 3, 163.039 7, 145.101 4	绿原酸
11	10.492	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	355.263 8	337.252 0, 163.041 4, 145.101 4	隐绿原酸
12	10.760	C <sub>25</sub> H <sub>42</sub> O <sub>6</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	437.291 0	407.279 2, 392.288 9, 391.285 6	herboxidiene
13	11.896	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	313.238 9	407.279 2, 295.227 1, 269.192 7, 249.149 5, 146.965 2	癸二酸二丁酯
14	14.683		[M-H] <sup>-</sup>	826.562 7	814.563 1, 766.541 3, 540.332 0, 480.310 7, 319.228 9	未知
15	17.361	C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	253.217 7	209.044 9	十六碳烯酸

## 2.2 金银花入血成分靶点和疾病靶点的筛选

利用 ALOGPS 2.1 平台将金银花中入血成分 7-甲氧基香豆素、3-O-阿魏酰奎尼酸、金丝桃苷、绿原酸、新绿原酸、隐绿原酸、对酞酸二甲酯、癸二酸二丁酯、十六碳烯酸、herboxidiene 的结构图转化为标准的 Canonical SMILES 格式。将 Canonical SMILES 格式文件导入 Swiss Target Prediction 平台和 Similarity Ensemble Approach (SEA) 数据库, 将其属性设为“homo sapiens”, 预测金银花入血成分的潜在靶点。利用 Swiss Target Prediction 数据库筛选到 226 个靶点, 利用 SEA 数据库筛选到 339 个靶点, 删除重复共得到 549 个靶点。在 GeneCards 数据库检索到 262 个 COVID-19 相关靶点, CTD 数据库检索到 12 671 个靶点, GeneCards 和 CTD 数据库共得到 12 704 个靶点。

## 2.3 构建成分-靶点网络图

将金银花入血成分靶点与 COVID-19 对应靶点功能相映射, 筛选得到 266 个金银花干预 COVID-19 潜在的靶点。构建金银花入血成分-靶点网络, 见图 1, 其中隐绿原酸作用于 42 个靶点、新绿原酸作用于 38 个靶点、绿原酸作用于 37 个靶点等。从靶点角度来看, 较为重要的靶点为碳酸酐酶 2 (CA2)、碳酸酐酶 12 (CA12)、碳酸酐酶 1 (CA1)、碳酸酐酶 9 (CA9)、基质金属蛋白酶 2 (MMP2)、盒转运蛋白亚家族 G2 (ABCG2)、醛糖

还原酶 (AKR1B1)、基质金属蛋白酶 12 (MMP12)、基质金属蛋白酶 13 (MMP13)、B 细胞  $\kappa$  轻链基因增强子核因子 1 (NFKB1)、糖原磷酸化酶 (PYGL) 等, 如有 8 个化合物均可作用于 CA2, 7 个化合物作用于 CA12, 6 个化合物作用 CA1, 6 个化合物作用于 CA9。不同的化合物可能作用于同一靶点, 金银花抗 COVID-19 可能是多成分作用于多靶点发挥协同作用。

## 2.4 构建 PPI 网络图

将筛选出的靶点导入 String 数据库, 设定高置信度为 0.900, 获得蛋白相互作用关系, 将其保存为 TSV 文件, 导入 Cytoscape 中构建蛋白互作网络, 得到 192 个节点和 778 条边 (图 2)。根据连接度、介度、紧密度等进行拓扑分析, 确定关键核心靶点磷脂酰肌醇 3-激酶 (PIK3CA)、淀粉样前体蛋白 (APP)、原癌基因 (SRC)、溶血磷脂酸受体 3 (LPAR3)、肿瘤蛋白 p53 (TP53)、丝裂原活化蛋白激酶 14 (MAPK14)、鼠肉瘤病毒癌基因 (HRAS)、G 蛋白  $\alpha$  抑制剂抗体 1 (GNAI1)、G 蛋白  $\alpha$  抑制剂抗体 3 (GNAI3)、丝裂原活化蛋白激酶 8 (MAPK8) 等 (表 2), 这些蛋白主要涉及炎症反应、免疫调节、抗病毒、解热、镇静等作用, 可能为金银花发挥清热解毒功效的关键蛋白靶点。

为了进一步了解 PPI 网络的生物作用, 使用 Cytoscape 3.7.1 的 MCODE 插件对网络进行 Cluster

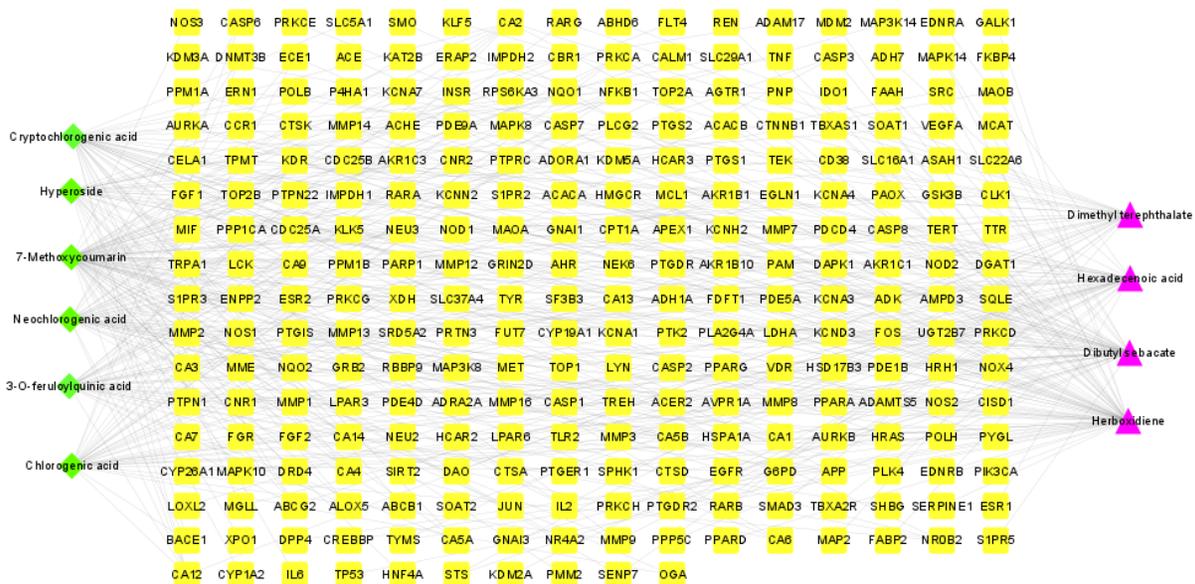


图 1 金银花入血成分-靶点网络图

Fig. 1 Ingredients in serum-targets network of *Lonicerae Japonicae Flos*

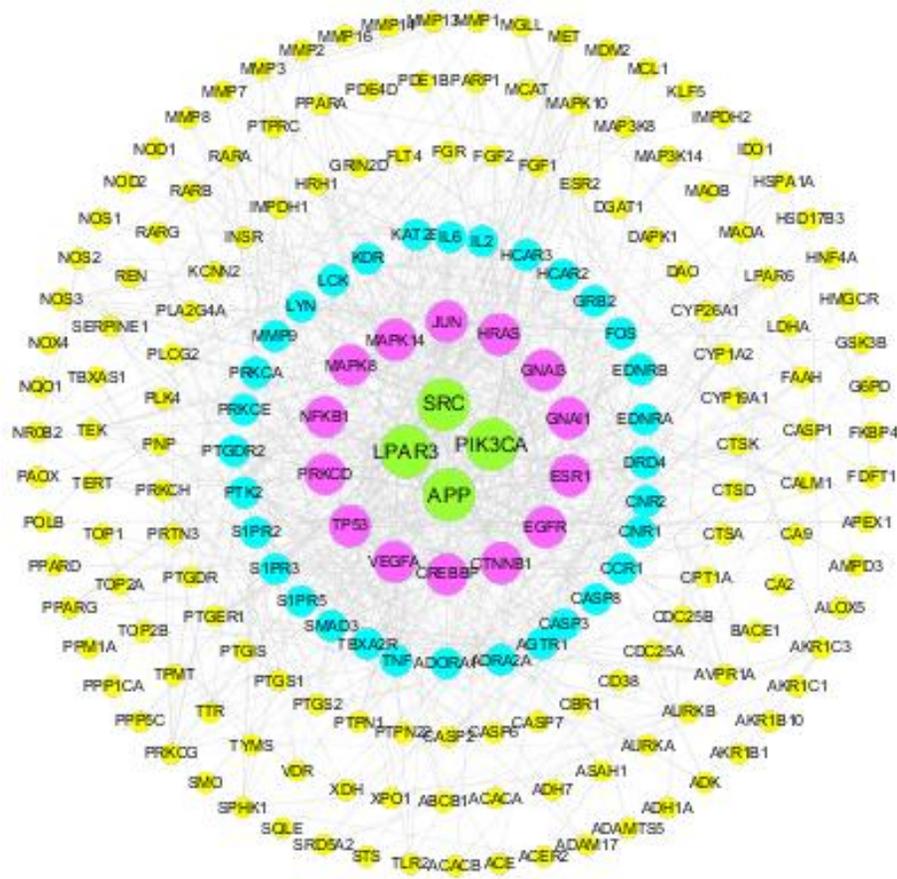


图 2 潜在靶点的 PPI 网络

Fig. 2 PPI network of potential targets

表 2 金银花关键核心靶点信息

Table2 Information of key protein targets related to *Lonicerae Japonicae Flos*

靶点	度值	靶点	度值	靶点	度值	靶点	度值
PIK3CA	35	VEGFA	22	CNR2	16	PRKCE	11
APP	34	ESR1	22	TBXA2R	15	KDR	11
SRC	34	CTNNB1	21	S1PR5	15	KAT2B	11
LPAR3	31	GRB2	20	PTGDR2	15	IL2	11
TP53	30	TNF	20	HCAR3	15	CASP8	11
MAPK14	30	ADORA2A	20	HCAR2	15	PTGER1	10
HRAS	28	PTK2	19	DRD4	15	PRKCG	10
GNAI1	28	LYN	19	CCR1	15	PLCG2	10
GNAI3	26	LCK	19	ADORA1	15	MMP2	10
MAPK8	25	S1PR2	18	SMAD3	13	LPAR6	10
EGFR	24	PRKCA	17	EDNRB	13	HRH1	10
JUN	24	CNR1	17	AGTR1	13	FGR	10
CREBBP	24	CASP3	17	MMP9	12	AVPR1A	10
NFKB1	23	S1PR3	16	IL6	12		
PRKCD	23	FOS	16	EDNRA	12		

模块分析, 共获得 12 个 Cluster 模块 (图 3), 具体模块信息见表 3。对 12 个模块分别进行 GO 分析, Cluster 1 主要与鞘氨醇磷酸盐信号通路、炎症反应、钙离子转运等相关, Cluster 2 主要与 G 蛋白偶联受体信号通路、血管收缩调控、内皮素受体信号通路、

神经系统发育等相关, Cluster 3 主要与病毒过程、T 细胞刺激、白细胞转移、免疫应答等相关, Cluster 4 主要与巨噬细胞分化、细胞增殖、细胞外信号调节酶调控等相关, Cluster 6 主要与细胞分化、抗菌反应、神经反应等相关。

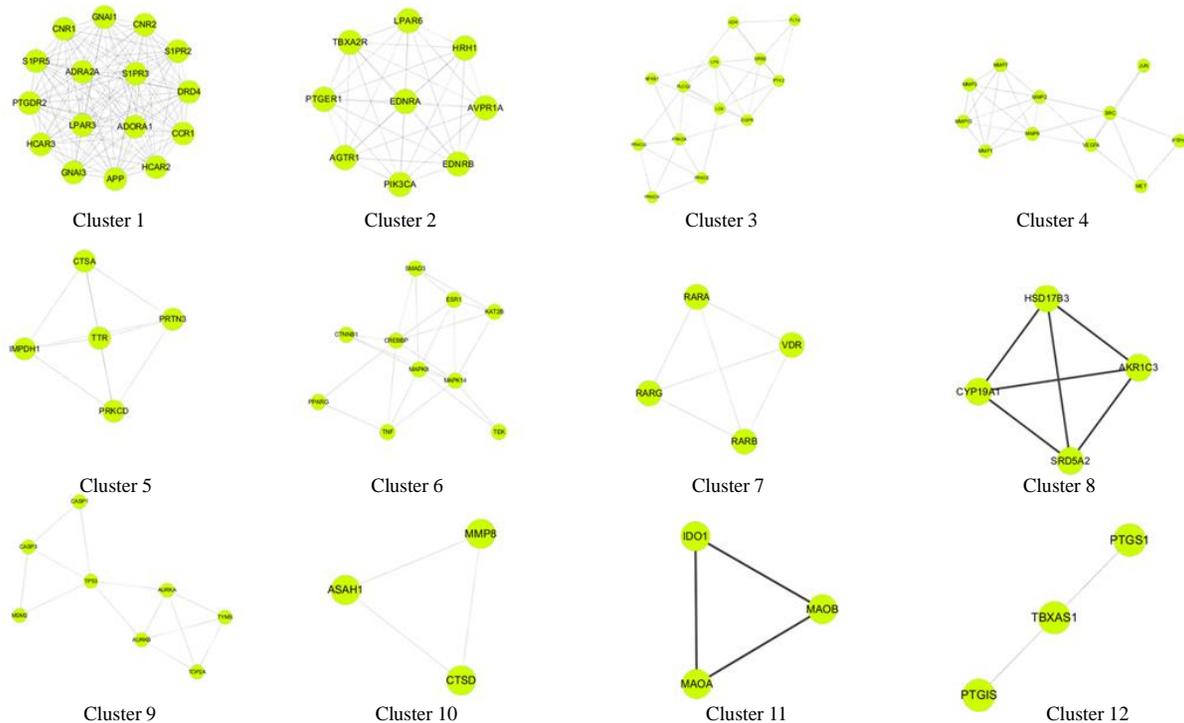


图 3 Cluster 模块的 PPI 网络

Fig. 3 PPI network of Clusters

表 3 PPI 网络的 Cluster 分析

Table 3 Cluster data of PPI network

Cluster	节点	边	模块信息
1	16	120	ADORA1, CNR2, S1PR2, CCR1, PTGDR2, GNAI1, S1PR3, GNAI3, HCAR2, HCAR3, S1PR5, LPAR3, DRD4, APP, CNR1, ADRA2A
2	9	36	PIK3CA, AVPR1A, PTGER1, HRH1, EDNRA, LPAR6, TBXA2R, EDNRB, AGTR1
3	13	32	EGFR, GRB2, PRKCH, PTK2, LCK, PLCG2, PRKCG, KDR, FLT4, PRKCE, LYN, NFKB1, PRKCA
4	11	26	MMP2, SRC, MMP1, MMP7, VEGFA, MMP9, PTPN1, MMP3, MET, MMP13, JUN
5	5	10	CTSA, PRKCD, TTR, IMPDH1, PRTN3
6	10	22	MAPK8, ESRI, SMAD3, CTNNB1, KAT2B, CREBBP, PPARG, MAPK14, TEK, TNF
7	4	6	RARA, RARB, VDR, RARG
8	4	6	HSD17B3, AKR1C3, SRD5A2, CYP19A1
9	8	13	MDM2, CASP1, TOP2A, CASP3, AURKA, AURKB, TP53, TYMS
10	3	3	MMP8, ASAH1, CTSD
11	3	3	MAOB, IDO1, MAOA
12	3	3	PTGIS, TBXAS1, PTGS1

### 2.5 功能富集分析与通路富集分析

将 266 个靶标基因利用 DAVID 进行 GO 分类富集分析, 包括生物学过程分析、分子功能分析、细胞组分分析 (图 4)。在生物学过程中, 作用于氧化还原过程、缺氧反应、药物反应、ERK1 和 ERK2 级联的正调控等; 在分子功能层面上, 作用于碳酸脱水酶、药物结合、类固醇激素受体活性等; 在细胞组分方面, 作用于细胞溶质、细胞质膜、膜筏等。利用 KOBAS3.0 在线软件进行 KEGG 生物通路分析, 结果表明 266 个靶点主要富集在 235 个信号通路, 主要与癌症、炎症、免疫、神经系统等相关, 包括

非小细胞性肺癌、小细胞性肺癌等与癌症相关的通路, 肿瘤坏死因子 (TNF) 信号通路、Toll 样受体 (TLR) 信号通路、白细胞介素-17 (IL-17) 信号通路、Jak-STAT 信号通路等与炎症免疫相关的通路, 人类 T 细胞白血病病毒、人类免疫缺陷病毒 1 型感染等病毒相关通路, 多巴胺突触、轴突导向等与神经功能相关通路。表明金银花可能通过影响与抗炎、免疫调节、抗病毒、解热止痛、镇静等相关的蛋白和通路发挥清热解毒、疏风散热的作用。通过 Omicshare 在线平台对前 20 通路进行可视化处理 (图 4)。

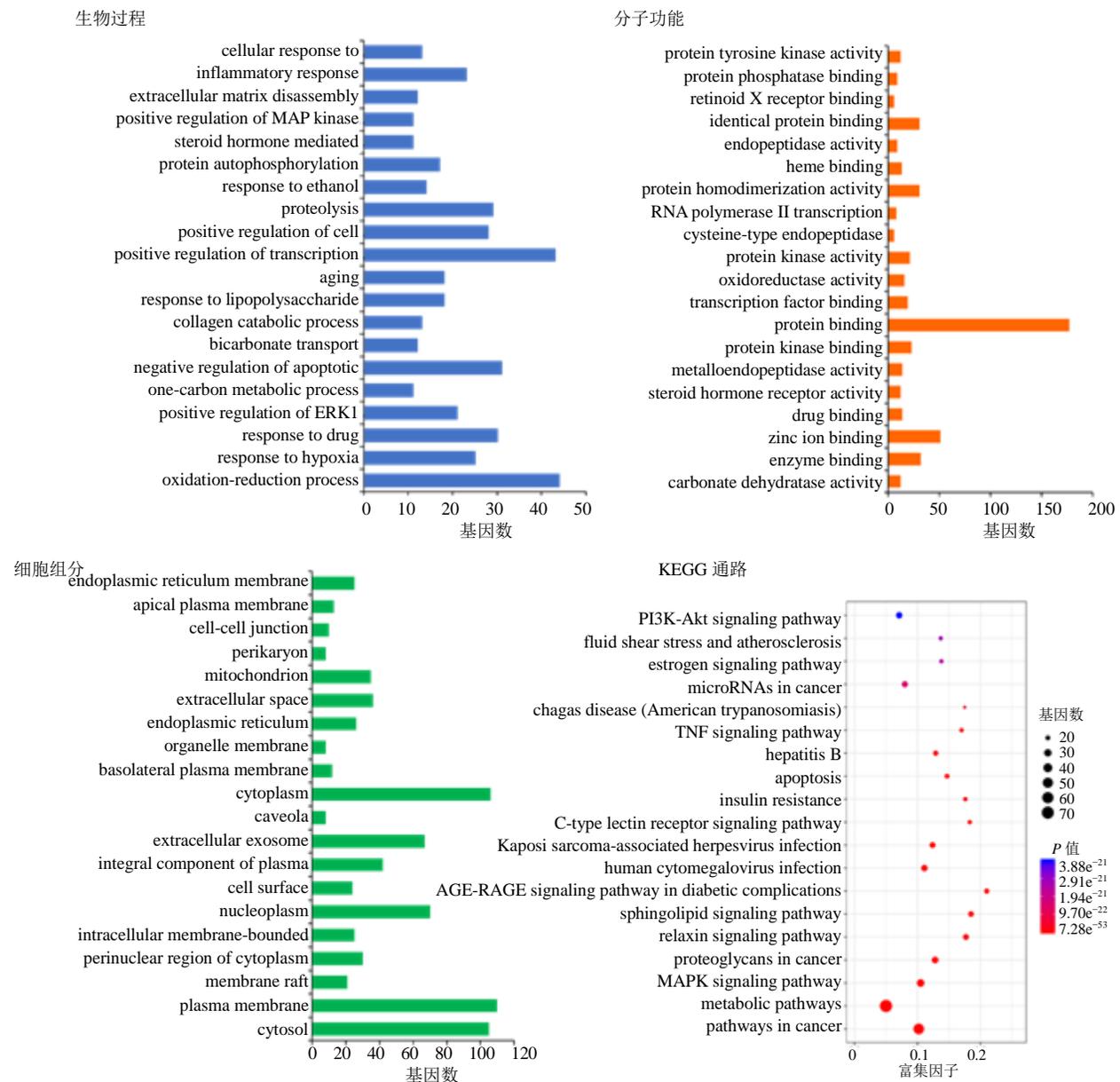


图 4 金银花中入血成分作用靶点的 GO 富集分析和 KEGG 通路分析 (前 20)

Fig. 4 GO and KEGG enrichment analysis of targets of ingredients in serum in *Lonicerae Japonicae Flos* (top 20)



平均相邻节点数目 5.720, 特征路径长度 2.876, 大多数蛋白的联系非常紧密。一个化学成分与多个靶点蛋白的相互作用, 不同化学成分也可作用于同一个靶点蛋白, 显示了金银花的多成分、多靶点、多通路的作用特点, 神经网络通路可能与金银花解热止痛、镇静、化痰镇咳平喘等功效相关。

### 2.7 分子对接结果

分子对接结果表明金银花入血成分与新型冠状病毒

病毒 3CL (SARS-CoV-2 3CL) 水解酶和血管紧张肽 I 转化酶 2 (ACE2) 结合均较为稳定, 有较好的结合活性 (表 4)。其中金丝桃苷与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶和 ACE2 的  $\Delta G$  均最低,  $\Delta G$  越低则表明它们之间越稳定, 发生作用的可能性最大 (图 7), 金丝桃苷可能是金银花发挥抗病毒的作用关键成分。

### 3 讨论

金银花具有清热解毒、疏散风热的功效, 是治

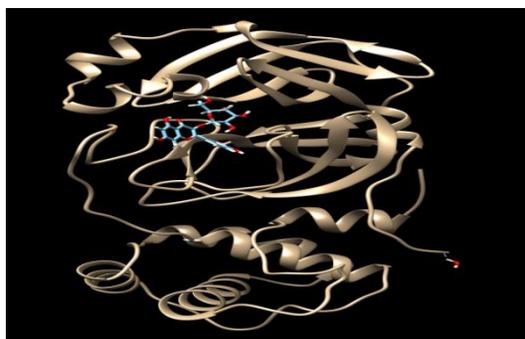
表 4 金银花中入血成分与 SARS-CoV-2 3CL 和 ACE2 的对接结果

Table 4 Binding energy values of ingredients in serum in *Lonicerae Japonicae Flos* with SARS-CoV-2 3CL and ACE2

靶点	化合物	$\Delta G/(\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1})$	靶点	化合物	$\Delta G/(\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1})$
SARS-CoV-2 3CL	新绿原酸	-30.96	ACE2	新绿原酸	-33.14
	绿原酸	-34.27		绿原酸	-31.00
	隐绿原酸	-33.51		隐绿原酸	-33.76
	7-甲氧基香豆素	-26.99		7-甲氧基香豆素	-26.02
	3-O-阿魏酰奎尼酸	-35.35		3-O-阿魏酰奎尼酸	-29.79
	金丝桃苷	-35.86		金丝桃苷	-34.60
	十六碳烯酸	-32.13		十六碳烯酸	-30.08
	herboxidiene	-34.85		herboxidiene	-31.59
	癸二酸二丁酯	-34.10		癸二酸二丁酯	-30.12
对酞酸二甲酯	-28.24	对酞酸二甲酯	-26.23		



金丝桃苷与 SARS-CoV-2 3CL



金丝桃苷与 ACE2

图 7 金丝桃苷与 SARS-CoV-2 3CL、ACE2 的分子对接模式

Fig. 7 Molecular docking diagram of hyperoside with SARS-CoV-2 3CL and ACE2

疗热毒所致的一切痈疮疔疖之要药, 主要抗炎成分有绿原酸、新绿原酸、咖啡酸等<sup>[14]</sup>。金银花中酚酸类化合物新绿原酸、隐绿原酸、绿原酸等对脂多糖刺激的巨噬细胞炎症因子 NO、TNF- $\alpha$ 、IL-6 均具有不同程度的抑制作用<sup>[15-16]</sup>。金银花中绿原酸、黄酮及挥发油类能促进鸡脾淋巴细胞增殖, 具有增强体内免疫的作用<sup>[17]</sup>, 绿原酸等有机酸类的含量与其抑菌活性呈正相关<sup>[18]</sup>。金银花提取物中绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C、咖啡酸等酚酸类和木犀草苷、金丝桃苷等黄酮类对甲型流感病毒肺炎小鼠的死亡有一定的保护作用, 能较好地改善流感病毒肺炎小鼠的肺组织炎症<sup>[19]</sup>。本研究利用分子对接方法探索金银花抗 COVID-19 潜在的活性成分, 结果表明金银花血中移行成分金丝桃苷与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶和 ACE2 结合最为稳定, 发生作用的可能性最大。金丝桃苷具有镇痛、抗氧化、抗乙肝病毒及保护心肌、肝脏等作用<sup>[20]</sup>。金丝桃苷能够抑制肺炎支原体肺炎小鼠氧化应激和 NLRP3 炎性体的激活, 从而抑制肺炎支原体肺炎的损伤<sup>[21]</sup>。金丝桃苷作为清肺排毒汤主要入血成分, 作用于 COVID-19 相关的靶点<sup>[22]</sup>。

本研究发现金银花中入血成分 7-甲氧基香豆

素、3-O-阿魏酰奎尼酸、金丝桃苷、绿原酸、新绿原酸、隐绿原酸、癸二酸二丁酯等可能通过干预 PIK3R1、NFKB1、HRAS、IL6、TNF、TP53、CASP3、GRB2、GSK3B、JUN、MAPK10、MAPK14、MAPK8、PRKCA 等调节与炎症、免疫、神经等相关的信号通路，如 MAPK 信号通路、核因子  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 信号通路、磷脂酰肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B (PI3K-Akt) 信号通路、TLR 信号通路、环磷酸腺苷 (cAMP) 信号通路、钙离子信号通路、环磷酸鸟苷-蛋白激酶 G 信号通路、神经活性配体-受体相互作用等。

MAPK 在炎症过程激活和细胞因子生成中起着重要作用，活化的 MAPK 通过磷酸化核转录因子、细胞骨架及酶类等参与细胞增殖、分化、转化的调节，与炎症等多种疾病密切相关<sup>[22]</sup>。PI3K-Akt 通路是细胞内调控增殖、凋亡、炎症反应等过程的重要信号通路，磷酸化后调节下游多种基因的表达，而外界病理刺激能够使该通路发生激活<sup>[23]</sup>。金银花可抑制核因子  $\kappa$ B 抑制因子  $\alpha$  (I $\kappa$ B) 的磷酸化从而下调 NF- $\kappa$ B 活性，增强 ERK 的磷酸化而上调 Sp1 活性，还可抑制 JNK、p38、STAT 的磷酸化，从而拮抗脂多糖引起的 BALB/c 小鼠急性肺损伤<sup>[24]</sup>。金银花复方可通过抑制 TLR 通路，减少促炎因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  及趋化因子的表达，抑制 NF- $\kappa$ B p65、c-Jun、I $\kappa$ B $\alpha$ 、 $\kappa$ B 抑制蛋白激酶  $\alpha/\beta$  (IKK $\alpha/\beta$ ) 和干扰素调节因子 3 (IRF3) 的磷酸化<sup>[25-27]</sup>，TLR 信号通路可以介导 NF- $\kappa$ B、MAPK、JAK-STAT 等信号通路。

神经通路方面，文献已报道与解热止痛相关的通路，包括环磷酸腺苷信号通路、钙信号通路等；与化痰镇咳平喘相关的通路，包括环磷酸鸟苷-蛋白激酶 G 信号通路、cAMP 信号通路等；与镇静相关的通路，包括神经活性配体-受体相互作用等<sup>[28]</sup>。神经活性配体受体相互作用信号通路是质膜中枢上所有与细胞内外信号通路相关的受体和配体的集合<sup>[29]</sup>。Ca<sup>2+</sup>在神经传导、肌肉收缩和舒张、基因转录及信号传导等方面起重要作用，神经细胞内 Ca<sup>2+</sup>的异常引起神经细胞的凋亡<sup>[30]</sup>。因此金银花中的多血中移行成分可能通过作用于多靶点调节炎症、病毒、免疫、神经信号传导通路，从而在 COVID-19 治疗中发挥作用。

综上所述，本研究对金银花的入血成分和网络药理学进行了分析，初步研究了金银花清热、解毒、镇静、化痰等主要药效物质和潜在作用机制，金

花可通过多成分、多靶点、多通路的共同作用治疗 COVID-19，为金银花的后续研究提供参考，但还需体内活性评估和药理实验进一步验证。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 陈莉莉, 葛广波, 荣艳, 等. 中药在新冠肺炎防治中的应用和研究进展 [J]. 上海中医药大学学报, 2020, 34(3): 1-7.
- [2] 吴清华, 邱雪, 曾铁鑫, 等. 新型冠状病毒肺炎疫情下中药资源的重点品种分析及合理配置 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(19): 84-91.
- [3] 庞晓军, 黎东旺, 刘国勇, 等. 靶向 Human ACE2 的抗新型冠状病毒中药小分子化合物虚拟筛选 [J]. 中国医院药学杂志, 2021, 4(11): 1121-1126.
- [4] Shang X, Pan H, Li M, et al. *Lonicera japonica* Thunb.: ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of an important traditional Chinese medicine [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 138(1): 1-21.
- [5] Lee Y R, Yeh S F, Ruan X M, et al. Honeysuckle aqueous extract and induced let-7a suppress dengue virus type 2 replication and pathogenesis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 198: 109-121.
- [6] 胡璇, 李卫东, 贾翎, 等. 四倍体金银花药材体外抗菌抗病毒实验研究 [J]. 中国现代中药, 2015, 17(11): 1160-1170.
- [7] Ge L, Xiao L, Wan H, et al. Chemical constituents from *Lonicera japonica* flower buds and their anti-hepatoma and anti-HBV activities [J]. *Bioorg Chem*, 2019, 92: 103198.
- [8] 吴嘉瑞, 金燕萍, 蔺梦娟, 等. 基于关联规则与熵聚类的解毒类中成药组方规律研究 [J]. 世界中医药, 2016, 11(8): 1598-1601.
- [9] 张灵娜, 林兵, 宋洪涛. 中药血清药理学、血清药物化学的研究概况及展望 [J]. 中草药, 2015, 46(17): 2662-2666.
- [10] 周枝. 基于血清药物化学和多组学的金银花与山银花的成分差异性分析研究 [D]. 贵阳: 贵州大学, 2020.
- [11] 刘伟, 葛广波, 王永丽, 等. 基于 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 技术研究清肺排毒汤化学成分及小鼠组织分布 [J]. 中草药, 2020, 51(8): 2035-2045.
- [12] Zhao J, Tian S, Lu D, et al. Systems pharmacological study illustrates the immune regulation, anti-infection, anti-inflammation, and multi-organ protection mechanism of Qing-Fei-Pai-Du decoction in the treatment of COVID-19 [J]. *Phytomedicine*, 2021, 85: 153315.

- [13] Saikia S, Bordoloi M. Molecular docking: Challenges, advances and its use in drug discovery perspective [J]. *Curr Drug Targets*, 2019, 20(5): 501-521.
- [14] 王青, 苏聪平, 张惠敏, 等. 从炎症反应角度探讨清热解毒药的作用机制 [J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(18): 3787-3794.
- [15] 宋亚玲, 王红梅, 倪付勇, 等. 金银花中酚酸类成分及其抗炎活性研究 [J]. *中草药*, 2015, 46(4): 490.
- [16] Park S H, Baek S I, Yun J, *et al.* IRAK4 as a molecular target in the amelioration of innate immunity-related endotoxic shock and acute liver injury by chlorogenic acid [J]. *J Immunol*, 2015, 194(3): 1122.
- [17] 王林青. 金银花、山银花体外抗病毒与免疫增强活性研究 [D]. 郑州: 河南农业大学, 2008: 41-45.
- [18] 张忠斌, 沈洪宽, 孙玉凤, 等. 金银花中酚酸类有效成分的提取及其抗菌活性研究 [J]. *中国民族民间医药*, 2019, 28(16): 27-29.
- [19] 欧水平, 张文志, 陈灵. 金银花与山银花抗病毒酚酸类和黄酮类成分的差异性研究 [J]. *中国药房*, 2015, 26(33): 4750-4752.
- [20] 黄凯, 杨新波, 黄正明. 金丝桃苷药理作用研究进展 [J]. *医药导报*, 2009, 28(8): 1046-1048.
- [21] 申冬冬, 侯江红, 袁飞. 金丝桃苷抑制肺炎支原体肺炎模型小鼠的损伤 [J]. *中国病理生理杂志*, 2017, 33(5): 884-889.
- [22] 吴俊, 刘建全, 李慧萍, 等. MAPK 信号通路在肺炎衣原体感染小鼠中的作用 [J]. *中国医药导报*, 2015, 12(25): 15-19.
- [23] Oliveira J, Santos G, Moraes J A, *et al.* Reactive oxygen species generation mediated by NADPH oxidase and PI3K/Akt pathways contribute to invasion of *Streptococcus agalactiae* in human endothelial cells [J]. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 2018, 113(6): e140421.
- [24] Kao S, Liu C, Yeh C. Protective and immunomodulatory effect of *Flos Lonicerae Japonicae* by augmenting IL-10 expression in a murine model of acute lung inflammation [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 168: 108.
- [25] Cheng B C, Ma X Q, Kwan H Y, *et al.* A herbal formula consisting of *Rosae Multiflorae Fructus* and *Lonicerae Japonicae Flos* inhibits inflammatory mediators in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 153(3): 922.
- [26] Cheng B C, Yu H, Su T, *et al.* A herbal formula comprising *Rosae Multiflorae Fructus* and *Lonicerae Japonicae Flos* inhibits the production of inflammatory mediators and the IRAK-1/TAK1 and TBK1 /IRF3 pathways in RAW 264.7 and THP-1 cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 174: 195.
- [27] Cheng B C, Yu H, Guo H, *et al.* A herbal formula comprising *Rosae Multiflorae Fructus* and *Lonicerae Japonicae Flos*, attenuates collagen-induced arthritis and inhibits TLR4 signalling in rats [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 20042.
- [28] 韩彦琪, 刘耀晨, 武琦, 等. 基于网络药理学的痰热清胶囊治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)机制研究 [J]. *中草药*, 2020, 51(11): 2967-2976.
- [29] Lauss M, Kriegner A, Vierlinger K, *et al.* Characterization of the drugged human genome [J]. *Pharmacogenomics*, 2007, 8(8): 1063-73.
- [30] Zhang C, Du F, Shi M, *et al.* Ginsenoside Rd protects neurons against glutamate-induced excitotoxicity by inhibiting Ca<sup>2+</sup> influx [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2012, 32(1): 121-128.

[责任编辑 金玉洁]