

【抗新冠肺炎专栏】

基于网络药理学和分子对接技术初探新加香薷饮治疗新型冠状病毒肺炎潜力的研究

杨秀娟^{1, 2, 4}, 张东旭^{1, 2}, 董世奇², 张爱杰², 张晓雪³, 彭小园³, 邢志峰³, 刘兴超^{3, 4*}, 樊慧蓉^{2*}

1. 天津中医药大学, 天津 301617

2. 中国医学科学院放射医学研究所, 天津 300192

3. 河北中医学院, 河北 石家庄 050200

4. 河北省高校中药组方制剂应用技术研发中心, 河北 石家庄 050200

摘要:目的 通过网络药理学和分子对接技术初探新加香薷饮治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的潜在活性成分、靶点、通路及分子机制。方法 从TCMSP数据库和文献挖掘收集新加香薷饮中的香薷、金银花、连翘、厚朴和扁豆花的化学成分,以TCMSP数据库和Swiss Target Prediction获取靶点,输入STRING数据库获取靶点对应的标准基因名,运用DAVID 6.8进行GO富集、KEGG通路富集和组织富集分析,采用Cytoscape 3.8.0和R语言作图。从PDB数据库下载新型冠状病毒(SARS-CoV-2) 3CL和ACE2的晶体结构,利用AutoDock Vina、Pymol和Discovery Studio软件进行分子对接。结果 从新加香薷饮中获得49个活性成分和321个靶点,发现了33条与治疗COVID-19相关的通路,包括肺病相关通路、病毒相关通路以及炎症-免疫相关通路,并发现了RELA、MAPK1、IL6、AKT1、MAPK8、TNF等6个基因可能与治疗COVID-19密切相关。通过分子对接发现金圣草黄酮、绿原酸、咖啡酸、厚朴酚、和厚朴酚、麝香草酚、香荆芥酚与SARS-CoV-2 3CL和ACE2具有较高的亲和力。结论 中药治疗疾病是通过多组分、多靶点和多途径共同的结果,新加香薷饮具有治疗COVID-19的潜力。

关键词: 新加香薷饮; 新型冠状病毒肺炎; 网络药理学; 分子对接

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2020)09-1663-10

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2020.09.001

Preliminary study on potency of Xinjia Xiangru Decoction against COVID-19 based on network pharmacology and molecular docking technology

YANG Xiujuan^{1, 2, 4}, ZHANG Dongxu^{1, 2}, DONG Shiqi², ZHANG Aijie², ZHANG Xiaoxue³, PENG Xiaoyuan³, XING Zhifeng³, LIU Xingchao^{3, 4}, FAN Huirong²

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

2. Institute of Radiation Medicine Chinese Academy of Medical Sciences, Tianjin 300192, China

3. Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200, China

4. Hebei Higher Education Institute Applied Technology Research Center on TCM Formula Preparation, Shijiazhuang 050200, China

Abstract: Objective To explore the active ingredients, targets, pathways and molecular mechanism of Xinjia Xiangru Decoction in the possible treatment of new coronavirus pneumonia (COVID-19) through network pharmacology and molecular docking technology. **Methods** The chemical constituents of *Moslae Herba*, *Lonicerae Japonicae Flos*, *Forsythiae Fructus*, *Magnoliae Officinalis Cortex*, and *Dolichos Lablab L* in Xinjia Xiangru Decoction were collected from the TCMSP database and literature, the targets were obtained from TCMSP database and Swiss Target Prediction, and then the STRING database were used to obtain the

收稿日期: 2020-05-17

基金项目: 国家重点研发计划(NO.2018YFC1708203); 河北中医学院博士基金项目(BSZ2018012); 河北省中医药管理局科研计划项目(2019082)

第一作者: 杨秀娟,女,硕士在读,执业药师,研究方向为质量控制与评价。E-mail:ns7yang@163.com

*通信作者: 刘兴超,男,博士,讲师,研究方向为中药新药研发及质量控制技术。E-mail:liuxingchao@hebcm.edu.cn

樊慧蓉,女,研究员,硕士导师,研究方向为药理学。E-mail:fanhr99@163.com

standard gene name corresponding to the target, DAVID 6.8 was used for GO enrichment, KEGG pathway enrichment and Tissue enrichment analysis. The Cytoscape 3.8.0 and R language were used for drawing. The crystal structures of SARS-CoV-2 3CL and ACE2 were downloaded from the PDB database, and molecular docking was performed using AutoDock Vina, Pymol, and Discovery Studio software. **Results** 49 active ingredients and 321 targets were obtained from Xinjia Xiangru Decoction. and 33 pathways related to the treatment of COVID-19 were found, including pulmonary disease related pathways, virus related pathways and inflammation-immune related pathways, and found that RELA, MAPK1, IL6, AKT1, MAPK8 and TNF may be crucial for the treatment of COVID-19. it was found that Chrysoeriol, Chlorogenic acid, Caffeic acid, Magnolol, Honokiol, Thymol and Carvacrol had higher affinity with SARS-CoV-2 3CL and ACE2. **Conclusion** Traditional Chinese medicine treats diseases through the common results of multiple components, multiple targets, and multiple pathways. The above studies have shown that Xinjia Xiangru Decoction has the potency to treat COVID-19.

Key words: Xinjia Xiangru Decoction; COVID-19; network pharmacology; molecular docking

自2019年底以来,新型冠状病毒(SARS-CoV-2)已在全球多地肆虐,截止2020年4月23日,已经有211个国家和地区累积高达近260万人确诊,累计死亡18万有余,其中美国确诊人数高达84万,西班牙高达21万,意大利高达近19万。随着疫情的不断传播,全球的经济和生活均受到严重影响,是目前全世界亟待解决的重大疫情。《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)》推荐的诊疗方案有针对一般患者的干扰素、抗病毒药及辅助抗菌药物治疗;重症患者在治疗基础病的基础上需防继发感染和进行器官功能支持,有康复者的血浆、免疫治疗及辅助糖皮质激素治疗。中医方面将本病称为“疫”病,需根据当地的气候、病情和患者自身的体质,推荐采用“清肺排毒汤”治疗^[1]。自疫情发病早期中医即已介入了治疗,目前各一线临床多采用中西医结合的方法,中医在此次疫情中也发挥它独到的辩证论证的优势。

新加香薷饮最早来自于清朝著名医学家吴鞠通所著的《温病条辨》,方中有五味中药组成,以香薷为君药,味辛,性微温,归肺、胃经,发汗解表,化湿和中;金银花味甘、性寒,归肺、心、胃经,清热解毒、疏散风热;连翘味苦、性微寒,归肺、心、小肠经,清热解毒、消肿散结;厚朴味苦、辛,性温,归脾、胃、肺、大肠经,燥湿消痰、下气除满^[2];扁豆花味甘,性平,归脾、胃、大肠经,解暑化湿、和中健脾^[3]。从中医角度分析新加香薷饮的处方,发现5味中药有4味入肺经,香薷、金银花和连翘更是首入肺经,君药香薷是统领之首,香薷《本草纲目》曰“上之开泄腠理,宣肺气,达皮毛,以解在表之寒;下之通达三焦,疏膀胱,利小便,以导在里之水”^[4]。金银花和连翘以疏风散热,是目前用于治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的组成成分之一,广泛存在于金花清感颗粒、疏风解毒胶囊、连花清瘟胶囊、痰热清注

射液和热毒宁注射液等复方里。厚朴同时入肺和大肠经,肺经与大肠经属表里关系,肺与大肠气化相通,肺气降则大肠气降,大肠通畅则肺气宣通,厚朴在本方起到燥湿消痰的功效,扁豆花辅之解热化湿。此次COVID-19中,部分患者按照中医辨证可为湿热而外寒束表,故可推荐新加香薷饮辅助治疗。

本研究通过网络药理学构建中药-化合物-靶点-通路图,从整体网络研究新加香薷饮治疗COVID-19的潜力,并运用分子对接技术对新加香薷饮中主要活性成分进行化合物-靶点对接,以期为新加香薷饮潜在治疗COVID-19提供理论依据及临床参考。

1 方法

1.1 新加香薷饮中活性成分的筛选和收集

本研究借助中药系统药理学数据库(TCMSP)(<http://tcmsp.com/tcmshp.php>)对新加香薷饮中的5味中药进行活性成分的搜索,选取口服利用度(OB)≥30%,类药性(DL)≥0.18的化合物作为中药的活性成分,并结合文献报道纳入了15个未通过筛选标准但含量高或药理活性强的成分,将它们作为候选活性成分。

1.2 活性成分靶点的收集及基因名称的标准化

通过TCMSP数据库(<http://tcmsp.com/tcmshp.php>)收集活性成分对应的靶点,从文献报道获取的化学成分,运用Swiss Target Prediction在线平台(<http://www.swisstargetprediction.ch/>),选择条件设为“Homo sapiens”得到相应的靶点。通过STRING(<http://string-db.org/>)数据库获取活性成分的靶点蛋白对应的标准基因名称。

1.3 靶点的通路分析及网络图的构建

将上述靶点蛋白对应的标准基因名输入DAVID 6.8数据库(<http://david.ncicrf.gov/>),选择GO富集、KEGG通路富集以及组织富集,收集 $P \leq 0.01$ 的结果。运用Cytoscape3.8.0制作网络图,GO

富集、KEGG 通路富集以及组织富集数据结果运用 R 语言进行可视化处理。

1.4 通路-基因分析

目前治疗 COVID-19 的方式有抗病毒药物、辅助抗菌药物以及免疫治疗,现代研究又提出“细胞因子风暴”,认为 COVID-19 与机体的炎症反应相关,过度的炎症反应将会导致严重后果甚至死亡。因此将“1.3”项下收集的 KEGG 通路筛选出与 COVID-19 相关的通路,接着将筛选的与 COVID-19 相关的通路分为与肺病相关通路、病毒相关通路以及炎症-免疫相关通路。进而收集这 3 个分类的相关基因,根据基因在此分类通路里出现的频次,筛选出高频次基因并做相应的分析。

1.5 受体与配体的前处理及分子对接

从 PubChem 数据库 ([http://pubchem.ncbi.nlm.](http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/)

<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 下载化合物结构,运用 OpenBabel 进行格式转化。从 PDB 数据库 (<http://www.rcsb.org/>) 下载 SARS-CoV-2 3CL 水解酶和血管紧张素转化酶 2 (ACE2) 的晶体结构,使用 AutoDock Tools 1.5.6 进行去水加氢,采用 AutoDock Vina 进行对接,最后利用 Pymol 1.8 对蛋白与分子结合的结果进行可视化处理。

2 结果

2.1 活性成分的筛选

新加香薷饮由 5 味中药组成,分别为香薷、连翘、金银花、厚朴和扁豆花,从香薷中获得 16 个活性成分,连翘中获得 16 个活性成分,金银花中获得 22 个活性成分,厚朴中获得 2 个活性成分,扁豆花中获得 3 个活性成分。排除重复成分共获得 49 个活性成分,见表 1。

表 1 新加香薷饮活性成分基本信息

Table 1 Basic information of active components in Xinjia Xiangru Decoction

CAS 号	化合物英文名称	化合物中文名称	化学式	相对分子质量	来源
89-83-8	thymol	麝香草酚	C ₁₀ H ₁₄ O	150.22	香薷
499-75-2	carvacrol	香荆芥酚	C ₁₀ H ₁₄ O	150.22	香薷
491-70-3	luteolin	木犀草素	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.25	除厚朴
117-39-5	quercetin	槲皮素	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302.25	除扁豆花、厚朴
83-46-5	β-sitosterol	β-谷甾醇	C ₂₉ H ₅₀ O	414.79	除扁豆花、厚朴
520-18-3	kaempferol	山柰酚	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.25	除扁豆花、厚朴
491-71-4	chrysoeriol	金圣草黄素	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	300.28	香薷、金银花
470-82-6	1,8-cineole	1,8-桉叶素	C ₁₀ H ₁₈ O	154.28	香薷
480-44-4	acacetin	金合欢素	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	284.28	香薷
3570-62-5	moslosooflavone	苏芥苧黄酮	C ₁₇ H ₁₄ O ₅	298.31	香薷
29550-13-8	negletein	黄芩素-7-甲醚	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	284.28	香薷
3301-49-3	kumatakenin	华良姜素	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314.31	香薷
740-33-0	mosloflavone	5-羟基-6,7-二甲氧基黄酮	C ₁₇ H ₁₄ O ₅	298.31	香薷
154-23-4	(+)-catechin	(+)-儿茶素	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290.29	香薷
480-16-0	morin	桑色素	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302.25	香薷
18956-18-8	dihydrooroxylin	二氢木蝴蝶素 A	C ₁₆ H ₁₄ O ₅	286.3	香薷
6138-88-1	naginata ketone	β-去氢香薷酮	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164.2	香薷
487-41-2	forsythin	连翘苷	C ₂₇ H ₃₄ O ₁₁	534.61	连翘
487-39-8	phillygenin	连翘脂素	C ₂₁ H ₂₄ O ₆	372.45	连翘
81525-13-5	forsythoside B	连翘脂苷 B	C ₃₄ H ₄₄ O ₁₉	756.7	连翘
79916-77-1	forsythoside A	连翘脂苷 A	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	624.2	连翘
632-85-9	wogonin	汉黄芩素	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	284.28	连翘
472-15-1	betulinic acid	白桦脂酸	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	456.78	连翘
20362-31-6	arctiin	牛蒡子苷	C ₂₇ H ₃₄ O ₁₁	534.61	连翘
25488-59-9	dimethylmatairesinol	甲基牛蒡酚	C ₂₂ H ₂₆ O ₆	386.48	连翘
548-29-8	isolariciresinol	异落叶松脂素	C ₂₀ H ₂₄ O ₆	360.44	连翘
485-49-4	bicuculline	(+)-荷包牡丹碱	C ₂₀ H ₁₇ NO ₆	367.38	连翘
11079-53-1	hyperforin	贯叶金丝桃素	C ₃₅ H ₅₂ O ₄	536.87	连翘

续表1

CAS号	化合物英文名称	化合物中文名称	化学式	相对分子质量	来源
143183-63-5	adhyperforin	加贯叶金丝桃素	C ₃₆ H ₅₄ O ₄	550.9	连翘
327-97-9	chlorogenic acid	绿原酸	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	354.3	金银花
331-39-5	caffeic acid	咖啡酸	C ₉ H ₈ O ₄	180.15	金银花
906-33-2	neochlorogenic acid	新绿原酸	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	354.3	金银花
2450-53-5	isochlorogenic acid A	异绿原酸A	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	516.45	金银花
14534-61-3	isochlorogenic acid B	异绿原酸B	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	516.5	金银花
57378-72-0	isochlorogenic acid C	异绿原酸C	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	516.5	金银花
905-99-7	cryptochlorogenic acid	隐绿原酸	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	354.3	金银花
57-10-3	palmitic acid	棕榈酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.2	金银花
25694-72-8	lonicerin	忍冬苷	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	594.2	金银花
7235-40-7	beta-carotene	β-胡萝卜素	C ₄₀ H ₅₆	536.96	金银花
83-48-7	stigmasterol	豆甾醇	C ₂₉ H ₄₈ O	412.77	金银花
544-35-4	mandenol	亚油酸乙酯	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308.56	金银花
1191-41-9	ethyl linolenate	亚麻酸乙酯	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	306.54	金银花
18103-41-8	corymbosin	伞房花耳草素	C ₁₉ H ₁₈ O ₇	358.37	金银花
552-58-9	eriodictyol	圣草酚	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	288.27	金银花
19716-26-8	stigmasterol glucoside	豆甾醇葡萄糖苷	C ₃₅ H ₅₈ O ₆	412.77	金银花
528-43-8	magnolol	厚朴酚	C ₁₈ H ₁₈ O ₂	266.33	厚朴
35354-74-6	honokiol	和厚朴酚	C ₁₈ H ₁₈ O ₂	266.33	厚朴
153-18-4	rutin	芦丁	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	610.5	扁豆花、金银花
20315-25-7	procyanidin B1	原花青素B1	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	578.56	扁豆花

2.2 中药-化合物-靶点-通路网络图构建

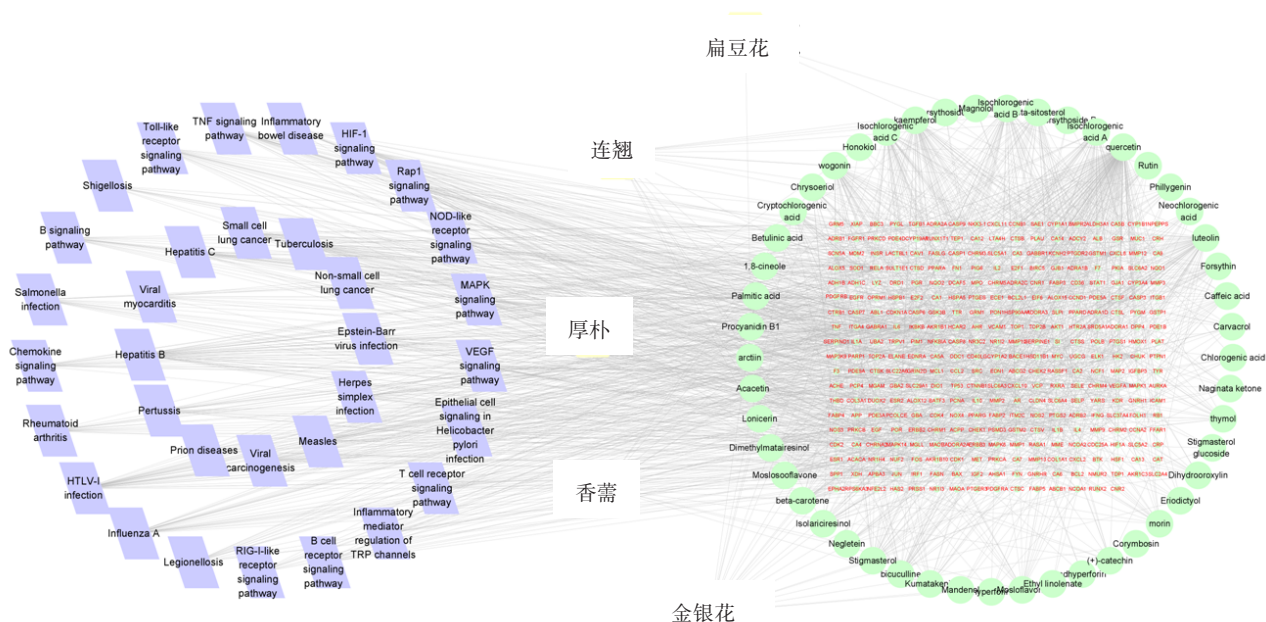
利用 Cytoscape 3.8.0 构建中药-化合物-靶点-通路网络图,图中包含 408 个节点(5 味中药节点,49 个化合物节点,321 个靶点节点和 33 条通路节点),共 1 574 条边。点与点之间的连线表示存在相互作用关系。图中蓝色四边形为筛选的与 COVID-19 相关的通路,绿色圆形为活性成分,红色字体为活性成分对应的靶点。见图 1。

2.3 富集分析

2.3.1 GO 富集分析 将上述筛选得到的 49 个活性成分按照“1.2”项下的方式共获取 321 个靶点。将靶点输入 DAVID 6.8 数据库,GO 功能富集分析得到 GO 条目总计 156 条($P \leq 0.01$),其中生物过程(BP)条目 95 条,分子功能(MF)条目 51 条,细胞组成(CC)条目 10 条,分别占总数的 60.9%、32.7%、6.5%。如图 2 展示了排名前 12 名的 GO 条目。在生物过程中靶点主要涉及到转录的调控、蛋白质的水解和蛋白质的磷酸化等。分子功能中主要涉及转录因子活性和结合、序列特异性 DNA 结合、蛋白激酶活性等。细胞组成的条目及靶点相对较少,在图 2 中未展示,主要涉及突触后膜、突触、细胞外基质、Bcl-2 家族蛋白复合物。

2.3.2 KEGG 富集分析 通过 KEGG 通路富集分析共得到 100 条通路($P \leq 0.01$),选取其中与肺病、病毒感染、炎症-免疫相关的通路,共筛选得到 33 条通路,如图 3 所示,图中气泡越大,表示富集到此通路的基因越多。肺病相关通路主要包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌、百日咳以及结核病。病毒感染相关通路主要包括 HTLV-I 感染、甲型流感、乙型肝炎、丙型肝炎、单纯疱疹感染、EB 病毒感染、朊病毒病、麻疹、病毒性心肌炎和病毒致癌。炎症-免疫相关通路主要包括:TNF 信号通路、MAPK 信号通路、VEGF 信号通路、NF-κB 信号通路、TRP 通道的炎症介质调节、Toll 样受体信号通路、B 细胞受体信号通路、HIF-1 信号通路、RIG-I 样受体信号通路、Rap1 信号通路、趋化因子信号通路、T 细胞受体信号通路、NOD 样受体信号通路、类风湿性关节炎通路、炎症性肠病、军团菌病、志贺氏菌病、幽门螺杆菌感染的上皮细胞信号转导和沙门氏菌感染等。

2.3.3 组织富集分析 将上述收集的 321 个靶点进行组织功能富集,映射到肺部有 74 个靶点,肝 70 个,血液相关 70 个,胎盘及胎儿大脑皮层共 85 个,心 19 个,肾 5 个,胰腺 28 个,肠 4 个,白细胞及嗜中性粒细胞 11 个,T 细胞有 12 个。如图 4 所示,图中



绿色-化合物;蓝色-通路;红色-靶点

Green - compound; blue - pathway; red - target

图1 新加香薷饮的中药-化合物-靶点-通路网络图

Fig. 1 TCM-compound-target-pathway network diagram of Xinjia Xiangru Decoction

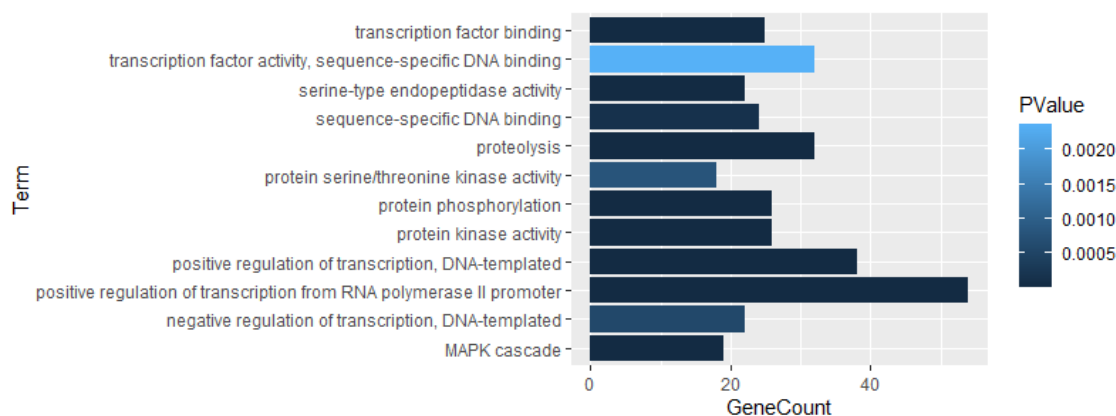


图2 新加香薷饮的GO富集分析

Fig. 2 GO enrichment analysis of Xinjia Xiangru Decoction

气泡越大说明在此部位富集的靶点越多,相应的也说明了在此部位发挥的作用也越强。表明新加香薷饮的活性成分的靶点主要在肺部、肝脏、血液相关部位等多个组织中表达。

2.4 通路-基因分析

将“2.3.2”项下 KEGG 通路筛选的 33 条与 COVID-19 相关的通路分成 3 类:肺病相关通路、病毒相关通路、炎症-免疫相关通路。收集每 1 类通路所对应的基因,通过基因在每 1 类通路出现的频次来判断基因的重要性,分别制作了以下 3 种分类的通路-基因网络图。图 5 是与肺病相关的通路-基因网络图,图中圆形越大说明基因在肺病通路中出现的频次越高,相应的发挥的作用也越强,从图 5 可以看

出在肺病通路中 MAPK1、E2F1、RELA、AKT1、CASP9、NOS2 作用最强,其次还有 MAPK8、TNF、IL-6、IL-1 β 、MAPK14、IL-10、CCND1、TP53 等。图 6 展示了外形类似病毒的与病毒相关的通路-基因网络图,图中圆形越大表明基因在该病毒疾病里出现的频次越高,相对应的作用也越强,从图 6 可以看出,病毒相关通路里 RELA、NFKBIA、TP53、IKKBK、JUN、IL-6、CHUK、AKT1 最强,其次还有 CDK2、MAPK8、MAPK1、CCND1、CDKN1A、STAT1、TNF 等。图 7 展示的是与炎症-免疫相关的通路-基因网络图,面积最大的黄色圆形显示 19 条通路,其余均表示基因,同样圆形面积越大表明该基因在该分类出现的频次越高,所体现的重要性也

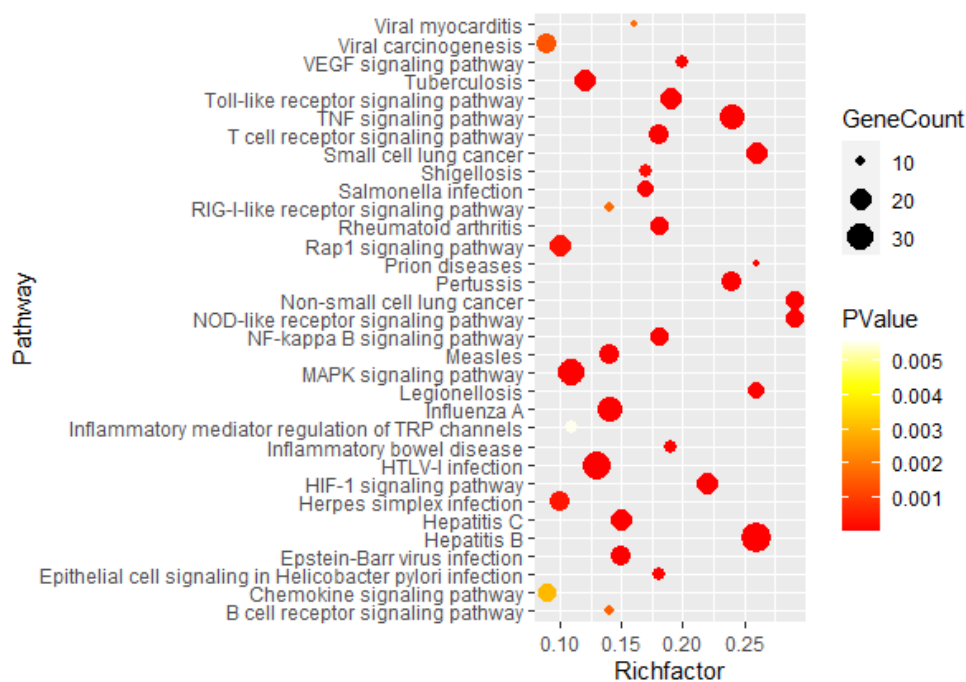


图3 KEGG富集分析后选择的33条通路

Fig. 3 33 pathways selected after enrichment analysis of KEGG

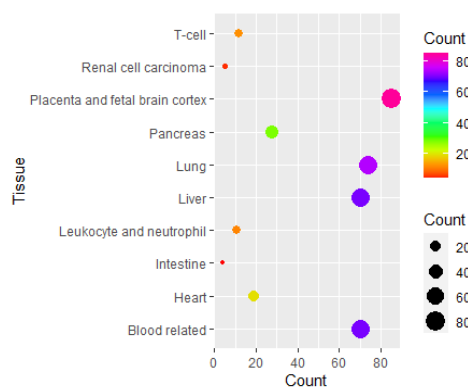


图4 组织富集分析图

Fig. 4 Map of tissue enrichment analysis

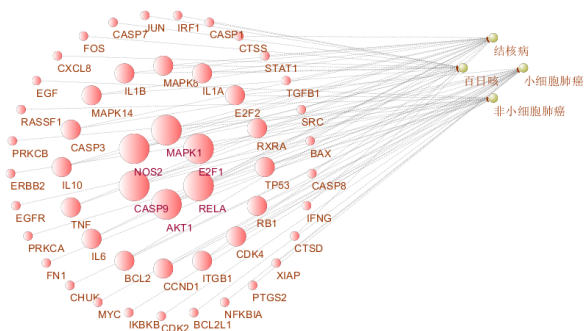


图5 肺病相关通路-基因图

Fig. 5 Lung disease associated pathway-gene map

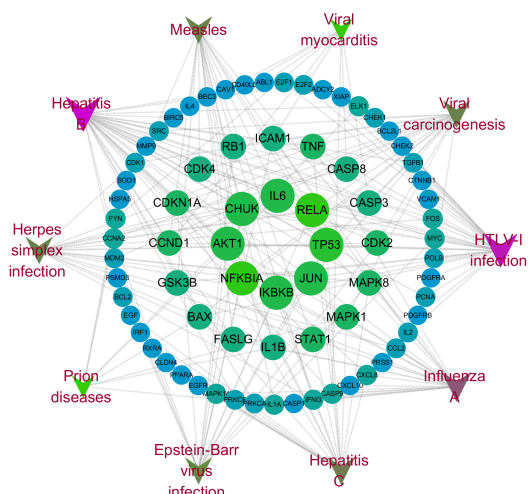


图6 病毒相关通路-基因图

Fig. 6 Virus related pathway-gene map

MAPK1、NFKBIA、IKBKB、CHUK、TNF、IL-1 β 、CXCL8、AKT1、MAPK8、JUN、IL-6、FOS、SRC等。

2.5 分子对接的结果

从最近与COVID-19相关的分子对接文献报道发现,新加香薷饮中较多成分与SARS-CoV-2 3CL水解酶或ACE2具有较好的亲和力。这与金银花和连翘被众多文献报道是中医复方治疗COVID-19的重要组成部分有关。因此选择了较少报道的君药香薷中含量和药理活性均强的麝香草酚和香荆芥酚来对接,麝香草酚和香荆芥酚是2015版《中国药

越强。绿色圆形面积最大的为在炎症-免疫通路中出现频次最高的基因,分别为RELA、MAPK14、

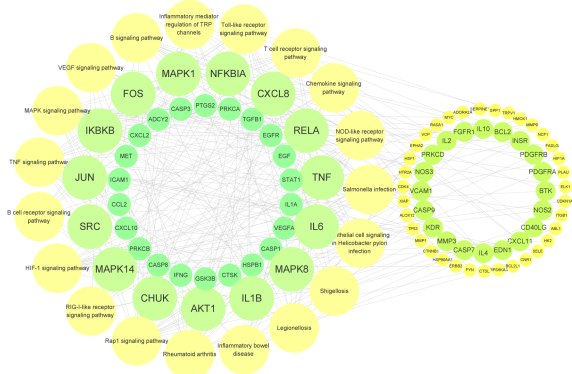


图7 炎症-免疫相关通路-基因网络图

Fig. 7 Inflammation-immune related pathway-gene map

典》要求香薷需进行含量测定的成分,它们均具有抗菌和抗病毒的作用,麝香草酚还对肺癌细胞具有抗增殖和诱导凋亡作用^[5-6]。金银花中选择了含量和药理活性均强的绿原酸和咖啡酸,绿原酸和咖啡酸也均具有抗氧化、抗菌和抗病毒的作用^[7-9]。厚朴中选择了含量和药理活性均强的厚朴酚和和厚朴

酚,厚朴酚和和厚朴酚也是《中国药典》2015版要求厚朴需进行含量测定的成分,厚朴酚和和厚朴酚均具有抗菌、抗炎以及对人肺癌细胞具有促进凋亡的作用^[10-11],以及选择了香薷和金银花共同含有的金圣草黄素,金圣草黄素是一种天然黄酮,具有抗菌和抗过敏的作用^[12]。

将以上7个成分与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶和血管紧张素转换酶II(ACE2)进行分子对接,选取结合能较低且构象较好的结果作为分子对接结果,结合能越小说明受体与配体之间的亲和力越大。对接结果显示,麝香草酚、香荆芥酚、绿原酸、咖啡酸、厚朴酚、和厚朴酚和金圣草黄素均与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶和 ACE2 表现出较好的亲和力,其结合能远远小于 -5.0 kJ/mol ,见表2。图8展示了金圣草黄素、绿原酸和和厚朴酚的对接结果图。

3 结论

新加香薷饮作为第1批《古代经典名方目录》之一,现代研究主要将其应用于暑湿型感冒、小儿暑

表2 新加香薷饮中核心成分与 SARS-CoV-2 3CL 和 ACE2 结合能结果

Table 2 Binding energy result of core compounds in Xinjia Xiangru Decoction with SARS-CoV-2 3CL and ACE2

CAS 号	化合物	化学式	相对分子质量	SARS-CoV-2 3CL 结合能/($\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$)	ACE2 结合能/($\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$)
491-71-4	金圣草黄素	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$	300.28	-31.8	-33.5
327-97-9	绿原酸	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	354.3	-30.2	-31.4
331-39-5	咖啡酸	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$	180.15	-23.9	-27.2
528-43-8	厚朴酚	$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_2$	266.33	-28.1	-28.5
35354-74-6	和厚朴酚	$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_2$	266.33	-29.3	-29.3
89-83-8	麝香草酚	$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}$	150.22	-20.5	-29.3
499-75-2	香荆芥酚	$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}$	150.22	-20.5	-23.9

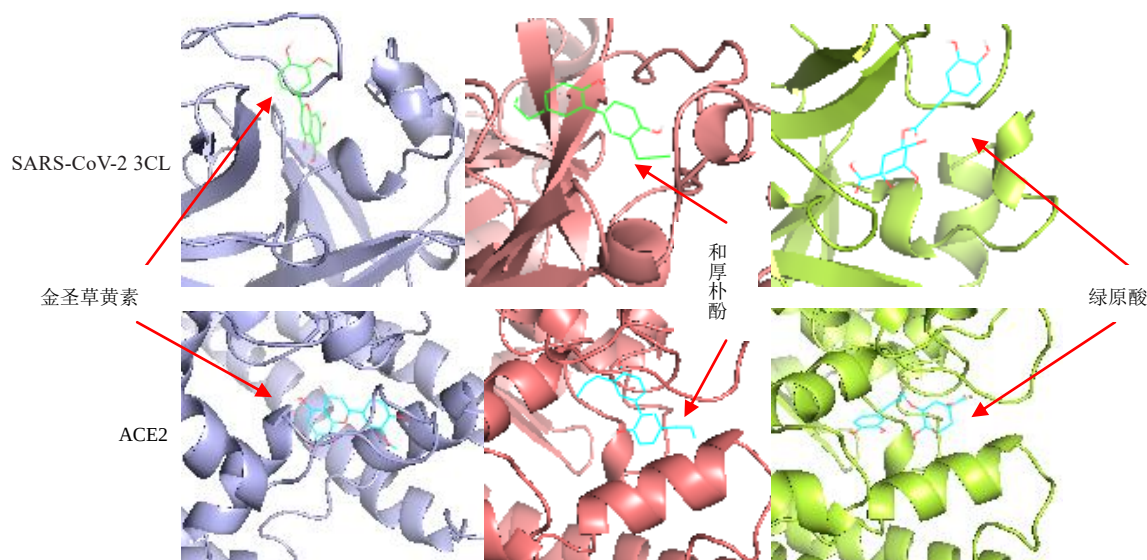


图8 金圣草黄素、和厚朴酚、绿原酸与 SARS-CoV-2 3CL 和 ACE2 的结合模式

Fig. 8 Binding pattern of Chrysoeriol, Honokiol, Chlorogenic acid with SARS-CoV-2 3CL and ACE2

湿发热及辅助治疗社区获得性肺炎^[13]等,新加香薷饮的动物实验研究表明,新加香薷饮尤其对湿热环境下的流感病毒性肺炎有效,且效果优于利巴韦林^[14];同时新加香薷饮能抑制白细胞致热原引起的发热^[15];增加吞噬指数和吞噬系数,提高血清溶血素抗体水平^[16];增加腹腔毛细管通透性,降低动物体温^[17]。现代研究表明,新加香薷饮中的香薷、金银花、连翘和厚朴均有抗病毒抗菌作用,主要对金黄色葡萄球菌、肺炎球菌、溶血性链球菌、痢疾杆菌、大肠杆菌、伤寒杆菌及流感病毒、腺病毒、柯萨奇病毒、肠道轮状病毒、肺炎支原体等有较强的抑制作用^[18],其中香薷、连翘和金银花还能延缓病毒所致细胞的病变^[19],故认为新加香薷饮可能存在潜在治疗 COVID-19 的作用。

现代机制研究表明,新加香薷饮可通过下调 TLR7 信号通路,调节 MyD88、NF- κ B p65 基因的表达^[20],改变下游因子,降低肺组织不同程度的病理损伤^[21],从而改善湿热型病毒性肺炎小鼠的症状。现代中药研究认为免疫-炎症相关因子可能贯穿 COVID-19 肺炎发病的全进程,尤其在重症期可能产生细胞因子风暴,同时导致心肺以及神经系统等多个系统的衰竭,故推荐的方剂需具有潜在的提高免疫功能、减轻炎症反应、缓解心肺功能、加强营养物质吸收代谢、调节能量代谢以及神经功能,体现中药“多成分”“多靶标”“多通路”“多效应”的整体干预特点^[22]。本研究通过对新加香薷饮中 49 个活性成分的靶蛋白进行组织功能富集发现,主要映射到肺、肝、血液相关组织、心、胎盘及胎儿大脑皮层、胰腺、白细胞及嗜中性粒细胞和 T 细胞等多个组织,较好满足了现代中药治疗 SARS-CoV-2 对方剂的要求。本研究通过 KEGG 功能富集发现了 33 条与治疗 COVID-19 相关的通路。肺病相关通路发现了小细胞肺癌、非小细胞肺癌、百日咳及结核病。病毒感染相关通路包括 HTLV-I 感染、甲型流感、乙型肝炎、丙型肝炎、单纯疱疹感染、EB 病毒感染、朊病毒病、麻疹、病毒性心肌炎和病毒致癌。筛选到 19 条与炎症-免疫相关的通路,其中 TNF 信号通路、趋化因子信号通路和 T 细胞受体信号通路现代研究认为与“细胞因子风暴”有着密切联系的信号通路。还有常见的 MAPK 信号通路、TRP 通道的炎症介质调节和 NF- κ B 信号通路等与炎症反应具有密切联系。VEGF 信号通路研究认为血管内皮生长因子(VEGF)在气道炎症中发挥重要作用,可利用各种关联因素来加重 TH1/TH2 细胞因子网络失衡所

引起的气道炎症反应^[23],炎症过程的中心环节是血管反应,表现在炎症刺激、血管通透性增加、血管生长增多,3 者相互作用形成炎症持续存在的恶性循环^[24]。HIF-1 信号通路中 HIF-1 是一种低氧环境下的蛋白转录调控因子,能与靶基因相结合使机体产生对低氧环境的适应性,当机体产生炎症反应时会导致血管通透性的增加,同时也会使更多的免疫细胞到达炎症部位,使得炎症部位形成局部低氧环境^[25-26],此时 HIF-1 发挥着重要作用。Rap1 信号通路中 Rap1 是 Ras 样的小分子 G 蛋白,Rap1 有两个异构体,分别为 Rap1a 和 Rap1b,Rap1a 和 Rap1b 均能在非小细胞癌中表达上调并过度激活^[27-28]。RIG-I、Toll、NOD 样受体信号通路中的 RIG-I 样受体、Toll 样受体和 NOD 样受体均是免疫模式识别受体,RIG-I 样受体可通过其 RNA 配体结合病原相关分子模式(PAMP)来识别非自身的病毒 RNA,最终会导致细胞分泌 I 型干扰素 IFN 和炎症因子来对抗病毒做出免疫应答^[29]。Toll 样受体是一类跨膜受体,识别特异性配体后,可以激活机体的免疫炎症反应,但信号的过度可能会产生免疫性疾病^[30]。NOD 样受体家族的成员很多,较多成员具有促炎作用,但也有些成员具有抗炎作用如 NLRP2、NLRP3、NLRP7、NLRP10、NLRP12 等。如 NLRP12 可在结核感染过程中对 IL-6 因子的表达起负调节作用,并在 TLR2、TLR4 和 TNFR 介导的细胞因子分泌中起负调节作用^[31-32]。其他的还有 B 细胞受体信号通路、类风湿性关节炎通路、炎症性肠病(IBD)、军团菌病、志贺氏菌病、幽门螺杆菌感染的上皮细胞信号转导和沙门氏菌感染通路等。

通过对肺病通路、病毒通路、以及炎症-免疫通路的基因进行分析发现,RELA、MAPK1、IL-6、AKT1、MAPK8、TNF 等 6 个基因在 3 种分类通路中均具有较高的频次,其中《新型冠状病毒肺炎诊疗方案》(试行第七版)将 IL-6 作为“重型、危重型临床预警指标”,针对双肺广泛病变及重型患者且 IL-6 水平升高者,加入了“托珠单抗”的免疫疗法^[1],IL-6 在急性炎症预警中处于不可替代的位置。肿瘤坏死因子(TNF)在“细胞因子风暴”也处于核心地位,田静等^[33]研究 PPAR γ 基因多态性与新生儿肺炎易感性及血清炎症细胞因子的相关性,发现重症和轻症肺炎组新生儿血清 IL-6、TNF- α 和 ICAM-1 含量高于对照组,并且重症肺炎组新生儿的血清 IL-6、TNF- α 和 ICAM-1 含量高于轻症组,进一步分析 PPAR γ 基因多态性对 3 种细胞炎症因子分泌的影

响,发现PPAR γ 基因rs1801282位点C向G的突变可以起到减少以上3种炎症细胞因子的释放。陈伟庄等^[34]研究肺癌患者MAPK1表达水平及临床意义,发现肺癌患者血浆中MAPK1的含量高于良性肺部疾病和健康对照组。万军等^[35]在研究信号通路蛋白Akt1、ERK1/2与HIF-1 α 在肺癌组织中的表达及其临床意义时,发现Akt1在肺癌中呈高表达,提示MAPK1和Akt1可作为肺癌生物标志物的应用。RELA是NF- κ B家族中的一种促炎因子,最常见的NF- κ B二聚体是RELA(p65)和p50,RELA在延迟及抑制中性粒细胞凋亡中发挥重要作用^[36-38]。MAPK8是丝裂原活化蛋白激酶信号通路中的一员,可通过免疫细胞表面抗原受体识别外界刺激而活化,进而对免疫细胞进行调控。王永芹^[39]通过建立鼠痘病毒小鼠感染实验发现缺失MAPK8可导致病毒抵抗和清除能力的下降。本研究通过将COVID-19相关通路分为肺病通路、病毒相关通路以及炎症-免疫相关通路寻找与治疗COVID-19的核心基因,是否对治疗COVID-19发挥重要作用,还需要进一步研究来证明,同时也表明新加香薷饮可能通过这些基因来发挥潜在治疗COVID-19的作用。

进而运用分子对接技术进行验证,以SARS-CoV-2 3CL和ACE2靶蛋白与新加香薷饮中7个主要活性成分进行分子对接,发现金圣草黄素、和厚朴酚、绿原酸、咖啡酸、麝香草酚、香荆芥酚均表现出较好的亲和力,另外通过查文献也发现新加香薷饮中部分成分与其它方剂相同,本研究筛选的49个活性成分约有19个已被报道与SARS-CoV-2 3CL或ACE2具有较好的亲和力,因此认为新加香薷饮可能存在潜在的治疗COVID-19的作用。但本研究还存在一定的局限性,尤其是需要相关实验来验证,再者新加香薷的临床研究也较少,未来也希望通过进一步实验来验证。

本研究利用网络药理学对新加香薷饮中的活性成分、靶点和通路进行分析,以及将主要活性成分与SARS-CoV-2 3CL和ACE2酶蛋白进行分子对接,发现新加香薷饮具有治疗COVID-19的潜力,并且是通过多组分、多靶点和多途径共同作用的结果,为新加香薷饮潜在治疗COVID-19提供理论依据。本研究也发现新加香薷饮中的扁豆花相关研究报道较少,接下来也希望能得到进一步研究来完善本处方的全方位研究,以期治疗COVID-19提供可参考的依据。

参考文献

- [1] 国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)[EB/OL]. (2020-03-04) [2020-03-10]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202003/46c9294a7dfe4cef80.dc7f5912eb1989.shtml>.
- [2] 中国药典[S]. 一部. 2015.
- [3] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草-5[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.
- [4] (明)李时珍. 本草纲目[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1975.
- [5] 罗光明, 杨光义, 刘红宁, 等. 香薷类药材挥发油化学成分比较研究[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(14): 1483-1485.
- [6] Elbe H, Yigitturk G, Cavusoglu T, et al. Apoptotic effects of thymol, a novel monoterpene phenol, on different types of cancer[J]. Bratislavske Lekarske Listy, 2020, 121(2): 122-128.
- [7] Upadhyay R, Mohan Rao L J. An outlook on chlorogenic acids-occurrence, chemistry, technology, and biological activities[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2013, 53(9): 968-984.
- [8] Lou Z X, Wang H X, Zhu S, et al. Antibacterial activity and mechanism of action of chlorogenic acid[J]. J Food Sci, 2011, 76: 398-403.
- [9] 杨九凌, 祝晓玲, 李成文, 等. 咖啡酸及其衍生物咖啡酸苯乙酯药理作用研究进展[J]. 中国药理学杂志, 2013, 48(8): 577-582.
- [10] 孙宏伟, 李海波. 厚朴酚通过自噬途径促进肺癌细胞死亡[J]. 中医药信息, 2010, 27(6): 86-89.
- [11] 孙亚萍. 和厚朴酚对人肺癌A549细胞的抗增殖及诱导凋亡的作用研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2010.
- [12] 解志佳. 金圣草黄素及其衍生物的合成研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江大学, 2009.
- [13] 谢 伟, 杨 清, 高 雪, 等. 新加香薷饮合止嗽散加减治疗夏季社区获得性肺炎疗效观察[J]. 河南中医, 2009, 29(5): 512-513.
- [14] 邓 力, 聂 娇, 逢 蓬, 等. 新加香薷饮对湿热环境下流感病毒性肺炎小鼠治疗作用的比较研究[J]. 新中医, 2016, 48(2): 235-238.
- [15] 李 弘, 蔡 群, 邓志坚, 等. 四种古典清热方剂对兔白细胞致热原性发热的抑制作用[J]. 中国病理生理杂志, 1992, 06: 673-688.
- [16] 冯劲立, 马霄行, 周崇俊, 等. 三种解表方法对小鼠免疫功能影响的实验研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2007, 2(5): 268-270.
- [17] 廖永清, 陈玉兴, 孙 兰. 新加香薷饮分煎与合煎药理作用对比研究[J]. 实用医学杂志, 1999, 15(11): 935-936.
- [18] 郭亚雄, 刘乾生, 王 萍. 新加香薷饮治疗小儿夏季发热43例[J]. 现代中医药, 2003(5): 44.

- [19] 陈 奇. 中药药理研究方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006.
- [20] Fu Y J, Yan Y Q, Zheng X, et al. Effects of Xinjiaxiangrui on the TLR7 pathway in influenza virus-infected lungs of mice housed in a hygrothermal environment [J]. Chin Med, 2019, 14(39): 1-13.
- [21] 李秋露, 郑珂, 逢蓬, 等. 新加香薷饮对湿热型流感小鼠的疗效机制研究 [J]. 山东中医药大学学报, 2017, 41(5): 471-475.
- [22] 许海玉, 张彦琼, 秦月雯, 等. 基于TCMIP V2.0探析新型冠状病毒肺炎全程程中医证候和推荐方剂的科学内涵 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(7): 1488-1498.
- [23] Lee C G, Link H, Baulk P, et al. Vascular endothelial growth factor induces remodeling and enhances TH2-mediate sensitization and inflammation in the lung [J]. Nature, 2004, 10: 1095-1103.
- [24] 刘永生. 哮喘患者血清IL-13、TGF- β 1、VEGF表达变化及与气道炎症、重塑的关系探讨 [D]. 重庆: 重庆医科大学, 2012.
- [25] 王莘莘, 孔繁平, 陈学群. 低氧细胞应激的HIF-1信号通路 [J]. 浙江大学学报: 医学版, 2011, 40(5): 559-566.
- [26] NIZET V, JOHNSON R S. Interdependence of hypoxic and innate immune responses. [J]. Nat Rev Immunol, 2009, 9(9): 609-617.
- [27] 马明铭, 张明鑫. Rap1 b在非小细胞肺癌中的表达及意义 [J]. 现代肿瘤医学, 2015, 23(17): 2426-2428.
- [28] Sato K, Yuasa T, Nogawa M, et al. A third -generation bisphosphonate, minodronic acid (YM529), successfully prevented the growth of bladder cancer *in vitro* and *in vivo* [J]. Br J Cancer, 2006, 95(10): 1354-1361.
- [29] 丁云磊, 孙英杰, 王晓旭, 等. RIG-I样受体信号通路及其调控研究进展 [J]. 中国动物传染病学报, 2014(5): 72-79.
- [30] 龙冠晗, 陈梅晞. TOLL样受体、炎症反应与阻塞性睡眠呼吸暂停综合征 [J]. 临床肺科杂志, 2013, 18(10): 1876-1878.
- [31] Yetao W, Mizuho H, Ryu I, et al. PYNOD, a novel Apaf-1/CED4-like protein is an inhibitor of ASC and caspase-1 [J]. Int Immunol, 2004, 16 (6) :777-86.
- [32] 席 琼, 胡巢凤. NOD样受体在炎症反应中的调控作用 [J]. 生命科学, 2010, 22(5): 454-458.
- [33] 田 静, 惠晓君, 张 靖, 等. PPAR γ 基因多态性与新生儿肺炎易感性及血清炎症细胞因子的相关性研究 [J]. 中国现代医学杂志. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/43.1225.R.20200427.0845.008.html>.
- [34] 陈伟庄, 吴宏成. 肺癌患者丝裂原活化蛋白激酶1 (MAPK1)表达水平及临床意义 [J]. 临床肺科杂志, 2013, 18(3): 395-397.
- [35] 万 军, 车 云, 康宁宁. 信号通路蛋白Akt1、ERK1/2与HIF-1 α 在肺癌组织中的表达及其临床意义 [J]. 实用癌症杂志, 2014(12): 1515-1517, 1521.
- [36] Geering B, Simon H U. Peculiarities of cell death mechanisms in neutrophils [J]. Cell Death Differ, 2011, 18(9): 1457-1469.
- [37] Ward C, Chilvers E R, Lawson M F, et al. NF-kappaB activation is a critical regulator of human granulocyte apoptosis *in vitro* [J]. J Biol Chem, 1999, 274(7): 4309-4318.
- [38] 黄 进, 朱黎明, 朱应群. KLF2/RelA比例失衡与哮喘患者中性粒细胞凋亡的关系研究 [J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2018, 17(1): 1-5.
- [39] 王永芹. 病毒感染中JNK信号对杀伤性T细胞的调节作用 [D]. 天津: 南开大学, 2014.
- [40] 田 野, 李瑞明, 任红微, 等. 生脉散用于新型冠状病毒肺炎恢复期治疗的可行性探讨 [J]. 药物评价研究, 2020, 43(3): 378-383.
- [41] Huang C, Wang Y, Wang X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China [J]. The Lancet, 2020. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
- [42] Fu Y J, Yan Y Q, Qin H Q, et al. Effects of different principles of Traditional Chinese Medicine treatment on TLR7/NF-kappa B signaling pathway in influenza virus infected mice [J]. Chin Med, 2018, 13(1): 42.
- [43] 周珊珊, 李伟男, 艾中柱, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨清肺达原颗粒治疗新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 的作用机制 [J]. 中草药, 2020, 51(7): 1804-1813.
- [44] 尹明星, 曹 艳, 施春阳, 等. 中药防治细胞因子风暴的研究进展 [J]. 中草药, 2020, 51(5): 1089-1095.
- [45] 赵 静, 田赛赛, 杨 健, 等. 清肺排毒汤治疗新型冠状病毒肺炎机制的网络药理学探讨 [J]. 中草药, 2020, 51(4): 829-835.
- [46] 刘闰平, 葛俊德, 钟 颖, 等. 基于干预细胞因子风暴文献挖掘的中医药治疗重症新型冠状病毒肺炎探讨 [J]. 中草药, 2020, 51(5): 1096-1105.
- [47] 王哲义, 孙怿泽, 曲稔栋, 等. 基于网络药理学的麻杏石甘汤治疗新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 作用机制探讨 [J]. 中草药, 2020, 51(4): 1-8.
- [48] 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.