

基于网络药理学和分子对接方法祛肺毒一号方治疗新型冠状病毒肺炎作用机制研究

李伟霞^{1, 2, 3}, 张书琦¹, 贾文汇², 牛璐², 陈毓龙², 唐进法^{1, 2, 3*}

1. 河南中医药大学第一附属医院 中药临床评价技术河南省工程实验室, 河南 郑州 450000

2. 河南中医药大学 药学院, 河南 郑州 450046

3. 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 450046

摘要: 目的 采用网络药理学和分子对接技术探讨祛肺毒一号方治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的物质基础和潜在作用机制。方法 检索祛肺毒一号方中各药味的归经,并构建药味-归经网络;在中药系统药理学分析平台(TCMSP)数据库检索并筛选祛肺毒一号方中各药味潜在活性成分,通过文献检索补充不满足上述条件但具有药理活性的成分;采用TCMSP和Swiss Target prediction数据库获取成分相关靶标,采用Genecards数据库获取COVID-19疾病靶标;运用DAVID数据库对成分和疾病共有靶标进行KEGG通路注释和GO功能富集分析;通过STRING数据库和Cytoscape3.5.1软件构建靶标蛋白互作PPI网络和成分-靶标-通路网络;采用SYBYL-X.v1.3进行分子对接验证。结果 祛肺毒一号方中药味主要归经是肺经和胃经。预测和筛选得到260个成分和85个靶标,核心化合物有槲皮素、 β -谷甾醇、咖啡酸、人参皂苷Rh₄、甘草查尔酮A等18个,靶标主要涉及PTGS2、NOS2、MAPK14、PPARG、PTGS1等55个,PPI核心网络涉及GAPDH、TP53、MAPK3、EGFR、TNF、IL6等11个靶标。通过GO富集获得BP、MF和CC条目分别352、71和41条,获得121条($P < 0.05$)KEGG信号通路,核心通路有33条,主要涉及乙型肝炎、甲型流感、PI3K-Akt信号通路、丙型肝炎、HIF-1信号通路、TNF信号通路、MAPK信号通路、T细胞受体信号通路、VEGF信号通路等。驴食草酚和3'-甲氧基光甘草定与ACE2有较好的结合活性,刺果甘草查尔酮、驴食草酚和咖啡酸与3CLpro具有较好的结合活性。结论 阐释了祛肺毒一号方治疗COVID-19的多靶标、多通路协同作用,为中医药治疗COVID-19提供一定的科学依据与参考。

关键词: 祛肺毒一号方;新型冠状病毒肺炎;网络药理学;分子对接;作用机制;驴食草酚;3'-甲氧基光甘草定;刺果甘草查尔酮

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2021)04-0736-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.04.009

Study on mechanism of Qufaidu No.1 Prescription in treatment of corona virus disease 2019 based on network pharmacology

LI Weixia^{1, 2, 3}, ZHANG Shuqi¹, JIA Wenhui², NIU Lu², CHEN Yulong², TANG Jinfa^{1, 2, 3}

1. Henan Province Engineering Laboratory for Clinical Evaluation Technology of Chinese Medicine, The First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China

2. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

3. Provincial and ministerial co construction Collaborative Innovation Center for Prevention and treatment of respiratory diseases with traditional Chinese Medicine of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

Abstract: Objective To explore the material basis and potential mechanism of Qufaidu No.1 Prescription in the treatment of corona virus disease 2019 (COVID-19) by network pharmacology and molecular docking technology. **Methods** The meridian tropism of each flavor in Qufaidu No.1 prescription was searched and drug flavor-meridian tropism network was constructed; the potential active components of Qufaidu No.1 prescription were searched and screened on traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform (TCMSP), and the ingredients which did not meet the above conditions but with pharmacological

收稿日期: 2020-08-24

基金项目: 河南省中医拔尖人才培养项目

第一作者: 李伟霞, 博士, 副主任药师, 从事中药配伍物质基础和作用机制及合理应用研究。E-mail: liweixia01@126.com

*通信作者: 唐进法, 博士, 主任药师, 从事中药合理用药研究。E-mail: a0519@163.com

activity were supplemented by literature search. The component-related targets were obtained by TCMSP and Swiss Target prediction database, the disease targets of COVID-19 were acquired by Genecards database; DAVID database was used to annotate the KEGG pathway and analyze the functional enrichment of GO for the common targets of components and diseases and the target protein interaction PPI network and component-target-pathway network were constructed by STRING database and Cytoscape 3.5.1 software. Sybyl-x.v1.3 software was used to verify the molecular docking, and PyMOL software was used to plot the better docking results. **Results** The traditional Chinese medicine in Qufaidu No. 1 prescription mainly belongs to the lung meridian and stomach meridian. Through prediction and screening, 260 components and 85 targets were obtained. There were 18 core compounds including quercetin, β -sitosterol, caffeic acid, ginsenoside RH4, glycyrrhizin chalcone A and 55 targets including PTGS2, NOS2, Mapk14, PPARG and PTGS1. The PPI core network involved 11 targets such as GAPDH, TP53, mapk3, EGFR, TNF and IL6 and so on. Through GO enrichment, 352, 71 and 41 BP, MF and CC entries respectively obtained, 121 ($P < 0.05$) KEGG signal pathways were gained, of which 33 were core pathways, mainly related to hepatitis B, influenza A, PI3K Akt signal pathway, hepatitis C, HIF-1 signal pathway, TNF signal pathway, MAPK signal pathway, T cell receptor signal pathway, VEGF signal pathway, etc. Among them, vestitol and 3'-methoxyglabridin had good binding activity with ACE2; while glycalicacone, vestitol and caffeic acid had good binding activity with 3clpro. **Conclusion** The mechanism of COVID-19 treated by Qufaidu No. 1 Prescription is explained, providing certain scientific basis and reference for Chinese medicine in treating new crown pneumonia.

Key words: Qufaidu No. 1 Prescription; COVID-19; network pharmacology; molecular docking; action mechanism; vestitol; 3'-methoxyglabridin; glycalicacone

目前,新型冠状病毒(SARS-COV-2)引起的新型冠状病毒肺炎(COVID-19)已经成为广泛流行的传染性疾病,具有传染性强、各类人群普遍易感的特点。作为一种新型传染病,尚未有特效治疗药物。西医主要以对症支持治疗为主,而中医药在参与救治 COVID-19 患者中具有一定优势^[1]。祛肺毒一号方是由世界健康科学组织(WHSO)提供的治疗 COVID-19 的中药处方,该方主要由人参、荆芥、金银花、连翘、玄参、皂角刺、苦杏仁、蜂房、甘草和红景天等 10 味中药组成,具有补气养阴、清热解毒、止咳祛痰平喘的功效,临床主要治疗肺炎重型/危重型患者,具有较好临床疗效^[2],但其作用机制尚不清楚。网络药理学作为可系统整合药物、靶标和疾病相互关系的有效手段,与中医整体性的思想相一致^[3-4]。而基于生物信息学的分子对接技术则是研究分子(配体)与靶标蛋白(受体)间相互作用与识别过程的有效手段^[5]。故本研究首先采用网络药理学对临床报道的治疗 COVID-19 危急重症患者有效中药处方祛肺毒一号方进行机制分析,然后将核心成分与 SARS-COV-2 3CL 水解酶(Mpro)的晶体结构(PDB ID 6LU7))和相关蛋白血管紧张素转换酶 2(ACE2)的晶体结构(PDB ID 1R42)的结合能进行评估^[6]。探讨祛肺毒一号方治疗 COVID-19 的分子机制,为该方的深入研究奠定基础,也为该方在临床应用提供科学依据。

1 方法

1.1 祛肺毒一号方药味归经的检索

通过《中药学》和《中国药典》2015 年版一部检

索祛肺毒一号方中各药味的归经,并采用 Cytoscape 3.5.1 软件构建祛肺毒一号方药味(汉语拼音名称)-归经(英文名称)网络。

1.2 潜在活性成分的检索与筛选

首先通过中药系统药理学分析平台(Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database, TCMSP)检索祛肺毒一号方中 10 味中药的化学成分,并利用口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$ 和类药性(DL) ≥ 0.18 筛选符合标准的化合物;然后通过文献检索(中国知网和 PubMed)补充文献中已报道的、不能满足上述 2 个条件、但具有药理活性的成分。整合得到祛肺毒一号方总的治疗 COVID-19 的潜在活性成分。

1.3 靶标预测

首先将祛肺毒一号方的潜在活性成分分别采用 TCMSP 和 Swiss Target prediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 数据库获得其对应的靶标。利用 UniProt 数据库(<http://www.uniprot.org/>)将靶标统一转换为“Homo sapiens”的基因名。然后在 Genecards (<https://www.genecards.org/>) 数据库中,以“新型冠状病毒肺炎”的英文名“novel coronavirus pneumonia”为关键词,检索获得疾病相关靶标。最后,将祛肺毒一号方的成分靶标与 COVID-19 的疾病靶标进行匹配得到共有靶标。

1.4 KEGG 通路分析

将祛肺毒一号方成分与 COVID-19 疾病共有靶标输入生物学信息注释数据库(DAVID),进行 KEGG 通路分析。KEGG 通路中筛选 $P < 0.05$ 的作

为有意义通路,并将这些通路中的靶标返回去与原有的成分和疾病共有靶标进行匹配,得到最终有意义的成分和疾病共有靶标。

1.5 蛋白相互作用网络构建及GO生物功能分析

将最终匹配得到的祛肺毒一号方成分与COVID-19疾病共有靶标输入String数据库中,限定种类为人源(*Homo sapiens*),获得蛋白-蛋白相互作用(PPI)网络和GO富集分析结果。GO富集分析主要包括生物过程(Biological Process, BP)、分子过程(Molecular Function, MF)和细胞组成(Cellular Component, CC)3个部分。

1.6 成分-靶标-通路可视化网络构建

采用Cytoscape 3.5.1软件构建祛肺毒一号方治疗COVID-19的“成分-靶标-通路”网络。网络图中节点(node)代表活性成分、靶点、通路,边(edge)代表以上节点之间的相互关系,节点的大小和边的粗细代表度值的大小和边介数。并使用软件中的网络分析(Network Analyzer)功能,可获得的成分、靶标、通路的度(degree)、中介中心性(betweenness centrality)和接近中心性(closeness centrality)等网络参数。

1.7 分子对接

对筛选得到的活性成分与SARS-COV-2 3CL水解酶的晶体结构(PDB 6LU7))和ACE2的晶体结构(PDB 1R42)进行分子对接验证。采用SYBYL-X.v1.3软件对蛋白和小分子进行优化,使用Surflex-Dock模块进行分子对接。根据Total-Score打分函数对活性成分与靶标蛋白相互作用进行评分,Total-Score值愈大,说明小分子化合物与大分子蛋白的匹配结合作用越好。以Total-Score>5为阈值,将每个蛋白结合能最低的两组使用Pymol软件对最佳结果进行绘图。

2 结果

2.1 祛肺毒一号方的药味-归经网络构建

祛肺毒一号方中人参、荆芥、金银花、连翘、玄参、苦杏仁和甘草7味中药的归经查阅《中药学》和《中国药典》检索得到;皂角刺、蜂房和红景天3味中药的归经检索《中国药典》得到。构建药味-归经网络(图1),祛肺毒一号方连接度最大的是肺(lung)和胃(stomach),度值分别为8、5。说明祛肺毒一号方中药味主要归经是肺经和胃经,10味中药中有8味都归于肺经。

2.2 祛肺毒一号方的潜在活性成分

通过TCMSP数据库检索得同时满足OB $\geq$ 30%

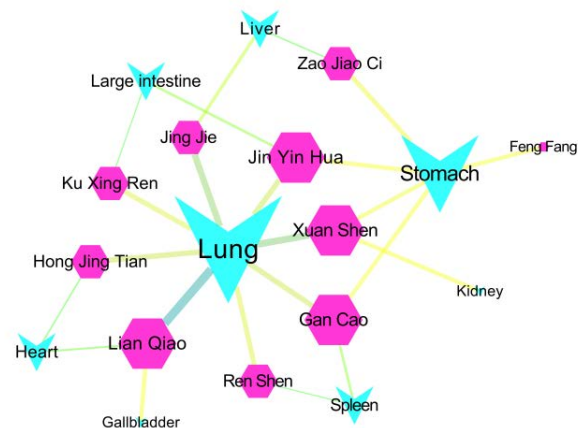


图1 祛肺毒一号方的药味-归经网络图

Fig. 1 Network diagram between herb and channel tropism of Qufaidu No.1 Prescription

和DL $\geq$ 0.18的成分190个,文献补充135个,共得到325个候选成分。其中,荆芥16个、金银花32个、玄参23个、连翘34个、皂角刺15个、苦杏仁16个、蜂房1个、甘草129个、人参40个、红景天19个。总分成分去重后共筛选得到289个候选成分。

2.3 祛肺毒一号方的成分靶标和COVID-19疾病靶标分析

将289个祛肺毒一号方中潜在活性成分利用TCMSP和SwissTarget prediction数据库共筛选得到1209个靶标。在Genecards数据库中,以“novel coronavirus pneumonia”为关键词,检索得到251个疾病靶标。与成分靶标进行匹配后,共得到92个祛肺毒一号方中成分与COVID-19疾病共有靶标(图2)。

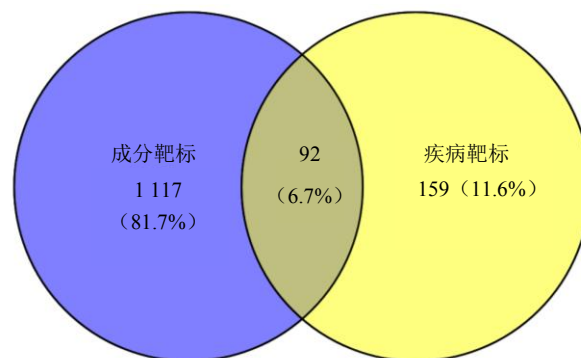


图2 祛肺毒一号方成分靶标与COVID-19疾病靶标韦恩图

Fig. 2 Venn diagram between targets related to components of Qufaidu No.1 Prescription and targets related to novel coronavirus pneumonia

2.4 GO生物功能和KEGG通路分析

将92个祛肺毒一号方与COVID-19疾病共有靶标的靶基因输入生物学信息注释数据库(DAVID),富集得到BP、MF和CC条目分别352、71和41条,各类别的前20条通路见图3;得到的

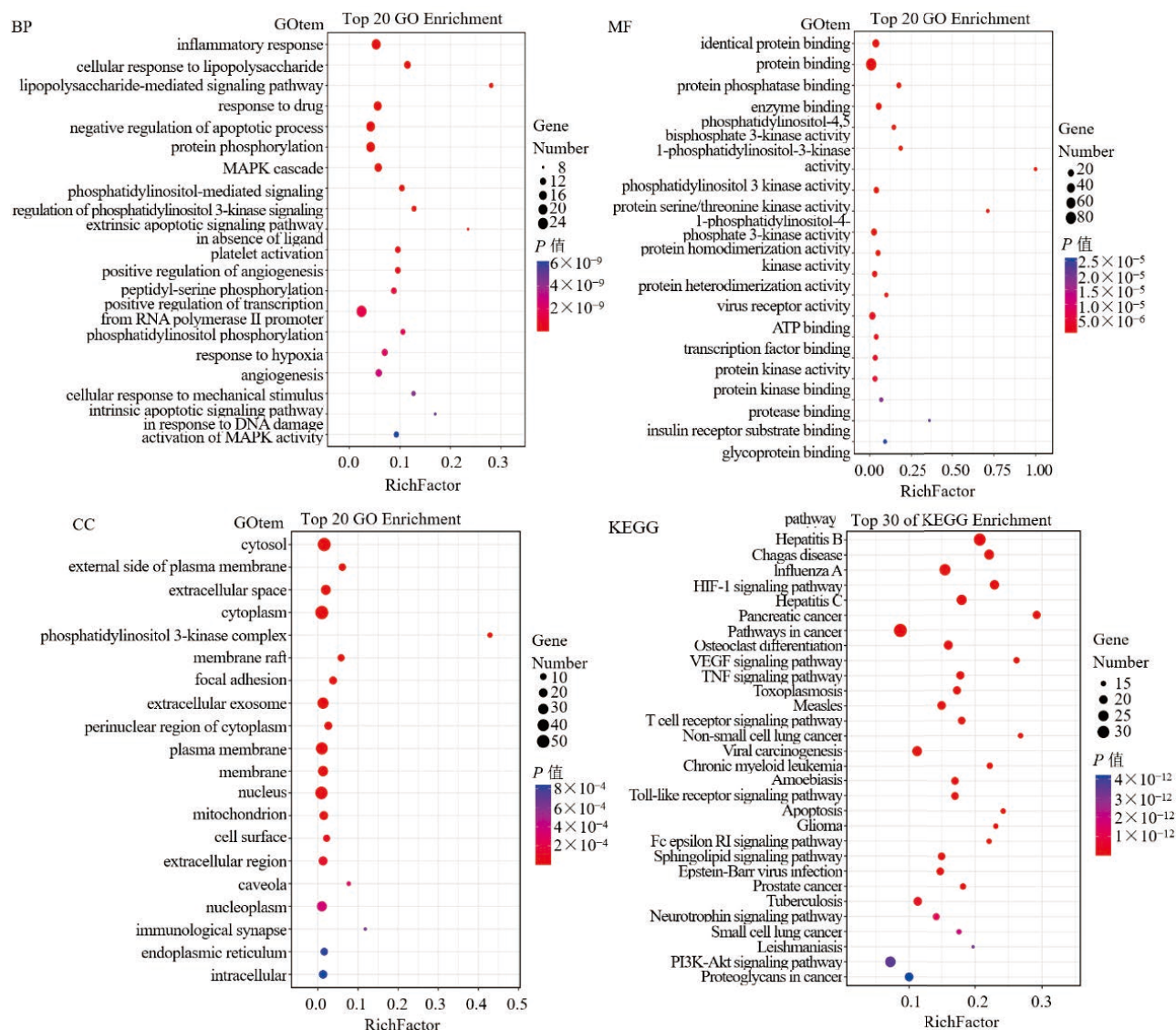


图3 祛肺毒一号方中潜在的GO富集分析和KEGG通路分析

Fig. 3 Potential Go enrichment analysis and KEGG pathway analysis of Qufaidu No.1 Prescription

KEGG通路有131条,其中, P 值 <0.05 的通路有121条,对应的靶基因有85个,排名前30的条目见图3。由图3可知,祛肺毒一号方治疗COVID-19的BP主要涉及炎症反应、蛋白质磷酸化、MAPK级联、磷脂酰肌醇磷酸化及其介导的信号转导、血小板活化、血管生成等;MF主要涉及蛋白质结合、蛋白磷酸酶结合、酶结合、蛋白酶结合、磷脂酰肌醇3激酶活性、病毒受体活性、ATP结合、转录因子结合等;CC主要涉及细胞质、胞浆、核、质膜、胞外体等。KEGG通路主要包括乙型肝炎、甲型流感、HIF信号通路、丙型肝炎、癌症的途径、VEGF信号通路、T细胞受体信号通路、非小细胞肺癌、Toll样受体信号通路、Fc-epsilon-RI信号通路、小细胞肺癌、PI3K-Akt信号通路等。

2.5 蛋白相互作用网络构建及分析

将祛肺毒一号方与COVID-19疾病相关通路中

的85个靶标输入String数据库,得到PPI网络图(图4-A),85个靶标节点对应1152条边,平均节点度为27.1,靶标间相互作用关系紧密,图中连接线的越粗,表示相互作用关系可信度越强。富集得到274条反应通路,通路中靶基因数排名前5的主要有免疫系统、信号转导、免疫系统中的细胞因子信号、白介素信号和先天免疫系统等。富集得到67个显著的Uniprot关键词,其中靶基因数排名前5的条目主要有多态性、磷蛋白、细胞质、膜和乙酰化等。相互作用的蛋白家族、区域和功能位点主要涉及蛋白激酶样结构域超家族、蛋白激酶结构域、蛋白激酶(ATP结合位点)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(活性部位)、C2域、C2结构域超家族、SH2域、SH2结构域超家族、p53样转录因子(DNA结合)和泛素样结构域超家族等。进一步采用Cytoscape软件得到

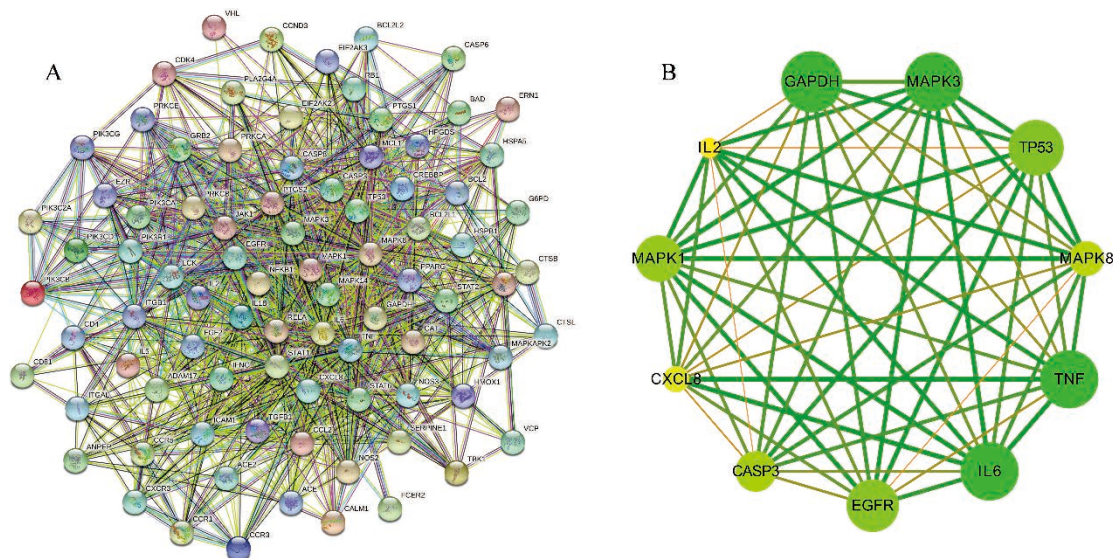


图4 祛肺毒一号方与COVID-19共有靶标的PPI网络(A)和核心PPI网络(B)

Fig. 4 PPI network (A) and core PPI network (B) from common targets between Qufaidu No.1 Prescription and COVID-19

Degree ≥ 54 的核心PPI网络(图4-B),涉及蛋白有11个,按照度值大小排序主要包括GAPDH、TP53、MAPK3、EGFR、TNF、IL6、MAPK1、CASP3、MAPK8、CXCL8和IL2。

2.6 成分-靶标-通路网络可视化

将祛肺毒一号方与COVID-19疾病相关通路中的85个靶标与成分重新匹配后,筛选得到260个活性成分。将260个成分、85个靶标和121条通路导

入Cytoscape 3.6.1软件构建“成分-靶标-通路”网络图。进一步网络拓扑分析得到各个节点的度值(Degree)等相关参数,计算节点的度值中位数为8,设定度值 ≥ 16 进一步得到核心成分-靶标-通路网络(图5)。由图5可知,核心成分有18个,核心靶标55个,核心通路33条。核心成分的主要信息见表1,除咖啡酸外的17个成分OB值均 $\geq 30\%$ 、DL值均 ≥ 0.18 。其中,槲皮素的度值最大(21),该成分主要来

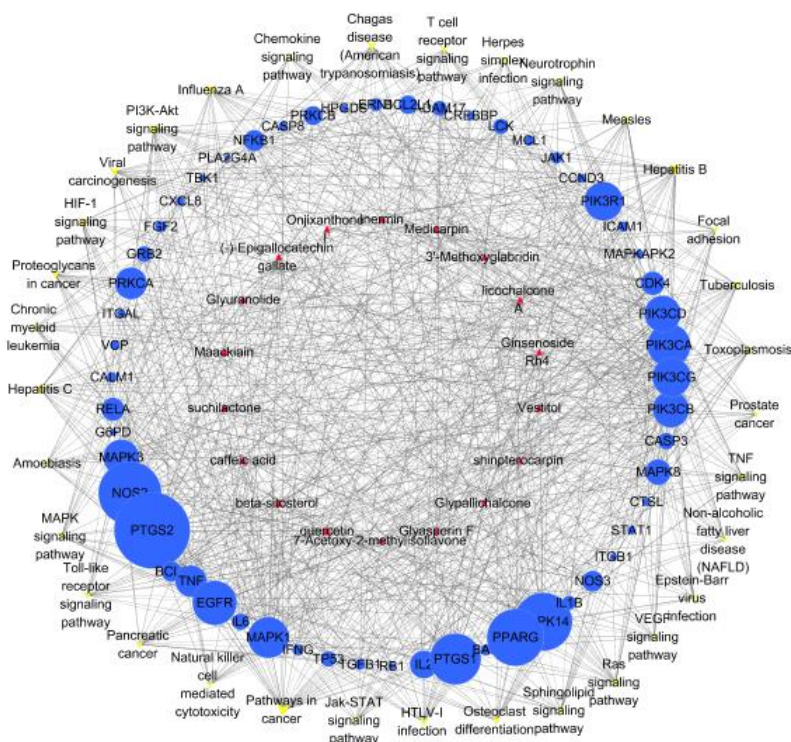


图5 祛肺毒一号方治疗COVID-19的核心成分-靶标-通路图

Fig. 5 Core component-targets-pathway diagram of Qufaidu No. 1 Prescription in treatment of COVID-19

表1 祛肺毒一号方治疗 COVID-19 的核心成分信息

Table 1 Core component information of Qufaidu No. 1 Prescription in treatment of COVID-19

序号	成分	OB/%	DL	度值	中介中心性	接近中心性	拓扑系数
1	槲皮素	46.43	0.28	21	0.01	0.46	0.21
2	β -谷甾醇	36.91	0.75	20	0.01	0.43	0.22
3	(-)-马卡因	75.18	0.54	19	0.00	0.42	0.25
4	苏齐内酯	57.52	0.56	19	0.01	0.44	0.23
5	咖啡酸	25.76	0.05	19	0.00	0.42	0.32
6	朝鲜槐英	65.83	0.54	18	0.00	0.42	0.24
7	美迪紫檀素	49.22	0.34	18	0.00	0.42	0.27
8	3'-甲氧基光甘草定	46.16	0.57	18	0.01	0.44	0.23
9	甘草查尔酮A	40.79	0.29	18	0.00	0.42	0.23
10	甘乌内酯	34.32	0.55	18	0.01	0.45	0.21
11	(-)-表儿茶素没食子酸酯	55.09	0.77	18	0.01	0.44	0.21
12	远志酮I	79.16	0.30	18	0.00	0.42	0.24
13	人参皂苷 Rh ₄	3.25	0.60	17	0.01	0.43	0.2
14	驴食草酚	74.66	0.21	17	0.00	0.42	0.27
15	刺果甘草查尔酮	61.6	0.19	16	0.00	0.41	0.29
16	粗毛甘草素F	75.84	0.54	16	0.00	0.44	0.23
17	7-乙酰氧基-2-甲基异黄酮	38.92	0.26	16	0.00	0.44	0.28
18	shinpterocarpin	80.3	0.73	16	0.00	0.42	0.28

源于荆芥、金银花、连翘、皂角刺、甘草; β -谷甾醇的度值为20,该成分主要来源于荆芥、金银花、玄参、连翘、皂角刺、人参;咖啡酸来源于金银花和皂角刺;苏齐内酯、朝鲜槐英和人参皂苷 Rh₄来源于人参;(-)-表没食子儿茶素没食子酸酯来源于红景天;远志酮I来源于连翘;(-)-马卡因、美迪紫檀素、3'-甲氧基光甘草定、甘草查尔酮A、甘乌内酯、驴食草酚、刺果甘草查尔酮、粗毛甘草素F、7-乙酰氧基-2-甲基异黄酮和 shinpterocarpin 来源于甘草。核心靶标主要包括 PTGS2、NOS2、MAPK14、PPARG、PTGS1、EGFR、PIK3CA、MAPK1 等,度值分别为190、158、145、142、128、111、108、103。核心通路主要有癌症的途径、乙型肝炎、甲型流感、PI3K-Akt 信号通路、丙型肝炎、HIF-1 信号通路、Ras 信号通路、TNF 信号通路、MAPK 信号通路、T 细胞受体信号通路、Toll 样受体信号通路、磷脂信号通路、趋化因子信号通路、JAK-STAT 信号通路、VEGF 信号通路等。

2.7 祛肺毒一号方治疗 COVID-19 核心成分与 2 种蛋白的分子对接结果

将成分-靶标-通路网络得到的祛肺毒一号方治疗 COVID-19 的 18 个核心成分与 3CLpro(6LU7)和 ACE2(1R42)进行分子对接,结果见表2。由表2可知,驴食草酚和 3'-甲氧基光甘草定与 1R42 的 Total Score 分别为 5.68、5.09,表明这 2 个成分与 ACE2 有较好的结合活性;刺果甘草查尔酮、驴食草酚和咖啡酸与 6LU7 的 Total Score 分别为 5.56、5.27、5.05,表明这 3 个成分与 3CLpro 具有较好的结合活性,其分子对接模式见图6。

表2 祛肺毒一号方治疗 COVID-19 的 18 个核心成分与靶蛋白 ACE2(1R42)和 3CLpro(6LU7)分子对接的得分

Table 2 Total Score of docking of 18 core components of COVID-19 treated by Qufaidu No. 1 Prescription with target protein ACE2 (1R42) and 3CLpro (6LU7)

序号	成分	Total-Score	
		1R42	6LU7
1	槲皮素	2.89	2.59
2	β -谷甾醇	2.26	3.35
3	(-)-马卡因	3.74	2.88
4	苏齐内酯	4.90	4.07
5	咖啡酸	3.42	5.05
6	朝鲜槐英	2.67	1.99
7	美迪紫檀素	3.29	1.86
8	3'-甲氧基光甘草定	5.09	1.46
9	甘草查尔酮A	3.73	3.71
10	甘乌内酯	2.64	1.06
11	(-)-表儿茶素没食子酸酯	4.81	3.20
12	远志酮I	3.14	1.99
13	人参皂苷 Rh ₄	3.53	-10.08
14	驴食草酚	5.68	5.27
15	刺果甘草查尔酮	3.95	5.56
16	粗毛甘草素F	4.40	2.15
17	7-乙酰氧基-2-甲基异黄酮	4.29	3.71
18	shinpterocarpin	2.30	2.40

3 讨论

COVID-19 以“湿毒疫”为中医病名^[1],该病的核心病机为湿毒壅肺,阻遏气机,病理特点可概括

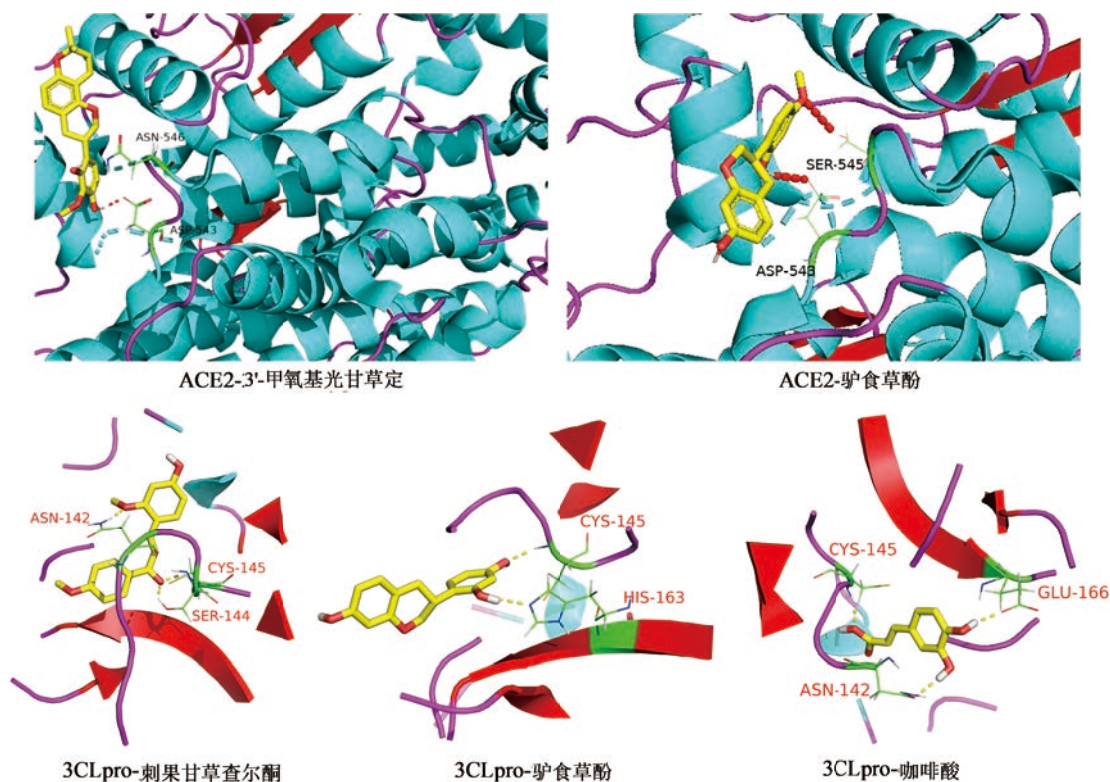


图6 祛肺毒一号方治疗 COVID-19 的核心成分与靶标蛋白 1R42 和 6Lu7 分子对接示意图

Fig. 6 Schematic diagram of docking between core components of COVID-19 treated by Qufaidu No. 1 Prescription and target proteins 1R42 and 6Lu7

为“湿、毒、闭、虚”^[7]。目前 COVID-19 尚无确认有效的治疗药物,且发病机制和临床症状复杂,单纯的西医疗法治疗效果欠佳。在此次疫情防治和救治工作中,中医药参与防治 COVID-19,能够促进轻症患者康复,减少轻、中、重症患者病情加重,降低病死率^[8],显示出了独特的优势。祛肺毒一号方治疗 COVID-19 重型/危重型患者具有一定临床疗效^[2],方中所含药味的归经主要为肺经和胃经。COVID-19 由寒湿之疫邪引起,寒邪外感于肺,由表入里,出现干咳、发烧、咽痛等症状;湿邪最易侵袭中焦脾胃,出现腹泻、呕吐、食欲不振等症状,舌象多为舌胖苔厚腻。重症病人邪毒入心、肝经,多有高热、神昏、抽搐等表现。肺与大肠相表里,脾与胃相表里。针对病因病机,治疗应重点作用于肺经和胃经,故使用主入肺经的荆芥、金银花、连翘辛温解表,苦杏仁、甘草止咳平喘,玄参清热解毒,使用入胃经的金银花、玄参、甘草、皂角刺等药味燥湿化浊、健运脾胃。病邪损伤阳气,使用人参和红景天补气固脱、益智养心。

本研究采用网络药理学方法,系统分析了祛肺毒一号方治疗 COVID-19 的潜在作用机制。金银花、甘草、连翘、皂角刺、人参皂苷、荆芥挥发油及其

主要成分、红景天甲醇冷浸提取物具有抗病毒的药理作用,其中皂角刺和人参皂苷有抗炎、调节免疫等作用。在“核心成分-靶标-通路”网络中,按照“degree”值筛选得到了槲皮素、 β -谷甾醇、咖啡酸、表没食子儿茶素没食子酸酯、甘草查尔酮 A、人参皂苷 Rh₄ 等 18 种关键成分,PTGS2、NOS2、MAPK14、PPARG、PTGS1 等 55 个核心靶标,乙型肝炎、甲型流感、PI3K-Akt 信号通路、丙型肝炎、病毒致癌和 HIF-1 信号通路等 33 条主要通路。槲皮素具有广泛的生物活性,包括抗病毒、抗炎、免疫调节^[9]、抗氧化等^[10],能通过抑制 NF- κ B 和 JNK 信号通路减轻脂多糖(LPS)引起的 WI-38 肺成纤维细胞的炎症损伤。环氧酶-2(COX-2)是炎症反应的重要介质,槲皮素可显著抑制 COX-2 mRNA 和蛋白的表达及前列腺素(PG)E₂ 的产生,提示槲皮素可能用于治疗 COX-2 介导的疾病^[11]。 β -谷甾醇可显著降低肺炎链球菌感染小鼠肺部细菌定植数,缓解实验小鼠的肺组织充血、炎症和损伤症状,可通过阻止肿瘤坏死因子(TNF)- α 、白细胞介素(IL)-6 的释放,抑制 NF- κ B 信号通路的活化保护 LPS 所致的小鼠急性肺损伤^[12]。咖啡酸能够抑制丙肝病毒复制,也能显著抑制人冠状病毒 NL63 的复制,并特异性阻断

病毒附着^[13-14]。表没食子儿茶素没食子酸酯能够抑制TLR4信号通路的激活,具有潜在的抗炎和抗氧化作用^[15-16]。COVID-19进展期和危重期患者出现喘憋气促、气短的症状^[17],缺氧通过激活肺泡巨噬细胞中的TLR4信号通路加剧炎症反应,缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)可以抑制TLR4表达,减少肺损伤^[18]。HIF-1的激活与肺血管系统氧分压的调节有关^[19],调控HIF-1依赖性基因的表达,有利于稳定患者血氧饱和度。COVID-19有时导致肝炎和肝功能损伤^[20],调节乙型肝炎和丙型肝炎这两条通路,可能对COVID-19导致的肝炎和肝功能损伤有一定预防和治疗潜力。这些研究均表明祛肺毒一号方中各药味对于COVID-19患者的肺部和全身炎症以及病毒的复制有一定的治疗作用。

由蛋白互作网络可得,祛肺毒一号方治疗COVID-19的核心蛋白有GAPDH、TP53、MAPK3、EGFR、TNF、IL6、MAPK1、CASP3、MAPK8、CXCL8和IL2。IL6、IL2、TNF主要与炎症、氧化应激反应有关,上调IL-6、TNF- α 表达水平和降低IL-2表达水平能够提高病毒清除率,减少炎症性肺组织损伤^[21]。表皮生长因子受体(EGFR)对细胞的生长、增殖和分化等生理过程发挥重要的作用,甲型流感病毒、鼻病毒和呼吸道合胞病毒等呼吸道病毒能够诱导EGFR激活,抑制EGFR能够增加干扰素调节因子1(IRF1)和CXC趋化因子配体10(CXCL10)的产生,提示EGFR是抗病毒的潜在靶标^[22]。MAPK3、MAPK1、MAPK8参与细胞增殖、分化、转化、应激、炎症等,细胞激酶在调节甲型流感病毒感染中具有重要作用,p38 MAPK可介导调节抗病毒趋化因子和细胞因子表达的病毒传感器信号级联反应^[23]。TP53和CASP3诱导细胞周期阻滞、凋亡、衰老、DNA修复或代谢改变。祛肺毒一号方可能通过作用于这些靶标参与免疫、炎症反应、能量代谢、细胞增殖、凋亡、信号传导等过程发挥治疗COVID-19的作用。由GO富集分析结果可得,祛肺毒一号方治疗COVID-19的生物过程主要涉及炎症反应、蛋白质磷酸化、MAPK级联、磷脂酰肌醇磷酸化及其介导的信号转导、血小板活化、血管生成等,因此祛肺毒一号方可能通过调节这些生物过程的相关靶标治疗COVID-19。

祛肺毒一号方除了针对ACE2和3CLpro两个关键靶点外,还可通过抗病毒、抗炎、调节免疫、保护肺组织等作用,对COVID-19引发的肺损伤、肝损伤、炎症等发挥潜在的治疗作用。本研究证实了祛

肺毒一号方的潜在活性成分通过多靶标、多通路协同作用,对COVID-19发挥一定治疗潜力。

致谢首都医科大学药学院王星老师对分子对接部分提供帮助和指导

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 苗青,丛晓东,王冰,等.新型冠状病毒肺炎的中医认识与思考[J]. 中医杂志, 2020, 61(4): 286-288.
Miao Q, Cong X D, Wang B, et al. Understanding and thinking of novel coronavirus pneumonia in traditional chinese medicine [J]. J Tradit Chin Med, 2020, 61(4): 286-288.
- [2] 李素云,李高阳,张华茹,等.祛肺毒一号方治疗新型冠状病毒肺炎重症/危重症患者临床疗效分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(11): 13-20.
Li S Y, Li G Y, Zhang H R, et al. Clinical efficacy and experiences of lung-toxin dispelling formula No. 1 treating patients of corona virus disease 2019 type severe/type extremely severe [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2020, 26(11): 13-20.
- [3] Yuan H D, Ma Q Q, Cui H Y, et al. How can synergism of traditional medicines benefit from network pharmacology? [J]. Molecules, 2017, 22(7): E1135
- [4] Huang J H, Cheung F, Tan H Y, et al. Identification of the active compounds and significant pathways of yinchenhao decoction based on network pharmacology [J]. Mol Med Rep, 2017, 16(4): 4583-4592.
- [5] 王文军,丁一,窦芳,等.分子对接在中药药效物质筛选及作用机制研究中的应用进展[J]. 中国药师, 2018, 21(6): 1020-1023.
Wang W J, Ding Y, Dou F, et al. Application of molecular docking in the studies on screening and mechanism of pharmacodynamic substances of traditional chinese medicine [J]. China Pharm, 2018, 21(6): 1020-1023.
- [6] 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肺炎(COVID-19)活性化合物的研究[J]. 中草药, 2020, 51(4): 836-844.
Zong Y, Ding M L, Jia K K, et al. Exploring active compounds of Da-Yuan-Yin in treatment of COVID-19 based on network pharmacology and molecular docking method [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2020, 51(4): 836-844.
- [7] 庞稳泰,金鑫瑶,庞博,等.中医药防治新型冠状病毒肺炎方证规律分析[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(6): 1242-1247.
Pang W T, Jin X Y, Pang B, et al. Analysis on pattern of prescriptions and syndromes of traditional Chinese

- medicine for prevention and treatment of COVID-19 [J]. China J Chin Mater Med, 2020, 45(6): 1242-1247.
- [8] 田朝晖, 吴波, 向建军, 等. 中西医结合辨治新型冠状病毒肺炎理论分析与临床实践 [J]. 世界中医药, 2020, 15(4): 519-523.
- Tian Z H, Wu B, Xiang J J, et al. Theoretical analysis and clinical practice of differentiation and treatment of the novel coronavirus pneumonia by integration of traditional and western medicine [J]. World Chin Med, 2020, 15(4): 519-523.
- [9] Li Y, Yao J Y, Han C Y, et al. Quercetin, inflammation and immunity [J]. Nutrients, 2016, 8(3): 167.
- [10] Xu D, Hu M J, Wang Y Q, et al. Antioxidant activities of quercetin and its complexes for medicinal application [J]. Molecules, 2019, 24(6): 1123.
- [11] Xiao X S, Shi D B, Liu L Q, et al. Quercetin suppresses cyclooxygenase-2 expression and angiogenesis through inactivation of P300 signaling [J]. PLoS One, 2011, 6(8): e22934.
- [12] 姚凤, 周清燕, 熊瑛, 等. β -谷甾醇对脂多糖诱导的小鼠急性肺损伤的保护作用研究 [J]. 中国农学通报, 2015, 31(2): 55-61.
- Yao F, Zhou Q Y, Xiong Y, et al. Protective effects of β -sitosterol on acute lung injury induced by lipopolysaccharide in mice [J]. Chin Agric Sci Bul, 2015, 31(2): 55-61.
- [13] Shen J, Wang G, Zuo J. Caffeic acid inhibits HCV replication via induction of IFN α antiviral response through p62-mediated Keap1/Nrf2 signaling pathway [J]. Antiviral Res, 2018, 154: 166-173.
- [14] Weng J R, Lin C S, Lai H C, et al. Antiviral activity of Sambucus Formosana Nakai ethanol extract and related phenolic acid constituents against human coronavirus NL63 [J]. Virus Res, 2019, 273: 197767.
- [15] Chen C Y, Kao C L, Liu C M. The cancer prevention, anti-inflammatory and anti-oxidation of bioactive phytochemicals targeting the TLR4 signaling pathway [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(9): 2729.
- [16] Eng Q Y, Thanikachalam P V, Ramamurthy S. Molecular understanding of epigallocatechin gallate (EGCG) in cardiovascular and metabolic diseases [J]. J Ethnopharmacol, 2018, 210: 296-310.
- [17] 韩园园, 赵梦冉, 石垚, 等. 中西医结合治疗新型冠状病毒肺炎的应用分析 [J]. 中草药, 2020, 51(4): 878-882.
- Han Y Y, Zhao M R, Shi Y, et al. Application of integrative medicine protocols in treatment of coronavirus disease 2019 [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2020, 51(4): 878-882.
- [18] Wu G, Xu G, Chen D W, et al. Hypoxia exacerbates inflammatory acute lung injury via the toll-like receptor 4 signaling pathway [J]. Front Immunol, 2018, 9: 1667.
- [19] Carver D J, Gaston B, Deronde K, et al. Akt-mediated activation of HIF-1 in pulmonary vascular endothelial cells by S-nitrosoglutathione [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2007, 37(3): 255-263.
- [20] 王琰, 吴杰, 向净匀, 等. 基于网络药理学和分子对接法探寻黄连解毒汤治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)活性化合物的研究 [J]. 中药药理与临床, 2020, 36(2): 73-79.
- Wang Y, Wu J, Xiang J Y, et al. Exploring the active compounds of huanglian jiedu decoction in the treatment of coronavirus disease 2019 (COVID-19) based on network pharmacology and molecular docking method [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2020, 36(2): 73-79.
- [21] Zhang X X, Wu Q F, Yan Y L, et al. Inhibitory effects and related molecular mechanisms of total flavonoids in Mosla chinensis Maxim against H1N1 influenza virus [J]. Inflamm Res, 2018, 67(2): 179-189.
- [22] Kalinowski A, Ueki I, Min-Oo G, et al. EGFR activation suppresses respiratory virus-induced IRF1-dependent CXCL10 production [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2014, 307(2): L186-L196.
- [23] Meineke R, Rimmelzwaan G F, Elbahesh H. Influenza virus infections and cellular kinases [J]. Viruses, 2019, 11(2): 171.

[责任编辑 兰新新]