

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型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 活性化合物研究

邓燕君¹, 刘博文², 贺桢翔¹, 刘涛^{1*}, 郑荣蕾¹, 杨安迪³, 黄澳¹, 李玉婷³, 徐玉玲^{1*}

1. 成都大学药学与生物工程学院, 四川 成都 610106

2. 成都大学四川省抗菌素工业研究所, 四川 成都 610106

3. 成都大学张澜学院, 四川 成都 610106

摘要: 目的 采用网络药理学与分子对接法探索藿香正气口服液预防新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 的活性化合物。方法 借助中药系统药理学分析平台 (TCMSP) 检索藿香正气口服液组方中苍术、陈皮、厚朴、白芷、茯苓、大腹皮、半夏、甘草、广藿香、紫苏的化学成分和作用靶点。通过 Uniprot 数据库查询靶点对应的基因, 进而运用 Cytoscape 3.7.2 软件构建药材-化合物-靶点 (基因) 网络进行可视化, 通过 DAVID 进行 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析, 预测其作用机制, 并通过 Prism 软件及 Omicshare 数据库绘制柱状图及气泡图进行可视化。结果 药材-化合物-靶点网络包含了 10 种药材, 123 个化合物和相应靶点基因 257 个, 关键靶点基因涉及 PTGS2、HSP90AB1、AR、CAMSAP2、PPARG、NOS2 等。GO 功能富集分析得到 GO 条目 278 个 ($P < 0.05$), 其中生物过程 (BP) 条目 178 个, 细胞组成 (CC) 条目 36 个, 分子功能 (MF) 条目 64 个。KEGG 通路富集分析筛选得到 119 条信号通路 ($P < 0.05$), 涉及乙型肝炎、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、膀胱癌、前列腺癌及 T 细胞受体通路等。分子对接结果显示槲皮素、异鼠李素、葛花苷元、山柰酚、汉黄芩素、黄芩素等核心化合物与 COVID-19 推荐药的亲和力相似。其中以槲皮素、异鼠李素、葛花苷元 3 者亲和力最强。结论 藿香正气口服液中的化合物能通过与血管紧张素转化酶 II (ACE2) 结合作用于 PTGS2、HSP90AB1、AR、CAMSAP2 等靶点调节多条信号通路, 从而发挥对 COVID-19 的防治作用。

关键词: 藿香正气口服液; 新型冠状病毒 (SARS-CoV-2); 新型冠状病毒肺炎 (COVID-19); 网络药理学; 分子对接; 槲皮素; 异鼠李素; 葛花苷元

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)05-1113-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.05.004

Study on active compounds from Huoxiang Zhengqi Oral Liquid for prevention of coronavirus disease 2019 (COVID-19) based on network pharmacology and molecular docking

DENG Yan-jun¹, LIU Bo-wen², HE Zhen-xiang¹, LIU Tao¹, ZHENG Rong-lei¹, YANG An-di³, HUANG Ao¹, LI Yu-ting³, XU Yu-ling¹

1. College of Pharmacy and Bioengineering, Chengdu University, Chengdu 610106, China

2. Sichuan Industrial Institute of Antibiotics, Chengdu University, Chengdu 610106, China

3. Zhanglan College, Chengdu University, Chengdu 610106, China

Abstract: Objective To explore the active compounds of Huoxiang Zhengqi Oral Liquid for the treatment of coronavirus disease 2019 (COVID-19) by network pharmacology and molecular docking. **Methods** The chemical constituents and action targets of *Atractylodes chinensis*, *Citrus reticulata*, *Magnolia officinalis*, *Angelica dahurica*, *Poria cocos*, *Areca catechu*, *Pinellia ternata*, *Glycyrrhiza uralensis*, *Pogostemon cablin* and *Perilla frutescens* were retrieved from TCMSP. Uniprot database was used to search the corresponding genes of targets, then Cytoscape 3.7.2 software was used to construct the network of medicinal materials-compound-target (gene) for visualization; GO function enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis were

收稿日期: 2020-02-17

基金项目: 2020 年成都市龙泉驿区科技计划项目 (新型冠状病毒感染的肺炎疫情防控专项); 四川省科学技术厅 2020 年省级科技计划项目 (20YYJC1839)

作者简介: 邓燕君 (1997—), 在读本科生。Tel: 15082545199 E-mail: 1148150454@qq.com

*通信作者 刘涛 (1976—), 博士, 研究员级高级工程师, 主要从事中成药新药开发及再评价工作。Tel: 13378118375 E-mail: liutao0578@sina.com
徐玉玲 (1975—), 硕士, 副教授, 主要从事中成药新药开发及再评价工作。Tel: (028)61302236 E-mail: xuyuling@cdu.edu.cn

performed through DAVID to predict its mechanism of action, and histograms and bubble maps were plotted by Prism software and Omicshare database for visualization. **Results** The network of medicinal materials-compound-target contained 10 medicinal materials, 123 compounds and 257 corresponding target genes, and the key target genes involved PTGS2, HSP90AB1, AR, CAMSAP2, PPARG, NOS2, etc. GO functional enrichment analysis resulted in 278 GO entries ($P < 0.05$), including 178 biological processes (BP) entries and 36 cellular component (CC) entries, and 64 molecular function (MF) entries. KEGG pathway enrichment analysis revealed that there were 119 ($P < 0.05$) signaling pathways involving Hepatitis B, small cell lung cancer, non-small cell lung cancer, bladder cancer, prostate cancer and T cell receptor pathways. The results of molecular docking showed that the core compounds such as quercetin, isorhamnetin, irisolidone, kaempferol, wogonin, and baicalein were similar in affinity with the COVID-19 recommended medicine. Among them, quercetin, isorhamnetin and irisolidone had the strongest affinity. **Conclusion** The compounds in Huoxiang Zhengqi Oral Liquid can combine with angiotensin converting enzyme II (ACE2) binding to PTGS2, HSP90AB1, AR, CAMSAP2 and other targets to regulate multiple signaling pathways, thus exerting a preventive or therapeutic effect on COVID-19.

Key words: Huoxiang Zhengqi Oral Liquid; SARS-CoV-2; COVID-19; network pharmacology; molecular docking; quercetin; isorhamnetin; irisolidone

2019 年 12 月以来, 新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 引起的急性肺炎 (COVID-19) 在我国和其他国家如日本、新加坡、泰国、韩国流行, 至 2020 年 2 月 16 日, 国外确诊人数为 690, 死亡病例 3 例, 我国确诊人数为 68 595 例, 死亡病例 1 667 例。此次引起流行的病原为一种新发现的 β 属冠状病毒, 其传播途径主要经呼吸道飞沫传播, 亦可通过接触传播, 具有传播迅速广泛、传染性强、各类人群普遍易感的特点。COVID-19 轻度患者出现发热、乏力、干咳等症状, 严重者可出现呼吸困难、呼吸窘迫综合征或脓毒症休克等症, 目前暂无特效药^[1-4]。

由病毒导致的传染病多属于我国传统医学古代“瘟疫”的范畴, 多为邪气侵体、体内正气不足所导致^[5], 我国在《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案 (试行第三版)》中指出, 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”, 我国包括中药在内的传统医药对其有较好的治疗作用^[6]。基于此, 我国卫生健康委员会及国家中医药管理局在《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》中要求加强中西医结合, 并推荐了多个中成药在诊治过程中使用。其中将包括藿香正气口服液在内的藿香正气系列制剂作为医学观察期乏力伴胃肠不适者的预防推荐药物。藿香正气口服液由苍术、陈皮、厚朴、白芷、茯苓、大腹皮、半夏、甘草、广藿香、紫苏 10 味药材组成, 常用于外感风寒、内伤湿滞或夏伤暑湿所致的感冒, 主要针对头痛昏重、胸膈痞闷、脘腹胀痛、呕吐泄泻等症状^[6]。

藿香正气处方中以藿香为君, 辛散风寒、芳香

化湿、升清降浊、和脾和胃脘; 半夏曲燥湿降逆、和胃止呕; 厚朴行气化湿、宽中除满; 紫苏、白芷助藿香外散风寒, 又兼芳香化湿共为臣, 陈皮理气燥湿和中, 茯苓、苍术健脾利湿, 大腹皮行气利湿, 桔梗宣肺利膈, 生姜、大枣调和脾胃共为佐药, 甘草调和诸药为使。其配伍有 4 个特点: 一药双效奏表里同治之功; 升清降浊以斡旋中州运化; 化湿未忘行气, 气化则湿亦化; 祛邪扶正, 正不正之气。该方在药势上表里上下前后分消, 功用上能补能泻能散能化, 治理兼顾散表, 升清又可降浊, 化湿并能行气, 祛邪不忘扶正^[7]。由此可见, 对于因“湿”邪侵体、正气不足所引起的疾病, 藿香正气口服液具有化湿、利湿、燥湿的作用, 在祛邪的同时亦可扶正, 因而具有较好的疗效。由于 COVID-19 以“湿、热、毒、瘀”为主要特征, 疫气不同于六淫之气, 是合毒之邪, 由口鼻侵袭机体后直入脾肺, 病情可分为初期、发展期和重症期, 初期主要是温邪犯肺、发热微恶寒, 可采用小柴胡汤等和少阳, 解邪气, 但随着病情的发展, 出现邪犯胃肠时, 有恶心欲呕、大便溏等症状, 便可以使用藿香正气口服液解表化湿、理气和中, 达到治疗目的^[8]。

网络药理学是基于系统生物学的理论, 对生物系统的网络分析, 选取特定信号节点 (nodes) 进行多靶点药物分子设计的新学科。网络药理学强调对信号通路的多途径调节以及多成分-多靶点-多途径的调节, 从分子学与生物学将中药中有效成分与靶点基因相联系^[9]。分子对接技术是通过计算机直接分析受体的特征以及受体和药物分子之间的相互作用方式来进行药物设计的方法。主要研究分子间 (如配体和受体) 相互作用, 并预测其结合模式和亲和

力的一种理论模拟方法。近年来,分子对接方法已成为计算机辅助药物研究领域的一项重要技术^[10]。本研究通过网络药理学筛选出藿香正气口服液作用靶点,并进行聚类分析,预测藿香正气口服液中核心活性化合物,进而运用分析软件对药材-化合物-靶点进行分子对接及信号通路分析,并预测其治疗 COVID-19 的作用机制,为藿香正气口服液用于预防及治疗 COVID-19 提供理论参考。

1 方法

1.1 藿香正气口服液中化合物收集

借助中药系统药理分析平台(TCMSP, <http://tcmsp.com>)^[11],分别以“苍术”“陈皮”“厚朴”“白芷”“茯苓”“大腹皮”“半夏”“甘草”“广藿香”“紫苏”为关键词搜索藿香正气口服液中的化合物成分。

1.2 活性化合物及靶标蛋白的筛选

口服生物利用度(OB)是药物吸收、分布、代谢、排泄(ADME)中重要的药动学参数之一,它表示口服药物的有效成分或活性基被吸收到达体循环并吸收的速度与程度,OB 值越高通常表示药物的生物活性越好和类药性(DL)越好^[12]。因此借助 TCMSP 数据平台,筛选出苍术、陈皮、厚朴、白芷、茯苓、大腹皮、半夏、甘草、广藿香、紫苏所含化合物中符合 $OB \geq 30\%$ 且 $DL \geq 0.18$ 的化学成分作为活性成分,并得到相关靶标蛋白。

1.3 靶标蛋白基因名的确定及药材-化合物-靶标网络的构建

借助 Uniprot (<https://www.uniprot.org/>) 数据库查询靶标蛋白对应的基因名,并用 Cytoscape 3.7.2 软件构建药材-化合物-靶标网络,分析化合物和靶点网络。

1.4 靶点的通路分析

为了进一步了解上述筛选出的靶标蛋白基因的功能以及在信号通路中的作用,将筛选得到的藿香正气口服液作用的靶点导入 DAVID 数据库(<https://david.ncifcrf.gov/home.jsp>),通过输入靶基因名称列表并限定物种为人,将所有靶基因名称校正为其官方名称(official gene symbol),经上述数据库检索和转化操作,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,并用 Prism 软件和在线绘图网站 Omishare(<http://www.omicshare.com/tools/index.php/>)将其结果绘制成柱状图与气泡图进行可视化。

1.5 成分-靶点分子对接

从 RSCB PDB 数据库(<https://www.rcsb.org/>)下载 SARS-CoV-2 3CL 水解酶和血管紧张素转化酶 II(ACE2)的 3D 结构 PDB 格式文件,运用 Discovery Studio 2020 Client 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。从 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)下载筛选出关键化合物 2D 结构的 SDF 格式文件。利用 PyRx 软件先上传去水加氢后的蛋白质文件,将其转化为 pdbqt 格式文件,再上传化合物文件使其能量最小化,并将其转化为 *pdbqt 格式文件,最后运用 Vina 进行对接。结合能小于 0 说明配体与受体可以自发结合,目前对于活性分子的靶点筛选尚无统一标准,这里选取结合能 ≤ -5.0 kJ/mol^[13]的成分作为藿香正气口服液防治 COVID-19 的活性成分筛选依据。

2 结果

2.1 活性化合物的筛选

通过 TCMSP 检索到苍术、陈皮、厚朴、白芷、茯苓、大腹皮、半夏、甘草、广藿香、紫苏中化合物共 1 342 个,其中 49 个来自苍术,63 个来自陈皮,139 个来自厚朴,223 来自白芷,34 个来自茯苓,16 个来自大腹皮,116 个来自半夏,280 个来自甘草,94 个来自广藿香,328 个来自紫苏。白芷、甘草、紫苏以 $OB \geq 40\%$ 且 $DL \geq 0.18$ 筛选出活性化合物共 83 个,其中 9 个来自白芷,68 个来自甘草,6 个来自紫苏;苍术、陈皮、厚朴、茯苓、大腹皮、半夏、广藿香以 $OB \geq 30\%$ 且 $DL \geq 0.18$ 筛选出活性化合物共 40 个,其中 4 个来自苍术,5 个来自陈皮,2 个来自厚朴,6 个化合物来自茯苓,2 个来自大腹皮,12 个来自半夏,9 个来自广藿香。藿香正气口服液中部分化合物基本信息见表 1。

2.2 药材-化合物-靶点相互作用网络

药材-化合物-靶点网络共包括 384 个节点(10 种药材节点、123 个化合物节点、257 个靶点节点)和 2 511 条边,如图 1 所示,其中玫瑰红代表苍术及其化合物,橙色代表陈皮及其化合物,绿色代表厚朴及其化合物,深蓝色代表白芷及其化合物,浅绿色代表茯苓及其化合物,紫红色代表大腹皮及其化合物,红色代表半夏及其化合物,黄色代表甘草及其化合物,粉色代表广藿香及其化合物,紫色代表紫苏及其化合物,天蓝色代表靶标基因,形状 Δ 代表药材, $\bigcirc$ 代表化合物, $\square$ 代表基因,每条边则表

表 1 藿香正气口服液中部分化合物基本信息

Table 1 Basic information of some compounds in Huoxiang Zhengqi Oral Liquid

药材	MOL ID	化合物	OB/%	DL
苍术	MOL000173	汉黄芩素 (wogonin)	30.68	0.23
	MOL000188	3 β -乙酰氧基阿曲松 (3 β -acetoxyatractylone)	40.57	0.75
	MOL000184	柱头甾醇 (NSC63551)	39.25	0.76
陈皮	MOL000359	谷甾醇 (sitosterol)	36.91	0.75
	MOL004328	柚皮素 (naringenin)	59.29	0.21
	MOL005815	柠檬霉素 (citromitin)	86.90	0.51
	MOL005828	川陈皮素 (nobiletin)	61.67	0.52
厚朴	MOL005970	桉树醇 (eucalyptol)	60.62	0.32
	MOL005980	新橙皮苷 (neohesperidin)	57.44	0.27
白芷	MOL001942	异欧前胡素 (isoimperatorin)	45.46	0.23
	MOL005800	白当归脑 (byakangelicol)	58.00	0.61
	MOL000449	豆甾醇 (stigmasterol)	43.83	0.76
	MOL001494	甘露醇 (mandenol)	43.59	0.35
	MOL002644	黄蝶呤 (phellopterin)	40.19	0.28
茯苓	MOL013430	别欧前胡素 (prangenin)	43.60	0.29
	MOL000275	曲美酚酸 (trametenolic acid)	38.71	0.80
	MOL000279	啤酒甾醇 (cerevisterol)	37.96	0.77
	MOL000283	麦角甾醇过氧化物 (ergosterol peroxide)	40.36	0.81
	MOL000296	常春藤皂苷元 (hederagenin)	36.91	0.75
大腹皮	MOL000004	原花青素 B1 (procyanidin B1)	67.87	0.66
	MOL000073	表儿茶素 (ent-epicatechin)	48.96	0.24
半夏	MOL002776	黄芩苷 (baicalin)	40.12	0.75
	MOL002714	黄芩素 (baicalein)	33.52	0.21
	MOL000358	β -谷甾醇 (beta-sitosterol)	36.91	0.75
	MOL000449	豆甾醇 (stigmasterol)	43.83	0.76
	MOL003578	环戊醇 (cycloartenol)	38.69	0.78
甘草	MOL000098	槲皮素 (quercetin)	46.43	0.28
	MOL005017	4-异戊烯雌酚 (phaseol)	78.77	0.58
	MOL005018	夏姆比奥纳 (xambioona)	54.85	0.87
	MOL005012	甘草异黄酮 (licoagroisoflavone)	57.28	0.49
	MOL004948	异甘醇 (isoglycyrol)	72.67	0.59
	MOL000500	维斯托尔 (vestitol)	74.66	0.21
	MOL004993	8-异丙酚 (8-prenylated eriodictyol)	53.79	0.40
	MOL000497	甘草查耳酮 (licochalcone)	40.79	0.29
	MOL002565	美迪紫檀素 (medicarpin)	49.22	0.34
	MOL000354	异鼠李素 (isorhamnetin)	49.60	0.31
广藿香	MOL000392	刺芒柄花素 (formononetin)	69.67	0.21
	MOL000422	山柰酚 (kaempferol)	41.88	0.24
	MOL002879	邻苯二甲酸二异辛酯 (diop)	43.59	0.39
	MOL005916	葛花苷元 (irisolidone)	37.78	0.30
	MOL005921	槲皮素 7-O- β -D-葡萄糖苷 (quercetin 7-O- β -D-glucoside)	49.57	0.27
紫苏	MOL006209	氰化物 (cyanin)	44.11	0.20
	MOL006210	丁香基- β -D-吡喃葡萄糖苷 (eugenyl- β -D-glucopyranoside)	47.42	0.76
	MOL007179	亚麻酸乙酯 (linolenic acid ethyl ester)	43.59	0.35
	MOL000492	(+)-儿茶素 [(+)-catechin]	46.10	0.20

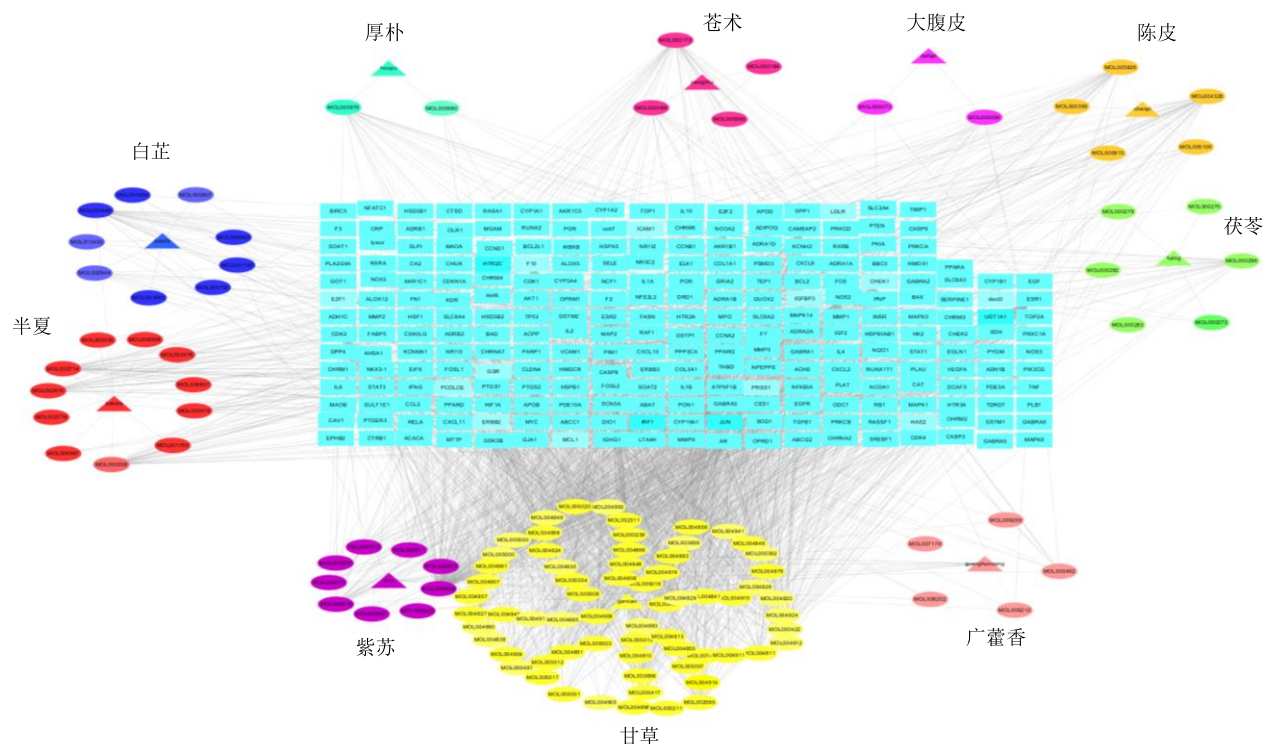


图 1 藿香正气口服液药材-化合物-靶标网络

Fig. 1 Huoxiang Zhengqi Oral Liquid-compound-target network

示药材中所含化合物及化合物与靶点相互作用关系。一个节点的度值表示网络中和节点相连的节点的数量。根据网络中的拓扑学性质筛选的中心度值 (betweenness centrality)、亲中心度值 (closeness centrality)、等级值 (degree) 较大的节点进行分析, 这些连接化合物或靶点较多的节点在整个网络中起到枢纽的作用, 可能是关键的化合物或者靶点。该网络中, 每个化合物平均与 16.96 个靶点相互作用, 每个靶点平均与 11.11 个化合物相互作用, 因此藿香正气口服液中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, 这体现了中药多成分与多靶点共同作用的整体性和联系性的特点^[14]。从化合物角度分析, 有 37.82% 的化合物作用靶点 ≥ 20 个, 其中作用靶点 ≥ 30 个的化合物有 18 个, 通过分析化合物-靶点的中心度值、亲中心度值及等级值等发现, 排名前 5 位的化合物分别为 MOL000098-槲皮素、MOL00422-山柰酚、MOL000173-汉黄芩素、MOL003896-7-甲氧基-2 甲基异黄酮、MOL004328-柚皮素, 分别能与 148、61、45、43、37 个靶点蛋白发生作用。从靶点的角度分析, 有 16.14% 的靶点与 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 28 个, 排名前 5 的靶点为 PTGS2、ESR1、HSP90AB1、AR、

CAMSAP2, 分别能与 102、83、79、71、68 个化合物发生相互作用。

2.3 靶点通路可视化

通过数据库 DAVID 进行的 GO 功能富集分析^[15]得到 GO 条目 278 个 ($P < 0.05$), 其中生物过程 (BP) 条目 178 个, 细胞组成 (CC) 条目 36 个, 分子功能 (MF) 条目 64 个, 分别占 73%、13%、14%, 排名前 20 位的条目见图 2。

KEGG 通路富集分析筛选得到 119 条 ($P < 0.05$) 信号通路, 涉及乙型肝炎、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、膀胱癌、前列腺癌及 T 细胞受体通路等, 其中乙型肝炎通路涉及 E2F1、TNF、MMP9、ELK1、NFKBIA、CXCL8、PTEN 等基因; 小细胞肺癌通路涉及 PIK3CG、E2F1、PTGS2、RXRB、RELA、TP53、NFKBIA 等基因; 非小细胞肺癌涉及 PRKCA、PIK3CG、E2F1、EGFR、RXRB、ERBB2、TP53 等基因; 膀胱癌通路涉及 E2F1、EGFR、ERBB2、MMP9、TP53、CXCL8、RB1 等基因, 选 P 值较小的前 20 个通路进行可视化, 结果见图 3。

2.4 藿香正气口服液中活性化合物作用于 SARS-CoV-2 3CL 水解酶的分子对接结果分析

一般认为配体与受体结合的构象稳定时能量越低, 发生的作用可能性越大。本研究中分子对接结

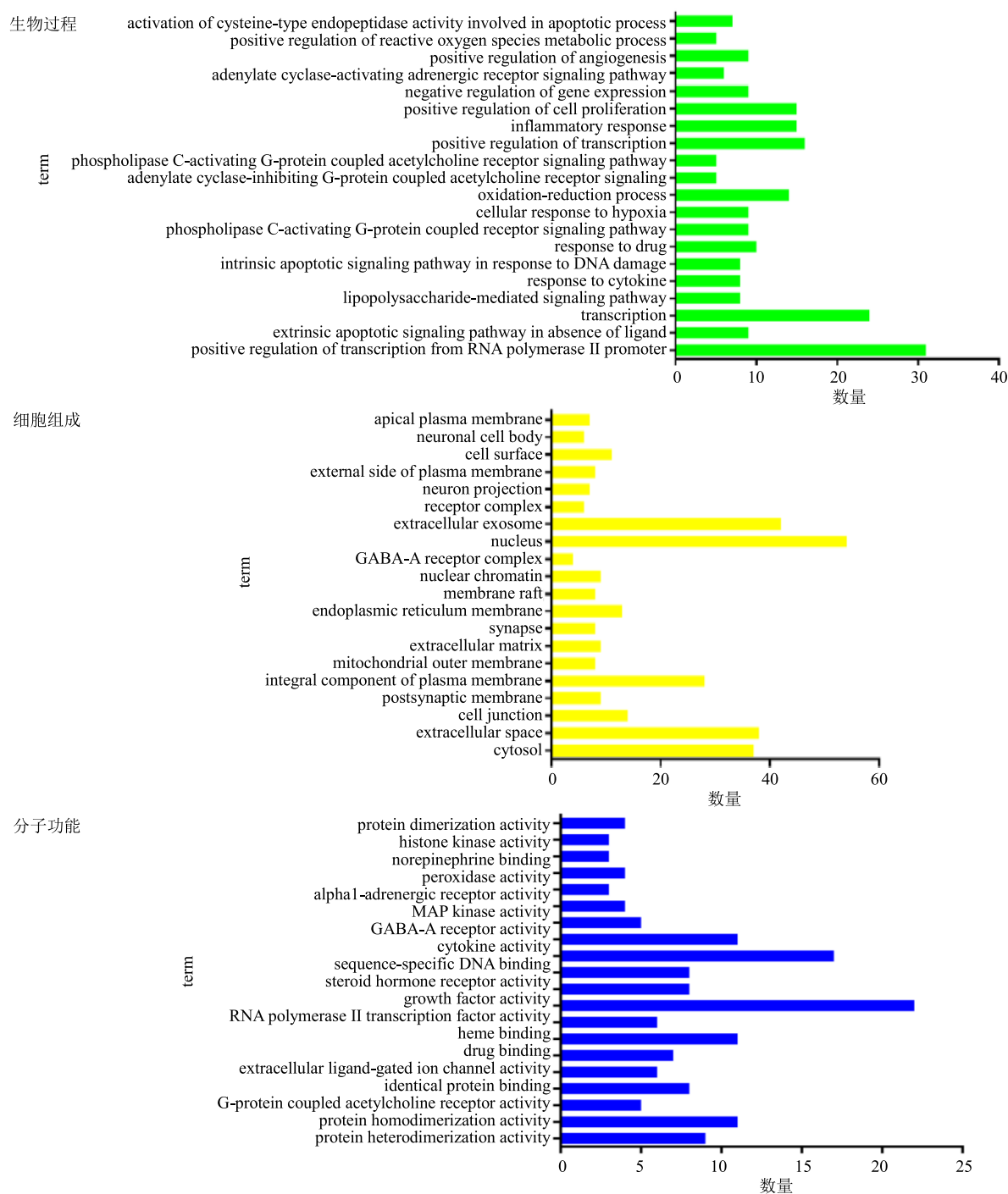


图 2 藿香正气口服液的化合物作用靶点 GO 功能分析

Fig. 2 GO function analysis of compound action target of Huoxiang Zhengqi Oral Liquid

果显示, 与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶结合能最低的化合物分别为槲皮素 (结合能为 -26.37 kJ/mol)、异鼠李素 (结合能为 -25.95 kJ/mol)、葛花昔元 (结合能为 -25.53 kJ/mol), 以结合能 ≤ -5 kJ/mol 作为筛选标准, 可知, 藿香正气口服液中主要化学成分与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶结合能均远小于 -5.0

kJ/mol, 见表 2。由此可见藿香正气口服液中的核心化学成分与受体蛋白 SARS-CoV-2 3CL 水解酶形成构象能量低, 结构稳定, 结合活性较高。将藿香正气口服液中结合能最低的 3 种成分及目前报道的可能具有抗 SARS-CoV-2 作用的化学药与 ACE2 (PDB ID: 1R42) 进行分子对接, 结果见表 2 和图 4。

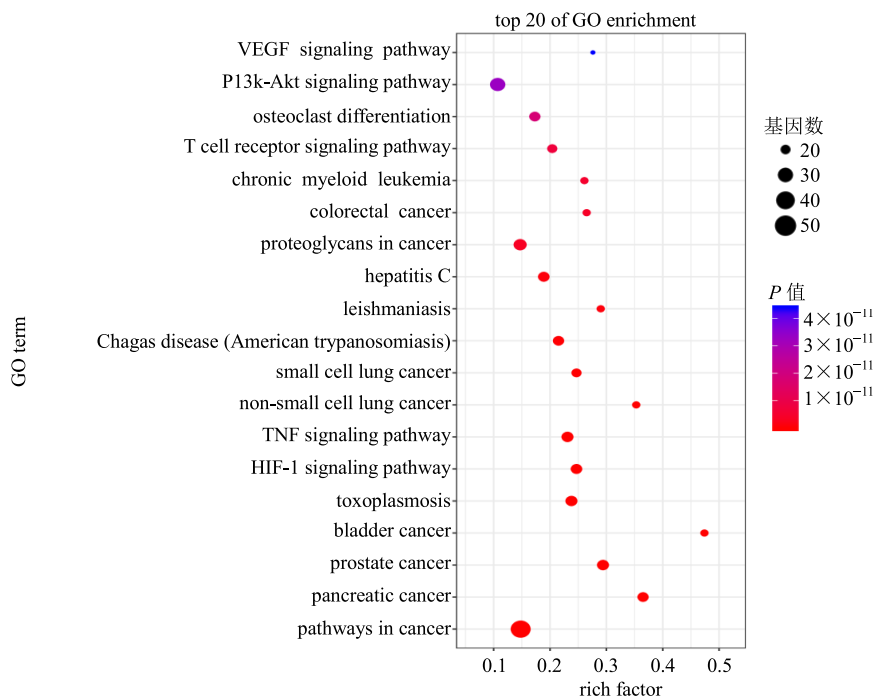


图 3 藿香正气口服液作用靶点 KEGG 富集分析的前 20 条通路气泡图

Fig. 3 Top 20 channel bubble map of action targets of Huoxiang Zhengqi Oral Liquid by KEGG enrichment analysis

表 2 藿香正气口服液中核心化合物及目前临床报道有效化学药与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶和 ACE2 的结合能

Table 2 Core compounds in Huoxiang Zhengqi Oral Liquid and binding energy of effective chemicals to SARS-CoV-2 3CL hydrolase and ACE2

化合物	化学式	相对分子质量	CAS	与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶 结合能/(kJ·mol ⁻¹)	与 ACE2 结合能/(kJ·mol ⁻¹)
槲皮素	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	338.270	6151-25-3	-26.37	-36.40
异鼠李素	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	316.270	480-19-3	-25.95	-35.15
葛花昔元	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314.290	2345-17-7	-25.53	-38.49
山柰酚	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.240	520-18-3	-22.18	
汉黄芩素	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	284.260	632-85-9	-23.44	
β-谷甾醇	C ₂₉ H ₅₀ O	414.710	83-46-5	-22.59	
柚皮素	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	180.240	93602-28-9	-24.27	
黄芩素	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270.237	491-67-8	-24.27	
刺芒柄花素	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	268.260	485-72-3	-23.01	
甘草查耳酮	C ₂₁ H ₂₂ O ₄	338.400	58749-22-7	-22.6	
美迪紫檀素	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	270.284	33983-39-0	-23.02	
川陈皮素	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	580.530	10236-47-6	-21.35	
豆甾醇	C ₂₉ H ₄₈ O	412.700	83-48-7	-22.18	
瑞德西韦	C ₂₇ H ₃₅ N ₆ O ₈ P	602.580	1809249-37-3	-25.94	-32.22
利巴韦林	C ₈ H ₁₂ N ₄ O ₅	244.210	36791-04-5	-25.52	-27.20
利托那韦	C ₃₇ H ₄₈ N ₆ O ₅ S ₂	720.960	155213-67-5	-24.69	-34.73
硝唑尼特	C ₁₂ H ₉ N ₃ O ₅ S	307.280	55981-09-4	-23.85	
洛匹那韦	C ₃₇ H ₄₈ N ₄ O ₅	628.800	192725-17-0	-22.59	
法匹拉韦	C ₅ H ₄ FN ₃ O ₂	157.100	259793-96-9	-20.92	
氯喹	C ₁₈ H ₂₆ ClN ₃	319.870	54-05-7	-18.41	

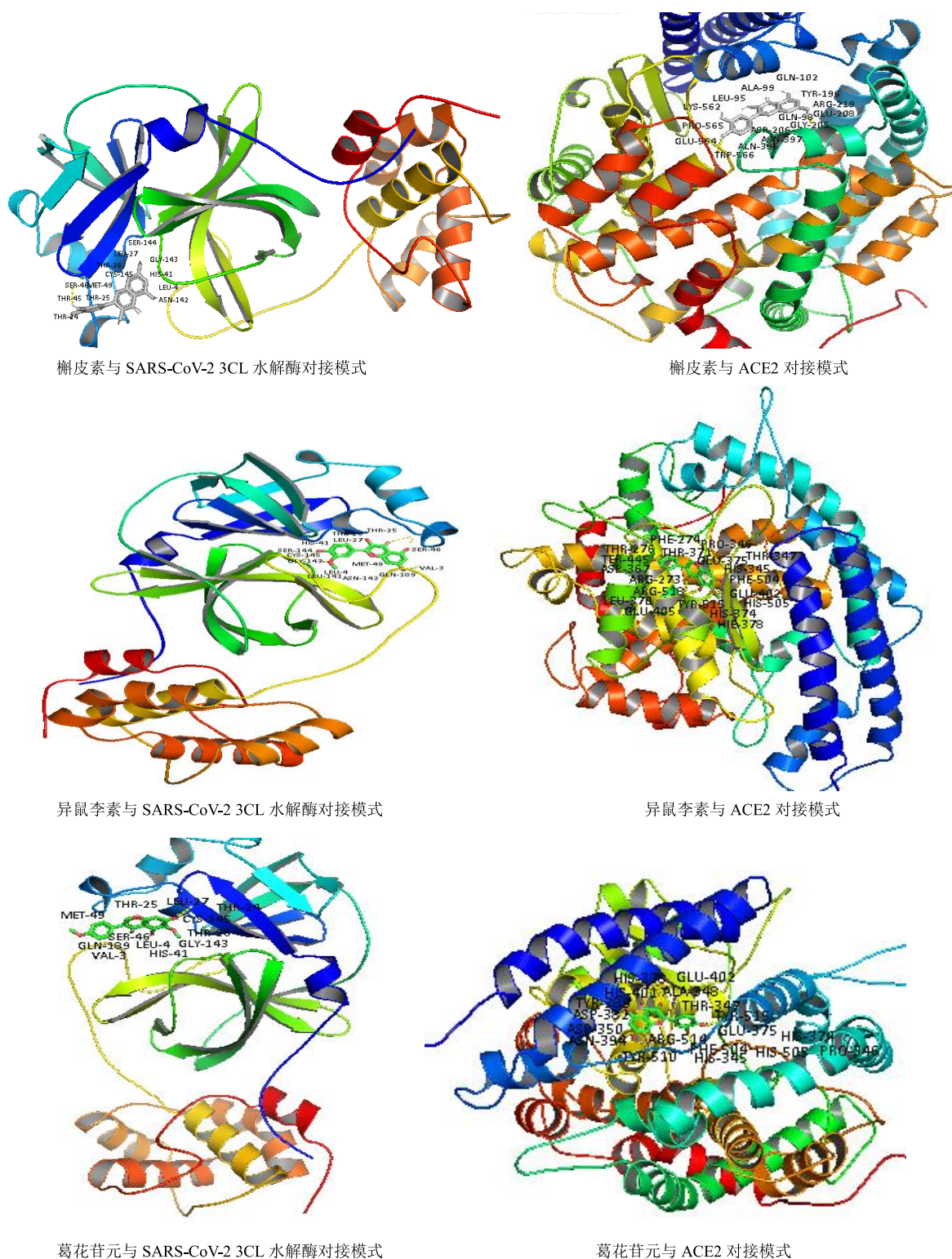


图 4 槲皮素、异鼠李素及葛花苜蓿分别与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶和 ACE2 的分子对接模式

Fig. 4 Molecular docking pattern of quercetin, isorhamnetin and irisolidone with SARS-CoV-2 3CL hydrolase and ACE2

3 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,吴鞠通《温病条辨》曰:“温疫者,厉气流行,多兼秽浊,

家家如是,若役使然也”。目前对 COVID-19 的中医分析,对于该病极早期而言,病因为“湿毒疫”,病位在中焦脾胃,因湿困中焦导致脘痞,纳差^[14-16],藿香正气口服液具有解表化湿、理气和中的作用^[17],

在临床对 COVID-19 患者乏力、胃肠不适等症状具有较好的缓解作用, 显示出中医药在 COVID-19 治疗中的重要作用^[18]。

ACE2 是严重急性呼吸系统综合症 (SARS) 病毒 (SARS-CoV) 及 SARS-CoV-2 的宿主细胞受体, SARS-CoV-2 通过其表达的 S-蛋白与人体内 ACE2 的结合, 从而导致病毒侵入机体而致病^[19]。本研究采用网络药理学方法对藿香正气口服液组方药材苍术、陈皮、厚朴、白芷、茯苓、大腹皮、半夏、甘草、广藿香、紫苏中化合物及靶标进行网络分析, 再结合分子对接技术将关键成分与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶及与 ACE2 酶进行对接, 寻找藿香正气口服液治疗 COVID-19 的活性化合物。从网络药理学分析结果可知, 藿香正气口服液组方药材化合物中综合评分最高的 5 个化合物均属于黄酮类成分, 与目前临床推荐使用的化学药进行对比, 藿香正气口服液中核心活性化合物与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶的结合能较为接近, 尤其是槲皮素、异鼠李素及葛花苷元分别与洛匹那韦和瑞德西韦有相近的结合能^[20]。由于 SARS-CoV-2 与 SARS-CoV 感染的途径均通过其表达的 S-蛋白与人体内 ACE2 相结合, 导致病毒侵入机体而致病。因此又将槲皮素、异鼠李素及葛花苷元与 ACE2 (PDB ID: 1R42, 0.22 nm) 进行了分子对接, 结果显示槲皮素、异鼠李素及葛花苷元与 ACE2 的结合能分别为-36.40、-35.15、-38.49 kJ/mol。KEGG 分析得出的与肺部最为相关的 3 条通路乙型肝炎、小细胞肺癌、非小细胞肺癌中均涉及 PIK3CG 和 E2F1 基因, 且均是槲皮素、异鼠李素和葛花苷元的作用靶点。藿香正气口服液核心活性化合物是否通过作用于 PIK3CG 和 E2F1 靶点调节小细胞肺癌通路、非小细胞肺癌通路和 T 细胞受体信号通路, 从而起到抗 COVID-19 的作用需要进一步研究。从网络药理学药材-化合物-靶标网络结果分析可知, 甘草与广藿香、陈皮共同的成分分别为 MOL000098-槲皮素、MOL004328-柚皮素, 半夏与白芷共同的成分为 MOL000449-豆甾醇, 正包含在经过综合分析筛选的化合物中, 且同一种化合物作用于不同靶点, 同时不同的化合物作用相同的靶点, 呈现出中药多成分-多靶点-多途径协同调节的特点^[21-24]。

本研究采用网络药理学及分子对接方法, 对藿香正气口服液中主要有效成分作用于 SARS-CoV-2 3CL 水解酶及 ACE2 的结合能进行了测定, 同时初

步分析了潜在分子机制, 结果表明, 藿香正气口服液是通过多成分、多靶点、多通路作用于 SARS-CoV-2 及 ACE2 来发挥作用, 基于研究结果, 在藿香正气口服液的生产和质量控制过程中, 应对槲皮素、异鼠李素及葛花苷元等化学成分进行重点关注与控制, 但同时值得关注的是, 现阶段对病毒本身及感染致病机制认识不全面, 且预防措施不全面, 同时数据库和软件以及该方法本身有一定局限性, 计算结果与临床疗效将会存在一定的差异性, 有待进一步研究。针对以上问题, 对于藿香正气口服液用于治疗 COVID-19 是否有效, 可进行药效及临床疗效的探究, 进行进一步验证试验, 为 COVID-19 治疗药物的研发及疫情防控提供新的方向及依据。

参考文献

- [1] 熊成龙, 蒋露芳, 姜庆五. β -冠状病毒引起人类疾病的流行与控制 [J/OL]. 上海预防医学, [2020-02-19]. <https://doi.org/10.19428/j.cnki.sjpm.2020.20001>.
- [2] 赵文明, 宋述慧, 陈梅丽, 等. 2019 新型冠状病毒信息库 [J]. 遗传, [2020-02-21]. <https://doi.org/10.16288/j.ycz.20-030>.
- [3] 屈辉. 激素治疗非典后防骨坏死 [A] // 第十三届全国临床医学影像学术会议论文汇编 [C]. 青岛: 《中国临床医学影像杂志》编辑部, 2003.
- [4] 鲁京硕. 传染性非典型肺炎后遗症的治疗体会 [J]. 中华中医药杂志, 2007(10): 732-733.
- [5] 徐旭, 张莹, 李新, 等. 各地区中医药预防新型冠状病毒 (COVID-19) 肺炎方案分析 [J/OL]. 中草药, [2020-02-19]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20200214.1506.002.html>.
- [6] 刘菊, 崔瑛, 白明学, 等. 基于中医药预防治疗新型冠状病毒肺炎的用药探析 [J/OL]. 中草药, [2020-02-19]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20200212.1133.002.html>.
- [7] 范逸品, 王燕平, 张华敏, 等. 试析从寒疫论治新型冠状病毒 (2019-nCoV) 感染的肺炎 [J/OL]. 中医杂志, [2020-02-19]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2166.R.20200206.1519.007.html>.
- [8] 伏元, 樊新荣, 王莘智, 等. 从“湿毒夹燥”谈湖南新型冠状病毒感染的肺炎的中医特点及防治 [J/OL]. 中医杂志, [2020-02-19]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2166.r.20200206.1256.004.html>.
- [9] 郑榕, 陈琴, 黄铭涵. 从“寒湿疫毒”辨治新型冠状病毒感染肺炎 [J/OL]. 中国中医药信息杂志, [2020-02-19]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3519.r.20200213.1105.002.html>.

- [10] 黄法森, 谢坤铭, 梁 欢, 等. 基于网络药理学的元胡止痛方治疗骨关节炎的作用机制研究 [J/OL]. 海南医学院学报, [2020-02-19]. <https://doi.org/10.13210/j.cnki.jhmu.20200212.003>.
- [11] Yao L, Wu L L, Li Q, *et al.* Novel berberine derivatives: Design, synthesis, antimicrobial effects, and molecular docking studies [J]. *Chin J Nat Med*, 2018, 16(10): 774-781.
- [12] 郭婷婷, 周 地, 党 文, 等. 基于网络药理学的倍半萜香豆素抗阿尔茨海默症作用机制研究 [J]. 沈阳药科大学学报, 2020, 37(1): 69-76.
- [13] 宗 阳, 董宏利, 陈 婷, 等. 基于网络药理学黄芩-黄连药对治疗 2 型糖尿病作用机制探讨 [J]. 中草药, 2019, 50(4): 888-894.
- [14] 熊佳惠, 侯恩存, 唐友明, 等. 基于分子对接及网络药理学方法研究附子理中汤治疗晚期胃癌的作用机制 [J/OL]. 中 医 学 报, [2020-02-19]. <https://doi.org/10.16368/j.issn.1674-8999.2020.01.036>.
- [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/OL]. 中草药, [2020-02-19]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/12.1108.r.20200209.1038.002.html>.
- [16] 李 灵, 陈 健, 郭 炜, 等. 基于网络药理学中药郁金治疗抑郁症作用机制研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, 22(2): 121-125.
- [17] 杨 进. 关于中医药防治新型冠状病毒肺炎的几点思考 [J/OL]. 南京中医药大学学报, [2020-02-19]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/32.1247.r.20200213.1012.004.html>.
- [18] 窦晓鑫, 杨玉莹, 卜志超, 等. 试从中医角度认识 2019 新型冠状病毒肺炎 [J/OL]. 天津中医药, [2020-02-19]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/12.1349.R.20200213.0903.004.html>.
- [19] 陈 璟, 徐贝贝, 徐坠成, 等. 基于网络药理学的防己黄芪汤防治 2 型糖尿病的潜在作用机制研究 [J]. 现代盐化工, 2020, 47(1): 10-13.
- [20] 熊 垵, 蒋 敏, 边 原, 等. 探索利巴韦林治疗新型冠状病毒肺炎的有效性和安全性: 基于既往冠状病毒治疗的总结 [J/OL]. 医药导报, [2020-02-19]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/42.1293.R.20200213.0901.002.html>.
- [21] 陈祝君, 边 原, 杨 勇, 等. 新型冠状病毒感染性肺炎中成药的合理使用 [J/OL]. 医药导报, [2020-02-19]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/42.1293.R.20200210.2004.004.html>.
- [22] 苗 青, 丛晓东, 王 冰, 等. 新型冠状病毒感染的肺炎的中医认识与思考 [J]. 中医杂志, [2020-02-21]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2166.R.20200205.1606.002.html>.
- [23] Menachery V D, Yount B L, Debbink K, *et al.* SARS-like cluster of circulating bat coronavirus pose threat for human emergence [J]. *Nat Med*, 2015, 21(12): 1508-1513.
- [24] 王金榜, 梁保丽, 孙树椿. 新型冠状病毒 (2019-nCoV) 感染性肺炎现代中医诊疗建议方案与探讨 [J/OL]. 世界中医药, [2020-02-19]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5529.R.20200210.0845.002.html>.