

基于网络药理学与分子对接技术的金花清感颗粒防治新型冠状病毒肺炎的潜在药效物质研究

龚普阳¹, 郭瑜婕², 李晓朋¹, 王楠¹, 顾健^{1*}

1. 西南民族大学药学院, 四川 成都 610041

2. 湖北中医药大学药学院, 湖北 武汉 430000

摘要: **目的** 探究金花清感颗粒防治新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 的潜在物质基础。**方法** 采用中药系统药理学分析平台 (TCMSP) 检索金花清感颗粒中 11 味药材所含化学成分与作用靶点。借助 Uniprot 数据库查询靶点对应基因, 采用 Cytoscape 软件构建“药材-成分-靶点”网络, 运用 DAVID 对相关靶点进行 GO 功能与 KEGG 通路富集分析。通过分子对接评价“药材-成分-靶点”网络中核心成分与新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 3CL 水解酶及血管紧张素转化酶 II (ACE2) 的结合作用。**结果** 金花清感颗粒“药材-成分-靶点”网络包含 154 个化合物和 276 个相关靶点, 关键靶点涉及 PTGS2、HSP90AB1、HSP90AA1、PTGS1、NCOA2 等。GO 功能富集分析得到 278 个条目, 主要涉及 ATP 结合、转录因子活化、细胞凋亡进程调控等。KEGG 通路富集得到 127 条信号通路, 涉及 TNF、PI3K/Akt 及 HIF-1 等与肺损伤保护相关通路。分子对接显示金花清感颗粒中芒柄花黄素、豆甾醇、 β -谷甾醇、脱水淫羊藿素等核心成分与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶及 ACE2 的亲合作用较好。**结论** 金花清感颗粒可能通过多成分结合 SARS-CoV-2 3CL 水解酶及 ACE2 作用于 PTGS2、HSP90AB1、HSP90AA1、PTGS1、NCOA2 等靶点调节相关信号通路, 从而防治 COVID-19。

关键词: 金花清感颗粒; 网络药理学; 分子对接; 新型冠状病毒肺炎; 血管紧张素转化酶 II; SARS-CoV-2 3CL 水解酶; 芒柄花黄素; 豆甾醇; β -谷甾醇; 脱水淫羊藿素

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2020)07-1685-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.07.002

Exploring active compounds of Jinhua Qinggan Granules for prevention of COVID-19 based on network pharmacology and molecular docking

GONG Pu-yang¹, GUO Yu-jie², LI Xiao-peng¹, WANG Nan¹, GU Jian¹

1. College of Pharmacy, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China

2. College of Pharmacy, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430000, China

Abstract: **Objective** To explore the effective chemical constituents of Jinhua Qinggan Granules for treatment of coronavirus disease 2019 (COVID-19). **Methods** The compounds and action targets of eleven herbal medicines in Jinhua Qinggan Granules were collected via TCMSP. The genes corresponding to the targets were queried by the UniProt database, then the “herbal medicine-compound-target” network was established by Cytoscape software. The gene ontology (GO) function enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis were performed by DAVID to predict their mechanism. Molecular docking was used to analyze the binding force of the core effective compounds in the “herbal medicine-compound-target” network with SARS-CoV-2 3CL hydrolase and angiotensin converting enzyme II (ACE2). **Results** The “herbal medicine-compound-target” network contained 154 compounds and 276 targets, and the key targets involved PTGS2, HSP90AB1, HSP90AA1, PTGS1, NCOA2, etc. GO function enrichment analysis revealed 278 items, including ATP binding, transcription factor activation and regulation of apoptosis process, etc. KEGG pathway enrichment screened 127 signaling pathways, including TNF, PI3K/Akt and HIF-1 signaling pathways related to lung injury protection. The results of molecular docking showed that formononetin, stigmasterol, beta-sitosterol, anhydroicaritin and other key compounds have a certain degree of affinity with SARS-CoV-2 3CL hydrolase and ACE2. **Conclusion** The effective compounds in

收稿日期: 2020-03-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81274168); 国家自然科学基金资助项目 (81573563); 四川省重点研发项目 (20ZDYF3291); 中央高校科研业务费专项 (2020NZD06)

作者简介: 龚普阳 (1990—), 讲师, 博士, 从事中药药效物质基础研究。E-mail: gongpuyang1990@163.com

*通信作者 顾健 (1967—), 教授, 博士生导师, 从事中药与民族药创新药物研究与开发。E-mail: gujiancd@163.com

Jinhua Qinggan Granules regulate multiple signaling pathways via binding ACE2 and acting on targets such as PTGS2, HSP90AB1, HSP90AA1, PTGS1, NCOA2 for the prevention of COVID-19.

Key words: Jinhua Qinggan Granules; network pharmacology; molecular docking; novel coronavirus pneumonia; angiotensin converting enzyme II; SARS-CoV-2 3CL hydrolase; formononetin; stigmasterol; β -sitosterol; anhydroicaritin

2019 年 12 月以来, 中国湖北省武汉地区发现新型冠状病毒感染的肺炎患者, 随后疫情开始迅速蔓延全国。截至 3 月 8 日 24 时, 据 31 个省(自治区、直辖市)和新疆生产建设兵团报告, 累计报告确诊病例 80 735 例, 现存重症患者 5 111 例^[1]。世界卫生组织将其列为国际关注的突发公共卫生事件, 并将新型冠状病毒感染的肺炎命名为“COVID-19”(coronavirus disease 2019)^[2]。国际病毒分类委员会将新型冠状病毒命名为“SARS-CoV-2”, 具有传播迅速、传染性强、人群普遍易感等特点, 并以发热、乏力及干咳等作为临床主要症状, 重症患者则出现呼吸困难、呼吸窘迫综合征及脓毒性休克等^[3]。目前, 临床尚未出现针对 SARS-CoV-2 的有效且特异性药物与疫苗, 西医主要采用传统的抗病毒药物进行治疗, 其不良反应较大且一定程度上缺乏循证依据^[4]。中医具有整体观与辨证施治的优势, 对该类疫病的认识悠久历史, 积累了一系列行之有效的治疗方法。在国家卫生健康委发布的《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行)》(以下简称《诊疗方案》)第三版至第七版中, 中药处方与成方制剂对不同时期 COVID-19 患者的应用均取得良好的临床疗效。

金花清感颗粒是在 2009 年北京地区 H1N1 流感流行期间, 北京市中医药管理局组织中西医学专家攻关论证, 参考《伤寒论》《瘟疫论》《温病条辨》等中医经典古籍中的百余个处方, 借鉴临床专家成果, 历经反复筛选并优化而成^[5]。金花清感颗粒组方来源于银翘散和麻杏石甘汤方的加减, 由金银花、石膏、炙麻黄、知母、连翘、苦杏仁、黄芩、牛蒡子、薄荷、青蒿、浙贝母、甘草共 12 味药材组成, 具有疏风宣肺、清热解毒之功效^[6]。组方药味以苦寒药为主, 可用于外感时邪引发的发热, 恶寒轻或不恶寒, 咽红肿痛, 咳嗽或咳而有痰^[7]。在《诊疗方案》第四版至第七版中, 均将金花清感颗粒作为对处医学观察期中具有乏力伴发热症状的推荐中成药^[8-11]。据张伯礼院士介绍, 目前已开展的关于金花清感颗粒治疗 COVID-19 的 2 项研究表明, 该方对于轻度及普通型患者疗效确切, 主要体现在退热时间、症状、核酸转阴时间及炎症吸收方面, 且有

效控制轻症患者的转重率^[12]。

因此, 采用生物信息学手段, 对金花清感颗粒防治 COVID-19 潜在的化学与生物学特征进行初步分析, 可为该方进一步的实验研究与二次开发奠定基础。网络药理学是运用系统生物学、高通量筛选、网络分析及网络可视化等多种技术, 揭示“疾病-基因-靶标-药物”相互作用复杂体系, 从整体性与系统性的角度探析药物对机体疾病网络的干预与影响^[13]。基于药物与药物之间结构、功效等方面的相似性, 结合机体靶标分子、生物效应的复杂相互作用关系, 通过构建药物-药物、药物-靶标等网络, 可有效预测药物功能或特定功能所对应的药物, 是目前中药药效物质基础研究的重要手段之一^[14]。分子对接技术是一种基于受体大分子三维结构与配体化合物的结合作用, 通过计算物理化学参数评价二者间的相互作用, 从而达到辅助药物筛选的目的, 现已广泛用于基于特定靶标的中药及复方活性成分研究^[15]。本研究采用网络分析结合分子对接技术, 探讨金花清感颗粒中抗 COVID-19 的潜在物质基础与作用机制, 以为金花清感颗粒防治 COVID-19 提供科学依据与临床应用参考。

1 材料

本研究材料为数据库与数据分析软件, 其中数据库包括中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP, <http://tcmsp.com/>)^[16]、靶点蛋白数据库 UniProt (<https://www.uniprot.org/>)^[17]、基因功能与信号通路富集分析数据库 DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/home.jsp>)^[18]、RSCB 蛋白质结构数据库 PDB (<https://www.rcsb.org/>)^[16]、小分子化合物结构查询数据库 PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)^[19]; 分析软件包括网络拓扑分析软件 Cytoscape 3.2.1^[20]、分子对接软件 AutoDock Vina、Open Babel GUI、Sybyl^[4]及数据可视化软件 Graphpad Prism 8、Discovery Studio 及在线绘图站 Omishare (<http://www.omicshare.com/tools/index.php/>)。

2 方法

2.1 金花清感颗粒中活性化合物及靶标蛋白的筛选

通过 TCMS, 以金花清感颗粒中所含 11 味药

材(生石膏除外)为关键词检索其化学成分。以口服生物利用度(oral bioavailability, OB)及类药性(drug like, DL)为指标进一步遴选各药味中化学成分^[16]。其中,筛选金银花、炙麻黄、苦杏仁、黄芩、连翘、浙贝母、知母、牛蒡子、青蒿、薄荷化合物中符合 $OB \geq 30\%$ 且 $DL \geq 0.18$ 的化学成分、甘草符合 $OB \geq 50\%$ 且 $DL \geq 0.18$ 的化学成分作为活性成分,并下载相关化合物的靶点信息。

2.2 靶标蛋白基因名的确定及“成分-靶点”网络的构建

通过 UniProt 数据库查找相关靶标蛋白的基因名,将查询到的靶点蛋白名称转化为相应基因简称,将药物与成分和成分与靶点数据导入 Cytoscape 3.2.1 软件中,将 2 个网络合并构建“药材-成分-靶点”网络^[20]。

2.3 靶点的通路分析

为探究靶标蛋白信号转导途径与功能,将筛选得到的金花清感颗粒潜在作用靶点导入 DAVID 数据库,通过输入靶基因名称列表并限定物种为人,进行 GO 生物学过程和 KEGG 信号通路富集分析^[3],选取前 20 个条目,并用 Graphpad 软件和在线绘图网站 Omishare 将其结果绘制柱状图与气泡图进行可视化。

2.4 “成分-靶点”的分子对接

首先,从 RSCB 蛋白质结构数据库(PDB)中下载 SARS-CoV-2 3CL 水解酶的晶体复合物(PDB ID: 6LU7)和血管紧张素转化酶 II (ACE2)的晶体复合物(PDB ID: 1R42)用于分子对接研究^[16],再运用 Discovery Studio 软件对靶蛋白中进行修饰,移除其中的配体和非蛋白分子(如水分子等),保存为 pdb 格式文件,并利用 Open Bable GUI 软件将其转化为 pdbqt 格式文件。从 PubChem 数据库获取小分子化合物的 2D 结构,并利用 Sybyl 软件对其进行能量优化,并利用 Open Bable GUI 软件将其转化为 pdbqt 格式文件。最后,运用 AutoDock Vina 对其进行分子对接,结合能小于 0 说明受体与配体间可以自发结合,研究选取结合能 ≤ -5.0 kJ/mol 的活性成分作为金花清感颗粒治疗 COVID-19 靶点的筛选依据^[4]。

3 结果与分析

3.1 活性成分的筛选

通过 TCMS 检索到金花清感颗粒中 11 味药材(生石膏除外)的化合物共计 1 817 个,其中金银花

含 236 个,麻黄含 363 个,苦杏仁含 113 个,黄芩含 143 个,连翘含 150 个,浙贝母含 17 个,知母含 81 个,牛蒡子含 144 个,青蒿含 126 个,薄荷含 164 个,甘草含 280 个。金银花、麻黄、苦杏仁、黄芩、连翘、浙贝母、知母、牛蒡子、青蒿、薄荷筛选出活性成分($OB \geq 30\%$ 且 $DL \geq 0.18$,无靶点蛋白的化合物删除)共 157 个,其中金银花 17 个,麻黄 22 个,苦杏仁 16 个,黄芩 32 个,连翘 20 个,浙贝母 5 个,知母 12 个,牛蒡子 5 个,青蒿 19 个,薄荷 9 个。筛选甘草活性成分 42 个($OB \geq 50\%$ 且 $DL \geq 0.18$),如图 1 所示。金花清感颗粒部分化合物基本信息如表 1 所示。

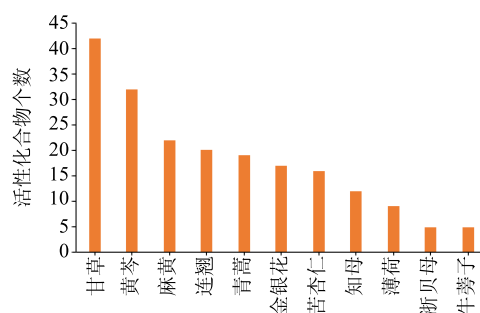


图 1 金花清感颗粒中各药材的活性化合物数量

Fig. 1 Number of effective compounds of each herbal medicine in Jinhua Qinggan Granules

3.2 “药材-成分-靶点”相互作用网络

“药材-成分-靶点”网络如图 2 所示,其中绿色方框代表靶点基因,蓝色圆圈代表化合物,红色三角代表药材,共包括 441 个节点(11 种药材节点、154 个化合物节点、276 个靶点节点)和 2 235 条边。其中一个节点的度值代表网络中与节点连接的路线数目。通过拓扑学性质中的中心度值(betweenness centrality)、亲中心度值(closeness centrality)和等级值(degree)3 个因素筛选网络中较大的节点进行分析,进而确定关键的化合物或者靶点。

从化合物角度分析,有 18%的化合物作用靶点 ≥ 20 个,其中作用靶点 ≥ 30 个的化合物有 22 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 10 位的化合物分别为 MOL000098、MOL000422、MOL000006、MOL000173、MOL000358、MOL000392、MOL004328、MOL002714、MOL004373、MOL000449,分别能与 140、57、54、41、36、34、33、33、32、28 个靶点蛋白发生作用。从靶点的角度分析,有 7.6%的靶点相互作用的化合物大于 30,

表 1 金花清感颗粒中部分化学成分的基本信息

Table 1 Basic information of some chemical constituents in Jinhua Qinggan Granules

药材	MOLID	化合物	OB/%	DL	药材	MOLID	化合物	OB/%	DL
金银花	MOL001495	ethyl linolenate	46.10	0.20	浙贝母	MOL004443	zhebeiresinol	58.72	0.19
	MOL002773	beta-carotene	37.18	0.58	知母	MOL001677	asperglaucide	58.02	0.52
	MOL003044	chryseriol	35.85	0.27		MOL004373	anhydroicaritin	45.41	0.44
	MOL000422	kaempferol	41.88	0.24		MOL004497	hippeastrine	51.65	0.62
	MOL000449	stigmastrol	43.83	0.76		MOL000546	diosgenin	80.88	0.81
	MOL000006	luteolin	36.16	0.25	牛蒡子	MOL000522	arctiin	34.45	0.84
	MOL000098	quercetin	46.43	0.28		MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75
麻黄	MOL010788	leucopelargonidin	57.97	0.24	青蒿	MOL000354	isorhamnetin	49.60	0.31
	MOL004798	delphinidin	40.63	0.28		MOL004083	tamarixetin	32.86	0.31
	MOL004328	naringenin	59.29	0.21		MOL004112	patuletin	53.11	0.34
	MOL004576	taxifolin	57.84	0.27		MOL004609	areapillin	48.96	0.41
	MOL005190	eriodictyol	71.79	0.24		MOL005229	artemetin	49.55	0.48
	MOL005573	genkwanin	37.13	0.24		MOL007274	skrofulin	30.35	0.30
						MOL007401	cirsiliol	43.46	0.34
苦杏仁	MOL010921	estrone	53.56	0.32		MOL007404	vitexin	52.18	0.21
	MOL000359	sitosterol	36.91	0.75	薄荷	MOL001790	linarin	39.84	0.71
	MOL004903	liquiritin	65.69	0.74		MOL002881	diosmetin	31.14	0.27
	MOL004908	glabridin	53.25	0.47		MOL000471	aloe-emodin	83.38	0.24
	MOL005017	phaseol	78.77	0.58	甘草	MOL001484	inermine	75.18	0.54
	MOL007207	machiline	79.64	0.24		MOL000211	mairin	55.38	0.78
	MOL002910	carthamidin	41.15	0.24		MOL002311	glycyrol	90.78	0.67
黄芩	MOL002913	dihydrobaicalin	40.04	0.21		MOL000239	jaranol	50.83	0.29
	MOL002915	salvigenin	49.07	0.33		MOL003656	lupiwighteone	51.64	0.37
	MOL002927	skullcapflavone II	69.51	0.44		MOL000392	formononetin	69.67	0.21
	MOL002932	panicolin	76.26	0.29		MOL004808	glyasperin B	65.22	0.44
	MOL002897	epiberberine	43.09	0.78		MOL004810	glyasperin F	75.84	0.54
	MOL008206	moslosooflavone	44.09	0.25		MOL004820	kanzonols W	50.48	0.52
						MOL004904	licopyranocoumarin	80.36	0.65
连翘	MOL000211	mairin	55.38	0.78		MOL004907	glyzaglabrin	61.07	0.35
	MOL003322	forsythinol	81.25	0.57		MOL004910	glabranin	52.90	0.31
	MOL000522	arctiin	34.45	0.84		MOL004912	glabrone	52.51	0.50
	MOL000791	bicuculline	69.67	0.88					
浙贝母	MOL001004	pelargonidin	37.99	0.21					
	MOL004440	peimisine	57.40	0.81					

其中作用靶点 ≥ 40 个化合物的靶点有 13 个, 排名前 10 的靶点为 PTGS2、HSP90AB1、HSP90AA1、PTGS1、NCOA2、AR、NOS2、PRSS1、SCN5A、ESR1、DPP4 分别能与 123、100、82、75、72、69、65、62、59、55 个化合物发生相互作用。

3.3 GO 及 KEGG 靶点通路富集分析

如图 3 所示, 通过采用 DAVID 中 GO 富集分析得到 GO 条目 ($P < 0.05$), 包含 192 个生物过程

(biological process, BP) 条目、36 个条目涉及细胞组成 (cellular component, CC)、50 个分子功能 (molecular function, MF) 条目, 主要涉及 ATP 结合、转录因子活化、炎症反应、细胞凋亡进程调控等与肺损伤相关生物作用。

KEGG 通路富集分析筛选得到 127 条 ($P < 0.05$) 信号通路, 涉及膀胱癌、前列腺癌、胰腺癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌及 T 细胞受体通路等, 其中乙型肝炎通路涉及 E2F1、TNF、MMP9、ELK1、

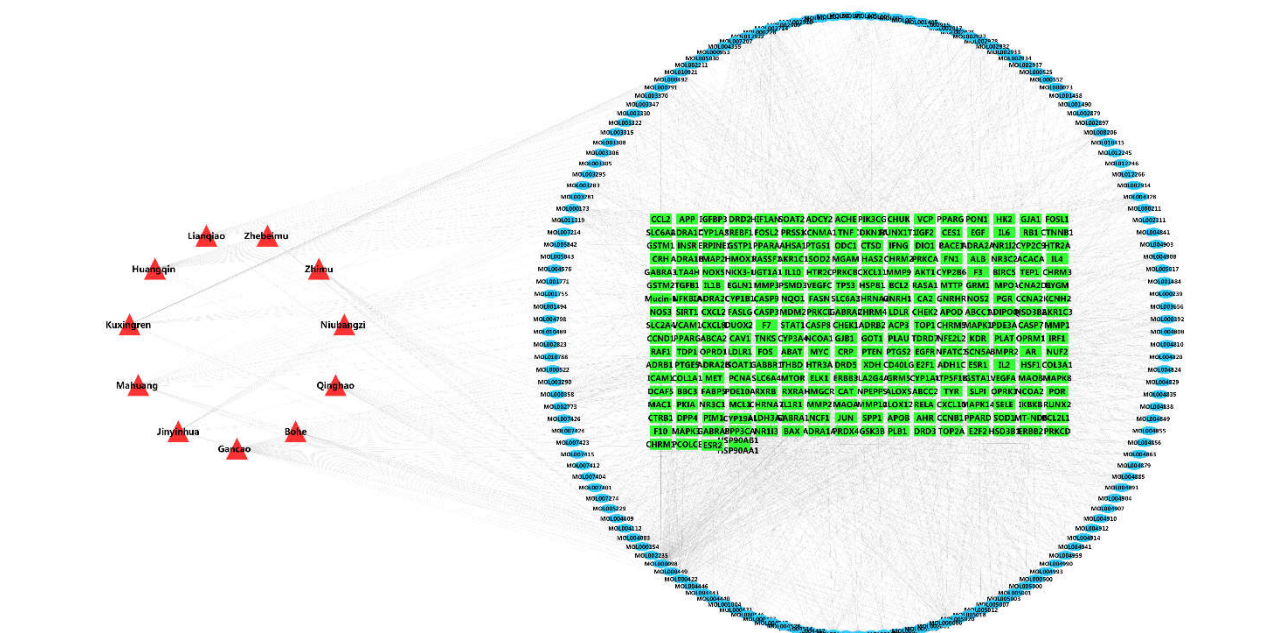


图 2 金花清感颗粒“药材-成分-靶点”网络

Fig. 2 “Herbal medicine-ingredient-target” network of Jinhua Qinggan Granules

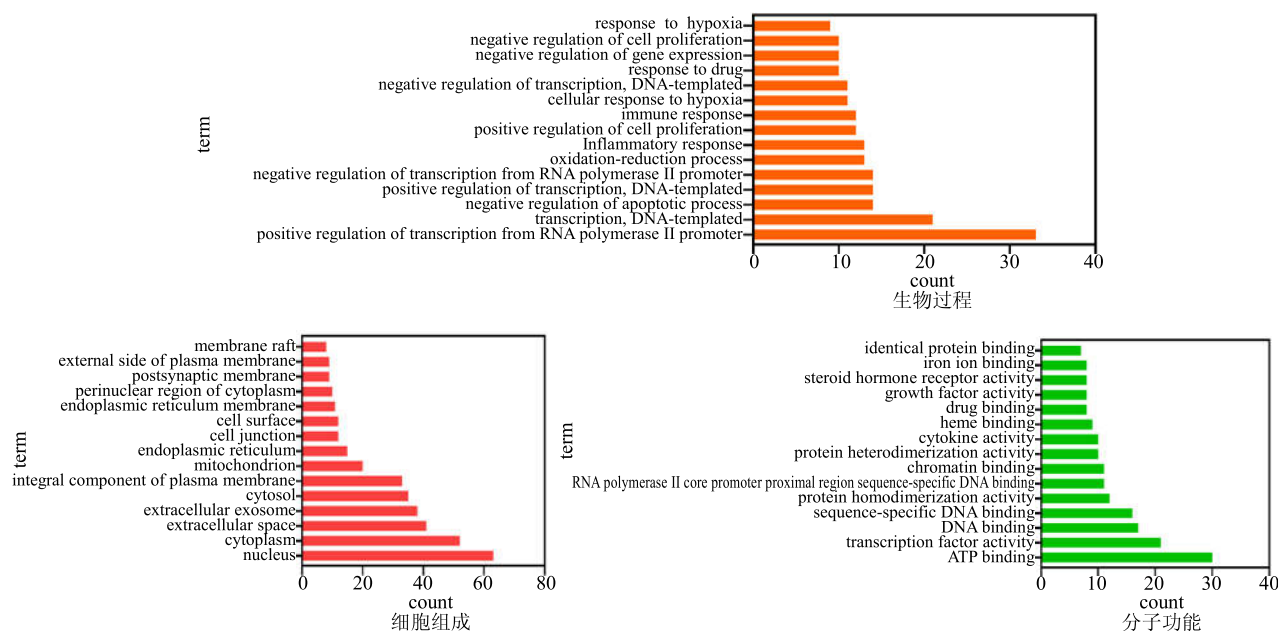


图 3 金花清感颗粒中化合物作用靶点的 GO 富集分析

Fig. 3 GO enrichment analysis of effect targets of compounds from Jinhua Qinggan Granules

NFKBIA、CXCL8、FASLG 等基因；膀胱癌通路涉及 E2F1、EGFR、ERBB2、MMP9、TP53、CXCL8、RB1 等基因；前列腺癌通路涉及 E2F1、HSP90AB1、ERBB2、NFKBIA、PTEN、CTNNB1、AKT1 等基因；胰腺癌通路涉及 PIK3CG、E2F1、EGFR、RELA、ERBB2、TP53、BCL2L1 等基因；小细胞肺癌通路

涉及 PIK3CG、E2F1、PTGS2、RELA、TP53、NFKBIA、RB1 等基因；非小细胞肺癌涉及 AKT1、EGFR、E2F1、PIK3CG、PRKCA、MAPK1、CCND1 等基因；T 细胞受体通路涉及 PIK3CG、IL4、TNF、RELA、NFKBIA、IL10、AKT1 等基因；选 P 值较小的 20 个通路进行可视化，结果见图 4。

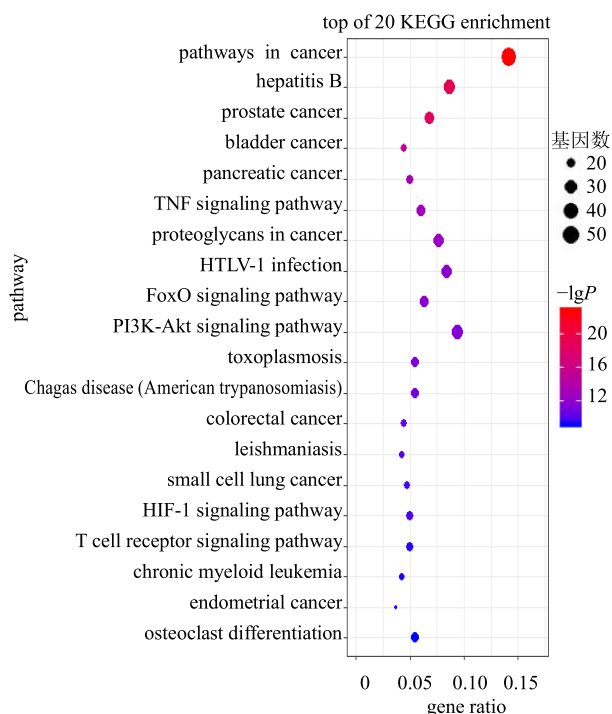


图 4 金花清感颗粒作用靶点 KEGG 富集分析的 20 条通路
Fig. 4 KEGG enrichment analysis of 20 pathways of effect targets of Jinhua Qinggan Granules

3.4 金花清感颗粒中核心化合物作用于 SARS-CoV-2 3CL 水解酶和 ACE2 的分子对接

一般认为配体与受体相互作用的亲和力越强,所需能量越少,其发生作用的可能性越大。分子对接的结果显示,将金花清感颗粒在“药材-成分-靶点”网络中的中心度值、亲中心度值及等级值综合排名前 10 位的活性化合物及 5 种临床治疗药物与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶和 ACE2 分别进行分子对接,结果见表 2。这些化合物与 2 个酶之间的结合能均低于 -5.0 kJ/mol,表明金花清感颗粒中的核心活性化合物与这 2 个酶均有较好的结合活性。其中,与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶结合能较低的化合物分别为山柰酚(结合能为 -32.64 kJ/mol)、黄芩素(结合能为 -32.22 kJ/mol)和木犀草素(结合能为 -31.38 kJ/mol)。与此同时,这些化合物与 ACE2 的结合能均低于 -29.29 kJ/mol,与已报道的文献相符,且其与蛋白之间的相互作用也已报道。此外,与 2 个蛋白之间结合能较低的化合物还包括豆甾醇、脱水淫羊藿素、 β -谷甾醇和芒柄花黄素,为了进一步研究这些化合物与蛋白之间的相互作用,对这 4 个化合物与蛋白之间的相互作用进行进一步分析,其结果见图 5。

表 2 金花清感颗粒核心化合物及临床治疗药物与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶及 ACE2 的结合能

Table 2 Binding affinities of key compounds in Jinhua Qinggan Granules and clinical drugs with SARS-CoV-2 3CL hydrolase and ACE2

化合物	MOLID	CAS 号	结合能/(kJ·mol ⁻¹)	
			SARS-CoV-2 3CL 水解酶	ACE2
槲皮素	MOL000098	117-39-5	-30.54	-30.54
山柰酚	MOL000422	520-18-3	-32.64	-32.64
木犀草素	MOL000006	491-70-3	-31.38	-33.05
汉黄芩素	MOL000173	632-85-9	-29.71	-30.54
β -谷甾醇	MOL000358	83-46-5	-30.12	-32.64
芒柄花黄素	MOL000392	485-72-3	-28.87	-29.29
柚皮素	MOL004328	480-41-1	-29.71	-31.38
黄芩素	MOL002714	491-67-8	-32.22	-32.64
豆甾醇	MOL000449	83-48-7	-28.03	-33.89
脱水淫羊藿素	MOL004373	38226-86-7	-30.54	-33.89
瑞德西韦		1809249-37-3	-33.89	-37.66
利巴韦林		36791-04-5	-27.20	-30.12
洛匹那韦		192725-17-0	-35.98	-33.89
利托那韦		155213-67-5	-33.47	-35.15
氯喹		54-05-7	-27.20	-23.85

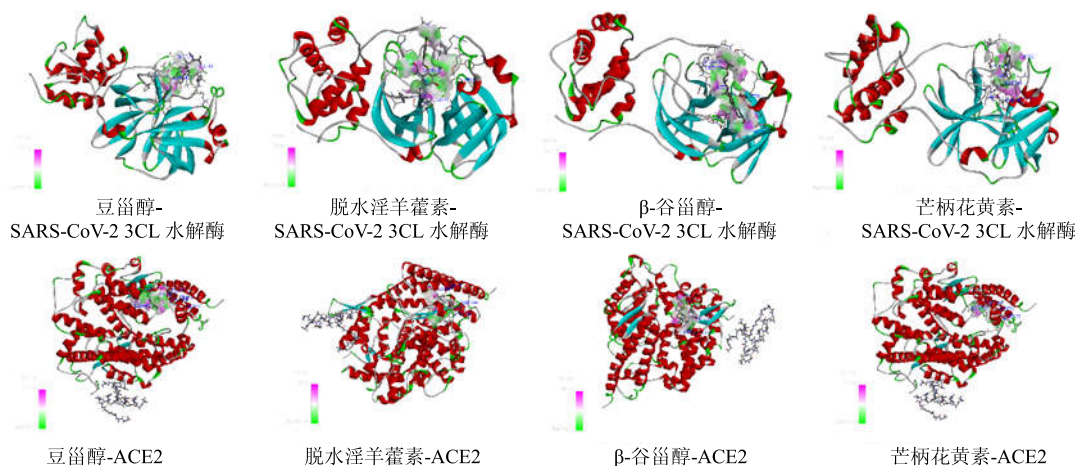


图 5 豆甾醇、脱水淫羊藿素、β-谷甾醇、芒柄花黄素与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶和 ACE2 的分子对接

Fig. 5 Molecular docking of stigmasterol, anhydroicaritin, beta-sitosterol and formononetin with SARS-CoV-2 3CL hydrolase and ACE2

4 讨论

我国至少有 3 000 年的疫病历史，自《史记》记载公元前 243 年“天下疫”开始，共发生大疫 500 余次^[21]。历经在实践中不断探索与深入，中医对于疫病的认识和诊治，总结了大量的临床用药经验，形成了针对疫病独特且完备的理论体系。近代以来，中医药在乙型脑炎、SARS、H1N1 流感等重大疫情防控中发挥重要作用，验证并建立了一系列的行之有效的诊疗方案并沿用至今^[22]。自武汉 COVID-19 疫情暴发流行以来，我国先后颁布了 7 版《诊疗方案》，此外全国 28 个省市自治区也相继发布地区方案，在相关疫苗研制相对滞后，特异性药物缺乏的情况下，中医药已逐渐从过去疫情防控的参与者变为疫情治疗的主力军。COVID-19 属于中医的“疫病”范畴，病因多归于“湿或湿热之邪”为主，其核心病机集中于“寒、湿、热、瘀、闭、虚”等证候要素^[21]。初期以“解毒祛邪”为主，后期以“扶助正气”为主，总体的治疗原则以“疏表透邪，宣肺肃降，通腑泻浊，理气活血”，使得阴阳汇通，阴平阳秘^[23]。

金花清感方是针对甲型 H1N1 流感治疗的方剂，由具有 2 000 多年治疗发热性传染病用药经验的“麻杏石甘汤”与具备 200 多年治疗温热疫病的“银翘散”调配组合而成^[7]。该方在治疗流感风热犯肺证的双盲随机对照临床试验中，可降低患者退热时间及退热率，改善以发热、头身疼痛、咽红咽痛为主症的中医临床证候表现，提高病毒转阴率，且

证实在常规剂量治疗下安全有效^[5]。从临床表现来看，H1N1 流感以“热毒”为主，COVID-19 以“湿毒疫”为主，二者虽然病机病因不同，但发热是其共性特征^[19]。在金花清感颗粒药理作用研究方面，其可降低流感病毒肺炎小鼠模型的死亡率，延长生存时间，并减少肺组织病变^[7]。在本方组成药味中，金银花、连翘、甘草、黄芩等多种药材提取物与成分具有抗流感病毒或呼吸道合胞病毒作用^[24-28]。金花清感颗粒作为诊疗方案所推荐中成药，其解热与抗病毒双重作用能有效改善 COVID-19 患者的临床症状。因此，本实验采用网络药理学及分子对接技术，进一步对金花清感颗粒中潜在的活性成分进行挖掘，并探讨其可能的作用机制。

网络药理学分析结果显示，金花清感颗粒中主要活性成分和综合评分最高的 10 个化学成分中有 8 个黄酮类及 2 个甾醇类化合物。将 10 种化学成分分别与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶和 ACE2 进行分子对接，显示其结合能力均优于临床推荐用化学药瑞德西韦、洛匹那韦及利托那韦，并与利巴韦林相近，进一步证实了网络药理学的成分筛选结果。综合对两种酶的结合能力，表明金花清感颗粒中芒柄花黄素、豆甾醇、β-谷甾醇、去甲脱水淫羊藿素为潜在的抗 COVID-19 活性成分。网络药理学所预测的排名前 3 的靶点分别为 PTGS2、HSP90AB1、HSP90AA1。结合现有报道与 KEGG 分析结果，显示与肺炎相关的信号通路主要有 TNF、PI3K/Akt 等，涉及病毒、细菌、免疫调节及炎症反应等多方

面生物效应^[29]。金花清感颗粒中关键成分是否可通过作用于 PTGS2、HSP90AB1、HSP90AA1 调节相关通路达到改善 COVID-19 作用仍需相关实验研究进一步证实与探讨。

目前, 由于对 SARS-CoV-2 开展相关体内外研究所需实验条件的限制, 采用大数据网络分析及虚拟辅助药物设计对抗 COVID-19 药物进行初步筛选显示一定的技术优势。已有学者采用该类方法对中药方剂抗 COVID-19 的活性成分进行预测。通过总结已有报道发现, 虽然藿香正气口服液、达原饮、清肺排毒汤、抗病毒颗粒等一线临床用药在药味组成上具有差异, 而对其所预测筛选得到的抗 COVID-19 核心化合物中大多存在黄芩素、槲皮素、木犀草素等黄酮类物质^[30-31]。结合本研究结果, 同样证实了黄芩素、木犀草素等黄酮类成分可能对 COVID-19 具有药效作用, 除此之外, 并进一步发现了去甲脱水淫羊藿黄酮、 β -谷甾醇和豆甾醇的潜在活性。因此, 以多种临床有效制剂中所筛选得到的共性成分为载体, 开展抗 SARS-CoV-2 相关实验研究, 有利于推动源于中药的抗冠状病毒药物的开发与应用。

综上所述, 本研究基于网络分析与分子对接技术, 以金花清感颗粒为研究对象, 对其中所含的化学成分、作用靶标及其关键药效成分与 ACE2 的结合能力进行分析, 初步探索了金花清感颗粒用于防治 COVID-19 可能的物质基础与作用机制。本研究可为进一步针对中药活性成分开展抗 COVID-19 药物的筛选和评价提供数据支持和理论依据。

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 截至 3 月 8 日 24 时新型冠状病毒肺炎疫情最新情况 [EB/OL]. [2020-03-09]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/yqfkdt/202003/f2c83db9f73d4be5be0dc96af731813c.shtml>.
- [2] Wang C, Horby P W, Hayden F G, *et al.* A novel coronavirus outbreak of global health concern [J]. *Lancet*, 2020, 395(10223): 470-473.
- [3] 马青云, 刘辰, 杜海涛, 等. 基于高通量分子对接虚拟筛选 SARS-CoV-2 3CL 水解酶中药小分子抑制剂及抗 COVID-19 新型冠状病毒肺炎的中药及其复方预测 [J]. 中草药, 2020, 51(60): 1397-1405.
- [4] 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.

- [5] 李国勤, 赵静, 屠志涛, 等. 金花清感颗粒治疗流行性感冒风热犯肺证双盲随机对照研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 2013, 33(12): 1631-1635.
- [6] 祁建平, 祁晓媛, 王晓娟. 不同剂量金花清感颗粒对流行性感冒的疗效及对患者血清细胞因子的影响 [J]. 现代医学, 2016, 44(12): 1664-1669.
- [7] 熊微, 冉京燕, 谢雪佳, 等. 治疗新型冠状病毒肺炎中成药的药理作用与临床应用 [J/OL]. 医药导报, [2020-02-27]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/42.1293.r.20200226.1815.002.html>.
- [8] 中华人民共和国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/yzygj/s7653p/202001/4294563ed35b43209b31739bd0785e67.shtml>.
- [9] 中华人民共和国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/yzygj/s7653p/202002/3b09b894ac9b4204a79db5b8912d4440.shtml>.
- [10] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 关于印发新型冠状病毒肺炎诊疗方案 (试行第六版) 的通知 [EB/OL]. [2020-02-19]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202002/8334a8326dd94d329df351d7da8aefc2.shtml>.
- [11] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 关于印发新型冠状病毒肺炎诊疗方案 (试行第七版) 的通知 [EB/OL]. [2020-03-04]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202003/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989.shtml>.
- [12] 中国日报 (中文网). 张伯礼: 中药金花清感治疗轻度和普通型新冠肺炎患者疗效确切 [EB/OL]. [2020-03-04]. <https://cn.chinadaily.com.cn/a/202003/13/WS5e6b4dd7a3107bb6b57a6546.html>.
- [13] 邢心睿, 吕狄亚, 柴逸峰, 等. 网络药理学在中药作用机制中的研究进展 [J]. 药学实践杂志, 2018, 36(2): 97-102.
- [14] 张彦琼, 李梢. 网络药理学与中医药现代研究的若干进展 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2015, 29(6): 883-892.
- [15] Chen J, Wang J, Lu Y, *et al.* Uncovering potential anti-neuroinflammatory components of modified Wuziyanzong Prescription through a target-directed molecular docking fingerprint strategy [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018, 156: 328-339.
- [16] 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.
- [17] Liu Y T, Xue Q Q, Li A P, *et al.* Mechanisms exploration

- of herbal pair of HuangQi-DanShen on cerebral ischemia based on metabonomics and network pharmacology [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 253: 112688.
- [18] Huang D W, Sherman B T, Lempicki R A. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources [J]. *Nat Protoc*, 2009, 4(1): 44-57.
- [19] Kim S, Thiessen P A, Bolton E E, et al. PubChem Substance and Compound databases [J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44: D1202-D1213.
- [20] Shi M J, Yan X L, Dong B S, et al. A network pharmacology approach to investigating the mechanism of tanshinone II_A for the treatment of liver fibrosis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 253: 112689.
- [21] 郑文科, 张俊华, 杨丰文, 等. 从湿毒疫论治新型冠状病毒感染的呼吸道疾病 [J/OL]. 中医杂志, [2020-03-06]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2166.R.20200304.1405.006.html>.
- [22] 岳萍, 唐仕欢, 于欢, 等. 新型冠状病毒肺炎中医防治方案的病机与组方规律分析 [J/OL]. 中国实验方剂学杂志. [2020-03-04]. <https://doi.org/10.13422/j.cnki.syfjx.20200842>.
- [23] 邵灿灿, 王豪杰, 孟鹏飞, 等. 新型冠状病毒肺炎的中医认识及治疗现状初探 [J/OL]. 中医学报. [2020-03-04]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/41.1411.R.20200309.1435.002.html>.
- [24] 张建军, 李洪源, 王吉锡, 等. 甘草活性成分抗呼吸道合胞病毒作用 [J]. 中国公共卫生, 2007, 23(6): 723-724.
- [25] 张丽亚, 董琳, 陈小芳, 等. 黄芩苷抗呼吸道合胞病毒感染作用的体外研究 [J]. 浙江临床医学, 2008, 10(12): 1528-1530.
- [26] 初正云, 初明, 滕宇, 等. 黄芩苷体内抗流感病毒作用 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(22): 2413-2415.
- [27] 王变利, 高燕, 赵秀香, 等. 金银花水提物体外抗病毒实验研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2015, 42(8): 1495-1497.
- [28] 田文静, 李洪源, 姚振江, 等. 连翘抑制呼吸道合胞病毒作用的实验研究 [J]. 哈尔滨医科大学学报, 2004, 38(5): 421-423.
- [29] 黄浪浪, 王建安, 徐骥, 等. 基于网络药理学的黄连解毒汤治疗新型冠状病毒肺炎机制研究 [J/OL]. 中药材, [2020-02-29]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1286.R.20200228.1830.008.html>.
- [30] 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.
- [31] 吴昊, 王佳琪, 杨雨薇, 等. 基于网络药理学和分子对接技术初步探索“清肺排毒汤”抗新型冠状病毒肺炎作用机制 [J/OL]. 药学学报, [2020-02-27]. <https://doi.org/10.16438/j.0513-4870.2020-0136>.