

基于分子对接柴胡桂枝干姜汤干预初期寒湿郁肺型新型冠状病毒肺炎的活性成分及功效作用机制探讨

刘 静^{1,2}, 范梦月⁴, 孙凯滨¹, 孙 蓉^{1,3*}

1. 山东大学第二医院, 山东 济南 250033

2. 山东中医药大学, 山东 济南 250355

3. 山东大学高等医学研究院, 山东 济南 250012

4. 天津中医药大学, 天津 301617

摘要: 目的 预测柴胡桂枝干姜汤干预初期寒湿郁肺型新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 的药效成分及关键靶标, 明确其作用机制。方法 查阅文献及临床报道, 总结 COVID-19 中医分期、临床表现及柴胡桂枝干姜汤的功用进行方证关系分析。运用 TCMSP 数据库筛选柴胡桂枝干姜汤中潜在活性成分及相关靶点, PubMed 等数据库筛选肺炎、咳嗽、发热相关靶点, 借助 Cytoscape 软件构建“药物-疾病-靶点”的可视化网络图、蛋白互作网络, 并通过 STRING 数据库进行关键靶点的 GO 和通路 (pathway) 富集分析, 药效成分采用 AutoDock 与新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 3CL 水解酶蛋白及血管紧张素转化酶 II (ACE2) 进行分子对接。结果 方证关系分析柴胡桂枝干姜汤可奏温阳散寒化湿、兼清郁热、开达膜原之功干预初期寒湿郁肺型 COVID-19, 通过筛选, 预测柴胡桂枝干姜汤中发挥治疗作用主要为 156 个化学成分作用于 159 个相关靶点, 核心基因有 EGFR、TP53、YWHAZ、HSP90AB1、PIK3R1、GRB2 等 27 个, GO 和 pathway 分析柴胡桂枝干姜汤主要参与细胞调节等生物过程及免疫系统相关通路发挥治疗作用, 对 10 个核心成分进行分子对接所得, 方中柴胡中柴胡皂苷 A、柴胡皂苷 D 与桂枝中的过氧麦角固醇与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶蛋白和 ACE2 有较好的亲和力。结论 通过网络药理学与分子对接技术预测柴胡桂枝干姜汤可用于初期寒湿郁肺型 COVID-19 治疗, 方中柴胡、桂枝等中药含有的潜在抗病毒成分可通过调控免疫系统等发挥治疗作用, 阐释了中药“多成分-多靶点-多疾病”的作用特点, 为临床用药提供理论依据。

关键词: 柴胡桂枝干姜汤; 新型冠状病毒肺炎; 网络药理学; 分子对接; 柴胡皂苷 A; 柴胡皂苷 D; 过氧麦角固醇

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253 - 2670(2020)07 - 1704 - 09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.07.004

Exploring active ingredients and function mechanism of Chaihu Guizhi Ganjiang Decoction against coronavirus disease 2019 based on molecular docking technology

LIU Jing^{1,2}, FAN Meng-yue⁴, SUN Kai-bin¹, SUN Rong^{1,3}

1. The Second Hospital of Shandong University, Jinan 250033, China

2. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

3. Institute of Advanced Medical Sciences, Shandong University, Jinan 250012, China

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

Abstract: Objective To predict the efficacy components and key targets of Chaihu Guizhi Ganjiang Decoction (CGGD) in the intervention of novel coronavirus pneumonia in the cold-dampness obstructing lungs in early stage, and clarify its mechanism.

Methods The novel coronavirus pneumonia TCM stage, clinical manifestations and the function of CGGD were analyzed by literature mining and clinical reports. TCMSP database was used to screen potential active components and related targets in CGGD. PubMed database was used to screen pneumonia, cough and fever related targets. With the help of Cytoscape software, a “drug-disease-target” visual network diagram and protein interaction network were constructed, and GO and pathway enrichment

收稿日期: 2020-03-03

基金项目: 山东省重点研发计划 (重大关键技术) 项目 (2017CXGC1301); 山东省重点研发计划 (重大关键技术) 项目 (2016ZDJS07A21); 泰山学者工程专项经费项目 (ts201511107)

作者简介: 刘 静, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药药理与毒理。Tel: 13553183583 E-mail: 13553183583@163.com

*通信作者 孙 蓉, 女, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药药理与毒理研究。Tel: 13605311799 E-mail: sunrong107@163.com

analysis of key targets was performed through the STRING database. The active ingredients were molecularly docked with SARS-CoV-2 3CL hydrolase protein and ACE2 by AutoDock Vina. **Results** The analysis of the relationship between prescriptions and syndromes showed that CGGD could play warm-yang scattered cold, resolve dampness, clear stagnation and heat, and open up membrane's power to intervene in early cold-dampness lung type COVID-19. Through screening, the therapeutic effects of CGGD were mainly in 156 chemical components acting on 159 related targets. The core 27 genes predicted and analyzed included EGFR, TP53, YWHAZ, HSP90AB1, PIK3R1, GRB2, etc. GO and pathway analysis showed that CGGD was mainly involved in biological processes such as cell regulation and immune system related pathways to play a therapeutic role. The 10 core components were molecularly docked, saikosaponin A, saikosaponin D, and peroxyergosterol in CGGD had good affinity with 3CL hydrolase protein and ACE2. **Conclusion** Using network pharmacology and molecular docking technology to predict that CGGD can be used for the treatment of novel coronavirus pneumonia with symptom of cold-dampness obstructing lungs in early stage, potential antiviral ingredients contained in prescription of CGGD, can play a therapeutic role in the treatment of new type of coronavirus pneumonia in the early stage by regulating the immune system. It explains the characteristics of “multi-component-multi-target-multi-disease” of Chinese materia medica, and provides theoretical basis for clinical rational use of medicines.

Key words: Chaihu Guizhi Ganjiang Decoction; COVID-19; molecular docking; network pharmacology; saikosaponin A; saikosaponin D; peroxyergosterol

新型冠状病毒(SARS-CoV-2)是一种新发现的 β 属冠状病毒,其主要传播方式以呼吸道飞沫为主,通过呼吸道进入人体感染肺部形成急性感染性肺炎^[1],即新型冠状病毒肺炎(COVID-19)。COVID-19病位在肺,证候表现初期以湿邪郁肺最多,寒湿郁肺次之;中期以疫毒闭肺最多,邪热壅肺次之;重症期以内闭外脱最多;恢复期以肺脾两虚最多,气阴两虚次之^[2]。核心病机为湿毒壅肺,阻遏气机,病理特点为“湿、毒、闭、虚”,临床常见的症状是感染性发热和咳嗽,而腹泻和呕吐则少见。柴胡桂枝干姜汤见于《伤寒论·辨太阳病脉证并治下》^[3]第147条:“伤寒五六日,已发汗而复下之,胸胁满微结,小便不利,渴而不呕,但头汗出,往来寒热,心烦者,此为未解也。柴胡桂枝干姜汤主之”,有和解散寒、生津敛阴之功,此方临床可用于多种肺系疾病,如感染性发热^[4-6]、咳嗽^[7-8]、哮喘^[9]、胸膜疾病等,对26个中医药防治新冠肺炎诊疗方案(1个国家方案,25个地方方案)中的中药使用频率统计发现方中柴胡、黄芩、炙甘草、桂枝、干姜均为临床高频用药^[2],牡蛎、栝楼根也有推荐使用^[10-11]。柴胡、黄芩调少阳兼清火郁;栝楼根清热生津;干姜、牡蛎温化水饮;桂枝调和上下兼辛温化湿。可用于初期寒湿郁肺型COVID-19的治疗。为聚焦初期COVID-19明显的咳嗽和发热临床症状^[12],本研究在运用网络药理学分析柴胡桂枝干姜汤对肺炎作用的基础上增加咳嗽和发热的疾病靶点,采用分子对接方法对此方中的核心成分与SARS-CoV-2 3CL水解酶和血管紧张素转化酶II(ACE2)药物靶点进行对接,并分析潜在的作用机制,以期为临床合理用药提供依据。

1 方法

1.1 方证关系分析

查阅文献以及临床报道,总结COVID-19中医分期、西医分型及临床表现,总结柴胡桂枝干姜汤的功效主治,针对COVID-19出现的临床表现与柴胡桂枝干姜汤进行方证关系分析。

1.2 化学成分及靶点筛选

借助中药系统药理学数据库分析平台(TCMSP)中药材数据库对柴胡桂枝干姜汤所含柴胡、桂枝、干姜、栝楼根、黄芩药味进行化学成分信息检索,建立柴胡桂枝干姜汤的化学成分数据信息表。以口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$ 和化合物类药性(DL) ≥ 0.18 作为活性成分的筛选标准。另结合文献对未纳入筛选标准但报道有生物活性和药理作用的也纳入候选活性成分。借助TCMID平台查找TCMSP未收录的牡蛎及炙甘草的化学成分,并结合文献对其化学成分进行补充。使用TCMSP、PubMed数据库筛选候选化合物的靶点蛋白,借助UniProt数据库校正靶点蛋白的基因名,筛选无靶点的活性成分,整理得柴胡桂枝干姜汤化学成分及对应靶点数据。

1.3 疾病靶点筛选

为补充COVID-19临床出现的明显痰多咳嗽及发热的症状,在PubMed数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>)、CTD数据库(<http://ctdbase.org/>)和TTD数据库(<http://bidd.nus.edu.sg/>),分别以关键词肺炎(pneumonia)、咳嗽(cough)和发热(fever)进行检索及筛选相关的疾病靶点信息,去重后通过UniProt数据库校正靶点名称。

1.4 筛选柴胡桂枝干姜汤与“肺炎”“咳嗽”“发热”共同作用靶点

将数据库检索得到的化学成分及靶点分别与“肺炎”“咳嗽”“发热”疾病靶点进行映射，得到药物-疾病靶点基因，合并关键靶点及所对应成分。

1.5 药效成分筛选及 GO、通路（pathway）富集分析

将“1.4”项所得共同作用靶点及主要成分进行筛选合并，导入 Cytoscape 3.7.2 软件进行可视化处理，得到柴胡桂枝干姜汤治疗 COVID-19 出现的咳嗽及发热症状的主要成分及靶点，运用 Cytoscape 软件，对网络图进行关键节点及度（degree）值分析，筛选关键成分进行后期分子对接；并运用 STRING 数据库对关键靶点进行富集分析，预测柴胡桂枝干姜汤治疗 COVID-19 的可能机制。

1.6 分子对接前配体和受体准备

通过 PubMed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>)、ZINC 数据库 (<https://zinc.docking.org/>) 下载中药小分子配体 2D 或 3D 结构，使用 Chem3D 软件生成分子 3D 结构，进行能量最小化，将所用中药分子配体都保存为 mol2 格式。借助 AutodockTools-1.5.6 的脚本文件赋予配体原子类型、计算电荷，最终生成 pdbqt 格式配体参数文件。PDB 数据库下载 SARS-CoV-2 3CL 水解酶（Mpro）和 ACE2 蛋白结构为 PDB 格式，pymol 软件去除受体蛋白中的溶剂，AutodockTools-1.5.6 软件加氢、合并非极性氢、计算电荷，同样保存为 pdbqt 格式 的受体参数文件。

1.7 成分靶点对接

首先 AutodockTools-1.5.6 软件设置受体蛋白的格点参数，并设置参数文本文件，其中 num_modes=10、energy_range=4、exhaustiveness=100。再运用 Autodockvina 软件在 linux 虚拟环境下批量对接，Pymol 1.7 Discovery Studio 3.5 软件对对接结果进行可视化分析。

2 结果

2.1 柴胡桂枝干姜汤干预初期寒湿郁肺型 COVID-19 的方证分析

徐波等^[13]根据 46 例 COVID-19 患者的症状分析，COVID-19 基本符合中医“湿毒疫”范畴，由“疫”邪引起，“湿”邪贯穿疾病始终的基本特征。全小林等^[14]认为一因感染患者发病临床多表现出明显的寒湿之象，二因武汉的发病背景以寒湿为

主，故“寒湿”是从中医病因层次对 COVID-19 所做的定性。通过实地观察武汉本地的确诊病例，发现多数患者由寒湿起病，在疾病早中期呈现寒湿袭表、阻肺、碍脾的临床表现，寒湿袭表则症见恶寒发热、周身酸痛之表证；寒湿阻肺则症见胸闷、憋气、气短、乏力、干咳少痰等肺失宣肃的临床表现；寒湿碍脾则症见脘痞、呕恶、纳差、腹泻、大便黏腻不爽等运化失司的临床表现。细观临床，将其分为 4 期。一为初期，寒湿郁阻，进而伤阳，可见恶寒发热、干咳、乏力、脘痞、呕恶、便溏诸症，舌质紫暗，苔白厚腻，脉濡或滑，兼见初期即有化热者，症见发热、干咳、咽痛、肌肉酸痛，舌红苔黄，脉滑数，当分而治之；二为中期，疫毒闭肺、内热从生；三为重症期，病邪深重，阴阳不相接续，内闭外脱；四为恢复期，疫病初愈、肺脾皆亏。潘芳等^[15]认为病位在膜原，涉及三焦、肺、脾、胃。病机为湿毒盘踞膜原，可有寒热从化，易于影响气机升降，可耗伤正气、化热、化毒、夹寒、夹瘀。马家驹等^[16]亦认为本病是感受湿毒为主要性质的疫病毒邪，由口鼻而入，郁于上焦膜原，继而淫肺入营，逆传心包或横逆肝肾，但病变始终以上焦和肺为中心。由此可见，现众多学者认为，COVID-19 是因感受湿毒为主要性质的疫病毒邪，郁于上焦膜原，初期以寒湿郁阻为主，以寒湿伤阳为主线，继而兼有化热、变燥、伤阴、致瘀、闭脱等变证。

柴胡桂枝干姜汤源自《伤寒论》，主要功用为和解少阳、温化水饮，方中以柴胡、黄芩调少阳兼清火郁；内火郁滞，津液被伤而用天花粉；饮邪不化，而用干姜、牡蛎温化水饮；水邪随少阳邪气而逆乱上下，故用桂枝来调和上下，兼以辛温化湿。黄文彬等^[17]总结其针对病机可为少阳兼表、少阳兼饮、少阳津伤、胆热脾寒。谢作钢^[18]认为柴胡桂枝干姜汤证乃桂枝证未罢，并发小柴胡证，兼中阳不足、津伤。鲍艳举^[19]认为柴胡桂枝干姜汤具有和解少阳、温阳化饮生津，和解少阳、化气生津，和解少阳、温脾散寒，双解太少、合补阴阳等作用。

综上所述并以方测证，可见柴胡桂枝干姜汤具有双解少阳与太阳、温饮化湿、兼清郁热之功效。COVID-19 初期病位在上焦膜原，而膜原属少阳所主，且 COVID-19 初期以寒湿郁阻伤阳为主，并具有化热的倾向，故予柴胡桂枝干姜汤可奏温阳散寒化湿、兼清郁热、开达膜原之功。

2.2 柴胡桂枝干姜汤疾病共同作用靶标筛选

通过查找 TCMSD 数据库及文献补充得到柴胡桂枝干姜汤所含主要化学成分及靶点，明确了柴胡桂枝干姜汤 175 个主要化学成分作用于 672 个靶点，各药味所含成分见表 1。通过 CTD 等数据库收集到肺炎相关靶点 884 个、咳嗽相关靶点 80 个、发热相关靶点 321 个，分别与柴胡桂枝干姜汤“药味-成分-靶点”网络图进行映射，可得“柴胡桂枝干姜汤-肺炎”共同作用靶点 131 个，“柴胡桂枝干姜汤-咳嗽”共同作用靶点 15 个，“柴胡桂枝干姜汤-发热”共同作用靶点 66 个，结果显示柴胡桂枝干姜汤对 SARS-CoV-2 感染过程出现的不同症状均可发挥治疗作用，见图 1。

表 1 柴胡桂枝干姜汤主要化学成分及靶点数

Table 1 Main chemical components and target number of Chaihu Guizhi Ganjiang Decoction

药味	成分数	主要化学成分	靶点数
柴胡	23	柴胡皂苷类、黄酮类成分	310
黄芩	37	黄芩素、黄芩苷等	153
桂枝	9	肉桂酸、桂皮醛等	164
干姜	8	挥发油类	151
炙甘草	90	甘草酸、甘草次酸、甘草苷等	256
桔梗根	6	γ -氨基丁酸、菠菜甾醇等	58
牡蛎	2	碳酸钙、镁	134

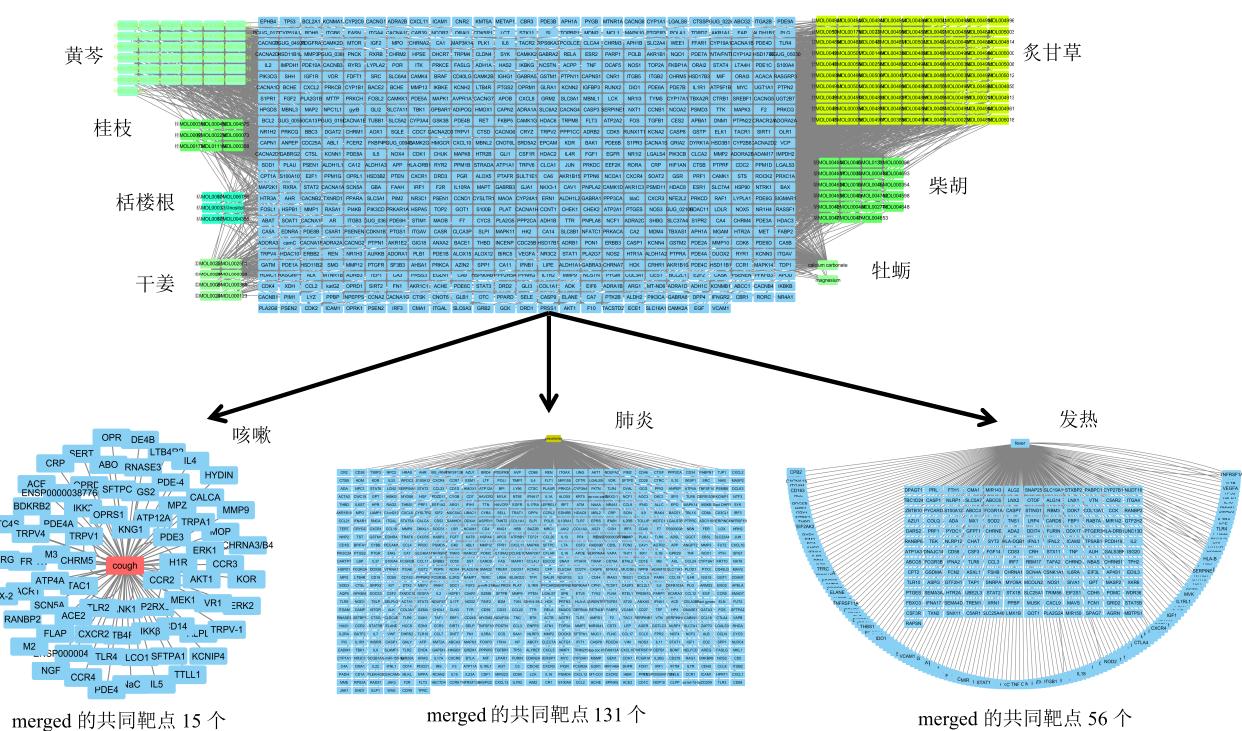


图 1 柴胡桂枝干姜汤与肺炎、咳嗽、发热共同作用靶标网络

Fig. 1 Target network of CGGD with pneumonia, cough and fever

2.3 共同作用靶标分析及药效成分筛选

将“柴胡桂枝干姜汤-肺炎、咳嗽、发热”的共同作用靶点整合分析制作韦恩图，统计分析此过程共涉及柴胡桂枝干姜汤 156 个化学成分、共同作用靶点 159 个靶点，肺炎、咳嗽、发热不同疾病相关靶点情况见图 2-A，可发挥治疗肺炎、咳嗽、发热的化学成分数目情况见图 2-B。156 个化学成分中有 125 个成分可同时发挥治疗肺炎、咳嗽、发热的作用，说明柴胡桂枝干姜汤可通过“多成分-多靶点”

发挥治疗作用，为不同临床症状患者合理用药提供指导。

将共同作用靶点及主要成分进行合并，导入 Cytoscape 3.7.2 软件进行可视化处理，见图 3。分析筛选化学成分的度值，预测得到柴胡桂枝干姜汤治疗 SARS-CoV-2 感染时出现肺炎、咳嗽及发热症状的主要成分中度值 ≥ 10 的化学成分共 10 个，见表 2。其中槲皮素^[20-21]、柴胡皂苷 D^[22]、黄芩素^[23]、 β -谷甾醇^[24]已有肺炎相关药理实验研究报道。

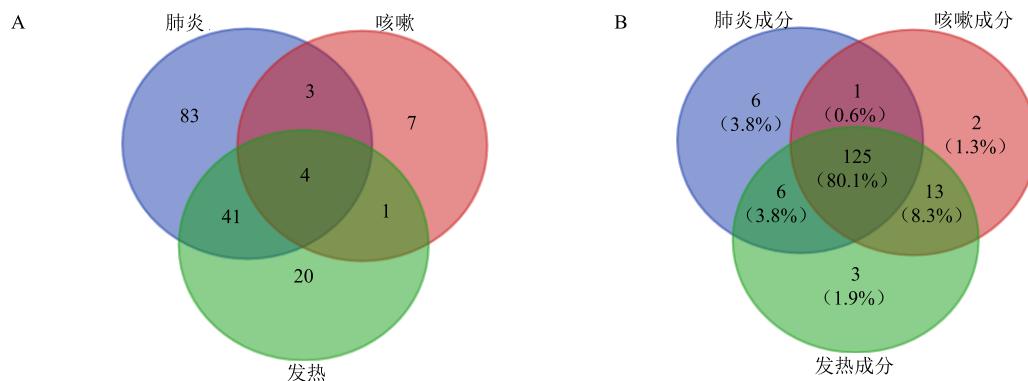


图 2 肺炎、咳嗽、发热相关靶点数量 (A) 及化学成分数量 (B)

Fig. 2 Number of pneumonia, cough, fever related targets (A) and chemical compositions amount (B)



图 3 柴胡桂枝干姜汤药效成分-靶点网络

Fig. 3 Ingredient-target map of CGGD

表 2 柴胡桂枝干姜汤药效成分信息

Table 2 Information on medicinal ingredients of CGGD

编号	成分中文名称	成分英文名称	来源中药	度值
MOL000098	槲皮素	quercetin	柴胡、甘草	68
MOL004635	柴胡皂苷 A	saikosaponin A	柴胡	38
MOL004637	柴胡皂苷 D	saikosaponin D	柴胡	34
MOL000422	山柰酚	kaempferol	柴胡、甘草	28
MOL011169	过氧麦角固醇	peroxyergosterol	桂枝	23
MOL000173	汉黄芩素	wogonin	黄芩	16
MOL002714	黄芩素	baicalein	黄芩	15
MOL000358	β-谷甾醇	beta-sitosterol	桂枝、干姜、黄芩	11
MOL002488	6-姜二酮	6-gingerdione	干姜	10
MOL000354	异鼠李素	isorhamnetin	柴胡、甘草	10

2.4 关键靶标 GO 和 pathway 富集分析

将 159 个共同作用靶标导入 Cytoscape 软件, 运用 Cytoscape 插件, 得到蛋白互作关系网络(PPI), 并通过节点连接度 degree、介度(betweenness)、紧密度(closeness)、特征向量(eigenvector)、局部平均连通度(LAC)、网络(network)值进行筛选提取核心靶点, 得到 EGFR、TP53、YWHAZ、HSP90AB1、PIK3R1、GRB2 等 27 个核心基因, 见图 4。运用 STRING 数据库对 27 个核心基因进行 GO 和 pathway 的富集分析, 预测柴胡桂枝干姜汤

可通过细胞对有机物的反应 (cellular response to organic substance)、细胞内信号转导的正调控 (positive regulation of intracellular signal transduction)、细胞死亡的负调控 (negative regulation of cell death) 等生物过程; 白细胞介素信号 (signaling by interleukins)、免疫系统中的细胞因子信号传导 (cytokine signaling in immune system)、erbB2 发出的信号 (signaling by erbB2)、免疫系统 (immune system) 等作用通路发挥治疗患者肺炎、咳嗽、发热等症状的作用, 见图 5。

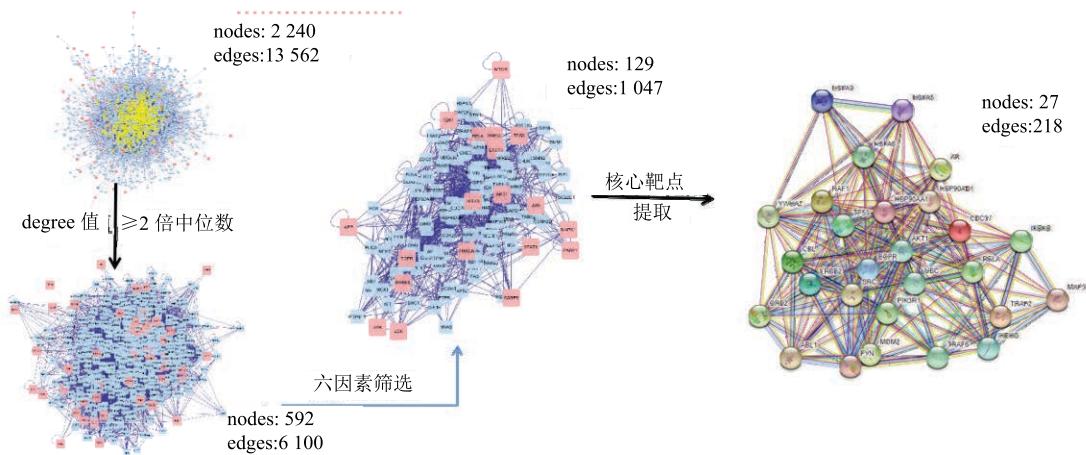


图 4 “方剂-疾病”共同作用靶点 PPI 网络构建及筛选

Fig. 4 Construction and screening of PPI network of “prescription-disease” target

生物过程	作用通路
cellular response to organic substance	16 signaling by interleukins
positive regulation of intracellular signal transduction	17 cytokine signaling in immune system
negative regulation of cell death	9 signaling by ERBB2
negative regulation of apoptotic process	21 immune system
positive regulation of signal transduction	22 signal transduction
response to cytokine	12 diseases of signal transduction
cell surface receptor signaling pathway	6 constitutive signaling by ligand-responsive EGFR cancer variants
regulation of cell death	10 PIP3 activates AKT signaling
cellular response to cytokine stimulus	6 downregulation of ERBB2 signaling
regulation of phosphorylation	7 P15P, PP2A and IER3 Regulate PI3K/AKT signaling

图 5 关键靶点 GO 和 pathway 富集分析

Fig. 5 GO and pathway enrichment analysis of key targets

2.5 核心成分与 ACE2 和 SARS-CoV-2 3CL 水解酶的分子对接结果分析

10 个核心成分作用于 2 个靶蛋白的对接结果见表 3。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。在柴胡桂枝干姜汤核心药效成分与治疗 COVID-19 潜在靶点的分子对接中, 由度值筛选得到的核心成分与 COVID-19 治

疗药物的潜在靶点 (SARS-CoV-2 3CL 水解酶、ACE2) 对接情况均良好, 与对应 6 个潜在治疗药物的结合能接近, 其中柴胡中柴胡皂苷 A (saikosaponin A)、柴胡皂苷 D (saikosaponin D), 桂枝中过氧麦角固醇 (peroxyergosterol) 与 2 个靶蛋白的分子对接结合能比较小, 将 3 种成分与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶和 ACE2 进行分子对接, 结

果见图 6, 由此表明柴胡皂苷 A、柴胡皂苷 D、过氧麦角固醇与 2 个靶蛋白均有较好的结合活性, 分子构象结合稳定。目前洛匹那韦作为具有良好 3CL 水解酶

抑制作用的上市药, 可通过抑制病毒复制周期内 3CL 水解酶发挥抗病毒的作用, 因此柴胡桂枝干姜汤所含化合物可能具有潜在的抗 COVID-19 作用。

表 3 核心成分和部分化学药与 ACE2 和 SARS-CoV-2 3CL 水解酶的结合能

Table 3 Binding energy values of core ingredients and recommend drugs with ACE2 and SARS-CoV-2 3CL hydrolase

化合物	化学式	相对分子质量	CAS 号	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	302.000 00	117-39-5	-30.124 8	-36.819 2
柴胡皂苷 A	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₃	781.000 00	20736-09-8	-34.308 8	-43.932 0
柴胡皂苷 D	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₃	780.980 00	20874-52-6	-33.053 6	-42.676 8
山柰酚	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.230 00	520-18-3	-29.706 4	-40.584 8
过氧麦角固醇	C ₂₈ H ₄₄ O ₃	428.600 00	2061-64-5	-33.472 0	-44.350 4
汉黄芩素	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	284.270 00	632-85-9	-29.706 4	-41.003 2
黄芩素	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270.240 00	491-67-8	-28.451 2	-41.421 6
β-谷甾醇	C ₂₉ H ₅₀ O	414.710 00	83-46-5	-28.032 8	-41.840 0
6-姜二酮	C ₁₇ H ₂₄ O ₄	292.400 00	61871-71-4	-25.104 0	-32.635 2
异鼠李素	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	316.262 30	480-19-3	-28.032 8	-39.329 6
α-干扰素	—	—	—	-27.196 0	-40.584 8
洛匹那韦	C ₃₇ H ₄₈ N ₄ O ₅	628.801 00	192725-17-0	-33.053 6	-41.003 2
利托那韦	C ₃₇ H ₄₈ N ₆ O ₅ S ₂	720.944 20	155213-67-5	-27.614 4	—
利巴韦林	C ₈ H ₁₂ N ₄ O ₅	244.205 00	36791-04-5	-25.104 0	—
磷酸氯喹	C ₁₈ H ₃₂ C ₁ N ₃ O ₈ P ₂	515.870 00	50-63-5	-25.104 0	-32.216 8
阿比多尔	C ₂₂ H ₂₅ BrN ₂ O ₃ S·HCl·H ₂ O	531.890 00	131707-23-8	-24.267 2	—

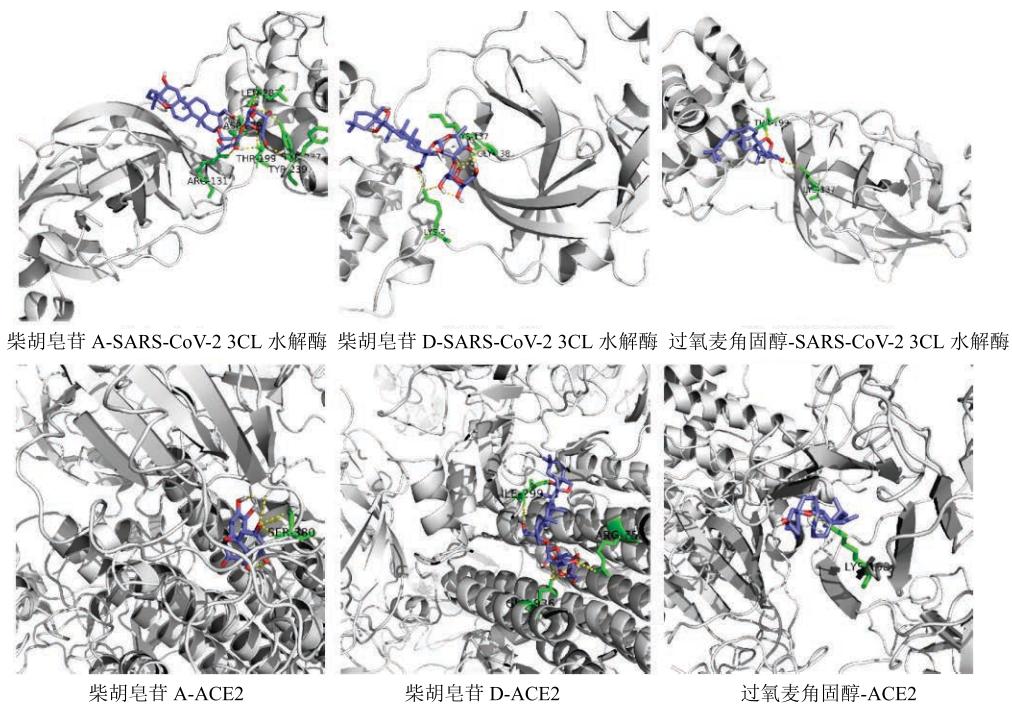


图 6 柴胡皂苷 A、柴胡皂苷 D、过氧麦角固醇与 SARS-CoV-2 3CL、ACE2 的对接构象

Fig. 6 Docking conformations of saikogenin A saikogenin D and peroxyergosterol with SARS-CoV-2 3CL and ACE2

3 讨论

COVID-19 是由 SARS-CoV-2 通过 ACE2 感染人体而引起的一种急性呼吸道传染病，以发热、干咳、乏力为主要表现，其流行病学特征、病理机制等还处在不断认识过程中，迄今治疗尚无特效药，其治疗方案还在不断摸索完善。有数据表明，中西医结合治疗 COVID-19 效果良好，重点疫区湖北相关医院的中医药参与救治比例超过三分之二^[25-26]。开展 COVID-19 中药临床研究，首先要明确药物的临床定位，在此基础上进行有针对性的研究设计，网络药理学可在基于传统功效及临床定位的基础上整体地分析中药复方或者单味中药的作用机制，揭示中药药效物质基础，本研究通过对诊疗方案高频药味及方证关系进行分析，将柴胡桂枝干姜汤核心成分与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶和 ACE2 进行对接，预测柴胡桂枝干姜汤可用于初期寒湿郁肺型 COVID-19 的治疗，为临床合理用药提供依据。

经过筛选，柴胡桂枝干姜汤中 156 个潜在活性化学成分作用于 159 个相关靶点，发挥治疗肺炎、咳嗽、发热的作用，“柴胡桂枝干姜汤-肺炎”共同作用靶点 131 个，“柴胡桂枝干姜汤-咳嗽”共同作用靶点 15 个，“柴胡桂枝干姜汤-发热”共同作用靶点 66，156 个化学成分中有 125 个成分可同时发挥治疗肺炎、咳嗽、发热的情况。根据度值选择了 10 个主要药效成分与 COVID-19 治疗药物的潜在靶点 (SARS-CoV-2 3CL 水解酶、ACE2) 进行了分子对接，其中柴胡皂苷 A、柴胡皂苷 D，过氧麦角固醇与 2 个靶蛋白的分子对接结合能比临床用药洛匹那韦小，槲皮素、山柰酚、黄芩素、汉黄芩素、异鼠李素与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶蛋白的结合能相比诊疗方案中的利托那韦、利巴韦林等化学药物的结合能小，预测分析柴胡桂枝干姜汤所含化合物可用于治疗 COVID-19。分析柴胡桂枝干姜汤多种成分对 COVID-19 的治疗机制阐释了中药“多成分-多靶点-多疾病”的作用机制，可临床合理应用于多种疾病。

对共同作用靶标中的 EGFR、TP53、YWHAZ、HSP90AB1、PIK3R1、GRB2 等 27 个基因进行 GO 和 pathway 分析，预测柴胡桂枝干姜汤发挥治疗作用是通过细胞对凋亡过程、信号转导及细胞因子等调控的生物过程，干预白介素信号、免疫系统中的细胞因子信号传导、ERBB2 信号通路、PIP3 激活 AKT 通路等。SARS-CoV-2 感染机体后，可以启动

细胞因子风暴^[27-28]，人体过度的免疫反应导致 T 细胞对人体各脏器的攻击，此时的免疫反应不受控制，其功能出现失调，淋巴细胞和巨噬细胞的持续激活和扩增，分泌大量的炎症细胞因子，导致“细胞因子风暴”^[29]，2019 年 COVID-19 重症监护 (ICU) 患者检测发现 IL-2、IL-7、IL-10、G-SCF、IP10、MCP-1、MIP-1A 以及 TNF- α ^[30] 明显高于非重症患者。文献表明柴胡桂枝干姜汤抗肺炎的核心基因 EGFR^[31-33]、YWHAZ^[34] 可降低炎症程度，降低炎症因子的表达，柴胡桂枝干姜汤可通过调控免疫系统发挥治疗作用。

本研究运用网络药理学结合分子对接的方法^[35] 预测了柴胡桂枝干姜汤治疗 COVID-19 的药效物质基础、关键靶标及信号通路，预测化学成分柴胡皂苷 A、柴胡皂苷 D 等可通过作用于免疫系统等调控细胞因子及细胞凋亡等过程，为进一步更好地应用于临床提供参考。此次构建的柴胡桂枝干姜汤治疗 SARS-CoV-2 感染病程中咳嗽、发热等症状的作用机制网络具有一定的预测性及准确性，后期可对其化学物质基础及药理作用机制进行进一步验证，以更好地为临床应用服务。

参考文献

- [1] 中华预防医学会新型冠状病毒肺炎防控专家组. 新型冠状病毒肺炎流行病学特征的最新认识 [J/OL]. 中国病毒病杂志, [2020-03-10]. <https://doi.org/10.16505/j.2095-0136.2020.0015>.
- [2] 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/OL]. 中国中药杂志, [2020-03-10]. <https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcm.20200218.502>.
- [3] 张仲景. 伤寒论 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005.
- [4] 李桂文, 陈少玫. 柴胡桂枝干姜汤治疗高热验案 [J]. 中医药通报, 2011, 10(6): 31-32.
- [5] 萧至健. 《伤寒论》太阳病篇发热辨治规律研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2016.
- [6] 黄煌. 基于经方医学对新型冠状病毒肺炎的思考 [J/OL]. 南京中医药大学学报, [2020-03-10]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/32.1247.R.20200216.2006.002.html>.
- [7] 高琛宇. 方剂辨证论治方法体系之建立 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2019.
- [8] 王衍华. 柴胡桂枝干姜汤对老年性感染后咳嗽气道神经源性炎性介质的影响 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2016.
- [9] 陈海涛, 刘忠达. 柴胡桂枝干姜汤治疗咳嗽变异性哮

- [喘 60 例临床观察 [J]. 浙江中医杂志, 2014, 49(11): 801.]
- [10] 范逸品, 王燕平, 张华敏, 等. 试析从寒疫论治新型冠状病毒肺炎 [J]. 中医杂志, 2020, 61(5): 369-374.
- [11] 王金榜, 梁保丽, 孙树椿. 新型冠状病毒(COVID-19)感染性肺炎现代中医诊疗建议方案与探讨 [J]. 世界中医药, 2020, 15(1): 35-46.
- [12] 魏徵霄, 李青峰. 新型冠状病毒感染的临床表现及其实验室检测技术进展 [J/OL]. 国际检验医学杂志, [2020-03-10]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.r.20200228.1112.002.html>.
- [13] 徐波, 范存愈, 邹义龙, 等. 46 例新型冠状病毒病中医证候学分析 [J/OL]. 中国实验方剂学杂志, [2020-03-10]. <https://doi.org/10.13422/j.cnki.syfjx.20201029>.
- [14] 全小林, 李修洋, 赵林华, 等. 从“寒湿疫”角度探讨新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的中医药防治策略 [J/OL]. 中医杂志, [2020-03-10]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2166.R.20200217.2034.006.html>.
- [15] 潘芳, 庞博, 梁腾霄, 等. 新型冠状病毒肺炎中医防治思路探讨 [J/OL]. 北京中医药, [2020-03-10]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5635.R.20200217.1519.002.html>.
- [16] 马家驹, 陈明, 王玉光. 新型冠状病毒(2019-nCoV)综合征中医证治述要 [J/OL]. 北京中医药, [2020-03-10]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5635.R.20200207.1616.002.html>.
- [17] 黄文彬, 刘启鸿, 黄苏萍. 柴胡桂枝干姜汤方证之分析与运用 [J]. 福建中医药, 2019, 50(1): 48-50.
- [18] 谢作钢. 柴胡桂枝干姜汤临证体悟 [N]. 中国中医药报, 2016-03-24(004).
- [19] 鲍艳举. 柴胡桂枝干姜汤研究述要 [J]. 浙江中医杂志, 2007, 42(9): 543-545.
- [20] 王婷婷, 冷承浩, 郭昆鹏, 等. 槲皮素对小鼠金黄色葡萄球菌肺炎的防治作用及 IKK/NF-κB/IκB 信号通路机制研究 [J]. 中药药理与临床, 2019, 35(4): 53-57.
- [21] Wang C, Qu Z, Kong L, et al. Quercetin ameliorates lipopolysaccharide-caused inflammatory damage via down-regulation of miR-221 in WI-38 cells [J]. *Exp Mol Pathol*, 2019, doi: 10.1016/j.yexmp.2019.03.002.
- [22] 赵琼, 刘恒军. 柴胡皂苷 D 对克雷伯杆菌肺炎大鼠肺组织损伤和纤维化及免疫功能的调节作用 [J]. 沈阳药科大学学报, 2019, 36(9): 823-829.
- [23] 徐红日, 李雅莉, 王成祥, 等. 黄芩对流感病毒 FM1 感染所致病毒性肺炎小鼠肺中炎性细胞因子蛋白与基因表达的影响 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(23): 5166-5173.
- [24] 赵小然. β -谷甾醇和毛蕊花糖苷对肺炎链球菌溶血素的抑制作用及机制 [D]. 长春: 吉林大学, 2017.
- [25] 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/OL]. 世界中医药, [2020-03-10]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5529.R.20200228.1755.006.html>.
- [26] 元唯安, 胡义扬, 唐健元, 等. 当下新型冠状病毒肺炎中药临床研究的若干思考 [J/OL]. 上海中医药杂志, [2020-03-10]. <https://doi.org/10.16305/j.1007-1334.2020.04.099>.
- [27] 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.
- [28] Chow K T, Gale M J, Loo Y M. RIG-I and other RNA sensors in antiviral immunity [J]. *Annu Rev Immunol*, 2018, 36(1): 667-694.
- [29] 陈婧, 王文清, 施春阳, 等. 新型冠状病毒肺炎(COVID-19)中医药防治的思考 [J]. 中草药, 2020, 51(5): 1106-1112.
- [30] Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China [J]. *Lancet*, 2020, 395(10223): 497-506.
- [31] 周映伽, 沈红梅, 黄杰. 表皮生长因子与恶性肿瘤相关性的研究进展 [J]. 肿瘤基础与临床, 2014, 27(5): 452-455.
- [32] Itatani Y, Kawada K, Yamamoto T, et al. Resistance to anti-angiogenic therapy in cancer-alterations to anti-VEGF pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(4): 1232-1249.
- [33] 谭德重, 阎艾慧. VEGF 与 EGFR 在鼻息肉发病机制中的研究进展 [J]. 医学综述, 2019, 25(11): 2133-2137.
- [34] 王颖怡, 李婧波, 张艳, 等. RNA 干扰 Ywhaz 基因对高糖诱导的肾小球系膜细胞凋亡及炎症因子的影响 [J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(13): 1631-1635.
- [35] 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.