

基于网络药理学和分子对接法探索肺毒清治疗新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 的潜在活性成分

刘 钱¹, 贺桢翔², 杨 慧², 刘新燕², 曾 钦², 张 梅², 刘 涛^{2*}

1. 成都大学 四川抗菌素工业研究所, 四川 成都 610106

2. 成都大学药学与生物工程学院, 四川 成都 610106

摘要: 目的 以网络药理学和分子对接法探索肺毒清治疗新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 活性化合物。方法 利用中药系统药理学分析平台 (TCMSP) 获得肺毒清中木蝴蝶、栀子及苦参 3 味中药相关的成分和作用靶点, 通过 UniProt 数据库查询靶点对应的基因; 采用 STRING 平台构建靶点 PPI 网络; 通过 DAVID 进行 GO (gene ontology) 生物过程及 KEGG (Kyoto encyclopedia of genes and genomes) 通路富集分析, 对核心靶点进行网络拓扑分析, 运用 Cytoscape 3.7.0 构建成分-靶点网络, 分析预测其作用机制。肺毒清中核心化合物与新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 3CL 水解酶进行分子对接, 同时将结合能最低的前 3 位化合物与血管紧张素转化酶 II (ACE2) 进行分子对接。结果 成分-靶点网络得到 269 个节点, 4 204 条边, 其中包括槲皮素、β-谷甾醇、山柰酚等 50 个成分, 关键靶点有 JUN、AKT1、TP53、PTGS2、FOS、ESR1 等。GO 功能富集分析得到 GO 条目 2 187 个 ($P < 0.05$), 其中生物过程 (biological process, BP) 条目 1 877 个, 细胞组成 (cellular component, CC) 条目 105 个, 分子功能 (molecular function, MF) 条目 205 个; KEGG 富集筛选得到 25 条信号通路 ($P < 0.05$), 主要有乙型肝炎通路、致癌通路、肿瘤坏死因子信号通路、胰腺癌、弓形虫病通路等; 木犀草素 (-26.78 kJ/mol)、槲皮素 (-26.36 kJ/mol)、去甲脱水淫羊藿黄酮 (-25.94 kJ/mol) 作用于 SARS-CoV-2 3CL 水解酶的分子对接结合能最低。结论 肺毒清的活性化合物通过作用于 JUN、AKT1、TP53、PTGS2、FOS、ESR1 等靶点, 与 ACE2 结合, 调节多条信号通路, 对 COVID-19 有潜在治疗作用。

关键词: 肺毒清; 网络药理学; 新型冠状病毒肺炎; 严重急性呼吸综合征冠状病毒 2; 分子对接; 血管紧张素转化酶 II; 木犀草素; 槲皮素; 去甲脱水淫羊藿黄酮

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)07-1713-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.07.005

Exploration on active compounds of Feiduqing for treatment of COVID-19 based on network pharmacology and molecular docking

LIU Qian¹, HE Zhen-xiang², YANG Hui², LIU Xin-yan², ZENG Qin², ZHANG Mei², LIU Tao²

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

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

Abstract: **Objective** To explore the active compounds of Feiduqing in the treatment of coronavirus disease 2019 (COVID-19) pneumonia. **Methods** The Chinese medicine system pharmacology analysis platform (TCMSP) was used to obtain the three Chinese medicine-related components and targets of *Oroxylum indicum*, *Gardenia jasminoides* and *Sophora flavescens* of Feiduqing, and the genes corresponding to the targets were queried through the UniProt database. The STRING platform was used to build the target PPI network. DAVID was used to perform GO biological processes and KEGG pathway enrichment analysis was used to perform network topology analysis on core targets. Cytoscape 3.7.0 was used to construct a component-target network analysis to predict the mechanism of Feiduqing. The core active compound of Feiduqing was molecularly docked with the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) 3CL hydrolase, and the first three compounds with the lowest binding energy were docked with angiotensin converting enzyme II (ACE2). **Results** The component-target network included 269 nodes and 4 204 edges, including 50 components such as quercetin, beta-sitosterol, kaempferol, etc, and key targets included JUN, AKT1, TP53, PTGS2, FOS, ESR1, etc. The function enrichment analysis of GO yielded 2 187 ($P < 0.05$), including 1 877 biological process (BP) entries, 105 cellular components (CC)

收稿日期: 2020-02-16

基金项目: 四川省科学技术厅 2020 年省级科技计划项目 (20YYJC1839); 2020 年成都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)

作者简介: 刘 钱 (1995—), 在读硕士研究生, 研究方向为中药药剂学研究。Tel: 18215681720 E-mail: liu_qian77@163.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

entries, and 205 molecular functions (MF) entries. Twenty-five signal pathways were screened by KEGG enrichment analysis ($P < 0.05$), mainly including hepatitis B, pathways in cancer, TNF signaling pathway, pancreatic cancer, toxoplasmosis pathway, etc. The active ingredients with the lowest molecular docking binding energy acting on SARS-CoV-2 3CL hydrolase were luteolin (-26.78 kJ/mol), quercetin (-26.36 kJ/mol), 8-prenyl-kaempferol (-25.94 kJ/mol). **Conclusion** The active compound of Feiduqing may have a therapeutic effect on COVID-19 through the action on targets such as JUN, AKT1, TP53, PTGS2, FOS, ESR1, binding with angiotensin converting enzyme II (ACE2) and regulating many signaling pathways.

Key words: Feiduqing; network pharmacology; coronavirus disease 2019; severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2); molecular docking; angiotensin converting enzyme II; luteolin; quercetin; 8-isopentenyl-kaempferol

2019 年 12 月末, 湖北武汉出现新型冠状病毒(严重急性呼吸综合征冠状病毒 2, SARS-CoV-2)感染肺炎(COVID-19), 疫情急剧蔓延, 我国其他地区以及境外也相继发现了 COVID-19 病例, 目前尚无治疗特效药^[1-3]。截止 2020 年 3 月 16 日 10 时 30 分, 国内已经累计确诊 81 078 例, 疑似病例 134 例, 死亡人数高达 3 218 例; 海外累计确诊 86 651 例, 死亡 3 266 例。COVID-19 主要临床表现为发热、乏力、干咳, 少数患者伴有鼻塞、流涕、咽痛及腹泻等症状, 严重者可出现呼吸困难、呼吸窘迫综合征或脓毒症休克等^[4-5]。SARS-CoV-2 为一种属于 β 属的第 7 种冠状病毒, 目前研究显示与蝙蝠 SARS 样冠状病毒(bat-SL-ConVZC45)同源性达 85% 以上。其三维结构由上海科技大学免疫化学研究所饶子和/杨海涛团队解析, 如图 1 所示。临床治疗一般采用 α -干扰素雾化吸入, 洛匹那韦/利托那韦、利巴韦林等抗病毒药, 重型、危重型采用甲泼尼龙、血必净(有明确用法用量)及肠道微生态调节剂, 结合中医药治疗等^[6]。近年来, 中医药在治疗病毒性感染疾病中取得较好的防治效果, 在 2003 年的 SARS 治疗中中医药以其独特的治疗效果引起世界广泛关注及肯定^[7], COVID-19 属中医“寒湿毒疫”范畴, 病位在肺脾, 病机特点以“寒、湿、毒、虚”。我国专家根据疾病演变规律, 提出分期辨证论治, 尤以治湿为主^[8]。国家卫生健康委员会和国家中医药管理局于 2020 年 1 月印发《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第三版)》, 开始将 COVID-19 的中医治疗法纳入方案中, 根据不同症候采用不同的治疗方案^[9-11], 取得了较好的疗效。

肺毒清是治疗病毒性肺炎的临床经验方, 由木蝴蝶 *Oroxylum indicum* (L.) Vent、苦参 *Sophora flavescens* Ait. 及栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis 3 味药材配伍而成, 具有清热燥湿、润肺退热除烦之功。本课题组前期对肺毒清的原药材质量标准进行了研究, 并通过体外抗病毒实验及体内抗炎、解热、

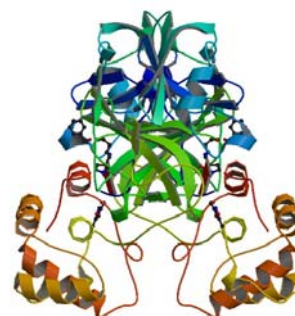


图 1 SARS-CoV-2 3CL 水解酶三维结构

Fig. 1 3D Structure of SARS-CoV-2 3CL hydrolase

镇痛药效实验, 初步筛选出了肺毒清提取工艺路线, 采用正交试验优选了提取、浓缩、干燥剂成型工艺研究^[12-16]。

网络药理学是建立在疾病-基因-药物的多层次网络基础上, 从整体上预测药物靶点、提高药物发现效率的新兴科学。网络药理学已经被广泛用于筛选活性成分、阐释药物作用机制、研究疾病发病机制等方面^[17-18]。随着疾病和药物相关靶标的不断累积、中药化学成分的不断挖掘、计算机技术的飞速发展, 网络药理学将会是中药复杂体系研究的重要工具^[19-20]。分子对接是通过受体的特征及受体与药物分子之间的相互作用方式来预测其结合模式和亲和力的一种理论模拟方法^[21]。本研究通过网络药理学, 结合分子对接技术探讨肺毒清对 COVID-19 的潜在治疗作用。

1 材料与方法

1.1 数据库及软件

数据库: 中药系统药理学分析平台(Traditional Chinese Medicines Systems Pharmacology, TCMSP, <http://tcmsp.com/tcmsp.php>); Uniprot (<https://www.uniprot.org/>); Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>); GeneCards (<https://www.genecards.org/>); Venny 2.1 (<http://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>); STRING v10.0 (<https://string-db.org/>);

DAVID v6.8 (<https://david.ncifcrf.gov/>); Omicshare (<http://www.omicshare.com>); PDB (<http://www.rcsb.org/>); ZINC15 (<http://zinc.docking.org/substances/home/>)。软件: GraphPad Prism 6; Cytoscape Version 3.7.0 及其 Network Analysis 插件; 计算模拟平台 Discovery Studio (DS); PyRx; Uedit32。

1.2 药物活性成分及靶点的筛选

采用中药系统药理学数据库和分析平台 TCMSP^[22], 在“信息设定”模块, 分别以“木蝴蝶”“栀子”“苦参”为关键词检索获得肺毒清中所含的已知化学成分, 设置口服生物利用度 (oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 和类药性 (drug-likeness, DL) ≥ 0.18 筛选木蝴蝶、栀子、苦参的活性成分, 利用 TCMSP 数据库中的靶点预测功能收集已知化学成分的靶标。

1.3 药物分子-靶点的构建

将所筛选的成分靶点导入 Uniprot 数据库, 限定物种为“human”, 将检索得到的所有蛋白靶标校正为 Uniprot ID, 并得到靶标蛋白所对应的基因名; 再将筛选得到的靶标蛋白上传至 STRING 平台, 选择“multiple proteins”模式, 蛋白种属设为“homo sapiens”, 建立药物靶蛋白-疾病靶蛋白 (PPI) 相互作用网络。采用 Cytoscape 3.7.0 软件^[23]构建药物-靶点网络, 分析药物-靶点网络。

1.4 靶点通路分析

为进一步观察作用靶标的生物学功能将化合物靶标导入到 DAVID 数据库中对其进行通路富集分

析, 识别类型选择 (Select Identifier) 设置为“OFFICIAL_GENE_SYMBOL”, 列表类型 (List Type) 设置为“Gene List”, 限定物种为“Homo sapiens”, 再设定 $P < 0.05$, 筛选出肺毒清具有显著性差异的 KEGG (Kyoto encyclopedia of genes and genomes) 通路信息。将符合 $P \leq 0.01$, 从小到大排序前 25 个 GO (gene ontology) [包括生物过程 (biological process, BP)、细胞组成 (cellular component, CC)、分子功能 (molecular function, MF)] 及 KEGG 信号通路用 GraphPad Prism 6.0 绘制柱状图, 使用 Omicshare 数据库将筛选出的 KEGG 通路信息绘制成高级气泡图。

1.5 成分-靶点分子对接

在 PDB 数据库中下载 SARS-CoV-2 3CL 水解酶 (PDB ID 6LU7) 及血管紧张素转化酶 II (angiotensin converting enzyme II, ACE2) 3D 结构的 pdb format 格式文件, 运用 Discovery Studio 软件对蛋白质进行去水、加氢, 从 ZINC15 数据库中下载各成分的 sdf 结构, 将药物分子及处理后蛋白导入 PyRx 软件, 采用 vina 对接。结合能越低对接结果越好。

2 结果

2.1 肺毒清活性成分

从 TCMSP 数据库中检索木蝴蝶、栀子、苦参的活性成分, 根据 $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.18$, 剔除重复化合物与缺少靶点预测数据的化合物, 最终筛选出 50 个活性成分, 其中木蝴蝶 18 个, 栀子 9 个, 苦参 23 个, 结果见表 1。

表 1 肺毒清中部分活性成分基本信息

Table 1 Basic information of some active components in Feiduqing

药材	编号	化学成分	OB/%	DL	相对分子质量
木蝴蝶	MOL001002	ellagic acid	43.06	0.43	302.20
	MOL012101	mosloflavone	34.04	0.26	298.31
	MOL012108	negletein	41.16	0.23	284.28
	MOL013058	2,5-dihydroxy-6,7-dimethoxyflavone	41.52	0.28	316.33
	MOL013059	3,7,3',5'-tetramethoxy-2-hydrochroxyflavone	53.26	0.42	376.39
	MOL013061	baicalein-6-glucuronide	38.72	0.76	446.39
	MOL000173	wogonin	30.68	0.23	284.28
	MOL001735	dinatin	30.97	0.27	300.28
	MOL002714	baicalein	33.52	0.21	270.25
	MOL002776	baicalin	40.12	0.75	446.39
	MOL002928	oroxylin A	41.37	0.23	284.28
	MOL003044	chryseriol	35.85	0.27	300.28

续表 1

药材	编号	化学成分	OB/%	DL	相对分子质量
木蝴蝶	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75	414.79
	MOL004004	6-OH-luteolin	46.93	0.28	302.25
	MOL000449	stigmasterol	43.83	0.76	412.77
	MOL000471	aloe-emodin	83.38	0.24	270.25
	MOL005030	gondoic acid	30.70	0.20	310.58
	MOL000098	quercetin	46.43	0.28	302.25
栀子	MOL001406	crocetin	35.30	0.26	328.44
	MOL001941	ammidin	34.55	0.22	270.30
	MOL004561	sudan III	84.07	0.59	352.42
	MOL000422	kaempferol	41.88	0.24	286.25
	MOL001494	mandenol	42.00	0.19	308.56
	MOL001942	isoimperatorin	45.46	0.23	270.30
	MOL002883	ethyl oleate (NF)	32.40	0.19	310.58
	MOL003095	5-hydroxy-7-methoxy-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl)chromone	51.96	0.41	358.37
	MOL007245	3-methylkempferol	60.16	0.26	300.28
	MOL001040	(2 <i>R</i>)-5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl) chroman-4-one	42.36	0.21	272.27
苦参	MOL001484	inermine	75.18	0.54	284.28
	MOL003542	8-isopentenyl-kaempferol	38.04	0.39	354.38
	MOL003627	sophocarpine	64.26	0.25	246.39
	MOL003648	inermine	65.83	0.54	284.28
	MOL003673	wighteone	42.80	0.36	338.38
	MOL003680	sophoridine	60.07	0.25	248.41
	MOL000392	formononetin	69.67	0.21	268.28
	MOL004580	<i>cis</i> -dihydroquercetin	66.44	0.27	304.27
	MOL004941	(2 <i>R</i>)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl) chroman-4-one	71.12	0.18	256.27
	MOL005100	5,7-dihydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl) chroman-4-one	47.74	0.27	302.30
	MOL005944	matrine	63.77	0.25	248.41
	MOL000006	luteolin	36.16	0.25	286.25
	MOL006596	glyceollin	97.27	0.76	338.38
	MOL003347	hyperforin	44.03	0.60	536.87
	MOL006604	(2 <i>S</i>)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-5-methoxy-8-(3-methylbut-2-enyl) chroman-4-one	48.09	0.39	354.43
	MOL006613	kushenin	47.62	0.38	286.30
	MOL006620	kushenol J	50.86	0.24	286.30
	MOL006623	norkurarinol	51.28	0.64	442.55
	MOL006626	leachianone G	60.97	0.40	356.40
	MOL006630	norartocarpetin	54.93	0.24	286.25
	MOL000456	phaseolin	78.20	0.73	322.38
	MOL006650	(-)-maackiain-3- <i>O</i> -glucosyl-6'- <i>O</i> -malonate	48.69	0.52	532.49

2.2 成分-靶点网络构建

将 50 个化学成分输入 TCMSP 数据库, 得到靶点由 Uniprot 数据库搜索的结果经过筛选后共得到 219 个药物潜在活性靶点。成分-靶点网络由 Cytoscape 3.7.0 构建得到 269 个节点, 4 204 条边, 如图 2 所示, 其中蓝色为木蝴蝶中成分, 黄色为栀子中成分, 绿色为苦参中成分。结果采用度 (degree)、平均最短路径 (ASPL)、中介中心度 (BC) 和接近中心性 (CC) 排序确定关键节点, 网络中度值 $\geq$ 中位数 (成分度值中位数=9.5, 靶标度值中位

数=20) 的成分分别是槲皮素 (quercetin)、 β -谷甾醇 (β -sitosterol)、山柰酚 (kaempferol)、豆甾醇 (stigmaterol)、汉黄芩素 (wogonin)、木犀草素 (luteolin)、黄芩素 (baicalein)、刺芒柄花素 (formononetin)、去甲脱水淫羊藿黄素 (8-prenyl-kaempferol)、伞房花耳草素 [5-hydroxy-7-methoxy-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl)]、千层纸素 A (oroxylin A)、芦荟大黄素 (aloe-emodin)、菜豆素 (phaseolin), 其中槲皮素为 3 种药材所共有, 靶标有 JUN、AKT1、TP53、PTGS2、FOS 等 67 个。

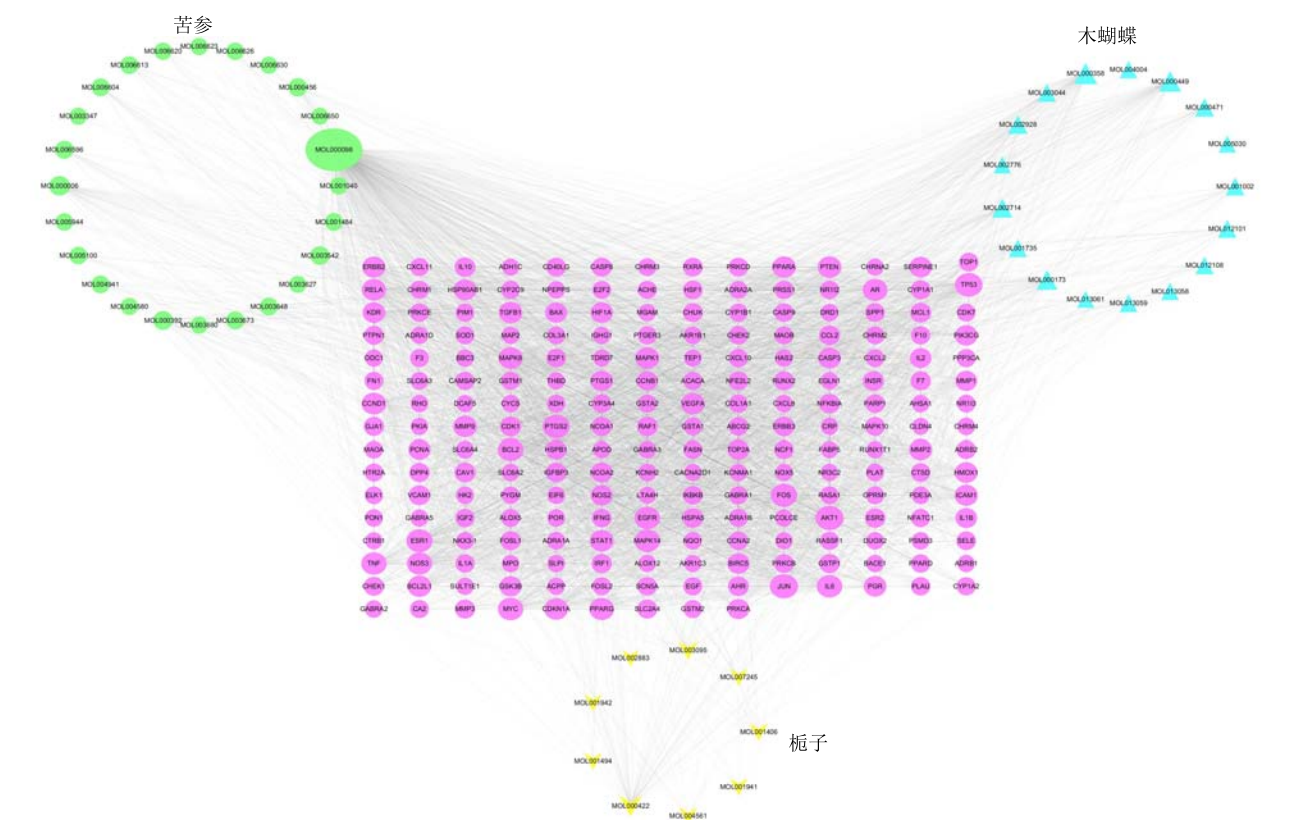


图 2 肺毒清成分-靶点网络
Fig. 2 Compound-target network of Feiduqing

2.3 GO 生物过程和 KEGG 通路富集分析

DAVID 中 GO 功能富集分析得到 GO 条目 2 187 个 ($P < 0.05$), 其中 BP 条目 1 877 个, CC 条目 105 个, MF 条目 205 个, 如图 3 所示。

KEGG 富集分析以排位前 25 条信号通路 ($P < 0.05$) 绘制的柱状图及高级气泡图见图 4, 主要有乙型肝炎通路 (hepatitis B)、致癌通路 (pathways in cancer)、肿瘤坏死因子信号通路 (TNF signaling pathway)、胰腺癌 (pancreatic cancer)、弓形虫病通路 (toxoplasmosis) 等。

2.4 肺毒清活性成分作用于 SARS-CoV-2 3CL 水解酶的分子对接结果分析

药物分子配体与蛋白受体结合形成构象稳定时能量越低, 则结构越稳定, 越契合, 越能发挥药效作用。结合能最小的前 3 位化合物为木犀草素 (-26.78 kJ/mol)、槲皮素 (-26.36 kJ/mol)、去甲脱水淫羊藿黄素 (-25.94 kJ/mol), 将结合能 ≤ -5.0 kJ/mol 作为筛选标准, 由结果可知, 肺毒清主要化学成分与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶结合能均远小于 -5.0 kJ/mol, 如表 2 所示, 由此可见肺毒清中的

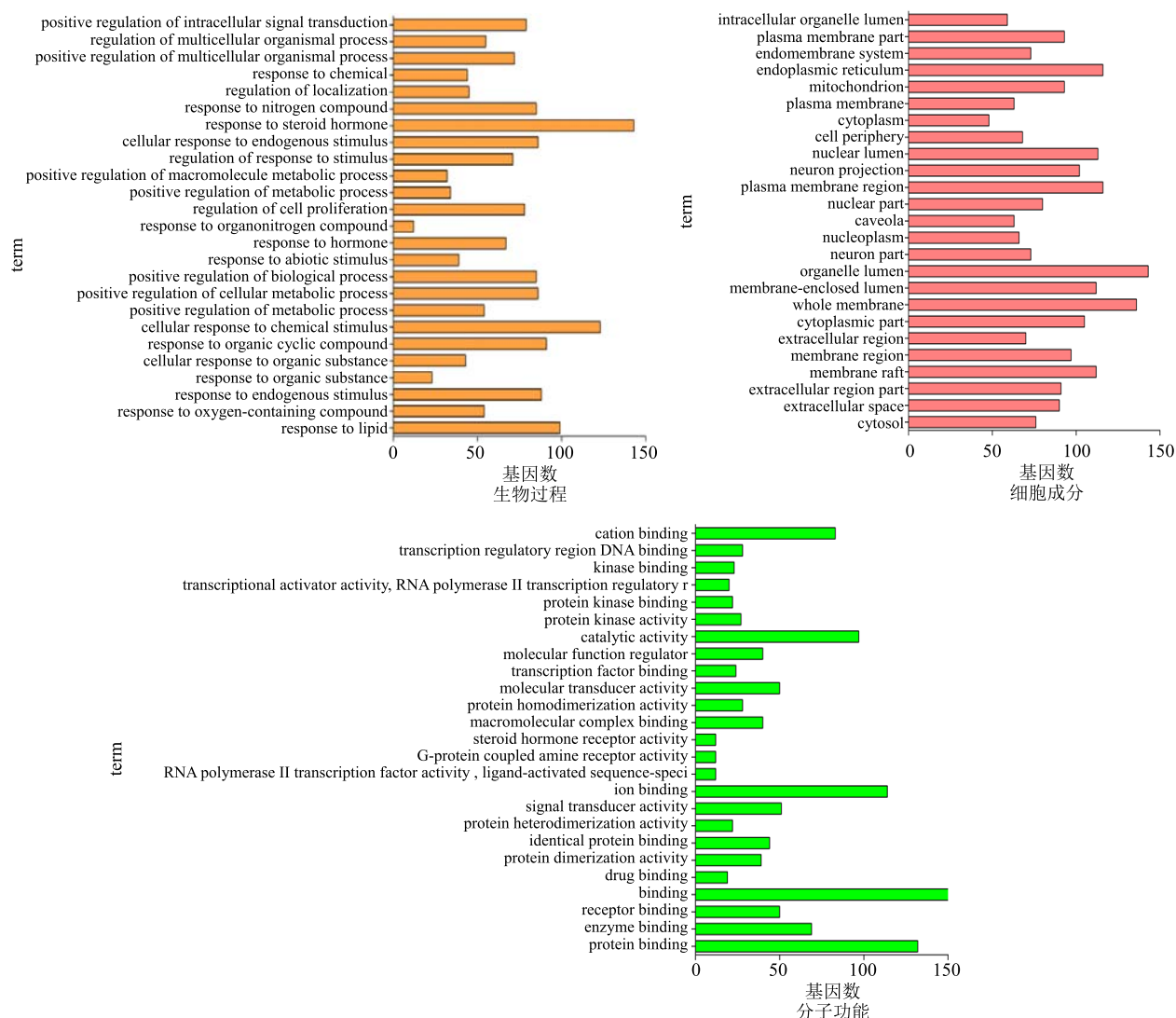


图 3 肺毒清作用靶点的 GO 富集分析

Fig. 3 GO enrichment analysis of targets of Feiduqing

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。将结合能最低的前 3 种肺毒清中成分及目前报道有效化学药与 ACE2 (ACE2 PDB ID: 1R42) 进行分子对接, 结果见表 3 和图 5。

3 讨论

COVID-19 中医属“湿性浊毒”, 属于天地间的“杂气”之一, 为天行之气, 包括在“疫疠之邪”的范畴, 其病因是感受的是“湿性浊毒”, 由多种致病因素引起^[24]。吴又可在《温疫论》中指出: “温疫之为病, ……乃天地间别有一种异气所感”。截止目前 COVID-19 尚无特效治疗药物, 现有化学药仅能有限范围内抑制某些临床症状, 减轻患者痛苦, 而中医药对时疫具有较好的防治作用, 鉴于此, 国家

推荐中西药结合治疗该疾病, 目前取得了一定的效果。但中药复方治疗该病的机制尚不完全清楚, 有待采用现代技术方法进行解析。

通过网络药理学分析可知, 肺毒清处方中活性成分主要有槲皮素、 β -谷甾醇、山柰酚、豆甾醇、汉黄芩素等 13 个, 与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶分子对接结合能最低的前 5 个化合物为槲皮素、木犀草素、去甲脱水淫羊藿黄酮、豆甾醇、汉黄芩素, 从结果可知, 结合能与现有报道推荐的临床使用化学药相近, 其中槲皮素、木犀草素、去甲脱水淫羊藿黄酮与瑞德西韦、利巴韦林、利托那韦结合能极其相近。ACE2 是严重急性呼吸系统综合征冠状病毒 (SARS) 及 SARS-CoV-2 的宿主细胞受体, 2 种病毒均通过其表达的 S-蛋白与人体内 ACE2 的结合,

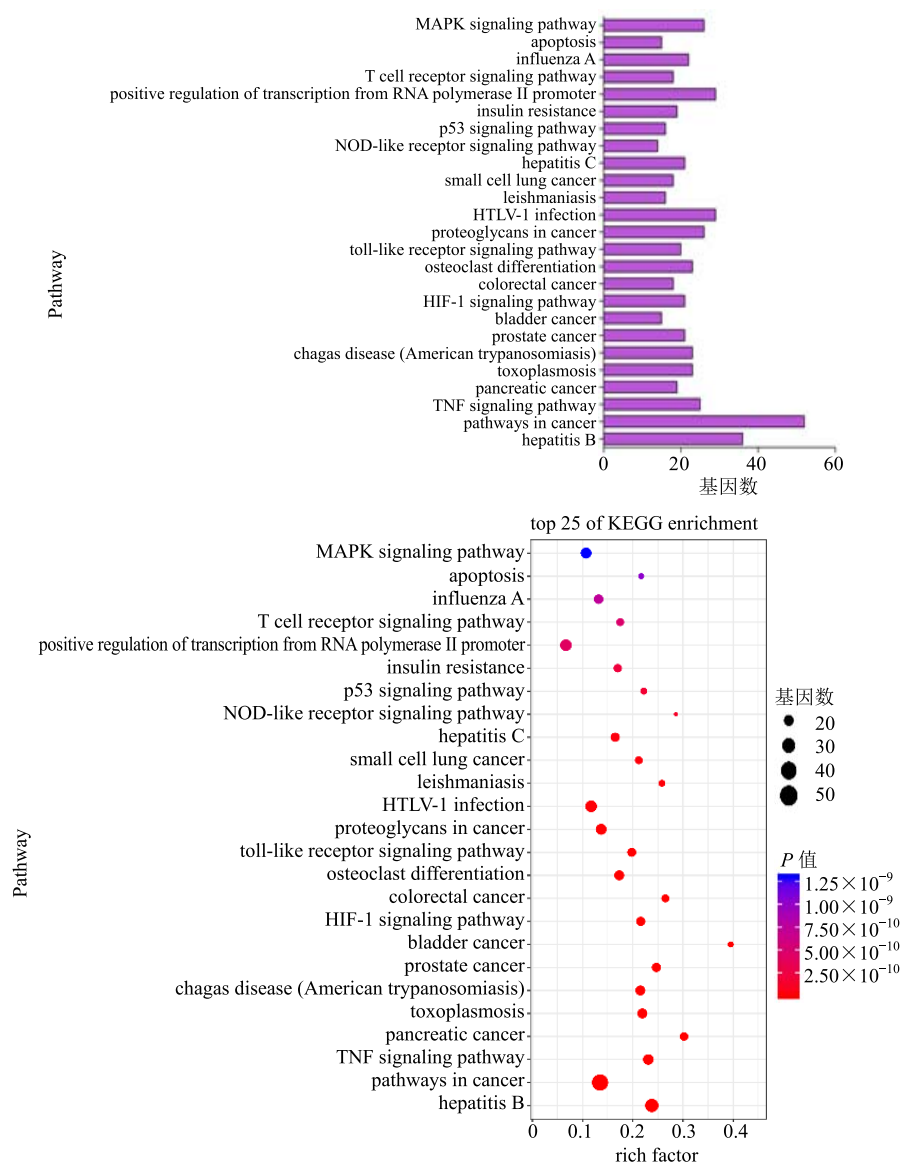


图 4 肺毒清作用靶点 KEGG 富集分析的前 25 条通路

Fig. 4 Top 25 pathways of targets of Feiduqing by KEGG enrichment analysis

表 2 肺毒清中核心化合物及目前临床报道有效化学药与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶的结合能

Table 2 Binding energy values of core compounds in Feiduqing and effective drugs reported clinically and SARS-CoV-2 3CL hydrolase

化合物中文名称	化合物英文名称	分子式	相对分子质量	CAS 号	受体蛋白	结合能/(kJ·mol ⁻¹)
槲皮素	quercetin	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302.25	117-39-5	SARS-CoV-2	-26.36
β-谷甾醇	beta-sitosterol	C ₂₉ H ₅₀ O	414.79	83-46-5	3CL 水解酶	-22.59
山柰酚	kaempferol	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.25	520-18-3		-23.01
豆甾醇	stigmasterol	C ₂₉ H ₄₈ O	412.77	83-48-7		-25.10
汉黄芩素	wogonin	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	284.28	10-29-7		-25.10
木犀草素	luteolin	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.25	491-70-3		-26.78
黄芩素	baicalein	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270.25	491-67-8		-24.27
刺芒柄花素	formononetin	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	268.28	485-72-3		-23.01
去甲脱水淫羊藿黄素	8-isopentenyl-kaempferol	C ₂₀ H ₁₈ O ₆	354.38	28610-31-3		-25.94
伞房花耳草素	5-hydroxy-7-methoxy-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl)	C ₁₉ H ₁₈ O ₇	358.37	18103-41-8		-23.43

续表 2

化合物中文名称	化合物英文名称	分子式	相对分子质量	CAS 号	受体蛋白	结合能/(kJ·mol ⁻¹)
千层纸素 A	oroxylin A	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	284.28	480-11-5	SARS-CoV-2	-24.69
芦荟大黄素	aloe-emodin	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270.25	481-72-1	3CL 水解酶	-23.43
菜豆素	phaseolin	C ₂₀ H ₂₀ O ₄	322.38	13401-40-6		-25.10
瑞德西韦	remdesivir	C ₂₇ H ₃₅ N ₆ O ₈ P	602.58	1809249-37-3		-25.94
利巴韦林	ribavirin	C ₈ H ₁₂ N ₄ O ₅	244.21	36791-04-5		-25.52
利托那韦	ritonavir	C ₃₇ H ₄₈ N ₆ O ₅ S ₂	720.96	155213-67-5		-24.69
硝唑尼特	nitazoxanide	C ₁₂ H ₉ N ₃ O ₅ S	307.28	55981-09-4		-23.85
洛匹那韦	lopinavir	C ₃₇ H ₄₈ N ₄ O ₅	628.80	192725-17-0		-22.59
法匹拉韦	favipiravir	C ₅ H ₄ FN ₃ O ₂	157.10	259793-96-9		-20.92
氯喹	chloroquine	C ₁₈ H ₂₆ ClN ₃	319.87	54-05-7		-18.41

表 3 肺毒清中核心化合物及目前临床报道有效化学药与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶及 ACE2 的结合能

Table 3 Binding energy values of core compounds in Feiduqing and effective drugs reported clinically with SARS-CoV-2 3CL hydrolase and ACE2

成分	名称	分子式	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	quercetin	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302.25	117-39-5	-26.36	-32.64
木犀草素	luteolin	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.25	491-70-3	-26.78	-33.47
去甲脱水淫羊藿黄素	8-isopentenyl-kaempferol	C ₂₀ H ₁₈ O ₆	354.38	28610-31-3	-25.90	-33.47
瑞德西韦	remdesivir	C ₂₇ H ₃₅ N ₆ O ₈ P	602.58	1809249-37-3	-25.94	-32.22
利巴韦林	ribavirin	C ₈ H ₁₂ N ₄ O ₅	244.21	36791-04-5	-25.52	-27.20
利托那韦	ritonavir	C ₃₇ H ₄₈ N ₆ O ₅ S ₂	720.96	155213-67-5	-24.69	-34.73

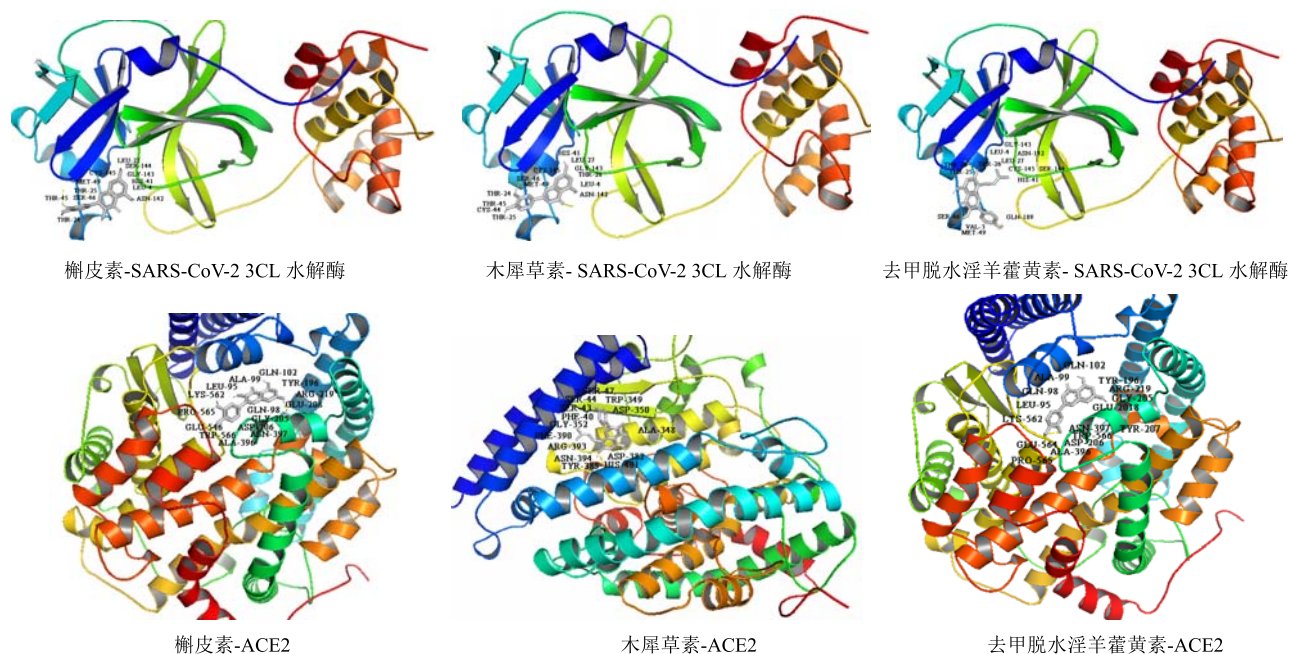


图 5 槲皮素、木犀草素及去甲脱水淫羊藿黄素与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶和 ACE2 的分子对接模式

Fig. 5 Molecular docking diagram of COVID-19 coronavirus 3CL hydrolase and ACE2 with quercetin, luteolin, and 8-prenyl-kaempferol

从而导致病毒侵入机体而致病^[25]。将槲皮素、木犀草素、去甲脱水淫羊藿黄酮分别与 ACE2 进行分子对接,结果显示 3 种成分与 ACE2 结合能远低于-5.0 kJ/mol,分别为-32.64、-33.47、-33.47 kJ/mol。槲皮素可通过降低刺激 T 细胞异基因增殖的能力达到抑制树突细胞(dendritic cell, DC)成熟的效果,同时可上调 Dabs 蛋白表达抑制 DC 细胞成熟,从而下调类固醇受体共激活剂(SRC)/磷脂酰肌醇-3-羟激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)、核转录因子- κ B(NF- κ B)通路抑制炎症反应^[26]。

本研究借助网络药理学及分子对接方法,分析了肺毒清中主要活性成分,并对其与 SARS-CoV-2 及 ACE2 的结合能力进行了潜在分子机制探究,从结果可知,肺毒清是通过多成分、多靶点、多通路作用于 SARS-CoV-2 及 ACE2 来发挥作用的。该方法为解析中药复方的作用机制提供了一定的方法和手段。但值得注意的是,现阶段对 SARS-CoV-2 本身及感染致病机制认知不足,同时计算化学生物学方法本身有一定局限性,还存在计算结果与实际治疗效果不相符的风险,且在对病毒感染过程中的关键靶标研究不足、中药的化学成分及结构尚不明确、各成分作用于病毒治病机制不明等情况下,计算化学生物学可能难以真正有效实施。本课题组后续采用动物体内外实验,进一步探索肺毒清治疗 COVID-19 的药效作用及其机制,为其进一步开发利用提供更多的依据。

参考文献

- [1] 刘昌孝,王玉丽,闫凤英. 认识新型冠状病毒肺炎,关注疫情防控药物研发 [J]. 中国抗生素杂志, 2020, 45(2): 1-10.
- [2] 喻孜,张贵清,刘庆珍,等. 基于时变参数-SIR 模型的 2019-nCoV 疫情评估和预测 [J/OL]. 电子科技大学学报, [2020-03-15]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/51.1207.t.20200207.1546.002.html>.
- [3] 赵荣生,杨毅恒,杨丽,等. 新型冠状病毒防控的药学工作指导与管理策略 [J/OL]. 中国药学杂志, [2020-03-15]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2162.R.20200207.0936.002.html>.
- [4] 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, [2020-03-15]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5635.R.20200207.1616.002.html>.
- [5] 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.
- [6] 蒋倩,郎锦义,郭鹏,等. 循证医学视角下的我国新型冠状病毒(2019-nCoV)感染的肺炎诊疗方案比较 [J/OL]. 华西药学杂志, [2020-02-10]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/51.1218.R.20200210.1130.002.html>.
- [7] 刘敏,王庆国. 中医药在防治传染性非典型肺炎中的贡献及反思 [J]. 中国新药杂志, 2004, 13(S1): 1209-1211.
- [8] 孙增涛,安兴,肖玮,等. 基于分期辨证论治探讨新型冠状病毒感染肺炎 [J/OL]. 陕西中医药大学学报, [2020-02-11]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1501.R.20200211.1318.002.html>.
- [9] 国家卫生健康委办公厅,国家中医药管理局办公室. 关于印发新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第三版)的通知 [EB/OL]. [2020-01-22]. http://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2020-01/23/content_5471832.htm.
- [10] 国家卫生健康委办公厅,国家中医药管理局办公室. 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.gov.cn/zhengce/zhengceku/2020-01/28/content_5472673.htm.
- [11] 国家卫生健康委办公厅,国家中医药管理局办公室. 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]. [2020-02-04]. http://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2020-02/05/content_5474791.htm.
- [12] 刘涛,郭晓恒,吴春梅,等. 肺毒清颗粒中有效成分的含量测定及转移率考察 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(10): 54-56.
- [13] 刘涛,李娟,吴春梅,等. 不同制备工艺对肺毒清体外抗病毒作用的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(18): 42-44.
- [14] 徐玉玲,刘涛,伍利华,等. 肺毒清颗粒制备工艺研究 [J]. 成都大学学报: 自然科学版, 2014, 33(2): 110-114.
- [15] 徐玉玲,潘春晖,张焯,等. 不同提取工艺对肺毒清抗炎、镇痛及解热作用的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(14): 23-26.
- [16] 陈小梅,彭红梅,刘涛,等. 肺毒清颗粒治疗病毒性肺炎高热的临床观察 [J]. 中药与临床, 2017, 8(5): 35-37.
- [17] Nakamura N, Hayasaka S, Zhang X Y, et al. Effects of baicalin, baicalein, and wogonin on interleukin-6 and interleukin-8 expression, and nuclear factor-[κ] b binding activities induced by interleukin-1 [beta] in human retinal pigment epithelial cell line [J]. *Exp Eye Res*, 2003, 77(2): 195-202.
- [18] Kim H K, Cheon B S, Kim Y H, et al. Effects of naturally occurring flavonoids on nitric oxide production in the

- macrophage cell line RAW 264.7 and their structure-activity relationships [J]. *Biochem Pharmacol*, 1999, 58(5): 759-765.
- [19] 解 静, 高 杉, 李 琳, 等. 网络药理学在中药领域中的研究进展与应用策略 [J]. 中草药, 2019, 50(10): 2257-2265.
- [20] Xiao M D, Dong N C, Jing W, *et al*. Systems pharmacology based strategy for Q-markers discovery of Huangqin Decoction to attenuate intestinal damage [J]. *Fron Pharmacol*, 2018, doi: 10.3389/fphar.2018.00236. eCollection 2018.
- [21] 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型冠状病毒肺炎(COVID-19)活性化合物研究 [J]. 中草药, 2020, 51(5): 1113-1122.
- [22] 刘树森, 孙文斌, 李文兰, 等. 基于网络药理学的黄连-吴茱萸药对抗癌及治疗心脑血管疾病机制研究 [J]. 中草药, 2020, 51(1): 109-117.
- [23] 郑罗棋, 惠慧, 田 港, 等. 基于网络药理学吴茱萸致肝毒性机制研究 [J]. 中草药, 2020, 50(2): 419-425.
- [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]. 世界中医药, 2020, 15(1): 35-46.
- [25] 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.
- [26] Ling W H, Lin W Q, Wang W T, *et al*. Quercetin protects against atherosclerosis by inhibiting dendritic cell activation [J]. *Ann Nutr Metab*, 2017, 61(9): 1700031-1700052.