

基于网络药理学的小柴胡汤治疗新型冠状病毒肺炎（COVID-19）发热的可行性探讨

杨璐¹, 崔换天², 刘相国², 温伟波³, 王洪武^{1*}

1. 天津中医药大学中医学院, 天津 301617

2. 山东大学生命科学院, 山东省动物细胞与发育生物学重点实验室, 山东 青岛 266237

3. 云南省中医院 内分泌科, 云南 昆明 650000

摘要: 目的 通过网络药理学和分子对接的方法, 初步探讨小柴胡汤在新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 治疗中缓解发热及抗病毒的可能作用机制。方法 运用网络药理学方法分析小柴胡汤治疗发热的潜在靶点及通路; 从 TCMSP、PharmMapper 数据库收集小柴胡汤的成分和作用靶点; OMIM 和 Genecards 数据库收集发热相关靶点; String 数据库构建蛋白相互作用网络, 分析核心靶点; DAVID 数据库和 KOBAS 3.0 进行基于基因本体论 (GO) 的功能富集分析和基于京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 的通路富集分析; Cytoscape 3.2.7 构建成分-靶点-通路网络图。运用分子对接技术筛选与新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 以及 SARS-CoV-2 感染靶细胞关键受体血管紧张素转化酶 II (ACE2) 结合力较强的活性成分, 预测可能的结合位点。结果 网络药理学分析表明, 小柴胡汤共筛选出 165 种活性成分, 预测到靶点 168 个, 筛选出发热相关靶点 7 006 个, 取交集得到小柴胡汤与发热相关的靶点 141 个。GO 富集到基因功能 292 个, KEGG 富集到基因通路 30 条。分子对接结果表明, 小柴胡汤的主要活性成分与 SARS-CoV-2 和 ACE2 均有较强的结合能力, 其中 β -谷甾醇、豆甾醇和 3'-羟基-4'-O-甲基葡萄糖苷为结合最强的 3 个有效成分。结论 网络药理学方法初步探讨了小柴胡汤缓解 COVID-19 发热的作用机制, β -谷甾醇、豆甾醇和 3'-羟基-4'-O-甲基葡萄糖苷可能为小柴胡汤中主要发挥抑制 SARS-CoV-2 的成分, 为进一步的研究提供了方向。

关键词: 小柴胡汤; 新型冠状病毒; 新型冠状病毒肺炎; 发热; 网络药理学; 分子对接; β -谷甾醇; 豆甾醇; 3'-羟基-4'-O-甲基葡萄糖苷
中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)07-1761-15

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.07.010

Feasibility of Xiaochaihu Decoction on fever induced by coronavirus disease 2019 (COVID-19) based on network pharmacology

YANG Lu¹, CUI Huan-tian², LIU Xiang-guo², WEN Wei-bo³, WANG Hong-wu¹

1. School of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

2. Shandong Key Laboratory of Animal Cell and Developmental Biology, School of Life Sciences, Shandong University, Qingdao 266237, China

3. Department of Endocrinology, Yunnan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650000, China

Abstract: Objective The aim of this article was to study the potential antiviral and fever reducing mechanisms of Xiaochaihu Decoction (XCHD) on novel coronavirus pneumonia based on network pharmacology and molecular docking method. **Methods** Firstly, the potential targets and pathways of XCHD on fever were analyzed using network pharmacology. Compounds and potential targets in XCHD were screened using TCMSP and PharmMapper databases. The targets in fever reducing were identified from OMIM and Genecards databases. The protein-protein interaction network was established by String database to analyze key targets. The gene ontology (GO) analysis and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) analysis of key targets were also conducted to generate the relative pathways based on DAVID and KOBAS 3.0 databases, respectively. The compound-target-pathway network was established using Cytoscape 3.2.7. In addition, we used molecular docking method to identify the crucial compounds with higher connectivity on SARS-CoV-2 and the angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2). ACE2 has been identified as the key target of SARS-CoV-2 entering cells. The possible binding sites of compounds on SARS-CoV-2 and ACE2 were predicted. **Results** Network

收稿日期: 2020-02-16

基金项目: 天津中医药大学治未病校级项目 (XJ201801)

作者简介: 杨璐, 硕士研究生, 研究方向为中西医结合治疗肝胆疾病。Tel: (022)59596195

*通信作者 王洪武, 博士研究生, 副教授, 主要从事内经理论和中药药理学研究。Tel: (022)59596195 E-mail: whw2009@tjutcm.edu.cn

pharmacology analysis indicated that 165 active compounds and 168 relative targets were selected. A total of 7006 targets related to fever were identified. In addition, 141 potential targets of XCH on fever were identified. Totally, 292 GO terms of XCHD on fever and 30 pathways were identified using GO and KEGG analysis. Furthermore, molecular docking indicated that main active compounds in XCHD exhibited higher affinity with both SARS-CoV-2 and ACE2. Beta-sitosterol, stigmasterol, 3'-hydroxy-4'-O-methylglabridin were top three candidates with highest affinity. **Conclusion** In summary, our study identified the potential mechanisms of XCHD on fever. Besides, Beta-sitosterol, stigmasterol, 3'-hydroxy-4'-O-methylglabridin could be the key compounds to exert anti-viral effects against SARS-CoV-2. Our prediction also provided the research fields to further study the mechanisms of XCH on SARS-CoV-2 infection in future.

Key words: Xiaochaihu Decoction; SARS-CoV-2; COVID-19; fever; network pharmacology; molecular docking; β -sitosterol; stigmasterol; 3'-hydroxy-4'-O-methylglabridin

从 2019 年 12 月开始, 以湖北省武汉市为重点区域, 在全国各省市范围内陆续发现多起新型冠状病毒引起的肺炎病例, 成为继严重急性呼吸综合征 (severe acute respiratory syndrome, SARS) 和中东呼吸综合征 (Middle East respiratory syndrome, MERS) 之后, 严重危害人民健康和公共安全的重大疫情之一。2020 年 2 月 11 日, 国际病毒分类委员会 (ICTV) 正式将新型冠状病毒命名为 SARS-CoV-2。世界卫生组织 (WHO) 也宣布将新型冠状病毒肺炎正式命名为 coronavirus disease 2019 (COVID-19)。COVID-19 因一种新发现的冠状病毒感染引发, 以强传染性以及高流行性为特点, 属中医的“疫病”范畴。由于目前尚无针对性特效药物, 而中医药在疫病的预防和治疗方面积累了丰富的经验, 国家卫生健康委员会建立了中医药应对机制, 组建了中医药专家队伍, 在临床已经取得了明显成效。

从中医角度看, 此病属“疫病”范畴, 病因为外感“疫疠之气”, 病位由表及里, 是正气虚弱, 邪毒壅肺所致。从其临床表现来看, 此病的典型症状为发热、干咳和乏力, 亦有患者伴心肌、消化道及神经系统问题。小柴胡汤源自汉代医家张仲景的《伤寒杂病论》, 主治“少阳病”, 少阳病位在半表半里之间, 典型表现为“口苦、咽干、目眩、往来寒热、胸胁苦满、默默不欲饮食, 心烦喜呕”, 与 COVID-19 症状基本相符。在既往的研究报道中, 小柴胡汤的主治症状以发热最为多见^[1], 尤其是感染性发热, 此外对免疫系统发热及不明诱因发热等亦有疗效^[2]。在应对 COVID-19 疫情中, 许多地区采用了小柴胡汤来治疗。如 2020 年 1 月 26 日广东省中医药局公布的关于防治 COVID-19 的第一版试行方案, 明确指出在 COVID-19 早期, 应用霍朴夏苓汤合小柴胡汤加减方来化湿解毒, 宣肺透邪; 国家卫生健康委员会和国家中医药管理局联合发布的“关于推荐在中西医结合救治新型冠状病毒感染的

肺炎中使用清肺排毒汤的通知”中, 清肺排毒汤一方, 也是由《伤寒杂病论》中的麻杏石甘汤、射干麻黄汤、小柴胡汤和五苓散 4 个经典方剂组合而成。从通知发出到使用至今, 通过更大范围的实践, 进一步证明了此方的医学价值。

中药复方以多成分-多靶点-多途径为最主要的特点, 现有的研究手段不足以阐明其作用机制。网络药理学基于系统生物学的理论, 对中药复方进行网络分析, 来揭示多分子药物协同作用于人体的机制, 与中医学的整体观不谋而合^[3]。分子对接是通过受体和药物分子 (配体) 之间的相互作用方式, 预测其结合模式和亲和力的一种计算机模拟方法^[4]。本研究首先通过网络药理学筛选出小柴胡汤的活性成分, 预测小柴胡汤治疗 COVID-19 发热的可能作用机制, 并在此基础上运用分子对接技术初步研究小柴胡汤在 COVID-19 治疗中抗病毒的作用机制。

1 材料与方法

1.1 小柴胡汤活性成分虚拟筛选

通过检索中药系统药理学数据库和分析平台 TCMSP (<http://ibts.hkbu.edu.hk/lsp/tcmsp.php>), 以“柴胡”“黄芩”“半夏”“甘草”“人参”“生姜”“大枣”作为关键词进行查询, 并查阅文献验证检索出的成分, 得到小柴胡汤的候选成分。传统中药多为口服制剂, 在人体必然经过吸收 (absorption)、分布 (distribution)、代谢 (metabolism)、排泄 (excretion) 过程 (ADME) 才能与靶器官、靶组织结合发挥药效, 口服生物利用度 (OB) 是 ADME 的参数, $OB \geq 30\%$ 的化合物被认为可被人体吸收利用^[5]。类药性 (DL) 是化合物成药的必需条件, DL 值代表成分与已知化学药的相似性, 一般认为 $DL \geq 0.18$ 的成分对机体产生活性具有重要参考价值^[6]。TCMSP 数据库中可以直接查询到每个化合物的 OB 和 DL 值, 页面带有过滤器, 结合文献报道, 用 $OB \geq 30\%$ 且 $DL \geq 0.18$ 进行筛选, 得到小

柴胡汤的有效成分。

1.2 潜在作用靶点预测和基因名注释

反向药效团搜索指通过预先构建好的含有多个药效团模型的药效团数据库,用单个分子结构去反向匹配,寻找与查询结构匹配较好的靶点。将得到的化学成分按名称输入到 Pubchem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 中,查询其 3D 结构,存储为 sdf 格式。再上传到 PharmMapper 平台服务器 (<http://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/>),该数据库整合了来自 TargetBank、DrugBank、BindingDB 和 PDTD 数据库的数据,拥有超过 7 000 个受体基础的药效团模型,包含 1 627 个药物和 459 个人类蛋白靶点的信息。基于 PharmMapper 服务器的药效团匹配法^[7],由该平台完成化学成分靶点的预测,从而得到有效成分作用的人源相关蛋白靶点。利用 UniProt 数据库 (<https://www.uniprot.org/>) 规范与活性成分相关的靶点蛋白,获得靶点对应的基因名。

1.3 疾病靶点筛选

在 OMIM 数据库 (<http://omim.org/>) 和 Genecards 数据库^[8] (<https://www.genecards.org>) 中输入关键词“fever”,搜索与发热相关的疾病靶点。运用 Venny 平台 (版本 2.1, <http://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>) 将小柴胡汤药效成分调控的靶点与发热的治疗靶点取交集,得到小柴胡汤治疗发热的交集靶点。

1.4 核心靶点的筛选及验证

String database (<https://string-db.org>) 是一个搜索已知蛋白间相互作用关系的数据库^[9]。将得到的交集靶点导入 String 数据库,获取蛋白相互作用关系。蛋白节点的连线越多,连线越粗,表明与其他蛋白关联度越大,更有可能成为核心靶点。在 RCSB (<https://www.rcsb.org/>) 数据库中下载核心靶点的立体结构,MAPK1 (PDB ID: 2OJG)、MAPK3 (PDB ID: 2ZOQ)、IL-6 (PDB ID: 1ALU)、TNF (PDB ID: 2AZ5)、VEGFA (PDB ID: 3BDY) 和 JUN (PDB ID: 5AEP) 以 pdb 格式进行保存,再与筛选出的前 20 个活性成分进行分子对接打分,验证二者是否能够较好结合。

1.5 Gene ontology (GO) 基因生物过程分析

将交集靶标导入 DAVID 数据库 (<http://www.david.niaid.nih.gov>) 中,进行基因功能 GO 富集分析。此数据库分别从细胞组成、分子功

能及生物过程 3 方面提供基因功能的详细注释^[10]。设定阈值 $P \leq 0.05$ 、 $q \leq 0.05$ 进行筛选,对相互作用的靶点进行功能富集分析。

1.6 Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) 基因通路富集分析

将核心靶标导入 KOBAS3.0 数据库 (<http://kobas.cbi.pku.edu.cn>) 中,应用 KEGG 功能进行通路分析。以 $P \leq 0.05$ 、 $q \leq 0.05$,且从小到大排序作为筛选条件,选取符合条件的前 20 位的 KEGG 通路。

1.7 “成分-靶点-通路”网络构建

利用 Cytoscape 3.7.2 (<http://www.cytoscape.org/>)^[11] 中的关联 (Merge) 功能,合并活性成分-关键靶点-通路网络图,在输出结果中,以不同颜色的节点 (node) 分别表示活性成分、靶点和通路。化合物和潜在靶点通过边缘 (edge) 相连,目标蛋白和通路也通过边缘相连。

1.8 主要成分与 SARS-CoV-2 和 ACE2 分子对接

有研究显示,SARS-CoV-2 与 SARS-CoV 这 2 种病毒感染均通过 S 蛋白与人体内血管紧张素转化酶 II (ACE2) 结合来侵入机体^[12-13]。利用分子对接软件分别对化合物与病毒 S 蛋白及 ACE2 的结合能力进行打分。在 RCSB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 中下载 SARS-CoV-2 (PDB ID: 6LU7) 和 ACE2 (PDB ID: 1R42) 的立体结构,以 pdb 格式进行保存。将大分子结构上的每个位点采用“假原子”形象表征出来用于对接计算,选择氨基酸数目最多的活性位点用于分子对接。接下来,对选取的靶蛋白进行准备,包括去除蛋白中的重复单元、加氢加电荷、选择力场和删除不必要的水分子等。然后对筛选出的 20 个最主要的活性成分配体进行能量最小化处理,确定蛋白的对接位点,选择基于配体-受体结合能力的打分函数 ASE 进行评估,从而得到每个化合物与受体的对接打分值,打分值为负数说明有结合,对接打分值越小,配体与受体的结合越牢固。

2 结果

2.1 小柴胡汤化学成分收集结果

小柴胡汤活性成分筛选共收集到 1 122 种成分,其中柴胡 288 种、黄芩 58 种、半夏 116 种、人参 90 种、甘草 280 种、生姜 64 种、大枣 126 种。查阅文献发现,槲皮素 (quercetin)、异鼠李素 (isorhamnetin)、山柰酚 (kaempferol) 为甘草、柴胡的主要成分^[14-15];黄芩素 (baicalein)、汉黄芩素 (wogonin)、5,7,2',6'-四羟基二氢黄酮醇 (5,7,2',6'-

tetrahydroxyflavone) 为黄芩的主要成分^[16]; β -谷甾醇 (beta-sitosterol)、松柏萜 (coniferin) 为半夏主要成分^[17-18]; 人参皂苷 (ginsenoside)、豆甾醇 (stigmasterol) 为人参的主要成分^[19]; 儿茶素 [(-)-catechin]、小檗碱 (berberine)、光千金藤碱

(stepharine) 为大枣主要成分^[20-21]; β -谷甾醇、6-甲基姜辣二醇双乙酸酯 (6-methylgingediacetate2) 为生姜主要成分^[22-23]。再以 $OB \geq 30\%$ 且 $DL \geq 0.18$ 作为条件, 对查询到的所有化学成分进行筛选, 发现 165 种化合物符合条件, 作为候选化合物 (表 1)。

表 1 小柴胡汤活性化合物的基本信息

Table 1 Basic information of some active compounds in XCHD

编号	化合物名称	OB/%	DL	来源药材	代码
MOL000096	(-)-catechin	49.676	0.242	大枣	M1
MOL000098	quercetin	46.433	0.275	大枣、甘草、柴胡	M2
MOL000211	mairin	55.377	0.776	大枣	M3
MOL000358	beta-sitosterol	36.914	0.751	大枣、半夏、人参、黄芩、生姜	M4
MOL000449	stigmasterol	43.830	0.757	大枣、半夏、人参、柴胡	M5
MOL000492	(+)-catechin	54.826	0.242	大枣	M6
MOL000627	stepholidine	33.106	0.541	大枣	M7
MOL000787	fumarine	59.263	0.827	大枣、人参	M8
MOL001454	berberine	36.861	0.777	大枣	M9
MOL001522	(S)-coclaurine	42.351	0.235	大枣	M10
MOL002773	beta-carotene	37.184	0.584	大枣	M11
MOL003410	zizipin_qt	66.945	0.619	大枣	M12
MOL004350	ruvoside_qt	36.121	0.757	大枣	M13
MOL005360	malkangunin	57.714	0.626	大枣、人参	M14
MOL007213	nuciferin	34.431	0.405	大枣	M15
MOL008034	ceanothic acid (21302-79-4)	73.522	0.766	大枣	M16
MOL012921	stepharine	31.548	0.334	大枣	M17
MOL012946	zizyphus saponin I_qt	32.691	0.619	大枣	M18
MOL012961	jujuboside A_qt	36.666	0.619	大枣	M19
MOL012976	coumestrol	32.487	0.337	大枣	M20
MOL012980	daechuine S6	46.485	0.792	大枣	M21
MOL012981	daechuine S7	44.818	0.828	大枣	M22
MOL012986	jujubasaponin V_qt	36.990	0.634	大枣	M23
MOL012989	jujuboside C_qt	40.262	0.619	大枣	M24
MOL012992	maurine D	89.125	0.453	大枣	M25
MOL006129	6-methylgingediacetate2	48.735	0.322	生姜	M26
MOL000239	jaranol	50.829	0.291	甘草	M27
MOL000354	isorhamnetin	49.604	0.306	甘草、柴胡	M28
MOL000359	sitosterol	36.914	0.751	甘草、黄芩	M29
MOL000392	formononetin	69.674	0.212	甘草	M30
MOL000417	calycosin	47.752	0.243	甘草	M31
MOL000422	kaempferol	41.882	0.241	甘草、人参、柴胡	M32
MOL000497	licochalcone A	40.790	0.285	甘草	M33
MOL000500	vestitol	74.655	0.209	甘草	M34
MOL001484	inermine	75.183	0.538	甘草	M35
MOL001792	liquiritigenin (DFV)	32.763	0.183	甘草	M36
MOL002311	glycyrol	90.776	0.668	甘草	M37
MOL002565	medicarpin	49.220	0.335	甘草	M38

续表 1

编号	化合物名称	OB/%	DL	来源药材	代码
MOL003656	lupiwighteone	51.636	0.367	甘草	M39
MOL003896	7-methoxy-2-methyl isoflavone	42.565	0.199	甘草	M40
MOL004328	naringenin	59.294	0.211	甘草	M41
MOL004805	(2S)-2-[4-hydroxy-3-(3-methylbut-2-enyl) phenyl]-8,8-dimethyl-2,3-dihydropyrano [2,3-f] chromen-4-one	31.787	0.724	甘草	M42
MOL004806	euchrenone	30.287	0.574	甘草	M43
MOL004808	glyasperin B	65.224	0.439	甘草	M44
MOL004810	glyasperin F	75.837	0.535	甘草	M45
MOL004811	glyasperin C	45.564	0.399	甘草	M46
MOL004814	isotrifoliol	31.945	0.424	甘草	M47
MOL004815	(E)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-(2,2-dimethylchromen-6-yl)prop-2-en-1-one	39.617	0.351	甘草	M48
MOL004820	kanzonols W	50.480	0.517	甘草	M49
MOL004824	(2S)-6-(2,4-dihydroxyphenyl)-2-(2-hydroxypropan-2-yl)-4-methoxy-2,3-dihydrofuro [3,2-g] chromen-7-one	60.250	0.634	甘草	M50
MOL004827	semilicoisoflavone B	48.778	0.547	甘草	M51
MOL004828	glepidotin A	44.722	0.347	甘草	M52
MOL004829	glepidotin B	64.463	0.345	甘草	M53
MOL004833	phaseolinisoflavan	32.008	0.445	甘草	M54
MOL004835	glypallichalcone	61.597	0.190	甘草	M55
MOL004838	8-(6-hydroxy-2-benzofuranyl)-2,2-dimethyl-5-chromenol	58.437	0.381	甘草	M56
MOL004841	licochalcone B	76.757	0.194	甘草	M57
MOL004848	licochalcone G	49.255	0.323	甘草	M58
MOL004849	3-(2,4-dihydroxyphenyl)-8-(1,1-dimethylprop-2-enyl)-7-hydroxy-5-methoxy-coumarin	59.622	0.429	甘草	M59
MOL004855	licoricone	63.578	0.471	甘草	M60
MOL004856	gancaonin A	51.075	0.404	甘草	M61
MOL004857	gancaonin B	48.794	0.449	甘草	M62
MOL004863	3-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-8-(3-methylbut-2-enyl) chromone	66.371	0.414	甘草	M63
MOL004864	5,7-dihydroxy-3-(4-methoxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl) chromone	30.489	0.410	甘草	M64
MOL004866	2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-6-(3-methylbut-2-enyl) chromone	44.152	0.415	甘草	M65
MOL004879	glycyrin	52.607	0.475	甘草	M66
MOL004882	licocoumarone	33.211	0.357	甘草	M67
MOL004883	lcoisoflavone	41.610	0.416	甘草	M68
MOL004884	lcoisoflavone B	38.929	0.547	甘草	M69
MOL004885	lcoisoflavanone	52.466	0.545	甘草	M70
MOL004891	shinpterocarpin	80.295	0.727	甘草	M71
MOL004898	(E)-3-[3,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-enyl) phenyl]-1-(2,4-dihydroxyphenyl) prop-2-en-1-one	46.268	0.306	甘草	M72
MOL004903	liquiritin	65.69	0.739	甘草	M73
MOL004904	licopyranocoumarin	80.36	0.654	甘草	M74
MOL004907	glyzaglabrin	61.069	0.353	甘草	M75
MOL004908	glabridin	53.245	0.470	甘草	M76
MOL004910	glabranin	52.896	0.312	甘草	M77
MOL004911	glabrene	46.267	0.439	甘草	M78
MOL004912	glabrone	52.512	0.496	甘草	M79
MOL004913	1,3-dihydroxy-9-methoxy-6-benzofurano [3,2-c] chromenone	48.142	0.428	甘草	M80
MOL004914	1,3-dihydroxy-8,9-dimethoxy-6-benzofurano [3,2-c] chromenone	62.901	0.528	甘草	M81

续表 1

编号	化合物名称	OB/%	DL	来源药材	代码
MOL004915	eurycarpin A	43.277	0.374	甘草	M82
MOL004924	(-)-medicocarpin	40.994	0.951	甘草	M83
MOL004935	sigmoidin-B	34.881	0.415	甘草	M84
MOL004941	(2 <i>R</i>)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl) chroman-4-one	71.123	0.183	甘草	M85
MOL004945	(2 <i>S</i>)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl) chroman-4-one	36.565	0.323	甘草	M86
MOL004948	isoglycyrol	44.699	0.838	甘草	M87
MOL004949	isolicoflavonol	45.170	0.419	甘草	M88
MOL004957	isoformononetin (HMO)	38.365	0.211	甘草	M89
MOL004959	1-methoxyphaseollidin	69.981	0.637	甘草	M90
MOL004961	quercetin der.	46.449	0.334	甘草	M91
MOL004966	3'-hydroxy-4'- <i>O</i> -Methylglabridin	43.715	0.574	甘草	M92
MOL004974	3'-methoxyglabridin	46.162	0.574	甘草	M93
MOL004978	2-[(3 <i>R</i>)-8,8-dimethyl-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyrano [6,5- <i>f</i>] chromen-3-yl]-5-methoxyphenol	36.214	0.521	甘草	M94
MOL004980	inflatocoumarin A	39.709	0.326	甘草	M95
MOL004985	icos-5-enoic acid	30.703	0.197	甘草	M96
MOL004988	kanzonol F	32.468	0.894	甘草	M97
MOL004989	6-prenylated eriodictyol	39.224	0.413	甘草	M98
MOL004990	7,2',4'-trihydroxy-5-methoxy-3-arylcoumarin	83.714	0.271	甘草	M99
MOL004991	7-Acetoxy-2-methylisoflavone	38.923	0.262	甘草	M100
MOL004993	8-prenylated eriodictyol	53.795	0.404	甘草	M101
MOL004996	gadelaideic acid	30.703	0.197	甘草	M102
MOL005000	gancaonin G	60.435	0.394	甘草	M103
MOL005001	gancaonin H	50.104	0.784	甘草	M104
MOL005003	licoagrocarpin	58.814	0.585	甘草	M105
MOL005007	glyasperins M	72.671	0.593	甘草	M106
MOL005008	glycyrrhiza flavonol A	41.275	0.595	甘草	M107
MOL005012	licoagroisoflavone	57.282	0.487	甘草	M108
MOL005013	18 α -hydroxyglycyrrhetic acid	41.161	0.709	甘草	M109
MOL005016	odoratin	49.948	0.305	甘草	M110
MOL005017	phaseol	78.766	0.579	甘草	M111
MOL005018	xambioona	54.849	0.874	甘草	M112
MOL005020	dehydroglyasperins C	53.823	0.370	甘草	M113
MOL002879	diop	43.593	0.392	人参	M114
MOL003648	inermin	65.831	0.538	人参	M115
MOL004492	chrysanthemaxanthin	38.724	0.584	人参	M116
MOL005308	aposiopolamine	66.647	0.220	人参	M117
MOL005317	deoxyharringtonine	39.274	0.812	人参	M118
MOL005318	dianthramine	40.446	0.197	人参	M119
MOL005320	arachidonate	45.573	0.205	人参	M120
MOL005321	frutinone A	65.904	0.342	人参	M121
MOL005344	ginsenoside rh2	36.320	0.559	人参	M122
MOL005348	ginsenoside-rh4_qt	31.112	0.778	人参	M123
MOL005356	girinimbin	61.215	0.315	人参	M124
MOL005376	panaxadiol	33.088	0.794	人参	M125
MOL005384	suchilactone	57.519	0.556	人参	M126
MOL005399	alexandrin_qt	36.914	0.753	人参	M127
MOL000173	wogonin	30.685	0.229	黄芩	M128
MOL000228	(2 <i>R</i>)-7-hydroxy-5-methoxy-2-phenylchroman-4-one	55.233	0.202	黄芩	M129
MOL000525	norwogonin	39.404	0.207	黄芩	M130

续表 1

编号	化合物名称	OB/%	DL	来源药材	代码
MOL000552	5,2'-dihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavone	31.712	0.355	黄芩	M131
MOL001689	acacetin	34.974	0.241	黄芩	M132
MOL002714	baicalein	33.519	0.209	黄芩	M133
MOL002909	5,7,2,5-tetrahydroxy-8,6-dimethoxyflavone	33.816	0.447	黄芩	M134
MOL002910	carthamidin	41.151	0.242	黄芩	M135
MOL002913	dihydrobaicalin_qt	40.038	0.207	黄芩	M136
MOL002914	eriodictiol	41.350	0.244	黄芩	M137
MOL002915	salvigenin	49.066	0.333	黄芩	M138
MOL002917	5,2',6'-trihydroxy-7,8-dimethoxyflavone	45.047	0.331	黄芩	M139
MOL002925	5,7,2',6'-tetrahydroxyflavone	37.013	0.244	黄芩	M140
MOL002927	skullcapflavone II	69.510	0.438	黄芩	M141
MOL002928	oroxylin A	41.368	0.232	黄芩	M142
MOL002932	panicolin	76.257	0.292	黄芩	M143
MOL002933	5,7,4'-trihydroxy-8-methoxyflavone	36.562	0.267	黄芩	M144
MOL002934	neobaicalein	104.34	0.439	黄芩	M145
MOL002937	dihydrooroxylin	66.062	0.231	黄芩	M146
MOL000490	petunidin	30.046	0.307	柴胡	M147
MOL001645	linoleyl acetate	42.101	0.198	柴胡	M148
MOL002776	baicalin	40.124	0.753	柴胡	M149
MOL004598	3,5,6,7-tetramethoxy-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl) chromone	31.975	0.593	柴胡	M150
MOL004609	areapillin	48.964	0.414	柴胡	M151
MOL004624	longikaurin A	47.722	0.530	柴胡	M152
MOL004653	(+)-anomalin	46.055	0.657	柴胡	M153
MOL004702	saikosaponin c_qt	30.505	0.632	柴胡	M154
MOL004718	α -spinasterol	42.979	0.757	柴胡	M155
MOL013187	cubebin	57.128	0.640	柴胡	M156
MOL000519	coniferin	31.110	0.323	半夏	M157
MOL001755	24-ethylcholest-4-en-3-one	36.084	0.757	半夏	M158
MOL002670	cavidine	35.642	0.805	半夏	M159
MOL003578	cycloartenol	38.686	0.781	半夏	M160
MOL005030	gondoic acid	30.703	0.197	半夏	M161
MOL006936	10,13-eicosadienoic	39.994	0.200	半夏	M162
MOL006937	12,13-epoxy-9-hydroxynonadeca-7,10-dienoic acid	42.152	0.242	半夏	M163
MOL006957	(3S,6S)-3-(benzyl)-6-(4-hydroxybenzyl) piperazine-2,5-quinone	46.889	0.270	半夏	M164
MOL006967	beta-D-ribofuranoside, xanthine-9	44.719	0.208	半夏	M165

2.2 活性成分靶点收集结果

将筛选出的有效成分名称输入 Pubchem 数据库,得到的化合物结构导入到 PharmMapper 预测靶点,去重后共得到 168 个活性成分靶点,再将得到的靶点名称输入 UniProt 数据库,转换成对应的基因名。

2.3 疾病靶点收集结果

在 OMIM 数据库、Genecards 数据库中以“fever”(发热)作为关键字进行搜索,发现 7 006 个潜在作用靶点。将药物有效成分的靶点与疾病的靶点交叉,最终得到 141 个可能与小柴胡汤治疗发热作用相关的靶点(图 1)。

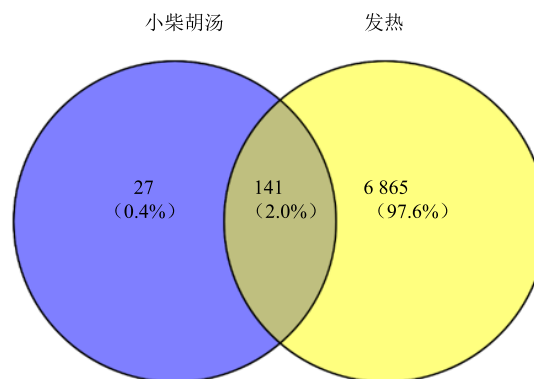


图 1 药物靶点-疾病靶点韦恩图

Fig. 1 Common targets of drug and disease

2.4 核心靶点筛选及分子对接验证结果

String 数据库构建的蛋白相互作用网络中包含 141 个靶蛋白节点, 共有 1 515 条相互作用连线, 平均度值为 21.6。其中度值较大的有 MAPK3、IL6、VEGFA、TNF、JUN、MAPK1 均与其他蛋白相互作用较强 (图 2)。分子对接结果显示, 筛选出的核心靶点与关联度最大的 20 个活性成分结合度打分均为负数且数值较小, 证明核心靶点和活性成分确有较好结合 (表 2)。

2.5 GO 基因功能富集分析结果

将疾病和药物交集的关键靶点输入 DAVID 数据库, 根据 $P \leq 0.05$ 且 $q \leq 0.05$ 筛选出 292 个 GO 条目。其中生物过程 (biological process, BP) 89 个, 占比 30%; 细胞组成 (cellular component, CC) 81 个,

占比 28%; 分子功能 (molecular function, MF) 122 个, 占比 42%。得出小柴胡汤治疗发热的作用机制可能与 G 蛋白偶联受体、神经递质受体、类固醇激素受体、核受体等受体活性有关。同时有铵离子、血红素、神经递质、蛋白酶等多种物质参与。涉及到免疫、氧化还原、细胞代谢等分子功能。具体见图 3。

2.6 KEGG 基因通路富集分析结果

将疾病和药物交集的关键靶点输入 KOBAS 3.0 数据库, 共富集到 30 条通路。根据 $P \leq 0.05$ 选取排名靠前的 20 条通路。分析显示靶点显著富集于神经活性配体-受体相互作用通路、信号转导通路、MAPK 通路、辅助性 T 细胞 17 信号通路、白细胞介素信号通路、钙离子信号通路、肿瘤坏死因子信号通路、核受体信号通路等多个通路 (表 3)。

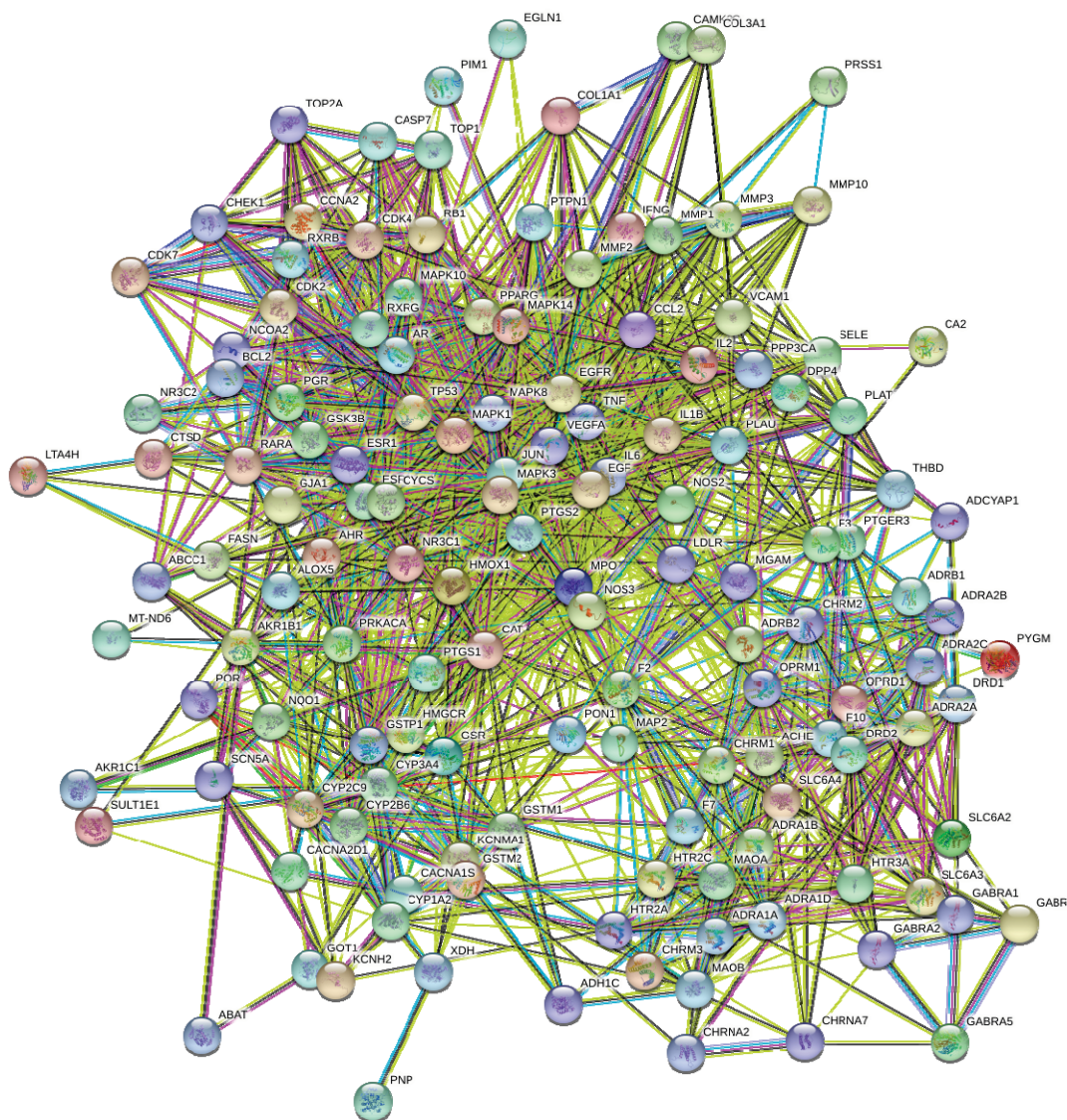


图 2 交集靶点相互作用网络

Fig. 2 Network interaction map of common targets

表 2 核心靶点分子对接结果
Table 2 Molecular docking results of key targets

化合物	对接打分值/(kJ·mol ⁻¹)					
	MAPK3	IL6	VEGFA	TNF	JUN	MAPK1
乌药碱	-20.417 4	-12.605 2	-19.589 4	-17.901 9	-24.844 8	-17.901 9
3'-羟基-4'-O-甲基葡萄糖苷	-26.988 0	-16.540 3	-24.028 5	-19.374 8	-27.568 2	-19.374 8
美洲茶酸	-19.941 8	-14.978 7	-15.616 7	-15.897 7	-20.963 9	-15.897 7
黄芩素	-16.797 3	-13.802 8	-14.675 9	-11.024 7	-16.944 9	-11.024 7
β-谷甾醇	-28.461 8	-16.817 7	-28.212 0	-22.508 3	-34.845 6	-22.508 3
小檗碱	-21.881 9	-12.032 8	-17.491 7	-17.977 8	-24.388 2	-17.977 8
芒柄花素	-18.057 0	-9.415 0	-15.875 0	-14.053 2	-18.001 0	-14.053 2
富马碱	-19.452 5	-6.462 2	-17.567 5	-16.740 4	-20.199 8	-16.740 4
异鼠李素	-18.138 6	-6.510 1	-15.358 9	-13.036 6	-18.461 3	-13.036 6
山柰酚	-15.315 4	-6.814 8	-15.021 7	-12.779 3	-17.025 1	-12.779 3
美迪紫檀素	-18.051 8	-6.338 0	-15.200 2	-14.281 1	-18.740 6	-14.281 1
柚皮素	-17.634 1	-6.820 2	-14.051 5	-13.824 7	-17.410 7	-13.824 7
荷叶碱	-22.526 6	-7.305 2	-16.867 3	-16.448 9	-20.520 6	-16.448 9
槲皮素	-15.071 2	-16.359 5	-14.927 4	-12.840 4	-16.843 6	-12.840 4
神龙果碱	-20.704 2	-6.255 1	-18.469 1	-15.741 0	-21.969 1	-15.741 0
光千金藤碱	-22.196 1	-7.054 8	-15.369 9	-16.133 9	-18.744 9	-16.133 9
千金藤啶碱	-21.940 7	-6.203 2	-16.993 5	-15.143 0	-20.447 0	-15.143 0
豆甾醇	-28.274 5	-13.748 9	-27.463 6	-22.118 3	-34.542 8	-22.118 3
维斯体素	-18.429 0	-6.632 3	-16.051 7	-15.853 8	-19.580 1	-15.853 8
汉黄芩素	-18.513 9	-6.443 6	-15.105 4	-13.349 4	-17.880 8	-13.349 4

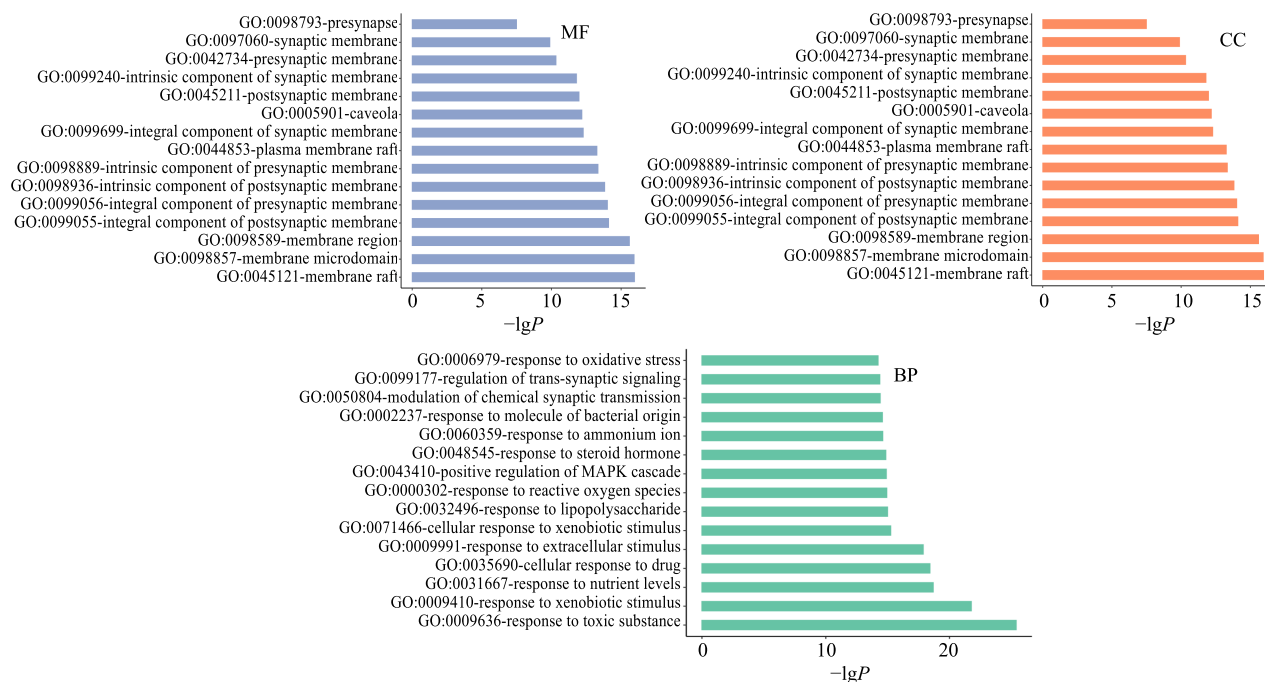


图 3 GO 基因功能富集分析

Fig. 3 GO enrichment analysis of targets of XCHD

2.7 成分-靶点-通路网络构建

选取核心的 30 个基因，制作“成分-靶点-通路”的网络关系表，将其导入 Cytoscape 3.7.2 软件，构

建小柴胡汤治疗新冠肺炎发热的成分-靶点-通路网络图。如图所示，每个活性成分可作用于多个靶点（图 4）。

表 3 KEGG 通路富集分析结果
Table 3 KEGG enrichment analysis of targets of XCHD

序号	通路	基因数量	序号	通路	基因数量
1	pathways in cancer	40	11	metabolism	42
2	signal transduction	62	12	heterotrimeric G-protein signaling pathway-Gi alpha and Gs alpha mediated pathway	18
3	MAPK signaling pathway	22	13	calcium signaling pathway	19
4	fluid shear stress and atherosclerosis	22	14	IL-17 signaling pathway	15
5	neuroactive ligand-receptor interaction	27	15	cellular responses to stress	22
6	immune system	45	16	human cytomegalovirus infection	18
7	signaling by interleukins	30	17	Th17 cell differentiation	15
8	interleukin-4 and interleukin-13 signaling	19	18	hemostasis	24
9	amine ligand-binding receptors	15	19	generic transcription pathway	30
10	cytokine signaling in immune system	31	20	TNF signaling pathway	15

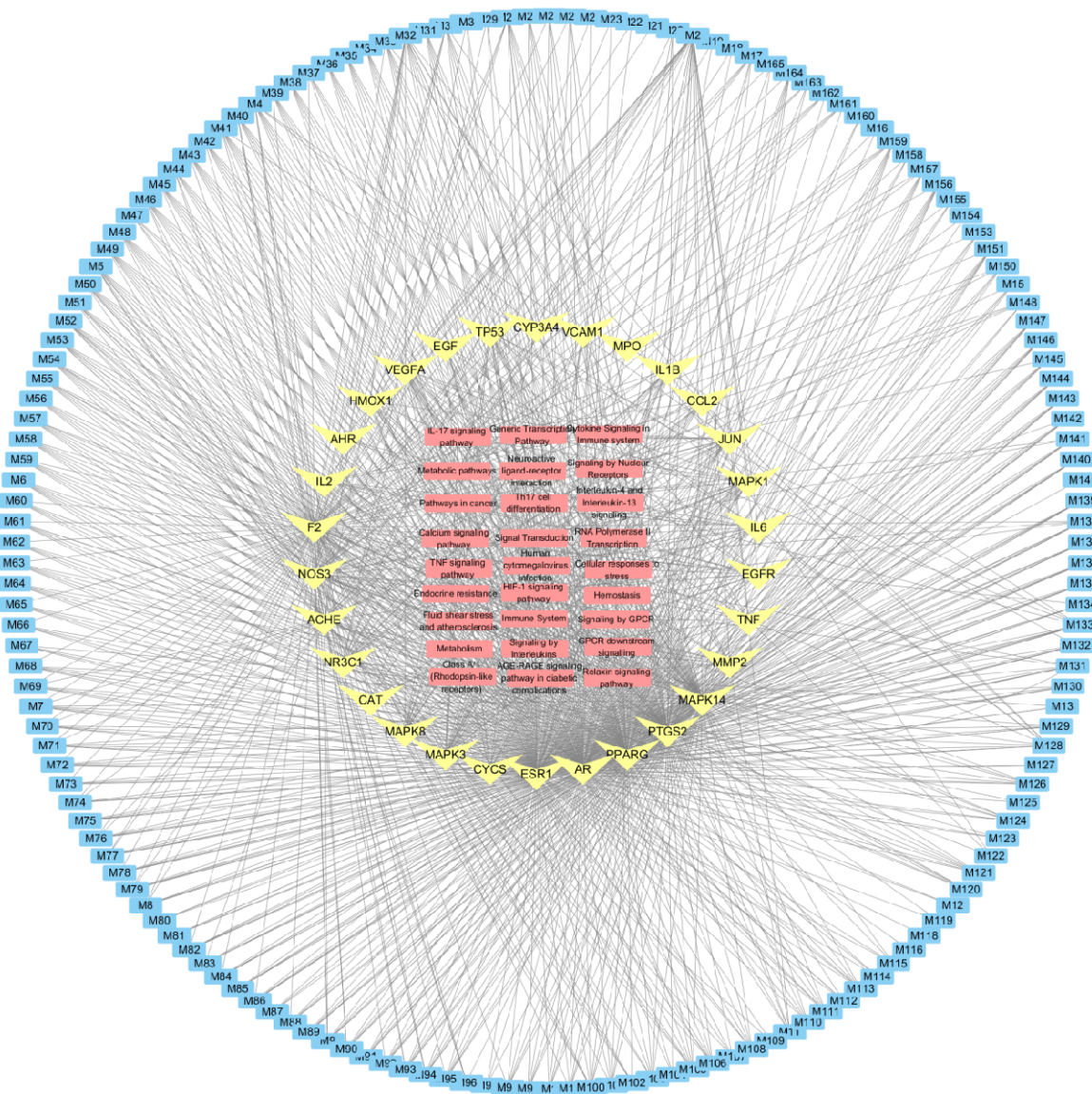


图 4 小柴胡汤治疗发热“成分-靶点-通路”网络

Fig. 4 Compound-target-pathway network of XCHD in treating fever

2.8 活性成分与病毒及 ACE2 分子对接结果

选取关联度最大的 20 个活性成分,以及中国科学院上海药物研究所筛选出的 10 种可能对 COVID-19 有治疗作用的药物,包括阿比朵尔 (Arbidol)、阿扎那韦 (Atazanavir)、地瑞那韦 (Darunavir)、茚地那韦 (Indinavir)、卡非佐米 (Kymprolis)、瑞德西韦 (Remdesivir)、洛匹那韦 (Lopinavir)、沙奎那韦 (Saquinavir)、利托那韦 (Ritonavir)、替拉那韦 (Tipranavir) 分别与 ACE2 和 SARS-CoV-2 3CL 水解酶进行分子对接。ACE2 的分子结合位点为 ASN33、HIS34、GLU35、GLU37、ASP38、LYS353、ALA386、ALA387、GLN388、PRO389、PHE390、ARG393、LYS390、ASP392、ASP393、ARG395、GLN396、THR402、GLY403、

VAL 404、TYR440、ASN479、ASP480、TYR481、GLY482、TYR491; SARS-CoV-23CL 水解酶的结合位点为 THR24、THR25、THR26、LEU27、HIS41、CYS44、THR45、SER46、MET49、PRO52、TYR54、PHE140、LEU141、ASN142、GLY143、SER144、CYS145、HIS163、HIS164、MET165、GLU166、LEU167、PRO168、HIS172、ASP187、ARG188、GLN189、THR190、GLN192。分子对接打分值见表 4,相互作用和 3D 组合图见图 5、6。

3 讨论

COVID-19 肆虐全国,来势汹汹,防控治疗刻不容缓。然而目前发现的几种药物,例如蛋白酶抑制剂茚地那韦、沙奎那韦、卡非佐米等,是否有确切的疗效尚未可知。吉利德公司的在研药物瑞德西

表 4 小柴胡汤活性成分与 ACE2 蛋白和 SARS-CoV-2 3CL 水解酶分子对接打分结果

Table 4 Molecular docking of ACE2 and SARS-Cov-2 3CL hydrolase with active components in XCHD

化合物	相对分子质量	对接打分值/(kJ·mol ⁻¹)	
		ACE2	SARS-CoV-2 3CL 水解酶
乌药碱	354.40	-18.995 573 0	-19.993 192 7
3'-羟基-4'-O-甲基葡萄糖苷	486.69	-23.244 676 6	-26.350 278 9
美洲茶酸	285.34	-16.998 065 9	-18.991 529 5
黄芩素	270.24	-13.760 027 9	-15.213 664 1
β-谷甾醇	414.72	-25.019 369 1	-28.696 895 6
小檗碱	353.42	-19.294 504 2	-19.429 182 1
芒柄花素	268.27	-15.236 953 7	-15.955 309 9
富马碱	353.37	-18.221 286 8	-20.143 386 8
异鼠李素	316.26	-15.120 672 2	-16.390 584 9
山柰酚	286.24	-13.789 098 7	-14.921 587 9
美迪紫檀素	270.28	-15.511 051 2	-17.332 973 5
柚皮素	272.26	-13.804 211 6	-15.650 540 4
荷叶碱	295.38	-16.632 114 4	-19.730 890 3
槲皮素	302.24	-14.757 607 5	-14.691 321 4
神龙果碱	322.36	-17.439 111 7	-18.481 096 3
光千金藤碱	297.35	-16.710 243 2	-18.949 502 9
千金藤啶碱	327.38	-17.488 046 6	-19.518 684 4
豆甾醇	412.70	-25.124 227 5	-28.534 603 1
维斯体素	272.30	-17.159 479 1	-18.070 619 6
汉黄芩素	284.27	-15.063 438 4	-15.563 592 0
阿比朵尔	477.42	-20.932 855 6	-22.798 049 9
阿扎那韦	704.87	-31.649 086 0	-26.725 761 4
地瑞那韦	547.67	-25.295 223 2	-25.457 687 4
茚地那韦	613.80	-22.482 975 0	-27.452 955 2
卡非佐米	719.72	-26.582 576 8	-27.793 777 5
洛匹那韦	628.81	-20.274 507 5	-27.367 406 8
瑞德西韦	602.58	-21.925 197 6	-23.588 062 3
利托那韦	720.96	-22.820 331 6	-24.689 704 9
沙奎那韦	670.85	-28.234 226 2	-29.122 003 6
替拉那韦	602.67	-24.240 388 9	-25.772 005 1

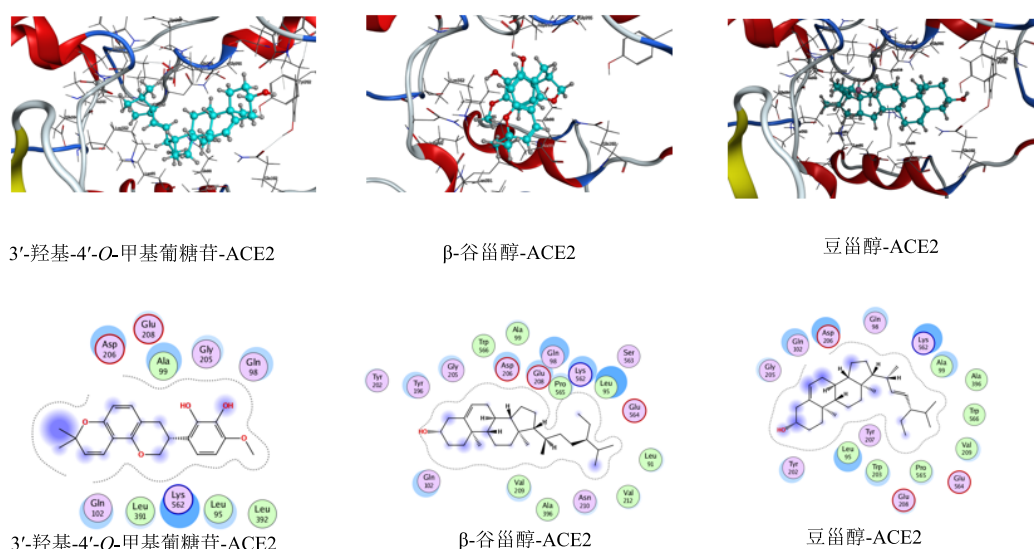


图 5 β-谷甾醇、豆甾醇、3'-羟基-4'-O-甲基葡萄糖苷与 ACE2 分子对接模式

Fig. 5 Molecular docking diagram of ACE2 with β-sitosterol, stigmasterol and 3'-hydroxy-4'-O-methylglabridin

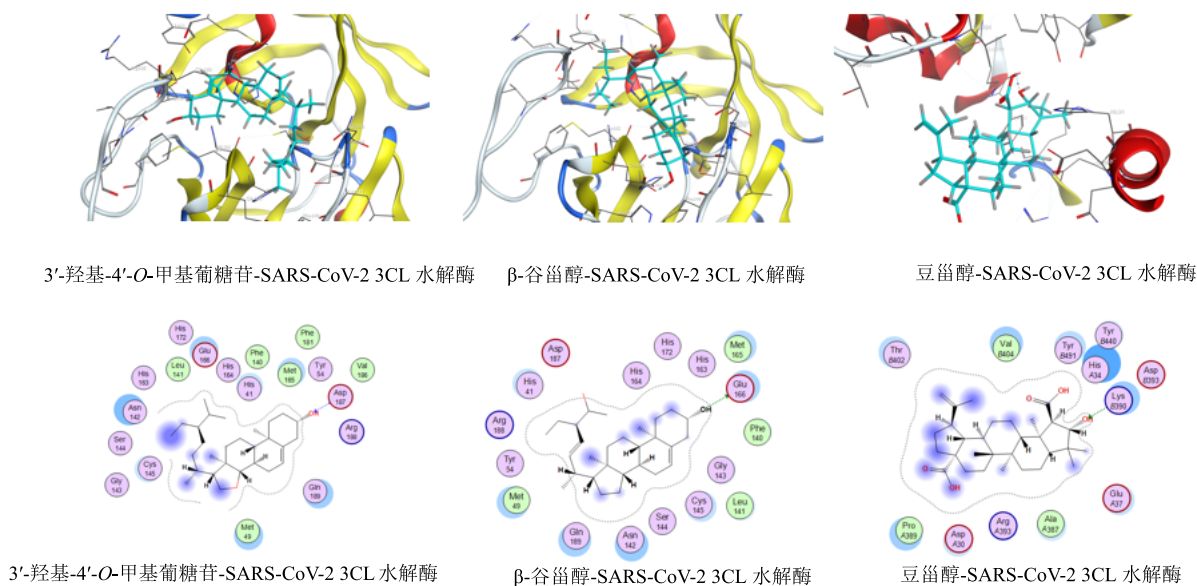


图 6 β-谷甾醇、豆甾醇、3'-羟基-4'-O-甲基葡萄糖苷与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶分子对接模式

Fig. 6 Molecular docking diagram of SARS-CoV-2 3CL hydrolase with β-sitosterol, stigmasterol and 3'-hydroxy-4'-O-methylglabridin

韦被证明对 SARS-CoV-2 有一定的抑制作用, 但未获得上市许可或批准, 仍处于试验性阶段。阿比朵尔、达芦那韦 2 种药物的生物活性较差, 也缺乏临床试验和研究数据。

中医药在 COVID-19 的治疗中发挥了十分重要的作用。从中医角度看, 此次疫情发病急, 病势重, 传染性强, 老少皆能致病。其病位既在肺, 又在脾、胃、肠道。既属于疫毒犯肺之实证, 亦有正气不足

之虚象。因此治疗上, 祛邪的同时要兼顾扶正。从临床表现上看, 患者初期大多表现为退而复发的往来寒热, 又有口苦咽干、恶寒无汗、头身疼痛等症, 是典型的少阳病的表现。少阳经主司开关, 中医称之为“枢纽”, 邪气侵扰少阳, 往往表现为正邪交争, 分庭抗战, 当正气尚能抗邪时, 正邪交争而发热; 当正气不足, 邪进正退, 则表现为恶寒。小柴胡汤有和解少阳、清热祛邪的功效, 同时对疫

病发热有很好疗效。许多医家曾用小柴胡汤治疗疫病。明代《济阴纲目》记载：“小柴胡汤治瘟疫，内虚发热，胸胁痞满，及在半表半里，非汗非下之证。”甚至一些史书中也有记载，《宋史·五行志》：“夏，行都又疫，高宗出柴胡制药，活者甚众。”也有许多临床案例证明，小柴胡汤治疗外感发热效果很好，能够有效防止退热后复发的情况^[24]。通过网络药理学成分筛选、靶点预测和网络分析，发现占据网络中心位置的丝裂原活化蛋白激酶 3 (MAPK3)、白细胞介素 6 (IL6)、血管内皮生长因子 A (VEGFA)、肿瘤坏死因子 (TNF)、原癌基因 c-JUN、丝裂原活化蛋白激酶 1 (MAPK1) 等在小柴胡汤的药理功能中起关键作用，可能是核心靶点。网络拓扑分析显示，小柴胡汤治疗 COVID-19 发热的过程中，涉及到多种生物过程、细胞组成和分子功能，是一个复杂的过程。同时，核心靶点显著富集于神经活性配体-受体相互作用通路、信号转导通路、MAPK 通路、辅助性 T 细胞 17 信号通路、白细胞介素信号通路、钙离子信号通路、肿瘤坏死因子信号通路、核受体信号通路等多个通路。COVID-19 的发热是感染性炎症所致的发热，MAPK 是信号从细胞表面传导到细胞核内部的重要传递者，它们调控着许多生理活动，如炎症、凋亡、癌化、肿瘤细胞的侵袭和转移^[25]。MAPK 信号通路在炎症反应中发挥重要作用，原癌基因 c-JUN 的末端激酶 (JNK) 是 MAPK 信号通路的另一亚类。一些促炎性因子如 TNF- α 、白细胞介素家族 (IL1、IL6 等) 都可以激活 JNK 通路从而加剧炎症反应^[26]。VEGF 通过炎症刺激、血管通透性增加、血管生成增多 3 个方面形成恶性循环，使炎症反应持续存在^[27]。辅助性 T 细胞 17 (Th17) 可分泌 IL-17、IL-6 和 TNF- α 等多种效应因子，IL-17 可通过诱导趋化因子和多种促炎细胞因子 (如 IL-6 和 TNF- α) 来介导炎症反应^[28]。因此推测 SARS-CoV-2 可能是通过激活白细胞介素受体，启动 MAPK 途径，增加 TNF- α 、IL-6、IL-8 等炎性因子的表达，发生局部炎症反应，引起发热。而小柴胡汤可能通过调节 MAPK 通路中的关键靶点，抑制炎症反应发生，从而起到治疗 COVID-19 发热的效果。这个推测有一定的科学性：周必发等^[29]研究发现，与正常小鼠相比，H7N9 禽流感病毒感染的肺损伤小鼠模型中 TNF- α 、IL-1、IL-6、JNK 水平显著升高，揭示了 H7N9 禽流感病毒感染小鼠的肺损伤部分由 JNK/MAPK 通路的激

活所介导。谢璟等^[30]研究发现，肺炎链球菌肺炎小鼠的肺间质有大量炎性细胞浸润，IL-1、IL-6、TNF- α 水平较正常组增高，MAPK mRNA 及蛋白表达均较正常组增高，提示 MAPK 信号通路活化参与调控肺炎链球菌肺炎小鼠肺组织的炎症反应。

冠状病毒侵入宿主细胞是其感染的前提。在 SARS-CoV 发生时期，科学家们发现，SARS-CoV 主要依赖于病毒的 S 蛋白与受体细胞黏膜表面的 ACE2 结合^[31]。石正丽团队研究发现，SARS-CoV-2 进入细胞的受体也是 ACE2，结合方式与 SARS-CoV 相同。ACE2 是一种由 805 个氨基酸组成的 I 型跨膜蛋白，主要分布在肺脏、肾脏、睾丸、心脏等组织。就肺部而言，肺血管内皮细胞、支气管上皮细胞、肺泡细胞等都有表达^[32]。冠状病毒通过 S 蛋白侵入宿主细胞的机制，以 SARS-CoV 为例，SARS-CoV 的 S 蛋白包括 2 个亚基 S1 和 S2^[33]。S1 含有一个重要的受体结合域 (RBD)，正是这个位置与 ACE2 结合形成病毒体-ACE2 复合物，然后将病毒体-ACE2 复合物转运并通过融合肽进入靶细胞的内膜。在融合肽插入到内膜膜后，S 蛋白中的 (HR1 和 HR2) 结构域相互作用，形成六螺旋束 (6Hb) 核心，这将病毒包膜和细胞质膜紧密地融合在一起。病毒 RNA 基因组随后被释放到细胞质中^[34-35]。随后，转录病毒 RNA 的负链，并通过翻译产生 SARS-CoV 的结构蛋白^[36]。包装细胞质病毒 RNA 和结构蛋白以形成新病毒，并从感染的细胞中释放出病毒，以感染支气管和肺中的其他细胞。

通过分子对接，发现小柴胡汤的主要成分中 β -谷甾醇 (β -sitosterol)、豆甾醇 (stigmasterol) 和 3'-羟基-4'-O-甲基葡萄糖苷 (3'-hydroxy-4'-O-methylglabridin) 与病毒和 ACE2 的结合度都很高。从以上 3 种成分与 ACE2 的相互作用图和 3D 空间构象可以看出，这 3 种成分与 ACE2 都有很强的结合力，从而抑制病毒 S 蛋白与 ACE2 结合。同时，3 种成分与 SARS-CoV-2 的相互作用和 3D 空间构象表明，其与病毒的结合能力也很强，亦有可能直接针对病毒发挥作用。

综上所述，COVID-19 发病初期，属外邪犯肺入里化热，临床表现为往来寒热、口苦咽干、胸胁满闷、心烦喜呕的患者，可用小柴胡汤来和解少阳，清热祛邪。本研究采用网络药理学方法研究小柴胡汤活性成分治疗 COVID-19 发热的作用机制，经过查阅相关文献，验证了预测结果与其他实验研

究的结果有较高的一致性,说明了这一方法的可行性,为后续研究提供了参考。中药复方的成分复杂,数据库不能收录所有的活性成分,且药物质量难以控制,网络药理学只是完成了初步的分析,具体的作用机制尚需要基础实验和临床试验进一步验证研究。

参考文献

- [1] 赵裕沛,王兴华.小柴胡汤临床应用近况[J].甘肃中医,2006,19(12):42-44.
- [2] 张玲玲,史欣德.小柴胡汤治疗发热的调查分析[J].辽宁中医学院学报,2003,5(4):311-313.
- [3] 邓燕君,刘博文,贺翔翔,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.
- [4] 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(6):1397-1403.
- [5] Xu X, Zhang W X, Huang C, *et al.* A Novel chemometric method for the prediction of human oral bioavailability [J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(12): 6964-6982.
- [6] Tao W Y, Xu X, Wang X, *et al.* Network pharmacology-based prediction of the active ingredients and potential targets of Chinese herbal *Radix Curcumae* formula for application to cardiovascular disease [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 145(1): 1-10.
- [7] 宗阳,丁美林,马世堂,等.以血管紧张素转换酶II(ACE2)为受体挖掘治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)潜在中药及单体成分[J].中草药,2020,51(5):1123-1129.
- [8] Hong L Y, Yan Y C, Xu L, *et al.* Therapeutic target database update 2018: Enriched resource for facilitating bench-to-clinic research of targeted therapeutics [J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(D1): 1121-D1127.
- [9] Shannon P, Markiel A, Ozier O, *et al.* Cytoscape: A software environment for integrated models of biomolecular interaction networks [J]. *Genome Res*, 2003, 13(11): 2498-2504.
- [10] Ashburner M, Ball C A, Blake J A, *et al.* Gene ontology: Tool for the unification of biology [J]. *Gene*, 2000, 25(1): 25-29.
- [11] Martina K, Thomas K, Pooja M, *et al.* Cytoscape: A cytoscape app to integrate regulatory interactions in network analysis [J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): 82160.
- [12] Xu X T, Chen P, Wang J F, *et al.* Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission [J/OL]. *Sci China Life Sci*, [2020-02-16]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5841.q.20200204.1852.046.html>.
- [13] Li F, Li W, Farzan M, *et al.* Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with receptor [J]. *Science*, 2005, 309(5742): 1864-1868.
- [14] 高丽萍.柴胡有效成分与药理作用探究[J].临床医药文献电子杂志,2017,4(70):13853-13854.
- [15] 张丹丹.浅谈甘草成分及其功效[J].中国中医药现代远程教育,2012,10(21):128-129.
- [16] 郑勇凤,王佳婧,傅超美,等.黄芩的化学成分与药理作用研究进展[J].中成药,2016,38(1):141-147.
- [17] 杨秀伟,韩美华,钟国跃,等.半夏中抑制肿瘤坏死因子- α 产生的新脑苷[J].中草药,2008,39(4):485-490.
- [18] 武峰,秦志丰,李勇进,等.半夏化学成分抗肿瘤研究进展[J].中华中医药学刊,2013,31(2):270-272.
- [19] 林彦萍,张美萍,王康宇,等.人参皂苷生物合成研究进展[J].中国中药杂志,2016,41(23):4292-4302.
- [20] 陈熹,李玉洁,杨庆,等.大枣现代研究开发进展与展望[J].世界科学技术—中医药现代化,2015,17(3):687-691.
- [21] 陈剑平,李中桂,张尚斌,等.大枣神经保护作用的活性组分筛选及其作用机制研究[J].中国药房,2016,27(25):3495-3498.
- [22] 宣伟东,卞俊,袁兵,等.生姜化学成分的研究[J].中草药,2008,39(11):1616-1619.
- [23] 吴建华,张丽君.药用姜研究进展[J].陕西中医学院学报,2002,25(1):61-63.
- [24] 聂锦坤.小柴胡汤合三仁汤加减治疗外感热病疗效观察[J].山西中医,2020,36(1):39-56.
- [25] 多玥荷,孙莉娜,应森林,等.西黄丸通过 ERK/MAPK 信号通路对人结肠癌裸鼠移植瘤的影响[J].中华中医药杂志,2013,28(10):3055-3058.
- [26] 卫智权,阎莉,邓家刚,等.芒果苷对脂多糖诱导的慢性炎症大鼠 MAPK 通路及血清细胞因子的影响[J].中草药,2013,44(1):52-58.
- [27] 刘永生,周发春.哮喘患者血清 IL-13、TGF- β 1、VEGF 表达变化及与气道炎症、重塑的关系探讨[J].重庆医科大学学报,2012,37(10):880-883.
- [28] 陈光华,陈教华,张磊昌.姜黄素通过 IL-6/STAT3 信号通路调控 Th17/Treg 平衡治疗溃疡性结肠炎[J].中国病理生理杂志,2019,35(11):2092-2097.
- [29] 周必发,厉迪峰.JNK/MAPK 通路 H7N9 禽流感病毒感染小鼠模型肺损伤的关系研究[J].病毒学报,2019,35(06):873-879.
- [30] 谢璟,王荣丽.大黄素对肺炎链球菌肺炎小鼠肺组

- 织炎症反应及 p38 MAPK 表达的影响 [J]. 山东医药, 2018, 58(30): 44-47.
- [31] Li W, Moore M J, Vasilieva N, *et al.* Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus [J]. *Nature*, 2003, 426(6965): 450-454.
- [32] Alenina N, Bader M. ACE2 in Brain physiology and pathophysiology: Evidence from transgenic animal models [J]. *Neurochem Res*, 2019, 44(6): 1323-1329.
- [33] Li F. Structure, function, and evolution of coronavirus spike proteins [J]. *Annual Rev Virol*, 2016, 3(1): 110615-042301.
- [34] Yang Z Y, Huang Y, Ganesh L, *et al.* PH-dependent entry of severe acute respiratory syndrome coronavirus is mediated by the spike glycoprotein and enhanced by dendritic cell transfer through DC-SIGN [J]. *J Virol*, 2004, 78(11): 5642-5650.
- [35] Wang H, Yang P, Liu K, *et al.* SARS coronavirus entry into host cells through a novel clathrin- and caveolae-independent endocytic pathway [J]. *Cell Res*, 2008, 18(2): 290-301.
- [36] Zhu X, Liu Q, Du L, *et al.* Receptor-binding domain as a target for developing SARS vaccines [J]. *J Thoracic Dis*, 2013, 5(2): 142-148.