

基于网络药理学的麻杏石甘汤治疗新型冠状病毒肺炎（COVID-19）作用机制探讨

王哲义^{1,2,3}, 孙泽泽¹, 曲稔栋², 刘碧原², 樊竹², 田金洲³, 卢涛^{2*}

1. 北京中医药大学, 北京 100029

2. 北京中医药大学生命科学院, 北京 100029

3. 北京中医药大学附属东直门医院, 北京 100010

摘要: 目的 通过网络药理学探讨麻杏石甘汤治疗新型冠状病毒肺炎（COVID-19）的作用靶点及信号通路, 阐述其可能的作用机制。方法 从 TCMSP 和 TCMID 数据库搜索麻杏石甘汤 4 味中药的活性成分及靶点, 使用 GeneCards 及 NCBI 数据库获取 COVID-19 靶点; 通过 STRING 数据库构建蛋白质相互作用（PPI）网络。利用 Cytoscape 3.7.2 软件构建药物-化合物-作用靶点-疾病网络, 使用 Bioconductor 生物信息软件包进行 GO 功能富集和 KEGG 通路分析。结果 从麻杏石甘汤 4 味药材中筛选获得 127 个化合物和相应靶点 237 个。将麻杏石甘汤主要活性成分调控的靶点与 COVID-19 的治疗靶点取交集, 得到 49 个关键靶点。GO 功能富集分析得到 GO 条目 155 个 ($P < 0.01$), KEGG 通路富集分析筛选得到 90 条信号通路 ($P < 0.01$)。构建药物-化合物-作用靶点-疾病网络, 显示槲皮素、山柰酚、柚皮素、木犀草素等活性化合物在整个网络中发挥着关键作用。结论 麻杏石甘汤作用于 COVID-19 的 PPI 网络中 IL-6、TNF、MAPK8、MAPK3、CASP3、TP53、IL-10、CXCL8、MAPK1、CCL2、IL-1 β 、IL-4、PTGS2 等靶点起着关键作用, 其中 IL-6 目前是 COVID-19 诊疗方案临床重症预警指标。这些靶点共同参与调节糖尿病并发症 AGE-RAGE、IL-17 和 TNF 等多条信号通路, 发挥抗炎、抗病毒、免疫调节等作用, 可能是麻杏石甘汤治疗新冠肺炎的潜在机制。

关键词: 新型冠状病毒肺炎; 麻杏石甘汤; 网络药理学; 疫毒; 炎症; 槲皮素; 山柰酚; 柚皮素; 木犀草素

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)08-1996-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.08.003

Network pharmacological study on mechanism of Maxing Shigan Decoction in treatment of coronavirus disease 2019 (COVID-19)

WANG Zhe-yi^{1,2,3}, SUN Yi-ze¹, QU Ren-dong², LIU Bi-yuan², FAN Zhu², TIAN Jin-zhou³, LU Tao²

1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

2. School of Life Science, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

3. Dongzhimen Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100010, China

Abstract: Objective To explore the effect targets and signal pathways of Maxing Shigan (MXSG) Decoction, and elaborate its possible mechanisms in the treatment of corona virus disease 2019 (COVID-19). **Methods** The active ingredients and targets of the four traditional Chinese medicines of MXSG Decoction were searched from the TCMSP and TCMID database, and COVID-19 targets were obtained from the GeneCards and NCBI databases; A protein-protein interaction (PPI) network was constructed through the STRING database. Cytoscape 3.7.2 software was used to create a drug-component-target-disease network. Bioconductor bioinformatics software package was used to perform gene ontology (GO) function enrichment and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway analysis. **Results** MXSG Decoction contained four herbs, 127 compounds, and 237 corresponding targets. The targets of the main active ingredients of MXSG Decoction were intersected with the therapeutic targets of COVID-19, obtaining 49 key targets. GO function enrichment analysis yielded 155 GO entries ($P < 0.01$), and KEGG pathway enrichment analysis generated 90 signal pathways ($P < 0.01$). Construction of a drug-component-target-disease

收稿日期: 2020-03-07

基金项目: 北京市双一流高层次人才科研经费 (1000041510053)

作者简介: 王哲义, 男, 博士生, 住院医师, 研究方向为复杂性疾病研究。E-mail: 861066896@qq.com

*通信作者 卢涛, 男, 教授, 博士生导师, 研究方向为复杂性疾病研究。E-mail: taolu@bucm.edu.cn

network indicated that nine compounds (e.g. quercetin, kaempferol, naringenin and luteolin) played a key role in the entire network.

Conclusion Using the PPI network analysis, we found MXSG Decoction acting on COVID-19 through key molecular targets, such as IL-6, TNF, MAPK8, MAPK3, CASP3, TP53, IL-10, CXCL8, MAPK1, CCL2, IL-1 β , IL-4, PTGS2, etc. Among which, IL-6 is currently a clinical early-warning indicator for severe COVID-19 diagnosis and one of the major therapeutic targets. These targets participate cooperatively in the regulation of multiple signaling pathways, such as AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications, IL-17, and TNF signaling pathway, thereby exerting anti-inflammatory, antiviral and immune-regulatory effects.

Key words: COVID-19; Maxing Shigan Decoction; network pharmacology; plague; inflammation; quercetin; kaempferol; naringenin; luteolin

2019 年 12 月世界一些国家爆发了新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) [1], 截至 2020 年 3 月 31 号, 全球约确诊 750 890 例 COVID-19 患者, 中国已确诊 82 545 例 [2]。COVID-19 给中国社会经济造成巨大冲击, 给民众的身心健康带来严重损害 [3]。目前针对 COVID-19 尚无特效药, 但在我国中医药治疗病例达 92.58%, 中医药参与救治并治愈出院病例数已超过 70%, 且占比不断提高 [4]。

《新型冠状病毒感染肺炎诊疗方案 (试行第七版)》[5] 中清肺排毒汤、连花清瘟胶囊及寒湿郁肺证、湿毒郁肺证、疫毒闭肺证的推荐处方皆在麻杏石甘汤的基础上加味。对全国各地防治 COVID-19 的中医药方案进行用药规律分析, 发现 159 首处方中甘草、苦杏仁、麻黄、石膏用药频数最多 [6]。现代研究认为麻杏石甘汤有解热、抗炎、抗病毒和镇咳平喘等作用 [7], 可以改善内毒素引起的肺间质水肿, 有可能在治疗 COVID-19 重症中发挥作用 [8]。麻杏石甘汤在治疗 COVID-19 的临床实践中应用广泛, 但其分子作用机制有待阐明。

网络药理学集整体、动态、分析于一体, 揭示疾病-表型-靶蛋白-药物之间的密切关联, 对于深入研究多途径、多靶点、多成分的中药复方提供了借鉴和思路 [9], 为中医从经验医学转变为循证医学开创了新的研究范式。有研究总结了 2010—2018 年发表的中药相关网络药理学论文数量, 约为 2010 年之前总数的 6 倍 [10], 说明网络药理学作为研究中医药干预疾病机制的方法得到了广泛应用。本研究在数据库中搜索麻杏石甘汤的化合物和靶标蛋白, 构建和分析靶标网络, 确定网络中的核心靶标, 并对其功能富集, 以期在分子层面上探索麻杏石甘汤治疗 COVID-19 的可能机制。

1 方法

1.1 麻杏石甘汤主要活性化合物的筛选及作用靶点确定

本研究依托中药系统药理学分析平台 [11]

(TCMSP, <http://tcmsp.w.com/tcmsp.php>) 检索麻黄、苦杏仁和甘草的主要活性化合物, 未检索到的矿物药“石膏”使用 TCMID (<http://119.3.41.228:8000/tcmid/>) 数据库查询。参考文献方法 [12-14], 本研究设置口服生物利用度 (OB) $\geq 30\%$ 、类药性 (DL) ≥ 0.18 为筛选参数, 利用 TCMSP 数据库查询主要活性化合物的作用靶点, 并将得到的靶点蛋白信息使用 Uniprot [15] 数据库 (<https://uniprot.org/>) 进行标准化, 得到化合物对应关键靶点的基因号。

1.2 COVID-19 靶点的收集及潜在靶点预测

使用 GeneCards (<https://www.genecards.org/>) 数据库, 以“Novel coronavirus”为关键词检索 COVID-19 相关基因, 该库集成了约 150 个网络来源的基因数据, 每个基因名称有 COVID-19 相关证据。在 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) gene 数据库, 以“Novel coronavirus”关键词, 选择物种为“Homo sapiens”, 获得 COVID-19 相关基因。使用 Venny 2.1 绘图软件, 将药物预测的靶点与疾病的靶点进行映射, 获得麻杏石甘汤治疗 COVID-19 的潜在作用靶点。

1.3 蛋白-蛋白相互作用 (PPI) 网络、药物-化合物-作用靶点-疾病网络的构建

将潜在靶点通过 STRING [16] 数据库 (Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins, <https://string-db.org/>) 构建靶标 PPI 网络。利用 Cytoscape 3.7.2 软件 (<http://www.cytoscape.org/>) 构建药物-化合物-作用靶点-疾病网络。

1.4 靶点功能通路富集分析

将核心靶点基因进行功能富集和主要作用通路分析, 使用 Bioconductor 生物信息软件包 (<http://www.bioconductor.org/>), 以 $P < 0.01$ 进行 GO (gene ontology) 富集 [17] 和 KEGG (Kyoto encyclopedia of genes and genomes) 通路分析 [18], 并对富集分析结果进行可视化处理。

2 结果

2.1 麻杏石甘汤主要活性化合物及其作用靶点

本研究通过 TCMSP 平台检索到麻黄、苦杏仁、甘草中共 756 个化合物,按照 $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$ 的条件,筛选出主要活性化合物 134 个,其中麻黄 23 个,苦杏仁 19 个,甘草 92 个。使用 TCMID 数据库检索石膏活性化合物 1 个。去掉重复后,共获得 127 个活性化合物。利用数据库查询主要活性化合物调控的靶点信息,共筛选出对应的作用靶点 237 个。最后通过 Uniprot 对靶点和基因信息进行标准化。

2.2 麻杏石甘汤治疗 COVID-19 的潜在靶点

分别在 NCBI、GeneCards 数据库中检索到 48、346 个 COVID-19 的潜在靶点,去掉 46 个重复的,得到 348 个 COVID-19 相关靶点。运用 Venny 2.1 绘图软件将麻杏石甘汤主要活性成分调控的靶点与 COVID-19 的疾病靶点取交集,得到 49 个靶点,见图 1。

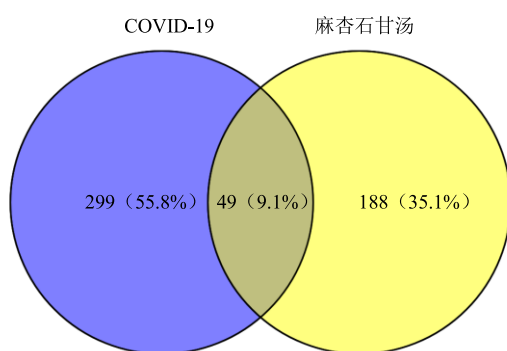


图 1 麻杏石甘汤治疗 COVID-19 靶点韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of MXSG Decoction for COVID-19 targets

2.3 麻杏石甘汤治疗 COVID-19 潜在靶点 PPI 网络构建

将药物和疾病相映射得到的 49 个交集基因在 STRING 平台进行 PPI 网络分析,将数据导入 Cytoscape 3.7.2 得到 PPI 网络(图 2),包含 49 个节点和 713 条边,其中节点表示蛋白,度值表示连接到 1 个节点的线条数,用来评估网络中每个节点的重要性。节点越大、颜色越深,表明度值越大,每条边则表示蛋白与蛋白之间的相互作用关系,线条越多表示关联度越大。靶蛋白平均节点度值为 29.1,超过平均度值的靶蛋白有 28 个。由图 2 可知,IL-6、TNF、MAPK8、MAPK3、CASP3、TP53、IL-10、

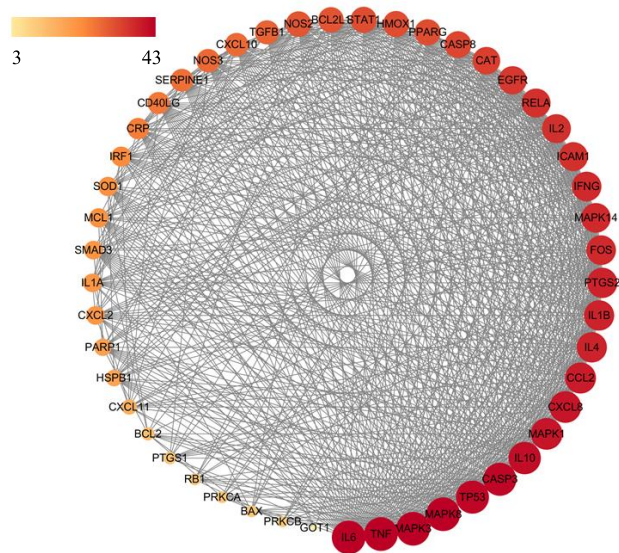


图 2 麻杏石甘汤与 COVID-19 交集靶点的 PPI 网络
Fig. 2 PPI network of MXSG Decoction and COVID-19 intersection targets

CXCL8、MAPK1、CCL2、IL-1 β 、IL-4、PTGS2、FOS、MAPK14、IFNG、RELA、ICAM1、IL-2、EGFR、CAT、CASP8、STAT1、PPARG、HMOX1、BCL2L1、NOS2 度值显著高于其余靶点,在 PPI 网络中起着重要的联系作用。其中,IL-6 的节点最大,颜色最深,可能是麻杏石甘汤治疗 COVID-19 最主要的潜在靶点。研究表明,在 COVID-19 患者的血浆检测中,IL-6、IL-10、IL-1 β 、IL-4、IL-2 和 IFN- γ 等细胞因子水平高于健康的成年人^[19],重症 COVID-19 患者的 IL-6、IL-10 水平较轻症患者高^[20]。在一定程度上支持了本研究的结果。

2.4 药物-化合物-作用靶点-疾病网络

运用 Cytoscape 3.7.2 软件构建药物-化合物-作用靶点-疾病网络(图 3),网络共 169 个节点,红色节点代表疾病,紫色节点代表药物,蓝色节点代表麻杏石甘汤主要活性化合物,绿色节点代表潜在靶点,每条边表示化合物和靶点之间的相互作用关系。根据节点度值等网络拓扑学特征进行核心节点的筛选。结果显示,槲皮素、山柰酚、柚皮素、木犀草素、甘草查耳酮 B、甘草酚、光甘草啶、甘草查耳酮 A、phaseol、(+)-儿茶素、 β -谷甾醇、芒柄花黄素、异鼠李素、甘草苷、豆甾醇等化合物在整个网络中发挥着关键作用,可能是麻杏石甘汤治疗 COVID-19 的核心化合物。

2.5 靶点通路分析

通过 Bioconductor 数据库进行 GO 功能富集分

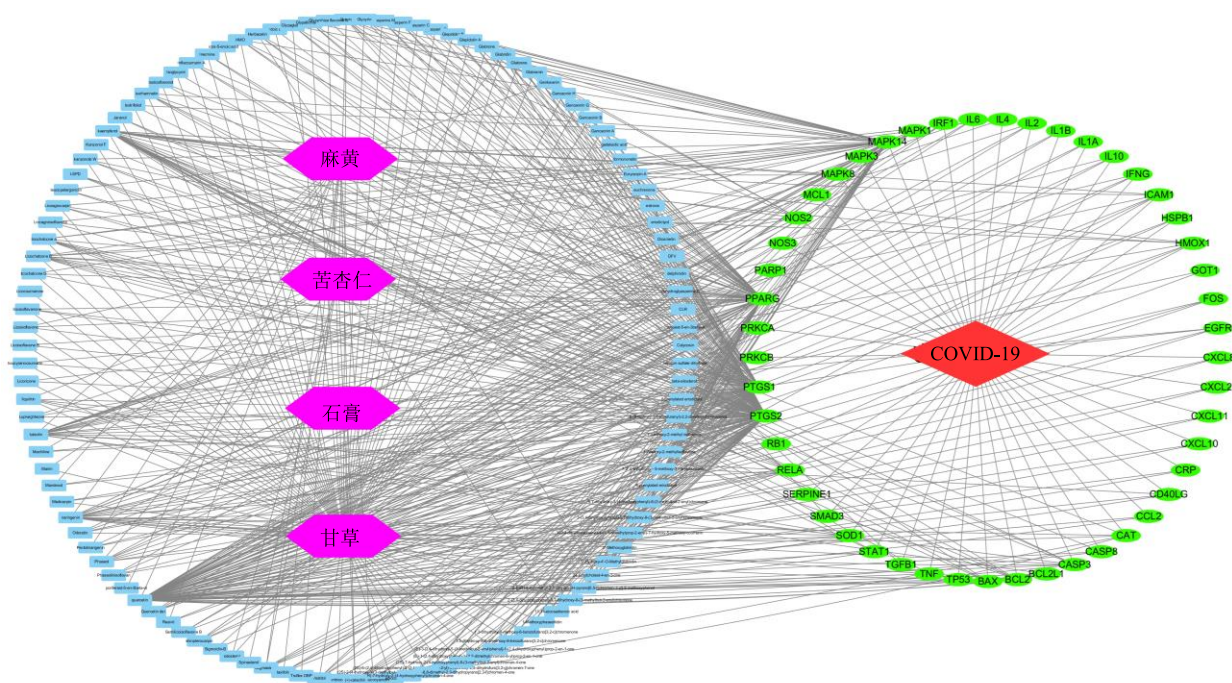


图 3 药物-化合物-作用靶点-疾病网络

Fig. 3 Drug-component-target-disease network

析, 得到生物过程 (BP) 条目 155 个 ($P < 0.01$), 将排名前 20 的 GO 条目绘制柱状图, 见图 4-A。在细胞因子受体结合 (cytokine receptor binding)、细胞因子活性 (cytokine activity)、受体配体活性 (receptor ligand activity)、BH 域绑定 (BH domain binding)、死亡域结合 (death domain binding)、

趋化因子受体结合 (chemokine receptor binding)、磷酸酶结合 (phosphatase binding)、MAP 激酶活性 (MAP kinase activity)、趋化因子活性 (chemokine activity)、生长因子受体结合 (growth factor receptor binding)、血红素结合 (heme binding)、蛋白磷酸酶结合 (protein phosphatase binding)、四吡咯结合

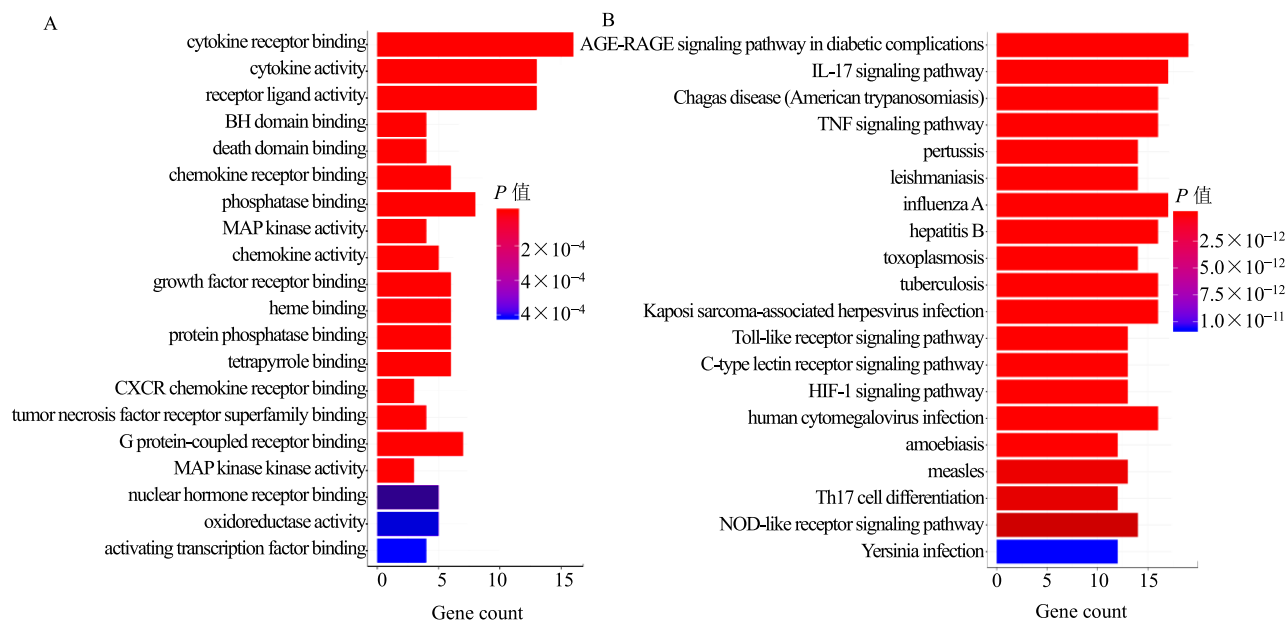


图 4 GO 功能 (A) 与 KEGG 通路 (B) 富集分析

Fig. 4 Analysis of GO function (A) and KEGG pathway (B)

(tetrapyrrole binding) 等生物过程中, 靶点较集中。这提示麻杏石甘汤活性化合物通过调控多种生物学途径对 COVID-19 产生影响。

KEGG 通路富集筛选出 90 条信号通路 ($P < 0.01$), 选取 P 值较小的 20 条通路 (图 4-B)。这些基因数目在糖尿病并发症 AGE-RAGE 信号通路 (AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications)、IL-17 信号通路 (IL-17 signaling pathway)、TNF 信号通路 (TNF signaling pathway) 和 C 型凝集素受体信号通路 (C-type lectin receptor signaling pathway) 等通路上富集较多。

3 讨论

本研究采用网络药理学方法构建麻杏石甘汤的“药物-化合物-作用靶点-疾病”网络, 得到 127 活性化合物, 49 个潜在靶点, 90 条信号通路。在活性化合物中, 槲皮素综合评分远高于其他化合物, 其存在于在麻黄、甘草中。研究发现槲皮素具有抗病毒、抗炎和免疫调节等药理作用^[21]。槲皮素对支气管上皮细胞炎症反应有一定的保护作用, 可能与调控 Toll 样受体 4/核转录因子- κ B (TLR4/NF- κ B) 通路, 降低炎症因子白细胞介素-6 (IL-6)、IL-1 β 等的分泌有关^[22]; 抑制病毒感染细胞中半胱氨酸蛋白酶 3 (CASP3) 蛋白的高表达, 拮抗病毒诱导的细胞凋亡, 达到抗病毒作用^[23]; 可降低促炎细胞因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 的产生, 增加核转录因子 2 (Nrf2) 活性来增强抗氧化反应, 以浓度依赖方式减少促炎细胞因子的产生^[24], 并能通过激活细胞内信号转导通路调控机体的炎症反应和免疫应答^[25]。山柰酚可调节信号传导与转录激活因子 3 (STAT3) 和 NF- κ B 信号通路的激活, 以减弱 IL-6 对环氧合酶-2 (COX-2 或 PTGS2) 表达的影响, 其对调节急性和慢性炎症起关键作用^[26]。木犀草素、柚皮素、异鼠李素、甘草酚亦具有抗病毒、抗炎等作用^[27-30]。甘草查耳酮 A 具有抗炎、免疫调节和抗氧化等作用, 抑制一氧化氮 (NO) 合成和炎症因子 IL-6 的产生, 同时抑制 NF- κ B 激活, 减少炎症反应的级联放大^[31]。由上可知, 麻杏石甘汤中筛选出的活性化合物主要有抗病毒、抗炎、免疫调节等作用, 可能在新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 引发的炎症反应中有一定的干预效应。

将麻杏石甘汤主要活性成分调控的靶点与 COVID-19 的治疗靶点取交集, 得到 49 个关键靶点, 大致分为 3 类, 即炎症因子、丝裂原活化蛋白激酶

和其他。炎症因子主要有 IL-6、IL-10、CXCL8、IL-2、IL-4、IL-1 β 、趋化因子 2 (CCL2)、 γ 干扰素 (IFN- γ)、TNF 和细胞间黏附分子-1 (ICAM1) 等。IL-6 是免疫系统对损伤和感染最初反应所表达的重要细胞因子, 早期激活 Jak/Stat 信号通路, 启动调节 B 细胞分化、浆细胞生成及一系列急性期反应, 在急性炎症反应中处于核心地位, IL-6 的升高发生于细胞因子启动的早期, 而且持续时间长, 因此可用来辅助急性感染的早期诊断, 也可用来评价感染严重程度和判断预后, 动态观察 IL-6 水平有助于了解感染性疾病的进展和对治疗的反应^[32]。Wan 等^[20]分析了 123 例 COVID-19 患者细胞免疫和细胞因子状况, 其中轻症组 IL-6 水平高于正常组 (30.39%), 明显低于重症组 (76.19%), 说明重症患者病毒感染的免疫抑制更为明显。IL-6 在临床上同样具有非常高的潜在价值。托珠单抗是一种抗 IL-6 受体的单克隆抗体, 可以阻断 IL-6 通路, “托珠单抗+常规治疗”新治疗方案可能通过阻断细胞因子风暴, 进而阻止患者向重症和危重症转变, 降低死亡率^[33]。IL-2、IL-4 是一种重要的免疫调节细胞因子, 通过激活巨噬细胞和树突状细胞及诱导 T 细胞分化来调节先天免疫和适应性免疫^[34]。CCL2 主要通过 CC 趋化因子受体 2 (CCR2) 发挥其功能, 该受体在单核细胞、巨噬细胞及嗜中性粒细胞中表达, 其与单核细胞浸润为特征的疾病发病机制有关^[35]。IFN- γ 属于 II 型干扰素, 是巨噬细胞的有效激活剂, 主要具有抗病毒活性和免疫调节功能, 对转化细胞具有抗增殖作用, 并且可以增强 I 型干扰素的抗病毒和抗肿瘤作用^[36]。丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 家族成员 MAPK3、MAPK8、MAPK1 和 MAPK14 在氧化应激、DNA 损伤、癌症和病毒感染的环境应激下被激活^[37]。MAPK3、MAPK1 和 MAPK8 也称细胞外调节蛋白激酶 1 (ERK1)、ERK2 和 JNK^[38], 涉及 MAPK 信号通路中 2 条途径, 均遵循三级酶促级联反应, 对细胞炎性反应和肿瘤细胞的增殖、分化、转化和凋亡的调控均有显著影响^[39]。其他如 CASP3 可以诱导细胞凋亡^[40]。49 个潜在靶点主要涉及病毒感染、炎症反应、免疫调节、细胞凋亡等方面, 其中 IL-6 已被《新型冠状病毒感染肺炎诊疗方案 (试行第七版)》^[5]作为病情恶化的临床警示指标, 可作为麻杏石甘汤治疗 COVID-19 的核心靶点, 指导下一步的实验验证。

GO 功能富集分析得到 GO 条目 155 个 ($P <$

0.01), KEGG 通路富集分析筛选得到 90 条信号通路 ($P < 0.01$)。GO 富集涉及调节免疫应答、炎症反应、细胞生长、创伤愈合、细胞分化成熟和肿瘤消长等生物学过程。KEGG 通路富集分析显示,在靶点富集的前 20 条通路中,8 条通路与病毒感染相关,包括百日咳、利什曼病、甲型流感、乙型肝炎、结核、卡波西氏肉瘤相关疱疹病毒感染、人巨细胞病毒感染、麻疹。这预示着麻杏石甘汤在抗病毒中有非常重要作用,可能是其治疗 COVID-19 的原因。另外,基因数目在糖尿病并发症 AGE-RAGE 信号通路、IL-17 信号通路、TNF 信号通路等通路上富集较多。AGEs 与其受体 RAGE 结合可激活多条信号通路,如 MAPK 信号通路,进而激活 NF- κ B 活性,引起大量促炎细胞因子、生长因子的表达与释放,造成慢性细胞活化与组织损伤^[41]。IL-17 家族通过相应的受体传递信号,激活下游通路,包括 NF- κ B、MAPKs 等信号通路,诱导抗菌肽、细胞因子和趋化因子的表达,在急性和慢性炎症反应中扮演着重要的角色^[42]。TNF 可与其受体重组人 I 型肿瘤坏死因子受体 (TNFR1)、TNFR2 结合,通过 NF- κ B 途径和 MAPK 级联反应,进一步介导炎症、免疫调节等作用^[43]。

纵观化合物的作用、靶点的分类、富集的生物学过程和信号通路,较多地涉及病毒感染、炎症反应和免疫调节。炎症是机体对各种有害刺激做出的防御反应。SARS-CoV-2 能激活肥大细胞,早期激活能释放组胺、蛋白酶等炎症化合物;晚期激活引起包括 IL-1 和 IL-33 在内的炎性因子的产生^[44]。而过度激活的免疫细胞释放大量的细胞因子和炎症趋化因子,启动细胞因子风暴^[45-46]。SARS-CoV-2 感染后,迅速激活病原性 T 细胞,产生粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF) 和 IL-6 等因子。GM-CSF 会进一步激活 CD14⁺、CD16⁺ 炎症性单核细胞,产生更大量的 IL-6 和其他炎症因子,从而形成炎症风暴,导致严重肺部和其他器官的免疫损伤^[33]。另外,COVID-19 病亡患者的尸检病理结果显示 T 细胞过度活化,提示存在严重的免疫损伤^[47]。这表明炎症反应、免疫损伤可能是参与 SARS-CoV-2 致病的关键机制。

COVID-19 属中医广义温病的范畴^[48-49],病位主要在肺,疫毒为原,疫疔之气是发病的直接原因;病机为疫毒外侵,肺经受邪,正气亏虚^[50]。麻杏石甘汤首载于《伤寒论》,方中麻黄性温辛散,善于

宣肺气、开腠理、散风寒;石膏质重性寒,清泻肺火、解肌退热;杏仁苦温降气、止咳化痰;甘草调和药性,缓中补虚、清热解毒;诸药合用,清宣肺热、兼治表证。随着温病学的发展,麻杏石甘汤多与辛凉轻剂合用。吴以岭将其与银翘散合方,研制成连花清瘟胶囊,用于流感、病毒性肺炎屡见报道^[51-52]。近年麻杏石甘汤被赋予了新的内涵,化裁后兼具清瘟解毒之力。有研究认为毒邪与炎症因子、内毒素相关^[53],是全身炎症反应综合征病理演变过程中极为重要的致病因素^[54]。结合本研究网络药理学结果,麻杏石甘汤的 COVID-19 的治疗作用可能与其活性化合物抗炎、抗病毒、免疫调节等机制相关。

综上所述,本研究采用网络药理学方法,对麻杏石甘汤治疗 COVID-19 的有效成分、作用靶点、通路及作用机制做了初步探讨。结果显示,麻杏石甘汤中的槲皮素、山柰酚、柚皮素、木犀草素、甘草查耳酮 B、甘草酚、光甘草啶、甘草查耳酮 A、phaseol、(+)-儿茶素、 β -谷甾醇、芒柄花黄素、异鼠李素、甘草苷、豆甾醇等成分可能通过 AGE-RAGE、IL-17、TNF、C 型凝集素受体等信号通路,作用于 IL-6、TNF、MAPK8、MAPK3、CASP3、TP53、IL-10、CXCL8、MAPK1、CCL2、IL-1 β 、IL-4、PTGS2 等靶点,发挥抗炎、抗病毒和免疫调节等作用,说明麻杏石甘汤通过多成分、多靶点、多途径产生协同治疗 COVID-19 的潜在作用,体现了中医整体性的特点。本研究存在一定的局限性,仅基于数据进行分析,而目前数据库中关于 COVID-19 的靶点数据尚不完整。未来可进行相关实验 (Western blotting、real-time PCR 等) 来进一步验证本研究的结果,以期 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] Zhu N, Zhang D, Wang W, *et al.* A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019 [J]. *New Engl J Med*, 2020, doi: 10.1056/NEJMoa2001017.
- [2] World Health Organization. Novel coronavirus (2019-nCoV) situation reports [EB/OL]. [2020-03-31]. <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports/>.
- [3] Kickbusch I, Leung G. Response to the emerging novel coronavirus outbreak [J]. *BMJ*, 2020, doi: 10.1136/bmj.m406.
- [4] 国家中医药管理局. 多种中药初步证实有明显疗效,中央督导组要求及时总结 [EB/OL]. [2020-03-05].

- <http://www.satcm.gov.cn/xinxifabu/shizhengyaowen/2020-03-05/13617.html>.
- [5] 新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第七版) [S]. 2020.
- [6] 曹新福, 刘子豪, 李 享, 等. 全国各地区防治新型冠状病毒肺炎中医药方案用药规律分析 [J/OL]. 北京中医药, [2020-03-03]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5635.R.20200227.1443.004.html>.
- [7] 刘 莲, 张辉阳. 麻杏石甘汤的药理功效 [J]. 中国药物经济学, 2015, 10(12): 16-17.
- [8] 韩晶岩. 麻杏石甘汤改善肺间质水肿、注射用益气复脉(冻干)改善休克脱证的作用机理 [J/OL]. 世界科学技术—中医药现代化, [2020-03-03]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5699.R.20200221.1125.002.html>.
- [9] 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.
- [10] Zhang R, Zhu X, Bai H, *et al.* Network pharmacology databases for traditional Chinese medicine: Review and assessment [J]. *Front Pharmacol*, 2019, doi: 10.3389/fphar.2019.00123.
- [11] Ru J, Li P, Wang J, *et al.* TCMSP: A database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *J Cheminform*, 2014, doi: 10.1186/1758-2946-6-13.
- [12] Xu X, Zhang W, Huang C, *et al.* A novel chemometric method for the prediction of human oral bioavailability [J]. *Inter J Mol Sci*, 2012, 13(6): 6964-6982.
- [13] Lee W Y, Lee C Y, Kim Y S, *et al.* The methodological trends of traditional herbal medicine employing network pharmacology [J]. *Biomolecules*, 2019, doi: 10.3390/biom9080362.
- [14] Guo W, Huang J, Wang N, *et al.* Integrating network pharmacology and pharmacological evaluation for deciphering the action mechanism of herbal formula Zuojin Pill in suppressing human hepatocellular carcinoma [J]. *Front Pharmacol*, 2019, doi: 10.3389/fphar.2019.01185.
- [15] Apweiler R. UniProt: The universal protein knowledgebase [J]. *Nucl Acid Res*, 2018, doi: 10.1093/nar/gky092.
- [16] Szklarczyk D, Gable A L, Lyon D, *et al.* STRING v11: Protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets [J]. *Nucl Acid Res*, 2019, 47(D1): D607-D613.
- [17] Carbon S, Dietze H, Lewis S E, *et al.* Expansion of the gene ontology knowledgebase and resources [J]. *Nucl Acid Res*, 2017, 45(D1): D331-D338.
- [18] Kanehisa M, Furumichi M, Tanabe M, *et al.* KEGG: New perspectives on genomes, pathways, diseases and drugs [J]. *Nucl Acid Res*, 2017, 45(D1): D353-D361.
- [19] 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.
- [20] Wan S, Yi Q, Fan S, *et al.* Characteristics of lymphocyte subsets and cytokines in peripheral blood of 123 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus pneumonia (NCP) [J]. *MedRxiv*, 2020, doi: 10.1101/2020.02.10.20021832.
- [21] 李 聪, 胡 强, 张燕翔, 等. 槲皮素的药理学活性研究进展 [J]. 湖北中医杂志, 2018, 40(6): 63-66.
- [22] 刘 萍, 唐富山, 朱 艳, 等. 槲皮素对 PM 2.5 导致支气管上皮细胞炎症的保护作用 [J]. 中药药理与临床, 2017, 33(1): 22-26.
- [23] 万巧凤, 吴 莉, 杨美玲, 等. 槲皮素对甲型 H1N1 流感病毒诱导的 A549 细胞凋亡效应酶 Caspase-3 的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2011, 18(10): 42-44.
- [24] Veith C, Drent M, Bast A, *et al.* The disturbed redox-balance in pulmonary fibrosis is modulated by the plant flavonoid quercetin [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2017, doi: 10.1016/j.taap.2017.10.001.
- [25] Newton K, Dixit V M. Signaling in innate immunity and inflammation [J]. *Csh Perspect Biol*, 2012, doi: 10.1101/cshperspect.a006049.
- [26] Basu A, Das A S, Sharma M, *et al.* STAT3 and NF- κ B are common targets for kaempferol-mediated attenuation of COX-2 expression in IL-6-induced macrophages and carrageenan-induced mouse paw edema [J]. *Biochem Biophys Rep*, 2017, doi: 10.1016/j.bbrep.2017.08.005.
- [27] 孟珊珊, 吕芳芳, 胡晓光, 等. 柚皮素对 RSV A2 株感染引起气道黏液高分泌的抑制作用 [J]. 温州医科大学学报, 2015, 45(9): 631-635.
- [28] 邓东沅. 木犀草素对流感病毒 H1N1 感染 A549 细胞的作用及免疫调节机制的研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2017.
- [29] Kandakumar S, Manju D V. Pharmacological applications of isorhamnetin: A short review [J]. *Inter J Trend Sci Res Dev*, 2017, 1(4): 672-678.
- [30] Shin E M, Zhou H Y, Guo L Y, *et al.* Anti-inflammatory effects of glycyrol isolated from *Glycyrrhiza uralensis* in LPS-stimulated RAW264.7 macrophages [J]. *Inter Immunopharmacol*, 2008, 8(11): 1524-1532.
- [31] 赵 虹, 蒋江涛, 郑秋生. 甘草查耳酮 A 药理作用研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(22): 3814-3818.
- [32] Kaur S, Bansal Y, Kumar R, *et al.* A panoramic review of IL-6: Structure, pathophysiological roles and inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem*, 2020, doi: 10.1016/j.bmc.2020.

- 115327.
- [33] 中国教育新闻网. 中科大最新研究成果: “托珠单抗”有望阻断新冠肺炎炎症风暴 [EB/OL]. [2020-02-14]. <https://xw.qq.com/cmsid/20200214A0GL9600?f=newdc>.
- [34] Spangler J B, Moraga I, Mendoza J L, *et al*. Insights into cytokine-receptor interactions from cytokine engineering [J]. *Annu Rev Immunol*, 2015, doi: 10.1146/annurev-immunol-032713-120211.
- [35] Guabiraba R, Marques R E, Besnard A G, *et al*. Role of the chemokine receptors CCR1, CCR2 and CCR4 in the pathogenesis of experimental dengue infection in mice [J]. *PLoS One*, 2010, 5(12): e15680.
- [36] Kwon B. IFN- γ in tissue-immune homeostasis and antitumor immunity [J]. *Cell Mol Immunol*, 2018, 15(5): 531-532.
- [37] Panteva M, Korkaya H, Jameel S. Hepatitis viruses and the MAPK pathway: Is this a survival strategy? [J]. *Virus Res*, 2003, 92(2): 131-140.
- [38] Barroso-Chinea P, Luis-Ravelo D, Fumagallo-Reading F, *et al*. DRD3 (dopamine receptor D3) but not DRD2 activates autophagy through MTORC1 inhibition preserving protein synthesis [J]. *Autophagy*, 2019, doi: 10.1080/15548627.2019.1668606.
- [39] 赵叶, 杨金华, 韩君萍, 等. MEK/ERK 通路参与支气管哮喘发病机制的研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(2): 329-331.
- [40] Wang Y, Gao W, Shi X, *et al*. Chemotherapy drugs induce pyroptosis through caspase-3 cleavage of a gasdermin [J]. *Nature*, 2017, 547(7661): 99-103.
- [41] Wendt T, Tanji N, Guo J, *et al*. Glucose, glycation, and RAGE: Implications for amplification of cellular dysfunction in diabetic nephropathy [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2003, 14(5): 1383-1395.
- [42] Li X, Bechara R, Zhao J, *et al*. IL-17 receptor-based signaling and implications for disease [J]. *Nat Immunol*, 2019, 20(12): 1594-1602.
- [43] 张悦, 周冬梅, 李伟, 等. 肿瘤坏死因子- α 在糖尿病痛性神经病变患者中的表达及其意义 [J]. 中国实验诊断学, 2020, 24(1): 36-40.
- [44] Kritas S K, Ronconi G, Caraffa A, *et al*. Mast cells contribute to coronavirus-induced inflammation: New anti-inflammatory strategy [J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2020, doi: 10.23812/20-Editorial-Kritas.
- [45] 尹明星, 曹艳, 施春阳, 等. 中药防治细胞因子风暴的研究进展 [J]. 中草药, 2020, 51(5): 1089-1095.
- [46] 何黎黎, 龚普阳, 封玥, 等. 中药在抗新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 引起的细胞因子风暴中的应用分析 [J]. 中草药, 2020, 51(6): 1375-1385.
- [47] Xu Z, Shi L, Wang Y, *et al*. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome [J]. *Lancet Respir Med*, 2020, doi: 10.1016/S2213-2600(20)30076-X.
- [48] 孙泽泽, 王哲义, 侯季秋, 等. 从“逆传心包”角度认识新型冠状病毒肺炎相关心脏并发症 [J/OL]. 世界中医药, [2020-03-04]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5529.R.20200302.1032.004.html>.
- [49] 李宝乐, 李小叶, 任顺平, 等. 结合 3~5 版《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案》和古代文献初探新型冠状病毒肺炎的中医药辨治 [J]. 中草药, 2020, 51(4): 873-877.
- [50] 张伯礼, 王琦, 谷晓红, 等. 新型冠状病毒肺炎中医诊疗手册 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2020.
- [51] 吕睿冰, 王文菊, 李欣. 中药连花清瘟治疗新型冠状病毒肺炎疑似病例 63 例临床观察 [J/OL]. 中医杂志, [2020-03-04]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2166.R.20200215.1633.004.html>.
- [52] 王建勇. 连花清瘟胶囊治疗流行性感冒临床效果观察 [J]. 医学食疗与健康, 2019(16): 29-31.
- [53] 杨广, 张敏州, 郭力恒, 等. 从卫气营血辨证看全身炎症综合征 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19(2): 392-393.
- [54] 韩宁, 张永. 全身炎症反应综合征毒邪论 [J]. 辽宁中医学院学报, 2006, 19(2): 34-35.