

基于网络药理学的疏风解毒胶囊治疗新型冠状病毒肺炎（COVID-19）的分子机制探析

许嘉慧¹, 薛 艳^{2#}, 张 炜², 陆 灏^{1*}

1. 上海中医药大学附属曙光医院 内分泌科, 上海 201203

2. 上海中医药大学附属曙光医院 肺病科, 上海 201203

摘要: 目的 探讨疏风解毒胶囊治疗新型冠状病毒肺炎（COVID-19）的分子机制。方法 借助中药系统药理学分析平台（TCMSP）检索疏风解毒胶囊有效活性成分及作用靶点。运用 GeneGards 等数据库对疾病靶点进行筛选, 使用 Cytoscape 3.7.2 软件构建活性成分-靶点网络和蛋白互作（PPI）网络, 通过 DAVID 数据库对靶点进行 GO 功能分析和 KEGG 通路富集分析。结果 共得到疏风解毒胶囊有效活性成分共 207 个, 其中作用于 COVID-19 的 60 个活性成分可通过 46 个潜在靶标作用于 COVID-19。富集得到 GO 中 1 343 个生物过程条目和 6 条 KEGG 通路, 涉及内分泌抵抗、MAPK 信号通路、精氨酸生物合成路径等。结论 疏风解毒胶囊主要通过黄酮类和植物甾醇类活性成分调节 IL6、IL1B、CCL2、MAPK8、MAPK1、MAPK14、CASP3、FOS、ALB 等关键靶点, 调控炎症反应、氧化应激损伤、细胞凋亡、肺纤维化增生等过程减轻肺损伤来治疗 COVID-19。

关键词: 疏风解毒胶囊; 新型冠状病毒肺炎; 新型冠状病毒; 网络药理学; 黄酮; 甾醇

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)08-2015-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.08.005

Study on mechanism of Shufeng Jiedu Capsule in treating COVID-19 based on network pharmacology

XU Jia-hui¹, XUE Yan², ZHANG Wei², LU Hao¹

1. Department of Endocrinology, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

2. Department of Respiratory Diseases, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

Abstract: Objective To explore the molecular mechanism of Shufeng Jiedu Capsule in the treatment of corona virus disease (COVID-19). **Methods** The active composition and action targets of Shufeng Jiedu Capsule were searched with TCMSP. The GeneGards database was used to screen out the targets of related to COVID-19. The active ingredient-target network and PPI protein interaction network were established using Cytoscape 3.7.2 software. GO functional analysis and KEGG pathway enrichment analysis of targets were performed using DAVID database. **Results** A total of 207 effective active ingredients of Shufeng Jiedu Capsule were obtained, which can act on COVID-19 through 46 potential targets. GO functional enrichment analysis obtained 1 343 GO items, KEGG pathway enrichment analysis obtained six pathways, involving endocrine resistance, MAPK signaling pathway, arginine biosynthesis pathway, etc. **Conclusion** Shufeng Jiedu Capsule regulates key targets such as IL6, IL1B, CCL2, MAPK8, MAPK1, MAPK14, CASP3, FOS, and ALB mainly through flavonoids and phytosterol active ingredients by regulating inflammatory response, oxidative stress injury, apoptosis, pulmonary fibrosis, and other processes to reduce lung injury and then treating COVID-19.

Key words: Shufeng Jiedu Capsule; COVID-19; SARS-CoV-2; network pharmacology; flavonoids; phytosterol

收稿日期: 2020-03-09

基金项目: 上海市临床重点专科项目 (shslczdk05401); 中医糖尿病专科联盟建设项目 [ZY(2018-2020)-FWTX-4011]; 上海市科委科研计划项目 (17401970100); 上海市中医临床重点实验室项目 (14DZ2273200); 上海市临床重点专科项目 (shslczdk05101); 上海中医药大学防治新型冠状病毒 (2019-nCoV) 应急科研攻关项目 (2020YJ01)

作者简介: 许嘉慧, 硕士研究生, 研究方向为中西医结合防治糖尿病。E-mail: xujiahui95826@163.com

*通信作者 陆 灏, 男, 教授, 博士生导师, 研究方向为糖尿病及其并发症的中医药防控。E-mail: luhao403@163.com

#共同第一作者 薛 艳, 硕士研究生, 研究方向为肺系疾病的中医基础与临床研究。E-mail: 19921317267@163.com

新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 引起的新型冠状病毒肺炎 (COVID-19), 因其具有强烈的传染性和人群普遍易感性^[1], 目前 COVID-19 疫情已在全球多个国家暴发, 如何形成快速有效的疫情防治方案, 是当前面临的重大问题。祖国医学在重大疫情的防治上一直发挥着重要作用, 中医药辨证论治在此次疫情中疗效肯定, 具有其独特的优势, 被广泛运用。疏风解毒胶囊在《新型冠状病毒肺炎诊疗方案 (试行)》第四~七版多个 COVID-19 诊疗方案中均被推荐用于 COVID-19 的治疗^[2-3]。

疏风解毒胶囊由虎杖、连翘、板蓝根、柴胡、败酱草、马鞭草、芦根、甘草 8 味中药组成, 有广谱的抗病毒功效, 且对多种细菌亦有一定的抑制作用, 同时具有抗炎作用和显著的免疫调节作用^[4-7], 临床广泛应用于上下呼吸道感染、急性肺损伤、慢性阻塞性肺疾病急性加重期 (AECOPD) 等疾病的治疗^[8-11], 针对 COVID-19, 疏风解毒胶囊临床联合用药也有显著疗效^[2]。但疏风解毒胶囊治疗 COVID-19 的机制尚不明确。随着网络药理学的完善与发展, 中医药发挥临床疗效的分子及机制研究也逐渐变得可视化、效率化和标准化。网络药理学融合了系统生物学、网络生物学、计算生物学、多向药理学、分子药理学、分子动力学等多学科技术和内容, 构建和整合“疾病-表型-基因-药物”多层次网络, 为中药复方多靶点、多成分、整体性、系统性作用机制研究提供强有力的技术支撑^[12], 可用于预测推断小分子与基因、蛋白质、代谢物等靶标和网络的相关性。其理论的建立为多靶点药物的研究提供科学理论支持, 也为研发新药提供理论源泉。本研究使用网络药理学的方法研究疏风解毒胶囊对 COVID-19 的潜在治疗机制, 对于将疏风解毒胶囊更广泛地应用于抗 COVID-19 以及其他疾病均将起到理论上的支持作用。

1 方法

1.1 疏风解毒胶囊活性成分的筛选及潜在作用靶点的预测

本研究利用 TCMSP 数据库 (<http://tcmsp.w.com/tcmssp.php>) 对疏风解毒胶囊中 8 味中药相关的活性成分进行搜索, 以口服生物利用度 (OB) $\geq 30\%$ 和类药性 (DL) ≥ 0.18 为筛选标准, 将得到符合条件的候选活性成分靶点信息通过 Uniport 数据库使基因名标准化。

1.2 COVID-19 靶点的预测

登录 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>) 和 OMIM 数据库 (<https://omim.org/>) 以“coronavirus disease 2019”“novel coronavirus pneumonia”“novel coronavirus 2019”为关键词检索与 COVID-19 的相关基因, 收集得到疾病相关靶基因。

1.3 中药-活性成分-靶点网络构建

将中药活性成分相关靶点与疾病相关靶点取交集, 利用 Cytoscape 3.7 软件构建中药-活性成分-靶点网络图。

1.4 蛋白互作 (PPI) 网络的构建和核心靶点的筛选

将“1.3”项中得到的交集靶点信息导入 String 数据库, 选择物种为“Homo sapiens”, 置信度 > 0.4 为筛选条件下载得到交集靶点的 PPI 信息, 利用 Cytoscape 软件做图将其可视化。

1.5 靶点基因生物信息富集分析

将疏风解毒胶囊作用于 COVID-19 的所有靶点导入 DAVID 数据库 (<https://DAVID.ncicrf.gov/>), 限定物种为人, 进行基因本体论 (gene ontology, GO) 分析和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析, 筛选 $P < 0.05$ 的生物过程及信号通路, 用 R 包 (ggplot2) 绘图将其可视化。

1.6 基因-通路网络构建

利用“1.5”项筛选得到的信号通路和信号通路中富集得到的基因信息, 使用 Cytoscape 软件构建基因-信号通路网络图, 将其可视化。

2 结果

2.1 疏风解毒胶囊活性成分及作用靶点信息收集

通过 TCMSP 平台检索到符合标准的疏风解毒胶囊活性成分共 207 个, 其中败酱草 13 个, 板蓝根 39 个, 柴胡 17 个, 甘草 92 个, 虎杖 10 个, 连翘 23 个, 芦根 1 个, 马鞭草 12 个。将所获得的活性成分预测靶点导入 Uniprot 数据库进行基因标准化, 去除重复值, 共得到作用靶点基因 226 个。

2.2 新型冠状病毒肺炎靶点的收集

使用 GenCards、OMIM 数据库共收集到 COVID-19 潜在靶点 259 个、4 个, 合并后共收集到 263 个 COVID-19 相关靶点。

2.3 中药-活性成分-靶点网络分析

利用 Excel 表格将“2.1”项中筛选得到的疏风解毒胶囊所有作用靶点 226 个和“2.2”项中疾病所有相关靶点 263 个进行重复对比, 最终得到 46 个交

集靶点,说明疏风解毒胶囊可通过 46 个靶点作用于 COVID-19。46 个作用靶点对应 60 种中药活性成分, 60 种中药活性成分信息及对应靶点数目见表 1。运用 Cytoscape 软件构建中药-活性成分-靶点网络(图 1), 网络中共有 113 个节点和 324 条边, 113 个节点中包含 7 种中药名(其中复合中药名表现该节点由至少 2 种中药复合而展现, 多种中药里含有相同的活性成分, 复合中药名中具体中药见表 1), 60 种活性成分, 46 个作用靶点, 每条边表示化合物和

靶点之间的相互作用关系。其中槲皮素(quercetin)、木犀草素(luteolin)、汉黄芩素(wogonin)、山柰酚(kaempferol)、刺槐素(acacetin)、异鼠李素(isorhamnetin)、5,7,4'-三羟基-8-甲氧基黄酮(5,7,4'-trihydroxy-8-methoxyflavone)、 β -谷甾醇(β -sitosterol)这 8 种活性成分对应的靶点数目从高到低依次为 36、18、14、14、10、8、7、7, 且这 8 种成分可作用于 46 种交集基因中的 43 种, 可认为是疏风解毒胶囊中的关键活性成分。

表 1 疏风解毒胶囊中 60 种活性成分信息及对应靶点数目

Table 1 Information of 60 compounds contained in herbs of SJC and corresponding putative targets

来源药材	序号	化学成分	OB/%	DL	靶点数目
柴胡、败酱草、马鞭草、板蓝根、芦根	MOL000449	stigmasterol	43.83	0.76	2
柴胡、败酱草、马鞭草、连翘、甘草	MOL000422	kaempferol	41.88	0.24	14
柴胡、败酱草、马鞭草、连翘、甘草、虎杖	MOL000098	quercetin	46.43	0.28	36
板蓝根、败酱草、虎杖、马鞭草、连翘	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75	7
败酱草、马鞭草、连翘、虎杖	MOL000006	luteolin	36.16	0.25	18
板蓝根、败酱草	MOL001689	acacetin	34.97	0.24	10
板蓝根、败酱草	MOL002322	isovitexin	31.29	0.72	2
柴胡	MOL000354	isorhamnetin	49.60	0.31	8
柴胡	MOL001645	linoleyl acetate	42.10	0.20	2
柴胡	MOL004598	3,5,6,7-tetramethoxy-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl) chromone	31.97	0.59	2
柴胡	MOL004609	areapillin	48.96	0.41	4
柴胡	MOL013187	cubebin	57.13	0.64	2
柴胡	MOL004653	(+)-anomalin	46.06	0.66	2
柴胡	MOL000490	petunidin	30.05	0.31	4
连翘	MOL000173	wogonin	30.68	0.23	14
连翘	MOL000522	arctiin	34.45	0.84	1
连翘	MOL003347	hyperforin	44.03	0.60	1
连翘	MOL003290	(3R,4R)-3,4-bis[(3,4-dimethoxyphenyl)methyl]oxolan-2-one	52.30	0.48	2
连翘	MOL003295	(+)-pinoselinol monomethyl ether	53.08	0.57	3
连翘	MOL003308	(+)-pinoselinol monomethyl ether-4-D-beta-glucoside_qt	61.20	0.57	2
连翘	MOL003283	(2R,3R,4S)-4-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)-7-methoxy-2,3-dimethylol-tetralin-6-ol	66.51	0.39	5
连翘	MOL000791	bicuculline	69.67	0.88	4
连翘	MOL003370	onjixanthone I	79.16	0.30	5
连翘	MOL003322	forsythinol	81.25	0.57	2
连翘	MOL003306	4-[(1S,3aR,4S,6aR)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)-1,3,3a,4,6,6a-hexahydrofuro[4,3-c]furan-4-yl]-2-methoxyphenol	85.12	0.57	3
连翘	MOL003330	(-)-phillygenin	95.04	0.57	2
虎杖	MOL013281	6,8-dihydroxy-7-methoxyxanthone	35.83	0.21	4
虎杖	MOL013287	physovenine	106.21	0.19	3
虎杖	MOL002268	picralinal	47.07	0.28	2
虎杖	MOL000492	torachrysone-8-O-beta-D-(6'-oxayl)-glucoside	54.83	0.24	4
马鞭草	MOL002881	diosmetin	31.14	0.27	5
马鞭草	MOL002933	5,7,4'-trihydroxy-8-methoxyflavone	36.56	0.27	7
马鞭草	MOL005229	artemetin	49.55	0.48	6
马鞭草	MOL005503	comudentanone	39.66	0.33	1
马鞭草	MOL008752	dihydroverticillatine	42.69	0.84	2

续表 1

来源药材	序号	化学成分	OB/%	DL	靶点数目
马鞭草	MOL002773	beta-carotene	37.18	0.58	6
败酱草	MOL001677	asperglaucide	58.02	0.52	1
败酱草	MOL001678	bolusanthol B	39.94	0.41	6
败酱草	MOL001697	sinoacutine	63.39	0.53	2
板蓝根	MOL001721	isaindigodione	60.12	0.41	2
板蓝根	MOL001722	2-O-beta-D-glucopyranosyl-2H-1,4-benzoxazin-3 (4H)-one	43.62	0.31	1
板蓝根	MOL001733	eupatorin	30.23	0.37	5
板蓝根	MOL001734	3-[[[(2R,3R,5R,6S)-3,5-dihydroxy-6-(1H-indol-3-yloxy)-4-oxooxan-2-yl] methoxy]-3-oxopropanoic acid	85.87	0.47	1
板蓝根	MOL001735	dinatin	30.97	0.27	5
板蓝根	MOL001736	(-)-taxifolin	60.51	0.27	2
板蓝根	MOL001756	quindoline	33.17	0.22	2
板蓝根	MOL001767	hydroxyindirubin	63.37	0.30	5
板蓝根	MOL001779	sinoacutine	49.11	0.46	5
板蓝根	MOL001781	indigo	38.20	0.26	2
板蓝根	MOL001782	(2Z)-2-(2-oxoindolin-3-ylidene) indolin-3-one	48.40	0.26	4
板蓝根	MOL001783	2-[9-[(3-methyl-2-oxopent-3-en-1-yl) oxy]-2-oxo-1,2,8,9-tetrahydrofuro [2,3-h] quinolin-8-yl] propan-2-yl acetate	64.00	0.57	1
板蓝根	MOL001792	(2S)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman-4-one	32.76	0.18	2
板蓝根	MOL001793	(E)-2-[(3-indole) cyanomethylene]-3-indolinone	54.59	0.32	4
板蓝根	MOL001798	neohesperidin_qt	71.17	0.27	3
板蓝根	MOL001803	sinensetin	50.56	0.45	5
板蓝根	MOL001810	6-(3-oxoindolin-2-ylidene) indolo [2,1-b] quinazolin-12-one	45.28	0.89	2
板蓝根	MOL001814	(E)-3-(3,5-dimethoxy-4-hydroxy-benzylidene)-2-indolinone	57.18	0.25	2
板蓝根	MOL001820	(E)-3-(3,5-dimethoxy-4-hydroxybenzylidene)-2-indolinone	65.17	0.25	2
板蓝根	MOL001828	3-[(3,5-dimethoxy-4-oxo-1-cyclohexa-2,5-dienylidene) methyl]-2,4-dihydro-1H-pyrrolo [2,1-b] quinazolin-9-one	51.84	0.56	2
板蓝根	MOL001833	glucobrassicin-1-sulfonate_qt	42.52	0.24	1

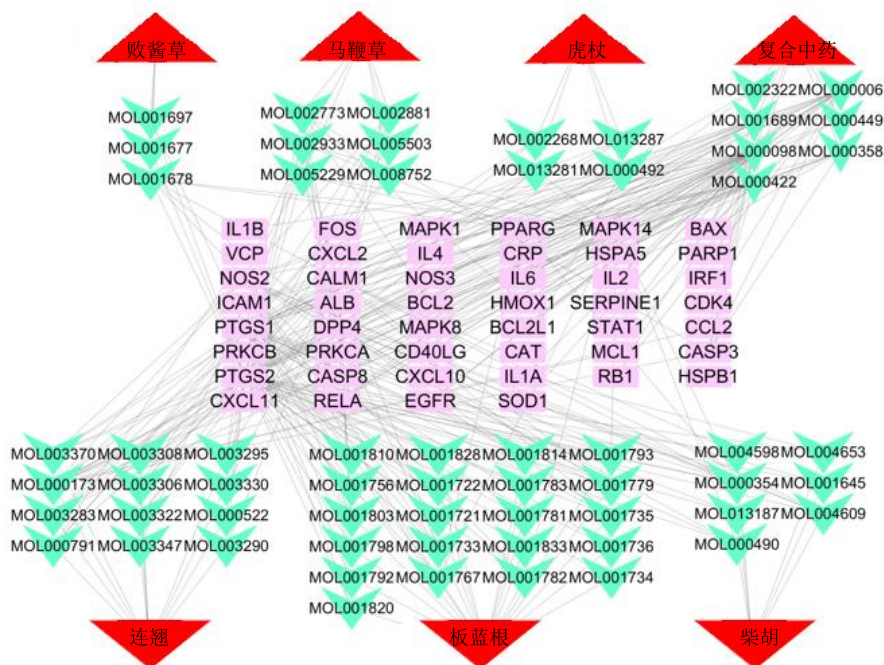


图 1 疏风解毒胶囊中药-活性成分-靶点网络

Fig. 1 Chinese materia medica-active ingredients-target network of SJC

2.4 PPI 网络分析

PPI 核心网络 (图 2) 包含 46 个节点, 526 条边。节点表示蛋白, 每条边则表示蛋白与蛋白之间的相互作用关系。图中由内到外颜色越浅代表该蛋白相互作用程度 (度值, degree) 越低。筛选出前 5 个节点度值的靶点蛋白, 分别是 IL6 (度值为 40)、CASP3 (度值为 37)、MAPK8 (度值为 37)、ALB (度值为 36)、MAPK1 (度值为 36), 表明这 5 个核心靶点在网络图中起关键作用。

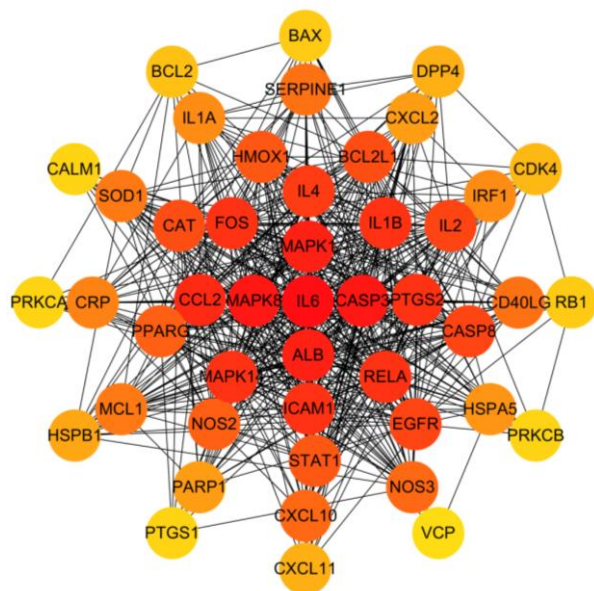


图 2 疏风解毒胶囊 PPI 核心网络

Fig. 2 PPI core network diagram of SJC

2.5 GO 功能富集与 KEGG 通路富集分析

将得到的 46 个作用靶点通过 DAVID^[13]数据库进行 GO 与 KEGG 富集分析, 共有 1 451 条生物功能显著富集 ($P < 0.05$), 1 343 个在生物过程 (BP) 中富集, 24 个在细胞成分 (CC) 中富集, 84 个在分子功能 (MF) 中富集。选择排名前 20 的 GO 中 BP 条目绘制柱状图 (图 3), 主要涉及脂多糖应答、对细菌来源分子反应、细胞凋亡和氧化应激等生物过程。一共 6 条 KEGG 通路显著富集, 包括内分泌治疗抵抗、EGFR 酪氨酸激酶抑制剂抵抗、铂类耐药、抗叶酸等药物抵抗路径, 精氨酸生物合成路径和 MAPK 信号通路 (图 4)。

2.6 基因-通路网络分析

将 6 条 KEGG 通路信息和富集基因导入 Cytoscape 软件构建基因-通路网络 (图 5)。网络包含 21 个核心目标基因和 6 条通路。图形面积越大代表目标基因或通路在网络中发挥的作用越大。

3 讨论

《瘟疫论》曰:“今感疫气者, 乃天地之毒气也”, COVID-19 为中医学疫病范畴, 病机核心在于湿毒疫邪侵袭, “毒”为 COVID-19 病理过程的核心致病因素和病理产物, 尤以湿 (疫) 毒、热毒突出^[14-15]。《吴医汇讲》曰“治疫之法, 总以毒字为提纲”, 强调了解毒在疫病中的重要作用, 此次感染 SARS-CoV-2 患者以非危重型为主, 疏风解毒胶囊用药轻、少, 组方以虎杖为君, 解毒为核心治法,

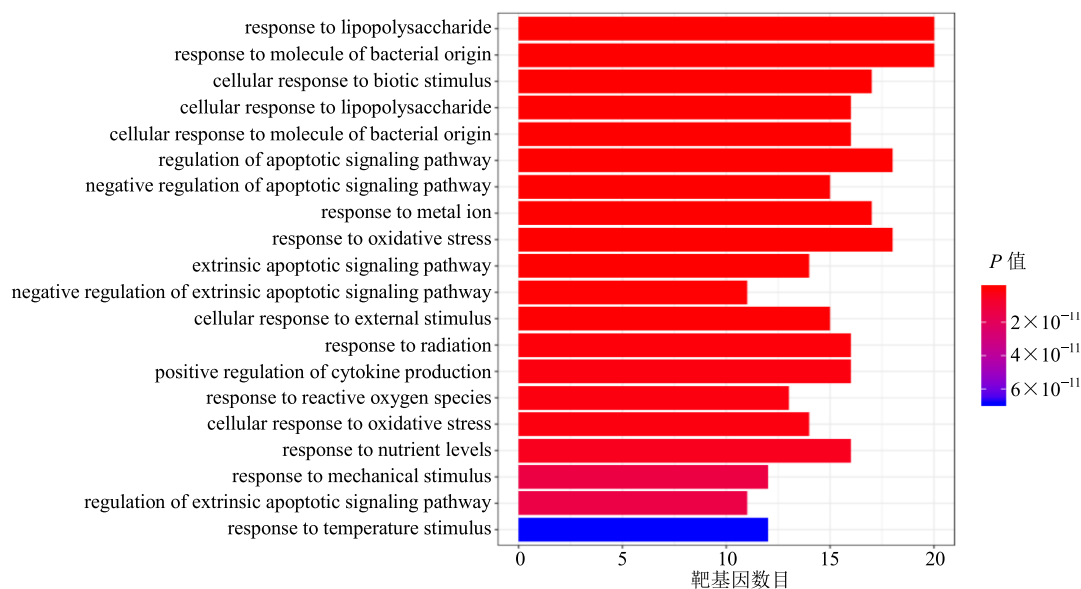


图 3 BP 条目柱状图

Fig. 3 Histogram of BP entries

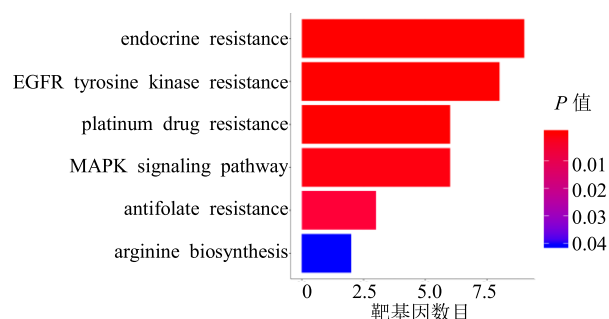


图 4 KEGG 富集通路

Fig. 4 KEGG enrichment pathway

虎杖可祛湿毒、解热毒、祛瘀毒，合以败酱草、马鞭草、芦根、连翘、板蓝根加强清解湿热疫毒之功，柴胡透邪退热，甘草解毒和中顾护正气，全方合用，以解毒为核心可清热、疏风、利咽、化痰同时顾护正气，正切 COVID-19 病机，主要针对轻型、普通型症患者，适用人群广泛，已有研究表明用于治疗 COVID-19 具有良好疗效^[4]。本研究借以疏风解毒胶囊的化学成分、靶点及通路信息等多项数据，构建网络对其功能分析，系统预测其对 COVID-19 多成分、多靶标的可能分子机制。

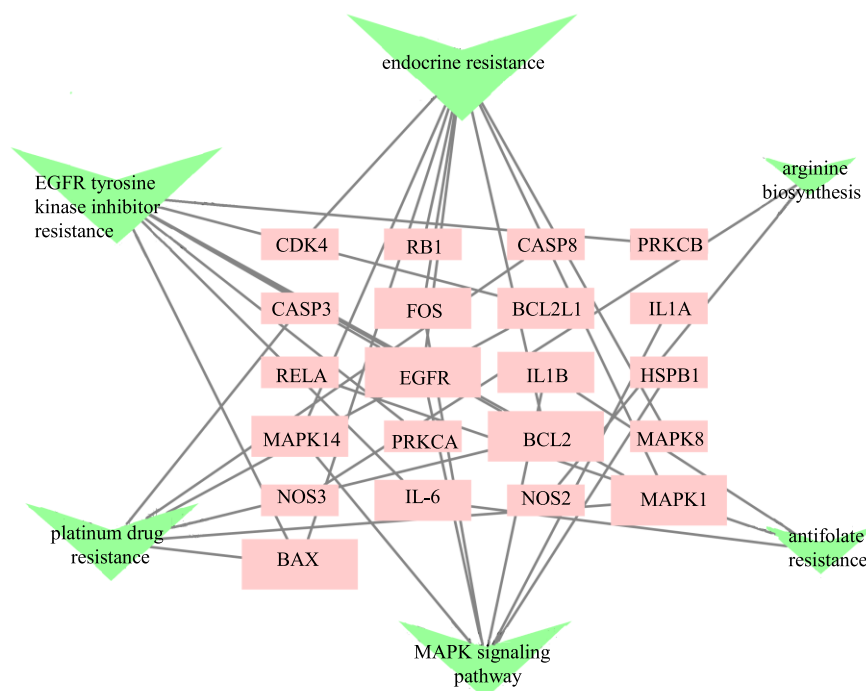


图 5 疏风解毒胶囊基因-通路网络

Fig. 5 Genes-pathway association networks of SJC

本研究得到了 60 个活性成分，筛选得到前 8 个关键活性成分分别为槲皮素、木犀草素、汉黄芩素、山柰酚、刺槐素、异鼠李素、5,7,4'-三羟基-8-甲氧基黄酮、 β -谷甾醇。除 β -谷甾醇属于植物甾醇类，其余 7 种均属黄酮类。这与现有中药对 COVID-19 的活性成分研究结果相一致^[16-18]。研究证明大多数黄酮类活性化合物有良好的抗病毒作用，可以通过阻断病毒和宿主受体结合、抑制病毒复制、直接靶向杀灭病毒、抑制机体炎症反应、调节宿主免疫反应等方面发挥广谱抗病毒活性^[19]。研究证明黄酮库中 64 种活性成分在与 SARS-CoV 3CLpro 进行荧光共振能量转移法 (FRET) 蛋白酶测定与分子对接实验后均可不同程度有效阻断

SARS-CoV 3CLpro 酶活性而发挥抗病毒作用^[20]，也有学者同时使用模拟分子对接、表面等离子体共振 (SPR) 生物传感器技术和 FRET 生物测定法佐证了槲皮素-3 β -半乳糖苷对 SARS-CoV 3CLPro 的明显抑制效应和治疗潜力^[21]。 β -谷甾醇于广泛存在于各种植物油和果蔬中^[22]，在多数中药中含量也较为丰富，具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、调血脂、免疫调节等活性^[23-24]，研究证明 β -谷甾醇具有类似激素的抗炎效应^[25]，可明显减轻脂多糖 (LPS) 可引起典型肺水肿、过度炎症反应等急性肺损伤病理变化，其保护机制可能与阻止炎症因子 (TNF- α 、IL-6) 释放和下调 NF- κ B 信号转导通路的活化有关^[26]，最新 COVID-19 逝者尸体解剖病理也显示患者肺部渗

出性反应明显,肺泡水肿,存在快速进展的过度炎症反应^[27],这与 β -谷氨醇抗肺损伤机制高度相符。

通过 PPI 网络分析筛选和基因-通路网络分析可知疏风解毒胶囊主要通过 IL6、IL1B、CCL2、MAPK8、MAPK1、MAPK14、CASP3、FOS、ALB 这 9 个靶点发挥主要治疗作用。根据其作用属性和调控类型可以将其分为 4 大类:IL6、IL1B、CCL2 均属于趋化因子,介导炎症反应;MAPK8、MAPK1、MAPK14 归属于有丝分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPKs)家族成员,广泛参与细胞的增殖、分化、转化及凋亡过程;FOS、CASP3 主要调控细胞的增殖和凋亡;ALB 表达控制白蛋白合成。大量研究证明炎症因子在肺炎的免疫及病理过程中起重要作用^[28-29]。体外细胞实验^[30]证实中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV)和严重急性呼吸道综合征冠状病毒(SARS-CoV)这 2 种病毒在肺部的感染中不是通过显著刺激抗病毒细胞因子如干扰素表达,而是诱导 IL6 的大量释放从而引起严重的炎症和肺组织损伤;白细胞介素-1 β (IL-1 β)为关键促炎介质之一,可诱导受体 IL-1RI 上调,促进肺泡巨噬细胞(AM)焦磷酸化而增强肺部炎症^[31];CCL2 被认为是在 SARS-CoV 感染的肺上皮细胞中最早显著上调的趋化因子之一^[32],其血清水平与严重急性呼吸综合征(SARS)感染的严重程度呈正相关^[33]。王福生院士对全球首例 COVID-19 病理结果分析示其肺部病理特征与 SARS 和中东呼吸综合征(MERS)患者的病理征象十分相似^[34],提示此 3 种趋化因子在 COVID-19 肺部炎症反应中发挥重要作用。MAPKs 的激活广泛参与了肺损伤的发病和病理改变过程^[35],主要通过激活下游 MAPK/ERK 信号通路、p38MAPK 信号通路、JNK 通路这 3 条路径诱导缺氧和缺血环境下的肺上皮细胞凋亡^[36],激活 AP-1 促使人肺纤维化^[37],增强肺组织氧化应激与过度炎症反应^[38]。半胱氨酸蛋白酶-3(CASP3)是凋亡下游的执行蛋白酶,Ning 等^[39]通过体内小鼠实验研究证明 CASP3 可以显著抑制先天免疫激活,抑制其表达后可维持宿主在病毒感染状态下免疫稳态,防止细胞因子过度产生。C-FOS 为 FOS 基因产物,常与 c-jun 组成激活子蛋白-1(AP-1)来调控细胞增殖、分化、转化及凋亡等过程^[40]。研究发现在 SARS-CoV 感染中其辅助蛋白 3b 可能通过上调 AP-1 依赖性细胞因子水平而发挥致病作用^[41],AP-1 还可参与多种肺部炎症反应,

促进杯状细胞的化生和黏液分泌,也能增加下游的基因表达而引发肺纤维化^[42-43]。来自 71 份组群研究表明,血浆白蛋白水平对于患者的疾病的发生程度和预后具有重要作用,适当提高白蛋白水平能作为载体可逆性的结合阴阳离子、活性物质、有毒物质等,起到解毒、清除自由基的作用^[44]。

GO 富集分析结果主要涉及脂多糖应答、对细菌来源分子反应、细胞凋亡和氧化应激等生物过程。细菌脂多糖在体外实验中能够直接诱导 NO 和活性氧的大量产生,介导肺部微血管细胞氧化应激损伤而加速急性呼吸窘迫综合征(ARDS)的发生发展^[45],这与 COVID-19 重症患者出现的 ARDS、感染性休克表现相一致^[46]。病毒感染能引起细胞凋亡或程序性死亡,这既是机体对未感染细胞的一种保护性机制即及时清除部分被感染的有害细胞,亦可迅速导致宿主组织细胞损伤^[47]。氧化应激反应不仅可直接损伤局部组织细胞,也可进一步激活多种信号通路诱导炎症反应,加速 COVID-19 患者的多器官损伤进程^[48]。

KEGG 富集得到 6 条通路,包括内分泌治疗抵抗、EGFR 酪氨酸激酶抑制剂抵抗、铂类耐药、抗叶酸等药物抵抗路径,精氨酸生物合成路径和 MAPK 信号通路。其中内分泌治疗抵抗路径与主要通过下游 EGFR/HER1 信号通路、PI3K/AKT/mTOR 信号通路和 MAPK 信号通路发挥作用^[49],与细胞凋亡、炎性细胞募集、细胞恶性转化等过程相关^[50-51]。EGFR 酪氨酸激酶抑制剂抵抗、铂类耐药、抗叶酸等药物抵抗路径均与肺癌的治疗相关,可调节细胞因子和 T 细胞受体信号转导过程,参与调解细胞自噬和炎症反应^[52-53],这与 COVID-19 的肺损伤机制密切相关。精氨酸合成代谢具有平衡免疫反应的作用,可降低损伤部位的炎症反应,减少炎症相关因子过度分泌对机体的损害^[54]。MAPK 信号通路也是炎症反应中的重要通路。由此可以预测疏风解毒胶囊主要是通过减少炎症反应、调节机体免疫、抑制细胞损伤凋亡来达到治疗 COVID-19 的目的。

通过网络药理学技术初步阐明了疏风解毒胶囊通过多成分、多靶点、多通路治疗 COVID-19 的分子机制。研究结果与现报道的有关中药对 COVID-19 的干预研究既有重合靶点也有创新发现,但总体作用机制仍与炎症反应、氧化应激、细胞凋亡、纤维增生等过程密切相关。鉴于网络药理学技术的局限性,后续需要更多针对性的实验研究予以佐证。

参考文献

- [1] Liu Y, Gayle A A, Wilder-Smith A, *et al.* The reproductive number of COVID-19 is higher compared to SARS coronavirus [J]. *J Travel Med*, 2020, 27(2): 1-4.
- [2] 瞿香坤, 郝树立, 马景贺, 等. 疏风解毒胶囊联合阿比多尔治疗新型冠状病毒肺炎的回顾性研究 [J]. 中草药, 2020, 51(5): 1167-1170.
- [3] 国家卫生健康委员会办公厅, 国家中医药管理局办公室. 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]. [2020-03-06]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202003/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989.shtml>.
- [4] 鲍岩岩, 高英杰, 时宇静, 等. 疏风解毒胶囊广谱抗病毒功效研究 [J]. 新中医, 2019, 51(12): 5-8.
- [5] 吕伟伟, 朱童娜, 邱欢, 等. 疏风解毒胶囊抗病毒及抗菌的体外药效学实验研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2013, 24(3): 234-238.
- [6] 马莉, 黄妍, 侯衍豹, 等. 疏风解毒胶囊对大鼠肺炎模型的抗炎机制研究 [J]. 中草药, 2018, 49(19): 4591-4595.
- [7] 马莉, 黄妍, 侯衍豹, 等. 疏风解毒胶囊免疫调节作用机制研究 [J]. 药物评价研究, 2019, 42(9): 1763-1768.
- [8] 蓝海涛, 赵昕. 疏风解毒胶囊在抗感染治疗中的研究进展 [J]. 陕西中医, 2017, 38(9): 1317-1318.
- [9] 何龙, 赵昕, 杨秀捷, 等. 疏风解毒胶囊预防急性肺损伤随机临床研究 [J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(1): 395-397.
- [10] 陶振钢, 高静炎, 薛明明, 等. 疏风解毒胶囊对于内毒素诱导大鼠急性肺损伤模型中 MAPK/NF κ B 通路的抑制作用 [J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(3): 911-915.
- [11] 赵丽. 疏风解毒胶囊用于慢性阻塞性肺疾病急性加重期的临床评价 [J]. 中国现代药物应用, 2019, 13(24): 163-164.
- [12] 陈海彬, 周红光, 李文婷, 等. 网络药理学—中药复方作用机制研究新视角 [J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(7): 2873-2876.
- [13] 张炜, 吴银根, 张惠勇, 等. 《上海市新型冠状病毒感染的肺炎中医诊疗方案(试行)》解读 [J]. 上海中医药杂志, 2020, 54(3): 1-4.
- [14] 薛艳, 张炜, 徐贵华, 等. 湿瘟为病, 疏利透达——上海地区新型冠状病毒肺炎中医临床证治探析 [J]. 上海中医药杂志, 2020, 54(3): 16-20.
- [15] 许冬玉, 许玉龙, 王至婉, 等. 基于网络药理学研究清肺排毒汤治疗新型冠状病毒肺炎的作用机制 [J/OL]. 中药药理与临床, [2020-03-08]. <https://doi.org/10.13412/j.cnki.zyyl.20200305.001>.
- [16] Burkard M, Leischner C, Lauer U M, *et al.* Dietary flavonoids and modulation of natural killer cells: Implications in malignant and viral diseases [J]. *J Nutr Biochem*, 2017, 46: 1-12.
- [17] 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.
- [18] 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.
- [19] Jo S, Kim S, Shin D H, *et al.* Inhibition of SARS-CoV 3CL protease by flavonoids [J]. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2020, 35(1): 145-151.
- [20] Chen L, Li J, Luo C, *et al.* Binding interaction of quercetin-3-beta-galactoside and its synthetic derivatives with SARS-CoV 3CL(pro): Structure-activity relationship studies reveal salient pharmacophore features [J]. *Bioorg Med Chem*, 2006, 14(24): 8295-8306.
- [21] Leone A, Spada A, Battezzati A, *et al.* Moringa oleifera seeds and oil: Characteristics and uses for human health [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(12): 2141-2155.
- [22] Hidayathulla S, Shahat A A, Ahamad S R, *et al.* GC/MS analysis and characterization of 2-Hexadecen-1-ol and beta sitosterol from *Schimperia arabica* extract for its bioactive potential as antioxidant and antimicrobial [J]. *J Appl Microbiol*, 2018, 124(5): 1082-1091.
- [23] 刘威良, 姬昱, 黄艾祥. β -谷甾醇的研究及开发进展 [J]. 农产品加工, 2019(1): 77-79.
- [24] Gupta M B, Nath R, Srivastava N, *et al.* Anti-inflammatory and antipyretic activities of beta-sitosterol [J]. *Planta Med*, 1980, 39(2): 157-163.
- [25] 姚凤, 周清燕, 熊瑛, 等. β -谷甾醇对脂多糖诱导的小鼠急性肺损伤的保护作用研究 [J]. 中国农学通报, 2015, 31(2): 55-61.
- [26] Bordon J, Aliberti S, Fernandez-Botran R, *et al.* Understanding the roles of cytokines and neutrophil activity and neutrophil apoptosis in the protective versus deleterious inflammatory response in pneumonia [J]. *Int J Infect Dis*, 2013, 17(2): e76-e83.
- [27] 刘茜, 王荣帅, 屈国强, 等. 新型冠状病毒肺炎死亡尸体系统解剖大体观察报告 [J]. 法医学杂志, 2020, 36(1): 19-21.
- [28] Channappanavar R, Fehr A R, Vijay R, *et al.* Dysregulated type I interferon and inflammatory monocyte-macrophage responses cause lethal pneumonia in SARS-CoV-infected mice [J]. *Cell Host Microbe*, 2016, 19(2): 181-193.
- [29] Zhou J, Chu H, Li C, *et al.* Active replication of Middle East respiratory syndrome coronavirus and aberrant induction of inflammatory cytokines and chemokines in human macrophages: Implications for pathogenesis [J]. *J*

- Infect Dis*, 2014, 209(9): 1331-1342.
- [30] Yoshikawa T, Hill T, Li K, *et al.* Severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus-induced lung epithelial cytokines exacerbate SARS pathogenesis by modulating intrinsic functions of monocyte-derived macrophages and dendritic cells [J]. *J Virol*, 2009, 83(7): 3039-3048.
 - [31] He X, Qian Y, Li Z, *et al.* TLR4-Upregulated IL-1 β and IL-1RI promote alveolar macrophage pyroptosis and lung inflammation through an autocrine mechanism [J]. *Sci Rep*, 2016, doi: 10.1038/srep31663.
 - [32] Law H K, Cheung C Y, Ng H Y, *et al.* Chemokine up-regulation in SARS-coronavirus-infected, monocyte-derived human dendritic cells [J]. *Blood*, 2005, 106(7): 2366-2374.
 - [33] Wong C K, Lam C W, Wu A K, *et al.* Plasma inflammatory cytokines and chemokines in severe acute respiratory syndrome [J]. *Clin Exp Immunol*, 2004, 136(1): 95-103.
 - [34] Xu Z, Shi L, Wang Y, *et al.* Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome [J]. *Lancet Resp Med*, 2020, 8(4): 420-422.
 - [35] Tan J, Liu D, Lv X, *et al.* MAPK mediates inflammatory response and cell death in rat pulmonary microvascular endothelial cells in an ischemia-reperfusion model of lung transplantation [J]. *J Heart Lung Transp*, 2013, 32(8): 823-831.
 - [36] Lim S K, Jeong Y W, Kim D I, *et al.* Activation of PRMT1 and PRMT5 mediates hypoxia-and ischemia-induced apoptosis in human lung epithelial cells and the lung of miniature pigs: the role of p38 and JNK mitogen-activated protein kinases [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 440(4): 707-713.
 - [37] Yu C C, Hsu M J, Kuo M L, *et al.* Thrombin-induced connective tissue growth factor expression in human lung fibroblasts requires the ASK1/JNK/AP-1 pathway [J]. *J Immunol*, 2009, 182(12): 7916-7927.
 - [38] Bao A, Yang H, Ji J, *et al.* Involvements of p38 MAPK and oxidative stress in the ozone-induced enhancement of AHR and pulmonary inflammation in an allergic asthma model [J]. *Respir Res*, 2017, 18(1): 1-12.
 - [39] Ning X, Wang Y, Jing M, *et al.* Apoptotic Caspases Suppress Type I Interferon Production via the Cleavage of cGAS, MAVS, and IRF3 [J]. *Mol Cell*, 2019, 74(1): 19-31.
 - [40] 韩畅畅, 万福生. AP-1 的研究进展 [J]. 中国细胞生物学学报, 2017, 39(10): 1357-1362.
 - [41] Varshney B, Lal S K. SARS-CoV accessory protein 3b induces AP-1 transcriptional activity through activation of JNK and ERK pathways [J]. *Biochemistry*, 2011, 50(24): 5419-5425.
 - [42] Woo C H, Lim J H, Kim J H. Lipopolysaccharide induces matrix metalloproteinase-9 expression via a mitochondrial reactive oxygen species-p38 kinase-activator protein-1 pathway in Raw 264.7 cells [J]. *J Immunol*, 2004, 173(11): 6973-6980.
 - [43] Shukla A, Flanders T, Lounsbury K M, *et al.* The gamma-glutamylcysteine synthetase and glutathione regulate asbestos-induced expression of activator protein-1 family members and activity [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(21): 7780-7786.
 - [44] 李建兵, 王俊平. 人血白蛋白临床应用进展 [J]. 中国继续医学教育, 2016, 8(19): 200-201.
 - [45] 王林霞, 汤鲁明, 龚裕强, 等. 脱嘌呤/脱嘧啶核酸内切酶 1 在脂多糖介导肺微血管内皮细胞氧化反应中的调控作用 [J]. 中华危重症医学杂志: 电子版, 2014, 7(6): 389-394.
 - [46] 闵瑞, 刘洁, 代喆, 等. 新型冠状病毒肺炎发病机制及临床研究进展 [J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30(8): 1136-1141.
 - [47] 贾宁, 孙荣钊. 病毒感染对细胞凋亡的影响及作用机制 [J]. 中国动物检疫, 2012, 29(8): 69-72.
 - [48] Ivanov A V, Bartosch B, Isagulants M G. Oxidative stress in infection and consequent disease [J]. *Oxid Med Cell Long*, 2017, 2017: 3496043.
 - [49] 武星星, 王伏生, 胡耀峰, 等. 乳腺癌内分泌治疗耐药相关信号通路的研究进展 [J]. 癌症进展, 2019, 17(12): 1380-1384.
 - [50] Sridhar S S, Seymour L, Shepherd F A. Inhibitors of epidermal-growth-factor receptors: a review of clinical research with a focus on non-small-cell lung cancer [J]. *Lancet Oncol*, 2003, 4(7): 397-406.
 - [51] Reck M, Kranich A L, Steinbach A K, *et al.* EGFR/HER1 inhibition: an example of new targeted therapies in non-small cell lung cancer [J]. *Medizinische Klinik*, 2005, 100(12): 785-793.
 - [52] Zeng Z, Chen H, Yan H, *et al.* Sensitivity to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in males, smokers, and non-adenocarcinoma lung cancer in patients with EGFR mutations [J]. *Int J Biol Markers*, 2013, 28(3): 249-258.
 - [53] Frigerio B, Bizzoni C, Jansen G, *et al.* Folate receptors and transporters: Biological role and diagnostic/therapeutic targets in cancer and other diseases [J]. *J Exper Clin Cancer Res: CR*, 2019, 38(1): 125-136.
 - [54] Yeh C, Yeh S, Lin M, *et al.* Effects of arginine-enriched total parenteral nutrition on inflammatory-related mediator and T-cell population in septic rats [J]. *Nutrition*, 2002, 18(7/8): 631-635.