

基于文献挖掘与分子对接技术的瑶药“十八钻”抗新型冠状病毒活性成分筛选

秦健峰^{1,2}, 郝二伟^{1,2#}, 梁跃辉³, 张 萌¹, 苏梓霞¹, 蓝 滴¹, 王星圆¹, 潘祥龙¹, 杜正彩^{1,2}, 侯小涛^{1,2*}, 邓家刚^{1,2*}

1. 广西中医药大学, 广西中药药效研究重点实验室, 广西 南宁 530200

2. 广西中医药大学, 广西农作物废弃物功能成分研究协同创新中心, 广西 南宁 530200

3. 广西大学化学化工学院, 广西 南宁 530004

摘要: **目的** 采用文献挖掘与分子对接技术相结合的方法筛选瑶药“十八钻”中潜在的抗新型冠状病毒(SARS-CoV-2)活性成分及寻找潜在的治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的瑶药。**方法** 依据瑶医传统用法及临床实践以瑶药“十八钻”为候选药物,通过文献挖掘与TCMSP、ETCM、TCMID、NPASS数据库搜集整理瑶药“十八钻”的化学成分。将搜集到的成分分别与SARS-CoV-2 3CL水解酶(Mpro)及血管紧张素转化酶2(ACE2)进行分子对接。收集两者对接得分值排名前50的成分构建中药-成分-靶点网络图,以优选活性成分,推测关键瑶药。**结果** 通过文献挖掘与中药数据库搜集共得到902个化学成分,通过分子对接得到与Mpro结合较好的成分219个,与ACE2结合较好的成分448个,其中槲皮素-3-O- α -L-呋喃阿拉伯糖苷、山柰酚-3-O- α -D-吡喃阿拉伯糖苷、鞣酸、胭脂虫酸、绿原酸、芦丁、西阿尼醇等成分对SARS-CoV-2具有潜在的抑制作用,关键的活性成分主要来源于双钩钻、槟榔钻、大钻、地钻、白钻、小红钻、小钻、九龙钻、四方钻等瑶药。**结论** 从瑶药“十八钻”中筛选出潜在的抗SARS-CoV-2中药单体,为寻找Mpro和ACE2的中药小分子抑制剂以及推测潜在抗COVID-19中药提供参考。

关键词: 新型冠状病毒; 新型冠状病毒肺炎; 瑶药; 十八钻; 血管紧张素转化酶; 3CL水解酶; 分子对接; 抗病毒

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)08-2024-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.08.006

Screening active components of anti-SARS-CoV-2 from Yao medicine named “eighteen zuan” by literature mining and molecular docking technology

QIN Jian-feng^{1,2}, HAO Er-wei^{1,2}, LIANG Yue-hui³, ZHANG Meng¹, SU Zi-xia¹, LAN Di¹, WANG Xing-yuan¹, PAN Xiang-long¹, DU Zheng-cai^{1,2}, HOU Xiao-tao^{1,2}, DENG Jia-gang^{1,2}

1. Guangxi Key Laboratory of Efficacy Study on Chinese Materia Medica, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China

2. Guangxi Collaborative Innovation Center of Study on Functional Ingredients of Agricultural Residues, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China

3. School of Chemistry and Chemical Engineering, Guangxi University, Nanning 530004, China

Abstract: Objective To screen the potential anti-SARS-CoV-2 active components of Yao medicine “eighteen zuan” and find the potential traditional Chinese medicine for the treatment of COVID-19 by the combination of literature mining and molecular docking technology. **Methods** The chemical constituents of named “eighteen zuan” were collected and sorted out through literature mining and TCMSP, ETCM, TCMID, and NPASS databases. The collected components were docked with SARS-CoV-2 3CL hydrolase

收稿日期: 2020-03-28

基金项目: 2020年新型冠状病毒感染的肺炎疫情应急科技攻关专项: 中-新合作开展广西特色中药壮瑶药抗新型冠状病毒活性筛选及应用研究(2020AB40001); 广西科技基地与人才专项(2018AD09008, 2018AD16010)

作者简介: 秦健峰(1990—), 男, 广西桂林人, 硕士, 助理研究员, 研究方向为中药活性成分与质量控制。Tel: 18078112520 E-mail: jf_qin@163.com

***通信作者** 侯小涛, 教授。E-mail: xthou@126.com

邓家刚, 广西终身教授。E-mail: dengjg53@126.com

#并列第一作者 郝二伟, 男, 博士, 研究员。Tel: 13407725749 E-mail: ewhao@163.com

(Mpro) and angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) respectively. The components with the top 50 of the two docking scores were collected to construct the traditional Chinese medicine-component-target network diagram, optimize the active components, and speculate the key traditional Chinese medicine. **Results** A total of 902 chemical constituents were obtained through literature mining and traditional Chinese medicine database collection. A total of 219 components that can bind well to Mpro and 448 components that can bind well to ACE2 were obtained by molecular docking. Among them, quercetin 3-*O*- α -L-arabinofuranoside, kaempferol 3-*O*- α -D-arabinopyranoside, tannin, coccinic acid, chlorogenic acid, rutin, and cianidanol have potential inhibitory effect on SARS-CoV-2. The key active ingredients mainly came from the follow Yao medicine: “shuang gou zuan”, “bing lang zuan”, “da zuan”, “di zuan”, “bai zuan”, “xiao hong zuan”, “xiao zuan”, “jiu long zuan”, and “si fang zuan”. **Conclusion** The potential monomers of anti-novel coronavirus traditional Chinese medicine were screened from Yao medicine “eighteen zuan”, which can provide reference for searching for small molecular inhibitors of Mpro and ACE2 and speculating potential anti-COVID-19 traditional Chinese medicine.

Key words: SARS-CoV-2; COVID-19; Yao medicine; eighteen zuan; angiotensin converting enzyme; 3CL hydrolase; molecular docking; antiviral

2019 年 12 月, 全球爆发了新型冠状病毒肺炎^[1-2], 并在很短的时间内扩散到全国各地, 世界卫生组织 (WHO) 将这种疾病命名为 COVID-19 (coronavirus disease 2019), 并将新型冠状病毒疫情列为国际关注的突发公共卫生事件 (PHEIC)^[3]。截止到 2020 年 3 月 23 日, 全世界新型冠状病毒肺炎的确诊人数已经达到 31 万多人, 累计死亡人数超过 1 万人, 极大地威胁了全世界人民的生命健康。

目前对于 COVID-19 的治疗, 还没有确切的特效药, 主要采用中西医结合的方法进行治疗。中医药作为我国的精粹, 是中华民族长期与疾病斗争积累下来的智慧结晶。中医药在抗击非典、禽流感等突发疾病中也发挥了重要的作用^[4-5]。针对此次 COVID-19 疫情的爆发, 国家卫生健康委员会、国家中医药管理局发布了《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案》, 根据疫情的发展情况目前已经更新到了第七版。目前全国在新型冠状病毒肺炎的治疗中, 中医药参与救治的病例占累计确诊病例的 96.37%。由此可见, 中医药在应对突发性疾病方面具有独特的优势, 从传统中药中发现新的抗病毒成分具有重要的意义。

瑶族医药是中国民族医药领域独树一帜的分支, 是我国传统医药的重要组成部分, 由于瑶族特定的生存环境, 瑶族人民长期生活在大瑶山等瘟疫痧蛊邪气浸淫之地, 在长期与瘟疫等病邪作斗争中积累了丰富的传统用药经验^[6], 其中, 由“五虎”“九牛”“十八钻”“七十二风”等瑶药构成的“老班药”最具特色。瑶医认为, 在 104 种经典瑶药中, 瑶医认为“钻类”瑶药性能强劲、通达经络、透利关节, 对瘀阻、湿滞有很好的治疗作用^[7]。在以往

的研究中^[8], 瑶药在抗病毒方面也具有独特的作用。本研究以瑶药“十八钻”为研究对象, 筛选其中的潜在抗新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 活性成分, 探寻具有潜在抗 COVID-19 作用的瑶药。

分子对接是利用计算机软件模拟受体蛋白与小分子受体相结合, 通过计算二者之间的结合参数来预测其结合模式及作用力并辅助筛选活性成分的技术。在研究中药的药效物质基础和作用机制方面具有独特的作用。SARS-CoV-2 3CL 水解酶蛋白 (Mpro) 被认为是 SARS-CoV-2 病毒的有效靶点, 为筛选抗 SARS-CoV-2 病毒活性成分提供了基础。周鹏等^[9]于 2020 年 1 月在 *BioRxiv* 上发表文章指出新型肺炎病毒与 SARS-CoV 一样, 通过 ACE2 进入细胞, 许多学者也纷纷基于 ACE2 靶点进行了大量的抗 SARS-CoV-2 病毒活性成分的筛选^[10-11]。本研究通过文献挖掘及数据库检索收集“十八钻”的化学成分, 以 Mpro 和 ACE2 为受体进行分子对接, 筛选潜在抗 SARS-CoV-2 活性成分, 为快速准确寻找有效的抗 SARS-CoV-2 中药小分子化合物及中药民族药的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 瑶药“十八钻”植物来源

瑶药“十八钻”包含黄钻 [东南五味子 *Schisandra henryi* C. B. Clarke subsp. *marginalis* (A. C. Smith) R. M. K. Saund.]、白钻 (长蕊五味子 *Schisandra viridis* A. C. Smith)、槟榔钻 [大血藤 *Sargentodoxa cuneata* (Oliv.) Rehd. et Wils]、双钩钻 [钩藤 *Uncaria rhynchophylla* (Miq.) Miq. ex Havil]、大红钻 [异型南五味子 *Kadsura heteroclita* (Roxb.) Craib]、天钻 (广西马兜铃 *Aristolochia kwangsiensis*

Chun et How)、黑钻(柠檬清风藤 *Sabia limoniacea* Wall)、大钻[厚叶五味子 *Kadsura coccinea* (Lem.) A. C. Smith]、九龙钻[龙须藤 *Bauhinia championii* (Benth.) Benth]、六方钻(翅茎白粉藤 *Cissus hexangularis* Thorel ex Planch)、麻骨钻(买麻藤 *Gnetum montanum* Markgr)、地钻[蔓性千斤拔 *Flemingia philippinensis* Merr. et Rolfe 或大叶千斤拔 *F. macrophylla* (Willd.) Prain]、葫芦钻[石柑子 *Pothos chinensis* (Raf.) Merr.]、小红钻(冷饭藤 *Kadsura oblongifolia* Merr.)、四方钻(翼茎白粉藤 *Cissus pteroclada* Hayata)、铜钻(定心藤 *Mappianthus iodoides* Hand -Mazz.)、小钻(长梗南五味子 *Kadsura longipedunculata* Fin. et Gagnep)、铁钻[瓜馥木 *Fissistigma oldhamii* (Hemsl.) Merr.]。

1.2 数据库及软件

化学成分搜集通过 TCMSP (<http://tcmssp.com/tcmssp.php>)、ETCM (<http://www.nrc.ac.cn:9090/ETCM/>)、TCMID (<http://119.3.41.228:8000/tcmid/>)、NPASS (<http://bidd2.nus.edu.sg/NPASS/>)、PUBCHEM (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)、CHEMSPIDER (<http://www.chemspider.com/>) 等数据库。文献搜索与下载通过 CNKI (<https://www.cnki.net/>)、PUBMED (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>)、Web of Science (<http://webofknowledge.com>) 数据库。分子式整理通过 ChemBio Office 软件。分子对接采用 Molecular Operating Environment (MOE) 2008.10 软件。网络图构建采用 Cytoscape 3.7.1 软件。

1.3 靶蛋白及成分数据库建立

靶蛋白 SARS-CoV-2 3CL 水解酶 (Mpro, PDB ID: 6LU7) 和血管紧张素转化酶 2 (ACE2, PDB ID: 1R42) 从 PDB 数据库 (<http://www.rcsb.org/>) 下载得到。将 18 味钻类瑶药分别导入 TCMSP、ETCM、TCMID、NPASS 等数据库检索其化学成分, 同时从文献中挖掘“十八钻”的化学成分, 综合 2 种方式所得, 通过 Pubchem、Chemspider 数据库及 Chem Bio Office 软件获得化学结构式。同时将国家卫健委发布的《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)》中抗病毒治疗方案中收录的 4 种化学药阿比多尔 (arbidol)、氯喹 (chloroquine)、洛匹那韦 (lopinavir)、利托那韦 (ritonavir) 以及最近用于抗 SARS-CoV-2 病毒感染临床研究的法匹拉韦 (favipiravir) 作为分子对接的阳性对照药。将所有化学结构式导入 MOE

中进行结构预处理, 保存为 pdb 格式的分子数据库。

1.4 分子对接

采用 MOE 2008.10 软件对靶蛋白 Mpro 和 ACE2 加氢加电荷, 删掉蛋白分子中非结合水, 而后对其进行能量最小化处理, 分别采用配体扩张法和活性位点寻找法确定 2 个靶标蛋白的活性位点, 保存为 pdbopt 文件。将待筛选化合物导入所构建的小分子数据库, 并采用 MOE 程序对分子结构进行能量最小化处理, 得到结构稳定的化合物构象数据库。而后采用 MOE 程序中 DOCK 模块分别与 2 个靶标分子对接, 每个分子循环对接 50 次, 以 London 为打分函数对其对接结果进行评估。

1.5 中药-成分-靶点网络的构建

将与 Mpro 和 ACE2 进行分子对接后筛选出来的中药成分及成分对应的中药等信息导入 Cytoscape 3.7.1 软件进行中药-成分-靶点的构建。

2 结果

2.1 中药成分数据库建立结果

通过数据库搜索与文献挖掘 18 味钻类瑶药中化学成分共 1 086 个, 其中 39 个来源于黄钻, 64 个来源于白钻, 60 个来源于槟榔钻, 113 个来源于双钩钻, 104 个来源于大红钻, 3 个来源于天钻, 19 个来源于黑钻, 285 个来源于大钻, 18 个来源于九龙钻, 1 个来源于六方钻, 30 个来源于麻骨钻, 66 个来源于地钻, 32 个来源于葫芦钻, 38 个来源于小红钻, 23 个来源于四方钻, 46 个来源于铜钻, 89 个来源于小钻, 56 个来源于铁钻, 去除重复成分, 总共得到 902 个候选活性成分。

2.2 分子对接结果

运用 MOE 软件进行中药成分与靶点蛋白进行分子对接, 一般认为对接得分值越低配体与受体结合的构象越稳定, 对接分值 < 0 说明两者可以结合。本研究选用 5 个抗病毒化学药作为阳性对照, 将中药小分子化合物与靶点蛋白得的对接得分与目前临床推荐 5 个抗病毒化学药化合物的对接得分进行对比, 以 5 个抗病毒化学药化合物中对接得分的最优值作为筛选标准。在对接结果基础上, 选择了 2 个同时能与 Mpro 和 ACE2 较好结合的中药成分以及 5 个化学药分子中对接综合得分较优的法匹拉韦进行对接作用力分析, 进一步验证分子对接结果的可行性。

2.2.1 Mpro 靶点对接结果 将搜集得到的 902 个候选活性成分以及 5 个抗病毒化学药分子与 Mpro 蛋

白进行分子对接,其中 5 个抗病毒化学药分子中法匹拉韦与 Mpro 蛋白的对接得分最低,为 $-54.263\ 4\ \text{kJ/mol}$,收集对接得分值小于该药物的潜在活性成分,经过筛选共得到 219 个成分的对接得分值小于法匹拉韦。根据对接得分选则排名前 50 的成分作为

潜在的 Mpro 抑制剂,得分前 50 的成分与 Mpro 蛋白对接结果见表 1。Mpro 蛋白与 (-)-表没食子儿茶素没食子酸酯和杨梅苷的相互作用见图 1。

化合物 (-)-表没食子儿茶素没食子酸酯苯环上的羟基与作为氢键供体与结合口袋上的谷氨酰胺氨

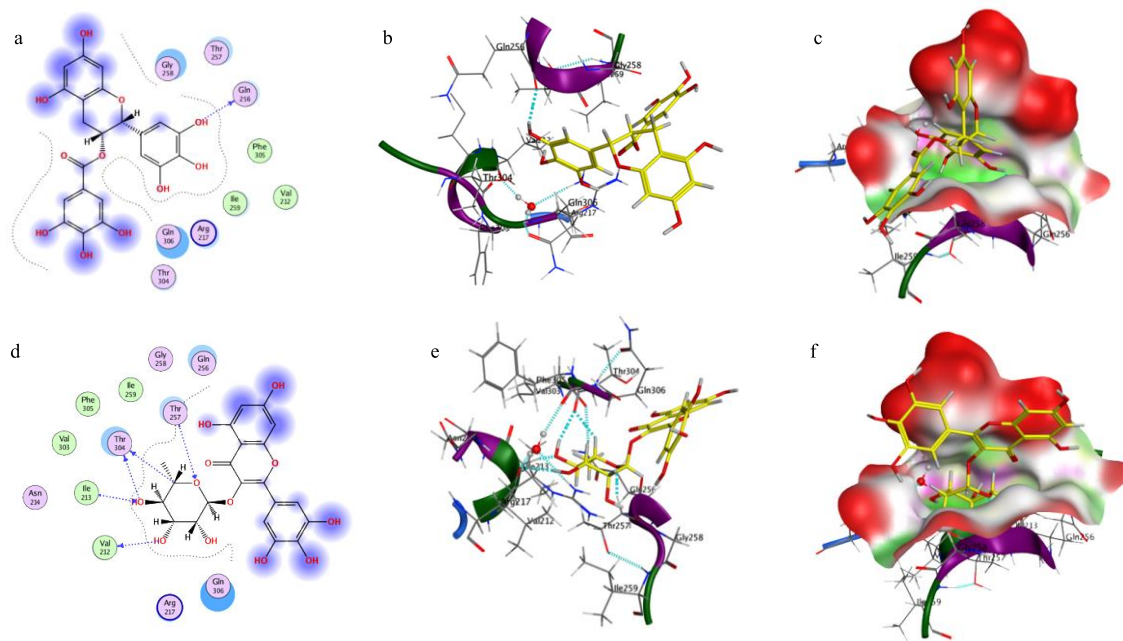
表 1 “十八钻”中代表性成分及化学药分子与 Mpro 蛋白对接结果

Table 1 Result of protein docking between Mpro protein and representative components of “eighteen zuan” and chemical drug

编号	化合物名称	结合能/($\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$)	来源
1	金鸡纳素 Ib	-80.083 1	双钩钻
2	norbergenin	-67.142 7	四方钻
3	金鸡纳素 IIa	-67.136 9	双钩钻
4	(-)-表没食子儿茶素没食子酸酯	-64.026 9	九龙钻
5	山柰素	-63.019 4	小钻
6	原花青素 B2	-63.013 1	双钩钻
7	岩白菜素	-62.903 9	四方钻
8	表儿茶素没食子酸酯	-62.875 9	九龙钻
9	11-O-没食子酰岩白菜素	-61.599 8	四方钻
10	异槲皮苷	-60.978 5	小红钻
11	槲皮素-3-O- α -L-呋喃阿拉伯糖苷	-60.530 3	大钻、小红钻
12	木通苯乙醇苷 B	-60.116 5	槟榔钻
13	槲皮素-3-O- α -D-吡喃阿拉伯糖苷	-60.073 5	大钻、小红钻
14	quercetin-3-O-(2-O- β -D-apiofuranosyl)- α -L-rhamnopyranoside	-59.664 7	黑钻
15	山柰酚-3-O- α -D-吡喃阿拉伯糖苷	-59.160 1	大钻、小红钻
16	杨梅苷	-58.874 7	九龙钻
17	丁香酸葡萄糖苷	-58.332 1	黑钻
18	6,8-diprenylorobol	-58.060 5	地钻
19	2',4',5,7-tetrahydroxy-8-(2-hydroxy-2-methylpropyl)isoflavone	-57.665 1	地钻
20	橙桑黄酮	-57.611 6	地钻
21	sabphenoside H	-57.558 9	黑钻
22	奥沙京	-57.279 8	地钻
23	昆明鸡血藤素	-57.147 6	地钻
24	6,8-二异戊烯基染料木素	-57.081 1	地钻
25	黄颜木素	-56.974 4	地钻
26	sabphenoside K	-56.950 5	黑钻
27	flemingsin	-56.849 3	地钻
28	aegineoside	-56.839 6	槟榔钻
29	(-)-儿茶素	-56.812 9	槟榔钻、双钩钻
30	金丝桃苷	-56.724 6	双钩钻
31	3A-二氢卡丹宾碱	-56.524 2	双钩钻
32	三叶豆苷	-56.467 7	双钩钻
33	enshicine	-56.353 5	黄钻
34	鹤庆五味子素 B	-56.268 1	白钻
35	山柰酚-3-O- α -D-吡喃阿拉伯糖苷	-56.120 8	大钻、小红钻
36	kaempferol 3-O-(2-O- β -D-apiofuranosyl)- α -L-rhamnopyranoside	-56.094 1	黑钻

续表 1

编号	化合物名称	结合能/(kJ·mol ⁻¹)	来源
37	鞣酸	-55.942 6	槟榔钻、大钻
38	绿原酸甲酯	-55.843 8	槟榔钻
39	杨梅黄酮	-55.748 5	四方钻
40	胭脂虫酸	-55.715 0	大钻、小红钻
41	红陪酚	-55.603 7	四方钻
42	(+)-南烛木树脂酚	-55.511 6	九龙钻
43	绿原酸	-55.397 8	槟榔钻、双钩钻
44	秦皮甲素	-55.259 3	白钻
45	aristolactam GI	-54.869 0	铁钻
46	表松脂酚	-54.791 6	铜钻
47	红景天苷	-54.788 2	槟榔钻、大钻
48	salutaridine	-54.670 7	铁钻
49	burselignan	-54.514 6	大红钻
50	osmanthuside H	-54.471 9	槟榔钻
51	法匹拉韦	-54.263 4	化学药分子
52	氯喹	-47.526 2	化学药分子
53	阿比多尔	-45.075 9	化学药分子
54	洛匹那韦	-41.919 8	化学药分子
55	利托那韦	-37.582 9	化学药分子



a、d-Mpro 蛋白与 (-)-表没食子儿茶素没食子酸酯、杨梅苷相互作用 2D 图 b、e-Mpro 蛋白与 (-)-表没食子儿茶素没食子酸酯、杨梅苷相互作用 3D 图 c、f-(-)-表没食子儿茶素没食子酸酯、杨梅苷与结合口袋模型图

a, d-2D diagrams of Mpro protein interacts with (-)-epigallocatechin gallate and myricitrin b, e-3D diagrams of Mpro protein interacts with (-)-epigallocatechin gallate and myricitrin c, f-diagram of (-)-epigallocatechin gallate, myricitrin and binding pocket model

图 1 Mpro 蛋白与 (-)-表没食子儿茶素没食子酸酯和杨梅苷相互作用

Fig. 1 Mpro protein interacts with (-)-epigallocatechin gallate and myricitrin

基酸残基形成氢键作用 (Gln256), 另外 2 个苯环上的羟基等则与口袋周边氨基酸残基形成疏水作用 (图 1-a、b), 且其可以很好地放置于活性口袋内 (图 1-c), 强的分子间作用力和与结合口袋良好的契合作用, 其结合能 $dG = -84.001\ 9\ \text{kJ/mol}$ 。

杨梅苷的脱水木糖醇基团上的 C-3 羟基作为氢键供体与缬氨酸 (Val 212) 之间形成分子间氢键; C-4 羟基分别作为氢键供体和受体与苏氨酸 (Thr 304) 和异亮氨酸 (Ile 213) 之间形成氢键作用, 受体骨架上的苏氨酸 (Thr 257) 同样以氢键供体与其环上的氧原子之间形成氢键作用; 2 个苯环上面的羟基等基团, 则与结合口袋周边之间形成疏水作用 (图 1-d、e); 杨梅苷同样可以放置于受体的结合口袋之内, 如众多的氢键与疏水作用使得化合物

可以与受体紧密结合 (图 1-f), 其结合能 $dG = -78.681\ 0\ \text{kJ/mol}$ 。

2.2.2 ACE2 靶点对接结果 将搜集得到的 902 个候选活性成分以及 5 个抗病毒化学药分子与 ACE2 蛋白进行分子对接, 其中 5 个抗病毒化学药分子中阿比多尔与 ACE2 蛋白的对接得分最低, 为 $-55.268\ 6\ \text{kJ/mol}$, 收集对接得分值小于该药物的潜在活性成分, 经过筛选共得到 448 个成分的对接得分值小于阿比多尔。根据对接得分选则排名前 50 的成分作为潜在的 ACE2 抑制剂, 得分前 50 的成分与 ACE2 蛋白对接结果见表 2。ACE2 蛋白与 (-)-表没食子儿茶素没食子酸酯和杨梅苷相互作用见图 2。

(-)-表没食子儿茶素没食子酸酯的酯键苯环上的羟基与受体骨架上的 UNKB917 之间形成氢键,

表 2 “十八钻”中代表性成分及化学药分子与 ACE2 蛋白对接结果

Table 2 Result of docking between ACE2 protein and representative components of “eighteen zuan” and chemical drugs

编号	化合物名称	结合能/(kJ·mol ⁻¹)	来源
1	胭脂虫酸	-86.368 0	大钻、小红钻
2	(-)-表没食子儿茶素没食子酸酯	-84.001 9	九龙钻
3	松脂素	-82.158 6	铜钻
4	mapposidic acid	-81.850 5	铜钻
5	鞣酸	-80.584 4	槟榔钻、大钻
6	杨梅黄酮	-79.564 8	四方钻
7	杨梅苷	-78.681 0	九龙钻
8	金丝桃苷	-78.226 1	双钩钻
9	芦丁	-78.191 4	白钻、双钩钻、黑钻
10	原花青素 B1	-77.773 1	双钩钻
11	染料木苷	-77.591 6	地钻
12	丁香酸葡萄糖苷	-77.516 5	黑钻
13	表儿茶素没食子酸酯	-76.742 4	九龙钻
14	arisanschinin G	-76.618 2	白钻
15	schizandriside	-76.127 6	小钻
16	儿茶素 3-鼠李糖苷	-75.557 2	九龙钻
17	(-)-latifolian A	-75.246 7	麻骨钻
18	山柰酚-3-O- α -D-吡喃阿拉伯糖苷	-74.644 4	大钻、小红钻
19	(-)-南烛木树脂酚	-74.315 6	九龙钻
20	新科斯糖	-74.269 4	小钻
21	五脂酮 D	-73.782 3	白钻
22	5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-3-[(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl) oxan-2-yl] oxochromen-4-one	-73.230 1	双钩钻
23	槲皮素-3-O- α -L-呋喃阿拉伯糖苷	-72.064 1	大钻、小红钻

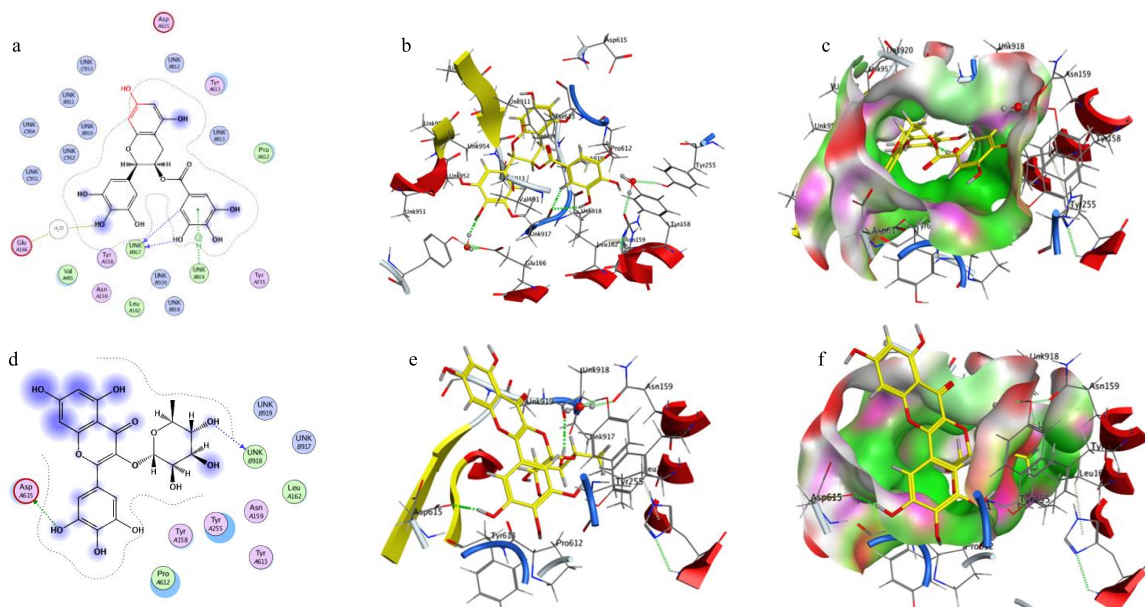
续表 2

编号	化合物名称	结合能/(kJ·mol ⁻¹)	来源
24	绿原酸	-72.004 9	槟榔钻、双钩钻
25	quercetin 3- <i>O</i> -(2"- <i>O</i> - β -apiofuranosyl-6"- <i>O</i> - α -rhamnopyranosyl)- β -galactopyranoside	-71.676 6	黑钻
26	quercetin 3- <i>O</i> -(2- <i>O</i> - β - <i>D</i> -apiofuranosyl)- α - <i>L</i> -rhamnopyranoside	-71.308 3	黑钻
27	fissistigamide B	-71.301 1	铁钻
28	三叶豆苷	-71.259 2	双钩钻
29	sabphenoside A	-70.921 8	黑钻
30	3'-去甲基淫羊藿次苷 E3	-70.909 3	大钻
31	异槲皮苷	-70.861 6	小红钻
32	前五味子脂素	-70.791 8	白钻、大钻
33	五味子甲素	-70.744 1	黄钻、大钻
34	异南五味子素 C	-70.697 4	大红钻
35	carmine	-70.673 9	大钻
36	山柰酚-3- <i>O</i> -芸香糖苷	-70.391 8	白钻
37	异落叶松脂素	-70.263 7	槟榔钻
38	(+)-catechin-7,3'-di- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucopyranoside	-70.254 1	大钻
39	槲皮素	-69.933 5	小红钻
40	阿福豆苷	-69.668 2	双钩钻
41	kadoblongifolin A	-69.665 3	小红钻
42	(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>R</i>)-2-[2-(3,4-dihydroxyphenyl)ethoxy]-6-methylol-tetrahydropyran-3,4,5-triol	-69.622 0	槟榔钻
43	鞣花酸	-69.483 4	地钻
44	新绿原酸	-69.477 1	双钩钻
45	咖啡酸	-69.451 1	双钩钻、麻骨钻
46	云杉新苷	-69.187 8	四方钻
47	蔓性千斤拔素 A	-69.163 2	地钻
48	9-benzoyloxy-gomisin B	-68.928 8	双钩钻
49	3 α - <i>O</i> -(β - <i>D</i> -glucopyranosyl)-lyoniresinol	-68.865 2	槟榔钻
50	儿茶精	-68.699 6	白钻、槟榔钻、双钩钻
51	阿比多尔	-55.268 6	化学药分子
52	法匹拉韦	-52.838 9	化学药分子
53	洛匹那韦	-47.062 1	化学药分子
54	氯喹	-45.434 1	化学药分子
55	利托那韦	-36.580 6	化学药分子

UNKB919 与苯环之间形成 π -阳离子作用；另外 1 个苯环上的羟基通过溶剂化作用与谷氨酰胺 (Glu A166) 之间形成氢键作用 (图 2-a、b)；而基团上其余的羟基则可与受体口袋周边形成疏水作用，并且该化合物可以完全放置于受体的结合口袋之内 (图 2-c)，氢键、疏水作用和成 π -阳离子作用共同

构筑了配体与受体之间良好的结合作用，其作用力 $dG = -64.026 9$ kJ/mol。

杨梅苷脱水木糖醇基团上的羟基与受体骨架上 UNKB918 之间形成分子间氢键，而苯环上的羟基作为氢键供体与天冬氨酸 (Asp A615) 之间形成氢键作用；黄酮部分苯环上羟基同样可以与结合口袋



a、d-ACE2 蛋白与(-)-表没食子儿茶素没食子酸酯、杨梅苷相互作用 2D 图；b、e-ACE2 蛋白与(-)-表没食子儿茶素没食子酸酯、杨梅苷相互作用 3D 图；c、f(-)-表没食子儿茶素没食子酸酯、杨梅苷与结合口袋模型图

a, d-2D diagrams of ACE2 protein interacts with (-)-epigallocatechin gallate and myricitrin; b, e-3D diagrams of ACE2 protein interacts with (-)-epigallocatechin gallate and myricitrin; c, f-diagram of (-)-epigallocatechin gallate, myricitrin and binding pocket model

图 2 ACE2 蛋白与 (-)-表没食子儿茶素没食子酸酯和杨梅苷相互作用

Fig. 2 ACE2 protein interacts with (-)-epigallocatechin gallate and myricitrin

周边形成疏水作用(图 2-d、e), 由于其结构相对较大, 不能像 (-)-表没食子儿茶素没食子酸酯化合物一样完全的进入到受体口袋之内, 然而仍有大部分可以进入到口袋之内(图 2-f) 共同的作用力使得化合物可以与受体良好的结合, 其作用力 $dG = -58.874\ 7\ \text{kJ/mol}$ 。

2.2.3 代表性化学药成分作用力分析 为了验证对接的可行性, 本研究对国家重点聚焦的 5 种药物进行对接, 其中以法匹拉韦(T-705)为例进行分析, 其与 Mpro 蛋白和 ACE2 之间的结合能分别为 $-54.263\ 4\ \text{kJ/mol}$ 和 $-45.434\ 1\ \text{kJ/mol}$, 其作用力分析

如图 3、4 所示。

法匹拉韦(T-705)结构上的羟基以氢键供体与天冬酰胺(Asn 151)之间形成分子间氢键, 而其母环吡嗪环与苯丙氨酸(Phe294)之间形成 π - π 作用, 其酰胺键的羰基与结合口袋之间形成疏水作用, 由于 π - π 作用力较弱, 故其作用力与 (-)-表没食子儿茶素没食子酸酯和杨梅苷相比, 其结合力相对较弱, 由此证明, 本研究所筛选的化合物具备潜在的活性。

法匹拉韦(T-705)结构上的羟基通过溶剂作用与活性口袋上的天冬酰胺(Asn A159)和苏氨酸(Tyr

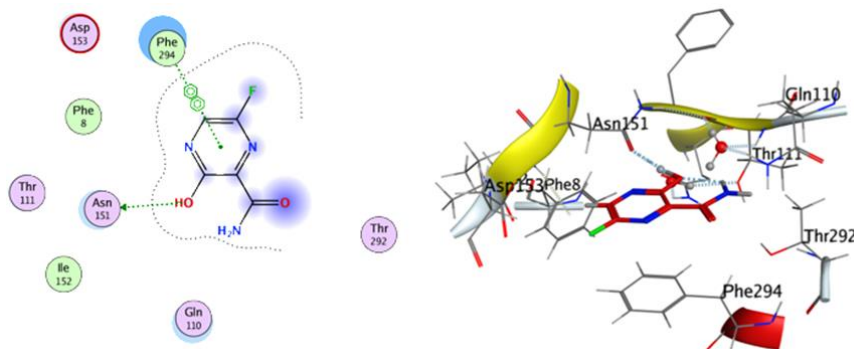


图 3 法匹拉韦 (T-705) 与 Mpro 蛋白对接作用力分析

Fig. 3 Analysis of docking force between favipiravir (T-705) and Mpro protein

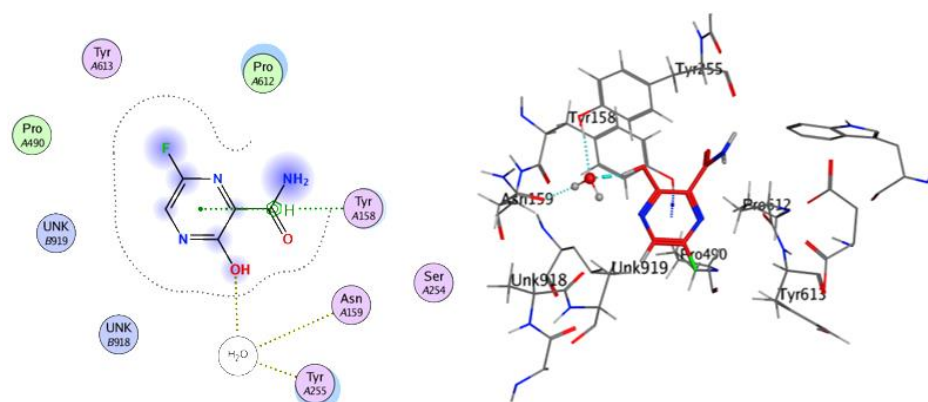


图 4 法匹拉韦 (T-705) 与 ACE2 蛋白对接作用力分析

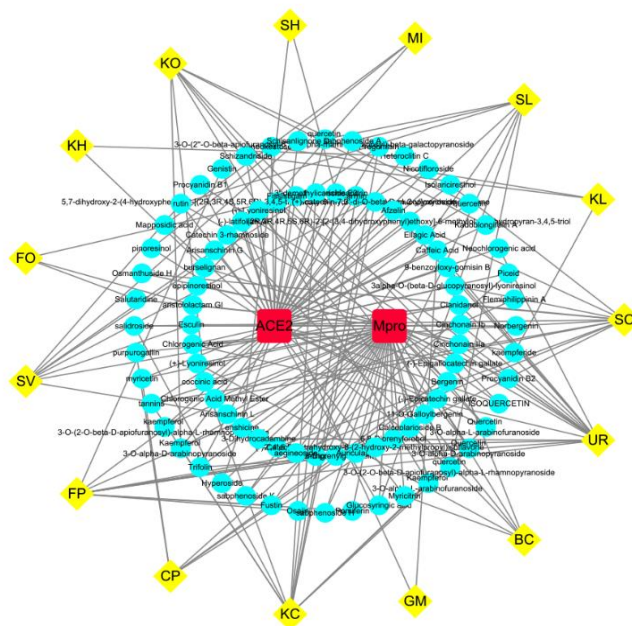
Fig. 4 Analysis of docking force between favipiravir (T-705) and ACE2 protein

A255) 之间形成氢键作用, 其吡嗪环与苏氨酸 (Tyr A158) 之间形成 π -阳离子作用, 其氨基则与口袋周边形成疏水作用, 由于其氢键为通过溶剂化作用形成, 其与周边残基直接形成氢键相比, 其作用力相对较弱, 而 π -阳离子作用同样相对较弱, 故与 (-)-表没食子儿茶素没食子酸酯和杨梅苷相比, 其结合力相对较差; 分子对接结果表明, 所筛选化合物具备较大的潜力。

2.3 中药-成分-靶点网络图的构建

将“2.2.1”“2.2.2”项筛选得到的成分及 Mpro、

ACE2 靶点蛋白构建成表格, 导入到 Cytoscape 3.7.1 软件, 构建中药-成分-靶点网络图 (图 5), 总共有 103 个节点 (包括 15 个瑶药、86 个活性成分、2 个靶点蛋白) 和 202 条边。相连节点的数量越多则其连接度值就越大, 在整个调控网络中作用就越大, 其中槲皮素-3-O- α -L-呋喃阿拉伯糖苷、山柰酚-3-O- α -D-吡喃阿拉伯糖苷、鞣酸、胭脂虫酸、绿原酸、芦丁、西阿尼醇等成分和双钩钻、槟榔钻、大钻、地钻、白钻、小红钻、小钻、九龙钻、四方钻等中药的连接度值较大。能够同时调控 2 个靶点的成分



黄色菱形-中药 蓝色圆形-成分 红色方形-Mpro、ACE2 靶点

The yellow diamonds represents the traditional Chinese medicines, the blue circles represents the compounds, and the red squares represents the Mpro and ACE2 target proteins

图 5 中药-成分-靶点网络图

Fig. 5 Traditional Chinese medicine-compounds-targets network

有14个,来源于7个中药,包括大钻、小红钻、双钩钻、九龙钻、黑钻、槟榔钻、四方钻。

3 讨论

自从COVID-19爆发至今,世界上仍然尚未研制出治疗COVID-19的特效药,西医所用的抗病毒药物如洛匹那韦和利托那韦等存在许多副作用^[12]。中医认为COVID-19属于“湿毒疫”范畴,致病原因为受“湿毒之邪”。中医药在辩证治疗疾病方面具有得天独厚的优势。

本研究以SARS-CoV-2 3CL水解酶蛋白和血管紧张素转化酶2蛋白为受体,对瑶药中“十八钻”的化学成分采用MOE软件进行了分子对接,并通过Cytoscape 3.7.1软件对中药、成分、靶点进行了网络分析,结果显示槲皮素-3-O- α -L-呋喃阿拉伯糖苷、山柰酚-3-O- α -D-吡喃阿拉伯糖苷、鞣酸、胭脂虫酸、绿原酸、芦丁、西阿尼醇等成分对SARS-CoV-2具有潜在的抑制作用,关键的活性成分主要来源于双钩钻、槟榔钻、大钻、地钻、白钻、小红钻、小钻、九龙钻、四方钻等瑶药。文献报道^[13]槲皮素-3-O- α -L-呋喃阿拉伯糖苷、金丝桃苷和芦丁具有抗登革热病毒的作用,鞣酸具有抗菌活性^[14]及抗病毒作用^[15],胭脂虫酸能够抑制HIV病毒^[16],绿原酸具有抗菌活性^[17]及抗HIV病毒作用^[18-19],西阿尼醇能够抗H1N1病毒^[20]。由此可见,分子对接结果具有较高的可靠性,在中药药效物质基础筛选方面,能够大大节约研究成本和时间。本研究快速高效的筛选出瑶药“十八钻”中潜在抗SARS-CoV-2活性成分,为快速准确寻找有效的抗SARS-CoV-2中药小分子化合物及中药民族药的应用提供了参考。但是本研究的结果是基于虚拟筛选得到的结果,具有一定的局限性,本团队正进一步通过体内、体外实验对本次研究的结果进行验证,以期研发抗新型冠状病毒的天然药物提供实验基础。

参考文献

- [1] 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.
- [2] Wang C, Horby P W, Hayden F G, *et al.* A novel coronavirus outbreak of global health concern [J]. *Lancet*, 2020, 395(10223): 470-473.
- [3] World Health Organization. Novel coronavirus (2019-nCoV) situation report-1 [R/OL]. WHO. 2020. <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports>.
- [4] Zhang M M, Liu X M, He L. Effect of integrated traditional Chinese and Western medicine on SARS: a review of clinical evidence [J]. *World J Gastroenterol*, 2004, 10(23): 3500-3505.
- [5] 李婧, 马小兵, 沈杰, 等. 基于文献挖掘与分子对接技术的抗新型冠状病毒中药活性成分筛选 [J]. 中草药, 2020, 51(4): 845-850.
- [6] 覃迅云, 罗金裕, 高志刚. 中国瑶药学 [M]. 北京: 民族出版社, 2002.
- [7] 戴斌, 李钊东, 丘翠嫦, 等. “虎牛钻风”类传统瑶药的调查研究 [J]. 中国民族民间医药, 1998(2): 28-34.
- [8] 郑鑫, 郝二伟, 李杨, 等. 五味子科“钻”类瑶药研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2016, 12(13): 24-27.
- [9] Zhou P, Yang X L, Wang X G, *et al.* Discovery of a novel coronavirus associated with the recent pneumonia outbreak in humans and its potential bat origin [J/OL]. *BioRxiv*, 2020, doi: 10.1101/2020.01.22.914952v2.
- [10] 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新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的中药及其复方预测 [J]. 中草药, 2020, 51(6): 1397-1405.
- [11] 谢铨子, 纪树亮, 钟彩婷, 等. 藿朴夏苓汤治疗新型冠状病毒肺炎的网络药理学分子机制研究 [J/OL]. 中药材, [2020-03-20]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1286.R.20200320.1105.002.html>.
- [12] 余爱荣, 范星, 赵燕, 等. 洛匹那韦/利托那韦联合其他抗病毒药治疗新型冠状病毒肺炎的疗效与安全性 [J/OL]. 医药导报, [2020-03-20]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/42.1293.R.20200309.1902.002.html>.
- [13] Bhakat S, Karubiu W, Jayaprakash V, *et al.* A perspective on targeting non-structural proteins to combat neglected tropical diseases: Dengue, west nile and Chikungunya viruses [J]. *Eur J Med Chem*, 2014, 87: 677-702.
- [14] Wang Y, Jin L, Ominski K, *et al.* Screening of condensed tannins from Canadian prairie forages for anti-*Escherichia coli* O157: H7 with an emphasis on purple prairie clover (*Dalea purpurea* Vent) [J]. *J Food Prot*, 2013, 76(4): 560-567.
- [15] Liu C, Cai D, Zhang L, *et al.* Identification of hydrolyzable tannins (punicalagin, punicalin and geraniin) as novel inhibitors of hepatitis B virus covalently closed circular DNA [J]. *Antiviral Res*, 2016, 134: 97-107.

- [16] Nguyen H L, Tran T H T, Phuong T T, *et al.* *In vitro* inhibitory effect of Lanostane triterpenoids of *Kadsura coccinea* on the human immunodeficiency virus type-1 protease [J]. *Indian J Pharm Sci*, 2018, 80(4): 755-761.
- [17] Wang L, Bi C, Cai H, *et al.* The therapeutic effect of chlorogenic acid against *Staphylococcus aureus* infection through sortase A inhibition [J]. *Front Microbiol*, 2015, 6: 1031.
- [18] Carlson H A, Masukawa K M, Rubins K, *et al.* Developing a dynamic pharmacophore model for HIV-1 integrase [J]. *J Med Chem*, 2000, 43(11): 2100-2114.
- [19] Neamati N, Hong H, Mazumder A, *et al.* Depsides and depsidones as inhibitors of HIV-1 integrase: Discovery of novel inhibitors through 3D database searching [J]. *J Med Chem*, 1997, 40(6): 942-951.
- [20] You H L, Huang C C, Chen C J, *et al.* Anti-pandemic influenza A (H1N1) virus potential of catechin and gallic acid [J]. *J Chin Med Assoc*, 2018, 81(5): 458-468.