

基于网络药理学和分子对接技术的款冬花在清肺排毒汤治疗新型冠状病毒肺炎（COVID-19）中的作用分析

范建新^{1,2,3}, 秦雪梅^{1,3}, 李震宇^{1,3*}

1. 山西大学 中医药现代研究中心, 山西 太原 030006

2. 山西大学化学化工学院, 山西 太原 030006

3. 山西大学 化学生物学与分子工程教育部重点实验室, 山西 太原 030006

摘要: **目的** 采用网络药理学和分子对接法分析款冬花在清肺排毒汤治疗新型冠状病毒肺炎（COVID-19）中发挥的作用。**方法** 基于课题组前期研究, 确定款冬花中的主要成分。采用 Swiss Target Prediction 和 BATMAN-TCM 数据库对款冬花主要化学成分的潜在靶点进行整理; 在 GenCLiP 3 和 GeneCard 数据库搜索 COVID-19 相关靶点, 运用 Cytoscape 3.7.1 软件绘制款冬花成分-靶点-疾病网络图; 使用 String 数据库构建靶点 PPI 网络; 通过 DAVID 数据库进行 GO 富集分析和 KEGG 通路富集分析; 将各成分与新型冠状病毒（SARS-CoV-2）3CL 水解酶和血管紧张素转化酶 II（ACE2）进行分子对接。**结果** 款冬花治疗 COVID-19 的化合物-靶点-疾病网络包含化合物 14 个、靶点 104 个、疾病 4 个。GO 功能富集分析得到 GO 条目 444 个（ $P < 0.05$ ），其中包括生物过程（BP）条目 325 个、细胞组成（CC）条目 44 个、分子功能（MF）条目 75 个。KEGG 通路富集筛选得到 94 条信号通路（ $P < 0.05$ ）。分子对接结果显示异绿原酸 B（3,4-dicaffeoylquinic acid）和异绿原酸 C（4,5-dicaffeoylquinic acid）与蛋白的亲合力要优于瑞德西韦。**结论** 款冬花中主要化合物能通过与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶和 ACE2 结合, 作用于多靶点调节多条信号通路, 从而发挥对 COVID-19 的防治作用。

关键词: 网络药理学; 分子对接; 款冬花; 新型冠状病毒肺炎（COVID-19）; 异绿原酸 B; 异绿原酸 C

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)09-2317-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.09.005

Mechanism of *Farfarae Flos* in Qingfei Paidu Decoction against COVID-19 based on network pharmacology and molecular docking

FAN Jian-xin^{1,2,3}, QIN Xue-mei^{1,3}, LI Zhen-yu^{1,3}

1. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

3. Key Laboratory of Chemical Biology and Molecular Engineering of Ministry of Education, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

Abstract: **Objective** To investigate the mechanism of *Farfarae Flos* (FF) in Qingfei Paidu Decoction against coronavirus disease 2019 (COVID-19) based on network pharmacology and molecular docking. **Methods** Based on our previous study, the main compounds in FF were selected. The potential targets of FF were searched by Swiss Target Prediction and BATMAN-TCM database. GenCLiP 3 and GeneCard were used to predict and screen the therapeutic targets of COVID-19, and then Cytoscape 3.7.1 was used to build the compound-target-disease network. The String database was used to build the target PPI network. Gene ontology (GO) function enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis were performed in the DAVID database. Molecular docking was performed based on the above compounds and the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) 3CL hydrolase and angiotensin converting enzyme II (ACE2). **Results** The compound-target-disease network contained 14 compounds, 104 targets and four diseases. GO function enrichment analysis revealed 444 GO items ($P < 0.05$), including 325 biological process (BP) items, 44 cell composition (CC) items and 75 molecular function (MF) items. A total of 94 signal pathways ($P < 0.05$) were screened out by KEGG pathway enrichment analysis.

收稿日期: 2020-03-24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81973466); 山西省特色生物资源与健康产业“1331 工程”协同创新中心

作者简介: 范建新 (1996—), 男, 硕士研究生, 研究方向为中药活性成分研究。Tel: 15735177839 E-mail: fanjxsxu@163.com

*通信作者 李震宇 (1980—), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药质量控制及活性成分研究。Tel: 15834101402 E-mail: lizhenyu@sxu.edu.cn

The results of molecular docking showed that the affinity of 3,4-dicaffeoylquinic acid and 4,5-dicaffeoylquinic acid with proteins were better than Remdesivir. **Conclusion** The compounds in FF can bind with SARS-CoV-2 3CL hydrolase and ACE2, and then act on many targets to regulate multiple signaling pathways, thus exerting the therapeutic effect on COVID-19.

Key words: network pharmacology; molecular docking; *Farfarae Flos*; coronavirus disease 2019 (COVID-19); 3,4-dicaffeoylquinic acid; 4,5-dicaffeoylquinic acid

截止目前,新型冠状病毒(严重急性呼吸系统综合征冠状病毒 2, SARS-CoV-2)感染已涉及到全球 211 个国家和地区,累计确诊新型冠状病毒肺炎(coronavirus pneumoniae disease 2019, COVID-19)患者 215 万余例,累计死亡已超过 14 万例^[1]。病毒感染可触发细胞因子风暴,感染初期多伴有发热、乏力等临床表现,重症患者可出现呼吸困难与低氧血症,甚至会伴有急性肺损伤、急性呼吸窘迫综合征^[2-4]。目前,仍缺乏有效遏制 SARS-CoV-2 的临床药物。

中医理论认为 SARS-CoV-2 引起的肺炎属于中医“疫病”范畴,病因为感受疫戾之气,病位在肺,基本病机特点为“湿、热、毒、瘀”。在严重急性呼吸系统综合征(SARS)的临床治疗中,中医在减轻发热症状、控制病情进展、减少激素用量、减轻并发症等方面具有显著疗效,得到世界卫生组织(WHO)专家组的认可。2020 年 2 月 7 日,国家中医药管理局发布关于《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》(国中医药办医政函[2020]22 号)^[5]。清肺排毒汤由 21 味药组成,是由 4 个古方(射干麻黄汤、麻杏甘石汤、五苓散、小柴胡汤)合方后去除人参、大枣、五味子 3 味药,并增加山药、枳实、陈皮、藿香 4 味药而成。中医理论认为,方中麻杏甘石汤散寒解表、宣泄肺热;五苓散健脾祛湿行水;射干麻黄汤开肺降气、温化寒饮;小柴胡汤调理气机、促进三焦通利^[6]。据统计,目前运用清肺排毒汤救治确诊病例,总有效率达 90%以上,其中 60%以上患者症状和影像学表现明显改善,30%患者症状平稳且无加重^[7]。射干麻黄汤有宣肺祛痰、下气止咳之功,主治寒痰阻肺、肺气上逆证。方中麻黄、细辛发表,射干、无殊下气,款冬、紫菀润燥,半夏、生姜开痰,紫菀、款冬温润化痰,降气止咳^[6]。诸药相配,共奏宣肺散寒,化饮止咳之功。款冬花 *Farfarae Flos* 是射干麻黄汤的组成药物之一,也是中医临床常用的止咳平喘药物,药理研究表明其具有止咳、祛痰、平喘、抗氧化和抗炎等作用^[8]。清肺排毒汤组方复杂、严谨,阐明款冬花在清肺排毒汤治疗 COVID-19

中发挥作用的活性成分和作用机制,将有助于阐释清肺排毒汤的作用机制和特点,为发挥中医药在 COVID-19 防治中的优势奠定基础。

网络药理学融合了系统生物学、多向药理学、计算生物学等多学科的技术和内容,构建药物-靶点-疾病之间的复杂网络,利用网络分析理论从整体角度研究药物的作用机制,为中药多成分、多靶点的药物作用机制阐释提供了一种新的研究策略^[9-10]。分子对接技术是计算机辅助药物设计技术,其采用计算机技术,通过化学计量计算方法模拟分子的几何结构和分子间相互作用力,寻找小分子药物与已知结构大分子(蛋白)的最佳结合模式^[11]。基于本课题组近年来对款冬花的研究基础,本研究对款冬花与 COVID-19 相关的基因进行网络药理学分析,推测其发挥作用的生物学途径,并通过分子对接技术对主要成分与 COVID-19 相关的靶点进行分子对接,进而分析和评估款冬花在清肺排毒汤治疗 COVID-19 中发挥的作用。

1 材料与方法

1.1 款冬花中主要成分数据库的构建

款冬花的主要化学成分包括倍半萜类、黄酮类、咖啡酰奎尼酸类^[12]。根据本课题组前期建立的款冬花指纹图谱,选取 14 个主要色谱峰对应的化合物进行后续研究^[13]。这 14 个化合物涵盖了款冬花中 3 类主要成分。借助中药系统药理分析平台(TCMSP, <https://tcmspw.com/tcmspsearch.php>)整理各化合物的口服生物利用度(OB)与类药性(DL)。通过 PubChem 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>)查阅各成分的相关化学信息,使用 ChemDraw 3D 软件绘制化合物的化学结构,并将其保存为 sdf 格式。

1.2 款冬花主要成分作用靶点和相关疾病靶点的收集

将款冬花中主要化合物的结构和信息分别导入 Swiss Target Prediction 数据库(<http://www.swisstargetprediction.ch/>)和 BATMAN-TCM 数据库(<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/index.php>)中,设置属性为“homo sapiens”,将 2 个数据库中筛选得到的靶点去重复后构建款冬花主要成分作用靶点

库。研究表明急性肺损伤、肺纤维化都是 COVID-19 的相应症状^[14-15],为了找到更加全面的与 COVID-19 相关(基因)靶点,在数据库 GenCLiP 3 (<http://ci.smu.edu.cn/genclip3/analysis.php>) 和 GeneCard 数据库 (<https://www.genecards.org/>) 中分别以“acute lung injury”“pulmonary fibrosis”“pneumonia”和“novel coronavirus pneumonia”作为关键词进行检索,得到与 COVID-19 相关的基因,去掉重复基因构建疾病靶点库。

1.3 主要成分-疾病靶点网络的建立

将款冬花主要成分作用靶点库和疾病靶点库对比进行筛选,得到重复靶点作为关键靶点。利用 Cytoscape 3.7.1 软件处理上述数据,建立款冬花主要成分-作用靶点网络。款冬花主要化合物和作用靶点用“节点”表示,二者之间的作用关系用“边”表示。再对得到的网络图进行拓扑学分析,以节点度(degree)和中介度(betweenness centrality)来反映节点的重要程度,度和中介度的值越大说明该节点在作用网络中越重要。

1.4 蛋白相互作用(PPI)网络构建与分析

String 数据库 (<https://string-db.org/>) 是检索蛋白相互作用的数据库,既包括蛋白质之间的直接物理作用,也包括间接功能相关性。将款冬花的潜在作用靶点录入 String 数据库,限定物种为人,获取 PPI 关系以此建立 PPI 网络。将上述 PPI 关系导入 Cytoscape 3.7.1 软件进行可视化处理,绘制 PPI 关系图,将节点大小和颜色设置用于反映度值大小,边的粗细设置用于反映结合律评分(combine score)的大小;以度值大于 2 倍平均度值为标准筛选关键蛋白进行后续分析。

1.5 靶点通路分析

为进一步了解核心靶点基因的功能和款冬花在治疗 COVID-19 中的主要作用通路,将上述筛选得到的药物与疾病相关靶点输入 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/home.jsp>),通过输入靶基因名称列表并选定物种为“homo sapiens”,将所有靶基因名称校正为其官方名称(official gene symbol),经上述数据库检索和转化操作,设定阈值 $P < 0.05$ 进行 GO 富集和 KEGG 通路富集分析,并对分析结果进行可视化处理。

1.6 分子对接

从 RSCB PDB 数据库中 (<http://www.rcsb.org/>) 下载 SARS-CoV-2 3CL 水解酶蛋白结构(PDB ID:

6LU7) 和血管紧张素转化酶 II (ACE2) 的蛋白结构(PDB ID: 1R42),再保存为 PDB 格式文件。随后将其导入 Sybylx-2.0 软件中进行预处理,包括提取配体小分子、去除水分子、加氢等。将从 PubChem 数据库下载的活性化合物 3D 结构的 sdf 文件进行能量优化,利用 Sybylx-2.0 中的 Surflex-Dock 模块将对应的化合物与蛋白进行分子对接,利用打分函数进行评价。

2 结果

2.1 款冬花中主要化合物库的构建

本课题组前期建立了款冬花指纹图谱^[13],本研究选取指纹图谱中主要的 14 个色谱峰所对应的化合物作为后续网络药理学和分子对接的研究对象,14 个成分的基本信息见表 1,结构见图 1。虽然咖啡酰奎尼酸类等成分 OB 或 DL 值不符合要求,但文献报道这类成分具有抗炎、止咳、祛痰等药理作用^[16-17],因此将这类成分纳入研究范围。此外,另有 3 个成分未查到其 OB、DL 值。

2.2 款冬花主要成分的网络药理学分析

2.2.1 化合物-靶点-疾病网络 化合物-靶点-疾病网络总共包含 122 个节点(14 个化合物节点、104 个靶点节点、4 个疾病节点)和 435 条边,其中黄色方形代表化合物,绿色方形代表每个疾病特有靶点,蓝色方形代表 2 种或 2 种以上疾病共有靶点,红色方形代表疾病;边代表三者之间的相互作用,其中虚线代表化合物和靶点之间的关系,实线是靶点和疾病之间的相互关系(图 2)。根据网络的拓扑学性质筛选中介度和度值较大的节点进行分析,这些连接化合物或靶点较多的节点在整个网络中起到枢纽作用,可能是关键的化合物或者靶点。通过分析化合物-靶点之间的中介度值及等级值等发现,款冬花中的 14 个化合物均作用于多个靶点,如款冬酮可以作用于 AKT1、TNF 等 33 个靶点,山柰酚可以作用于 MMP9、EGFR 等 35 个靶点。此外,不同的化合物可能作用于同一靶点,如槲皮素、款冬酮等 4 个化合物均可作用于 AKT1。说明款冬花抗 COVID-19 可能是多成分作用于多靶点发挥协同作用。

2.2.2 PPI 网络 使用 String 网站对得到的潜在靶点进行分析,得到靶点之间的 PPI 网络(图 3)。

图中每个节点的大小代表其度值,颜色由冷到暖代表其中介度,连线的粗细和颜色分别代表了 edge betweenness 和 combine-score。通过对网络进行拓扑分析,能够得到这个网络图中的枢纽蛋白,

表 1 款冬花中主要化合物及瑞德西韦的基本信息和分子对接结果

Table 1 Basic information and docking results of main compounds in *Farfarae Flos* and remdesivir

编号	化合物	化学式	结构类型	OB/%	DL	对接得分	
						SARS-CoV-2 3CL 水解酶	ACE2
1	新绿原酸 (neochlorogenic acid)	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	A	18.05	0.33	4.094 2	4.785 2
2	绿原酸 (chlorogenic acid)	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	A	11.93	0.33	3.619 3	6.181 5
3	隐绿原酸 (cryptochlorogenic acid)	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	A	24.50	0.33	3.935 2	6.554 1
4	芦丁 (rutin)	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	A	3.20	0.68	4.418 4	6.999 9
5	金丝桃苷 (hyperoside)	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	B	6.94	0.77	4.006 2	5.306 8
6	异绿原酸 B (3,4-dicaffeoylquinic acid)	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	A	1.71	0.69	6.450 8	8.178 0
7	异绿原酸 A (3,5-dicaffeoylquinic acid)	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	A	1.79	0.69	3.587 0	6.192 9
8	异绿原酸 C (4,5-dicaffeoylquinic acid)	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	A	1.73	0.69	5.671 8	8.031 4
9	槲皮素 (quercetin)	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	B	46.43	0.28	3.578 1	5.054 1
10	山柰酚 (kaempferol)	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	B	41.88	0.24	3.601 3	4.394 1
11	6-acetyl-2,2-dimethylchroman-4-one	C ₁₃ H ₁₄ O ₃	C	—	—	3.239 4	4.253 3
12	款冬酮 (tussilagone)	C ₂₃ H ₃₄ O ₅	D	61.62	0.38	3.758 2	5.217 5
13	1β,8-bisangeloyloxy-3β,4β-epoxybisabola-7(14),10-diene	C ₂₅ H ₃₄ O ₆	D	—	—	5.123 5	6.740 5
14	7β-(3-ethyl-cis-crotonyloxy)-1α-(2-methylbutyryloxy)-3,14-dehydro-Z-notonipetranone	C ₂₆ H ₃₈ O ₅	D	—	—	5.017 9	6.607 5
15	瑞德西韦 (Remdesivir)	C ₂₇ H ₃₅ N ₆ O ₈ P				6.115 4	7.130 6

A-咖啡酰奎尼酸类 B-黄酮类 C-色原酮类 D-倍半萜类

A-caffeoylquinic acids B-flavones C-chromogens D-sesquiterpenes

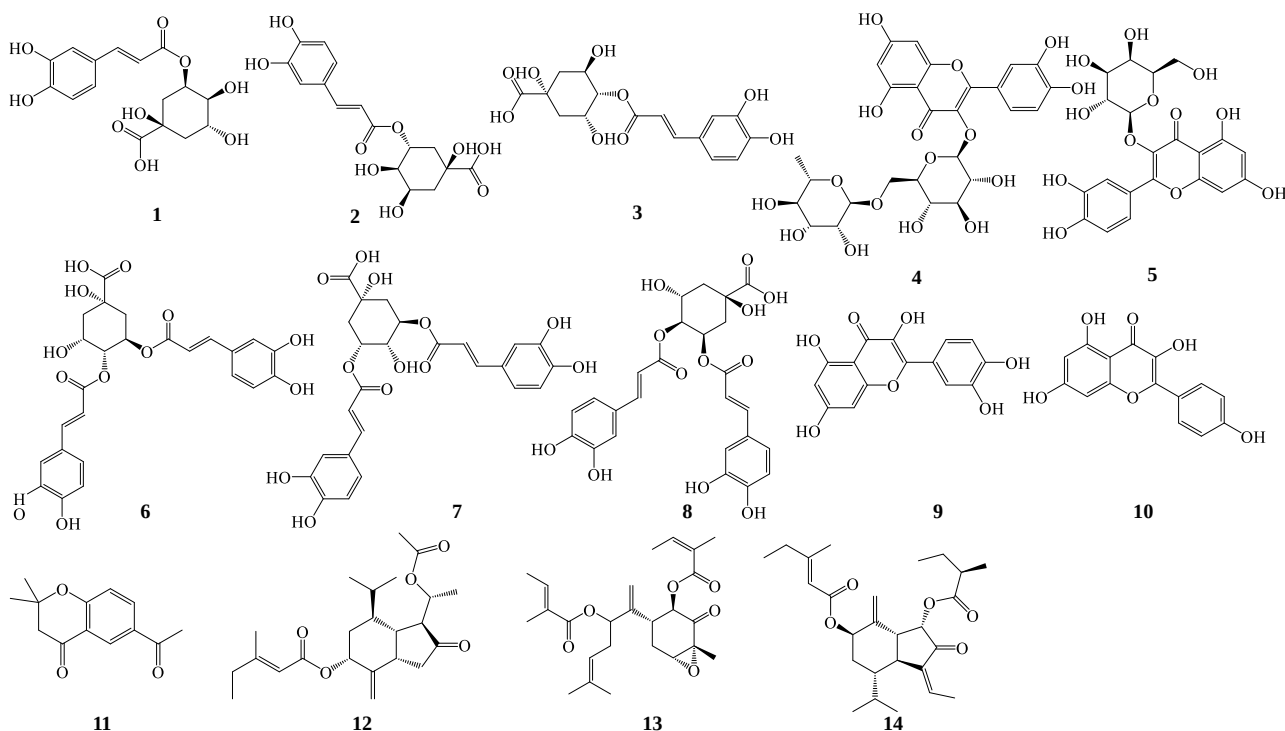


图 1 款冬花中主要化合物的结构

Fig. 1 Structures of main compounds in *Farfarae Flos*

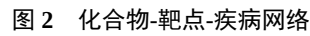
[illegible]

图3 潜在靶点的 PPI 网络

Fig. 3 PPI network of potential targets

其中等级值排名前 10 位的包括 AKT1、TNF、EGFR、CASP3、SRC、MAPK8、MMP9、IL-1B、PTGS2 和 KDR。提示这些靶点可能在网络中起着较为关键的作用，可能是款冬花针对 COVID-19 发挥作用的关键靶点。

2.2.3 GO 富集分析和 KEGG 通路分析 DAVID 中 GO 功能富集分析得到 GO 条目 444 个 ($P < 0.05$)，其中包括生物过程 (biological process, BP) 条目 325 个，细胞组成 (cell composition, CC) 条目 44 个，分子功能 (molecular function, MF) 条目 75 个，分别占 73%、10%、17%。其中生物过程主要涉及信号转导 (signal transduction)、蛋白磷酸化 (protein phosphorylation) 和细胞增殖正调控 (positive regulation of cell proliferation) 等通路；细胞组成主要涉及质膜 (plasma membrane)、核 (nucleus) 和细胞质

(cytoplasm) 等方面；分子功能主要涉及蛋白质结合 (protein binding)、能量结合 (ATP binding) 和蛋白质均二聚活性 (protein homodimerization activity) 等方面。各类别前 20 的通路具体信息见图 4。

KEGG 通路富集筛选得到 94 条信号通路 ($P < 0.05$)，包括 hepatitis B、non-small cell lung cancer 等已报道与肺炎相关的通路，同样包括 MAPK signaling pathway、TNF signaling pathway、PI3K-Akt signaling pathway 等与肺损伤保护相关的通路。其中排名前 20 的通路见图 4。

2.3 款冬花主要成分与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶、ACE2 的分子对接结果

分子对接是分子通过几何匹配和能量匹配相互识别找到最佳匹配模式的过程，一般认为配体与受体结合的构象越稳定，发挥作用的可能性越大。

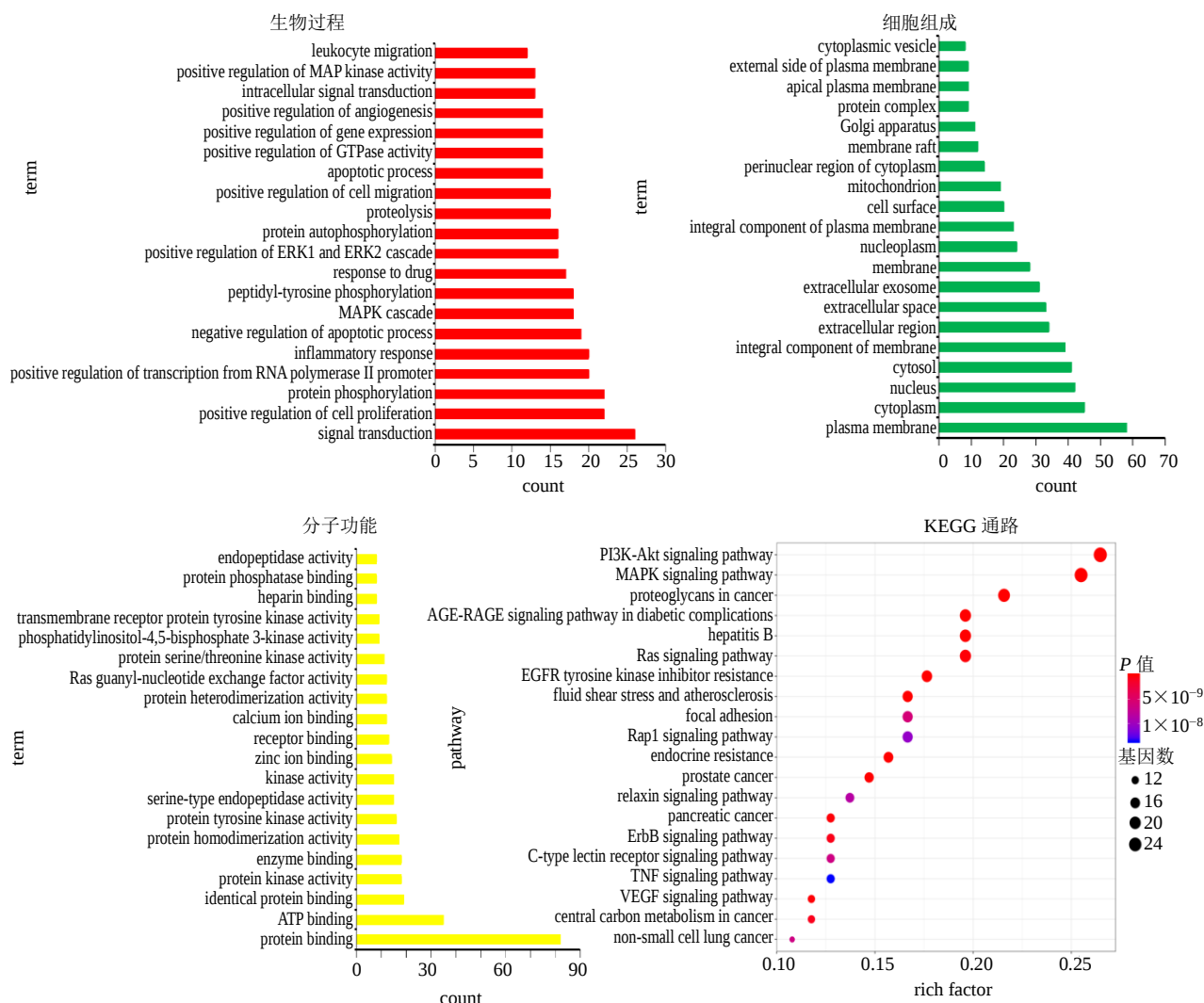


图 4 款冬花作用靶点的 GO 富集分析和 KEGG 通路分析 (前 20 个通路)

Fig. 4 GO enrichment analysis and KEGG enrichment analysis of targets of *Farfarae Flos* (top 20 pathways)

Dock 系统对接得分值 >4.25 时,说明对接分子与靶点之间有一定的结合活性,对接得分值 >5.0 表明有较好的结合活性,对接得分值 >7.0 说明具有强烈的结合活性^[18]。

ACE2 是 SARS 病毒 (SARS-CoV) 及 SARS-CoV-2 的宿主细胞受体, SARS-CoV-2 通过其表达的 S-蛋白与人体内 ACE2 的结合,从而导致病毒侵入机体而致病^[19]。因此,本研究将款冬花中主要的 14 个化合物与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶(PDB ID: 6LU7)和 ACE2 (PDB ID: 1R42)进行对接,并与目前临床推荐使用瑞德西韦 (Remdesivir) 进行对比,分析款冬花在抗 COVID-19 的活性化合

物。款冬花中 14 个成分和瑞德西韦与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶和 ACE2 进行对接的结果见表 1 和图 5。4 个化合物与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶的对对接得分 >5 ,显示有较好的结合活性,且与瑞德西韦的结合活性相当。10 个化合物与 ACE2 的对对接得分 >5 ,显示有较好的结合活性,其中异绿原酸 B 与异绿原酸 C 的对对接得分 >8 ,优于瑞德西韦的结合活性。因此,这些成分可能在治疗 COVID-19 中发挥重要的作用。此外,虽然都属于双咖啡酰奎尼酸类,但异绿原酸 A 与 2 种蛋白的结合活性明显低于异绿原酸 B 和异绿原酸 C,说明不同的空间结构对蛋白结合活性影响较大。

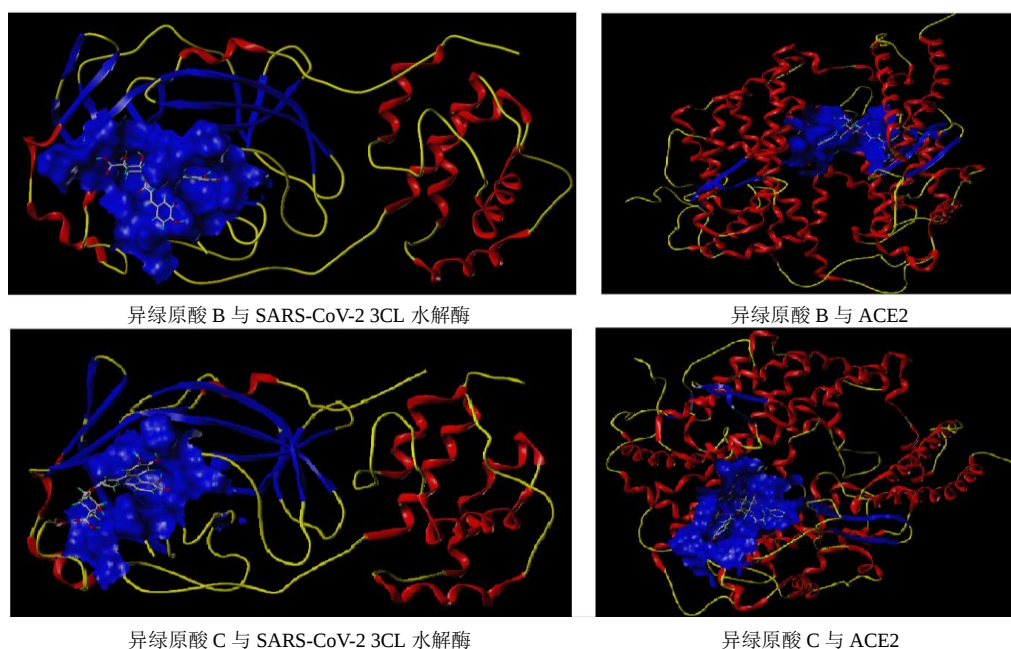


图 5 SARS-CoV-2 3CL 水解酶、ACE2 与异绿原酸 B 和异绿原酸 C 的分子对接模式

Fig. 5 Molecular docking diagram of SARS-CoV-2 3CL hydrolase and ACE2 with 3,4-dicaffeoylquinic acid and 4,5-dicaffeoylquinic acid

3 讨论

本研究首先采用网络药理学方法对款冬花中的主要成分及疾病靶点进行网络药理学分析,得到款冬花在清肺排毒汤中治疗 COVID-19 是通过多成分、多靶点、多通路的协同作用发挥疗效的。其中山柰酚和槲皮素作用靶点最多,靶点数目均 ≥ 35 ,倍半萜类化合物作用靶点数均 ≥ 23 ,咖啡酰奎尼酸类化合物相关靶点数均 ≥ 5 。通过对化合物-靶点网络分析可得黄酮类化合物主要作用于 AKT1、TNF 和 EGFR 等靶点,倍半萜类化合物主要作用于 SRC 和 MAPK8 等靶点,而咖啡酰奎尼酸类化合物主要

作用于 CASP3 和 MMP2 等靶点。结合分子对接技术将 14 个化合物分别与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶与 ACE2 等靶点进行结合活性评估,可得异绿原酸 B 和异绿原酸 C 与 ACE2 的结合活性要优于瑞德西韦,同时与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶也有较强的亲和力,即咖啡酰奎尼酸类化合物同时具有较好的抗 SARS-CoV-2 及其诱导的 COVID-19。而款冬花中其他类化合物主要是作用于宿主体细胞,提高机体免疫力,从而阻断病毒入侵。

文献报道咖啡酰奎尼酸类化合物具有抗炎、抗氧化等药理作用,且双咖啡酰奎尼酸类化合物的药

理活性要明显优于单咖啡酰奎尼酸类化合物^[20]。另外也有文献证明款冬花中咖啡酰奎尼酸类化合物具有止咳祛痰作用,能明显改善小鼠的肺部耐受性,揭示此类化合物是款冬花发挥传统药效的成分^[21]。山柰酚具有抗炎、抗菌、抗氧化、抗病毒、增强机体免疫等多种药理作用^[22],可清除氧自由基,减轻组织因缺氧引起的损伤^[23],也可通过降低 MAPK、NF- κ B 等通路的活性来抑制 TNF- α 、IL-6 等表达水平,从而发挥抗炎作用。吴莎等^[24]在槲皮素体外抗病毒作用中发现槲皮素对甲流(H1N1)、登革病毒 2 型等均有一定的抗病毒作用。文献报道^[25]款冬花中的倍半萜类成分也具有一定的抗炎等药理作用。KEGG 通路分析可得与 COVID-19 较为相关的通路有 PI3K-Akt、MAPK 和 Ras 信号传导通路,癌症蛋白聚糖通路和乙型肝炎通路。其中磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)通路是细胞内调控增殖、凋亡、炎症反应等过程的重要信号通路,磷酸化后调节下游多种基因的表达,而外界病理刺激能够使该通路发生激活^[26]。MAPK 在介导炎症过程中的激活和细胞因子生成中起着重要作用,活化 MAPK 通过磷酸化核转录因子、细胞骨架及酶类等参与细胞增殖、分化、转化的调节,并与炎症、肿瘤等多种疾病密切相关^[27]。因此款冬花中的多成分可能通过作用于多靶点调节 PI3K-Akt、MAPK 和 Ras 信号传导通路,癌症蛋白聚糖通路和乙型肝炎通路,从而在 COVID-19 治疗中发挥作用。

综上所述,本研究通过网络药理学和分子对接技术,初步探索了款冬花在治疗 COVID-19 的生物学机制,可以看出款冬花是通过多成分、多靶点、多通路的协同作用来发挥疗效的。鉴于网络药理学与分子对接技术缺乏实验确证的局限性,后期本课题组将采用实验方法对款冬花在清肺排毒汤中发挥的作用进一步深入分析,为充分发挥中医药在 COVID-19 治疗中的作用奠定理论基础。

参考文献

- [1] 中国新闻网. 全球新冠病例死亡超 14 万 [EB/OL]. [2020-04-17]. <http://www.chinanews.com/gj/2020/04-17/9159519.shtml>.
- [2] 刘昌孝,王玉丽,闫凤英. 认识新型冠状病毒,关注疫情防控药物研发 [J]. 中国抗生素杂志, 2020, 45(2): 1-10.
- [3] 杨延龙,涂明利,谢明水. PI3K 抑制剂对甲型流感病毒 FM1 感染诱导病毒性肺炎小鼠肺组织中 NO 生成及炎症反应的影响 [J]. 病毒学报, 2019, 35(5): 713-720.
- [4] 中华人民共和国国家卫生健康委员会国家中医药管理局办公室. 关于印发新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第七版)的通知 [EB/OL]. [2020-03-04]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202003/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989.shtml>.
- [5] 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 [EB/OL]. [2020-02-07]. https://mp.weixin.qq.com/s/PceHDFnRf8_T5g0JnPF6A.
- [6] 赵静,田赛赛,杨健,等. 清肺排毒汤治疗新型冠状病毒肺炎机制的网络药理学探讨 [J]. 中草药, 2020, 51(4): 829-835.
- [7] 国家中医药管理局. 中医药有效方剂筛选研究取得阶段性进展 [EB/OL]. [2020-02-06]. <https://mp.weixin.qq.com/s/GLStx8XiB78tKv0cLDeRuw>.
- [8] 侯阿娇,郭新月,满文静,等. 款冬花的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中医药信息, 2019, 36(1): 107-112.
- [9] 卢紫娟,刘海霞,李昆,等. 基于网络药理学的脑震宁颗粒治疗脑外伤的机制分析 [J]. 中草药, 2018, 49(15): 3531-3540.
- [10] 许文倩,秦雪梅,刘月涛. 基于网络药理学的黄芪建中汤治疗慢性萎缩性胃炎作用机制研究 [J]. 中草药, 2018, 49(15): 3550-3561.
- [11] 段爱霞,陈晶,刘宏德,等. 分子对接方法的应用与发展 [J]. 分析科学学报, 2009, 25(4): 473-477.
- [12] 张争争. 款冬花活性成分及转录组研究 [D]. 太原: 山西大学, 2016.
- [13] 李震宇,贾岩,邢婕,等. 一种款冬花液相指纹图谱的构建方法和应用: 中国, CN 107290456 A [P]. 2017-10-24.
- [14] 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.
- [15] 刁凯悦,韩沛伦,庞彤,等. 新型冠状病毒肺炎胸部高分辨率 CT 的表现与变化特点 [J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2020, 19(2): 166-171.
- [16] 赵昱,赵军,李湘萍,等. 咖啡酰奎尼酸类化合物研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(11): 869-874.
- [17] Wu Q Z, Zhao D X, Xiang J, et al. Antitussive, expectorant, and anti-inflammatory activities of four caffeoylquinic acids isolated from *Tussilago farfara* [J]. *Pharm Biol*, 2016, 54(7): 1117-1124.
- [18] 熊佳惠,侯恩存,唐友明,等. 基于分子对接及网络药理学方法研究附子理中汤治疗晚期胃癌的作用机制

- [J]. 中医学报, 2020, 35(260): 164-171.
- [19] 陈 璟, 徐贝贝, 徐坠成, 等. 基于网络药理学的防己黄芪汤防治 2 型糖尿病的潜在作用机制研究 [J]. 现代盐化工, 2020, 47(1): 10-13.
- [20] 赵 昱, 赵 军, 李湘萍, 等. 咖啡酰奎尼酸类化合物研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(11): 869-874.
- [21] 张争争. 款冬花活性成分及转录组研究 [D]. 太原: 山西大学, 2016.
- [22] 雷晓青, 陈 鳌, 刘 毅, 等. 山柰酚药理作用的研究进展 [J]. 微量元素与健康研究, 2017, 34(2): 61-62.
- [23] 周 瑶, 杜标炎, 谭宇蕙, 等. 山柰酚对大鼠肝癌细胞 CBRH7919 的增殖抑制及诱导凋亡作用 [J]. 广州中医药大学学报, 2010, 27(3): 250-253.
- [24] 吴 莎, 金晓晗, 施珊珊, 等. 槲皮素和穿心莲内酯的体外抗病毒作用 [J]. 中药材, 2012, 35(12): 2003-2006.
- [25] 李 静, 秦雪梅, 李震宇. 款冬花中倍半萜类成分的研究进展 [J]. 中草药, 2017, 48(14): 2964-2971.
- [26] Oliveira J, Santos G, Moraes J A, *et al.* Reactive oxygen species generation mediated by NADPH oxidase and PI3K/Akt pathways contribute to invasion of *Streptococcus agalactiae* in human endothelial cells [J]. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 2018, 113(6): e140421.
- [27] 吴 俊, 刘建全, 李慧萍, 等. MAPK 信号通路在肺炎衣原体感染小鼠中的作用 [J]. 中国医药导报, 2015, 12(25): 15-19.