

基于网络药理学和分子对接技术的金振口服液干预新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 的作用机制研究

陶晓倩^{1,2}, 柯志鹏^{1,2}, 张新庄^{1,2}, 邓奕^{1,2}, 曹泽或^{1,2}, 曹亮^{1,2}, 王振中^{1,2}, 肖伟^{1,2*}

1. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001

2. 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏 连云港 222001

摘要: **目的** 通过网络药理学及分子对接技术预测金振口服液 (Jinzen Oral Liquid, JOL) 干预新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 的作用机制。 **方法** 通过文献挖掘以及 DisGeNET、OMIM、KEGG、UniProt 数据库联用检索与 COVID-19 相关的蛋白靶点。借助 Traditional Chinese Medicine Network (TCMN) 信息平台检索 JOL 中的化合物, 运用 Cytoscape 3.2.1 构建药材-化合物-靶点网络来预测 JOL 治疗 COVID-19 的活性成分及作用靶点。在 RCSB PDB 数据库中检索获取新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 3CL 水解酶 (3CLpro) 和血管紧张素转化酶 II (ACE2) 的晶体结构, 借助 AutoDock Vina 软件将活性化合物与 2 个蛋白进行分子对接。 **结果** 药材-化合物-靶点网络包含异甘草酸内酯、贝母辛、番泻苷 B 等 75 个化合物分别来自甘草、大黄和平贝母 3 味药材, 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR)、Janus 激酶 3 (JAK3)、丝裂原活化蛋白激酶激酶 1 (MEK1) 等 28 个靶点。网络特征分析阐明了 JOL 治疗 COVID-19 的 9 个关键化合物 (异甘草酸内酯、甘草内酯、去氢鄂贝定碱、desoxo-glabrolid-acetate、贝母辛、贝母素乙、乌苏里啶酮、西贝素和 euchrenone A5) 以及 10 个潜在作用靶 (mTOR、JAK3、ACE2、TNFA、AKT2、PIK3CA、MEK1、BRD2、ACE、ANPEP)。分子对接显示, JOL 中部分活性化合物对 3CLpro 和 ACE2 蛋白具有一定的亲和力。 **结论** JOL 可能是通过调节溴结构域包含蛋白 2 (Brd2)、氨肽酶 N (CD13) 和 ACE2 的表达以及干预 PI3K/Akt、Jak-STAT、TNF 和 MAPK 信号通路来遏制 COVID-19 细胞因子风暴的发生和发展, 并与 3CLpro 结合抑制病毒复制, 从而有可能对 COVID-19 有防治作用。

关键词: 金振口服液; 新型冠状病毒; 新型冠状病毒肺炎; 网络药理学; 分子对接技术; 细胞因子风暴; 血管紧张素转化酶 II; PI3K/Akt 信号通路; Jak-STAT 信号通路; TNF 信号通路; MAPK 信号通路; 异甘草酸内酯; 甘草内酯; 去氢鄂贝定碱; 贝母辛; 贝母素乙; 乌苏里啶酮; 西贝素

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)09-2326-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.09.006

Investigate mechanism of Jinzhen Oral Liquid for prevention COVID-19 based on network pharmacology and molecular docking technology

TAO Xiao-qian^{1,2}, KE Zhi-peng^{1,2}, ZHANG Xin-zhuang^{1,2}, DENG Yi^{1,2}, CAO Ze-yu^{1,2}, CAO Liang^{1,2}, WANG Zhen-zhong^{1,2}, XIAO Wei^{1,2}

1. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China

2. State Key Laboratory of New-tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Lianyungang 222001, China

Abstract: Objective To investigate the mechanism of Jinzhen Oral Liquid (JOL) for prevention COVID-19 through network pharmacology and molecular docking technology. **Methods** The protein targets related to COVID-19 were searched by literature mining and retrieving in DisGeNET, OMIM, KEGG and UniProt databases. With the aid of Traditional Chinese Medicine Network Pharmacology Intelligent Information Platform (TCMN) searching JOL chemical components and targets, the “herb-compound-target network” was constructed using Cytoscape-3.2.1 software to predict the main active ingredients and action targets of JOL in the treatment of COVID-19. The crystal structure of novel coronavirus (SARS-CoV-2) 3CL hydrolase (3CLpro) and angiotensin converting enzyme II (ACE2) was retrieved from the RCSB PDB database, and the active compounds were docked with the two

收稿日期: 2020-03-31

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项: 现代中药创新集群与数字制药技术平台 (2013ZX09402203)

作者简介: 陶晓倩 (1985—), 女, 硕士, 从事研究方向为中药药理学研究。Tel: 18951737903 E-mail: 715163355@139.com

*通信作者 肖伟, 男, 博士生导师, 从事中药新药的研究与开发。Tel: (0518)81152367 E-mail: kanionlunwen@163.com

proteins by using AutoDock Vina software. **Results** The herb-compound-target network contained 75 compounds including isoglabrolide, peimisine, and sennoside B, etc., which are from the three medicinal materials of *Glycyrrhiza uralensis*, *Rheum officinale*, and *Fritillaria ussuriensis*, and 28 targets including mammalian target of rapamycin (mTOR), Janus kinase 3 (JAK3) and mitogen-activated protein kinase 1 (MEK1). Furthermore, nine key compounds (isoglabrolide, glabrolide, ebeiedinone, desoxoglabrolid-acetate, peimisine, verticinone, imperialine, ussuriidinone and euchrenone A5) and 10 potential targets (mTOR, JAK3, ACE2, TNFA, AKT2, PIK3CA, MEK1, BRD2, ACE and ANPEP) of JOL were predicted for treating COVID-19 by network characteristic analysis. The molecular docking results showed that some core compounds of JOL had a certain degree of affinity for 3CLpro and ACE2. **Conclusion** JOL may inhibit the occurrence and development of cytokine storm in COVID-19 by regulating the expression of Brd2, CD13, and ACE2 and interfering with the PI3K/Akt, Jak-STAT, TNF and MAPK signaling pathways, and inhibit virus replication by binding with 3CLpro, thus exerting a preventive or therapeutic effect on COVID-19.

Key words: Jinzhen Oral Liquid; SARS-CoV-2; coronavirus disease 2019; network pharmacology; molecular docking; cytokine storm; angiotensin converting enzyme II; PI3K/Akt pathway; Jak-STAT pathway; TNF pathway; MAPK pathway; isoglabrolide; glabrolide; ebeiedinone; peimisine; peiminine; ussuriidinone; imperialine

2019年12月,“不明原因肺炎”出现,经全基因组测定确认为“新型冠状病毒”,国际病毒分类委员会将该病毒命名为“SARS-CoV-2”。世界卫生组织将 SARS-CoV-2 导致的肺炎命名为“COVID-19”。COVID-19 具有高传染性,疫情蔓延迅速。截至 2020 年 4 月 19 日 15 时,全国 COVID-19 累计确诊 84 223 例,累计境外输入 1 575 例,累计死亡病例 4 642 例,累计治愈病例 77 850 例,中国现有确诊病例 1 731 例,海外累计确诊病例 2 315 182 例,累计死亡 158 824 例。

SARS-CoV-2 与严重急性呼吸综合征 (SARS) 病毒 (SARS-CoV) 的 S 蛋白存在基因序列及结构的相似性^[1-2],同属 β 冠状病毒属。研究发现血管紧张素转化酶 II (ACE2) 对于 SARS-CoV-2 进入细胞是必需的^[3]。在 SARS-CoV-2 侵染宿主细胞的过程中,病毒的多聚蛋白多肽通过酶切作用被切割成能组成新的病毒的非结构性组分,其中 3CL 水解酶 (3CLpro, 也叫做主要蛋白酶 Mpro) 在这一过程中起到了至关重要的作用,通过抑制蛋白酶的活性,或许能有效控制病毒的复制和增殖^[4]。

影像学检查显示,大多数 COVID-19 患者胸部 CT 扫描会出现双侧磨玻璃样改变^[5]。有临床研究发现 SARS-CoV-2 可能主要作用于 T 淋巴细胞,病毒通过呼吸道黏膜扩散到其他部位细胞,诱导多种细胞因子和化学趋化因子产生失控过激的病理反应,即细胞因子风暴 (cytokine storm),导致患者发生急性呼吸窘迫综合征和感染性休克,最终导致多器官功能衰竭^[6]。目前,尚未有治疗 COVID-19 的特效药,中医药在治疗瘟疫方面历史悠久,针对 COVID-19 疫情,国家卫生健康委员会提到了中西医结合共同治疗的理念^[4]。中医药讲究辨证论治,

抗病毒中药可能也有潜在防治 COVID-19 的作用,有文献报道,血必净注射液在临床中对普通型的 COVID-19 患者肺部感染病灶吸收有很好的效果^[7]。

金振口服液 (Jinzhen Oral Liquid, JOL) 为中药复方制剂,其组方源于儿科经验方“羚羊清肺散”,由山羊角、平贝母、大黄、黄芩、青礞石、石膏、人工牛黄、甘草 8 味中药经加工制成,具有清热解毒、祛痰止咳的功效。临床用于治疗小儿支气管炎、支气管肺炎、支原体肺炎、病毒性肺炎等以痰热咳嗽为主症者。该药能够有效改善脂多糖 (LPS) 诱导的肺组织间质性水肿及降低致炎细胞因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素 (IL)- 1β 的含量^[8],且对 SARS 病毒、流感病毒、柯萨奇病毒、呼吸道合胞病毒及肺炎支原体等有较好的抑制或杀灭作用^[9-11]。本研究拟运用网络药理学方法和分子对接技术来探索 JOL 抗 SARS-CoV-2 潜在的活性成分及治疗靶点,为实验研究和临床应用提供理论参考。

1 方法

1.1 化合物的收集和处理

JOL 中所含青礞石和石膏均为矿物药,多为金属离子,不适合进行网络药理学分析。中药网络药理学信息平台 (Traditional Chinese Medicine Network Pharmacology Intelligent Information Platform, TCMN, 软著登字第 0646447 号,肖伟等创建) 数据库中未收录山羊角、人工牛黄等动物药所含成分,故从 TCMN 数据库信息平台检索该复方中 4 味植物药材 (大黄、黄芩、平贝母和甘草) 所含的化学成分,得到 675 个化合物。采用 Open Babel^[12] (2.3.2 version, <http://openbabel.org>) 软件进行分子加氢后,选用 MMFF94 力场进行构象优化,优化时能量阈值设定为 1×10^{-3} J/mol。

1.2 蛋白靶点的筛选与分子对接

在 DisGeNET 数据库 (<https://www.disgenet.org/>) 和 OMIM 数据库 (<https://omim.org/>) 中分别以 “severe acute respiratory syndrome” 作为关键词进行检索, 得到冠状病毒肺炎相关靶点; 通过 KEGG (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, <http://www.kegg.jp/kegg/pathway.html>) 数据库和 UniProt

(<https://www.uniprot.org/>) 数据库检索与 COVID-19 密切相关的炎症信号通路相关靶点; 共计筛选出 48 个靶蛋白的信息 (表 1), 并从 Protein Data Bank 数据库 (www.rcsb.org/) 下载蛋白晶体结构。根据化合物的 TCMC 编号和筛选到的靶蛋白 Uniprot 编号, 从 TCMN 数据库中获得化合物和靶蛋白的分子对接结果, 阐明化合物和靶蛋白的互作关系。

表 1 与 COVID-19 发病机制相关的靶蛋白
Table 1 Proteins related to pathogenesis of COVID-19

PDB ID	靶蛋白名称	靶基因
3L3N	angiotensin-converting enzyme	ACE
1R4L	angiotensin-converting enzyme 2	ACE2
1PW6	interleukin-2	IL2
2AZ5	tumor necrosis factor	TNFA
1U4L	C-C motif chemokine 5	CCL5
2IT6	CD209 antigen	CD209
2DDF	disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 17	ADAM17
3AQA	bromodomain-containing protein 2	BRD2
3BPR	tyrosine-protein kinase Mer	MERTK
2BZZ	non-secretory ribonuclease	RNASE2
2OCF	fibronectin	FN1
1KV1	mitogen-activated protein kinase 14	MAPK14
3H89	cathepsin L1	P07711
3QKD	Bcl-2-like protein 1	BCL2L1
4GUP	beta-2-microglobulin	B2M
4FYR	aminopeptidase N (CD13)	ANPEP
1U8F	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	GAPDH
3I5Z	mitogen-activated protein kinase 1	ERK2
1W8L	peptidyl-prolyl <i>cis-trans</i> isomerase A	PPIA
2X4N	HLA class I histocompatibility antigen, A-2 alpha chain	HLA-A
3D18	HLA class I histocompatibility antigen, B-27 alpha chain	HLA-B
4GBX	HLA class II histocompatibility antigen, DRB1-1 beta chain	HLA-DRB1
3EYG	tyrosine-protein kinase JAK1	JAK1
3PJC	tyrosine-protein kinase JAK3	JAK3
3TJC	tyrosine-protein kinase JAK2	JAK2
2H5K	growth factor receptor-bound protein 2	GRB2
1GUA	RAF proto-oncogene serine/threonine-protein kinase	RAF1
4A55	phosphatidylinositol 3-kinase regulatory subunit alpha	PIK3R1
3SD5	phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit gamma isoform	PIK3CG
3LS8	phosphatidylinositol 3-kinase catalytic subunit type 3	PIK3C3
3HHM	phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha isoform	PIK3CA
2UVM	RAC-alpha serine/threonine-protein kinase	AKT1
3D0E	RAC-beta serine/threonine-protein kinase	AKT2

续表 1

PDB ID	靶蛋白名称	靶基因
1FAP	serine/threonine-protein kinase mTOR	MTOR
3HQU	hypoxia-inducible factor 1-alpha	HIF1A
3H7W	aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator	ARNT
2NRU	interleukin-1 receptor-associated kinase 4	IRAK4
3V2Y	sphingosine 1-phosphate receptor 1	S1PR1
1W1D	3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1	PDPK1
3DY7	dual specificity mitogen-activated protein kinase kinase 1	MEK1
2YIY	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 7	TAK1
2X7O	TGF-beta receptor type-1	ALK5
3L2Y	C-reactive protein	CRP
1XKK	epidermal growth factor receptor	EGFR
3KJN	Caspase-8	CASP8
3HNG	vascular endothelial growth factor receptor 1	VEGFR1
2ZOQ	mitogen-activated protein kinase 3	MAPK3

1.3 药材-化合物-靶点网络的构建

根据分子对接结果，以靶蛋白复合物中配体的对接打分为阈值，如果打分高于该阈值，则判断该化合物为活性化合物，对靶点具有作用。抽提对接打分不小于 7 的化合物及其作用的靶点蛋白。再将方中植物药材、化合物、靶点导入 Cytoscape 3.2.1 软件构建“药材-化合物-靶点”网络，分析 JOL 中化合物与蛋白靶点的作用情况。

1.4 化合物-COVID-19 相关靶点分子对接

从 RCSB PDB 数据库 (<http://www.rcsb.org/>) 下载 3CLpro (PDB ID: 6LU7) 和 ACE2 (PDB ID: 2AJF) 的 3D 晶体结构。Pymol 软件进行去水、加氢等预处理，利用 Autodock Vina 软件进行 JOL 的活性化合物与 3CLpro 和 ACE2 分子对接，利用 Discovery Studio Visualizer 对对接构象进行可视化分析，选取打分较高且构象较好的结果作为分子对接结果^[13]。

2 结果

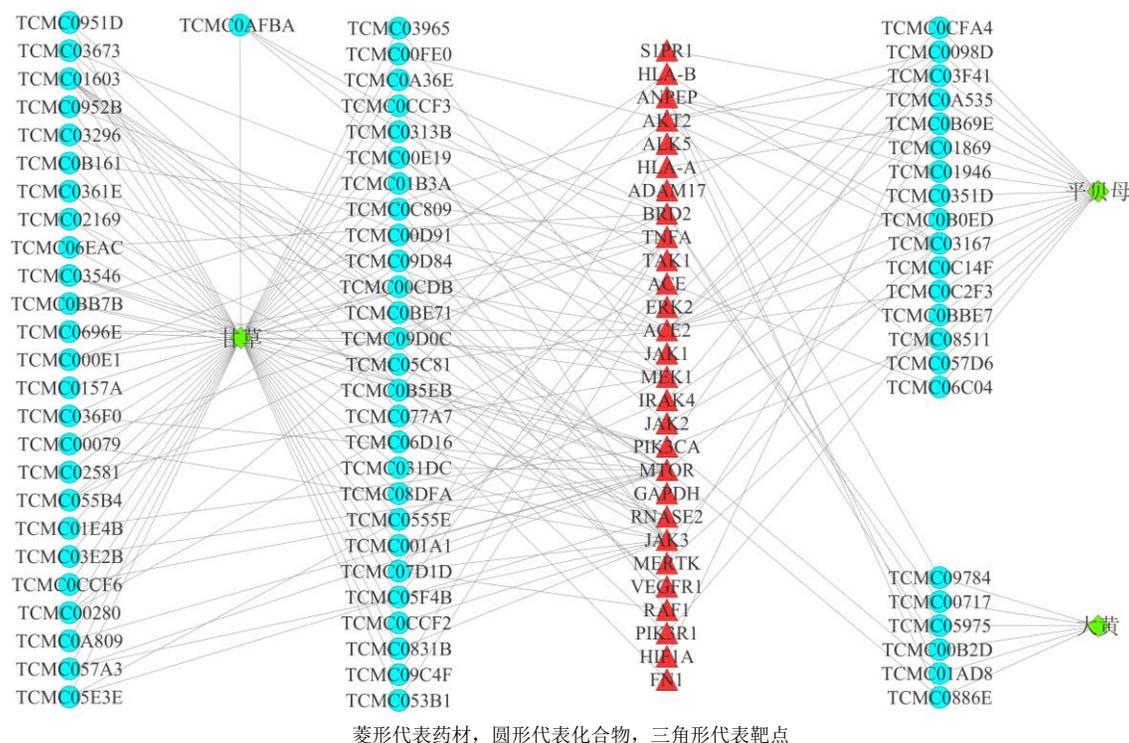
2.1 药材-化合物-靶点网络分析

从 TCMN 数据库中获取 120 组对接打分较高 (score ≥ 7) 的化合物-靶点蛋白数据，其中包含 75 个活性化合物分子及 28 个蛋白靶点。构建的“药材-化合物-靶点”网络如图 1 所示，从图中可以看出 JOL 中既存在 1 个化合物与多个蛋白相互作用，同时也存在不同化合物与同 1 个蛋白相互作用，显示了 JOL 多成分、多靶点相互作用的特点。在生物网络中，节点的网络度 (degree) 能反映各节点在网络

中的重要程度，用于评估药物和作用靶点的重要性，网络度表示化合物与靶点的相关个数。药材-化合物-靶点网络中部分化合物和靶蛋白的网络特征值见表 2、3。其中，网络度较高的 (degree ≥ 4) 的化合物有 9 个，分别是 isoglabrolide (异甘草酸内酯)、glabrolide (甘草内酯)、ebeiedinone (去氢鄂贝定碱)、desoxo-glabrolid-acetate、peimisine (贝母辛)、peiminine (贝母素乙)、ussuriedinone (乌苏里啶酮)、imperialine (西贝素) 和 euchrenone A5，这些化合物来源于甘草和平贝母，可能是 JOL 治疗 COVID-19 的重要活性成分。网络度较高的 (degree ≥ 5) 的靶蛋白有 10 个，分别是 MTOR、JAK3、ACE2、TNFA、AKT2、PIK3CA、MEK1、BRD2、ACE、ANPEP，提示这些靶蛋白在 JOL 干预 COVID-19 调控网络中起着重要的作用。

2.2 JOL 中活性化合物与 3CLpro 和 ACE2 的分子对接结果

分子对接结果显示，将 JOL 在药材-化合物-靶点网络中 75 个活性化合物与 SARS-CoV-2 的 3CLpro 和 ACE2 进行分子对接，甘草中有 1 个化合物 {[(3S,4R,5S)-5-[(2S,3R,4S,5S,6R)-4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-2-[4-[(2S)-7-hydroxy-4-oxo-2,3-dihydrochromen-2-yl] phenoxy] oxan-3-yl] oxy-3,4-dihydroxyoxolan-3-yl] methyl (E)-3-(4-hydroxyphenyl)prop-2-enoate-TCMC03E2B} 与 3CLpro 的得分为 -10.201，分子对接模式见图 2-A，该化合物可与 3CLpro 的多个氨基酸残基形成氢键，表明两者有较好的亲和力；



The rhombus represents the herb, the circle represents the compound, and the triangle represents the target.

图 1 JOL 药材-化合物-靶点网络

Fig. 1 Chinese medicinal materials-compound-target network of JOL

表 2 药材-化合物-靶点网络中部分化合物的网络特征分析
Table 2 Network features of part compounds with high degree and betweenness in herb-compound-target network

TCMC ID	来源	化合物名称	网络度
TCMC01603	甘草	isoglabrolide	7
TCMC07D1D	甘草	glabrolide	6
TCMC03167	平贝母	ebeiedinone	6
TCMC0B5EB	甘草	desoxo-glabrolid-acetate	5
TCMC03F41	平贝母	peimisine	5
TCMC0098D	平贝母	peiminine	5
TCMC0B69E	平贝母	imperialine	4
TCMC0B0ED	平贝母	ussuriedinone	4
TCMC0AFBA	甘草	euchrenone A5	4

表 3 药材-化合物-靶点网络中部分靶点蛋白的网络特征分析

Table 3 Network features of part targets with high degree and betweenness in herb-compound-target network

Uniprot 号	靶点名称	网络度	Uniprot 号	靶点名称	网络度
P42345	MTOR	15	P42336	PIK3CA	7
P52333	JAK3	13	Q02750	MEK1	7
Q9BYF1	ACE2	12	P25440	BRD2	7
P01375	TNFA	8	P12821	ACE	6
P31751	AKT2	8	P15144	ANPEP	5

甘草中有 2 个化合物（甘草酸-TCMC077A7 和甘草皂苷-TCMC0157A）与 ACE2 的得分为-5.356 和 -4.615，其中甘草酸的羟基可与 Asp38、Gln42、Glu35、Glu37 等氨基酸残基形成氢键，可与 His34 等氨基酸残基形成疏水结合 Pi-Alkyl 作用，见图 2-B。

3 讨论

流行病学调查显示，COVID-19 患者临床以发热、干咳、乏力和呼吸困难为主要表现，少数伴有咽痛、鼻塞、流涕和腹泻等症状。目前，COVID-19 患者是主要传染源，传播模式与流感类似，其潜伏期大多为 3~7 d，有报道最长潜伏期为 24 d^[14]。无症状或轻症患者 5 d 内可以检测出病毒，且无症状患者与有症状的患者的病毒载量检测值相当，表明 COVID-19 患者筛查隔离、控制策略不同于以往的 SARS。COVID-19 患者痊愈后复查出病毒核酸阳性，提示恢复期患者可能还有一定的传染性。流行初期基本再生数 (RO) 为 3.77，致死率为 3.06%^[15]。

本研究采用网络药理学方法，将 JOL 的 4 味植物药材所含的 675 个化合物和 48 个与 COVID-19 相关的靶蛋白进行分子对接，对接得分越高，表明该化合物与靶蛋白作用的可能性越大。根据分子对接

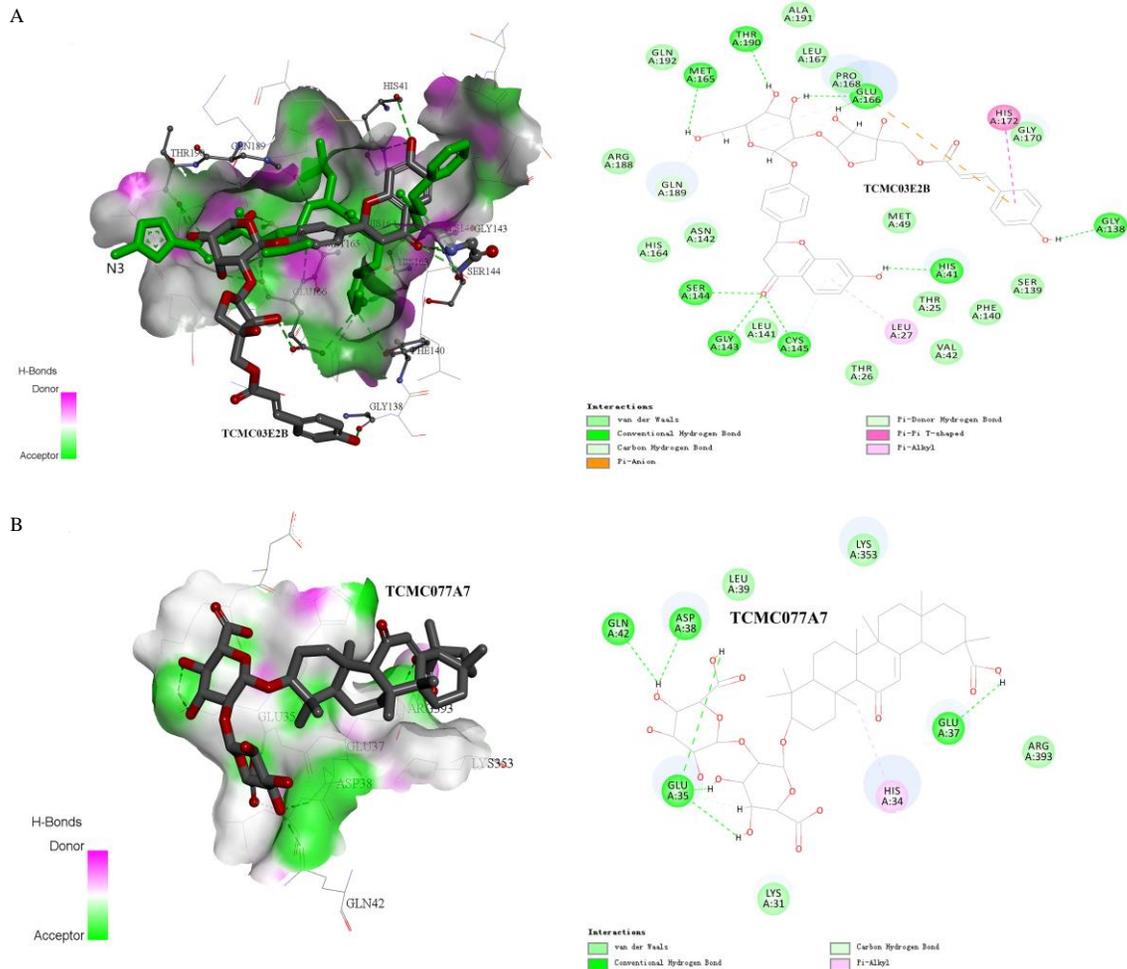


图 2 JOL 活性化合物 TCMC03E2B 与 SARS-CoV-2 3CLpro (A) 和 TCMC077A7 与 ACE2 (B) 分子对接模式图
 Fig. 2 Molecular docking sample graph of TCMC03E2B to SARS-CoV-2 3CLpro (A) and TCMC077A7 to ACE2 (B)

数据, 得分 ≥ 7 的活性化合物分子有 75 个, 靶蛋白有 28 个。这些活性化合物主要分布于大黄、平贝母和甘草中。大黄具有清热凉血、祛瘀通经、泻火解毒等功效^[16], 能通过抑制病毒合成、减少病毒复制数量对多种病毒有抑制作用^[17], 还通过抑制 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 等促炎因子的生成及抑制 NF- κ B 炎症信号通路来发挥强大的抗炎作用^[18-19]。具有较高网络度 (degree ≥ 4) 的活性化合物有 9 个, 可与多个靶蛋白相互作用, 可能是 JOL 治疗 COVID-19 的物质基础。9 个活性化合物来源于甘草和平贝母 2 味药材。体外实验表明, 甘草能有效抑制艾滋病病毒 1 型 (HIV-1)、SARS 等病毒的增殖, 说明甘草有良好的抗病毒活性^[19-20]; 甘草及其活性成分还能调节淋巴细胞数量与功能、抑制炎症介质及前炎性细胞因子水平, 表明具有很好的抗炎作用^[21]。现代研究证实, 网络预测出的甘草酸 (TCMC077A7) 是甘草中最重要的有效成分之一, 具有抗炎、抗氧

化、免疫调节、抗病毒等作用^[22]。平贝母具有清肺润燥、化痰止咳的功效, 用于治疗痰热咳嗽、痰多胸闷、气管炎和慢性支气管炎等常见疾病^[23]。其中, 贝母辛对 LPS 诱导的气道黏液高分泌模型及急性肺损伤小鼠均有较好的治疗作用^[24-25]; 贝母素乙通过降低 TGF- β /MAPK ERK、MEK1/2 细胞信号转导水平来治疗博来霉素所致的肺损伤^[26-27]。由此表明 JOL 具有广谱抗病毒抗炎作用。

COVID-19 死亡患者的病理报告显示, 患者体内 T 细胞过度激活, 表明体内免疫损伤严重^[28]。有学者对 COVID-19 重症 (ICU) 患者检测发现 IL-2、IL-7、IL-10、TNF- α 、粒细胞集落刺激因子 (G-CSF)、趋化因子 IP10、单核细胞趋化蛋白 1 (MCP-1) 和巨噬细胞炎症蛋白-1a (MIP-1A) 水平明显高于轻症患者^[29]。Huang 等^[30]报道, 首批确诊重症 COVID-19 患者, 大部分都出现了“细胞因子风暴”; 部分患者早期病情较轻, 后期病情突然加重的原

因主要是细胞因子风暴^[31]。高网络度的 10 个靶蛋白, 可与多个活性化合物相互作用。其中, MTOR、AKT2、PIK3CA 为 PI3K/Akt 信号通路中的蛋白靶点; JAK3、TNFA、MEK1 分别属于 Jak-STAT、TNF、MAPK 信号通路中的靶蛋白。PI3K/Akt 信号通路广泛分布于体内各个器官组织, 主要作用是抑制炎症、抑制细胞凋亡、控制能量代谢、促进细胞增殖等, 在诸多呼吸道及肺组织炎症反应中发挥了非常重要的作用^[32-33]。MAPK/ERK1/2 通路主要受炎症因子介导, 参与调节细胞的增殖分化和凋亡^[34]。JAK-STAT 信号通路参与细胞增殖、分化、凋亡及炎症等多种生物过程^[35]。

溴结构域包含蛋白 2 (Brd2) 是一种含有多个磷酸化功能位点和溴区结构域的细胞转录核因子, 位于细胞核内, 是转录激活剂的辅助因子^[36]。有研究发现 Brd2 过表达可以诱导脂肪细胞中主要涉及促炎和趋化因子的核因子- κ B (NF- κ B) 靶基因的表达^[37]。CD13 又称氨肽酶 N (APN) 是一种广泛表达的具有多种功能的外切酶, 不仅可以调节免疫相关细胞的发育和活性, 还可以调节炎症介质的功能, 在各种炎症疾病的发病机制中很重要^[38]。CD13 也是人类、猪和猫的血清学相关冠状病毒的受体^[39]。最新的研究发现^[30,40], SARS-CoV-2 可以下调 ACE2 的表达, 使 ACE/ACE2 平衡失调, 使促炎因子表达升高, 诱发炎症风暴, 导致病情加重。由此推测 JOL 中的活性化合物主要通过调节 Brd2、CD13 和 ACE2 的表达以及干预 PI3K/Akt、Jak-STAT、TNF 和 MAPK 信号通路抑制体内的炎症反应来控制“细胞因子风暴”的发生。

本研究将 75 个活性化合物与 3CLpro 和 ACE2 蛋白进行分子对接, 结果显示甘草中有 1 个活性化合物与 3CLpro 的对接打分较高; 甘草中有 2 个化合物与 ACE2 的对接打分较高。得分越高, 配体与受体结合的构象就越稳定, 发生作用的可能性就越大。推测 JOL 可以通过与 ACE2 的结合阻止病毒对宿主的侵染, 通过与 3CLpro 的结合来控制病毒的复制。已有研究 (http://health.gmw.cn/2020-03/01/content_33608362.htm) 发现 JOL 在体外能够抑制 SARS-CoV-2 引起的细胞病变效应。

综上所述, 本研究采用生物信息学手段预测 JOL 在控制细胞因子风暴、控制 SARS-CoV-2 的复制以及抑制 SARS-CoV-2 对宿主细胞的侵染方面有较好的活性, 对于治疗 COVID-19 应该有很好的疗

效。上述所有结论均为基于分子模拟对接得到的结果, 有待进一步的实验和临床验证。

参考文献

- [1] Chan J F, Kok K H. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2020, 9(1): 221-236.
- [2] Wan Y S, Shang J, Graham R, *et al.* Receptor recognition by novel coronavirus from Wuhan: An analysis based on decade-long structural studies of SARS [J]. *J Virol*, 2020, 94(7), doi: 10.1128/jvi.00127-20.
- [3] 苏石, 李小承, 蒿花, 等. 新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 的研究进展 [J/OL]. 西安交通大学学报 (医学版), [2020-02-24]. <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/61.1399.R.20200224.0944.010.html>.
- [4] 李思远, 孙希. 新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 防治药物研究进展 [J/OL]. 热带医学杂志, [2020-02-23]. <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/44.1503.R.20200222.1728.002.html>.
- [5] Chen N, Zhou M, Dong X, *et al.* Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: A descriptive study [J]. *Lancet*, 2020, 395(10223): 507-513.
- [6] 潘彤彤, 陈永平. 重型/危重型新型冠状病毒肺炎关键治疗技术研究进展 [J]. 中国生物工程杂志, 2020, 40(1/2): 78-83.
- [7] 张从玉, 张帅, 王婉, 等. 血必净治疗新型冠状病毒肺炎的临床疗效观察 [J/OL]. 中国医院药学杂志, [2020-04-10]. <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/42.1204.r.20200409.1637.002.html>.
- [8] 宗绍波, 孙兰, 吕耀中, 等. 金振口服液对 LPS 致急性肺损伤模型小鼠 NF- κ B, MAPK 信号通路的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(9): 155-159.
- [9] 萧伟, 徐兰兰, 霍翠翠, 等. 金振口服液对 SARS 病毒抑制作用的实验研究 [J]. 南京中医药大学学报, 2008, 24(5): 343-344.
- [10] 萧伟, 郑丽舒, 尚强, 等. 金振口服液抗甲型 H1N1 流感病毒作用实验研究 [J]. 中草药, 2009, 40(9): 1443-1445.
- [11] 侯安存, 刘玉华, 辛德莉, 等. 金振口服液体外抑制呼吸道合胞病毒、SARS 病毒及肺炎支原体的实验研究 [J]. 中国基层医药, 2009, 16(8): 1454-1455.
- [12] O'Boyle N M, Banck M, James C A, *et al.* Open Babel: An open chemical toolbox [J]. *J Cheminform*, 2011, doi: 10.1186/1758-2946-3-33.
- [13] 姜明, 郑启盛, 于光允, 等. 仙鹤延龄方抗肿瘤活性的计算药理学 [J]. 医药导报, 2014, 33(11): 1401-1406.

- [14] 杨羽君, 鄂秀辉, 任红微, 等. 中医药治疗人类高致病性冠状病毒 SARS-CoV-2 与 SARS-CoV 感染肺炎的思考 [J]. 中草药, 2020, 51(6): 1427-1434.
- [15] 汤芳, 王晓芹, 栾进, 等. 新型冠状病毒肺炎的流行病学研究进展 [J]. 武警医学, 2020, 31(3): 1-5.
- [16] 杜怡雯, 冯江毅, 胡黎文, 等. 大黄的药理活性研究及临床应用 [J]. 中医临床研究, 2018, 10(25): 24-27.
- [17] 杨滢. 大黄药效成分及其药理活性研究进展 [J]. 中医临床研究, 2018, 10(5): 142-144.
- [18] Ge H, Tang H, Liang Y, *et al.* Rhein attenuates inflammation through inhibition of NF-kappaB and NALP3 inflammasome *in vivo* and *in vitro* [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2017, 11: 1663-1671.
- [19] 陈冉, 王婷婷, 李开铃, 等. 免疫调节抗病毒中药的特性与应用 [J]. 中草药, 2020, 51(6): 1412-1426.
- [20] 张耀峰. 甘草及其活性成分的药理活性研究进展 [J]. 中医临床研究, 2019, 11(9): 141-142.
- [21] 张明发, 沈雅琴. 甘草及其活性成分抗炎与抗炎机制的研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2011, 26(4): 261-268.
- [22] 韩瑶聘, 王彬, 王政雨, 等. 甘草酸药理作用的研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2012, 21(21): 2499-2505.
- [23] 赵益, 朱卫丰, 刘红宁, 等. 贝母辛平喘作用及机制研究 [J]. 中草药, 2009, 40(4): 597-601.
- [24] 崔艳茹, 刘海云, 屈飞. 贝母辛对 LPS 致黏液高分泌小鼠 MUC5AC 和 EGFR 表达的影响 [J]. 中药药理与临床, 2015, 31(3): 17-21.
- [25] 崔艳茹, 刘海云, 屈飞. 贝母辛对内毒素诱导小鼠急性肺损伤保护作用的研究 [J]. 时珍国医国药, 2014, 25(9): 2118-2120.
- [26] 郭海, 吉福志, 赵晓峰, 等. 贝母素乙对肺纤维化大鼠肺组织 MEK1/2、ERK1/2 及其磷酸化的影响 [J]. 南京中医药大学学报, 2016, 32(2): 170-175.
- [27] 郭海, 吉福志, 赵晓峰, 等. 贝母素乙对肺损伤大鼠 TGF- β /MAPK 信号通路的影响 [J]. 中药药理与临床, 2016, 32(3): 37-41.
- [28] 苏广胜, 谷秀. 新型冠状病毒肺炎的抗病毒药物治疗进展 [J/OL]. 疑难病杂志, [2020-02-26]. <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/13.1316.R.20200226.0918.002.html>.
- [29] 刘闰平, 葛俊德, 钟颖, 等. 基于干预细胞因子风暴文献挖掘的中医药治疗重症新型冠状病毒肺炎探讨 [J]. 中草药, 2020, 51(5): 1096-1105.
- [30] Huang C L, Wang Y M, Li X W, *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China [J]. *Lancet*, 2020, 395(10223): 497-506.
- [31] 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.
- [32] 尹芳, 胡月圆, 易娟, 等. 李斯特菌溶血素通过激活 PI3K/Akt 信号通路促进呼吸道上皮细胞炎症反应及 MUC5AC 表达 [J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(3): 282-286.
- [33] 郑海崇, 曾勉, 何婉媚, 等. Ghrelin 对脓毒症大鼠肺泡巨噬细胞炎症信号通路 Akt、NF- κ B 和 iNOS 的影响 [J]. 中山大学学报: 医学版, 2018, 39(1): 1-8.
- [34] Zhao B, Zhao Z H, Sun X L, *et al.* Effect of micro strain stress on proliferation of endothelial progenitor cells *in vitro* by the MAPK-ERK1/2 signaling pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 492(2): 206-211.
- [35] Jere S W, Abrahamse H, Houeld N N. The JAK/STAT signaling pathway and photobiomodulation in chronic wound healing [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2017, 38: 73-79.
- [36] 汪速飞, 杨梓艺, 魏巍, 等. 荧光蛋白标记逆转录病毒整合酶及 Brd2 真核表达载体的构建 [J]. 中国病原生物学杂志, 2018, 13(7): 699-703.
- [37] Sun R X, Wu Y, Hou W H, *et al.* Bromodomain-containing protein 2 induces insulin resistance via the mTOR/Akt signaling pathway and an inflammatory response in adipose tissue [J]. *Cell Signal*, 2017, 30: 92-103.
- [38] Lu C, Amin M A, Fox D A. CD13/Aminopeptidase N is a potential therapeutic target for inflammatory disorders [J]. *J Immunol*, 2020, 204(1): 3-11.
- [39] Wentworth D E, Tresnan D B, Turner B C, *et al.* Cells of human aminopeptidase N (CD13) transgenic mice are infected by human coronavirus-229E *in vitro*, but not *in vivo* [J]. *Virology*, 2005, 335(2): 185-197.
- [40] Wang D W, Hu B, Hu C, *et al.* Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China [J]. *JAMA*, 2020, doi: 10.1001/jama.2020.1585.