

参麦注射液治疗新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 合并冠心病的网络药理学分子机制探析

韩利文¹, 张友刚¹, 李昊楠², 汪海洋¹, 李晓彬², 王晓静¹, 姚庆强^{1*}

1. 山东省医学科学院药物研究所, 山东第一医科大学, 山东 济南 256200

2. 齐鲁工业大学 (山东省科学院) 山东省科学院生物研究所, 山东 济南 250103

摘要: 目的 利用网络药理学方法解析参麦注射液治疗新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 合并冠心病的分子网络作用途径。方法 借助中药系统药理学分析平台 (TCMSP) 和中医百科全书平台 (ETCM) 收集参麦注射液中红参、麦冬的化学成分; 通过 SwissTargetPrediction 数据库预测化合物的作用靶点; 通过 NCBI 数据库和 GeneCards 数据库筛选 COVID-19 及合并冠心病的靶点; 通过 DAVID 数据库分别进行 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析; 运用 Cytoscape 3.7.1 软件构建化合物-靶点-通路网络。利用 Glide 软件对参麦注射液成分与新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 3CL 水解酶 (Mpro) 的分子对接。结果 参麦注射液中麦冬皂苷 D'、麦冬皂苷 D、人参皂苷 Rg₂、麦冬甲基黄烷酮 A、麦冬苷元-3-O-新橙皮糖苷、人参皂苷 Rb₂、人参皂苷 R₀、Ophiopogon A、三七皂苷 Rd、麦冬二氢高异黄酮 E、人参皂苷 Re 在分析中显示了较高的度值, 且与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶结合力较强, 可能是参麦注射液发挥治疗 COVID-19 合并冠心病的主要药效成分, 共涉及到 IL6、GAPDH、ALB、TNF、MAPK1、MAPK3、TP53、EGFR、CASP3、CXCL8 等 77 个靶点, 以及低氧诱导因子-1 信号通路、肿瘤坏死因子信号通路、鞘脂信号通路、Toll 样受体信号通路、神经营养因子信号通路、血管内皮生长因子信号通路、细胞凋亡、Ras 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、泌乳素信号通路等 124 条信号通路。结论 参麦注射液可能通过抑制细胞因子风暴、维持心脏功能稳态、调节免疫、抗病毒等方面实现对 COVID-19 与冠心病的同时干预, 呈现出了相互影响、复杂关联的网络调控机制。

关键词: 参麦注射液; 新型冠状病毒; 新型冠状病毒肺炎; 冠心病; 网络药理学; 分子对接; 麦冬皂苷 D'; 麦冬皂苷 D; 人参皂苷 Rg₂; 麦冬甲基黄烷酮 A; 麦冬苷元-3-O-新橙皮糖苷; 人参皂苷 Rb₂; 人参皂苷 R₀; ophiopogon A; 三七皂苷 Rd; 麦冬二氢高异黄酮 E; 人参皂苷 Re

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)09-2334-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.09.007

Network pharmacologic molecular mechanism of Shenmai Injection in treatment of COVID-19 combined with coronary heart disease

HAN Li-wen¹, ZHANG You-gang¹, LI Hao-nan², WANG Hai-yang¹, LI Xiao-bin², WANG Xiao-jing¹, YAO Qing-qiang¹

1. Institute of Materia Medica, Shandong First Medical University & Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 256200, China

2. Qilu University of Technology (Shandong Academy of Sciences), Biology Institute of Shandong Academy of Sciences, Jinan 250103, China

Abstract: Objective To analyze the molecular interaction network pathway of Shenmai Injection in the treatment of COVID-19 with coronary heart disease by using network pharmacology. **Methods** Using the TCMSP and ETCM to retrieve the chemical constituents of *Ginseng Radix et Rhizoma Rubra* and *Ophiopogonis Radix* in Shenmai Injection. The target of the compound was predicted through the SwissTargetPrediction database. The target of COVID-19 with coronary heart disease was screened through the NCBI database and the GeneCards database, and the targets of compound and disease were mapped to obtain the target of the compound for treating the disease. FunRich software and DAVID database were used to perform GO function enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis, and Excel software and Tableau software to draw bar charts and bubble charts for

收稿日期: 2020-03-20

基金项目: 中央本级重大增减支项目 (2060302-1907-09); 山东省自然科学基金项目 (ZR2019MH037)

作者简介: 韩利文 (1980—), 博士, 副研究员, 从事药物筛选及中药质量控制研究。Tel: 13869197581 E-mail: hanliwen08@126.com

*通信作者 姚庆强, 博士, 研究员, 博士生导师, 从事天然药物化学研究。Tel: (0531)82595867 E-mail: yao_imm@163.com

visualization. Finally, Cytoscape 3.7.1 software was used to build compound-target-pathway network. Glide was used to dock the components of Shenmai Injection with 3CL hydrolase (Mpro). **Results** The results showed that ophiopogonin D', ophiopogonin D, ginsenoside Rg₂, methyl ophiopogonanone A, ophiogenin-3-O- α -L-rhamnopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside, ginsenoside Rb₂, ginsenoside R₀, ophiopogon A, sanchinoside Rd, ophiopogonanone E, and ginsenoside Re showed higher degrees in the analysis and stronger binding with 3CL hydrolase. Those compounds were the main effective components in the treatment of COVID-19 combined with coronary heart disease, involving 77 targets such as IL6, GAPDH, ALB, TNF, MAPK1, MAPK3, TP53, EGFR, CASP3, and CXCL8. KEGG pathway enrichment analysis revealed that there were 124 ($P < 0.05$) signaling pathways involving HIF-1 signaling pathway, TNF signaling pathway, sphingolipid signaling pathway, Toll-like receptor signaling pathway, neurotrophin signaling pathway, VEGF signaling pathway, apoptosis, Ras signaling pathway, PI3K-Akt signaling pathway, and prolactin signaling pathway. The results of molecular docking showed that the affinity between the 17 components of Shenmai Injection and the 3CL hydrolase of SARS-CoV-2 was less than -25 kJ/mol. **Conclusion** Shenmai Injection can achieve simultaneous intervention of COVID-19 and coronary heart disease by inhibiting cytokine storms, maintaining cardiac function homeostasis, regulating immunity, and antivirals. It presents the network regulation mechanism of mutual influence and complex correlation. This study can provide a scientific basis for the treatment of Shenmai Injection in critically ill patients with COVID-19.

Key words: Shenmai Injection; SARS-CoV-2; COVID-19; coronary heart disease; network pharmacology; molecular docking; ophiopogonin D'; ophiopogonin D; ginsenoside Rg₂; methyl ophiopogonanone A; ophiogenin-3-O- α -L-rhamnopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside; ginsenoside Rb₂; ginsenoside R₀; ophiopogon A; sanchinoside Rd; ophiopogonanone E; ginsenoside Re

新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 引起的新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 具有通过飞沫传播、接触传播等特性, COVID-19 的高传染性 & 强危害性引起了国内外的高度关注^[1-2]。虽然对于大多数人, 冠状病毒只会引起轻度或中度的症状, 比如发烧和咳嗽, 但对于患有心血管基础疾病的患者或老年人, 冠状病毒引起的后果更为严重。中国疾病预防控制中心对中国内地 72 314 例 COVID-19 患者进行流行病学分析, 合并有心血管疾病 (如高血压、冠心病等) 患者占感染患者总人数的 17%^[3]。其中, 重症患者伴有冠心病的比例和死亡率均显著高于轻症患者^[1,4-5], 可见基础合并症是 COVID-19 患者防治过程中不可忽视的重要因素。

无论是瑞德西韦等抗病毒药物的绿色通道临床试验, 还是疫苗的快速研发, 兼顾多器官、多组织的组合药物治疗均是临床治疗的实际需求。相对靶点理论研发的化学药而言, 传统中药本身即具有多成分、多靶点的固有特点。同时鉴于中医药在严重急性呼吸综合征 (SARS) 治疗中的丰富诊疗经验, 国家卫生健康委员会出台的《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案》从试行第五版开始, 明确提出不同阶段可根据中医辨证疗法进行中医药干预^[6-8]。对于重症和危重症患者伴有免疫抑制, 推荐用参麦注射液进行静脉滴注。参麦注射液是由红参 *Ginseng Radix et Rhizome Rubra* 和麦冬 *Ophiopogonis Radix* 2 味中药组成, 是由古方“生脉汤”衍变制成的中药

注射剂。参麦注射液功效为生脉、益气固脱、养阴生津, 在气阴两虚型休克、冠心病、病毒性心肌炎、慢性肺心病等临床病症中应用普遍^[9-10]。在此次 COVID-19 疫情中, 参麦注射液能改善 COVID-19 患者的感染指标, 有明显的免疫促进作用^[11]。但参麦注射液用于 COVID-19 合并冠心病患者治疗作用的分子机制尚未有足够的数据。

网络药理学作为多学科融合形成的新兴技术, 旨在通过各种组学数据分析和计算机模拟等手段构建多层次网络, 从而实现从系统水平研究药物与机体相互作用规律和机制等目的, 为中药复杂体系的系统化研究提供了新思路^[12]。在揭示 COVID-19 疾病进程症候和中药治疗作用的科学性方面, 网络药理学技术都发挥了重要作用^[13-14]。因此, 本研究借助网络药理学结合分子对接技术探讨参麦注射液治疗 COVID-19 合并冠心病的作用机制, 旨在为参麦注射液用于 COVID-19 防治提供科学依据。

1 方法

1.1 参麦注射液中化合物及其潜在靶点预测

利用 TCMSP^[15] (<http://tcmsp.com/tcmsp.php>) 和 ETCM^[16] (<http://www.nrc.ac.cn:9090/ETCM/>) 2 个数据库分别检索收集红参、麦冬的化学成分。每个化合物利用 Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 数据库获取 SMILES 和 3D 结构文件分别用于化合物的靶点预测和后续的分子对接。本研究采用的参麦注射液为直接 iv 给药, 故本研究中将收集到的化合物全

部纳入分析。将化合物的 SMILES 导入 Swiss TargetPrediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 数据库获取每个化合物的作用靶点,物种选择“homo sapiens”,以 probability>0 为筛选条件。

1.2 COVID-19 和冠心病靶点收集

以“novel coronavirus”为关键词,检索 GeneCards (<https://www.genecards.org/>) 数据库,以“coronary heart disease”为关键词,检索 GeneCards、NCBI 数据库,得到 COVID-19 和冠心病的相关靶点及基因。

1.3 参麦注射液治疗 COVID-19 及冠心病共同靶点的筛选

将化合物、COVID-19 及冠心病的相关基因利用在线韦恩分析工具 (<http://bioinformatics.psych.ugent.be/webtools/Venn/>) 获取化合物治疗 COVID-19 及冠心病的共同靶点。

1.4 蛋白质相互作用 (PPI) 网络构建及核心靶点筛选

生物体内的信号传递、基因调控、物质能量代谢等生命过程都离不开蛋白质的参与,而 PPI 网络对于解释这些蛋白质的功能联系具有重要的作用,运用生物信息学的方法建立 PPI 网络由繁入简,从而了解蛋白质在疾病治疗中的生物学作用。将“1.3”项下得到的交集靶点运用 String (<https://string-db.org/>) 数据库,“Organism”设为“Homo sapiens”,构建 PPI 网络。将 PPI 网络数据导入 EXCEL 表格,利用 Cytoscape 3.7.1 软件进行可视化处理。

1.5 基因富集分析

将参麦注射液治疗 COVID-19 及冠心病的潜在共同靶点利用 FunRich 完成基因功能分类(GO)和信号通路富集(KEGG)分析,GO 分析设定阈值 $P<0.05$,分别选取细胞组成(cellular component, CC)、生物学过程(biological process, BP)、分子功能(molecular function, MF)中排名前 5 的条目进行可视化。KEGG 信号通路富集分析选择与疾病相关的信号通路进行可视化。

1.6 参麦注射液成分与抗病毒相关靶点的分子对接

为了全面探索参麦注射液抗 SARS-CoV-2 的药效成分,本研究将参麦注射液 125 个活性成分的 SMILES 格式用 Openable 2.4.1 软件转换成 MOL2 格式,构建用于分子对接的小分子库,然后用 ligprep 模块优化小分子库中的每一个分子。从 RCSB

(<https://www.rcsb.org/>) 数据库下载 SARS-CoV-2 的 3CL 水解酶(Mpro)的晶体结构(PDB ID: 6LU7),用 Protein Preparation Wizard 模块对蛋白进行加氢、去水、能量最小化等优化步骤。利用 Glide 软件进行分子对接,选择 SP(标准对接)模式。

2 结果

2.1 参麦注射液化合物及靶点和疾病靶点预测结果

通过 TCMSP 检索到红参中化合物 74 个,通过 ETCM 检索到麦冬中化合物 51 个,总共 125 个化合物。其中红参中 farnesene、 α -santalene 及麦冬中 2,5,7-trihydroxy-6,8-dimethyl-3-(3',4'-methylenedioxybenzyl)-chroman-4-one、borneol-2-O- β -D-glucopyranoside 共 4 个化合物没有预测到靶点,因此共通过 SwissTargetPrediction 数据库预测到 121 个小分子潜在作用靶点 1 100 个。检索 GenCards、NCBI 数据库得到冠心病相关靶点 2 302 个,检索 GeneCards 数据库得到 COVID-19 的相关靶点 356 个。将参麦注射液、冠心病、COVID-19 三者的潜在靶点经过韦恩分析后,获得 3 个集的共有交集 77 个靶点,即得到参麦注射液治疗冠心病和 COVID-19 的共有靶点。韦恩图见图 1。

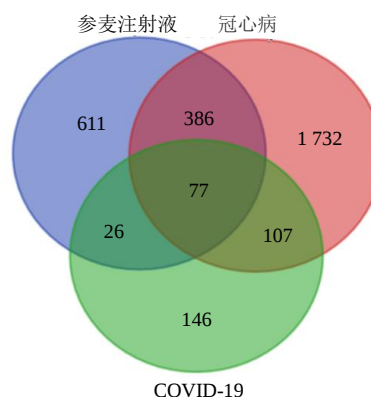


图 1 参麦注射液、COVID-19 和冠心病靶点的韦恩图
Fig. 1 Venn diagram analysis of Shenmai Injection and COVID-19 with coronary heart disease

2.2 参麦注射液治疗 COVID-19 及冠心病共有靶点的 PPI 网络分析结果

由图 2 可知,除 ENPP1 蛋白与其他蛋白之间没有互作关系被排除,该网络包含 76 个节点及 836 条边,平均度值(degree)为 22。以节点度值为评价参数,节点度值越大说明其在 PPI 网络中越重要,可能在发挥生物学功能中起着重要的作用。度值排名前 10 的靶点(图 3)为白细胞介素 6(IL6)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)、白蛋白(ALB)、

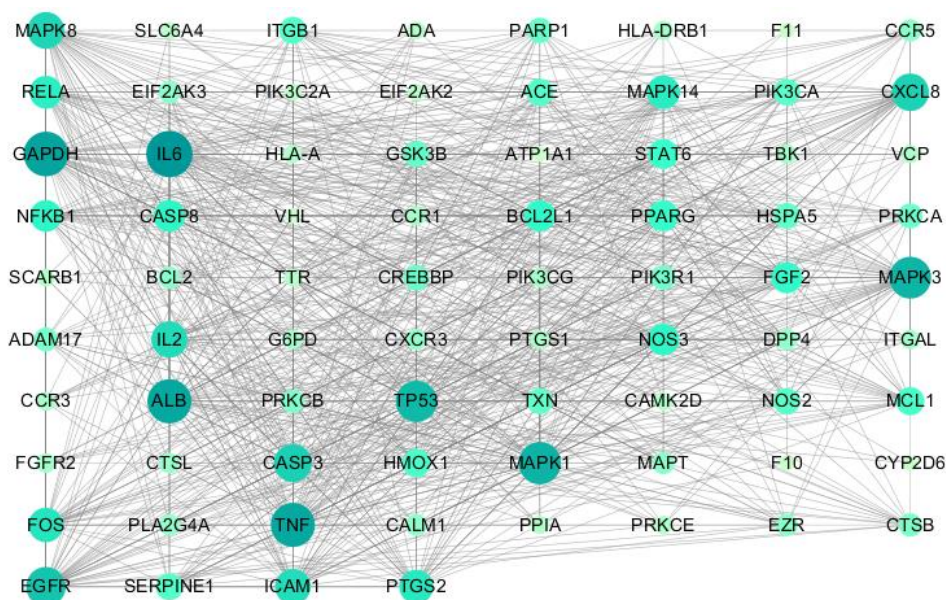


图 2 参麦注射液治疗 COVID-19 合并冠心病靶点 PPI 网络

Fig. 2 Target PPI network of Shenmai Injection in treatment of COVID-19 with coronary heart disease

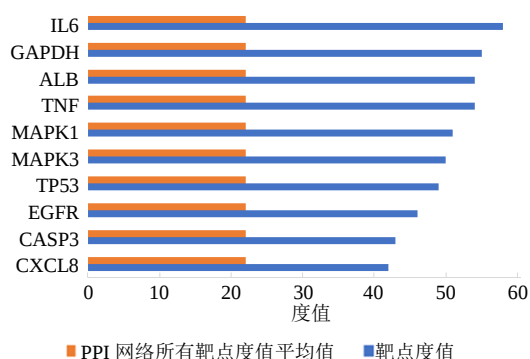


图 3 关键靶点信息

Fig. 3 Information of key targets

肿瘤坏死因子 (TNF)、丝裂原活化蛋白激酶 1 (MAPK1)、丝裂原活化蛋白激酶 3 (MAPK3)、TP53、表皮生长因子受体 (EGFR)、胱天蛋白酶 3 (CASP3)、白细胞介素 8 (CXCL8), 提示这些靶点可能是参麦注射液发挥治疗冠心病及 COVID-19 功效的关键靶点。

2.3 GO 生物功能注释及 KEGG 通路富集

将参麦注射液治疗冠心病和 COVID-19 的共有靶点导入 FunRich 软件进行 GO 富集分析, 得到 $P < 0.05$ 的生物学功能条目 84 条, 其中 $P < 0.05$ 的 CC、MF、BP 条目分别有 61、11、12 条, 各选取前 5 条进行可视化, 见图 4。

将参麦注射液治疗冠心病和 COVID-19 的共有

靶点导入 David (<https://david.ncifcrf.gov/>) 数据库进行 KEGG 通路富集分析, 筛选得到 $P < 0.05$ 的条目 124 条, 选取 $P < 0.05$ 且与 COVID-19 合并冠心病相关的前 30 条进行可视化展示, 见图 5。其中 76 个基因中有 52 个基因参与了前 30 条相关通路的富集, 共涉及低氧诱导因子-1 信号通路 (HIF-1 signaling pathway)、肿瘤坏死因子信号通路 (TNF signaling pathway)、鞘脂信号通路 (sphingolipid signaling pathway)、Toll 样受体信号通路 (Toll-like receptor signaling pathway)、神经营养素信号通路 (neurotrophin signaling pathway)、血管内皮生长因子信号通路 (VEGF signaling pathway)、细胞凋亡 (apoptosis)、Ras 信号通路 (Ras signaling pathway)、PI3K-Akt 信号通路 (PI3K-Akt signaling pathway)、泌乳素信号通路 (prolactin signaling pathway) 等 30 条通路。

2.4 化合物-靶点-通路分子药理网络的构建

将前 30 条通路所包含的靶点以及靶点所对应的化合物构建化合物-靶点-通路网络, 见图 6。该网络包含 200 个节点, 1 160 条边, 其中红参参与该网络的活性成分 69 个, 麦冬参与该网络的活性成分 49 个, 作用的靶点 52 个, 富集的通路 30 条。通过 Cytoscape 3.7.1 软件分析化合物-靶点-通路网络, 以度值为标准, 参麦注射液活性化合物节点度值的中位数为 7。参麦注射液中度值大于 7 的化合物共 57

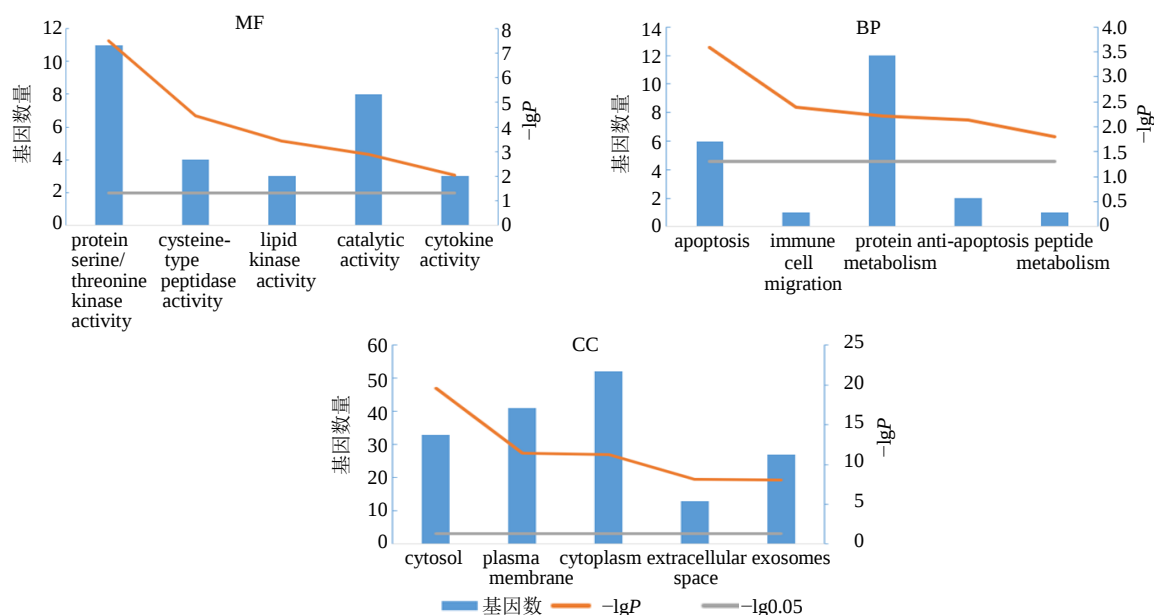


图 4 参麦注射液治疗 COVID-19 合并冠心病靶点 GO 富集分析

Fig. 4 GO enrichment analysis of Shenmai Injection in treatment of COVID-19 with coronary heart disease

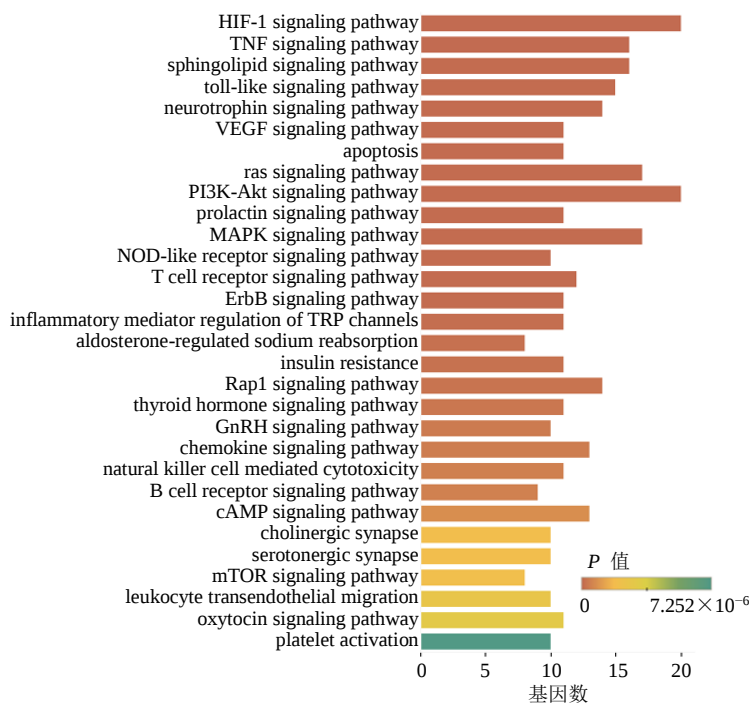


图 5 参麦注射液治疗 COVID-19 合并冠心病靶点 KEGG 信号通路分析

Fig. 5 KEGG pathway enrichment analysis of Shenmai Injection in treatment of COVID-19 with coronary heart disease

个, 其中红参 33 个, 麦冬 24 个 (表 1)。归属分析结果显示, 红参中皂苷 (人参皂苷 Rg_1 、 Rg_2 、 Rh_4 、 Rg_2 、 Rs_1 、 Rh_1)、皂苷苷元、红参炔醇和麦冬中高异黄酮 (麦冬甲基黄烷酮 A)、甾体皂苷 (麦冬皂苷 A、D)、鲁斯可皂苷元等可能在发挥治疗 COVID-19 及合并症冠心病时发挥着重要的作用。

2.5 分子对接结果

SARS-CoV-2 3CL 水解酶是一种半胱氨酸水解酶, 是 SARS-CoV-2 的主要蛋白酶之一, 因其在复制过程中基因具有高度的保守性, 常被作为筛选抗 SARS-CoV-2 药物的关键靶点^[17]。配体与受体结合时结合能越低, 发生作用的可能性就越大, 将参麦

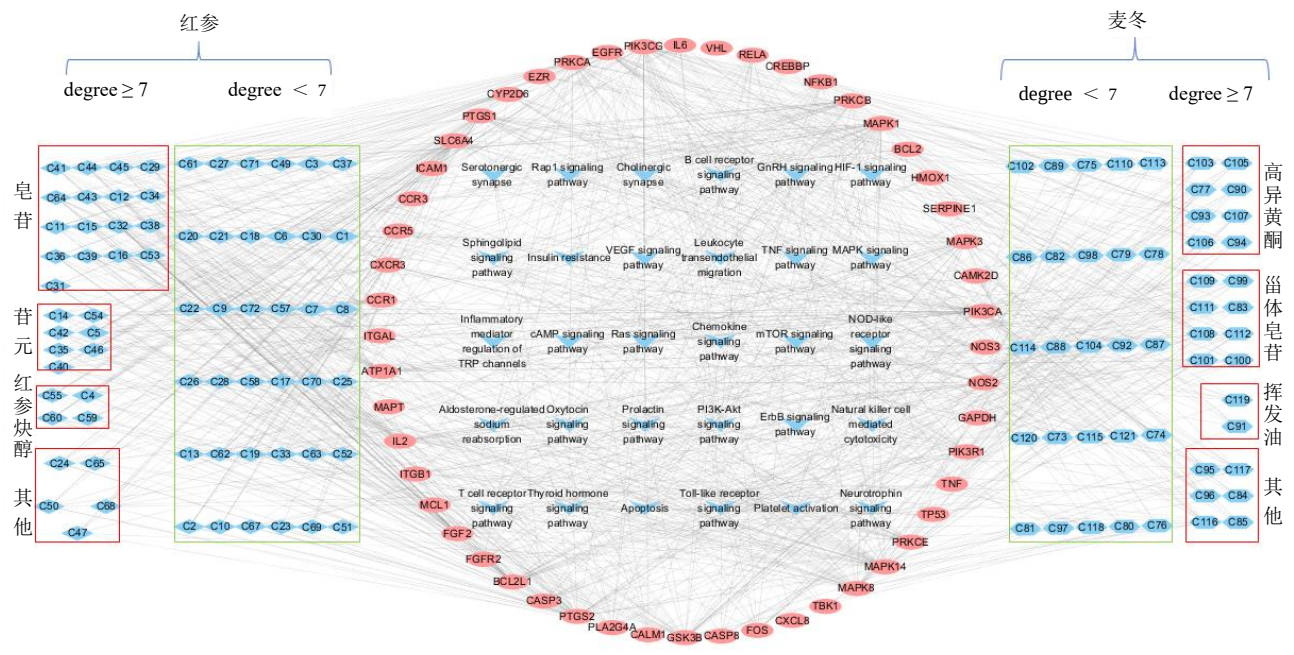


图 6 参麦注射液治疗 COVID-19 合并冠心病的成分-靶点-通路网络

Fig. 6 Composition-target-pathway diagram of Shenmai Injection in treatment of COVID-19 with coronary heart disease

表 1 参麦注射液中度值大于 7 的化合物

Table 1 Compounds with a degree over seven of Shenmai Injection

药材	成分类型	编号	名称	度值	药材	成分类型	编号	名称	度值		
红参	皂苷	C64	ginsenoside Rg ₁	12	红参	红参炔醇	C55	(3S)-falcarinol	7		
		C34	ginsenoside Rg ₂	11			C59	panaxydol	7		
		C39	ginsenoside Rh ₄	11			C24	clovene	8		
		C11	20(R)-ginsenoside Rg ₂	11			其他	C50	isolongifolene	8	
		C16	20(S)-Ginsenoside Rh ₁	11				C65	spathulenol	8	
		C41	ginsenoside Rs ₁	11				C47	globulol	7	
		C45	ginsenoside-Rh ₁	11				C68	zoomaric acid	7	
		C44	ginsenoside-Rc	10			麦冬	高异黄酮	C93	methyl ophiopogonanone A	10
		C29	ginsenoside R ₀	9					C103	ophiopogonanone B	10
		C31	ginsenoside Rb ₁	9					C94	methyl ophiopogonanone B	8
		C38	ginsenoside Rh ₂	9	C105	ophiopogonanone D			8		
		C43	ginsenoside-Rb ₂	9	C106	ophiopogonanone E			8		
		C12	20(S)-ginsenoside Rg ₃	8	C77	5,7,2'-trihydroxy-6-methyl-3-(3',4'-methylenedioxybenzyl) chromone			7		
		C15	sanchinoside Rd	8	C90	isoophiopogonone A			7		
		C36	ginsenoside Rg ₃	8	C107	ophiopogonanone F			7		
		C53	notoginsenoside R ₂	8	甾体皂苷	C108			ophiopogonin A	14	
		C32	ginsenoside Re	7		C112			ophiopogonin D'	13	
		苷元	C40	ginsenoside Rh ₄ _qt		11	C111	ophiopogonin D	12		
			C5	protopanaxatriol		9	C109	ophiopogonin B	11		
	C42		ginsenoside Rs ₁ _qt	9		C99	ophiogenin-3-O-α-L-rhamnopyranosyl (1→2)-β-D-glucopyranoside	10			
C46	ginsenoside-Rh ₁ _qt		9	C83		daucosterol	9				
C14	20(S)-ginsenoside-Rh ₁ _qt		8	C100		ophiopogon A	9				
C35	ginsenoside Rg ₂ _qt		8	C101		ophiopogon B	9				
C54	notoginsenoside R ₂ _qt		8	挥发油		C91	jasmololone	7			
C4	(3R,9R,10R)-heptadec-1-en-4,6-diyne-3,9,10-triol		11			C119	A-cyperene	7			
红参炔醇	C60		panaxynol	8							

续表 1

药材	成分类型	编号	名称	度值	药材	成分类型	编号	名称	度值
麦冬	其他	C117	ruscogenin	12	麦冬	其他	C85	borneol-2-O-β-D-apiofuranosyl	7
		C116	ruscogenin 1-O-sulfate	11				(1→6)-β-D-glucopyranoside	
		C84	borneol-2-O-α-L-arabinofuranosyl	7			C96	N-[β-hydroxy-β-(4-hydroxyphenyl)]	7
			(1→6)-β-D-glucopyranoside					ethyl-4-hydroxy cinnamide	
		C95	N-(trans-p-coumaroyl) tyramine	7					

注射液的小分子与 SARS-CoV-2 的 3CL 水解酶 (PDB ID: 6LU7) 进行高通量对接, 并以 6LU7 的原配体为阳性对照。分子对接结果表明, 原配体为所有参与对接的小分子中结合能最小的, 达到 -32.79 kJ/mol。参麦注射液中 17 个活性成分可能直接作用于 SARS-CoV-2, 从而抑制由 SARS-CoV-2 引起的 COVID-19。其中人参皂苷 Rb₂、N-反式-阿魏酰酪胺、人参皂苷 Rg₂ 等 17 种成分与 6LU7 有较低的结合能 (<-25.12 kJ/mol), 分子对接结果见表 2。图 7 用 PyMol 和 LigPlus 分别绘制了人参皂苷 Rb₂ 与 N-反式-阿魏酰酪胺与 6LU7 对接的三维及二

维构象, 从图中可以看出 2 个化合物都很好地嵌入到了 6LU7 的活性口袋。

3 讨论

参麦注射液中含有人参皂苷、麦冬皂苷、麦冬高异黄酮、多糖及挥发油等化合物^[18], 其中人参皂苷和麦冬皂苷是研究最多的 2 类成分。目前对于参麦注射液的药理研究主要集中在免疫系统、心血管系统、呼吸系统、对脑损伤的保护作用、抗肿瘤作用等几个方面, 而临床上则主要应用于治疗心力衰竭、休克、心肌炎等疾病。结合网络关联度值分析和分子对接结果, 发现总共 11 个化合物麦冬皂苷 D'

表 2 参麦注射液中主要活性成分与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶的结合能

Table 2 Binding energies of main active ingredients of Shenmai Injection and SARS-CoV-2 3CL hydrolase

来源	成分名称	结合能/(kJ·mol ⁻¹)
原配体	C ₃₅ H ₅₂ N ₆ O ₈	-32.79
红参	人参皂苷 Rb ₂ (ginsenoside Rb ₂)	-31.85
	人参皂苷 Rg ₂ (ginsenoside Rg ₂)	-29.42
	人参皂苷 R ₀ (ginsenoside R ₀)	-28.90
	人参皂苷 Re (ginsenoside Re)	-28.51
	三七皂苷 Rd (sanchinoside Rd)	-25.93
麦冬	N-反式-阿魏酰酪胺 (N-trans-feruloyltyramine)	-31.26
	麦冬皂苷 D' (ophiopogonin D')	-29.04
	麦冬皂苷 D (ophiopogonin D)	-28.64
	麦冬高异黄酮 C (ophiopogonone C)	-27.66
	麦冬二氢高异黄酮 A (ophiopogonanone A)	-27.12
	慈溪麦冬皂苷 A (ophiopogon A)	-26.77
	麦冬二氢高异黄酮 E (ophiopogonanone E)	-26.73
	5,7-二羟基-6,8-二甲基-3-(4'-羟基 3'-甲氧基苄基)色原烷-4-酮 (5,7-dihydroxy-6,8-dimethyl-3-(4'-hydroxy-3'-methoxybenzyl) chroman-4-one)	-26.53
	麦冬二氢高异黄酮 C (ophiopogonanone C)	-26.40
	2,5,7-三羟基-6,8-二甲基-3-(4'-甲氧基苄基)色原烷-4-酮 (2,5,7-trihydroxy-6,8-dimethyl-3-(4'-methoxybenzyl) chroman-4-one)	-26.21
	麦冬苷元-3-O-新橙皮糖苷 (ophiogenin-3-O-α-L-rhamnopyranosyl (1→2)-β-D-glucopyranoside)	-25.56
	麦冬甲基黄烷酮 A (methyl ophiopogonanone A)	-25.37

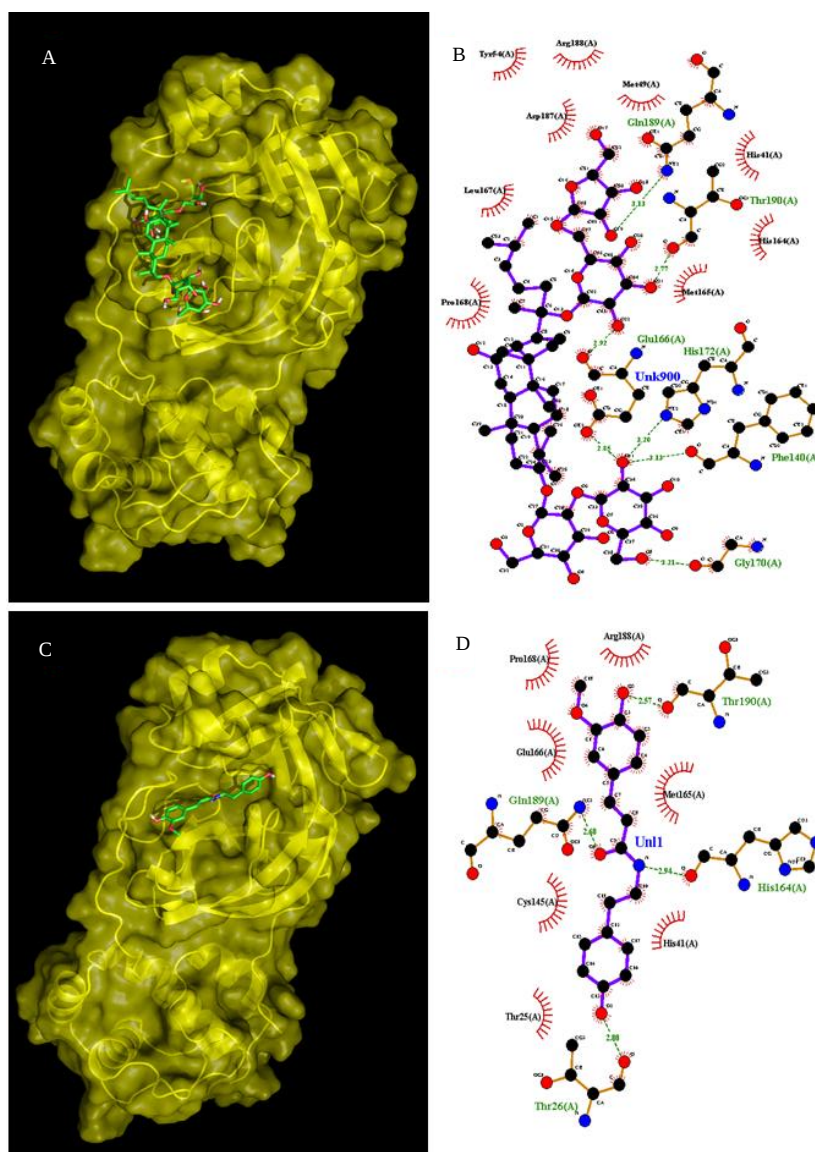


图 7 人参皂苷 Rb₂ (A-3D, B-2D) 与 *N*-反式-阿魏酰酪胺 (C-3D, D-2D) 分别与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶的分子对接模式
Fig. 7 Molecular docking pattern of ginsenoside Rb₂ (A-3D, B-2D), *N*-*trans*-feruloyltyramine (C-3D, D-2D) with SARS-CoV-2 3CL hydrolase

(ophiopogonin D')、麦冬皂苷 D (ophiopogonin D)、人参皂苷 Rg₂ (ginsenoside Rg₂)、麦冬甲基黄烷酮 A (methyl ophiopogonanone A)、麦冬苷元-3-*O*-新橙皮糖苷 (ophiogenin-3-*O*- α -*L*-rhamnopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2)- β -*D*-glucopyranoside)、人参皂苷 Rb₂ (ginsenoside Rb₂)、人参皂苷 R₀ (ginsenoside R₀)、ophiopogon A、三七皂苷 Rd (sanchinoside Rd)、麦冬二氢高异黄酮 E (ophiopogonanone E)、人参皂苷 Re (ginsenoside Re) 与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶结合能较低,且在化合物-靶点-通路网络中度值较高,可能是参麦注射液发挥治疗 COVID-19 合并冠心病的主要成分。

COVID-19 危重型患者病情加重与“细胞因子

风暴”密切相关,细胞因子风暴是由于机体受到感染等外界刺激而产生的大量细胞因子在各个脏器不受控制的增加,最终导致患者死于急性呼吸窘迫综合征或者其他脏器衰竭^[19-21]。本研究 PPI 网络分析结果显示 IL-6、IL-2、TNF、NFKB1、FGF2、CXCL8、PTGS1、PTGS2 等靶点与细胞因子风暴密切相关,其中 TNF、IL6、PTGS1、PTGS2、CXCL8 属于促炎性细胞因子。PPI 网络揭示了参麦注射液可能通过调节促炎性因子与抑炎性因子的平衡,避免细胞因子过度释放导致机体病症加剧。已有研究表明,COVID-19 发病全过程是一个渐进式转化的过程,每个阶段都呈现出不同的分子网络特征,尤其是

在重症和危重症患者,涉及到免疫炎症反应、呼吸障碍、心肺功能失调、神经系统失衡等多个分子机制^[14]。细胞因子风暴和炎症瀑布反应是轻症向重症和危重症转换的一个重要因子,细胞因子风暴之后出现了多个恶性因子及相关通路^[14]。TNF 被认为是细胞因子风暴的核心,进而刺激中性粒细胞、T 淋巴细胞和嗜酸性粒细胞的趋化,释放弹性蛋白酶,损伤内皮细胞,组织坏死,造成器官功能损伤等^[22]。分析化合物-靶点-通路网络发现麦冬皂元-3-O-新橙皮糖苷可以直接作用于 TNF,可能通过抑制 TNF 减轻肺部炎症,避免出现细胞因子风暴损伤肺部组织。鲁斯可皂苷元和麦冬皂苷 D 可以抑制白细胞与内皮细胞的黏附,从而抑制炎性细胞因子 TNF- α 的释放^[23]。此外,PPI 网络中也发现了 CCR1、CCR3、CXCR3、CCR5 等趋化因子的受体,趋化因子及其受体在介导炎症反应时具有重要的作用。当肺部受到外部病原体入侵时,肺泡巨噬细胞、多形核白细胞开始发挥细胞防御功能,而这些细胞的表面就包含趋化因子及其受体,能够调控这些免疫细胞在受到外界抗原刺激时激活和迁徙,大量的免疫细胞最终破坏了机体免疫系统的稳定^[24]。PI3K/Akt 介导的 NF- κ B 是经典的炎症信号传导途径,在调控体内炎症因子的水平中发挥着重要的作用,一旦 PI3K/Akt 信号通路被激活进而介导 NF- κ B 产生大量的炎症因子加剧炎症反应。参麦注射液中人参皂苷 Rb₁ 等皂苷类成分可能通过抑制 PI3K/Akt 介导的 NF- κ B 途径而避免细胞因子风暴给机体造成损伤^[25-26]。Gao 等^[27]发现人参皂苷 Rg₁ 通过与 Toll 样受体结合从而抑制 NF- κ B/MAPKs 信号通路在体内和体外发挥抗炎作用,证明其在治疗炎症性疾病中具有很好的效果。参麦注射液可能通过上述的通路抑制相关炎性细胞因子的过度释放,从而避免 COVID-19 患者因细胞因子风暴加重病情。

参麦注射液可维持 COVID-19 合并冠心病患者的心脏功能稳态,改善危重症患者体征。肺部感染和心脏疾病共享诸多危险因素和病理机制,在疾病发展中相互影响,导致疾病互相加重恶化。SARS-CoV-2 感染人体后诱导机体细胞免疫和体液免疫反应,产生的大量细胞因子和炎症因子,导致心肌微环境缺血缺氧而致损伤。全身炎症反应通过激活冠脉粥样斑块内炎性细胞,引起斑块破裂、血液黏稠或血栓形成,从而堵塞血管诱发心肌梗死。Chen 等^[28]于 2020 年 1 月 30 日报道了 99 例在武汉

金银潭医院住院治疗的 COVID-19 患者的临床特征和流行病学特征,发现 1% 的患者具有慢性基础疾病,有合并症的中老年患者更易感 SARS-CoV-2。对于重症重型和危重型 COVID-19 合并心脏功能损伤,都采用了中药参麦注射液联合治疗^[29-30]。参麦注射液中人参皂苷 Rg₁、Re 等皂苷类成分能够保护由于心肌缺血缺氧造成的氧化损伤,同时还能改善心肌扩张,减轻外周血管负担,改善心脏功能,为危重型患者急救争取时间^[31-33]。冠心病患者血管一直处于炎症状态,TNF、IL-6 等炎性细胞因子水平较高,而 TNF、IL-6 的过度释放会导致细胞毒性,使心血管内皮细胞结构和功能受损^[34]。COVID-19 合并冠心病患者,通常会由于心血管炎症损伤介导心肌细胞凋亡,心肌细胞过多的凋亡导致心脏收缩、扩张及形变等功能异常,进而造成患者心力衰竭^[35]。冠心病患者心肌细胞可能会出现坏死、凋亡及自噬 3 死亡过程,最终都导致心肌细胞的减少。分析 PPI 网络发现参麦注射液中人参皂苷 Rb₁ 等成分通过作用于 TP53、CASP3、BCL2、BCL2L1 等凋亡相关基因,抑制 caspase 3 的表达以及 Bcl-2/Bax 的比例从而减少患者心肌细胞的凋亡,维持心肌细胞正常形态和功能^[36]。近年来越来越多的研究表明鞘磷脂信号通路与动脉粥样硬化密切相关,鞘磷脂信号通路中的鞘磷脂、神经酰胺等在动脉粥样硬化发生发展中扮演着重要的角色,神经酰胺可以诱导斑块的炎症加剧和不稳定性,还能导致血管内皮细胞及平滑肌细胞的凋亡^[37]。张荣等^[38]研究表明,人参皂苷 Rg₁ 可以通过维持心肌 VEGF 表达量高水平,从而促进开放动脉侧支血管的形成,增加缺血病灶部位心肌血液供应,保护心肌正常功能。孟晨等^[39]研究表明,麦冬皂苷 D 可能通过激活 Akt/GSK-3 β 信号通路,进而抑制 caspase 3 信号通路,最终使 Bcl-2 蛋白上调,Bax、caspase 3 蛋白下调,减轻糖尿病大鼠心肌细胞凋亡。

根据目前有限的尸检和穿刺组织病理观察结果显示,COVID-19 重症患者免疫系统也受到 SARS-CoV-2 病毒的严重攻击,重症患者伴有免疫抑制^[40]。CD4⁺/CD8⁺值是判断人体免疫功能紊乱的临床诊断敏感指标,比值明显降低属“免疫抑制”状态。国家卫健委从第六版诊疗方案开始推荐参麦注射液用于治疗 COVID-19 危重症患者的免疫抑制状态。本研究显示,参麦注射液活性成分可能通过 T cell receptor signaling pathway、Natural killer cell

mediated cytotoxicity、B cell receptor signaling pathway 等信号通路调节机体免疫力, 激活被抑制的免疫系统。参麦注射液能够显著感染性休克患者提升外周血 T 淋巴细胞亚群数目, 可刺激肾透析患者的 B 淋巴细胞产生免疫球蛋白 IgG、IgA 和 IgM 的生成^[41]。人参皂苷 Rh₁ 可显著增强小鼠巨噬细胞吞噬功能以及促进 T 淋巴细胞的增殖, 从而提高机体免疫防御能力^[42]。红参多糖对免疫抑制模型小鼠具有增强免疫功能的作用^[43]。网络药理分析结果提示参麦注射液可通过促进 T 淋巴细胞增殖、分化、成熟, 增强自然杀伤细胞的细胞毒活性和吞噬细胞的吞噬功能, 进而纠正 COVID-19 患者免疫功能紊乱, 提高机体抗 SARS-CoV-2 病毒感染能力。

综上所述, 本研究运用网络药理学和分子对接的技术和方法, 发现参麦注射液治疗 COVID-19 合并冠心病的共同靶点 77 个, 参麦注射液中人参皂苷 Rg₁、Rh₁、Rh₄、Rh₁ 及麦冬皂苷 A、D', 鲁斯可皂苷元可能是参麦注射液发挥治疗 COVID-19 合并冠心病的主要药效成分。参麦注射液可能通过靶点直接作用、调控信号通路等途径来实现抑制细胞因子风暴、维持心脏功能稳态、调节免疫、抗病毒的功能, 体现了整体调节、网络调控、互相作用的特点。

参考文献

- [1] Guan W, Ni Z, Hu Y, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China [J]. *New Engl J Med*, 2020, doi: 10.1056/NEJMoa2002032.
- [2] Wu Z Y, McGoogan J M. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: Summary of a report of 72 314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention [J]. *JAMA*, 2020, doi: 10.1001/jama.2020.2648.
- [3] 中国疾病预防控制中心新型冠状病毒肺炎应急响应机制流行病学组. 新型冠状病毒肺炎流行病学特征分析 [J]. *中华流行病学杂志*, 2020, 41(2): 145-151.
- [4] 中华预防医学会新型冠状病毒肺炎防控专家组. 新型冠状病毒肺炎流行病学特征的最新认识 [J]. *中华流行病学杂志*, 2020, 41(2): 139-144.
- [5] Wang D, 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.
- [6] 国家卫生健康委办公厅, 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 (试行第五版)

的通知 [EB/OL]. [2020-02-04]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202002/3b09b894ac9b4204a79db5b8912d4440.shtml>.

- [7] 国家卫生健康委办公厅, 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 (试行第六版) 的通知 [EB/OL]. [2020-02-18]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202002/8334a8326dd94d329df351d7da8aefc2.shtml>.
- [8] 国家卫生健康委办公厅, 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]. [2020-03-03]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202003/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989.shtml>.
- [9] 周袁申, 陈昱志, 李 婷, 等. 参麦注射液对气阴两虚型血瘀证脓毒症患者凝血功能障碍的影响 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2016, 23(3): 240-244.
- [10] 姚亚宾, 张志坚. 参麦注射液对气阴两虚型脓毒症患者肠屏障功能的保护作用 [J]. *中国药业*, 2017, 26(22): 34-36.
- [11] 王益斐, 宣志红, 周 杨, 等. 参麦注射液使用剂量与呼吸机相关性肺炎患者免疫功能及治疗效果的相关性研究 [J]. *中国现代应用药学*, 2019, 36(24): 3085-3089.
- [12] Li S, Zhang B. Traditional Chinese medicine network pharmacology: Theory, methodology and application [J]. *Chin J Nat Med*, 2013, 11(12): 110-120.
- [13] 刘昌孝, 王玉丽, 张洪兵, 等. 基于新型冠状病毒感染防控需求, 重视中药科学研究与应用 [J]. *中草药*, 2020, 51(6): 1361-1374.
- [14] 许海玉, 张彦琼, 秦月雯, 等. 基于 TCMIP V2. 0 探析新型冠状病毒肺炎全病程中医证候和推荐方剂的科学内涵 [J/OL]. *中国中药杂志*, [2020-03-02]. <https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcmm.20200229.401>.
- [15] Ru J L, Li P, Wang J N, 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.
- [16] Xu H Y, Zhang Y Q, Liu Z M et al. ETCM: An encyclopaedia of traditional Chinese medicine [J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, doi: 10.1093/nar/gky987.
- [17] Chen C N, Lin C P, Huang K K, et al. Inhibition of SARS-CoV 3C-like protease activity by theaflavin-3,3'-digallate (TF3) [J]. *Evid Based Compl Alternat Med*, 2005, 2(2): 209-215.
- [18] 王若柳, 王海强, 范晓辉, 等. LC-Q-TOF-MS 和 LC-IT-MS 分析参麦注射液中化学成分 [J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(3): 555-564.
- [19] Rothman A L. Immunity to dengue virus: a tale of original antigenic sin and tropical cytokine storms [J]. *Nat*

- Rev Immunol*, 2011, 11(8): 532-543.
- [20] 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.
- [21] 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.
- [22] 畅毅平, 彭 鹏. 炎症细胞因子与急性呼吸窘迫综合征的研究进展 [J]. 临床肺科杂志, 2015, 20(2): 315-318.
- [23] 白 晶. 麦冬甾体皂苷和高异黄酮类成分的研究进展 [J]. 北京联合大学学报, 2014, 28(2): 9-12.
- [24] Winter C, Herbold W, Maus R, *et al.* Important role for CC chemokine ligand 2-dependent lung mononuclear phagocyte recruitment to inhibit sepsis in mice infected with *Streptococcus pneumoniae* [J]. *J Immunol*, 2009, 182(8): 4931-4937.
- [25] Li Y, Li H, Li X, *et al.* Curcumin alleviates LPS-induced retinal inflammation by inhibiting PI3k/Akt signaling pathway [J]. *Int Eye Sci*, 2020, 20(2): 203-210.
- [26] 朱志扬, 葛 然, 杨露露. 人参皂苷 Rb₁ 通过抑制 PI3K/AKT 信号通路保护脂多糖诱导的心肌细胞炎症反应 [J]. 中国循证心血管医学杂志, 2018, 10(7): 823-826.
- [27] Gao H W, Kang N X, Hu C, *et al.* Ginsenoside Rb₁ exerts anti-inflammatory effects *in vitro* and *in vivo* by modulating toll-like receptor 4 dimerization and NF- κ B/MAPKs signaling pathways [J]. *Phytomedicine*, 2020, doi: 10.1016/j.phymed.2020.153197.
- [28] 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/OL]. *Lancet*, [2020-01-30]. [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(20\)30211-7/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(20)30211-7/fulltext).
- [29] 缙永悦, 杨志旭, 朱浩宁, 等. 重型新型冠状病毒肺炎验案 3 则 [J/OL]. 中国中医急症, [2020-04-02]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1102.R.20200318.0837.002.html>.
- [30] 胡美霖, 董若兰, 陈 广, 等. 中西医结合治疗重症新型冠状病毒肺炎临床病例 1 例 [J]. 中国中西医结合杂志, 2020, 40(2): 228-230.
- [31] 韩翠宁, 李玉红. 人参皂苷 Rg₁ 对原代培养心肌细胞缺氧复氧损伤的作用 [J]. 现代中西医结合杂志, 2017, 26(34): 3771-3773.
- [32] 田 静, 任雨贺, 刘淑莹, 等. 人参皂苷 Re 对心血管系统的药理作用研究进展 [J]. 安徽农业科学, 2019, 47(6): 23-25.
- [33] 黎 红. 参麦注射液治疗气阴两虚型冠心病的临床效果 [J]. 中国当代医药, 2019, 26(31): 172-182.
- [34] 王春葆. 盐酸贝那普利联合比索洛尔对高血压合并冠心病患者血压、血脂、血管内皮功能和炎症因子水平的影响分析 [J]. 中国实用医药, 2020, 15(1): 124-125.
- [35] 王 景. 芪参颗粒抑制 AMI 后炎症损伤介导心肌细胞凋亡的机制研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2016.
- [36] Li C Y, Yang P, Jiang Y L, *et al.* Ginsenoside Rb₁ attenuates cardiomyocyte apoptosis induced by myocardial ischemia reperfusion injury through mTOR signal pathway [J]. *Biomed Pharmacoth*, 2020, 125(109913): 1-10.
- [37] 黑子清, 吴伟康, 孙惠兰, 等. 银杏叶提取物对高脂胆固醇喂饲家兔血管神经酰胺含量和泡沫细胞凋亡的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(2): 60-63.
- [38] 张 荣, 刘咏芳. 人参皂甙 Rg₁ 对大鼠急性心肌梗死后血管再生及心功能的影响 [J]. 重庆医学, 2009, 38(7): 805-807.
- [39] 孟 晨, 袁彩华, 张晨晨, 等. 麦冬皂苷 D 通过减轻内质网应激对阿霉素所致心肌损伤产生保护作用 [J]. 药学报, 2014, 49(8): 1117-1123.
- [40] 刘 敏, 冯瑞娥, 李 倩, 等. 流感病毒 H1N1、高致病性禽流感病毒 H5N1 和 SARS-CoV、MERS-CoV 及 2019-nCoV 冠状病毒所致病理改变及其致病机制的比较 [J/OL]. 中华病理学杂志, [2020-03-16]. <http://rs.yiigle.com/yufabiao/1184850.htm>.
- [41] 刘鹏飞, 杨 涛. 参麦注射液辅助治疗感染性休克的疗效及对患者免疫功能的影响 [J]. 天津药学, 2018, 30(4): 33-35.
- [42] 张才军, 郭 民, 柳 波, 等. 人参皂苷 Rh₁ 对免疫功能降低小鼠的免疫调节作用研究 [J]. 昆明医学院学报, 2009, 30(11): 51-54.
- [43] 李慧文, 韩春姬, 洪喜道, 等. 红参多糖对免疫抑制小鼠免疫功能的影响 [J]. 延边大学农学报, 2012, 34(4): 330-333.