

## • 药理与临床 •

## 基于生物信息技术的荆防颗粒治疗冠状病毒感染疾病机制探析

陈文璐<sup>1</sup>, 张怡萍<sup>1</sup>, 牟艳芳<sup>2</sup>, 李莎莎<sup>1\*</sup>, 叶士莉<sup>2</sup>, 支运霞<sup>2</sup>, 张贵民<sup>2\*</sup>

1. 广州中医药大学第二附属医院, 广东 广州 510120

2. 中药制药共性技术国家重点实验室, 山东 临沂 276000

**摘要:** 目的 采用网络药理学及分子对接等生物信息技术研究荆防颗粒治疗冠状病毒感染性疾病的机制。方法 在 TCMIP、TCMSP 数据库中查询荆防颗粒药材的性味归经及成分, 并通过 PubChem、SwissTargetPrediction 数据库得到成分对应的靶点信息; 在 GeneCards 数据库中收集冠状病毒相关靶点。成分靶点和疾病靶点交集后使用 DAVID 数据库对共有靶点进行富集分析。利用 Cytoscape 3.7.2 软件绘制“药材-成分-共有靶点”网络图, 筛选荆防颗粒中的主要活性成分与关键靶点进行分子对接验证。结果 共获得荆防颗粒活性成分 139 个, 与冠状病毒共同的靶点 27 个, GO 分析和 KEGG 信号通路发现, 荆防颗粒治疗冠状病毒感染性疾病主要涉及癌症信号通路、MAPK 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、TNF 信号通路。成功构建了“药材-成分-共有靶点”网络, 分子对接结果显示该网络中的关键成分如  $\beta$ -谷甾醇、啤酒甾醇、异鼠李素、橙皮素、木犀草素等与关键靶点 VEGFA、IL6、TNF、PPAR $\gamma$ 、APP、ACE2 及 SARS-CoV-2 3CL 水解酶的亲和力较好。结论 荆防颗粒通过多味中药配伍发挥治疗冠状病毒感染性疾病的作用, 其抗冠状病毒感染机制可能是通过  $\beta$ -谷甾醇、啤酒甾醇、异鼠李素、橙皮素、木犀草素等成分作用于 VEGFA、IL6、TNF、PPAR $\gamma$ 、APP 等靶点, 调控癌症信号通路、MAPK 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、TNF 信号通路实现。

**关键词:** 荆防颗粒; 冠状病毒; 网络药理学; 分子对接; 作用机制

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)15-3937-15

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.15.013

**Mechanism of Jingfang Granule in treatment of coronavirus infection by biological information technology**CHEN Wen-lu<sup>1</sup>, ZHANG Yi-ping<sup>1</sup>, MU Yan-fang<sup>2</sup>, LI Sha-sha<sup>1</sup>, YE Shi-li<sup>2</sup>, ZHI Yun-xia<sup>2</sup>, ZHANG Gui-min<sup>2</sup>

1. The Second Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510120, China

2. State Key Laboratory of Generic Manufacture Technology of Chinese Traditional Medicine, Linyi 276000, China

**Abstract: Objective** To explore the mechanism of Jingfang Granule in treatment of corona virus infection through biological information technology based on network pharmacology and molecular docking. **Methods** The databases of TCMIP and TCMSP were used to summarize the flavor and meridian tropism and active compounds of Jingfang Granule, and the potential targets of active compounds were searched by PubChem and SwissTargetPrediction. The corona virus targets were collected from the GeneCards database. And common targets were enriched and analyzed by DAVID database after the intersection of the compounds targets and the disease targets. Then the network of “TCM-Ingredients-Common targets” was established by Cytoscape 3.7.2, the main active components and key targets were screened for molecular docking. **Results** Totally 139 active components of Jingfang Granule and 27 common targets were obtained. GO enrichment analysis and KEGG enrichment analysis found that the pathways in cancer, MAPK signaling pathway, PI3K-Akt signaling pathway, TNF signaling pathway were the main pathways of Jingfang Granule in treatment of corona virus infection. The network of “TCM-Ingredients-Common targets” was successfully constructed, and results of molecular docking showed that the main components in this network such as  $\beta$ -sitosterol, cerevisterol, isorhamnetin, hesperetin, and luteolin etc., have good affinity with key targets of VEGFA, IL6, TNF, PPAR $\gamma$ , APP, ACE2, and SARS-CoV-2 3CL hydrolase.

收稿日期: 2020-04-23

**基金项目:** 山东省重大科技创新工程项目 (2017CXGC1308); 基于数据挖掘和药效成分定向快速分离技术单元的中医药抗病毒成分筛选关键技术研究; 山东省重大科技创新工程项目 (2018CXGC1305); 基于精细化生产和临床精准给药的中经方现代制剂研发及关键技术研究**作者简介:** 陈文璐 (1996—), 女, 在读硕士研究生, 研究方向为中医药系统生物学。E-mail: chenwenlu2266@163.com**\*通信作者** 张贵民, 男, 研究员, 博士生导师, 从事药物研发工作。E-mail: lunanzhangguimin@163.com  
李莎莎, 女, 助理研究员, 研究方向为中医药系统生物学。E-mail: happylishasha@163.com

**Conclusion** Jingfang Granule treats corona virus infectious diseases through the compatibility of multiple traditional Chinese medicine. Its resistance to corona virus infection may be through the  $\beta$ -sitosterol, cerevisterol, isorhamnetin, hesperetin, and luteolin act on the VEGFA, IL6, TNF, PPAR $\gamma$ , APP and other targets, and then affects the pathways in cancer, MAPK signal pathway, PI3K-Akt signal pathway, TNF signal pathways to achieve.

**Key words:** Jingfang Granule; corona viruses; network pharmacology; molecular docking; mechanism of action

冠状病毒 (coronaviruses, CoVs) 是一种有包膜的单链 RNA 病毒, 因其在显微镜下可见突起、状似皇冠而得此名<sup>[1]</sup>。其主要感染脊椎动物, 宿主广泛, 可飞行的中间宿主蝙蝠使得冠状病毒更易扩散。冠状病毒具有呼吸道、胃肠道和神经系统的亲嗜性感染, 目前已明确有 7 种冠状病毒可使人类感染并导致疾病<sup>[2]</sup>: 人冠状病毒 229E (HCoV-229E)、人冠状病毒 NL63 (HCoV-NL63)、人冠状病毒 OC43 (HCoV-OC43)、人冠状病毒 HKU1 (HCoV-HKU1)、严重急性呼吸综合征病毒 (SARS-CoV)、中东呼吸综合征相关冠状病毒 (MERS-CoV)、严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 (SARS-CoV-2), 其中由 SARS-CoV 引起的传染性非典型肺炎、由 MERS-CoV 所致的中东呼吸综合征、由 SARS-CoV-2 导致的新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 等的传染性和病死率明显高于其他病毒性肺炎, 目前主要以抗病毒药物及疫苗以控制病毒引起的传染病暴发<sup>[3]</sup>。但疫苗的研发与获批需要时间<sup>[4]</sup>, 尤其现今在全球范围内蔓延的 COVID-19 传染性强, 对人类的健康产生重大威胁, 同时也影响着全球经济发展, 目前仍缺乏疫苗及特异性治疗药物, 而中医药凭借有效性、安全性在此次抗 COVID-19 过程中发挥了及时且重要的作用<sup>[5]</sup>。

荆防败毒散是治疗病毒性呼吸道感染疾病的经典方剂, 主要功效为发散风寒, 用于风寒感冒等病症<sup>[6-9]</sup>, 与此同时黄煌教授<sup>[10]</sup>认为该方也可用于 COVID-19 的治疗。荆防颗粒是由荆防败毒散去薄荷化裁而成的中成药 (国药准字 Z37020357), 功效为发汗解表、散风祛湿, 主要用于风寒感冒、头身疼痛、恶寒发热、鼻塞流涕、咳嗽白痰、喉痒咽痛等。复方中荆芥、防风发汗解表散风邪, 为君药; 臣药羌活、独活祛一身上下之风寒湿邪, 柴胡解肌发表退热, 川芎祛风止痛行血; 桔梗开肺且可载药上行, 枳壳降气, 前胡化痰, 茯苓渗湿利水, 共为佐药; 甘草补脾胃、调合诸药, 为使药。诸药合用, 表邪可解, 风邪消散, 汗出热退, 肺气得利而病愈。

荆防颗粒已在临床上被用于治疗病毒性呼吸道

感染疾病, 但其作用机制尚不明确。生物信息学技术可以通过多层次网络图模拟中药复方作用于疾病的复杂机制, 分析复方中主要起效成分及关键作用靶点, 并以此预测其可能的机制<sup>[11-12]</sup>。基于此, 本研究利用网络药理学和分子对接方法预测荆防颗粒治疗冠状病毒感染性疾病的主要成分、关键靶点及具体的作用机制, 为下一步的动物实验及临床试验提供一定的基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 荆防颗粒药效成分及靶点信息库构建

由 TCMIP<sup>[13]</sup> 数据库 (<http://www.tcmip.cn/> TCMIP/) 得到荆防颗粒中荆芥、防风、羌活、独活、柴胡、川芎、桔梗、枳壳、前胡、茯苓、甘草 11 味中药的性味归经。在 TCMSP<sup>[14]</sup> 数据库 (<http://tcmsp.com/tcmsp.php>) 中以药物口服生物利用度 (OB)  $\geq 30\%$ 、类药性 (DL)  $\geq 0.18$  为筛选条件, 得到荆防颗粒各个药材的潜在成分。

通过 PubChem<sup>[15]</sup> 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 查询潜在成分的 SMILES 字符串, 并将其输入 SwissTargetPrediction<sup>[16]</sup> (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 中进行靶点预测, 得到荆防颗粒潜在成分的相关靶点。

以 “corona virus” 为关键词输入 GeneCards<sup>[17]</sup> 数据库 (<https://www.genecards.org/>), 即得到冠状病毒相关疾病的靶点信息。

利用在线工具 Venny 2.1 (<https://bioinfo.gp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>) 将荆防颗粒潜在成分靶点与冠状病毒靶点进行交集, 得到二者的共有靶点。

### 1.2 富集分析

将共有靶点输入 DAVID<sup>[18]</sup> 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>), 设置物种为 “Homo sapiens”, 其余保持默认值, 进行 GO 富集分析和 KEGG 信号通路富集分析。

### 1.3 分子网络构建

利用 Cytoscape 3.7.2 软件<sup>[19]</sup>, 将 “1.1” 及 “1.2” 项中得到的结果进行可视化处理, 构建 “中药性味

归经”网络图、“共有靶点互相作用”网络图、“药材-成分-共有靶点”网络图。

#### 1.4 分子对接

通过 TCMSP 数据库得到荆防颗粒关键成分的 3D 结构信息、PubChem 数据库得到临床常用抗病毒相关药物 3D 结构信息；同时在 PDB<sup>[20]</sup>数据库中下载靶蛋白的 3D 结构，并通过 OpenBabel 3.0 软件<sup>[21]</sup>对小分子、AutodockTool 4.0 软件<sup>[22]</sup>对靶蛋白进行加氢等前处理。利用 Autodock Vina 软件<sup>[23]</sup>将处理后的成分与靶蛋白进行对接，通过 PyMOL 软件<sup>[24]</sup>将对接结果进行可视化。

## 2 结果

### 2.1 荆防颗粒成分和靶点信息

根据 TCMSP 数据库的检索结果及筛选条件，荆防颗粒 11 味中药共有成分 221 个，去重整理后得到 191 个成分，分别编号为 JF1-JF191（表 1）。其中能找到对应靶点的成分有 139 个，靶点去重后共 1 004 个。根据 TCMIP 数据库得到荆防颗粒药材五味、归经信息，构建“中药性味归经”网络图（图 1），由图 1 可知荆防颗粒中的药材主要为辛、苦、甘 3 味，大多归于肺经、脾经、肝经。

表 1 荆防颗粒药材成分

Table 1 TCM and ingredients of Jingfang Granule

| 编号   | 成分                                                                                                                                               | 药材来源  | 编号   | 成分                                                        | 药材来源     |
|------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|------|-----------------------------------------------------------|----------|
| JF1  | naringenin                                                                                                                                       | a、b   | JF35 | 5,7-dihydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl) chroman-4-one | g、e      |
| JF2  | nobiletin                                                                                                                                        | a     | JF36 | luteolin                                                  | g、f      |
| JF3  | marmin                                                                                                                                           | a     | JF37 | beta-sitosterol                                           | g、h、c、d、 |
| JF4  | hesperetin                                                                                                                                       | a     |      |                                                           | e、a、i、b  |
| JF5  | nodakenin                                                                                                                                        | c、d、e | JF38 | quercetin                                                 | g、j、e、b  |
| JF6  | notoptol                                                                                                                                         | c     | JF39 | stigmaterol                                               | g、j      |
| JF7  | diversoside_qt                                                                                                                                   | c     | JF40 | supraene                                                  | g        |
| JF8  | demethylfuopinnarin                                                                                                                              | c     | JF41 | schkuhrin I                                               | g        |
| JF9  | coumarin, glycoside                                                                                                                              | c     | JF42 | schizonepetoside B                                        | g        |
| JF10 | cnidilin                                                                                                                                         | c     | JF43 | campest-5-en-3beta-ol                                     | g        |
| JF11 | bergaptin                                                                                                                                        | c     | JF44 | xambioona                                                 | b        |
| JF12 | 8-geranoxo-5-methoxypsoralen                                                                                                                     | c     | JF45 | vestitol                                                  | b        |
| JF13 | 6'-feruloylnodakenin                                                                                                                             | c     | JF46 | sigmoidin-B                                               | b        |
| JF14 | tanshinone iia                                                                                                                                   | e     | JF47 | shinpterocarpin                                           | b        |
| JF15 | sporidesmin                                                                                                                                      | e     | JF48 | semilicoisoflavone B                                      | b        |
| JF16 | skimmin (8CI)                                                                                                                                    | e     | JF49 | quercetin der                                             | b        |
| JF17 | rutarin_qt                                                                                                                                       | e     | JF50 | phaseolinisoflavan                                        | b        |
| JF18 | rubricauloside                                                                                                                                   | e     | JF51 | phaseol                                                   | b        |
| JF19 | praeruptorin E                                                                                                                                   | e     | JF52 | odoratin                                                  | b        |
| JF20 | peucedanocoumarin II                                                                                                                             | e     | JF53 | medicarpin                                                | b        |
| JF21 | dl-praeruptorin a                                                                                                                                | e     | JF54 | mairin                                                    | b        |
| JF22 | decussine                                                                                                                                        | e     | JF55 | lupiwighteone                                             | b        |
| JF23 | 8-[(2R)-2,3-dihydroxy-3-methyl-butyl]-5,7-dimethoxy-coumarin                                                                                     | e     | JF56 | liquiritin                                                | b        |
| JF24 | umbelliprenin                                                                                                                                    | e     | JF57 | licoricone                                                | b        |
| JF25 | [(9R)-8,8-dimethyl-2-oxo-9,10-dihydropyrano [6,5-h] chromen-9-yl] (Z)-2-methylbut-2-enoate                                                       | e     | JF58 | licorice glycoside E                                      | b        |
| JF26 | (8S,9R)-9-hydroxy-8-(2-hydroxypropan-2-yl)-8,9-dihydrofuro [2,3-h] chromen-2-one                                                                 | e     | JF59 | licopyranocoumarin                                        | b        |
| JF27 | (2S)-2-(1-hydroxy-1-methyl-ethyl)-9-[(2S,3R,4R,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-methylol-tetrahydropyran-2-yl]oxy-2,3-dihydrofuro [3,2-g] chromen-7-one | e     | JF60 | licoisoflavone B                                          | b        |
| JF28 | spinasterol                                                                                                                                      | f     | JF61 | licoisoflavone                                            | b        |
| JF29 | robinin                                                                                                                                          | f     | JF62 | licoisoflavanone                                          | b        |
| JF30 | dimethyl 2-O-methyl-3-O-a-D-glucopyranosyl platycogenate A                                                                                       | f     | JF63 | licocoumarone                                             | b        |
| JF31 | cis-dihydroquercetin                                                                                                                             | f     | JF64 | licochalcone G                                            | b        |
| JF32 | acacetin                                                                                                                                         | f     | JF65 | licochalcone B                                            | b        |
| JF33 | 2-O-methyl-3-O-beta-D-glucopyranosyl platycogenate A                                                                                             | f     | JF66 | licochalcone a                                            | b        |
| JF34 | diosmetin                                                                                                                                        | g、c   | JF67 | licoagroisoflavone                                        | b        |
|      |                                                                                                                                                  |       | JF68 | licoagrocarnin                                            | b        |
|      |                                                                                                                                                  |       | JF69 | kanzonols W                                               | b        |
|      |                                                                                                                                                  |       | JF70 | kanzonol F                                                | b        |
|      |                                                                                                                                                  |       | JF71 | jaranol                                                   | b        |
|      |                                                                                                                                                  |       | JF72 | isotrifoliol                                              | b        |

续表 1

| 编号    | 成分                                                                               | 药材来源 | 编号    | 成分                                                                                                                                                                        | 药材来源    |
|-------|----------------------------------------------------------------------------------|------|-------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| JF73  | isolicoflavanol                                                                  | b    | JF123 | 1,3-dihydroxy-8,9-dimethoxy-6-benzofurano [3,2-c] chromenone                                                                                                              | b       |
| JF74  | isoglycyrol                                                                      | b    | JF124 | (E)-3-[3,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-enyl) phenyl]-1-(2,4-dihydroxyphenyl) prop-2-en-1-one                                                                               | b       |
| JF75  | inflatocoumarin A                                                                | b    | JF125 | (E)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-(2,2-dimethylchromen-6-yl) prop-2-en-1-one                                                                                                  | b       |
| JF76  | inermine                                                                         | b    | JF126 | (2S)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl) chroman-4-one                                                                                                   | b       |
| JF77  | icos-5-enoic acid                                                                | b    | JF127 | (2S)-6-(2,4-dihydroxyphenyl)-2-(2-hydroxypropan-2-yl)-4-methoxy-2,3-dihydrofuro[3,2-g]chromen-7-one                                                                       | b       |
| JF78  | HMO                                                                              | b    | JF128 | (2S)-2-[4-hydroxy-3-(3-methylbut-2-enyl) phenyl]-8,8-dimethyl-2,3-dihydropyrano [2,3-f] chromen-4-one                                                                     | b       |
| JF79  | glyzaglabrin                                                                     | b    | JF129 | (2R)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl) chroman-4-one                                                                                                                          | b       |
| JF80  | glypallichalcone                                                                 | b    | JF130 | (-)-medicocarpin                                                                                                                                                          | b       |
| JF81  | glycyrrhiza flavonol A                                                           | b    | JF131 | trametenolic acid                                                                                                                                                         | k       |
| JF82  | glycyroside                                                                      | b    | JF132 | poricoic acid C                                                                                                                                                           | k       |
| JF83  | glycyrol                                                                         | b    | JF133 | poricoic acid B                                                                                                                                                           | k       |
| JF84  | glycyrin                                                                         | b    | JF134 | poricoic acid A                                                                                                                                                           | k       |
| JF85  | glyasperins M                                                                    | b    | JF135 | pachymic acid                                                                                                                                                             | k       |
| JF86  | glyasperin F                                                                     | b    | JF136 | hederagenin                                                                                                                                                               | k       |
| JF87  | glyasperin C                                                                     | b    | JF137 | ergosterol peroxide                                                                                                                                                       | k       |
| JF88  | glyasperin B                                                                     | b    | JF138 | ergosta-7,22E-dien-3beta-ol                                                                                                                                               | k       |
| JF89  | glepidotin B                                                                     | b    | JF139 | dehydroeburicoic acid                                                                                                                                                     | k       |
| JF90  | glepidotin A                                                                     | b    | JF140 | cerevisterol                                                                                                                                                              | k       |
| JF91  | glabrone                                                                         | b    | JF141 | 7,9 (11)-dehydropachymic acid                                                                                                                                             | k       |
| JF92  | glabridin                                                                        | b    | JF142 | 3beta-hydroxy-24-methylene-8-lanostene-21-oic acid                                                                                                                        | k       |
| JF93  | glabrene                                                                         | b    | JF143 | (2R)-2-[(5R,10S,13R,14R,16R,17R)-16-hydroxy-3-keto-4,4,10,13,14-pentamethyl-1,2,5,6,12,15,16,17-octahydrocyclopenta [a] phenanthren-17-yl]-5-isopropyl-hex-5-enoic acid   | k       |
| JF94  | glabranin                                                                        | b    | JF144 | (2R)-2-[(3S,5R,10S,13R,14R,16R,17R)-3,16-dihydroxy-4,4,10,13,14-pentamethyl-2,3,5,6,12,15,16,17-octahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl]-6-methylhept-5-enoic acid    | k       |
| JF95  | gancaonin H                                                                      | b    | JF145 | (2R)-2-[(3S,5R,10S,13R,14R,16R,17R)-3,16-dihydroxy-4,4,10,13,14-pentamethyl-2,3,5,6,12,15,16,17-octahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl]-5-isopropyl-hex-5-enoic acid | k       |
| JF96  | gancaonin G                                                                      | b    | JF146 | phellopterin                                                                                                                                                              | h、c、e   |
| JF97  | gancaonin B                                                                      | b    | JF147 | isoimperatorin                                                                                                                                                            | h、c、d、e |
| JF98  | gancaonin A                                                                      | b    | JF148 | ammidin                                                                                                                                                                   | h、c、d、f |
| JF99  | gadelaidic acid                                                                  | b    | JF149 | decursin                                                                                                                                                                  | h、e     |
| JF100 | formononetin                                                                     | b    | JF150 | mandenol                                                                                                                                                                  | h、i     |
| JF101 | eurycarpin A                                                                     | b    | JF151 | wogonin                                                                                                                                                                   | H       |
| JF102 | euchrenone                                                                       | b    | JF152 | prangenidin                                                                                                                                                               | h       |
| JF103 | DFV                                                                              | b    | JF153 | phelloptorin                                                                                                                                                              | h       |
| JF104 | dehydroglyasperins C                                                             | b    | JF154 | methyl icos-11,14-dienoate                                                                                                                                                | h       |
| JF105 | calycosin                                                                        | b    | JF155 | ledebouriellol                                                                                                                                                            | h       |
| JF106 | 8-prenylated eriodictyol                                                         | b    | JF156 | divaricatol                                                                                                                                                               | h       |
| JF107 | 8-(6-hydroxy-2-benzofuranyl)-2,2-dimethyl-5-chromenol                            | b    | JF157 | divaricatol                                                                                                                                                               | h       |
| JF108 | 7-methoxy-2-methyl isoflavone                                                    | b    | JF158 | anomalin                                                                                                                                                                  | h       |
| JF109 | 7-Acetoxy-2-methylisoflavone                                                     | b    | JF159 | 5-O-methylvisamminol                                                                                                                                                      | h       |
| JF110 | 7,2',4'-trihydroxy-5-methoxy-3-aryl coumarin                                     | b    | JF160 | 11-hydroxy-sec-O-beta-D-glucosylhamaudol <sub>qt</sub>                                                                                                                    | h       |
| JF111 | 6-prenylated eriodictyol                                                         | b    | JF161 | (2R,3R)-3-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)-5-methoxy-2-methylol-2,3-dihydropyrano [5,6-h] [1,4] benzodioxin-9-one                                                             | h       |
| JF112 | 5,7-dihydroxy-3-(4-methoxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl) chromone                | b    | JF162 | zosimin                                                                                                                                                                   | d       |
| JF113 | 3'-methoxyglabridin                                                              | b    |       |                                                                                                                                                                           |         |
| JF114 | 3'-hydroxy-4'-O-methylglabridin                                                  | b    |       |                                                                                                                                                                           |         |
| JF115 | 3,22-dihydroxy-11-oxo-delta (12)-oleanene-27-alpha-methoxycarbonyl-29-oic acid   | b    |       |                                                                                                                                                                           |         |
| JF116 | 3-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-8-(3-methylbut-2-enyl) chromone            | b    |       |                                                                                                                                                                           |         |
| JF117 | 3-(2,4-dihydroxyphenyl)-8-(1,1-dimethylprop-2-enyl)-7-hydroxy-5-methoxy-coumarin | b    |       |                                                                                                                                                                           |         |
| JF118 | 2-[(3R)-8,8-dimethyl-3,4-dihydro-2H-pyrano [6,5-f] chromen-3-yl]-5-methoxyphenol | b    |       |                                                                                                                                                                           |         |
| JF119 | 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-6-(3-methylbut-2-enyl) chromone            | b    |       |                                                                                                                                                                           |         |
| JF120 | 1-methoxyphaseollidin                                                            | b    |       |                                                                                                                                                                           |         |
| JF121 | 18alpha-hydroxyglycyrrhetic acid                                                 | b    |       |                                                                                                                                                                           |         |
| JF122 | 1,3-dihydroxy-9-methoxy-6-benzofurano [3,2-c] chromenone                         | b    |       |                                                                                                                                                                           |         |

续表 1

| 编号    | 成分                                                                                             | 药材来源 | 编号    | 成分                                                       | 药材来源 |
|-------|------------------------------------------------------------------------------------------------|------|-------|----------------------------------------------------------|------|
| JF163 | sitogluside                                                                                    | d    | JF177 | (+)-anomalin                                             | j、e  |
| JF164 | pimpinellin                                                                                    | d    | JF178 | kaempferol                                               | j、b  |
| JF165 | O-acetylcolumbianetin                                                                          | d    | JF179 | isorhamnetin                                             | j、b  |
| JF166 | dipiperitylmagnolol                                                                            | d    | JF180 | $\alpha$ -spinasterol                                    | j    |
| JF167 | angelol D                                                                                      | d    | JF181 | troxerutin                                               | j    |
| JF168 | angelicone                                                                                     | d    | JF182 | sainfuran                                                | j    |
| JF169 | ammijin                                                                                        | d    | JF183 | saikosaponin c <sub>qt</sub>                             | j    |
| JF170 | [(1R,2R)-2,3-dihydroxy-1-(7-methoxy-2-oxochromen-6-yl)-3-methylbutyl] 3-methylbutanoate        | d    | JF184 | petunidin                                                | j    |
| JF171 | [(1R,2R)-2,3-dihydroxy-1-(7-methoxy-2-oxochromen-6-yl)-3-methylbutyl] (Z)-2-methylbut-2-enoate | d    | JF185 | octalupine                                               | j    |
| JF172 | wallichilide                                                                                   | i    | JF186 | longikaurin A                                            | j    |
| JF173 | senkyunone                                                                                     | i    | JF187 | linoleyl acetate                                         | j    |
| JF174 | perlotyrine                                                                                    | i    | JF188 | cubebin                                                  | j    |
| JF175 | myricanone                                                                                     | i    | JF189 | baicalin                                                 | j    |
| JF176 | FA                                                                                             | i    | JF190 | areapillin                                               | j    |
|       |                                                                                                |      | JF191 | 3,5,6,7-tetramethoxy-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl) chromone | j    |

a-枳壳 b-甘草 c-羌活 d-独活 e-前胡 f-桔梗 g-荆芥 h-防风 i-川芎 j-柴胡 k-茯苓  
a-Aurantii Fructus b-Glycyrrhizae Radix et Rhizoma c-Notopterygii Rhizoma et Radix d-Angelicae Pubescentis Radix e-Peucedani Radix  
f-Platycodi Radix g-Schizonepetae Herba h-Saposhnikovia Radix i-Chuanxiong Rhizoma j-Bupleuri Radix k-Poria Cocos

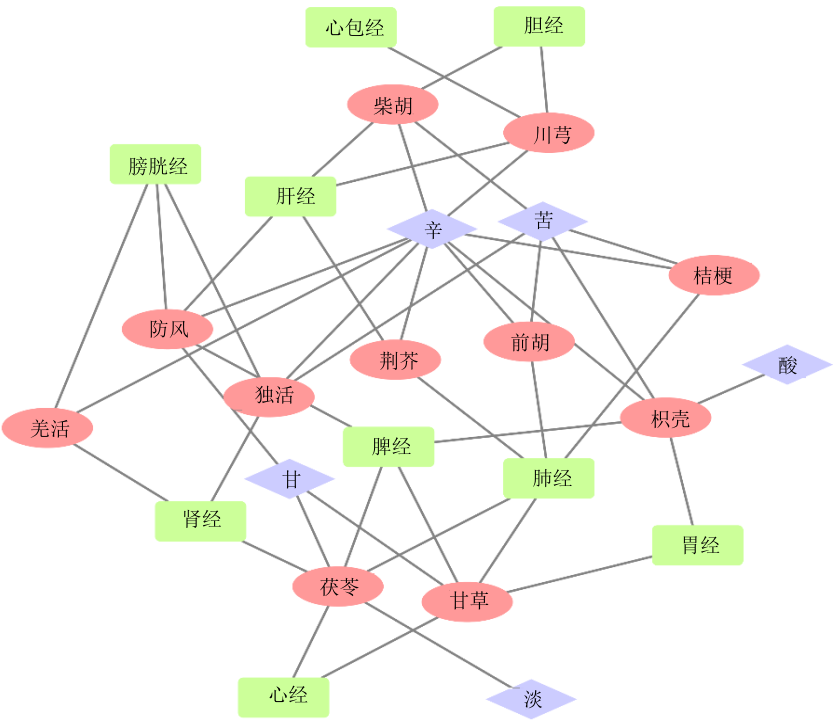


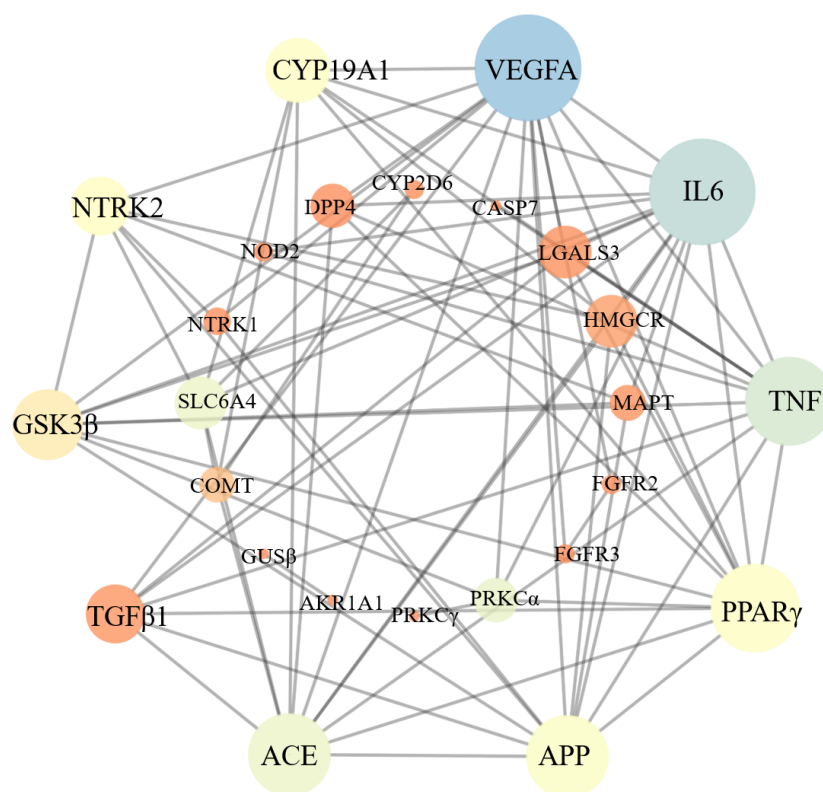
图 1 “中药性味归经”网络

Fig. 1 Property and flavor-Herb-Meridian

2.2 共有靶点库的建立

在 GeneCards 数据库以“corona virus”为关键词搜索得到相关靶点 104 个。通过在线工具 Venny 2.1 将荆防颗粒潜在成分靶点与冠状病毒靶点进行交集，得到二者的共有靶点 27 个，构建共有靶点相互作用网络图（图 2）。PLK4 属于 Polo 蛋白激酶家

族，常在肝癌、结肠癌等疾病中表达异常，该靶点与其他靶点并未形成互作关系，故图 2 中仅展示 26 个靶点。图 2 中，节点越大度（degree）值越高，色调越冷则代表中心中介性（betweenness centrality, BC）越高，由该图及其分析结果可知，血管内皮生长因子-A(VEGFA)、白细胞介素-6(IL6)、



节点大小代表度值大小；节点色调冷暖代表 BC 值高低  
Degree: The size of node; Betweenness Centrality: The color of node

图 2 共有靶点的互相作用网络

Fig. 2 PPI of common targets

肿瘤坏死因子 (TNF)、过氧化物酶体增殖物激活受体- $\gamma$  (PPAR $\gamma$ )、淀粉样前体蛋白 (APP)、血管紧张素转化酶 (ACE) 等节点的度值、BC 值均较高, 表明其在疾病治疗中可能发挥重要作用。

### 2.3 富集分析结果

将 27 个共有靶点导入 DAVID 数据库中进行 GO 分析和 KEGG 通路富集分析, 以  $P$  值作为筛选标准, 分别选取  $P$  值最小的前 10 条及前 20 条通路进行展示, 富集结果见图 3、4。结果显示共有靶点可调节细胞因子活性、ATP 结合、生长因子活性、成纤维细胞生长因子激活受体活性、蛋白激酶 C 活性等分子功能 (molecular function, MF), 可作用于细胞表面、胞液、轴突、溶酶体等细胞组分 (cell composition, CC), 参与肽酰丝氨酸磷酸化的正调控、上皮细胞增殖唾液腺的形态发生、RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调控、ERK1 和 ERK2 级联的正调控、血管内皮细胞迁移的阳性调节等生物过程 (biological process, BP)。KEGG 通路富集结果表明癌症信号通路、MAPK 信号通路、PI3K-Akt 信号通

路、TNF 信号通路等可能为荆防颗粒抗冠状病毒的关键通路。

### 2.4 “药材-成分-共有靶点”网络

将 27 个共有靶点与活性成分的作用关系进行筛选, 剔除不能作用于共有靶点的成分, 整理“活性成分-共有靶点”结果如表 2 所示, 同时利用 Cytoscape 3.7.2 软件构建“药材-成分-共有靶点”网络图 (图 5)。对图 5 进行分析发现,  $\beta$ -谷甾醇 ( $\beta$ -sitosterol, JF37)、5,7-dihydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl) chroman-4-one (JF35)、啤酒甾醇 (cerevisterol, JF140)、3,22-dihydroxy-11-oxo-delta (12)-oleanene-27-alpha-methoxycarbonyl-29-oic acid (JF115)、kansonols W (JF69)、橙皮素 (hesperetin, JF4)、异鼠李素 (isorhamnetin, JF179)、白花前胡乙素 [(+)-anomalin, JF177]、防风色酮醇 (ledebouriellol, JF155) 等成分度值较高, 可能是作用于这些靶点的关键成分, 这些成分均可作为分子对接的候选成分。度值较高的靶点同样也是 VEGFA、IL6、TNF、PPAR $\gamma$ 、APP 等。

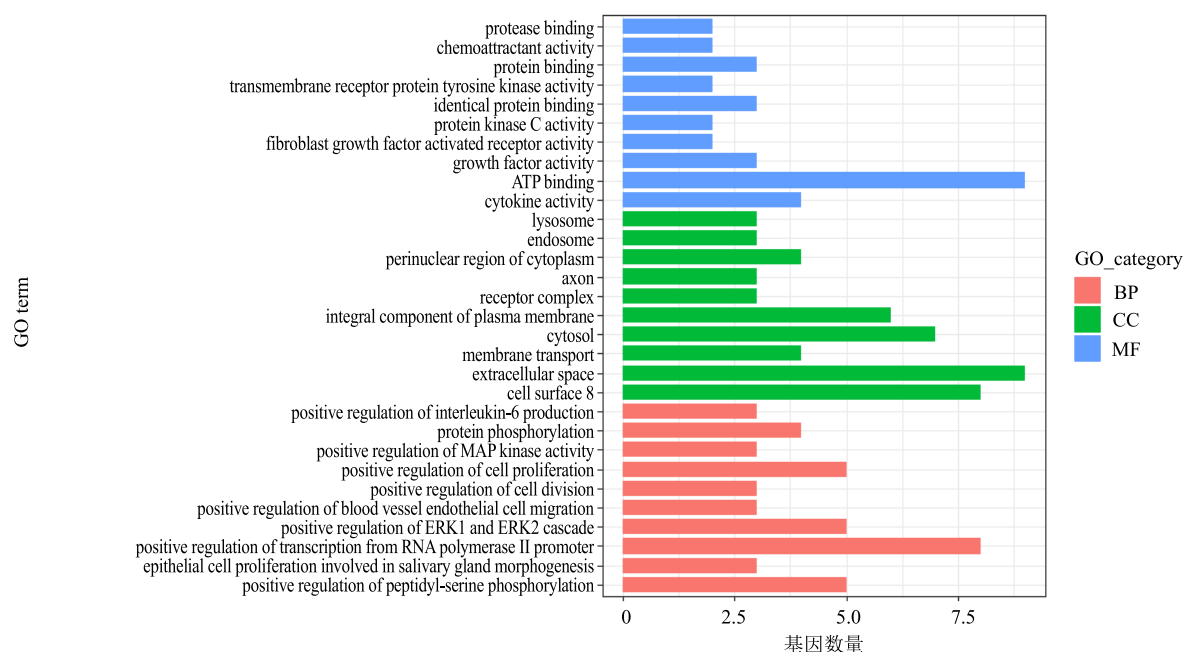


图 3 共有靶点的 GO 富集分析

Fig. 3 GO enrichment analysis of common targets

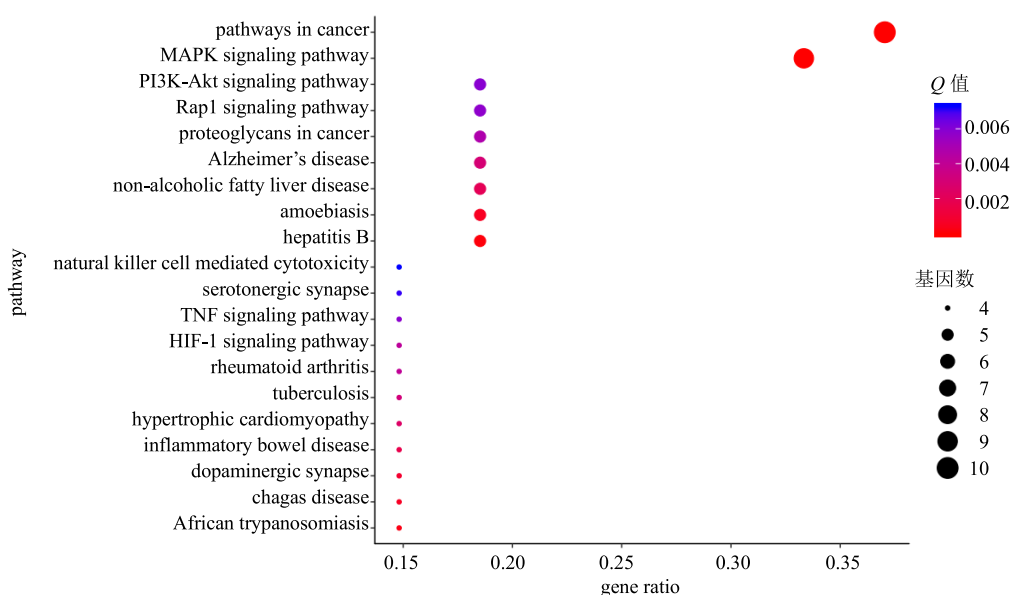


图 4 共有靶点 KEGG 通路分析

Fig. 4 KEGG pathway analysis of common targets

## 2.5 分子对接

本研究中分子对接技术旨在对网络药理学预测结果进行虚拟验证，探索荆防颗粒中的药效成分对于冠状病毒靶点的作用能力。根据“药材-成分-共有靶点”图的分析结果，选取其中度值较高的成分、靶点进行分子对接，且因 COVID-19 在全球大流行的现状，选取相关药物、靶点同时进行分子对接。考虑到桔梗也是荆防颗粒复方中的佐药，但代表桔

梗的成分在“2.4”项中并未体现，故选取度值相对靠前的桔梗成分木犀草素 (luteolin, JF36) 进行分子对接。综合考量网络中成分度值大小以及成分对复方药物的覆盖度，筛选出橙皮素 (JF4)、木犀草素 (JF36)、β-谷甾醇 (JF37)、kansonols W (JF69)、啤酒甾醇 (JF140)、防风色酮醇 (JF155)、白花前胡乙素 (JF177)、异鼠李素 (JF179) 作为分子对接成分，同时选取对冠状病毒具有抑制作用的

表2 活性成分-共有靶点关系

Table 2 Relationship of ingredients-common targets

| 成分   | 靶点                                                         | 成分    | 靶点                                                       |
|------|------------------------------------------------------------|-------|----------------------------------------------------------|
| JF1  | APP、CYP19A1、PPAR $\gamma$ 、VEGFA                           | JF66  | APP、CYP19A1                                              |
| JF4  | APP、CYP19A1、GSK3 $\beta$ 、GUS $\beta$ 、NTRK1、PPAR $\gamma$ | JF67  | APP、COMT、GSK3 $\beta$ 、MAPT                              |
| JF10 | CASP7、PRKC $\gamma$                                        | JF68  | DPP4、GSK3 $\beta$                                        |
| JF12 | DPP4                                                       | JF69  | APP、COMT、DPP4、GSK3 $\beta$ 、MAPT、PPAR $\gamma$           |
| JF14 | CYP19A1                                                    | JF70  | GSK3 $\beta$                                             |
| JF16 | DPP4、GSK3 $\beta$ 、TNF                                     | JF71  | APP、CYP19A1、GSK3 $\beta$                                 |
| JF19 | CASP7、GSK3 $\beta$ 、NTRK1                                  | JF72  | AKR1A1、APP、GSK3 $\beta$                                  |
| JF20 | CASP7、GSK3 $\beta$ 、PRKC $\alpha$ 、PRKC $\gamma$           | JF73  | AKR1A1、CYP19A1、GSK3 $\beta$ 、MAPT                        |
| JF21 | CASP7、GSK3 $\beta$ 、PRKC $\gamma$                          | JF74  | APP、COMT、PPAR $\gamma$                                   |
| JF22 | CYP19A1                                                    | JF76  | COMT、GSK3 $\beta$ 、GUS $\beta$ 、VEGFA                    |
| JF24 | PRKC $\gamma$                                              | JF77  | CYP19A1、HMGCR、PPAR $\gamma$ 、SLC6A4                      |
| JF25 | CYP19A1、GSK3 $\beta$                                       | JF79  | CYP19A1                                                  |
| JF28 | CYP19A1、HMGCR、PPAR $\gamma$ 、SLC6A4                        | JF80  | APP、CYP19A1、PPAR $\gamma$                                |
| JF32 | APP、CYP19A1、GSK3 $\beta$                                   | JF81  | CYP19A1                                                  |
| JF34 | AKR1A1、APP、CYP19A1、GSK3 $\beta$                            | JF82  | TNF                                                      |
| JF35 | APP、CYP19A1、GSK3 $\beta$ 、GUS $\beta$ 、NTRK1、PPAR $\gamma$ | JF84  | COMT、CYP19A1、DPP4、PPAR $\gamma$                          |
| JF36 | AKR1A1、APP、CYP19A1、GSK3 $\beta$                            | JF85  | CASP7、PRKC $\alpha$                                      |
| JF37 | CYP19A1、HMGCR、PPAR $\gamma$ 、SLC6A4                        | JF86  | DPP4、GUS $\beta$ 、NTRK1、TNF                              |
| JF38 | AKR1A1、APP、CYP19A1、GSK3 $\beta$ 、MAPT                      | JF87  | DPP4、GSK3 $\beta$                                        |
| JF39 | CYP19A1、HMGCR、PPAR $\gamma$ 、SLC6A4                        | JF88  | CASP7、COMT、CYP19A1、GSK3 $\beta$ 、PPAR $\gamma$           |
| JF42 | CYP2D6、GSK3 $\beta$ 、LGALS3、VEGFA                          | JF90  | CYP19A1、GSK3 $\beta$ 、MAPT                               |
| JF43 | CYP19A1、HMGCR                                              | JF92  | CASP7、COMT                                               |
| JF45 | AKR1A1、CASP7、COMT、CYP19A1、GSK3 $\beta$                     | JF94  | CYP19A1、GSK3 $\beta$ 、GUS $\beta$ 、PPAR $\gamma$         |
| JF46 | CYP19A1、PPAR $\gamma$ 、TNF                                 | JF95  | PRKC $\alpha$                                            |
| JF47 | CASP7、COMT、DPP4、GSK3 $\beta$                               | JF96  | APP、COMT、CYP19A1、PPAR $\gamma$                           |
| JF48 | CYP19A1                                                    | JF97  | CYP19A1、PRKC $\alpha$ 、PRKC $\gamma$                     |
| JF50 | FGFR3、NTRK1                                                | JF98  | CYP19A1                                                  |
| JF52 | CYP19A1                                                    | JF99  | CYP19A1、HMGCR、PPAR $\gamma$ 、SLC6A4                      |
| JF53 | CASP7、COMT、CYP19A1、GSK3 $\beta$                            | JF100 | CYP19A1                                                  |
| JF54 | CYP19A1、PPAR $\gamma$                                      | JF101 | CYP19A1                                                  |
| JF55 | CYP19A1                                                    | JF102 | CYP19A1、GSK3 $\beta$ 、PPAR $\gamma$ 、TNF                 |
| JF56 | CYP19A1                                                    | JF105 | CYP19A1                                                  |
| JF57 | CYP19A1                                                    | JF109 | CYP19A1、NTRK1、TGF $\beta$ 1                              |
| JF58 | CYP19A1                                                    | JF110 | CYP19A1                                                  |
| JF60 | CYP19A1                                                    | JF110 | MAPT                                                     |
| JF61 | CYP19A1                                                    | JF113 | FGFR2、MAPT、PRKC $\alpha$                                 |
| JF62 | FGFR2                                                      | JF114 | MAPT                                                     |
| JF63 | CASP7、PPAR $\gamma$ 、PRKC $\alpha$                         | JF115 | APP、CASP7、CYP19A1、GSK3 $\beta$ 、HMGCR、PRKC $\alpha$ 、TNF |
| JF64 | APP、CYP19A1、TNF                                            | JF120 | GSK3 $\beta$ 、TNF                                        |
| JF65 | APP、CYP19A1、MAPT                                           | JF124 | APP、CYP19A1                                              |

续表 2

| 成分                                                                | 靶点 | 成分                                                       | 靶点 |
|-------------------------------------------------------------------|----|----------------------------------------------------------|----|
| JF124 TNF                                                         |    | JF155 CASP7、GSK3 $\beta$ 、NTRK1、NTRK2、PLK4、PRKC $\alpha$ |    |
| JF125 APP、CYP19A1、DPP4                                            |    | JF156 CASP7、NTRK1、NTRK2                                  |    |
| JF131 CYP19A1、HMGCR、PPAR $\gamma$ 、SLC6A4、TNF                     |    | JF157 ACE、CASP7、GSK3 $\beta$ 、HMGCR                      |    |
| JF132 CYP19A1、HMGCR、PPAR $\gamma$ 、TNF                            |    | JF158 CASP7、CYP19A1、GSK3 $\beta$ 、NTRK1、NTRK2            |    |
| JF133 HMGCR、PPAR $\gamma$ 、TNF                                    |    | JF162 GSK3 $\beta$                                       |    |
| JF134 HMGCR、PPAR $\gamma$ 、TNF                                    |    | JF164 GSK3 $\beta$ 、PLK4                                 |    |
| JF135 CYP19A1、GSK3 $\beta$ 、HMGCR                                 |    | JF165 ACE、GSK3 $\beta$ 、PRKC $\alpha$ 、PRKC $\gamma$     |    |
| JF136 CYP19A1、HMGCR、IL6、PPAR $\gamma$ 、SLC6A4                     |    | JF168 GSK3 $\beta$ 、SLC6A4                               |    |
| JF137 PRKC $\gamma$                                               |    | JF172 ACE                                                |    |
| JF138 CYP19A1、HMGCR、SLC6A4                                        |    | JF173 CYP19A1                                            |    |
| JF139 CYP19A1、HMGCR、PPAR $\gamma$ 、TNF                            |    | JF175 GSK3 $\beta$ 、PRKC $\gamma$                        |    |
| JF140 APP、CYP19A1、GSK3 $\beta$ 、HMGCR、NTRK1、PRKC $\alpha$ 、SLC6A4 |    | JF177 CASP7、CYP19A1、GSK3 $\beta$ 、NTRK1、NTRK2            |    |
| JF142 CYP19A1、HMGCR、PPAR $\gamma$ 、SLC6A4、TNF                     |    | JF178 AKR1A1、APP、CYP19A1、GSK3 $\beta$                    |    |
| JF144 ACE、CYP19A1、PPAR $\gamma$ 、TNF                              |    | JF179 AKR1A1、APP、CYP19A1、GSK3 $\beta$ 、MAPT              |    |
| JF146 APP、CYP19A1                                                 |    | JF180 CYP19A1、HMGCR、PPAR $\gamma$ 、SLC6A4                |    |
| JF147 HMGCR                                                       |    | JF184 AKR1A1、APP、CYP19A1、GSK3 $\beta$ 、MAPT              |    |
| JF148 CYP19A1、NTRK1                                               |    | JF185 DPP4                                               |    |
| JF149 GSK3 $\beta$                                                |    | JF187 CYP19A1、HMGCR、NOD2                                 |    |
| JF150 CYP19A1、HMGCR、PPAR $\gamma$ 、PRKC $\alpha$                  |    | JF188 CYP19A1、GSK3 $\beta$ 、NTRK1、SLC6A4                 |    |
| JF151 AKR1A1、APP、CYP19A1、GSK3 $\beta$ 、MAPT、NTRK2                 |    | JF189 TNF                                                |    |
| JF152 SLC6A4                                                      |    | JF191 AKR1A1、APP、CYP19A1、GSK3 $\beta$ 、MAPT              |    |
| JF154 APP、CYP19A1、MAPT、PPAR $\gamma$                              |    |                                                          |    |

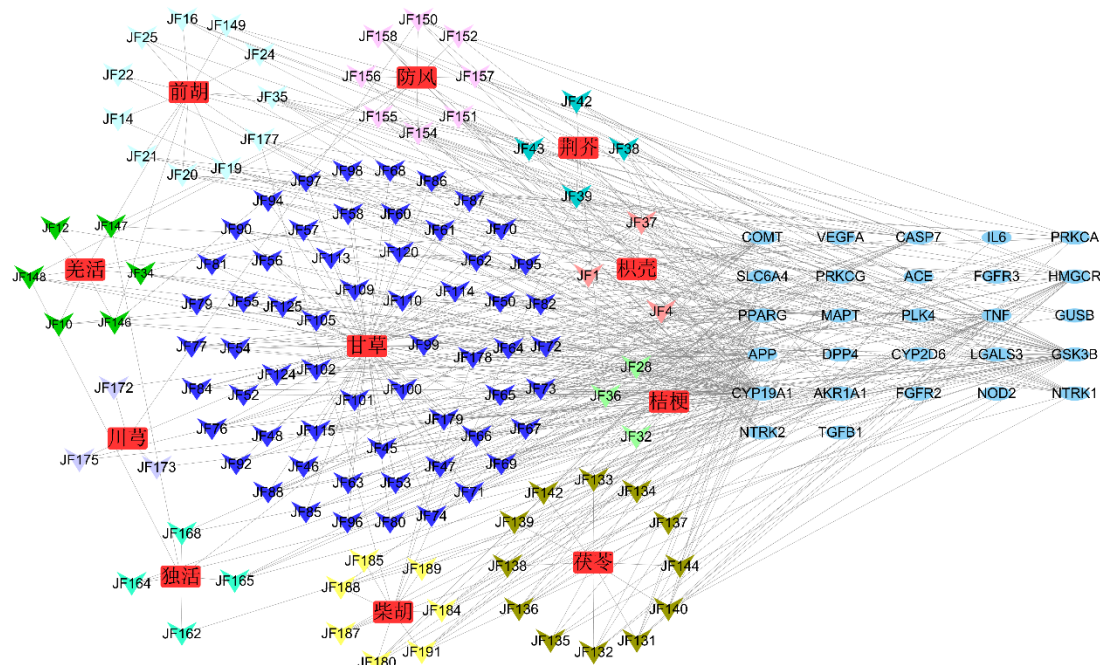


图 5 “药材-成分-共有靶点”网络

Fig. 5 “TCM-ingredients-common targets” diagram

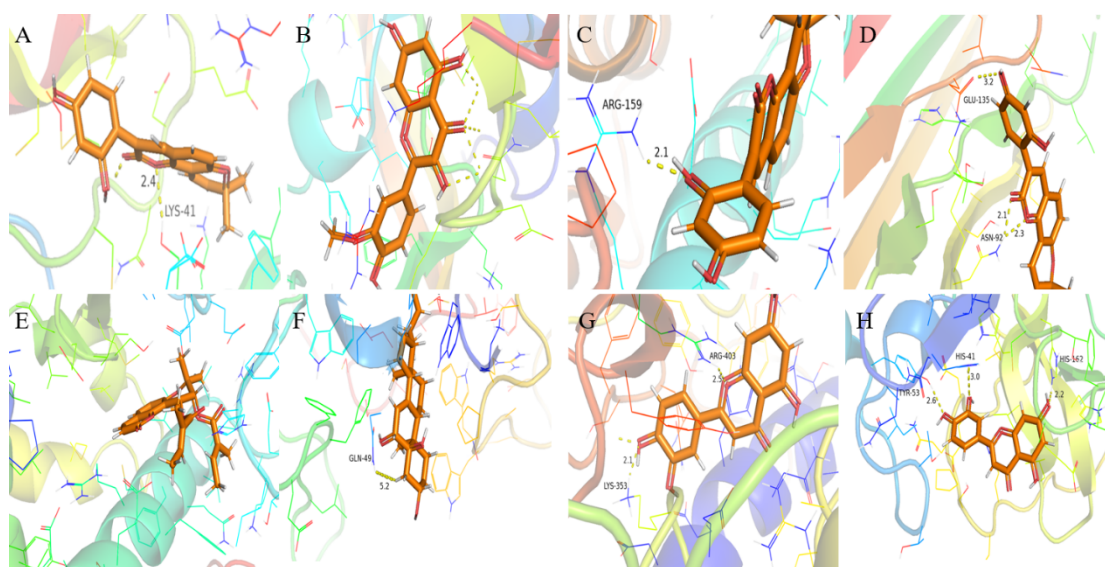
阿比多尔、氯喹<sup>[25-26]</sup>作为对照; VEGFA、IL6、TNF、PPAR $\gamma$ 、APP 这 5 个靶点作为对接靶蛋白, 根据现有研究结果选取 SARS-CoV-2 的重要靶点 ACE2 与 3CLpro<sup>[27]</sup>。分子对接结果见表 3, 并选取结合效果较好的结果进行展示(图 6)。图 6 中详细展示了成分与靶蛋白的对接情况, 如图 6-A 中橙色部分为成分 kanzonols W, 与来自 VEGFA 的 LYS-41 这一氨基酸残基成功对接, 二者之间的距离为 2.4。结合能越低时小分子与靶蛋白的亲和力越高, 当以阿比多尔、氯喹的对接结果作为参照时, 大多数成分都与靶蛋白具有较好的亲和力, 尤其是来自荆芥、防风、羌活、独

活、前胡、川芎、枳壳、甘草的  $\beta$ -谷甾醇以及来自荆芥、桔梗的木犀草素与每个靶蛋白的结合能力都较强。同时, 靶蛋白 APP 与每个成分的结合能力都较高, APP 是阿尔茨海默病的关键蛋白, 考虑可以进一步研究荆防颗粒能否对神经系统疾病产生治疗作用。另外发现  $\beta$ -谷甾醇与靶蛋白 APP 的亲合力高(结合能 -41.84 kJ/mol), 但在对接中并未形成氢键, 提示稳定性可能较差, 需要在分子实验中进一步验证。上述成分总体上都能与关键靶蛋白较好结合, 且结合能力要强于阿比多尔和氯喹, 提示荆防颗粒对冠状病毒感染性疾病尤其 COVID-19 可能存在治疗作用。

表 3 分子对接结合能

Table 3 Molecular docking binding energy data

| 成分           | 结合能/(kJ·mol <sup>-1</sup> ) |        |        |               |        |        |        |
|--------------|-----------------------------|--------|--------|---------------|--------|--------|--------|
|              | VEGFA                       | IL6    | TNF    | PPAR $\gamma$ | APP    | ACE2   | 3CLpro |
| $\beta$ -谷甾醇 | -29.28                      | -28.03 | -17.57 | -34.30        | -41.84 | -29.28 | -22.17 |
| 啤酒甾醇         | -30.12                      | -29.70 | -17.99 | -28.03        | -38.91 | -28.03 | -23.43 |
| kanzonols W  | -33.89                      | -37.65 | -21.33 | -33.05        | -41.42 | -31.38 | -28.86 |
| 橙皮素          | -31.79                      | -33.05 | -20.50 | -31.79        | -35.98 | -30.12 | -25.94 |
| 异鼠李素         | -33.89                      | -34.30 | -19.66 | -30.96        | -36.81 | -30.54 | -27.19 |
| 白花前胡乙素       | -28.45                      | -32.21 | -18.82 | -35.14        | -36.81 | -26.35 | -25.94 |
| 防风色酮醇        | -31.79                      | -33.89 | -19.66 | -32.21        | -38.91 | -29.28 | -25.30 |
| 木犀草素         | -33.47                      | -35.98 | -20.50 | -32.63        | -39.32 | -33.47 | -29.28 |
| 阿比多尔         | -27.19                      | -28.86 | -16.31 | -28.45        | -33.05 | -23.84 | -25.10 |
| 氯喹           | -24.68                      | -25.94 | -16.73 | -28.03        | -33.89 | -25.30 | -20.03 |



A-kanzonols W-VEGFA B-异鼠李素-VEGFA C-kanzonols W-IL6 D-木犀草素-TNF E-白花前胡乙素-PPAR $\gamma$  F-啤酒甾醇-APP  
G-木犀草素-ACE2 H-木犀草素-3CLpro  
A-kanzonols W-VEGFA B-isorhamnetin-VEGFA C-kanzonols W-IL6 D-luteolin-TNF E-(+)-anomalinal-PPAR $\gamma$  F-cerevisterol-APP  
G-luteolin-ACE2 H-luteolin-3CLpro

图 6 对接结果示意图

Fig. 6 Schematic diagram of docking results

## 2.6 荆防颗粒抗冠状病毒通路分析

通过 KEGG 通路富集分析筛选荆防颗粒抗冠状病毒的重要通路, 如癌症信号通路、MAPK 信号通路、PI3K-Akt 信号通路及 TNF 信号通路, 采用 KEGG Mapper 工具将筛选的重要通路与关键靶点

进行整合分析, 得到最终的通路图 (图 7), 从通路中可以看出 VEGF、TNF、IL-6、TGF- $\beta$  等靶点可直接作用于以上通路, 通过维持血管生成、控制细胞降解及凋亡、炎症因子的释放发挥抗冠状病毒的作用。

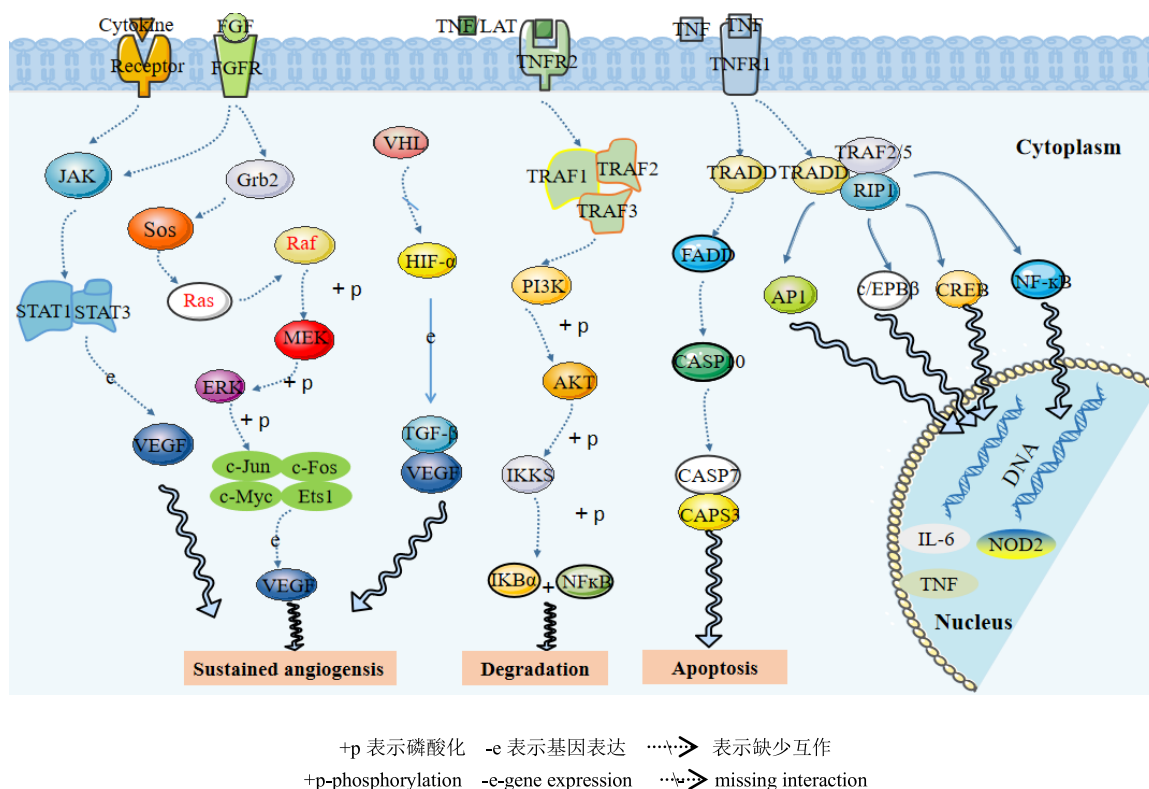


图 7 KEGG 通路富集分析

Fig. 7 KEGG pathways enrichment analysis

## 3 讨论

冠状病毒是导致呼吸道感染的一大类病毒, 广泛存在于自然界中。目前, 冠状病毒共引发了 3 次传染病大流行, 分别为 SARS-CoV、MERS-CoV、SARS-CoV-2 引发的重症急性呼吸综合征、中东呼吸综合征、COVID-19<sup>[28]</sup>。冠状病毒常引起肺间质性改变、急性呼吸窘迫综合征和心血管损伤。目前, 尚无针对 SARS-CoV、MERS-CoV、SARS-CoV-2 和其他冠状病毒感染的特异性疗法, 为了控制病毒的爆发, 大量研究者们分别在动物模型层面上开发了针对 SARS-CoV 和 MERS-CoV 的疫苗<sup>[29]</sup>, 而针对 SARS-CoV-2 的研究刚起步, 临床上尚无确认有效的治疗药物。

在历次突发性的传染疾病中, 中医药均显示出巨大的优势, 如在 SARS 疫情防治中取得较好的临床效果<sup>[30]</sup>, 而此次 COVID-19 中, 中医药同样在延

缓患者病程、减轻症状方面做出了巨大的贡献。这些急性传染病均属于中医“疫病”范畴, 虽然 SARS-CoV-2 是一种新型病毒, 但是在中医看来机体在感受外邪的表现形式是有规律可循的, 古代医家对于类似于冠状病毒的发热性疾病具有丰富的实践经验, 根据临床辨证用药, 寒湿郁肺证型中荆防颗粒被多次推荐。现代药理学研究表明, 荆防颗粒具有广泛的抗病毒、抗菌的作用, 同时对甲型流感 PR8 株病毒具有一定的抑制作用, 通过上述研究也论证了荆防颗粒对冠状病毒感染性疾病的治疗作用, 因此本研究主要从荆防颗粒性味归经、活性成分、关键靶点及作用机制进行探讨, 为 COVID-19 的中医药治疗提供参考依据。

### 3.1 荆防颗粒抗冠状病毒性味归经探讨

中医认为 SARS-CoV 和 SARS-CoV-2 属于寒性病原体, 主要是以“寒湿”“湿毒”为主要特征<sup>[31]</sup>,

其核心病机主要为湿邪困脾、湿毒壅肺导致气机升降失常<sup>[32]</sup>。COVID-19 发病迅速、病情复杂,涉及寒、热、燥、毒、湿、瘀、虚等多个病理因素,病变部位主要在肺,易累及脾、胃、心、肾<sup>[33]</sup>。

荆防颗粒全方正邪兼顾、表里兼治、驱邪不伤正,共奏发汗解表、散寒除湿之功。荆防颗粒 11 味药中主要以辛、苦为主,辛具有发散、行气、行血、化湿的作用,苦能清热解毒、燥湿、降气。由于 COVID-19 主要为湿毒导致的疫病,因此化湿解毒是 COVID-19 的核心治疗原则<sup>[34]</sup>,荆防颗粒方中皆辛、苦,更以驱逐病邪,芳香化湿为主,按照经方方证的辨证原则去思考,荆防颗粒治疗 COVID-19 的对策是可行的。同样从“中药性味归经”网络可以看出,荆防颗粒 11 味药中大都归肺、脾、肝、肾和膀胱经,表明该方的主要治疗部位为肺,并且通过健脾畅肺、疏肝行气、补肾利水的作用达到驱湿败毒从而治疗 COVID-19。

### 3.2 荆防颗粒通过“多成分-多靶点”发挥抗冠状病毒的作用

**3.2.1 荆防颗粒抗冠状病毒的潜在关键成分分析**  
本研究发现荆防颗粒 11 味药材包含 139 个成分对应 1 004 个靶点,其中 27 个靶点与冠状病毒相关,并以此筛选能够作用于 27 个关键靶点的成分,结果显示来源于甘草、前胡、防风、茯苓等药材的 121 个成分参与治疗冠状病毒感染性疾病,其中  $\beta$ -谷甾醇、啤酒甾醇、防风色酮醇、异鼠李素、橙皮素、白花前胡乙素、木犀草素、kansonols W 等成分为作用最强的成分。文献表明,阿比多尔在体外具有抑制冠状病毒活性的作用<sup>[35]</sup>,氯喹能够通过抑制冠状病毒与人体细胞血管紧张素转化酶 2 (ACE2) 受体结合有效抑制 SARS-CoV-2 感染<sup>[36]</sup>,从表 3 可以看出  $\beta$ -谷甾醇、啤酒甾醇、kansonols W、异鼠李素、橙皮素、白花前胡乙素、防风色酮醇、木犀草素与 ACE2 受体的亲和力均比氯喹好,表明以上成分可能通过直接抑制 ACE2 活性,干扰 SARS-CoV-2 与 ACE2 受体的结合从而发挥抗冠状病毒的作用。

$\beta$ -谷甾醇存在于多味中药中,具有广泛的药理活性,包括抗病毒、抗菌、抗炎、抗癌、抗氧化、免疫调节<sup>[37-38]</sup>,研究表明  $\beta$ -谷甾醇在体内和体外都表现出抗艾滋病病毒的活性,其作用机制主要与调节 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞计数和显著降低白细胞介素-6 水平有关<sup>[39]</sup>,同样,  $\beta$ -谷甾醇也被证明可以减弱体外化学诱导的肝毒性<sup>[40]</sup>,并且具有通过减轻细胞氧

化应激分子达到抗乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 的潜力<sup>[41]</sup>。

汉黄芩素 (wogonin) 为来源于防风中的黄酮类化合物,除了具有传统意义上的抗菌、抗病毒、消炎的作用外,有关其抗氧化、抗肿瘤、心血管保护等药理作用的研究也日趋深入<sup>[42]</sup>,研究表明汉黄芩素能够抵抗 HBV,并且可能发展成为抗 HBV 的候选药物<sup>[43]</sup>,与此同时,汉黄芩素能够通过调节 IFN 信号通路和腺苷单磷酸活化蛋白激酶 (AMPK) 通路表现对多种病毒的抗病毒活性作用,如抑制 A 型流感病毒株的复制,减弱 B 型流感病毒株的空斑形成<sup>[44]</sup>。

异鼠李素为来源于柴胡和甘草中的黄酮类成分,是一种有力的抗氧化剂,可清除氧自由基引起的细胞和组织损伤,异鼠李素具有广谱抗菌作用,常用于细菌和真菌感染,包括抑制金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、芽孢杆菌等细菌的增殖<sup>[45]</sup>,异鼠李素还具有明显的抗流感病毒作用,可以直接或者间接抑制病毒的 HA 和 NA 基因表达,抑制病毒引发的自噬,活性氧 (ROS) 的产生和细胞外调节蛋白激酶 (EPK) 磷酸化<sup>[46]</sup>。

橙皮素主要来源于枳壳的黄酮类成分,研究证明其在体外对冠状病毒具有一定抑制作用,也是治疗呼吸综合征的活性成分<sup>[47]</sup>。

**3.2.2 荆防颗粒抗冠状病毒的潜在关键靶点分析**  
通过对荆防颗粒治疗冠状病毒感染性疾病的关键靶点进行分析,发现 VEGFA、IL-6、TNF、PPAR $\gamma$ 、APP、ACE、GSK3B、CYP19A1、TGF $\beta$ 1、NTRK2 等靶点度值最高,为荆防颗粒抗冠状病毒的主要作用靶点,分子对接结果显示 VEGFA、IL-6、TNF、PPAR $\gamma$ 、APP 与其对应的活性成分均具有较强的结合能力。

IL-6 和 TNF 均为炎症细胞因子,其中 IL-6 为活化 T 细胞和成纤维细胞产生的淋巴因子,在激活与调节免疫细胞的病理过程中起重要作用<sup>[48]</sup>,而 TNF 具有明显的抗病毒作用,能够阻止病毒早期蛋白质的合成,从而抑制病毒的复制,人类免疫缺陷病毒 1 型 (HIV-1) 蛋白和 TNF/TNFR 信号通路之间具有复杂的相互作用关系,临床上抗 TNF 治疗可能成为治愈 HIV 感染患者的有效途径<sup>[49]</sup>,武汉金银潭医院临床研究表明 COVID-19 重症患者血浆中炎症因子如 IL-1、IL-6、IL-10、TNF- $\alpha$ 、MCP1 等表达异常升高<sup>[50]</sup>,进一步表明 COVID-19 与细胞因子

的关系。

VEGF 为一种高度特异性的促血管内皮细胞生长因子,具有促进血管通透性增加、细胞外基质变性、血管内皮细胞迁移、增殖和血管形成等作用,由于冠状病毒患者体内细胞因子过度分泌,病变部位血管通透性增大,最终导致多器官系统的损伤和一系列病理过程,如高热、肺炎、休克和呼吸衰竭等。

PPAR $\gamma$  为过氧化物酶体增生激活受体  $\gamma$  编码基因,参与体内多种生理及病理过程,包括脂肪细胞的分化、炎症反应、凋亡、肥胖、动脉粥样硬化及癌症等,PPAR $\gamma$  调节炎症反应恢复宿主在组织呼吸道感染后体内平衡,针对调控巨噬细胞中的 PPAR $\gamma$  表达抑制肺部急性炎症,同时促进机体在呼吸道感染后复苏<sup>[51]</sup>。

APP 是一种跨膜糖蛋白,在阿尔茨海默病中,神经细胞的 APP 由于变异,被在错误的位置酶切,形成淀粉样蛋白沉淀,由于过度的 APP 干扰 Rab5 的神经元内吞转运,对单纯性疱疹病毒 (HSV) 导致的 APP 表达上调具有显著意义<sup>[52]</sup>。

### 3.3 荆防颗粒抗冠状病毒感染的机制探讨

GO 富集结果在生物过程中主要涉及 RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调控、ERK1 和 ERK2 级联的正调节、细胞增殖及分裂的正向调节、IL-6 产生的正向调节等;在细胞过程中主要与细胞表面、胞液、轴突、溶酶体等细胞结构有关;在分子功能中主要涉及细胞因子、生长因子、蛋白激酶 C 的活性、三磷酸腺苷结合、蛋白结合等,表明荆防颗粒主要通过调节细胞因子、生长因子活性、蛋白结合等过程参与调控细胞增殖及分裂、炎症因子表达抗冠状病毒感染。

KEGG 通路富集分析显示,荆防颗粒活性成分相关靶点主要参与癌症信号通路、MAPK 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、TNF 等信号通路抗冠状病毒。癌症信号通路中与冠状病毒相关靶点的数量最多有 10 个,并且与其他通路如 MAPK 信号通路、PPAR 等信号通路共同干预冠状病毒进程;丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 是一组能被不同的细胞外刺激,如细胞因子、神经递质、激素等激活的丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶,MAPK 信号通路是细胞增殖、应激、炎症、分化、转化、凋亡等信号转导通路的共同交汇通路之一<sup>[53]</sup>,研究者在研究大黄酸抗流感病毒的机制时,发现大黄酸主要通过介导氧化应激反应和 MAPK

和 NF- $\kappa$ B 信号通路减少炎性细胞因子的产生发挥作用<sup>[54]</sup>。TNF 信号通路在抗病毒、介导能量代谢、炎症反应、血管生成以及维持干细胞特性等方面发挥重要作用。综上结果可以看出,荆防颗粒抗冠状病毒作用与抗癌、调节细胞分化及凋亡、调节炎症细胞因子的表达有关。

综上所述,基于网络药理学分析得到的荆防颗粒中有效化合物,明确具有抗菌、抗病毒、抗炎、抗氧化的作用,并且能够通过作用于相关的靶点对冠状病毒引发的机体代谢异常、炎症反应发挥潜在的治疗作用,可为临床上 COVID-19 的治疗提供一定的研究基础。同时利用分子对接技术对活性成分与关键靶点及 SARS-CoV-2 3CL 和 ACE2 的相互作用进行验证,筛选出一些结合能较高的活性成分及作用靶点。在后续研究中,笔者将围绕荆防颗粒的主要药效成分及作用靶点进行体内外实验验证,为冠状病毒感染性疾病的中医治疗提供更多理论依据。

### 参考文献

- [1] Ferh A R, Perlman S. Coronaviruses: An overview of their replication and pathogenesis [J]. *Methods Mol Biol*, 2015, 1282: 1-23.
- [2] 马亦林. 冠状病毒的特性及其致病性研究进展 [J]. *中华临床感染病志*, 2018, 11(4): 305-315.
- [3] 李明雪, 吴灿荣, 郑梦竹, 等. 冠状病毒及其相关治疗药物的研究进展 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2020, 3(5): 1-18.
- [4] 刘昌孝, 伊秀林, 崔 涛, 等. 新型冠状病毒疫苗研发与评价 [J]. *药物评价研究*, 2020, 43(7): 1421-1432.
- [5] 陈莉莉, 葛广波, 荣 艳, 等. 中药在新冠肺炎防治中的应用和研究进展 [J]. *上海中医药大学学报*, 2020, 34(3): 1-8.
- [6] 张振宇, 普勇斌, 赵 淳, 等. 赵淳教授经验方加减荆防败毒散治疗感冒经验 [J]. *中医临床研究*, 2016, 8(2): 66-67.
- [7] 朱新红. 荆防败毒散临床运用拾零 [J]. *浙江中医杂志*, 2018, 53(7): 533.
- [8] 杜 鹏. 荆防败毒散治疗急性病毒性上呼吸道感染的疗效观察 [J]. *中国民间疗法*, 2017, 25(11): 57-58.
- [9] 吴 晖, 邵 丹, 文 丹, 等. 加减荆防败毒散治疗风寒型外感热病疗效观察及对 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  的影响 [J]. *福建中医药*, 2017, 48(3): 11-13.
- [10] 黄 煌. 基于经方医学对新型冠状病毒肺炎的思考 [J]. *南京中医药大学学报*, 2020, 36(2): 152-156.
- [11] Li S, Zhang B. Traditional Chinese medicine network pharmacology: Theory, methodology and application [J].

- Chin J Nat Med*, 2013, 11(2): 110-120.
- [12] 徐文华, 郑景辉, 赵 阳, 等. 基于网络药理学和生物信息学的丹参酮 II<sub>A</sub> 治疗冠心病的分子生物学机制分析 [J]. 中草药, 2019, 50(5): 1131-1140.
- [13] 许海玉, 刘振明, 付 岩, 等. 中药整合药理学计算平台的开发与应用 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(18): 3633-3638.
- [14] 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, 6(1): 13-18.
- [15] Li Q, Cheng T, Wang Y, *et al.* PubChem as a public resource for drug discovery [J]. *Drug Discov Today*, 2010, 15(23/24): 1052-1057.
- [16] Zoete V, Daina A, Bovigny C, *et al.* SwissSimilarity. A web tool for low to ultra high-throughput ligand-based virtual screening [J]. *J Chem Inf Model*, 2016, 56(8): 1399-1404.
- [17] Marilyn S, Irina S, Orit S, *et al.* GeneCards™ 2002: Towards a complete, object-oriented, human gene compendium [J]. *Bioinformatics*, 2002, 18(11): 1542-1543.
- [18] Huang D W, Sherman B T, Lempicki R A, *et al.* Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources [J]. *Nat Protoc*, 2009, 4(1): 44-57.
- [19] Lopes C T, Max F, Farzana K, *et al.* Cytoscape Web: An interactive web-based network browser [J]. *Bioinformatics*, 2010, 26(18): 2347-2348.
- [20] Joosten R P, Long F, Murshudov G N, *et al.* The PDB\_REDO server for macromolecular structure model optimization [J]. *IUCRJ*, 2014, 1(Pt 4): 213-220.
- [21] O'Boyle N M, Banck M, James C A, *et al.* Open Babel: An open chemical toolbox [J]. *J Cheminform*, 2011, 3(1): 33-47.
- [22] Morris G M, Huey R, Lindstrom W, *et al.* AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility [J]. *J Comput Chem*, 2009, 30(16): 2785-2791.
- [23] Trott O, Olson A J. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading [J]. *J Comput Chem*, 2010, 31(2): 455-461.
- [24] Lill M A, Danielson M L. Computer-aided drug design platform using PyMOL [J]. *J Comput Aided Mol Des*, 2011, 25(1): 13-19.
- [25] Boriskin Y S, Leneva I A, Pecheur E I, *et al.* Arbidol: A broad-spectrum antiviral compound that blocks viral fusion [J]. *Curr Med Chem*, 2008, 15(10): 997-1005.
- [26] 国家卫生健康委办公厅. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第六版) [J]. 中国感染控制杂志, 2020, 19(2): 192-195.
- [27] 宗 阳, 丁美琳, 贾可可, 等. 基于网络药理学和分子对接法探寻达原饮治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)活性化合物的研究 [J]. 中草药, 2020, 51(4): 836-844.
- [28] 凌晓颖, 陶嘉磊, 孙 逊, 等. 基于网络药理学的连花清瘟方抗冠状病毒的物质基础及机制探讨 [J]. 中草药, 2020, 51(7): 1723-1730.
- [29] 李明雪, 吴灿荣, 郑梦竹, 等. 冠状病毒及其相关治疗药物的研究进展 [J]. 沈阳药科大学学报, 2020, 3(5): 1-18.
- [30] 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 Gastroentero*, 2004, 10(23): 3500-3505.
- [31] 张思依, 吕文亮. 中医药防治病毒性肺炎的临床研究进展 [J/OL]. 湖北中医药大学学报. [2020-04-25]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/42.1844.R.20200309.1950.002.html>.
- [32] 仝小林, 李修洋, 赵林华, 等. 从“寒湿疫”角度探讨新型冠状病毒肺炎的中医药防治策略 [J]. 中医杂志, 2020, 61(6): 465-470.
- [33] 邹本良, 李 敏, 范铁兵, 等. 中医药治疗重型新型冠状病毒肺炎(COVID-19)经验总结及诊疗方案建议 [J/OL]. 中医杂志, [2020-04-25]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2166.r.20200402.1149.002.html>.
- [34] 沈 洁, 郑敏霞, 谢升阳, 等. 新型冠状病毒肺炎中医药防治组方规律分析 [J]. 中国药业, 2020, 29(6): 25-28.
- [35] 曹 俊, 宋 全, 牛广豪, 等. 新型冠状病毒肺炎抗病毒药物的治疗现状 [J]. 抗感染药学, 2020, 17(3): 459-462.
- [36] Wang M, Cao R, Zhang L, *et al.* Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) *in vitro* [J]. *Cell Res*, 2020, 30(3): 269-271.
- [37] 肖志彬, 贾韩学, 刘小雷.  $\beta$ -谷甾醇药理活性的研究现状 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2015, 15(8): 66-68.
- [38] 刘威良, 姬 昱, 黄艾祥.  $\beta$ -谷甾醇的研究及开发进展 [J]. 农产品加工, 2019, 18(1): 77-79.
- [39] Tanaka T, Ikeda T, Kaku M, *et al.* A new lignan glycoside and phenylethanoid glycosides from *Strobilanthes cusia* BREMEK [J]. *Chem Pharm Bull*, 2004, 52(10): 1242-1245.
- [40] Arbab A H, Parvez M K, Al-Dosari M S, *et al.* Therapeutic efficacy of ethanolic extract of *Aerva*

- javanica* aerial parts in the amelioration of CCl<sub>4</sub>-induced hepatotoxicity and oxidative damage in rats [J]. *Food Nutr Res*, 2016, doi: 10.3402/fnr.v60.30864.
- [41] Parvez M K, Alam P, Arbab A H, *et al.* Analysis of antioxidative and antiviral biomarkers  $\beta$ -amyrin,  $\beta$ -sitosterol, lupeol, ursolic acid in, *Guiera senegalensis*, leaves extract by validated HPTLC methods [J]. *Saudi Pharm J*, 2018; 26(5): 685-693.
- [42] 王雅芳, 李 婷, 唐正海, 等. 中药黄芩的化学成分及药理研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2015, 33(1): 206-211.
- [43] Guo Q, Zhao L, You Q, *et al.* Anti-hepatitis B virus activity of wogonin *in vitro* and *in vivo* [J]. *Antiviral Res*, 2007, 74(1): 16-24.
- [44] Seong R K, Kim J A, Shin O S. Wogonin, a flavonoid isolated from *Scutellaria baicalensis*, has anti-viral activities against influenza infection via modulation of AMPK pathways [J]. *Acta Virol*, 2018, 62(1): 78-85.
- [45] 迟戈夫. 异鼠李素抗金黄色葡萄球菌  $\alpha$  溶血素和分选酶 A 作用研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2016.
- [46] Abdal D A, Choi H Y, Kim Y B, *et al.* Antiviral effect of methylated flavonol isorhamnetin against influenza [J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0121610.
- [47] De Clercq E. Potential antivirals and antiviral strategies against SARS coronavirus infections [J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2006, 4(2): 291-302.
- [48] 宗 阳, 姚卫峰, 居文政. 以白介素 6 (IL6) 为受体挖掘中药单体治疗新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 引发的细胞因子风暴的干预作用 [J/OL]. 中国医院药学杂志, [2020-04-25]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/42.1204.R.20200420.1722.041.html>.
- [49] Pasquereau S, Kumar A, Herbein G. Targeting TNF and TNF receptor pathway in HIV-1 infection: From immune activation to viral reservoirs [J]. *Viruses*, 2017, 9(4): 64-81.
- [50] 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.
- [51] Huang S, Zhu B, Cheon I S, *et al.* PPAR- $\gamma$  in macrophages limits pulmonary inflammation and promotes host recovery following respiratory viral infection [J]. *J Virol*, 2019, doi: 10.1128/JVI.00030-19.
- [52] Bearer E L, Wu C. Herpes simplex virus, Alzheimer's disease and a possible role for Rab GTPases [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2019, doi: 10.3389/fcell.2019.00134.
- [53] Gaestel M. MAPK-activated protein kinases (MKs): Novel insights and challenges [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2016, doi: 10.3389/fcell.2015.00088.
- [54] Qian W W, Yun S, Jiang T S, *et al.* Anti-influenza A virus activity of rhein through regulating oxidative stress, TLR4, Akt, MAPK, and NF- $\kappa$ B signal pathways [J]. *PLoS One*, 2018, 13(1): e0191793.