

# 基于方证对应探讨中药复方分期治疗新型冠状病毒肺炎的网络药理学机制

郭 琴<sup>1</sup>, 王 颖<sup>2</sup>, 王欢欢<sup>2</sup>, 柏 冬<sup>1\*</sup>

1. 中国中医科学院中医基础理论研究所, 北京 100700

2. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046

**摘要:** **目的** 运用网络药理学的方法, 以《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案》第 7 版中的轻型(湿热蕴肺证)、普通型(湿毒郁肺证)、重型(气营两燔证)、危重型(内闭外脱证)和恢复期(气阴两虚证)5 个证型及其对应复方为研究对象, 分析探讨中医分期治疗新型冠状病毒肺炎(corona virus disease 2019, COVID-19)过程中各证候及其所用复方的作用机制。**方法** 通过检索中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP)等数据库和文献获取 5 个证型对应的复方的活性成分及其靶点, 使用 Gene Card 等数据库检索 5 个证型临床表现的靶点, 基于 5 个证型及其对应复方的活性成分的交集靶点建立蛋白互作(protein-protein interactions, PPI)网络, 并进行京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)富集分析。**结果** 湿热蕴肺证、湿毒郁肺证、气营两燔证、内闭外脱证和气阴两虚证与其对应复方的活性成分的交集靶点数目分别是 252、322、402、140 和 399, 交集靶点主要包括 VEGFA、EGFR、CASP3、AKT1 等。5 个证型对应复方干预的通路类型大体相似, 但各复方干预通路的侧重点不同, 湿热蕴肺证和湿毒郁肺证对应复方侧重于干扰病毒和增强机体的免疫应答; 气营两燔证和内闭外脱证对应复方着重缓解神经系统的异常, 以恢复机体神志; 气阴两虚证对应复方进一步参与细胞生长过程和增强机体免疫功能, 以扶助机体正气。**结论** 5 个证型对应复方以多成分、多靶点和多途径的方式, 主要通过抗病毒、抑制炎症反应、增强免疫应答和保护主要靶器官来治疗 COVID-19, 这说明了中医辨证论治和方证对应的治疗特点, 解释了中医分期治疗 COVID-19 的合理性。

**关键词:** 新型冠状病毒肺炎; 分期治疗; 证候; 中药复方; 网络药理; 通路分析

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)05-1393-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.05.020

## Network pharmacology mechanism of Chinese materia medicine compound in staging treatment of COVID-19 based on correspondence between prescription and syndrome

GUO Qin<sup>1</sup>, WANG Ying<sup>2</sup>, WANG Huan-huan<sup>2</sup>, BAI Dong<sup>1</sup>

1. Institute of Basic Theory for Chinese Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

2. Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

**Abstract: Objective** Taking the five syndromes of light (syndromes of damp and heat stagnating lung), normal (syndrome of dampness-toxicity stagnating lung), severe (syndrome of flaring heat in *qi* and *ying*), critical (syndrome of inner blocking causing collapse), and recovery (syndrome of *qi-yin* deficiency) period and their corresponding compounds in the seventh edition of *Diagnosis and Treatment of COVID-19* as the research object, the mechanisms of various syndromes and compounds used in the stage treatment of COVID-19 by traditional Chinese medicine (TCM) was analyzed by using the method of network pharmacology. **Methods** The active components and their targets of five syndromes corresponding compounds were obtained from databases and literatures such as TCMSP, the targets of the five syndrome manifestations were retrieved using databases such as Gene Card. The protein-protein interaction (PPI) networks and KEGG pathway enrichment analysis were constructed based on the intersection targets of five syndromes and active components of their corresponding compounds. **Results** The intersection targets numbers of the syndromes of damp and heat stagnating lung, syndrome of dampness-toxicity stagnating lung, syndrome of flaring heat in *qi* and *ying*, syndrome of inner blocking causing collapse, and syndrome of *qi-yin* deficiency and their the active ingredients of the corresponding compounds were 252, 322, 402, 140, and 399, respectively, and the intersection targets mainly included VEGFA, EGFR, CASP3, AKT1 and so on. The types of

收稿日期: 2020-08-17

作者简介: 郭 琴, 硕士在读研究生, 研究方向为中药药效物质基础研究。Tel: 19801290523 E-mail: gqyuanzhi@163.com

\*通信作者: 柏 冬, 副研究员, 博士生导师, 研究方向为中药药效物质基础研究。Tel: 13552343081 E-mail: baidong2000@126.com

pathways for the five compounds interventions were generally similar, but the emphases of each compound intervention pathway were different. Syndromes of damp and heat stagnating lung and syndrome of dampness-toxicity stagnating lung corresponding compounds focused on interfering with the virus and enhancing the body's immune response. Syndrome of flaring heat in *qi* and *ying* and syndrome of inner blocking causing collapse corresponding compounds focused on alleviating abnormalities of the nervous system to restore the body consciousness. Syndrome of *qi-yin* deficiency corresponding compounds further participated in the process of cell growth and enhanced the body's immunity. **Conclusion** The five compounds treated COVID-19 through multiple components, multiple targets, and multiple pathways. The five compounds for the treatment of COVID-19 are mainly through anti-virus, suppression of inflammation, enhancement of immune response and protection of main target organs, which indicate the TCM characteristics of dialectical treatment and correspondence between prescriptions and syndromes, and explained the rationality of TCM to treat COVID-19 by stages.

**Key words:** COVID-19; staging treatment; syndromes; traditional Chinese medicine compound; network pharmacology; pathway analysis

新型冠状病毒肺炎 (corona virus disease 2019, COVID-19) 爆发以来, 引起了全球界的关注。2020 年 2 月 11 日国际病毒分类委员会 (ICTV) 宣布, 将新型冠状病毒正式命名为严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)。在治疗 COVID-19 的过程中, 中医药的参与度极高, 且获得了确切的疗效, COVID-19 在中医上属于“疫”的范畴, 病位在肺, 中医认为 COVID-19 患者主要由外邪入侵 (SARS-CoV-2 感染) 和正气不足 (人体免疫力下降) 引发, 后期由于机体和脏腑功能失调使得疾病进一步加重<sup>[1]</sup>。中医强调“扶正”和“祛邪”, 注重整体观和三因制宜, 在疫情的防控中发挥着积极的作用。COVID-19 的病情变化具有明显的阶段性, 且病情轻重在临床诊疗中易于识别, 因此分期论治具有合理性和必要性<sup>[2]</sup>。在国家卫生健康委员会发布的《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案》第 7 版<sup>[3]</sup>中, 中医采取了分期治疗的方式, 将疾病的临床治疗期分为轻型、普通型、重型、危重型和恢复期 5 个阶段。

中医以整体观念和辨证论治为治疗原则, 其中“证”是中医特有的概念和核心内容, 能够反映疾病发生过程中某一阶段病理变化的本质, 患者感染 SARS-CoV-2 后会因为自身体质、地区和疾病阶段而表现为不同的证型, 因此利用现代医学和生命科学等技术和方法, 从新的视角深入阐释中医证候的形成原因对中医药现代化具有重要意义<sup>[4]</sup>。张伯礼院士团队<sup>[5]</sup>结合全国各地病例和治疗方案, 发现 COVID-19 的病因多归为“湿或湿热之邪”, 认为此病当为“湿毒疫”, 并将核心病机归纳为“寒、湿、热、毒、瘀、闭、虚”。基于此, 本研究选择了《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案》第 7 版<sup>[3]</sup>中的湿热蕴肺证 (轻型)、湿毒郁肺证 (普通型)、气营两燔证 (重型)、内闭外脱证 (危重型) 和气阴两虚证 (恢复期) 5 个证型及

其对应复方为研究对象, 使用网络药理学的方法, 对 5 个证型的证候表现及其所用复方的靶点和通路进行预测和挖掘, 以期阐明各证型的分子作用机制。

## 1 方法

### 1.1 5 个证型所用复方的活性成分及其靶点的收集

以湿热蕴肺证 (轻型)、湿毒郁肺证 (普通型)、气营两燔证 (重型)、内闭外脱证 (危重型) 和气阴两虚证 (恢复期) 5 个证型所用复方的中药为研究对象, 使用中药系统药理学数据库和分析平台 (TCMSP, <http://tcmbspw.com/tcmbsp.php>)、中药综合数据库 (TCMID, <http://119.3.41.228:8000/tcmid/>) 和检索文献获得各中药的主要活性成分, 其中 TCMSP 数据库的筛选参数为口服利用度 (oral bioavailability, OB)  $\geq 30\%$ 、类药性 (drug like index, DL)  $\geq 0.18$ 。利用 TCMSP 数据库、Swiss Target Prediction 数据库 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 和 Pharmmapper 数据库 (<http://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/>) 获得各中药主要活性成分的作用靶点。

### 1.2 5 个证型临床表现的靶点收集

对湿热蕴肺证 (轻型)、湿毒郁肺证 (普通型)、气营两燔证 (重型)、内闭外脱证 (危重型) 和气阴两虚证 (恢复期) 的临床表现进行整理, 使用 Gen Card 数据库 (<https://www.genecards.org/>)、TTD 数据库 (<http://db.idrblab.net/ttd/>) 和 OMIM 数据库 (<https://www.omim.org/>) 检索各证型临床表现的靶点。

### 1.3 蛋白互作 (protein-protein interactions, PPI) 网络的构建

对各复方活性成分的靶点和各证型临床表现的靶点取交集, 将各证型的交集靶点上传至 STRING 数据库 (<https://string-db.org/>), 设置生物物种为人, 置信度  $\geq 0.400$ , 将构建的 PPI 网络信息导入 Cytoscape3.8.0 软件, 计算度 (degree) 值, 基于 cytoHubba 插件的拓扑算法预测网络中重要的蛋

白节点和子网, 并进行可视化处理。

血管紧张素转换酶 2 (angiotensin converting enzyme 2, ACE2) 是 SARS-CoV-2 S 蛋白的受体, 介导病毒进入靶细胞。在小鼠急性肺损伤模型中, 与野生型小鼠相比, ACE2 基因敲除小鼠的肺功能显著恶化, 而注射外源性重组人 ACE2 可减轻肺损伤程度<sup>[6]</sup>, 说明在 SARS-CoV-2 的致病过程中, ACE2 不仅是病毒进入细胞的受体, 也是病毒引发肺损伤的靶分子<sup>[7]</sup>。因此, 将 ACE2 蛋白与各复方筛选得到的关键蛋白共同导入 STRING 数据库构建 PPI 网络, 查看复方的关键蛋白与 ACE2 蛋白的相互作用。

#### 1.4 京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析

将交集靶点导入 DAVID 数据库 (<https://david.ncicrf.gov/>), 选择生物物种为人, 设定阈值为  $P \leq 0.05$ , 将富集结果的前 20 条通路进行可视化处理。

## 2 结果

### 2.1 5 个证型所用复方的活性成分和靶点分析

以  $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$  为筛选参数, 检索

TCMSP 数据库中 COVID-19 的 5 个证型复方的主要活性成分和靶点。对于 TCMSP 数据库中不包含的中药生石膏、水牛角、安宫牛黄丸、麦冬和生地通过 TCMID 数据库检索其主要活性成分, 竹叶 (淡竹叶)<sup>[8-10]</sup>、化橘红<sup>[11-12]</sup>、地龙<sup>[13]</sup>和焦三仙 (焦山楂<sup>[14-15]</sup>、焦神曲<sup>[16-19]</sup>) 通过检索文献获得主要活性成分, 并使用 Swiss Target Prediction 数据库获得其靶点蛋白。生石膏所含成分使用 Pharmmapper 数据库获得其作用靶点。

忽略炮制方式, 5 个证型复方所含中药的主要活性成分及其作用靶点见表 1。其中, 湿热蕴肺证 (轻型) 复方包含 12 种中药, 检索到 188 个活性成分及 260 个靶点; 湿毒郁肺证 (普通型) 复方包含 13 种中药, 检索到 162 个活性成分及 340 个靶点; 气营两燔证 (重型) 复方包含 12 种中药, 检索到 194 个活性成分及 437 个靶点; 内闭外脱证 (危重型) 复方包含 4 种中药, 检索到 46 个活性成分及 163 个靶点; 气阴两虚证 (恢复期) 复方包含 10 种中药, 检索到 253 个活性成分及 431 个靶点。

表 1 COVID-19 的 5 个中医证型复方所含中药的活性成分和靶点数

Table 1 Number of active ingredients and targets of TCM contained in five syndromes related compounds of COVID-19

| 证型          | 中药   | 活性成分 | 靶点  | 证型          | 中药    | 活性成分 | 靶点  |
|-------------|------|------|-----|-------------|-------|------|-----|
| 湿热蕴肺证 (轻型)  | 槟榔   | 7    | 14  | 气营两燔证 (重型)  | 知母    | 11   | 91  |
| 湿热蕴肺证 (轻型)  | 草果   | 5    | 141 | 气营两燔证 (重型)  | 生地    | 31   | 166 |
| 湿热蕴肺证 (轻型)  | 厚朴   | 2    | 18  | 气营两燔证 (重型)  | 水牛角   | 5    | 48  |
| 湿热蕴肺证 (轻型)  | 知母   | 11   | 91  | 气营两燔证 (重型)  | 赤芍    | 13   | 80  |
| 湿热蕴肺证 (轻型)  | 黄芩   | 32   | 95  | 气营两燔证 (重型)  | 玄参    | 5    | 36  |
| 湿热蕴肺证 (轻型)  | 柴胡   | 12   | 161 | 气营两燔证 (重型)  | 连翘    | 18   | 192 |
| 湿热蕴肺证 (轻型)  | 赤芍   | 13   | 80  | 气营两燔证 (重型)  | 丹皮    | 6    | 150 |
| 湿热蕴肺证 (轻型)  | 连翘   | 18   | 192 | 气营两燔证 (重型)  | 黄连    | 11   | 148 |
| 湿热蕴肺证 (轻型)  | 青蒿   | 19   | 185 | 气营两燔证 (重型)  | 竹叶    | 17   | 64  |
| 湿热蕴肺证 (轻型)  | 苍术   | 4    | 48  | 气营两燔证 (重型)  | 葶苈子   | 9    | 167 |
| 湿热蕴肺证 (轻型)  | 大青叶  | 8    | 47  | 气营两燔证 (重型)  | 生甘草   | 87   | 199 |
| 湿热蕴肺证 (轻型)  | 生甘草  | 87   | 199 | 内闭外脱证 (危重型) | 人参    | 17   | 92  |
| 湿毒郁肺证 (普通型) | 生麻黄  | 14   | 171 | 内闭外脱证 (危重型) | 黑顺片   | 6    | 13  |
| 湿毒郁肺证 (普通型) | 苦杏仁  | 16   | 56  | 内闭外脱证 (危重型) | 山茱萸   | 13   | 50  |
| 湿毒郁肺证 (普通型) | 生石膏  | 1    | 26  | 内闭外脱证 (危重型) | 安宫牛黄丸 | 14   | 83  |
| 湿毒郁肺证 (普通型) | 生薏苡仁 | 6    | 26  | 气阴两虚证 (恢复期) | 南北沙参  | 11   | 156 |
| 湿毒郁肺证 (普通型) | 茅苍术  | 4    | 48  | 气阴两虚证 (恢复期) | 麦冬    | 48   | 166 |
| 湿毒郁肺证 (普通型) | 广藿香  | 7    | 150 | 气阴两虚证 (恢复期) | 西洋参   | 9    | 45  |
| 湿毒郁肺证 (普通型) | 青蒿草  | 19   | 185 | 气阴两虚证 (恢复期) | 五味子   | 7    | 10  |
| 湿毒郁肺证 (普通型) | 虎杖   | 8    | 171 | 气阴两虚证 (恢复期) | 生石膏   | 1    | 26  |
| 湿毒郁肺证 (普通型) | 马鞭草  | 11   | 183 | 气阴两虚证 (恢复期) | 淡竹叶   | 17   | 64  |
| 湿毒郁肺证 (普通型) | 干芦根  | 1    | 26  | 气阴两虚证 (恢复期) | 桑叶    | 24   | 195 |
| 湿毒郁肺证 (普通型) | 葶苈子  | 9    | 167 | 气阴两虚证 (恢复期) | 芦根    | 1    | 26  |
| 湿毒郁肺证 (普通型) | 化橘红  | 18   | 113 | 气阴两虚证 (恢复期) | 丹参    | 58   | 108 |
| 湿毒郁肺证 (普通型) | 生甘草  | 87   | 199 | 气阴两虚证 (恢复期) | 生甘草   | 87   | 199 |
| 气营两燔证 (重型)  | 生石膏  | 1    | 26  |             |       |      |     |

## 2.2 5 个证型临床表现的靶点

将 COVID-19 的 5 个证型的临床表现及其对应检索词进行整合, 利用 Geen Card、TTD 和 OMIM 数据库检索各证型临床表现的靶点, 见表 2。

## 2.3 5 个证型及其对应复方的交集靶点

对 COVID-19 的 5 个证型的临床表现及其复方的靶点取交集, 如图 1 所示, 5 个证型及其对应复方的交集靶点数目分别是 252、322、402、140、399, 结果表明 5 个证型复方对 COVID-19 相关证型具有调控作用。

## 2.4 PPI 蛋白互作网络和 KEGG 通路分析

将交集靶点上传至 SRTRING 数据库得到的 PPI 网络导入 Cytoscape 3.8.0 软件, 通过 CytoHubba 插件以度为条件进行拓扑分析, 分别筛选出排名前 10 的关键蛋白, 获得的关键蛋白如图 2 所示, 颜色由红至黄代表度值从大到小。其中, 5 个证型复方的关键蛋白都包括血管内皮生长因子 A (vascular endothelial growth factor A, VEGFA)、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)、胱天蛋白酶 3 (caspase-3, CASP3)、蛋白激酶 B1

表 2 COVID-19 的 5 个中医证型的临床表现及其靶点数

Table 2 Clinical manifestations of five syndromes of COVID-19 and their target number

| 证型          | 临床表现                                                                                                    | 检索词                                                                                                                                                            | 靶点数    |
|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| 湿热蕴肺证 (轻型)  | 低热或不发热, 微恶寒, 乏力, 头身困重, 肌肉酸痛, 干咳痰少, 咽痛, 口干不欲多饮, 或伴有胸闷脘痞, 无汗或汗出不畅, 或见呕恶纳呆, 便溏或大便黏滞不爽; 舌淡红, 苔白厚腻或薄黄, 脉滑数或濡 | low fever, fatigue, chill, lssore limbs, cough, sore throat, dry mouth, drink less, shortness of breath, loss of appetite, bloating, diarrhea, fast pulse rate | 13 277 |
| 湿毒郁肺证 (普通型) | 发热, 咳嗽痰少, 或有黄痰, 憋闷气促, 腹胀, 便秘不畅; 舌质暗红, 舌体胖, 苔黄腻或黄燥, 脉滑数或弦滑                                               | feve, cough, yellow phlegm, shortness of breath, bloating, constipation, fast pulse rate                                                                       | 11 678 |
| 气营两燔证 (重型)  | 大热烦渴, 喘憋气促, 谵语神昏, 视物错翳, 或发斑疹, 或吐血、衄血, 或四肢抽搐; 舌绛少苔或无苔, 脉沉细数, 或浮大而数                                       | fever, dyspnea, nonsense, vertigo, blurred vision, typhus, vomiting blood, nosebleed, limb twitching, fast pulse rate                                          | 12 605 |
| 内闭外脱证 (危重型) | 呼吸困难, 动辄气喘或机械通气, 伴神昏, 烦躁, 汗出肢冷; 舌质紫暗, 苔厚腻或燥, 脉浮大无根                                                      | dyspnea, wheeze, vertigo, dysphoric mood, hyperhidrosis, chills                                                                                                | 7347   |
| 气阴两虚证 (恢复期) | 乏力, 气短, 口干, 口渴, 心悸, 汗多, 纳差, 低热或不热, 干咳少痰; 舌干少津, 脉细或虚无力                                                   | fatigue, shortness of breath, dry mouth, heart palpitations, hyperhidrosis, loss of appetite, low fever, cough                                                 | 11 880 |

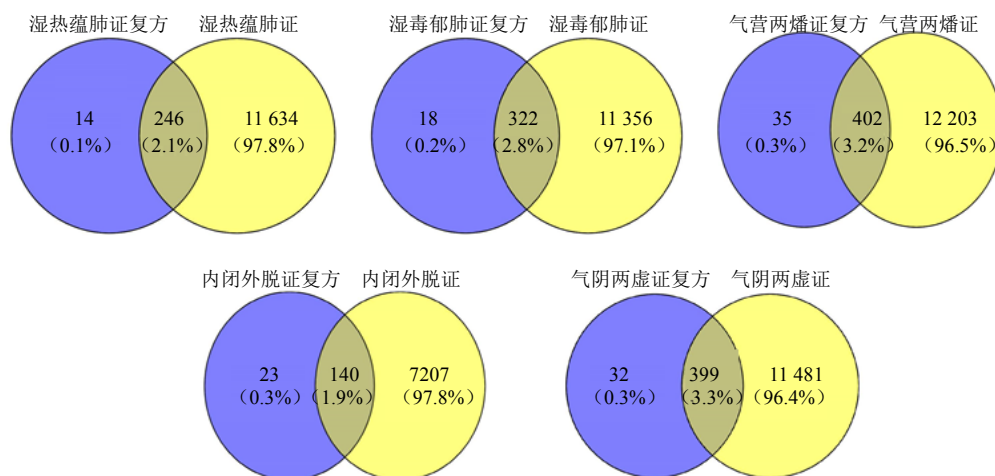
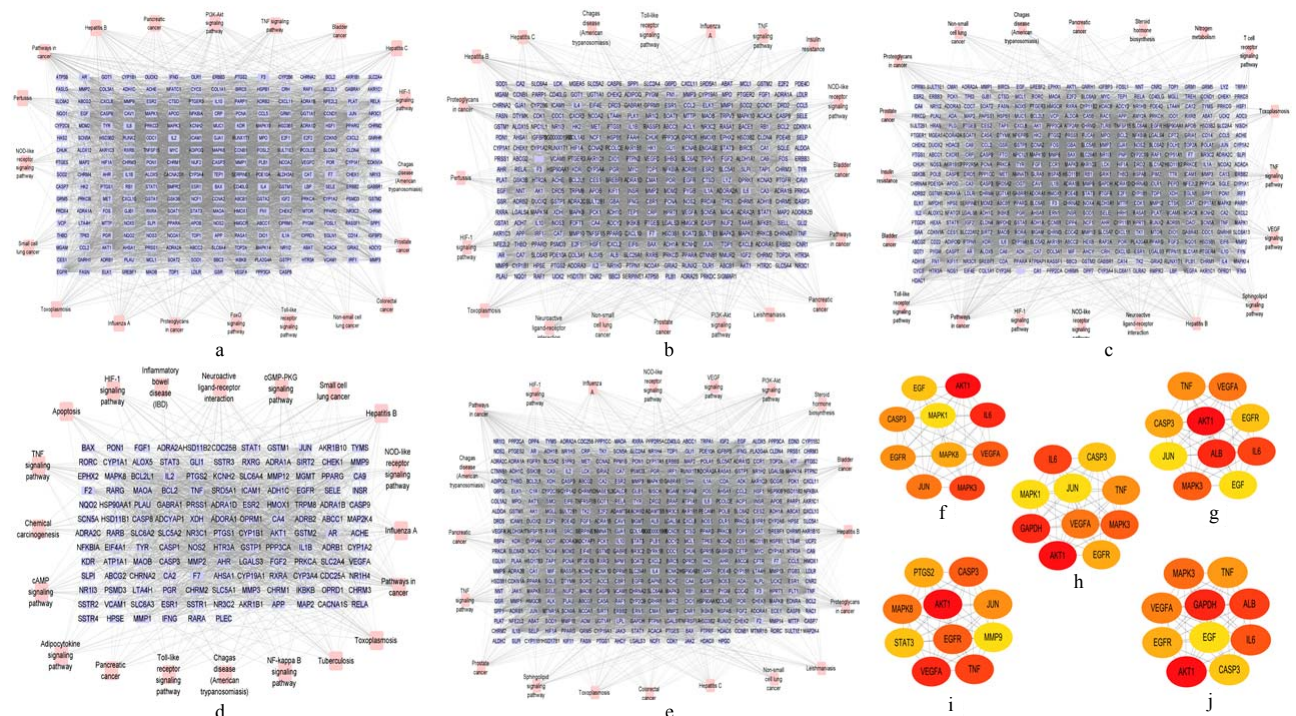


图 1 COVID-19 的 5 个证型及其对应复方的靶点 Wenn 图

Fig. 1 Target Wenn diagram of five syndromes of COVID-19 and their corresponding compounds





a~e 分别为湿热蕴肺证、湿毒郁肺证、气营两燔证、内闭外脱证和气阴两虚证对应复方的 PPI 网络-通路图, f~j 分别为湿热蕴肺证、湿毒郁肺证、气营两燔证、内闭外脱证和气阴两虚证对应复方的关键蛋白

a~e respectively represent the PPI network-pathway diagram of corresponding compounds of the syndromes of damp and heat stagnating lung, syndrome of dampness-toxicity stagnating lung, syndrome of flaring heat in *qi* and *ying*, syndrome of inner blocking causing collapse, and syndrome of *qi*-*yin* deficiency, f~j respectively represent the key proteins of corresponding compounds of the syndromes of damp and heat stagnating lung, syndrome of dampness-toxicity stagnating lung, syndrome of flaring heat in *qi* and *ying*, syndrome of inner blocking causing collapse, and syndrome of *qi*-*yin* deficiency

图 2 COVID-19 的 5 个证型相关复方的 PPI 网络-通路图和关键蛋白

Fig. 2 PPI network-pathway diagrams and key proteins of five syndromes related compounds of COVID-19

(protein kinase B1, PKB1 或 AKT1), 说明这 4 个靶点在治疗 COVID-19 的过程中具有重要作用。将 5 个证型复方的关键蛋白与 ACE2 蛋白共同导入 STRING 数据库后得到的 PPI 网络如图 3 所示, 表明 5 个证型复方的关键蛋白与 ACE2 蛋白关系密切, 其中丝裂原激活蛋白激酶 8 (mitogen-activated protein kinase 8, MAPK8)、白细胞介素-6 (IL-6) 和血清白蛋白 (albumin, ALB) 对 ACE2 蛋白有直接作用。

基于 DAVID 数据库分别对 5 个证型复方的交集靶点进行 KEGG 富集分析, 通过 Cytoscape 3.8.0 软件将  $P(\leq 0.05)$  值排名前 20 的通路及复方的 PPI 网络整合, 得到 5 个复方的 PPI 网络-通路图, 如图 2 所示, 其中紫色矩形代表交集靶点, 红色矩形代表通路。

分别将 COVID-19 的 5 个证型复方排名靠前的通路及其  $P$  值以热图的形式进行整合, 见图 4。其中  $P$  值由小到大对应颜色由红色过渡至绿色, 可以

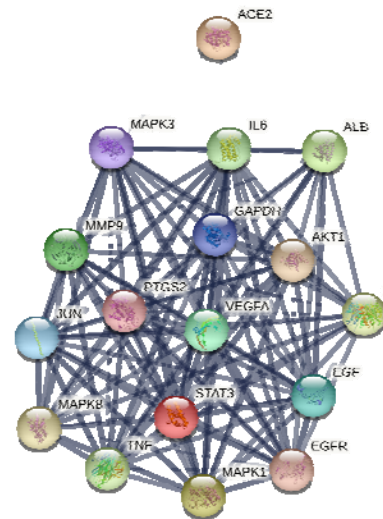


图 3 COVID-19 的 5 个证型复方的关键蛋白与 ACE2 蛋白的 PPI 网络

Fig. 3 PPI network of key proteins of five syndromes related compounds of COVID-19 and ACE2 protein



A~E 分别代表湿蕴肺证、湿毒郁肺证、气营两燔证、内闭外脱证和气阴两虚证相关复方

A—E respectively represent corresponding compounds of the syndromes of damp and heat stagnating lung, syndrome of dampness-toxicity stagnating lung, syndrome of flaring heat in *qi* and *ying*, syndrome of inner blocking causing collapse, and syndrome of *qi-yin* deficiency

图 4 COVID-19 的 5 个证型复方的通路热图

Fig. 4 Pathways heat map of five syndromes related compounds of COVID-19

看出 5 个证型复方干预的通路类型大体相似，但各复方干预通路的侧重点不同，除内闭外脱证型复方外，其他 4 个证型复方都对乙型肝炎（hepatitis B）、肿瘤坏死因子信号通路（tumor necrosis factor signaling pathway）、缺氧诱导因子-1 信号通路（hypoxia inducible factor-1 signaling pathway）、恰加斯病（Chagas disease, American trypanosomiasis）、非小细胞肺癌（non-small cell lung cancer）和 NOD 样受体信号通路（NOD-like receptor signaling pathway）等通路干预性较强。

### 3 讨论

中医药从证候到复方都是在“辨证论治”和“整

体观念”的指导下对疾病进行干预，中药及其复方具有多成分、多靶点和多途径的特点，这些特点为中医药研究者带来了挑战，而网络药理学的出现为中医药研究提供了新的思路。网络药理学基于药物和疾病间的相互作用，在体外通过计算机虚拟技术构建了“药物-成分-靶点-通路-疾病”的多层次网络，具有整体性和系统性的特点<sup>[20]</sup>，与中医药的指导思想趋于一致，众多研究者将网络药理学应用于中医药，以解释中医药复杂的作用机制。在治疗 COVID-19 方面，中医药工作者从证型出发，根据患者的不同症候给予不同的治疗方案，而应用网络药理学可实现对疾病、证候、中药及其复方作用机

制的挖掘,为 COVID-19 的治疗提供借鉴和参考。许海玉课题组<sup>[21]</sup>以“症状”为切入点,通过中药整合药理学网络计算平台 2.0,对 COVID-19 中 4 个时期的代表证候方剂构建了分子网络,探讨了 4 个时期 COVID-19 的生物学基础及推荐方剂对证治疗的分子机制,对于揭示推荐方剂的作用原理和科学内涵具有重要意义。本研究基于中医“方证对应”的特点,运用网络药理学对 COVID-19 发展过程中 5 个证型的证候表现及其所用复方的靶点和通路进行预测和挖掘,以期阐述中医“对证”和“对症”治疗的优势和特色,解释中医分期治疗的合理性。

本研究基于网络药理学对《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案》第 7 版的 5 个证型及其对应复方进行分析探讨,使用数据库分别筛选出 5 个证型临床表现的靶点及其所用复方主要活性成分的靶点,通过 5 个证型的交集靶点构建 PPI 互作网络并获得关键蛋白,其中 5 个证型相关复方的关键蛋白都包括 VEGFA、EGFR、CASP3、AKT1。其中 VEGFA 是刺激血管生长的主要因子之一,在激活信号通路和诱导内皮细胞增殖和迁移等方面具有重要作用<sup>[22]</sup>,药效学实验表明 VEGFA 水平的升高很有可能与肺部炎症消退有关<sup>[23]</sup>。EGFR 是非小细胞肺癌中最常见的驱动因子之一,EGFR 酪氨酸激酶抑制剂是非小细胞肺癌的重要治疗手段之一<sup>[24]</sup>,并且非小细胞肺癌通路也出现在通路富集结果中,说明 EGFR 靶点和非小细胞肺癌通路与 COVID-19 具有相关性。CASP3 是一种蛋白酶,与细胞凋亡等生理过程中具有重要意义,杨波等<sup>[25]</sup>研究发现在小鼠感染 SARS-CoV 导致的心脏损伤和肝脏损伤过程中,CASP3 具有显著调节相关信号通路的作用。AKT1 可通过通路传导调节细胞代谢、促进细胞生长和增殖等,同时还具有抑制细胞凋亡作用<sup>[26]</sup>,梁木林等<sup>[27]</sup>发现 p-AKT1 参与了高氧肺损伤的发生发展,其调控机制可能与抑制 mTOR 信号通路的活化有关。目前大部分研究表明,ACE2 蛋白是 SARS-CoV-2 作用于人体的关键蛋白,也是治疗 COVID-19 的核心靶点<sup>[7,28]</sup>,本研究将 5 个证型相关复方的关键蛋白与 ACE2 蛋白作 PPI 网络发现,MAPK3、IL6 和 ALB 对 ACE2 蛋白有直接的相互作用,其余关键蛋白也可间接作用于 ACE2 蛋白,说明 5 个证型相关复方可作用于 SARS-CoV-2 S 的关键蛋白受体(ACE2),从而发挥抗病毒作用。

取交集靶点进行 KEGG 通路富集分析,得到每

个证型所用复方的基因信号通路,并将排名靠前的通路及其 *P* 值以热图的形式进行整合,发现除内闭外脱方外,其余 4 个复方主要通过干预乙型肝炎、TNF 信号通路、HIF-1 信号通路、恰加斯病、非小细胞肺癌和小细胞肺癌通路等来治疗 COVID-19,说明 4 个证型相关复方在治疗其对应证型时具有相同的生理病理基础,分别是①抗病毒作用:4 个复方主要干预卡波西氏肉瘤相关疱疹病毒感染、乙型肝炎、人巨细胞病毒感染、丙型肝炎和恰加斯病等与病毒相关的通路。②抑制炎症反应,增强免疫应答:TNF 可促进 T 细胞产生各种炎症因子,诱导多种细胞内信号通路,包括细胞凋亡和细胞存活以及炎症和免疫力<sup>[29]</sup>;HIF-1 是由  $\alpha$  亚基和  $\beta$  亚基构成的异源二聚体,为细胞适应缺氧的主要转录因子和核心调控器,是缺氧应急的关键因子,调控细胞的多种缺氧反应,参与多种疾病的生理病理反应,包括癌症、炎症和免疫等<sup>[30]</sup>;③4 个证型相关复方还主要干预非小细胞肺癌和小细胞肺癌 2 个与肺部有关的通路,说明其对靶器官(肺)的保护作用。

湿热蕴肺证(轻型)和湿毒郁肺证(普通型)为 COVID-19 的初期,在这个过程中,病毒开始侵入机体,并伴随发热、咳嗽、胸闷等症状,张鹏葛等<sup>[31]</sup>总结中医治疗 COVID-19 的处方用药规律发现,初期以化痰止咳平喘、清热泻火、发汗解表为主,中药在这一阶段发挥了较大作用,热图结果也显示,这 2 个证型相关复方显著干预的通路较多,广泛作用于甲型流感和小细胞肺癌等与病毒、流感相关的信号通路,且二者还显著作用于磷脂酰肌醇-3-羟激酶(phosphatidylinositol-3-hydroxykinase, PI3K)-蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt)信号通路和叉头转录因子(forkheadboxclass O, FoxO)信号通路等,PI3K-Akt-FoxO 信号通路是调节细胞凋亡的重要途径。PI3K 催化第 2 信使磷脂酰肌醇(3,4,5)三磷酸等的生成,从而激活磷脂酰肌醇依赖性激酶,后者可使 Akt 磷酸化而激活。而 FoxO 转录因子是 PI3K-Akt 信号转导通路的下游因子之一,当 PI3K-Akt 途径被激活,活化的 Akt 会催化 FoxO 多个位点的丝氨酸/苏氨酸残基磷酸化修饰,从而抑制 FoxO 活性,引发 PI3K-Akt-FoxO 信号通路的生物学效应<sup>[32]</sup>,调控机体内的细胞增殖和凋亡过程。

气营两燔证和内闭外脱证为 COVID-19 的重症期,此时患者表现为高热、烦渴、呼吸困难,甚者出现呼吸衰竭、休克、神昏谵语等症状,严重者器

官衰竭,此时中药复方需和中药注射剂如血必净注射液、生脉注射液联合使用,重症期患者胸部 CT 主要表现为双肺弥漫性实变,其内可见支气管扩张或空气支气管征,双肺大部分受累时呈“白肺”表现<sup>[33]</sup>,因此这一阶段必要时还需进行呼吸支持和挽救治疗,王利等<sup>[34]</sup>认为 COVID-19 患者后期病情加重与细胞因子风暴有关,西医学对重症患者的治疗虽靶点明确,但作用单一,而中医药多靶点、多途径、多层次,作用广泛,整体治疗优势突出,在面对细胞因子风暴等复杂疾病的防治中体现出了较高的价值<sup>[35]</sup>。KEGG 富集结果显示气营两燔证和内闭外脱证相关复方显著干预的通路虽不及其他 3 个证型的复方范围广,但二者对神经活性配体-受体相互作用通路的干预较为显著,说明二者着重缓解神经系统的异常,以恢复机体神志。

气阴两虚证是 COVID-19 的恢复期,此时患者余邪未尽,但高热已退,神志恢复,气阴两虚证相关复方显著干预 PI3K-Akt 信号通路,该通路有多种下游信号蛋白,可凭借繁多的下游信号蛋白来调节基本的细胞功能,如转录、翻译、增殖、生长、存活和凋亡<sup>[36]</sup>;该复方还显著干预类固醇激素的合成、鞘脂信号通路和氮代谢等信号通路。An 等<sup>[37]</sup>发现与非治疗组相比,恢复期服用中药复方的 COVID-19 患者免疫反应(白细胞、淋巴细胞和单核细胞数目显著减少)、肝功能( $\gamma$ -谷氨酰转肽酶明显降低、前白蛋白明显改善)和造血凝血功能(血小板、红细胞和血红蛋白明显增加)均有所改善。这说明恢复期中药复方主要参与细胞生长过程,调控机体的能量代谢和营养物质吸收过程,以增强机体免疫和扶助机体正气。

综上所述,5 个 COVID-19 的中医证型相关复方的作用通路具有一定相似性,主要通过抗病毒、抑制炎症反应、增强免疫应答和保护主要靶器官来治疗 COVID-19,但各有特点,湿热蕴肺证和湿毒郁肺证相关复方侧重于干扰病毒并增强机体的免疫应答;气营两燔证和内闭外脱证相关复方着重缓解神经系统的异常,以恢复机体神志;气阴两虚证相关复方进一步参与细胞生长过程和调节机体的能量代谢和吸收过程,以增强机体免疫和扶助正气,说明了中医辨证论治和方证对应的治疗特点,解释了中医分期治疗 COVID-19 的合理性和科学性。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] 袁蓉,信琪琪,唐仕欢,等. 中医整体观指导下的 COVID-19 治疗:同时着眼于病毒和宿主的疗法 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(7): 1521-1525.
- [2] 卢幼然,王玉光,焦以庆,等. 新型冠状病毒肺炎中医证治研究进展 [J]. 中医杂志, 2020, 61(21): 1846-1851.
- [3] 国家卫生健康委办公厅. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版) [J]. 心肺血管病杂志, 2020, 39(2): 103-107.
- [4] 郭淑贞,王伟. 中医证候形成的“三因”理论 [J]. 中医杂志, 2020, 61(17): 1493-1497.
- [5] 郑文科,张俊华,杨丰文,等. 从湿毒疫论治新型冠状病毒感染的呼吸道疾病 [J]. 中医杂志, 2020, 61(12): 1024-1028.
- [6] Hashimoto T, Perlot T, Rehman A, et al. ACE2 links amino acid malnutrition to microbial ecology and intestinal inflammation [J]. *Nature*, 2012, 487(7408): 477-481.
- [7] 赵岳,刘文斌,李子帅,等. 刺突蛋白、血管紧张素转换酶 2 和蛋白酶在新型冠状病毒感染中的协同作用 [J]. 上海预防医学, 2020, doi: 10.19428/j.cnki.sjpm.2021.20574.
- [8] 周惠燕,章辉,李士敏. 竹叶化学成分研究 I [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(24): 1933-1934.
- [9] 陆志科,谢碧霞. 竹叶化学成分的分析与资源的开发利用 [J]. 林业科技开发, 2003, 17(1): 6-9.
- [10] 李洪玉,孙静芸,戴诗文. 竹叶化学成分研究 [J]. 中草药, 2003, 26(8): 562-563.
- [11] 王晓峰,陈德斌,刘美,等. 利用 GC-MS 法测定不同产地化橘红的挥发油成分 [J]. 大众科技, 2019, 21(10): 32-34.
- [12] 王艳慧. 化橘红的研究进展 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2017, 19(6): 1076-1082.
- [13] 黄敬文,高宏伟,段剑飞. 地龙的化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中医药导报, 2018, 24(12): 104-107.
- [14] 刘畅,宫瑞泽,张磊,等. 山楂不同炮制方法对 5-羟甲基糠醛含量及抗氧化活性的影响 [J]. 特产研究, 2019, 41(4): 29-35.
- [15] 吴士杰,李秋津,肖学风,等. 山楂化学成分及药理作用的研究 [J]. 药物评价研究, 2010, 33(4): 316-319.
- [16] 吴翠,徐靓,马玉翠,等. 神曲及其炮制品中 5-羟甲基糠醛的含量分析 [J]. 分析仪器, 2019(5): 89-94.
- [17] 仇雪,任娟,呼木吉勒图,等. 市售六神曲质量研究 [J]. 中南药学, 2019, 17(8): 1260-1263.
- [18] 张慧茹,张婷婷,许桤,等. 基于 NMR 指导的六神曲成分研究 [J]. 中草药, 2019, 50(16): 3764-3768.
- [19] 马开,田萍,张迪文,等. 波长切换 HPLC 法同时测定六神曲中 9 个成分的含量 [J]. 药物分析杂志, 2019, 39(3): 526-530.



- [20] 孟凡翠, 汤立达. 中药网络药理学研究中存在的问题与发展展望 [J]. 中草药, 2020, 51(8): 2232-2237.
- [21] 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]. 中国中药杂志, 2020, 45(7): 1488-1498.
- [22] Claesson-Welsh L, Welsh M. VEGFA and tumour angiogenesis [J]. *J Intern Med*, 2013, 273(2): 114-127.
- [23] Strouvalis I, Routsis C, Adamopoulou M, et al. Early increase of VEGF-A is associated with resolution of ventilator-associated pneumonia: Clinical and experimental evidence [J]. *Respirology*, 2018, 23(10): 942-949.
- [24] 张卉, 张树才. 非小细胞肺癌 EGFR 基因靶向治疗研究进展 [J]. 中国肺癌杂志, 2017, 20(1): 61-65.
- [25] 杨波, 卢欣, 于睿莉, 等. 冠状病毒感染相关多器官功能障碍综合征分子机制和干预药物的生物信息学预测及其对新型冠状病毒肺炎的意义 [J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2020, 19(3): 182-186.
- [26] 何俏军, 董晓武, 朱虹, 等. PI3K-Akt-mTOR 通路及其小分子抑制剂的研究进展 [J]. 中国生化药物杂志, 2016, 36(8): 6-15.
- [27] 梁木林, 党红星, 鲁雪, 等. 抑制 mTOR 信号通路对幼鼠肺损伤时 p-AKT1 分子的影响及意义 [J]. 中国病理生理杂志, 2019, 35(3): 506-514.
- [28] Singh H, Choudhari R, Nema V, et al. ACE2 and TMPRSS<sub>2</sub> polymorphisms in various diseases with special reference to its impact on COVID-19 disease [J]. *Microb Pathog*, 2020, 150: 104621.
- [29] 李慧, 李怀奇. 复发性口腔溃疡患者免疫指标、铁代谢指标和肿瘤坏死因子的水平变化特点 [J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(1): 41-44.
- [30] 张晓红, 时景璞. 缺氧诱导因子-1 调控缺氧状态下心肌细胞自噬和凋亡的研究进展 [J]. 中国胸心血管外科临床杂志, 2020, 27(9): 1087-1093.
- [31] 张鹏葛, 王一瑞, 舒占钧, 等. 基于数据挖掘分析治疗新型冠状病毒肺炎不同阶段中药处方用药规律 [J]. 中国医药, 2020, 15(8): 1164-1169.
- [32] 冯伟科, 胡琦, 张亚楠, 等. 基于 PI3K-Akt-FoxO 信号通路的四物汤对小鼠骨髓基质细胞凋亡的影响 [J]. 时珍国医国药, 2020, 31(2): 304-307.
- [33] 曾春意, 吴宗山, 贾敏, 等. 新型冠状病毒肺炎 39 例胸部 CT 影像学特征分析 [J]. 疑难病杂志, 2020, 19(7): 656-660.
- [34] 王利, 许言午, 何建成. 基于“细胞因子风暴”探讨中医药治疗重型、危重型新型冠状病毒肺炎 [J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(6): 18-22.
- [35] 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.
- [36] 黄芸, 张治楠, 黄泳, 等. PI3K-AKT 信号通路及抑郁症的关系及中医干预作用研究进展 [J]. 上海中医药杂志, 2020, 54(2): 108-112.
- [37] An Y W, Yuan B, Wang J C, et al. Clinical characteristics and impacts of traditional Chinese medicine treatment on the convalescents of COVID-19 [J]. *Int J Med Sci*, 2021, 18(3): 646-651.

[责任编辑 潘明佳]