

# 基于网络药理学与分子对接技术的清瘟护肺颗粒防治新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 的潜在药效物质研究

刘琪琪<sup>1</sup>, 李纯<sup>1</sup>, 周洁<sup>1</sup>, 孙婷婷<sup>2</sup>, 狄志彪<sup>2</sup>, 李晔<sup>1,2</sup>, 刘洋<sup>2\*</sup>, 张红<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>陕西中医药大学药学院, 咸阳 712046; <sup>2</sup>陕西省中医药研究院, 西安 710003

**摘要:** 本文通过网络药理学和分子对接技术探讨清瘟护肺颗粒防治新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 的潜在药效物质。首先, 通过 TCMSp 数据库, BATMAN-TCM 数据库及 TCMIP 数据库检索清瘟护肺颗粒中十六味药的化学成分及作用靶点, 利用 GeneCards 和 OMIM 数据库检索 COVID-19 的相关疾病靶点。然后, 通过 venny2.1.0 获取清瘟护肺颗粒防治 COVID-19 的潜在靶点, 利用 R 语言对潜在靶点进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析, 并结合文献对富集所得通路进行分析。最后, 利用 Cytoscape3.7.1 软件构建网络图, 采用 AutoDock4.2.1 软件评价清瘟护肺颗粒中潜在药效成分和新型冠状病毒 SARS-CoV-2 3CL 水解酶、血管紧张素转化酶 II (ACE2) 和 RNA 依赖的 RNA 聚合酶 (RdRp) 的结合作用。网络药理学得到清瘟护肺颗粒防治 COVID-19 的 473 个活性成分和 123 个靶点, KEGG 结果及文献分析预测到清瘟护肺颗粒可通过调控 MAPK、小细胞肺癌、肺结核、PI3K-AKT 等多条信号通路而发挥作用, 分子对接结果显示清瘟护肺颗粒中潜在药效成分和 SARS-CoV-2 3CL 水解酶、ACE2 及 RdRp 具有良好的亲和性。本研究较为全面揭示了清瘟护肺颗粒治疗 COVID-19“多成分、多靶点、多通路”的特点, 为深入探讨清瘟护肺颗粒治疗 COVID-19 的作用机制提供参考依据。

**关键词:** 新型冠状病毒肺炎; 清瘟护肺颗粒; 网络药理学; 分子对接

中图分类号: R285

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2021)3-0500-10

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2021.3.018

## Study on potential pharmacodynamic substances of Qingwen Hufei granules for prevention and treatment of COVID-19 based on network pharmacology and molecular docking

LIU Qi-qi<sup>1</sup>, LI Chun<sup>1</sup>, ZHOU Jie<sup>1</sup>, SUN Ting-ting<sup>2</sup>, DI Zhi-biao<sup>2</sup>, LI Ye<sup>1,2</sup>, LIU Yang<sup>2\*</sup>, ZHANG Hong<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China;

<sup>2</sup>Shaanxi Academy of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 710003, China

**Abstract:** This study aims to predict potential targets and molecular mechanisms of Qingwen Hufei granules in the treatment of COVID-19 based on network pharmacology and molecular docking. At first, the active compounds and potential targets of sixteen Chinese medicines in Qingwen Hufei granules were collected from TCMSp, BATMAN-TCM and TCMIP database. The related targets of COVID-19 were searched by GeneCard and OMIM database. And then, the potential targets of Qingwen Hufei granules in the treatment of COVID-19 were obtained by venny2.1.0. The potential targets were analyzed by GO function enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis with R platform, and the related pathways were analyzed combined with literatures. At last, Cytoscape3.7.1 software was used to construct network diagram. The ability to combine main active compounds with SARS-CoV-2 3CL hydrolase, angiotensin converting enzyme II (ACE2) and RNA-dependent RNA polymerase virus (RdRp) were evaluated by AutoDock4.2.1 software. The 473 active compounds and 123 targets of Qingwen Hufei granules in the treatment of COVID-19 were obtained through network pharmacological analysis, the KEGG and literature analysis showed that Qingwen Hufei granules can play a role by regulating many related pathways, such as

收稿日期: 2020-05-21 接受日期: 2020-11-09

基金项目: 陕西省创新药物研究中心 (2017YWZX-02); 陕西省重点研发计划 (2018ZDXM-SF-003); 陕西省创新能力支撑计划 (2019KJXX-020)

\* 通信作者 Tel: 86-29-85395659; E-mail: liuyang311111@163.com, zhanghong919919@163.com

MAPK, small cell lung cancer, pulmonary tuberculosis, PI3K-AKT pathways and so on. Molecular docking results showed that the core components had good affinity with the SARS-CoV-2 3CL hydrolase, ACE2 and RdRp. This study demonstrated the 15 main active compounds of Qingwen Hufei granules may act on 15 important targets such as MAPK1, MAPK3, RELA and IL6 by inhibiting the binding of SARS-CoV-2 3CL hydrolase, ACE2 and RdRp, regulate multiple signal pathways, and achieve the effect of prevention and treatment of COVID-19. This study reveals the characteristics of Qingwen Hufei granules in treating COVID-19 "multi-component, multi-target, multi-channel", which provide a reference for in-depth discussion of the mechanism of action of Qingwen Hufei granules in the treatment of COVID-19.

**Key words:** COVID-19; Qingwen Hufei granules; network pharmacology; molecular docking

2019年12月以来,由新型冠状病毒(SARS-CoV-2)感染引起的急性肺炎在全世界相继爆发,截止2020年10月22日,新型冠状病毒肺炎(COVID-19)累计确诊人数达1 288万余人,死亡率在某些国家已超过10%,目前尚未发现特效药<sup>[1]</sup>。中医药抗击瘟疫已有千年的历史,并在抗击COVID-19中取得了瞩目的疗效,COVID-19初起表现为发热、干咳、乏力,与温病上焦卫气同病证相似;出现昏迷、甚至死亡与“逆传心包证”相吻合;恢复期乏力的表现与肺胃阴伤的温病学证候特点相似<sup>[2]</sup>,据患者不同体质对症下药,标本兼治,可以有效改善患者的症状。国家卫健委及国家中医药管理局颁发的《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)》中推荐不同的复方和中成药对症治疗<sup>[3]</sup>。从疗效、安全性、经济性等方面分析,中医药在防治COVID-19都具有很大的优势。因此研究防治新冠肺炎的中药复方及其作用机理,具有重要意义。

清瘟护肺颗粒是陕西省中医药研究院针对本次新冠疫情研发的防治COVID-19的院内制剂,已通过了省药品监督管理局的审批(陕药监函[2020]60号),于2月17日生产上市,销量良好<sup>[4]</sup>。该复方是在银翘散、玄麦甘桔汤和四君子汤基础上进行加减而成,由金银花、连翘、大青叶、玄参、杏仁、浙贝母、桔梗、苏叶、防风、炒白术、茯苓、茵陈、党参、竹叶、麦冬、生甘草十六味药组成<sup>[5]</sup>。清瘟护肺颗粒具有疏风解热,清肺止咳的功效,主治瘟疫初起,见有发热、干咳、咽痛、食少等症状,适用于新型冠状病毒感染疑似及新型冠状病毒感染的轻症。现代药理学研究表明本方中多味中药可通过抑制机体固有免疫的激活,抗炎解热,减轻肺脏等组织损伤<sup>[6]</sup>。

2007年,英国药理学家Hopkins在Nature Biotechnology杂志中首次提出“网络药理学(network pharmacology)”的概念,其对药物-药物、药物-疾病网络进行了分析,阐释了中药治疗疾病的机理,不再局限于单个成分、单个靶标、单一疾病的研究思想,

为中医药的研究与发展提供了新的思路<sup>[7]</sup>。基于几何匹配和能量匹配的“锁-钥原理”的分子对接技术,可用来分析蛋白质-配体识别,已经成为中医药现代化研究的有力工具。分子对接的可靠性取决于所采用的评分函数的准确性,计分功能可用于确定配体的结合模式和位点,预测结合亲和力,并识别给定蛋白靶标的潜在药物先导<sup>[8]</sup>。研究已证实COVID-19病毒有效靶点SARS-CoV-2 3CL水解酶在病毒多蛋白的蛋白水解过程中起关键作用,是病毒复制和功能所必需的蛋白,被认为是关键的药物靶点。血管紧张素转化酶II(ACE2)在介导SARS-CoV-2入侵细胞、促进病毒复制、加重急性肺损伤方面发挥重要作用,也是潜在的药物筛选靶点可以作为一种新型的生物疗法来拦截病毒,可抑制感染的进展,减轻肺损伤。RNA依赖的RNA聚合酶(RdRp)是病毒RNA复制的关键酶,可抑制病毒RNA的复制<sup>[9]</sup>。本研究基于网络药理学方法和分子对接技术探讨清瘟护肺颗粒药效成分、作用靶点及信号通路,为深入研究其防治COVID-19的药效物质基础提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 中药化学成分和疾病相关靶点筛选

利用中药系统药理学分析平台(TCMSP, <http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>)、BATMAN-TCM (A Bioinformatics Analysis Tool for Molecular Mechanism of Traditional Chinese Medicine, <http://bionet.ncpsb.org/>)及中医药整合药理学研究平台(TCMIP, <http://www.tcmip.cn/>)数据库筛选清瘟护肺颗粒中十六味中药材的活性成分及相关靶点。利用UniProt数据库(<https://www.uniprot.org>)将所有蛋白的名称进行标准化,得到靶标蛋白所对应的基因名称。

### 1.2 疾病靶点筛选

利用GeneCards(<https://www.genecards.org/>)和OMIM(<https://www.omim.org/>)数据库分别以“novel coronavirus”、“Coronavirus 2019”、“novel coronavirus pneumonia”为关键词检索疾病相关靶点。

### 1.3 靶点映射与靶蛋白互作分析

本实验将药物靶点与疾病靶点上传至 venny2.1.0 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>) 绘制韦恩图,得到药材活性成分相关靶点与疾病靶点的交集靶点。将清瘟护肺颗粒防治 COVID-19 的交集靶点导入 String 数据库 (<https://string-db.org/>) 进行分析,并利用 Cytoscape3.7.1 软件构建蛋白互作网络图 (protein protein interaction network, PPI)。利用软件中“Network Analyzer”功能,并根据拓扑学参数中的 degree 值和 score 值设置节点大小及颜色反应。其中 degree 值是网络分析中刻画节点中心性的最直接度量指标。节点 degree 值越大,该节点越重要。Score 值反映了该节点及周边节点的密集程度,节点 score 值越大,该节点连接的节点数越多。

### 1.4 GO 富集分析及 KEGG 通路富集分析

利用 R3.6.0 软件对药材与疾病的交集靶点进行 GO (Gene Ontology) 生物信息学富集,分别从基因靶点的分子功能 (molecular function, MF)、所处的细胞位置 (cellular component, CC) 和参与的生物过程 (biological process, BP) 三个方面分析,  $P$  值设为  $P \leq 0.05$ , 利用 Origin 软件作条形图可视化分析。利用 R 语言中 Cluster profiler 数据包对药材与疾病的交集靶点进行 KEGG 通路富集分析。通过查阅文献及 degree 排名,筛选 20 条相关 KEGG 通路,采用 ggplot2 数据包对 KEGG 通路富集结果进行可视化分析。

### 1.5 网络构建与分析

利用 Cytoscape3.7.1 软件,将清瘟护肺颗粒药材、活性成分及疾病交集靶点导入软件进行可视化分析,利用 Cytoscape3.7.1 软件中的 Merge 功能,构建药材-成分-靶点 (herb-compounds-target) 网络关系图,根据网络拓扑学参数中的紧密中心性 (closeness centrality, CC)、介数中心性 (betweenness centrality, BC) 和度值 (degree) 进行分析。根据 KEGG 富集结果筛选出的 20 条通路,利用 Cytoscape3.7.1 软件中的 Merge 功能构建靶点-通路 (target-pathway), 根据网络中的拓扑学参数 BC、CC、Degree 进行分析,得出清瘟护肺颗粒防治 COVID-19 的主要活性成分和重要靶点。

### 1.6 分子对接

利用 RCSB PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 下载由上海科技大学饶子和杨海涛团队提供的 COVID-19 病毒有效靶点 SARS-CoV-2 3CL 水解

酶 (SARS-CoV 3CLpro) (PDB ID:6LU7)、血管紧张素转化酶 II (ACE2) (PDB ID:1R42) 和 RNA 依赖的 RNA 聚合酶 (RdRp) (PDB ID:6L4R) 的 PDB 格式文件用于分子对接研究,下载清瘟护肺颗粒中槲皮素、 $\beta$ -谷甾醇、汉黄芩素、木犀草素的 mol2 格式文件。利用 AutoDock4.2.1 软件进行分子对接,预测配体与受体之间最佳的结合模式<sup>[10]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 清瘟护肺颗粒活性成分的筛选

本研究通过 TCMSp 数据库, BATMAN-TCM 数据库及 TCMIP 数据库得到清瘟护肺颗粒 16 味药材的化学成分,其中金银花 63 个、连翘 67 个、大青叶 34 个、玄参 39 个、杏仁 82 个、浙贝母 57 个、桔梗 39 个、苏叶 48 个、防风 50 个、炒白术 27 个、茯苓 48 个、茵陈 85 个、党参 83 个、竹叶 7 个、麦冬 2 个、生甘草 92 个合计 823 个化学成分,筛选重复后得到 473 个化学成分。其相关作用靶点共 13 101 个,筛选重复后得到 878 个靶点。

### 2.2 疾病靶点的筛选

通过 OMIM 和 GeneCards 数据库分别以“novel coronavirus”、“coronavirus 2019”、“novel coronavirus pneumonia”为关键词检索疾病靶点,分别检索到 529、438、791 个靶点,筛选重复后得到 787 个疾病靶点。

### 2.3 交集靶点收集与 PPI 网络图的构建

将药材成分靶点与疾病靶点通过韦恩图映射,得到 123 个疾病与药材成分的交集靶点,结果见图 1。将交集靶点导入 STRING 数据库,利用 Cytoscape3.7.1 软件构建 PPI 网络图,如图 2 所示,该网络图共有 82 个节点,241 条边,其 degree 值越大,节点越大;Combine score 值越小,颜色越明亮;degree 值越小,线条越细。

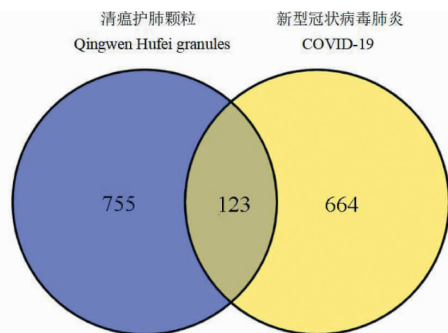


图 1 成分与疾病靶点交集分布

Fig. 1 Distribution of Intersection Compounds and Disease Target

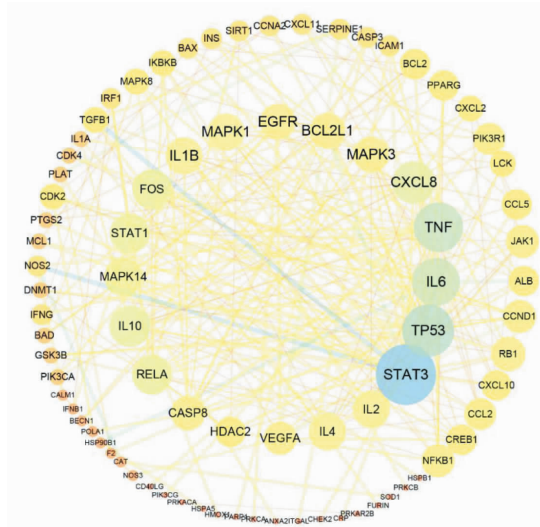


图2 清瘟护肺颗粒防治 COVID-19 的 PPI

Fig. 2 PPI of Qingwen Hufei granules in treatment of COVID-19

### 2.4 GO 生物过程和 KEGG 通路富集分析

本研究为更好阐明清瘟护肺颗粒防治 COVID-19 的作用机制,将药材与疾病的交集靶点导入 R3.6.0 软件中,对靶蛋白进行 GO 生物学功能分析,  $P \leq 0.05$ , 利用 origin 软件可视化分析,结果见图 3。GO 分为分子功能 MF、BP 和 CC 三个部分。其中横坐标表示富集靶点的数目,纵坐标代表 GO 富集分

析的过程。利用 R 语言对靶蛋白进行 KEGG 通路分析,富集到 136 条通路,通过查阅文献及 degree 排名,筛选出 20 条主要相关通路,包括 MAPK、PI3K/AKT、IL-17、HIF-1 等信号通路。采用 ggplot2 数据包对 KEGG 通路富集结果进行可视化分析,连接度越高,圆圈越大,  $P$  值越高,颜色越偏向红色,结果见图 4。

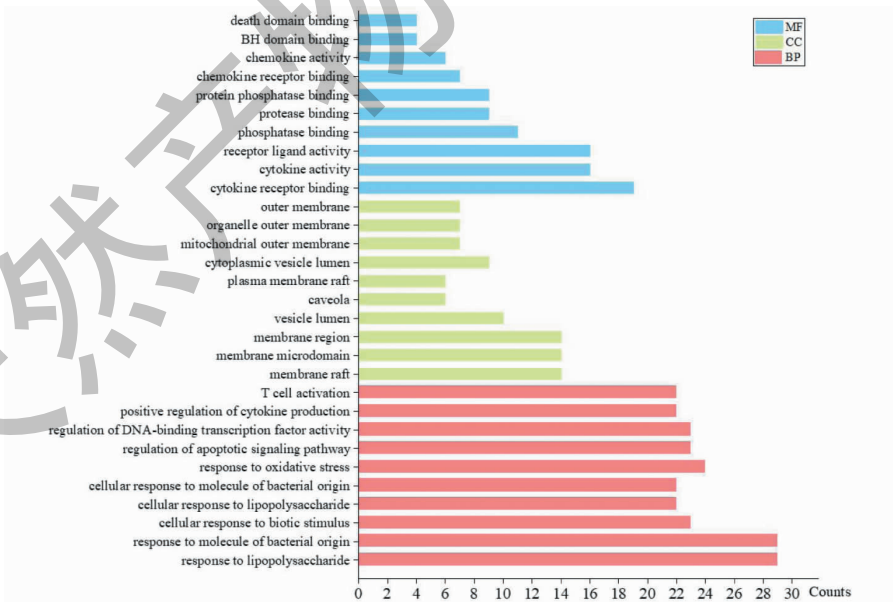


图3 清瘟护肺颗粒防治 COVID-19 的 GO 功能分析

Fig. 3 GO function analysis of Qingwen Hufei granules in the treatment of COVID-19



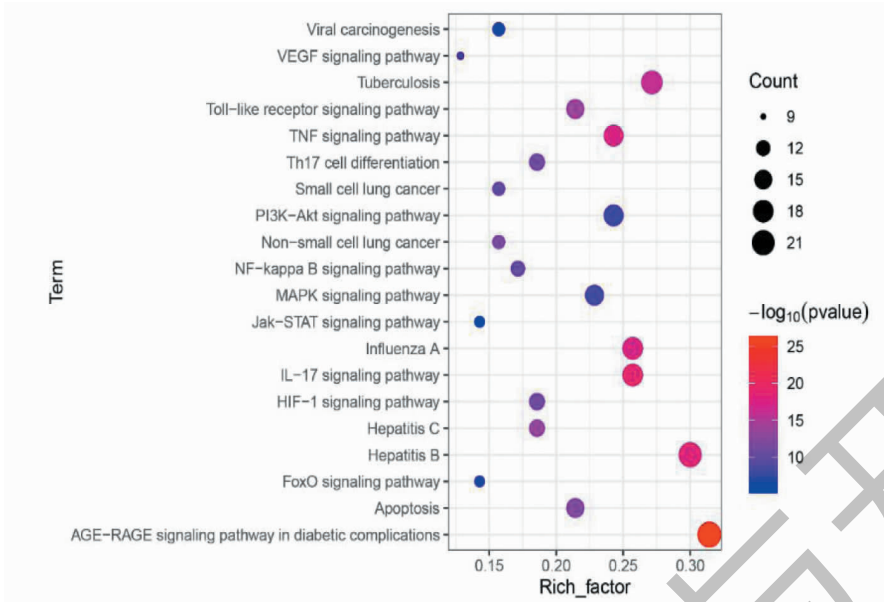


图4 清瘟护肺颗粒防治 COVID-19 的 KEGG 通路分析

Fig. 4 Analysis of KEGG pathway of Qingwen Hufei granules in the treatment of COVID-19

### 2.5 药材-成分-靶点网络构建分析

将药材、药材活性成分、交集靶点与疾病生成关联表,导入 Cytoscape3. 7. 1 软件构建清瘟护肺颗粒的“药材-成分-靶点”关联网络,结果见图 5。构建

的关联网络包括 251 个节点和 1143 个边。根据拓扑学参数分析,得出同时满足大于 BC、CC、degree 三个均值筛选得到槲皮素、汉黄芪素等 15 个药效成分,结果见表 1。

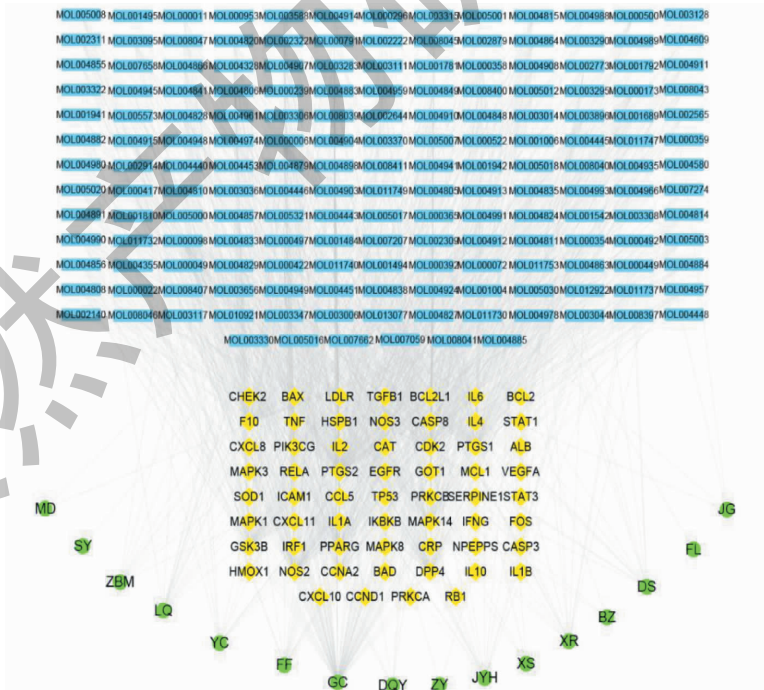


图5 清瘟护肺颗粒防治 COVID-19 药材-成分-靶点网络图

Fig. 5 Herb-compound-target network of Qingwen Hufei granules in the treatment of COVID-19

注:绿色椭圆:中药材;蓝色方块:活性成分;黄色菱形:靶点。Note: Green ellipse: Herb; Blue diamond: Compound; Yellow rhombus: Target.



表2 清瘟护肺颗粒防治 COVID-19 的关键靶点及“靶点-通路”网络分析

Table 2 key targets and “Target-pathway” network of Qingwen Hufei granule in the treatment of COVID-19

序号 No.	靶点 Target name	蛋白名称 Protein name	介数中心性 BC	紧密中心性 CC	连接度 Degree
1	MAPK1	Mitogen-activated protein kinase 1	0.057 5	0.540 7	17
2	MAPK3	Mitogen-activated protein kinase 3	0.057 5	0.540 7	17
3	RELA	Transcription factor p65	0.052 1	0.525 1	16
4	IL6	Interleukin-6	0.033 6	0.489 9	12
5	MAPK8	Mitogen-activated protein kinase 8	0.021 5	0.489 9	12
6	BCL2	Apoptosis regulator Bcl-2	0.020 8	0.453 4	10
7	TNF	Tumor necrosis factor	0.025 9	0.472 6	11
8	MAPK14	Mitogen-activated protein kinase 14	0.018 4	0.453 4	10
9	PRKCB	Protein kinase C beta type	0.016 9	0.431 2	8
10	CCND1	G1/S-specific cyclin-D1	0.014 0	0.442 4	8
11	STAT3	Signal transducer and activator of transcription 3- $\alpha$ /beta	0.013 4	0.431 9	8
12	IL1 $\beta$	Interleukin-1 beta	0.014 7	0.436 7	9
13	CASP3	Caspase-3	0.014 1	0.442 3	9
14	PRKCA	Protein kinase C alpha type	0.012 1	0.447 8	8
15	EGFR	Epidermal growth factor receptor	0.009 7	0.412 4	6

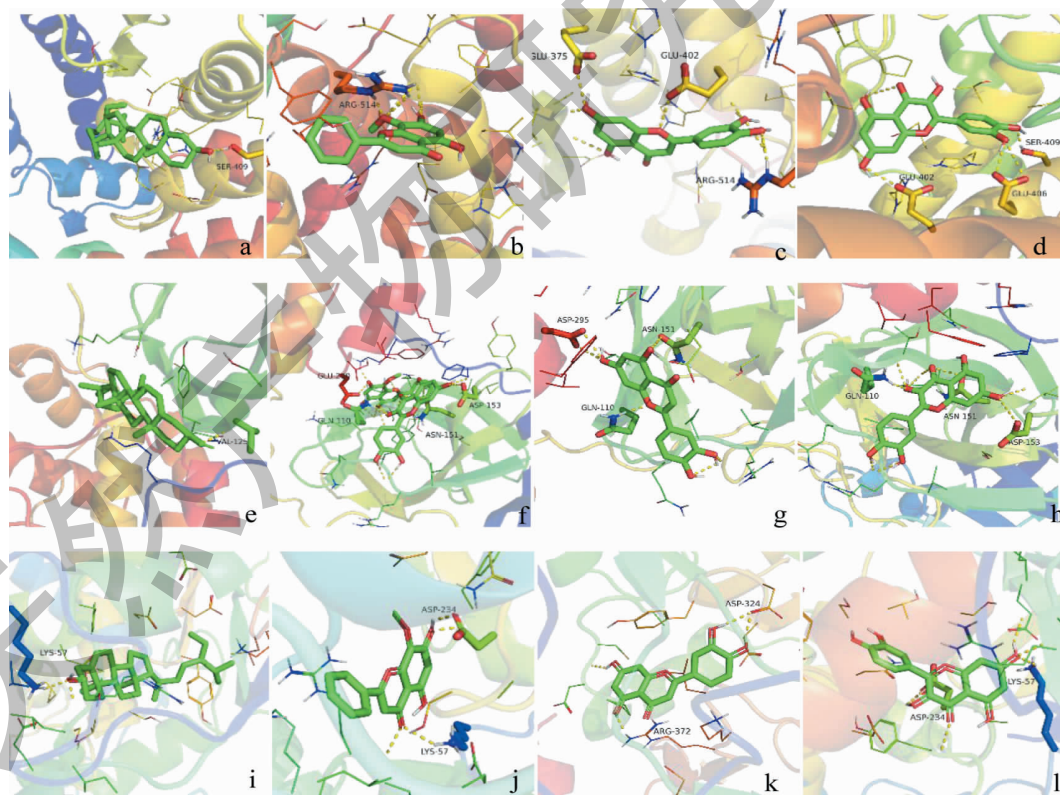


图7 SARS-CoV-2 3CL 水解酶、ACE2 及 RdRp 与药效成分的分子对接图

Fig. 7 Molecular docking diagram of 7SARS-CoV-23CL hydrolase, ACE2 and RdRp with active compounds

注: a. ACE2- $\beta$ -谷甾醇; b. ACE2-汉黄芩素; c. ACE2-木犀草素; d. ACE2-槲皮素; e. SARS-CoV-23CL 水解酶- $\beta$ -谷甾醇; f. SARS-CoV-23CL 水解酶-汉黄芩素; g. SARS-CoV-23CL 水解酶-木犀草素; h. SARS-CoV-23CL 水解酶-槲皮素; i. RdRp- $\beta$ -谷甾醇; j. RdRp-汉黄芩素; k. RdRp-木犀草素; l. RdRp-槲皮素。Note: a. ACE2- $\beta$ -sitosterol; b. ACE2-wogonin; c. ACE2-luteolin; d. ACE2-quercetin; e. SARS-CoV-2 3CL hydrolase- $\beta$ -sitosterol; f. SARS-CoV-2 3CL hydrolase-wogonin; g. SARS-CoV-2 3CL hydrolase-luteolin; h. SARS-CoV-2 3CL hydrolase-quercetin; i. RdRp- $\beta$ -sitosterol; j. RdRp-wogonin; k. RdRp-luteolin; l. RdRp-quercetin.

## 2.7 潜在药效成分与 ACE2、SARS-CoV-23CL 水解酶和 RdRp 的分子对接结果分析

根据拓扑学分析清瘟护肺颗粒在“药材-成分-靶点”网络图得到排名较高的药效成分,通过 Autodock4.2.1 软件将药效成分汉黄芩素、槲皮素、

木犀草素、 $\beta$ -谷甾醇与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶和 ACE2 进行分子对接,结果见图 7。其中清瘟护肺颗粒中化合物汉黄芩素、槲皮素、木犀草素、 $\beta$ -谷甾醇与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶、ACE2 和 RdRp 均小于-5 kcal/mol,表明均有较好的亲和性,结果见表 3。

表 3 清瘟护肺颗粒核心化合物与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶、ACE2 和 RdRp 的结合能力

Table 3 binding energy of core compounds of Qingwen Hufei granule with SARS-CoV-23CL hydrolase, ACE2 and RdRp

化合物名称 Compound name	受体 Receptor	结合能 Binding energy (kcal/mol)	结合位点 Binding site
$\beta$ -谷甾醇 Beta-sitosterol	ACE2	-5.85	SER409
汉黄芩素 Wogonin	ACE2	-5.50	ARG514
木犀草素 Luteolin	ACE2	-5.93	GLU375、GLU402、ARG514
槲皮素 Quercetin	ACE2	-5.16	GLU402、SER409、GLU406
$\beta$ -谷甾醇 Beta-sitosterol	SARS-CoV-2 3CL 水解酶	-5.53	AVL125
汉黄芩素 Wogonin	SARS-CoV-2 3CL 水解酶	-5.78	ASN115、ASP153、GLN105
木犀草素 Luteolin	SARS-CoV-2 3CL 水解酶	-5.94	ASP295、ARG105、GLN110
槲皮素 Quercetin	SARS-CoV-2 3CL 水解酶	-5.57	GLN110、THR111、ASN151、ARG105
$\beta$ -谷甾醇 Beta-sitosterol	RdRp	-7.47	LYS57
汉黄芩素 Wogonin	RdRp	-5.55	LYS57、ASP234
木犀草素 Luteolin	RdRp	-5.95	ASP324、ARG372
槲皮素 Quercetin	RdRp	-6.02	LYS57、ASP234

## 3 讨论

根据新型冠状病毒肺炎临床症状可知,病因多以湿热浊毒为主,在我国抗疫历史中,中医药起到了不可或缺的作用。中药含多种有效成分可多靶点多环节作用,用量可随证加减,可调节免疫力和抗病毒,毒副作用较小,作用平和。清瘟护肺颗粒是由金银花、连翘、大青叶、玄参、杏仁、浙贝母、桔梗、苏叶、防风、炒白术、茯苓、茵陈、党参、竹叶、麦冬、生甘草十六味药组成。方中金银花、连翘、浙贝母清热解毒,清肺止渴为君药;大青叶、竹叶、桔梗具有清热解毒,疏风透邪的功效;党参、炒白术、茯苓固护后天之本;浙贝母、桔梗、紫苏叶及苦杏仁配伍可清热宣肺,党参与黄芪配伍可补益肺气,生津止渴,可治疗脾肺气虚,清热消渴<sup>[11,12]</sup>。

本研究通过拓扑学分析得到“药材-成分-靶点”网络图中清瘟护肺颗粒防治 COVID-19 的 15 个主要药效成分。研究表明,甘草酚、大豆素具有抑制病毒的作用<sup>[13,14]</sup>。芒柄花黄素可通过调节 COX-2/PGE<sub>2</sub> 的表达抑制肠道病毒的复制<sup>[15]</sup>。查阅文献得出耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)可引起的金黄色葡萄球菌肺炎,其中  $\alpha$  毒素是一种必不可少

的毒力因子,而柚皮素可显著抑制  $\alpha$  毒素的表达从而减轻感染小鼠的肺损伤和炎症症状<sup>[16]</sup>。槲皮素具有抗菌、抗病毒、免疫调节的药理作用,其可有效减少肺炎组织炎症细胞浸润,抑制上皮细胞增生,有效改善肺炎小鼠肺组织病理学损伤,同时可减少病毒的复制,可有效预防和治疗病毒<sup>[17,18]</sup>。因此,清瘟护肺颗粒中的主要药效成分具有抑制病毒的作用。

本研究通过拓扑学分析得到“靶点-通路”网络图中清瘟护肺颗粒防治 COVID-19 的 15 个重要靶点。其中,RELA 是一种抗病毒转录因子,Bais 等人阐明了依赖 RELA 的生存因子,抑制了感染引起的细胞死亡,阻止了 RERA 缺陷细胞中 Chandipura 病毒(CHPV)的增殖<sup>[19]</sup>。在甲型流感病毒(IAV)感染过程中,IAV 感染刺激了可溶性 IL-6 受体(sIL-6R)的表达,sIL-6R 是一种参与 IL-6 信号转导的多功能蛋白,且 sIL-6R 的表达上调了其自身配体 IL-6 和促炎细胞因子 IL-32 的水平,认为 IL-6 是参与病毒感染急性炎症反应的关键细胞因子<sup>[20]</sup>。其中 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  是炎症因子,具有较强的致炎活性,可诱导血管内皮细胞通透性增加,促进炎症反应<sup>[21]</sup>。清瘟



护肺颗粒可通过改善机体炎症反应,达到促炎因子与抗炎因子动态平衡。综上可得,筛选的重要靶点与 COVID-19 有密切关系,其可能为该制剂的有效作用靶点。

通过 KEGG 富集及文献研究筛选的 20 条通路,其中 IL-17 信号通路与多种炎症肺病疾病有关,IL-17 上调可导致肺损伤加重,IL-17 抑制剂可显著减轻肺部炎症,并抑制 NF- $\kappa$ B 的表达和激活,降低促炎因子的水平,可诱导 VEGF 表达上调,显著抑制肺组织和细胞的炎性细胞因子水平<sup>[22]</sup>。通过获得性肺炎 (CAP) 患儿支气 T 管肺泡灌洗液 (BAL) 的检测,发现重度 CAP 患儿的 IL-17 水平明显增高。Th17 细胞在肺部炎症和纤维化中起关键作用, Th17 细胞和 IL-17A 信号在宿主防御和疾病发展中的意义已在各种感染和自身免疫模型中得到证实<sup>[23]</sup>。大量研究表明, Th17 细胞及其标志性细胞因子 IL-17A 在呼吸道抵抗各种细菌和真菌感染的免疫反应中起关键作用。IL-17A 可作用于感染组织中的非免疫细胞,通过诱导抗菌蛋白、细胞因子和趋化因子的表达来增强先天免疫。Yang 等<sup>[24]</sup> 研究表明,抑制 PI3K/AKT 信号通路 Beclin1 过表达可阻断肺炎甲型流感病毒感染后肺炎链球菌的再感染。因此,清瘟护肺颗粒可能通过以上通路防治 COVID-19。

分子对接结果表明,清瘟护肺颗粒中的药效成分木犀草素、槲皮素、汉黄芩素、 $\beta$ -谷甾醇与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶、ACE2 和 RdRp 的结合能均小于  $-5$  kcal/mol,推测清瘟护肺颗粒的药效成分可能通过阻止病毒进入宿主细胞与 ACE2 结合,阻断 SARS-CoV-2 病毒蛋白与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶结合,阻断病毒 RNA 复制过程,从而发挥防治效果。

综上所述,本文运用网络药理学方法分析清瘟护肺颗粒防治新型冠状病毒肺炎的潜在药效物质,分析筛选清瘟护肺颗粒防治 COVID-19 的 15 个药效成分以及 15 个重要靶点。基于 KEGG 富集和文献报道分析得到清瘟护肺颗粒防治 COVID-19 的 20 条相关信号通路;清瘟护肺颗粒的药效成分木犀草素、槲皮素、汉黄芩素等可能通过与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶、ACE2 和 RdRp 结合作用于 MAPK1、MAPK3、RELA、IL6 等 15 个重要靶点调控 IL-17 信号通路、PI3K/AKT 信号通路等多条信号通路,达到防治 COVID-19 的作用。该研究为进一步研究清瘟护肺颗粒防治 COVID-19 的药效成分及作用机制提供了参考。

## 参考文献

- 1 National Health Commission of the People's Republic of China. Notice on issuing the treatment interventions of COVID-19 [EB/OL]. [2020-02-08]. <http://www.nhc.gov.cn/zyygj/s7653p/202002/8334a8326dd94d329df351d7da8aefc2.shtml>.
- 2 Xu TF, He CG, Yang KS, et al. Study on the material basis and mechanism of action of Qingfei Detox Decoction for the treatment of COVID-19 based on network pharmacology [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2020, 32: 901-908.
- 3 Novel coronavirus positive diagnosis and treatment Plan of the Office of the State Administration of traditional Chinese Medicine (试行第七版) [EB/OL]. [2020-03-03]. [http://www.gov.cn:8080/zhengce/zhengceku/content\\_5486705.html](http://www.gov.cn:8080/zhengce/zhengceku/content_5486705.html).
- 4 The Health and Health Commission of Shaanxi Province, Notice on issuing the traditional Chinese Medicine treatment Plan for pneumonia infected by novel coronavirus (trial second Edition) (试行第二版) [EB/OL]. [2020-02-02]. <http://sxwjw.shaanxi.gov.cn/art/2020/2/2/art1067602.html>.
- 5 Wang J, Feng XH, Guo L, et al. Study on the repair mechanism of Yinqiao powder on lung tissue of mice with severe pneumonia caused by influenza virus [J]. Shaanxi J Tradit Chin Med (陕西中医), 2020, 41: 156-159.
- 6 Hou WQ, Ning YM, Su J, et al. Analysis of medication characteristics of 66 preventive formulae for COVID-19 in China [J]. Chin Tradit Herb Drug (中草药), 2020, 6: 1443-1449.
- 7 Hopkins AL. Network pharmacology [J]. Nat Biotechnol, 2007, 25: 1110-1111.
- 8 Li J, Fu A, Zhang L. An overview of scoring functions used for protein-ligand interactions in molecular docking [J]. Interdiscip Sci, 2019, 11: 320-328.
- 9 Su YL, Duan XH, Xu WC, et al. Novel coronavirus inhibitor screening targeting rna-dependent RNA polymerase [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm (中华中医药学刊), 2020, 38 (5): 7-13.
- 10 Poda G, Vovk AI, Tanin VO, et al. A new scoring function for molecular docking based on AutoDock and AutoDock Vina [J]. Chem Biol Drug Des, 2016, 87: 618-625.
- 11 Yang M, Ni J, Feng Y, et al. Pharmacy of Traditional Chinese Medicine (中药药剂学) [M]. China Tradit Chinese Medicine Publishing House, 2012.
- 12 Huang SJ, Mou F, Li F, et al. Potential mechanism study of herbal pair Schizonepetae Herba and Saposhnikovia Radix

- against coronavirus pneumonia via network pharmacology and molecular docking[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2020, 32:1087-1098.
- 13 Adianti M, Aoki C, Komoto M, et al. Anti-hepatitis C virus compounds obtained from *Glycyrrhiza uralensis* and other *Glycyrrhiza* species[J]. Microbiol Immunol, 2014, 58:180-187.
- 14 Michikawa T, Inoue M, Sawada N, et al. Plasma isoflavones and risk of primary liver cancer in Japanese women and men with hepatitis virus infection: a nested case-control study[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2015, 24:532-537.
- 15 Wang, HQ, Zhang, DJ, Ge M, et al. Formononetin inhibits enterovirus 71 replication by regulating COX-2/PGE2 expression[J]. Virol J, 2015, 12:35.
- 16 Frabasile S, Koishi AC, Kuczera D, et al. Corrigendum: The citrus flavanone naringenin impairs dengue virus replication in human cells[J]. Sci Rep-UK, 2017, 7:43976.
- 17 Wu W, Li R, Li X, et al. Quercetin as an antiviral agent inhibits influenza A virus (IAV) entry[J]. Viruses, 2015, 8(1):6.
- 18 Wang TT, Leng CH, Guo KP, et al. The preventive and therapeutic effect of quercetin on *Staphylococcus aureus* pneumonia in mice and the mechanism of IKK/NF- $\kappa$ B signal pathway[J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med(中药药理与临床), 2019, 4:53-57.
- 19 Bais SS, Ratra Y, Khan NA, et al. Chandipura virus utilizes the pro-survival function of RelA NF- $\kappa$ B for its propagation[J]. J Virol, 2019, 93(14):e00081-1.
- 20 Wang J, Wang Q, Han T, et al. Soluble interleukin-6 receptor is elevated during influenza A virus infection and mediates the IL-6 and IL-32 inflammatory cytokine burst[J]. Cell Mol Immunol, 2015, 12:633-644.
- 21 Yuan K, Zhang XY. Evaluation of the efficacy of linezolid in the treatment of severe pneumonia and its effect on the levels of serum IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$  and TNF- $\alpha$  in patients with severe pneumonia[J]. Chin Med Pharm(中国医药科学), 2020, 4:60-62.
- 22 Podsiad A, Standiford TJ, Ballinger MN, et al. MicroRNA-155 regulates host immune response to postviral bacterial pneumonia via IL-23/IL-17 pathway[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2016, 310:L465-475.
- 23 Ting L, Heng M R, Chao Z, et al. Pneumocystis IL-9 deficiency promotes pulmonary Th17 Response in murine model of infection[J]. Front Immunol, 2018, 9:1118.
- 24 Yang Z, Zou X, Feng P, et al. Inhibition of the PI3K/AKT signaling pathway or overexpression of Beclin1 blocks reinfection of *Streptococcus pneumoniae* after infection of influenza A virus in severe community-acquired pneumonia[J]. Inflammation, 2019, 42:1741-1753.