

新疆祖卡木颗粒活性成分防治新型冠状病毒肺炎的整合药理学和网络药理学研究

吉米丽汗·司马依¹, 买买提明·努尔买买提², 季志红³,
艾尼瓦尔·吾买尔¹, 紫若·塔里哈提¹, 卡依赛尔·阿布都肉苏力¹, 周文婷^{1*}

¹新疆医科大学药学院; ²新疆医科大学维吾尔医学院; ³新奇康药业股份有限公司, 乌鲁木齐 830011

摘要:基于中医药整合药理学、网络药理学及分子对接技术探寻祖卡木颗粒的活性成分防治新型冠状病毒肺炎 (COVID-19), 探讨其治疗 COVID-19 的可能的机制。祖卡木颗粒的 10 味中药借助于开放的 4 大数据库进行检索, 并通过 ADMET 水平筛选得到 48 个候选成分。将候选成分通过预处理, 作为做分子对接的配体。2019-nCoV-M^{pro} 和 ACE2 作为做分子对接的受体, 用 AutoDock 软件进行分子对接。能与 2019-nCoV-M^{pro} 和 ACE2 受体之间具有较好结合活性的成分有 16 个, 其中木犀草素、毛茛草酚、大黄酸、芒丙花素、山奈甲黄素、半甘草异黄酮 B、异鼠李素、洋茛菪黄素、山奈酚和槲皮素等 10 个活性成分满足 score ≥ 0.8 的要求, 并获取 PIK3CG、AKT1 和 CDK6 等 91 个核心靶标。核心靶标涉及 226 个 GO 和 53 条信号通路。祖卡木颗粒通过多成分, “神经-内分泌-免疫”多层面, 多通路发挥对 COVID-19 的作用, 为中医药-民族药进一步的药效物质基础和作用机理研究以及临床应用提供了理论依据。

关键词:新疆祖卡木颗粒; 新型冠状病毒肺炎; 分子对接; 整合药理学; 网络药理学; 活性成分

中图分类号: R966

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2021)5-0868-11

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2021.5.019

Study on the active components of Xinjiang Zukamu granules in the prevention and treatment of COVID-19 based on integrative pharmacology and network pharmacology

JIMILIHAN Si-ma-yi¹, MAIMAITIMING Nu-er-mai-mai-ti², JI Zhi-hong³
AINIWAER Wu-mai-er¹, ZIRUO-Talihat¹, KAYISAIER A-bu-du-rou-su-li¹, ZHOU Wen-ting^{1*}

¹Department of Pharmacology, Xinjiang Medical University; ²Institute of Traditional Uyghur Medicine, Xinjiang Medical University;

³New Cicon Pharmaceutical Co., Ltd., Urumqi 830011, China

Abstract: To explore the mechanism of anti-coronavirus disease 2019 (COVID-19) of Xinjiang Zukamu granule based on integrated pharmacology, network pharmacology and molecular docking. Ten traditional Chinese medicines of Zukamu granules were searched by four open databases, and 48 candidate components were screened by ADMET level. The candidate components were pretreated as ligands for molecular docking. 2019-nCoV-M^{pro} and ACE2 were used as receptors for molecular docking, and Autodock software was used for molecular docking. There are 16 compounds with good binding activity to 2019-nCoV-M^{pro} and ACE2 receptors. Among them, luteolin, eriodictyol, rhein, formononetin, kaempferide, semiicisoiflavone B, isorhamnetin, diosmetin, kaempferol and quercetin met the requirement of score ≥ 0.8 , and 91 core targets such as PIK3CG, AKT1 and CDK6 were obtained. The core target involves 226 GO and 53 signaling pathways. Zukamu granules play an important role in COVID-19 through multi-component, multi-level and multi-channel "neuro-endocrine-immune", which provides a theoretical basis for the further study of pharmacodynamic material basis, mechanism and clinical application of traditional Chinese medicine and ethnic medicine.

收稿日期: 2020-07-21 接受日期: 2021-02-01

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金 (2019D01C217); 国家自然科学基金 (81660696); 新疆医科大学博士后科研启动基金 (170401); 新疆自治区“十三五”重点学科建设基金 (2016)

* 通信作者 Tel: 86-991-4362421; E-mail: sherry_zwt@126.com

Key words: Xinjiang Zukamu granule; COVID-19; molecular docking; TCMIP V2.0; network pharmacology; active components

新型冠状病毒肺炎 (corona virus disease in 2019, COVID-19) 一种包膜 RNA 病毒引起的急性肺部感染。新型冠状病毒 (原名 2019-nCoV, 现名 SARS-CoV-2) 主要侵犯呼吸系统, 主要表现发热、干咳、乏力, 严重者可快速进展为急性呼吸窘迫综合征 (SARI), 脓毒症休克, 甚至多器官衰竭等^[1]。它与一组 SARS 样冠状病毒在致病机制和临床表现等方面也有较大的相似性^[2]。SARS-CoV-2 可与血管紧张素转化酶 II (angiotensin converting enzyme 2, ACE2) 结合进入细胞造成感染。SARS-CoV-2 进入宿主细胞后, 释放 RNA 与细胞中核糖体集合, 翻译出小核糖核酸病毒的 3C 蛋白酶 (3CLpro)^[3,4]。因此 3CLpro 与 ACE2 在 SARS-CoV-2 的致病过程中同样起到关键作用。然而至今仍缺乏有效抑制该病毒的临床药物。

根据 2 月 1 日新疆维吾尔自治区卫生健康委公布的《新型冠状病毒感染的肺炎中医 (维吾尔医) 治疗专家共识》推荐^[5], 不少新疆地产药榜上有名。如属于湿热的血液质腐浊型患者, 推荐酌情使用祖卡木颗粒 (Zukamu granule, ZKMG)。ZKMG 由山奈、睡莲花、薄荷、大枣、洋甘菊、破布木果、甘草、蜀葵子、大黄和罂粟壳等 10 味中药组成, 具有较好的抗流感病毒、抗菌作用和抗炎作用^[6]。

中医药整合药理学研究平台 (integrative pharmacology-based research platform of traditional chinese medicine, TCMIP) V2.0 以中医药百科全书在线数据库 (ETCM) 为数据资源, 包含疾病相关分子集及其功能挖掘、证候相关分子挖掘及功能分析、中药药性相关分子挖掘及功能分析、中药 (含方剂) 靶标预测及功能分析、组方用药规律分析、中医药关联网络挖掘、反向查找中药 (含方剂) 等七大功能模块^[7]。网络药理学是一门以系统生物学, 计算机生物学以及多向药理学为融合的新兴学科。可以从多层次网络稳定的角度探究药物与疾病之间相互作用机理。本研究借助中医药整合药理学、网络药理学和分子对接, 通过综合分析祖卡木颗粒的活性成分, 并通过分子对接技术对 ZKMG 的活性成分与 3CLpro 和 ACE2 进行分子对接, 探讨 ZKMG 对 COVID-19 作用的物质基础, 为其临床应用提供一定的参考和依据。

1 数据库及方法

1.1 ZKMG 化学成分来源

基于 TCMIP V2.0 (<http://www.tcmip.cn/TC->

[MIP/index.php](http://www.tcmip.cn/TC-MIP/index.php)) 的中药数据库, 收集山奈、睡莲花、薄荷、大枣、洋甘菊、破布木果、甘草、蜀葵子、大黄和罂粟壳等中药所含化学成分, 并结合 TCMSp 数据库 (<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>)、TCMID 数据库 (<http://bionet.ncpid.org/>) 和 BATMAN-TCM 数据库 (<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/>) 的 “herb” 中输入 ZKMG 的 10 味中药, 并获取化学成分。

1.2 候选成分的筛选

运用 TCMIP V2.0 的中药成分数据库, 以 “1.1” 所得到的成分英文名为限定词进行检索, 获取其吸收、分布、代谢、排泄和毒性 (ADMET) 水平, 数值含义 0 表示 “good”, 1 表示 “moderate”, 2 表示 “low”, 3 表示 “very low”。并结合 TCMSp 数据库的中药动力学参数口服生物利用度 (oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 和类药性 (drug-like, DL) ≥ 0.18 为筛选标准对 ZKMG 的 10 中药的化学成分进行筛选^[8]。

1.3 ZKMG 候选成分配体的前处理

借助 ZINC 数据库 (<http://zinc.docking.org/>) 下载 “1.2” 所得的候选成分 3D 结构的 mol 格式文件。在 PyMol 软件 (<https://pymol.org/>) 中检查空间结构无误后, 以 pdb 格式保存。将结构件载入 AutoDock Tools 1.5.6 程序, 添加原子电荷, 分配原子类型, 所有柔性键均默认可旋转。保存为 pdbqt 格式, 作为对接配体。

1.4 3CLpro 和 ACE2 受体的前处理

采用 AutoTools 对 3CLpro (PDBID: 6LU7) 和 ACE2 (PDBID: 1R42) 晶体结构蛋白进行预处理, 删除多余的蛋白链和配体、加氢去除水分子, 计算 Gasteiger 电荷, 保存为 pdbqt 文件, 作为用于做分子对接的受体。

1.5 分子对接

以 “1.3 和 1.4” 项下得到的配体和受体使用 Autodock Vina (版本: 1.2, <http://vina.scripps.edu/index.html>) 进行对接。最后取优势构象进行分析, 并用 Schrodinger (<https://www.schrodinger.com>) 作图。

1.6 ZKMG 活性成分及其核心靶标的筛选

以 “1.5” 项下得到的与 3CLpro 和 ACE2 具有较高结合能的成分作为活性成分。通过 TCMIP V2.0 中药成分数据库以活性成分英文名为关键词检索其

靶标。按照 MACCS (molecular ACCess system) 分子指纹特征提取方法和 Tanimoto 系数定义的相似度计量方法, 针对中药化学成分和 FDA 上市药物进行相似性打分, 打分数 $\text{score} \geq 0.8$ 则为相似性药物, 并进行核心靶标的提取。

1.7 基因富集分析

为了系统阐明 ZKMG 治疗 COVID-19 的作用, “1.6”项下得到的核心靶标进行 GO (gene ontology) 富集分析和 KEGG (kyoto encyclopedia of genes and genomes) 信号通路富集分析。并通过 Cytoscape 3.7.1 软件 (版本: 3.7.1, <https://cytoscape.org>) 构建中药-活性成分-核心靶标-关键通路网络图。

2 结果

2.1 ZKMG 化学成分收集及候选成分的筛选

ZKMG 的 10 味中药通过 TCMIP V2.0 的中药数据库只检索到薄荷的 28 个、甘草的 133 个、罂粟壳的 14 个、大黄的 88 个、大枣的 64 个化学成分。在

TCMSP 数据库检索到薄荷的 164 个、大枣的 133 个、甘草的 280 个、大黄的 92 个和罂粟壳的 24 个。在 TCMID 数据库检索到山奈的 24 个、薄荷的 74 个、大枣的 153 个、甘草的 172 个、大黄的 101 个和罂粟壳的 32 个成分。在 BATMAN-TCM 数据库检索到薄荷的 26 个、大黄的 58 个、甘草的 172 个、大枣的 49 个、罂粟壳的 27 个和山奈的 13 个。ZKMG 的 10 味中药中破布木果、蜀葵子、睡莲花和洋甘菊等中药在 4 大数据库中未被检索到。为了避免个别认可度较高的有效成分未筛选出来, 故同时查阅中国药典 (2015 版) 和 CNKI 文献的相关成分, 得到此类成分并合并至 4 大数据库筛选结果中。其中破布木果 16 个、蜀葵子 8 个、睡莲花 6 个和洋甘菊 18 个化学成分^[9-13]。以上化学成分按照 TCMIP V2.0 数据库的 ADMET 吸收水平等于 0 和 1, 以及 TCMSP 数据库的 $\text{OB} \geq 30\%$ 和 $\text{DL} \geq 0.18$ 筛选标准, 并删除重复的成分后得到 48 个候选成分 (见表 1)。

表 1 ZKMG 通过 ADMET 筛选的候选成分

Table 1 Candidate compounds from ZKMG screened by ADMET

候选成分 Active compound	分子式 Molecular formula	ADMET 水平 ADMET level	口服生物利用度 OB (%)	类药性 DL	中药 Herb
槲皮素 Quercetin	$\text{C}_{30}\text{H}_{24}\text{O}_{15}$	1	46.43	0.28	大枣、甘草、睡莲花、洋甘菊、蜀葵子、破布木果
山奈酚 Kaempferol	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$	0	41.88	0.24	甘草、山奈、睡莲花、蜀葵子、洋甘菊
木犀草素 Luteolin	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$	0	36.16	0.25	薄荷、洋甘菊
刺槐素 Acacetin	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_5$	0	34.97	0.24	薄荷、破布木果
香叶木素 Diosmetin	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$	0	31.14	0.27	薄荷
圣草酚 Eriodictyol	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_6$	0	71.79	0.24	薄荷
芫花素 Genkwanin	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_5$	0	37.13	0.24	薄荷
大黄酸 Rhein	$\text{C}_{15}\text{H}_8\text{O}_6$	0	47.07	0.28	大黄
决明内酯 Toralactone	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5$	0	46.46	0.24	大黄
甘草醇 Glycyrol	$\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_6$	1	90.78	0.67	甘草
美迪紫檀素 Medicarpin	$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_4$	0	49.22	0.34	甘草
松属素 Pinoembrin	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_4$	0	64.72	0.18	甘草
异鼠李素 Isorhamnetin	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_7$	0	49.6	0.31	甘草
Lupiwighteone	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_5$	0	51.64	0.37	甘草
7-Methoxy-2-methyl isoflavone	$\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_3$	0	42.56	0.2	甘草
刺芒柄花素 Formononetin	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_4$	0	69.67	0.21	甘草
Isotrifoliol	$\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{O}_6$	0	31.94	0.42	甘草
Semilicoisoflavone B	$\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{O}_6$	0	48.78	0.55	甘草
甘草甜素 Licoricone	$\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_6$	0	63.58	0.47	甘草
甘草素 A Gancaonin A	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_5$	0	51.08	0.4	甘草
甘草素 B Gancaonin B	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_6$	0	48.79	0.45	甘草

续表 1 (Continued Tab. 1)

候选成分 Active compound	分子式 Molecular formula	ADMET 水平 ADMET level	口服生物利用度 OB(%)	类药性 DL	中药 Herb
Glycyrin	C ₂₂ H ₂₂ O ₆	0	52.61	0.47	甘草
草香豆酮 Licoumarone	C ₂₀ H ₂₀ O ₅	1	33.21	0.36	甘草
甘草异黄酮 Licoisoflavone	C ₂₀ H ₁₈ O ₆	1	41.61	0.42	甘草
甘草黄酮 B Licoisoflavone B	C ₂₀ H ₁₆ O ₆	0	38.93	0.55	甘草
甘草香豆素 Licopyranocoumarin	C ₂₁ H ₂₀ O ₇	0	80.36	0.65	甘草
Glyzaglabrin	C ₁₆ H ₁₀ O ₆	0	61.07	0.35	甘草
Sigmoidin-B	C ₂₀ H ₂₂ O ₆	0	34.88	0.41	甘草
异甘草酚 Isoglycyrol	C ₂₁ H ₁₈ O ₆	0	44.7	0.84	甘草
异甘草黄素 Isolicoflavonol	C ₂₀ H ₁₈ O ₆	0	45.17	0.42	甘草
3-Methoxyglabridin	C ₂₁ H ₂₂ O ₅	0	46.16	0.57	甘草
6-Prenylated eriodictyol	C ₂₀ H ₂₀ O ₆	1	39.22	0.41	甘草
8-Prenylated eriodictyol	C ₂₀ H ₂₀ O ₆	1	53.79	0.4	甘草
Vestitol	C ₁₆ H ₁₆ O ₄	0	74.66	0.21	甘草
李果异黄酮 Licoagrisoflavone	C ₂₀ H ₁₆ O ₅	0	57.28	0.49	甘草
Phaseol	C ₂₀ H ₁₆ O ₅	0	78.77	0.58	甘草
Xambioona	C ₂₅ H ₂₄ O ₄	0	54.85	0.87	甘草
光千金藤碱 Stepharine	C ₁₈ H ₁₉ NO ₃	0	31.55	0.33	大枣
香豆素 Coumestrol	C ₁₅ H ₈ O ₅	0	32.49	0.34	大枣
Jujubasaponin V-qt	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₈	1	36.99	0.63	大枣
小檗碱 Berberine	C ₂₀ H ₁₈ NO ₄	0	36.86	0.78	大枣
千金藤碱 Stepholidine	C ₁₉ H ₂₁ NO ₄	0	33.11	0.54	大枣
Nuciferin	C ₁₉ H ₂₁ NO ₂	0	34.43	0.4	大枣
罂粟碱 Papaverine	C ₂₀ H ₂₁ NO ₄	0	64.04	0.38	罂粟壳
可待因 Codeine	C ₁₈ H ₂₁ NO ₃	0	45.48	0.56	罂粟壳
山柰素 Kaempferide	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	0	73.41	0.27	山柰
香兰素 Vanillin	C ₈ H ₈ O ₃	0	52	0.03	破布木果
亚油酸 Linoleic Acid	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	1	41.9	0.14	蜀葵子

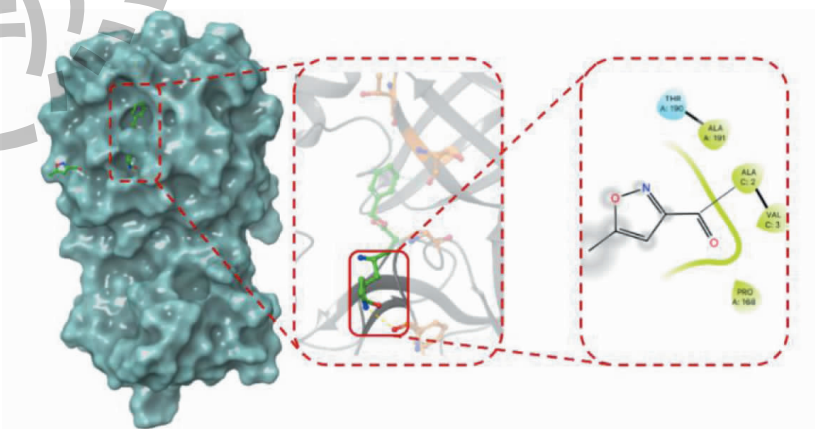
图 1 2019-nCoV-M^{pro}与原配体的三维结构图

Fig. 1 Three dimensional structure of 2019-nCoV-Mpro and original ligand

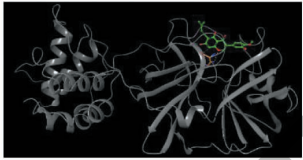
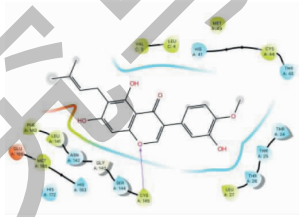
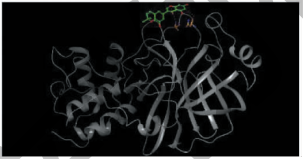
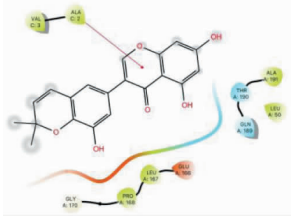
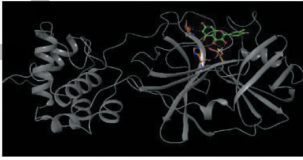
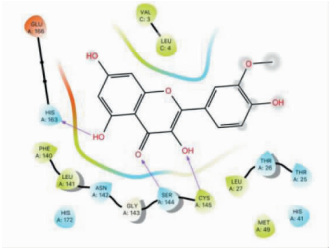
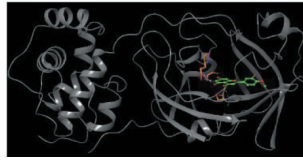
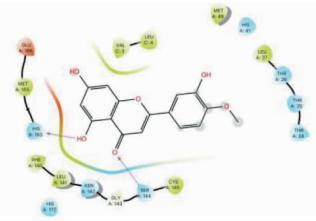
2.2 分子对接分析结果

将 48 个候选成分在通过 ZINC 数据库以 mol 格式保存、在 PyMol 软件以 pdb 格式保存、在 AutoDock Tools 1.5.6 程序以为 pdbqt 格式保存。以 ZKMG 的 48 个候选成分作为配体,以 3CLpro 和 ACE2 蛋白为受体,根据蛋白复合物中配体的坐标以及蛋白活性口袋进行设置,配体设置为柔性,受体刚性(图 1)。按照结合能来判断候选成分与靶点的匹配度,一般认为配体与受体结合的构象稳定时能量越低,发生的作用可能性越大^[14]。为了提高筛选标准,将 48

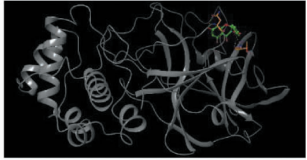
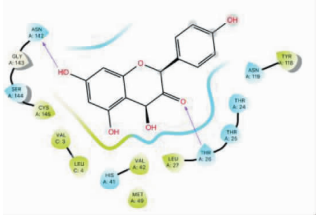
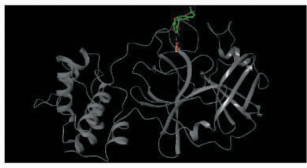
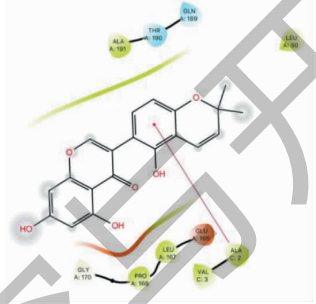
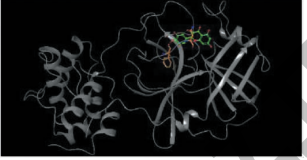
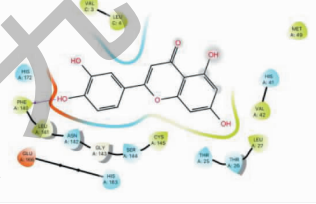
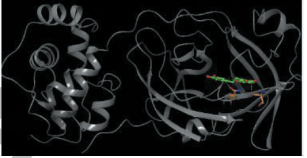
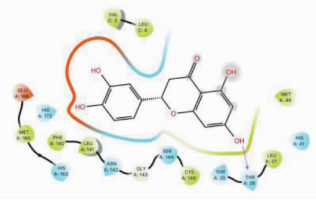
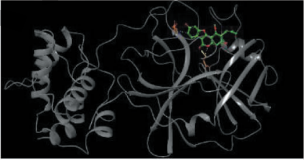
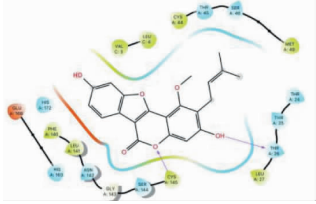
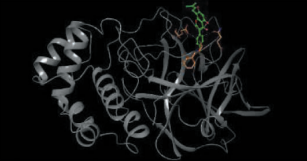
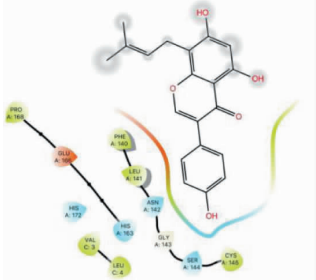
个候选成分的最优结合能与目前临床推荐化学药物,即洛匹那韦 (lopinavir)、利托那韦 (ritonavir) 和瑞德西韦 (remdesivir) 等药物进行对比。结果表明,瑞德西韦最优结合能在 3 个临床推荐化学药物中最低,为 -4.9 kJ/mol,于是收集最优结合能小于该药物的活性成分得到 16 个候选成分,部分结果见表 2。结果可以看出来,活性成分与 2019-nCoV-M^{pro} 结合模式中可以看出,氢键和 π - π 相互作用对小分子与蛋白的识别和稳定性起着关键作用。

表 2 ZKMG 候选成分与作用于 COVID-19 靶点的分子对接

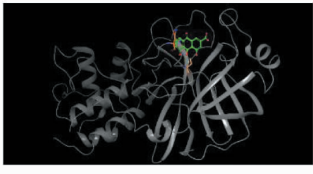
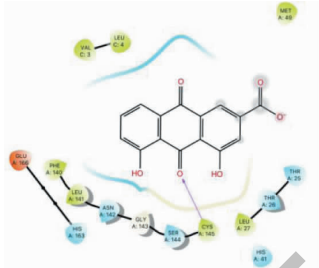
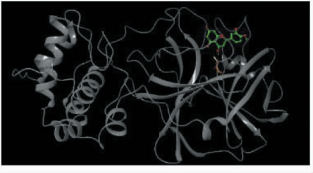
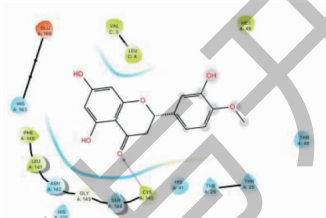
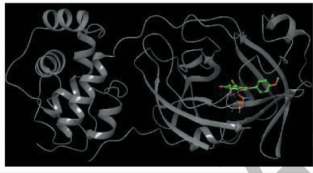
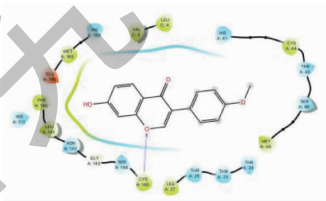
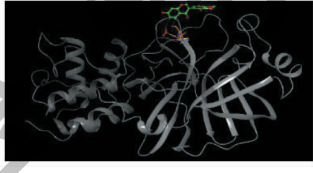
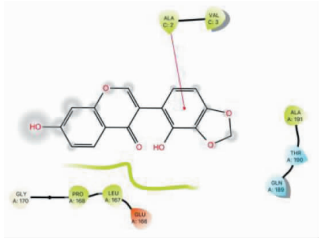
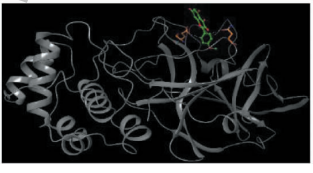
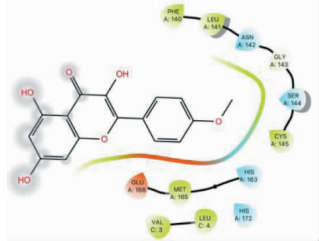

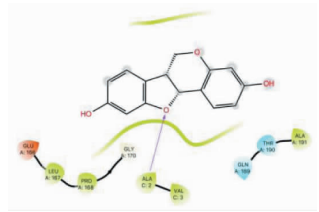
Table 2 Molecular docking between ZKMG candidate components and COVID-19 targets (binding energy \leq -4.9 kJ/mol)

中药 Herb	成分 Compound	三维模式图 3D pattern	二维模式图 2D pattern	结合能 Binding energy
甘草	Gancaonin B			-6.9
甘草	Semilicoisoflavone B			-6.2
甘草	Isorhamnetin			-5.9
薄荷	Diosmetin			-5.7

续表 2(Continued Tab. 2)

中药 Herb	成分 Compound	三维模式图 3D pattern	二维模式图 2D pattern	结合能 Binding energy
甘草、山奈、 睡莲花、 蜀葵子、洋甘菊	Kaempferol			-5.7
甘草	Licoisoflavone B			-5.7
薄荷、洋甘菊	Luteolin			-5.7
薄荷	Eriodictyol			-5.6
甘草	Glycyrol			-5.6
甘草	Lupiwightone			-5.4

续表 2(Continued Tab. 2)

中药 Herb	成分 Compound	三维模式图 3D pattern	二维模式图 2D pattern	结合能 Binding energy
大黄	Rhein			-5.4
大枣、甘草、 睡莲花、 洋甘菊、 蜀葵子、 破布木果	Quercetin			-5.3
甘草	Formononetin			-5.2
甘草	Glyzaglabrin			-5.2
山奈	Kaempferide			-5.2
甘草	Medicarpin			-5.2

2.3 核心靶标的筛选

以上得到的 16 个活性成分通过 TCMIP V2.0 中药靶标数据库以 $\text{score} \geq 0.8$ 为标准进行筛选。其中 gancaonin B、licoisoflavone B、glycyrol、lupiwighteone、glyzaglabrin、medicarpin 等 6 个活性成分没有预测打分数 $\text{score} \geq 0.8$ 的核心靶标。其他 10 个活性成分有 465 个核心靶标,去重复得到 91 个核心靶标。

2.4 基因富集分析结果

利用 R 语言 (cluster profile 包) 对筛选的 91 个核心靶标进行 GO 富集分析及 KEGG 信号通路富集分析。其中 GO 富集分析中共得到 BP 为 133 个,

CC 为 31 种, MF 为 62 种。根据校正后 P 值进行排序,选择前各 10 个基因进行图形显示,见图 2。KEGG 通路富集分析筛选得到 53 条信号通路,根据校正后 P 值进行排序,选择前 15 个基因进行图形展示(见图 3)。

2.5 中药-活性成分-核心靶标-关键通路多维网络分析

为了系统的阐明 ZKMG 对 COVID-19 的作用,构建中药-活性成分-核心靶标-关键通路多维网络,见图 4。ZKMG 的 10 味中药中罂粟壳不包含 10 个活性成分。其余 9 味中药中来自于甘草的 5 个活性成分、来自于洋甘菊和薄荷的各 3 个活性成分、来自

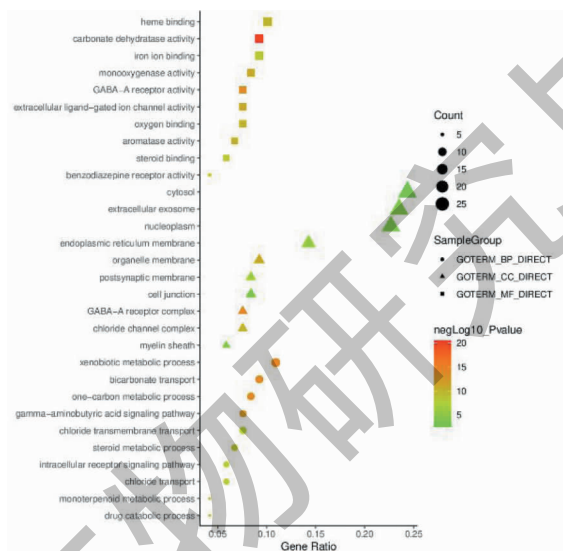


图2 ZKMG 治疗 COVID-19 核心靶标的 GO 基因功能富集分析

Fig. 2 Functional enrichment analysis of GO gene in the treatment of COVID-19 with active components of ZKMG

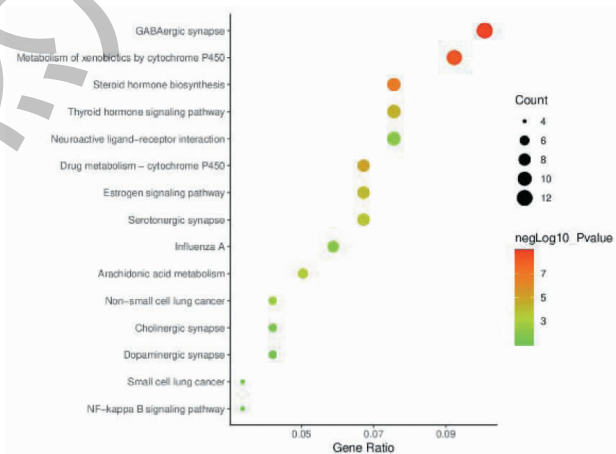


图3 ZKMG 治疗 COVID-19 核心靶标的 KEGG 信号通路富集分析

Fig. 3 Enrichment analysis of KEGG signaling pathway of hub target in the treatment of COVID-19 with active components of ZKMG

于山奈,蜀葵子和睡莲花的各 2 个活性成分以及自于大黄和大枣的各 1 个活性成分。中药-活性成分-核心靶标-关键通路多维网络包括 9 味中药、10 个活性成分、91 个核心靶标以及 15 个关键通路。活性成分通过联合调控细胞色素 P450 超家族 (CYP1A2、CYP19A1、CYP3A4、CYP3A7、CYP1B1、CYP3A5、CYP2E1、CYP2C9、CYP2D6) 参与药物代谢-细胞色素 P450 (drug metabolism-cytochrome P450) 和细胞色素 P450 对外源物质代谢的影响

(metabolism of xenobiotics by cytochrome P450), γ -氨基丁酸受体家族 (GABRA2、GABRG1、GABRA3、GABRA1、GABRG2、GABRA4、GABRA6、GABRA5、GABRG3) 参与 γ -氨基丁酸能突触 (GABAergic synapse) 和神经活性配体-受体相互作用 (neuroactive ligand-receptor interaction) 以及 PIK3CG、AKT1 和 CDK6 同时参加非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer) 和小细胞肺癌 (small cell lung cancer)。

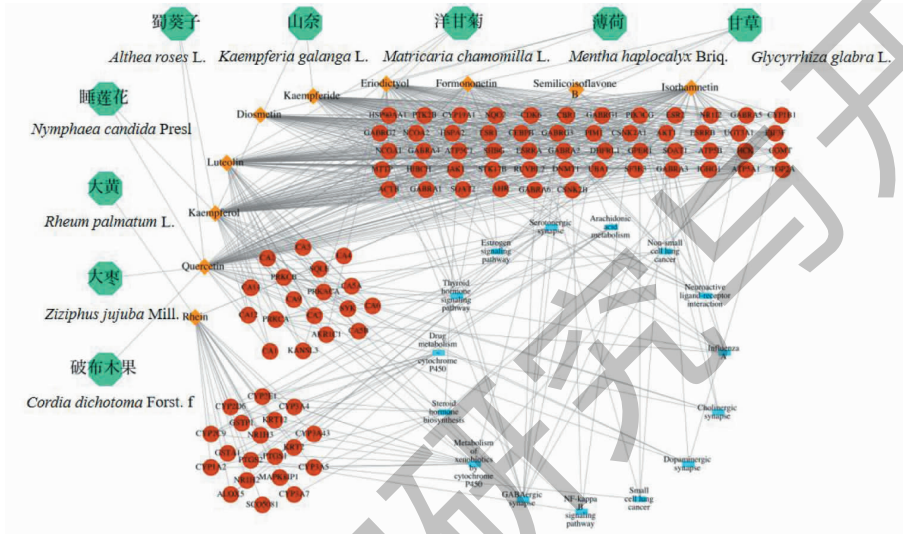


图 4 ZKMG 治疗 COVID-19 的“中药-化学成分-核心靶标-关键通路”多维网络关系

Fig. 4 The multidimensional network relationship of “TCM-chemical compound-hub target-key pathway” of ZKMG for treatment COVID-19

3 讨论

TCMIP V2.0 是有助于克服中药现代研究中“化学成分体内过程-药理活性-病征效应”之间“碎片化”现象,形成中药特色的药理学评价体系和研究方法。本文通过中医药整合药理学平台和网络药理学结合发现,ZKMG 的 16 个活性成分与 2019-nCoV-Mpro 和 ACE2 最优结合能小于符合临床推荐化学药物。按照 MACCS 分子指纹特征提取方法和 Tanimoto 系数定义的相似度量方法,16 个活性成分与 FDA 上市药物进行相似性打分,结果表明,其中木犀草素、毛茛草酚、大黄酸、芒丙花素、山奈甲黄素、半甘草异黄酮 B、异鼠李素、洋茛菪黄素、山奈酚和槲皮素等 10 个活性成分满足 $\text{score} \geq 0.8$ 的要求。其中木犀草素 (luteolin) 通过其抗炎和抗氧化活性抑制脓毒症诱导的急性肺损伤^[15]。大黄酸 (rhein) 通过改善肺部微血管屏障,从而有效改善油酸所致急性肺损伤大鼠肺部炎症及水肿^[16]。

芒柄花黄素 (formononetin) 诱导肺癌细胞 A549 凋亡,抑制其生长^[17]。Kaempferide 通过降低 Akt 和 claudin-2 表达,增强人肺腺癌 A549 细胞的化疗敏感性^[18]。香叶木素 (diosmetin) 通过降低动脉氧合指数及炎症因子表达水平,对胎粪诱导的新生大鼠急性肺损伤具有一定的治疗作用^[19]。感染 SARS-CoV-2 病毒的患者有大量的 INF- γ 、MCP-1、IP-10 和 IL-1 β ^[21]。SARS-CoV-2 病毒感染导致了抑制炎症的 IL-4 和 IL-10 的分泌增加^[22]。槲皮素 (quercetin) 会下调 IL-6、IL-1 β 和 TNF 以及上调 IL-10 而发挥抗炎作用^[22]。而山奈酚 (kaempferol) 通过减轻氧化应激以及显著降低支气管肺泡灌洗液中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 等炎症因子,抑制 NF- κ B 信号通路,从而对病毒诱导的急性肺损伤小鼠产生保护作用^[23]。以上都是对新疆祖卡木颗粒活性成分防治 COVID-19 的预测结果提供佐证。其中圣草酚 (eriodictyol)、半甘

草异黄酮 B(semilicoisoflavone B) 和异鼠李素(isorhamnetin) 等成分的研究报道较少, 需要进一步研究。

中药-活性成分-核心靶标-关键通路多维网络分析结果表明, ZKMG 中存在一个活性成分与多个核心靶标作用, 同时也存在不同活性成分用于同一个核心靶标的现象, 这体现了中药多成分与多靶标之间共同作用的机制。KEGG 通路分析得出, PIK3CG、AKT1 和 CDK6 等核心靶标同时参加神经系统、内分泌和免疫应答相关的信号通路以及肺部最为相关的小细胞肺癌和非小细胞肺癌。

综上所述, 木犀草素、毛茛草酚、大黄酸、芒丙花素、山奈甲黄素、半甘草异黄酮 B、异鼠李素、洋茛菪黄素、山奈酚和槲皮素等 10 个活性成分可能通过与 3C 类似蛋白酶结合作用于多靶点、多通路的协同作用来发挥疗效的, 从而起到辅助治疗 COVID-19 的作用。鉴于整合药理学和分子对接的局限性, 需要开展实验研究, 为 ZKMG 治疗 COVID-19 以及后期的药物开发提供理论和实验依据。

参考文献

- 1 Simayi J, Noormaimaiti M, Wumaier A, et al. Study on the active components in the adjuvant treatment of novel coronavirus pneumonia with Jinhuaqinggan Granules based on the network pharmacology and molecular docking[J]. Chin Med Mater(中药材), 2020, 43: 1275-1283.
- 2 Tian X, Li C, Huang A, et al. Potent binding of 2019 novel coronavirus spike protein by a SARS coronavirus-specific human monoclonal antibody[J]. Emerg Microbes Infec, 2020, 9(1): 382-385.
- 3 Anand K. Coronavirus main proteinase (3CLpro) structure: basis for design of anti-SARS drugs[J]. Science, 2003, 300: 1763-1767.
- 4 Deng WN, Wang LN, Cui YL. Research progress on drug targets of anti-corona virus disease 2019[J]. Drugs Clin(现代药物与临床), 2020, 35: 401-404.
- 5 The novel coronavirus pneumonia is a Chinese medicine prevention and cure program with "Xinjiang version". The Xinjiang Uygur Autonomous Region health and Health Committee[EB/OL]. (2020-02-01). <http://www.xjhfp.gov.cn/info/2026/17855.htm>.
- 6 Jimilihan S, Nuermaiti M, Ji ZH, et al. Network pharmacology study on action mechanism of active compounds in Zukamu Granules[J]. Liaoning J Tradit Chin Med(辽宁中

医杂志), 2020, 47(11): 154-158.

- 7 Wang P, Tang SH, Su J, et al. Modern research progress of traditional Chinese medicine based on integrative pharmacology[J]. Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2018, 43: 1297-1302.
- 8 Simayi J, Wumaier A, Yusufu M, et al. Study on the mechanism of anti-atherosclerosis effect of *Cydonia Oblanga* Mill. in Xinjiang based on network pharmacology[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2019, 31: 1783-1790.
- 9 Zhao J, He JH, Yan M, et al. Studies on the chemical constituents of *Nymphaea candida* Presl[J]. Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2007, 32: 1232-1234.
- 10 Zhao Y, Zhang D, Liang C, et al. Chemical constituents from *Matricaria chamomilla* L. (I)[J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志), 2018, 27: 324-331.
- 11 Chen W, Wang XM, Liu L, et al. Pharmacognosy detection and contents determination of rutin, kaempferol and quercetin of Hollyhock seed[J]. Chem Bioeng(化学与生物工程), 2019, 36(9): 64-68.
- 12 Liu XG. Studies on chemical constituents of *Ficus pulcherri-ma* [D]. Shihezi; Shihezi University(石河子大学), 2017.
- 13 Wu HD, Li Y, Wang Y, et al. Determination of five fatty acids in *Althaea rosea* seed oil by pre column derivatization HPLC[J]. J Int Pharm Res(国际药理学研究杂志), 2018, 45: 479-482.
- 14 Jimilihan S, Maimaitiming M, Ainiwaer W, et al. Study on active components of Jinyebaidu granules in COVID-19 treatment using ADME and "Lipinski's Rules"[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2020, 32: 1629-1636.
- 15 Sun LC, Chen X, Yao Y, et al. Protective effect of luteolin on acute lung injury in sepsis mice[J]. Chin J Emerg Med(中华急诊医学杂志), 2019, 28: 717-723.
- 16 Cao F, Li HT, Wang MM. Treatment efficacy of rhein in the oleic acid induced acute lung injury mice and its influence on pulmonary microvascular barrier and inflammatory in mice[J]. Guizhou Med J(贵州医药), 2018, 42: 917-921.
- 17 Li T. Effects and mechanism of formononetin on the proliferation and apoptosis of human lung cancer cells A549[J]. Acta Med Sin(华夏医学), 2015, 28(1): 28-31.
- 18 Eguchi H, Matsunaga T, Endo S, et al. Kaempferide enhances chemosensitivity of human lung adenocarcinoma A549 cells mediated by the decrease in phosphorylation of Akt and Claudin-2 expression[J]. Nutrients, 2020, 12(4): 1190.