

## · 临床论著 ·

# 基于网络药理学和分子对接探讨寒湿阻肺方治疗 COVID-19 的作用机制

刘建滔<sup>1</sup> 谢 丹<sup>1</sup> 李雪文<sup>2,3</sup> 武梦依<sup>2</sup> 刘云涛<sup>2</sup> 丁邦晗<sup>2</sup> 王 磊<sup>2,3</sup>

**摘要** **目的** 利用网络药理学数据挖掘分析和分子对接的方法,探讨寒湿阻肺方治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的作用机制。**方法** 在中药系统药理数据库和分析平台(TCMSP)等获取寒湿阻肺方的有效成分和靶点,使用 GeneCards 等数据库检索冠状病毒肺炎的靶点,借助 Cytoscape 软件构建和分析有效成分-靶点网络,开展基因本体(GO)和京都基因和基因组百科全书(KEGG)分析,使用 Autodock Vina 进行分子对接。**结果** 筛选出寒湿阻肺方治疗冠状病毒肺炎的 48 个有效成分和 48 个潜在作用靶点;GO 富集主要集中在脂多糖反应、细胞因子受体结合等条目;KEGG 主要涉及糖尿病并发症中的晚期糖基化终产物及其受体(AGE-RAGE)、肿瘤坏死因子(TNF)、白介素 17(IL-17)等信号通路;分子对接显示柚皮素等多个有效成分与刺突糖蛋白及血管紧张素转化酶 2(ACE2)的亲和力高于参考药物。**结论** 寒湿阻肺方治疗 COVID-19 主要通过调控 AGE-RAGE、TNF、IL-17 等信号通路,抑制过度的炎症反应,减轻肺损伤。

**关键词** 新型冠状病毒肺炎;寒湿阻肺方;网络药理学;靶点;分子对接

## Mechanism of HanShi ZuFei Formula in Treatment of COVID-19 Based on Network Pharmacology and Molecular Docking Technology

LIU Jian-tao<sup>1</sup>, XIE Dan<sup>1</sup>, LI Xue-wen<sup>2,3</sup>, WU Meng-yi<sup>2</sup>, LIU Yun-tao<sup>2</sup>, DING Bang-han<sup>2</sup>, and WANG Lei<sup>2,3</sup> 1 The Second Clinical Medical College of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou (510120); 2 The State Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Wet Syndrome Co-established by the Ministry of Education, The Second Affiliated Hospital of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou (510120); 3 Heart Center, The Second Affiliated Hospital of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou (510407)

**ABSTRACT** **Objective** To explore the mechanism of Hanshi Zufeif formula(HSZFF) treating coronavirus disease 2019(COVID-19)by the data mining analysis of network pharmacology and the molecular docking. **Methods** The main components and targets of the HSZFF were collected from traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform(TCMSP) and other database. The targets of COVID-19 were obtained from GeneCards and other databases. Cytoscape software was used to construct and analyze the ingredient-target network, followed by gene ontology(GO) and kyoto encyclopedia of genes and genomes(KEGG)analysis. Autodock Vina was applied for molecular docking. **Results** Totally 48 active components of HSZFF and 48 targets of COVID-19 were screened. Go enrichment analysis mainly focused on the response to lipopolysaccharide, cytokine receptor binding, etc. KEGG pathway analysis mainly included advanced glycation end products -the receptor of advanced glycation endproducts (AGE-RAGE) in diabetic complications, tumor necrosis factor (TNF) and interleukin 17 (IL-17) signaling pathway. Molecular docking analysis showed that the affinity of multiple active ingredients such as naringenin with spike glycoprotein and angiotensin converting enzyme 2(ACE2) was higher than that of the ref-

基金项目: 国家中医院管理局中医药防治新型冠状病毒感染的肺炎应急研究专项课题(No. 2020ZYLCYJ05-11); 广东省海外名师项目(No. E1-6201-19-111-002)

作者单位: 1. 广州中医药大学第二临床医学院(广州 510120); 2. 省部共建中医证治国家重点实验室, 广州中医药大学第二附属医院(广州 510120); 3. 广州中医药大学第二附属医院心脏中心(广州 510120)

通讯作者: 王 磊, Tel: 020-39318491, E-mail: Dr.wanglei@139.com

DOI: 10. 7661/j. cjim. 20200903. 288

erence drug. **Conclusion** HSZFF could inhibit excessive inflammation to attenuate acute lung injury via regulating AGE-RAGE, TNF, IL-17 pathways in the treatment of COVID-19.

**KEYWORDS** covonavirus disease 2019; Hanshi Zufe Formula; network pharmacology; target; molecular docking

新型冠状病毒肺炎 (coronavirus disease 2019, COVID-19) 是由感染新型冠状病毒 (severe acute respiratory syndromes coronavirus 2, SARS-CoV-2) 所致的急性呼吸道传染性疾病, 临床表现以发热、乏力、呼吸困难等为主要症状, 传染性强<sup>[1]</sup>。初步临床数据显示中医药对 COVID-19 的治疗发挥了积极作用<sup>[2]</sup>。全小林院士认为, 此次疫病是由寒湿裹挟戾气侵袭人群而为病, 其根本病机为“寒湿疫”, 而“寒湿阻肺”是其常见证候<sup>[3]</sup>。针对这一证型, 国家最新发布的《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案 (试行第八版)》<sup>[4]</sup> (以下简称“第八版”诊疗方案) 中推荐处方为寒湿阻肺方, 方由苍术、陈皮、厚朴、藿香、草果、生麻黄、羌活、生姜、槟榔组成, 具有祛湿行气、温肺散寒之功。

网络药理学基于网络数据库及生物信息数据分析方法, 力求寻找药物的有效成分及对疾病的治疗靶点, 初步探讨药物复杂的分子机制, 是一门进行药理研究的新兴学科<sup>[5]</sup>。分子对接技术是利用计算机技术研究分子间的相互作用, 模拟小分子配体与已知受体大分子之间的相互作用, 寻找其互相结合模式的过程<sup>[6]</sup>。本研究基于网络药理学筛选寒湿阻肺方的活性化合物及作用靶点, 以期对 COVID-19 的临床应用与后期的药物开发提供参考。

## 材料与方法

1 寒湿阻肺方有效成分及靶点筛选 在中药系统药理数据库和分析平台 (traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform, TCMSP, <http://tcmsp.com/tcm-sp.php>) 及中医药综合数据库 (traditional Chinese medicine integrated database, TCMID, <http://119.3.41.228:8000/tcmid/>) 中分别搜索寒湿阻肺方药物的有效成分。剔除重复部分, 以口服生物利用度 (oral bioavailability, OB)  $\geq 30\%$  和类药性 (drug likeness, DL)  $\geq 0.18$  进一步筛选有效成分, 并在此基础上找出相应的靶点。通过 UniProt 数据库 (<https://www.uniprot.org/>) 获得靶点的基因名称。

2 COVID-19 相关靶点筛选 在 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>)、在线人类孟德尔遗传数据库 (online mendelian inheritance in

man, OMIM, <https://omim.org>)、Drugbank (<https://www.drugbank.ca>) 中, 通过关键词“coronavirus pneumonia”检索与 COVID-19 相关的靶点。

3 潜在作用靶点的确定 通过 Venny2.1 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>) 将方法 1 和方法 2 中得到的靶点进行匹配, 得到潜在作用靶点。

4 有效成分与潜在作用靶点间的网络构建 通过软件 Cytoscape (v3.7.1) 将方法 1 中筛选出有效成分和方法 3 中得到潜在作用靶点构建有效成分-潜在作用靶点网络。

5 蛋白互作网络的构建 把方法 3 中得出的作用靶点导入 STRING (<https://string-db.org/cgi/input.pl>) 数据库 Multiple Proteins 中, 通过 Cytoscape (v3.7.1) 分析蛋白相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络。

6 基因本体 (gene ontology, GO) 富集分析和京都基因和基因组百科全书 (kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 分析 阈值均设置为  $P < 0.05$ , 通过 R 软件 (v3.6.2) 中 cluster Profiler 对 1.3 中得到的作用靶点分别进行开展 GO 和 KEGG 分析。

7 有效成分与目标蛋白分子对接 SARS-CoV-2 通过刺突糖蛋白 (spike glycoprotein, 简称 S 蛋白) 与人血管紧张素转化酶 2 (angiotensin converting enzyme2, ACE2) 结合, 从而进入体内细胞, 导致病毒的复制及扩散<sup>[7]</sup>。从蛋白数据库 (Protein Data Bank, PDB, <https://www.rcsb.org/>) 获取 ACE2 结构 (PDB ID: 1R42) 及 S 蛋白 (PDB ID: 6VSB) 作为分子对接受体, 从 TCMSP 数据库中获取成分-靶点网络中主要有效成分的化学结构, 以洛匹那韦 (lopinavir)、利托那韦 (ritonavir)、瑞德西韦 (remdesivir) 作为参考药, 通过 Autodock Vina (v1.1.2) 软件进行化合物与蛋白对接, 选取结合能最小的构象。

## 结 果

1 寒湿阻肺方有效成分及靶点筛选 (表 1) 检索到寒湿阻肺方有效成分共计 66 个, 靶点共计 231 个, 各中药性味、归经、功效、有效成分和靶点数量见表 1。

2 COVID-19 相关靶点筛选 通过 Gene-

Cards、OMIM、Drugbank 数据库筛选出与 COVID-19 相关的靶点分别为 259、1、2 个,剔除重复靶点,共得到 260 个与 COVID-19 相关靶点。

3 潜在作用靶点的确定 通过靶点比对,筛选出 48 个寒湿阻肺方治疗 COVID-19 的潜在作用靶点。

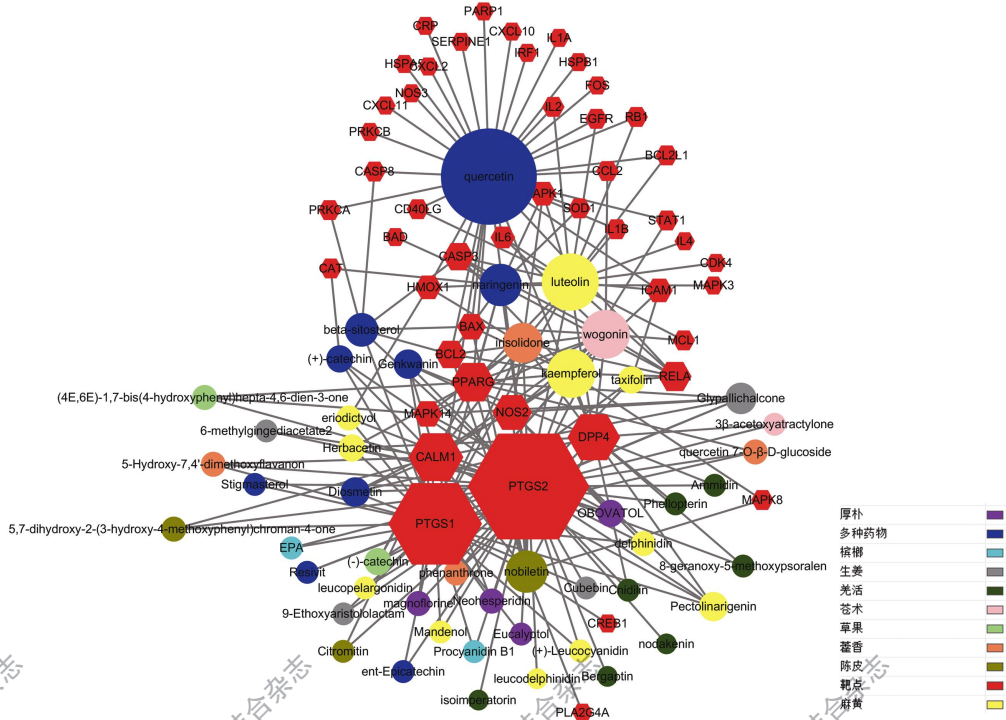
4 有效成分-潜在作用靶点网络构建(图 1、表 2) 在有效成分-靶点网络中,寒湿阻肺方中有 48 个化学成分和 48 个潜在靶点具有相关性。度值(degree)  $\geq 10$  的主要有效成分,包括槲皮素(querce-tin)、木犀草素(luteolin)、汉黄芩素(wogonin)、山柰酚(kaempferol)、柚皮素(naringenin)、川陈皮素(nobiletin)、尼泊尔鸢尾异黄酮(irisolidone);在潜在靶点中,degree 排名前 5 的分别是环氧合酶 2(pros-

taglandin-endoperoxide synthase 2,PTGS2)、环氧合酶 1(prostaglandin-endoperoxide synthase 1,PTGS1)、钙调蛋白 1(calmodulin-1,CALM1)、二肽基肽酶 4(dipeptidyl peptidase 4,DPP4)、过氧化物酶体增殖激活受体  $\gamma$ (peroxisome proliferator activated receptor gamma,PPARG)。

5 蛋白互作网络构建(图 2) 大于平均节点度数(12.72)的有 21 个,主要包括白介素 6(interleukin 6,IL-6)、丝裂原活化蛋白激酶 1(mitogen-activated protein kinase1,MAPK1)、丝裂原活化蛋白激酶 8(mitogen-activated protein kinase8,MAPK8)、白介素 1 $\beta$ (interleukin 1 $\beta$ ,IL-1 $\beta$ )、转录因子 p65(transcription factor p65,RELA)。

表 1 寒湿阻肺方药物特性、有效成分和靶点数

| 中药 | 性味     | 归经       | 功效             | 有效成分数 | 靶点数 |
|----|--------|----------|----------------|-------|-----|
| 槟榔 | 苦、辛,温  | 胃、大肠     | 杀虫,消积,行气,利水    | 8     | 20  |
| 苍术 | 辛、苦,温  | 脾、胃、肝    | 燥湿健脾,祛风湿,发表    | 4     | 54  |
| 草果 | 辛,温    | 脾、胃      | 燥湿散寒,除痰截疟      | 5     | 147 |
| 陈皮 | 苦、辛,温  | 肺、脾      | 理气健脾,燥湿化痰      | 4     | 59  |
| 厚朴 | 苦、辛,温  | 脾、胃、肺、大肠 | 燥湿,行气,消积,平喘    | 7     | 43  |
| 藿香 | 辛,微温   | 脾、胃、肺    | 化湿,解暑,止呕       | 8     | 159 |
| 麻黄 | 辛,微苦,温 | 肺、膀胱     | 发汗散寒,宣肺平喘,利水消肿 | 23    | 209 |
| 羌活 | 辛、苦,温  | 膀胱、肾     | 解表散寒,胜湿止痛      | 12    | 40  |
| 生姜 | 辛,微温   | 肺、脾      | 发汗解表,温中止呕,温肺止咳 | 8     | 45  |

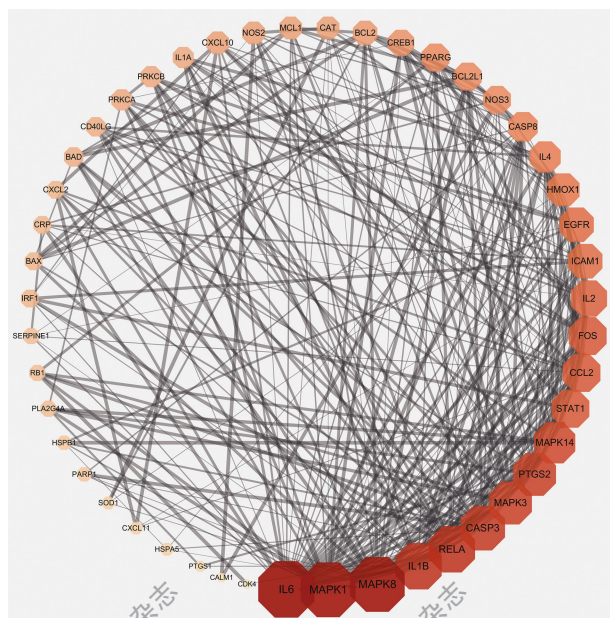


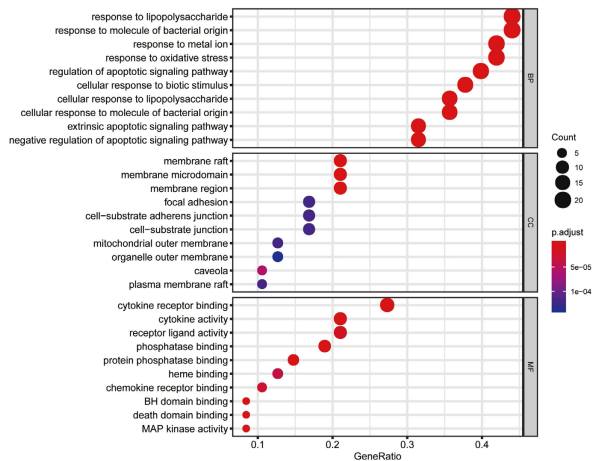
注:红色六边形代表潜在靶点,圆形代表有效成分,不同颜色代表不同药物,节点大小与 degree 呈正相关

图 1 有效成分-潜在靶点网络

表 2 寒湿阻肺方有效成分

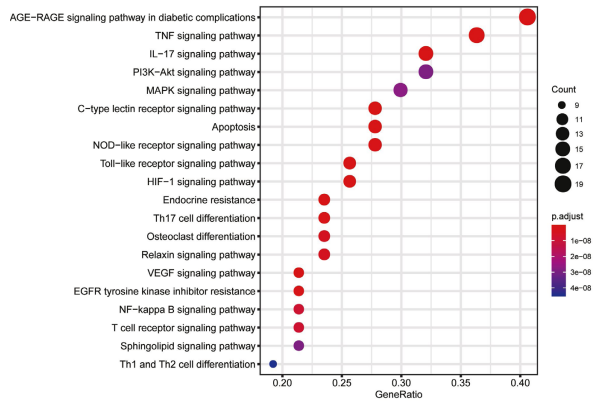
| 有效成分                                                                                        | 中药       | 度值 | 有效成分                                                                                        | 中药       | 度值 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|----------|----|---------------------------------------------------------------------------------------------|----------|----|
| 槲皮素( quercetin )                                                                            | 草果、藿香、麻黄 | 36 | 木犀草素( luteolin )                                                                            | 麻黄       | 18 |
| 汉黄芩素( wogonin )                                                                             | 苍术       | 14 | 山柰酚( kaempferol )                                                                           | 麻黄       | 14 |
| 柚皮素( naringenin )                                                                           | 陈皮、麻黄    | 11 | 川陈皮素( nobiletin )                                                                           | 陈皮       | 11 |
| 尼泊尔鸢尾异黄酮( irisolidone )                                                                     | 藿香       | 10 | $\beta$ -谷固醇( $\beta$ -sitosterol )                                                         | 麻黄、羌活、生姜 | 7  |
| 刺果甘草查耳酮( glypallichalcone )                                                                 | 生姜       | 6  | 芫花素( genkwanin )                                                                            | 藿香、麻黄    | 5  |
| 香叶木素( diosmetin )                                                                           | 麻黄、羌活    | 5  | 柳穿鱼黄素( pectolinarigenin )                                                                   | 麻黄       | 5  |
| (+)-儿茶素[ (+)-catechin ]                                                                     | 槟榔、麻黄    | 4  | 草质素( herbacetin )                                                                           | 麻黄       | 4  |
| 黄杉素( taxifolin )                                                                            | 麻黄       | 4  | 厚朴新酚( obovatol )                                                                            | 厚朴       | 4  |
| (-)-儿茶素[ (-)-catechin ]                                                                     | 草果       | 4  | 飞燕草素( delphinidin )                                                                         | 麻黄       | 3  |
| 圣草素( eriodictyol )                                                                          | 麻黄       | 3  | 5-羟基-7,4'-二甲氧基黄酮( 5-hydroxy-7,4'-di-methoxyflavanon )                                       | 藿香       | 3  |
| 菲酮( phenanthrone )                                                                          | 藿香       | 3  | 槲皮素 7-o- $\beta$ -d-葡萄糖苷( quercetin 7-o- $\beta$ -d-glucoside )                             | 藿香       | 3  |
| 新橙皮苷( neohesperidin )                                                                       | 厚朴       | 3  | 玉兰碱( magnoflorine )                                                                         | 厚朴       | 3  |
| 5,7-二羟基-2-(3-羟基-4-甲氧基苯基)苯并-4-酮( 5,7-dihydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl) chroman-4-one ) | 陈皮       | 3  | (4E,6E)-1,7-双(4-羟基苯基)庚-4,6-二烯-3-酮 [ (4E,6E)-1,7-bis(4-hydroxyphenyl) hepta-4,6-dien-3-one ] | 草果       | 3  |
| 6-甲基二乙酸二甲酯( 6-methylgingediacetate2 )                                                       | 生姜       | 2  | 9-乙氧基马兜铃内酰胺( 9-ethoxyaristololactam )                                                       | 生姜       | 2  |
| 菝葜茄素( cubebin )                                                                             | 生姜       | 2  | 欧前胡素( ammidin )                                                                             | 羌活       | 2  |
| 8-香叶氧-5-甲氧基补骨脂素( 8-geranox-5-methoxypsoralen )                                              | 羌活       | 2  | 补骨脂素( cnidilin )                                                                            | 羌活       | 2  |
| 珊瑚菜内酯( phellopterin )                                                                       | 羌活       | 2  | 无色花青素( resivit )                                                                            | 麻黄、槟榔    | 2  |
| 表儿茶素( ent-epicatechin )                                                                     | 槟榔、草果    | 2  | 豆甾醇( stigmasterol )                                                                         | 麻黄、生姜    | 2  |
| 白天竺葵甙元( leucopelargonidin )                                                                 | 麻黄       | 2  | 十八碳二烯( mandenol )                                                                           | 麻黄       | 2  |
| 无色花青素[ (+)-leucocyanidin ]                                                                  | 麻黄       | 2  | 桉油醇( eucalyptol )                                                                           | 厚朴       | 2  |
| 米桔素( citromitin )                                                                           | 陈皮       | 2  | 3 $\beta$ -乙酰氧基苍术酮( 3 $\beta$ -acetoxyatractylone )                                         | 苍术       | 2  |
| 二十碳五烯酸( EPA )                                                                               | 槟榔       | 2  | 原花青素 b1( procyanidin b1 )                                                                   | 槟榔       | 2  |
| 佛手柑( bergapten )                                                                            | 羌活       | 1  | 紫花前胡甙( nodakenin )                                                                          | 羌活       | 1  |
| 异欧前胡素( isoimperatorin )                                                                     | 羌活       | 1  | 白飞燕草苷配基( leucodelphinidin )                                                                 | 麻黄       | 1  |





注:圆圈大小和颜色代表富集的显著程度,颜色由蓝到红,圆圈由小到大,表示相关程度由低至高

图 3 寒湿阻肺方 GO 分析



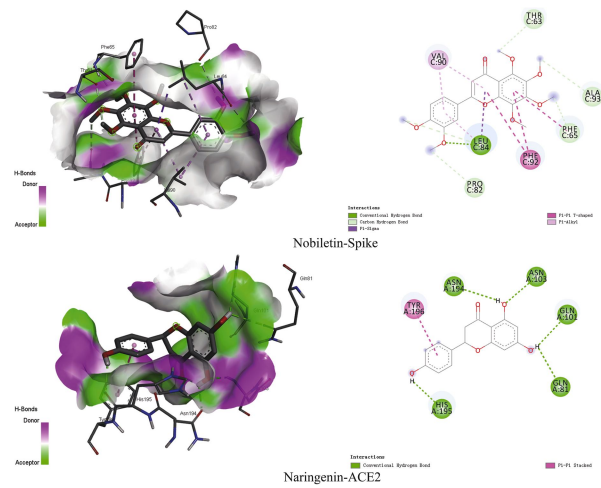
注:圆圈大小和颜色代表富集的显著程度,颜色由蓝到红,圆圈由小到大,表示相关程度由低至高

图 4 寒湿阻肺方 KEGG 分析

7 有效成分与目标蛋白的分子对接(表 3、图 5)在与 ACE2 对接中,亲和力最高的为柚皮素(naringenin, -5.14 kcal/mol)。在与 S 蛋白对接中,川陈皮素(nobiletin, -6.18 kcal/mol)、尼泊尔鸢尾异黄酮

表 3 与 SARS-CoV-2 Spike 及 ACE2 分子对接结合能

| 化合物      | 化学式                                                                          | CAS 号        | 与 S 蛋白对接结合能 (kcal/mol) | 与 ACE2 对接结合能 (kcal/mol) |
|----------|------------------------------------------------------------------------------|--------------|------------------------|-------------------------|
| 柚皮素      | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>                               | 73123-10-1   | -5.18                  | -4.40                   |
| 木犀草素     | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>                               | 491-70-3     | -5.26                  | -4.07                   |
| 山柰酚      | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>                               | 520-18-3     | -4.95                  | -3.95                   |
| 汉黄芩素     | C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>                               | 632-85-9     | -5.25                  | -5.01                   |
| 柚皮素      | C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>                               | 153-18-4     | -5.16                  | -5.14                   |
| 川陈皮素     | C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>8</sub>                               | 478-01-3     | -6.18                  | -3.80                   |
| 尼泊尔鸢尾异黄酮 | C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>                               | 2345-17-7    | -5.68                  | -4.65                   |
| 洛匹那韦     | C <sub>37</sub> H <sub>48</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub>                | 192725-17-0  | -1.67                  | -1.94                   |
| 利托那韦     | C <sub>37</sub> H <sub>48</sub> N <sub>6</sub> O <sub>5</sub> S <sub>2</sub> | 155213-67-5  | -0.20                  | 0.03                    |
| 瑞德西韦     | C <sub>27</sub> H <sub>35</sub> N <sub>6</sub> O <sub>8</sub> P              | 1809249-37-3 | -3.06                  | -1.07                   |



注: Nobiletin 与 Spike 通过氢键、 $\pi$ - $\pi$ 、 $\pi$ - $\sigma$ 、 $\pi$ -烷基等产生相互作用; Naringenin 与 ACE2 通过氢键、 $\pi$ - $\pi$  堆积产生相互作用

图 5 寒湿阻肺方分子对接图

(irisolidone, -5.68 kcal/mol)、木犀草素(luteolin, -5.26 kcal/mol)、柚皮素(naringenin, -5.16 kcal/mol)等多个有效成分 $<-5$  kcal/mol,提示寒湿阻肺方中主要成分能与 SARS-CoV-2 S 蛋白较好地结合,从而进一步发生作用。

## 讨论

COVID-19 是一种新发的高传染性呼吸道病毒性疾病。SARS-CoV-2 入侵人体后,引起机体过度的免疫反应,引起炎症风暴,导致多器官损伤<sup>[8]</sup>。本病发生于冬春季节,属于中医学“温疫”范畴。温病名家叶天士在《温热论》<sup>[9]</sup>中提到“且吾吴湿邪害人最广”,指出湿邪是温热疫病广泛致病的主要病邪。王永炎院士认为本次疫情源于气候失时<sup>[10]</sup>,疫毒湿寒与伏燥搏结、壅塞肺胸、损伤正气所致,皆强调了“寒湿阻肺”是本病的重要病机。针对这一病机,“第八版”诊疗方案中推荐寒湿阻肺方用于此型患者的治疗。该方系在平胃散、达原饮基础上化裁而成,方中苍术可燥湿健脾、祛风湿,藿香化湿之力强,草果同有燥湿之功,槟榔不但利水还可行气,而羌活可解表散寒、祛风胜湿,加之厚朴、陈皮理气燥湿,麻黄、生姜发汗解表,全方共奏祛湿行气、温肺散寒之功,被广泛用于 COVID-19 患者的防治。全小林院士团队在武汉社区运用祛寒湿法治疗 COVID-19<sup>[11]</sup>,初步结果显示在轻症患者中,430 例使用中药患者无一加重,对照组 219 患者中 19 例出现病情加重,结果提示中药治疗寒湿疫具有较好的临床疗效。

网络药理学分析结果显示,寒湿阻肺方治疗 CO-

VID-19 的主要有效化合物为槲皮素、木犀草素、汉黄芩素、山柰酚、柚皮素等,集中来自于性味为辛、温、苦之药,多归肺、脾经,具解表、行气、散寒、燥湿之效,对寒湿疫的辨证施治提供了理论依据。其中,槲皮素来自该方的草果、麻黄、藿香,具有良好的抗氧化应激、抗炎及抗病毒作用<sup>[12,13]</sup>,可抑制脂多糖诱导炎症因子的表达,减轻脂多糖诱导的急性肺损伤<sup>[14]</sup>。此外,在甲型 H1N1 流感病毒感染模型中,发现槲皮素能抑制 caspase-3 蛋白表达,从而减少细胞凋亡<sup>[15]</sup>。木犀草素是该方中麻黄的有效成分,具有抗癌、抗炎与免疫调节等作用<sup>[16]</sup>,可通过抑制 TGF- $\beta$ 1 mRNA 表达抑制肺纤维化<sup>[17]</sup>。汉黄芩素来自该方中的苍术,也具有抗病毒作用<sup>[18]</sup>,同时可抑制巨噬细胞炎症因子的表达<sup>[19]</sup>。山柰酚也是麻黄的有效成分,可抑制 NADPH 及 Fe<sup>2+</sup> 过氧化,减轻氧化应激反应<sup>[20]</sup>,减轻脂多糖造成的细胞损伤<sup>[21]</sup>。柚皮素来自该方中的陈皮、麻黄,能够抑制 PI3K/AKT 通路发挥抗炎、抗氧化的药理作用,减轻脂多糖诱导的肺部损伤<sup>[22]</sup>。由此可见,寒湿阻肺方中的有效成分主要以抗炎作用为主。

SARS-CoV-2 感染后的早期阶段,可以激活大量炎症细胞,如单核细胞、中性粒细胞、巨噬细胞、T 淋巴细胞等,募集致肺泡组织,并释放大量的 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  等促炎介质,从而引起肺部组织的急性损伤<sup>[23,24]</sup>。相关研究表明 COVID-19 患者 IL-6 及 IL-1 $\beta$  水平均高于健康对照组,并与病情严重程度呈正相关<sup>[25,26]</sup>;而木犀草素可以抑制 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  的释放从而减轻肺部损伤<sup>[27]</sup>。SARS-CoV 感染可激活 p38 MAPK 及其下游信号通路<sup>[28]</sup>。研究表明<sup>[29]</sup>槲皮素可阻止 MAPK 的活化,从而抑制相关炎症因子的释放;山柰酚可抑制 LPS 诱导的 MAPK 通路激活,降低 IL-8 等炎症因子产生,从而拮抗炎反应<sup>[30]</sup>。病毒和炎症风暴会导致循环中的脂多糖增加,而脂多糖则可通过影响褪黑激素途径促进病毒的复制<sup>[31]</sup>。有研究证实脂多糖可通过释放 IL-6、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  等一系列炎性介质,产生严重的炎症反应,从而造成肺损伤<sup>[32]</sup>。槲皮素、木犀草素、山柰酚、柚皮素等多种成分可减轻脂多糖引起的肺损伤,表明寒湿阻肺方治疗 COVID-19 可能是通过调控脂多糖介导的炎症反应来完成的。

AGE-RAGE 信号通路与糖尿病相关,并参与炎症反应,可引起大量促炎因子的释放造成炎症损伤<sup>[33]</sup>。据报道,SARS-CoV-2 可能通过与 ACE2 的结合进入并破坏胰岛  $\beta$  细胞从而导致血糖升高,继而病情恶化,尤其是对于糖尿病的患者<sup>[34]</sup>。TNF 可引起促炎因子表达,从而参与全身炎症反应<sup>[35]</sup>。相关研究表明

COVID-19 重症患者 TNF- $\alpha$  水平及 ARDS 发生率比非重症患者高<sup>[36,37]</sup>。IL-17 为 Th17 细胞的效应因子,能诱导多种细胞释放促炎因子,参与免疫调节<sup>[38]</sup>。有研究表明 COVID-19 患者的严重程度与 IL-17 和其他 Th17 细胞相关的促炎因子水平呈正相关<sup>[39]</sup>。因此,调控 AGE-RAGE、TNF 和 IL-17 信号通路可作为 COVID-19 的潜在治疗方法。

分子对接结果显示,寒湿阻肺方主要有效成分与目标蛋白的亲和力均高于参考药。川陈皮素、尼泊尔鸢尾异黄酮、木犀草素、柚皮素等能与 SARS-CoV-2 中的 S 蛋白稳定地结合,提示寒湿阻肺方有效成分可能直接作用在病毒蛋白上,对在病原学上防控 COVID-19 具有一定的意义。此外,柚皮素与 ACE2 亲和力高,具有潜在的拮抗 S 蛋白与 ACE2 结合的作用,且对登革热、寨卡等病毒有抑制作用<sup>[40,41]</sup>。

与其他抗疫方药对比,寒湿阻肺方最大的特点是祛寒湿,而同为《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第八版)》推荐方之一的如清肺排毒汤,具有清热解表,宣肺平喘之效,研究报道清肺排毒汤治疗 COVID-19 的机制是方中有效成分可能作用于 ACE2、ACE、FURIN、TNF、AGTR1 等靶点,通过细胞凋亡及 RAS 信号通路来抑制凋亡和炎症<sup>[42]</sup>。而寒湿阻肺方主要通过 IL-6、IL-1 $\beta$ 、MAPK1、MAPK8 等靶点和 AGE-RAGE、TNF、IL-17 等信号通路发挥抑制炎症的作用,两者在靶点和通路上存在一定的差别。

综上,本研究综合运用网络药理学及分子对接技术,结果发现寒湿阻肺方中槲皮素、木犀草素、汉黄芩素、山柰酚、柚皮素等有效成分,可通过调控 AGE-RAGE、TNF、IL-17 等信号通路,调节 IL-6、IL-1 $\beta$ 、MAPK1、MAPK8 等靶点,抑制过度炎症反应,从而达到治疗 COVID-19 目的,体现了其“多成分、多靶点、多通路”的作用特点。未来仍需开展基础和临床研究来进一步验证,从而更加深入地阐明寒湿阻肺方治疗 COVID-19 的作用机制,为临床治疗提供依据。

利益冲突:无利益冲突。

## 参 考 文 献

- [1] 陈韬,陈广,郭威,等. 新型冠状病毒感染的肺炎诊疗快速指南(第三版)[J]. 医药导报, 2020, 39(3): 305-307.
- [2] 夏文广,安长青,郑婵娟,等. 中西医结合治疗新型冠状病毒肺炎 34 例临床研究[J]. 中医杂志, 2020, 61(5): 375-382.
- [3] 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.
- [4] 国家卫生健康委办公厅, 国家中医药管理局办公室. 关于印发新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第八版)的通知[EB]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202008/0a7bdf12bd4b46e5bd28ca7f9a7f5e5a.shtm>, 2020-8-18.
  - [5] Boezio B, Audouze K, Ducrot P, et al. Network-based approaches in pharmacology[J]. *Mol Inform*, 2017, 36(10): 1700048.
  - [6] 段爱霞, 陈晶, 刘宏德, 等. 分子对接方法的应用与发展[J]. *分析科学学报*, 2009, 25(4): 473–477.
  - [7] Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, et al. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein[J]. *Cell*, 2020, 181(2): 281–292.
  - [8] Ye Q, Wang B, Mao J. The pathogenesis and treatment of the cytokine storm in COVID-19[J]. *J Infect*, 2020, 80(6): 607–613.
  - [9] 清·叶天士. 温热论[M]. 天津: 天津人民出版社, 1962: 14.
  - [10] 范逸品, 王燕平, 张华敏, 等. 试析从寒疫论治新型冠状病毒肺炎[J]. *中医杂志*, 2020, 61(5): 369–374.
  - [11] 全小林. 中医抗疫三项新成果[J]. *世界中医药*, 2020, 15(8): 1191.
  - [12] Granado-Serrano AB, Martin MA, Bravo L, et al. Quercetin modulates Nrf2 and glutathione-related defenses in HepG2 cells: Involvement of p38[J]. *Chem Biol Interact*, 2012, 195(2): 154–164.
  - [13] Kobori M, Takahashi Y, Akimoto Y, et al. Chronic high intake of quercetin reduces oxidative stress and induces expression of the antioxidant enzymes in the liver and visceral adipose tissues in mice[J]. *J Funct Foods*, 2015, 15: 551–560.
  - [14] Byun EB, Yang MS, Choi HG, et al. Quercetin negatively regulates TLR4 signaling induced by lipopolysaccharide through Tollip expression[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 431(4): 698–705.
  - [15] 万巧凤, 吴莉, 杨美玲, 等. 槲皮素对甲型 H1N1 流感病毒诱导的 A549 细胞凋亡效应酶 Caspase-3 的影响[J]. *中国中医药信息杂志*, 2011, 18(10): 42–44.
  - [16] 韩伟, 邢燕, 康廷国. 木犀草素生物活性研究进展[J]. *云南中医中药杂志*, 2010, 31(4): 60–62.
  - [17] 龚国清. 木犀草素对实验性肺纤维化大鼠组织中 TGF- $\beta$ 1 mRNA 表达的影响[J]. *中国药理学通报*, 2005, 21(12): 1466–1469.
  - [18] Wang SJ, Zhao JK, Ren S, et al. Wogonin affects proliferation and the energy metabolism of SGC-7901 and A549 cells[J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(1): 911–918.
  - [19] 吴莹, 金叶智, 吴珺, 等. 汉黄芩素对流感病毒感染肺泡巨噬细胞炎症相关因子的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2011, 27(3): 533–538.
  - [20] Soucek P, Kondrova E, Hermanek J, et al. New model system for testing effects of flavonoids on doxorubicin-related formation of hydroxyl radicals[J]. *Anticancer Drugs*, 2011, 22(2): 176–184.
  - [21] Devi KP, Malar DS, Nabavi SF, et al. Kaempferol and inflammation: from chemistry to medicine[J]. *Pharmacol Res*, 2015, 99: 1–10.
  - [22] Zhao M, Li C, Shen F, et al. Naringenin ameliorates LPS-induced acute lung injury through its anti-oxidative and anti-inflammatory activity and by inhibition of the PI3K/AKT pathway[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(3): 2228–2234.
  - [23] Smiline Girija AS, Shankar EM, Larsson M. Could SARS-CoV-2-induced hyperinflammation magnify the severity of coronavirus disease (COVID-19) leading to acute respiratory distress syndrome? [J]. *Front Immunol*, 2020: 01206.
  - [24] Wiersinga WJ, Rhodes A, Cheng AC, et al. Pathophysiology, transmission, diagnosis, and treatment of coronavirus disease 2019 (COVID-19): a review[J]. *JAMA*, 2020: E1–E13.
  - [25] 唐劲松, 宣春, 林景涛, 等. C-反应蛋白, 白介素-6 及降钙素原检测在 COVID-19 中的临床意义[J]. *实用医学杂志*, 2020, 36(7): 839–841.
  - [26] McElvaney OJ, Mcevoy N, Oisín F McElvaney, et al. Characterization of the inflammatory response to severe COVID-19 illness[J]. *Am J Resp Crit Care*, 2020: 1–47.
  - [27] 戴丽, 端莉梅, 姚志清. 木犀草素对脂多糖诱导下小鼠急性肺损伤的保护作用及其机制研究[J]. *河北医药*, 2015, 37(3): 339–342.
  - [28] Wehbe Z, Hammoud S, Soudani N, et al. Molecular insights into SARS COV-2 interaction with cardiovascular disease: role of RAAS and MAPK signaling[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 836.
  - [29] 程健, 姜玉华. 槲皮素通过抑制丝裂原活化蛋白激酶信号通路表达减轻小鼠放射性肺炎[J]. *山东大学学报(医学版)*, 2019, 57(5): 87–92.
  - [30] Huang CH, Jan RL, Kuo CH, et al. Natural flavone kaempferol suppresses chemokines expression in human monocyte THP-1 cells through MAPK pathways[J]. *J Food Sci*, 2010, 75(8): H254–H259.
  - [31] Anderson G, Reiter RJ. Melatonin: Roles in influenza, COVID-19, and other viral infections[J].

- Rev Med Virol, 2020, 30(3): e2109.
- [32] 汪雪峰, 陈锋, 宋顺德, 等. 腺苷酸环化酶抑制剂和激动剂在脂多糖诱导的急性肺损伤中的作用[J]. 中国药理学通报, 2017, 33(10): 1410-1414.
- [33] Wendt T, Tanji N, Guo J, et al. Glucose, glycation, and RAGE: implications for amplification of cellular dysfunction in diabetic nephropathy[J]. J Am Soc Nephrol, 2003, 14(5): 1383-1395.
- [34] Bornstein SR, Rubino F, Khunti K, et al. Practical recommendations for the management of diabetes in patients with COVID-19[J]. Lancet Diabetes Endo, 2020, 8(6): 546-550.
- [35] 张悦, 周冬梅, 李伟, 等. 肿瘤坏死因子- $\alpha$  在糖尿病痛性神经病变患者中的表达及其意义[J]. 中国实验诊断学, 2020, 24(1): 36-40.
- [36] Li X, Xu S, Yu M, et al. Risk factors for severity and mortality in adult COVID-19 inpatients in Wuhan[J]. J Allergy Clin Immunol, 2020, 146(1): 110-118.
- [37] Gianfrancesco M, Hyrich KL, Al-Adely S, et al. Characteristics associated with hospitalisation for COVID-19 in people with rheumatic disease: data from the COVID-19 Global Rheumatology Alliance physician-reported registry[J]. Ann Rheum Dis, 2020, 79(7): 859-866.
- [38] Miossec P, Kolls JK. Targeting IL-17 and TH17 cells in chronic inflammation[J]. Nat Rev Drug Discov, 2012, 11(10): 763-776.
- [39] Liu YX, Zhang C, Huang FM, et al. 2019-novel coronavirus (2019-nCoV) infections trigger an exaggerated cytokine response aggravating lung injury[J]. ChinaXiv: 202002.00018v1.
- [40] Frabasile S, Koishi AC, Kuczera D, et al. The citrus flavanone naringenin impairs dengue virus replication in human cells[J]. Sci Rep, 2017, 7: 41864.
- [41] Cataneo AHD, Kuczera D, Koishi AC, et al. The citrus flavonoid naringenin impairs the *in vitro* infection of human cells by Zika virus[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 16348.
- [42] 鄢海燕, 邹妍, 邹纯才. 基于网络药理学和分子对接技术分析清肺排毒汤治疗 COVID-19 的机制[J]. 南方医科大学学报, 2020, 40(5): 616-623.
- (收稿: 2020-04-29 在线: 2020-11-03)  
责任编辑: 邱禹

## 欢迎订阅 2021 年 *Chinese Journal of Integrative Medicine*

*Chinese Journal of Integrative Medicine* 《中国结合医学杂志》是由中国中西医结合学会、中国中医科学院主办的国际性学术期刊, 旨在促进结合医学及替代医学的国际交流, 及时发表结合医学或替代医学领域的最新进展、趋势以及临床实践、科学研究、教育、保健方面经验和成果的科学论文。1995 年创刊, 由中国科学院院士陈可冀担任主编。设有述评、专题笔谈、论著、临床经验、病例报道、综述、药物相互作用、法规指南、学术探讨、思路与方法、跨学科知识、会议纪要、书评、读者来信等栏目。本刊被多种国际知名检索系统收录, 如: Science Citation Index Expanded (SCI-E)、Index Medicus/Medline、Chemical Abstracts (CA)、Abstract Journal (AJ)、CAB Abstracts、CAB International、Excerpta Media (EMBASE)、Expanded Academic、Global Health、Google Scholar、Index Copernicus (IC)、Online Computer Library Center (OCLC)、SCOPUS 等。本刊于 2007 年被 SCI-E 收录, 2020 年 6 月底科睿唯安公布 2019 年本刊 SCI 影响因子为 1.545。2010 年 10 月 1 日与汤森路透集团签约, 正式采用 ScholarOne Manuscripts 在线投稿系统。

*Chinese Journal of Integrative Medicine* 为大 16 开本, 铜版纸印刷, 彩色插图, 2011 年改为月刊, 80 页, 国内定价, 60.00 元/期, 全年定价: 720.00 元。国际标准刊号: ISSN 1672-0415, 国内统一刊号: CN 11-4928/R, 国内邮发代号: 82-825, 海外发行由 Springer 公司代理。国内订户在各地邮局均可订阅, 也可直接汇款至本社邮购。

地址: 北京市海淀区西苑操场 1 号, 中国中西医结合杂志社, 邮政编码: 100091; 电话: 010-62886827, 62876547, 62876548; 传真: 010-62876547-815; E-mail: cjim\_en@cjim.cn; 网址: <http://www.cjim.cn>。