

基于多靶点分子对接初探宣肺化浊方治疗 新型冠状病毒肺炎的物质基础

冯彩琴^{1,2}, 张志明¹, 张月梅³, 王燕如², 雍文兴¹, 台安宁², 李丹桂², 靳晓杰^{2*}, 刘永琦^{1,2*}

(1. 甘肃中医药大学附属医院, 兰州 730000; 2. 甘肃中医药大学甘肃省高校重大疾病分子医学与
中医药防治研究重点实验室, 敦煌医学与转化省部共建教育部重点实验室, 兰州 730000;
3. 兰州大学第一医院, 兰州 730000)

[摘要] 目的:运用分子对接、靶点反向预测及反向分子对接技术探索宣肺化浊方治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的物质基础及可能的分子机制。方法:在中药系统药理学分析平台(TCMSP)检索宣肺化浊方中10味中药化合物,以血管紧张素转换酶2(ACE2),白细胞介素-6受体(IL-6R)为靶蛋白,运用分子对接筛选方中与ACE2,IL-6R对接打分较好且符合类药性的化合物,并进行化学信息学层次聚类分析;利用 Swiss Target Prediction 预测化合物潜在靶点;运用 Cytoscape 构建化合物-靶点网络;利用 STRING 分析靶点蛋白互相作用。结果:宣肺化浊方中针对 ACE2 潜在有活性的化合物共 312 个,活性较强的化合物 15 个;针对 IL-6R 符合条件的活性化合物共 100 个,活性较强的化合物 3 个,对活性较强的化合物进行化学信息学层次聚类分析发现大多属于黄酮类。药味-有效成分-靶点网络包含药材 10 味、化合物 126 个、靶点 130 个;STRING 分析显示磷脂酰肌醇 3 激酶调节亚基 1(PIK3R1),肉瘤基因(SRC),丝氨酸蛋白激酶 1(AKT1),雄激素受体(AR)和表皮生长因子受体(EGFR)等蛋白可能是宣肺化浊方起效的关键靶点。结论:本研究基于多靶点分子对接虚拟筛选初步得到宣肺化浊方抗病毒、抗炎的物质基础,同时结合靶点反向预测和分析探索该方治疗 COVID-19 潜在作用靶点和分子机制,为宣肺化浊方及其相关方药的多角度挖掘和单体成分的现代化开发提供线索。

[关键词] 新型冠状病毒肺炎(COVID-19); 宣肺化浊方; 血管紧张素转换酶2(ACE2); 白细胞介素-6受体(IL-6R); 分子对接

[中图分类号] R2-0;R22;R285.5;R289 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2020)16-0032-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20201702

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200610.1942.009.html>

[网络出版日期] 2020-6-11 12:00

Material Basis of Xuanfei Huazhuo Prescription in Treatment of COVID-19 by Multi-target Molecular Docking

FENG Cai-qin^{1,2}, ZHANG Zhi-ming¹, ZHANG Yue-mei³, WANG Yan-ru², YONG Wen-xing¹,
TAI An-ning², LI Dan-gui², JIN Xiao-jie^{2*}, LIU Yong-qi^{1,2*}

(1. *Affiliated Hospital of Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China;*
2. *Dunhuang Key Laboratory of Medicine and Transformation under Ministry of Education, Gansu
Provincial Key Laboratory for Molecular Medicine of Major Diseases and Prevention and Treatment with
Traditional Chinese Medicine for Colleges and Universities, Gansu University of Chinese Medicine,
Lanzhou 730000, China, China;* 3. *The First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China*)

[Abstract] **Objective:** Structure-based angiotension converting enzyme 2 (ACE2) and interleukin-6R

[收稿日期] 20200417(012)

[基金项目] 甘肃省高校重大疾病分子医学与中医药防治研究重点实验室新型冠状病毒防治科研专项开放基金项目(FZYX20-3)

[第一作者] 冯彩琴, 硕士, 住院医师, 从事中西医结合防治肿瘤研究, E-mail: 1434189112@qq.com

[通信作者] * 刘永琦, 教授, 博士生导师, 从事中医药免疫与干细胞生物学研究, E-mail: liuyongqi73@163.com;

* 靳晓杰, 副教授, 硕士生导师, 从事计算机辅助药物设计与中药现代化研究, E-mail: jinlovedream@163.com

(IL-6R) were taken as the target proteins to in the investigation of the material basis of Xuanfei Huazhuo prescription in the treatment of coronavirus disease-2019 (COVID-19) by molecular docking. **Method:** The compounds in Xuanfei Huazhuo prescription were retrieved through TCMSP. Structure-based ACE2 and IL-6R were taken as the target proteins to screen out the compounds with a better activity by molecular docking, and analyze structural properties of these compounds. Furthermore, the potential molecular mechanism of Xuanfei Huazhuo prescription in the treatment of COVID-19 was analyzed by target reverse prediction. **Result:** There were 312 potentially active compounds in Xuanfei Huazhuo prescription, including 75 highly active compounds and 15 highly active compounds for ACE2. There were 100 eligible active compounds and 3 highly active compounds for IL-6R, most of which belong to flavonoids. The herb-component-target network included 10 herbs, 126 compounds and 130 targets. String analysis showed that PIK3R1, SRC, AKT1, AR and EGFR might be the key targets of Xuanfei Huazhuo prescription. **Conclusion:** Based on the virtual screening of multi-target molecular docking, the anti-virus and anti-inflammatory material basis of Xuanfei Huazhuo prescription was preliminarily obtained. At the same time, based on the reverse prediction and analysis, potential targets and molecular mechanism of the recipe in the treatment of COVID-19 were explored, so as to provide clues for the multi-angle mining of Xuanfei Huazhuo prescription and its relevant prescriptions and the modernization development of monomer components.

[**Key words**] coronavirus disease-2019 (COVID-19); Xuanfei Huazhuo prescription; angiotension converting enzyme 2 (ACE2); interleukin-6R (IL-6R); molecular docking

新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的发生对人类健康及经济构成严重威胁。研究发现,新型冠状病毒(2019-nCoV)的感染是通过病毒S蛋白与血管紧张素转换酶2(ACE2)结合导致的^[1]。病毒感染后COVID-19患者血清中白细胞介素-6(IL-6)等促炎因子水平显著增高^[2],进而引起细胞因子风暴,导致人体出现发热、呼吸困难等症状,严重者可出现急性呼吸窘迫综合征、脓毒症休克、难以纠正的代谢性酸中毒^[3]。因此COVID-19的治疗除了开发直接针对病毒或阻断病毒感染的疫苗外,还需解决感染的免疫病理学问题,即抑制炎症反应及靶向阻断炎症通路下游信号传导。

COVID-19在中医学中属于疫病范畴,多因感受温热毒邪所致,病位在肺,极易传变。因此早期诊断,早期治疗,防止疾病的发展与传变至关重要。中医药发展已有上千年的历史,对疫病有深刻的认识,治疗效果显著。宣肺化浊方是专家组结合甘肃COVID-19发病特点形成应用于中医药治疗早期COVID-19的基础治疗方,主要组方为蜜麻黄、连翘、前胡、法半夏、麸炒苍术、广藿香、羌活、酒大黄、陈皮、黄芩。方中蜜麻黄性温偏润,可润肺止咳;连翘性微寒,味苦,可清热解毒;前胡、法半夏、陈皮、苍术理气化痰燥湿;广藿香、羌活解表除湿;酒大黄、黄芩清热解毒,全方合用共奏宣肺化浊之效^[4]。该方基于治病于早期、治愈于初期理念,截断扭转

控制了病情发展^[5],保证了甘肃COVID-19患者较高的治愈率,但是方中发挥效应的主要物质基础、潜在作用靶点和整体调控的分子机制尚不明确。

分子对接技术是利用计算机模式识别和优化技术,根据配受体相互作用方式研究小分子配体与受体生物大分子相互作用^[6],考察配体小分子的化学结构特征,寻找和设计合理的药物分子,识别得到中药起效的物质基础和作用机制^[7]。靶点反向预测及反向分子对接技术可探寻小分子化合物的潜在蛋白质靶标,不仅可以阐明小分子化合物的多靶点特性,还可以预测其产生副作用的蛋白靶标^[8]。两者联用有助于挖掘中药有效成分、潜在作用靶点和整体调控的分子机制^[9]。

因此,本研究从病毒感染过程的关键靶蛋白ACE2及引起细胞因子风暴的关键促炎因子IL-6的特异性结合受体IL-6R结构出发,进行分子对接筛选,获得宣肺化浊方抗病毒及抗炎的物质基础及分子机制,并通过反向对接及靶点反向预测进一步分析宣肺化浊方治疗COVID-19的潜在的作用靶点和分子机制。

1 材料与方法

1.1 晶体结构信息来源及处理 选择ACE2 (PDB ID: 1R420), IL-6R (PDB: 1P9M), PIK3R1^[10] (PDB ID: 4I6J), SRC^[11] (PDB ID: 4U5J), AKT1^[12] (PDB ID: 4EKL)及EGFR^[13] (PDB ID: 3W2S)作为

虚拟筛选靶点结构,在RCSB-PDB搜索下载靶点蛋白三维结构,采用蛋白质预处理工具 Protein Preparation Wizard 对其进行分析和预处理,包括删去自带配体,加氢,分配相关电荷,并以自带配体位置为中心,确定活性区域的中心坐标。

1.2 构建宣肺化浊方化合物库 在中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP)下载蜜麻黄、连翘、前胡、法半夏、麸炒苍术、广藿香、羌活、酒大黄、陈皮、黄芩中的化合物,这些化合物3D结构采用MMFFs力场优化,Ligand preparation 模块对小分子化合物进行能量优化,并将其转换成SDF格式。

1.3 分子对接 使用Glide的标准精度方法进行分子对接,根据系统能量的大小进行打分。Glide-Grid坐标参照靶蛋白自带配体的坐标。

1.4 中药成分作用靶点反向预测 利用Swiss Target Prediction (<http://www.swiss-target-prediction.ch>)小分子作用靶点预测分析软件预测宣肺化浊方中活性较高的化合物[口服利用度(OB)≥30%,类药性(DL)≥0.18的成分,对于数据库没有OB和DL数据的化合物,用Lipinski规则进行筛选]的作用靶点,并将概率值>0.5的大分子作该成分的潜在作用靶点。

1.5 中药-成分-靶点网络分析 基于宣肺化浊方化合物潜在作用靶点,在Cytoscape中构建药味-成分-靶点网络,依据活性成分-作用靶点网络的中心性参数分析的主要有效成分和关键靶点。中心性(centrality)是生物网络中任意节点在整个网络中所在中心的程度,度值(degree)是在网络节点中心性指标。节点度值越大这个节点的中心性越高。

1.6 靶点蛋白互作网络构建 利用STRING数据库对靶点的蛋白间相互作用(PPI)进行分析,将靶点信息导入STRING数据库,物种选择“Homo sapiens”,将蛋白互作综合得分>0.7作为筛选条件从而得到靶点的PPI信息,最后将得到的PPI信息导入Cytoscape,得到PPI网络图。

2 结果

2.1 宣肺化浊方化合物收集 宣肺化浊方是甘肃省推广使用COVID-19防治中医药系列里的普通型治疗方,全方共10味中药,基于TCMSP数据库收集上述中药所含化合物共1357个。见表1。

2.2 宣肺化浊方中潜在抗2019-nCoV,抗炎化合物筛选 通过与ACE2,IL-6R进行分子对接筛选其中符合相对分子质量<500,氢键给体数目<5个,氢键受体数目<10个,脂水分配系数<5及可旋转键的数量不超过10个,且与ACE2,IL-6R对接结合

表1 宣肺化浊方化合物统计

Table 1 Statistics of compounds in Xuanfei Huazhuo prescription

中药归类	中药名称	化合物数/个
发散风寒药	麻黄	363
清热解毒药	连翘	151
清热化痰药	前胡	101
温化寒痰药	半夏	116
化湿药	苍术	49
化湿药	藿香	94
发散风寒药	羌活	185
攻下药	大黄	92
理气药攻下药	陈皮	63
清热燥湿药	黄芩	143

注:为了显示诸药收集成分数量,此表格中成分数量未去重。

能 $\leq -5.0 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ (1 kcal=4.186 kJ)的化合物作为宣肺化浊方潜在潜在抗2019-nCoV,抗炎的化合物,针对ACE2符合条件的活性化合物共312个,其中,较高活性活性化合物即结合能 $\leq -6 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ 的75个,高活性化合物即结合能 $\leq -7 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ 的15个,且大多数活性较好的化合物主要来源于麻黄、藿香、羌活、连翘及前胡,且主要药效集中在清热、解表、化湿。针对IL-6R符合条件的活性化合物共100个,较高活性活性化合物即结合能 $\leq -6 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ 的3个,且主要来源于麻黄、连翘及大黄。见表2。

表2 宣肺化浊方中化合物与ACE2,IL-6R分子对接打分统计

Table 2 Statistics of molecular docking scores of compounds in Xuanfei Huazhuo prescription with ACE2 and IL-6R

No.	中药	对接打分 ≤ -7	对接打分 ≤ -6	对接打分 ≤ -5
A1	麻黄	4	11	69
A2	连翘	2	11	36
A3	前胡	2	11	28
A4	半夏	-	5	33
A5	苍术	-	1	12
A6	藿香	4	10	23
A7	羌活	1	10	44
A8	大黄	2	6	23
A9	陈皮	-	1	8
A10	黄芩	-	9	36
B1	麻黄	-	-	18
B2	连翘	-	2	18
B3	前胡	-	-	9
B4	半夏	-	-	8
B5	苍术	-	-	-
B6	藿香	-	-	5
B7	羌活	-	-	8
B8	大黄	-	1	18
B9	陈皮	-	-	4
B10	黄芩	-	-	9

注:序号A为宣肺化浊方中化合物与ACE2的分子对接结果统计;序号B为宣肺化浊方中化合物与IL-6R的分子对接结果统计。

2.3 宣肺化浊方代表性潜在高活性化合物与ACE2, IL-6R分子对接信息 宣肺化浊方中小分子化合物与ACE2, IL-6R进行分子对接, 筛选OB≥

30%, DL≥0.18的高活性化合物, 且所选成分打分值均位于各自靶点打分结果的前20。对这20个化合物进行结构分类, 其中以黄酮类化合物居多。见表3。

表3 宣肺化浊方代表性潜在高活性化合物与ACE2, IL-6R分子对接信息

Table 3 Molecular docking information of representative potential high active compounds of Xuanfei Huazhuo prescription with ACE2 and IL-6R

分子	No.	MOL ID	名称	中药来源	结构分类	OB/%	DL	对接打分	药理活性
ACE2	1	MOL004576	花旗松素	麻黄	黄酮类	57.84	0.27	-7.80	抗氧化, 保护心肌细胞, 抗炎, 抗肿瘤, 保护损失细胞 ^[14-17]
	2	MOL002881	香叶木素	麻黄、前胡	黄酮类	31.14	0.27	-7.70	对癌细胞增值凋亡有作用, 抗骨关节炎 ^[18-19]
	3	MOL000098	槲皮素	藿香、麻黄、前胡、连翘	黄酮类	46.43	0.28	-7.46	抗肿瘤、抗病毒、抗高血压, 抗炎, 抗氧化 ^[20-21]
	4	MOL002235	泽兰黄醇	大黄	黄酮类	50.80	0.41	-7.37	-
	5	MOL005190	圣草酚	麻黄	黄酮类	71.79	0.24	-7.00	抗氧化、抗炎、抗肿瘤及神经保护, 保护损伤细胞 ^[22-23]
	6	MOL003283	异落叶松脂素	连翘	黄酮类	66.51	0.39	-6.89	抗炎 ^[24]
	7	MOL005573	芫花素	藿香、麻黄	黄酮类	37.13	0.24	-6.86	促进成骨细胞分化, 收缩子宫平滑肌 ^[25]
	8	MOL011975	羌活酚	羌活	苯丙素类	62.97	0.48	-6.78	抗氧化 ^[26]
	9	MOL002915	salvigenin	黄芩	黄酮类	49.07	0.33	-6.77	-
	10	MOL003308	松脂素单甲基醚-4-O-β-D-葡萄糖苷	连翘	苯丙素类	61.20	0.57	-6.70	-
	11	MOL002925	5,7,2',6'- tetrahydroxyflavone	黄芩	黄酮类	37.01	0.24	-6.65	-
IL-6R	1	MOL000471	芦荟大黄素	大黄	醌类	83.38	0.24	-5.73	抗癌、抗病毒、抗炎、抗菌、抗寄生虫、保护神经和保护肝脏 ^[27-28]
	2	MOL002259	physciondiglucoside	大黄	蒽醌类	41.65	0.63	-5.59	-
	3	MOL002908	5,8,2'-trihydroxy-7-methoxyflavone	黄芩	黄酮类	37.01	0.27	-5.58	-

注: 以OB≥30%, DL≥0.18作为依据从各靶点虚拟筛选结果中挑选代表性高活性化合物, 所选成分打分值均位于各自靶点打分结果的前20。

2.4 活性较好的化合物与ACE2, IL-6R相互作用 分别选取与ACE2, IL-6R 3个靶点结合作用较强的代表性化合物。并分析这些化合物与ACE2, IL-6R的相互作用方式(图1, 2), 发现化合物与ACE2接触表面的氨基酸残基主要通过氢键, π-π堆积及

疏水作用相互作用。其中, 黄酮类化合物花旗松素、香叶木素及槲皮素与ACE2接触表面氨基酸残基相互作用的氢键数目最多。芦荟大黄素, physciondiglucoside, 5, 8, 2'-trihydroxy-7-methoxyflavone与IL-6R主要通过氢键相互作用。

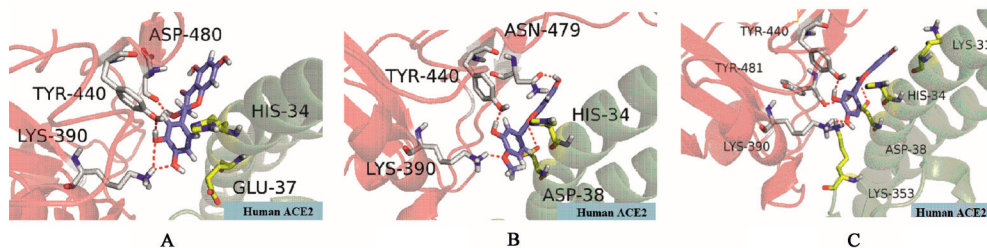


图1 花旗松素(A), 香叶木素(B), 槲皮素(C)与ACE2的相互作用

Fig. 1 Interaction of taxifolin(A), diosmetin(B), quercetin with (C) ACE2

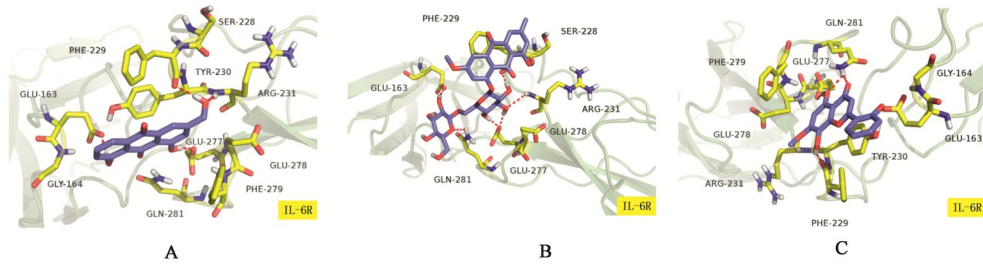
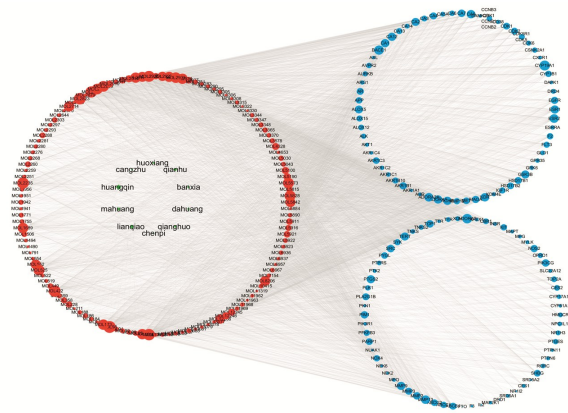


图2 芦荟大黄素(A), physciondiglucoside(B), 5,8,2'-trihydroxy-7-methoxyflavone(C)与 IL-6R 的相互作用

Fig. 2 Interaction of aloemodin(A), physciondiglucoside(B), 5,8,2'-trihydroxy-7-methoxyflavone(C) with IL-6R

2.5 宣肺化浊方靶点反向预测与网络分析 依据宣肺化浊方的草药-成分-靶点关系,应用 Cytoscape 将草药-成分-靶点对应关系可视化宣肺化浊方的草药-成分-靶点网络图(图3)。该网络共包括 266 个节点,4 987 条边。其中,10 个绿色节点代表药味,130 个蓝色节点代表潜在靶点,126 个红色节点代表活性成分;平均每个化合物连接了 38.4 个靶点,同时每个靶点连接了 37.2 个化合物,大于平均度值的靶点有 58 个。度排列前 10 的化合物分别是 MOL000098 (quercetin, 槲皮素), MOL002823 (Herbacetin, 草质素), MOL000006(luteolin, 木犀草素), MOL000422 (kaempferol, 山柰酚), MOL002235 (EUPATIN, 泽兰黄醇), MOL002881 (diosmetin, 香叶木素), MOL002925 (5, 7, 2', 6'-tetrahydroxyflavone, 5, 7, 2', 6'-四羟基黄酮), MOL002909 (5, 7, 2, 5-tetrahydroxy-8, 6-dimethoxyflavone, 5, 7, 2, 5-四羟基-8, 6-二甲氧基黄酮), MOL002908 (5, 8, 2'-trihydroxy-7-methoxyflavone, 5, 8, 2'-三羟基-7-甲氧基黄酮)和 MOL002933 (5, 7, 4'-trihydroxy-8-methoxyflavone)。度排列前 10 的靶点是 CYP19A1 (83), ADORA3 (78), BACE1 (75), ESR2 (69), ADORA2A (67), MMP13 (67), CA9 (65), KDR (65), ADORA1 (64), CA1 (64)(表4),可以看出同一活性成分对应多个作用靶点,多个靶点对应同一通路的关系,体现了宣肺化浊方多成分、多靶点的作用特点。

2.6 潜在作用靶点分析及分子对接验证 本研究基于 STRING 数据库分析宣肺化浊方潜在作用靶点之间的交互作用,以交互作用高可信度(>0.7)靶点构建交互作用网络(图4),该网络包括 102 个节点和 270 条边。在蛋白质交互作用网络中,节点蛋白在网络中的地位不相同,较重要的节点为关键节点(key nodes)。网络节点度参数是网络关键节点评价的常用方法^[29]。在清肺通络方作用蛋白质交互作用网络中,PIK3R1(24), SRC(21), AKT1(20),



绿色代表药味,蓝色代表关键靶点,红色代表有效成分

图3 宣肺化浊方药味-有效成分-靶点网络

Fig. 3 Herbs-Ingredients-Targets network of Xuanfei Huazhuo prescription

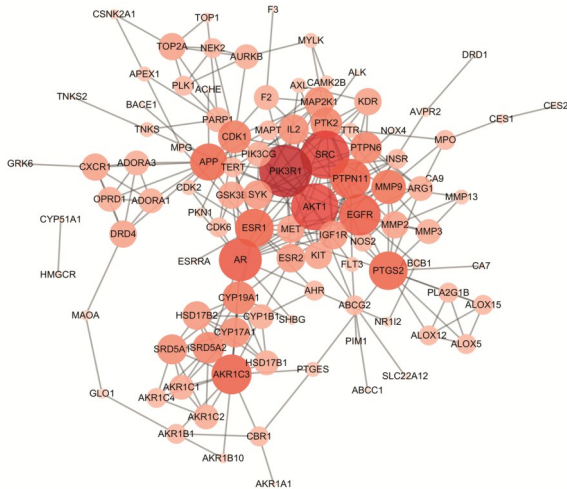
表4 度排列前10的靶点信息汇总

Table 4 Summary of target information of the first 10 degrees

No.	基因	Uniprot ID	蛋白
1	CYP19A1	P11511	cytochrome P450 19A1
2	ADORA3	P0DMS8	adenosine A3 receptor
3	BACE1	P56817	beta-secretase 1
4	ESR2	Q92731	estrogen receptor beta
5	ADORA2A	P29274	adenosine A2a receptor(by homology)
6	MMP13	P45452	matrix metalloproteinase 13
7	CA9	Q16790	carbonic anhydrase IX
8	KDR	P35968	vascular endothelial growth factor receptor 2
9	ADORA1	P30542	adenosine A1 receptor(by homology)
10	CA1	P00915	carbonic anhydrase I

AR(17)和 EGFR(16)是度值最大的前 5 个节点,这 5 个节点是宣肺化浊方潜在的关键靶点,可能在其治疗过程中发挥重要作用。采用 Glide 软件对在基于靶点预测以及 PPI 分析结果,对上述 5 个靶点中有晶体结构的 4 个靶点进行分子分子对接验证。在 PDB 数据库中查找并下载 PIK3R1 (PDB ID: 4I6J), SRC (PDB ID: 4U5J), AKT1 (PDB ID: 4EKL) 和 ECFR

(PDB ID:3W2S)结构,并与预测化合物进行分子对接。通过对分子对接结果统计,预测到相应靶点的化合物与各自靶点有相互作用(打分值 ≤ -5 分,去重)的比例分别为 PIK3R1 (19/20), SRC (31/44), AKT1 (10/16) 和 EGFR (41/47) 总比例为 79.53%。分子对接结果表明,化合物靶点反向预测准确度较高,验证了上述 KEGG 和 GO 富集分析以及 PPI 结果的合理性。



圆圈代表靶蛋白,颜色越深,尺寸越大,度值越大
图 4 宣肺化浊方靶蛋白-蛋白相互作用网络

Fig. 4 Protein-protein interaction network of targets of Xuanfei Huazhuo prescription

3 讨论

COVID-19 发病至今,临床治疗仍然缺乏特效药。一般西药治疗强调用药方向的准确性及目的性,即靶向性,但靶向药物使用后都会出现相应的副作用。而中药单个成分靶向结合力较弱,所以治疗过程中产生的毒副作用较少。该方中大量结构有差异的成分协同靶向结合,产生活性,可能会产生和西药接近甚至更全面的治疗效果,而且中医治疗疾病注重“治病于早期,治愈于初期”思想,临床早期中医药复方的使用可通过中药的多成分配伍减毒,更大程度上减少西药的使用,降低一线抗病毒药物的应用剂量,缩短使用时间,同时也可以减少使用抗病毒药引起的肝损伤^[30]。

经查证发现国家推荐方剂中麻黄及藿香是出现频次最高的两味中药,本次实验结果显示,甘肃推荐宣肺化浊方中针对 ACE2 符合类药性且具有潜在活性的化合物共 312 个,且大多数活性较好的化合物主要来源于麻黄及藿香。针对 IL-6R 符合条件的活性化合物共 100 个,且主要来源于麻黄、连翘及大黄。说明麻黄、藿香这两味中药中有更多的化

物对 ACE2 有靶向作用,而麻黄、连翘、大黄这三味中药中有更多的化合物对 IL-6R 有靶向作用。一般而言,化学结构决定性质,性质决定作用。因此我们猜测化合物对 ACE2, IL-6R 靶向的原因可能是因为有相似的化学结构。所以对活性前 20 的化合物行结构进行了归类,发现大多化合物属于黄酮类。黄酮类化合物泛指具有酚羟基的两个苯环(A-与 B-环)通过中央三碳原子连结而成的一系列化合物,基本结构为 C6-C3-C6,广泛存在植物中,具有抗氧化、抗炎、抗癌、抗菌、抗真菌和抗病毒等多种潜在生物活性^[31]。研究发现,黄酮类化合物槲皮素对多种流感病毒株具有抗病毒活性,包括甲型流感病毒、登革病毒 2 型、马科动物疱疹病毒 1 等^[32]。山奈酚衍生物是冠状病毒 3a 蛋白的有效抑制剂,参与病毒释放机制^[33]。苯丙素类是天然存在的一类由苯环与三个直链碳连接(C6-C3 基团)构成的化合物,对这类化合物的整体药理作用目前还未见明确报道,可待进一步研究。中药具有多成分,应用通常体现“多点显效、协同增效”的特点,还可降低单一靶点的副作用。

本研究以 ACE2, IL-6R 为靶点蛋白,利用分子对接从宣肺化浊方中筛选出与 ACE2, IL-6R 靶向相互作用较好的活性化合物,将 ACE2, IL-6R 与活性化合物之间相互作用进行分析发现这些化合物与 ACE2 及 IL-6R 存在相互的作用力。研究发现,花旗松素具有保护损伤肝细胞、抗氧化、抗癌、抗炎作用^[14-17]。香叶木素有抗肿瘤、保护损伤细胞(肝、肾)、抗炎的作用^[18-19]。白皮杉醇可保护损伤细胞(肝)、抗氧化、抗炎^[34-35]。槲皮素可抗肿瘤、抗病毒、抗高血压,抗炎,抗氧化^[20-21]。芦荟大黄素有抗癌、抗病毒、抗炎、抗菌、抗寄生虫、保护神经和保护肝脏作用^[27-28]。黄连碱具有抗癌、保护损伤细胞,心肌保护作用^[36]。另外,本研究通过多靶点分子对接系统阐明上述功效物质基础的同时,利用靶点反向预测、分子对接及 PPI 分析探讨了宣肺化浊方中化合物发挥作用的其他潜在靶点,即 PIK3R1, SRC, Akt1, AR 和 EGFR 等。

综上所述,本研究根据 COVID-19 发病特征,从 ACE2, IL-6R 结构出发,采用分子对接技术联合靶点反向预测及通路分析的研究方法,初步阐明了宣肺化浊方抗病毒、抗炎的物质基础及分子机制,为中药复方多环节系统治疗 COVID-19 提供理论支持,为具有地方经验的抗 COVID-19 医方的挖掘提供分子依据。

[参考文献]

- [1] XU X, CHEN P, WANG J, et al. Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission [J]. *Sci China Life Sci*, 2020, 63 (3) : 457-460.
- [2] XU Z, SHI L, WANG Y, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome [J]. *Lancet Respir Med*, 2020, 8 (4) : 420-422.
- [3] HUANG C L, WANG Y M, LI X W, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China [J]. *Lancet*, 2020, 395 (10223):497-506.
- [4] 刘东玲,王浩嘉,任伟钰,等. 宣肺化浊方治疗新型冠状病毒感染肺炎的网络药理学分析[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(16):40-49.
- [5] 王鑫,张志明,王功臣,等. “甘肃方剂”在新型冠状病毒肺炎防治中的应用策略分析[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(16):21-25.
- [6] 张煜卓,戚涵姝,谷笑雨,等. 分子对接在药物虚拟筛选中的应用进展[J]. *广州化学*, 2017, 42(6):62-67.
- [7] 王文军,丁一,窦芳,等. 分子对接在中药药效物质筛选及作用机制研究中的应用进展[J]. *中国药师*, 2018, 21(6):1020-1023.
- [8] 李研,骆亚莉,刘永琦,等. 基于分子对接探讨红芪中小分子拮抗肿瘤坏死因子受体1的可能性[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(17):173-180.
- [9] 吴昊,王佳琪,杨雨薇,等. 基于网络药理学和分子对接技术初步探索“清肺排毒汤”抗新型冠状病毒肺炎作用机制[J]. *药学学报*, 2020, 55(3):374-383.
- [10] XING W, BUSINO L, HINDS T R, et al. SCF FBXL3 ubiquitin ligase targets cryptochromes at their cofactor pocket [J]. *Nature*, 2013, 496(7443):64-68.
- [11] DUAN Y, CHEN L, CHEN Y, et al. c-Src binds to the cancer drug Ruxolitinib with an active conformation [J]. *PLoS One*, 2014, 9(9):e106225.
- [12] LIN K, LIN J, WU W I, et al. An ATP-site on-off switch that restricts phosphatase accessibility of Akt [J]. *Sci Signal*, 2012, 5(223):ra37-ra37.
- [13] SATOSHI S, YOUICHI K, SHIGERU I, et al. Structure-based approach for the discovery of pyrrolo [3, 2-d] pyrimidine-based EGFR T790M/L858R mutant inhibitors [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2013, 4(2):201-205.
- [14] YANG C L, LIN Y S, LIU K F, et al. Hepatoprotective mechanisms of Taxifolin on carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice [J]. *Nutrients*, 2019, 11(11):2655.
- [15] HU C, YE J W, ZHAO L C, et al. 5, 7, 3', 4'-Flavon-ol (taxifolin) protects against acetaminophen-induced liver injury by regulating the glutathione pathway [J]. *Life Sci*, 2019, 236:116939.
- [16] LIU F, MA Y, XU Y. Taxifolin shows anticataractogenesis and attenuates diabetic retinopathy in STZ-diabetic rats via suppression of aldose reductase, oxidative stress and MAPK signaling pathway [J]. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 2020, 20(4):599-608.
- [17] LI J, HU L, ZHOU T, et al. Taxifolin inhibits breast cancer cells proliferation, migration and invasion by promoting mesenchymal to epithelial transition via β -catenin signaling [J]. *Life Sci*, 2019, 232:116617.
- [18] KOOSHA S, MOHAMED Z, SINIAH A, et al. Evaluation of anti-tumorigenic effects of diosmetin against human colon cancer xenografts in athymic nude mice [J]. *Molecules*, 2019, 24(14):2522.
- [19] OAK C, KHALIFA A O, ISALI I, et al. Diosmetin suppresses human prostate cancer cell proliferation through the induction of apoptosis and cell cycle arrest [J]. *Int J Oncol*, 2018, 53(2):835-843.
- [20] EID H M, HADDAD P S. The antidiabetic potential of quercetin: underlying mechanisms [J]. *Current Medicinal Chemistry*, 2017, 24(4):355-364.
- [21] SINGH A K, PATEL P K, CHOUDHARY K, et al. Uercetin and coumarin inhibit dipeptidyl peptidase-IV and exhibits antioxidant properties: *in silico*, *in vitro*, *ex vivo* [J]. *Biomolecules*, 2020, 10(2):E207.
- [22] WANG X, DENG R, DONG J, et al. Eriodictyol ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by suppressing the inflammatory COX-2/NLRP3/NF- κ B pathway in mice [J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2020, 34(3):e22434.
- [23] XIE Y, JI R, HAN M. Eriodictyol protects H9c2 cardiomyocytes against the injury induced by hypoxia/reoxygenation by improving the dysfunction of mitochondria [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17 (1) : 551-557.
- [24] 龚莉虹,余琳媛,胡乃华,等. 连翘抗炎药效物质基础及其作用机理研究进展[J]. *中药与临床*, 2019, 10 (1):47-53.
- [25] 贾军,费乔曼,邱曼曼,等. 芫花素对于MC3T3-E1细胞向成骨细胞分化的影响[J]. *现代药物与临床*, 2020, 35(1):12-15.
- [26] 刘文武,蒋晓文,张帅,等. 羌活中香豆素类化学成分及其抗氧化活性研究[J]. *中草药*, 2019, 50(6):1310-

- 1315.
- [27] DONG X, ZENG Y, LIU Y, et al. Aloe-emodin: a review of its pharmacology, toxicity, and pharmacokinetics [J]. *Phytother Res*, 2020, 34 (2) : 270-281.
- [28] AKEV N, CANDOKEN E, ERDEM K S. Comparative study on the anticancer drug potential of a lectin purified from aloe vera and aloe-emodin [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2020, 21(1):99-106.
- [29] 李冰涛, 翟兴英, 李佳, 等. 基于网络药理学葛根解热作用机制研究 [J]. *药学学报*, 2019, 54 (8) : 1409-1416.
- [30] 史桐凡, 周谷城, 张利英, 等. 宣肺化浊加减方治疗新型冠状病毒肺炎40例临床疗效观察 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(16):26-31.
- [31] ZAKARYAN H, ARABYAN E, OO A, et al. Flavonoids: promising natural compounds against viral infections [J]. *Arch Virol*, 2017, 162(9):2539-2551.
- [32] CHO W K, WEERATUNGA P, LEE B H, et al. *Epimedium koreanum nakai* displays broad spectrum of antiviral activity *in vitro* and *in vivo* by inducing cellular antiviral state [J]. *Viruses*, 2015, 7 (1) : 352-377.
- [33] SCHWARZ S, SAUTER D, WANG K, et al. Kaempferol derivatives as antiviral drugs against the 3a channel protein of coronavirus [J]. *Planta Medica*, 2014, 80(2/3):177-182.
- [34] PENG L Y, YUAN M, SHI H T, et al. Protective effect of piceatannol against acute lung injury through protecting the integrity of air-blood barrier and modulating the TLR4/NF- κ B signaling pathway activation [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 10:1613.
- [35] COSTA F P D, PUTY B, NOGUEIRA L S, et al. Piceatannol increases antioxidant defense and reduces cell death in human periodontal ligament fibroblast under oxidative stress [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2019, 9(1):16.
- [36] ZHOU L, YANG F, LI G, et al. Coptisine induces apoptosis in human hepatoma cells through activating 67-kDa laminin receptor/cGMP signaling [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9:517.

[责任编辑 周冰冰]