

基于网络药理学研究清肺排毒汤治疗新型冠状病毒肺炎的作用机制*

许冬玉¹ 许玉龙^{1,2**} 王至婉¹ 吕雅丽¹ 朱红磊¹ 宋婷¹

(¹河南中医药大学 郑州 450046; ²郑州大学信息工程学院 郑州 450001)

摘要 目的: 基于网络药理学研究清肺排毒汤在治疗新型冠状病毒肺炎(Corona Virus Disease 2019, COVID-19)的作用机制。方法: 使用 TCMSp 数据库对清肺排毒汤的中药活性成分进行检索、筛选; 运用 GeneCards 数据库对疾病靶点进行预测、筛选, 构建活性成分-靶点网络图。将得到的靶点利用 STRING 进行蛋白互作(protein-protein interaction, PPI)网络构建, 并进行基因本体(gene ontology, GO)和 KEGG 富集分析, 构建靶点-信号通路网络图。结果: 本文显示共筛选到 217 个中药成分靶点, 新型冠状病毒肺炎(COVID-19) 200 个相关靶点, 从而得到药物-疾病的共同靶点 51 个, 富集于生物过程及 30 条信号通路上, 如 TNF 信号通路、IL-17 信号通路、NF- κ B 信号通路及 Th17 细胞分化等。结论: 本研究预测出清肺排毒汤治疗 COVID-19 的前五个主要活性成分是槲皮素、木犀草素、山奈酚、柚皮素、异鼠李碱; 其主要是通过调节 MAPK1、MAPK3、MAPK8、MAPK14、IL-6、RELA、STAT1 等靶点, 调控 TNF、NF- κ B 等信号通路来抑制炎症反应、调节免疫功能, 减轻肺损伤, 保护神经功能, 从而达到治疗 COVID-19 的目的。

关键词 清肺排毒汤; 新型冠状病毒肺炎; 靶点; TNF 信号通路; NF- κ B 信号通路; IL-17 信号通路

DOI:10.13412/j.cnki.zyyl.20200305.001

2019 年底, 在武汉爆发的 COVID-19, 已证明是由新型冠状病毒(SARS-CoV-2)引起的、可人际间感染的急性呼吸道传染病^[1]。此 COVID-19 具有较强的传染性, 可通过飞沫、接触、气溶胶进行人与人之间的传播, 患者遍布儿童、青壮年和老年, 具有广泛流行性。相关数据表明, 其传播性和致死率均高于 2003 年的非典肺炎, 其主要临床表现为: 发热、乏力、干咳^[2-4]。

COVID-19 为一种新型传染病, 尚无特效药物治疗, 西医主要以对症支持治疗为主。而中医治疗疫病已有几千年的历史, 对其病因、病机、辨证论治等较多医家均有深入研究。由于中医药在 2003 年我国感染的非典型肺炎的治疗中曾发挥巨大作用, 国家卫健委和中医药管理局多次联合发布《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第四、五、六版)》^[5-7], 提倡中西医结合治疗, 力图缩短病程, 提高临床疗效, 减少危重症患者的发生率及病死率。

依据国家卫生健康委员会及国家中医药管理局共同发布的《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行四、五、六版)》, 已有的治疗及研究结果表明, 与西药治疗相比, 中西医结合在治疗 COVID-19 的效果上有显著疗效, 特别在死亡率、轻症转重症率指标的对比上优越性明显^[8,9]。

据国家中医药管理局报道, 经在四省份试点开展清肺排毒汤救治新型冠状病毒感染的肺炎患者临床观察显示, 截至 2 月 5 日, 四个试点省份运用清肺排毒汤救治确诊病例总有效率达 90% 以上, 其中 60% 以上患者症状和影像学表现改善明显, 30% 患者症状平稳且无加重^[10]。所以, 在最新的第六版诊疗方案中^[7](截至 2020 年 2 月 19 日), 特别增加了使用清肺排毒汤救治 COVID-19 的内容, 并明确指出其可用于治疗 COVID-19 的轻型、普通型、重型患者, 在危重症患者救治中也可结合患者实际情况合理使用。

清肺排毒汤源自汉代张仲景所著的《伤寒杂病论》, 由多个治疗寒邪引起外感热病的经典方剂优化组合而成, 组方合理, 性味平和^[11,12]。虽该方在临床治疗 COVID-19 上已取得明显疗效, 但其作用机制研究仍处于较浅层面。网络药理学基于药物、

靶点与疾病之间相互作用的整体性与系统性, 将药物-靶点与生物信息网络相结合, 与中医提出的整体观念、辨证论治形成统一^[13]。近日, 赵静等^[14]基于网络药理学对清肺排毒汤治疗 COVID-19 机制也做了探讨, 揭示出该汤剂重要靶标富集在病毒感染和肺部损伤疾病通路, 且与 HIV 病毒的 6 个蛋白具有密切作用。

本研究根据 COVID-19 患者主要症状, 选取清肺排毒汤的药物活性成分, 采用网络药理学方法, 构建药物与 COVID-19 共有的靶点, 探讨该汤剂治疗 COVID-19 的有效成分及分子作用机制, 旨在为中医药治疗 COVID-19 的研究提供进一步科学依据。

1 材料与方法

1.1 清肺排毒汤 21 味中药的有效成分筛选 清肺排毒汤共有 21 味中药, 通过 TCMSp 数据库(<http://ibts.hkbu.edu.hk/LSP/tcmsp.php>)对中药成分相关的活性成分进行搜索, 并根据药理学参数中的口服生物利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$, 类药性(drug-likeness, DL) ≥ 0.18 及药物半衰期(drug half-life, HL) ≥ 10 为筛选条件进行筛选, 最终得到符合条件的候选活性成分。

1.2 清肺排毒汤靶点的预测筛选及中药活性成分-靶点网络构建 对筛选得到的活性成分, 利用 TCMSp 数据库中的化合物关联靶点, 将 21 味中药的活性成分进行逐一配对潜在靶点。利用 TCMSp 数据库中的 Related Targets 对活性成分相关靶点进行预测。

利用 UniProt 数据库(<https://www.uniprot.org/>)对靶点处理, 得到标准名称, 经过以上数据库得到的靶点即为中药中活性成分相关靶点。最后, 利用 GeneCards(<https://www.genecards.org/>)数据库对 COVID-19 相关靶点筛选, 得到疾病相关靶点。将药物活性成分相关靶点与疾病相关靶点取交集, 重合的靶点

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 81703946、81973791、61902113); 河南省高校重点科研项目(编号: 20B520012、16A520060、17B520017); 河南中医药大学博士基金项目(编号: BSJJ2015-19)。
** 通信作者: 许玉龙, E-mail: flyxl@126.com; 作者简介: 许冬玉, 2017 级研究生, 专业: 中西医结合耳鼻喉方向, E-mail: 1181859506@qq.com。

即为清肺排毒汤活性成分作用于疾病的相关靶点。

1.3 靶点蛋白互作网络构建及关键靶点筛选 利用 String 在线数据库对靶点的蛋白间相互作用(protein protein interaction , 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 >0.4 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 软件 得到 PPI 网络图可视化。

1.4 靶点基因本体论(Gene ontology , GO) 和 KEGG 通路富集分析 利用 Cytoscape 软件中 ClueGO 插件^[15] 对得到的共同靶点进行 GO 和 KEGG 富集分析 保留 $P \leq 0.05$ 的结果 得到 GO 柱状图及 KEGG 信号通路柱状图 最后运用 Cytoscape 软件构建靶点-信号通路网络图 进一步说明靶点和信号通路在清肺排毒

汤治疗 COVID-19 的作用。

2 结果

2.1 清肺排毒汤的 21 味中药活性成分筛选 利用 TCMSP 数据库对 21 味中药中所含的活性成分进行检索。然后进一步利用参数 $OB \geq 30\%$, $DL \geq 0.18$, $HL \geq 8$ 作为条件对剩余 20 味中药进行筛选(其中石膏未检索到相关结果) 得到 186 个活性成分 其中甘草 53 个 白术 1 个 半夏 3 个 柴胡 8 个 陈皮 3 个 茯苓 3 个 桂枝 2 个 黄芩 26 个 藿香 8 个 款冬花 10 个 麻黄 10 个 山药 10 个 射干 9 个 生姜 2 个 杏仁 3 个 细辛 6 个 泽泻 4 个 枳实 13 个 猪苓 1 个 紫菀 7 个 见表 1。

表 1 清肺排毒汤 77 个主要活性成分

Mol ID	Mol Name	药物	Degree	Mol ID	Mol Name	药物	Degree
MOL005918	Phenanthrone	藿香	3	MOL001803	Sinensetin	枳实	5
MOL004328	Naringenin	藿香	11	MOL002914	Eriodyctiol	枳实	3
MOL005916	Irisolidone	藿香	7	MOL005100	Chroman-4-one	枳实	3
MOL005911	5-Hydroxy-7- <i>A</i> -dimethoxyflavanon	藿香	2	MOL005849	didymin	枳实	3
MOL005921	Quercetin	藿香	3	MOL007879	Tetramethoxyluteolin	枳实	7
MOL004829	Glepidotin B	甘草	2	MOL013277	Isosinensetin	枳实	6
MOL000239	Jaranol	甘草	5	MOL013279	Trimethylpigenin	枳实	5
MOL000392	Glabrone	甘草	6	MOL005828	Nobiletin	枳实	7
MOL000417	Calycosin	甘草	7	MOL003759	Ristectorigenin A	射干	7
MOL001484	Odoratin	甘草	3	MOL000351	Rhamnazin	射干	7
MOL001792	DFV	甘草	2	MOL001735	Dinatin	射干	5
MOL004808	Glycyroside	甘草	5	MOL002322	Isovitexin	射干	2
MOL004810	Naringenin	甘草	6	MOL003753	Dihydrokaempferide	射干	3
MOL004829	Xambioona	甘草	3	MOL003758	Iristectorigenin	射干	6
MOL004828	Glepidotin A	甘草	3	MOL003769	Irolone	射干	5
MOL004855	Licoricone	甘草	4	MOL000358	Beta-sitosterol	生姜	7
MOL004856	Glycyroside	甘草	5	MOL000449	Stigmasterol	生姜	2
MOL004857	Euchrenone	甘草	5	MOL004903	Liquiritin	杏仁	3
MOL004883	Licorice	甘草	5	MOL004841	Licochalcone B	杏仁	6
MOL004935	Eurycarpin A	甘草	2	MOL002962	Chroman-4-one	细辛	5
MOL004949	Isolicoflavonol	甘草	4	MOL001460	Cryptopin	细辛	3
MOL004957	HMO	甘草	6	MOL001558	Sesamin	细辛	3
MOL005000	Gancaonin C	甘草	6	MOL009849	ZINC05223929	细辛	2
MOL005001	Gancaonin H	甘草	6	MOL002563	Galangin	紫菀	8
MOL005007	Glyasperins M	甘草	4	MOL004609	Astin C	紫菀	4
MOL005016	Odoratin	甘草	5	MOL000006	Luteolin	紫菀	18
MOL005815	Citromitin	陈皮	2	MOL000098	Quercetin	紫菀	36
MOL000173	Wogonin	黄芩	14	MOL002881	Diosmetin	麻黄	5
MOL000525	Norwogonin	黄芩	5	MOL005190	Eriodictyol	麻黄	3
MOL001689	Acacetin	黄芩	10	MOL005842	Pectolinarigenin	麻黄	5
MOL002915	Salvigenin	黄芩	4	MOL004576	Taxifolin	麻黄	4
MOL002932	Panicolin	黄芩	6	MOL000519	Coniferin	半夏	2
MOL002928	Oroxylin a	黄芩	1	MOL010028	Tussilagin	款冬花	1
MOL012266	Rivularin	黄芩	2	MOL000354	Isorhamnetin	款冬花	8
MOL000422	Kaempferol	黄芩	14	MOL005465	AIDS180907	山药	3
MOL013187	Cubebin	柴胡	2	MOL001736	(-)-taxifolin	山药	2
MOL004598	Chromone	柴胡	2	MOL005573	Genkwanin	山药	5
MOL001798	Neohesperidin_qt	枳实	3	MOL000072	8 β -ethoxy	白术	1
				MOL002714	Baicalein	白术	7

2.2 清肺排毒汤中的活性成分治疗 COVID-19 相关靶点的筛选 从 TCMSP 数据库中的 Related Targets 预测得到 217 个成分相关靶点 从 Genecards 数据库中筛选得到 200 个 COVID-19 相关靶点。然后将 217 个成分靶点与 200 个 COVID-19 疾病靶点进行韦恩图绘制 得到 51 个重合靶点如图 1 所示 即为中药活

性成分作用于疾病的相关靶点。重合靶点更详细的信息 见表 2 其中包括丝裂原活化蛋白激酶(MAKP) 、白细胞介素(IL-1 β 、IL-2、IL-6 等) 。

表2 COVID-19 和清肺排毒汤重合的 51 个靶点详细信息

序号	基因	序号	基因	序号	基因	序号	基因
1	PTGS2	14	MAPK8	27	IL-1β	40	CD40LG
2	PTGS1	15	STAT1	28	CCL2	41	IRF1
3	DPP4	16	HMOX1	29	PRKCB	42	MAPK3
4	CALM1	17	ICAM1	30	NOS3	43	BAD
5	RELA	18	EGFR	31	HSPB1	44	CAT
6	BCL2	19	BCL2L1	32	IL-2	45	CREB1
7	FOS	20	MAPK1	33	SERPINE1	46	PLA2G4A
8	BAX	21	RB1	34	IL-1α	47	MCL1
9	CASP3	22	IL-6	35	PARP1	48	CDK4
10	APOD	23	CASP8	36	CXCL11	49	IL-4
11	PPARG	24	SOD1	37	CXCL2	50	G6PD
12	NOS2	25	PRKCA	38	CRP	51	CCND3
13	MAPK14	26	HSPA5	39	CXCL10		

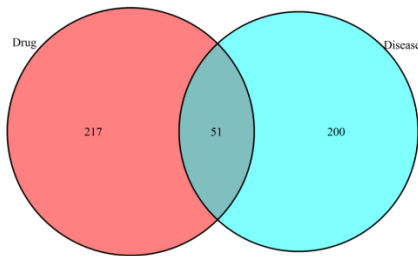


图1 清肺排毒汤与 COVID-19 重合的靶点韦恩图

2.3 药物活性成分-靶点网络分析 根据药物中筛选的活性成分和作用于疾病的相关靶点,利用 Cytoscape 软件构建成分-靶点网络,见图 2 所示。其中红色药物活性成分,蓝色代表靶点。从图 2 可知,药物活性成分中"Degree"值排前五的分别是:槲皮素(Quercetin, MOL00098, 值为 36)、木犀草素(Luteolin, MOL000006, 值为 18)、山奈酚(Kaempferol, MOL000422, 值为 14)、柚皮素(naringenin, MOL004328, 值为 11)、异鼠李碱(Isorhamnetin, MOL000354, 值为 8)。充分体现了中药多成分、多靶点的特点。

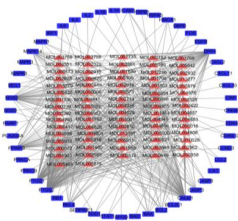


图2 清肺排毒汤活性成分-靶点图

2.4 靶点 PPI 网络分析及关键靶点的筛选 在 STRING 在线数据平台上输入 51 个共同靶点,分析后得到 PPI 网络图,如图 3 所示,图中含有 51 个靶蛋白和 588 条互作边。

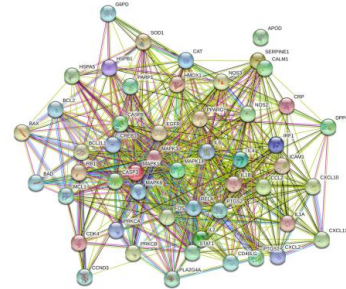


图3 清肺排毒汤作用的 51 个共同靶点网络关系图

2.5 靶点的 GO 生物功能注释 GO 是 GeneOntology 的简称,主要包括生物过程(Biological Process)、细胞组成(Cellular Component)、分子功能(Molecular Function)三部分。利用 Cytoscape 软件中的 ClueGO 插件对 51 个共同作用靶蛋白进行 GO 生物功能注释,根据保留 $P \leq 0.01$ 的结果,并分别对前 20 个条目进行可视化分析,得到柱状图 4~6,其中纵坐标表示富集条目,横坐标表示富集个数。图 4 显示共同作用靶点在生物过程(BP)中,主要富集条目为脂多糖应答(response to lipopolysaccharide)、对细菌来源分子的反应(response to molecule of bacterial origin)、氧化应激反应(response to oxidative stress)等。图 5 说明,其共同作用靶点在细胞组成(CC)中主要富集条目为膜筏(membrane raft)、膜微区(membrane microdomain)、膜区(membrane region)等。如图 6 所示,其共同作用靶点在分子功能(MF)中主要富集条目为细胞因子受体结合(cytokine receptor binding)、细胞因子活性(cytokine activity)、受体配体活性(receptor ligand activity)等。

2.6 KEGG 通路富集分析 利用 Cytoscape 软件中 ClueGO 插件对 51 个共同作用靶蛋白进行 KEGG 富集分析。根据保留 $P \leq 0.01$ 的结果,进行可视化分析,得到 KEGG 富集分析柱状图 7 所示,纵坐标表示富集通路的名称,横坐标表示富集个数。其共同靶点主要富集于乙型肝炎(Hepatitis B)、麻疹(Measles)、甲型流感(Influenza A)、结核病(Tuberculosis)等疾病及 AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications、Kaposi sarcoma-associated herpesvirus infection、IL-17、TNF 等相关信号通路上。

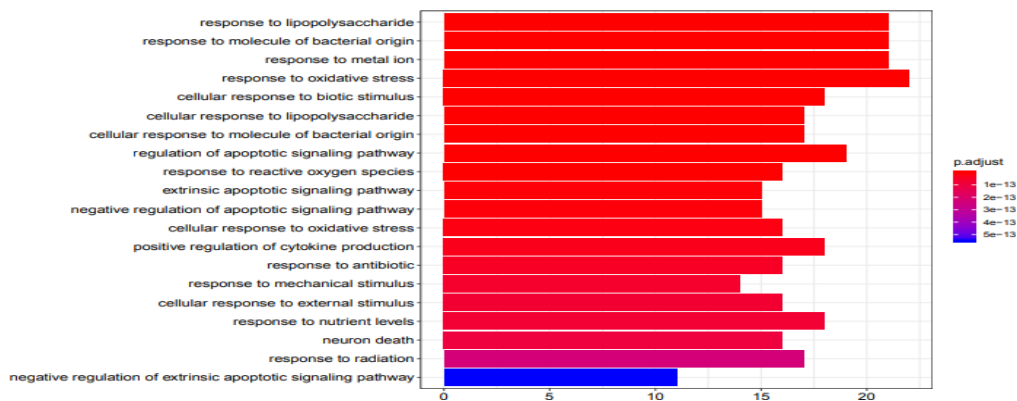


图4 清肺排毒汤主要作用靶点 BP 柱状图

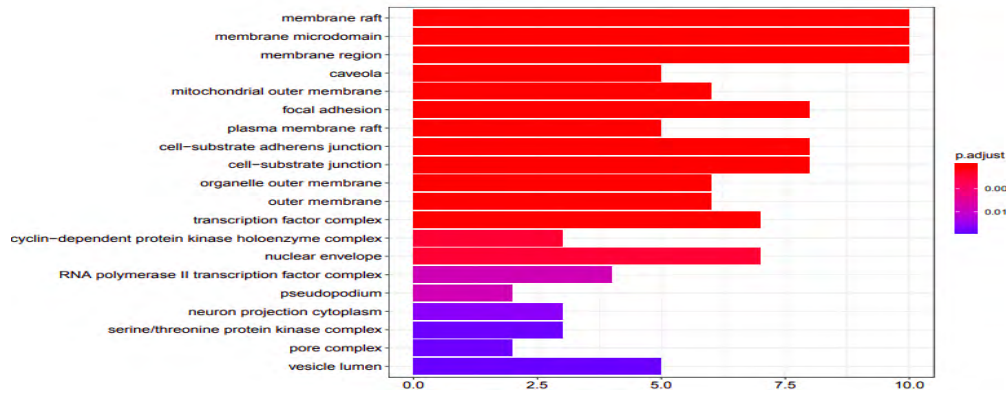


图5 清肺排毒汤主要作用靶点 CC 柱状图

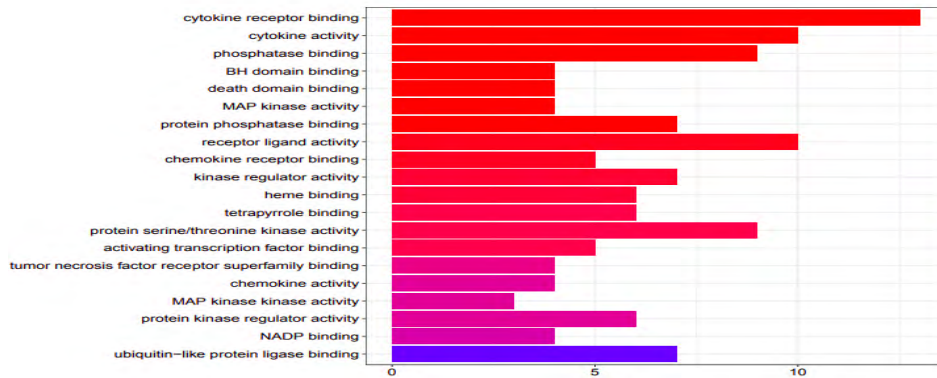


图6 清肺排毒汤主要作用靶点 MF 柱状图

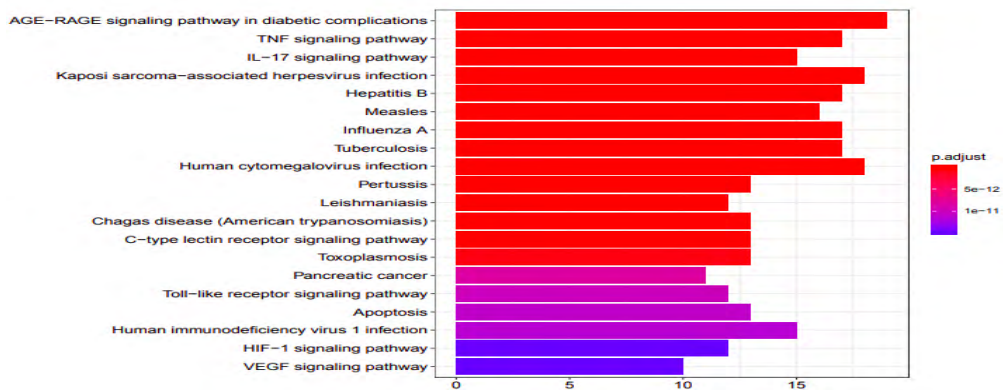


图7 清肺排毒汤主要作用靶点 KEGG 富集分析柱状图

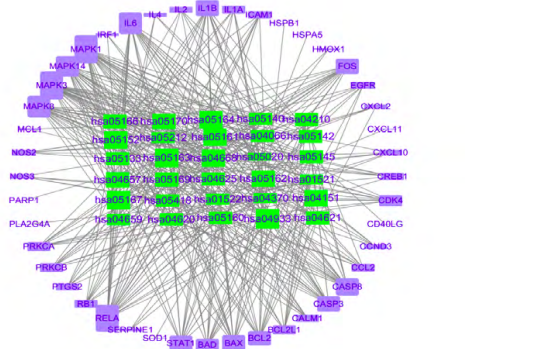


图8 清肺排毒汤作用靶点-通路图

2.7 构建靶点-通路图 将得到的通路条目、靶点信息导入 Cytoscape 软件 绘制得到靶点-通路图,见图 8 所示 其中绿色代表通路 蓝色代表靶点 形状越大代表富集越显著。其中核心靶点主要有: MAPK1、MAPK3、MAPK8、MAPK14、IL-6、RELA、STAT1。

3 讨论

本研究首先使用 TCMS 数据库对清肺排毒汤的中药活性成分进行筛选;运用 GeneCards 数据库对疾病靶点进行预测筛选 构建活性成分-靶点网络图。将得到的靶点利用 STRING 进行蛋白互作网络构建,并进行基因本体 GO 和 KEGG 富集分析,构建靶点-信号通路网络图,从而发现汤剂的主要的活性成分,以及主要作用的靶点和调节的通路。具体发现有:

清肺排毒汤前五个自由度最高的中药活性成分为: 槲皮素(quercetin)、木犀草素(luteolin)、山奈酚(kaempferol)、柚皮素(naringenin)、异鼠李碱(isorhamnetin)。

急性呼吸窘迫综合征(ARDS)和急性肺损伤(ALI)是 COVID-19 危重症的主要临床表现,其症状为呼吸困难和低氧血症。由革兰阴性菌感染造成的脓毒症多引起 ALI,而革兰阴性菌细胞壁外膜中的内毒素的主要成分为脂多糖(LPS),LPS 是常见的内毒素和炎症触发因素,可激活中性粒细胞产生大量炎症因子,LPS 进入大鼠肺组织后可使肺间质发生水肿,出现呼吸困难和低氧血症等症状。COVID-19 出现呼吸困难及多脏器功能衰竭,可能与内毒素有关。研究表明^[16],槲皮素对脂多糖性急性肺损伤的小鼠可起到一定的保护作用,槲皮素通过抑制 NF- κ B 信号通路,减少 NF- κ B、ICAM-1 的产生,达到抗炎作用。陈奎香等^[17]研究表明,槲皮素具有抗氧化、调节免疫、降血脂及保护心肌缺血再灌注损伤等作用,能有效减轻超负荷大鼠的心肌肥大。

木犀草素类黄酮类化合物,对抗病毒、抗氧化、抗菌均有一定作用^[18]。木犀草素通过抑制病毒 RNA 的复制并阻止其合成来抑制感染肠疾病 71 级柯萨奇病毒 A16^[19],并且可以通过下调 TNF- α 、IL-1、IL-6 等的表达,激活 STAT 增加内源性抗病毒基因。巨噬细胞的异常活跃可产生大量炎症因子,如肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素等,而木犀草素可以减少这些炎症因子的产生,阻止信号转录达到抗炎的作用^[20]。动物实验表明^[21],木犀草素可减少肝脏中细胞间粘附分子-1(ICAM-1)中的肿瘤坏死因子 α 的释放,也可抑制肺组织间的炎症。

山奈酚(kaempferol)具有抗氧化活性,可清除氧自由基,减轻组织因缺氧引起的损伤^[22],也可通过降低 MAPK、NF- κ B 等通路的活性来抑制 TNF- α 、IL-6、IL-10、IL-1 β 、血管细胞黏附因子-1(VCAM-1)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)的表达水平,发挥抗炎作用^[23]。山奈酚还可抑制血栓形成,董敏^[24]等研究表明山奈酚对神经具有保护作用,且可保护血脑屏障。

柚皮素(Naringenin)具有抗炎、抗氧化、抗纤维化、镇咳、抗癌、抗病毒、抗心律失常、预防动脉粥样硬化、免疫调节脂肪代谢、抗衰老、保护肝功能等多种药理活性^[25],且柚皮素可通过 NF- κ B 通路抑制炎症因子,降低由脂多糖(LPS)诱导的肺部炎症。张天柱等^[26]通过建立脂多糖诱导的急性肺损伤模型,发现柚皮素可通过下调 TNF- α 等因子水平,来保护和治疗肺损伤。唐黎黎等^[27]认为柚皮素对脑缺血再灌注损伤具有保护作用,并具有镇咳、止咳作用^[28]。

异鼠李碱(Isorhamnetin)具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤等作用^[29],并可通过抑制 TGF- β 信号通路降低肝纤维化和氧化应激^[30],对大鼠心室肌细胞也具有保护作用。

在靶点-信号通路网络图中,得到自由度较高的靶点有 MAPK1、MAPK3、MAPK8、MAPK14、IL-6、RELA、STAT1。MAPK(丝裂原活化蛋白激酶)与细胞分化、生长、增殖、免疫调控等多种细胞活动关系密切。Wang C 等^[31]研究表明宿主细胞可通过蛋白抑制 MAPK,从而抑制病毒。IL-6(白细胞介素 6)是由多种细胞产生的、小分子量活性多肽,不仅能提高细胞黏附因子(ICAM-1)和血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)在气道上的表达,而且能增加急性期蛋白合成,催化并放大炎症反应^[32]。RELA 是 NF- κ B 的家族成员之一,中性粒细胞的凋亡中发挥着重要的作用,哮喘患者的病情严重程度与 RELA 呈正相关^[33]。STAT1

在炎症反应中发挥着重要作用。STAT1 途径被激活后,诱导原始 T 细胞向 Th1 细胞分化,还可激活免疫系统,并促进 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 等炎症因子的释放,诱发炎症反应^[34]。

从 GO 富集分析结果可得知,在生物过程中主要富集的条目为脂多糖应答(response to lipopolysaccharide)、氧化应激反应(response to oxidative stress)等。脂多糖(LPS)刺激肺血管内皮细胞后能诱导 NF- κ B 活性升高,并且上调 IL-1 β 、TNF- α 等因子的表达,还能和 TNF- α 发生协同作用,增加血管内皮通透性导致炎症因子向肺间质的扩散,引起并加重肺损伤^[35]。过度氧化应激是导致急性肺损伤的另一重要机制。研究表明,LPS 可诱导肺组织活性氧的大量产生^[36]。活性氧诱导巨噬细胞和支气管上皮细胞释放炎症因子,诱导肺组织炎症反应^[37]。

从 KEGG 富集分析结果可得知,在治疗过程中主要涉及的通路有: TNF 信号通路、IL-17 信号通路、NF- κ B 信号通路及 Th17 细胞分化等。其中 TNF 信号通路和 IL-17 信号通路均是炎症反应中其重要作用的通路^[38]。TNF- κ B 通路是通过细胞因子、趋化因子、细胞黏附因子等的表达发挥其作用,是参与免疫和炎症反应的主要通路之一。由此推测,清肺排毒汤是通过抑制炎症反应和调节免疫功能来治疗 COVID-19。

综上所述,本研究运用网络药理学的技术和方法,检索清肺排毒汤中中药活性成分及潜在靶点,及 COVID-19 相关靶点,其中药物-疾病共同靶点 51 个,再对这些靶点进行 GO 生物过程及 KEGG 信号通路富集分析,预测出清肺排毒汤前五个主要活性成分是槲皮素、木犀草素、山奈酚、柚皮素,其主要是通过调节 MAPK1、MAPK3、MAPK8、MAPK14、IL-6、RELA、STAT1 等靶点,调控 TNF、NF- κ B 等信号通路来抑制炎症反应、调节免疫功能,减轻肺损伤,从而达到治疗 COVID-19 的目的。

本工作为研究清肺排毒汤在治疗 COVID-19 药效机制提供了初步的预测,其确切的机制仍需后续的实验研究验证。

参考文献

- [1] Huang Chaolin, Wang Yeming, Li Xingwang, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*, 2020-01-24. doi: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(20)30183-5).
- [2] Wang D W, Hu B, Hu C, et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 Novel Coronavirus Infected Pneumonia in Wuhan, China. [J/OL]. (2020-02-07) [2020-02-13]. *JAMA*, 2020. <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2761044>.
- [3] 苗青, 丛晓东, 王冰, 等. 新型冠状病毒感染的肺炎的中医认识与思考[J/OL]. *中医杂志*, 2020, 61(2): 14.
- [4] 王玉光, 齐文升, 马家驹, 等. 新型冠状病毒(2019-nCoV)肺炎中医临床特征与辨证治疗初探[J/OL]. *中医杂志*, <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2166.R.20200129.1258.002.html>.
- [5] 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感染的肺炎诊疗方案(试行第四版)的通知[EB/OL]. [2020-01-27]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/zhengcwj/202001/4294563ed35b43209b31739bd0785e67.shtm>.
- [6] 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感染的肺炎诊疗方案(试行第五版)的通知[EB/OL]. [2020-02-05]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/zhengcwj/202002/3b09b894ac9b4204a79dl5b8912d4440.shtm>.
- [7] 国家卫生健康委员会办公厅, 国家中医药管理局. 新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第六版). [EB/OL]. [2020-02-19]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/zhengcwj/202002/3b09b894ac9b4204a79dl5b8912d4440.shtm>.

- nhc.gov.cn/xcs/zhengce/202002/8334a8326dd94d329df351d7da8aefc2.shtm.
- [8]全小林,李修洋,赵林华,等.从"寒湿疫"角度探讨新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的中医药防治策略[J/OL].中医杂志,http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2166.R.20200217.2034.006.html.
- [9]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/OL].中医杂志,http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2166.R.20200217.1502.004.html.
- [10]国家中医药管理局.中医药有效方剂筛选研究取得阶段性进展,试点省份临床观察显示:清肺排毒汤治疗总有效率可达90%以上.[EB/OL].[2020-02-06]http://bgs.satcm.gov.cn/gongzuodongtai/2020-02-06/12866.html.
- [11]庞稳泰,金鑫瑶,庞博,等.中医药防治新型冠状病毒肺炎方证规律分析[J/OL].中国中药杂志,https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjmm.20200218.502.
- [12]刘菊,崔瑛,白明学,等.基于中医药预防治疗新型冠状病毒肺炎的用药探析[J/OL].中草药,http://kns.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20200212.1133.002.html.
- [13]刘鑫旭,吴嘉瑞,蔺梦娟,等.基于网络药理学的四君子汤作用机制分析[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(16):194-202.
- [14]赵静,田赛赛,杨健,等.清肺排毒汤治疗新型冠状病毒肺炎机制的网络药理学探讨[J/OL].中草药,http://kns.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20200216.2044.002.html.
- [15]Bindea G, Mlecnik B, Hackl H, et al. GlueGO: a Cytoscape plug-in to decipher functionally grouped gene ontology and pathway annotation networks[J]. *Bioinformatics* 2009, 25(8):1091-1093.
- [16]Takashima K, Matsushima M, Hashimoto K, et al. Protective effects of intratracheally administered quercetin on lipopolysaccharide-induced acute lung injury[J]. *Respiratory Research* 2014, 15(1):150.
- [17]陈奎香,李素娟,罗健东,等.槲皮素通过抑制蛋白酶体活性减轻心肌细胞肥大[J].中国病理生理杂志,2015,31(8):1352-1359.
- [18]Birt D F, Hendrich S, Wang W. Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids[J]. *Pharmacol Ther*. 2001 May-Jun; 90(2-3):157-177.
- [19]Xu L, Su W, Jin J, et al. Identification of luteolin as enterovirus 71 and coxsackievirus A16 inhibitors through reporter viruses and cell viability-based screening[J]. *Viruses* 2014, 6(7):2778-2795.
- [20]Xagorari A, Papapetropoulos A, Mauromatis A, et al. Luteolin inhibits anendotoxin-stimulated phosphorylation cascade and proinflammatory cytokine production in macrophages[J]. *J Pharmacol Exp Ther* 2001, 296:181-187.
- [21]Kotanidou A, Xagorari A, Bagli E. Luteolin reduces lipopolysaccharide-induced lethal toxicity and expression of proinflammatory molecules in mice[J]. *Am J Respir Crit Care Med* 2002, 165(6):818-823.
- [22]周瑶,杜标炎,谭宇蕙,等.山奈酚对大鼠肝癌细胞 CBRH7919 的增殖抑制及诱导凋亡作用[J].广州中医药大学学报,2010,27(3):250-253.
- [23]Dong X, Fu J, Yin X, et al. Emodin: a review of its pharmacology toxicity and pharmacokinetics [J]. *Phytother Res*, 2016, 30(8):1207-1218.
- [24]董敏,肖亮,松明柯.山奈酚对急性短暂性缺氧时大鼠海马 CA1 神经元电压依赖性钾通道的作用[J].*中南药学* 2004, 2(3):135-138.
- [25]MIR IA, TIKU AB. Chemopreventive and therapeutic potential of "naringenin" a flavanone present in citrus fruits [J]. *Nutr Cancer*, 2015, 67(1):27-42.
- [26]张天柱,马春华,樊湘泽.柚皮素对脂多糖诱导小鼠急性肺损伤的保护作用研究[J].*中药药理与临床*,2013,29(6):29-31.
- [27]唐黎黎,杨运周,傅佳,等.柚皮素对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的保护作用[J].*安徽医科大学学报*,2006,41(4):430-432.
- [28]Shi Y, Dai J, Liu H, et al. Naringenin inhibits allergen-induced airway inflammation and airway responsiveness and inhibits NF- κ B activity in a murine model of asthma [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2009, 87(9):729-735.
- [29]白跳,迟丽屹,高宇勤,等.异鼠李素对糖尿病大鼠心肌纤维化的干预作用[J].*新疆医科大学学报* 2018, 41(7):865-869.
- [30]Yang J H, Kim S C, Kim K M, et al. Isorhamnetin attenuates liver fibrosis by inhibiting TGF- β /Smad signaling and relieving oxidative stress [J]. *Eur J Pharmacol*, 2016, 783:92-102.
- [31]Wang C, Liu H, Luo J, et al. HA Triggers the Switch from MEK1 SUMOylation to phosphorylation of the ERK Pathway in Influenza A Virus-Infected Cell and Facilitates Its Infection [J/OL]. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2017, 7(7):27.
- [32]李梅.老年慢性支气管炎哮喘患者血清 TNF- α 、IL-6 水平及临床意义[J].*放射免疫学杂志* 2005, 18(6):4401-4404.
- [33]黄进,朱黎明,朱应群. KLF2/RelA 比例失衡与哮喘患者中性粒细胞凋亡的关系研究[J].*中国呼吸与危重监护杂志*, 2018, 17(1):1-5.
- [34]Weinmann AS. Regulatory mechanisms that control T-follicular helper and T-helper 1 cell flexibility [J]. *Immunol Cell Biol*, 2014, 92(1):34-39.
- [35]Wu M F, Chen S T, Yang A H, et al. CLEC5A is critical for dengue virus-induced inflammasome activation in human macrophages [J]. *Blood*, 2013, 121(1):95-106.
- [36]Kim K H, Kwun M J, Han C W, et al. Suppression of lung inflammation in an LPS-induced acute lung injury model by the fruit hull of *Gleditsia sinensis* [J]. *BMC Complement Altern Med* 2014, 14:402.
- [37]Xu B, Li C, Wang J, et al. Lung injury via oxidative stress in mice induced by inhalation exposure to rocket kerosene [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(5):5497-5502.
- [38]Noack M, Miossec P. Selected cytokine pathways in rheumatoid arthritis [J]. *Semin Immunopathol* 2017, 39(4):365-383.

Mechanism of Qingfeipaidu Decoction on COVID-19 Based on Network Pharmacology*

Xu Dongyü¹, Xu Yulong^{1,2,*}, Wang Zhiwan¹, Lü Yali¹, Zhu Honglei¹, Song Ting¹

(¹ Henan University of traditional Chinese Medicine, Henan Zhengzhou 450046,

² School of information engineering, Zhengzhou University, Henan Zhengzhou 450001)

Objective: To study Qingfeipaidu decoction and its mechanism in the treatment of COVID-19 based on network pharmacology. **Methods:** TCMSD database was used to search and screen the active components of Qingfeipaidu decoction, and GeneCards database was used to predict and screen the disease target, the active component-target network diagram was established. STRING was used to construct protein-protein interaction (PPI) network. Gene Ontology (Go) and KEGG enrichment analysis were performed, the target signal pathway network

map was drawn. **Results:** A total of 217 targets of traditional Chinese medicine and 200 targets of COVID-19 were screened, then 51 common drug-disease targets were obtained, mostly enriched in biological processes and 30 signaling pathways, such as TNF signaling pathway, IL-17 signaling pathway, NF- κ B signaling pathway and Th17 cell differentiation. **Conclusion:** The five main active components of Qingfeipaidu decoction in the treatment of COVID-19 are quercetin, luteolin, kaempferol, naringin and isorhamnetine. They can inhibit inflammatory reaction, regulate immune function, reduce lung injury and protect nerve function by regulating targets to achieve the purpose of treating COVID-19, such as mapk1, mapk3, mapk8, Mapk14, IL6, RELA and STAT1 and so on.

Key words Qingfeipaidu decoction, COVID-19, target, signal pathway

基于古籍数据挖掘的中医防治疫病用药规律分析*

白明, 李杨波, 苗明三**
(河南中医药大学 郑州 450046)

摘要 目的: 通过对古籍疫病防治的文献挖掘, 寻找中医古方治疗相似疫病的组方, 总结用药规律, 挖掘潜在关联规则及配伍规律, 为新冠肺炎的防治提供参考。方法: 通过分析新冠肺炎的临床表现, 归纳病因证型。在中医古籍中寻找能够治疗相关证型的组方, 建立组方数据库, 使用 SPSS Clementine 12.0、SPSS Statistics 19.0 和 Excel 进行数据挖掘分析, 寻找潜在配伍规律。结果: 通过数据挖掘分析, 得到甘草、柴胡、黄芩等高频药物 22 种; 高频药物归肺、脾、胃经最多, 药性温、寒为主, 药味辛苦居多; 得到甘草-桔梗、甘草-防风、甘草-羌活等较高关联性药对 12 个; 因子分析提取 9 个公因子, 聚类分析得到 6 类。结论: 通过数据挖掘的方式得到了一些可能治疗新冠肺炎的药对和可能配伍, 为临床应用提供了新的思考。

关键词 新冠肺炎; 病因病机; 中医防治; 数据挖掘; 用药规律

2019 年 12 月以来, 我国湖北省武汉市连续发现病毒性肺炎患者^[1], 由于年关春运热潮, 该病毒呈辐射姿态迅速蔓延全国, 经专家调查发现其病原体是一种迄今在人类体内未发现的一种新型冠状病毒(以下简称新冠病毒), 即 2019 年新型冠状病毒(Corona Virus Disease 2019, COVID-19)。该病毒具有极强传染性, 对所有年龄组都易感染^[2], 截至北京时间 2020 年 2 月 13 日 24 时, 国内累计报告新冠肺炎患者确诊病例 63 851 人、疑似病例 10 109 人、治愈病例 6 723 人、死亡病例 1 380 人。2020 年 1 月 30 日世卫组织(WHO)将新冠肺炎疫情列为国际公共卫生紧急事件(PHEIC), 针对本次新冠病毒感染, 目前抗病毒药物及激素治疗缺乏循证依据, 没有特效药物可以攻克新冠病毒; 中医治疗具有多靶点、调控范围广的特点, 如抗击 2003 年爆发于广东的 SRAS 病毒, 中医就取得了很好的战绩^[4]。从中医角度来看, 本次新冠病毒肺炎属于“瘟疫”范畴^[3]。吴鞠通《温病条辨》自注曰:“瘟疫者, 厉气流行, 多兼秽浊, 家家如是, 若役使然也。”^[5]《黄帝内经》有云:“五疫之至, 皆相染易, 无问大小, 病状相似。”^[6]说明瘟疫具有很强的传染性, 与本次新冠病毒肺炎具有相似的特征。中医治疗瘟疫具有悠久的历史和成熟的理论体系, 本文从“寒湿疫”角度^[7]出发, 研究中医组方的配伍规律、潜在药对, 为临床治疗新冠肺炎提供新的思考。目前新冠肺炎确诊人数仍处于增长状态, 研究防治新冠病毒的中药配伍规律具有重大意义。

1 建立数据库

1.1 数据来源 全小林院士提出, 本次新冠肺炎属于的寒湿疫, 由于武汉地区属于北亚热带季风气候, 市内水域面积占全市总面积的四分之一^[8], 因此武汉市具有气候湿润、四季分明的特点。2019 年 12 月上旬以来, 武汉地区阴雨连绵, 空气湿度较大且气温较高, 湿热的天气会使身体内产生湿气^[9], 《时病论》曰:“湿土之气, 内应乎脾, 脾土受湿, 不司运化, 内湿酿成痰饮, 上袭于肺, 遂为咳嗽病矣”。湿气入体因脾闭肺, 气机升降失司, 且湿热化毒, 淤闭肺络及心包, 进而出现咳喘、呼吸困难、咯血等症^[10]。12 月中下旬, 武汉地区气温骤降, 冬伤于寒, 束住卫气, 郁而不舒, 因此很多患者出现发热的症状^[11]。所以, 本次新冠肺炎目前研究较多的病因病机为外感寒湿邪气引发的寒湿疫。

针对本次新冠肺炎的病因病机, 在《黄帝内经》《伤寒论》《温病条辨》《景岳全书》《瘟疫论》等古籍中查找治疗瘟疫的组方。

1.2 纳入标准 在《黄帝内经》《伤寒论》《温病条辨》《景岳全书》《瘟疫论》等中医古籍中查找到的治疗瘟疫组方中寻找病因病机为外感湿、寒疫病的组方, 去除相同方剂、加减方, 共找到组方 118 首。

1.3 统计处理^[12] 中药名称、分类、性味归经等均参照《中华人民共和国药典》2015 年版和普通高等教育“十二五”国家级规划教材《中药学》进行规范, 将具有多种名称的中药进行统一处理, 如“白芍药”“白芍”统一为“白芍”, “苡仁”“薏苡仁”统一为“薏苡仁”, “瓜蒌子”“栝蒌”统一为“瓜蒌”等。因为中药炮

* 基金项目: 河南省应急攻关项目(编号: 201100312300); 郑州市应急攻关项目(编号: ZZKJ2020604); 国家国际科技合作基地专项(编号: 2016-65)。 ** 通讯作者