基于网络药理学和分子对接探索血必净注射液治疗冠状病毒肺炎的潜在机制

何天目[a]，段灿灿[b,c]，李晓飞[a]，张建永[b,c*](遵义医科大学，a.基础医学院，b.药学院，c.基础药理教育部重点实验室暨特色民族药教育部国际合作联合实验室，贵州 遵义 563003)

摘要：目的 基于网络药理学和分子对接预测血必净注射液治疗冠状病毒肺炎潜在靶点及分子机制，为揭示血必净注射液治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的潜在网络作用机制提供科学依据。**方法** 检索国内外文献获取血必净注射液主要活性成分，通过 ETCM、TCMSP 及 Targetnet 在线数据库预测作用靶点；检索 GeneCards、CTD 及 OMIM 数据库获取冠状病毒肺炎相关靶点；整合分析获取血必净注射液治疗冠状病毒肺炎的靶点；采用 STRING 分析靶点蛋白的互作关系；通过 Enrichr 数据库进行基因功能及作用通路富集分析；采用 Cytoscape 软件进行网络可视化；最后采用 iGEMDOCK 软件对关键靶点进行分子对接分析。**结果** 本研究共收集到血必净注射液中活性成分 30 个，可作用于 222 个靶点，进一步分析其治疗冠状病毒肺炎的 17 个核心成分与 18 个核心靶点，主要作用于甲型流感，NF-κB、HIF-1 及 VEGF 等信号通路。发现与关键靶点对接较好的成分有羟基红花黄色素 A、绿原酸及丹酚酸 B 等。**结论** 本研究揭示了血必净注射液治疗冠状病毒肺炎多成分、多靶点、多通路的特点，可为其治疗 COVID-19 潜在网络作用机制提供新的线索。

关键词：血必净注射液；新型冠状病毒肺炎；网络药理学；分子对接；分子机制

中图分类号：R285.5 **文献标志码：**A **文章编号：**1007-7693(2020)04-0398-08

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.04.004

引用本文：何天目，段灿灿，李晓飞，等. 基于网络药理学和分子对接探索血必净注射液治疗冠状病毒肺炎的潜在机制[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(4): 398-405.

Potential Mechanism of Xuebijing Injection in Treatment of Coronavirus Pneumonia Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

HE Tianmu[a], DUAN Cancan[b,c], LI Xiaofei[a], ZHANG Jianyong[b,c*](*Zunyi Medical University, a.Basic Medicine School, b.School of Pharmacy, c.Key Laboratory of Basic Pharmacology of Ministry of Education and Joint International Research Laboratory of Ethnomedicine of Ministry of Education, Zunyi 563003, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To predict potential targets and molecular mechanism of Xuebijing injection on coronavirus pneumonia based on network pharmacology and molecular docking, so as to provide potential network mechanism of Xuebijing injection in the treatment of COVID-19. **METHODS** The active compositions of Xuebijing injection were screened out based on the literatures and the targets were predicted by ETCM, TCMSP and Targetnet online, while the potential targets in coronavirus pneumonia were collected by GeneCards, CTD and OMIM database. Integrated analyzed and obtained targets of Xuebijing injection in the treatment of coronavirus pneumonia. Then, the common targets were imported into STRING database for PPI network. The genefunction and pathway enrichment analysis of targets were performed using the online analysis database Enrichr and the interaction network were built using Cytoscape. Finally, iGEMDOCK software was used for molecular docking. **RESULTS** Thirty active compositions and 222 targets were obtained from Xuebijing injection in this study, and 17 core compositions and 18 core targets were screened, which mainly effected in Influenza A and NF-κB, HIF-1 and VEGF signaling pathway, etc. Hydroxysafflor yellow A, chlorogenic acid and salvianolic acid B were major compositions by molecular docking. **CONCLUSION** This study reveals that Xuebijing injection has the characteristics of multi-target and multi-pathway in treating coronavirus pneumonia, which can provide scientific evidence for mechanism prediction in treatment of COVID-19.

KEYWORDS: Xuebijing injection; COVID-19; network pharmacology; molecular docking; molecular mechanism

2019 年 12 月，在武汉市暴发了新型冠状病毒(SARS-CoV-2)引起的新型冠状病毒肺炎(COVID-19)，截至 2020 年 2 月 10 日 24 时，我国确诊病例 37 626 例，其中重型病例 7 333 例，占比高达 19.49%(数据来源国家卫生健康委员会)。临床表现为发热、干咳、乏力等；可进一步发展

基金项目：贵州省教育厅科技拔尖人才支持项目(黔教合 KY 字[2017]078)；贵州省科技合作计划项目(黔科合 LH 字[2015]7532)

作者简介：何天目，男，硕士生 Tel: (0851)28642334 E-mail: 263582857@qq.com *__通信作者：__张建永，男，博士，副教授 Tel: (0851)28642334 E-mail: zhangjianyong2006@126.com

为呼吸窘迫综合征、脓毒血症等，甚至死亡[1]。目前，尚无特效药及疫苗用于 COVID-19 的治疗，临床多采用对症及支持治疗，亟需一批有效药物投入临床。

为打好防疫攻坚战，传统中医药提前介入治疗，利用其多成分、多靶点，从系统治疗的特点，在 COVID-19 临床全疗程、全方位中发挥了重要作用。血必净注射液由红花、川芎、赤芍、丹参和当归 5 味中药组成，具有活血化瘀、溃散毒邪和清热解毒的功效，临床常用于重症肺炎、脓毒症等患者的治疗[2]。自疫情发生以来，血必净注射液在治疗 COVID-19 尤其是重型 COVID-19 患者中具有一定疗效，现已被《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第六版)》[3]收录用作重型及危重型患者临床推荐用药，且启动了相关临床研究。现代药理学研究表明，血必净注射液治疗重症肺炎的作用机制主要包括以下几个方面，如拮抗内毒素、抗炎、改善免疫功能与微循环、调节凝血平衡等[4-5]，这些可能也是其治疗 COVID-19 的潜在机制，但具体的分子机制尚不明确。

网络药理学是基于“药物-靶点-疾病”相互作用网络关系，通过分析基因、疾病、药物等网络库的关联，整体揭示“药物-靶点”“靶点-疾病”“药物-疾病”互作的奥秘，指导临床精准用药及新药研发[6]。本研究拟采用网络药理学及分子对接技术探讨血必净注射液治疗冠状病毒肺炎潜在靶点及分子机制，进一步为其治疗 COVID-19 的潜在网络作用机制提供新的科学依据，方法策略见图 1。

1 方法

1.1 血必净注射液成分筛选、靶点预测及网络构建

本研究通过检索国内外文献，筛选血必净注射液主要活性成分，经 Pubchem 数据库(https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/)验证和转化，整理分类。通过 ETCM(http://www.nrc.ac.cn:9090/ETCM/)与 TCMSP(http://tcmspw.com/)数据库在线获取成分相关靶点，未收录成分采用 Targetnet 数据库(http://targetnet.scbdd.com/)在线预测靶点，筛选条件为 AUC≥0.7，预测概率(Prob)>0.9，并经 Uniprot (https://www.uniprot.org/)校正，筛选物种为“Homo sapiens”的靶点。进一步采用 Cytoscape3.7.0 软件构建血必净注射液“成分-靶点”网络，并运用 Network Analyzer 插件分析网络拓扑参数。

1.2 血必净注射液治疗冠状病毒肺炎作用靶点预测及蛋白相互作用(protein-protein interaction，PPI)网络构建

通过在 GeneCards 数据库(http://www.genecards.org/)、CTD 数据库(http://ctdbase.org/)及 OMIM 数据库(https://omim.org/)中输入关键词“coronavirus pneumonia”，得到冠状病毒肺炎靶标数据库，剔除重复基因，并经 Uniprot 校正，筛选物种为人源，整合血必净注射液治疗冠状病毒肺炎潜在靶点。STRING 是用于搜寻已知蛋白质和预测蛋白质之间相互作用的数据库[7]。将血必净注射

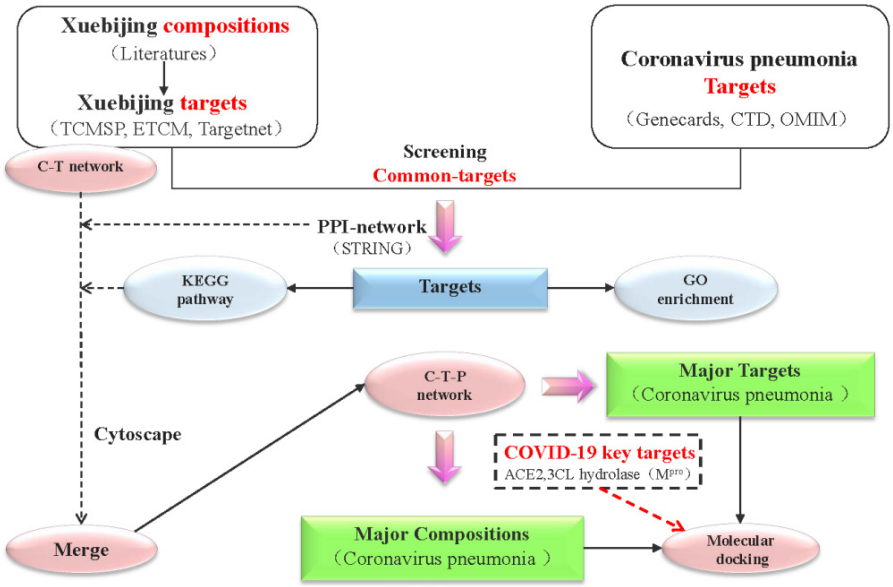

图 1 血必净注射液网络药理学及分子对接研究流程

Fig. 1 Research process of network pharmacology and molecular docking in Xuebijing injection

液与冠状病毒肺炎共同靶点导入 STRING 数据库(Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins，Version：11.0，http://string-db.org/)，选用 Multiple proteins，限定物种为人，选取高置信度(0.7)，保存为 TSV 格式。将其导入 Cytoscape3.7.0 软件绘制 PPI 网络，用于后续分析。

1.3 核心靶点基因功能、通路分析及“成分-靶点-通路”网络构建

Enrichr[8](http://amp.pharm.mssm.edu/Enrichr/#)是用于基因富集分析的数据库，包含 102 个基因集库的 180 184 个带注释的基因集。同时将核心靶点导入 Enrichr 网站进行在线 GO 富集分析与 KEGG 通路分析。以 $P<0.05$ 为条件筛选，按 combined score 值选取排名前 20 通路，利用 image GP(http://www.ehbio.com /ImageGP/)工具在线绘制气泡图。

1.4 iGEMDOCK 分子对接

iGEMDOCK[9] V2.1 是开源的分子对接软件，操作简单，可以直接导入配体分子进行对接、筛选、后分析和可视化，其能量打分函数通过蛋白质-化合物相互作用的静电、氢键和范德华力打分。

iGEMDOCK 基于对接的姿势(蛋白质-配体相互作用)和化合物的性质(原子组成)，使用 k 均值和层次聚类方法提供分析后工具，能量值越低则化合物分子与受体结合的构象越稳定，结合性越高[10]。首先通过 Chem3D 14.0 软件使化合物能量最小化，并将其保存为*MOL2 格式上传；关键靶点蛋白以 PDB 格式上传，通过“bounded ligand”选择原配体；其中 SARS-CoV-2 3CL 水解酶(M^{pro})运用 Pymol 软件进行去水、加氢等操作后保存为 PDB 格式上传，选择标准对接模式：population size=200，generation=70，number of solution=2 进行分子对接。

2 结果

2.1 血必净注射液活性成分筛选及“成分-靶点”网络构建

通过检索国内外文献[11-13]，选取血必净注射液中经过 LC-MS 定量检测的 30 个活性成分，且与文献报道的血必净注射液主要活性成分相符。其中红花成分 11 个，丹参成分 13 个，当归成分 4 个，赤芍成分 6 个，川芎成分 4 个，结果见表 1。采用 ETCM、TCMSP 及 Targetnet 数据库预测作用靶点，并经 Uniprot 校正后共获取靶点 222 个，导入 Cytoscape 软件绘制“成分-靶点”网络，结果见图 2。运用 Network Analyzer 插件获取度值排名前 10 的成分及靶点，结果见表 2。

表 1 血必净注射液主要活性成分

Tab. 1 Major active compositions of Xuebijing injection

No.	成分	名称	药材	分子式	Pubchem ID	No.	成分	名称	药材	分子式	Pubchem ID
A1	5-Hydroxymethyl-furfural	5-羟甲基糠醛	红花	$C_6H_6O_3$	237332	A16	Cryptotanshinone	隐丹参酮	丹参	$C_{19}H_{20}O_3$	160254
A2	Hydroxysafflor yellow A	羟基红花黄色素 A	红花	$C_{27}H_{32}O_{16}$	49798103	A17	Tanshinone II A	丹参酮 II	丹参	$C_{19}H_{18}O_3$	164676
A3	Hyperoside	金丝桃苷	红花	$C_{21}H_{20}O_{12}$	5281643	A18	Senkyunolide I	洋川芎内酯 I	川芎、当归	$C_{12}H_{16}O_4$	11521428
A4	Rutin	芦丁	红花	$C_{27}H_{30}O_{16}$	5280805	A19	Butylidenephthalide	丁二烯	川芎、当归	$C_{12}H_{12}O_2$	642376
A5	Quercetin	槲皮素	红花	$C_{15}H_{10}O_7$	5280343	A20	Caffeic acid	咖啡酸	川芎	$C_9H_8O_4$	1549111
A6	Ferulic acid	阿魏酸	当归、红花	$C_{10}H_{10}O_4$	445858	A21	Gallic acid	没食子酸	赤芍	$C_7H_6O_5$	370
A7	Chlorogenic acid	绿原酸	丹参、红花	$C_{16}H_{18}O_9$	1794427	A22	Oxypaeoniflorin	氧化芍药苷	赤芍	$C_{23}H_{28}O_{12}$	21631105
A8	Luteolin	木犀草素	丹参、红花	$C_{15}H_{10}O_6$	5280445	A23	Catechinic acid	儿茶酸	赤芍	$C_{15}H_{14}O_6$	9064
A9	Apigenin	芹菜素	丹参、红花	$C_{15}H_{10}O_5$	5280443	A24	Albiflorin	芍药内酯苷	赤芍	$C_{23}H_{28}O_{11}$	51346141
A10	Sodium Danshensu	丹参素钠	丹参	$C_9H_9NaO_5$	23711819	A25	Benzoylpaeoniflorin	苯甲酰芍药苷	赤芍	$C_{30}H_{32}O_{12}$	21631106
A11	Tanshinol	丹参醇	丹参	$C_9H_{10}O_5$	439435	A26	Paeonol	丹皮酚	赤芍	$C_9H_{10}O_3$	11092
A12	Protocatechuic acid	原儿茶酸	丹参	$C_7H_6O_4$	72	A27	Galuteolin	木犀草苷	丹参、红花	$C_{21}H_{20}O_{11}$	5317471
A13	Protocatechuic aldehyde	原儿茶醛	丹参	$C_7H_6O_3$	8768	A28	Rosmarinic acid	迷迭香酸	丹参	$C_{18}H_{16}O_8$	5281792
A14	Salvianolic acid B	丹酚酸 B	丹参	$C_{36}H_{30}O_{16}$	51066555	A29	Naringenin	柚皮素	红花	$C_{15}H_{12}O_5$	932
A15	salvianolic acid A	丹酚酸 A	丹参	$C_{26}H_{22}O_{10}$	5281793	A30	Ethyl ferulate	阿魏酸乙酯	川芎、当归	$C_{12}H_{14}O_4$	736681

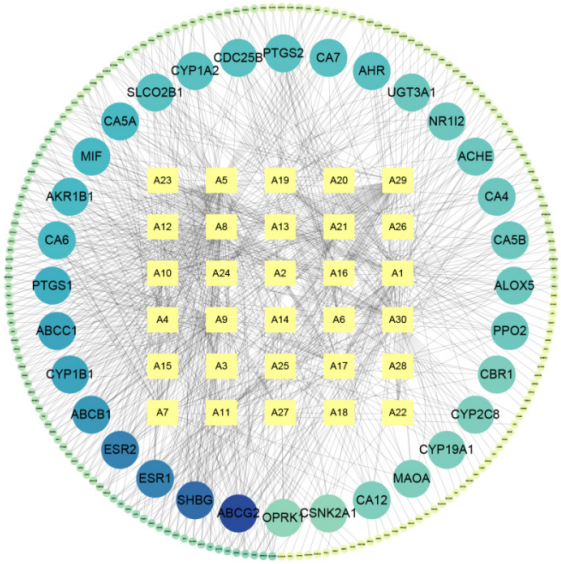

图 2 血必净注射液的“成分-靶点”网络

方形为活性成分，圆形为靶点，靶点度值随图形大小及颜色变化。

Fig. 2 “Compositions-Targets” network of Xuebijing injection

The square is the active component, the circle is the target, and the target degree value changes with the size and color of the figure.

表 2 血必净注射液的主要活性成分及靶点(排名前 10)

Tab. 2 Major compositions and targets in Xuebijing injection(Top 10)

成分	度值	靶点	度值
Luteolin	97	ABCG2	20
Quercetin	97	SHBG	17
Naringenin	76	ESR1	15
Ethyl ferulate	73	ESR2	15
Apigenin	70	ABCB1	13
5-Hydroxymethylfurfural	64	CYP1B1	12
Tanshinol	46	ABCC1	12
Chlorogenic acid	38	PTGS1	11
Sodium Danshensu	33	CA6	10
Cryptotanshinone	32	AKR1B1	10

2.2 血必净注射液治疗冠状病毒肺炎作用靶点预测及 PPI 构建

以“coronavirus pneumonia”为关键词检索，去除重复靶点，并经 Uniprot 校正整合共得到冠状病毒肺炎相关靶点 253 个。血必净注射液 222 个潜在靶点与冠状病毒肺炎相关靶点 253 个取交集得到共同靶点 20 个，将其导入 STRING 数据库中，以高置信度(0.7)为条件筛选，去除孤立靶点 ANPEP 与 LCN2，得到血必净注射液治疗冠状病毒肺炎的 18 个关键靶点蛋白，导入 Cytoscape 3.7.0 绘制 PPI 网络，结果见图 3。

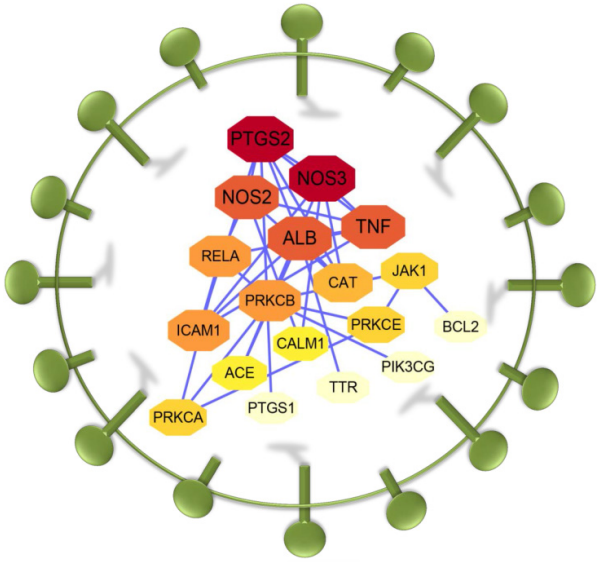

图 3 蛋白质-蛋白质相互作用网络图

靶点度值随图形大小及颜色深浅变化。

Fig. 3 Protein-protein interaction network

The value of target degree changes with the size and color of the figure.

2.3 GO 富集分析和 KEGG 靶点通路注释分析

以筛选出的 18 个作用靶点为对象导入 Enrichr 数据库，进行 GO 富集分析及 KEGG 通路注释分析。以 $P<0.05$ 为条件得到 480 个 GO 生物进程，69 种分子功能，10 种细胞组分及 134 条 KEGG 通路，根据 combined score 得分大小取前 20 条通路，结果见表 3。

表 3 KEGG 通路富集分析(排名前 20)

Tab. 3 Enrichment analysis on KEGG pathways(Top 20)

No.	Term	*P* 值	Combined Score
hsa04933	AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications	1.23×10^{-14}	2 846.885
hsa05140	Leishmaniasis	3.74×10^{-11}	2 163.066
has05413	African trypanosomiasis	2.98×10^{-8}	2 081.678
has04071	Sphingolipid signaling pathway	6.65×10^{-12}	1 682.069
has04064	NF-kappa B signaling pathway	1.73×10^{-10}	1 577.198
has04066	HIF-1 signaling pathway	2.37×10^{-10}	1 477.445
has05145	Toxoplasmosis	5.00×10^{-10}	1 263.551
has04370	VEGF signaling pathway	2.03×10^{-7}	1 160.982
has05146	Amoebiasis	1.87×10^{-8}	1 029.790
has05418	Fluid shear stress and atherosclerosis	1.75×10^{-9}	967.026 4
has00220	Arginine biosynthesis	1.59×10^{-4}	925.545 4
has04931	Insulin resistance	3.39×10^{-8}	884.796 2
has04918	Thyroid hormone synthesis	5.08×10^{-7}	870.447 7
has04921	Oxytocin signaling pathway	3.13×10^{-9}	853.325 2
has05133	Pertussis	5.66×10^{-7}	841.239 7
has05161	Hepatitis B	4.57×10^{-9}	785.396 5
has05014	Amyotrophic lateral sclerosis (ALS)	1.24×10^{-5}	738.385 9
has05164	Influenza A	6.10×10^{-9}	737.434 6
has05163	Human cytomegalovirus infection	5.95×10^{-10}	734.310 1
has05152	Tuberculosis	8.02×10^{-9}	694.264 2

同时，用 image GP 工具进行可视化，结果见图 4。将其导入 Cytoscape 3.7.0 软件，与“成分-靶点”及 PPI 网络进行 Merge，得到血必净注射液治疗冠状病毒肺炎潜在成分 17 个、靶点 18 个，结果见表 4。整合构建“成分-靶点-通路”网络图，结果见图 5。

2.4 血必净注射液主要成分与关键靶点进行分子对接

采用 iGEMDOCK V2.1 软件将 17 个主要成分与“成分-靶点-通路”网络中度值较高的 PRKCB、TNF、RELA 靶点以及 COVID-19 关键靶点 SARS-CoV-2 3CL 水解酶(M^{pro})、血管紧张素转换酶 II(ACE2)进行分子对接，同时将目前临床治疗 COVID-19 有效的化学药阿比多尔(Pubchem ID：131411)、利巴韦林(Pubchem ID：37542)、利托那韦(Pubchem ID：392622)及瑞德西韦(Pubchem ID：121304016)对接作参考。配体与受体结合的构象稳定时能量越低，结合可能性越大。分子对接结果显示，羟基红花黄色素 A、绿原酸及丹酚酸 B 等能量较低，结合性较好，且与阳性药结果相似，可能是治疗 COVID-19 的潜在成分，结果见图 6。并通过 iGEMDOCK 进行分析，将潜在成分与关键靶点结果可视化，结果见图 7。

表 4 血必净注射液治疗冠状病毒肺炎潜在成分、靶点

Tab. 4 Potential compositions and targets of Xuebijing injection in coronavirus pneumonia

成分	度值	靶点	度值
Ethyl ferulate	7	PRKCB	22
Luteolin	6	TNF	22
Quercetin	6	RELA	21
5-Hydroxymethylfurfural	5	NOS2	19
Catechinic acid	4	PTGS2	19
Apigenin	4	PRKCA	16
Naringenin	4	NOS3	16
Hydroxysafflor yellow A	3	BCL2	14
Gallic acid	3	JAK1	13
Ferulic acid	3	ALB	12
Tanshinone II A	3	ICAM1	11
Tanshinol	3	PTGS1	10
Butylidenephthalide	2	CALM1	8
Sodium Danshensu	2	PRKCE	7
Chlorogenic acid	1	PIK3CG	7
Senkyunolide I	1	TTR	6
Salvianolic acid B	1	CAT	6
		ACE	3

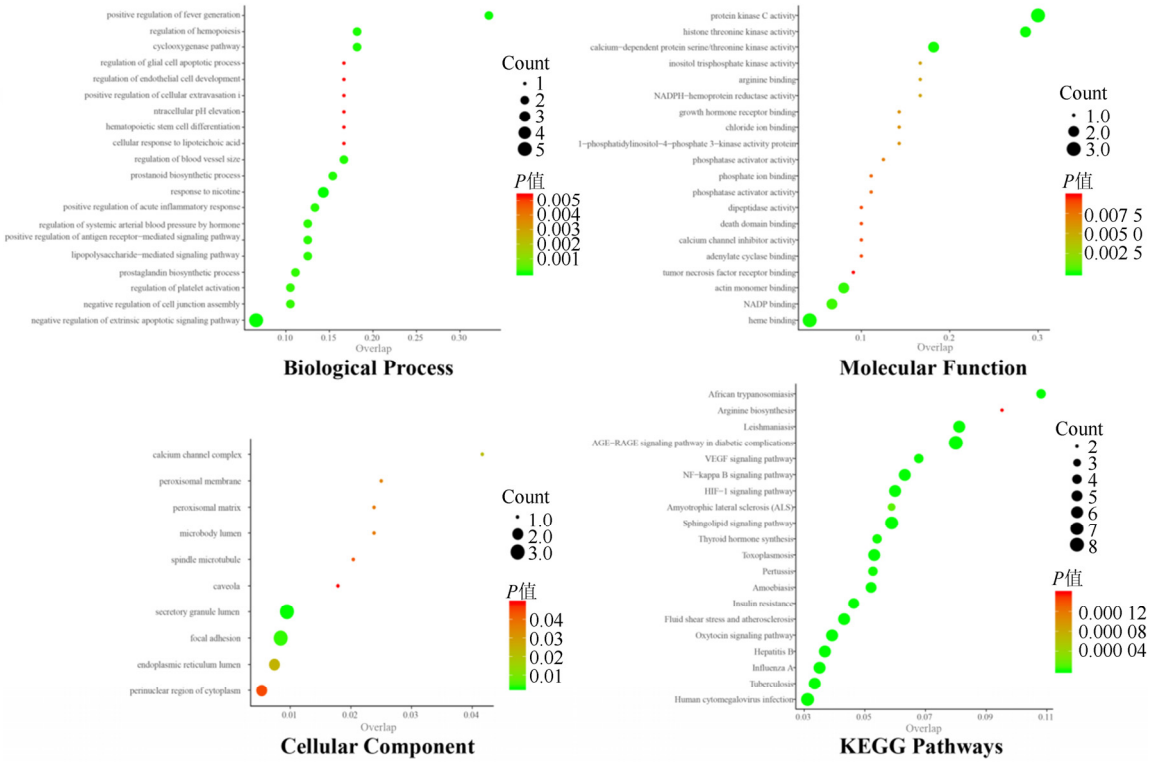

图 4 GO 富集分析与 KEGG 通路富集气泡图(排名前 20)

Fig. 4 Bubble plot of GO enrichment and KEGG pathway analysis (Top 20)

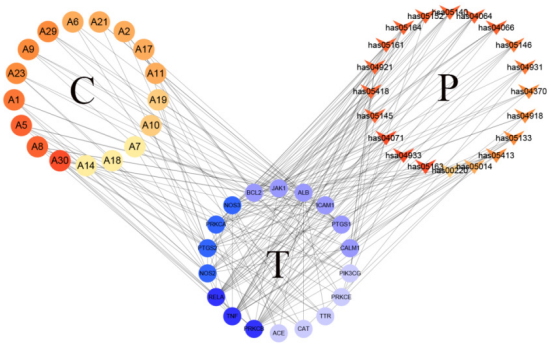

图 5 “成分-靶点-通路”网络

C–活性成分；T–靶点；P–KEGG 通路；度值大小随颜色深浅变化。

Fig. 5 Interaction network of “Composition-Target- Pathway”

C– the active component; T–the target; P–the KEGG pathway; the degree value changes with the color depth.

3 讨论

临床研究发现，血必净注射液可降低社区获得性肺炎重症患者 28 d 病死率[14]。自发生疫情以来，血必净注射液因具有注射剂起效快，对于危重型患者疗效显著的特点，在多个地区卫健委根据“三因制宜”原则发布的地区《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案》中作为推荐用药[15]。专家推测其可能在治疗 COVID-19 中具有重要的临床价值，但其临床药效尚不明确，同时缺乏分子水平实验证据。因此，深入分析血必净注射液治疗冠状病毒肺炎作用机制，探索潜在成分及靶点，进一步推测其治疗 COVID-19 的潜在成分及网络作用机制，为后续扩大其在 COVID-19 临床应用上提供科学依据，本研究基于网络药理学和分子对接方法对血必净注射液的作用机制进行深入分析和探讨。

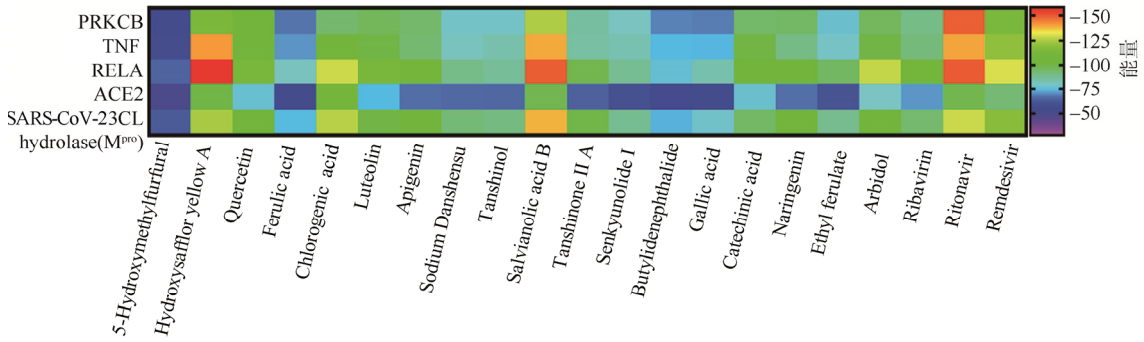

图 6 血必净注射液与关键靶点分子对接结果

Fig. 6 Molecular docking results of Xuebijing injection-major targets

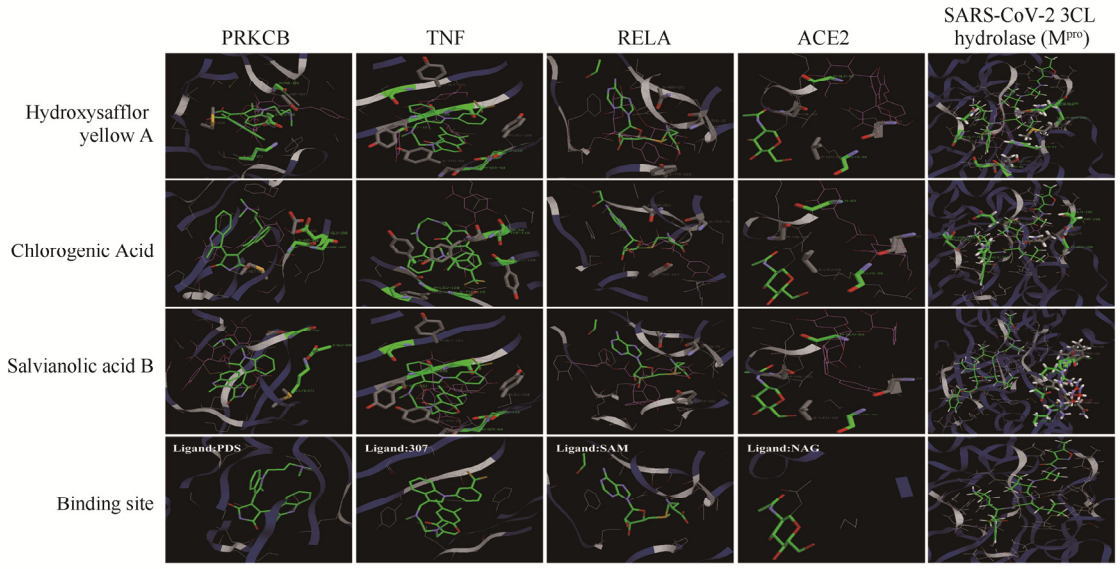

图 7 血必净注射液与关键靶点对接最佳姿势

Binding site 里的 Ligand name 是靶点蛋白进行对接的受体名。

Fig. 7 Best pose of Xuebijing injection-major targets by molecular docking

The Ligand name in the binding site is the name of the receptor for the docking of the target protein.

3.1 血必净注射液治疗冠状病毒肺炎关键靶点及机制分析

血必净注射液治疗冠状病毒肺炎可能与 RELA、TNF、PTGS2、NOS2 靶点有关。RELA 是 NF-κB 蛋白中的一种，在炎症与免疫中起到关键作用，且有实验证实 RELA 及 TNF 靶点是羟基红花黄色素 A 治疗肺炎的关键靶点[16]，RELA 也与病毒引起的呼吸道炎症有关[17]。环氧合酶(PTGS2/COX-2)是一种诱导酶，在组织损伤、炎症等情况下表达增强，研究发现 COX-2 表达与肺炎及肺损伤有关[18-19]。一氧化氮合酶(NOS)是一种同工酶，研究发现 NOS 与肺炎及肺纤维化有关[20]。

GO 生物进程可能通过 positive regulation of fever generation(发热调节)、positive regulation of acute inflammatory response(炎症调节)、negative regulation of extrinsic apoptotic signaling pathway(凋亡负调控)、positive regulation of antigen receptor-mediated signaling pathway(抗原受体正调控)进行调节；分子功能可能与 protein kinase C activity(蛋白激酶 C)、tumor necrosis factor receptor binding(肿瘤坏死因子)有关。KEGG 通路分析发现，血必净注射液治疗冠状病毒肺炎可能与 Influenza A(甲型流感)、NF-κB signaling pathway (NF-κB 信号通路)、HIF-1 signaling pathway(HIF-1 信号通路)、VEGF signaling pathway(VEGF 信号通路)有关。NF-κB 信号通路在细胞的炎症反应、免疫应答等起到关键性作用。研究发现调节 NF-κB 通路可减轻肺炎引起的肝、肺、肾损伤[21-22]，且激活 NF-κB 通路可抑制病毒性肺炎及甲流病毒复制[23]。HIF-1 是一种转录因子，可作为氧稳态的主要调节剂。研究发现，HIF-1 通路与病毒性肺炎的炎症因子释放有关[24-25]。VEGF 通路也与炎症抑制，减轻肺损伤有关[26-27]。

综上，血必净注射液可能通过抗炎、免疫、抗凋亡及减轻肺炎引起的多器官损伤而用于冠状病毒肺炎患者治疗，且关键靶点 TNF、PTGS2、PRKCB、RELA 等参与了上述通路，提示本研究预测准确性较高。

3.2 血必净注射液治疗 COVID-19 潜在成分、靶点及机制探讨

对关键靶点 PRKCB、TNF 及 RELA 进行分子对接，发现羟基红花黄色素 A、绿原酸及丹酚酸 B 的结合性较好，且与阳性药对接结果相似，提示羟基红花黄色素 A、绿原酸及丹酚酸 B 等可能是治疗冠状病毒肺炎的潜在成分。目前 COVID-19 靶标数据库收录尚不全面，预测有一定局限性，为进一步探索血必净注射液在治疗 COVID-19 中的潜力，对其 2 个关键靶点进行对接，由于治疗 COVID-19 尚无特效药，选择临床有效的阿比多尔、利巴韦林、利托那韦及瑞德西韦化学药同时对接，可进一步比较关键成分结合性。结果发现，羟基红花黄色素 A、绿原酸及丹酚酸 B 在 SARS-CoV-2 3CL 水解酶(M^{pro})及 ACE2 靶点中结合性也较好，且与阳性药结果相似。PDB 数据库表示，SARS-CoV-2 3CL 水解酶(M^{pro})，对于病毒的蛋白水解成熟至关重要，可能是小分子药物抑制病毒蛋白裂解并防止感染传播的重要靶点(https://www.rcsb.org/news?year=2020&article=5e39e03fa5007a04a313 edc3)。目前，大多数病毒通过受体介导的胞吞作用进入细胞，而发现 ACE2 可能是 COVID-19 感染肺细胞的受体[28]。ACE2 是肾素-血管紧张素-醛固酮系统的关键分子，本次研究中血必净注射液治疗冠状病毒肺炎关键靶点 ACE 也参与上述通路。血必净注射液治疗肺炎机制主要与拮抗内毒素、抗炎、免疫与微循环等有关，本次研究中，PRKCB、BCL2、PTGS2、TNF 及 RELA 等蛋白参与了 NF-κB 信号通路；NOS3、PRKCB 及 PTGS2 等参与了 VEGF 信号通路；NOS3、PRKCB、BCL2 及 RELA 等参与了 HIF-1 信号通路；PRKCB、TNF 及 RELA 等参与了甲型流感通路。

综上，羟基红花黄色素 A、绿原酸及丹酚酸 B 可能是血必净注射液治疗 COVID-19 的潜在成分，且以上成分经 LC-MS 技术检测均含量较高；TNF、PRKCB 及 RELA 等可能是其潜在靶点，但仍需进一步的实验验证，后期可围绕主要成分进行实验，运用代谢组学与分子水平实验等加以验证，为血必净注射液治疗 COVID-19 提供科学依据。

4 结语

本研究基于网络药理学和分子对接技术对血必净注射液治疗冠状病毒肺炎靶点预测与分子机制研究，从系统层面揭示血必净注射液治疗冠状病毒肺炎“多成分、多靶点、多通路”的特点。同时发现了羟基红花黄色素 A、绿原酸及丹酚酸 B 等比较有潜力的活性成分。然而，本研究对于低丰度的活性成分尚未考虑，有待进一步拓展，且

数据库与潜在靶标的不完全仍需要基础实验的进一步验证。目前，COVID-19 的致病机制尚不清楚，对血必净注射液治疗冠状病毒肺炎机制深入研究，可为其治疗 COVID-19 潜在成分及网络作用机制预测提供科学依据。

致谢：感谢上海科技大学免疫化学研究所杨秀娜副研究员提供 SARS-CoV-2 3CL 水解酶(M^{pro})的晶体结构。

REFERENCES

[1] 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. [2020-02-09]. http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2166.R.20200205.1606.002.html.

[2] ZHANG Q, LI J, LIANG X, et al. The preventive effect of Chinese herbal preparation Xuebijing against hyperactive inflammation after hepato-pancreato-biliary surgery [J]. Ann Transl Med, 2019, 7(18): 481.

[3] 国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第六版)[S]. 2020.

[4] LI L J, MA R, CAO Y. Research progress on pharmacological mechanism of XueBiJing injection in treatment of sepsis [J]. Drug Eval Res(药物评价研究), 2018, 41(8): 1548-1553.

[5] DIAO Y F, ZHANG S J, ZHAO W Y, et al. Effect of Xuebijing injection on expression of interleukin-6 and tumor necrosis factor-α in patients with severe pneumonia [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2017, 48(6): 1188-1191.

[6] SHEN H B, ZHOU Y N, ZHENG J, et al. Discussion on the major ingredients and targets of Shenchai granules for the hepatoprotective based on network pharmacology [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2019, 36(19): 2467-2475.

[7] SZKLARCZYK D, GABLE AL, LYON D, et al. STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets [J]. Nucleic Acids Res, 2019, 47(D1): D607-D613.

[8] KULESHOV M V, JONES M R, ROUILLARD A D, et al. Enrichr: a comprehensive gene set enrichment analysis web server 2016 update [J]. Nucleic Acids Res, 2016, 44(W1): W90-7. Doi: 10.1093/nar/gkw377.

[9] YANG J M, CHEN C C. GEMDOCK: a generic evolutionary method for molecular docking [J]. Proteins, 2004, 55(2): 288-304.

[10] XU W H, ZHENG J H, ZHAO Y, et al. Molecular biological mechanism of tanshinone IIA in treatment of coronary heart disease based on network pharmacology and bioinformatics [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2019, 50(5): 1131-1140.

[11] ZUO L H, SUN Z, HU Y, et al. Rapid determination of 30 bioactive constituents in Xuebijing injection using ultra high performance liquid chromatography-high resolution hybrid quadrupole-orbitrap mass spectrometry coupled with principal component analysis [J]. J Pharm Biomed Anal, 2017(137): 220-228.

[12] FENG Y Y, XIE Y Y, WANG Y P, et al. Molecular mechanism of Xuebijing injection in treatment of sepsis according to “drug-target-pathway” network [J]. Acta Pharm Sin(药学学报), 2017, 52(4): 556-562.

[13] ZUO L H, ZHOU L, SHI Y Y, et al. Mechanism of XueBiJing injection in anti-acute lung injury based on network [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2018, 49(15): 3541-3549.

[14] SONG Y, YAO C, YAO Y, et al. XueBiJing injection versus placebo for critically Ill patients with severe community-acquired pneumonia: A randomized controlled trial [J]. Crit Care Med, 2019, 47(9): e735-e743.

[15] 郑文科, 张俊华, 杨丰文, 等. 中医药防治新型冠状病毒感染的肺炎各地诊疗方案综合分析[J/OL]. 中医杂志. [2020-02-09]. http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2166.r.20200206.1113.002.html.

[16] JIN M, WANG L, WU Y, et al. Protective effect of hydroxysafflor yellow A on bleomycin- induced pulmonary inflammation and fibrosis in rats [J]. Chin J Integr Med, 2018, 24(1): 32-39.

[17] TIAN B, LIU Z, YANG J, et al. Selective antagonists of the bronchiolar epithelial NF-κB-bromodomain-containing protein 4 pathway in viral-induced airway inflammation [J]. Cell Rep, 2018, 23(4): 1138-1151.

[18] HSU P S, LIN C M, CHANG J F, et al. Participation of NADPH oxidase-related reactive oxygen species in leptin-promoted pulmonary inflammation: regulation of cPLA2α and COX-2 expression [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(5): E1078. Doi: 10.3390/ijms20051078..

[19] TENG R J, JING X, MICHALKIEWICZ T, et al. Attenuation of endoplasmic reticulum stress by caffeine ameliorates hyperoxia-induced lung injury [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2017, 312(5): L586-L598.

[20] EL-KASHEF D H. Nicorandil ameliorates pulmonary inflammation and fibrosis in a rat model of silicosis [J]. Int Immunopharmacol, 2018, 64: 289-297.

[21] DU J, ABDEL-RAZEK O, SHI Q, et al. Surfactant protein D attenuates acute lung and kidney injuries in pneumonia-induced sepsis through modulating apoptosis, inflammation and NF-κB signaling [J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 15393.

[22] KIM Y, ALLEN E, BAIRD LA, et al. NF-κB RelA is required for hepatoprotection during pneumonia and sepsis [J]. Infect Immun, 2019, 87(8): 31160364. Doi: 10.1128/IAI.00132-19.

[23] DAI J P, WANG Q W, SU Y, et al. Emodin inhibition of influenza A virus replication and influenza viral pneumonia via the Nrf2, TLR4, p38/JNK and NF-kappaB pathways [J]. Molecules, 2017, 22(10): 1754.

[24] GUO X, ZHU Z, ZHANG W, et al. Nuclear translocation of HIF-1α induced by influenza A(H1N1) infection is critical to the production of proinflammatory cytokines [J]. Emerg Microbes Infect, 2017, 6(5): e39. Doi: 10.1038/emi.2017.21.

[25] UEMATSU T, FUJITA T, NAKAOKA H J, et al. Mint3/Apba3 depletion ameliorates severe murine influenza pneumonia and macrophage cytokine production in response to the influenza virus [J]. Sci Rep, 2016(6): 37815.

[26] QIU Y, CHEN C, ZHANG J, et al. VEGF attenuates lung injury by inducing homing of CD133+ progenitors via VEGFR1 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 511(3): 650-657.

[27] STROUVALIS I, ROUTSI C, ADAMOPOULOU M, et al. Early increase of VEGF-A is associated with resolution of ventilator-associated pneumonia: clinical and experimental evidence [J]. Respirology, 2018, 23(10): 942-949.

[28] RICHARDSON P, GRIFFIN I, TUCKER C, et al. Baricitinib as potential treatment for 2019-nCoV acute respiratory disease [J]. Lancet, 2020. 1016/S0140-6736(20)30304-4.

收稿日期：2020-02-11

(本文责编：李艳芳)