

# 基于网络药理学中药复方“三药三方”治疗 新冠肺炎的分期治疗分析\*

蔡羽<sup>1,2\*\*</sup>, 曾珉<sup>1,2</sup>, 陈运中<sup>1,2\*\*</sup>

(1. 湖北中医药大学药学院 武汉 430065; 2. 湖北省中药保健食品工程技术研究中心 武汉 430065)

**摘要:**目的 本研究探究中药复方“三药三方”在新冠肺炎治疗发挥药理作用的多成分、多靶点和多通路的分子机理以及复方药味归经的中医联系,探究“三药三方”药理作用的异同。方法 通过ETCM数据库获取“三药三方”的成分、靶点、药味归经,用STRING数据库进行蛋白互作网络构建,用DAVID和Metascape数据库进行靶标功能富集分析,利用Cytoscape软件构建和分析可视化网络图。结果 “三药三方”多重点作用于脾经和肺经,初期和中期复方重点作用于肺经和胃经,重症期复方重点作用于肝经和心经,通用方的温性药比例最大,初期和中期复方寒性药比例最大,“三药三方”药味均以苦味、辛味、甘味为主。共同化合物中Alexandrin(胡萝卜甙)与Nsp(N7-MTase)(非结构蛋白C端鸟嘌呤-N7甲基转移酶),Oleanolic Acid(齐墩果酸)与E protein(ion channel)(包膜小膜蛋白)有良好结合力。复方调控共同之处:包含共同子模块 $\gamma$ -氨基丁酸受体亚基相互作用以及细胞色素、ATP依赖转位酶和核受体的相互作用,参与调控16条生物通路涉及①神经保护作用;②免疫调节以及抗炎症风暴调节;③内分泌调节以及性激素调控;④能量代谢调控;⑤药物代谢;⑥其他通路。不同之处:“三药三方”也存在各自特异调控的通路,金花清感颗粒和莲花清瘟胶囊参与ACE2相关通路Renin-angiotensin system(肾素-血管紧张素系统)的调节,同时6种复方有各自的子模块相互作用蛋白。结论 “三药三方”在治疗新冠病毒体现辨证论治、治病求因、正气存内、已病防变的中医治疗原则,并且通过网络药理学初步揭示“三药三方”功能调控以及异同之处,阐述“三药三方”通过多成分-多靶点-多通路的综合调控之间的异同关系。

**关键词:**新型冠状病毒 网络药理学 性味归经 生物通路 三药三方 分期治疗

doi: 10.11842/wst.20200513008 中图分类号: R289 文献标识码: A

2019年底,武汉地区首先报道爆发新型冠状病毒肺炎(COVID-19),新冠肺炎被世界卫生组织定义为“全球大流行”;到目前为止全球疫情统计数据表示已累计确诊超过1115万人,死亡人数接近53万人,COVID-19对社会造成一定的负面影响,同时值得一提的是,新型冠状病毒肺炎发源地尚不明确,中国对武汉不明原因肺炎疫情反应快速、态度公开透明。国家卫生健康委员会发布的《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试

行第7版)》提及新冠病毒的病原学特点是其属于 $\beta$ 属的冠状病毒,有包膜,颗粒呈圆形或椭圆形,常为多形性,直径60~140 nm;流行病学显示,该病可通过呼吸道飞沫、粪口以及接触等方式传染<sup>[1]</sup>。SARS-CoV-2利用S蛋白与机体的血管紧张素转换酶2(ACE2)蛋白结合实现入侵过程,其入侵机理与SARS-CoV相类似,病毒入侵后机体出现炎症因子失调,产生炎症过度反应,加快病情并且产生多器官衰竭等临床表现。研究

收稿日期:2020-12-13

修回日期:2021-01-21

\* 湖北省教育厅科学研究计划项目(B2020094):桑瓜饮通过激活AMPK/Akt信号通路调节2型糖尿病大鼠肝脏糖异生和脂质蓄积,负责人:蔡羽。

\*\* 通讯作者:蔡羽,讲师,主要研究方向:中药复方及物质基础;陈运中,二级教授,主要研究方向:中药复方及物质基础。

表明,ACE2是SARS-CoV-2入侵机体的关键因子,其分布于在肺、心脏、睾丸、大动脉、肾脏和肠道等器官组织,同时SARS-CoV-2侵入机体后,普通型和轻症只是出现干咳、发热和全身乏力,当转化为重症后,患者出现急性呼吸窘迫综合征和多器官衰竭等严重临床症状<sup>[2-4]</sup>。

在无特效药和疫苗的情况下,中医药在抗击新冠疫情发挥着重要的作用,其中在91.5%确诊病例使用,有效治疗率达到90%以上,特别是《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第7版)》中推荐的“三药三方”<sup>[12,5]</sup>,在中西医思想并重的指导下,展示出良好的临床治疗效果。在中医药辨证论治、动态观、整体观的思想指导下,结合临床实践总结凝练出“三药三方”:化湿败毒方、清肺排毒汤、宣肺败毒方、金花清感颗粒、连花清瘟胶囊、血必净注射液<sup>[5]</sup>。“三药三方”具有减轻发热症状、减少激素用量和减轻并发症等方面作用,同时在改善呕恶、便秘症状、退热、控制病情进展、靶器官保护和维护心肺肾功能等方面具有作用,另外其与西药相比,表现为缩短临床症状消失时间和减少平均住院时间,同时降低普通型转化为危重型的几率。

基于多成分-多靶点-多通路的中药治疗,其药理机理较为复杂,本研究通过网络药理学的应用初步阐述了药物作用机理,网络药理学是研究中医药的有效方法,也是中医现代化的关键之一,其有利于详细解释中医药发挥的系统调控作用。同时分子对接能够从分子水平解释化合物和蛋白质结合情况,从分子角度上揭示药物作用的具体机理<sup>[6-8]</sup>。本研究通过网络药理学和分子对接研究方法,以辨证论治、治病求因、正气存内、已病防变的中医思想指导下,收集和分析“三药三方”的成分、靶点和通路,构建靶标网络并且进行KEGG富集,探寻“三药三方”治疗COVID-19的功能调控关系,并且比较不同复方作用机理的异同初步分析“三药三方”治疗新冠肺炎的分期治疗特点,展现中医药整体治疗和辨证治疗的特色。

## 1 材料与方法

### 1.1 成分和靶点信息收集

从《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第7版)》中查找“三药三方”的复方组成,分别收集6种复方的药材组成成分,初步构建中药复方数据库<sup>[1]</sup>。复

方药材成分及其关键靶点的收集是通过ETCM中药数据库(<http://www.tcmip.cn/ETCM/>)实现,ETCM数据库包含中医药综合信息,特别是复方、药材、成分和靶点<sup>[9]</sup>。另外,利用BATMAN数据库完善药材、成分和靶点信息。

### 1.2 交集分析

疾病靶点基因包含5556种与ACE2共表达的基因,其是通过结肠上皮细胞单细胞序列鉴定结果<sup>[10]</sup>。对各自的复方成分靶点与疾病靶点进行交集处理,最终获得各自复方的药理作用关键靶点,并且利用UniProt数据库对靶点进行标准化处理<sup>[11]</sup>。同时通过TBtools生信分析工具来实现对6个复方的药材、化合物和靶点进行交集处理。

### 1.3 蛋白互作网络分析

利用STRING数据库(<https://string-db.org/cgi/input.pl>)构建关键靶点的PPI蛋白质互作网络<sup>[12]</sup>,利用Cytoscape软件对PPI靶点互作网络进行分析处理,并且利用MCODE插件实现分解模块的功能,从而达到复杂网络分模块的处理<sup>[13]</sup>。

### 1.4 KEGG通路富集

利用DAVID数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>)进行KEGG通路分析,分别将6个复方的关键靶点以及交集靶点共7组数据导入到DAVID数据库,使用KEGG数据库进行通路富集分析。同样地,7组数据分别导入Metascape数据库(<http://metascape.org/gp/index.html#/main/step1>)进行富集分析,获取通路以及生物过程的关联<sup>[14,15]</sup>。两种数据库的分析,互相对比补充地揭示复方药理作用机制,以及从多种角度获取复方通路作用的异同。

### 1.5 分子对接分析

利用分子对接数据库(<https://ncov.schanglab.org.cn/index.php>)对化合物与蛋白质进行对接<sup>[16]</sup>,具体化合物以及蛋白质见表6,13种交集化合物与12种关键蛋白完成分子对接模型实验。

另外利用D3Targets-2019-nCoV数据库(<https://www.d3pharma.com/D3Targets-2019-nCoV/index.php>)对“三药三方”中活性化合物与新冠病毒肺炎相关蛋白质进行分子对接,具体化合物和靶点见表7,12种化合物均是“三药三方”活性化合物,具有潜在的生物活性和药理治疗活性,14种蛋白质与新冠病毒药物研究靶点相关<sup>[17]</sup>。

## 1.6 复方分析

通过ETCM数据库收集复方的性质包括药味归经等数据,对于上述提到不存在的药材从网络获取信息,获取复方信息后利用Cytoscape软件进行可视化网络图构造,同时绘制药材性质比例图,以及对复方数据进行汇总分析和对比分析。

## 2 结果

### 2.1 复方成分与靶点收集

最终收集到6种复方化湿败毒方、清肺排毒汤、宣肺败毒方、金花清感颗粒、连花清瘟胶囊和血必净注射液,分别命名为复方1(Formula 1)、复方2(Formula 2)、复方3(Formula 3)、复方4(Formula 4)、复方5(Formula 5)和复方6(Formula 6),同时绘制复方化合物和靶点统计表格(表1)。复方6包含最少药材、化合物和靶点数量,复方2包含最多的药材、化合物和靶点数量。具体来讲,复方1包含14种中药、562种成分和1195种潜在靶点,其中甘草(*licorice*)包含较多的化合物成分,苍术(*Atractylodes Lancea (Thunb.)Dc.*)包含较多的潜在靶点;复方2包含21种中药、829种成分和1477种潜在靶点,其中甘草(*licorice*)包含较多化合物成分,山药(*Rhizoma Dioscoreae*)包含较多的潜在靶点;复方3包含13种中药、502种化合物成分和1231种潜在靶点,其中甘草(*licorice*)包含较多化合物成分,苍术(*Atractylodes Lancea (Thunb.)Dc.*)包含较多的潜在靶点;复方4包含12种中药、481种化合物成分和1221种潜在靶点,其中知母(*Anemarrhenae Rhizoma*)包含较多化合物成分,薏苡仁(*Fritillariae Thunbergii Bulbus*)包含较多潜在靶点;复方5包含13种中药、546种化合物成分和1399种潜在靶点,其中甘草(*licorice*)包含较多的化合物成分,板蓝根(*Isatidis Radix*)包含较多的潜在靶点;复方6包含5种中药、266种化合物成分和750种潜在靶点,其中丹参(*Radix Salviae*)包含较多的化合物,红花(*Carthami Flos*)包含较多的潜在靶点。

### 2.2 复方交集分析

复方的靶点与疾病靶点通过交集分析得到各自的关键靶点,并且绘制各自的Venn图(图1)。复方1到复方6的核心靶点分别有256、318、47、264、305和175个,其中复方2靶点最多,复方3靶点最少,利用UniProt数据库对核心靶点标准化处理。

利用Venn图和TBtools工具获取6种复方的药材、

化合物和靶点的交集,并且绘制可视化图形(图2)。对于化合物而言,6种复方的共同交集化合物有6个,具体为Lauric Acid(月桂酸)、Sitosterol(谷甾醇)、Alexandrin(胡萝卜甙)、Chuanxiongine(川芎嗪)、Cetylic Acid(棕榈酸)和Oleanolic Acid(齐墩果酸);对于药材而言,6种复方没有共同的药材交集;对于关键靶点而言,6种复方的共同关键靶点交集数量有25种,通过Uniprot数据库进行标准化处理,完成关键交集靶点的表格绘制(表2)。关键交集靶点中通过网络拓扑分析可知,Cytochrome P450 2B6(细胞色素P450 2B6)、Broad substrate specificity ATP-binding cassette transporter(ABCG2广谱底物特异性ATP结合盒转运体ABCG2)、Cytochrome P450 2C19(细胞色素P450 2C19)和ATP-dependent translocase ABCB1(ATP依赖性转位酶ABCB1)的Degree(连接程度)较高;细胞色素P450 2C19、Amine oxidase(细胞色素P450 2B6、胺氧化酶)和Gamma-aminobutyric acid receptor subunit alpha-2( $\gamma$ -氨基丁酸受体亚单位 $\alpha$ -2)的Betweenness(中介中心性程度)较高;细胞色素P450 2B6、广谱底物特异性ATP结合盒转运体ABCG2、细胞色素P450 2C19和ATP依赖性转位酶ABCB1的Closeness Centrality(紧密中心性)程度较高。

### 2.3 蛋白互作分析

通过相关数据库以及相关软件的使用,最终完成图3-图4的绘制。复方1的PPI网络图包含244个点和1394条边,其中靶点连接度高的靶点是MAPK3、GAPDH、ESR1、NRNH4等靶点;复方2的PPI网络图包含308个点和1963条边,其中连接度高的靶点是GAPDH、MAPK3、EGF、ACTB、ESR1等靶点;复方3的PPI网络图包含35个点和80条边,其中连接度高的是CYP2C9、CYP2C19、CYP2B6、ABCB1和ABCG2等靶点;复方4的PPI网络图包含254个点和1442条边,其中连接度高的靶点是GAPDH、MAKP3、ESR1、PPARG和ACTB;复方5的PPI网络图包含291个点和1814条边,其中连接度高的靶点是GAPDH、MAKP3、PPARG、ESR1和ATP5B;复方6的PPI网络图包含159个点和669条边,其中连接度高的靶点是CYP2B6、ESR1、PPARG、ABCB1、ABCG2和SOD1;交集靶点的PPI网络图包含19个点和48条边,其中连接度高的靶点是GABRE、GABRB1和GABRA2,另外PPI网络拓扑分析的结果展示Degree, Closeness Centrality和Betweenness,



表1 6种复方的化合物和靶点信息

方名	数量	拉丁文名称	成分	靶点
化湿败毒方	中药:14; 成分:562; 靶点:1195	<i>Gypsum Fibrosum</i>	1	115
		<i>Amygdalus Communis Vas</i>	66	243
		<i>Atractylodes Lancea (Thunb.) Dc.</i>	57	499
		<i>Amomum Tsao-Ko Crevostet</i>	12	5
		<i>Radix Paeoniae Rubra</i>	20	163
		<i>Radix Rhei Et Rhizome</i>	88	225
		<i>Arum Ternatum Thunb.</i>	40	462
		<i>Poria Cocos (Schw.) Wolf.</i>	33	299
		<i>licorice</i>	133	338
		<i>Magnolia Officinalis Rehd Et Wils.</i>	77	200
		<i>Hedysarum Multijugum Maxim.</i>	27	460
		<i>Pogostemon Cablin (Blanco) Benth.</i>	59	144
		<i>Ephedra Herba</i>	28	122
		<i>Lepidii Semen Descurainiae Semen</i>	21	210
清肺排毒汤	中药:21; 成分:829; 靶点:1477	<i>Polyporus Umbellatus (Pers.) Fr.</i>	31	473
		<i>Atractylodes Macrocephala Koidz.</i>	20	368
		<i>Arum Ternatum Thunb.</i>	40	464
		<i>Radix Bupleuri</i>	63	348
		<i>Citrus Reticulata</i>	46	127
		<i>Poria Cocos (Schw.) Wolf.</i>	33	299
		<i>licorice</i>	133	338
		<i>Cinnamomi Ramulus</i>	12	183
		<i>Scutellariae Radix</i>	54	372
		<i>Pogostemon Cablin (Blanco) Benth.</i>	59	144
		<i>Farfarae Flos</i>	21	114
		<i>Ephedra Herba</i>	28	122
		<i>Rhizoma Dioscoreae</i>	45	939
		<i>Belamcandae Rhizome</i>	25	103
		<i>Zingiber Officinale Roscoe</i>	124	251
		<i>Gypsum Fibrosum</i>	1	115
		<i>Asari Radix Et Rhizoma</i>	32	46
		<i>Amygdalus Communis Vas</i>	66	243
		<i>Alisma Orientale (Sam.) Juz.</i>	31	181
		<i>Aurantii Fructus Immaturus</i>	49	138
		<i>Asteris Radix Et Rhizoma</i>	19	153
宣肺败毒方	中药:13; 成分:502; 靶点:1231	<i>Citri Grandis Exocarpium</i>	41	23
		<i>Coicis Semen</i>	38	48
		<i>Atractylodes Lancea (Thunb.) Dc.</i>	57	499
		<i>licorice</i>	133	338
		<i>Polygoni Cuspidati Rhizoma Et Radix</i>	44	309
		<i>Pogostemon Cablin (Blanco) Benth.</i>	59	144
		<i>Phragmitis Rhizoma</i>	20	438
		<i>Ephedra Herba</i>	28	122
		<i>Verbenae Herb</i>	16	120
		<i>Artemisia Annuua L.</i>	20	217

下转续表

续表

方名	数量	拉丁文名称	成分	靶点
金华清感颗粒	中药:12; 成分:481; 靶点:1221	<i>Gypsum Fibrosum</i>	1	115
		<i>Lepidii Semen Descurainiae Semen</i>	21	210
		<i>Amygdalus Communis Vas</i>	66	243
		<i>Menthae Herba</i>	28	288
		<i>licorice</i>	133	338
		<i>Scutellariae Radix</i>	54	372
		<i>Lonicerae Japonicae Flos</i>	47	209
		<i>Forsythiae Fructus</i>	49	343
		<i>Ephedra Herba</i>	28	122
		<i>Gypsum Fibrosum</i>	1	115
		<i>Artemisia Annu L.</i>	20	217
		<i>Amygdalus Communis Vas</i>	66	243
		<i>Fritillariae Thunbrgii Bulbus</i>	42	392
		<i>Fructus Arctii</i>	11	6
		<i>Anemarrhenae Rhizoma</i>	481	225
连花清瘟胶囊	中药:13; 成分:546; 靶点:1399	<i>Fortunes Bossfern Rhizome</i>	31	330
		<i>Gypsum Fibrosum</i>	1	115
		<i>Amygdalus Communis Vas</i>	66	243
		<i>Isatidis Radix</i>	25	648
		<i>Menthae Herba</i>	28	288
		<i>Radix Rhei Et Rhizome</i>	88	225
		<i>licorice</i>	133	338
		<i>Rhodiola rosea L</i>	7	184
		<i>Pogostemon Cablin (Blanco) Benth.</i>	59	144
		<i>Lonicerae Japonicae Flos</i>	47	209
		<i>Forsythiae Fructus</i>	49	343
		<i>Ephedra Herba</i>	28	122
		<i>Houttuyniae Herba</i>	34	273
血必净注射液	中药:5; 成分:266; 靶点:750	<i>Radix Paeoniae Rubra</i>	20	163
		<i>Chuanxiong Rhizoma</i>	72	403
		<i>Radix Salviae</i>	96	320
		<i>Angelicae Sinensis Radix</i>	65	408
		<i>Carthami Flos</i>	48	424

其结果见表2。利用MCODE插件对7个PPI网络图进行子模块的分析,并且完成分模块图形的绘制。复方中PPI网络图分解模块分别含有11、12、4、9、8、8和2个分模块,各复方含有各自的分模块,但对于ABCB1等共同靶点6个复方具有相似性,靶点具有相似性的分模块。特别是在交集关键靶点PPI分模块中,存在7-蛋白功能网路和3-蛋白功能,其中7-蛋白功能网路包含细胞色素P450与ATP相关蛋白、核受体的关联,3-蛋白功能网络包含γ-氨基丁酸受体之间的关联。同时利用Omicsmean数据库分析核心靶点PPI分模块蛋白的生物功能,诠释“三药三方”分模块蛋白发挥的生物功能,展示蛋白的GO生物过程以及KEGG通路,绘制表3显示“三药三方”分模块蛋白生物功能。

2.4 KEGG 通路分析

通过DAVID数据库的分析,最终各复方得到52、

57、13、45、49和38条KEGG通路,并且交集靶点调控16条KEGG通路,并且使用R语言画出交集靶点的通路气泡图(图5),最终得到各复方调控7条KEGG通路交集,与交集靶点调控通路进行合并得到16条KEGG通路,并对其进行分类制作成表格(表4)。通过Metascape数据库分析关键靶点得到具体生物通路的关联图,同时两个数据库应用从不同角度说明关键靶点的生物通路调控,两个数据库得到的结果具有相似性,DAVID得到的是整体范围的通路调控,而Metascape数据库则更强调的是通路关联程度,同时绘制复方的性质、通路的异同表格(表5)。“三药三方”交集关键靶点共同参与调控具体表现为:①神经保护作用;②免疫调节以及抗炎症风暴调节;③内分泌调节以及性激素调控;④能量代谢调控;⑤药物代谢;⑥其他通路。同时表5反映复方调控生物通路的关联性和

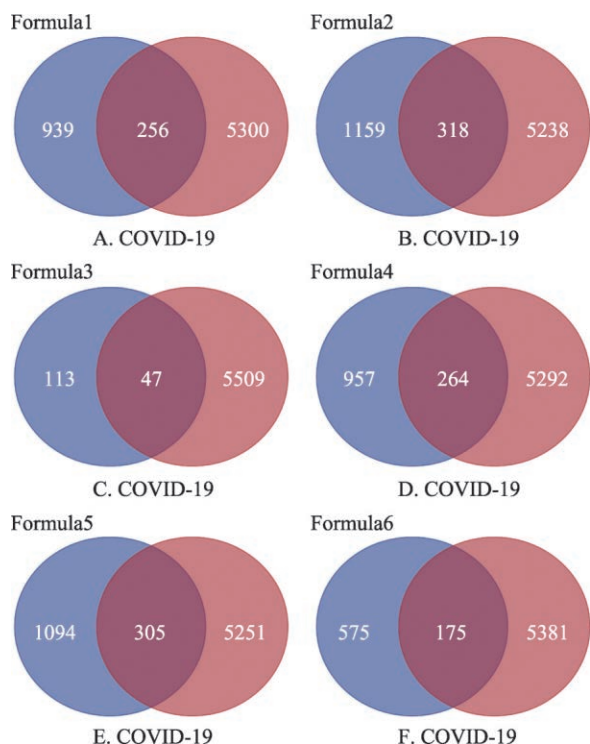


图1 6种复方靶点与疾病靶点的 Venn 交集

注:(A)-(F)分别依次代表 Formula 1-Formula 6 复方靶点与疾病靶点的交集;蓝色部分代表复方靶点,橙色代表疾病靶点,红色代表交集靶点。

区别性,复方共同调控神经保护、能量代谢、炎症和内分泌调节,复方也反映各自功能生物通路调控的独特之处,复方4和复方5参与ACE2相关的通路,表现出与ACE2相关通路的调控,复方4和复方5发挥药理作用影响到SARS-CoV-2利用S蛋白与ACE2蛋白结合的过程,其反映阻止病毒入侵的药理作用。

## 2.5 分子对接结果

通过分子对接数据库最终得到对接结合分数能量表格(表6),同时利用Discovery Studio软件将对接结果可视化(图6)。交集化合物分子对接结合力普遍不高,说明交集共同化合物发挥直接药理作用较弱,侧面反应通过其他化合物发挥药理作用,同时也有部分化合物与蛋白质分子结合情况好,图6列举部分结合情况好的复合物,展示部分化合物与残基的作用情况。蛋白质二维结合图反映化合物与具体氨基酸残基的相互作用,部分化合物与关键蛋白质以分子间相互作用为主,同时存在静电相互作用,另外二维蛋白质作用图反映具体氨基酸残基的作用情况。

对于交集化合物与特定关键蛋白结合强的情况,Alexandrin(胡萝卜甙)与Papain-like protease(木瓜蛋白酶类水解酶)、Nsp14(N7-MTase)(非结构蛋白C端

表2 6种复方交集靶点信息

编号	靶点名称	基因符号	Uniprot ID	等级	介数	紧密中心度算法
1	Vitamin D3 receptor	VDR	P11473	3	0.008061	0.40909091
2	Cholesterol side-chain cleavage enzyme, mitochondrial	CYP11A1	P05108	3	0.00217865	0.40909091
3	Cytochrome P450 3A5	CYP3A5	P20815	6	0	0.51428571
4	Broad substrate specificity ATP-binding cassette transporter ABCG2	ABCG2	Q9UNQ0	9	0.09847495	0.5625
5	Gamma-aminobutyric acid receptor subunit beta-1	GABRB1	P18505	2	0	0.26086957
6	Solute carrier family 22 member 4	SLC22A4	Q9H015	2	0	0.375
7	Arachidonate 5-lipoxygenase	ALOX5	P09917	4	0	0.45
8	Protein kinase C beta type	PRKCB	P05771	0	0	0
9	Cytochrome P450 2C19	CYP2C19	P33261	9	0.39477124	0.62068966
10	Glycogen phosphorylase	PYGL	P06737	0	0	0
11	Cytochrome P450 2B6	CYP2B6	P20813	11	0.23180828	0.6
12	Solute carrier family 22 member 7	SLC22A7	Q9Y694	3	0	0.39130435
13	Gamma-aminobutyric acid receptor subunit epsilon	GABRE	P78334	2	0	0.26086957
14	C-type lectin domain family 4 member E	CLEC4E	Q9ULY5	0	0	0
15	Cytochrome P450 2C9	CYP2C9	P11712	8	0.02875817	0.54545455
16	Amine oxidase	MAOA	P21397	2	0.29411765	0.45
17	Estrogen receptor	ESR1	P03372	5	0.03028322	0.45
18	Gamma-aminobutyric acid receptor subunit alpha-2	GABRA2	P47869	3	0.20915033	0.33962264
19	Sterol 26-hydroxylase, mitochondrial	CYP27A1	Q02318	3	0.0087146	0.4
20	Nuclear receptor subfamily 1 group I member 2	NR1I2	O75469	8	0.09847495	0.54545455
21	Carbonic anhydrase 2	CA2	P00918	0	0	0
22	Cytochrome P450 2J2	CYP2J2	P51589	4	0	0.45
23	Sigma non-opioid intracellular receptor 1	SIGMAR1	Q99720	0	0	0
24	ATP-dependent translocase ABCB1	ABCB1	P08183	9	0.09847495	0.5625
25	Glutamate receptor ionotropic, NMDA 3A	GRIN3A	Q8TCU5	0	0	0



粉色代表复方1,黄色代表复方2,绿色代表复方3,蓝色代表复方4,红色代表复方5,黑色代表复方6。

蛋白前体,得到非结构蛋白,replicase-transcriptase complex(组装复制-转录酶复合体),除了参加切割加工的蛋白酶活性外,其是SARS病毒编码的宿主干扰



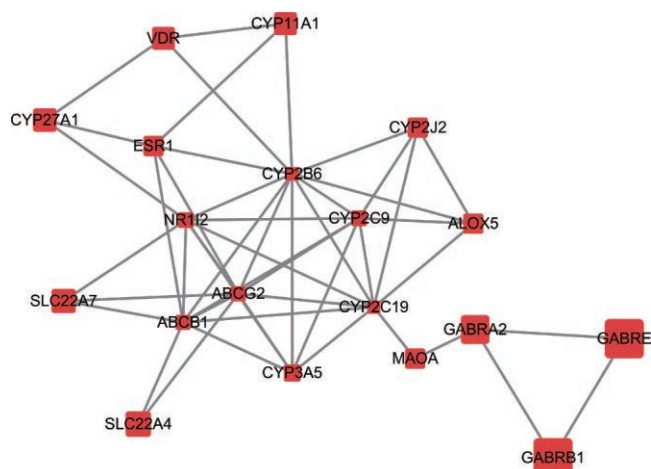


图3 交集靶点PPI蛋白互作网络图

素拮抗蛋白,其在SARS调节宿主抗病毒天然免疫反应中发挥重要功能<sup>[18]</sup>;Nsp14(非结构蛋白14)具有双重酶活性,与Nsp10(非结构蛋白10)形成复合物发挥功能,C端结构域具有鸟嘌呤-N7甲基转移酶活性,负责对mRNA加帽,SARS冠状病毒nsp14近C端区域有鸟嘌呤-N7-甲基转移酶活性,其在RNA加帽过程起着重要作用,且其活性依赖nsp14近N端核酸外切酶活性区域的存在<sup>[19]</sup>;Envelop small membrane protein(包膜小膜蛋白)形成五聚体并具有离子通道功能,同时E蛋白与病毒入侵宿主紧密相关,其被认为与病毒的感染能力相关<sup>[20]</sup>。胡萝卜甙与上述3种关键蛋白质结合力强,其阻断病毒的潜在药理作用涉及到切割病毒基因组翻译的蛋白前体、调节宿主抗病毒免疫反应、阻断mRNA加帽以及影响介导病毒入侵宿主细胞。Oleanolic Acid(石竹素)与RdRp with RNA RNA(依赖的RNA聚合酶)、Nsp16(2'-O-MTase)(2'-O-甲基转移酶)和包膜小膜蛋白表现良好结合能力。同时RNA

依赖的RNA聚合酶结构包括Nsp12与RNA,在病毒基因组的复制与转录中具有重要作用,同时与病毒引起宿主免疫反应相关<sup>[21]</sup>;Nsp16(2'-O-MTase)(2'-O-甲基转移酶)通过对核苷酸核糖添加甲基化修饰,可帮助病毒逃避宿主的识别而逃避宿主的天然免疫,针对其设计的抑制剂可有效抑制病毒的复制,对病毒的有效增殖以及RNA的合成和稳定起着重要作用<sup>[22]</sup>。通过上述3种关键蛋白Oleanolic Acid(石竹素)表现出阻止SARS-CoV-2的复制、转录、增殖和介导影响病毒侵入机体的潜在药理作用。

对于“三药三方”活性成分与新冠病毒相关蛋白结合情况,绘制表7具体说明化合物与蛋白质的结合情况,结果主要反映活性化合物与新冠病毒受体相关蛋白的结合情况,对接结果整体结合情况较好。其中ACE2是SARS-CoV-2入侵机体的关键因子,跨膜蛋白酶TMPRSS2能够激活高致病性人冠状病毒的突触蛋白,其可裂解并激活SARS-CoV的S蛋白进行膜融合,同时TMPRSS2与金属蛋白酶ADAM17在结合ACE2时存在竞争关系,ADAM17除与病毒感染相关,其还可介导心肌病和糖尿病,能够介导ACE2膜上脱落调节心血管功能<sup>[2,22,23]</sup>。SARS-CoV可能通过S蛋白上的高甘露聚糖与质膜上的CD209L结合,再介导病毒进入宿主细胞,其可能是SARS-CoV的弱受体,研究表明CD209L的多肽区域变体的杂合表达可能会改变病毒与配体的结合能力,炎症因子在SARS感染中同样起作用,其有助于增加SARS的易感性<sup>[24,25]</sup>。DHODH抑制剂可对轮状病毒具有抗病毒作用,同时轮状病毒与冠状病毒属于RNA病毒,同时最近发现DHODH的新型有效抑制剂对RNA病毒具有广谱抗病毒感染的特点<sup>[26]</sup>。3CLPro是冠状病毒复制所必须的

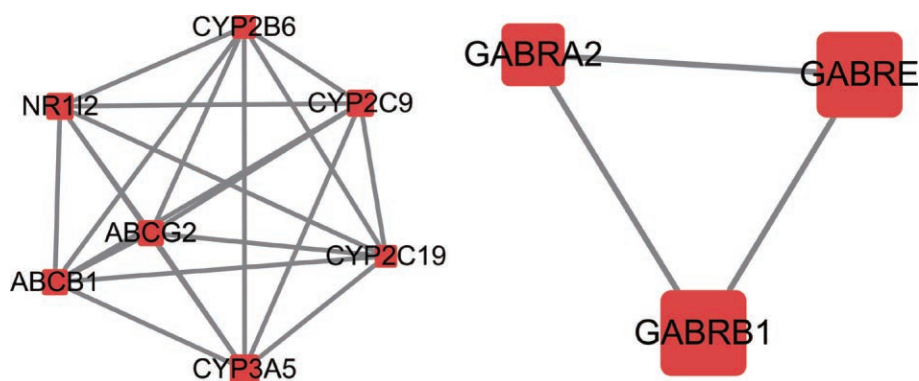


图4 交集靶点PPI蛋白互作网络 MCODE 模块分解图



表3 核心靶点PPI分模块蛋白生物通路功能

方名	模块编号	基因数量	种类	名称	编号	数量
化湿败毒方	model 1	9	GO	response to stimulus	GO:0050896	9
				G-protein coupled receptor activity	GO:0004930	9
				transmembrane receptor activity	GO:0099600	9
			KEGG	Neuroactive ligand-receptor interaction	hsa04080	8
				Sphingolipid signaling pathway	hsa04071	3
	model 2	24	GO	cAMP signaling pathway	hsa04024	2
				cell part	GO:0044464	24
				binding	GO:0005488	20
			KEGG	catalytic activity	GO:0003824	17
				Metabolic pathways	hsa01100	14
	model 3	21	GO	Oxidative phosphorylation	hsa00190	9
				Alzheimer disease	hsa05010	9
			KEGG	cellular process	GO:0009987	21
				cell part	GO:0044464	21
	model 4	25	GO	cell	GO:0005623	21
				Pathways in cancer	hsa05200	8
				PPAR signaling pathway	hsa03320	6
			KEGG	Th17 cell differentiation	hsa04659	4
				cellular process	GO:0009987	25
	model 5	4	GO	cellular process	GO:0009987	25
				organic substance metabolic process	GO:0071704	25
				Metabolic pathways	hsa01100	13
			KEGG	Arachidonic acid metabolism	hsa00590	5
				Biosynthesis of amino acids	hsa01230	4
	model 6	11	GO	metabolic process	GO:0008152	4
				nucleotide metabolic process	GO:0009117	4
				organic substance metabolic process	GO:0071704	4
			KEGG	Purine metabolism	hsa00230	3
				Metabolic pathways	hsa01100	3
	model 7	23	GO	cAMP signaling pathway	hsa04024	1
				cellular process	GO:0009987	11
				single-organism cellular process	GO:0044763	11
			KEGG	cell part	GO:0044464	11
				Alzheimer disease	hsa05010	2
	model 8	14	GO	Biosynthesis of amino acids	hsa01230	2
				Metabolic pathways	hsa01100	2
				single-organism process	GO:0044699	23
			KEGG	cellular process	GO:0009987	22
				cell part	GO:0044464	23
	model 9	3	GO	Metabolic pathways	hsa01100	6
				Calcium signaling pathway	hsa04020	4
				Neuroactive ligand-receptor interaction	hsa04080	4
			KEGG	cellular process	GO:0009987	14
				membrane-bounded organelle	GO:0043227	13
	model 10	3	GO	cell part	GO:0044464	13
				B cell receptor signaling pathway	hsa04662	2
				Metabolic pathways	hsa01100	2
			KEGG	Estrogen signaling pathway	hsa04915	1
				intracellular organelle lumen	GO:0070013	3
	model 11	3	GO	membrane-enclosed lumen	GO:0031974	3
				organelle part	GO:0044422	3
				Metabolic pathways	hsa01100	3
			KEGG			

下转续表

续表

方名	模块编号	基因数量	种类	名称	编号	数量
	model 10	3	GO	Glyoxylate and dicarboxylate metabolism	hsa00630	2
				Glycine, serine and threonine metabolism	hsa00260	2
				organelle part	GO:0044422	3
	model 11	3	GO	cytoplasm	GO:0005737	3
				membrane-bounded organelle	GO:0043227	3
				Metabolic pathways	hsa01100	2
	model 12	3	KEGG	Neurotrophin signaling pathway	oas04722	1
				Ras signaling pathway	oas04014	1
				ion binding	GO:0043167	3
	model 13	3	GO	small molecule binding	GO:0036094	3
				binding	GO:0005488	3
				Phospholipase D signaling pathway	hsa04072	2
	model 14	3	KEGG	Legionellosis	rno05134	1
				Pathogenic Escherichia coli infection	hsa05130	1
				transporter activity	GO:0005215	3
	model 15	3	GO	substrate-specific transporter activity	GO:0022892	3
				secondary active transmembrane transporter activity	GO:0015291	3
				Synaptic vesicle cycle	hsa04721	1
	model 16	3	KEGG	Protein digestion and absorption	hsa04974	1
				Carbohydrate digestion and absorption	hsa04973	1
				membrane-bounded organelle	GO:0043227	8
清肺排毒汤	model 1	9	GO	intracellular membrane-bounded organelle	GO:0043231	8
				membrane part	GO:0044425	8
				PI3K-Akt signaling pathway	hsa04151	3
	model 2	8	KEGG	Apoptosis	hsa04210	2
				Tuberculosis	hsa05152	2
	model 3	9	GO	response to stimulus	GO:0050896	9
				G-protein coupled receptor activity	GO:0004930	9
				transmembrane receptor activity	GO:0099600	9
	model 4	9	KEGG	Neuroactive ligand-receptor interaction	hsa04080	8
				Sphingolipid signaling pathway	hsa04071	3
				cAMP signaling pathway	hsa04024	2
	model 5	24	GO	cell part	GO:0044464	24
				binding	GO:0005488	20
				catalytic activity	GO:0003824	17
	model 6	24	KEGG	Metabolic pathways	hsa01100	14
				Oxidative phosphorylation	hsa00190	9
				Alzheimer disease	hsa05010	9
	model 7	21	GO	cellular process	GO:0009987	21
				cell part	GO:0044464	21
				cell	GO:0005623	21
	model 8	21	KEGG	Pathways in cancer	hsa05200	8
				PPAR signaling pathway	hsa03320	6
				Th17 cell differentiation	hsa04659	4
	model 9	25	GO	cellular process	GO:0009987	25
				cellular process	GO:0009987	25
				organic substance metabolic process	GO:0071704	25
	model 10	25	KEGG	Metabolic pathways	hsa01100	13
				Arachidonic acid metabolism	hsa00590	5
				Biosynthesis of amino acids	hsa01230	4
	model 11	4	GO	metabolic process	GO:0008152	4
				nucleotide metabolic process	GO:0009117	4

下转续表

续表

方名	模块编号	基因数量	种类	名称	编号	数量
			KEGG	organic substance metabolic process	GO:0071704	4
				Purine metabolism	hsa00230	3
				Metabolic pathways	hsa01100	3
				cAMP signaling pathway	hsa04024	1
	model 6	11	GO	cellular process	GO:0009987	11
				single-organism cellular process	GO:0044763	11
				cell part	GO:0044464	11
			KEGG	Alzheimer disease	hsa05010	2
				Biosynthesis of amino acids	hsa01230	2
				Metabolic pathways	hsa01100	2
	model 7	23	GO	single-organism process	GO:0044699	23
				cellular process	GO:0009987	22
				cell part	GO:0044464	23
			KEGG	Metabolic pathways	hsa01100	6
				Calcium signaling pathway	hsa04020	4
				Neuroactive ligand-receptor interaction	hsa04080	4
	model 8	14	GO	cellular process	GO:0009987	14
				membrane-bounded organelle	GO:0043227	13
				cell part	GO:0044464	13
			KEGG	B cell receptor signaling pathway	hsa04662	2
				Metabolic pathways	hsa01100	2
				Estrogen signaling pathway	hsa04915	1
	model 9	3	GO	intracellular organelle lumen	GO:0070013	3
				membrane-enclosed lumen	GO:0031974	3
				organelle part	GO:0044422	3
			KEGG	Metabolic pathways	hsa01100	3
				Glyoxylate and dicarboxylate metabolism	hsa00630	2
				Glycine, serine and threonine metabolism	hsa00260	2
	model 10	3	GO	organelle part	GO:0044422	3
				cytoplasm	GO:0005737	3
				membrane-bounded organelle	GO:0043227	3
			KEGG	Metabolic pathways	hsa01100	2
				Neurotrophin signaling pathway	oas04722	1
				Ras signaling pathway	oas04014	1
	model 11	3	GO	ion binding	GO:0043167	3
				small molecule binding	GO:0036094	3
				binding	GO:0005488	3
			KEGG	Phospholipase D signaling pathway	hsa04072	2
				Legionellosis	rno05134	1
				Pathogenic Escherichia coli infection	hsa05130	1
	model 12	3	GO	transporter activity	GO:0005215	3
				substrate-specific transporter activity	GO:0022892	3
				secondary active transmembrane transporter activity	GO:0015291	3
			KEGG	Synaptic vesicle cycle	hsa04721	1
				Protein digestion and absorption	hsa04974	1
				Carbohydrate digestion and absorption	hsa04973	1
	model 13	8	GO	membrane-bounded organelle	GO:0043227	8
				intracellular membrane-bounded organelle	GO:0043231	8
				membrane part	GO:0044425	8
			KEGG	PI3K-Akt signaling pathway	hsa04151	3
				Apoptosis	hsa04210	2
				Tuberculosis	hsa05152	2

下转续表



续表

方名	模块编号	基因数量	种类	名称	编号	数量
宣肺败毒方	model 1	8	GO	membrane-bounded organelle	GO:0043227	8
				cell part	GO:0044464	8
				cell	GO:0005623	8
			KEGG	Drug metabolism – cytochrome P450	hsa00982	4
				Metabolic pathways	hsa01100	4
				Chemical carcinogenesis	hsa05204	3
	model 2	4	GO	cytosol	GO:0005829	4
				cytoplasm	GO:0005737	4
				membrane-bounded organelle	GO:0043227	4
			KEGG	HIF-1 signaling pathway	hsa04066	3
				Pathways in cancer	hsa05200	3
				Renal cell carcinoma	hsa05211	2
	model 3	3	GO	anchoring junction	GO:0070161	3
				nuclear part	GO:0044428	3
				organelle part	GO:0044422	3
			KEGG	Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC)	ssc05412	1
				Transcriptional misregulation in cancer	ssc05202	1
				Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC)	hsa05412	1
	model 4	3	GO	chloride transmembrane transporter activity	GO:0015108	3
				gated channel activity	GO:0022836	3
				transporter activity	GO:0005215	3
			KEGG	Retrograde endocannabinoid signaling	hsa04723	3
				Neuroactive ligand-receptor interaction	hsa04080	3
				GABAergic synapse	hsa04727	3
金花清感颗粒	model 1	19	GO	metabolic process	GO:0008152	19
				organonitrogen compound metabolic process	GO:1901564	19
				cellular process	GO:0009987	19
			KEGG	Oxidative phosphorylation	hsa00190	9
				Alzheimer disease	hsa05010	9
				Metabolic pathways	hsa01100	9
	model 2	26	GO	single-organism process	GO:0044699	26
				single-organism cellular process	GO:0044763	25
				cellular process	GO:0009987	25
			KEGG	Metabolic pathways	hsa01100	23
				Arachidonic acid metabolism	hsa00590	23
				Neuroactive ligand-receptor interaction	hsa04080	23
	model 3	14	GO	membrane-bounded organelle	GO:0043227	14
				cell part	GO:0044464	14
				cell	GO:0005623	14
			KEGG	Metabolic pathways	hsa01100	13
				Biosynthesis of amino acids	hsa01230	6
				Carbon metabolism	hsa01200	5
	model 4	10	GO	cell part	GO:0044464	10
				cell	GO:0005623	10
				cytoplasm	GO:0005737	10
			KEGG	Estrogen signaling pathway	hsa04915	2
				Amphetamine addiction	hsa05031	2
				Dopaminergic synapse	hsa04728	2
	model 5	22	GO	cellular process	GO:0009987	22
				metabolic process	GO:0008152	22
				single-organism process	GO:0044699	22
				Metabolic pathways	hsa01100	20

下转续表

续表

方名	模块编号	基因数量	种类	名称	编号	数量
				Parathyroid hormone synthesis, secretion and action	hsa04928	20
				Estrogen signaling pathway	hsa04915	20
	model 6	10	GO	cell part	GO:0044464	10
				cell	GO:0005623	10
				cytoplasm	GO:0005737	10
			KEGG	Metabolic pathways	hsa01100	6
				Steroid hormone biosynthesis	hsa00140	3
				Ovarian steroidogenesis	hsa0491s3	3
	model 7	3	GO	chloride transmembrane transporter activity	GO:0015108	3
				gated channel activity	GO:0022836	3
				transporter activity	GO:0005215	3
			KEGG	Neuroactive ligand-receptor interaction	hsa04080	3
				GABAergic synapse	hsa04727	2
				Retrograde endocannabinoid signaling	hsa04723	2
	model 8	3	GO	response to external stimulus	GO:0009605	3
				regulation of cellular metabolic process	GO:0031323	3
				positive regulation of transport	GO:0051050	3
			KEGG	Influenza A	hsa05164	2
				Toll-like receptor signaling pathway	hsa04620	2
				Fc gamma R-mediated phagocytosis	hsa04666	2
	model 9	5	GO	transport	GO:0006810	5
				positive regulation of cellular process	GO:0048522	5
				response to stimulus	GO:0050896	5
			KEGG	Leukocyte transendothelial migration	hsa04670	2
				Morphine addiction	hsa05032	2
				Chemokine signaling pathway	hsa04062	2
连花清瘟胶囊	model 1	20	GO	membrane-bounded organelle	GO:0043227	20
				intracellular membrane-bounded organelle	GO:0043231	20
				membrane part	GO:0044425	20
			KEGG	Oxidative phosphorylation	hsa00190	18
				Metabolic pathways	hsa01100	18
				Alzheimer disease	hsa05010	18
	model 2	33	GO	cellular process	GO:0009987	33
				metabolic process	GO:0008152	30
				single-organism process	GO:0044699	28
			KEGG	Metabolic pathways	hsa01100	13
				Biosynthesis of amino acids	hsa01230	8
				Neuroactive ligand-receptor interaction	hsa04080	7
	model 3	32	GO	single-organism process	GO:0044699	32
				cellular process	GO:0009987	31
				single-organism cellular process	GO:0044763	31
			KEGG	Metabolic pathways	hsa01100	15
				Ovarian steroidogenesis	hsa04913	6
				Arachidonic acid metabolism	hsa00590	6
	model 4	11	GO	cellular process	GO:0009987	11
				primary metabolic process	GO:0044238	11
				metabolic process	GO:0008152	11
			KEGG	Parathyroid hormone synthesis, secretion and action	hsa04928	4
				MAPK signaling pathway	hsa04010	3
				Bile secretion	hsa04976	3
	model 5	3	GO	peptidase activity, acting on L-amino acid peptides	GO:0070011	3
				peptidase activity	GO:0008233	3

下转续表

续表

方名	模块编号	基因数量	种类	名称	编号	数量
			KEGG	catalytic activity, acting on a protein	GO:0140096	3
				Renin-angiotensin system	hsa04614	2
				Systemic lupus erythematosus	hsa05322	1
				Amoebiasis	hsa05146	1
	model 6	3	GO	cation channel complex	GO:0034703	3
				membrane region	GO:0098589	3
				transmembrane transporter complex	GO:1902495	3
			KEGG	Cocaine addiction	hsa05030	2
				Glutamatergic synapse	hsa04724	2
				Cell adhesion molecules (CAMs)	hsa04514	1
	model 7	18	GO	primary metabolic process	GO:0044238	18
				organic substance metabolic process	GO:0071704	18
				metabolic process	GO:0008152	18
			KEGG	Oxytocin signaling pathway	hsa04921	4
				Insulin signaling pathway	hsa04910	3
				Insulin resistance	hsa04931	3
	model 8	14	GO	cell part	GO:0044464	14
				cell	GO:0005623	14
				cytoplasm	GO:0005737	14
			KEGG	Metabolic pathways	hsa01100	5
				Pathways in cancer	hsa05200	4
				Transcriptional misregulation in cancer	hsa05202	4
血必净注射液	model 1	13	GO	organelle part	GO:0044422	13
				membrane	GO:0016020	13
				mitochondrial part	GO:0044429	13
			KEGG	Metabolic pathways	hsa01100	12
				Oxidative phosphorylation	hsa00190	11
				Alzheimer disease	hsa05010	11
	model 2	10	GO	cell part	GO:0044464	10
				cell	GO:0005623	9
				membrane-bounded organelle	GO:0043227	9
			KEGG	Metabolic pathways	hsa01100	7
				Drug metabolism - cytochrome P450	hsa00982	6
				Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450	hsa00980	5
	model 3	5	GO	intracellular organelle lumen	GO:0070013	5
				membrane-enclosed lumen	GO:0031974	5
				organelle part	GO:0044422	5
			KEGG	Metabolic pathways	hsa01100	5
				Carbon metabolism	hsa01200	5
				Propanoate metabolism	hsa00640	2
	model 4	16	GO	cell part	GO:0044464	15
				cell	GO:0005623	13
				membrane	GO:0016020	13
			KEGG	Metabolic pathways	hsa01100	10
				Arachidonic acid metabolism	hsa00590	6
				Ovarian steroidogenesis	hsa04913	5
	model 5	15	GO	cellular process	GO:0009987	15
				response to stimulus	GO:0050896	15
				single-organism process	GO:0044699	15
			KEGG	Natural killer cell mediated cytotoxicity	hsa04650	3

下转续表



续表

方名	模块编号	基因数量	种类	名称	编号	数量
	model 6	3	GO	Phospholipase D signaling pathway	hsa04072	3
				Regulation of actin cytoskeleton	hsa04810	3
				cellular biosynthetic process	GO:0044249	3
				organic substance biosynthetic process	GO:1901576	3
				carboxylic acid metabolic process	GO:0019752	3
			KEGG	Bile secretion	hsa04976	2
				AMPK signaling pathway	hsa04152	1
				Cholesterol metabolism	hsa04979	1
	model 7	3	GO	regulation of cellular metabolic process	GO:0031323	3
				regulation of signaling	GO:0023051	3
				establishment of localization	GO:0051234	3
			KEGG	Thyroid hormone signaling pathway	rno04919	1
				Gastric acid secretion	rno04971	1
				Apoptosis	rno04210	1
	model 8	3	GO	regulation of cellular metabolic process	GO:0031323	3
				regulation of signaling	GO:0023051	3
				establishment of localization	GO:0051234	3
			KEGG	Thyroid hormone signaling pathway	rno04919	1
				Gastric acid secretion	rno04971	1
				Apoptosis	rno04210	1

酶,可作为有效的抗病毒药物靶点<sup>[27]</sup>。Cathepsin L(组织蛋白酶),其是SARS病毒的S蛋白与细胞膜融合时必须的一种酶<sup>[28]</sup>。上述蛋白质为治疗新冠病毒的关键蛋白靶点,验证活性化合物与上述蛋白质有利于阐述“三药三方”的潜在治疗性,为“三药三方”基础研究和临床研究提供理论证据。

2.6 复方分析结果

通过Cytoscape软件绘制出药材的归经、药性和药味的网络图(图7-图9),同时绘制药材归经、药味和药性的百分比堆积柱状图(图10)。结合网络图以及百分比堆积柱状图可知,对于归经而言复方1到复方5以肺经为主,其余不同复方在脾经、心经和胃经占据一定重要比例,而复方6则以肝经为主,其次的是脾经和心经;对于药性而言,复方1到复方5分别是寒性药和温性药各占据各自的重要比例,而复方6则以温性要为主,不存在寒性药;对于药味而言,6种复方均具有相似性,均是苦味药、辛味药和甘味药各占重要比例,只是占据比重分配不同。

3 讨论

化湿败毒方、清肺排毒汤、宣肺败毒方、金花清感颗粒、莲花清瘟胶囊和血必净注射液这“三药三方”在抗击新冠疫情发挥着重要的作用,本研究通过网络药

理学和中医理论系统分析“三药三方”的潜在治疗机制和各自药材的性味归经,通过数据库的查询搜集“三药三方”6种复方的成分、靶标信息、药味、药性和归经情况,并且构建各自复方以及共同靶点的靶标网络,分析靶点干预的生物学过程和KEGG通路,通过可视化呈现复方的药理特点,从多角度揭示6种复方多成分-多靶点-多通路的药理分子机理。

基于网络药理学研究方法,通过ETCM数据库获取“三药三方”的成分、靶点和药味归经,ETCM数据库包含402种中药、3962种复方、7284种中药成分、2266种靶点和4323种相关疾病,同时网络药理学研究使用较多的数据库—TCMSP数据库包含499种中药和12144种化合物,通过数据库对比得出ETCM数据库中药和成分查询存在数量上的差异,但同时其靶点预测是基于MedChem Studio软件和DrugBank数据库,然后建立较为完备的靶点数据库,故靶点预测的准确性和查全性具有优势。同时ETCM数据库注重中医药信息库的建立,包括中药复方、药味归经等信息,针对本研究使用的药味归经,其与实际药味归经相符合。总的来说,通过从ETCM数据库获取“三药三方”成分、靶点和药味归经符合准确性、查全性,但介于本研究重点比较“三药三方”的生物机理的异同和分期治疗特点,利用数据库仍然具有一定局限性,特别是对于血

表4 合并通路的具体分类

Pathway Classification	Amount	Pathway Name
Sex hormone metabolism	1	Ovarian steroidogenesis
Metabolism and Internal secretion	4	Endocrine and other factor-regulated calcium reabsorption
		Bile secretion
		Metabolic pathways
		Retinol metabolism
Immunity	2	Linoleic acid metabolism
		Arachidonic acid metabolism
Neuroprotection	2	Serotonergic synapse
		GABAergic synapse
Drug	2	Drug metabolism - cytochrome P450
		Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450
Other	5	Morphine addiction
		Amphetamine addiction
		Nicotine addiction
		Retrograde endocannabinoid signaling
		Chemical carcinogenesis

表5 复方特征以及功能调控通路异同

Formula Number	Formula Name	Duration	Main Organ Target	Specific Intervention Pathways and Effects	Common Intervention Pathways and Functions
Formula 1	Huashibaidu Formula	The general prescription (Mild, Common type, Heavy critical type)	Lung meridian, Spleen meridian, Stomach meridian	Energy metabolism and Glucose metabolism pathway; Nervous system signaling pathway; Inflammatory cytokine activation pathway—Anxiety-proof, Provide energy, Protect cardiomyocytes and Regulate immune function.	Nervous system signaling pathway; Inflammatory cytokine activation pathway; Sex hormone pathway—Anxiety-proof, Endocrine regulation.
Formula 2	Lung Cleansing and Detoxifying Decoction	The general prescription (Mild, Common type, Heavy critical type)	Lung meridian, Spleen meridian, Stomach meridian	Energy metabolism and Glucose metabolism pathway; Nervous system signaling pathway; Inflammatory cytokine activation pathway—Anxiety-proof, Provide energy, Protect cardiomyocytes and regulate immune function.	
Formula 3	Xuanfeibaidu Formula	Mild, Common type	Lung meridian, Spleen meridian, Stomach meridian	Nervous system signaling pathway; Sex hormone pathway—Anxiety-proof, Endocrine regulation.	
Formula 4	Jinhua Qinggan Granule	Mild, Common type	Lung meridian, Stomach meridian, Heart meridian	Energy metabolism pathway; Nervous system signaling pathway; Inflammatory cytokine activation pathway; ACE2 related pathways—Anxiety-proof, Provide energy, Protect cardiomyocytes, Regulate immune function and Affect the binding of viral proteins to receptor proteins.	
Formula 5	Lianhua Qingwen Capsule	Mild, Common type	Lung meridian, Stomach meridian, Heart meridian	Energy metabolism pathway; Nervous system signaling pathway; Sex hormone pathway, ACE2 related pathways; Inflammatory cytokine activation pathway—Anxiety-proof, Provide energy, Protect cardiomyocytes, Endocrine regulation, Regulate immune function and Affect the binding of viral proteins to receptor proteins.	
Formula 6	Xuebijing Injection	Heavy critical type	Liver meridian, Spleen meridian, Heart meridian	Energy metabolism pathway; Inflammatory cytokine activation pathway; Nervous system signaling pathway; Sex hormone pathway—Anxiety-proof, Provide energy, Protect cardiomyocytes, Endocrine regulation and Regulate immune function.	

表6 分子对接(交集化合物)结合结果(单位:kcal·mol<sup>-1</sup>)

Name	Molecular Formula	MW	Main Protease	Papain-like protease	RdRp with RNA	RdRp without RNA	Helicase ADP site	Helicase NCB site	Nsp14 (ExoN)	Nsp14 (N7-MTase)	Nsp15 (endoribonuclease)	Nsp16 (2'-O-MTase)	N protein NCB site	E protein (ion channel)
Lauric Acid	C12H24O2	200.36	-4.20	-6.60	-5.90	-4.40	-5.20	-4.90	-4.50	-5.70	-4.30	-5.00	-4.90	-5.20
Sitosterol	C29H50O	414.70	-6.40	-8.00	-8.00	-6.40	-5.60	-7.30	-6.70	-8.00	-6.10	-7.20	-7.90	-8.70
Alexandrin	C35H60O6	576.80	-7.40	-8.70	-8.30	-7.80	-6.30	-7.20	-6.70	-10.20	-5.80	-8.30	-7.40	-9.60
Chuanxiongzine	C8H12N2	136.19	-4.50	-5.50	-5.80	-4.70	-4.10	-4.50	-4.20	-5.60	-3.80	-4.80	-5.20	-5.10
Cetylic Acid	C16H32O2	256.42	-4.60	-6.00	-6.20	-4.20	-4.30	-4.90	-4.20	-6.00	-4.40	-5.10	-4.70	-5.50
Oleanolic Acid	C30H48O3	456.78	-7.80	-7.60	-9.50	-6.80	-6.20	-8.40	-7.90	-7.60	-6.90	-8.80	-7.40	-9.60
Lopinavir	C37H48N4O5	628.80	-7.70	-10.80	-8.50	-8.00	-7.40	-8.30	-7.00	-9.80	-7.20	-8.80	-7.50	-9.50
Ritonavir	C37H48N6O5S2	720.90	-8.80	-11.70	-11.00	-10.10	-6.90	-9.50	-8.00	-9.2	-7.10	-8.30	-8.30	-9.80
Remdesivir	C27H35N6O8P	602.60	-7.70	-10.20	-9.50	-7.50	-7.20	-7.40	-6.90	-9.10	-7.10	-8.70	-7.00	-7.40
darunavir	C27H37N3O7S	547.70	-8.10	-9.20	-8.60	-7.40	-6.90	-8.00	-7.50	-9.50	-6.60	-7.90	-7.20	-7.70
Arbidol	C22H25BrN2O3S	477.40	-6.60	-8.80	-7.90	-6.10	-6.10	-6.30	-5.80	-7.60	-5.10	-6.60	-5.80	-6.90
Chloroquine	C18H26ClN3	319.90	-6.20	-7.10	-7.00	-5.60	-5.70	-6.20	-6.20	-7.70	-5.30	-6.60	-6.00	-6.50
water	H2O	18.02	-1.70	-1.60	-1.90	-1.70	-1.60	-1.70	-1.80	-1.50	-1.90	-1.90	-1.50	-1.10

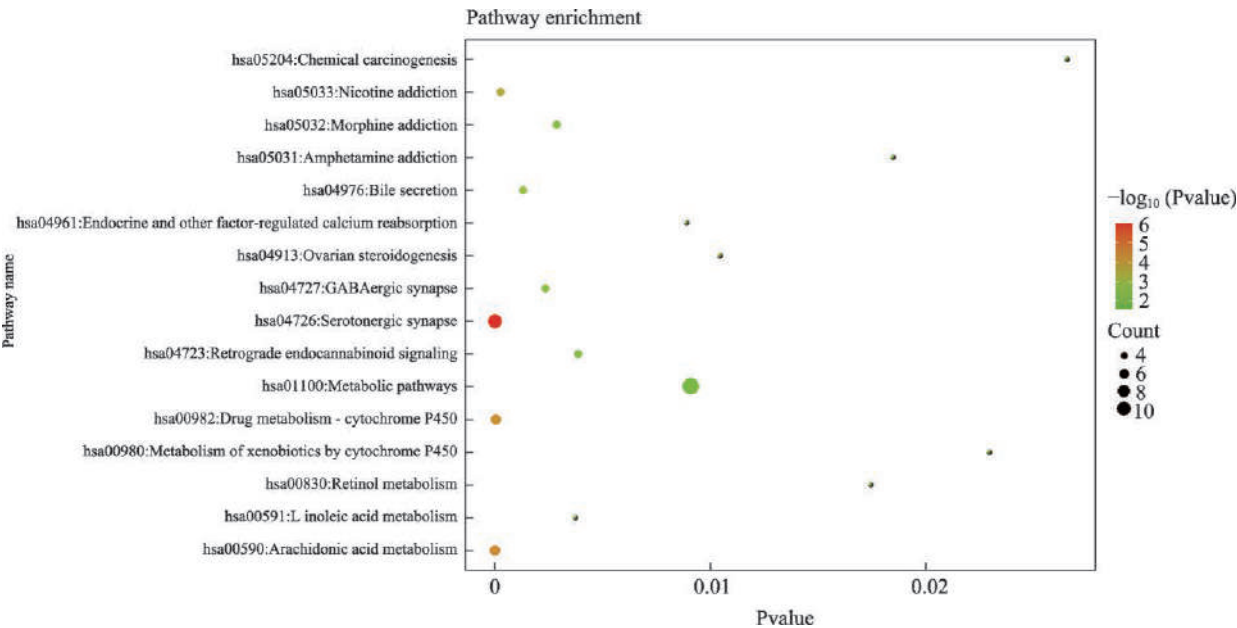


图5 交集靶点的通路气泡图

清和组织药物化学、多成分药代动力学研究不足，同时仅仅基于ETCM数据库核心指标筛选复方成分、靶点，未按照常规网络药理学方法对口服吸收率(OB)、类药性(DL)等生物指标筛选活性化合物进而进一步预测靶点。

通过网络药理学研究分析,6种复方中有6个化合物交集和25个交集靶点,无药材交集,并且通过通路分析得到16条通路,并且识别了各自的靶标网络并且分解成各自功能的子模块,特别是对于共同靶标的2个功能模块,包括γ-氨基丁酸受体亚基相互作用以及

细胞色素、ATP依赖转位酶和核受体的相互作用,分模块与药物代谢、心血管调节和神经调节有密切关系。同时对于交集靶点富集后的通路,表明复方具有共同调节的功能,以及从不同角度阐述复方的关联性以及不同点,初步揭示复方共同调控的生物通路:①神经保护作用;②免疫调节以及抗炎风暴调节;③内分泌调节以及性激素调控;④能量代谢调控;⑤药物代谢;⑥其他通路。具体分析如下:

神经保护调节。在《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第7版)》尸检报告中,病理改变提及“脑组织充



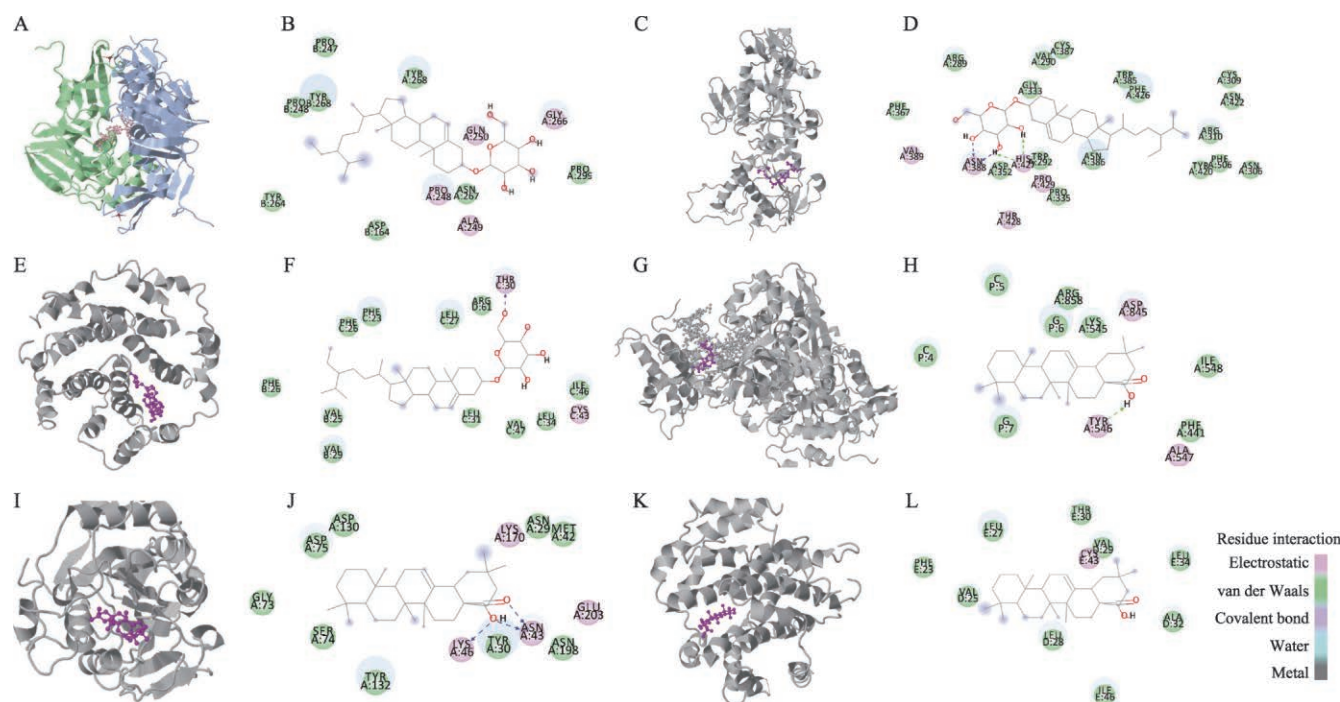


图6 部分交集化合物与蛋白质对接图

注:(A)与(B)代表Alexandrin与Papain-like protein结合情况;(C)与(D)代表Alexandrin与Nsp(N7-MTase)结合情况;(E)与(F)代表Alexandrin与E protein(ion channel)结合情况;(G)与(H)代表Oleanolic Acid与RdRp with RNA结合情况;(I)与(J)代表Oleanolic Acid与Nsp16(2'-O-MTase)结合情况;(K)与(L)代表Oleanolic Acid与E protein(ion channel)结合情况。

表7 分子对接(“三药三方”活性化合物)结合结果(单位: $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ )

Name	Molecular Formula	MW	ACE2	CD209L	CTSL	DHODH	AD-AM17(+Zn)	AD-AM17	SARS-CoV-2 chimeric RBD+ACE2	TM-PRSS2	3CLpro/Mpro (Dimer)	3CLpro/Mpro (monomer)	S protein (Open)	S protein (Close)	S protein-S2 subunit	Spike protein-heptad repeat 1
Apigenin	C15H10O5	270.25	-8.25	-7.33	-8.08	-11.08	-8.90	-8.79	-8.66	-8.29	-8.48	-7.88	-9.22	-9.49	-8.27	-7.92
Baicalein	C15H10O5	270.25	-8.41	-7.38	-8.39	-10.97	-8.61	-8.57	-8.67	-8.91	-8.60	-8.36	-9.49	-9.39	-8.12	-7.77
Caffeic acid	C9H8O4	180.16	-7.16	-5.17	-6.56	-7.61	-7.04	-7.03	-6.62	-6.65	-6.56	-6.82	-7.39	-6.83	-6.49	-6.08
Glycyrrhetic acid	C30H46O4	470.69	-9.59	-7.91	-8.83	-8.79	-8.58	-8.58	-9.72	-10.48	-9.89	-8.44	-10.62	-10.40	-9.48	-8.35
Isorhamnetin	C16H12O7	316.26	-8.58	-7.58	-8.71	-10.52	-8.68	-8.56	-8.15	-8.43	-8.60	-8.16	-9.53	-9.58	-8.38	-7.40
Kaempferol	C15H10O6	286.23	-9.02	-7.76	-8.30	-11.00	-8.98	-8.91	-8.29	-8.58	-8.77	-7.95	-9.63	-9.48	-8.21	-8.03
luteolin	C15H10O6	286.23	-8.91	-7.44	-8.57	-11.53	-9.42	-9.35	-8.84	-8.65	-8.86	-8.54	-9.96	-9.69	-8.57	-7.56
Quercetin	C15H10O7	302.24	-8.65	-7.80	-8.62	-11.23	-9.74	-9.71	-8.95	-9.03	-8.88	-8.38	-10.26	-10.16	-8.68	-7.80
Scutellarin	C21H18O12	462.37	-9.86	-7.83	-9.38	-11.83	-10.08	-9.88	-9.80	-10.29	-10.96	-9.65	-11.03	-11.05	-10.26	-8.73
Stigmasterol	C29H48O	412.69	-8.75	-6.89	-8.47	-9.46	-7.98	-7.94	-8.57	-8.76	-8.55	-7.65	-8.83	-8.62	-8.29	-7.46
Wogonin	C16H12O5	284.26	-7.56	-6.16	-7.57	-10.65	-8.51	-8.25	-7.42	-8.06	-7.78	-7.39	-9.13	-9.18	-7.75	-8.00
$\beta$ -sitosterol	C29H50O	414.71	-8.15	-6.14	-7.8	-9.23	-7.65	-7.54	-8.31	-8.43	-8.47	-7.61	-9.13	-8.08	-7.66	-7.50

血、水肿,部分神经元变性”<sup>[1]</sup>。相关研究报告 SARS-CoV-2 感染除了呼吸道症状外还存在神经系统症状,钟南山团队研究表明在全国范围内的 1099 例确证患者中头痛比例 13.6%<sup>[4]</sup>;同时有研究表明新冠病毒感染重症患者伴有神经系统症状,表现为急性脑血管疾病

和意识不清<sup>[29]</sup>;复方共同作用富集的通路包含神经系统相关通路 Serotonergic synapse(5-羟色胺能突触)、GABAergic synapse(GABA 能突触),这也反映复方对于神经系统的干预保护作用,特别是对于神经学标志物的影响,与神经系统的功能性相关联。复方干预保

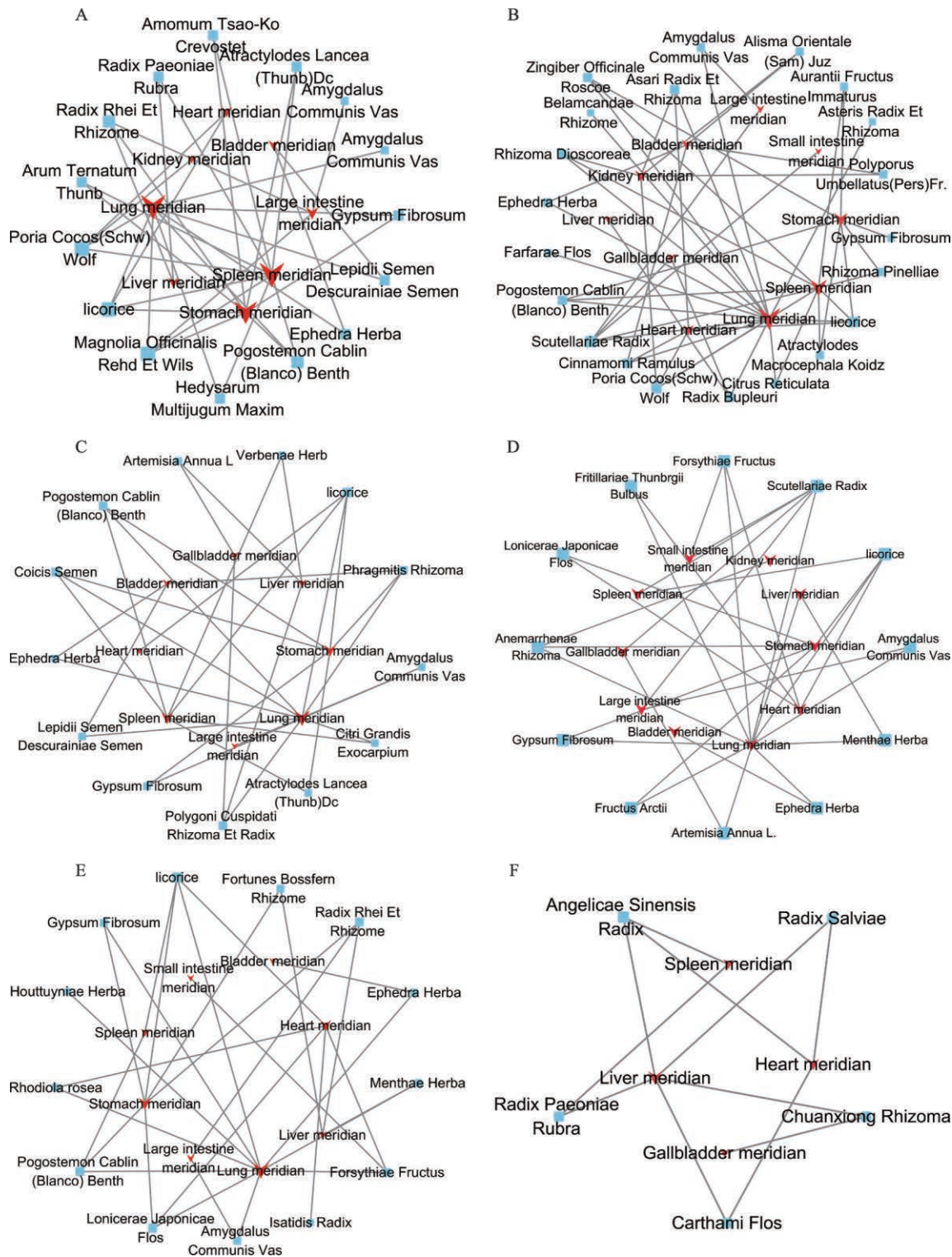


图7 复方药材归经图

注：(A)–(F)分别代表复方1–复方6的归经图，红色部分代表归经部位，蓝色部分代表药材（拉丁文表示）

护神经系统，对于新冠感染的患者具有良好的治疗作用和缓解症状的作用，特别是对重症患者有安神作用，有益于恢复元气。

免疫调节以及抗炎症风暴调节。SARS-CoV-2感染后导致强烈的炎症免疫反应，特别是一周后发生炎性介质风暴，免疫功能亢奋和炎症介质释放，实验室



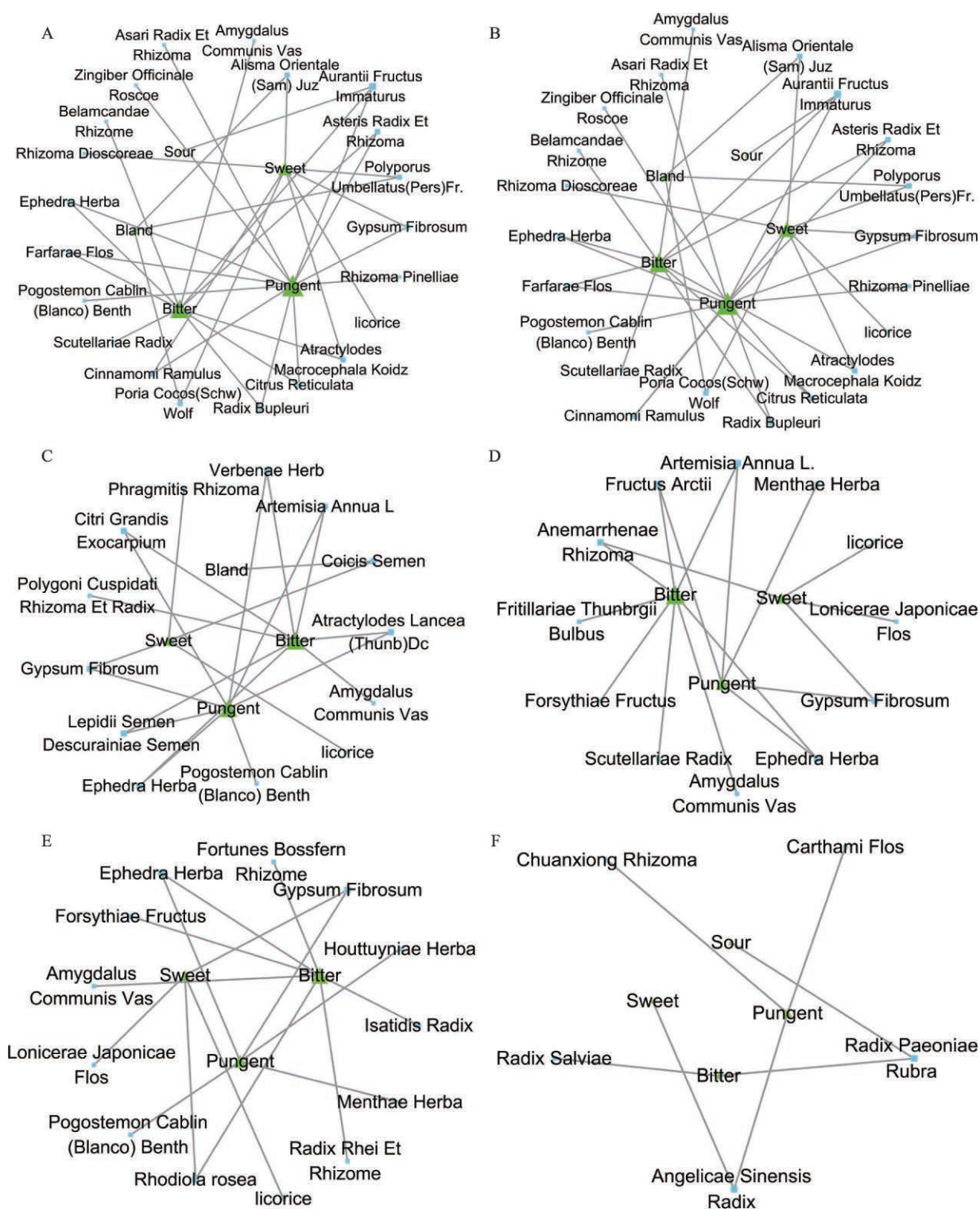


图8 复方药材药味网络图

注:(A)-(F)分别代表复方1-复方6的药味网络图,绿色部分代表药味,蓝色部分代表药材(拉丁文表示)。

检测一般为CRP、TNF和IL-6指标升高,进一步导致病情恶化并且出现多器官衰竭和急性呼吸窘迫综合征,并且是轻症转化为重症的重要时间轴点。复方共

同调控涉及到Linoleic acid metabolism(亚油酸代谢), Arachidonic acid metabolism(花生四烯酸代谢),特别是Arachidonic acid metabolism(花生四烯酸代谢),其



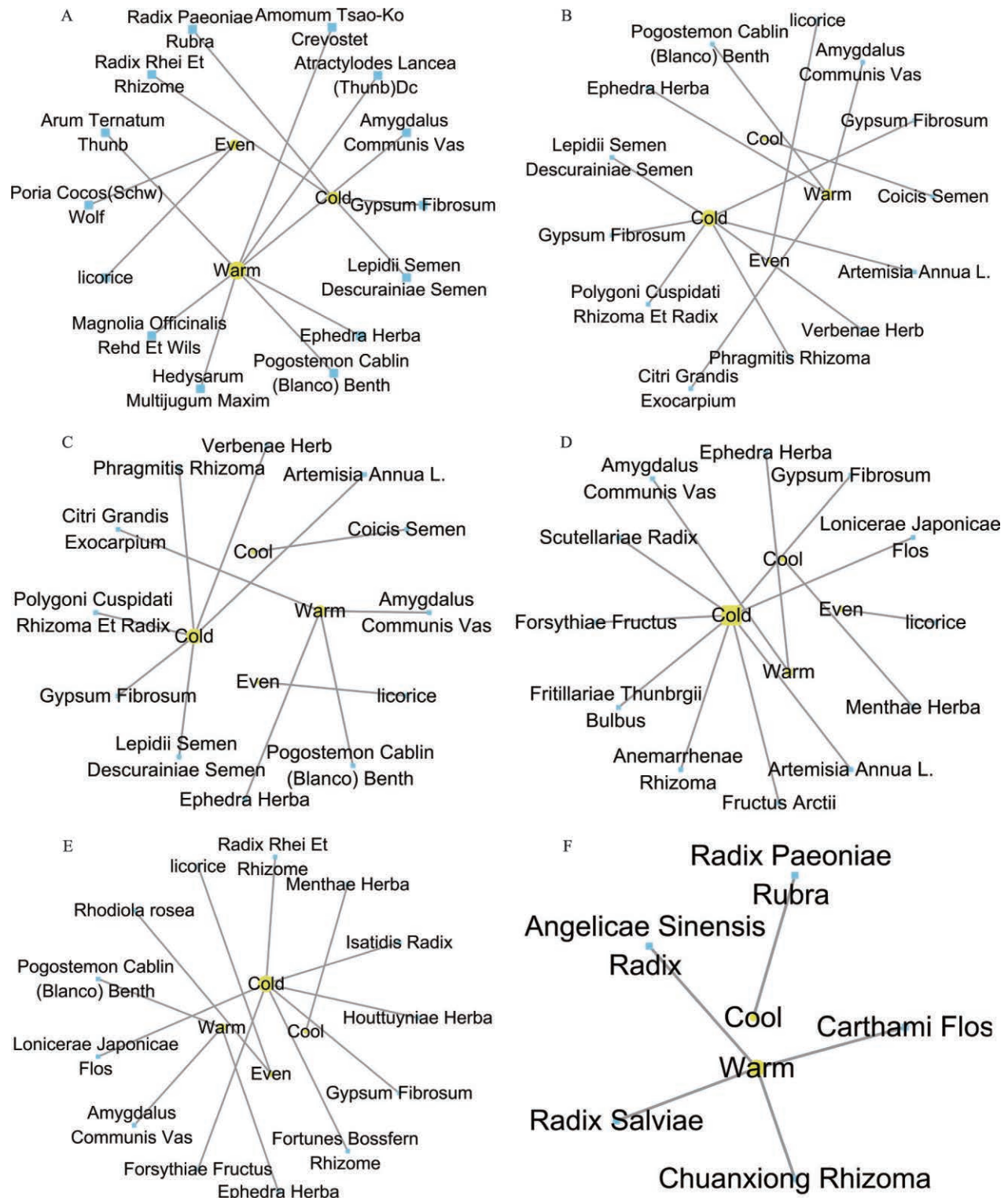


图9 复方药材药性网络图

注:(A)-(F)分别代表复方1-复方6的药性网络图,黄色部分代表药性,蓝色部分代表药材(拉丁文表示)。

主要用于合成炎症介质,并且介导炎症因子的产生如单核细胞趋化蛋白-1、肿瘤坏死因子、白介素等,通过抑制花生四烯酸代谢通路,从而达到平衡炎症介质,

缓释炎症细胞风暴<sup>[30]</sup>。内分泌调节以及性激素调控。复方共同调控涉及到内分泌调节特别是对于性激素调节的作用,有利

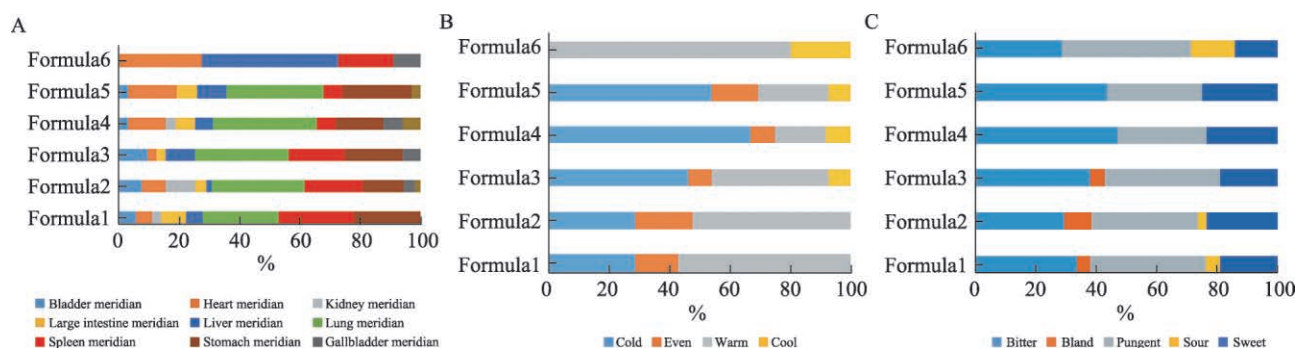


图10 药材归经、药味和药性的百分比堆积柱状图

注:(A)药材归经百分比堆积柱状图;(B)药材药性百分比堆积柱状图;(C)药材药味百分比堆积柱状图。

于缓解症状达到临床治疗的目的。尤其是对于性激素的调控,有研究表明新冠感染存在性别差异,将77932例患者纳入荟萃分析,其中男性为41510例,占比53.3%,男性患病比率高于女性<sup>[31]</sup>。有多个原因表明新冠感染的性别差异,而最为关键的因素是SARS-CoV-2激活S蛋白的过程中会利用到丝氨酸蛋白酶TMPRSS2,而丝氨酸蛋白酶TMPRSS2是促进男性前列腺癌的关键因子,其受到雄性激素的正向调控<sup>[32]</sup>。而复方共同调控通路中涉及到内分泌调节,性激素的调节通路Ovarian steroidogenesis(卵巢类固醇生成),这对于新冠病毒感染有潜在的治疗作用。

**能量代谢调控。**中医药通过多成分-多靶点-多通路调控,辨证治疗疾病,而能量代谢通路恰恰体现不同复方的辨证观和整体观治疗。新冠患者往往会出现多器官损伤,如果患者营养代谢状态不良并且不及时干预,对于治疗存在不利影响甚至会恶化病情。而在中医药指导下的复方调节,不仅起到直接的药理作用,并且通过多角度治疗缓解症状,通过能量代谢通路Endocrine and other factor-regulated calcium reabsorption(内分泌和其他因素调节钙的重吸收),Bile secretion(胆汁分泌),Metabolic pathways(代谢通路)以及Retinol metabolism(视黄醇代谢),具体来讲是为细胞供能并且保护心肌细胞。

**药物代谢。**复方共同调控通路涉及到药物代谢,这对于复方的药理吸收以及发挥作用起着辅助作用,并且与上述PPI蛋白互作网络的子模块相呼应,子模块中细胞色素之间存在关联,特别对于细胞色素P450是药物代谢过程的关键酶,这利于复方发挥药理作用,从而达到临床治疗作用<sup>[33]</sup>。

**其他通路。**对于其他通路,涉及到成瘾性相关的通路,临床上未报到对复方产生依赖性,并且也无出

现成瘾性相关的副作用,因为复方起到神经保护作用,对于中枢神经有影响作用,可能复方共同调控存在潜在的镇痛作用,目前也无相关的研究报告,镇痛作用也只是复方共同作用的潜在可能性,需要进一步进行实验分析验证。

同时复方4、复方5涉及到与Angiotensin-converting enzyme(血管紧张素转化酶)蛋白相关的通路调节,而ACE2是SARS-CoV-2病毒的功能受体,在SARS-CoV-2感染的病人中存在ACE2的高表达<sup>[3]</sup>。而复方4和复方5有直接调控涉及到ACE2的通路——Renin-angiotensin system(肾素-血管紧张素系统),通过调控平衡ACE与ACE2蛋白达到治疗目的。

对于6种复方理论分析、实验以及临床验证,证明“三药三方”具有治疗新冠病毒的药理作用。化湿败毒方全方由14味中药组成,其适用于轻型、普通型和重型患者治疗,临床上发挥综合治疗,可明显缩短核酸转阴时间和住院时间;该方对于新冠病毒感染的小鼠模型,可降低肺组织病毒载量30%,在该方进行生物信息研究发现,该方表现与病毒相关蛋白有结合力,同时表现出免疫炎症相关的信号通路调节,另外化湿败毒颗粒获得获临床试验批件<sup>[5]</sup>。在金银潭医院75例重症患者治疗效果观察中,其CT诊断的肺部炎症和临床症状明显改善,住院时间以及核酸转阴时间平均缩短3天;对将军路街卫生院210例普通型患者临床观察,东西湖方舱医院894例轻型和普通型(中药化湿败毒方组452例)临床疗效观察,化湿败毒方在核酸转阴和症状改善方面有显著差异,同时对服用化湿败毒方的患者进行肝肾功能追踪检测,未发现与药物相关的不良反应<sup>[5]</sup>。

清肺排毒汤全方由21味中药组成,其功能在于清热化湿、宣肺透邪和健脾化饮,适用于轻型、普通型、



重症、危重型患者治疗。在网络药理学研究分析下,清肺排毒汤起到免疫、炎症通路调节,并且对于干扰病毒的复制以及影响病毒蛋白相互作用<sup>[34]</sup>。在四川省16所单位收集的98例新冠患者资料中,轻型54例、普通型33例和重型及危重型11例均服用清肺排毒汤,检测临床症状和实验室指标检查,治疗9天后的总有效率达92.09%,其中痊愈率41.13%,显效率为26.92%,有效率为24.04%,不良反应发生率为0.07%<sup>[35]</sup>。在截至2月5日的清肺排毒方应用统计中,214例确诊患者的总有效率达90%,其中60%以上患者症状和影像学改善明显,30%患者症状平稳且无加重<sup>[36]</sup>。在山西133例确诊患者中,103例患者服用清肺排毒汤,临床症状改善明显,发热症状3天全部消失,6天治疗之后,肺部CT病灶的吸收非常明显;同时山西省548例疑似患者中,187例使用清肺排毒汤核酸转阳率为5.35%(10例),未使用清肺排毒汤核酸转阳率为34.17%(123例)<sup>[37]</sup>。在截至3月23日,在66个定点单位的1265例病例观察中,已经有1241例治愈出院,另外对于57例重症患者进行临床观察,无1例转为危重症,有42例(占73.7%)患者治愈出院,同时未见肝肾损伤<sup>[38]</sup>。在湖北省第三人民医院回归性研究中,与单纯抗病毒药物对比,清肺排毒汤加减方联合抗病毒药物能显著缩短COVID-19肺部CT好转时间、临床症状好转时间及患者住院时间<sup>[39]</sup>。

宣肺败毒方全方由13味中药组成,该方可缩短新冠患者新冠肺炎患者临床症状消失时间、平均住院天数、体温复常时间等,可以在一定程度上阻止由轻症和普通型转为重型;同时网络药理学分析表明该方通过调控病毒感染,免疫炎症,能量代谢等实现治疗<sup>[5,40]</sup>。在湖北省中西医结合医院、武汉市中医院等单位开展的120例新冠患者宣肺败毒方对照试验,宣肺败毒方(70例)与对照组(50例)研究对照显示,宣肺败毒方与对照组相比其淋巴细胞恢复提高17%,同时临床治愈率提高22%<sup>[5]</sup>。同时在江夏方舱里280例新冠患者临床观察中,未出现重症转化情况,说明宣肺败毒方降低病危率有积极作用。

金花清感颗粒全方由12味中药组成,其功效表现为疏风宣肺、清热解毒,适用于轻症患者,具体表现为缩短退热时间,对于淋巴细胞、白细胞复常率有提高作用,同时降低重症转化率;在临床观察中,123例患者中,金花清感颗粒显著减轻轻型患者的发热、咳嗽、乏力、咳痰临床症状,并且能够缓解患者心理焦虑;在

武汉102轻症和普通型病例中,转重症率明显降低,仅为11.8%;在北京天佑医院开展的80例对照研究,使用该方的患者相比对照组的核酸转阴时间降低2天半<sup>[5]</sup>。同时网络药理学理论分析出,该方通过病毒、细菌、免疫调节及炎症反应来达到治疗效果。针对湖北省中西医结合医院急诊123例新冠感染患者,通过常规治疗对照组与金花清感颗粒组进行对比,结果发现金花清感颗粒能够显著减轻新冠感染的临床症状如发热、咳嗽、乏力、咳痰,但同时治疗组表现较高的不良反应率32.93%(27例),均为腹泻<sup>[41]</sup>。在首都医科大学附属北京佑安医院的46例新冠感染病例中,19例使用连花清瘟胶囊、27例使用金花清感颗粒,并且配合西医治疗手段,最终所有患者症状逐渐改善好转出院,基于本研究未进行分组研究中医药治疗新冠肺炎,无具体对比反映中西医的具体作用,但该研究能够积极反映连花清瘟胶囊和金花清感胶囊对新冠肺炎的治疗作用<sup>[42]</sup>。

连花清瘟胶囊是治疗感冒的常用中成药,能够减少轻型、普通型转重症的发生,并且有利于核酸转阴的时间;同时该方可以通过关键分子从而达到激活的抗病毒、抗炎等协同作用减轻新冠肺炎的症状;钟南山科研团队发现该方能显著抑制SARS-CoV-2在细胞中的复制,该方处理后细胞内病毒颗粒表达显著减少,并能显著抑制SARS-CoV-2感染细胞所致的TNF- $\alpha$ 、IL-6、MCP-1和IP-10炎症因子的基因过度表达,且具剂量依赖关系,证实了该方的抗病毒效果<sup>[5,43]</sup>。临床研究表明,连花清瘟胶囊能缩短新冠感染患者核酸转阴时间、发热时间同时明显缓解临床症状<sup>[44]</sup>。单独使用连花清瘟胶囊治疗轻症、普通型患者有效率达到100%,连花清瘟胶囊联合阿比多尔有效缩短患者治疗时间以及住院时间<sup>[45]</sup>。与113例对照组相比,138例连花清瘟胶囊联合常规治疗提高了患者主要症状消失率,同时对于次要症状有改善作用<sup>[46]</sup>。连花清瘟胶囊通过体外实验验证对SARS病毒的治疗指数为40.33,半数抑制浓度为3.63 mg·mL<sup>-1</sup>,同时通过动物实验验证其能够提高免疫功能,并且具有延长小鼠咳嗽潜伏期、化痰和抗炎的作用<sup>[47]</sup>。

血必净注射液由5味中药提取物组成,表现出体外抗病毒作用,并且能够显著降低炎症风暴的发生,同时还具有抗血栓的作用,此前在临床中710名重症肺炎患者,随机对照显示血必净注射液联合常规治疗28天病死率降低8.8%,缩短4天的ICU住院时间;同

时32家医院参与的156例重型、危重型新冠肺炎患者的研究显示,在基础治疗加上血必净注射液后效率较高<sup>[5,48]</sup>。在血必净注射剂治疗新冠肺炎的证据基础和前瞻,共有10篇血必净注射剂治疗脓毒症的随机临床对照的系统评价,最新1篇Meta分析评价血必净注射剂联合常规治疗脓毒症的安全性及有效性,评论表明在1144名脓毒症患者中,联合血必净注射剂可降低体温、白细胞计数、急性生理与慢性健康评分(APACHE II)和28天病死率<sup>[49]</sup>。在东南大学附属医院牵头展开血必净注射剂治疗脓毒症疗效的多中心盲法随机对照临床研究中的1810名脓血症,与常规治疗相比联合血必净注射剂可降低患者28天病死率( $P\text{-value} < 0.001$ )<sup>[50]</sup>。同时93家二甲以上医院开展血必净注射剂临床安全性检测,31913名使用血必净注射剂的患者不良反应率为0.30%(96例),属于偶然级别均为已记载不良反应<sup>[51]</sup>。针对湖北医药学院附属东风医院隔离病房的44例新冠感染患者,对照组为常规治疗,观察组为血必净注射剂联合常规治疗,结果显示血必净注射剂治疗普通型新冠感染肺炎可提高疗效并且促进肺部感染病灶吸收,同时安全性良好(不良反应均为个例),但对核酸转阴率以及炎症指标改善不明显<sup>[52]</sup>。另外血必净注射剂临床不良反应主要表现为呼吸系统损害、过敏性休克全身性损害和心血管系统损害。

从中医药角度分析新冠病毒感染,其病理特点是重浊黏腻、病程缠绵和病情多变,核心病因是湿毒郁闭,主要病位是肺和脾,其属于寒湿疫的范畴,同时出现不同脏腑的损害,临床上新冠感染与心、肝、肾和大肠器官存在关联性,这与病毒通过ACE2受体攻击人体的心脏、食道、肾、膀胱和回肠等器官相吻合,同时符合新冠肺炎尸检报告。“三药三方”治疗新冠病毒体现中医分期及辨证治疗观点,从中医角度上讲初期寒湿侵犯肺卫、中期疫毒内陷蕴肺、重症期毒扰营血,内闭外脱以及恢复期邪去正虚,同时以治疗观点在不同时期的体现也不相同,初期以宣肺透表和健脾化湿为主、中期以以清热解毒,化痰平喘为主,佐以通腑泄浊之品、重症期以清营解毒,凉血开窍,化痰平喘为主,佐以益气回阳救急之品以及恢复期以扶正祛邪为主。而“三药三方”中复方3、复方4和复方5用于轻症初期,其以宣肺透表和健脾化湿为主,复方6适用于重症,其以清营解毒,凉血开窍,化痰平喘为主,佐以益气回阳救急之品,同时复方1和复方2为通用方,其治

疗需因人和时期而异,一般用于新冠肺炎轻症、普通型和重症患者,同时在危重患者可结合患者的实际情况使用,其总体表现祛湿的中医核心治疗观点。

复方1到复方5均以肺经为主,同时出现脾经和肝经,这符合中医角度下新冠病情的病位点,合理地针对病因以及病机,而对于复方6不同与其他复方,其主要功能是缓减炎症因子风暴,主要适用于热、毒、瘀内蕴的辨证,其归经则以肝经和心经为主,以脾经为辅,重症病人伴随着高热、喘憋、脓毒血症、器官衰竭等邪气入心、肝,故归经以肝经和心经为主。同样地,复方1、复方2和复方6以温性药为主,而复方3、复方4和复方5则以寒性药为主,以苦寒去内热,而新冠肺炎主要属于“湿毒化热”,并不是湿热入侵而化热,应该在临床上注重“湿”的变化,并不是过早和过多的清热,这也反映复方不仅以寒性药去热,并且有以温性药为主的复方注重“湿”的变化,实现辨证论治的治疗原则。而从药味角度上讲,复方均以苦味、辛味、甘味药为主,以苦寒去内热,其发挥解毒化湿和轻热平喘的功效。

“三药三方”多重点作用于脾经和肺经,初期和中期复方重点作用于肺经和胃经,重症期复方重点作用于肝经和心经,这符合解毒化湿、轻热平喘的核心治疗观点。新型冠状病毒肺炎病位在肺,但随着病情发展逐渐至脾、胃,从运化水谷精微角度讲,《内经》有言“饮入于胃,游溢精气,上输于脾,脾气散精,上归于肺,通调水道,下输膀胱。”水谷精微的正常功能在于脾的运化和肺的行水相关,“三药三方”整体重点作用于脾经和肺经在于维持水谷精微的正常功能,阻止病情的恶化,同时体现中医“脾为后天之本”、“肺为相傅之官,治节出焉。统辑之气,无经不达,无脏不转,是乃肺之充,而肺乃气之主也”防治思想。初期燥邪伤阴、表湿郁肺,中期疫毒陷肺、肺燥脾湿,故初期和中期以宣肺透表和健脾化湿为主,宣肺气、通腑泄热、启脾胃,同时由于脾和胃相表里,初期和中期复方重点作用于肺经和胃经。重症危重期内闭外脱、疫毒蕴肺,出现高烧、神志不清等邪气入心,出现一系列典型的少阳证表现,邪犯少阳肝胆,枢机不利,经气不畅,故重症危重期需回阳救逆、启闭固脱,即重症期复方重点作用于肝经和心经。

在中医治病求因、辨证论治、已病防变和正气存内的原则下,6种复方的性、味、归经均符合解毒化湿、



轻热平喘的核心治疗观点,在改善病症的同时,缩短患者的退热时间和痊愈时间,降低轻症转重比例,同时提高中性粒细胞等生理指标,并且促进康复减少后遗症,去除余邪气和扶助正气,改善症状和提高免疫能力。

综上所述,本研究通过网络药理学和分子对接对“三药三方”的化学成分、核心靶点和性味归经进行系统性、整体性分析,从多成分-多靶点-多通路的协同作用角度初步阐述复方的药理机制,分析各自复方药理作用的异同,从分子水平角度初步解释“三药三方”

的药理特征,从中医辨证治疗以及分期治疗的观点分析“三药三方”的药理作用特点的异同,解释中医药在治疗新冠的辨证治疗、分期观点,同时利用现代药理分析方法,探究“三药三方”治疗新冠肺炎的分期治疗和辨证治疗中医理念,其为 COVID-19 的中医药治疗提供了科学理论依据。同时介于对 SARS-CoV-2 认识的局限性,其感染机制和治疗机制尚存不足,以及需要进一步实验探究网络药理学的理论分析观点,同时对于复方调控功能中的主次关系也存在认识性的不足。

## 参考文献

- 1 国家卫生健康委办公厅,国家中医药管理局办公室.新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第7版).中国医药,2020,15(6):801-805.
- 2 Letko M, Marzi A, Munster V. Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses. *Nat Microbiol*, 2020, 5(4): 562-569.
- 3 Zou X, Chen K, Zou J W, et al. Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection. *Front Med*, 2020, 14(2): 185-192.
- 4 Guan W J, Ni Z Y, Hu Y, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med*, 2020, 382: 1708-20.
- 5 田媛.这些中医药方剂治疗新冠肺炎有效,“三药三方”书写中药抗疫方案.中国日报.[2020.03.18].[http://politics.gmw.cn/2020-03/18/content\\_33660440.htm](http://politics.gmw.cn/2020-03/18/content_33660440.htm)
- 6 Li S, Zhang B. Traditional Chinese medicine network pharmacology: theory, methodology and application. *Chin J Nat Medicines*, 2013, 11(2): 110-120.
- 7 李梢.网络靶标:中药方剂网络药理学研究的一个切入点.中国中药杂志,2011,36(15):2017-2020
- 8 吴坚,薛晓燕,王丽芳,等.分子对接方法应用与发展.亚太传统医药,2013(12):80-81.
- 9 Xu Y H, Zhang Y Q, Liu Z M, et al. ETCM: an encyclopaedia of traditional Chinese medicine. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(1): 976-982.
- 10 Wang J, Zhao S, Liu M, et al. Ace2 expression by colonic epithelial cells is associated with viral infection, immunity and energy metabolism. *Medrxiv*, 2020.
- 11 Uniprot C T. UniProt: the universal protein knowledgebase. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(5): 2699
- 12 Damian S, Annika L G, David L, et al. STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(1): 607-613.
- 13 Otasek D, Morris J H, Bouças J, et al. Cytoscape Automation: empowering workflow-based network analysis. *Genome Biol*, 2019, 20(1): 185.
- 14 Huang D W, Sherman Brad T, Lempicki Richard A. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. *Nat Protoc*, 2009, 4(1): 44-57.
- 15 Zhou Y Y, Zhou B, Pache L, et al. Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets. *Nat Comm*, 2019, 10(1): 1253.
- 16 Kong R, Yang G B, Xue R, et al. COVID-19 Docking Server: An interactive server for docking small molecules, peptides and antibodies against potential targets of COVID-19. *Bioinformatics*, 2020, 36(20): 5109-5111.
- 17 Shi Y L, Zhang X B, Mu K J, et al. D3Targets-2019-nCoV: a webserver for predicting drug targets and for multi-target and multi-site based virtual screening against COVID-19. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2020, 10(7): 1239-1248
- 18 杨宇东,孙莉,陈忠斌.SARS冠状病毒PLpro蛋白酶的结构与功能.中国生物化学与分子生物学报,2010,26(1):15-21.
- 19 潘晖榕,吴少庭,戴五星,等.SARS冠状病毒E蛋白的表达与纯化.中国热带医学,2005(9):1790-1792.
- 20 丁超,张兰,曹洁,等.RNA依赖的RNA聚合酶(RdRP)与非编码RNA(ncRNA)调控的研究进展.复旦学报(医学版),2015,42(2):256-261.
- 21 边葶苈,周继勇,廖敏.冠状病毒非结构蛋白的研究进展.中国动物传染病学报,2013,21(4):67-74.
- 22 Iwata-Yoshikawa N, Okamura T, Shimizu Y, et al. TMPRSS2 contributes to virus spread and immunopathology in the airways of murine models after coronavirus infection. *J Virol*, 2019, 93(6): 1815-1818.
- 23 Heurich A, Hofmann-Winkler H, Gierer S, et al. TMPRSS2 and ADAM17 cleave ACE2 differentially and only proteolysis by TMPRSS2 augments entry driven by the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein. *J Virol*, 2014, 88(2): 1293-1307.
- 24 Jeffers S A, Hemmila E M, Holmes K V. Human coronavirus 229E can use CD209L (L-SIGN) to enter cells. *Adv Exp Med Biol*, 2006, 581:

- 265-269.
- 25 Khoo U S, Chan K Y, Chan V S, *et al.* Role of polymorphisms of the inflammatory response genes and DC-SIGNR in genetic susceptibility to SARS and other infections. *Hong Kong Med*, 2008, 14(4): 31-35.
  - 26 Chen S R, Ding S H, Yin Y B, *et al.* Suppression of pyrimidine biosynthesis by targeting DHODH enzyme robustly inhibits rotavirus replication. *Antiviral Res*, 2019, 167: 35-44.
  - 27 Ul Qamar M T, Alqahtani S M, Alamri M A, *et al.* Structural basis of SARS-CoV-2 3CLpro and anti-COVID-19 drug discovery from medicinal plants. *J Pharm Anal*, 2020, 10(4): 313-319.
  - 28 Graham S, Dhaval N G, Andrew J R, *et al.* Inhibitors of cathepsin 1 prevent severe acute respiratory syndrome coronavirus entry. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(33): 11876-11881.
  - 29 Mao L, Jin H, Wang M, *et al.* Neurologic manifestations of hospitalized patients with coronavirus disease 2019 in Wuhan, China. *JAMA Neurol*, 2020, 77(6): 683-690.
  - 30 任越, 姚美村, 霍晓乾, 等. 抗新型冠状病毒方剂基于花生四烯酸代谢通路防治“细胞因子风暴”的研究. *中国中药杂志*, 2020, 45(6): 1225-1231.
  - 31 Wei X Y, Xiao Y T, Wang J, *et al.* Sex differences in severity and mortality among patients with COVID-19: evidence from pooled literature analysis and insights from integrated bioinformatic analysis. *Arxiv E-Prints*, 2003.13547.
  - 32 Markus H, Hannah K W, Simon S, *et al.* SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*, 2020, 181(2): 271-280.
  - 33 张慧锋, 王月鹏, 李妍. 细胞色素 P450 的研究进展. *吉林医药学院学报*, 2005(3): 174-177.
  - 34 赵静, 田赛赛, 张卫东, 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. *中草药*, 2020, 51(4): 829-835.
  - 35 王饶琼, 杨思进, 谢春光, 等. 清肺排毒汤治疗新型冠状病毒肺炎的临床疗效观察. *中药药理学与临床*, 2020, 36(1): 13-18.
  - 36 国家卫生健康委员会办公厅, 国家中医药管理局办公室. 关于推荐在中西医结合救治新型冠状病毒感染的肺炎中使用“清肺排毒汤”的通知. *中国民间疗法*, 2020, 28(17): 2.
  - 37 武雯婧. 专家: 清肺排毒汤可有效阻断患者向危重方面发展. [20200417] <http://health.people.cn/n1/2020/0417/c14739-31678285.html>.
  - 38 潘锋. 中医药深度介入新冠肺炎诊疗全过程——访中国工程院院士、中央指导组专家组成员张伯礼教授. *中国医药导报*, 2020, 17(12): 1-3.
  - 39 李旷宇, 安徽, 夏飞, 等. 清肺排毒汤加减方联合抗病毒药物治疗新型冠状病毒肺炎的回顾性研究. *中草药*, 2020, 51(8): 2046-2049.
  - 40 王毅, 李翔, 张伯礼. 基于网络药理学的宣肺败毒汤治疗新型冠状病毒肺炎机制研究. *中国中药杂志*, 2020, 45(10): 2249-2256.
  - 41 段臻, 夏文广, 张伯礼, 等. 金花清感颗粒治疗新型冠状病毒肺炎的临床观察. *中医杂志*, 2020, 61(17): 1473-1477.
  - 42 李丽, 杨华升, 勾春燕, 等. 46例新型冠状病毒肺炎中医临床特征分析. *首都医科大学学报*, 2020, 41(2): 155-160.
  - 43 Chenghao Y, Meina G, Wangqiang L, *et al.* Theoretical Study of the anti-NCP Molecular Mechanism of Traditional Chinese Medicine Lianhua-Qingwen Formula (LQF). *ChemRxiv*, 2020.
  - 44 彭正良, 于紫英, 唐海波, 等. 2019冠状病毒病轻症患者的临床特点回顾. *中国动脉硬化杂志*, 2020, 28(5): 405-409.
  - 45 柳丽丽, 袁连方, 冯毅, 等. 阿比多尔联合连花清瘟胶囊治疗新型冠状病毒肺炎的临床观察. *广东医学*, 2020, 41(12): 1207-1210.
  - 46 杨猛, 杨少华, 杨眉, 等. 中药连花清瘟治疗新型冠状病毒肺炎的系统评价. *中国药物评价*, 2020, 37(2): 126-130.
  - 47 张忠会, 宋江秀. 中医药抗击冠状病毒肺炎专利信息研究及分析. *世界中医药*, 2020, 15(3): 337-343.
  - 48 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. *Crit Care Med*, 2019, 47(9): 735-743.
  - 49 Li C Y, Wang P, Zhang L, *et al.* Efficacy and safety of Xuebijing injection (a Chinese patent) for sepsis: A meta-analysis of randomized controlled trials. *J Ethnopharmacol*, 2018, 5(224): 5122-521.
  - 50 李承羽, 张晓雨, 刘斯, 等. 血必净注射液治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)证据基础及研究前瞻. *世界科学技术-中医药现代化*, 2020, 22(2): 242-247.
  - 51 Zheng R, Wang H, Liu Z, *et al.* A real-world study on adverse drug reactions to Xuebijing injection: hospital intensive monitoring based on 93 hospitals (31,913 cases). *Ann Transl Med*, 2019, 7(6): 117.
  - 52 张从玉, 张帅, 王婉, 等. 血必净治疗新型冠状病毒肺炎的临床疗效观察. *中国医院药学杂志*, 2020, 40(9): 964-967.

## Staged Treatment Analysis of the Network Pharmacology Based Traditional Chinese Medicine Compound "Three Chinese Patent Medicines, Three Traditional Chinese Medicine Formula" in the Treatment of COVID-19

Cai Yu<sup>1,2</sup>, Zeng Min<sup>1,2</sup>, Chen Yunzhong<sup>1,2</sup>

(1. College of Pharmacy, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China; 2. Hubei Province Chinese Medicine Health Food Engineering Technology Research Center, Wuhan 430065, China)

**Abstract:** Objective To explored the molecular mechanism of the multi-component, multi-target, and multi-pathway

( Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Materia-World Science and Technology ) 383

of the pharmacological effects of "Three Chinese Patent Medicines, Three Traditional Chinese Medicine Formula" in the treatment of COVID-19 and the traditional Chinese medicine connection of compounds' medicinal flavor. Methods The ingredients, targets, and flavors of the Chinese herbal compound were obtained through the ETCM database. The STRING database was used to construct the protein interaction network. The DAVID and Metascape databases were used to enrich the target function. The Cytoscape software was used to construct and analyze the visual network diagram. Results "Three Chinese Patent Medicines, Three Traditional Chinese Medicine Formula" mainly focus on the spleen and lung meridians. The mild, common type compound prescriptions mainly focus on the lung and stomach meridians. In the severe stage, the compound prescriptions focus on the liver and heart meridians. In the common type, the proportion of compound cold medicines is the largest. "Three Chinese Patent Medicines, Three Traditional Chinese Medicine Formula" mainly include bitter, spicy, and sweet Chinese herb. Among the common compounds, alexandrin and NSP (N7-MTase), Oleanolic Acid and E protein (ion channel) have the good binding ability. The compound regulation has in common: it contains the common sub-module  $\gamma$ -aminobutyric acid receptor subunit interaction and the interaction of cytochrome, ATP-dependent transposase, and nuclear receptor, in the regulation of 16 biological pathways involved ① neuroprotection role; ② immune regulation and anti-inflammatory storm regulation; ③ endocrine regulation and sex hormone regulation; ④ energy metabolism regulation; ⑤ drug metabolism; ⑥ other pathways. Differences: "Three Chinese Patent Medicines, Three Traditional Chinese Medicine Formula" also have their specific regulatory pathways. Jinhua Qinggan Granule and Lianhua Qingwen Capsule participate in the regulation of ACE2 related pathway Renin-angiotensin system, and 6 formulas have their common sub-module interacting proteins, respectively. Conclusion "Three Chinese Patent Medicines, Three Traditional Chinese Medicine Compounds" in the treatment of COVID-19 embodies the principles of TCM treatment based on syndrome differentiation and treatment, the treatment of the disease, righteousness within the qi, and prevention of the disease, and it preliminary reveals the functional regulation and similarities and differences of the Chinese herbal compound through network pharmacology. This study explains the comprehensive regulation of "Three Chinese Patent Medicines, Three Traditional Chinese Medicine Compounds" through multi-component, multi-target, and multi-pathway.

**Keywords:** SARS-CoV-2, Network pharmacology, Property flavors attributive channel, Biological pathway, Three Chinese Patent Medicines and Three Traditional Chinese Medicine Formula, Stage therapeutics

(责任编辑: 张巍瀚, 责任译审: 周阿剑)