

基于分子对接技术筛选新型冠状病毒 S 蛋白-血管紧张素转化酶 2 小分子抑制剂

宋磊¹, 毕思伟², 古君³, 吴童怡¹, 何黎黎^{1*}

1. 西南民族大学药学院, 四川 成都 610225

2. 四川大学华西医院 烧伤整形外科, 四川 成都 610041

3. 四川大学华西医院 心脏大血管外科, 四川 成都 610041

摘要: **目的** 采用分子对接技术筛选新型冠状病毒 S 蛋白与血管紧张素转化酶 2 (ACE2) 小分子抑制剂。**方法** 化合物库采用 Selleck 中国天然产物库 (目录号 L1400, 2 054 种天然产物)。新型冠状病毒 S 蛋白与 ACE2 蛋白共晶采用周强研究员课题组发表结果 (PDB: 6M17)。采用 Discovery Studio 软件进行分子对接。**结果** 通过虚拟氨基酸突变实验确定了关键氨基酸, 并在此基础上确定了结合空腔, 进而从天然化合物库中筛选出 11 个具有潜在抑制新型冠状病毒 S 蛋白与 ACE2 作用的化合物: 毛地黄皂苷、灰毡毛忍冬皂苷甲、连翘酯苷 B、灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙、常春藤皂苷 D、桔梗皂苷 D、松果菊苷、人参皂苷 Rb₂、人参皂苷 Rc、异绿原酸 C。**结论** 从天然产物库中筛选出潜在的新型冠状病毒 S 蛋白-ACE2 小分子抑制剂, 为抗新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 药物研究及处方筛选提供参考。

关键词: 新型冠状病毒 S 蛋白; 血管紧张素转化酶 2 蛋白; 蛋白作用抑制剂; 分子对接; 连翘; 金银花

中图分类号: R284 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)09-2361-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.09.010

Screening novel inhibitors targeting SARS-CoV-2 S protein-ACE2 interaction based on molecular docking

SONG Lei¹, BI Si-wei², GU Jun³, WU Tong-yi¹, HE Li-li¹

1. College of Pharmacy, Southwest Minzu University, Chengdu 610225, China

2. Department of Burn and Plastic Surgery, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

3. Department of Cardiovascular Surgery, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

Abstract: **Objective** To screen inhibitors targeting SARS-CoV-2 S protein-ACE2 interaction by molecular docking. **Methods** Candidate natural products were collected from Selleck China natural product library (Catalog No. L1400, 2 054 natural products). The structure of SARS-CoV-2 S protein-ACE2 had been determined by Qiang Zhou team (PDB: 6M17). The molecular docking was performed by Discovery Studio. **Results** Based on the virtual amino acid mutation experiment which determined the key amino acids, the binding cavity was created. Then, 11 compounds were screened out from the natural compound library: digitonin, *Lonicera grisea* saponin A, forsythiaside B, *L. grisea* saponin B, *Dipsacus asperges* saponin B, hederacoside D, platycodon D, echinacoside, ginsenoside Rb₂, ginsenoside Rc, and chlorogenic acid C. **Conclusion** The 11 potential inhibitors targeting SARS-CoV-2 S protein-ACE2 interaction were screened out from natural products library, which provides a reference for the research of new anti SARS-CoV-2 drugs.

Key words: SARS-CoV-2 S protein; ACE2 protein; protein-protein interaction inhibitors; molecular docking; *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl; *Lonicera japonica* Thunb.

自 2019 年 12 月新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 暴发以来, 截止 2020 年 4 月 26 日全球已有超过 280 万确诊病例, 死亡病例达 3 万以上, 给人类健康带来极大威胁^[1]。COVID-19 是一种新型冠状病毒

收稿日期: 2020-04-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81700410); 四川省科技厅应用基础项目 (2018JY0143); 四川省科技计划项目-重点研发项目 (2019YFS0344); 西南民族大学中央高校基本科研业务费专项 (2016NZYQN21)

作者简介: 宋磊, 博士, 从事天然产物化学、民族药物研究。E-mail: scsonglei@163.com

***通信作者** 何黎黎, 副教授, 硕士生导师, 主要研究方向为中药学。E-mail: lilihes@163.com

(SARS-CoV-2) 感染所致急性感染性肺炎, 患者初始症状多为呼吸道症状、发热、咳嗽、气促和呼吸困难等, 在重症病例中, 感染可导致严重急性呼吸综合征、脓毒症, 甚至死亡^[2]。SARS-CoV-2 是全新的冠状病毒, 目前针对 COVID-19 尚无特效治疗药物, 因此, 研究抗 COVID-19 治疗方法和药物迫在眉睫、意义重大。临床医生和药物学家从疫苗、抗病毒药物、对症治疗药物方面开展了涵盖中药、化学药、生物制剂的开发和临床研究, 其中在中药、天然产物方面, 肖小河课题组^[3]筛选发现了 46 个能作用于 SARS-CoV-2S 蛋白与血管紧张素转化酶 2 (ACE2) 结合区域中药活性成分; Zhang 等^[4]筛选出了 13 个与瓜样蛋白酶 (PLpro)、3C 样蛋白酶 (3CLpro) 和棘突糖蛋白 (Spike) 具有较低结合能的活性成分; 李婧等^[5]、宗阳等^[6]筛选出了 44 个与 3C 样蛋白酶蛋白具有较低结合能的活性成分。

蛋白质-蛋白质的相互作用 (protein-protein interactions, PPI) 参与几乎所有的生命过程, 在生命过程中扮演着重要的角色。随着对 PPI 研究的深入, 特别是相关 PPI 晶体结构被解析, PPI 也成为一类很有潜力的新靶标。靶向蛋白质-蛋白质相互作用的抑制剂在 p53-HDM2^[7]、-连环蛋白-Tcf3/Tcf4^[8]、gp120-CD4^[9]方面已取得一定进展, 部分候选药物已进入 I 期或 II 期临床试验。

在前期的攻关中进一步证实了 SARS-CoV-2 进入细胞的受体与 SARS 一样, 均为 ACE2, 导致病毒侵入机体而致病^[10-11]。西湖大学周强研究员^[12]解析了 ACE2 全长蛋白与 SARS-CoV-2 S 蛋白受体结合结构域的复合物结构 (图 1), 清华大学王新泉教授^[13]解析了 SARS-CoV-2 S 蛋白受体结构域 (RBD) 与人细胞受体 ACE2 的胞外部分复合物的晶体结构, 找到了 SARS-CoV-2 S 蛋白和细胞受体 ACE2 的相互作用位点及氨基酸残基相互作用方式 (图 2 和表 1), 为研究 ACE2-SARS-CoV-2 S 蛋白作用抑制剂奠定基础。

本研究以 ACE2-SARS-CoV-2 S 蛋白作用为靶点, 以天然化合物库作为配体, 筛选具有抑制作用的小分子化合物。

1 材料与方法

1.1 数据库及软件

数据库为天然产物库 (Selleck 中国, 目录号 L1400, 2 054 种天然产物) 为配体库 (该数据库已经过预处理可直接用于虚拟筛选)。使用软件为

Discovery Studio 2019 Client (DS2019)。

1.2 结合位点的确认

下载周强课题组发表的 RBD-ACE2-B0AT1 复合体晶体结构 (PDB: 6M17), 删除 B0AT1 部分, 去除水分子, 利用 Macromolecules/Prepare Protein/CleanProtein 对蛋白分子进行预处理。利用 DS2019 中 Calculate Mutation Energy (Binding) 功能对 ACE2 蛋白-病毒 S 蛋白结合面涉及到的氨基酸残基 (表 1) 进行基于相互作用力的虚拟氨基酸突变, 如果突变能在 $-2.09 \sim 2.09$ kJ/mol, 那么 Effect 为 neutral, 即这种突变对于亲和力没有影响; 如果突

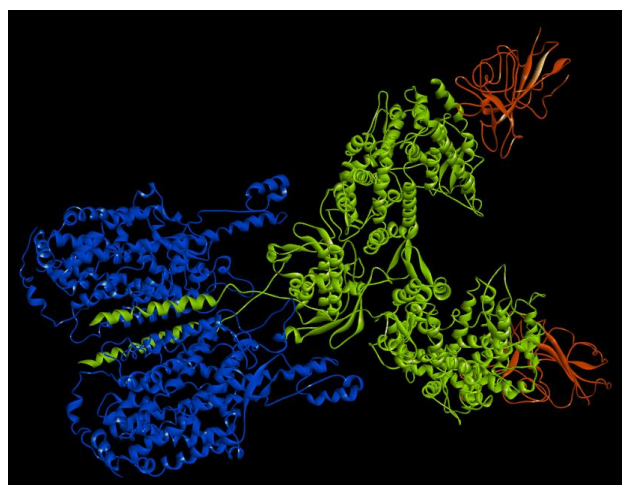


图 1 ACE2 全长蛋白与 SARS-CoV-2 S 蛋白受体结合结构域的复合物结构 (PDB: 6M17)

Fig. 1 SARS-CoV-2 RBD/ACE2-B0AT1 complex (PDB: 6M17)



图 2 SARS-CoV-2 S 蛋白和 ACE2 的相互作用位点

Fig. 2 Binding sites of SARS-CoV-2 RBD/ACE2

表 1 SARS-CoV-2 S 蛋白和 ACE2 的相互作用方式

Table 1 Interaction of SARS-CoV-2 RBD/ACE2

作用类型	SARS-CoV-2 RBD 残基	ACE2 残基	距离/nm	作用类型	SARS-CoV-2 RBD 残基	ACE2 残基	距离/nm
氢键作用	N487	Q24	0.24	氢键作用	Q493	E35	0.32
氢键作用	Y505	E37	0.35	氢键作用	Y505	E37	0.36
氢键作用	Y449	D38	0.30	氢键作用	Y449	D38	0.28
氢键作用	T500	Y41	0.27	氢键作用	N501	Y41	0.37
氢键作用	Q498	Q42	0.31	氢键作用	G446	Q42	0.36
氢键作用	Y449	Q42	0.32	氢键作用	N487	Y83	0.25
氢键作用	Y489	Y83	0.34	氢键作用	Y495	K353	0.35
氢键作用	G496	K353	0.31	氢键作用	G502	K353	0.27
氢键作用	Y505	R393	0.38	氢键作用	K417	D30	0.31

变能在 2.09 kJ/mol 以上,那么 Effect 为 destabilizing,即这种突变会导致亲和力降低,相互作用关系减弱;如果突变能-2.09 kJ/mol 以下,那么 Effect 为 stabilizing,即这种突变会导致亲和力上升,相互作用关系增强。将 mutation energy 大于 2.09 kJ/mol 的氨基酸残基确定活性位点中的关键氨基酸残基。选择关键氨基酸残基后,利用程序中 Receptor-Ligand Interactions 模块 Define and EditBinding Site/From Current Selection,确定结合空腔(SBD_Site_Sphere)。

1.3 分子对接

采用刚性对接模式(LibDock)输入结合空腔,配体分别选择 L1400,其余参数设置为默认进行对接。每种活性成分对接结果几种结合构象中,选择

打分最高的显示。

2 结果与分析

2.1 关键氨基酸残基确定

虚拟氨基酸突变实验显示(表 2),将 GLY502、TYR505、TYR489、LYS417、ASN487、ASN501 突变为丙氨酸以后突变能大于 2.09 kJ/mol,提示以上几种氨基酸残基突变为丙氨酸以后 ACE2-SARS-CoV-2 S 蛋白作用更不稳定;将 GLN493 突变为丙氨酸以后突变能小于-2.09 kJ/mol,提示 GLN493 残基突变对 ACE2-SARS-CoV-2 S 蛋白起到稳定作用;其他几种氨基酸 TYR449、GLN498、TYR495、GLY446、THR500、GLY496 突变为丙氨酸以后 ACE2-SARS-CoV-2 S 蛋白的作用没有明显变化。

表 2 虚拟氨基酸突变实验

Table 2 Virtual amino acid mutation experiment

氨基酸突变	突变能/(kJ·mol ⁻¹)	突变作用	氨基酸突变	突变能/(kJ·mol ⁻¹)	突变作用
GLY502→ALA	9.32	Destabilizing	GLN498→ALA	1.00	Neutral
TYR505→ALA	6.18	Destabilizing	TYR495→ALA	0.66	Neutral
TYR489→ALA	5.85	Destabilizing	GLY446→ALA	-0.16	Neutral
LYS417→ALA	4.93	Destabilizing	THR500→ALA	-0.20	Neutral
ASN487→ALA	3.72	Destabilizing	GLY496→ALA	-0.58	Neutral
ASN501→ALA	3.38	Destabilizing	GLN493→ALA	-2.21	stabilizing
TYR449→ALA	1.54	Neutral			

综上可以确定 GLY502、TYR505、TYR489、LYS417、ASN487、ASN501 是 ACE2-SARS-CoV-2 S 蛋白作用的关键氨基酸残基。

2.2 结合位点确定

虚拟氨基酸突变实验显示 GLY502、TYR505、

TYR489、LYS417、ASN487、ASN501 是 ACE2-SARS-CoV-2 S 蛋白作用的关键氨基酸残基,通过 Receptor-Ligand Interactions | Define and EditBinding Site | From Current Selection 以 GLY502、TYR505、TYR489、LYS417、ASN487、ASN501 为基础寻找

结合位点, 结合位点坐标 (XYZ, 13.641 281 1、19.548 710 8、24.443 017 6), 半径 1.838 132 5 nm。该结合空腔涉及 182 个氨基酸残基, 含有由 Val401、Val407、Ile402、Ile410、Ile418 组成的疏水性空腔, 可与配体形成选择性的识别作用; 也有碱性氨基酸残 ARG403、ARG408、ARG509、LYS417, 以及酸性氨基酸残基 ASP405、ASP442、GLU406, 适合形成氢键或盐桥, 这样构成了一个具有可成药性的潜在活性位点 (图 3)。

2.3 对接结果

以天然产物库作为配体, 以新型冠状病毒 S 蛋白为受体, 结合口袋 (XYZ, 13.641 281 1、19.548 710 8、24.443 017 6 nm, Radius 1.838 132 5 nm), 其他参数默认, 采用 DS LibDock 进行分子对接。每种活性成分对接结果几种结合构象中, 选择打分最高的显示。筛选结果见表 3。

从对接结果可见金银花、连翘、人参中几种有

效成分对 S 蛋白有较好的结合能力; 代表组方有连花清瘟胶囊、抗病毒颗粒、人参败毒散、四季抗病毒合剂等。

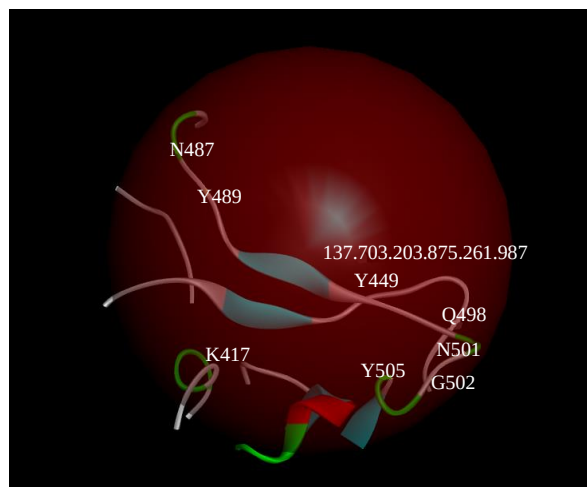


图 3 结合空腔示意图

Fig. 3 Structure of binding cavity

表 3 对接结果

Table 3 Screening result

编号	化合物名称	对接打分	代表药材	代表组方
1	毛地黄皂苷	158.0	紫花毛地黄	
2	灰毡毛忍冬皂苷甲	151.2	金银花	连花清瘟胶囊、抗病毒颗粒、双黄连口服液
3	连翘酯苷 B	146.4	连翘	连花清瘟胶囊、抗病毒颗粒、双黄连口服液、四季抗病毒合剂
4	灰毡毛忍冬皂苷乙	138.8	金银花	连花清瘟胶囊、抗病毒颗粒、双黄连口服液
5	川续断皂苷乙	134.1	金银花	连花清瘟胶囊、抗病毒颗粒、双黄连口服液
6	常春藤苷 D	128.9	马尾连	复方马尾连片
7	桔梗皂苷 D	128.7	桔梗	人参败毒散、四季抗病毒合剂
8	松果菊苷	117.2	松果菊	地奥紫黄精片
9	人参皂苷 Rb ₂	115.0	人参	人参败毒散
10	人参皂苷 Rc	113.7	人参	人参败毒散
11	异绿原酸 C	103.6	金银花	连花清瘟胶囊、抗病毒颗粒、双黄连口服液

2.4 结合模式分析

分析受体-配体对接结果显示, 大部分化合物和受体结合以发生氢键作用为主。以人灰毡毛忍冬皂苷甲、连翘酯苷 B 的分子对接模型进行分析。灰毡毛忍冬皂苷甲、连翘酯苷 B 与 S 蛋白的结合方式及相互作用见图 4、5。

灰毡毛忍冬皂苷甲、连翘酯苷 B 均结合于 S 蛋白 RBD 空腔中。对于连翘酯苷 B, 在位点 1, 苯环上的酚羟基与 ASN501 形成强烈的氢键, TYR505 与配体的芳香环形成稳定的 π - π 疏水堆积作用。位点 2 的 GLY496、ARG403 分别与小分子有很强的

氢键作用, 附近也存在一些较弱的碳氢键, 如 TYR495、SER494。除此之外, LEU455 的正电荷对配体也存在影响。对于位点 3, TYR453、LYS417、GLU406、ILE418、GLN409 均与连翘酯苷 B 形成了强烈的氢键, 值得注意的是, LYS417 不仅仅作为氢键提供质子, 而且其阳离子与苯环的 π 电子之间存在 p- π 共轭效应, GLU406 也有相似的作用, 其负离子也与配体的苯环形成共轭效应。所以推测 GLU406 和 LYS417 在 S 蛋白和连翘酯苷 B 的相互作用中起到了关键的作用。在结合空腔外围, 一些疏水氨基酸如 GLN498、PHE497、GLY502、

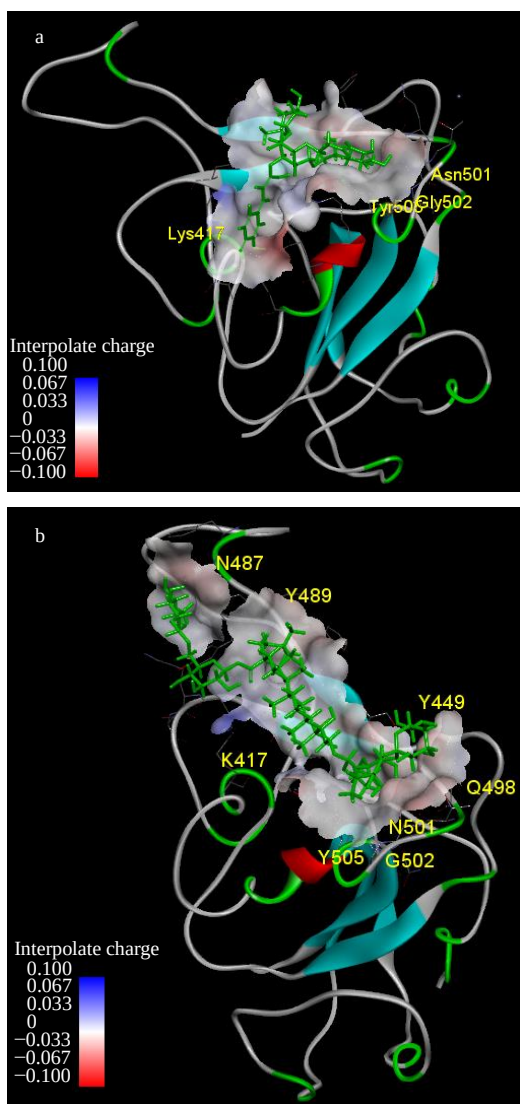


图 4 连翘酯苷 B (a, 绿色)、灰毡毛忍冬皂苷甲 (b, 绿色) 与 SARS-CoV-2 S 蛋白的结合方式

Fig. 4 Binding model of SARS-CoV-2 S with forsythiaside B (a, green), *Lonicera grisea* saponin A (b, green)

TYR449、GLN493、GLY416 在保持口袋的疏水性起到了重要的作用。对灰毡毛忍冬皂苷甲，糖基与 ASN501、THR500 形成强烈的氢键，TYR505 与配体成稳定的 π - σ 疏水堆积作用，LEU455、PHE456 的正电荷对配体也存在影响。在结合空腔外围，TYR473、TYR421、TYR495、ARG403、PHE497、GLY496、GLN498、GLY502、SER494、TYR453、TYR449、GLN493、PHE490、TYR489、LYS417 在保持口袋的疏水性起到了重要的作用。

3 讨论

蛋白质-蛋白质作用近年来受到越来越多的关注，成为一类很有潜力的新靶标，靶向抑制蛋白质-

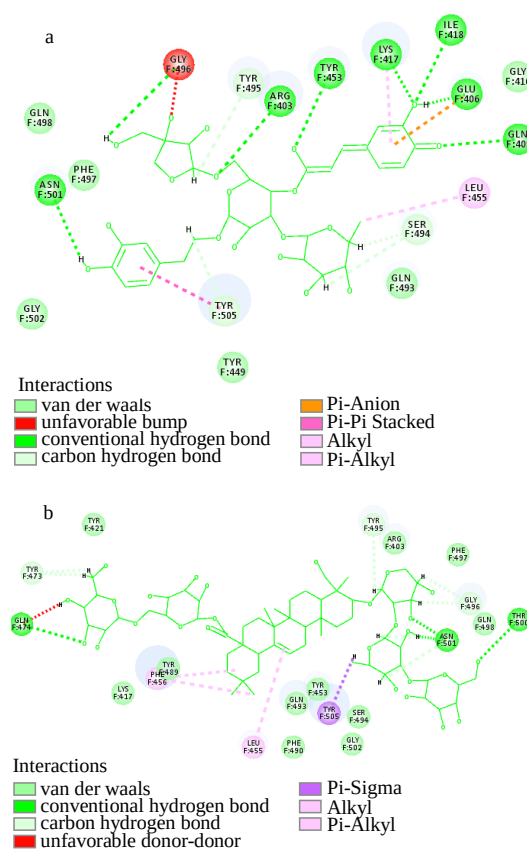


图 5 连翘酯苷 B (a)、灰毡毛忍冬皂苷甲 (b) 与 SARS-CoV-2 S 蛋白相互作用图

Fig. 5 Interaction of SARS-CoV-2 S with forsythiaside B (a) and *L. grisea* saponin A (b)

蛋白质作用的研究也成了热点。尤其是“热点区域”(hot spots)概念的出现打破了大的结合表面不适合作为药物靶标的观念，推动蛋白质-蛋白质相互作用小分子抑制剂的研究取得令人鼓舞的成果。

COVID-19 出现后，科学家们从结构生物学、免疫学、药理学多角度对 SARS-CoV-2 进行研究。石正丽研究团队证实了 SARS-CoV-2 进入细胞的受体为 ACE2，提示抑制 ACE2-SARS-CoV-2 S 蛋白作用可以抑制 SARS-CoV-2 感染。随后，周强^[12]、王新泉^[13]团队分别表征了 ACE2-SARS-CoV-2 S 蛋白共晶结构，发现了结合面互相作用氨基酸残基，为筛选抑制 ACE2-SARS-CoV-2 S 蛋白作用的药物奠定结构基础。在前面学者的研究基础上，通过点突变实验发现 GLY502、TYR505、TYR489、LYS417、ASN487、ASN501 为关键氨基酸残基。最后以关键氨基酸残基构建结合空腔，通过刚性对接模式从天然产物化合物库中筛选出打分靠前的化合物 11 个：毛地黄皂苷、灰毡毛忍冬皂苷甲、连翘酯苷 B、灰

毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙、常春藤苷 D、桔梗皂苷 D、松果菊苷、人参皂苷 Rb₂、人参皂苷 Rc、异绿原酸 C。

连翘酯苷 B 是连翘中的有效成分。连翘是木犀科植物连翘 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl 的果实，是中医常用的清热解毒药，现代研究证明了连翘的主要生物活性成分有连翘酯苷、连翘苷、挥发油等，其中以连翘酯苷的药理作用更为广泛^[14]。药理研究结果表明，连翘具有抗甲型流感病毒作用，在应对甲型及其他两型流感病毒引发的流行性感冒方面效果显著^[15]。灰毡毛忍冬皂苷甲和异绿原酸 C 是金银花的有效成分。金银花性甘、寒，入肺、心、胃、大肠经，能清热解毒、宣散风热。临床常用于治疗感冒，对于流感病毒造成的肺损伤和药物诱导的鼠肺损伤模型有显著的保护作用^[16]。近年来国内外学者运用现代理论，从科学的角度证实了金银花具有抗流感病毒的作用^[17]。含金银花、连翘的连花清瘟胶囊在卫健委发布的《新型冠状病毒肺炎诊疗方案（试行第六版）》被推荐使用^[18]，含金银花、连翘的“肺炎 1 号方”被广东省卫生健康委员会推荐包含金银花、连翘等 16 味中药组成的用于新型冠状病毒肺炎的治疗^[19]。人参皂苷 Rb₂、Rc 是人参的有效成分^[20]，人参是中药中名贵药材，有大补元气、复脉固脱、补脾益肺、生津、安神的功效。桔梗皂苷 D 是中药桔梗的有效成分，桔梗有宣肺、利咽、祛痰、排脓的功效，用于用于咳嗽痰多、胸闷不畅、咽痛、音哑、肺痈吐脓、疮疡脓成不溃^[21]。人参和桔梗也是人参败毒散的组成药材，在国家卫健委《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案（试行第四版）》中被推荐用于重症病人的治疗^[22]。

在 COVID-19 暴发时临床缺乏特效药物，筛选开发新药难以及时应用于临床救治。在此情况下，采用分子对接等技术，针对 SARS-CoV-2 的潜在靶蛋白从天然产物、中药中虚拟筛选可能的抑制剂，可以在短时间内开展大规模筛选和评价，快速高效，为临床治疗提供可行的参考意见。

参考文献

- [1] Johns Hopkins University. COVID-19 Case Tracker [EB/OL]. [2020-04-27]. https://coronavirus.jhu.edu/?Utm_source=jhu_properties&utm_medium=dig_link&utm_content=ow_jhuhomepage&utm_campaign=jh20
- [2] Chen N, Zhou M, Dong X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan China: A descriptive study [J]. *Lancet*, 2020, 395(10223): 507-513.
- [3] 牛明, 王睿林, 王仲霞, 等. 基于临床经验和分子对接技术的抗新型冠状病毒中医组方快速筛选模式及应用 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(6): 1213-1218.
- [4] Zhang D H, Wu K L, Zhang X, et al. In silico screening of Chinese herbal medicines with the potential to directly inhibit 2019 novel coronavirus [J]. *J Integr Med*, 2020, 18(2): 152-158.
- [5] 李婧, 马小兵, 沈杰, 等. 基于文献挖掘与分子对接技术的抗新型冠状病毒中药活性成分筛选 [J]. 中草药, 2020, 51(4): 845-850.
- [6] 宗阳, 丁美林, 贾可可, 等. 基于网络药理学和分子对接法探寻达原饮治疗新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 活性化合物的研究 [J]. 中草药, 2020, 51(4): 836-844.
- [7] Fischer P M. Peptide, peptidomimetic, and small-molecule antagonists of the p53-HDM2 protein-protein interaction [J]. *Inter J Peptide Res Therap*, 2006, 12(1): 3-19.
- [8] Trosset J Y, Dalvit C, Knapp S, et al. Inhibition of protein-protein interactions: The discovery of druglike beta-catenin inhibitors by combining virtual and biophysical screening [J]. *Proteins*, 2006, 64(1): 60-67.
- [9] Wang T, Ueda Y, Zhang Z, et al. Discovery of the human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) attachment inhibitor temsavir and its phosphono-oxymethyl prodrug fostemsavir [J]. *J Med Chem*, 2018, 61(14): 6308-6327.
- [10] Xu X, Chen P, Wang J, et al. Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission [J]. *Sci Chin Life Sci*, 2020, 63(3): 457-460.
- [11] Li F, Li W, Farzan M, et al. Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with receptor [J]. *Science*, 2005, 309(5742): 1864-1868.
- [12] Yan R, Zhang Y, Li Y, et al. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2 [J]. *Science*, 2020, 367(6485): 1444-1448.
- [13] Lan J, Ge J, Yu J, et al. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor [J]. *Nature*, 2020, doi: 10.1038/s41586-020-2180-5.
- [14] 阎新佳, 温静, 项峥, 等. 连翘的化学成分研究 [J]. 中草药, 2017, 48(4): 644-647.

- [15] 段林建, 胡伶清, 张 清, 等. 不同连翘制剂对甲型流感病毒 NP 基因转染后表达的影响 [J]. 河南中医学院学报, 2015, 30(1): 71-73.
- [16] 陈 丽, 顾 燕. 金银花注射液抗流感病毒作用的实验研究 [J]. 现代医药卫生, 2016, 32(2): 175-177.
- [17] 路俊仙, 梁瑞雪, 林慧彬. 金银花抗流感病毒作用研究进展 [J]. 现代中药研究与实践, 2018, 32(5): 77-81.
- [18] 国家卫生健康委员会, 国家卫生健康委办公厅关于印发新型冠状病毒肺炎防控方案 (第六版) [EB/OL]. [2020-03-07]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/zhengcwj/202003/48565b0458141fa9f376853224417.shtml>.
- [19] 广东省药品监督管理局. 广东省药品监督管理局广东省卫生健康委员会广东省中医药局关于透解祛瘟颗粒 (曾用名“肺炎 1 号方”) 临床使用有关规定的通知 [EB/OL]. 2020-02-08. http://mpa.gd.gov.cn/zwgk/gzwj/content/post_2888223.html.
- [20] 张小明. 人参皂甙 Rb₂ 和 Rc 的研究 [J]. 国外药学: 植物药分册, 1981, 2(1): 36-37.
- [21] 郑毅男. 桔梗有效成分研究进展 [J]. 吉林农业大学学报, 1981, 3(3): 34-38.
- [22] 国家卫生健康委员会, 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/202002/573340613ab243b3a7f61f2605514.shtml>.