

基于网络药理学的连花清瘟方抗冠状病毒的物质基础及机制探讨

凌晓颖, 陶嘉磊, 孙 逊, 袁 斌*

南京中医药大学附属医院, 江苏 南京 210029

摘要: 目的 探寻连花清瘟方抗冠状病毒的物质基础及作用机制, 为新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 的中医药治疗提供参考。方法 借助 TCMSp、Batman、Swiss Target Prediction 等数据库检索连花清瘟方中药味的化学成分和作用靶点。通过 GeneCards 筛选出冠状病毒的疾病靶点。使用 Cytoscape 软件构建“药物-成分-靶点-疾病”网络和潜在靶点的相互作用关系, 通过富集分析预测作用机制, 并将连花清瘟方的主要活性成分与新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 3CL 水解酶 (Mpro)、血管紧张素转化酶 II (ACE2) 进行分子对接验证。结果 挖掘出连花清瘟方中 100 种活性成分、636 个药物靶点, 冠状病毒 347 个疾病靶点, 得到药物-疾病共同靶点 67 个, 关键靶点涉及 PTGS2、IL6、CASP3、MAPK1、EGFR、ACE2 等。GO 富集分析共得到条目 1 946 个, 主要涉及 T 细胞活化、病毒受体、炎症反应等。KEGG 通路富集筛选出 166 条信号通路, 包括肾素-血管紧张素系统、Toll 样受体信号通路、JAK-STAT 信号通路、T 细胞受体信号通路、TNF 信号通路等。分子对接结果显示山柰酚、槲皮素、木犀草素与 Mpro 有较好的结合能力; 甘草次酸、豆甾醇、靛蓝与 ACE2 有较好的结合能力。结论 连花清瘟方可通过多成分、多靶点、多通路作用于冠状病毒, 其主要成分与 Mpro、ACE2 有较好的结合能力, 从而可能对 COVID-19 有治疗作用。

关键词: 连花清瘟; 冠状病毒; 新型冠状病毒肺炎; 网络药理学; 分子对接; 血管紧张素转化酶 II; 山柰酚; 槲皮素; 木犀草素; 甘草次酸; 靛蓝

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)07-1723-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.07.006

Exploring material basis and mechanism of Lianhua Qingwen Prescription against coronavirus based on network pharmacology

LING Xiao-ying, TAO Jia-lei, SUN Xun, YUAN Bin

Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China

Abstract: Objective To explore the active compounds and mechanism of Lianhua Qingwen Prescription for the treatment of coronavirus, and provide a reference for the treatment of COVID-19. **Methods** With the help of TCMSp, Batman, Swiss Target Prediction and other databases, the chemical constituents and targets of Lianhua Qingwen Prescription were retrieved. Coronavirus disease targets were screened by GeneCards. Cytoscape software was used to construct a “drug-component-target-disease” interaction network map and potential target interactions, and the action mechanism was predicted through enrichment analysis. The main active ingredients of Lianhua Qingwen Prescription were verified by molecular docking with Mpro and ACE2. **Results** A total of 100 active ingredients, 636 drug targets, and 347 disease targets were excavated, and 67 drug-disease common targets were obtained. The key targets involved PTGS2, IL6, CASP3, MAPK1, EGFR, ACE2, etc. A total of 1 946 entries were obtained by GO enrichment analysis, which mainly involved T cell activation, viral receptors, and inflammatory responses. KEGG pathway enrichment screened 166 signaling pathways, including renin-angiotensin system, Toll-like receptor signaling pathway, JAK-STAT signaling pathway, T cell receptor signaling pathway, TNF signaling pathway and so on. The molecular docking results showed that kaempferol, quercetin and luteolin had good binding ability with Mpro; And glycyrrhethinic acid, stigmasterol, indigo had good binding ability with ACE2. **Conclusion** Lianhua Qingwen Prescription acts on coronavirus through multiple components, multiple targets, and multiple pathways. The main components have good binding ability with Mpro and ACE2, so as to have a therapeutic effect on COVID-19.

Key words: Lianhua Qingwen Prescription; coronavirus; COVID-19; network pharmacology; molecular docking; angiotensin converting enzyme II (ACE2); kaempferol; quercetin; luteolin; glycyrrhethinic acid; indigo

2019 年 12 月以来, 我国湖北省武汉市出现的
新型冠状病毒肺炎 (coronavirus disease 2019,

COVID-19) 疫情发展迅速, 境外日本、韩国等多个
国家和地区相继出现疫情^[1]。本病以发热、咳嗽、

收稿日期: 2020-02-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81873340)

作者简介: 凌晓颖 (1993—), 女, 在读博士研究生, 从事中医儿科学研究。E-mail: 295047667@qq.com

*通信作者 袁 斌 (1966—), 男, 教授, 主任中医师, 从事中医儿科学研究。E-mail: yuanbin68358@163.com

乏力为主要表现,重者可进展为急性呼吸窘迫综合征(acuterespiratorydistresssyndrome, ARDS)、脓毒症休克,危及生命。然而由于针对 COVID-19 的研究刚起步不久,目前没有确认有效的抗病毒治疗方法。本病属于中医学“瘟疫”范畴,中医药在历次新突发传染病,特别是在 SARS 的疫情防治中取得了较好的临床效果^[2]。国家卫生健康委员会在不断更新的《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行)》中,一直强调中西医结合治疗,发挥中医药抗病毒作用^[3]。

连花清瘟方作为呼吸系统公共卫生事件的代表性中成药,曾在甲型 H1N1 流感的治疗中,发挥着与磷酸奥司他韦疗效相当的治疗作用^[4],目前已被国家卫生健康委员会列为 COVID-19 医学观察期的推荐用药。武汉科技大学附属华润武钢总医院进行的临床研究也证实^[5],连花清瘟颗粒能明显改善疑似患者的临床症状、缓解疾病严重程度。武汉市第九医院、华润武钢总医院共同开展的一项回顾性研究发现^[6],连花清瘟方还能明显改善 COVID-19 确诊的普通型患者发热、咳嗽、咳痰、气促等临床症状,缓解病情以及缩短病程。上述临床研究均提示该药对于 COVID-19 的治疗具有重要的临床应用价值。

连花清瘟方由《温病条辨》中的银翘散和《伤寒论》中的麻杏石甘汤化裁而来,方中麻黄、连翘、薄荷外疏卫表,贯众、板蓝根、鱼腥草清热解毒,藿香宣透化湿,大黄泻热通腑,红景天清肺活血,生石膏善治温病热入气分,组方体现了清瘟解毒、宣肺泄热的中医治法。中药复方具有多成分、多靶点、整体调节的作用特色,网络药理学是研究复方作用机制的有效方法,本研究基于网络药理学对连花清瘟抗冠状病毒的潜在活性成分及作用机制进行预测,为该药更广泛地应用于治疗 COVID-19 起到理论支持作用。研究报道^[7]显示,新型冠状病毒(严重急性呼吸综合征冠状病毒 2, SARS-CoV-2)与 SARS-CoV 均通过其表达的 S-蛋白与人体内血管紧张素转化酶 II(ACE2)结合,侵入人体而致病。3CL 水解酶是单正链 RNA 病毒前体多聚蛋白水解的核心蛋白酶,在单正链 RNA 病毒复制过程中起着至关重要的作用。因此,本研究还拟将网络药理学获得的主要活性成分与 SARS-CoV-2 3CL 水解酶(Mpro)、ACE2 分别进行分子对接验证,为中医药治疗 COVID-19 提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

TCMSP 数据库(<http://tcmsp.w.com/tcmssp.php>), Batman 数据库(<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/>), Swiss Target Prediction 数据库(<http://www.swisstargetprediction.ch/>), Gene Cards 数据库(<https://www.genecards.org/>), STRING 数据库(<https://string-db.org/>), Venny 2.1 在线软件作图工具平台(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>), Pubchem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), PDB 数据库(<https://www.rcsb.org/>); Cytoscape 3.7.1 软件, R3.6.0 软件, Autodock Vina1.1.2 软件等。

1.2 方法

1.2.1 化学成分的收集 在 TCMSP、Batman 数据库中分别检索连花清瘟中药味的化学成分,通过 Pubchem 数据库获取化学成分的分子结构,保存为 Canonical SMILES 格式。

1.2.2 连花清瘟方靶点的预测 将上述得到的 SMILES 格式文件导入 Swiss 数据库,以“人类”为研究物种,得到化合物的作用靶点,整合、去重后得到连花清瘟的潜在作用靶点。

1.2.3 疾病靶点的获取 使用 GeneCards 数据库以“coronavirus”为关键词进行检索,获得疾病的作用靶点。

1.2.4 潜在作用靶点的获取 在 Venny2.1 在线作图工具平台上分别录入连花清瘟方和冠状病毒的靶点,绘制韦恩图,得到两者的交集,作为潜在作用靶点。

1.2.5 网络模型的构建及分析 将药物的活性成分,以及“1.2.4”所得的潜在作用靶点分别导入 Cytoscape 软件,构建“药物-成分-靶点-疾病”相互作用网络,使用 Network Analyzer 功能对药物中的主要活性成分进行分析,节点的大小代表度(degree)值的大小。

1.2.6 蛋白相互作用(PPI)网络构建及分析 将连花清瘟方治疗冠状病毒的潜在作用靶点输入到 STRING 数据库中进行检索,设置蛋白种类为“Homo sapiens”,最低相互作用阈值为 0.4,获取蛋白相互作用信息,将其导入 Cytoscape 软件,绘制 PPI 网络。其中,节点的大小、颜色的深浅变化代表度值的大小,并根据节点的度值筛选出核心靶点。

1.2.7 通路富集分析 使用 R 语言对潜在作用靶点

进行富集分析,得到 GO (gene ontology) 和 KEGG (Kyoto encyclopedia of genes and genomes) 富集分析的柱状图、气泡图和通路图,分析连花清瘟方抗冠状病毒的生物过程和信号通路。

1.2.8 分子对接验证 从 Pubchem 下载主要活性成分的结构;从 PDB 数据库下载 Mpro (PDB ID: 6LU7) 和 ACE2 (PDB ID: 1R42)。然后用 Mgltools 1.5.6 处理,通过加氢,计算电荷,合并非极性氢后保存成 pdbqt 文件。根据 Mpro 和 ACE2 自带的配体定义活性位点、设置 Grid Box 坐标,并定义盒子大小为 30×30×30 个网格点,每个小网格点的距离为 0.1 nm。使用 Autodock Vina 1.1.2 进行小分子与蛋白对接,取打分最高的构象并用 Pymol 和 Maestro 11.9 进行分析做图。

2 结果

2.1 连花清瘟方的潜在活性成分

在 TCMSP 数据库中设定口服生物利用度 (oral bioavailability, OB) ≥ 30%, 类药性 (drug-likeness, DL) ≥ 0.18, Batman 数据库中设定 Score ≥ 20, 并结合文献数据^[8], 对连花清瘟方中的活性成分进行筛选,去重后共得到 160 个化学成分。

2.2 潜在靶点预测

将 Swiss 数据库中得到的预测靶点去重后,共得到药物靶点 636 个,中药-成分-靶点统计见表 1。通过 GeneCards 数据库得到疾病靶点 347 个,在 Venny 2.1 在线做图工具平台上输入药物与疾病的靶点,绘制韦恩图 (图 1),两者取交集后获得共同靶点 67 个。结果显示,连花清瘟方可能通过多个潜在作用靶点协同发挥抗冠状病毒作用。

表 1 中药-成分-靶点基本信息统计

Table 1 Statistics of Chinese materia medica-component-target information

中药名称	成分数量/个	预测靶点数量/个
板蓝根	39	220
金银花	26	259
麻黄	24	209
连翘	23	212
苦杏仁	20	87
大黄	19	218
广藿香	12	166
贯众	10	139
鱼腥草	10	340
生石膏	3	0
甘草	3	194
红景天	1	23
薄荷脑	1	32

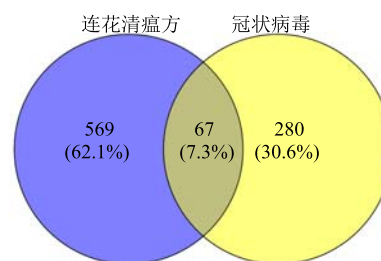


图 1 连花清瘟方与冠状病毒靶点韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of targets in Lianhua Qingwen and coronavirus

2.3 药物-成分-靶点-疾病网络构建

将连花清瘟方的活性成分与 67 个潜在作用靶点输入 Cytoscape 软件,筛选与靶点无交集的孤立成分,绘制网络图 (图 2)。度值表示预测出该成分与作用靶点的关联个数,度值越大说明该成分越重要,使用 Network Analyzer 对网络图进行分析显示,在 100 个与潜在靶点相互作用的活性成分中,槲皮素 (quercetin)、山柰酚 (kaempferol)、木犀草素 (luteolin)、β-谷甾醇 (β-sitosterol)、靛蓝 (indigo)、汉黄芩素 (wogonin)、色胺酮 (tryptanthrin)、芞叉丙酮 ([E]-4-phenyl-3-buten-2-one)、1-甲基-2-壬基-4(1H)-喹诺酮 [1-methyl-2-nonyl-4(1H)-quinolone]、豆甾醇 (stigmasterol)、柚皮素 (naringenin)、甘草次酸 (18β-glycyrrhetic acid) 均能与 10 个以上的靶点相连接,推测这 12 个成分是连花清瘟方抗冠状病毒的主要活性成分。而板蓝根中的靛蓝、色胺酮,大黄中芞叉丙酮,鱼腥草中 1-甲基-2-壬基-4(1H)-喹诺酮,贯众中的蛇根平定 (deserpidine) 又可共同作用于靶点 ACE2。上述一种成分与多个靶点作用,多种成分又可共同作用于同一个靶点的现象体现了连花清瘟方多成分、多靶点的综合调节特点。

2.4 PPI 网络构建

在 STRING 数据库中录入 67 个药物-疾病共同靶点,得到 PPI 网络关系数据,使用 Cytoscape 软件对上述数据进行可视化分析,构建 PPI 网络图 (图 3)。其中靶点 MAPK3、IL6、CASP3、MAPK8、MAPK1、TNF、ALB、CXCL8、EGFR、PTGS2 的度值均大于中位数 31。而在“药物-成分-靶点-疾病”网络图中 PTGS2、PTGS1、PPARG、NOS2、BCL2、CASP3、RELA、EGFR、IL6、MAPK1 均可作用于 10 个以上的成分,两图的主要靶点相互映射,推测除 ACE2 外,连花清瘟方的有效成分还可能通过 PTGS2、

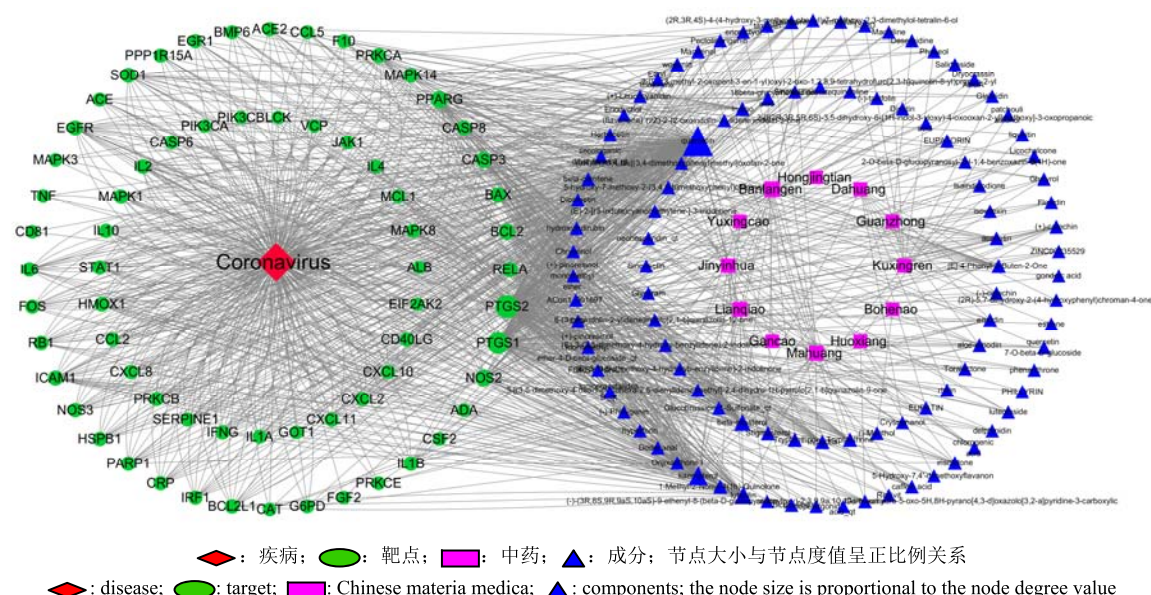


图 2 药物-成分-靶点-疾病相互作用的网络

Fig. 2 Drug-component-target-disease interaction network

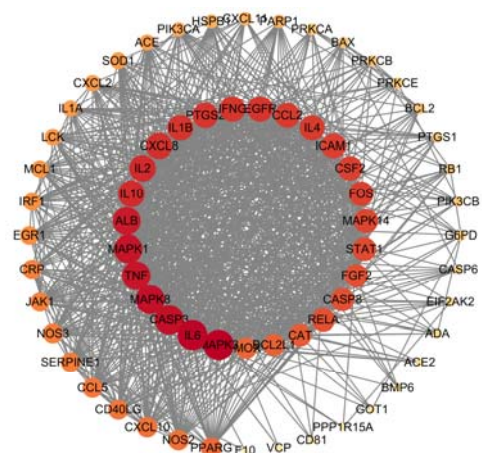


图 3 蛋白相互作用网络

Fig. 3 Protein-protein interaction network

IL6、CASP3、MAPK1、EGFR 等靶点发挥抗冠状病毒的作用。

2.5 靶点通路分析

67 个潜在靶点经 R 语言运行后可得到 GO 分析 ($P < 0.05$) 1 831 个生物学过程、26 个细胞组分、89 个分子功能。生物过程 (图 4-A) 主要与 T 细胞活化、调节炎症反应、I 型干扰素信号通路等相关; 细胞组分 (图 4-B) 主要涉及免疫突触、转录因子复合物 (参与免疫细胞活化) 等; 分子功能 (图 4-C) 主要集中于 TNF 受体结合、病毒受体活性等。KEGG 分析 ($P < 0.05$) 共富集于 166 条信号通路 (图 4-D), 主要与 TNF 信号通路、IL-17 信号通路、Toll 样受体信号通路、RIG-I 样受体信号通路 (参与 I 型干扰

素的生成, 图 5-A)、TGF- β 信号通路、肾素-血管紧张素系统 (图 5-B) 等有着密切联系。

2.6 连花清瘟方核心成分的分子对接验证

一般认为结合能越低, 配体与受体结合的构象越稳定, ≤ -5.0 kcal/mol 说明两者可以结合, ≤ -7.0 kcal/mol 说明有较好的结合能力。以网络药理学中度值前 12 的活性成分及 ACE2 的靶向成分为研究对象, 分子对接结果显示, 除芫叉丙酮外, 其余 12 种活性成分均可与 Mpro、ACE2 结合 (表 2、图 6-A)。其中山柰酚 (图 6-B~D)、槲皮素、木犀草素与 Mpro 有较好的结合能力; 甘草次酸 (图 6-E~G)、豆甾醇、靛蓝与 ACE2 有较好的结合能力。

3 讨论

冠状病毒是导致呼吸道感染的主要病毒性病原体之一, 近 20 年来, 冠状病毒共引发了 COVID-19、SARS、MERS 3 次传染病大流行, 危害人类健康。这些急性传染病可归属于中医疫病范畴, 从近期国家、各省市及中医药工作者们提出的诊疗方案来看, COVID-19 病位在肺, 其病因主要为感受“疫戾”之气, 病理因素以湿为主, 可入里化热。在不断更新的《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案 (试行)》中, 连花清瘟方均被推荐用于医学观察期表现为乏力伴发热者, 该药还能改善 COVID-19 普通型患者的主要症状, 对治疗 COVID-19 具有一定的临床应用价值。连花清瘟方由连翘、金银花、麻黄、苦杏仁、石膏、板蓝根、贯众、鱼腥草、广藿香、大黄、

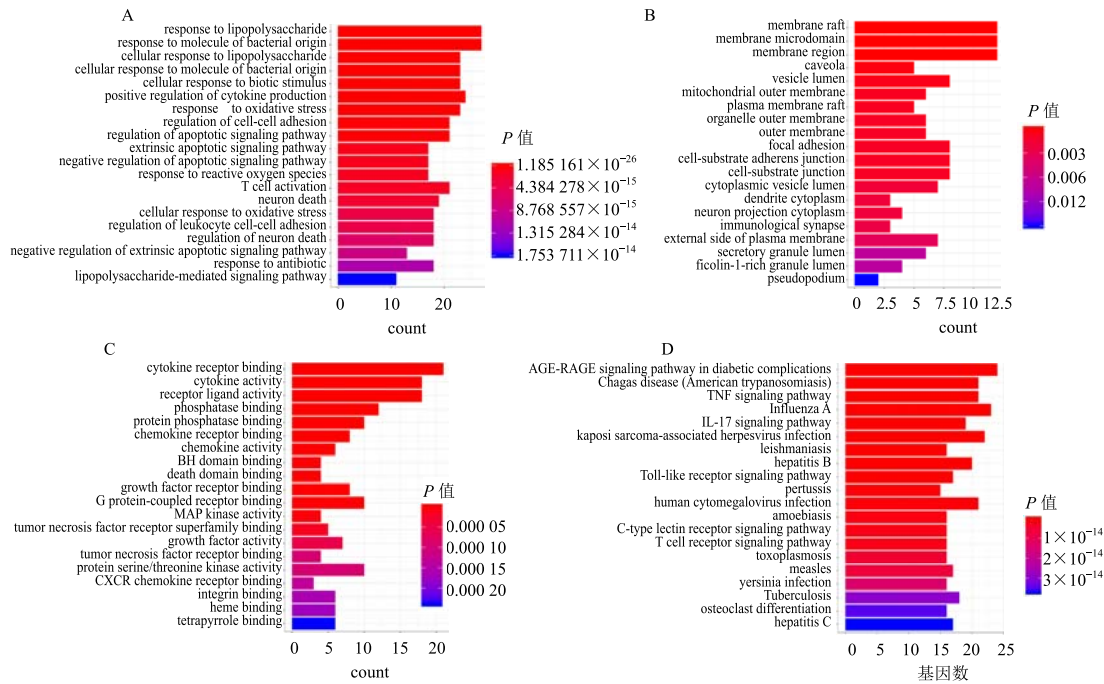


图 4 GO 生物学过程分析 (A)、细胞组分分析 (B)、分子功能分析 (C) 和 KEGG 富集分析 (D)

Fig. 4 GO analysis of biological process (A), cellular component (B), molecular function (C), and KEGG enrichment analysis (D)

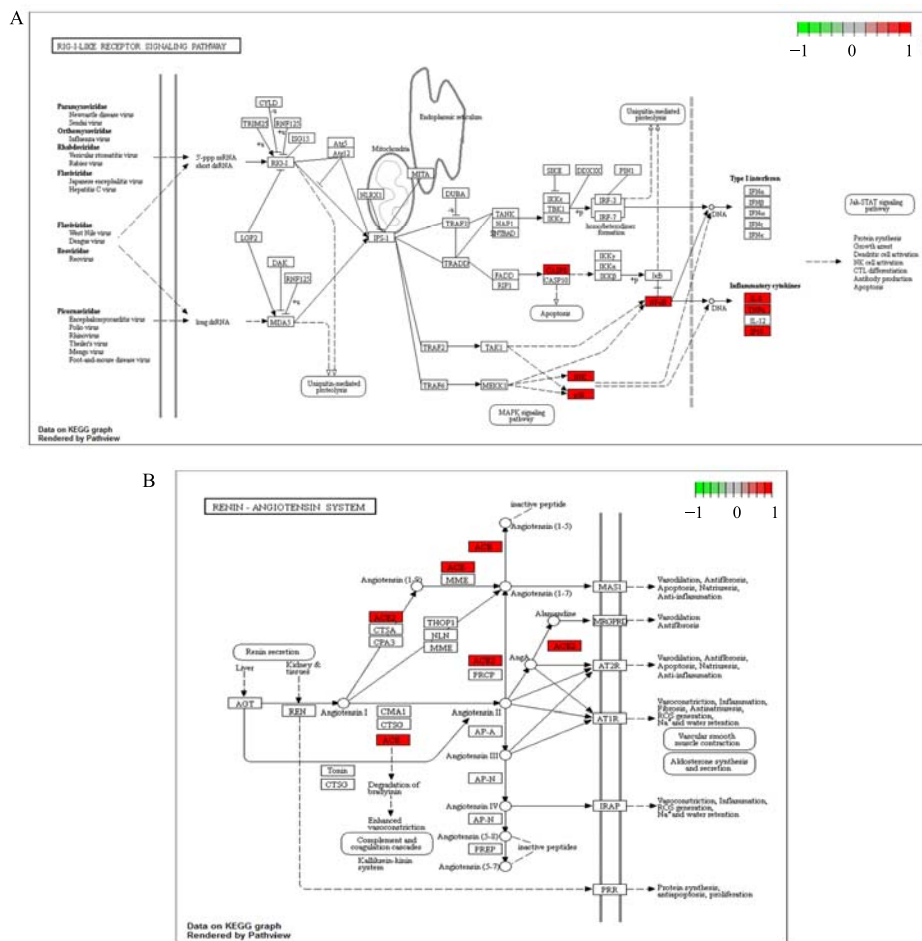


表 2 主要活性成分与核心靶点蛋白对接结果

Table 2 Docking results of main ingredients with target proteins

化合物	与 Mpro 结合能/ (kcal·mol ⁻¹)	与 ACE2 结合能/ (kcal·mol ⁻¹)
槲皮素	-7.7	-8.0
山柰酚	-7.9	-7.5
木犀草素	-7.7	-8.0
β-谷甾醇	-7.0	-8.2
靛蓝	-7.3	-8.4
汉黄芩素	-6.8	-7.6
色胺酮	-6.9	-7.4
苯叉丙酮	-4.7	-5.2
1-甲基-2-壬基-4 (1H)-喹诺酮	-5.0	-6.0
豆甾醇	-6.7	-8.5
柚皮素	-6.9	-7.9
甘草次酸	-6.9	-8.8
蛇根平定	-7.1	-7.6
洛匹那韦	-7.7	-7.4
利托那韦	-7.3	-7.8
利巴韦林	-6.6	-6.5

红景天、薄荷脑、甘草组成。现代药理研究表明^[9-15], 连花清瘟方具有广谱的抗病毒、调节免疫等功效, 对 SARS-CoV 也具有一定的抑制作用。方中大黄提取物、甘草中的甘草酸对 SARS-CoV 的复制具有抑制作用, 甘草酸还能抑制 SARS-CoV 的吸附与穿膜。鱼腥草水提物在抑制 SARS-CoV 3C 样蛋白酶 (3CLpro) 活力的同时, 促进 SARS 感染小鼠脾淋巴细胞增殖、增强免疫功能。板蓝根多糖在提高免疫的同时, 还能对抗 SARS 治疗使用激素所致的免疫抑制作用。上述实验研究也论证了连花清瘟对冠状病毒的治疗作用, 因此探讨其物质基础及作用机制具有积极意义, 也为 COVID-19 的中医药治疗提供参考。

3.1 连花清瘟方通过“多成分-多靶点-多通路”发挥抗冠状病毒作用

在连花清瘟方治疗冠状病毒的核心网络中, 有 100 个作用成分、67 个作用靶点。分子对接验证了度值较高的 12 种活性成分均可与 Mpro 结合, 而 Mpro 抑制剂可有效抑制病毒前体蛋白的切割, 阻断病毒复制。与《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案 (试行)》中推荐的洛匹那韦、利托那韦、

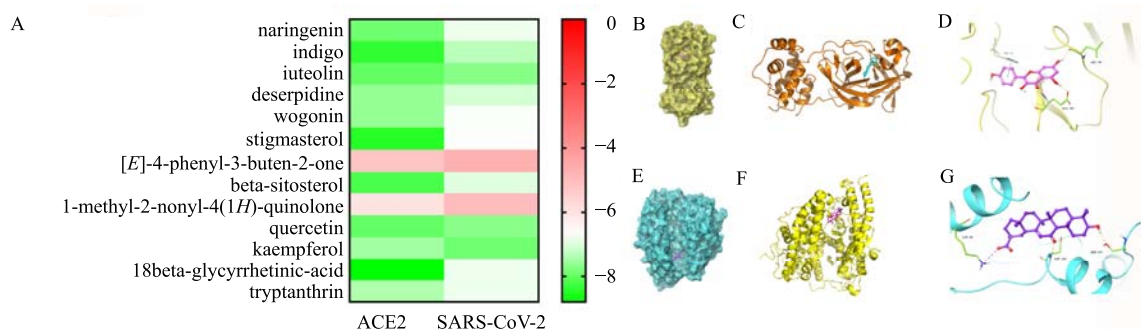


图 6 分子对接热图 (A)、山柰酚与 Mpro 的分子对接模式 (B~D)、甘草次酸与 ACE2 的分子对接模式 (E~G)

Fig. 6 Molecular docking heat map (A), molecular docking diagram of kaempferol and Mpro (B—D), molecular docking diagram of glycyrrhetic acid and ACE2 (E—G)

利巴韦林相比, 山柰酚、槲皮素、木犀草素显示出相似的结合能力。除了直接抑制病毒复制外, 网络药理学中的靶点还富集于炎症、免疫等多条通路, 体现了连花清瘟多成分、多靶点、多途径共同作用的特点。

3.2 连花清瘟方通过“肾素-血管紧张素”途径干预冠状病毒感染

本研究发现, 与肾素-血管紧张素系统相关的靶点有血管紧张素转化酶 (ACE) 和 ACE2, ACE2

作为炎症因子调节蛋白, 通过酪氨酸蛋白磷酸化, 激活丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK), 诱导促炎因子, 导致线粒体功能障碍, 从而损害组织细胞。既往研究发现^[16], ACE2 除了参与 SARS-CoV 的感染与复制外, 还能通过激活 AT1 受体, 增加肺部毛细血管通透性, 导致急性肺损伤和 ARDS 的发生, 可见 ACE2 是 SARS 病理过程中的关键因子。近期研究报道^[17] SARS-CoV-2 感染人体出现多脏器损伤, 其可能的机制是 SARS-CoV-2 结合 ACE2, 下调 ACE2

的表达,使 ACE-Ang II 轴和 ACE2-Ang-(1-7) 轴平衡失调,促炎因子表达升高,诱发炎症风暴,出现全身炎症反应。在网络药理学研究中,连花清瘟方有 5 个成分可作用于 ACE2,主要归属于板蓝根、大黄、鱼腥草和贯众。分子对接显示连花清瘟方中度值较高的活性成分均可与 ACE2 结合,其中甘草次酸、豆甾醇、靛蓝、 β -谷甾醇、木犀草素、槲皮素、柚皮素的结合能力均高于洛匹那韦、利托那韦、利巴韦林,推测连花清瘟可通过靶向 ACE2,干预肾素-血管紧张素系统,从而减轻 COVID-19 的症状。本研究从治疗靶点角度为连花清瘟方治疗的有效性提供了佐证。

3.3 连花清瘟方通过“Ⅰ型干扰素诱导的先天免疫”途径干预冠状病毒感染

本研究中与先天免疫相关的通路包括 TLR、RLR、NLR、JAK-STAT、PI3K-AKT、MAPK、NF- κ B 等,与Ⅰ型干扰素相关的靶点涉及 JAK1、STAT1、MAPK1、CXCL2 等。Ⅰ型干扰素是针对病毒感染先天免疫应答的早期产物,病毒感染被模式识别受体如 TLR 或 RLR 识别后,激活核转录因子- κ B (NF- κ B),诱导Ⅰ型干扰素的表达,与干扰素受体结合后激活 JAK-STAT 通路,上调抗病毒蛋白,可直接抑制病毒复制;还能激活先天免疫,间接清除病毒。而冠状病毒如 SARS 可通过抑制干扰素及相关信号通路,逃逸宿主的免疫应答^[18]。Ⅰ型干扰素的联合疗法在 SARS-CoV 的治疗中取得一定成效^[19],《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第六版)》中也将其列为推荐用药。组方中连翘的活性成分连翘酯苷可通过上调 α 干扰素 (IFN- α) 的表达,正向调节 JAK-STAT 信号通路,发挥免疫调节和抗病毒作用^[20]。这种诱导干扰素生成,激活机体免疫功能,也体现了中医药扶正的思想。

4 结论

综上所述,本研究运用网络药理学和分子对接的方法对连花清瘟方中化学成分、作用靶点以及主要活性成分与 Mpro、ACE2 结合能力进行了探索性研究,从中可以看出连花清瘟方治疗冠状病毒是通过多成分、多靶点、多通路的协同作用来发挥疗效的,为 COVID-19 的中医药治疗提供了理论参考。鉴于现阶段对 SARS-CoV-2 及其感染致病的机制认知还存在不足,同时数据库尚未囊括药物所有的化学成分和靶点,计算化学生物学方法本身也具有一定的局限性,本研究预测的结果还有待于后期的实验验证,为 COVID-19 的中医药治疗提供依据。

参考文献

- [1] Zhu N, Zhang D, Wang W, *et al.* A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019 [J]. *N Engl J Med*, doi: 10.1056/NEJMoa2001017.
- [2] Zhang M M, Liu X M, He L. Effect of integrated traditional Chinese and Western medicine on SARS: A review of clinical evidence [J]. *World J Gastroentero*, 2004, 10(23): 3500-3505.
- [3] 国家卫生健康委员会. 关于印发新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第六版)的通知 [EB/OL]. [2020-02-19]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202002/8334a8326d94d329df351d7da8aefc2.shtml>.2020-02-19.
- [4] Duan Z P, Jia Z H, Zhang J, *et al.* Natural herbal medicine Lianhuaqingwen capsule anti-influenza A (H1N1) trial: A randomized, double blind, positive controlled clinical trial [J]. *Chin Med J*, 2011, 124(18): 2925-2933.
- [5] 吕睿冰, 王文菊, 李欣. 中药连花清瘟治疗新型冠状病毒肺炎疑似病例 63 例临床观察 [J/OL]. 中医杂志, [2020-02-18]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2166.R.20200215.1633.004.html>.
- [6] 姚开涛, 刘明瑜, 李欣, 等. 中药连花清瘟治疗新型冠状病毒感染的肺炎回顾性临床分析 [J/OL]. 中国实验方剂学杂志, [2020-02-18]. <https://doi.org/10.13422/j.cnki.syfjx.20201099>.
- [7] Zhou P, Yang X L, Wang X G, *et al.* A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin [J]. *Nature*, 2020, doi: 10.1038/s41586-020-2012-7.
- [8] 李阳, 高欢, 朱庆均, 等. 甘草化学成分抗病毒活性研究进展 [J]. 山东中医杂志, 2017, 36(2): 167-171.
- [9] 刘春援, 李晓强, 蔡绍乾. 连花清瘟胶囊的药理与临床研究进展 [J]. 中药药理与临床, 2010, 26(6): 84-85.
- [10] 朱舜亚, 李晓蓂, 魏云玲, 等. 三种中药处方对 SARS 相关冠状病毒体外抑制作用的初步研究 [J]. 生物技术通讯, 2003, 23(5): 390-392.
- [11] 刘卫兵. 大黄抗 SARS 病毒有效成分的研究 [D]. 南宁: 广西师范大学, 2006.
- [12] Lau K M, Lee K M, Koon C M, *et al.* Immunomodulatory and anti-SARS activities of *Houttuynia cordata* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2008, 11(8): 79-85.
- [13] Wang Z M, Zhu X X, Cui X L, *et al.* Screening of traditional Chinese remedies for SARS treatment [J]. 中国中药杂志, 2003, 28(6): 484-487.
- [14] Cinatl J, Morgenstern B, Bauer G, *et al.* An active component of liquorice roots, and replication of SARS-associated coronavirus [J]. *Lancet*, 2003, 361(9374): 2045-2046.
- [15] 方建国, 刘云海, 王文清, 等. 板蓝根清热解毒实质研

- 究 [J]. 中草药, 2008, 39(3): 321-324.
- [16] 欧会林, 李兰娟. 肾素血管紧张素系统在新发呼吸系统传染病中的研究进展 [J]. 现代实用医学, 2019, 31(1): 1-3.
- [17] 张 岩, 唐德志, 舒 冰, 等. 基于肾素-血管紧张素系统评析新冠病毒致多脏器损伤作用及中药干预作用 [J/OL]. 世界科学技术—中医药现代化, [2020-02-18]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5699.R.20200216.1533.002.html>.
- [18] Frieman M, Ratia K, Johnston R E, *et al*. Severe acute respiratory syndrome coronavirus papain-like protease ubiquitin like domain and catalytic domain regulate antagonism of IRF3 and NF- κ B signaling [J]. *J Virol*, 2009, 83(13): 6689-6705.
- [19] Zhao, Z. Description and clinical treatment of an early outbreak of severe acute respirator syndrome (SARS) in Guangzhou, PR China [J]. *J Med Microbiol*, 2003, 52(8): 715-720.
- [20] 付鹏亮, 王东强, 李志军. 连翘酯苷药理作用研究进展 [J]. 长春中医药大学学报, 2011, 27(6): 1062-1063.