

基于文献分析和分子对接法探讨化橘红防治新型冠状病毒肺炎（COVID-19）的前景

李沛波, 谌 攀, 吴 灏, 王永刚, 饶鸿宇, 苏薇薇*

中山大学生命科学学院 广东省中药上市后质量与药效再评价工程技术研究中心/广东省热带亚热带植物资源重点实验室, 广东 广州 510275

摘要: **目的** 探讨化橘红防治新型冠状病毒肺炎（COVID-19）的前景, 为化橘红的临床应用提供依据。**方法** 通过文献查阅, 对化橘红及其主要化学成分在祛痰、抗急性肺损伤、抗炎、抗肺纤维化、镇咳、抗氧化、抗肝损伤和抗肾损伤等方面的药理作用进行分析, 并通过中药系统药理学平台（TCMSP）和查阅文献检索化橘红的化学成分, 将各化学成分与血管紧张素转化酶 II（ACE2）、3CL 水解酶（Mpro）、木瓜样蛋白酶（PLP）和树突状细胞特异性细胞间黏附分子-3 结合非整合素因子（DC-SIGN）进行分子对接, 预测其在抑制新型冠状病毒（SARS-CoV-2）病毒感染的潜在活性。**结果** 文献分析结果表明, 化橘红及其主要化学成分具有祛痰、抗急性肺损伤、抗炎、抗肺纤维化、镇咳、抗氧化、抗肝损伤和抗肾损伤等多方面药理活性; 分子对接结果表明, 柚皮苷（naringin）、新橙皮苷（neohesperidin）、野漆树苷（rhoifolin）、枸橼苷（poncirin）和西托糖苷（sitoglucoside）与 ACE2、Mpro、PLP 和 DC-SIGN 均具有较强的结合力, 具有抑制 SARS-CoV-2 病毒感染宿主细胞和自我复制的潜在活性。**结论** 化橘红既具有通过多种药理活性改善 COVID-19 病程进程的潜力, 又可能通过作用于 ACE2、Mpro、PLP 和 DC-SIGN 发挥抑制病毒感染宿主细胞及自我复制的作用。提示化橘红可能对 COVID-19 的防治具有积极作用。

关键词: 化橘红; 新型冠状病毒肺炎; 柚皮苷; 新橙皮苷; 野漆树苷; 枸橼苷; 分子对接

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)09-2368-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.09.011

Discussion and prediction of application prospects of *Citri Grandis Exocarpium* on COVID-19 based on literature analysis and molecular docking

LI Pei-bo, CHEN Pan, WU Hao, WANG Yong-gang, RAO Hong-yu, SU Wei-wei

Guangdong Engineering and Technology Research Center for Quality and Efficacy Re-evaluation of Post-marketed TCM, Guangdong Key Laboratory of Plant Resources, School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China

Abstract: Objective The present study aims to explore the application prospects of *Citri Grandis Exocarpium* for protecting against novel coronavirus pneumonia (COVID-19). **Methods** The pharmacological effects, including expectorant, anti-acute lung injury, anti-inflammatory, anti-pulmonary fibrosis, relieving cough, anti-oxidation, anti-liver injury, anti-kidney injury effects and etc, of both *Citri Grandis Exocarpium* and its main chemical constituents were analyzed through literature review. The constituents of *Citri Grandis Exocarpium* were collected by using traditional Chinese medicine systems pharmacology (TCMSP) database and literature searching. The molecular docking study was performed to evaluate the binding ability between the chemical constituents and angiotensin converting enzyme 2 (ACE2), 3C-like main protease (Mpro), papain-like protease (PLP), and dendritic cell-specific ICAM-3-grabbing nonintegrin (DC-SIGN) to predict its potential activity in inhibiting the infection and replication of SARS-CoV-2 virus. **Results** The literature review indicated that *Citri Grandis Exocarpium* possesses expectorant, anti-acute lung injury, anti-inflammatory, anti-pulmonary fibrosis, relieving cough, anti-oxidation, anti-liver injury, anti-kidney injury effects, and so on. Molecular docking results indicated that naringin, neohesperidin, rhoifolin, poncirin, and sitoglucoside were the main active flavonoids due to showing strong interactions with ACE2, Mpro, PLP and DC-SIGN with potential activity in inhibiting the infection and replication of SARS-CoV-2 virus. **Conclusion** *Citri Grandis Exocarpium* may probably delay the progression of COVID-19 through a variety of pharmacological activities and the inhibition of the infection and replication of SARS-CoV-2 due to targeting ACE2, Mpro, PLP, and DC-SIGN, reminding that *Citri Grandis Exocarpium* may possess a potential capacity to protect against COVID-19.

Key words: *Citri Grandis Exocarpium*; COVID-19; naringin; neohesperidin; rhoifolin; poncirin; molecular docking

收稿日期: 2020-03-21

基金项目: 广东省应用型科技研发专项 (2015B020234004, 2016B020239003); 广东省科技计划项目 (2019B090905002)

作者简介: 李沛波, 副教授, 博士生导师, 研究方向为中药药理学。E-mail: lipb73@126.com

*通信作者 苏薇薇, 教授, 博士生导师, 研究方向为创新药物研究开发。Tel/Fax: (020)84112398 E-mail: lssww@126.com

2019 年底以来,全球多地出现了由新型冠状病毒(Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)引发的新型冠状病毒肺炎(COVID-19),由于该病毒具有传染性强、各类人群普遍易感的特点,目前,疫情迅速蔓延,全球新冠肺炎病例累计超过 200 万,严重威胁着人类的生命健康。2020 年 3 月 11 日,世界卫生组织宣布新冠肺炎疫情从特征上可称为大流行。COVID-19 发病时的症状主要有发热、咳嗽、咳痰、呼吸困难、胸痛、乏力、食欲不振、头痛肌痛、咯血和腹泻等^[1],有些患者还伴有心肌、肝、肾等组织器官的损伤。国家卫生健康委员会、国家中医药管理局印发的《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第六版)》指出,本病属于中医“疫病”范畴,病因为感受“疫疠”之气;且制定了详细的中医药治疗方案。此外,有 20 多个省、自治区和直辖市的相关部门依据本地的实际情况组织专家组也制定了相关中医药诊疗方案,虽然对该疾病各个阶段病机的认识不完全相同,但相当一部分观点认为,此次疫情以“湿”为主要特点,病位主要在肺^[2-3]。

化橘红是芸香科植物化州柚 *Citrus grandis* ‘Tomentosa’ 或柚 *Citrus grandis* (L.) Osbeck 的未成熟或近成熟的干燥外层果皮,性温,味辛、苦,归肺、脾经,具有理气宽中、燥湿化痰之功,用于咳嗽痰多、呕恶痞闷等^[4]。化橘红曾是明清两代宫廷贡品,也是十大广药之一。清代光绪版《化州志》云:“化州橘红治痰症如神,每片真者可值一金”。根据 COVID-19 的主要症状(如咳嗽、咳痰、呼吸困难等)、病因病机和化橘红的传统功效,推测化橘红在某些证型 COVID-19 的防治中可以发挥积极作用。在《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第六版)》中的中医治疗方案中,对于普通型 COVID-19 属于湿毒郁肺证者,推荐的处方中即包括化橘红。

为从现代医学角度充分认识化橘红在 COVID-19 防治方面的作用及其机制,本课题组拟通过文献查阅,对化橘红及其主要化学成分在祛痰、抗急性肺损伤、抗炎、抗肺纤维化、镇咳、抗氧化、抗肝损伤和抗肾损伤等方面的药理作用进行分析,并采用分子对接法,将化橘红化学成分与 SARS-CoV-2 进入宿主细胞及自我复制相关的重要蛋白血管紧张素转化酶 II (ACE2)、3CL 水解酶(Mpro)、木瓜样蛋白酶(PLP)和树突状细胞特异

性细胞间黏附分子-3 结合非整合素因子(DC-SIGN)进行虚拟对接,预测化橘红中化学成分抗 SARS-CoV-2 的活性,为化橘红防治 COVID-19 的提供参考。

1 方法

1.1 文献收集与分析

根据文献报道,化橘红主要含有黄酮、香豆素、挥发油、多糖等成分。其中,黄酮类物质主要为柚皮苷、柚皮素、野漆树苷和新橙皮苷等^[5];香豆素类主要为香豆素和异欧前胡素、橙皮内酯水合物和异橙皮内酯等^[5];挥发油主要为柠檬烯和 β -月桂烯等^[6]。在《中国药典》中化橘红的“含量测定”项下所测成分为柚皮苷^[4]。研究分别以“化橘红”“化州柚”“柚皮苷”“柚皮素”“野漆树苷”“新橙皮苷”“香豆素”“异欧前胡素”“橙皮内酯水合物”“异橙皮内酯”“柠檬烯”和“ β -月桂烯”等为中文关键词,检索中国知网(CNKI)和万方数据库;以英文关键词“*Exocarpium Citri Grandis*”“*Citrus grandis* ‘Tomentosa’”“*Citrus grandis* (L.) Osbeck”“naringin”“naringenin”“rhoifolin”“neohesperdin”“coumarin”“isoimperatorin”“meranzin hydrate”“isomeranzin”“cinene”和“ β -myrcene”检索 Pubmed,详细阅读和分析其中收录的祛痰、抗急性肺损伤、抗炎、抗肺纤维化、镇咳、抗氧化、抗肝损伤和抗肾损伤等药理学研究文献。

1.2 分子对接

据文献报道^[7],SARS-CoV-2 是通过其表达的刺突糖蛋白(S 蛋白)与 ACE2 结合而进入宿主细胞,进而诱发疾病。最新的研究表明,SARS-CoV-2 的 S 蛋白与人体 ACE2 结合的亲和力要远高于 SARS-CoV 的 S 蛋白,这是其传染性强的主要原因^[8]。DC-SIGN 是 C 型凝集素受体的主要成员之一,能够识别病毒糖蛋白的碳链结构,在病毒捕捉、锚定宿主细胞并在人体中大范围繁殖等方面起重要作用;且 DC-SIGN 表达在树突状细胞表面,能够协同 ACE2 受体以 pH 依赖方式将 SARS-CoV 内吞进细胞中,易化病毒进入宿主细胞^[9]。SARS-CoV-2 属于 RNA 病毒,在复制过程中首先需要编码一个多聚前体蛋白,然后再水解产生功能蛋白,该水解过程主要由 Mpro 参与^[10],因此,SARS-CoV-2 的 Mpro 是治疗新冠肺炎的潜在靶点。PLP 是冠状病毒在复制过程中的重要蛋白酶之一^[10]。鉴于此,本研究将化橘红中的化学成分与靶点 ACE2、Mpro、LPL 和 DC-SIGN 进行虚拟对接,预测其在抑

制 SARS-CoV-2 病毒感染和复制方面的活性。

通过中药系统药理学平台 (TCMSP, <http://tcmspw.com/>) 检索和查阅文献, 共得到化橘红成分 50 个 (表 1)。从 PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

表 1 化橘红化学成分

Table 1 Chemical constituents in *Citri Grandis Exocarpium*

序号	成分名称	Pubchem CID	成分归类
1	tangeretin	68077	黄酮
2	nobiletin	72344	黄酮
3	5,7,4'-trimethylapigenin	79730	黄酮
4	sinensetin	145659	黄酮
5	naringenin	439246	黄酮
6	naringin	442428	黄酮
7	4',5,7,8-tetramethoxyflavone	629964	黄酮
8	isosinensetin	632135	黄酮
9	didymin	1149877	黄酮
10	apigenin	5280443	黄酮
11	rhoifolin	5282150	黄酮
12	neohesperdin	24721685	黄酮
13	alysifolinone	42607889	黄酮
14	poncirin	45359875	黄酮
15	pcalmitic acid	985	脂肪酸
16	nconanoic acid	8158	脂肪酸
17	methyl palmitate	8181	脂肪酸
18	myristic acid	11005	脂肪酸
19	pentadecylic acid	13849	脂肪酸
20	methyl linoleate	5284421	脂肪酸
21	cadinene	10657	倍半萜
22	(-)- γ -cadinene	92313	倍半萜
23	(-)-caryophyllene oxide	1742210	倍半萜
24	(Z)-caryophyllene	6429301	倍半萜
25	L-limonen	439250	单萜
26	(R)-linalool	443158	单萜
27	geraniol	637566	单萜
28	neral	643779	单萜
29	cinene	22311	单萜
30	isoimperatorin	12409	香豆素类
31	majudin	2355	香豆素类
32	skimmetin	5281426	香豆素类
33	coumarin	323	香豆素类
34	isomeranzin	473252	香豆素类
35	meranzin hydrate	5070783	香豆素类
36	sitogluside	5742590	甾体皂苷
37	β -sitosterol	222284	甾体皂苷
38	LYC	446925	萜烯
39	β -myrcene	31253	萜烯
40	stachydrine	448301	其他
41	putrescine	1045	其他
42	γ -hexenol	5284503	其他
43	furool	7362	其他
44	catechol	289	其他
45	nicotinic acid	938	其他
46	eugenol	3314	其他
47	nevoli oil	8635	其他
48	anethole	637563	其他
49	citral	638011	其他
50	elemicin	10248	其他

数据库 (nlm.nih.gov) 中下载其化合物结构的 SDF 格式。在 Discovery studio 2016 软件工具栏中的 Minimize Ligands 模块, 点击 Full Minimization, 批量施加 CHARMM 力场优化小分子结构。从 RCSB 蛋白质数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 下载 ACE2 (PDB ID: 1R4L)、Mpro (PDB ID: 6LU7)、LPL (PDB ID: 4OVZ) 和 DC-SIGN (PDB ID: 6GHV) 晶体结构, 在 Discovery studio 2016 软件中删去晶体结构的水分子, 并通过 Prepare Protein 功能补全不完整残基、加氢以及分配相关电荷。ACE2、Mpro、PLP 和 DC-SIGN 蛋白晶体复合结构中的原配体分别为 XX5、N3、P85 和 EZ8, 是相应靶蛋白的抑制剂, 并与靶蛋白有很好的结合活性, 选择各个靶点原配体抑制剂的结合位置作为对接活性口袋。采用 LibDock 模块将小分子和原配体对接到对应的蛋白结构活性口袋中, 对接参数除 Conformation Method 设置为 BEST 以外, 其他参数均选择默认参数, 保留打分较高的对接结果, 并以原配体的对接结果作为参照。

2 结果与分析

2.1 化橘红及其主要化学成分药理作用文献分析

2.1.1 祛痰作用 新冠肺炎患者尸体系统解剖大体观察报告结果显示, 肺部切面可见大量黏稠的分泌物从肺泡内溢出, 气管腔内见白色泡沫状黏液, 右肺支气管腔内见胶冻状黏液附着^[11]。可见, 在新冠肺炎重症患者的肺部有黏蛋白的大量分泌。

清代光绪版《化州志》:“化州橘红治痰症如神”。有诸多现代药理学研究报道了化橘红及其化学成分祛痰作用。Jiang 等^[12]的研究表明, 化橘红 70% 乙醇提取物能明显促进小鼠气道酚红分泌; 李沛波等^[13]的研究表明, 化州柚黄酮提取物能促进小鼠气道酚红的分泌和增加大鼠支气管的排痰量。Chen 等^[14]采用脂多糖 (LPS) 诱导小鼠和 Beagle 犬急性肺损伤模型, 考察了柚皮苷的祛痰作用, 结果表明, 柚皮苷可以抑制气道杯状细胞的增生和黏蛋白 5AC (MUC5AC) 的产生; 进一步的机制研究表明, 柚皮苷抑制黏蛋白的分泌可能与其抑制丝裂原蛋白活化激酶/激活蛋白-1 (MAPKs/AP-1) 和 IKKs/I κ B/核因子 κ B (NF- κ B) 信号通路有关^[15]。Lin 等^[16]的研究结果表明, 柚皮素不仅能增加小鼠气道酚红的分泌量, 还能提高气道纤毛的转运能力和抑制 LPS 诱导体外大鼠气管环黏液的分泌。Yang 等^[17]的研究表明, 柚皮素可以通过调控表皮生长因子受体

(EGFR)-磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)-蛋白激酶 B (Akt)/细胞外信号调节蛋白激酶 (ERK)/MAPK 信号通路抑制人嗜中性细胞弹性蛋白酶诱导气道上皮细胞生成 MUC5AC。Shi 等^[18]的细胞实验结果表明,柚皮素可以增加气道上皮细胞环磷酸腺苷 (cAMP) 含量,进而提高囊性纤维化跨膜传导调节因子 (CFTR) 的表达,促进氯离子分泌,最终增加气道浆液的分泌。可见,化橘红及其主要化学成分柚皮苷和柚皮素既能抑制 MUC5AC 的分泌以降低痰液黏稠度,又能促进浆液的分泌以稀释痰液,还能促进气道纤毛运动,具有显著的祛痰作用。

2.1.2 抗急性肺损伤作用 急性肺损伤 (ALI)/急性呼吸窘迫综合征 (ARDS) 是一种临床常见的危重症,严重威胁重症患者的生命,病死率极高。在新冠肺炎重型和危重型患者中,ALI/ARDS 是导致呼吸衰竭的重要原因之一。

Liu 等^[19]采用 LPS 诱导急性肺损伤小鼠模型研究柚皮苷的作用,结果表明,口服给药柚皮苷能显著减轻肺水肿、肺组织结构损伤和中性粒细胞浸润,抑制肺组织中髓过氧化物酶 (MPO) 和诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 的活性及肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 的分泌。Chen 等^[14,20]的研究表明,柚皮苷既能显著减轻 LPS 诱导急性肺损伤模型犬的肺水肿、肺组织结构损伤和炎性细胞浸润及 TNF- α 和白细胞介素-8 (IL-8) 的产生,又能显著减少百草枯诱导急性肺损伤模型小鼠的死亡,明显抑制小鼠肺部炎性细胞的浸润和 TNF- α 、转化生长因子 β 1 (TGF- β 1) 的产生。Zhao 等^[21]采用 LPS 诱导急性肺损伤小鼠模型研究了柚皮素的作用,结果表明,柚皮素口服给药可以提高模型小鼠生存率,改善肺组织病理学变化,减轻肺水肿和肺血管渗漏,减少中性粒细胞浸润以及降低血清和肺泡灌洗液中 TNF- α 、白细胞介素 1 β (IL-1 β)、白细胞介素 6 (IL-6) 和巨噬细胞炎性蛋白 2 (MIP-2) 的水平,其作用机制可能与抑制 PI3K/AKT 信号通路有关。Fouad 等^[22]采用 LPS 诱导急性肺损伤大鼠模型研究柚皮素的作用,结果表明,柚皮素能显著抑制肺部中性粒细胞募集和 TNF- α 、IL-6 的生成,减轻肺部组织损伤、肺泡壁增厚、间质水肿。可见,化橘红的主要化学成分柚皮苷和柚皮素对 LPS 所致的急性肺损伤具有显著抑制作用。

2.1.3 抗炎作用 炎症风暴 (细胞因子风暴) 是由感染、药物或某些疾病引起的细胞因子与免疫细胞

间的正反馈循环而产生的过度免疫反应。在新冠肺炎由轻症向重症和危重症转变的过程中,炎症风暴发挥了重要作用,重症监护患者的血浆中存在更高水平的白细胞介素 2 (IL-2)、白细胞介素 7 (IL-7)、白细胞介素 10 (IL-10)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF)、干扰素诱导蛋白-10 (IP-10)、单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1)、巨噬细胞炎性蛋白 1 α (MIP-1 α)、IL-6 和 TNF- α ^[23]。

关于化橘红及其化学成分的抗炎作用,有诸多文献报道。有研究表明,化橘红 70%乙醇提取物^[12]和化州橘红多糖^[24]均能抑制二甲苯所致小鼠耳廓肿胀,具有明显抗炎作用。化橘红多糖也对慢性咽炎患者和实验性慢性咽炎模型兔的炎症反应均具有显著抗炎作用^[25]。化橘红总黄酮能通过调控 MAPK 和 NF- κ B 信号通路抑制 LPS 诱导 RAW264.7 细胞产生 TNF- α 、白细胞介素 1 β (IL-1 β) 和 IL-6^[26]。谢仁峰等^[27]采用二甲苯导致急性耳肿胀和腹腔毛细血管通透性实验模型,观察柚皮苷的抗炎作用,结果显示,柚皮苷有显著抗炎作用,其机制可能与抑制了炎性组织前列腺素 E2 (PGE2) 的合成或释放有关。Kanno 等^[28]的研究表明,柚皮苷能显著减少 LPS 诱导的内毒素休克小鼠的死亡,能显著降低 LPS 诱导 RAW 264.7 细胞的 iNOS、TNF- α 、环氧化酶 2 (COX-2) 和 IL-6 的 mRNA 表达。Kawaguchi 等^[29]的研究表明,柚皮苷对沙门氏菌感染的内毒素休克模型小鼠具有显著保护作用,能降低小鼠死亡率,抑制 TNF- α 的产生。Gil 等^[30]的研究表明,柚皮苷能显著抑制盲肠结扎穿孔术诱导的脓毒症小鼠肺部炎症及 LPS 诱导 RAW 264.7 细胞产生 TNF- α 和高迁移率族蛋白 B1 (HMGB1)。Liu 等^[31]的研究结果表明,柚皮苷能抑制 LPS 诱导 RAW264.7 细胞释放 IL-8、MCP-1 和 MIP-1 α ,其机制可能与抑制 NF- κ B 和 MAPK 信号通路的激活有关。另有研究表明,柚皮苷能显著抑制慢性烟熏诱导的大鼠^[32]和豚鼠^[33]呼吸系统慢性炎症。吴文伟等^[34]发现柚皮素能显著降低金黄色葡萄球菌肺炎模型小鼠的肺组织 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 水平。Jin 等^[35]的研究结果表明,柚皮素能抑制 LPS 诱导 RAW 264.7 细胞和 T 细胞释放 TNF- α 和 IL-6,其机制与调控细胞溶酶体功能以促进细胞因子在胞内的降解有关。Liu 等^[36]则发现柚皮素可以通过转录激活因子 3 (ATF3)-信号传导转录激活因子 3 (STAT3) 依赖负调控 LPS/Toll 样受体 4 (TLR4) 信号通路以保护内毒素

血症小鼠及抑制 LPS 诱导 RAW 264.7 细胞产生 TNF- α 、IL-6、TLR4、iNOS、COX2 和 NADPH 氧化酶 2 (NOX2) 等。Yu 等^[37]采用 LPS 诱导支气管上皮细胞炎症损伤的体外模型,研究了柚皮素的抗炎作用,结果表明,柚皮素可通过抑制 MAPK 和 NF- κ B 信号通路减少 TNF- α 和 IL-6 的产生。另有研究表明,柚皮素对 LPS 诱导小胶质细胞^[38]、心肌细胞^[39]、神经细胞^[40]的炎症反应具有抑制作用。此外,宋小欣等^[41]的研究显示,野漆树苷可以抑制 LPS 所致的 RAW264.7 细胞炎症反应,减少一氧化氮(NO)分泌,抑制 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的 mRNA 表达,抑制 c-Jun 氨基末端激酶(JNK)/应激活化蛋白激酶(SAPK)及 ERK 信号通路可能是其抗炎作用机制之一;de Souza 等^[42]的研究表明,柠檬烯能抑制乙醇诱导的胃溃疡大鼠胃组织中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平的升高,减少胃溃疡面积。综上所述,化橘红及其多个化学成分均具有抗炎作用。

2.1.4 镇咳作用 咳嗽是新冠肺炎发病时的主要症状之一。在临床上,化橘红可以用于寒咳和湿咳。现代药理学研究表明,化橘红及其多种化学成分对实验性咳嗽动物模型具有显著镇咳作用。Jiang 等^[12]的研究表明,化橘红 70%乙醇提取物对氨水诱导的小鼠咳嗽具有显著抑制作用;李沛波课题组的多项研究表明,化州柚黄酮提取物^[43]和柚皮苷^[44]均能显著抑制辣椒素所致的豚鼠咳嗽,且其止咳方式不是中枢性镇咳;柚皮素对氨水所致小鼠咳嗽也具有抑制作用^[45],此外,也有研究表明,Meliditin 对枸橼酸所致豚鼠咳嗽具有抑制作用^[46]。

2.1.5 抗肺纤维化作用 肺纤维化是一种以肺泡上皮细胞损伤和异常增殖、细胞外基质沉积及成纤维细胞增殖和活化病理特征的肺部疾病,由于其可导致肺部结构破坏和呼吸功能的丧失,因此,肺纤维化预后差。严重的呼吸道病毒性肺炎(如 SARS、新冠肺炎)有较高的可能性发生肺纤维化。郭兆娟等^[47]采用博来霉素气管滴入法建立肺纤维化大鼠模型,考察化橘红水煎液的作用,结果表明,化橘红水煎液能通过抑制肺纤维化大鼠碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)表达和促进血小板第 4 因子(PF4)表达而抑制血管新生,进而抑制特发性肺纤维化的进程。Turgut 等^[48]同样采用博来霉素所致的肺纤维化大鼠模型,考察柚皮苷口服给药的作用,结果表明,柚皮苷能显著降低肺纤维化大鼠肺部 TNF- α 、

IL-1 β 、羟脯氨酸(HYP)和丙二醛(MDA)的水平,增加谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和超氧化物歧化酶(SOD)活性,减轻肺组织炎性细胞浸润、胶原沉积和病理损伤程度,发挥抗肺纤维化作用。Chen 等^[20]的研究表明,柚皮苷能显著降低百草枯诱导的肺纤维化模型小鼠肺组织中 TNF- α 、TGF- β 1、基质金属蛋白酶(MMP-9)、组织金属蛋白酶抑制因子-1(TIMP-1)、HYP 和 MDA 的含量,并显著提高抗氧化酶 SOD、GSH-Px 和血红素加氧酶 1(HO-1)的活性,提示柚皮苷对百草枯诱导的小鼠肺纤维化具有抑制作用。

2.1.6 抗氧化作用 氧化应激反应在多种肺炎的发生、发展中起着重要作用。大多数病毒感染会引发细胞氧化应激的产生。大剂量维生素 C 治疗新冠肺炎临床试验,已在美国临床试验网站上登记^[49]。化橘红及其化学成分的抗氧化作用有诸多报道。化橘红多糖具有体外清除 1,1-二苯基苦基苯肼(DPPH)自由基、羟基自由基、超氧阴离子自由基的能力^[50]和提高环磷酰胺所致免疫损伤小鼠脾脏中 SOD 和谷胱甘肽(GSH)的活力及降低血清中 MDA 含量的作用^[51]。Zhu 等^[52]的研究表明,化橘红总黄酮能显著抑制 PM2.5 所致的小鼠肺部 MDA 和 NO 含量增加、GSH-Px 活性及 GSH/氧化型谷胱甘肽(GSSG)降低,具有抗氧化损伤的作用。有体外实验研究表明,柚皮苷具有显著的羟基自由基、超氧阴离子自由基和 DPPH 清除活性^[53-54]。而柚皮素的显著抗氧化活性被认为是其发挥防治心血管疾病、糖尿病、神经退行性疾病、呼吸系统疾病、癌症、肾病的重要机制之一^[55]。此外,Bacanli 等^[56]采用 TEAC 法研究了柠檬烯的作用,结果表明,浓度范围为 2~2 000 μ mol/L 的柠檬烯具有显著体外抗氧化活性。

2.1.7 其他 在临床上,有大量 COVID-19 患者会表现呼吸系统症状外的其他脏器受损的现象。汪姝惠等^[57]对 333 例的病历资料进行回顾性分析,结果表明,39.6%(132/333)的 COVID-19 患者出现肝损伤;Huang 等^[23]的文章表明,部分 COVID-19 感染者存在急性心肌损伤和肾损害。有大量研究显示,柚皮苷可以通过抑制氧化应激、阻止肝星状细胞的转分化、抑制 MAPK、TLR 和 TGF- β 信号通路等发挥保护肝脏的作用^[58],包括抑制药物和化学毒素所致的肝毒性^[59]。另有动物实验研究表明,柚皮苷对甘油诱发的急性大鼠肾衰竭^[60]、次氨基三乙酸铁

所致的大鼠氧化性肾损伤^[61]、败血症诱导的大鼠急性肾损伤^[62]均具有保护作用；柚皮素对阿霉素诱导的大鼠肾组织毒性^[63]、糖尿病肾病大鼠肾损害^[64]、四氯化碳诱导的小鼠急性肾毒性^[65]都有显著的抑制作用。此外，有文献报道，柚皮苷对阿霉素诱导的大鼠急性心脏毒性^[66]、脂多糖诱导的小鼠心肌损伤^[67]、异丙肾上腺素诱发的大鼠心肌梗塞均具有抑制作用^[68]；柚皮素对心肌缺血再灌注诱导的大鼠心肌损伤^[69]和阿霉素诱导的大鼠心脏毒性^[70]也有抑制作用。可见，化橘红中的主要黄酮类化合物柚皮苷、柚皮素对心肌、肝、肾损害具有保护作用。

2.2 分子对接结果分析

化橘红成分与各靶点对接打分前 10 位的结果表 2。化橘红中的成分与 ACE2 的对接结果表

明，新橙皮苷（neohesperdin）、柚皮苷（naringin）和枸橼苷（poncirin）的打分最高，且均高于原配体（XX5）的打分；与 Mpro 的对接结果表明，野漆树苷（rhoifolin）、枸橼苷和新橙皮苷的打分最高；与 PLP 的对接结果表明，柚皮苷、野漆树苷和枸橼苷的打分最高；与 DC-SIGN 的对接结果表明，枸橼苷、柚皮苷和新橙皮苷的打分最高。部分代表性活性成分与靶蛋白的相互作用见图 1、2。对各成分与各靶点对接结果进行聚类分析的结果显示，柚皮苷、新橙皮苷、野漆树苷、枸橼苷和西托糖苷（sitogluside）与 ACE2、MPro、PLP 和 DC-SIGN 均具有较强的结合力，是最主要的 5 个活性成分（图 3），提示其具有抑制 SARS-CoV-2 病毒感染宿主细胞和自我复制的潜在活性。

表 2 成分与各靶点对接打分前 10 位的结果

Table 2 Top 10 docking results of chemical constituents and targets

成分	ACE2	成分	Mpro	成分	PLP	成分	DC-SIGN
XX5	140.1	N3	206.8	P8592	175.1	EZ8	172.4
neohesperdin	180.9	rhoifolin	198.8	naringin	179.2	poncirin	168.5
naringin	177.9	poncirin	179.6	rhoifolin	170.2	naringin	166.1
poncirin	175.8	neohesperdin	178.4	poncirin	165.3	neohesperdin	159.7
rhoifolin	174.3	naringin	173.8	neohesperdin	165.0	sitogluside	158.7
sitogluside	167.6	sitogluside	145.6	sitogluside	145.7	rhoifolin	151.2
β -sitosterol	133.5	β -sitosterol	133.4	β -sitosterol	140.4	methyl linoleate	118.8
sinensetin	119.3	alysifolinone	126.9	methyl linoleate	131.6	pcalmitic acid	114.0
isosinensetin	118.7	methyl linoleate	123.4	didymin	129.4	5,7,4'-trimethylapigenin	110.5
alysifolinone	116.9	5,7,4'-trimethylapigenin	122.8	meranzin hydrate	128.8	alysifolinone	107.1
methyl linoleate	114.6	4',5,7,8-tetramethoxyflavone	122.8	palmitic acid	124.6	myristic acid	105.7

XX5-N-[(1s)-1-carboxy-3-methylbutyl]-3-(3,5-dichlorobenzyl)-l-histidine N3-benzyl (E,4S)-4-[(2S)-4-methyl-2-[(2S)-3-methyl-2-[(2S)-2-[(5-methyl-1,2-oxazole-3-carbonyl) amino] propanoyl] amino] butanoyl] amino] pentanoyl] amino]-5-[(3S)-2-oxopyrrolidin-3-yl] pent-2-enoate P85-N-[(4-fluorophenyl) methyl]-1-[(1 γ)-1-naphthalen-1-ylethyl] piperidine-4-carboxamide EZ8-(1S,2S,4S,5S)-4-[(2S,3S,4R,5S,6R)-3-[4-(aminomethyl) triazol-1-yl]-4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl) oxan-2-yl] oxy-5-(2-chloroethoxy)-1-N,2-N-bis [[4-(hydroxymethyl) phenyl] methyl] cyclohexane-1,2-dicarboxamide

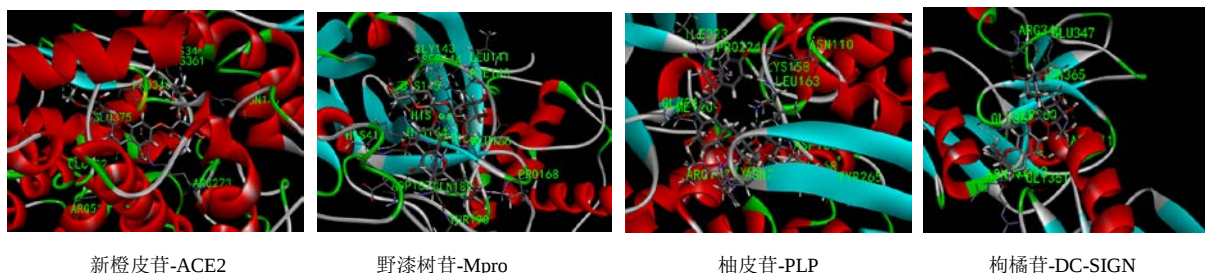


图 1 代表性活性成分与 ACE2、MPro、PLP 和 DC-SIGN 分子相互作用三维图

Fig. 1 3D diagram of interaction of representative chemical constituents with ACE2, MPro, PLP and DC-SIGN

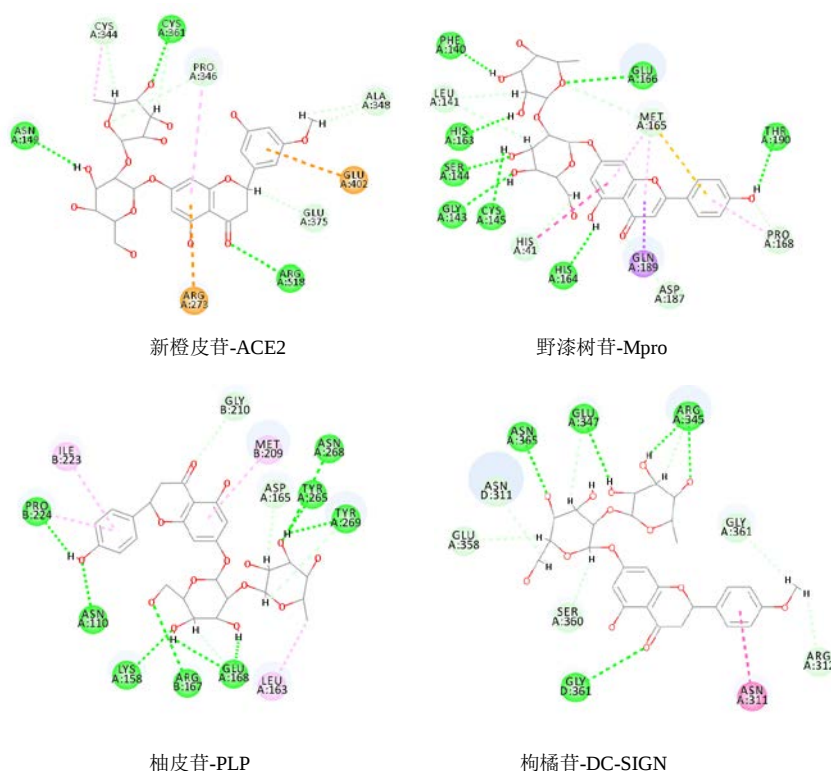


图 2 代表性活性成分与 ACE2、MPro、PLP 和 DC-SIGN 分子相互作用二维图

Fig. 2 2D diagram of interaction of representative chemical constituents with ACE2, MPro, PLP and DC-SIGN

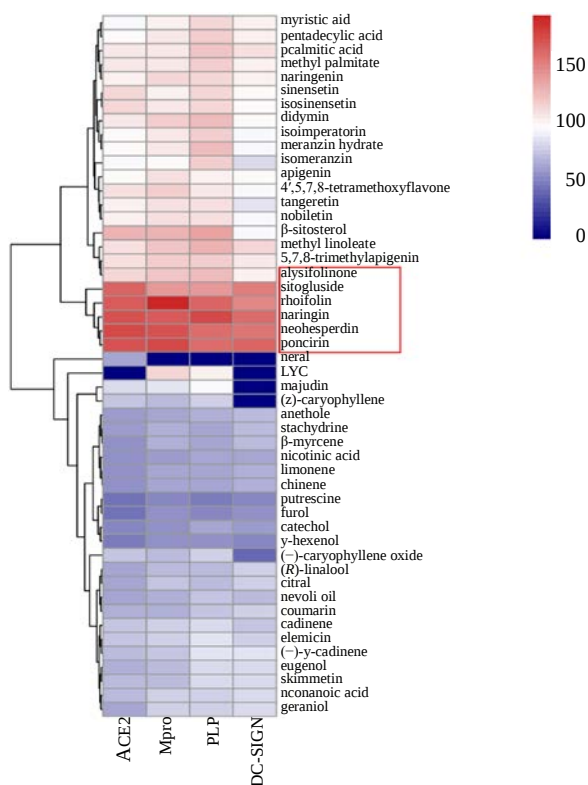


图 3 化橘红成分与各靶点对接结果聚类分析

Fig. 3 Heatmap of hierarchical clustering analysis of docking results between chemical constituents and each protein target

3 讨论

SARS-CoV-2 在全球的广泛传播和 COVID-19 的爆发, 严重威胁着人类的健康。目前, 全世界尚无特效的疫苗和治疗药物。从《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第七版)》可以看出, COVID-19 的病理改变主要在肺部, 但是累及多个器官; 主要症状有发热、干咳、乏力, 严重者可快速进展为急性呼吸窘迫综合征、脓毒症休克及多器官功能衰竭。

通过对化橘红及其主要化学成分的药理作用文献进行查阅和分析, 发现化橘红及其主要化学成分尤其是柚皮苷、柚皮素具有祛痰、抗急性肺损伤、抗炎等多方面药理活性。在祛痰方面, 《本草从新》记载: “化州陈皮消痰甚灵”; 现代药理学研究显示, 化橘红中的柚皮苷、柚皮素能显著抑制气道 MUC5AC 的生成, 并能促进浆液分泌, 提示其对 COVID-19 患者肺部黏稠痰液的形成可能具有抑制作用。有研究显示, IL-6 水平在重症患者中较高, COVID-19 循环中的 IL-6 可以独立预测 COVID-19 的病程进程和预后^[71]。目前, 已有临床试验(ChiCTR2000029765)正在开展评估 IL-6 受体阻断剂托珠单抗在 COVID-19 中的有效

性和安全性^[72]。《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第七版)》中对于重型患者且实验室检测IL-6水平升高者,推荐试用托珠单抗治疗。多个细胞和动物模型的研究显示,化橘红及其主要化学成分能显著抑制IL-6、TNF- α 、IL-1 β 的产生,对肺部炎症及炎症风暴的控制可能具有积极的辅助防治作用。此外,化橘红及其主要化学成分还具有抑制心肌损伤、肝肾损害、肺纤维化、氧化应激等活性。提示化橘红在新冠肺炎的防治中,可以发挥积极的作用。

ACE2、MPro、PLP和DC-SIGN是SARS-CoV-2感染宿主细胞或自我复制的关键蛋白,被认为是抗SARS-CoV-2药物筛选的重要靶点。本研究表明,化橘红中柚皮苷、新橙皮苷、野漆树苷、枸橼苷和西托糖苷与这些潜在的靶点蛋白有较强的结合力,在抑制SARS-CoV-2感染宿主细胞或自我复制方面可能具有潜在活性。有研究表明^[73],柚皮素能通过干扰病毒的复制或病毒颗粒的组装来抑制齐卡病毒感染A549细胞和原代人单核细胞来源的树突状细胞。Frabasile等^[74]的研究表明,柚皮素能抑制登革热病毒在Huh7.5细胞和原代人单核细胞中的复制。

综上所述,本研究基于文献分析和分子对接研究,认为化橘红有可能通过其祛痰、抗急性肺损伤、抗炎、抗肺纤维化、镇咳、抗氧化、抗肝损伤、抗肾损伤和抗SARS-CoV-2等多种药理活性发挥防治COVID-19的作用。本研究为开展化橘红抗COVID-19的进一步药效和临床疗效试验研究以及相关新药的研发提供了科学依据。

参考文献

- [1] 中华预防医学会新型冠状病毒肺炎防控专家组. 新型冠状病毒肺炎流行病学特征的最新认识 [J]. 中华流行病学杂志, 2020, 41(2): 139-144.
- [2] 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]. 中医杂志, 2020(4): 286-288.
- [3] 仝小林, 李修洋, 赵林华, 等. 从“寒湿疫”角度探讨新型冠状病毒肺炎的中医药防治策略 [J]. 中医杂志, 2020(6): 465-470.
- [4] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [5] Li P L, Liu M H, Hu J H, et al. Systematic chemical profiling of *Citrus grandis* 'Tomentosa' by ultra-fast liquid chromatography/diode-array detector/quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2014, 90: 167-179.

- [6] 王晓峰, 陈德斌, 刘美, 等. 利用GC-MS法测定不同产地化橘红的挥发油成分 [J]. 大众科技, 2019, 21(10): 32-34.
- [7] Xu X T, Chen P, Wang J F, 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 China Life Sci*, 2020, 63(3): 457-460.
- [8] Wrapp D, Wang N, Corbett K S, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation [J]. *Science*, 2020, 367(6483): 1260-1263.
- [9] Cai G S, Cui X, Zhu X, et al. A hint on the COVID-19 risk: Population disparities in gene expression of three receptors of SARS-CoV [J]. *Preprints*, 2020, doi: 10.20944/preprints202002.0408.v1.
- [10] Chen Y W, Yiu C B, Wong K Y. Prediction of the SARS-CoV-2 (2019-nCoV) 3C-like protease (3CL pro) structure: virtual screening reveals velpatasvir, ledipasvir, and other drug repurposing candidates [J]. *F1000Res*, 2020, 9: 129-135.
- [11] 刘茜, 王荣帅, 屈国强, 等. 新型冠状病毒肺炎死亡尸体系统解剖大体观察报告 [J]. 法医学杂志, 2020, 36(1): 19-21.
- [12] Jiang K, Song Q, Wang L, et al. Antitussive, expectorant and anti-inflammatory activities of different extracts from *Exocarpium Citri grandis* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 156: 97-101.
- [13] 李沛波, 马燕, 王永刚, 等. 化州柚提取物止咳化痰平喘作用的实验研究 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(16): 1350-1352.
- [14] Chen Y, Wu H, Nie Y C, et al. Mucoactive effects of naringin in lipopolysaccharide-induced acute lung injury mice and beagle dogs [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2014, 38(1): 279-287.
- [15] Nie Y C, Wu H, Li P B, et al. Naringin attenuates EGF-induced MUC5AC secretion in A549 cells by suppressing the cooperative activities of MAPKs-AP-1 and IKKs-I κ B-NF- κ B signaling pathways [J]. *Eur J Pharmacol*, 2012, 690: 207-213.
- [16] Lin B Q, Li P B, Wang Y G, et al. The expectorant activity of naringenin [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2008, 21(2): 259-263.
- [17] Yang J, Li Q, Zhou X D, et al. Naringenin attenuates mucous hypersecretion by modulating reactive oxygen species production and inhibiting NF- κ B activity via EGFR-PI3K-Akt/ERK MAPK signaling in human airway epithelial cells [J]. *Mol Cell Biochem*, 2011, 351: 29-40.

- [18] Shi R, Xiao Z T, Zheng Y J, *et al.* Naringenin regulates CFTR activation and expression in airway epithelial cells [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 44(3): 1146-1160.
- [19] Liu Y, Wu H, Nie Y C, *et al.* Naringin attenuates acute lung injury in LPS-treated mice by inhibiting NF- κ B pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2011, 11(10): 1606-1612.
- [20] Chen Y, Nie Y C, Luo Y L, *et al.* Protective effects of naringin against paraquat-induced acute lung injury and pulmonary fibrosis in mice [J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 58: 133-140.
- [21] Zhao M H, Li C, Shen F J, *et al.* Naringenin ameliorates LPS-induced acute lung injury through its anti-oxidative and anti-inflammatory activity and by inhibition of the PI3K/AKT pathway [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(3): 2228-2234.
- [22] Fouad A A, Albuali W H, Jresat I. Protective effect of naringenin against lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats [J]. *Pharmacology*, 2016, 97(5/6): 224-232.
- [23] Huang C, Wang Y, Wang X, *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China [J]. *Lancet*, 2020, 395(10223): 497-506.
- [24] 侯秀娟, 沈勇根, 徐明生, 等. 化州橘红多糖对小鼠消炎、止咳及化痰功效的影响研究 [J]. *现代食品科技*, 2013, 29(6): 1227-1229.
- [25] Chen L Y, Lai Y F, Dong L, *et al.* Polysaccharides from *Citrus grandis* L. Osbeck suppress inflammation and relieve chronic pharyngitis [J]. *Microb Pathog*, 2017, 113: 365-371.
- [26] Peng Y, Hu M, Lu Q, *et al.* Flavonoids derived from *Exocarpium Citri Grandis* inhibit LPS-induced inflammatory response via suppressing MAPK and NF- κ B signalling pathways [J]. *Food Agr Immunol*, 2019, 30(1): 564-580.
- [27] 谢仁峰, 文双娥, 李 洋, 等. 柚皮苷抗炎镇痛作用的实验研究 [J]. *湖南师范大学学报: 医学版*, 2011, 8(4): 5-8.
- [28] Kanno S, Shouji A, Tomizawa A, *et al.* Inhibitory effect of naringin on lipopolysaccharide (LPS)-induced endotoxin shock in mice and nitric oxide production in RAW 264. 7 macrophages [J]. *Life Sci*, 2006, 78(7): 673-681.
- [29] Kawaguchi K, Kikuchi S, Hasunuma R, *et al.* Suppression of infection-induced endotoxin shock in mice by a citrus flavanone naringin [J]. *Planta Med*, 2004, 70(1): 17-22.
- [30] Gil M, Kim Y K, Hong S B, *et al.* Naringin decreases TNF- α and HMGB1 release from LPS-stimulated macrophages and improves survival in a CLP-Induced sepsis mice [J]. *PLoS One*, 2016, 11(10): e0164186.
- [31] Liu Y, Su W W, Wang S, *et al.* Naringin inhibits chemokine production in a macrophage cell line RAW264.7 through NF- κ B-dependent mechanism [J]. *Mol Med Rep*, 2012, 6: 1343-1350.
- [32] Nie Y C, Wu H, Li P B, *et al.* Anti-inflammatory effects of naringin in chronic pulmonary neutrophilic inflammation in cigarette smoke-exposed rats [J]. *J Med Food*, 2012, 15(10): 894-900.
- [33] Luo Y L, Zhang C C, Li P B, *et al.* Naringin attenuates enhanced cough, airway hyperresponsiveness and airway inflammation in a guinea pig model of chronic bronchitis induced by cigarette smoke [J]. *Int Immunopharmacol*, 2012, 13(3): 301-307.
- [34] 吴文伟, 郑世翔, 翁钦永, 等. 柚皮素缓解小鼠金黄色葡萄球菌肺炎的损伤作用及其机制 [J]. *中国老年学杂志*, 2015, 35(14): 3849-3850.
- [35] Jin L T, Zeng W F, Zhang F Y, *et al.* Naringenin ameliorates acute inflammation by regulating intracellular cytokine degradation [J]. *J Immunol*, 2017, 199(10): 3466-3477.
- [36] Liu X, Wang N, Fan S J, *et al.* The citrus flavonoid naringenin confers protection in a murine endotoxaemia model through AMPK-ATF3-dependent negative regulation of the TLR4 signalling pathway [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 39735.
- [37] Yu D H, Ma C H, Yue Z Q, *et al.* Protective effect of naringenin against lipopolysaccharide-induced injury in normal human bronchial epithelium via suppression of MAPK signaling [J]. *Inflammation*, 2015, 38(1): 195-204.
- [38] Zhang B, Wei Y Z, Wang G Q, *et al.* Targeting MAPK pathways by naringenin modulates microglia M1/M2 polarization in lipopolysaccharide-stimulated cultures [J]. *Front Cell Neurosci*, 2019, 12: 531-539.
- [39] Sun L J, Qiao W, Xiao Y J, *et al.* Naringin mitigates myocardial strain and the inflammatory response in sepsis-induced myocardial dysfunction through regulation of PI3K/AKT/NF- κ B pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 75: 105782.
- [40] Wang H, Xu Y S, Wang M L, *et al.* Protective effect of naringin against the LPS-induced apoptosis of PC12 cells: Implications for the treatment of neurodegenerative disorders [J]. *Int J Mol Med*, 2017, 39(4): 819-830.
- [41] 宋小欣, 韩 凌, 李宇邦, 等. 野漆树苷对 LPS 诱导的

- RAW264. 7 细胞的抗炎作用及机制探究 [J]. 河南师范大学学报: 自然科学版, 2018, 46(2): 84-88.
- [42] de Souza M C, Vieira A J, Beserra F P, *et al.* Gastroprotective effect of limonene in rats: Influence on oxidative stress, inflammation and gene expression [J]. *Phytomedicine*, 2019, 53: 37-42.
- [43] 李沛波, 苏 畅, 毕福均, 等. 化州柚提取物止咳作用及其机制的研究 [J]. 中草药, 2008, 39(2): 93-96.
- [44] Gao S, Li P B, Yang H L, *et al.* Antitussive effect of naringin on experimentally induced cough in Guinea pigs [J]. *Planta Med*, 2011, 77(1): 16-21.
- [45] 陈欲云, 马清萍, 王 涛, 等. 柚皮素止咳化痰平喘作用的研究 [J]. 食品工业科技, 2014, 35(19): 355-358.
- [46] Zou W, Wang Y G, Liu H B, *et al.* Melitidin: a flavanone glycoside from *Citrus grandis* 'Tomentosa' [J]. *Nat Prod Commun*, 2013, 8(4): 457-458.
- [47] 郭兆娟, 孔李婷, 袁一平, 等. 化橘红对特发性肺纤维化大鼠血管新生的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(10): 497-500.
- [48] Turgut N H, Kara H, Elagoz S, *et al.* The protective effect of naringin against bleomycin-induced pulmonary fibrosis in Wistar rats [J]. *Pulm Med*, 2016, 2016: 7601393.
- [49] Vitamin C infusion for the treatment of severe 2019-nCoV infected pneumonia [EB/OL]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04264533?cond=vitamin+C&draw=2&rank=6>.
- [50] 姚乐辉. 化橘红多糖抗氧化能力及抗疲劳作用的研究 [J]. 粮食与油脂, 2019, 32(4): 95-100.
- [51] 吕安雯, 张雅男, 舒尊鹏, 等. 化橘红多糖对环磷酰胺所致免疫损伤小鼠脾脏抗氧化能力的影响 [J]. 化学工程师, 2018, 32(12): 79-81.
- [52] Zhu Z T, Wu H, Su W W, *et al.* Effects of total flavonoids from *Exocarpium Citri Grandis* on air pollution particle-induced pulmonary inflammation and oxidative stress in mice [J]. *J Food Sci*, 2019, 84(12): 3843-3849.
- [53] El-Desoky A H, Abdel-Rahman R F, Ahmed O K, *et al.* Anti-inflammatory and antioxidant activities of naringin isolated from *Carissa carandas* L.: *In vitro* and *in vivo* evidence [J]. *Phytomedicine*, 2018, 42: 126-134.
- [54] Cavia-Saiz M, Busto M D, Pilar-Izquierdo M C, *et al.* Antioxidant properties, radical scavenging activity and biomolecule protection capacity of flavonoid naringenin and its glycoside naringin: A comparative study [J]. *J Sci Food Agric*, 2010, 90(7): 1238-1244.
- [55] Zaidun N H, Thent Z C, Latiff A A. Combating oxidative stress disorders with citrus flavonoid: Naringenin [J]. *Life Sci*, 2018, 208: 111-122.
- [56] Bacanlı M, Başaran A A, Başaran N. The antioxidant and antigenotoxic properties of citrus phenolics limonene and naringin [J]. *Food Chem Toxicol*, 2015, 81: 160-170.
- [57] 汪姝惠, 韩 平, 肖 芳, 等. 新型冠状病毒肺炎住院患者 333 例的肝损伤表现 [J]. 中华消化杂志, 2020, 40(3): 157-161.
- [58] Hernández-Aquino E, Muriel P. Beneficial effects of naringenin in liver diseases: Molecular mechanisms [J]. *World J Gastroentero*, 2018, 24(16): 1679-1707.
- [59] Shirani K, Yousefsani B S, Shirani M, *et al.* Protective effects of naringin against drugs and chemical toxins induced hepatotoxicity: A review [J]. *Phytother Res*, 2020, doi: 10.1002/ptr.6641.
- [60] Singh D, Chander V, Chopra K. Protective effect of naringin, a bioflavonoid on glycerol-induced acute renal failure in rat kidney [J]. *Toxicology*, 2004, 201(1/3): 143-151.
- [61] Singh D, Chander V, Chopra K. Protective effect of naringin, a bioflavonoid on ferric nitrilotriacetate-induced oxidative renal damage in rat kidney [J]. *Toxicology*, 2004, 201(1/3): 1-8.
- [62] Mu L, Hu G X, Liu J, *et al.* Protective effects of naringenin in a rat model of sepsis-triggered acute kidney injury via activation of antioxidant enzymes and reduction in urinary angiotensinogen [J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25: 5986-5991.
- [63] Khan T H, Ganaie M A, Alharthy K M, *et al.* Naringenin prevents doxorubicin-induced toxicity in kidney tissues by regulating the oxidative and inflammatory insult in Wistar rats [J]. *Arch Physiol Biochem*, 2018, doi: 10.1080/13813455.2018.1529799.
- [64] Yan N, Wen L, Peng R, *et al.* Naringenin ameliorated kidney injury through Let-7a/TGFBR1 Signaling in diabetic nephropathy [J]. *J Diabetes Res*, 2016, 2016: 8738760.
- [65] Hermenean A, Ardelean A, Stan M, *et al.* Protective effects of naringenin on carbon tetrachloride-induced acute nephrotoxicity in mouse kidney [J]. *Chem Biol Interact*, 2013, 205(2): 138-147.
- [66] Kwatra M, Kumar V, Jangra A, *et al.* Ameliorative effect of naringin against doxorubicin-induced acute cardiac toxicity in rats [J]. *Pharm Biol*, 2016, 54(4): 637-647.
- [67] Xianchu L, Lan P Z, Qiufang L, *et al.* Naringin protects against lipopolysaccharide-induced cardiac injury in mice [J]. *Environ Toxicol Phar*, 2016, 48: 1-6.
- [68] Rajadurai M, Stanely M P P. Preventive effect of naringin on cardiac markers, electrocardiographic patterns and

- lysosomal hydrolases in normal and isoproterenol-induced myocardial infarction in wistar rats [J]. *Toxicology*, 2007, 230(2/3): 178-188.
- [69] Yu L M, Dong X, Xue X D, *et al.* Naringenin improves mitochondrial function and reduces cardiac damage following ischemia-reperfusion injury: The role of the AMPK-SIRT3 signaling pathway [J]. *Food Funct*, 2019, 10(5): 2752-2765.
- [70] Arafa H M, Abd-Ellah M F, Hafez H F. Abatement by naringenin of doxorubicin-induced cardiac toxicity in rats [J]. *J Egypt Natl Canc Inst*, 2005, 17(4): 291-300.
- [71] Chen X, Zhao B, Qu Y, *et al.* Detectable serum SARS-CoV-2 viral load (RNAemia) is closely correlated with drastically elevated interleukin 6 (IL-6) level in critically ill COVID-19 patients [J]. *Clin Infect Dis*, 2020, doi: 10.1093/cid/ciaa449.
- [72] 托珠单抗在新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 中的有效性及安全性的多中心、随机对照 [EB/OL]. 临床研究, 2020-0-03 <http://www.chictr.org.cn/showproj.aspx?proj=49409>.
- [73] Cataneo A H D, Kuczera D, Koishi A C, *et al.* The citrus flavonoid naringenin impairs the *in vitro* infection of human cells by Zika virus [J]. *Sci Rep*, 2019, 9: 16348.
- [74] Frabasile S, Koishi A C, Kuczera D, *et al.* The citrus flavanone naringenin impairs dengue virus replication in human cells [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 41864.