

银翘解毒软胶囊体外抑制人冠状病毒 229E 及其介导的炎症的研究

刘振海^{1,2}, 杨春光³, 雷标³, 王周琅³, 谢玉琪³, 杨子峰^{3,4}, 谢斌¹(1. 江西中医药大学, 江西 南昌 330103; 2. 中山市陈星海医院, 广东 中山 528415; 3. 广州医科大学附属第一医院, 广州呼吸健康研究院, 广东 广州 510180; 4. 广州市 infectious 疾病临床快速诊断与预警重点实验室, 广东 广州 510180)

摘要: **目的** 探究银翘解毒软胶囊(YQ)对人冠状病毒 229E(HCoV-229E)的体外抑制作用。**方法** 通过经典的体外细胞模型分析银翘解毒软胶囊的体外毒性及对 HCoV-229E 的抑制作用; 通过空斑实验验证银翘解毒软胶囊对 HCoV-229E 的抑制作用; 应用实时定量 PCR 法分析银翘解毒软胶囊对 HCoV-229E 介导的炎症因子表达水平的影响。**结果** 银翘解毒软胶囊对人肝癌细胞的 50%毒性浓度为 $(3\,315 \pm 131) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 对 HCoV-229E 的 50%抑制浓度为 $(361.9 \pm 36) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 选择指数为 9.16。空斑实验表明银翘解毒软胶囊 $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 几乎可完全抑制病毒复制($P < 0.001$)。银翘解毒软胶囊在 $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度作用下, 可明显抑制由冠状病毒 HCoV-229E 感染介导的炎症因子如趋化因子(C-C 基元)配体 5(CCL-5, $P < 0.001$)、单核细胞趋化蛋白 1(MCP-1, $P < 0.001$)、白细胞介素 6(IL-6, $P < 0.001$)、白细胞介素 8(IL-8, $P < 0.001$)和肿瘤坏死因子 α (TNF- α , $P < 0.001$)核酸的升高。**结论** 体外实验显示银翘解毒软胶囊可抑制人冠状病毒 HCoV-229E 的复制及其介导的炎症反应, 具有作为抗冠状病毒药物的开发价值。

关键词: 银翘解毒软胶囊; 人冠状病毒 229E(HCoV-229E); 炎症因子; 人肝癌细胞 Huh7

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2022)01-0064-05

doi: 10.19378/j. issn. 1003-9783. 2022.01.010

Inhibition of *Yinqiao Jiedu* Soft Capsules on Human Coronavirus 229E *in vitro* and Inflammatory Factors Induced by Virus Infection

LIU Zhenhai^{1,2}, YANG Chunguang³, LEI Biao³, WANG Zhoulang³, XIE Yuqi³, YANG Zifeng^{3,4}, XIE Bin¹(1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330103 Jiangxi, China; 2. Chen Xinghai Hospital, Zhongshan City, Zhongshan 528415 Guangdong, China; 3. Guangzhou Institute of Respiratory Health, The First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510180 Guangdong, China; 4. Guangzhou Key Laboratory of Clinical Rapid Diagnosis and Early Warning of Infectious Diseases, Guangzhou 510180 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To explore *in vitro* inhibitory effect of *Yinqiao Jiedu* soft capsules on human coronavirus 229E (HCoV-229E). **Method** The toxicity of *Yinqiao Jiedu* soft capsules and its inhibitory effect on HCoV-229E *in vitro* were evaluated through the classic cell model. Plaque assay was performed to verify the inhibition of *Yinqiao Jiedu* soft capsules on HCoV-229E. Afterwards, real-time quantitative PCR was used to analyze the effect of *Yinqiao Jiedu* soft capsules on the expression of inflammatory factors induced by HCoV-229E. **Results** The 50% toxic concentration of *Yinqiao Jiedu* soft capsules on human liver cancer cells is $(3\,315 \pm 131) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, the 50% inhibitory concentration on HCoV-229E is $(361.9 \pm 36) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, and the selection index is 9.16. Plaque assay showed that *Yinqiao Jiedu* soft capsules ($2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) almost completely inhibited virus replication *in vitro* ($P < 0.001$). *Yinqiao Jiedu* soft capsules at a concentration of $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ can significantly inhibit the increase of inflammatory factors induced by HCoV-229E infection, such as mRNA expressions of C-C motif chemokine ligand 5 (CCL-5, $P <$

收稿日期: 2021-03-09

作者简介: 刘振海, 男, 副主任医师, 研究方向: 中西医结合基础。Email: doctorlzh@sina.com。通信作者: 杨子峰, 男, 教授, 研究方向: 呼吸道病毒感染。Email: jeffyah@163.com。谢斌, 男, 副教授, 研究方向: 中药抗肿瘤研究。Email: 331080826@qq.com。

基金项目: 国家科技重大专项项目(2018YFC1200101); 佛山市科技局项目(2020001000206); 广州市科技局项目(202102100003)。

0.001), monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1, $P < 0.001$), interleukin-6 (IL-6, $P < 0.001$), interleukin-8 (IL-8, $P < 0.001$) and tumor necrosis factor- α (TNF- α , $P < 0.001$). **Conclusion** *In vitro* Yinqiao Jiedu soft capsules can inhibit the replication of HCoV-229E and the inflammatory response induced by virus infection, which has development value as an anti-coronavirus drug.

Keywords: Yinqiao Jiedu soft capsules; human coronavirus 229E (HCoV-229E); inflammatory factors; human hepatoma cell line Huh7

人类冠状病毒(human coronaviruses, HCoVs)是人类上呼吸道感染的常见病因,包括 229E、NL63、HKU1 和 OC43 四个病毒株,在全球范围内传播^[1]。人类冠状病毒被认为是人类普通感冒(common cold)的第 2 大病因^[2],可引起无症状或轻度上呼吸道感染,也可导致下呼吸道感染,导致细支气管炎和肺炎,尤其在免疫低下、婴儿和老年人群中^[1]。冠状病毒包括 alpha、beta、gamma 和 delta 四个亚型,其中 229E 和 OC43 分别是 alpha 和 beta 亚型的原型毒株(祖先株),是两个亚型的代表性病毒株,可导致 15%~29%的普通感冒^[1]。

近年来,爆发了 3 次新型的冠状病毒感染人事件,包括高死亡率的 2002—2003 年 SARS-CoV 导致的急性呼吸窘迫综合征和 2012 年 MERS-CoV 导致的中东呼吸综合征,以及 2019 年爆发的由 SARS-CoV-2 导致的高传播率和致病率的新型冠状病毒肺炎(COVID-19)(截至 2021 年 5 月底,全球 COVID-19 患者达 1 亿 7 千多万例)^[3],严重威胁着人类健康和社会稳定。

目前,人类冠状病毒没有特异性抗病毒药物^[4]。针对冠状病毒的在研药物主要有单克隆抗体和直接抗病毒类药物,包括蛋白酶、螺旋酶、聚合酶抑制剂、免疫调节类药物(如干扰素和糖皮质激素)和广谱抗病毒的核苷类似物利巴韦林(Ribavirin)^[4]。近年,同为核苷类似物的瑞德西韦(Remdesivir)被证明对 SARS-CoV 和 MERS-CoV 具有抑制作用^[5-7]。由于核苷类似物药物毒性较强,不能用于轻症患者治疗。

中国历史中,中医中药在应对“瘟疫”方面发挥了巨大作用,其中麻杏石甘汤和银翘散两个名方尤为常见。银翘系列之一的银翘解毒胶囊由金银花、连翘、薄荷、荆芥、淡豆豉、牛蒡子(炒)、桔梗、淡竹叶和甘草九味中草药组成,具有疏风解表,清热解毒的功能,用于风热感冒,症见发热头痛、咳嗽口干、咽喉疼痛者,作为成方制剂被收录于 2020 版《中华人民共和国药典》^[8]。有网络药理学研究^[9]将银翘解毒软胶囊所含 1 418 个化合物与 48 个

COVID-19 炎症相关靶蛋白进行分子对接,发现其含有 37 个潜在的炎症为主的靶点,与新型冠状病毒 3CL 水解酶及其受体血管紧张素 2 具有亲和力,显示其具有治疗感冒和冠状病毒的潜力。但目前尚未有银翘解毒软胶囊对普通冠状病毒抑制作用的基础研究,故本研究应用经典体外模型,分析银翘解毒软胶囊对人冠状病毒 229E(HCoV-229E)的抑制作用,及其对 HCoV-229E 介导的炎症的影响。

1 材料与方法

1.1 药物及试剂 银翘解毒软胶囊(YQ),江苏康缘药业股份有限公司,批号:190902,使用二甲基亚砜(DMSO)融解成 $400 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 母液,使用含 2%FBS 的 DMEM 稀释 100 倍($4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)作为工作初始浓度,以 1%DMSO 作为溶剂对照。瑞德西韦,上海吉至生化科技有限公司,批号:G89788656,使用 DMSO 融解成 $500 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ 母液,使用含 2%FBS 的 DMEM 稀释 100 倍($5 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1}$)作为工作浓度。胎牛血清(FBS,批号:12J065)、高糖型培养基(DMEM,批号:8118250)、100×青/链霉素双抗(Pan-Strep,批号:2257223)、0.25%胰酶-EDTA(批号:2062475)、磷酸盐缓冲盐溶液(PBS,批号:8120401),美国 Gibco 公司。二甲基亚砜(DMSO),天津市大茂化学试剂厂,批号:20200410。细胞活性测定 Cell Counting Kit-8(CCK-8),美国 APEX-BIO 公司,批号:G89788656。核酸提取试剂盒 NucleoZOL,德国 Macherey-Nagel 公司(德国),批号:15011001。一步法实时定量 PCR 试剂 One Step TB Green®PrimeScript™ PLUS RT-PCR Kit,日本 TAKARA 公司,批号:RR096A。

1.2 细胞及病毒 人肝癌细胞 Huh7,购自美国模式培养物保藏中心(ATCC),在 $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 条件下培养于含 10% FBS 的 DMEM 中。人冠状病毒 HCoV-229E,由广州医科大学附属第一医院呼吸疾病研究所赵金存课题组赠与,接种于 Huh7 细胞上,培养在含 2%FBS 的 DMEM 中, $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养 3~4 d,

用于模型^[10]复制。

1.3 仪器 Multiskan Spectrum 酶标仪, 美国 Thermo Fisher 公司; ABI PRISM®7500 Real-time PCR 检测系统, 美国 Applied Biosystems 公司。

1.4 药物毒性实验 Huh7 细胞融合至 90% 以上时, 胰酶消化并接种于 96 孔细胞板中, 每孔 1×10^4 个细胞, 37 ℃、5%CO₂ 培养 18 h 至 90% 以上细胞融合。弃原培养基, PBS 洗细胞 1 次。设正常对照、溶剂对照组和银翘解毒软胶囊各浓度组。银翘解毒软胶囊以 $4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 作为工作初始浓度, 2 倍倍比稀释至 10 个浓度 (4、2、1、0.5、0.25、0.125、0.062 5、0.031 25、0.015 625、0.007 812 5 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), 加至细胞上; 溶剂对照组给予 1% DMSO; 正常对照组给予含 2% 血清的 DMEM 培养基。每个组别设 6 个复孔, 37 ℃、5%CO₂ 培养 3~4 d, 应用 CCK-8 试剂盒检测细胞活性, 并计算半数毒性浓度 (TC₅₀)。重复 3 次独立实验, 结果以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。

1.5 抗病毒实验 Huh7 细胞融合至 90% 以上时, 胰酶消化并接种于 96 孔细胞板中, 每孔 1×10^4 个细胞, 37 ℃、5%CO₂ 培养 18 h 至 90% 以上融合; 弃原培养基, PBS 洗细胞 1 次。设正常对照组、病毒对照组和银翘解毒软胶囊各浓度组。保留 1 列细胞作为正常对照组, 其余各组以 100TCID₅₀ (MOI=0.01) 病毒接种于细胞上, 37 ℃孵育 120 min, 弃病毒上清液。银翘解毒软胶囊各浓度组加入 2 倍倍比稀释的银翘解毒软胶囊各浓度组 (2、1、0.5、0.25、0.125、0.062 5、0.031 25、0.015 625、0.007 812 5 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)。400 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的银翘解毒软胶囊母液由 100% DMSO 配置, 稀释至 2 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时 DMSO 含量为 0.5%, 故正常对照组加入含 2% FBS+0.5% DMSO 的培养基; 病毒对照组给予含 2% FBS 的 DMEM 培养基。以上每组 6 个复孔, 37 ℃、5%CO₂ 培养 3 d。肉眼镜下观察细胞病变情况, 并记录计算半数抑制浓度 (IC₅₀)。重复 3 次独立实验, 结果以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 展示。

1.6 空斑减少实验 Huh7 细胞融合至 90% 以上时, 胰酶消化并接种于 12 孔细胞板中, 每孔 5×10^5 个细胞; 37 ℃、5%CO₂ 培养 24 h 至形成致密单层细胞, 弃原培养基, PBS 洗细胞 1 次。设正常对照组、病毒对照组、阳性对照组 (瑞德西韦组) 和银翘解毒软胶囊各浓度组。保留 2 孔细胞作为正常对照组, 加入含 2% FBS 的 DMEM 培养基, 余每孔加 500 μL 30 PFU 的 HCoV-229E 病毒液在 37 ℃、5%CO₂ 培养箱中孵育 2 h, 弃病毒培养液。以 5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 瑞德西

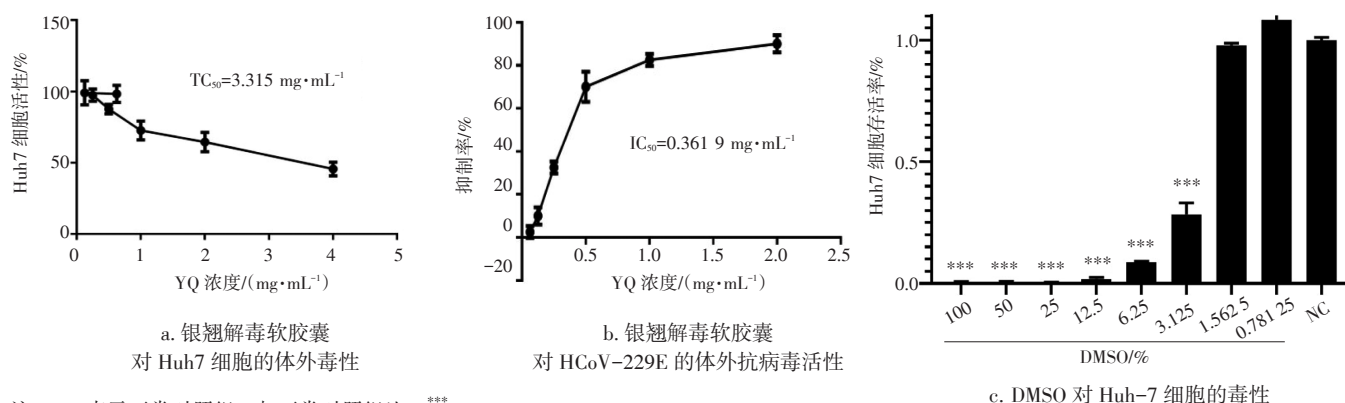
韦干预作为阳性药物对照组^[11]; 银翘解毒软胶囊设 3 个浓度 (4、2、1 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 组; 病毒对照组给予含 2% FBS 的 DMEM 培养基。分别与 1.2% 琼脂糖 1:1 混合, 每孔加入 2 mL 的混合液, 待混合液凝固后, 孵育 72 h。每孔加入 1 mL 的 4% 多聚甲醛固定过夜后, 每孔再加入 300 μL 结晶紫染色液, 室温染色 0.5 h。自来水轻缓冲洗, 晾干后计算抑制率。空斑抑制率 = [(病毒组的空斑数 - 药物组的空斑数) / 病毒组的空斑数] × 100%。实验重复 3 次。

1.7 实时荧光定量 PCR 法测定炎症因子的表达 Huh7 细胞融合至 90% 以上时, 胰酶消化并接种于 6 孔细胞板中, 每孔 5×10^5 个细胞, 37 ℃、5%CO₂ 培养 18 h 至 90% 以上融合, 弃原培养基, PBS 洗细胞 1 次。设正常对照组、病毒对照组、阳性药物对照组 (瑞德西韦组) 和银翘解毒软胶囊各浓度组 (2、1、0.5 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), 每组 1 孔。保留 1 孔细胞作为正常对照组, 加入含 2% FBS 的 DMEM 培养基; 其余组以 $2.5 \times 10^5 \text{TCID}_{50}$ (MOI=0.5) 病毒接种于细胞上, 37 ℃孵育 120 min 后弃病毒上清液。病毒对照组加入含 2% FBS 的 DMEM 培养基; 5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 瑞德西韦干预作为阳性药对照组^[11]; 银翘解毒软胶囊设 3 个浓度 (2、1、0.5 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 组。药物处理 8 h 后, 弃上清液, PBS 洗细胞 1 次。根据 NucleoZOL 试剂盒说明书提取核酸, 应用一步法 PCR 检测样本的炎症相关因子 (CCL-5、MCP-1、IL-6、IL-8 和 TNF- α) 的 mRNA 相对比较水平, 以 GAPDH 表达水平为基准对照。实验重复 3 次。

1.8 统计学处理方法 应用 SPSS 17.0 软件进行统计分析, 数据以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。多组间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA), 两两比较采用 LSD 检验。P < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 银翘解毒软胶囊体外毒性及抗病毒实验结果 细胞毒性实验结果显示, 银翘解毒软胶囊外对 Huh7 细胞的 TC₅₀ 为 $(3\,315 \pm 131) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ (图 1-a)。抗病毒实验结果显示, 银翘解毒软胶囊原料药物体外对 HCoV-229E 的 IC₅₀ 为 $(361.9 \pm 36) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ (图 1-b)。使用以上两个指标的平均值计算得药物的选择指数 (SI, $\text{SI} = \text{TC}_{50} / \text{IC}_{50}$) 为 9.16, 说明药物体外抗病毒效果明显。图 1-c 显示, 与正常组比, 当 DMSO 含量 ≤ 1.562 5% 时, 对 Huh7 细胞无毒性, 故 DMSO 的含量对本实验中所选的银翘解毒软胶囊各浓度组的药理学无影响。



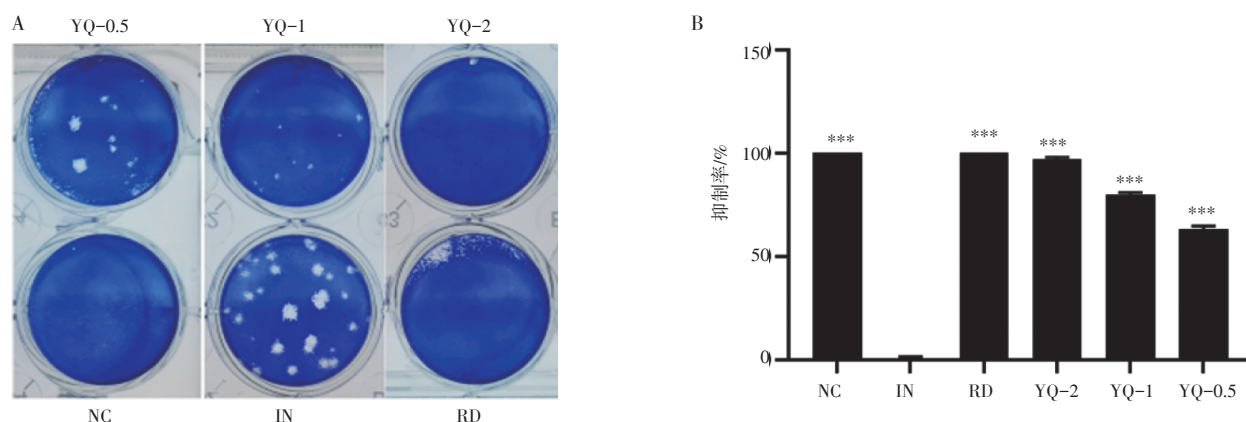
注: NC 表示正常对照组。与正常对照组比, *** $P < 0.001$

图 1 银翘解毒软胶囊(YQ)体外毒性与抗病毒活性($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Figure 1 Antiviral activity and cytotoxicity of Yinqiao Jiedu soft capsules (YQ) *in vitro* ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

2.2 空斑减少法实验结果 图 2 显示, 银翘解毒软胶囊各浓度均能明显抑制 HCoV-229E 病毒的增殖($P <$

0.001), 呈剂量依赖性, 并且 $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 银翘解毒软胶囊几乎能完全抑制病毒空斑形成。



注: NC, 正常对照组; IN, 病毒对照组; RD, $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 瑞德西韦干预处理组; YQ-2、YQ-1、YQ-0.5 分别为 2 、 1 、 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 银翘解毒软胶囊干预处理组。与病毒对照组比较, *** $P < 0.001$

图 2 银翘解毒软胶囊(YQ)抗人冠状病毒 229E (HCoV-229E) 作用的空斑结果(A) 及对人冠状病毒 229E (HCoV-229E) 的抑制率(B) ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

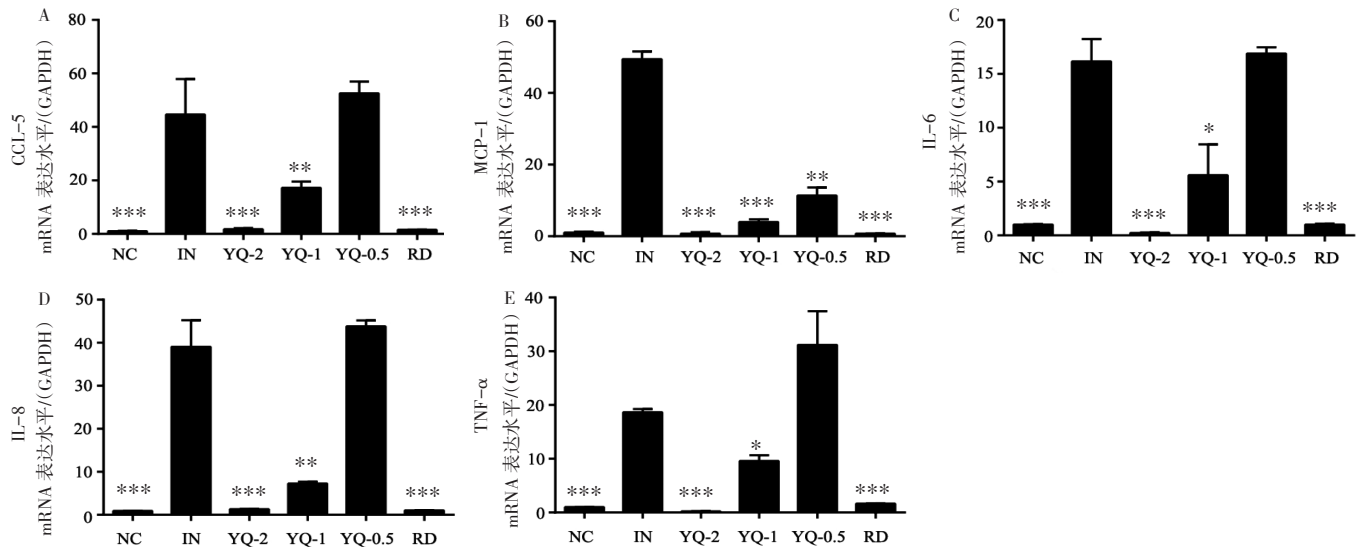
Figure 2 Viral plaque results of antiviral activity of Yinqiao Jiedu soft capsules (YQ) against HCoV-229E (A) and inhibition rate of Yinqiao Jiedu soft capsules (YQ) on HCoV-229E (B) ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

2.3 银翘解毒软胶囊体外抑制病毒感染导致的炎症因子 mRNA 表达 本研究应用冠状病毒 HCoV-229E 刺激 Huh7 细胞激发炎症反应, 并使用银翘解毒软胶囊进行干预, 分析其对炎症相关因子 CCL-5、MCP-1、IL-6、IL-8 和 TNF- α 基因表达水平的影响。图 3 结果显示, HCoV-229E 感染后, 病毒对照组 CCL-5、MCP-1、IL-6、IL-8、TNF- α 水平升高, 分别相当于 GAPDH 的 43、48、15.7、38.6、18.9 倍。与病毒对照组比, 给予 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 阳性药物瑞德西韦干预后, 上述 5 个炎症因子表达水平下降至正常细胞水平($P < 0.001$)。给予 $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 银翘解毒软胶囊干预后, 5 个炎症因子表达水平下降至正常细胞水平($P < 0.001$)。给予 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 银翘解毒软胶囊干预后, MCP-1 下降至 GAPDH 的 5.1 倍($P < 0.001$), CCL-5

和 IL-8 分别下降至 18 倍和 8.2 倍($P < 0.01$), IL-6 和 TNF- α 分别下降至 6.2 倍和 10.4 倍($P < 0.05$)。给予 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 银翘解毒软胶囊干预后, MCP-1 下降至 12.1 倍($P < 0.01$), 其他 4 个因子无明显下降($P > 0.05$)。

3 讨论

体外细胞筛选模型是抗病毒药物最经典的初筛模型, 可直观地验证药物对病毒和宿主细胞的影响。银翘解毒软胶囊(YQ)作为已纳入中国药典的成方制剂, 在中医体系中有长期应对感冒的使用历史和经验, 但在现代药理学研究体系方面依然缺乏科学证据。本研究通过经典的体外细胞模型, 初步探讨了银翘解毒软胶囊(YQ)对人冠状病毒 229E (HCoV-229E) 的体外抑制作用。结果显示, 银翘解毒软胶囊



注: NC, 正常对照组; IN, 病毒对照组; RD, $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 瑞德西韦干预处理组; YQ-2、YQ-1、YQ-0.5 分别为 2、1、0.5 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 银翘解毒软胶囊干预处理组。与病毒对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

图3 银翘解毒软胶囊(YQ)体外抑制人冠状病毒 229E(HCoV-229E)介导的炎症因子 mRNA 升高($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Figure 3 Yinqiao Jiedu soft capsules(YQ) inhibit the increase mRNA expression of inflammatory factors induced by HCoV-229E *in vitro* ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

作为成方制剂,在体外细胞模型中对 HCoV-229E 的抑制选择指数达到 9.16,并且空斑实验结果也显示其对 HCoV-229E 具有较好的抑制活性,对病毒介导的炎症相关因子 CCL-5、MCP-1、IL-6、IL-8 和 TNF-α 均具有明显抑制作用。

冠状病毒作为人类普通流感的主要病原体,其中 HCoV-229E 是冠状病毒中主要的流行病毒株。本研究选择 HCoV-229E 作为研究目标,具有临床代表性。

病毒感染,是病毒和宿主细胞相互作用的结果,其中,炎症反应是机体固有免疫抵抗病原体感染的主要机制之一。研究^[12]显示,炎症相关因子 CCL-5、MCP-1、IL-6、IL-8、TNF-α 与 HCoV-229E 感染相关性高。本研究通过体外模型建立 HCoV-229E 感染致炎症模型,应用实时定量 PCR 方法初步探讨银翘解毒软胶囊对炎症因子 CCL-5、MCP-1、IL-6、IL-8 和 TNF-α 基因表达的影响。结果显示在 $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度下,银翘解毒软胶囊可明显抑制由 HCoV-229E 感染导致的炎症因子升高。

本研究结果显示,银翘解毒软胶囊具有作为抗冠状病毒药开发的值,但其抗病毒和抗炎机制、体内模型的药效尚未明确。在未来的研究中,本课题组将更深入地开展其机制及体内药效分析研究。

参考文献:

- [1] SU S, WONG G, SHI W, et al. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses[J]. Trends Microbiol, 2016, 24(6): 490-502.
- [2] MÄKELÄ M J, PUHAKKA T, RUUSKANEN O, et al. Viruses and

bacteria in the etiology of the common cold[J]. J Clin Microbiol, 1998, 36(2): 539-542.

- [3] World Health Organization. Coronavirus disease(COVID-19)pandemic [EB/OL]. (2021-05-31)[2021-05-31]. <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>.
- [4] PRUIJSSERS A J, DENISON M R. Nucleoside analogues for the treatment of coronavirus infections[J]. Curr Opin Virol, 2019, 35: 57-62.
- [5] LI Z, WANG X, CAO D, et al. Rapid review for the anti-coronavirus effect of remdesivir[J]. Drug Discov Ther, 2020, 14(2): 73-76.
- [6] SAIJO M, MORIKAWA S, FUKUSHI S, et al. Inhibitory effect of mizoribine and ribavirin on the replication of severe acute respiratory syndrome(SARS)-associated coronavirus[J]. Antiviral Res, 2005, 66(2-3): 159-163.
- [7] CHAN J F, CHAN K H, KAO R Y, et al. Broad-spectrum antivirals for the emerging Middle East respiratory syndrome coronavirus[J]. J Infect, 2013, 67(6): 606-616.
- [8] 中国药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 1631.
- [9] 苏真真, 张新庄, 柯志鹏, 等. 银翘解毒软胶囊治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的网络药理学研究[J]. 中草药, 2020, 51(9): 2354-2360.
- [10] MA Q H, LI R F, PAN W Q, et al. Phyllirin(KD-1) exerts antiviral and anti-inflammatory activities against novel coronavirus (SARS-CoV-2) and human coronavirus 229E(HCoV-229E) by suppressing the nuclear factor kappa B(NF-κB) signaling pathway[J]. Phytomedicine, 2020, 78: 153296.
- [11] MA Q H, LI R F, PAN W Q, et al. Liu Shen capsule shows antiviral and anti-inflammatory abilities against novel coronavirus SARS-CoV-2 via suppression of NF-κB signaling pathway[J]. Pharmacological research, 2020, 158: 104850.
- [12] CHEN B, TIAN E K, HE B, et al. Overview of lethal human coronaviruses[J]. Signal Transduct Target Ther, 2020, 5(1): 89.

(编辑: 修春)