• 重大新药创制专项巡礼 •

基于网络药理学方法探讨双鱼颗粒治疗上呼吸道感染的作用机制

王俨如¹² 涨新庄¹² *浡* 娜¹² 漕 亮¹² ,丁 岗¹² ,王振中¹² ,徐筱杰³ ,萧 伟¹² (1 江苏康缘药业股份有限公司,连云港 222001; 2 中药制药过程新技术国家重点实验室,连云港 222001; 3 北京大学化学与分子工程学院,北京 100871)

[摘要] 目的: 研究双鱼颗粒中治疗上呼吸道感染的活性成分和作用机制。方法: 利用分子对接、网络分析 挖掘双鱼颗粒与上呼吸道感染相关靶标的相互作用 ,来阐明其可能的活性分子群和相应分子作用机制。结果: 双鱼颗粒所含化合物在化学结构上具有类药性 ,双鱼颗粒治疗上呼吸道感染可能的活性分子为甾体类化合物 ,其作用的可能机制与抑制病毒复制、抑制炎症反应及其信号转导有关。结论: 初步揭示出双鱼颗粒通过抗病毒、抗炎等功效来治疗上呼吸道感染。

[关键词] 化学空间; 网络药理; 分子对接; 双鱼颗粒; 上呼吸道感染 [中图分类号] R285; R96 [文献标志码] A [文章编号] 1003 - 3734(2015) 11 - 1222 - 07

Action mechanism of Shuangyu granules on upper respiratory tract infections based on network pharmacology

WANG Yan-ru¹, ZHANG Xin-zhuang¹, LI Na¹, CAO Liang¹, DING Gang¹, WANG Zhen-zhong¹, XU Xiao-jie³, XIAO Wei¹

(1 Jiangsu Kanion Parmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China; 2 State Key Laboratory of New-tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Lianyungang 222001, China; 3 College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University, Beijing 100871, China)

[Abstract] Objective: To investigate active ingredients and action mechanism of Shuangyu granules on upper respiratory tract infection (URTI). Methods: Network pharmacology method was used to construct drug-target network and study the interactions between 351 ingredients of Shuangyu granules and 46 drug targets related to URTI. Results: Most of the ingredients had good drug-like properties in their chemical spaces. The active ingredients in Shuangyu granules were steroidal compounds. The effect of Shuangyu granules might be mediated by affecting viral synthesis, inflammation and related signaling pathways. Conclusion: The mechanism underlying effect of Shuangyu granules on URTI may be inhibition of inflammation and virus replication.

[Key words] chemical space; network pharmacology; molecular docking; Shuangyu granules; upper respiratory tract infection

上呼吸道感染,简称上感,是指外鼻孔至环状软骨下缘,包括鼻腔、咽部和喉部炎症的总称,包括普通感冒、流行性感冒、咽炎等,其主要由多病毒(如

[基金项目] 国家科技部重大新药创制项目(2013ZX09402203)

[作者简介] 王俨如 ,女 .硕士 .主要从事药物筛选与药效评价研究。 联系电话: (025) 86587935 ,E-mail: yanru719@126.com。

[通讯作者] 萧伟 男 研究员级高级工程师 博士 注要从事中药新药的研究与开发研究。联系电话: (0518) 81152367 ,E-mail: kanion-lunwen@163.com。

鼻病毒、流感病毒、冠状病毒和腺病毒等) 感染引起^[1-2] 后期会继发细菌感染。上呼吸道感染四季皆可发生 甚至气候突变时还会出现小规模流行 治疗不及时多会发展为下呼吸道炎症。目前临床对上呼吸道感染的治疗策略主要为病因治疗和病症治疗相结合 加抗病毒药与非甾体类抗炎药组合制剂。但由于病毒感染多样性、易突变性 目前的针对特异性靶点的抗病毒药物临床疗效有限 且容易产生耐药性; 对症治疗药物如解热镇痛药和镇咳剂等只是



1222

中国新药杂志 2015 年第 24 卷第 11 期

缓解某一症状,无法有效治疗上呼吸道感染。

中药用于治疗上呼吸道感染由来已久,对上呼吸道感染有较好疗效,且不良反应小、被广泛应用于临床治疗中[3-4]。近些年 SARS、H7N9、登革热等病毒感染大规模爆发,利用中药制剂治疗上呼吸道感染已成为研究热点[5-6]。双鱼颗粒是江苏康缘药业股份有限公司研制的治疗上呼吸道感染的现代中药,是以现代工艺提取鱼腥草(herba houttuyniae)、金银花(Lonicera japonica)、赤芍(Paeonia veitchii)、艾叶(Artemisia argyi)、薄荷(Mentha canadensis)中的有效成分精制而成,能够显著改善外感风热、肺胃热盛所致的咽干、咽痛、喉核肿大、口渴、发热,以及急慢性扁桃体炎、急慢性咽炎、上呼吸道感染等。但由于中药的多成分、多靶点、多途径治疗疾病的特点,使得双鱼颗粒等中药的作用机制面临一定挑战。

网络药理学是一种基于网络观点从系统水平观察药物作用机制、发现先导化合物、识别新药靶等的研究新策略^[7-8],其与中药能从整体水平调控机体治疗疾病的观点相吻合,并逐渐作为一种新的研究方法被引入到中药来研究其药效物质基础、探索其分子作用机制。为此,本文采用网络药理学方法分析双鱼颗粒的活性成分和可能的分子作用机制,将为该品种的质量控制提升和临床合理应用提供理论依据。

材料与方法

1 双鱼颗粒中小分子化合物和药物的化学空间分布

根据双鱼颗粒中 5 味中药鱼腥草(herba houttuyniae)、金银花(Lonicera japonica)、赤芍(Paeonia veitchii)、艾叶(Artemisia argyi)、薄荷(Mentha canadensis) 在《中华人民共和国药典》2010 版中的植物拉丁名 从 TCMN 数据库检索得到 351 个小分子结构。同时 以病毒、感染、发烧和炎症等为检索词 从DrugBank 数据库(www.drugbank.ca) 中筛选出 38个用于治疗上呼吸感染的小分子药物,再利用 Dis-

covery Studio 2.5 对每个小分子和药物进行加氢后, 采用 General propose 模块计算各个小分子和药物的 分子描述符 主要采用以下分子描述符: ① 分子结 <mark>构信息描述符:</mark> 相对分子质量(molecular weight) 、 可旋转键数目(number of rotatable bonds)、氢键受体 数目(number of Hbond acceptors)、氢键供体数目 (number of Hbond donors)、环数目(number of rings)、芳环数(number of aromatic rings)。②空间 <mark>结构信息描述符: 分子接触体积(molecular vol-</mark> ume)、分子表面积(molecular surface area)、分子极 性表面积(molecular fractional polar surface area)、分 子极性比表面积(molecular SASA)、可及的原子表 面积(molecular SAVol)。③ 脂水分配系数 (ALog P): 利用 Discovery Studio 的 Library Analysis 模块选 择脂水分配系数、相对分子质量、可旋转键数目、氢 键受体数目、氢键供体数目、环数目、芳环数、极性比 表面积百分比共8个分子描述符对小分子化合物与 药物进行主成分分析。

2 化合物的分子对接

从 TTD 和 Drugbank 数据库中选取 45 个与炎 症、病毒感染相关的药物作用靶点,见表1,并从 RCSB 的 PDB 库中下载其复合物晶体结构,导入 Discovery Studio 2.5 软件对这些靶蛋白结构进行清 除配体、水及金属离子、加氢和加力场等修饰。将 化合物和修饰后的靶蛋白导入 Autodock 4.0 软件 进行分子对接计算[9],以蛋白晶体结构中原配体 的中心坐标为活性位点中心坐标,活性位点为 40×40×40 个格点组成的正立方体,其中对每一 维度,两相邻格点之间距离为 0.375 Å,并利用拉 马克遗传算法(Lamarckian genetic algorithm) 进行 小分子在蛋白质配体中活性位点的能量优化 ,其参 数设置如下: 遗传算法种群数量为 150; 能量优化最 大迭代次数为 1.75×10^7 , 并以此作为优化终止条 件; 对接结果化合物构象分析均方根背离容忍度设 定为 2.0 Å; 每一个化合物, 对接过程重复采样次数 设置为20;其余设置均为软件的默认值。

表 1 双鱼颗粒主治疾病相关靶点

靶点名称	缩写	Uniport ID	PDB ID
3C proteases (polyprotein)	(CVA16) 3C proteases	C8CIL7	3SJI
3C proteases (polyprotein)	(EV71) 3C protease	E0WWC7	3SJO
RNA-dependent RNA polymerase(polyprotein)	(EV71) RdRp (3D(pol))	D3K0N8	3 N6 M
hemagglutinin	(Flu A) HA	P03437	3EYM

1223

中国新药杂志 2015 年第 24 卷第 11 期

靶点名称	缩写	Uniport ID	PDB ID
polymerase basic protein 2	(Flu A) PB2	P31345	2VQZ
matrix protein 2	(Flu A) M2	P63231	2RLF
nucleoscapsid protein	(Flu A) NP	Q1K9H2	3R05
polymerase acidic protein	(Flu A) PA	Q9Q0U9	3HW4
neuraminidase	(Flu A) NA	P03472	1XOE
neuraminidase	(Flu B) NA	P27907	1 NSD
naemagglutinin-neuraminidase glycoprotein	(PIV 3) HN	Q6WJ03	1 V3 E
ype 2 rhinovirus 3C protease	(HRV A2) 3C protease	P04936	1CQQ
hinovirus coat protein (subunit VP1)	(HRV 1A) VP1	P23008	2HWD
oat protein VP1	(HRV B14) VP1	P03303	1 NCQ
usion glycoprotein F0	(RSV) F protein	P03420	3 KPE
AMP-specific 3′ 5′-cyclic phosphodiesterase 4A	PDE 4A	P27815	2QYK
istamine H1 receptor	H1 R	P35367	3RZE
AMP-specific 3′ 5′-eyclic phosphodiesterase 4B	PDE 4B	Q07343	1XLX
AMP-specific 3´5´-cyclic phosphodiesterase 4D	PDE 4D	Q08499	3G4K
rostaglandin G/H synthase 2(COX2)	COX-2	P35354	3LN1
rostaglandin G/H synthase 1(COX1)	COX-1	P23219	3N8X
hospholipase A2 ,membrane associated	sPLA2	P14555	1 J1 A
odium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-1	Na , K-ATPase α	P05024	3 N23
vsine-specific histone demethylase 1	LSD1	060341	2Z3Y
umor necrosis factor	TNF-α	P01375	2AZ5
ndothelial nitricoxide synthase	eNOS	P29474	1 M9 M
nducible nitric oxide synthase	iNOS	P35228	4NOS
C-X-C chemokine receptor type 4	CXCR4	P61073	3ODU
38 MAPK kinase	p38 MAPK	Q16539	1 KV1
nitogen-activated protein kinase 9	JNK2	P45984	3NPC
nitogen-activated protein kinase 8	JNK1	P45983	3ELJ
nitogen-activated protein kinase 10	JNK3	P53779	3TTI
nitogen-activated protein kinase 3	ERK1	P27361	2ZOQ
nitogen-activated protein kinase 1	ERK2	P28482	1PME
hosphatidylinositol 3-kinase catalytic subunit type 3	PIK3C3	Q8NEB9	3LS8
orotein kinase C beta type	РКС-в	P05771	2I0E
rotein kinase C alpha type	РКС-а	P17252	3IW4
aspase-3	Caspase-3	P42574	1 GFW
nterleukin-1 receptor-associated kinase-4	IRAK4	Q9NWZ3	2NRU
uman S-adenosylhomocysteine hydrolase	SAH	P23526	1 LI4
ual specificity mitogen-activated protein kinase kinase 1/MAPKK1/MEK1	MEK1	Q02750	1S9J
rostaglandin E synthase	mPGES-4	014684	3DWW
rotidine 5´-monophosphate decarboxylase	OMP decarboxylase	P08244	1 EIX
nosine-5´-monophosphate dehydrogenase 2	IMPDH2	P12268	1 NF7
nosine-5´-monophosphate dehydrogenase 1	IMPDH1	P20839	1 JCN

3 网络构建

根据分子对接结果,将化合物与靶点的对接得分大于 6.5 且高于原配体得分的分子与靶蛋白导入 Cytoscape 3.1.1 网络分析软件,绘制双鱼颗粒分子与靶蛋白作用网络^[10]。通过 Cytoscape 软件中的 network analyzer 插件分析网络特征,预测双鱼颗粒

可能的活性分子和潜在靶蛋白等。

结 果

1 双鱼颗粒所含成分的化学空间分布及主成分分析 计算出的分子描述符统计分析结果见表 2 ,表 中列出了主要分子描述符的最大值(max) 、最小值

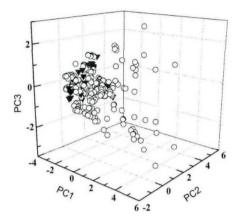


(min)、平均值(mean)、中位值(median)。

表 2 双鱼颗粒所含成分的分子描述符

 分子描述符	平均值	最小值	最大值	中位值
ALog P	2.3	-4.3	14.1	1.9
molecular weight	479.8	84.2	1 707.2	426.7
number of H acceptors	8.9	0.0	47.0	6.0
number of H donors	4.5	0.0	28.0	3.0
number of rotatable Bonds	6.8	0.0	48.0	5.0
number of rings	3.8	0.0	13.0	3.0
number of aromatic Rings	1.0	0.0	9.0	0.0
molecular surface Area	461.8	0.0	1 479.0	413.4
molecular fractional polar	0.3	0.0	0.6	0.3
surface area				
molecular SASA	675.3	0.0	1 856.2	614.7
molecular SAVol	586.0	0.0	1 672.2	531.4
molecular Volume	319.1	0.0	969.3	276.8

将双鱼颗粒所含 351 种小分子化合物成分与 Drugbank 收集的 38 个药物进行主成分分析。3 个 主成分分析的累积方差解释度为 0.875, 说明 3 个 主成分对整体因素具有较好的解释作用。利用 3 个主成分绘制化合物的化学空间图 结果见图 1。

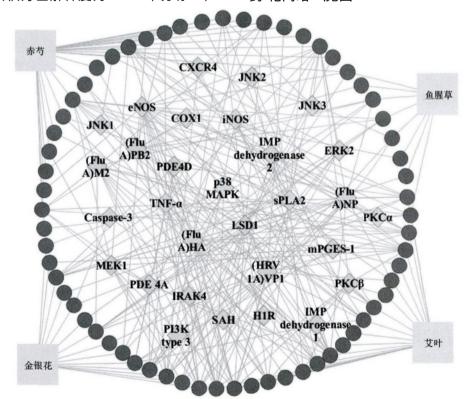


三角形为 Drugbank 中的化合物 週形为双鱼 颗粒中含有的成分

图 1 双鱼颗粒所含成分的主成分分析

2 网络特征分析和作用机制预测

选取的炎症、感染类靶点信息见表 1 将对接得分大于 6.5 的对接数据采用 Cytoscape 软件绘制"药-靶网络",见图 2。



菱形代表靶点 圆球代表化合物 ,方形代表药材 ,化合物和靶点间的实线表示小分子和靶点具有较好的相互作用 ,药材和化合物间的实线表示化合物的来源 图中化合物的编号来源于 TCMN 数据库(https://192.168.0.6/index.html)
图 2 双鱼颗粒的 "药-靶网络图"

1225 中国新药杂志 2015 年第 24 卷第 11 期

Chinese Journal of New Drugs 2015 24(11)

用 network analyzer 插件分析整体网络特征: 网络节点(node) 数目为 93 网络边数(edge) 为 240 网络中心度(network centralization) 为 0. 221 网络密度(network density) 为 0. 056 最短路径数(shortest paths) 为 8 556 ,平均最短路径(characteristic path length) 为 3. 127 平均网络度(avg number of neighbors) 为 5. 140 ,

符合幂律分布。双鱼颗粒中既存在一个分子与多个靶蛋白相作用的现象,也存在多个分子与一个靶蛋白相作用的现象,符合了中药多成分多靶点的作用特点。

图 2 中有 5 种化合物作用的靶点超过 10 个(网络节点度大于 10) ,这 5 种化合物均为甾体类化合物 ,见表 3。

表 3 双鱼颗粒 "药-靶网络图"中高网络度的几种化合物

化合物编号	化合物名称	结构式	网络节点度	介数
TCMC0099 D	3β-hydroxy-11α ,12α-epoxyolean-28 ,13β-olide	но	10	0.04
TCMC0AD8A	lupenon		11	0.05
TCMC05180	arborinone		11	0.06
TCMC00896	(3 β ,4 β ,11 α ,12 α ,13 β) +1 ,12-epoxy+3-hydroxy-3 23-(isopropylidenedioxy) -30-norolean-20 (29) - en-28-oic acid 28 ,13-lactone		10	0.08
TCMC0B1F4	glutinone		11	0.08

对"药-靶网络图"进行分析 ,表 1 所列的 30 个作用靶点均可以与双鱼颗粒的 63 个化合物有作用 ,有效作用化合物超过 10 (网络节点度大于 10) 的靶点有 9 个 ,见表 4 ,分别为参与病毒复制的靶点: NP ,HA ,M2 ,LSD1 和 VP1; 参与炎症反应的靶点: TNF-α ,eNOS 和 sPLA2; 参与免疫炎症信号转导的靶点: MEK1。

表 4 双鱼颗粒 "药-靶网络图"中高网络度的靶点

靶点名称	Uniport ID	网络节点度	介数
LSD1	060341	25	0.17
eNOS	P29474	21	0.14
(Flu A) HA	P03437	21	0.17
sPLA2	P14555	20	0.14
(HRV 1A) VP1	P23008	18	0.13
(Flu A) NP	Q1K9H2	16	0.09
(Flu A) M2	P63231	14	0.03
$TNF-\alpha$	P01375	12	0.06
MEK1	Q02750	11	0.04

讨 论

根据"类药五规则",口服药物的描述符需满足以下特点: 相对分子质量小于 500 ,氢键给体数目小于 5 ,氢键受体数目小于 10 ,脂水分配系数(ALog P) 小于 5 ^[11]。若违反过多 ,药物的溶解性和肠吸收能力会受到限制。本实验数据显示 ,在双鱼颗粒所含的成分中 ,平均相对分子质量 479.8 ,中值为 426.7; 氢键给体数目平均值 4.5 ,中值为 3.0; 氢键受体数目平均值 8.9 ,中值为 6.0; 脂水分配系数平均值 2.3 ,中值为 1.9 ,均满足类药五规则 ,口服利用度较高。

双鱼颗粒所含的 351 种小分子化合物与 Drug-bank 收集的 38 个药物在化学空间分布上有较大程度的重叠 提示这些分子与已上市的药物在化学结构上具有较大的相似性 ,为双鱼颗粒成分中含有治疗上呼吸道感染疾病的活性化合物提供了佐证。

双鱼颗粒"药-靶网络图"中高网络度的几种化 合物均为甾体类化合物 临床上甾体类药物地塞米 松联合其他药物治疗慢性支气管炎、重症吸入性肺 炎效果理想[12-13]; 氢化可的松琥珀酸钠、甲泼尼龙 琥珀酸钠在重症支原体肺炎治疗中也有显著疗 效[14]。研究显示 低剂量的地塞米松可以上调糖皮 质激素受体(GR)的表达以及促进GR蛋白的核转 位 减轻 LPS 诱导的急性肺损伤模型大鼠的炎症和 肺纤维化[15]。也有研究表明 甾胺有明显的抗病毒 活性 对 A 型流感病毒的复制有显著的抑制作用, 它们能够破坏膜筏 在某些情况下能灭活病毒 抑制 病毒的出芽[16]; 甾体糖苷具有抗单纯疱疹病毒 1 (HSV1)的活性[17]。此外 Madureira 等[18]研究了lupenon 对单纯疱疹病毒(HSV)和非洲猪瘟病毒(AS-FV) 的抗病毒活性 ,结果表明 lupenon 对 HSV1 和 HSV2 具有很强的抗病毒抑斑作用。我们推测甾体 类化合物可能是双鱼颗粒抗上呼吸道感染的主要活 性成分 这可能有助于后续的双鱼颗粒质量控制提 升和药效物质基础研究。

双鱼颗粒"药-靶网络图"中高网络度的靶点表明双鱼颗粒治疗上呼吸道感染的作用机制可能与抑制病毒复制、抑制炎症反应及其信号转导有关。双鱼颗粒可能通过 VP1, HA, M2 和 NP 影响病毒的吸附、入胞和复制。其抗炎作用可能涉及抑制 TNF-α, sPLA2 和 NO 的生物合成通路以及 MAPK 信号转导通路, 为后续双鱼颗粒的作用机制的深入研究提供

理论依据。

本文运用网络药理学的方法考察双鱼颗粒所含小分子的化学空间分布,并将其与上呼吸道感染相关靶点进行对接,推测双鱼颗粒治疗上呼吸道感染可能的机制。计算结果表明,双鱼颗粒中的活性分子为甾体类化合物,它们与病毒吸附、入胞、复制,TNF-a,NO等炎症介质生物合成中的蛋白酶以及MAPK炎症免疫信号通路蛋白存在相互作用。双鱼颗粒通过抗病毒、抗炎等功效来治疗上呼吸道感染,本文为双鱼颗粒的质量控制提升、药效基础研究及机制研究提供理论依据。

参考文献]

- [1] MONTO AS. Epidemiology of viral respiratory infections [J]. Am J Med , 2002 , 112(6A): 4S – 12S.
- [2] MORRIS PS. Upper respiratory tract infections (including otitis media) [J]. Pediatr Clin North Am., 2009, 56(1): 101-117.
- [3] 黄小民,柳于介,何煜舟,等. 热毒宁注射液治疗急性上呼吸道感染的临床研究[J].中国临床药理学与治疗学,2006,11(4):470-473.
- [4] 张正军,陈立东,张绪国. 热毒宁对上呼吸道感染内源性致 热因子的影响[J].中国医药指南,2010 8(13): 130-131.
- [5] GU S, YIN N, PEI J, et al. Understanding molecular mechanisms of traditional Chinese medicine for the treatment of influenza viruses infection by computational approaches [J]. Mol Biosyst, 2013, 9(11): 2696-2700.
- [6] LIU X , ZHANG M , HE L , et al. Chinese herbs combined with Western medicine for severe acute respiratory syndrome (SARS)
 [J]. Cochrane Database Syst Rev , 2012 , 10: CD004882.
- [7] EKINS S. Predicting undesirable drug interactions with promiscuous proteins in silico [J]. *Drug Discov Today*, 2004, 9 (6): 276 285.
- [8] WANG X, XU X, TAO W, et al. A systems biology approach to uncovering pharmacological synergy in herbal medicines with applications to cardiovascular disease [J]. Evid Based Complement Alternat Med., 2012, 2012: 519031.
- [9] MORRIS GM, GOODSELL DS, HALLIDAY RS, et al. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function [J]. J Computational Chemistry, 1998, 19(14): 1639 1662.
- [10] SHANNON P, MARKIEL A, OZIER O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks [J]. Genome Res., 2003, 13(11): 2498 – 2504.
- [11] LIPINSKI CA, LOMBARDO F, DOMINY BW, et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2001, 46(1-3): 3-26.

(下转第1241页)

Chinese Journal of New Drugs 2015 24(11)

- [5] VOGEL G. Are bats spreading ebola across sub-saharan Africa?
 [J]. Science, 2014, 344(6180): 140.
- [6] CHOWELL G , NISHIURA H. Transmission dynamics and control of Ebola virus disease (EVD): a review [J]. BMC Med , 2014 , 12(1):196.
- [7] CHOI JH, CROYLE MA. Emerging targets and novel approaches to Ebola virus prophylaxis and treatment [J]. *BioDrugs* 2013 27 (6):565-583.
- [8] 程颖,刘军,李昱,等. 埃博拉病毒病: 病原学、致病机制、治疗与疫苗研究进展[J]. 科学通报,2014,59(30):2889 2899.
- [9] BREMAN JG, JOHNSON KM. Ebola then and now [J]. N Engl J Med, 2014, 371(18): 1663-1666.
- [10] BAIZE S , LEROY EM , GEORGES AJ , et al. Inflammatory responses in Ebola virus-infected patients [J]. Clin Exp Immunol , 2002 ,128(1):163-168.
- [11] ZAMPIERI CA, SULLIVAN NJ, NABEL GJ. Immunopathology of highly virulent pathogens: insights from Ebola virus [J]. Nat Immunol, 2007 8(11):1159 – 1164.
- [12] ANSARI AA. Clinical features and pathobiology of Ebolavirus infection [J]. J Autoimmun 2014 55:1-9.
- [13] WHO EBOLA RESPONSE TEAM. Ebola virus disease in west africa-The First 9 Months of the Epidemic and Forward Projections [J]. N Engl J Med., 2014. 371 (16): 1481-1495.
- [14] SAIJO M, NIIKURA M, IKEGAMI T, et al. Laboratory diagnostic systems for Ebola and Marburg hemorrhagic fevers developed with recombinant proteins [J]. Clin Vaccine Immunol, 2006, 13 (4):444-451.
- [15] SHURTLEFF AC, BIGGINS JE, KEENEY AE, et al. Standardization of the filovirus plaque assay for use in preclinical studies
 [J]. Viruses, 2012 4(12): 3511 – 3530.
- [16] SMITHER SJ, LEAR-ROONEY C, BIGGINS J, et al. Comparison of the plaque assay and 50% tissue culture infectious dose assay as methods for measuring filovirus infectivity [J]. J Virol

- Methods, 2013, 193(2):565-571.
- [17] EULER M, WANG Y, HEIDENREICH D, et al. Development of a panel of recombinase polymerase amplification assays for detection of biothreat agents [J]. J Clin Microbiol, 2013, 51 (4): 1110 – 1117.
- [18] MATRANGA CB, ANDERSEN KG, WINNICKI S, et al. Enhanced methods for unbiased deep sequencing of Lassa and Ebola RNA viruses from clinical and biological samples [J]. Genome Biol., 2014, 15(11):519.
- [19] GOODMAN JL. Studying "secret serums" +oward safe , effective Ebola treatments [J]. N Engl J Med , 2014 ,371 (12): 1086 1089
- [20] GEISBERT TW, LEE AC, ROBBINS M, et al. Postexposure protection of non-human primates against a lethal Ebola virus challenge with RNA interference: a proof-of-concept study [J]. Lancet, 2010, 375 (9729): 1896-1905.
- [21] MURIN CD , FUSCO ML , BORNHOLDT ZA , et al. Structures of protective antibodies reveal sites of vulnerability on Ebola virus
 [J]. Proc Natl Acad Sci USA , 2014 ,111 (48): 17182 17187.
- [22] 张建波 陈丽丹,白阳. 埃博拉蔓延,药物研发更紧迫[N]. 人民日报,2014-10-13(22).
- [23] BUTLER D. Ebola drug trials set to begin amid crisis [J]. *Nature*, 2014, 513(7516): 13-14.
- [24] LEDGERWOOD JEDEZURE AD, STANLEY DA, et al. Chimpanzee adenovirus vector Ebola vaccine-preliminary report [J]. N Engl J Med 2014; 141126135947008.
- [25] GEISBERT TW. Medical research: Ebola therapy protects severely ill monkeys [J]. *Nature* 2014 514(7520):41-43.
- [26] The Best Inventions of 2014 [EB/OL]. New York , TIME. 2014 [2014 12 3]. http://time.com/3594971/the-25-best-inventions-of-2014/? pcd = hp-magmod.

编辑: 韩培/接受日期: 2015 - 01 - 10

(上接第1227页)

- [12] 王威. 地塞米松 + 甲强龙治疗慢性支气管炎效果研究分析 [J]. 世界最新医学信息文摘(连续型电子期刊),2014,13 (23):57-57,59.
- [13] 叶丽春. 沐舒坦联合地塞米松治疗新生儿重症吸入性肺炎的疗效研究[J]. 实用医学杂志 2009 25(9):1484-1485.
- [14] 季汝凤,曹远保,傅彬.不同糖皮质激素治疗儿童重症支原体肺炎中的疗效对照[J].中国现代药物应用,2014 8(19):
- [15] WANG XQ, ZHOU X, ZHOU Y, et al. Low-dose dexamethasone alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats and upregulates pulmonary glucocorticoid receptors [J]. Respirology, 2008, 13(6): 772 780.
- [16] AGARWAL S, SCHROEDER C, SCHLECHTINGEN G, et al. Evaluation of steroidal amines as lipid raft modulators and potential anti-influenza agents [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2013, 23 (18): 5165-5169.
- [17] IKEDA T , ANDO J , MIYAZONO A , et al. Anti-herpes virus activity of Solanum steroidal glycosides [J]. Biol Pharm Bull , 2000 , 23(3): 363 364.
- [18] MADUREIRA AM , ASCENSO JR , VALDEIRA L , et al. Evaluation of the antiviral and antimicrobial activities of triterpenes isolated from Euphorbia segetalis [J]. Nat Prod Res , 2003 , 17 (5): 375 380.

编辑: 赵文锐/接受日期: 2015 - 04 - 20

