

• 民族医药 •

青蒿素和槲皮素抑制新冠病毒刺突蛋白介导的细胞因子风暴

吴伟^{1,2,4,5}, 吴俊汐³, 纪旭旭⁴, 刘戟⁴, 刘彬^{2*}, 耿福昌²

(1. 凉山州中西医结合医院彝医药研究所 & 消化内科, 四川 西昌 615000; 2. 好医生药业集团, 四川 成都 610000;
3. 成都中医药大学医学与生命科学学院, 四川 成都 610000; 4. 四川大学华西基础医学与法医学院
分子生物学实验室, 四川 成都 610041; 5. 睿美赞科技有限公司, 四川 成都 610044)

摘要: **目的** 研究青蒿素和槲皮素的单独或联合治疗是否能改善新冠病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)的棘突蛋白(spike protein, S 蛋白)介导的细胞因子风暴。**方法** 进行细胞活力测定, 而后检测青蒿素或槲皮素单独或联合处理对 SARS-CoV-2 的 S 蛋白介导的细胞因子风暴的改善作用。**结果** 在 SARS-CoV-2 S 蛋白刺激下, 青蒿素或槲皮素的单独或联合治疗可以通过抑制 NFκB 的过度激活来显著减轻细胞因子风暴。**结论** 单独和联合使用青蒿素和槲皮素均能有效地抑制 SARS-CoV-2 S 蛋白介导的细胞因子风暴。

关键词: 青蒿素; 槲皮素; SARS-CoV-2; 棘突蛋白; 细胞因子风暴; 彝族药物

中图分类号: R966 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2023)04-0016-09

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2023.04.004

Artemisinin and Quercetin Inhibit Cytokine Storm Mediated by SARS-CoV-2 Spike Protein

WU Wei^{1,2,4,5}, WU Junxi³, JI Xuxu⁴, LIU Ji⁴, LIU Bin², GENG Fuchang²

(1. Research Institute of Medicine and Herbs of Yi Nationality & Gastroenterology Department, Liangshan Prefecture Integrated Traditional and Western Medicine Hospital, Xichang 615000, China; 2. Good Doctor Pharmaceutical Group Co. Ltd., Chengdu 610000, China; 3. School of Medical and Life Science, Chengdu University of TCM, Chengdu 610000, China; 4. Department of Biochemistry and Molecular Biology, West China School of Basic Medical Science and Forensic Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 5. Remeadjohn Technology Co. Ltd., Chengdu 610044, China)

ABSTRACT: Objective To investigate whether the single or combined treatments with artemisinin and quercetin can improve. **Methods** Cell viability was measured, and then the improvement effects on SARS CoV-2 S protein-mediated cytokine storm by artemisinin or quercetin alone or in combination were detected. **Results** Under the stimulation of SARS CoV-2 S protein, artemisinin or quercetin alone or in combination could significantly alleviate the Cytokine storm by inhibiting the over activation of NFκB. **Conclusion** Both artemisinin and quercetin alone and in combination can effectively inhibit SARS CoV-2 S protein mediated-cytokine storm.

KEY WORDS: artemisinin; quereetin; SAS-CoV-2; spike protein; cytokine storm; medicine and herbs of Yi nationality

根据世界卫生组织 2023 年 2 月 17 日提交的最
新数据提示, 由 SARS-CoV-2 引起的新型冠状病毒
感染(coronavirus disease-2019, COVID-19)流行已造
成全球范围确诊病例感染 7.56 亿, 死亡 684 多万^[1]。
当前, SARS-CoV-2 已衍生出多种变体, 如奥密克戎

的系列变体, 严重变异, 具高度感染风险^[2]。目前疫苗
能否有效预防这些新变体仍在研究中^[3]。基于此, 一
些国家针对预防和抗击新型冠状病毒感染也将替代
疗法纳入了健康指南^[4]。天然化合物具广泛生物活性
和治疗特性, 对新型冠状病毒感染具潜在预防及治疗

基金项目: 凉山州科技计划重点研发项目(20ZDYF0017)

作者简介: 吴伟(1976-), 男, 博士后, 研究方向: 彝医药, Email: weijunhr008@sina.com

* **通信作者:** 刘彬(1976-), 男, 研究员, 研究方向: 中药学, E-mail: liubin00008888@sina.com

作用^[5]。故而,寻求有效且容易获得的天然化合物作为新型冠状病毒感染的替代和补充药物,可能有助于预防和治疗新型冠状病毒感染。

SARS-CoV-2 感染始于病毒 S 蛋白与细胞表面血管紧张素转换酶 2 (angiotensin converting enzyme 2, ACE2) 的结合,这导致病毒颗粒的内吞(细胞进入)和病毒内容物的释放,以允许病毒复制^[6]。分子对接研究表明,SARS-CoV-2 的天然 S 蛋白还可以直接结合并激活 Toll 样受体(Toll like receptor, TLR)[TLR1、TLR4 和 TLR6],这将导致核因子(NF)- κ B[nuclear factor(NF)- κ B, NFKB]通路的激活,从而上调抗病毒和促炎介质的转录^[7]。当免疫反应不受控制时,会引发细胞因子风暴,并导致多器官衰竭^[8]。这种激烈的炎症程度与新冠肺炎和肺损伤的严重程度以及高死亡率密切相关^[9-11]。因此,阻断 S 蛋白介导的 SARS-CoV-2 细胞进入对预防 SARS-CoV-2 感染至关重要,改善 S 蛋白介导的细胞因子风暴被认为是预防新冠肺炎发展到更严重阶段的关键治疗方法。

据古籍记载,中国有一种古老的彝族医药防疫药方。该方是彝族医药采用熏蒸法防治流行性传染病的有效措施,至今仍经常使用。青蒿和侧柏叶是这一古老方剂的主要两种药材。体外研究表明,青蒿热水提取物在体外对 SARS-Cov-2 变体显示出强大的活性^[12]。网络、GO 和 KEGG 分析表明,青蒿通过调节炎症反应、增殖、分化和凋亡来应对新冠肺炎^[13]。基于网络的数据库分析表明,侧柏叶通过增强个人免疫力来管理和缓解呼吸道病毒感染,包括新冠肺炎^[14]。

青蒿素和槲皮素是分别存在于青蒿和侧柏中的主要生物活性化合物^[15-16]。青蒿素在 VeroE6 细胞中测定的预处理或后处理抗 SARS-CoV-2 测定中显示出优异的效果(选择性指数分别为 35 或 54)^[17]。槲皮素在 VeroE6 细胞中测定的抗 SARS-CoV-2 测定中也显示出良好的效果(选择性指数=39.81)^[18]。因此,青蒿素和槲皮素作为彝族医药古代防疫方剂中的主要生物活性成分,单独或联合使用这两种化合物都可能有效预防和治疗新冠肺炎。

基于上述背景,我们的研究旨在调查:青蒿素和槲皮素单用或联合使用是否可以通过抑制 S 新冠病

毒刺突蛋白介导的细胞因子风暴来改善新冠肺炎。

1 材料和方法

1.1 Venn 分析和富集分析 首先,将 COVID-19、青蒿素和槲皮素分别输入 CTD 数据库,下载基因集。分别在基因组之间进行 Venn 分析。其次,交叉部分的基因集被上传到 DAVID 生物信息数据库、PANTHER 数据库、GO(基因本体)数据库、KEGG 数据库、Reactome 数据库和字符串数据库。然后,对这些交叉基因进行富集分析,以评估这些基因对生物过程(BP)、分子功能(MF)、细胞成分(CC)和信号通路的影响。

1.2 细胞、药品和试剂 Vero 细胞来自四川大学生物化学和分子生物学实验室。将细胞保存在补充有 10% FBS 的 Dulbecco 改良 Eagle 培养基(Dulbecco's Modified Eagle's Medium, DMEM)中,并在 37 °C 下用 5% CO₂ 孵育。胎牛血清(Fetal bovine serum, FBS)、Dulbecco's 改良 Eagle (Dulbecco's Modified Eagle Medium, DMEM) 培养基和磷酸盐缓冲盐水(phosphate-buffered saline, PBS)购自 Gibco(Grand Island, NY, USA)。吡咯烷二硫代氨基甲酸铵(Pyroglutathione, PPTC)、青蒿素和槲皮素从 Solarbio 获得。Ebselen 是从 Beyotime 购买的。

1.3 细胞培养 将含有 1 mL Vero E6 细胞悬液冻存管在 37 °C 水浴中快速摇晃解冻,加 4 mL 含 10% FBS 的 DMEM 培养基混合均匀;在 1 000 rpm 条件下离心 4 min,弃去上清液,加 1~2 mL 培养基后用枪轻轻吹打混匀;将 Vero E6 细胞接种至细胞培养板,在 37 °C、体积分数为 5% CO₂ 培养箱中培养过夜;Vero E6 细胞密度达 80%~90%,即可进行传代培养。

1.4 细胞活力测定 将细胞以适宜密度接种到 96 孔板内培养至细胞密度达到约 70%~90%;吸出 96 孔板孔内的培养基,加入适量 PBS 清洗细胞;而后使用无血清 DMEM 培养基和 CCK8 溶液配置反应液(比例为 10:1),混合均匀后,每孔加入 100 μ L 反应液,并设置空白未铺细胞对照孔加入 100 μ L 反应液,放置于 37 °C 和 5% CO₂ 恒温箱内孵育 1 h;在 450 nm 处测量吸光度。

1.5 NFKB p65 转录活性测定 HEK293T-hACE2 细胞用青蒿素、槲皮素、青蒿素+槲皮素或 NFKB 抑制

剂 PDTC 预处理 6 h, 然后与 SARS-CoV-2 S 蛋白孵育 18 h。用 NFκB p65 转录因子试剂盒分析核细胞部分的 NFκB 转录因子活化。使用细胞核和细胞质蛋白提取试剂盒制备细胞质和核细胞组分。通过 BCA 蛋白质测定法测定蛋白质浓度。将 0~2 μg 核提取物在涂有 NFκB p65 共有序列的孔中孵育 1 h。第一次孵育后, 洗涤孔并与 NFκB p65 的特异性一级抗体孵育 1 h。与一级抗体孵育后, 洗涤孔并与 HRP 缀合的二级抗体孵育 1 h, 然后洗涤。向孔中加入化学发光工作溶液, 并使用光度计检测所得信号。据报道, 活性 NFκB 转录因子为每 μg 蛋白质的化学发光。

1.6 使用 ELISA 试剂盒评估 IL-1β、IL-18、IL-6 和 IL-8 如上 (NFκB p65 转录活性测定) 所述处理 HEK293T-hACE2 细胞。收集培养上清液并以 3 000 rpm 离心 20 min。根据说明完成试剂制备。将 100 μL 样品稀释剂、连续稀释的标准品和测试样品作为零孔、标准孔和测试样品孔添加到微量滴定板中, 并在 37 °C 下孵育 2 h。洗涤后, 加入检测抗体并在 37 °C 下孵育 1 h。与抗体孵育后, 洗涤孔并与 HRP 缀合的二级抗体孵育 40 min, 然后洗涤。加入 100 μL 显色溶液, 在 37 °C 的黑暗中显色 15~20 min 后加入停止溶液, 并使用波长为 450 nm 的微板读数仪测量 OD 值。数据分析: 需要从零井的 OD 值中减去每个标准和样品的 OD 值。以标准产品的浓度为横坐标, OD 值为纵坐标, 进行四参数拟合。根据样品的 OD 值, 根据标准曲线计算拟合浓度, 并乘以稀释系数, 以获得样品的测量浓度。

1.7 统计分析 结果以平均值 ± SD 表示。Graphpad Prism 7.0 软件用于分析数据。通过 Student 的非配对 *t* 检验比较两组之间的差异。通过单因素方差分析和事后 Tukey 检验分析不同组间的多重比较。P 值小于 0.05, 被认为是显著的。

2 结果

2.1 Venn 分析和富集分析 来自 Gene 或 Pubchem 数据库的结果显示, 与新冠肺炎、青蒿素和槲皮素相关的基因集中, 经智人过滤的基因数分别为 9 889、30 和 4 149。Venn 分析结果如表 1 和图 1 所示。对基因集 1 和基因集 2、3 或 4 之间的交叉基因进行 GO 术语富集和通路富集分析的结果如下: 1. 新冠肺炎和青蒿素 (24 BP, 18 MF, 0 CC, 75 KEGG 途径和 95 REACTOME 通路), 2. 新冠肺炎和槲皮素 (782 BP、139 MF、128 CC、208 KEGG 通路和 444 REACTOME 通路), 3. 新冠肺炎和青蒿素+槲皮素 (787 BP、145 MF、128 CC、208 KEGG 通路和 444 REACTOME 通路)。根据研究方向, 筛选出富集分析结果中的重要相关项目 (涉及炎症和冠状病毒病-COVID-19 等), 并显示在表 2-7 中。

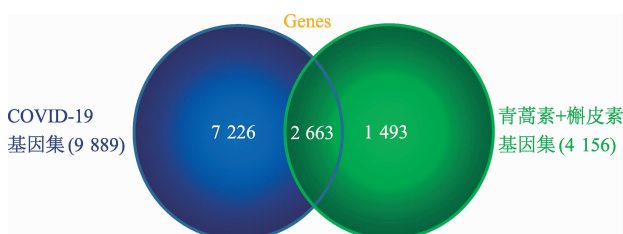


图 1 新冠肺炎和青蒿素+槲皮素之间两组基因的维恩图

表 1 Venn 分析

交集基因数	基因集 1(数量)	基因集 2(数量)	基因集 3(数量)	基因集 4(数量)
28	COVID-19(9 889)	青蒿素(30)		
2 657	COVID-19(9 889)		槲皮素(4 149)	
2 663	COVID-19(9 889)			青蒿素+槲皮素(4 156)

表 2 新冠肺炎与青蒿素交叉基因的 GO 富集分析

GOTERM	Term	Count	%	P-Value	Benjamini
BP	I-kappaB kinase/NF-kappaB signaling	4	14.3	5.10E-05	1.60E-03
BP	inflammatory response	5	17.9	1.30E-03	3.00E-02
MF	IkappaB kinase activity	2	7.1	3.70E-03	3.40E-02

注:BP:生物过程,MF:分子功能,CC:细胞成分。

表3 新冠肺炎与槲皮素交叉基因的GO富集分析

GOTERM	Term	Count	%	P-Value	Benjamini
BP	positive regulation of NF-kappaB transcription factor activity	57	2.1	8.90E-13	1.30E-10
BP	positive regulation of inflammatory response	44	1.7	5.80E-12	6.80E-10
BP	viral entry into host cell	37	1.4	5.70E-09	3.80E-07
BP	cellular response to virus	33	1.2	1.20E-08	7.00E-07
BP	immune response	92	3.5	3.10E-04	5.20E-03
CC	endocytic vesicle membrane	21	0.8	3.20E-04	4.50E-03

注:BP:生物过程,MF:分子功能,CC:细胞成分。

表4 新冠肺炎与青蒿素+槲皮素交叉基因的GO富集分析

GOTERM	Term	Count	%	P-Value	Benjamini
BP	inflammatory response	126	4.7	7.00E-21	2.60E-18
BP	positive regulation of I-kappaB kinase/NF-kappaB signaling	66	2.5	8.70E-14	1.40E-11
BP	viral entry into host cell	37	1.4	6.00E-09	3.80E-07
BP	immune response	92	3.5	3.10E-04	5.30E-03
BP	toll-like receptor 4 signaling pathway	8	0.3	1.60E-03	2.00E-02
CC	endocytic vesicle membrane	21	0.8	3.20E-04	4.50E-03

注:BP:生物过程,MF:分子功能,CC:细胞成分。

表5 新冠肺炎与青蒿素交叉基因的通路富集分析

Category	Term	Count	%	P-Value	Benjamini
KEGG	RIG-I-like receptor signaling pathway	5	17.9	2.70E-05	1.40E-04
KEGG	NF-kappa B signaling pathway	5	17.9	1.30E-04	4.30E-04
KEGG	Toll-like receptor signaling pathway	5	17.9	1.30E-04	4.30E-04
KEGG	Coronavirus disease - COVID-19	5	17.9	2.60E-03	5.60E-03
REACTOME	Diseases of Immune System	5	17.9	4.60E-07	1.60E-05
REACTOME	FCERI mediated NF-kB activation	5	17.9	2.40E-05	3.40E-04
REACTOME	Fc epsilon receptor(FCERI)signaling	5	17.9	1.60E-04	1.00E-03

注:KEGG:KEGG 通路,REACKOME:REACKOME 通路。

表6 新冠肺炎与槲皮素交叉基因的通路富集分析

Category	Term	Count	%	P-Value	Benjamini
KEGG	Toll-like receptor signaling pathway	59	2.2	1.80E-15	1.30E-14
KEGG	NOD-like receptor signaling pathway	81	3	8.30E-13	4.60E-12
KEGG	NF-kappa B signaling pathway	55	2.1	8.90E-13	4.70E-12
KEGG	Coronavirus disease - COVID-19	89	3.3	4.30E-10	1.70E-09
KEGG	Fc epsilon RI signaling pathway	37	1.4	2.90E-09	1.00E-08
KEGG	RIG-I-like receptor signaling pathway	35	1.3	1.30E-07	3.90E-07
REACTOME	Immune System	534	20.1	3.10E-23	1.70E-20
REACTOME	Fcgamma receptor (FCGR)dependent phagocytosis	30	1.1	5.40E-04	4.10E-03

注:KEGG:KEGG 通路,REACKOME:REACKOME 通路。

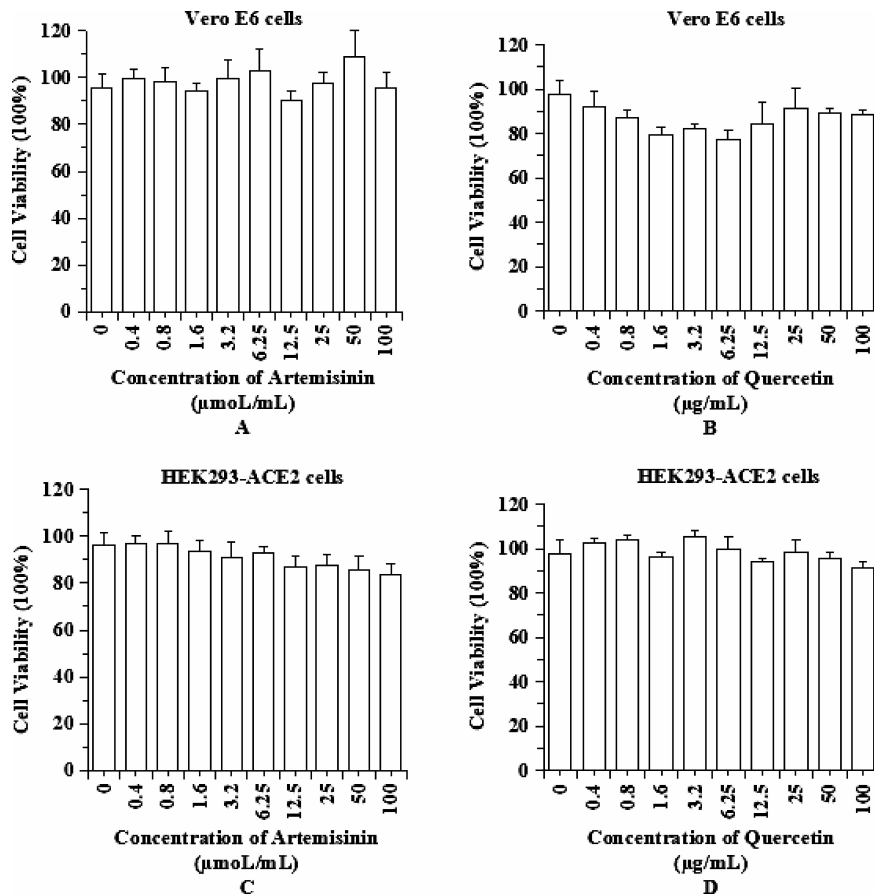
表 7 新冠肺炎与青蒿素+槲皮素交叉基因的通路富集分析

Category	Term	Count	%	P-Value	Benjamini
KEGG	Toll-like receptor signaling pathway	59	2.2	1.90E-15	1.40E-14
KEGG	NOD-like receptor signaling pathway	81	3	9.20E-13	5.00E-12
KEGG	NF-kappa B signaling pathway	55	2.1	9.60E-13	5.10E-12
KEGG	Coronavirus disease - COVID-19	89	3.3	4.70E-10	1.80E-09
KEGG	Fc epsilon RI signaling pathway	37	1.4	3.00E-09	1.10E-08
REACTOME	Immune System	534	20.1	5.10E-23	2.70E-20
REACTOME	SARS-CoV-2 activates/modulates innate and adaptive immune responses	39	1.5	1.00E-03	7.20E-03

注:KEGG:KEGG 通路,REACKOME:REACKOME 通路。

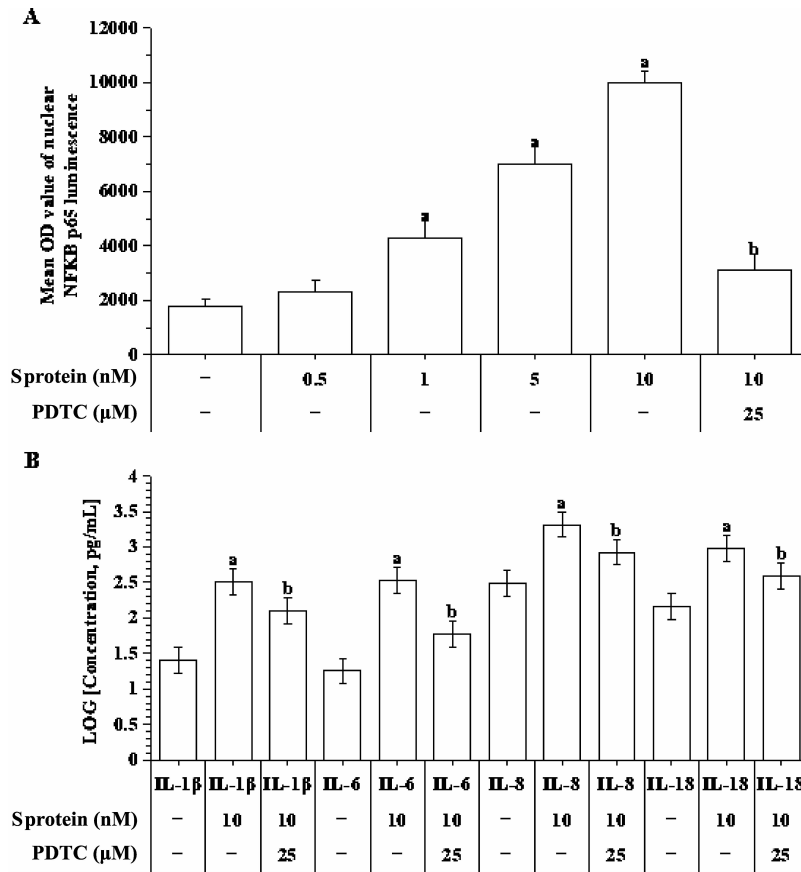
2.2 青蒿素或槲皮素对 Vero E6 或 HEK293-ACE2 细胞的细胞毒性 细胞毒性试验结果表明:用浓度 $\leq 100 \mu\text{M}$ 的青蒿素或槲皮素分别处理 Vero E6 或 HEK293-ACE2 细胞 24 h, 不会导致 Vero E6 和 HEK293-ACE2 细胞活力显著性降低($P>0.05$)(如图 2 所示)。

2.3 SARS-CoV-2S 蛋白通过介导 NFKB 的过度激活诱导细胞因子风暴 基于图 3 所示的数据,对结果的解释如下:1)S 蛋白可以通过以浓度依赖性方式介导 NFKB 的过度激活而显著诱导细胞因子风暴($^aP<0.05$);2)NFKB 抑制剂 PDTC 通过抑制 S 蛋白介导的 NFKB 的过激活而显著逆转细胞因子风暴($^bP<0.05$)。



注: A. 青蒿素, B. 槲皮素。结果用平均值 \pm SD表示。

图 2 青蒿素或槲皮素对 Vero E6 和 HEK293-ACE2 细胞活力的影响



注: A. SARS-CoV-2S 蛋白介导 NFKB 的过度激活, B. SARS-CoV-2S 蛋白诱导细胞因子风暴。结果表示为平均值 ± 标准差。

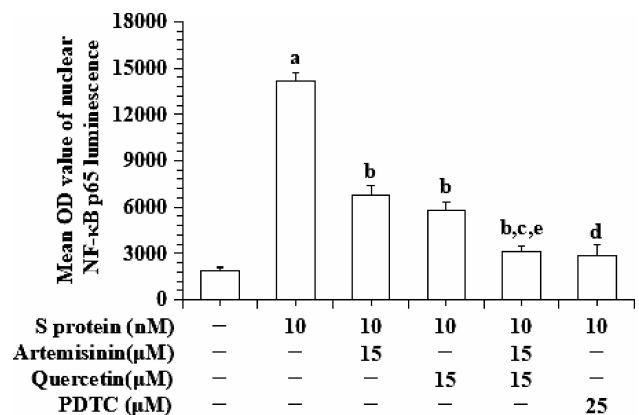
图 3 SARS-CoV-2S 蛋白通过介导 NFKB 的过度激活而诱导细胞因子风暴

2.4 青蒿素和槲皮素对 SARS-CoV-2S 蛋白介导的 NFKB 过度激活引发的细胞因子风暴的逆转作用

如图 4 和图 5 所示, 结果如下: 1) S 蛋白显著诱导 NFKB 的过度激活以介导细胞因子风暴 ($^aP < 0.05$); 2) 青蒿素 (15 μM) 和槲皮素 (15 μM) 单独或联合治疗通过抑制由 S 蛋白介导的 NFKB 的过度激活显著改善了细胞因子风暴 ($^bP < 0.05$); 3) 青蒿素 (15 μM) 和槲皮素 (15 μM) 联合治疗显示出比单独治疗更好的改善效果 ($^cP < 0.05$); 4) NFKB 抑制剂 PDTC 显示出比单独青蒿素 (15 μM) 和槲皮素 (15 μM) 更有效的改善效果 ($^dP < 0.05$); 5) 与 PDTC 相比, 青蒿素 (15 μM) 与槲皮素 (15 μM) 的联合治疗显示出类似的改善效果 ($^eP > 0.05$)。

3 讨论

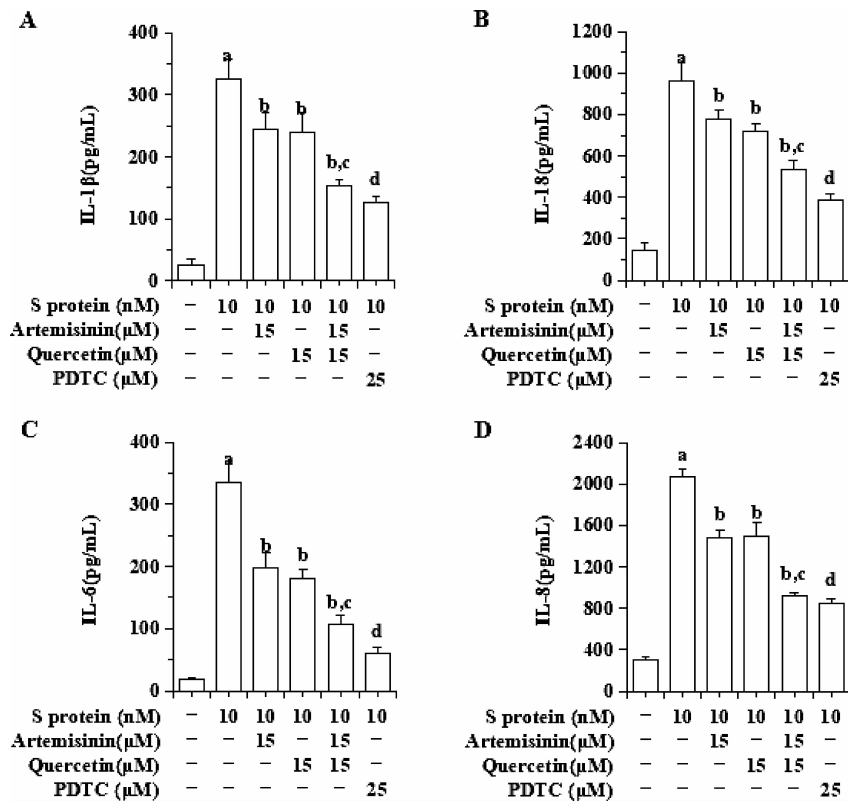
早在 4 000 年前的母系社会, 彝族的医疗活动已经进行了很长时间^[17]。彝族的祖先积累了大量的医学



注: 结果表示为平均值 ± 标准差。

图 4 青蒿素 (15 μM) 和槲皮素 (15 μM) 单独或联合治疗对 S 蛋白介导的 NFKB 过度激活的抑制作用

知识, 包括针灸、药酒和草药, 为进一步研究中国少数民族的医学奠定了宝贵的基础^[17]。民族药物研究对于预防未来毁灭性的流行病紧急情况非常重要^[18]。



注: A. IL-1 β , B. IL-18, C. IL-6, D. IL-8。结果表示为平均值 \pm 标准差。

图 5 青蒿素和槲皮素联合治疗对刺突糖蛋白介导的炎症细胞因子风暴的逆转作用

自 2019 年以来,由 SARS-CoV-2 引起的新冠肺炎疫情对全球健康产生了深远影响^[19]。直到今天,青蒿和侧柏叶一直被彝族用来治疗咳嗽、肺病和呼吸道传染病。本研究证明,青蒿素(浓度 $\leq 100 \mu\text{M}$)或槲皮素(浓度 $\leq 100 \mu\text{M}$)对 Vero E6 和 HEK293-ACE2 细胞没有细胞毒性(图 2)。这与先前的研究结果一致,即青蒿素和槲皮素对 Vero E6 细胞的 CC_{50} 分别为 3.32 mM 和 29.1 mM^[20-21]。根据本研究中的富集分析,可以推测青蒿素、槲皮素或青蒿素+槲皮素可能通过影响病毒介导的炎症反应来防治新冠肺炎(表 2-7)。这些预测需要进一步的实验来证实。

SARS-CoV-2 病毒感染可在体内引发复杂的信号级联反应并刺激 NFKB, NFKB 可诱导炎症细胞因子的转录,并增加 IL-1 β 、IFN- γ 、IP-10、MCP-1、IL-4 和 IL-1057 的分泌^[22]。特别是 TLR4 最可能参与识别 SARS-CoV-2 的分子模式,以诱导炎症反应^[23]。SARS-CoV-2 感染后,宿主的炎症细胞因子风暴通常可能在不受控制的免疫反应下启动,失控的炎症反应可能是 SARS-CoV-2 感染死亡的主要原因^[24]。细胞因

子风暴会通过免疫系统触发宿主细胞的损伤,并与疾病严重程度相关,导致多器官衰竭或死亡^[25]。该研究证明,刺突蛋白可以通过以浓度依赖的方式介导 HEK293T-hACE2 细胞中 NFKB 的过度激活,显著诱导细胞因子风暴(图 3)。青蒿素以其抗疟活性而闻名。除了抗疟活性外,青蒿素还具有抗病毒和免疫调节作用。青蒿素可以抑制多种炎症信号通路,如 MAPK、PI3K/AKT 和 NFKB,抑制淋巴细胞活化,增加调节性 T 细胞的数量,抑制胞质分裂的释放,最终减少炎症损伤^[26-28]。槲皮素具有良好的抗炎和抗病毒作用,可显著减少 IL-6、IL-1 β 、IL-8 和 TNF- α 46 的分泌^[29]。这两种化合物在新型冠状病毒肺炎中都有一定的应用潜力。该研究证明,青蒿素或槲皮素的单独或联合治疗可以通过抑制刺突蛋白介导的 NFKB 的过度激活来显著改善细胞因子风暴,联合治疗显示出比单独治疗更好的效果(图 4 和图 5)。这些结果提示,青蒿素或槲皮素的单独或联合治疗可以通过抑制 SARS-CoV-2 刺突蛋白介导的 NFKB 的过度激活来有效地改善夸大的炎症反应。

4 小结

总之,本项研究结果表明 SARS-CoV-2 刺突蛋白会介导细胞因子风暴。在 SARS-CoV-2 刺突蛋白的刺激下,青蒿素或槲皮素的单独或联合治疗可以通过抑制 NF κ B 的过度激活来显著减轻细胞因子风暴。联合治疗显示出比单独治疗更好的效果。我们的研究为预防和治疗新冠肺炎提供了替代和补充药物的参考。

参考文献:

- [1] MARTÍN-SÁNCHEZ F J, MARTÍNEZ-SELLÉS M, GARCÍA J M M, et al. Insights for COVID-19 in 2023 [J]. *Rev Esp Quimioter*, 2023, 36(2):114-124.
- [2] ARAF Y, AKTER F, TANG YD, et al. Omicron variant of SARS-CoV-2: genomics, transmissibility, and responses to current COVID-19 vaccines[J]. *J Med Virol*, 2022, 94(5):1825-1832.
- [3] FERRE V M, PETFFER-SMADJA N, VISSEAUX B, et al. Omicron SARS-CoV-2 variant: what we know and what we don't[J]. *Anaesth Crit Care Pain Med*, 2022, 41(1):100998.
- [4] AFROZ S, FAIRUZ S, JOTY J A, et al. Virtual screening of functional foods and dissecting their roles in modulating gene functions to support post COVID-19 complications[J]. *J Food Biochem*, 2021, 45(12):e13961.
- [5] HE Y Q, ZHOU C C, YU L Y, et al. Natural product derived phytochemicals in managing acute lung injury by multiple mechanisms[J]. *Pharmacol Res*, 2021, 163:105224.
- [6] XIA X. Domains and functions of spike protein in SARS-CoV-2 in the context of vaccine design[J]. *Viruses*, 2021, 13(1):109.
- [7] CHOUDHURY A, MUKHERJEE S. In silico studies on the comparative characterization of the interactions of SARS-CoV-2 spike glycoprotein with ACE-2 receptor homologs and human TLRs[J]. *J Med Virol*, 2020, 92(10):2105-2113.
- [8] SALLENAVE J M, GUILLOT L. Innate immune signaling and proteolytic pathways in the resolution or exacerbation of SARS-CoV-2 in Covid-19: key therapeutic targets?[J]. *Front Immunol*, 2020, 11:1229.
- [9] LEE L Y W, CAZIER J B, STARKEY T, et al. COVID-19 prevalence and mortality in patients with cancer and the effect of primary tumour subtype and patient demographics: a prospective cohort study[J]. *Lancet Oncol*, 2020, 21(10):1309-1316.
- [10] STEFAN N, BIRKENFELD A L, SCHULZE M B. Global pandemics interconnected—obesity, impaired metabolic health and COVID-19[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2021, 17(3):135-149.
- [11] SINGH A K, GILLIES C L, SINGH R, et al. Prevalence of co-morbidities and their association with mortality in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis[J]. *Diabetes Obes Metab*. 2020, 22(10):1915-1924.
- [12] NAIR M S, HUANG Y, FIDOCK D A, et al. Artemisia annua L. hot-water extracts show potent activity in vitro against Covid-19 variants including delta[J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 284:114797.
- [13] TANG Y, LI X, YUAN Y, et al. Network pharmacology-based predictions of active components and pharmacological mechanisms of Artemisia annua L. for the treatment of the novel Corona virus disease 2019 (COVID-19)[J]. *BMC Complement Med Ther*, 2022, 22(1):56.
- [14] SRIVASTAVA A, JIT B P, DASH R, et al. Thuja occidentalis: an unexplored phytomedicine with therapeutic applications[J]. *Comb Chem High Throughput Screen*, 2023, 26(1):3-13.
- [15] FERREIRA J F, LUTHRIA D L, SASAKI T, et al. Flavonoids from Artemisia annua L. as antioxidants and their potential synergism with artemisinin against malaria and cancer[J]. *Molecules*, 2010, 15(5):3135-3170.
- [16] 石典花, 戴衍朋, 苏本正, 等. 基于一测多评和色度识别的侧柏炭内外在质控方法研究[J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(24):5996-6002.
- [17] ZHANG J Z, CHEN X Y, WU Y J, et al. Identification of active compounds from Yi nationality herbal formula Wosi influencing COX-2 and VCAM-1 signaling [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11:568585.
- [18] QIN D, ZHANG H, ZHANG H, et al. Anti-osteoporosis effects of osteoking via reducing reactive oxygen species [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 244:112045.
- [19] YADAV T, KUMAR S, MISHRA G, et al. Tracking the COVID-19 vaccines: the global landscape[J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2023, 19(1):2191577.
- [20] ZHOU Y, GILMORE K, RAMIREZ S, et al. In vitro efficacy of artemisinin-based treatments against SARS-

- CoV-2[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1):14571.
- [21] YI L, LI Z, YUAN K, et al. Small molecules blocking the entry of severe acute respiratory syndrome coronavirus into host cells[J]. *J Virol*, 2004, 78(20):11334-11339.
- [22] FORSYTH C B, ZHANG L, BHUSHAN A, et al. The SARS-CoV-2 S1 spike protein promotes MAPK and NF- κ B activation in human lung cells and inflammatory cytokine production in human lung and intestinal epithelial cells[J]. *Microorganisms*, 2022, 10(10):1996.
- [23] CHOUDHURY A, MUKHERJEE S. In silico studies on the comparative characterization of the interactions of SARS-CoV-2 spike glycoprotein with ACE-2 receptor homologs and human TLRs[J]. *J Med Virol*, 2020, 92(10):2105-2113.
- [24] RATAJCZAK M Z, KUCIA M. SARS-CoV-2 infection and overactivation of Nlrp3 inflammasome as a trigger of cytokine "storm" and risk factor for damage of hematopoietic stem cells[J]. *Leukemia*, 2020, 34(7):1726-1729.
- [25] HUANG C, WANG Y, LI X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China[J]. *Lancet*, 2020, 395(10223):497-506.
- [26] 陈剑虹, 张晓梅, 黄之镨, 等. 天然过氧化物的来源与药理活性研究进展[J]. *云南中医学院学报*, 2018, 41(5):96-102.
- [27] MENG Q F, ZHANG X X, ZHANG Z, et al. Therapeutic potential of artesunate in experimental autoimmune myasthenia gravis by upregulated T regulatory cells and regulation of Th1/Th2 cytokines[J]. *Pharmazie*, 2018, 73(9):526-532.
- [28] SHI C, LI H, YANG Y, et al. Anti-inflammatory and immunoregulatory functions of artemisinin and its derivatives[J]. *Mediators Inflamm*, 2015, 2015:435713.
- [29] WU T C, CHAN S T, CHANG C N, et al. Quercetin and chrysin inhibit nickel-induced invasion and migration by downregulation of TLR4/NF- κ B signaling in A549 cells[J]. *Chem Biol Interact*, 2018, 292:101-109.

(收稿日期:2022-12-07)

(上接第 15 页)

- for arterial hypertension or for hyperlipidaemia[J]. *Acta Diabetol*, 1998, 35(3):130-136.
- [24] 魏军平, 晏蔚田. 2 型糖尿病合并肥胖的中西医防治策略述评[J]. *医学研究杂志*, 2022, 51(1):1-5.
- [25] 葛惠娜, 孙华磊, 于斐, 等. 2 型糖尿病患者 BMI 与胰岛 β 细胞功能及胰岛素抵抗的相关性研究[J]. *预防医学情报杂志*, 2017, 33(8):723-728.
- [26] LEAN M E J, LESLIE W S, BARNES A C, et al. Durability of a primary care-led weight-management intervention for remission of type 2 diabetes: 2-year results of the DiRECT open-label, cluster-randomised trial[J]. *Lancet Diabetes & Endocrinology*, 2019, 7(5):344-355.
- [27] 林燕, 余湘尤, 李婧, 等. 体质指数对糖尿病患者胰岛影响的分析[J]. *贵州医药*, 2022, 46(5):753-755.
- [28] 姜帅. 2 型糖尿病患者空腹血糖水平与胰岛素抵抗、胰岛素分泌指数的相关性研究[J]. *按摩与康复医学*, 2016, 7(17):37-38.
- [29] 付晓峰, 褚茜茜. 新诊断 2 型糖尿病患者糖化血红蛋白水平与胰岛 β 细胞功能指数的关系[J]. *河南医学研究*, 2022, 31(16):2967-2971.
- [30] 吕鹏, 张师静, 陈巧敏, 等. 青年糖尿病前期患者血糖水平与 BMI 的相关性研究[J]. *中国现代医药杂志*, 2023, 25(1):56-59.
- [31] 马良桂, 张惠莉. 糖化血红蛋白的临床应用进展[J]. *世界最新医学信息文摘*, 2019, 19(66):63-64.
- [32] 刘焯, 王海宁. 2021 年 ADA/EASD《糖尿病缓解专家共识》与《2022 年 ADA 糖尿病指南: 2 型糖尿病的预防和治疗中肥胖与体重管理》解读-糖尿病缓解的定义与治疗策略[J]. *临床内科杂志*, 2022, 39(5):299-302.

(收稿日期:2022-12-29)