

网络出版时间: 2022-04-01 15:19 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.r.20220330.1422.030.html>

◇技术与方法◇

莪术油注射液抗新型冠状病毒作用的体内外研究

周园园¹, 戴志娟², 张淑君², 李岳春², 戴元荣³, 王贺⁴, 吴海林⁵, 冯梦晴⁶, 李校堃⁷, 黄晓晖¹, 朱光辉²

摘要 体外制备严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 (SARS-CoV-2) 类病毒细胞株, 用不同浓度莪术油处理类病毒细胞株, 观察检测细胞数和相对荧光值 (RLU), 计算其半数有效抑制浓度 (IC₅₀); 临床纳入新型冠状病毒肺炎患者 4 例, 对照组和试验组各 2 例, 对照组常规治疗, 试验组在常规治疗的基础上联用莪术油注射液, 观察患者核酸转阴率、转阴时间、肺部影像学变化、退热时间、临床改善时间和不良事件发生情况等。体外实验, 随着莪术油浓度增加, 相对荧光值逐渐降低, 与对照组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), IC₅₀ 值为 0.26 μg/ml; 体内研究: 试验组病例 1 粪便新型冠状病毒核酸 3 d 转阴, 病例 2 咳嗽症状明显缓解, 观察肺部影像学有明显吸收; 对照组咽拭子新型冠状病毒核酸转阴时间分别为 5.7 d。试验组均无不良事件发生。莪术油体外对 SARS-CoV-2 类病毒具有较强抑制作用, 且具有浓度依赖性。COVID-19 在常规治疗的基础上联用莪术油注射液可改善患者因 SARS-CoV-2 感染引起的咳嗽、促进 SARS-CoV-2 转阴及肺部病灶吸收, 降低肺损伤, 且未产生明显的不良事件。

关键词 莪术油注射液; 严重急性呼吸综合征冠状病毒 2; 抗病毒活性

中图分类号 R 969.4; R 965.2

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2022)04-0664-05
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.04.030

2022-03-17 接收

基金项目: 浙江大学新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 应急科研专项 (编号: 2020XGZX029); 温州市新型冠状病毒肺炎疫情防控应急攻关项目 (编号: ZY202002); 温州新型冠状病毒肺炎回溯性流调研究 (编号: 2020C03131)

作者单位: ¹ 安徽医科大学药学院, 合肥 230032

温州医科大学附属第二医院² 药剂科、³ 呼吸科, 温州 325035

⁴ 上海中医药大学中药学院, 上海 201203

⁵ 合肥市未来药物开发有限公司, 合肥 242811

⁶ 合肥中科普瑞昇生物医药科技有限公司, 合肥 242811

⁷ 温州医科大学药学院, 温州 325035

作者简介: 周园园, 女, 硕士研究生;

黄晓晖, 男, 教授, 博士生导师, 责任作者, E-mail: aydice@126.com;

朱光辉, 男, 主任药师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: leylhy@126.com

新型冠状病毒疾病 2019 (coronavirus disease 2019, COVID-19), 由严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2) 引起, 已成为全球突发公共卫生事件^[1]。患者以发热为主要表现。严重者发展为急性呼吸窘迫综合征、脓毒症休克等。确诊患者死亡率达 4.3%^[2]。目前尚无特效药物, 国家卫健委先后发布了多版诊疗方案, 推荐使用安宫牛黄丸和醒脑静注射液, 其组方中均含莪术^[3]。莪术根茎提取的莪术油为莪术油注射液的主要成分, 具有抗肿瘤、抗炎、抗病原体等多种药理作用。研究显示 SARS-CoV-2 与 SARS 中的酶具有高水平的序列相似性^[4], SARS 患者进行中西医结合治疗 (憋喘期, 联用莪术油注射液), 临床症状严重程度显著改善, 重症患者病死率低^[5-7]。故推测莪术油注射液对 SARS-CoV-2 也可能有效。现对莪术油注射液体内外抗新型冠状病毒作用进行研究, 评价该药治疗 COVID-19 的有效性和安全性, 以期为 COVID-19 治疗提供更多的证据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药物与细胞株 莪术油 (浙江天瑞药业有限公司, 批号: 5190527, 浓度: 1 000 μg/ml); 莪术油注射液 (浙江天瑞药业有限公司, 莪术油含量 10 ml: 0.1 g, 国药准字 H20064312)。人肾上皮细胞株 293 T (由中科院合肥物质科学研究院健康所惠赠)。

1.1.2 试剂与仪器 转染试剂 Lipofiter 3.0 [汉恒生物科技 (上海) 有限公司, 货号: HB-LF3-4000]; Opti-MEM (1X) (赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司, 货号: 31985-070); Renilla-Glo 荧光素酶检测系统 (普洛麦格生物技术有限公司, 货号: E2720); pHB-pAX 2、SARS-CoV-2 S、ACE 2-pcDNA 3.1 由合肥中科普瑞昇生物医药科技有限公司构建。细胞计数仪 (上海睿钰生物科技有限公司, 型号: IC1000), 酶标仪 (珀金埃尔默股份有限公司, 型号: EnVision)。

1.2 莪术油体外抗新冠类病毒作用实验 采用 Renilla-Glo 荧光素酶检测系统检测莪术油抗 SARS-CoV-2 类病毒活性作用。

1.2.1 细胞培养 从液氮中取出冻存的 293T 细胞, 37 °C 融化复苏细胞, 在超净工作台内, 将细胞悬液转移到含有 2 ml 培养基的无菌离心管中, 800 r/min 离心 5 min, 弃去上清液, 加入适量 DMEM 完全培养基重悬细胞后转移至培养皿中, 置于恒温培养箱(培养条件为 37 °C、5 % CO₂、相对湿度 75%) 中培养两代, 待测试。

1.2.2 类病毒及 293T-ACE2 细胞准备 提前 20 ~ 24 h 将 293 T 细胞接种至 6 孔板中, 当细胞汇合度达到 60% ~ 70% 时, 分别使用转染试剂 Lipofiter 3.0 将 3 μg 质粒 [pHB: pAX 2: SARS-CoV-2 S (2 : 2 : 1)] 和 3 μg 质粒 (ACE2-pcDNA 3.1) 进行包装转染, 将 6 孔板在 37 °C、5% CO₂ 培养, 转染 48 h 后收取病毒上清溶液, 病毒立即使用或 -80 °C 冻存保管。

1.2.3 细胞消化 瞬时转染 48 h 后, 用胰酶将 293T-ACE2 消化, 用完全培养基重悬细胞后, 利用细胞计数仪进行计数后, 接种至 96 孔板, 每孔体积为 50 μl (25 000 个细胞/孔), 在 37 °C、5 % CO₂ 培养 12 h, 待细胞贴壁。

1.2.4 溶液制备 取莪术油 50 μl, 加入 50 μl DMEM, 先横向梯度设置 2 × 稀释, 再纵向稀释 10 倍, 取 10 μl 加 96 孔板, 重复 3 次。

1.2.5 铺板读数 取出培养箱中贴壁 12 h 的 96 孔白色细胞培养板, 取 10 μl 制备好的样品溶液加入上述含有 50 μl 细胞的 96 孔培养板中, 每个浓度梯度 3 个复孔, 将培养板置于 37 °C、5 % CO₂ 培养箱中孵育 1 h 后, 每孔加入 40 μl 制备完成的类病毒溶液, 并加入终浓度 6 μg/ml 的增强剂, 再将培养板置于 37 °C、5 % CO₂ 培养箱中孵育 24 h 后更换 100 μl 新鲜的 DMEM 完全培养基继续培养 24 h 后检测。将 Renilla-Glo 荧光素酶检测系统检测试剂融化并放置至室温, 取出细胞培养板放置 10 min 使其平衡至室温, 在每孔中加入 100 μl 的检测试剂, 将培养板在轨道摇床上振摇 2 min 以诱导细胞裂解, 培养板在室温放置 5 min 以稳定发光信号, 在酶标仪读板器上检测发光信号。酶标仪检测得出对应的每孔荧光值 (relative light unit, RLU)。计算不同浓度化合物对应的相对荧光值 RLU 比率 (%) 采用下列公式: 相对荧光值 RLU 比率 (%) = $RLU_{DRUG} / RLU_{DMSO} \times 100\%$ 。

1.3 莪术油注射液体内抗新型冠状病毒作用研究

采用随机、开放、平行对照临床试验设计。该项临床研究申办方为合肥市未来药物开发有限公司, 并已获得温州医科大学附属第二医院医学伦理委员会批准(伦理批准编号: LCKY2020-11)。

1.3.1 研究对象 选取 2020 年 2 月至 3 月在温州医科大学附属第二医院瓯江口院区住院且同意(签署知情同意书)参加本试验的新冠肺炎患者, 随机分配至试验组或对照组, 两组等比例分配。

1.3.2 纳入和排除标准 纳入标准: ① 年龄 ≥ 18 周岁, 性别不限; ② 咽拭子标本实时荧光 RT-PCR 检测新型冠状病毒核酸阳性, 或咽拭子阴性伴肺部影像学未完全吸收; ③ 临床分型为普通型或重型; ④ 已签署知情同意书。

排除标准: ① 已知或怀疑对莪术油注射液组成成分过敏, 或过敏体质。② 轻型与危重型患者。③ 合并严重的肝脏疾病(如 Child-Pugh 评分 ≥ C 级, 总胆红素 (total bilirubin, TBIL) ≥ 2 倍正常值上限, 谷丙转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT) / 谷草转氨酶 (aspartate aminotransferase, AST) ≥ 5 倍正常值上限)。④ 合并有重度肾功能不全 [估算的肾小球滤过率 (estimated glomerular filtration rate, eGFR) ≤ 30 ml/(min · 1.73 m²)] 或正在接受连续性肾脏替代治疗、血液透析、腹膜透析。⑤ 妊娠期、哺乳期妇女或在试验期间及结束 6 个月内有生育计划。⑥ 入组前 3 个月内参加过其他临床试验。⑦ 根据研究者的判断, 具有不适合参加本试验的其他情况者。

1.3.3 治疗方法 所有受试者统一按照《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第六版)》^[3] 给予常规治疗: 选用 α-干扰素(每次 500 万 U 或相当剂量, 加入灭菌注射用水 2 ml, 每日 2 次雾化吸入) 和利巴韦林 (500 mg/次, 每日 2 至 3 次静脉输注, 疗程不超过 10 d), 同时给予有效氧疗措施; 试验组将在常规治疗基础上给予莪术油注射液 20 ml 于 250 ml 0.9% 氯化钠注射液稀释后缓慢滴注, 每日 1 次, 连续用药 7 d, 不满 7 d 出院则用至出院时(停药后观察期不满 14 d 提前出院者需在满 14 d 后回院访视)。

1.3.4 观察指标 主要疗效指标: ① 咽拭子标本实时荧光 RT-PCR 检测新型冠状病毒核酸转阴率(用药结束后) 和转阴时间; ② 临床改善的时间 (time to clinical improvement, TTCI); ③ 通过胸部 CT 检查病变区域的大小变化情况; ④ 退热时间。

次要疗效指标: ① 临床恢复时间 (time to clinical recovery, TTCR) 定义: 从开始治疗到发热、呼吸频率、血氧饱和度转为正常和咳嗽症状消失, 持续至

少 48 h。正常的评估标准: 发热: 腋温 $\leq 37\text{ }^{\circ}\text{C}$; 呼吸频率: ≤ 24 次/min(室内空气下, 如果患者吸氧, 需注明氧疗方式及浓度); 血氧饱和度: $> 93\%$ (室内空气下, 如果患者吸氧, 需注明氧疗方式及浓度)。
 ② 病情进展的病例比例参照《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第六版)》, 病情分型由普通型转为重型/危重型以及重型进展为危重型的病例比例。
 ③ 咳嗽消失率和消失时间: 入组时存在咳嗽的受试者咳嗽症状消失的时间和病例比例。
 ④ 全因死亡率。

安全性指标: 收集与监测发生的不良反应, 静脉滴注过快可有胸闷、面部潮红、呼吸困难等症状。

1.4 统计学处理 莪术油体外抗新型冠状病毒作用实验运用 GraphPad 7.0 Prism 软件进行 ANOVA 单因素方差分析。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。莪术油注射液体抗新型冠状病毒作用研究采用描述性统计。

2 结果

2.1 莪术油体外抗新型冠状病毒作用实验结果分析 用酶标仪检测 0.39、0.78、1.56、3.13、6.25、12.50、25.00、50.00、100.00 $\mu\text{g/ml}$ 莪术油处理后的 SARS-CoV-2 类病毒细胞株(图 1), 结果显示, 随着莪术油浓度增加, 相对荧光值逐渐减弱, 与 0 $\mu\text{g/ml}$ 莪术油组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$) , IC50 值为 0.26 $\mu\text{g/ml}$ (图 2)。

2.2 莪术油注射液体抗新型冠状病毒作用研究结果分析

2.2.1 患者入组及用药情况 试验拟招募患者 60 例, 因浙江省温州市新冠疫情得到有效控制, 研究实际入组 COVID-19 普通型患者 4 例, 试验组和对照组各 2 例, 两组均为男性, 入组时肝肾功能、生命体

征均正常, 其中试验组年龄大于对照组, 试验组病例 2 表现为频繁咳嗽, 且无相关既往病史。根据患者诊疗进程, 试验组病例 1、2 分别使用莪术油注射液 4 天和 7 天。

2.2.2 疗效指标 研究纳入的所有患者体温、呼吸均正常, 试验组病例 1 粪便新型冠状病毒核酸用药后 3 d 转阴, 试验组病例 2 咳嗽症状明显缓解, 无一例发展为重症。对照组咽拭子转阴时间分别为 5、7 d。所有患者肺部影像学均有不同程度吸收, 以试验组病例 2 吸收较明显(图 3) 3 月 1 日左右下肺出现

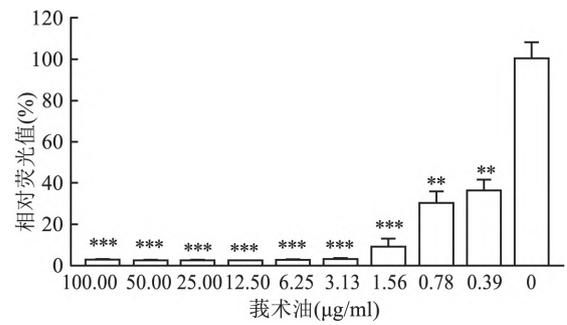


图 1 不同浓度莪术油诱导 SARS-CoV-2 类病毒细胞后的活性与 0 $\mu\text{g/ml}$ 莪术油组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

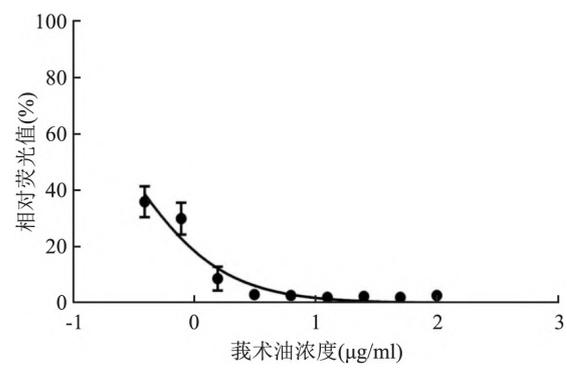


图 2 莪术油对 SARS-CoV-2 类病毒的浓度抑制曲线



图 3 试验组病例 2 肺部影像学(CT)变化
 A: 3 月 1 日; B: 3 月 8 日; C: 3 月 24 日

阴影,呈磨玻璃密度影,病灶里的肺间质有些增厚。3月2日患者开始接受莪术油注射液治疗,3月8日复查,肺泡内渗出液逐渐被吸收,阴影减小。出院后2、4周随访所有患者新型冠状病毒核酸呈阴性,血常规、肝肾功能无异常,试验组病例2肺部影像学阴影逐渐消失,且肺间质增厚改善。

2.2.3 安全性分析 在应用莪术油注射液联合常规治疗过程中,血常规、肝肾功能等实验室检查均未出现加重情况。与治疗前比较,所有患者除原有的呼吸道症状之外,均未出现新的不适症状或加重体征情况。

3 讨论

莪术油注射液具有显著抗病毒功效(如流感病毒、呼吸道合胞病毒等)^[8-10],《浙江省抗新冠肺炎临床诊疗用药推荐目录》推荐其为抗新冠肺炎药物。秦宇雯等^[6]总结中药莪术抗病毒的作用机制研究,发现其可能通过抑制病毒 NP 蛋白,调控 PI 3 K/Akt/mTOR 信号通路,直接灭活病毒,抑制相关炎症因子,抗肺纤维化等途径实现抗 COVID-19。推测莪术可降低新冠肺炎患者炎症水平,改善患者咳嗽、发热、肺部啰音等体征,同时在抑制病毒复制和感染,提升机体免疫力和改善患者肺功能损伤程度等方面发挥作用,且无激素类药物的不良反应^[6-7,11-13]。

本研究从细胞水平和临床研究两方面探讨了莪术油注射液抗新型冠状病毒作用。通过体外制备 SARS-CoV-2 类病毒细胞株,用 9 组不同浓度莪术油进行处理,观察和记录细胞数及相对荧光值,计算 IC₅₀ 值为 0.26 μg/ml(黄芪醇提取物的体外抗柯萨奇病毒效果与利巴韦林接近,其 IC₅₀ 值为 (6.4 ± 0.5) μg/ml,表明莪术油对 SARS-CoV-2 类病毒活性有较强抑制作用,且具有浓度依赖性。莪术油注射液治疗 COVID-19 的随机开放平行对照研究显示,试验组在常规治疗基础上联用莪术油注射液,患者核酸转阴时间缩短,可能改善 SARS-CoV-2 感染引起的咳嗽等症状,促进 SARS-CoV-2 转阴及肺部病灶吸收,降低肺损伤,并且相对安全。

综上所述,体内外研究显示,莪术油注射液具有较强的抗新型冠状病毒活性作用,对于 COVID-19 患者的救治可能具有重要的临床价值。需要指出的是,由于项目启动时间晚,研究立项审批通过时国内疫情已得到很好控制,实际可入组患者少,造成整体

研究样本量偏少。另外,因本研究纳入患者所在病房为隔离病房,管控严格,入组患者详细治疗数据无法进行充分记录,致使部分原始研究数据缺失。且入组时样本病程已较长,故结果存在不确定性,确切的临床疗效尚需大样本、前瞻性临床研究进行评价,如追踪病毒的复阳率、肺部影像学转归等。但基于现有莪术油的体内外及药理学研究,后期可扩大莪术油注射液治疗 COVID-19 临床研究范围,为莪术油等相关产品的开发应用和 COVID-19 的治疗提供有力的科学依据。

参考文献

- [1] 高越,刘伯玉,任翠平等. 新型冠状病毒核酸荧光型 RT-RAA 检测方法的建立及其评价[J]. 安徽医科大学学报, 2021, 56(6): 980-5.
- [2] Wang D W, Hu B, Hu C, et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus - infected pneumonia in Wuhan, China[J]. JAMA 2020, 323(1): 1061-9.
- [3] 国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第六版)[S]. 2020.
- [4] Li G, De Clercq E. Therapeutic options for the 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) [J]. Nat Rev Drug Discov 2020, 19(3): 149-50.
- [5] 潘俊辉,杨辉,喻清和,等. Sars 中医药介入 71 例临床研究[C]//中国中西医结合学会. 华北五省市及广东省中西医结合防治 SARS 学术会议论文集. 北京: 中国中西医结合学会, 2003: 146-50.
- [6] 秦宇雯,赵祺,李校堃,等. 温郁金抗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的机制探索[J]. 中草药, 2020, 51(8): 1977-83.
- [7] 姜程曦,郭月琴,张淑君,等. 莪术油注射液协同治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)可行性浅析[J]. 中草药, 2020, 51(11): 3062-9.
- [8] 尹国平,张清哲,安月伟,等. 温郁金化学成分及药理活性研究进展[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(22): 354-60.
- [9] 乔润英. 莪术油治疗病毒性肺炎的临床观察[J]. 山西医药杂志, 2011, 40(11): 1130-1.
- [10] 阎广信,傅文永,金慧敏,等. 莪术油注射液治疗急性上呼吸道感染疗效观察[J]. 白求恩医科大学学报, 19(4): 383-4.
- [11] 褚扬,周王谊,吴江,等. 新型冠状病毒肺炎治疗中应关注肝损伤及防治中药概述[J]. 世界中医药杂志, 2020, 15(2): 129-33.
- [12] Xu X W, Wu X X, Jiang X G, et al. Clinical findings in a group of patients infected with 2019 novel coronavirus (SARS-Cov-2) outside of Wuhan, China: Retrospective case series [J]. BJM, 2020, 368: 606.
- [13] 宣自学,张国兵,叶晓兰,等. 新型冠状病毒肺炎患者肝损的原因分析[J]. 中国药理学通报, 2020, 36(4): 591-2.

(下转第 672 页)

- lncRNA BAN are associated with gastric cancer metastasis and poor prognosis[J]. *Mol Oncol* ,2020 ,14(4) : 829 – 45.
- [29] Wang W J , Guo C A , Li R , et al. Long non-coding RNA CASC19 is associated with the progression and prognosis of advanced gastric cancer[J]. *Aging (Albany NY)* ,2019 ,11(15) : 5829 – 47.
- [30] Biagioni A , Skalamera I , Peri S , et al. Update on gastric cancer treatments and gene therapies[J]. *Cancer Metastasis Rev* ,2019 , 38(3) : 537 – 48.
- [31] Fang Q , Chen X , Zhi X. Long non-coding RNA (lncRNA) urothelial carcinoma associated 1 (UCA) increases multi-drug resistance of gastric cancer *via* downregulating miR27b[J]. *Med Sci Monit* ,2016 22: 3506 – 13.
- [32] Shang C , Guo Y , Zhang J , et al. Silence of long noncoding RNA UCA1 inhibits malignant proliferation and chemotherapy resistance to adriamycin in gastric cancer[J]. *Cancer Chemother Pharmacol* , 2016 ,77(5) : 1061 – 7.
- [33] Du P , Hu C , Qin Y , et al. LncRNA PVT1 mediates antiapoptosis and 5-fluorouracil resistance *via* increasing Bcl2 expression in gastric cancer[J]. *J Oncol* ,2019 2019(9325407) : 1 – 10.
- [34] Zhang X W , Bu P , Liu L , et al. Overexpression of long non-coding RNA PVT1 in gastric cancer cells promotes the development of multidrug resistance[J]. *Biochem Biophys Res Commun* ,2015 , 462(3) : 227 – 32.
- [35] Zhao J , Du P , Cui P , et al. LncRNA PVT1 promotes angiogenesis *via* activating the STAT3/VEGFA axis in gastric cancer[J]. *Oncogene* ,2018 37(30) : 4094 – 109.
- [36] Courtois S , Lehours P , Bessède E. The therapeutic potential of metformin in gastric cancer [J]. *Gastric Cancer* ,2019 ,22(4) : 653 – 62.
- [37] Li P , Tong L , Song Y , et al. Long noncoding RNA H19 participates in metformin-mediated inhibition of gastric cancer cell invasion[J]. *J Cell Physiol* ,2019 234(4) : 4515 – 27.

(上接第 667 页)

Antivirus activity of *Zedoary Turmeric Oil Injection* against SARS-CoV-2 *in vitro* and *in vivo*

Zhou Yuanyuan¹ , Dai Zhijuan² , Zhang Shujun² , Li Yuechun² , Dai Yuanrong³ , Wang He⁴ ,
Wu Hailin⁵ , Feng Mengqing⁶ , Li Xiaokun⁷ , Huang Xiaohui¹ , Zhu Guanghui²

(¹ *School of Pharmacy , Anhui Medical University , Hefei 230032*; ² *Dept of Pharmacy ,*

³ *Dept of Respiratory Medicine , The Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University , Wenzhou 325035*;

⁴ *School of Chinese Materia Medica , Shanghai University of Chinese Medicine , Shanghai 201203*;

⁵ *Hefei Future Drug Development Co. LTD Hefei 242811*; ⁶ *Hefei Zhongkupresen Biomedical Technology Co. LTD , Hefei 242811*; ⁷ *School of Pharmacy , Wenzhou Medical University , Wenzhou 325035*)

Abstract To study the antiviral effect of *Zedoary Turmeric Oil Injection* on novel coronavirus , SARS-CoV-2 viroid cell lines were prepared *in vitro* and treated with different concentrations of *Zedoary Oil*. The cell number and relative fluorescence value (RLU) were observed and measured , and the 50% effective inhibitory concentration (IC50) was calculated. Four patients with Coronavirus Disease 2019 were clinically included , including 2 in the control group and 2 in the experimental group. The control group received conventional treatment , and the experimental group received *Zedoary Turmeric Oil Injection* in addition to conventional treatment. The nucleic acid conversion rate , conversion time , pulmonary imaging changes , fever reduction time , clinical improvement time and adverse events of the patients were observed. *In vitro* experiment , the relative fluorescence value decreased with increasing concentration of *Zedoary Turmeric Oil* , which was significantly different from that of the control group ($P < 0.05$). The IC50 was 0.26 $\mu\text{g/ml}$. *In vivo* study , the novel coronavirus nucleic acid in stool of case 1 in the test group turned negative in 3 days , the cough symptom of case 2 was significantly relieved , and there was obvious absorption in pulmonary imaging. The negative conversion time of novel coronavirus nucleic acid in the control group was 5 and 7 days respectively. No adverse events occurred in the experimental group. *Zedoary Turmeric Oil* had strong inhibitory effect on SARS-COV-2 virus *in vitro* which was dose-dependent. *In vivo* treatment of COVID-19 , *Zedoary Turmeric Oil Injection* combined with conventional treatment can improve the cough caused by SARS-COV-2 infection , promote SARS -COV-2 to turn negative , promote absorption of lung lesions , and reduce lung injury , with no obvious adverse events.

Key words *Zedoary Turmeric Oil Injection*; SARS-CoV-2 virus; antiviral activity