



中国中药杂志
China Journal of Chinese Materia Medica
ISSN 1001-5302, CN 11-2272/R

《中国中药杂志》网络首发论文

题目： 基于临床经验和分子对接技术的抗新型冠状病毒中医组方快速筛选模式及应用

作者： 牛明, 王睿林, 王仲霞, 张萍, 柏兆方, 景婧, 郭玉明, 赵旭, 湛小燕, 张子腾, 宋雪艾, 秦恩强, 王伽伯, 肖小河

DOI: 10.19540/j.cnki.cjcmm.20200206.501

收稿日期: 2020-02-03

网络首发日期: 2020-02-07

引用格式: 牛明, 王睿林, 王仲霞, 张萍, 柏兆方, 景婧, 郭玉明, 赵旭, 湛小燕, 张子腾, 宋雪艾, 秦恩强, 王伽伯, 肖小河. 基于临床经验和分子对接技术的抗新型冠状病毒中医组方快速筛选模式及应用. 中国中药杂志.
<https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcmm.20200206.501>



网络首发: 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认: 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

基于临床经验和分子对接技术的抗新型冠状病毒中医组方快速筛选模式及应用

牛明^{1#}, 王睿林^{2#}, 王仲霞^{2#}, 张萍², 柏兆方¹, 景婧², 郭玉明¹, 赵旭¹, 湛小燕¹, 张子腾¹, 宋雪艾², 秦恩强³✉, 王伽伯¹✉, 肖小河^{1,2}✉

(1. 解放军总医院 第五医学中心 全军中医药研究所, 北京 100039; 2. 解放军总医院 第五医学中心 中西医结合中心, 北京 100039; 3. 解放军总医院 第五医学中心 感染性疾病诊疗与研究中心, 北京 100039)

✉通信作者 肖小河,E-mail:pharmacy302@126.com; 王伽伯,E-mail:wjb0128@126.com; 秦恩强,E-mail:qeq2004@sina.com

摘要 2019年12月中上旬以来,新型冠状病毒疫情肆虐全国并波及海外20余个国家和地区,目前主要是对症支持治疗,还没有针对性的有效药物和疫苗。充分借鉴中医药防治SARS等重大疫病的理论和经验,利用现代生物医学知识和研究手段,快速形成有效的中医药防治方案,是中医药应对新突发传染病的重要使命和有力抓手。鉴于新型冠状病毒与SARS病毒的基因序列具有较高的同源性,且二者在致病机制和临床表现等方面也有较大的相似性,该团队探索建立了基于临床经验和分子对接技术的抗新型冠状病毒中医组方快速筛选模式(简称分子对接辅助中医组方),即组织临床小组和研究小组,分别采用不同策略和方法“背靠背”筛选中医方药,然后对2组筛选结果进行比对和整合分析,优化形成中医药防治方案。结果表明,研究小组从国家及各省市公布的中医药抗SARS和新型冠状病毒方案中,筛选发现46个能作用于新型冠状病毒S-蛋白与人体ACE2结合区域且具有较高结合能的中药活性成分,主要归属于金银花、桑叶等7味中药,与临床小组根据中医理论和临床经验所拟中医组方的主要药味具有较好的吻合度,这从治疗靶标分析角度为中医组方的科学性和潜在疗效提供了佐证。同时提示,中医组方除可能改善临床症状或证候外,还具有潜在的直接抑制病毒感染作用。在此基础上,该团队优化形成了抗新型冠状病毒中医组方“克冠1号”,在第一时间为该院防治新突发传染病提供了有一定临床经验和客观证据支持的中医方剂。该中医方剂与西医对症支持治疗联合用于临床救治,初步显示中西医结合治疗优于单纯的西医对症支持治疗。该研究创新了中医药科学防治新突发传染病的临床科研一体化攻关模式和方法,对进一步完善中医药应对重大疫情的快速响应机制、进一步提高中医药防治新突发传染病的能力和水平等具有重要意义。

关键词 新型冠状病毒肺炎; 中医药; 组方筛选; 分子对接; 临床科研一体化

DOI: 10.19540/j.cnki.cjcm.20200206.501

Rapid establishment of traditional Chinese medicine prevention and treatment for the novel coronavirus pneumonia based on clinical experience and molecular docking

NIU Ming^{1#}, WANG Rui-lin^{2#}, WANG Zhong-xia^{2#}, ZHANG Ping², BAI Zhao-fang¹, JING Jing², GUO Yu-ming¹, ZHAO Xu¹, ZHAN Xiao-yan¹, ZHANG Zi-teng¹, SONG Xue-ai², QIN En-qiang³✉, WANG Jia-bo¹✉, XIAO Xiao-he^{1,2}✉

(1. China Military Institute of Chinese Medicine, Fifth Medical Center of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100039, China; 2. Integrative Medical Center, Fifth Medical Center of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100039, China; 3. Infectious Disease Treatment and Investigation Center, Fifth Medical Center of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100039, China)

Abstract The novel coronavirus epidemic is raging in China and more than 20 other countries and regions since the middle of December 2019. Currently, there is no specific drug or vaccine besides symptomatic supportive therapy. Taking full advantage of the clinical experience of traditional Chinese medicine (TCM) in preventing and controlling major epidemics such as SARS, it is an important mission for TCM to propose effective formula with immediate response and solid evidence

收稿日期: 2020-02-03

作者简介: 牛明, E-mail: nmrbright@163.com; 王睿林, E-mail: wr17905@163.com; 王仲霞, E-mail: shelley.wzx@163.com

网络首发时间: 2020-02-07 13:33:57 网络首发地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2272.R.20200207.1317.001.html>

by using modern biomedical knowledge and techniques (molecular docking assisted TCM formulation for short). In view of the high homology between the gene sequences of the novel coronavirus and SARS virus, and the similarities between the two in terms of pathogenic mechanism and clinical manifestations, our team established a rapid screening and optimization model for the prevention and treatment of the novel coronavirus based on clinical experience and molecular docking technology. Firstly, the clinical team and the research team pre-developed and screened TCM formula by using "back-to-back" manner. Then, the formula was optimized and determined by comparing and analyzing the results of the two groups. The results showed that the research team screened out 46 active ingredients from candidate TCMs that could act on the novel coronavirus S-protein-binding site of human ACE2 protein, which were mainly attributed to 7 herbs such as *Lonicerae Japonicae Flos* and *Mori Folium*. The result was largely consistent with the formula raised by the clinical group, verifying and supporting its rationality. This provides evidence for the scientific and potential efficacy of the TCM prescription from the perspective of treatment target analysis, and also suggests that the TCM prescription has the potential to directly inhibit viral infection in addition to improving clinical symptoms or syndromes. Based on this, our team optimized and formed a new anti-coronavirus TCM prescription "Keguan Yihao", immediately providing the TCM prescription with certain clinical experience and objective evidence support for the prevention and treatment of new emergent infectious diseases in our hospital. The TCM prescription was combined with modern medicine symptomatic supportive treatment for clinical treatment, preliminary results showed better effect than symptomatic supportive therapy alone. This research has innovated the method mode in clinical practice and basic research integration of traditional Chinese medicine for the prevention and control of new emerging infectious diseases. It is of great significance to further improve the rapid response mechanism of TCM in face of major epidemics, and further improve the capability level of TCM to prevent and treat new emerging infectious diseases.

Key words novel coronavirus pneumonia; traditional Chinese medicine; formula screening; molecular docking; clinical practice and basic research integration

2019年12月以来,我国新型冠状病毒(2019-nCoV)感染疫情发展迅速,短短1个多月的时间确诊感染人数已超过1万人,并波及全球20多个国家和地区^[1]。2020年1月31日,世界卫生组织宣布新型冠状病毒疫情为国际关注的突发公共卫生事件(PHEIC)^[2-3]。然而,目前由于针对2019-nCoV感染的研究刚刚起步,有效治疗药物及病毒疫苗研发大大滞后,临床上极度缺乏针对性治疗药物,迫切需要寻找和开发新的治疗方法和药物。

中医药在历次新突发传染病防治中发挥了独特作用,特别是针对SARS, H1N1, H7N9, Ebola等疫情的防治方面,均取得了较好的临床效果^[4-8]。针对不断蔓延的新型冠状病毒疫情,国家卫健委、各省市以及众多中医药专家先后提出了不同的中医药防治方案^[9]。

为了在第一时间内提供有一定临床基础和客观证据支持的中医药方案,鉴于新型冠状病毒与SARS病毒的基因序列具有较高的同源性,二者在发病特点、临床表现以及潜在治疗靶点等方面也有较大的相似性,本团队拟根据中医防治重大疫病的经验和理论,利用现代生物学知识和研究手段,探索创建了基于临床经验和分子对接技术的抗新型冠状病毒中医组方筛选新模式(简称分子对接辅助中医组方)。即攻关团队分设临床小组和研究小组,前者根据中医理论和临床经验进行辨证组方,后者采用分子对接技术从国家及各省市公布的中医药抗SARS和新型冠状病毒方案中筛选中药,二者采取“背靠背式”进行筛选。

影响新型冠状病毒感染的环节和因素众多。文献显示,2019-nCoV与SARS-CoV 2种病毒感染的途径均通过其表达的S-蛋白与人体内血管紧张素转化酶(ACE2)的结合,导致病毒侵入机体而致病^[10-11]。为此,本文主要针对病毒感染过程的关键靶蛋白ACE-2进行分子对接筛选,希望为中医药抗新型冠状病毒提供更有针对性、科学性和潜在疗效的方案,实现中医药防治新突发传染病“及早介入、主动介入、科学介入”,最大限度地降低新型冠状病毒肺炎的危重率和病死率,同时创新中医药科学防治新突发传染病临床科研一体化攻关策略和方法。

1 资料与方法

1.1 数据来源

本研究主要收集了2003年国家公布的中医药防治SARS方案以及近期国家、各省市和知名专家公布的防治新型冠状病毒肺炎方案的中医方剂,将涉及的中药用于构建候选中药数据集^[12]。通过TCMSP数据库^[13](<http://tcmssp.com/tcmssp.php>)收集上述中药所含的成分及结构,并根据其口服利用

表1 潜在阻断ACE2与冠状病毒S-蛋白结合的中药筛选¹⁾
Table 1 Screening of herbs which potentially blocks coronavirus S-protein from binding to ACE2

No.	中药	候选成分总数	筛选成分数 ²⁾	$P^3)$	结合能中位数 ⁴⁾ /kcal·mol ⁻¹
1	桑叶	29	9	0.000 5	-7.335
2	苍术	9	5	0.000 5	-7.250
3	浙贝母	7	4	0.001 8	-7.555
4	生姜	5	3	0.006 4	-7.670
5	金银花	23	6	0.011 1	-8.065
6	连翘	23	6	0.011 1	-7.310
7	草果	8	3	0.027 0	-7.330
8	山茱萸	20	4	0.075 5	-7.540
9	半夏	13	3	0.086 5	-7.670
10	芦根	1	1	0.093 3	-7.250
11	紫苏	14	3	0.100 0	-7.495
12	麻黄	23	4	0.104 0	-7.680
13	桑白皮	24	4	0.114 0	-7.445
14	太子参	8	2	0.136 0	-7.480
15	牛蒡子	8	2	0.136 0	-8.440
16	甘草	92	9	0.152 0	-7.300
17	薏苡仁	9	2	0.159 0	-7.540

注: ¹⁾本研究临床方案优化过程中,《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案》来源的中药参照试行第3版。为了给读者更多参考,追加分析了第4版中的中药,一并列入本表;²⁾最低结合能 $\Delta G < -6.7$ kcal·mol⁻¹的成分数,且结合区域位于;³⁾高结合能成分的富集分析结果,仅保留 $P < 0.2$ 的中药;⁴⁾中药多个成分与 ACE2 蛋白最低结合自由能的中位数。

2.2 基于分子对接的抗 2019-nCoV 潜在中药成分筛选

将已收集的 405 个中药成分,以 ACE2 为靶蛋白,针对其与 SARS-CoV 的结合区域(Q24, T27, K31, H34, E37, D38, Y41, Q42, L45, L79, M82, Y83, N90, Q325, E329, N330, K353, G354)进行分子对接。计算结果表明,不同成分与 ACE2 结合的最低结合自由能(ΔG)介于 $-2.73 \sim -10.81$ kcal·mol⁻¹,中位数 -6.75 kcal·mol⁻¹,将 $\Delta G < -6.75$ kcal·mol⁻¹ 的成分作为潜在的抗 2019-nCoV 感染活性成分,见图 2。

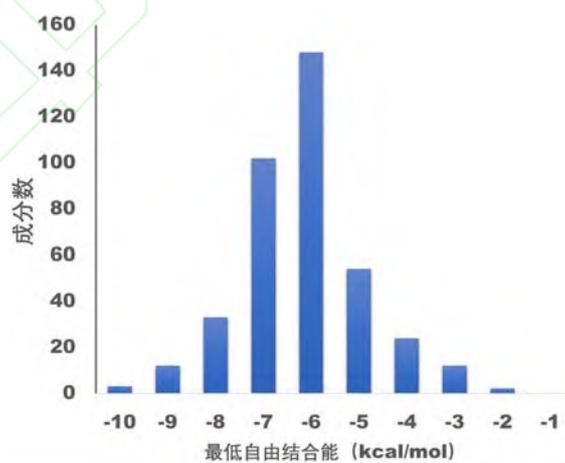
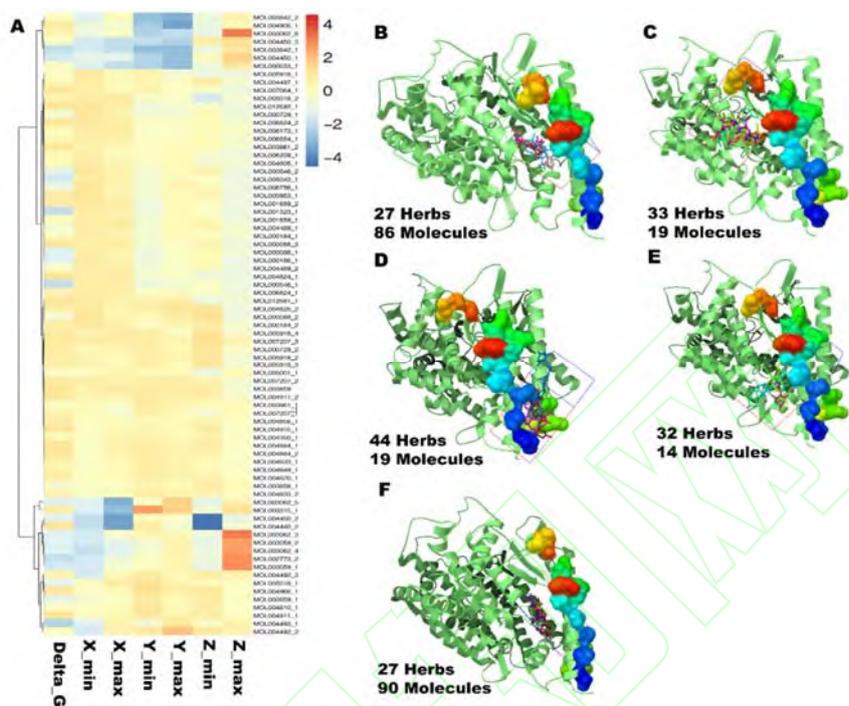


图2 候选中药成分的最低结合自由能分布
Fig. 2 Distribution of minimum binding free energy of candidate Chinese medicine ingredients

根据文献中 ACE2 与病毒 S 蛋白的结合位点来看,其空间跨度较大,可能存在多个与结合区域。为此,针对结合能较高的中药成分,提取其与 ACE2 结合部位空间位置进行聚类分析,见图 3 A,可

以发现不同中药成分的结合位置大致可聚为 5 类。进一步, 采用 K-均值聚类提取 5 个聚类中心对应的结合域, 见图 3 B~F。从上述结果可以看出, 筛选出的 5 个 ACE2 结合域均有多个中药成分可以与其结合, 提示中药及其成分之间存在协同阻断 ACE2 与 S 蛋白结合的可能性。

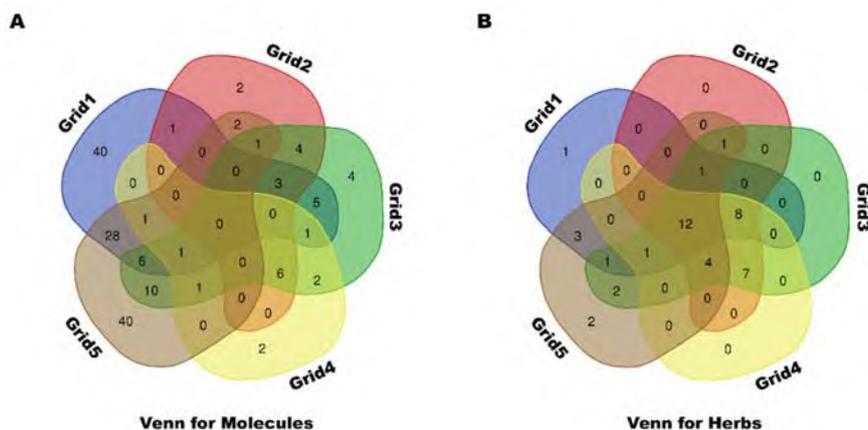


中药成分与 ACE2 蛋白结合域的系统聚类分析; B~F. 基于 K-均值聚类分析的 5 个 ACE2 蛋白结合域。

图 3 基于聚类分析的中药成分与 ACE2 蛋白结合域筛选
Fig. 3 Clustering analysis of the ACE2 binding domain and herb components

2.3 治疗 2019-nCoV 肺炎潜在有效中药筛选

基于上述 ACE2 结合区域, 对已筛选的中药及其成分进行归类, 中药及其成分的韦恩图, 见图 4, 可以发现多数中药可作用于 2 个以上的 ACE2 结合区域, 但绝大多数中药成分仅能作用于 1~2 个结合区域, 该结果表明, 中药可能通过阻断多个 ACE2 与 2019-nCoV 的结合位点, 发挥治疗 2019-nCoV 肺炎的作用。进而, 针对 ACE2 和病毒蛋白构象之间的 2 个结合区域 grid3 (图 3D) 和 grid4 (图 3E), 筛选可能阻断 2 个蛋白结合的中药成分, 共筛选到中药成分 46 个, 采用超几何分布模型对这些成分进行富集分析, 见表 1, 其主要归属于桑叶、苍术、浙贝母、生姜、金银花、连翘、草果等 7 个中药 ($P < 0.05$)。



160 种中药成分归类分析的维恩图；B. 40 种中药归类分析的维恩图。

图 4 针对高结合能成分的中药及其成分归类分析

Fig.4 Subsumption analysis of herbs with high binding energy and its ingredients

中药成分与 ACE2 结合的典型空间构象，见图 5。可以看出，桑叶中的桑叶甙（albanol）和金银花中的隐黄质（kryptoxanthin）可分别结合至 A 和 B 2 个空间位置，表明采用中药配伍将可能更加有效地阻断 ACE2 与 S 蛋白的结合。

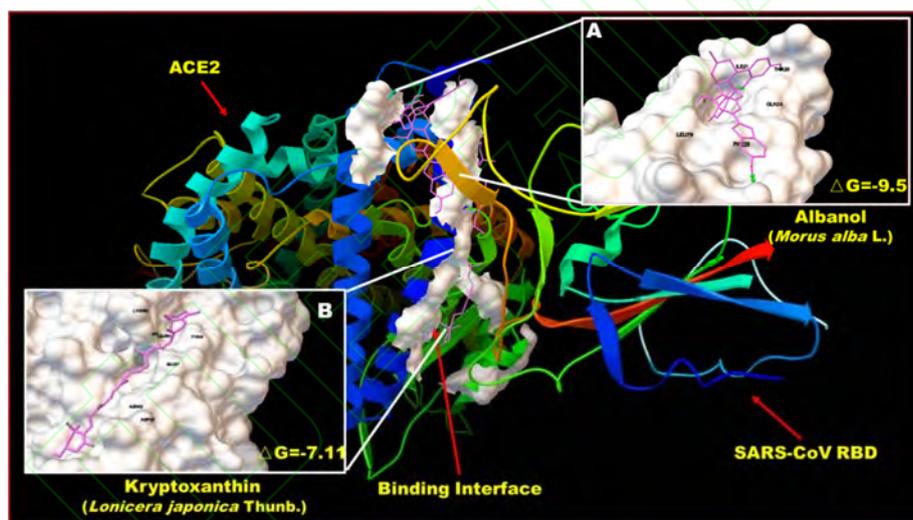


图 5 ACE2 与桑叶和金银花中成分结合的典型空间构象

Fig.5 Typical spatial conformation of ACE2 combined with components in Mori Folium and Lonicerae Japonicae Flos

3 分子对接辅助中医药组方与临床应用

通过对我院前期收治的新型冠状病毒肺炎病例的临床观察，结合湖北收治的病例报道，本团队临床小组认为：此次疫病属中医“温病“时疫”范畴，起始邪在肺卫，病机为疫毒犯肺，多见湿浊壅肺，湿邪是影响新型冠状病毒肺炎病机变化的重要因素；有基础疾病、老年人、肥胖等可能是新型冠状病毒肺炎重症化的危险因素。

根据新型冠状病毒肺炎与 SARS 冠状病毒肺炎的发病特点、临床症状、中医证候及传变规律等方面的相似性和差异性，临床小组确定清宣疫疠之湿浊为基本治法，以银翘散、桑菊饮为主初拟防治新型冠状病毒肺炎的基础方合三仁汤加减（金银花、桑叶、薏苡仁等）。同时我们认为，新突发传染病进入危重期后，病情复杂，变证丛生，临床上需要采取更加个体化的对证治疗。

研究小组采用分子对接等虚拟筛选技术，发现 46 个能够作用于新型冠状病毒 S-蛋白与人体 ACE2 结合区域且具有较高结合能的中药活性成分，主要归属于金银花、桑叶等 7 味中药，与临床小

组初拟中医组方的主要药味具有较好的吻合度，这从治疗靶标分析角度为中医组方的科学合理性和潜在的有效性提供了佐证，同时提示中医组方除可能改善临床症状或证候外，还具有潜在的直接抑制病毒感染作用。

在二者比对分析和评价的基础上，本团队在第一时间优化制定了中医药治疗方“克冠 1 号”，同时建议根据病证、体质等情况进行随证加减，与西医对症支持治疗联合用于临床救治，采用配方颗粒形式口服给药。目前本团队已启动首个新型冠状病毒肺炎中西医结合治疗方案的随机对照试验（注册号 NCT0425187），已完成入组病例 30 例，分别给予中西医结合治疗和西医对症支持治疗。治疗后，多例确诊患者，其发热、咳嗽、气促等临床表现较前明显改善，实验室指标较前好转，部分患者影像学显示肺炎较前明显吸收，截至投稿日，中西医结合治疗组有 5 例患者康复出院。进一步疗效正在继续观察评估中。

4 结语与展望

疫情就是命令，病区就是战场。在接到抗击新型冠状病毒疫情任务的第一时间，我院中西医结合防治组成立了临床和研究 2 个协作小组，2 个小组采取不同策略和方法“背靠背”方式筛选中医组方，旨在第一时间提出并制定既符合中医药诊治要点又有一定现代科学依据的中医药方案。结果表明，研究小组分子对接筛选的结果与临床小组中医经验组方的结果具有较高的吻合度，同时发现部分中药活性成分可作用于结合域的不同位点，可能发挥多成分叠加/协同抗病毒效果。这为实现中医药“及早介入、主动介入、有效介入”新突发传染病的防治提供了依据和抓手。

在新突发传染病来袭时，临床往往缺乏有效药物，临时筛选开发新药又极大地受限于研制周期，难以及时应用于临床救治。此外，由于新突发传染病的病原体往往具有较高的传染性，需要高防护级别的实验室条件，极大地限制了大规模筛选（“湿法”研究）工作的开展。在此情况下，采用分子对接等计算化学生物学技术（“干法”研究），针对病原体的潜在靶蛋白虚拟筛选可能的阻断剂，就显得尤为重要。因此，面对防控新突发传染病的科技攻关，采取“干法”与“湿法”研究相结合，可以在短时间内开展大规模筛选和评价，快速高效，且成本低。

但也应当注意，受对病毒本身及感染治病机制认知的不足、计算化学生物学方法本身的局限性等影响，可能会存在计算结果与实际结果不相符的风险；同时在对病毒感染过程中的关键靶标研究不足、中药的化学成分及结构尚不明确等情况下，计算化学生物学可能难以有效实施。针对上述问题，团队始终坚持以中医临床组方为根本，充分利用已有的研究工作基础，特别是针对中医药在防治 SARS 中取得实际疗效的方剂开展筛选和优化，这样可以大大提高筛选和组方的效能。此外，国内外科学家已在极短的时间内完成了新型冠状病毒的全基因组分析以及关键蛋白质晶体（空间）结构的分析，同时随着中医药防治新型冠状病毒用药经验的积累，可使我们可以更加全面地和精准地开展分子对接辅助中医组方筛选，从而进一步提高中医临床组方的针对性、科学性和可靠性。

期待本研究不仅可以创新中医药防治新突发传染病的临床科研一体化攻关模式和方法，而且对进一步完善中医药应对重大疫情的快速响应机制、进一步提高新突发传染病中医药防治能力和水平等具有重要推动作用。

[致谢] 感谢北京佑安医院李秀惠主任医师、北京中医医院刘清泉主任医师、北京地坛医院王融冰主任医师和王宪波主任医师、北京中医药大学赵剑飞博士等对本项目研究及本文写作给予指导和帮助。

[参考文献]

- [1] 国家卫生健康委员会. 截至 2 月 2 日 24 时新型冠状病毒肺炎疫情的最新情况[EB/OL]. [2020-02-03]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/yqtb/202002/24a796819bf747bd8b945384517e9a51.shtml>.
- [2] WHO. Novel coronavirus - China[EB/OL]. (2020-01-12)[2020-02-03]. <http://www.who.int/csr/don/12-january-2020-novel-coronavirus-china/en/>.
- [3] ZHU N, ZHANG D, WANG W, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019[J]. *New Engl J Med*, 2020, doi: 10.1056/NEJMoa2001017.
- [4] LUO Y, WANG C Z, HESSE-FONG J, et al. Application of Chinese medicine in acute and critical medical conditions[J]. *Am J Chinese Med*, 2019, 47: 1223.

- [5] ZHANG M M, LIU X M, HE L. Effect of integrated traditional Chinese and Western medicine on SARS: a review of clinical evidence[J]. *World J Gastroentero*, 2004, 10: 3500.
- [6] LI J H, WANG R Q, GUO W J, et al. Efficacy and safety of traditional Chinese medicine for the treatment of influenza A (H1N1): a Meta-analysis[J]. *J Chin Med Assoc*, 2016, 79: 281.
- [7] AI H X, WU X W, QI M Y, et al. Study on the mechanisms of active compounds in traditional Chinese medicine for the treatment of influenza virus by virtual screening[J]. *Interdiscip Sci*, 2018, 10: 320.
- [8] YANG Y, CHENG H, YAN H, et al. A cell - based high - throughput protocol to screen entry inhibitors of highly pathogenic viruses with traditional Chinese medicines[J]. *J Med Virol*, 2017, 89: 908.
- [9] 国家卫生健康委员会, 国家中医药管理局. 《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第四版)》[EB/OL]. (2020-01-28) [2020-02-03]. <http://bgs.satcm.gov.cn/zhengcewenjian/2020-01-28/12576.html>.
- [10] XU X, CHEN P, WANG J, 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, doi: [org/10.1007/s11427-020-1637-5](https://doi.org/10.1007/s11427-020-1637-5).
- [11] LI F, LI W, FARZAN M, et al. Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with receptor[J]. *Science*, 2005, 309: 1864.
- [12] 肖小河, 王伽伯, 贺承山. 中医药防治 SARS 的方药分析与用药建议[J]. *中国中药杂志*, 2003, 28(7): 664.
- [13] RU J L, LI P, WANG J N, et al. TCMSp: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. *J Cheminformatics*, 2014, 6(1):13.

