

杭小英,袁雪梅,吕孙建,等. 抗大口黑鲈弹状病毒中草药的筛选及抗病毒效果[J]. 江苏农业科学,2021,49(14):155-159.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.14.029

抗大口黑鲈弹状病毒中草药的筛选及抗病毒效果

杭小英¹,袁雪梅¹,吕孙建¹,张海琪¹,刘莉²,于喆¹,施伟达¹

(1. 农业农村部淡水渔业健康养殖重点实验室/浙江省鱼类健康与营养重点实验室/浙江省淡水水产研究所,浙江湖州 313001;

2. 浙江省农业科学院水生生物研究所,浙江杭州 310021)

摘要:采用 MTT 法,选择黄芪多糖、白花蛇舌草、金银花、葡萄糖酸锌、板蓝根、白芍、连翘及黄藤素 8 种中草药对大口黑鲈弹状病毒(*Micropterus salmoides* rhabdovirus, MSRV)进行体外抗病毒试验,并挑选黄芪多糖,利用荧光定量 PCR 方法研究其对病毒复制和宿主细胞内凝集素基因(*Intelectin*)表达的影响。体外抗病毒试验结果显示,黄芪多糖抗 MSRV 效果最好,兼具显著的阻断、抑制和中和病毒的效果,其最高阻断作用率为 59.13%,最高抑制率为 21.64%,最高中和率为 105.46%。同时,黄芪多糖还可以抑制 MSRV 的复制,上调细胞 *Intelectin* 基因的表达。另外,连翘、金银花和白芍对 MSRV 分别有显著的阻断作用(阻断作用率为 16.92%)、抑制作用(抑制率为 21.64%)、中和作用(中和率为 54.01%)。结果表明,黄芪多糖相较试验中其他中草药制剂具有更好的抗 MSRV 效果,可为 MSRV 的药物防控提供参考。

关键词:大口黑鲈;弹状病毒;中草药;黄芪多糖;MTT 法;抗病毒试验;*Intelectin* 基因

中图分类号: S941.41+9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2021)14-0155-05

大口黑鲈(*Micropterus salmoides*),别称加州鲈、黑鲈,是太阳鱼科黑鲈属鱼类,主要栖息在温暖区域的湖泊与池塘^[1]。大口黑鲈人工繁殖于 1983 年成功,因其味道鲜美、无肌间刺,富含蛋白质,深受消费者的喜爱,现已推广到浙江省、江苏省和广东省等 20 多个省(市)。据《2019 中国渔业统计年鉴》报告,大口黑鲈 2018 年全国的养殖产量达约 43.2 万 t,成为我国优质的特种淡水养殖品种^[2]。

近几年,随着大口黑鲈养殖行情的上升,养殖面积的扩大,暴发性疾病也在不断发生,其中有一种疾病常在鲈鱼幼苗阶段暴发,传染性强,且死亡率极高。苗种和养殖企业常用抗菌药物进行治疗,但没有效果^[3]。学者们通过对发病池塘的病鱼进行采样分析,确认引起大口黑鲈鱼苗出现大规模死亡的疾病为弹状病毒病。该病病原为 RNA 病毒,名为大口黑鲈弹状病毒(*Micropterus salmoides* rhabdovirus,简称 MSRV),病毒粒子大小约为 53 nm ×

140 nm,形似子弹,故名弹状病毒^[1]。该病不仅可以通过养殖水体进行水平传播,也可以通过亲鱼繁殖进行纵向传播,极容易传染,且往往出现病鱼后一周内全部死亡,给养殖户造成巨大的经济损失^[4-5]。

中草药(Chinese herb medicine)因富含苷、有机酸、多糖、生物碱、鞣质和黄酮类等有效成分^[6],成为我国传染水产病害防治的主要手段之一。相较于西药,中草药作为药剂具有副作用小,对养殖环境影响小,不激发药源性等疾病等优势,且能通过不同作用机制对病毒产生抑制作用,如阻断病毒与细胞表面受体结合,抑制病毒核酸的复制、转录及蛋白合成,抑制病毒释放等^[7]。Wang 等发现,表没食子儿茶素没食子酸酯能阻断草鱼呼肠孤病毒与细胞表面的受体蛋白结合,从而达到抑制病毒的感染目的^[8]。Wang 等研究发现,表没食子儿茶素没食子酸酯也能抑制白斑综合征病毒的感染^[9]。此外,研究表明中草药制剂还可以提高机体的非特异性免疫水平,甚至诱发机体产生干扰素,从而达到抵抗病毒感染的目的。Haetrakul 等发现,注射扭序花叶片提取物可以提高鲤鱼对 CyHV-3 的抗性^[10]。Balasubramanian 等发现,斑节对虾食用含有印度木橘、苦瓜和狗牙根提取物的饲料后,其对白斑综合征病毒的抗性作用得到了显著提高,其中食用含

收稿日期:2020-10-15

基金项目:浙江省重点研发计划(编号:2018C02033);浙江省科研院所扶持专项(编号:2020YSZX002、2020YSZX010)。

作者简介:杭小英(1981—),女,浙江德清人,硕士,高级工程师,主要从事水产动物病害防治研究。E-mail:58194321@qq.com。

通信作者:张海琪,硕士,正高级工程师,主要从事水产育种和病害防治研究。E-mail:zmk407@126.com。

100 mg/kg 的狗牙根水提取物的饲料可以使斑节对虾攻毒存活率达 100%^[11]。

本研究在结合传统中草药理论及相关抗病毒药物研究的基础上,筛选出黄芪多糖、连翘、板蓝根等 8 种中草药,测定以上中草药对 MSRV 的体外抑制作用,从中筛选出有效的抗 MSRV 中草药,旨在为大口黑鲈弹状病毒病防治提供可行且符合市场要求的治疗方案。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验所用大口黑鲈鱼苗购自浙江省湖州市某养殖场,MSRV 毒株及草鱼卵巢细胞(CO)均由笔者所在单位鱼病研究室分离培养保存,黄芪多糖、连翘等中草药购自陕西森弗高科实业有限公司。M199 培养基、胎牛血清、细胞生长液、双抗(青霉素 100 IU/mL、链霉素 100 $\mu\text{g/mL}$)、胰蛋白酶均购自 Gibco 公司;MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒购自碧云天生物技术有限公司;TRIzol 总 RNA 提取试剂、反转录和 qRT-PCR 荧光定量检测试剂购自 TOYOBO 公司。

1.2 试验方法

本研究于 2019 年 1 月开始,相关试验均在浙江省淡水水产研究所重点实验室完成。

1.2.1 病毒滴度的测定 病毒滴度检测按照实验室常规方法^[12]进行,CO 细胞用胰酶消化后,按照 1×10^5 /孔的密度加到 96 孔板,25 $^{\circ}\text{C}$ 培养 12 h,待测病毒经 10 倍梯度稀释后,加入 96 孔板中,每孔添加量为 100 μL 细胞悬液,每个稀释度做 8 孔重复,同时设正常细胞为阴性对照,连续观察 5 d。根据病变情况,按 Karber 氏法计算半数组织培养感染剂量(TCID₅₀)^[13]。

1.2.2 黄芪多糖、金银花、葡萄糖酸锌等 8 种中草药对 CO 细胞安全浓度的测定 将 8 种中草药分别溶解于双蒸水,经 0.22 μm 滤膜除菌后保存于 4 $^{\circ}\text{C}$ 备用。采用 CPE 法测定黄芪多糖、金银花、葡萄糖酸锌、板蓝根、连翘、白芍、黄藤素及白花蛇舌草等 8 种中草药对 CO 细胞的最大安全浓度。将药物倍比稀释后接种于 96 孔板中的 CO 细胞,每个稀释度做 4 个重复,另设 1 组正常细胞对照,25 $^{\circ}\text{C}$ 培养 96 h,取不引起细胞病变的最大浓度为该药物的安全浓度。

1.2.3 黄芪多糖、金银花、葡萄糖酸锌等 8 种中草

药对 MSRV 的阻断作用测定 在安全浓度基础上将 8 种中草药分别倍比稀释成 4 个稀释度,加到长成单层 CO 细胞的 96 孔板中,按每孔 100 μL 添加各浓度药物,每个稀释度做 4 孔重复孔。在 25 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 4 h 后吸走各孔药物,另加入 100 μL 100 TCID₅₀ 的病毒液,于 25 $^{\circ}\text{C}$ 吸附 1.5 h,随后吸去病毒液,加入细胞维持液,另设细胞对照和病毒对照。25 $^{\circ}\text{C}$ 细胞培养箱中培养,每日观察 CPE,当病毒对照 CPE 达到“+++”“++++”时,记录 CPE 情况,并测定 96 孔板中细胞的活性,计算药物的作用率。

1.2.4 黄芪多糖、金银花、葡萄糖酸锌等 8 种中草药对 MSRV 的抑制作用测定 待 96 孔细胞培养板中的 CO 细胞长成单层后,按每孔 100 μL 的添加量接种 100 TCID₅₀ 的病毒液,于 25 $^{\circ}\text{C}$ 吸附 1.5 h,弃去病毒液,加入安全浓度范围内倍比稀释的中药提取物,每孔 100 μL ,每个稀释度做 4 孔重复,另设细胞对照和病毒对照。25 $^{\circ}\text{C}$ 培养,记录方法同“1.2.3”节,并用 MTT 法检测细胞存活量,并计算抑制率,方法和公式同“1.2.3”节。

1.2.5 黄芪多糖、金银花、葡萄糖酸锌等 8 种中草药对 MSRV 的中和作用测定 将 8 种中草药安全浓度范围内 4 个稀释度的药液分别与等体积 100 TCID₅₀ 病毒液混合,25 $^{\circ}\text{C}$ 作用 2 h,加到长成单层 CO 的 96 孔细胞培养板上,每孔 100 μL ,每个稀释度做 4 孔重复,另设细胞对照和病毒对照。25 $^{\circ}\text{C}$ 中培养,记录方法同“1.2.3”节,用 MTT 法检测细胞存活量,计算中和作用率,方法和公式同“1.2.3”节。

1.2.6 黄芪多糖对病毒复制的影响 分别按照“1.2.3”“1.2.4”“1.2.5”节中的方法进行处理,分为阻断试验组、抑制试验组和中和试验组,同时设计等剂量病毒感染 CO 细胞的病毒对照组和正常细胞对照组。于病毒接种后 6、12、24、48、72 h 收集细胞病毒液,TRIzol 提取总 RNA,反转录参照 TOYOBO 公司的“ReverTra Ace qPCR RT Master Mix”试剂盒合成 cDNA。应用引物 MSRV-F/MSRV-R 对样品 cDNA 进行 Real-time PCR 扩增,反应体系及程序参考之前的研究方法^[4]。通过标准曲线换算得到样品中病毒基因组的拷贝数。

1.2.7 黄芪多糖对 CO 细胞 *Intelectin* 表达的影响 按照“1.2.6”节所述步骤处理样品,分别用引物 *Intelectin*-F/*Intelectin*-R 及 β -*actin*-F/ β -*actin*-R 对样品 cDNA 进行 Real-time PCR,反应体系及程

序参考之前的研究方法^[4]。通过软件利用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 方法计算各组 *Intelectin* 表达量相对于对照组的倍数关系。各试验组和细胞对照组之间 *Intelectin* 基因的表达差异分析方法参照“1.2.6”节进行。

1.2.8 数据分析 各试验组与病毒对照组之间的差异用 SPSS 16.0 中的单因素方差分析法 (One-way ANOVA) 进行分析。

2 结果与分析

2.1 MSRV TCID₅₀

通过试验测得 MSRV 滴度为 10^8 TCID₅₀/mL。

2.2 8 种中草药对 CO 细胞的安全浓度

采用 CPE 方法,测得黄芪多糖、金银花、葡萄糖酸锌、板蓝根、白芍、白花蛇舌草、连翘及黄藤素 8 种中草药对 CO 细胞的安全浓度分别为 12.500、0.049、0.003、1.560、0.049、3.130、0.012、3.125 mg/mL。

2.3 8 种中草药对 MSRV 的阻断作用效果

8 种中草药对 MSRV 的阻断作用检测结果见表 1,对病毒阻断效果最好的中草药为黄芪多糖,其最高阻断作用率为 59.13%,其次为连翘,最高阻断作用率为 16.92%,其他中草药未表现出明显的病毒阻断作用。

表 1 8 种中草药对病毒的阻断作用检测结果

药物种类	阻断率 (%)			
	稀释度 1	稀释度 2	稀释度 3	稀释度 4
黄芪多糖	12.98	11.11	32.79	59.13
金银花	8.53	3.30	1.70	2.13
葡萄糖酸锌	-8.56	-4.00	-5.07	-8.21
板蓝根	9.51	0.62	5.24	11.16
白芍	-68.51	-53.27	-49.13	-15.03
白花蛇舌草	-54.92	-39.30	-8.04	-7.42
连翘	13.76	16.92	-3.37	5.14
黄藤素	-57.46	-41.50	0.05	4.75

2.4 8 种中草药对 MSRV 的抑制作用效果

试验测得黄芪多糖、金银花、葡萄糖酸锌等 8 种中草药对 MSRV 的抑制作用率结果见表 2,对病毒抑制效果最好的中草药为黄芪多糖,其最高抑制率为 63.68%,其次为金银花,最高抑制率为 21.64%,其他中草药未表现出明显的病毒抑制作用。

2.5 8 种中草药对 MSRV 的中和作用效果

试验测得黄芪多糖、金银花、葡萄糖酸锌等 8 种中草药对 MSRV 的中和作用率结果见表 3,结果显

表 2 8 种中草药对病毒的抑制作用检测结果

药物种类	抑制率 (%)			
	稀释度 1	稀释度 2	稀释度 3	稀释度 4
黄芪多糖	63.68	44.62	27.87	17.25
金银花	10.57	13.39	21.64	15.16
葡萄糖酸锌	-14.90	-11.82	-14.81	-6.50
板蓝根	15.89	8.77	8.49	2.10
白芍	-34.17	-29.03	-46.18	-64.56
白花蛇舌草	-109.62	-66.18	-55.86	-40.55
连翘	13.18	10.22	1.82	3.88
黄藤素	12.05	9.01	6.84	5.14

示黄芪多糖、白芍及白花蛇舌草对病毒均有一定的中和作用,其中中和作用最好的是黄芪多糖,最高中和率可达 105.46%,其次是白芍,最高中和率为 54.01%,其他中草药未表现出明显的病毒中和作用。

表 3 8 种中草药对病毒的中和作用检测结果

药物种类	中和率 (%)			
	稀释度 1	稀释度 2	稀释度 3	稀释度 4
黄芪多糖	105.46	45.12	8.80	4.33
金银花	-24.29	-39.40	-39.35	-50.47
葡萄糖酸锌	-29.28	-22.99	-21.83	-22.00
板蓝根	-40.08	-37.48	-30.55	-27.02
白芍	54.01	41.74	9.86	14.00
白花蛇舌草	30.10	45.10	32.14	22.72
连翘	-7.53	-31.37	-28.99	-37.43
黄藤素	23.57	11.24	5.41	1.24

2.6 黄芪多糖对 MSRV 复制的影响

试验结果见图 1,自 24 h 起,各试验组病毒的拷贝数均低于病毒对照组,但差异不显著 ($P>0.05$)。

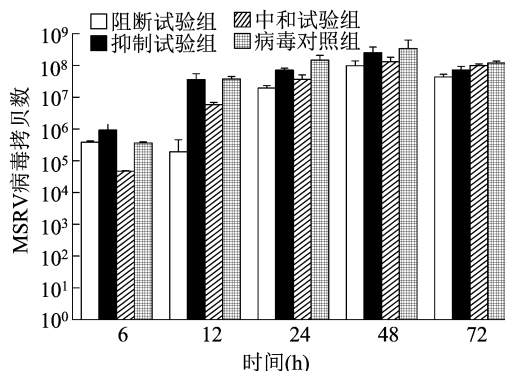


图1 黄芪多糖对 MSRV 复制的影响

2.7 黄芪多糖对 CO 细胞 *Intelectin* 基因表达的影响

从图 2 可以看出,各试验组 *Intelectin* 基因的表达量均出现一个先升高再降低的趋势,其中 24 h 时

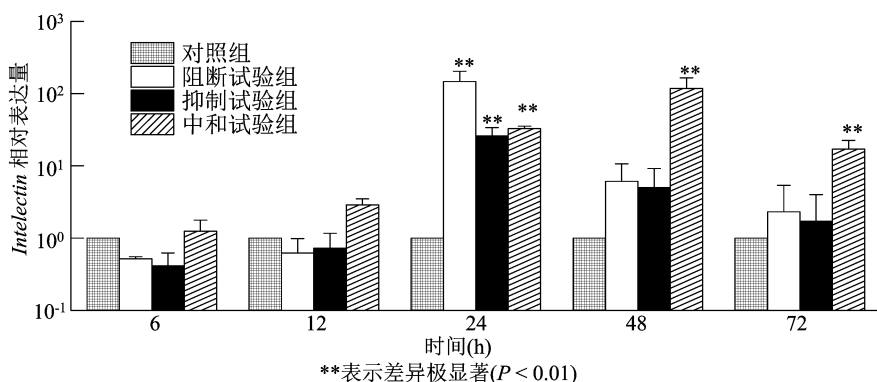


图2 黄芪多糖对 CO 细胞 *Intelectin* 基因表达的影响

各试验组细胞 *Intelectin* 基因表达量均极显著高于细胞对照组 ($P < 0.01$), 中和试验组在 48、72 h 时 *Intelectin* 的表达量仍极显著高于细胞对照组 ($P < 0.01$)。

3 讨论与结论

大口黑鲈弹状病毒病于 2015 年在浙江地区发现, 主要感染对象为大口黑鲈, 在亲鱼及幼苗中均能检测到该病毒, 且主要在幼苗阶段发病, 具有极高的死亡率^[1]。中草药提取物具有天然结构, 生物活性较为完整, 已被证实不仅能够促进动物生长、调节机体新陈代谢和免疫力, 还能提高机体的抗感染能力^[6,14]。本研究选取黄芪多糖、金银花、葡萄糖酸锌、板蓝根、白芍、白花蛇舌草、连翘及黄藤素 8 种中草药进行体外抑制病毒测试, 结果显示黄芪多糖对 MSRV 具有较高的阻断、抑制和中和效果。另外, 连翘对 MSRV 也有一定的阻断效果, 金银花对该病毒有一定的抑制和中和效果, 但均不如黄芪多糖明显。本研究验证了以上 4 种中草药的抗病毒效果, 但黄芪多糖、连翘、金银花和白芍对 MSRV 的抑制机制不同, 这与已有的研究结果一致。

连翘为木樨科植物, 其主要成分连翘酯苷药理作用广泛, 其中抗病毒疗效尤为显著, 对多种病毒均有一定的抑制效果, 包括呼吸道合胞病毒^[15]、腺病毒^[16]、流感病毒^[17]和疱疹病毒^[18]等。田文静等发现, 连翘水提液能够明显抑制呼吸道合胞病毒^[15]。王岌等用 MTT 法也观察到连翘在 HEPG2 细胞中也能抑制呼吸道合胞病毒的复制^[19]。本研究显示, 连翘对 MSRV 主要表现为阻断效果, 推测其可能抑制了病毒衣壳蛋白与细胞受体蛋白结合的过程。刘颖娟等也发现, 连翘有效成分在细胞上对单纯疱疹病毒的复制能起到阻断和抑制的作

用^[18]。金银花对 MSRV 主要表现为抑制作用, 可能参与了细胞对 MSRV 病毒的复制及病毒颗粒装备过程的抑制作用。金银花曾被证明能够抑制合胞体病毒, 金银花中绿原酸可以下调细胞 TLR3、TBK1 和 p-IRF3 蛋白, 从而起到良好的抗病毒作用^[20]。张旋等也证实, 金银花对呼吸道合胞病毒的生物合成具有抑制作用^[21]。另外, 白芍也对 MSRV 具有一定的抗病毒作用, 主要表现为体外能够中和病毒, 肖尚喜等发现, 白芍总苷可以提高 IFN 效价, 具有抗病毒作用, 能使水泡性口炎病毒效价显著下降^[22]。

以上 3 种中草药提取物均表现出一定的抗 MSRV 活性, 但均不如黄芪多糖对 MSRV 的作用效果明显, 黄芪多糖对 MSRV 的最高阻断作用率为 59.13%, 最高抑制率为 63.68%, 最高中和率为 105.46%, 均明显高于其他中草药提取物。另外, 荧光定量结果显示, 黄芪多糖在作用 24 h 后也表现出对 MSRV 的复制有一定的抑制作用, 虽然差异不显著。黄芪多糖具有较宽的抗病毒谱, 对流感病毒、柯萨奇病毒、疱疹病毒和乙型肝炎病毒等病毒有明显的抗性^[23]。李丽娅等发现, 黄芪多糖能抑制通过滴鼻感染上流感病毒的小鼠出现明显的肺炎和病毒增殖^[24]; 黄芪总皂苷、总多糖和总黄酮则在体外试验中表现出对 HSV-2333 株疱疹病毒的多种抗病毒效应, 包括杀灭、阻断, 甚至是直接抑制病毒增殖^[25]; 杨洁等研究表明, 黄芪多糖能够抗多株柯萨奇病毒 (CVB-A16、CVB-B1、CVB-B3 和 CVB-B4), 其水提液可抑制该病毒敏感细胞系中的病毒增殖^[26]。邹宇宏等研究发现, 黄芪总苷在抑制乙肝病毒 HBV-DNA 转染 HepG2-2.2.15 细胞表面分泌 HBsAg 和 HBeAg 的同时, 还能抑制细胞增殖^[27]。以上研究均说明黄芪多糖兼具阻断感染、抑制病毒增殖和中和病毒的作用, 本研究结果与之一致。进

一步研究发现,黄芪多糖还可以显著提高 CO 细胞 *Intelectin* 基因的表达水平,而该基因主要参与细胞对病原微生物的识别、启动机体的免疫防御等过程。Podok 等发现,用 CyHV-2 感染异育银鲫后,鱼体的 *Intelectin* 基因表达量显著上调,推测其可能参与了病毒的识别过程^[28];Gu 等也发现,该基因参与了病毒性脑炎诱导的机体免疫反应^[29]。

本研究首次筛选了抗 MSRV 的中草药,黄芪多糖、连翘、金银花和白芍均对 MSRV 表现出不同机制的抗病毒作用,其中黄芪多糖的作用效果最为显著。该研究结果可为后续抗大口黑鲈弹状病毒及其他病毒药物的筛选提供理论依据。

参考文献:

- [1] Lv S J, Yuan X M, Zhang H Q, et al. Isolation and characterization of a novel strain (YH01) of *Micropterus salmoides* rhabdovirus and expression of its glycoprotein by the baculovirus expression system [J]. Journal of Zhejiang University: Science B Biomed & Biotechnol, 2019, 20(9): 728-739.
- [2] 农业农村部渔业渔政管理局. 中国渔业统计年鉴:2019[M]. 北京:中国农业出版社, 2019.
- [3] 雷 燕, 戚瑞荣, 崔龙波, 等. 大口黑鲈鱼种弹状病毒病的诊断[J]. 大连海洋大学学报, 2015, 30(3): 305-308.
- [4] 袁雪梅, 吕孙建, 施伟达, 等. 大口黑鲈弹状病毒的分离培养及其卵黄抗体的制备[J]. 渔业科学进展, 2020, 41(3): 151-157.
- [5] 雷 燕. 加州鲈鱼弹状病毒病流行特点及综合防控技术[J]. 当代水产, 2015(5): 76.
- [6] 周 疆, 郑凯妮, 朱 斐. 中草药在水产动物免疫上的应用[J]. 浙江农林大学学报, 2019, 36(2): 199-207.
- [7] 张 如, 宋珊珊, 宋兴超, 等. 抗病毒药物研究进展 [J]. 特产研究, 2019, 41(4): 119-123.
- [8] Wang H, Liu W S, Yu F, et al. Identification of (-) - epigallocatechin - 3 - gallate as a potential agent for blocking infection by grass carp reovirus [J]. Archives of Virology, 2016, 161(4): 1053-1059.
- [9] Wang Z, Sun B, Zhu F. Epigallocatechin - 3 - gallate inhibit replication of white spot syndrome virus in *Scylla paramamosain* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2017, 67: 612-619.
- [10] Haetrakul T, Dunbar S G, Chansue N. Antiviral activities of *Clinacanthus nutans* (Burm f.) Lindau extract against Cyprinid herpesvirus 3 in koi (*Cyprinus carpio* koi) [J]. Journal of Fish Diseases, 2018, 41(4): 581-587.
- [11] Balasubramanian G, Sarathi M, Venkatesan C, et al. Oral administration of antiviral plant extract of *Cynodon dactylon* on a large scale production against White spot syndrome virus (WSSV) in *Penaeus monodon* [J]. Aquaculture, 2008, 279(1/2/3/4): 2-5.
- [12] 袁雪梅, 姚嘉赞, 郝贵杰, 等. 草鱼呼肠孤病毒生长特性研究 [J]. 中国动物检疫, 2018, 35(3): 104-109.
- [13] 郭元吉, 程小蠊. 流行性感冒病毒及其实验技术 [M]. 北京: 中国三峡出版社, 1997.
- [14] 冯士彬, 程连平, 舒迎霜, 等. 黄芪多糖对湖羊羔羊生长性能、血清指标、消化功能和直肠菌群的影响 [J]. 江苏农业学报, 2019, 35(1): 122-129.
- [15] 田文静, 李洪源, 姚振江, 等. 连翘抑制呼吸道合胞病毒作用的实验研究 [J]. 哈尔滨医科大学学报, 2004, 38(5): 421-423.
- [16] 付 萍, 杨 铭, 陈颖丽, 等. 抗病毒滴丸抗病毒作用的实验研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(6): 46-48.
- [17] 段林建, 张 清, 王农荣, 等. 连翘苷对甲型流感病毒核蛋白基因表达的影响研究 [J]. 中国全科医学, 2012, 15(18): 2082-2084.
- [18] 刘颖娟, 杨占秋, 肖 红, 等. 中药连翘有效成分体外抗单纯疱疹病毒的实验研究 [J]. 湖北中医药大学学报, 2004, 6(1): 36-38.
- [19] 王 笈, 李俊莲, 乔 模, 等. 清热抗感冲剂及其含药血清体外抑制腺病毒 (ADV3) 作用的实验研究 [J]. 中华中医药学刊, 2006, 24(3): 458-460.
- [20] 杜 江. 金银花主要成分绿原酸对 RSV 感染 RAW264.7 细胞的 TLR3 信号通路的影响 [J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2017, 38(6): 11-13.
- [21] 张 旋, 郑明星, 朱志兵, 等. 金银花体外抗呼吸道合胞病毒作用研究 [J]. 新中医, 2014(6): 204-206.
- [22] 肖尚喜, 张咏南. 白芍总甙干扰素诱导及抗病毒作用的研究 [J]. 中国药理学通报, 1993, 9(1): 58-60.
- [23] 熊 敏, 张荫杰, 徐世军. 黄芪抗病毒作用研究进展 [J]. 中药与临床, 2012, 3(4): 50-53.
- [24] 李丽娅, 凌 秋, 崔洪波, 等. 黄芪多糖抗流感病毒的实验研究 [J]. 中国中医药科技, 2002, 9(6): 354-355.
- [25] 王志洁, 黄铁牛, 刘焱文. 虎杖大黄素与黄芪总皂苷合用抗人疱疹病毒药效分析 [J]. 浙江中医药大学学报, 2003, 27(1): 78-81.
- [26] 杨 洁, 刘 萍, 武晓玉. 5 种中药提取物体外抗病毒药效学研究 [J]. 解放军医学院学报, 2007(5): 375-376.
- [27] 邹宇宏, 杨 雁, 吴 强, 等. 黄芪提取物的体外抗乙肝病毒作用 [J]. 安徽医科大学学报, 2003, 38(4): 267-269.
- [28] Podok P, Xu D, Xu L, et al. Different expression profiles of *Interleukin 11 (IL-11)*, *Intelectin (ITLN)* and *Purine nucleoside phosphorylase 5a (PNP 5a)* in crucian carp (*Carassius auratus gibelio*) in response to Cyprinid herpesvirus 2 and *Aeromonas hydrophila* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2014, 38(1): 65-73.
- [29] Gu N B, Tian Y, Di Z L, et al. Shuanghuanglian injection downregulates nuclear factor - kappa B expression in mice with viral encephalitis [J]. Neural Regeneration Research, 2012, 7(33): 2592-2599.