

文章编号:1001-6880(2018)Suppl-0167-06

# 多糖提取物与叶黄素联合干预对青紫 蓝兔视网膜光损伤保护作用研究

孟露曦<sup>1,2,4,5,6</sup>,余庆涛<sup>3,4</sup>,黄凤洪<sup>1,2,4,5,6</sup>,葛亚中<sup>3,4</sup>,金鑫<sup>3,4</sup>,  
唐健<sup>3,4</sup>,臧茜茜<sup>1,2,4,5,6</sup>,陈鹏<sup>1,2,4,5,6</sup>,邓乾春<sup>1,2,4,5,6\*</sup>

<sup>1</sup>中国农业科学院油料作物研究所; <sup>2</sup>油料脂质化学与营养湖北省重点实验室,武汉 430062;

<sup>3</sup>无限极(中国)有限公司; <sup>4</sup>中国农业科学院油料作物研究所-无限极功能油脂联合实验室,广州 510623;

<sup>5</sup>农业部油料加工重点实验室; <sup>6</sup>油料油脂加工技术国家地方联合工程实验室,武汉 430062

**摘要:**为了研究天然多糖提取物和叶黄素协同对青紫蓝兔视网膜光损伤模型的保护作用,本实验通过光照造成青紫蓝兔视网膜光损伤,测定摄入低、中、高剂量的枸杞子和桑葚混合多糖提取物、叶黄素对青紫蓝兔视觉功能、组织学病理、Caspase3 表达水平和抗氧化能力的影响。结果发现青紫蓝兔视网膜光损伤模型造模成功,与模型对照组相比,摄入中、高剂量受试物对视网膜明视反应、暗视反应有显著改善作用( $P < 0.05$ ),外核层厚度分别增加 25.78% 和 28.21% ( $P < 0.05$ ),Caspase3 表达量下降 84.08% 和 89.64% ( $P < 0.05$ ),白细胞介素-1 $\beta$  和血管内皮生长因子显著降低( $P < 0.05$ )。说明中、高剂量组天然多糖提取物和叶黄素通过抑制视网膜视杆细胞、视锥细胞、感光细胞的损伤和凋亡,抑制视网膜炎症因子产生,改善视网膜保护视网膜的光损伤。

**关键词:**多糖提取物;叶黄素;青紫蓝兔;视网膜光损伤;保护作用

中图分类号:R284.1;Q946.91

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.S.025

## Polysaccharide Extracts and Lutein Ameliorate Light-induced Retinal Damage in Pigmented Rabbit

MENG Lu-xi<sup>1,2,4,5,6</sup>, YU Qing-tao<sup>3,4</sup>, HUANG Feng-hong<sup>1,2,4,5,6</sup>, GE Ya-zhong<sup>3,4</sup>,  
JIN Xin<sup>3,4</sup>, TANG Jian<sup>3,4</sup>, ZANG Xi-xi<sup>1,2,4,5,6</sup>, CHEN Peng<sup>1,2,4,5,6</sup>, DENG Qian-chun<sup>1,2,4,5,6\*</sup>

<sup>1</sup>Oil Crops Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences;

<sup>2</sup>Hubei Key Laboratory of Lipid Chemistry and Nutrition, Wuhan 430062, China;

<sup>3</sup>Infinitus (China) Co., Ltd., Guangzhou 510623, China;

<sup>4</sup>Joint Laboratory of functional lipids research-Oil Crops Research Institute of the Chinese Academy of Agricultural Sciences and Infinitus;

<sup>5</sup>Key Laboratory of oil processing of Ministry of Agriculture;

<sup>6</sup>Oil crops and Lipids Process Technology National & Local Joint Engineering Laboratory, Wuhan 430062, China

**Abstract:** To explore the protective effects of polysaccharide extracts and lutein against light-induced retinal damage in pigmented rabbit. The visual functions, caspase3 expression and antioxidant activity were evaluated in different dose of polysaccharide extract and lutein-treated rabbit after light exposure. Results showed that light exposure induced significant retinal damage in Rabbit when compared with normal control. Polysaccharide extracts and lutein administration at middle and high dose levels evidently improved retinal response to light and dark adaptation, increased the outer nuclear layer (ONL) thickness by 25.78% and 28.21%, and suppressed the caspase 3 expression by 84.08% and 89.64% ( $P < 0.05$ ). Furthermore, polysaccharide extracts and lutein partially reversed light-overwhelmed retinal oxidative stress with decreased IL-1 $\beta$  and VEGF content ( $P < 0.05$ ). All indicated dietary middle and high-dose of polysaccharide extracts and lutein protected light-induced retinal damage through suppressing rods, cones and photoreceptor cell apoptosis and inhibition of inflammatory cytokine production.

收稿日期:2018-04-02

接受日期:2018-05-16

基金项目:公益性行业(农业)科研专项(201303072);中国农业科学院油料作物研究所所长基金(1610172014006)

\*通信作者 E-mail:dengqianchun@caas.cn

**Key words:** polysaccharide extracts; lutein; pigmented rabbit; retinal light damage; protective effect

视屏终端设备、阳光辐射、特定环境或职业的强光源照射等均可能产生过量光照,可见光在视网膜上的聚焦,使其处于高氧压、高聚光状态,诱导视网膜感光细胞、视网膜色素上皮细胞和其他细胞的损伤、死亡,最终能产生氧化应激、导致视网膜损伤和不可逆变性<sup>[1-3]</sup>;因此预防视网膜光损伤、挖掘保护视网膜功效成分及其功能产品对于提高眼健康水平具有重要意义。

天然多糖提取物具有抗氧化、保护视神经细胞和缓解视网膜光损伤等多种活性<sup>[4]</sup>,桑葚和枸杞子在我国《滇南本草》、《本草经疏》等中医记载上具有明目作用,现代研究表明其多糖活性成分具有重要贡献,枸杞子多糖对局部缺血再灌注小鼠<sup>[5]</sup>、高眼压处理小鼠<sup>[6]</sup>、青光眼模型大鼠<sup>[7]</sup>的眼健康均具有保护作用。此外类胡萝卜素类物质在保护视力方面有独特的生理功能,其中叶黄素能吸收可见光中具有高能量的蓝光,分子结构中含有的双键能淬灭活性氧和降低氧化应激反应,是有效防治眼疾活性成分之一<sup>[8]</sup>。以上研究多选择以小鼠或者大鼠为模型,青紫蓝兔视网膜富含色素,且有与人类类似的黄斑结构,更适合于用作光损伤模型<sup>[9-11]</sup>,本研究选择枸杞子和桑葚为原料,采用水提醇沉工艺混合提取多糖,从视觉功能调节、视网膜细胞保护、抗氧化作用等方面探讨其与叶黄素协同对青紫蓝兔光损伤模型的保护作用,有利于更有针对性的评价多糖和叶黄素的保护视力作用并指导相关功能食品研发。

## 1 材料和方法

### 1.1 仪器和试剂

APS-2000AER 视觉电生理检查仪,重庆康华瑞明科技股份有限公司;金钩电极、前极电极和接地电极,重庆康华瑞明科技股份有限公司;TES-1332A 照度计,泰仕电子工业股份有限公司;DY89-II型电动玻璃均浆机,宁波新芝生物科技有限公司;光照箱,北京盛世科林净化技术有限公司;白色荧光灯(85 W),中山市重诚照明电器有限公司;SpectraMax M2e 酶标仪,美国 Molecular 公司。

复方托吡卡胺滴眼液购于沈阳兴齐眼药股份有限公司;氯霉素滴眼液购于沈阳神龙药业有限公司;速眠新 II 注射液(盐酸赛拉嗪注射液)购于吉林省敦化市圣达动物药品有限公司,导电膏购于北京达

孚医用制品有限公司,Caspase-3 抗体(ab2171)购于 abcam,白细胞介素 1 $\beta$  酶联免疫分析试剂盒、血管内皮生长因子酶联免疫分析试剂盒购自北京科盈美科技有限公司。BCA 蛋白浓度测定试剂盒购于碧云天公司。5% 叶黄素购自 DSM 公司。

### 1.2 实验动物

实验采用普通级青紫蓝兔(北京开源养殖场),雌雄不限,体重  $2.5 \pm 0.2$  kg。所有实验动物均于实验前行裂隙灯显微镜检查和散瞳后眼底检查,眼前后节均未见异常。青紫蓝兔饲养于解放军总医院第一附属医院动物实验中心,室内通风条件良好,正常昼夜变化(8:00 am ~ 8:00 pm),相对湿度为  $55 \pm 5\%$ ,室温为  $23 \pm 2$  °C。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 实验样品提取

取桑葚、枸杞子干果按 1:1 质量混合粉碎后依次用 10 倍体积水、8 倍体积水 95 °C 各提取 1 h,合并提取液,浓缩至相对密度 1.2 后,添加乙醇至 70%,静置 12 h 取沉淀即得多糖提取物,得率为 8%。桑葚和枸杞子的生药摄入量为每天各 3 g,换算成多糖提取物为 480 mg,5% 叶黄素为每天 200 mg。

#### 1.3.2 动物分组和给药

将青紫蓝兔适应性饲养一周,期间自由采水、饮食。1 周后 30 只普通级青紫蓝兔按体重随机分成 5 组,分别为空白组、模型组、受试样品低中高剂量组。灌胃量的计算根据徐淑云等的方法进行计算<sup>[12]</sup>,即按照人和兔子的体表面积折算的等效剂量比值来算,中剂量样品每天用量(g) =  $0.68 \times 0.07 \times [\text{兔体质量(kg)} / 1.5]$ (注:0.68 g 为每天成人摄入多糖提取物和叶黄素提取物总量),低剂量为其三分之一,高剂量为中剂量的 3 倍,每天灌胃 1 次。灌胃方法:样品用生理盐水制成混悬液,半透明硅胶导尿管,开口器进行灌胃,灌胃过程中使用兔夹进行固定。饲喂给药 21 天,第 14 天进行光损伤照射。

#### 1.3.3 光损伤照射模型制作

模型组和低中高剂量组青紫蓝兔经暗适应 24 h 后,复方托吡卡胺滴眼液对双眼进行散瞳,20 min 后置于自制光照箱中开始光照,每个光照箱中内放置一只青紫蓝兔,光照度为  $18000 \pm 1000$  lux,光照 2 h,不限制青紫蓝兔活动,整个光照过程保持通风,光照箱内的温度保持在 21 ~ 24 °C。光照结束后试验动物送回动物房中暗适应,各组试验动物分别于光

照前、光照后第一天和第七天进行视网膜电流图测定,整个试验过程自由采水、饮食。

### 1.3.4 视觉电生理(ERG)测定

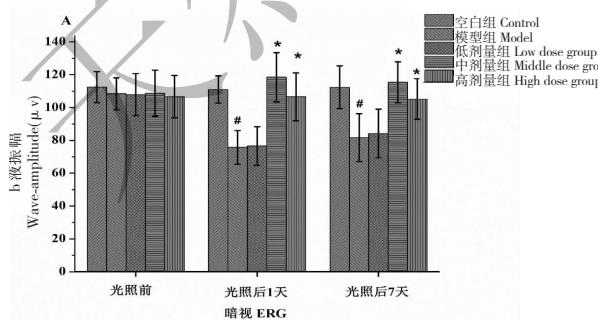
采用APS-2000AER视觉电生理检查仪测定。检测前盐酸赛拉嗪注射液肌肉注射麻醉试验动物,复方托吡卡胺滴眼液充分散瞳。暗适应30 min后于暗环境中下放置ERG电极,前极电极用电导膏贴于前额,接地电极连于同侧颞侧,金钩电极挂于下眼皮并与眼角膜接触,调节刺激光及强度,进行暗视视杆反应的测定<sup>[11]</sup>。暗视反应测定完毕后,明适应30 min,进行明视视锥反应测定。测定结束后避光将试验动物送回动物房暗适应,正常采水和进食,并对测定得到的ERG图进行b波波幅标定。

### 1.3.5 视网膜组织学观察

光照7 d进行ERG测定后,空气栓塞法将青紫蓝兔处死,摘除眼球,立即放入4%甲醛溶液中,4℃下固定24 h。24 h后除去角膜和晶体,再次固定24 h。沿着视神经垂直子午线,剪切得到视网膜纵切面,缓冲液清洗,逐级酒精脱水,常规石蜡包埋,超薄切片,HE染色,倒置显微镜观察,摄片,采用图像处理软件进行处理。于图片上定位视乳头,沿着视乳头上下每隔500 μm,取点进行外核层(ONL)厚度测定,共取12点。

### 1.3.6 视网膜免疫组化检测

按照以上程序进行:(1)切片脱蜡:每次5 min,5次;(2)切片脱酒精(3)增加切片上细胞通透性:将切片浸入0.1 M pH6.0枸橼酸溶液,高压修复;(4)封闭:用3%过氧化氢水溶液室温封闭20 min,每次2 min,3次;(5)孵育一抗:将Caspase3单抗用10%羊血清50倍稀释,4℃,过夜;(6)标记反应:室温复温1小时,PBS冲洗2次,每次2 min;PV-9002免疫组化试剂盒标记反应;(7)DAB显色:去掉多余



液体,加入50 uLDAB显色液,去离子水终止反应;(8)复染、封片:苏木精复染4 min,盐酸酒精分色液分色,复染,脱水,封片。

### 1.3.7 视网膜组织中白细胞介素1β和血管内皮生长因子检测

取出保存在-80℃冰箱中的视网膜组织,分析天平准确称量待测标本的重量,按重量体积比1:9加冰生理盐水,在冰水浴下用研磨棒将EP管中视网膜组织研磨成组织匀浆。4℃、2500 rpm/min低温高速离心机离心15 min,取上清液备用。白细胞介素1β、血管内皮生长因子和蛋白浓度测定检测参照试剂盒说明书进行检测。

## 1.4 统计学分析

数据均用Origin 8.5统计软件进行处理,用单因素方差分析ANOVA,以Tukey检测来进行显著性分析,实验结果以均值±标准偏差(Mean ± SD)表示, $P < 0.05$ 表示具有显著差异。

## 2 结果

### 2.1 对青紫蓝兔ERG暗视反应的影响

ERG暗视反应值反映视杆细胞功能状况<sup>[13]</sup>,光照后第一天和第七天模型组暗适ERG与空白组均具有显著性差异(如图1A),说明光照对青紫蓝兔视杆细胞造成损伤,其中光照后第一天和第七天暗适b波振幅相对于空白组分别下降了32.43%和27.68%。光照后第一天和第七天受试物中、高剂量组与模型组相比均具有显著性差异,相对于模型组中、高剂量组光照后第一天b波振幅分别提高了57.33%和41.33%,第七天b波振幅分别提高了41.98%和29.63%,说明受试样品对光诱导的视网膜视杆细胞损伤具有保护作用。

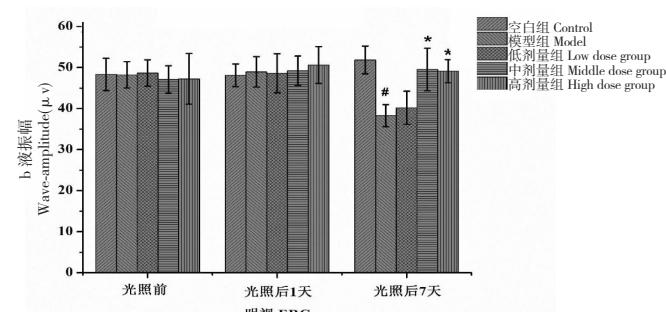


图1 多糖提取物和叶黄素对青紫蓝兔视觉电生理功能的影响

Fig. 1 Effect of polysaccharide extract and lutein on amplitudes of ERGs of pigmented rabbit

注:#与空白组具有显著性差异( $P < 0.05$ ),\*与模型组具有显著性差异( $P < 0.05$ ),下同。

Note:# significant difference with blank group ( $P < 0.05$ ), \* significant difference with model group ( $P < 0.05$ ), the same as below.

## 2.2 对青紫蓝兔 ERG 明视反应的影响

ERG 明视反应主要反映的是视锥细胞的变化<sup>[13]</sup>,光照后第七天模型组明适 ERG 与空白组具有显著性差异(如图 1B),说明光照对青紫蓝兔视锥细胞造成损伤,其中光照后第七天明适 b 波振幅相对于空白组下降了 25.49%。光照后第七天给药组相比模型组均有显著增加,其中中、高剂量组相对于模型组分别提高了 28.95% 和 29.26%,具有显著性差异,说明受试物对光诱导的视网膜视锥细胞损伤具有保护作用。

## 2.3 对青紫蓝兔视网膜外核层厚度的保护作用

外核层(ONL 层)由视锥细胞、视杆细胞的细胞

核组成,光照会导致视网膜外核层厚度降低<sup>[14]</sup>。图 2A 结果表明光照后 7 天,空白组视网膜组织形态正常,结构层次清晰,内外节排列整齐规则,而模型组中大量的感光细胞凋亡、数量显著减少,外核细胞层变薄,中、高剂量组上述现象得到显著改善;光损伤模型组相对于空白组 ONL 层厚度显著降低 27.14% ( $P < 0.05$ ),中、高剂量组的青紫蓝兔视网膜 ONL 层厚度与模型组相比分别升高 25.78% 和 28.21% ( $P < 0.05$ )(如图 2B);因此摄入受试物有利于感光细胞数目的恢复。

## 2.4 对青紫蓝兔视网膜 Caspase3 表达的作用

Caspase-3 被称为死亡蛋白酶,是凋亡途径的主

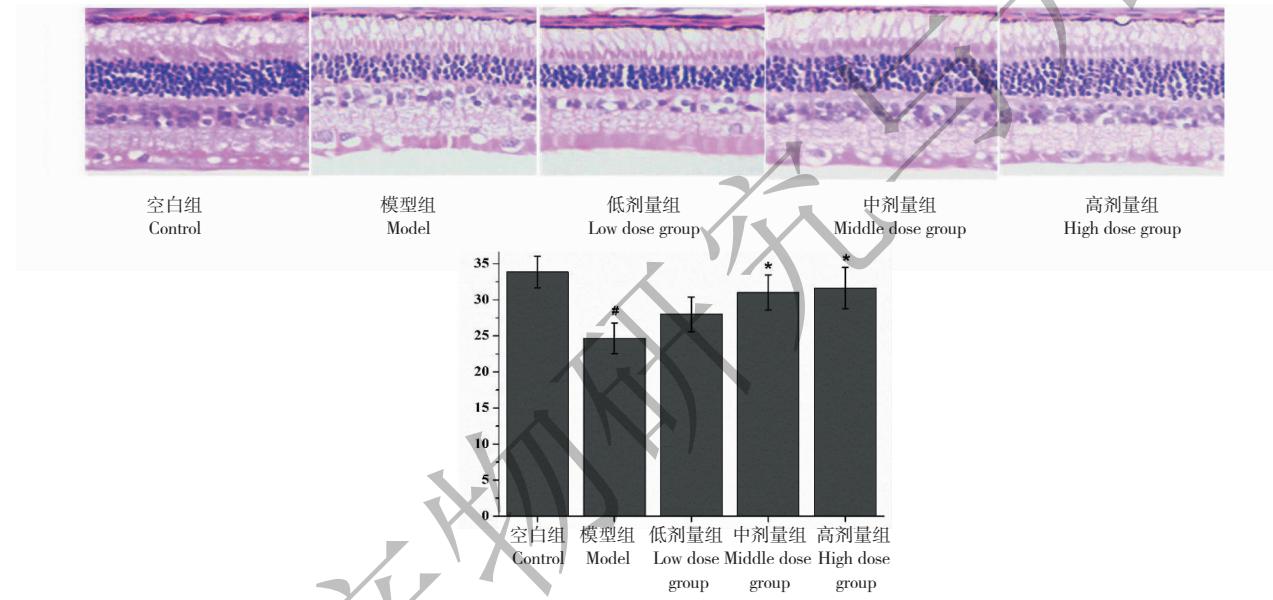


图 2 多糖提取物和叶黄素对青紫蓝兔视网膜外核层厚度的保护作用

Fig. 2 Effect of polysaccharide extract and lutein on retina ONLs of pigmented rabbit

注:A. 视网膜 HE 染色图;B. 视网膜外核层厚度(μm)。

Note: A. HE colored graph of retina; B. thickness of extra retinal layer(μm).

要执行者,参与了视网膜细胞的凋亡<sup>[15,16]</sup>。图 3A 结果表明 Caspase3 主要在视网膜的内核层和神经节细胞层着染,图 3B 免疫组化染色评分标准是根据阳性细胞的比例和染色强度评分,结果表明模型组视网膜 Caspase3 表达约为空白组的 2.8 倍( $P < 0.05$ ),中、高剂量受试物能显著抑制视网膜 Caspase3 表达( $P < 0.05$ ),分别为模型组表达量的 15.92% 和 10.64%。

## 2.5 对青紫蓝兔视网膜炎症因子的作用

IL-1 $\beta$  是视网膜组织中重要的炎症调节因子,可以诱导其他炎症因子和趋化因子的表达<sup>[17]</sup>。图 4 实验结果表明,光照后光损伤模型组视网膜组织中 IL-1 $\beta$  水平显著升高,与空白组相比具有显著性差

异( $P < 0.05$ ),中高剂量给药组视网膜中 IL-1 $\beta$  水平相对于模型组分别降低 20.83% 和 24.09%,均具有显著性差异( $P < 0.05$ )。因此受试物对抑制炎症因子具有显著作用。

## 2.6 对青紫蓝兔视网膜血管内皮生长因子的作用

视网膜血管内皮生长因子(VEGF)参与了视网膜病变中视网膜微血管渗透性的改变,影响视网膜微循环,造成血—视网膜屏障的破坏,能引起视网膜渗出、出血及水肿<sup>[18]</sup>。图 5 实验结果表明,光照后光损伤模型组视网膜组织中 VEGF 水平显著升高,与空白组相比具有显著性差异( $P < 0.05$ ),中、高剂量保健品组视网膜中 VEGF 水平相对于模型组分别降低了 10.87%、23.13%,其中高剂量组具有

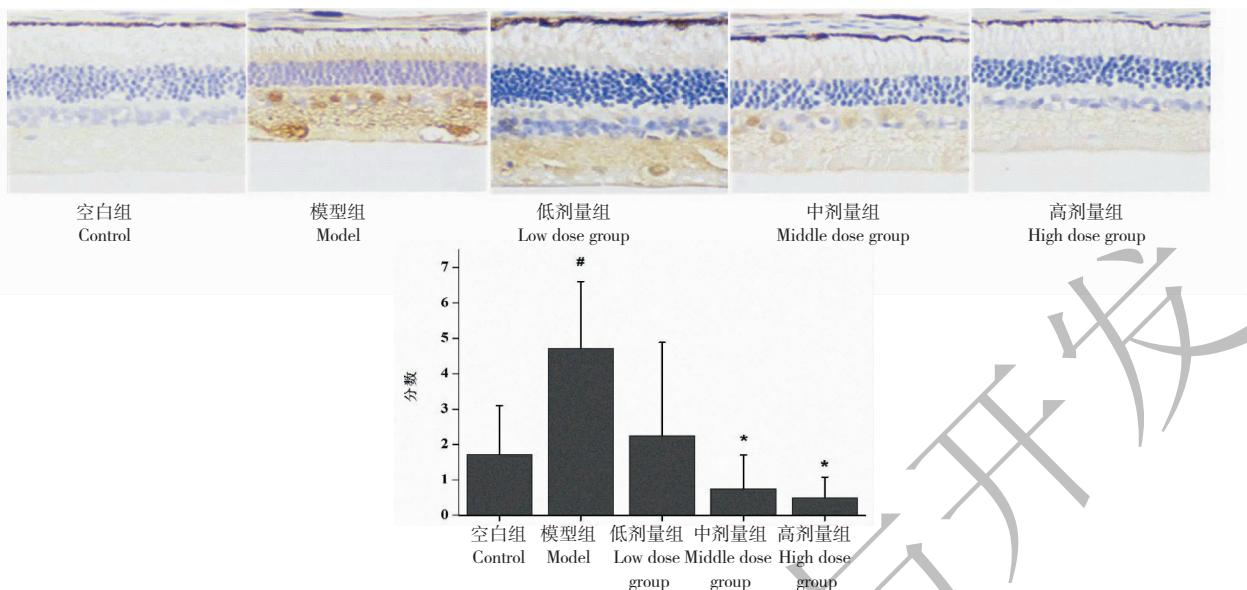


图3 多糖提取物和叶黄素对青紫蓝兔视网膜 Caspase-3 表达的影响

Fig. 3 Effect of polysaccharide extract and lutein on retina Caspase-3 expression of pigmented rabbit

注:A. 视网膜 Caspase3 免疫组化图;B. 免疫组化染色评分。

Note: A. immunohistochemical figure of retina Caspase3; B. immunohistochemical staining score.

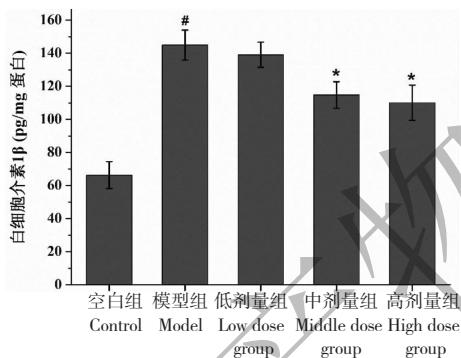


图4 多糖提取物和叶黄素对视网膜组织中白细胞介素 1 $\beta$  含量的影响

Fig. 4 Effect of polysaccharide extract and lutein on retina IL-1 $\beta$  content of pigmented rabbit

显著性差异( $P < 0.05$ )。

### 3 结论

本文选择青紫蓝兔动物模型,研究了摄入不同剂量桑葚和枸杞子多糖提取物与叶黄素对视网膜光损伤的保护作用,实验结果表明中、高剂量组受试物对光诱导的视网膜视杆细胞、视锥细胞损伤有保护作用;能显著抑制视网膜 Caspase3 表达和感光细胞凋亡,并促使其恢复到正常水平;显著降低组织中白细胞介素-1 $\beta$  含量,抑制炎症因子的生成;降低视网膜组织膜血管内皮生长因子含量,改善视网膜微循

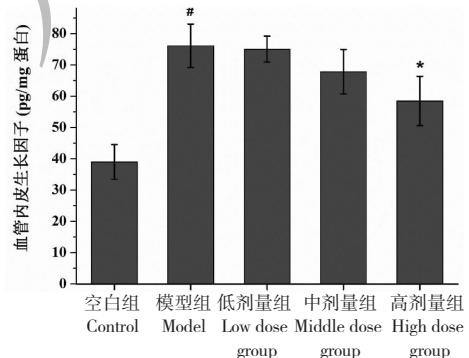


图5 糖提取物和叶黄素对视网膜组织中血管内皮生长因子含量的影响

Fig. 5 Effect of polysaccharide extract and lutein on retina VEGF content of pigmented rabbit

环,抑制视网膜病变。本研究表明青紫蓝兔光损伤模型适合于用来评价天然活性成分对眼健康的保护作用,多糖提取物和叶黄素具有显著的抑制视网膜光损伤的作用,在功能食品研发中可以作为有效的配伍。

### 参考文献

- Chang HM, Hung KH, Hsu CC, et al. Using induced pluripotent stem cell-derived conditional medium to attenuate the light-induced photodamaged retina of rats [J]. *J Chin Med Assoc*, 78:169-176.
- Sui GY, Liu GC, Liu GY, et al. Is sunlight exposure a risk factor for age-related macular degeneration? A systematic re-

- view and meta-analysis [J]. *Brit J Ophthalmol*, 2013, 97: 389-394.
- 3 Chen Y, Perusek L, Maeda A. Autophagy in light-induced retinal damage [J]. *Exp Eye Res*, 2016, 144:64-72.
- 4 Jin X(金鑫), Zang XX(臧茜茜), Ge YZ(葛亚中), et al. Recent progress in studies and development of anti-cisual fatigue functional foods and their functional components [J]. *Food Sci(食品科学)*, 2015, 36:258-263.
- 5 Li SY, Yang D, Yeung CM, et al. Lycium Barbarum polysaccharides reduce neuronal damage, blood-retinal barrier disruption and oxidative stress in retinal ischemia/reperfusion injury [J]. *Plos one*, 2011, 6:16380.
- 6 Mi XS, Feng Q, Lo ACY, et al. Protection of retinal ganglion cells and retinal vasculature by lycium barbarum polysaccharides in a mouse model of acute ocular hypertension [J]. *Plos one*, 2012, 7:45469.
- 7 Chan HC, Chuen C, Chang R, et al. Neuroprotective effects of lycium barbarum lynn on protecting retinal ganglion cells in an ocular hypertension model of glaucoma [J]. *Exp Neurol*, 2007, 203:269-273.
- 8 Mariko S, Kenya Y, Toshihide K, et al. Biological role of lutein in the light-induced retinal degeneration [J]. *J Nutr Biochem*, 2012, 23:423-429.
- 9 Guo R(郭锐), Zhu CL(朱长乐), Wang YL(王育良). Protective effects of radix pseudostellariae extract on laser-induced retinal damage [J]. *Rec Adv Ophthalmol(眼科新进展)*, 2013, 33:1120-1123.
- 10 Teng Y(腾岩), Song H(宋晗), Zheng JQ(郑建秋). Retinal function of healthy pigmented rabbits [J]. *Acta Lab animalis Sci sinica(中国实验动物学报)*, 2007, 15:198-202.
- 11 Liu YX, Song X, Han Y, et al. Identification of anthocyanin components of wild chinese blueberries and amelioration of light-induced retinal damage in pigmented rabbit using whole berries [J]. *Agric. Food Chem.* 2011, 59:356-363.
- 12 Xu SY(徐淑云). Experimental methodology of pharmacology (药理实验方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002:179-181.
- 13 Weymouth AE, Vingrys AJ. Rodent electroretinography: Methods for extraction and interpretation of rod and cone responses [J]. *Prog Retin Eye Research*, 2008, 27(1):1-44.
- 14 Tremblay F, Waterhouse J, Nason J, et al. Prophylactic neuroprotection by blueberry-enriched diet in a rat model of light-induced retinopathy [J]. *J Nutr Biochem*, 2013, 24:647-655.
- 15 Mao JF(毛俊峰), Liu SZ(刘双珍), Wen D(文丹), et al. Expression of retinal caspase-3 in form-deprivation myopia [J]. *Int J Ophthalmol-chi(国际眼科杂志)*, 2005, 5 (1): 66-69.
- 16 Zhao JY(赵珺彦), Zhai PG(翟鹏贵). Effects of marigold extract on apoptosis factor caspase-3 of retinal photic injury [J]. *Zhejiang J Integr Trad Chin-West Med(浙江中西医结合杂志)*, 2012, 22:345-347.
- 17 Li HJ(李会娟), Shen HR(沈和荣), Shao GF(邵桂芳), et al. Effect of ligustrazine(LZ) injection on expressions of IL-1 $\beta$  and ICAM-1 proteins in rats with diabetic retinopathy [J]. *Mod Trad Chin-West Med(现代中西医结合杂志)*, 2012, 21:4016-4017.
- 18 Fan XJ(樊小娟), Zhang XL(张小玲). Perspectives on VEGF and PEDF in the pathogenesis of diabetic retinopathy [J]. *Int J Ophthalmol-chi(国际眼科杂志)*, 2007, 7:485-488.

(上接第 189 页)

- 9 Li MY(李美玉). Study on the role of honeysuckle *in vitro* against respiratory syncytial virus [J]. *Jour Trop Med(热带医学杂志)*, 2010, 10:420-422.
- 10 Wang J, Chen X, Wang W, et al. Glycyrrhizic acid as the antiviral component of Glycyrrhiza uralensis Fisch. against coxsackie virus A16 and enterovirus 71 of hand foot and mouth disease [J]. *J Ethno*, 2013, 147:114-121.
- 11 Pompei R, Flore O, Marccialis MA, et al. Glycyrrhizic acid inhibits virus growth and inactivates virus particles [J]. *Nat*, 1979, 281:689-690.
- 12 Harada S. The broad anti-viral agent glycyrrhizin directly modulates the fluidity of plasma membrane and HIV-1 envelope [J]. *Bioc J*, 2005, 392:191-199.
- 13 Sun L(孙兰), Liu AL(刘艾林), Wang ZZ(王振中), et al. Inhibition of influenza virus neuraminidase by Resin injection and its components [J]. *Mod Dru & Cli(现代药物与临床)*, 2014, 29(1):27-31.
- 14 Hsieh CF, Yen HR, Liu CH, et al. Ching-fang-pai-tu-san inhibits the release of influenza virus [J]. *J Ethn*, 2012, 144: 533-544.
- 15 Jiang CQ(蒋成全). Antiviral effect of traditional Chinese medicine and its application [J]. *Chi Med Her(中国医药导报)*, 2007, 15:8-9.
- 16 Wang ZZ(王振中), Bao LL(鲍琳琳), Sun L(孙兰), et al. Study on the mechanism of anti-A H1N1 influenza virus in Resin injection [J]. *Chi Trad and Her Dru(中草药)*, 2014, 45:90-93.
- 17 Lau KM, Lee KM, Koon CM, et al. Immunomodulatory and anti-SARS activities of *Houttuynia cordata* [J]. *J Ethn*, 2008, 118:79-85.
- 18 Yin ZA(尹周安), He YY(贺圆圆), Yuan ZY(袁振仪), et al. Conception of TCM prevention and treatment strategy for Ebola hemorrhagic fever [J]. *TCM Herb*, 2014, 20(10):4-7.
- 19 Xinhua News Agency(新华社). Chinese herbal extracts are expected to cure Ebola [J]. *Chi Eco Civ(中国生态文明)*, 2015, 1:94.