



研究报告

Research Report

蓝桉和龙蒿的水醇提取物对比阿昔洛韦治疗单纯疱疹病毒 1 型的效果评估

Aghaei Afshar Davood¹, Zahedi Mohammad Javad², Arabzadeh Alimohammad², Aghaei Afshar Abbas², Mollaei Hamidreza²

¹ Chamran university, Kerman, Iran

² Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

✉ 通讯作者: a_afshar@kmu.ac.ir; ✉ 作者

植物药与药理学杂志, 2012 年, 第 1 卷, 第 10 篇 doi: [10.5376/jpmpp.cn.2012.01.0010](https://doi.org/10.5376/jpmpp.cn.2012.01.0010)

收稿日期: 2012 年 07 月 10 日

接受日期: 2012 年 07 月 18 日

发表日期: 2012 年 07 月 23 日

本文首次发表在《Medicinal Plant Research》(2012, Vol. 2, No. 2)上。现依据版权所有人授权的许可协议, 采用 Creative Commons Attribution License 对其进行授权, 再次发表与传播。只要对原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。建议最佳引用格式:

引用格式(中文):

Aghaei 等, 2012, 蓝桉和龙蒿的水醇提取物对比阿昔洛韦治疗单纯疱疹病毒 1 型的效果评估, 植物药与药理学杂志(online) Vol.1 No.10 pp.1-5 (doi: [10.5376/jpmpp.cn.2012.01.0010](https://doi.org/10.5376/jpmpp.cn.2012.01.0010))

引用格式(英文):

Aghaei et al., 2012, Evaluation Effect of Hydroalcoholic Extract of *Eucalyptus Globulus* and *Artemisia Draconculus* Compare with Acyclovir against Herpes Simplex Virus Type 1, Zhiwuyao Yu Yaolixue Zazhi (online) Vol.1 No.10 pp.1-5 (doi: [10.5376/jpmpp.cn.2012.01.0010](https://doi.org/10.5376/jpmpp.cn.2012.01.0010))

摘要 单纯疱疹病毒 1 和 2(HSV-1 和 HSV-2), 也被称为人类疱疹病毒 1 和 2, 他们是疱疹病毒家族一感染人类疱疹病毒科的两个成员。HSV-1(引起大多数的唇疱疹)和 HSV-2(引起大多数生殖器疱疹)是无处不在且可传染的。当一个被感染的人在生成病毒并脱落时, 它们便可以传播。2011 年, 本研究在伊朗进行了的水醇提取物和阿昔洛韦对单纯疱疹病毒作用的对比研究。初步调查后, 两种蓝桉和龙蒿两种草药被选定为疱疹病毒的治疗药物。从患者分离单纯疱疹病毒且经过特异性单克隆的抗体鉴定。韦罗细胞(非洲绿猴肾细胞)与改良伊戈尔培养基(DMEM)添加 10% 热灭活胎牛血清(FBS), 100 IV/mL 青霉素和 1 $\mu\text{g/mL}$ 链霉素。最后, 将植物和阿昔洛韦对疱疹病毒的进行对比。结果表明, 龙蒿不能明显减少病毒斑块, 然而蓝桉的甲醇提取物有抗 HSV-1 和一定的浓度(200, 150, 50 $\mu\text{g/mL}$)的效果最好, (> 200 $\mu\text{g/mL}$)效果最差。对结果的对比分析表明, 蓝桉提取物在不同稀释液对体外培养的 HSV-1 具有更大的影响。

关键词 疱疹病毒, 蓝桉, 龙蒿, 阿昔洛韦

Evaluation Effect of Hydroalcoholic Extract of *Eucalyptus Globulus* and *Artemisia Draconculus* Compare with Acyclovir against Herpes Simplex Virus Type 1

Aghaei Afshar Davood¹, Zahedi Mohammad Javad², Arabzadeh Alimohammad², Aghaei Afshar Abbas², Mollaei Hamidreza²

¹ Chamran university, Kerman, Iran

² Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

✉ Corresponding author, a_afshar@kmu.ac.ir; ✉ Authors

Abstract Herpes simplex virus 1 and 2 (HSV-1 and HSV-2), also known as Human herpes virus 1 and 2 are two members of the herpes virus family, Herpesviridae, that infect humans. Both HSV-1 (which produces most cold sores) and HSV-2 (which produces most genital herpes) are ubiquitous and contagious. They can be spread when an infected person is producing and shedding the virus. The present study was carried out to determine the effect of alcoholic extract of two herbs *Eucalyptus globulus* and *Artemisia draconculus* on herpes virus compare with acyclovir in Iran during 2011. After preliminary survey, two herbs *Eucalyptus globulus* and *Artemisia draconculus* were selected as a drug for the treatment of herpes virus. HSV-1 was isolated from patients and identified by specific monoclonal antibodies. Vero cells (African green monkey kidney cells) were cultured with Dulbecco's Modified Eagles' Medium (DMEM) supplemented with 10% heat inactivated Fetal Bovine Serum (FBS), 100 IV/mL penicillin and 1 $\mu\text{g/mL}$ streptomycin. Finally, the effect of these plants and Acyclovir compared with together on herpes virus. Results showed *Artemisia draconculus* could not reduce viral plaques significantly, however methanolic extracts of *Eucalyptus globulus* had a significant inhibitory effect against HSV-1 and concentration (200, 150, 50 $\mu\text{g/mL}$) has the best effect and (>200 $\mu\text{g/mL}$) Has lowest effect on HSV-1. The comparison of results exhibited that *Eucalyptus globulus* extract has more effects in different dilutions against HSV-1 in cell culture.

Keywords Herpes virus; *Eucalyptus globulus*; *Artemisia draconculus*; Acyclovir

疱疹病毒的结构是由一个比较大的双链线性, 且被包裹在一个称为衣壳蛋白体的笼子里的 DNA 基因组, 它是包裹在双分子脂质层称为膜(Roller et al., 2008)。膜是由天然的外壳加入联结到衣壳上。这个完整的粒子被



称为病毒。虽然对于基因拥挤猜测了允许多达由 94 个 ORFs 编码基因表达的 84 种独特的蛋白质(Yang et al., 2012)。但 HSV-1 和 HSV-2 各自的基因组都包含至少 74 个基因(开放阅读框, ORFs)。这些基因翻译的各种蛋白参与形成病毒的衣壳, 皮层和包膜, 以及控制病毒的复制和传染性(Xu et al., 1999)。这些基因及其函数汇总在下面的表格中。

唇疱疹, 有时被称为发烧水泡, 是长在嘴唇上和嘴周围的一组小水泡。水泡周围的皮肤往往是红色的, 肿胀和疼痛的。水泡可能会破裂, 流出透明的液体, 然后在几天之后痂。他们通常会在几天到 2 周内愈合(chuanasa et al., 2008)。唇疱疹是由单纯疱疹病毒(HSV)引起的。单纯疱疹病毒有两种类型: HSV-1 和 HSV-2。两类病毒均可引起嘴部周围(唇疱疹)和生殖器上(生殖器疱疹)疱疹(Fatahzadeh and Schwartz, 2007)。单纯疱疹病毒通常通过嘴部周围或者口腔内的伤口进入人体。它通常是当一个人接触到唇疱疹或接触到其感染性的液体, 如从共享的饮食器具, 剃须刀, 与感染者接吻或者街道那个人的唾液(Friedman, 2006)。如果父母中的一方有唇疱疹, 他们通常会通过这种方式传染给自己的孩子。唇疱疹也可以被传染到身体的其他部位。唇疱疹的第一个症状就是在你的嘴周围和唇上有疼痛感, 发烧, 喉咙痛或者脖子或者身体其他部位的腺体肿大。有时小孩子在疱疹出现前会流口水(Gershon et al., 2010)。水泡出现后, 疱疹通常会破裂, 并流出透明的液体, 然后结痂, 并在几天到 2 个星期内消失。对于一些人来说, 唇疱疹可以是很痛苦的。唇疱疹通常会在几天内开始愈合伤口。但如果他们让你痛苦或使你尴尬, 他们也是可以治疗的。治疗手段可能包括护肤霜、药膏或药片(Carson et al., 2008)。治疗可能会使摆脱唇疱疹的速度提高 1 至 2 天, 但它也可以帮助缓解水泡引起的疼痛或其他不舒服的症状。引起疱疹的单纯疱疹病毒无法被杀死。一旦你被感染后, 病毒将会你的余生一直停留在你的体内(Chuanasa et al., 2008)。二十二烷醇, 饱和脂肪醇, 已被美国食品和药物管理局批准的针对具有正常免疫功能的系统在成人人口唇疱疹是一种安全有效的局部应用。它的疗效可以与外用处方抗病毒药物相比。由于它的作用机制, 产生耐药的风险很小(El Sayed, 2000)。通过及时适当应用少量抗病毒药物, 麻醉剂或非治疗霜(如氧化锌或硫酸锌), 症状的持续时间会缩短(Chattopadhyay and Khan, 2008)。有效的抗病毒药物入阿昔洛韦和喷昔洛韦等, 可提高百分之十的愈合速度。泛昔洛韦或伐昔洛韦, 以药片形式, 可以有效地一天天使用, 并且大剂量应用比 5 ~ 7 天低剂量的传统治疗方法更具成本效益和方便(Garozzo et al., 2011)。赖氨酸已被建议在体外研究的基础上一种作为唇疱疹的治疗方法, 但在人体应用上尚无定论(Gebre-Mariam et al., 2006)。有效治疗单纯疱疹病毒(HSV)感染的抗病毒药物有阿昔洛韦(ACV)。然而, 已经出现了有关的抗药性的报道, 主要是在免疫功能低下的患者(患病率约 5%), 尤其是异基因骨髓移植患者(患病率达到 30%)(Hammer et al., 2006)。耐 ACV 对一个病毒的酶参与行动的 ACV 机制突变相关: 胸腺嘧啶核苷激酶(TK)和 DNA 聚合酶。在 95% 的情况下, ACV 耐药性与病毒复制必不可少的有关 TK 基因突变有关, 不像很少参与抗药性的病毒 DNA 聚合酶(Hosono et al., 2008)。今天, 一些草药提取物也被用于治疗疱疹性溃疡。这篇文章把植物龙蒿和桉树的乙醇提取物与药物阿昔洛韦的作用进行了对比研究。

1 结果

台盼蓝拒染法显示, 浓度高达 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 蓝桉和龙蒿的提取物对细胞增殖无影响严重(数据未显示)。因此, 我们可以得出一个结论, CC50(造成 50% 毒性作用的浓度)超过了 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

提取物的抗病毒活性通过抑制病毒 TCID50 测定产量的蓝桉和龙蒿的 TCID50 测定法评估细胞。在添加在病毒感染的早期阶段, 蓝桉提取物显示出具有较强的抗 HSV-1 病毒活性。

抑制程度表现为提取物的浓度成正比, 当浓度高于 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 蓝桉提取物抑制病毒产量几乎完全。在感染治疗期间 650 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 治疗时感染的 EC50 值下降到 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 后提取的 EC50 值, 然后提取液在低浓度时, 病毒感染后更有效。结果表明, 对比组相比, 在不同浓度龙蒿的水溶液和水醇提取物不能明显减少病毒斑块(数据未显示), 但是, 细胞毒性试验结果表明, 蓝桉水甲醇提取物的抑制分别为 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 蓝桉的甲醇提取物对单纯疱疹病毒有明显的抑制作用。韦罗细胞感染 HSV-1 一小时前, 与对照组相比, 甲醇桉在 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的浓度($P < 0.05$)显著引起病毒空斑数的减少(图 1; 图 2)。

2 讨论

目前, 许可的抗疱疹病毒感染的治疗药物包括阿昔洛韦衍生物, 膦甲酸钠和西多福韦, 所有这些都可以抑制疱疹病毒 DNA 聚合酶的形成(Khan et al., 2005)。但是这些抗病毒药物可能会产生有毒的副作用。此外, 对常用抗疱疹病毒药物的病毒耐药株的出现是很重要的, 尤其是在患者的免疫功能的低下的时候(Ju et al., 2011)。



抗病毒药物的抗病毒作用的发展提高了对新型有效的化合物的需要。因此, 新型抗病毒药物表现出不同的作用机制是迫切需要的(Knickelbein et al., 2009)。

药用植物产生多种化学成分具有潜在的抑制病毒的复制的作用, 而天然来源的化合物则或是控制病毒感染的可能来源(Koch et al., 2008)。这些植物被广泛用于治疗各种感染性和非感染性疾病, 代表着可能是一种新的生物活性次级代谢产物的丰富来源。因此植物继续新的先导化合物的重要来源(Batish et al., 2008)。除了药物化学小分子, 天然产品仍然是各种创新治疗药物的主要来源, 包括感染性疾病(Wei and Shibamoto, 2010)。

近年来, 即使某些药物已被选择作为工业化医学的替代品, 人们使用传统药物和药用植物的趋势已经出现。

疱疹病毒是人体产生不同疾病的常见因素之一。疱疹病毒的并发症有水泡, 皮疹, 脑膜炎和脑炎。

根据阿昔洛韦对 HSV 病毒的治疗, 有时会因为药物耐药性, 或者工业化药品限制因素, 例如如妊娠, 而不得不采用替代品。

蓝桉和龙蒿是两种伊朗原生药材, 其使用的历史要追溯到很多年前。在伊朗的不同地区都可以找到他们, 而且使用他们的频率很高, 所以他们可以被用来作为一种替代治疗。

在这项研究中, 主要评估了两个传统草药(蓝桉和龙蒿)和疱疹病毒阿昔洛韦的效果。并指出其抑制 HSV-1 的疗效。基于蓝桉提取物在不同稀释液对细胞培养的病毒影响的结果上, 根据我们的研究, 发现 (200 $\mu\text{g/mL}$, 150 $\mu\text{g/mL}$, 50 $\mu\text{g/mL}$)的浓度效果最好, (>200 $\mu\text{g/mL}$)对 HSV-1 作用最低。关于龙蒿, 在各种韦罗细胞进行的各种实验后, 我们找不到在不同稀释度下对 HSV-1 的抑制作用。

最后, 由于蓝桉广泛的在不同的国家消耗, 特别是在伊朗, 这种植物的提取物可以作为一种替代治疗。药品生产、喷雾或热带软膏代将在许多情况下替如阿昔洛韦等工业化的药物。当然, 在所有这些研究表明, 在将他们用于增加疗效的病人身上之前, 草药的剂量和最好药物消耗方法也要研究。

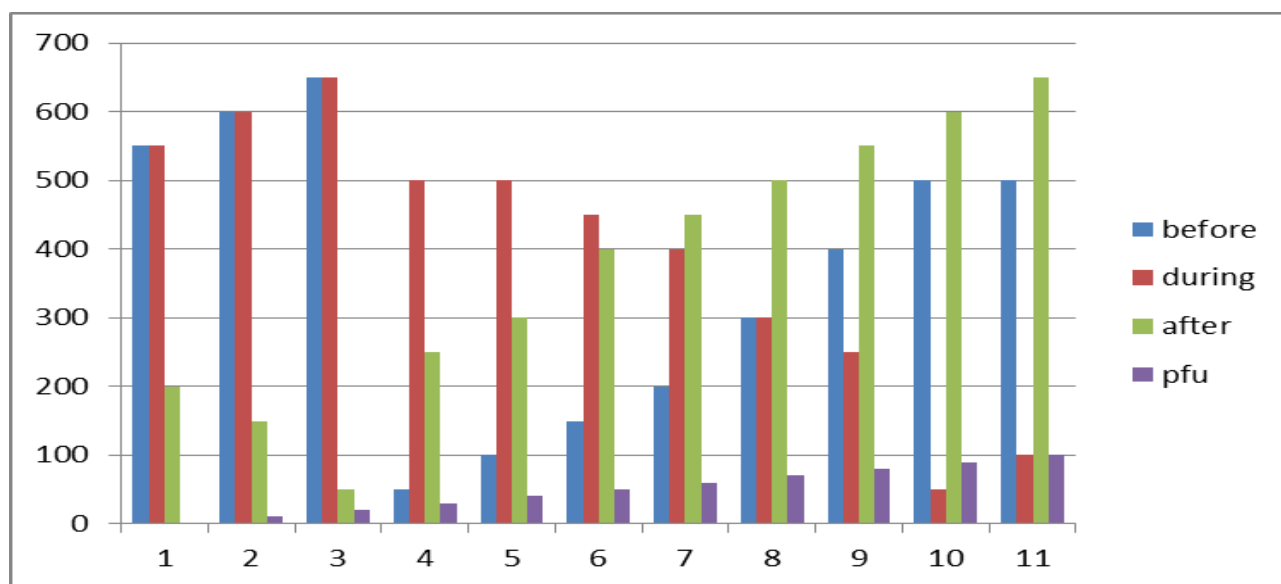


图1 细胞培养与蓝桉提取物在病毒感染的前期, 期间和之后结果

Figure1 Incubation of cells with the *Eucalyptus globulus* extract before, during and after virus infection

3 材料与方法

3.1 细胞培养与病毒

韦罗细胞(非洲绿猴肾细胞)与改良伊戈尔培养基(DMEM)添加 10%热灭活胎牛血清(FBS), 100 IV/mL 青霉素和 1 $\mu\text{g/mL}$ 链霉素。细胞保持在 37 $^{\circ}\text{C}$ 的湿润和 5%浓度的 CO_2 的空气中, 一周两到三次继代培养。单纯疱疹病毒从患者上分离且用特异性单克隆抗体鉴定。在 50%组织培养感染剂量(TCID₅₀)定量病毒通过终点稀释, 用芦苇法测定滴度和嚼食(14), 并在零下 70 $^{\circ}\text{C}$ 存储在小样品直到使用。

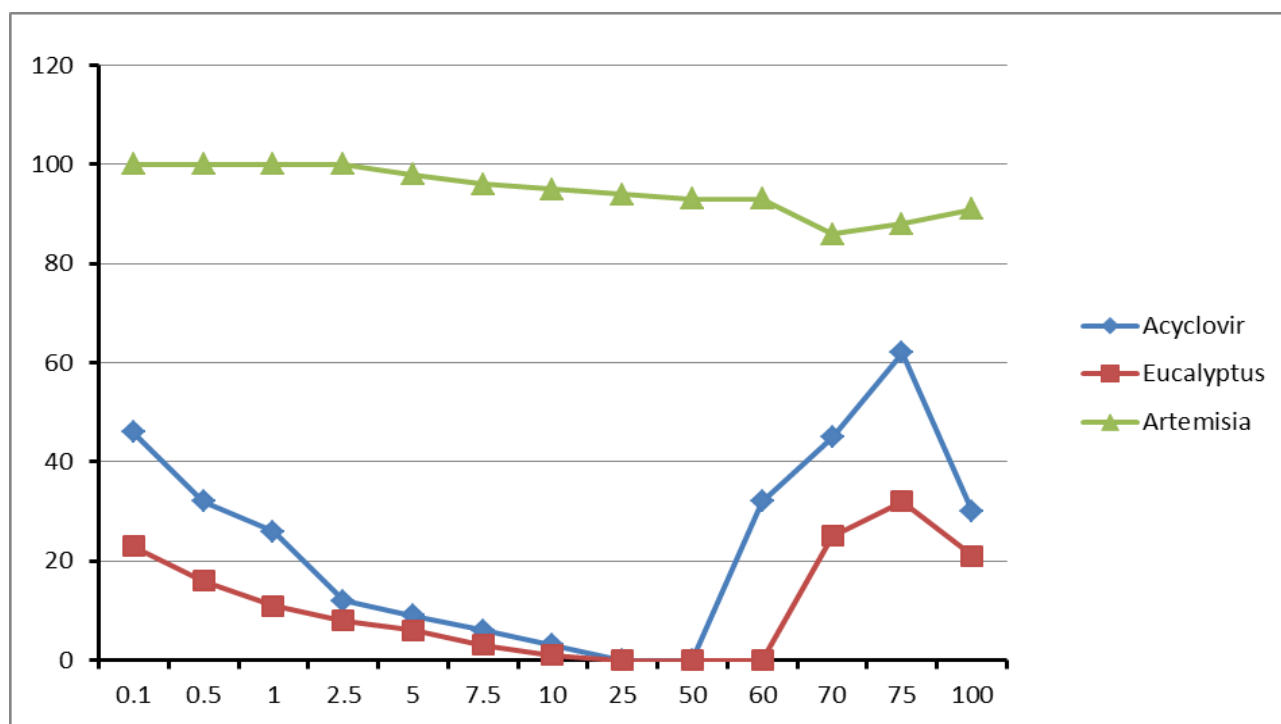


图2增加蓝桉和龙蒿的提取物浓度和阿昔洛韦对病毒滴度的影响

Figure2 Effect of increasing concentration of *Eucalyptus globulus* and *Artemisia dracunculus* extract and acyclovir on the titer of HSV-1

3.2 病毒属性

使用 HSV-1 是从病人的唇病变处分离, 用豚鼠抗 HSV-1 血清和抗 HSV 糖蛋白的单克隆抗体和抗 D, 通过中和试验证实其属性。

3.3 植物材料

出现在蓝桉和龙蒿从克尔曼的农田中收集而来, 并在克尔曼大学医学科学部做了病毒学鉴定。干燥的叶子被粉碎, 采用 500 毫升的 80% 甲醇将其中的 200 克粉浸泡 72 小时。甲醇提取物主要集中在旋转蒸发促进剂, 冻干后保存再利用。每 10 毫克蓝桉和龙蒿被溶解在一毫升蒸馏水, 制备留用。然后通过过滤灭菌

至于抗病毒检测细胞毒性, 蓝桉和龙蒿原液稀释在改良型伊戈尔 Eagle 培养基(DMEM 培养基、西格马)保存介质中, 其含 2% 胎牛血清(Gibco、德国)、0.14%(V/V)碳酸钠碳酸氢钠, 100 U/mL 青霉素, 100 μ g/mL 硫酸链霉素、0.25 μ g/mL 两性霉素 B。

3.4 毒性试验

为了测试蓝桉和龙蒿提取物对 Vero 细胞的影响, 5×10^4 细胞(in 1 mL DMEM, 添加 10% FBS)接种于每孔微板, 在 37 $^{\circ}$ C 的温度下培养 6 小时。细胞在越来越多的提取物的存在的条件下, 被允许增加额外的 48 小时(10 μ g/mL, 100 μ g/mL, 200 μ g/mL, 400 μ g/mL, 600 μ g/mL, 800 μ g/mL and 1 000 μ g/mL)。在传统的血球计数仪采用台盼蓝拒染法测定提取物的细胞毒性。50% 细胞毒性浓度(CC50)定义。作为浓度, 这造成了在活细胞的数量减少 50%。

3.5 病毒感染前、中、后细胞培养的研究

蓝桉和龙蒿的水醇提取物溶解在无血清 DMEM, 半汇合的细胞在 24 孔细胞培养板中, 37 $^{\circ}$ C 温度下, 浓度从 10 增加到 1 000 μ g/mL 培养 2 小时。去除提取后, 细胞用磷酸盐缓冲液(PBS), 然后用多重感染法感染 HSV-1(MOI)。一个小时的繁殖后, 未被吸收的病毒被清除, 细胞单层 PBS 洗涤, 进一步培养在 2% 胎牛血清的 DMEM 培养基。对照组未经处理的韦罗细胞和感染病毒的韦罗细胞。

检测病毒感染后和病毒感染后的抗病毒活性的测定, 如上述所述, 与异常的提取物被添加在 37 $^{\circ}$ C 温度下的病毒和吸附后, 相应地培养 48 小时后。由终点稀释法测定表达 TCID50 /mL 的病毒滴度。



EC50, 需要抑制 50%病毒感染与未感染细胞的浓度, 通过绘制病毒的产量与样品浓度的抑制曲线直接测定。

3.6 数据分析

采用 SPSS 11.5, 对两个不同实验病毒斑块的平均数和方差分析(ANOVA)比较。Dunnett 试验作为事后检验。P<0.05, 有统计学意义的因素。

参考文献

- Batish D.R., Singh H.P., Kohli R.K., and Kaur S., 2008, Eucalyptus essential oil as a natural pesticide, *Forest Ecology and Management*, 256(12): 2166-2174
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foreco.2008.08.008>
- Carson C.F., Smith D.W., Lampacher G.J., and Riley T.V., 2008, Use of deception to achieve double-blinding in a clinical trial of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil for the treatment of recurrent herpes labialis, *Contemporary Clinical Trials*, 29(1): 9-12
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cct.2007.04.006>
- Chattopadhyay D., and Khan M.T.H., 2008, Ethnomedicines and ethnomedicinal phytophores against herpesviruses, in: El-Gewely M.R. (Ed.), *Biotechnology Annual Review*, Elsevier, pp.297-348
- Chuanasa T., Phromjai J., Lipipun V., Likhitwitayawuid K., Suzuki M., Pramyothin P., Hattori M., and Shiraki K., 2008, Anti-herpes simplex virus (HSV-1) activity of oxyresveratrol derived from Thai medicinal plant: Mechanism of action and therapeutic efficacy on cutaneous HSV-1 infection in mice, *Antiviral Research*, 80(1): 62-70
<http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2008.05.002>
- El Sayed K.A., 2000, Natural products as antiviral agents, in: R. Atta ur (Ed.), *Studies in Natural Products Chemistry*, Elsevier, pp.473-572
- Fatahzadeh M., and Schwartz R.A., 2007, Human herpes simplex virus infections: Epidemiology, pathogenesis, symptomatology, diagnosis, and management, *Journal of the American Academy of Dermatology*, 57(5): 737-763
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jaad.2007.06.027>
- Friedman H.M., 2006, Keratin, a dual role in herpes simplex virus pathogenesis, *Journal of Clinical Virology*, 35(1): 103-105
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcv.2005.03.008>
- Garozzo A., Timpanaro R., Stivala A., Bisignano G., and Castro A., 2011, Activity of melaleuca alternifolia (tea tree) oil on Influenza virus A/PR/8: Study on the mechanism of action, *Antiviral Research*, 89(1): 83-88
<http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2010.11.010>
- Gebre-Mariam T., Neubert R., Schmidt P.C., Wutzler P., and Schmidtke M., 2006, Antiviral activities of some ethiopian medicinal plants used for the treatment of dermatological disorders, *Journal of Ethnopharmacology*, 104(1-2): 182-187
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2005.08.071>
- Gershon A.A., Gershon M.D., Breuer J., Levin M.J., Oaklander A.L., and Griffiths P.D., 2010, Advances in the understanding of the pathogenesis and epidemiology of herpes zoster, *Journal of Clinical Virology*, 48(S1): 2-7
[http://dx.doi.org/10.1016/S1386-6532\(10\)70002-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1386-6532(10)70002-0)
- Hammer K.A., Carson C.F., Riley T.V., and Nielsen J.B., 2006, A review of the toxicity of melaleuca alternifolia (tea tree) oil, *Food and Chemical Toxicology*, 44(5): 616-625
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2005.09.001>
- Hosono T., Yokomizo K., Hamasaki A., Okamoto Y., Okawara T., Otsuka M., Mukai R., and Suzuki K., 2008, Antiviral activities against herpes simplex virus type 1 by HPH derivatives and their structure-activity relationships, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 18(1): 371-374
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2007.10.065>
- Ju H.Q., Wang S.Y., Pei Y., Xiang Y.F., Li S., Zhang Y.J., Yang C.R., and Wang Y.F., 2011, In vitro study on the anti-HSV-1 and HBV activities of extracts from the fruit of Eucalyptus maidenii, *Zhong Yao Cai*, 34(2): 242-245
- Khan M.T.H., Ather A., Thompson K.D., and Gambari R., 2005, Extracts and molecules from medicinal plants against herpes simplex viruses, *Antiviral Research*, 67(2): 107-119
<http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2005.05.002>
- Knickelbein J.E., Hendricks R.L., and Charukamnoetkanok P., 2009, Management of herpes simplex virus stromal keratitis: an evidence-based review, *Survey of Ophthalmology*, 54(2): 226-234
<http://dx.doi.org/10.1016/j.survophthal.2008.12.004>
- Koch C., Reichling J., Schnee J., and Schnitzler P., 2008, Inhibitory effect of essential oils against herpes simplex virus type 2, *Phytomedicine*, 15(1-2): 71-78
<http://dx.doi.org/10.1016/j.phymed.2007.09.003>
- Roller D.G., Dollery S.J., Doyle J.L., and Nicola A.V., 2008, Structure-function analysis of herpes simplex virus glycoprotein B with fusion-from-without activity, *Virology*, 382(2): 207-216
<http://dx.doi.org/10.1016/j.virol.2008.09.015>
- Wei A., and Shibamoto T., 2010, Chapter 4-Medicinal activities of essential oils: role in disease prevention, in: Ronald Ross W. and Victor R.P. (Eds.), *Bioactive Foods in Promoting Health*, Academic Press, San Diego, pp.59-70
<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-374628-3.00004-9>
- Xu H.X., Lee S.H.S., Lee S.F., White R.L., and Blay J., 1999, Isolation and characterization of an anti-HSV polysaccharide from *Prunella vulgaris*, *Antiviral Research*, 44(1): 43-54
[http://dx.doi.org/10.1016/S0166-3542\(99\)00053-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0166-3542(99)00053-4)
- Yang K., Wills E.G., and Baines J.D., 2012, Release of the herpes simplex virus 1 protease by self cleavage is required for proper conformation of the portal vertex, *Virology*, 429(1): 63-73
<http://dx.doi.org/10.1016/j.virol.2012.03.009>