

XÁC ĐỊNH TIỀM NĂNG ỨC CHẾ VIRUS DỊCH TẢ LỢN CHÂU PHI CỦA MỘT SỐ HOẠT CHẤT THẢO DƯỢC

Bùi Trần Anh Đào, Nguyễn Thị Lan, Bùi Thị Tố Nga, Hoàng Minh Sơn, Nguyễn Thị Thanh Hà, Vũ Thị Thu Trà, Trần Minh Hải, Nguyễn Thị Giang, Lê Văn Trường, Nguyễn Thị Hoa, Hoàng Thị Phương, Vũ Phúc Thanh Sang, Đặng Hữu Anh
Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá khả năng ức chế virus dịch tả lợn châu Phi (DTLCP) của 9 đơn chất có nguồn gốc thảo dược gồm: glycyrrhizin, berberine, emodin, ellagic acid, methyl gallate, caffeic acid, kaempferol, baicalein và naringenin. Thử nghiệm khả năng gây độc tế bào trên đại thực bào phế nang lợn cho thấy glycyrrhizin, berberine, ellagic acid, methyl gallate, kaempferol và naringenin không gây độc tế bào, emodin, caffeic acid và baicalein gây độc tế bào ở nồng độ 200 $\mu\text{M/ml}$. Kết quả thử nghiệm khả năng ức chế virus DTLCP của các đơn chất cho thấy berberine và emodin thể hiện khả năng ức chế virus DTLCP rõ rệt. Sau 48 giờ ủ berberine (nồng độ 200 $\mu\text{M/ml}$) với virus DTLCP, hiệu giá của virus giảm từ $10^{7.47}$ xuống $10^{5.80}$; còn với emodin ở nồng độ 150 $\mu\text{M/ml}$ thì hiệu giá virus giảm từ $10^{7.47}$ xuống còn $10^{6.47}$.

Từ khóa: Virus dịch tả lợn châu Phi, thảo dược, hoạt chất, berberine, emodin.

Determination on the African swine fever virus (ASFV) inhibitory potential of some herbal ingredients

Bui Tran Anh Dao, Nguyen Thi Lan, Bui Thi To Nga, Hoang Minh Son, Nguyen Thi Thanh Ha, Vu Thi Thu Tra, Tran Minh Hai, Nguyen Thi Giang, Le Van Truong, Nguyen Thi Hoa, Hoang Thi Phuong, Vu Phuc Thanh Sang, Dang Huu Anh

SUMMARY

The study was carried out to evaluate the inhibitory ability of 9 herbal ingredients including: glycyrrhizin, berberine, emodin, ellagic acid, methyl gallate, caffeic acid, kaempferol, baicalein and naringenin to African swine fever virus (ASFV). The test for cytotoxicity on porcine alveolar macrophages by these herbal ingredients showed that glycyrrhizin, berberine, ellagic acid, methyl gallate, kaempferol and naringenin did not cause cytotoxic, emodin, caffeic acid and baicalein caused cytotoxic at a concentration of 200 $\mu\text{M/ml}$. The results of testing the ability to inhibit ASFV of the single substance showed that berberine and emodin showed a significant ability to inhibit ASFV. After 48 hours of incubating 200 $\mu\text{M/ml}$ of berberine with ASFV, the viral titer decreased from $10^{7.47}$ to $10^{5.80}$; and with emodin at a concentration of 150 $\mu\text{M/ml}$, the viral titer decreased from $10^{7.47}$ to $10^{6.47}$.

Keywords: African swine fever virus, herbal ingredients, berberine, emodin.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh dịch tả lợn châu Phi (DTLCP) là một bệnh truyền nhiễm nguy hiểm, virus gây bệnh

cho lợn nuôi và lợn rừng, không gây bệnh cho người và các loài động vật khác. Bệnh lây lan nhanh và gây chết lợn với tỷ lệ lên đến 100%

(Nguyễn Bá Hiên và cs., 2020). DTLCP đã xuất hiện ở Việt Nam vào đầu năm 2019. Sau đó bệnh đã bùng phát ở tất cả các tỉnh thành trên cả nước. Bệnh DTLCP được quy định nằm trong danh mục bệnh động vật phải công bố dịch (Thông tư số 24/2019/TT-BNNPTNT). Năm 2021, mặc dù bệnh không diễn ra với quy mô lớn như cùng kỳ năm 2019 và 2020, nhưng vẫn xuất hiện ở nhiều tỉnh/thành và tiếp tục gây thiệt hại nặng nề cho ngành chăn nuôi lợn. Hiện nay, thế giới vẫn đang trong giai đoạn phát triển sản xuất vaccin phòng bệnh và cũng chưa có thuốc điều trị bệnh này. Ở nước ta đã có một số công trình nghiên cứu về bệnh do virus DTLCP gây ra trên lợn. Tuy nhiên, các đề tài chủ yếu liên quan đến việc chẩn đoán, phân lập virus DTLCP hay xác định đặc tính sinh học của các chủng virus DTLCP lưu hành cũng như đặc điểm dịch tễ học của bệnh. Những đề tài liên quan tới các chất có khả năng ức chế virus thì chưa được quan tâm có chiều sâu. Nghiên cứu này nhằm khảo sát và tìm hướng ứng dụng của các hoạt chất có nguồn gốc từ tự nhiên, cụ thể là từ các dược liệu sẵn có của y học dân gian, ứng dụng vào công tác phòng chống bệnh. Những đơn chất (9 đơn chất) được thử nghiệm gồm: glycyrrhizin, berberine, emodin, ellagic acid, methyl gallate, caffeic acid, kaempferol, baicalein và naringenin. Những đơn chất này đều là những đơn chất có tiềm năng ức chế một hoặc một số loại virus khác nhau nhưng chưa được nghiên cứu trên virus DTLCP.

Glycyrrhizin là một saponin thuộc nhóm Olean, hàm lượng từ 10-14% trong dược liệu khô, chỉ có trong bộ phận dưới mặt đất, có vị rất ngọt. Hoạt chất này thường được chiết xuất từ rễ cam thảo và có khả năng kháng lại virus viêm gan vịt cũng như ức chế sự xâm nhập vào tế bào của virus cúm A (Soufy *et al.*, 2012; Wolkerstorfer *et al.*, 2009). Berberine là một hợp chất thuộc loại ancaloid có trong một số cây thuốc như hoàng liên gai, vàng đắng. Berberine có khả năng kháng virus cúm (Wu *et al.*, 2011) và Herpes simplex virus (Warowicka *et al.*, 2020). Emodin là một anthraquinone có trong các vị dược liệu như đại

hoàng, hà thủ ô đỏ, muồng trâu,... Emodin có khả năng ức chế sự nhân lên của virus viêm gan B (Shuangsoo *et al.*, 2006) và Herpes simplex virus (Xiong *et al.*, 2011). Ellagic acid là một polyphenol tự nhiên, hoạt chất chống oxy hóa này được tìm thấy trong nhiều loại trái cây và rau, bao gồm dâu tây, lựu, nho, Ellagic acid đã từng được nghiên cứu về vai trò ức chế sự xâm nhập tế bào của virus Ebola (Cui *et al.*, 2018) và có công dụng chống lại sự hình thành protein vỏ của virus Dengue (Bupesh *et al.*, 2014). Methyl gallate là một hợp chất phenolic, hoạt chất này là methyl ester của gallic acid. Methyl gallate có thể được phân lập từ dịch chiết methanol phần trên mặt đất của cây lạc tiên. Hoạt chất này có đặc tính chống oxy hóa và có khả năng ức chế Herpes simplex virus (Kane *et al.*, 1988) và kháng virus cúm (Tran *et al.*, 2017). Caffeic acid là một polyphenol, một chất chống oxy hóa có mặt trong rau, trái cây, hạt cà phê, ... Hoạt chất này có khả năng ức chế sự nhân lên của Herpes simplex virus (Ikeda *et al.*, 2011). Kaempferol là một flavonoid phân bố rộng rãi trong nhiều loài thực vật như đơn lá đỏ, địa liền, hoa ban, hòe,... Hoạt chất này và những glycoside của chúng có tác dụng kháng lại cytomegalovirus ở người (Mitrocotsa *et al.*, 2000). Baicalein là một flavonoid có thể được chiết xuất từ hoàng cầm. Baicalein có khả năng kháng virus Dengue (Zandi *et al.*, 2012) và virus cúm (Xu *et al.*, 2010). Naringenin là một flavanone glycoside, là thành phần flavonoid chủ yếu trong bưởi chùm. Naringenin có khả năng ức chế Chikungunya virus (Ahmadi *et al.*, 2016) và virus Dengue type 2 (Keivan *et al.*, 2011).

II. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Hóa chất: Môi trường thu - nuôi cấy tế bào đại thực bào phế nang của lợn (PAM) và phân lập virus DTLCP: RPMI, huyết thanh bào thai bò (FBS), hồng cầu 2%, PBS 1x (Phosphate Buffer saline), kháng nấm, kháng sinh gentamicin, nước cất hai lần, DMSO (Dimethyl sulfoxide).

Các đơn chất glycyrrhizin, berberine,

emodin, ellagic acid, methyl gallate, caffeic acid, kaempferol, baicalein và naringenin ở dạng tinh khiết, sản xuất bởi hãng Sigma.

Dụng cụ và mẫu vật: Đĩa nuôi cấy tế bào 48 giếng; ống falcol 15ml, 50ml của hãng Corning; eppendorf 1,5ml; pipette và đầu tip tương ứng 1000 μ l, 200 μ l, 100 μ l, 10 μ l, 2 μ l, 5ml, 10ml; giá đựng; ống giữ tế bào; phễu, ống dẫn, kéo, pank, kẹp, dao, khay, chai thủy tinh đã hấp sấy tiệt trùng, cồn 700, màng lọc tiệt trùng 0,45 μ m.

2.2. Nội dung nghiên cứu

- Xác định sự ổn định của chủng virus DTLCP sử dụng trong nghiên cứu
- Xác định khả năng gây độc tế bào của các đơn chất có nguồn gốc thảo dược
- Xác định khả năng ức chế virus DTLCP của các đơn chất có nguồn gốc thảo dược.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phản ứng realtime-PCR

Quy trình tách chiết RNA/DNA được thực hiện theo quy trình của kit chiết tách: TacoTM DNA/RNA Extraction kit. Phản ứng realtime – PCR sử dụng cặp môi xuôi, môi ngược, đoạn dò theo chiều từ 5' đến 3' gồm: Môi xuôi (GATGATGATTACCTTYGCTTTGAA), môi ngược (TCTCTTGCTCTRGATACRTTAATATGA) và đoạn dò (FAM-CCACGGGAGGAATACCAACCCAGTG-TAMRA). Hỗn hợp Master mix được sử dụng trong phản ứng thực hiện theo kit Super Scrip III@platinum One – Step qRT – PCR System (Invitrogen). Chu trình nhiệt chạy cho phản ứng gồm 1 vòng (95°C/2 phút), 45 vòng gắn mạch, kéo dài (95°C/15 giây và 60°C/45 giây).

2.3.2. Đánh giá khả năng gây độc tế bào

Tế bào PAM được thu hoạch từ lợn hoặc được phục hồi sau một thời gian bảo quản. Các mẫu tế bào PAM sẽ được nuôi trong đĩa 48 giếng trong tủ ấm 25°C bổ sung 5% CO₂. Sau 3 ngày, thêm vào lượng 50 μ l đơn chất với nồng độ lần lượt là 25 μ M/ml, 50 μ M/ml, 75 μ M/ml, 100 μ M/ml, 150 μ M/ml và 200 μ M/ml, sau đó quan sát

dưới kính hiển vi soi ngược để kiểm tra số lượng tế bào PAM bị phá hủy. Tế bào PAM khi bị độc có biểu hiện vỡ màng tế bào, khi soi lên kính hiển vi thấy hình ảnh viền tế bào bị mờ, vỡ.

2.3.3. Đánh giá ức chế virus dịch tả lợn châu Phi

Virus DTLCP được ủ với đơn chất theo từng mức nồng độ đơn chất khác nhau với tỷ lệ 1:1. Thời gian ủ lần lượt là 16 giờ, 24 giờ và 48 giờ. Sau đó hỗn hợp sau khi ủ được gây nhiễm lên tế bào PAM. Theo dõi và đánh giá khả năng ức chế virus DTLCP dựa vào số lượng cụm ngưng kết hoa hồng (Rosetta Forming) được hình thành.

2.3.4. Xác định hiệu giá HAD₅₀

Virus được pha loãng theo cơ số 10. Mỗi độ pha loãng virus gây nhiễm cho 8 giếng tế bào của đĩa nuôi cấy tế bào 96 giếng được chuẩn bị trước đó (mật độ 2 × 10⁵ tế bào/ giếng). Hồng cầu lợn 1% được bổ sung vào các đĩa nuôi cấy tế bào sau 24 giờ gây nhiễm, quan sát sự có mặt của virus DTLCP thông qua sự hình thành cụm ngưng kết hoa hồng do sự hấp phụ hồng cầu của tế bào PAM đã nhiễm virus. Hiệu giá virus được xác định qua giá trị HAD₅₀ (50% hấp phụ hồng cầu) sau 5-7 ngày gây nhiễm, giá trị HAD₅₀/ml được tính theo công thức Reed-Muench.

2.3.5. Xử lý số liệu

Các số liệu thu thập được tính toán và xử lý bằng phần mềm Excel 2016.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả kiểm tra sự ổn định của chủng virus DTLCP

Để kiểm tra khả năng ức chế virus DTLCP của hợp chất, chúng tôi cần đánh thức chủng virus DTLCP từ kho bảo quản, đồng thời chế tạo tế bào để làm môi trường thí nghiệm. Virus DTLCP trong kho bảo quản sau thời gian bảo quản có thể sẽ bị thay đổi hiệu giá, vì vậy để đảm bảo chủng virus lấy ra còn nguyên đặc điểm sinh học, chúng tôi phải tái kiểm tra sự có mặt của virus DTLCP này. Kết quả kiểm tra hàm

lượng virus DTLCP trong huyền dịch bảo quản được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Đánh giá sự ổn định của chủng virus dịch tả lợn châu Phi

Lần kiểm tra	Giá trị Ct
1	15,28
2	15,33
3	15,13
Trung bình	15,25

Kết quả bảng 1 cho thấy sau 3 lần kiểm tra, giá trị Ct của virus DTLCP ổn định, dao động từ 15,13 - 15,33, trung bình là 15,25. Theo Trương Quang Lâm và cs. (2020), chủng virus cường độc DTLCP (mã số VNUA-ASFV-L01) gây chết lợn ở thời điểm 7 - 9 ngày sau khi gây nhiễm, giá trị Ct khi kiểm tra virus huyết đạt cao nhất vào thời

điểm 6 – 8 ngày dao động từ 17,84 – 15,73. Như vậy, chủng virus DTLCP được chúng tôi sử dụng trong nghiên cứu có giá trị Ct trung bình 15,25 là chủng virus có độc lực ổn định. Giá trị Ct thể hiện lượng virus DTLCP trong huyền dịch bảo quản là rất cao, đủ điều kiện để thực hiện những thí nghiệm kế tiếp.

3.2. Kết quả kiểm tra khả năng gây độc tế bào của các đơn chất có nguồn gốc thảo dược

Trước khi thử khả năng ức chế virus DTLCP của các đơn chất, chúng tôi cần tìm ra liều gây độc (phá vỡ) tế bào nuôi cấy. Để đảm bảo lượng đơn chất thử nghiệm dưới ngưỡng gây độc tế bào, tránh sai sót trong quá trình so sánh giữa nhóm đối chứng và nhóm thí nghiệm. Kết quả thử nghiệm khả năng gây độc tế bào PAM của các đơn chất được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Kết quả thử độc trên tế bào PAM của các đơn chất

Nồng độ ($\mu\text{M/ml}$)	Sự xuất hiện bệnh tích tế bào									
	Glycyrrhizin	Berberine	Emodin	Ellagic acid	Methyl gallate	Caffeic acid	Kaempferol	Baicalein	Naringenin	Đối chứng
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
150	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
200	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-

Ghi chú: +: Có gây độc tế bào, -: Không gây độc tế bào

Kết quả bảng 2 cho thấy có 6/9 chất không gây độc tế bào ở mức nồng độ 200 $\mu\text{M/ml}$ là glycyrrhizin, berberine, ellagic acid, methyl gallate, kaempferol và naringenin. Những chất gây độc tế bào ở mức nồng độ 200 $\mu\text{M/ml}$ là emodin, caffeic acid và baicalin. Kết quả này được sử dụng làm cơ sở xác định ngưỡng nồng độ của đơn chất trong thử nghiệm ức chế virus DTLCP.

3.3. Kết quả kiểm tra khả năng ức chế virus DTLCP của các đơn chất có nguồn gốc thảo dược

Kết quả xác định khả năng ức chế virus DTLCP của các đơn chất sau thời gian tác dụng được trình bày ở bảng 3. Số lượng ngưng kết hoa hồng được đánh giá định tính trên vi trường, số lượng Rosetta này có sự khác biệt giữa các nhóm thí nghiệm với thời gian ủ virus khác nhau.

Bảng 3. Kết quả kiểm tra khả năng ức chế virus dịch tả lợn châu Phi của các đơn chất

STT	Đơn chất	Nồng độ thử nghiệm ($\mu\text{M}/\text{ml}$)	Thời gian thử nghiệm (giờ)		
			16	24	48
1	Glycyrrhizin	200	++++	++++	++++
		100	++++	++++	++++
		50	++++	++++	++++
2	Berberine	200	+++	+++	+
		100	++++	++++	++
		50	++++	++++	+++
3	Emodin	150	++	++	+
		100	++++	+++	++
		50	++++	++++	++++
4	Ellagic acid	200	+++	+++	+++
		100	++++	+++	+++
		50	++++	++++	++++
5	Methyl gallate	200	++++	+++	+++
		100	++++	+++	+++
		50	++++	++++	++++
6	Caffeic acid	150	++++	++++	++++
		100	++++	++++	++++
		50	++++	++++	++++
7	Kaempferol	200	++++	++++	++++
		100	++++	++++	++++
		50	++++	++++	++++
8	Baicalein	100	++++	++++	++++
		50	++++	++++	++++
		10	++++	++++	++++
9	Naringenin	200	++++	++++	++++
		100	++++	++++	++++
		50	++++	++++	++++

Ghi chú: +, ++, +++, +++++: Số lượng Rosetta Forming tăng dần trên vi trường

Virus DTLCP khi gây bệnh tích tế bào sẽ làm tế bào có khả năng hấp phụ hồng cầu và hình thành Rosetta Forming (ngung kết dạng hoa hồng). Số lượng ngung kết càng nhiều, thể hiện lượng virus DTLCP nhiều. Nếu hợp chất sau khi ủ làm ức chế hoặc tiêu diệt virus DTLCP thì lượng Rosetta của nhóm thí nghiệm sẽ ít hơn lượng Rosetta của nhóm đối chứng (chỉ có virus DTLCP gây nhiễm). Kết quả bảng 3 cho thấy, trong các đơn chất được thử nghiệm, sau thời gian ủ 48 giờ có

nhóm thí nghiệm với berberine và emodin thể hiện khả năng ức chế virus DTLCP mạnh. Lượng Rosetta Forming chỉ đạt mức “+” tại thời điểm 48 giờ ủ berberine (200 $\mu\text{M}/\text{ml}$) và emodin (150 $\mu\text{M}/\text{ml}$) với virus DTLCP so với lượng Rosetta Forming “++++” tại thời điểm 16 giờ ủ berberine (100 $\mu\text{M}/\text{ml}$) và emodin (100 $\mu\text{M}/\text{ml}$) với virus. Những đơn chất khác có khả năng ức chế virus DTLCP không rõ ràng hoặc không có khả năng ức chế virus DTLCP.

3.4. Đánh giá khả năng ức chế virus DTLCP của berberine và emodin qua chỉ số HAD₅₀

Từ kết quả đánh giá định tính khả năng ức

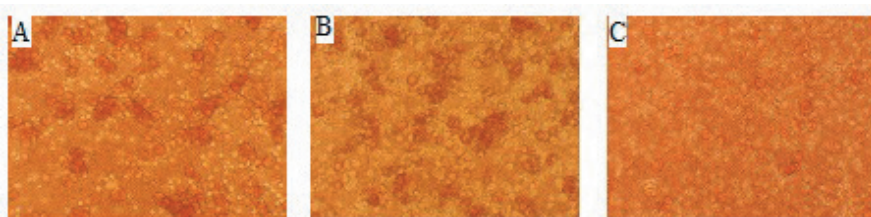
chế virus DTLCP của các đơn chất, chúng tôi xác định khả năng ức chế virus DTLCP của berberine và emodin dựa vào chỉ số HAD₅₀. Kết quả thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Kết quả đánh giá khả năng ức chế virus DTLCP của berberine và emodin thông qua chỉ số HAD₅₀

Đơn chất và nồng độ thử nghiệm	Hiệu giá HAD ₅₀ sau 24 giờ		Hiệu giá HAD ₅₀ sau 48 giờ	
	HAD ₅₀	Độ giảm hiệu giá	HAD ₅₀	Độ giảm hiệu giá
Berberine 200 µM/ml	10 ^{7,13}	0,34	10 ^{5,80}	1,67
Emodin 150 µM/ml	10 ^{6,47}	1	10 ^{6,47}	1
Emodin 100 µM/ml	10 ^{6,80}	0,67	10 ^{6,47}	1
Đối chứng dương	10 ^{7,47}		10 ^{7,47}	

Kết quả bảng 4 cho thấy sau 24 giờ ủ với virus DTLCP, berberine 200 µM/ml làm hiệu giá của virus giảm từ 10^{7,47} xuống 10^{7,13}, emodin 150 µM/ml làm hiệu giá giảm xuống còn 10^{6,47}, emodin 100 µM/ml làm giảm hiệu giá xuống còn 10^{6,80}. Sau 48 giờ ủ với virus DTLCP, berberine 200 µM/ml làm hiệu giá của virus giảm từ 10^{7,47} xuống 10^{5,80}, emodin 150 µM/ml và 100 µM/ml làm hiệu giá giảm xuống còn 10^{6,47}. Warowicka *et al.* (2020) đã tổng hợp và cho biết

berberine có khả năng ức chế sự nhân lên của một số virus như Herpes simplex virus, Human cytomegalovirus, Human papillomavirus, và Human immunodeficiency virus. Emodin cũng từng được chứng minh là có khả năng ức chế sự nhân lên của Epstein-Barr virus (Wu *et al.*, 2019) và virus cúm A (Dai *et al.*, 2017). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi lần đầu tiên công bố khả năng ức chế virus DTLCP của berberine và emodin.



Hình 1. Khả năng ức chế virus dịch tả lợn châu Phi của berberine sau 48 giờ
A: Berberine 50 µM/ml, B: Berberine 100 µM/ml, C: Berberine 200 µM/ml



Hình 2. Khả năng ức chế virus dịch tả lợn châu Phi của emodin sau 48 giờ
A: Emodin 50 µM/ml, B: Emodin 100 µM/ml, C: Emodin 150 µM/ml

Hình 1 và hình 2 thể hiện khả năng ức chế virus DTLCP của berberine và emodin sau 48 giờ. Ở mức nồng độ 100 và 200 $\mu\text{M/ml}$ với berberine, mức nồng độ 100 và 150 $\mu\text{M/ml}$ với emodin, số lượng Rosetta Forming hình thành ít hơn so với đối chứng một cách rõ ràng chứng tỏ lượng virus DTLCP đã bị ức chế đáng kể.

IV. KẾT LUẬN

Chủng virus DTLCP sau thời gian bảo quản vẫn đạt sự ổn định, thể hiện bằng giá trị Ct dao động từ 15,13 đến 15,33. Tế bào PAM đã được sử dụng để thử nghiệm độc tính của một số đơn chất, trong đó emodin, caffeic acid và baicalein gây độc tế bào ở nồng độ 200 $\mu\text{M/ml}$.

Nghiên cứu đã tìm ra một số chất ức chế virus DTLCP ở các mức độ khác nhau là berberine, emodin, ellagic acid và methyl gallate. Tuy nhiên, đạt mức độ ức chế mạnh thì có berberine với nồng độ 200 $\mu\text{M/ml}$ và emodin với nồng độ 150 $\mu\text{M/ml}$ sau 48 giờ. Sau 48 giờ ủ berberine nồng độ 200 $\mu\text{M/ml}$ với virus DTLCP, hiệu giá HAD_{50} của virus giảm từ $10^{7,47}$ xuống $10^{5,80}$; còn với emodin ở nồng độ 150 $\mu\text{M/ml}$ thì hiệu giá HAD_{50} của virus giảm từ $10^{7,47}$ xuống còn $10^{6,47}$.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ahmadi, A., Hassandarvish, P., Lani, R., Yadollahi, P., Jokar, A., Bakar, S. A., & Zandi, K., 2016. Inhibition of chikungunya virus replication by hesperetin and naringenin. *RSC Advances*, 6(73), 69421-69430.
- Bupesh, G., Raja, R. S., Saravanamurali, K., Kumar, V. S., Saran, N., Kumar, M., Vennila, S., Sheriff, K., Kaveri, K. & Gunasekaran, P., 2014. Antiviral activity of Ellagic Acid against envelope proteins from Dengue Virus through Insilico Docking. *Int. J. Drug Dev. Res*, 6, 0975-9344.
- Cui, Q., Du, R., Anantpadma, M., Schafer, A., Hou, L., Tian, J., Davey, R. A., Cheng, H., & Rong, L., 2018. Identification of ellagic acid from plant *Rhodiola rosea* L. as an anti-Ebola virus entry inhibitor. *Viruses*, 10(4), 152.
- Dai, J. P., Wang, Q. W., Su, Y., Gu, L. M., Zhao, Y., Chen, X. X., Chen, C., Li, W. Z., Wang, G. F., & Li, K. S., 2017. Emodin inhibition of influenza A virus replication and influenza viral pneumonia via the Nrf2, TLR4, p38/JNK and NF-kappaB pathways. *Molecules*, 22(10), 1754.
- Ikeda, K., Tsujimoto, K., Uozaki, M., Nishide, M., Suzuki, Y., Koyama, A. H., & Yamasaki, H., 2011. Inhibition of multiplication of herpes simplex virus by caffeic acid. *International Journal of Molecular Medicine*, 28(4), 595-598.
- Kane, C. J., Menna, J. H., & Yeh, Y. C., 1988. Methyl gallate, methyl-3, 4, 5-trihydroxybenzoate, is a potent and highly specific inhibitor of herpes simplex virus *in vitro*. I. Purification and characterization of methyl gallate from *Sapium sebiferum*. *Bioscience reports*, 8(1), 85-94.
- Keivan, Z., Boon-Teong, T., Sing-Sin, S., Pooi-Fong, W., Mustafa, M. R., & Sazaly, A., 2011. *In vitro* antiviral activity of fisetin, rutin and naringenin against dengue virus type-2. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(23), 5534-5539.
- Mitrocotsa, D., Mitaku, S., Axarlis, S., Harvala, C., & Malamas, M., 2000. Evaluation of the antiviral activity of kaempferol and its glycosides against human cytomegalovirus. *Planta medica*, 66(04), 377-379.
- Nguyễn Bá Hiên, Huỳnh Thị Mỹ Lệ, Lê Văn Lành, Đỗ Ngọc Thúy, Nguyễn Văn Giáp, Đặng Hữu Anh, Trương Hà Thái, Chu Thị Thanh Hương, 2020. *Giáo trình bệnh truyền nhiễm thú y*, NXB Học viện Nông nghiệp, Hà Nội.

10. Shuang suo, D., Zheng guo, Z., Yun ru, C., Xin, Z., Bao feng, W., Li chao, Y., & Yan'an, C., 2006. Inhibition of the replication of hepatitis B virus *in vitro* by emodin. *Medical science monitor*, 12(9), BR302-BR306.
11. Soufy, H., Yassein, S., Ahmed, A. R., Khodier, M. H., Kutkat, M. A., Nasr, S. M., & Okda, F. A., 2012. Antiviral and immune stimulant activities of glycyrrhizin against duck hepatitis virus. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 9(3), 389-395.
12. Thông tư số 24/2019/TT-BNNPTNT ngày 24 tháng 12 năm 2019. Thông tư sửa đổi, bổ sung một số điều của Thông tư số 07/2016/TT-BNNPTNT ngày 31/5/2016 của Bộ trưởng Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn quy định về phòng, chống dịch bệnh động vật trên cạn.
13. Tran, T. T., Kim, M., Jang, Y., Lee, H. W., Nguyen, H. T., Nguyen, T. N., Park, H. M., Le Dang, Q., & Kim, J. C., 2017. Characterization and mechanisms of anti-influenza virus metabolites isolated from the Vietnamese medicinal plant *Polygonum chinense*. *BMC complementary and alternative medicine*, 17(1), 162.
14. Trương Quang Lâm, Nguyễn Thị Lan, Đào Lê Anh, Nguyễn Thị Hoa, Nguyễn Thị Thu Hương, 2020. Nghiên cứu đánh giá độc lực của chủng virus dịch tả lợn châu Phi VNUA-ASFV-L01 phân lập tại tỉnh Hà Nam – Việt Nam trên lợn thí nghiệm. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 18(7): 510-519.
15. Warowicka, A., Nawrot, R., & Goździcka-Józefiak, A., 2020. Antiviral activity of berberine. *Archives of virology*, 165(9), 1935-1945.
16. Wolkerstorfer, A., Kurz, H., Bachhofner, N., & Szolar, O. H., 2009. Glycyrrhizin inhibits influenza A virus uptake into the cell. *Antiviral research*, 83(2), 171-178.
17. Wu, C. C., Chen, M. S., Cheng, Y. J., Ko, Y. C., Lin, S. F., Chiu, I. M., & Chen, J. Y., 2019. Emodin inhibits EBV reactivation and represses NPC tumorigenesis. *Cancers*, 11(11), 1795.
18. Wu, Y., Li, J. Q., Kim, Y. J., Wu, J., Wang, Q., & Hao, Y., 2011. *In vivo* and *in vitro* antiviral effects of berberine on influenza virus. *Chinese journal of integrative medicine*, 17(6), 444-452.
19. Xiong, H. R., Luo, J., Hou, W., Xiao, H., & Yang, Z. Q., 2011. The effect of emodin, an anthraquinone derivative extracted from the roots of *Rheum tanguticum*, against herpes simplex virus *in vitro* and *in vivo*. *Journal of ethnopharmacology*, 133(2), 718-723.
20. Xu, G., Dou, J., Zhang, L., Guo, Q., & Zhou, C., 2010. Inhibitory effects of baicalein on the influenza virus *in vivo* is determined by baicalin in the serum. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 33(2), 238-243.
21. Zandi, K., Teoh, B. T., Sam, S. S., Wong, P. F., Mustafa, M. R., & AbuBakar, S., 2012. Novel antiviral activity of baicalein against dengue virus. *BMC complementary and alternative medicine*, 12(1), 214.

Ngày nhận 15-6-2021

Ngày phản biện 6-7-2021

Ngày đăng 1-11-2021