

天然产物抗猪流行性腹泻病毒研究进展

成温玉^{1, 2} 张博昕¹ 赵鸿远^{1, 2} 陈艳³ 谢娟平⁴

(1. 安康学院现代农业与生物科技学院, 安康 725000; 2. 安康学院农业科技研发中心, 安康 725000; 3. 安康市镇坪县畜牧兽医中心, 安康 725600; 4. 安康学院医学院, 安康 725000)

摘要: 猪流行性腹泻病毒 (porcine epidemic diarrhea virus, PEDV) 是一种引起仔猪呕吐、急性腹泻和脱水等症状的冠状病毒, 仔猪的死亡率高达 100%, 给全球养猪业造成巨大经济损失。疫苗接种是防控猪流行性腹泻的关键途径, 然而对于不断出现的 PEDV 变异毒株, 现有的疫苗已不能提供充足的保护。天然产物具有来源广、作用多样、副作用低以及不易产生耐药性等优势, 且已有许多研究证实多种天然产物具有抗 PEDV 的活性, 具有广阔的应用前景。本文就中草药单体、单味中药提取物、中药复方制剂、微生物代谢物、藻类和动物来源的天然产物在抗 PEDV 的研究现状进行概述, 以期对抗 PEDV 药物的创制提供借鉴及参考。

关键词: 猪流行性腹泻病毒; 中草药单体物质; 中草药提取物; 天然产物; 抗病毒

DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2022-0372

Research Progress in Natural Products Against Porcine Epidemic Diarrhea Virus

CHENG Wen-yu^{1, 2} ZHANG Bo-xin¹ ZHAO Hong-yuan^{1, 2} CHEN Yan³ XIE Juan-ping⁴

(1. School of Modern Agriculture and Biotechnology, Ankang University, Ankang 725000; 2. Research and Development Center of Agriculture Science and Technology, Ankang University, Ankang 725000; 3. Animal Husbandry and Veterinary Bureau of Zhenping County, Ankang 725600; 4. School of Medicine, Ankang University, Ankang 725000)

Abstract: Porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) causes a coronavirus disease characterized by vomiting, acute diarrhea, dehydration, and up to 100% mortality in piglets, leading to huge economic losses in the global swine industry. Vaccination remains the most effective way to prevent and control PED. However, the existing vaccines no longer provide sufficient protective immunity against the new emerging PEDV variants. Natural compounds have the advantages of wide sources, diverse effects, low side effects and little drug-resistance, and were proved to have the activities against PEDV, showing a broad application prospect. Hereby we gather and discuss the current information about the anti-PEDV activities of natural compounds including plant-derived products, single medicinal herb extracts, Chinese herbal compound preparation, microbial metabolites, compounds derived from algae and animals, aiming to provide insights and references for the development of potential anti-PEDV drugs.

Key words: porcine epidemic diarrhea virus; plant-derived products; medicinal herb extracts; natural compounds; antiviral

腹泻病是猪群中最为普遍的疾病之一, 也是一直困扰生猪养殖产业发展的重大难题。由猪流行性腹泻病毒 (porcine epidemic diarrhea virus, PEDV) 引起的猪病毒性腹泻是当前危害各养殖场猪群的关

键病之一。2010 年爆发在我国南方地区的 PED 迅速席卷了全国近 80% 的猪场, 仔猪高达 100% 的死亡率给猪场造成重大经济损失^[1]。疫苗接种是防控 PED 最主要的手段, 目前市面上已经有针对 PEDV

收稿日期: 2022-03-28

基金项目: 陕西省自然科学基金基础研究计划项目 (2021JQ-833), 安康市科学技术研究计划项目 (AK2020-NY01-1), 大学生创新创业训练计划项目 (S202111397086), 安康学院校级课题 (2021AYXDZX01, 2021AYPT13), 安康学院创新团队 (2022TD02)

作者简介: 成温玉, 男, 博士, 副教授, 研究方向: 宿主抗病毒天然免疫和猪病原微生物防控技术; E-mail: wenyucheng1989@163.com

的灭活疫苗、减毒活疫苗、亚单位疫苗和基因重组活载体疫苗。然而该病毒高变异性、疫苗自身的缺陷和猪肠道免疫的特殊性,对于流行的 PEDV 变异毒株尚无高效的控制策略,迫切需要开发有效的抗病毒疗法弥补疫苗免疫保护的不足^[2-3]。

天然产物是一类来源于动物、植物、微生物、昆虫以及海洋生物中的组成成分或其代谢产物,具有来源广、成分多样、结构独特、副作用低以及不易产生耐药性等特征。近年来,越来越多的研究发现并揭示了天然产物具有抗 PEDV 感染的活性,并且部分天然化合物和中药复方制剂具有较大的应用潜力^[4]。本文对中草药单体、单味中药提取物、中药复方制剂、微生物、动物和藻类来源的天然产物在抗 PEDV 的研究现状进行概述,以期抗 PEDV 药物的创制提供借鉴及参考。

1 中草药单体物质

1.1 多糖类化合物

天然多糖物质来源极广,具有广泛的抗氧化、抗肿瘤、抗病原微生物和免疫调节等活性^[5],被应用于兽药、动物保健品、饲料添加剂以及动物疫苗中。来源于多种植物中的多糖物质具有抗 PEDV 的功能, Lee 等^[6]从银杏外果皮提取的多糖物质被证实具有抑制 PEDV 感染的作用,可阻碍病毒对细胞的吸附和侵入,显著降低病毒引起的细胞病变。赵鲁等^[7]发现马齿苋多糖能够阻碍 PEDV 对细胞的吸附并能抑制病毒感染引起的炎症细胞因子分泌,暗示马齿苋多糖可能通过其免疫调节功能发挥抗病毒活性。从发酵黄芪中提取的多糖不仅能够抑制 Vero 细胞中 PEDV 的复制,而且作为佐剂联合 PEDV 疫苗注射给断奶仔猪后,显著提高仔猪血清中 sIgA、IFN- γ 和 IL-6 的产生,表明黄芪多糖通过增强机体免疫反应发挥抗病毒功能,可用作 PEDV 疫苗佐剂^[8]。广藿香具有镇吐止泻、健胃解热之功效, Chen 等^[9]从广藿香的水浸提物中鉴定出 4 种多糖物质 (PCP1.1、PCP1.2、PCP2.1 和 PCP2.2), 均具备抑制 PEDV 增殖的活性,并且 PCP2.1 和 PCP2.2 还可阻断 PEDV 穿入细胞。随后该团队又从益智仁中分离到 3 种多糖物质 (AOFP1-AOFP3), 其中 AOFP3 能显著降低 PEDV 感染形成的细胞病变和病毒滴度,同时提

高细胞的抗氧化活性,暗示 AOFP3 可能通过增强细胞抗氧化活性发挥抗病毒作用^[10]。PEDV 感染诱导细胞产生大量的活性氧 (reactive oxygen species, ROS), 而 ROS 是引起胃肠道黏膜疾病的重要病因,也是引发 PEDV 感染过程中细胞自噬、细胞凋亡和内质网应激的关键因素^[11-12]。由 PEDV 感染诱导的细胞自噬反应能够促进病毒复制,并且 ROS 在病毒感染的 Vero 中的累积呈时间依赖性,降低 PEDV 诱导产生的 ROS 有助于抑制病毒的感染^[11-12]。Li 等^[3]对 803 种化合物进行抗病毒筛选,发现 25 种化合物具有较强抑制 PEDV 的潜力,其中有 7 种化合物具备抗氧化活性,并且能够显著降低 PEDV 感染诱导细胞产生的 ROS。上述植物源多糖物质对 PEDV 具有良好的抑制效果,对于其他病毒、细菌也具有抵抗性,可作为畜禽抗生素替代品。然而,目前对于多糖抗 PEDV 的研究缺乏动物验证试验,临床安全性无法保证,需要开展活体试验研究和临床安全性评价。

1.2 黄酮类化合物

黄酮类化合物是多种天然药物的重要活性成分之一,具有抗菌消炎、抗病毒、抗氧化、免疫调节及抗肿瘤等生物学功能,其在抗 PEDV 感染过程中也表现出重要作用。研究发现槲皮素对不同的 PEDV 毒株都具有抗病毒活性^[13]。Li 等^[13]采用分子对接分析预测出槲皮素与 PEDV 蛋白酶 3CLpro 存在相互作用关系,通过异位表达 3CLpro 蛋白和荧光共振能量转移技术证实槲皮素能与 3CLpro 特异性地结合并抑制酶活性,进而抑制了病毒复制。除了槲皮素之外,槲皮素-7-鼠李糖苷 (Q7R)、芹菜素和木犀草素等黄酮类化合物也显示出抗 PEDV 活性,其中以 Q7R 的活性最强,该化合物主要影响 PEDV 感染的初始阶段而发挥抗病毒作用^[14]。尽管有研究证实黄酮类化合物可通过其抗氧化作用降低病毒感染诱导的 ROS 而发挥抗病毒活性,但 Song 等^[15]利用 Q7R 对 PEDV 抗病毒活性研究证实, Q7R 并非依赖于其抗氧化作用来抑制 PEDV 的增殖,而是否与槲皮素类似,通过抑制病毒蛋白酶活性发挥 PEDV 活性有待进一步研究。近年来黄腐酚在抗病毒方面的功效被逐渐挖掘,现已证实其能够抑制 PEDV 对

细胞的感染并且对细胞几乎无毒性作用^[16]。采用分子对接和结构模拟分析证实,黄腐酚能与多数冠状病毒 M 蛋白活性中心的半胱氨酸形成稳定的氢键,从而抑制 M 蛋白活性,发挥抗病毒作用^[17]。此外,黄腐酚被证实可在 TGEV 和 SARS-CoV-2 等其他冠状病毒感染中也表现出抑制效应,可见黄腐酚具有开发成冠状病毒特异性抑制剂的潜力^[17]。综合上述黄酮类化合物抗 PEDV 的研究来看,其主要是通过靶向作用于 PEDV 的蛋白酶而发挥抗病毒活性。

表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG)是槲皮素的结构类似物,具有广泛的抗病毒活性。起初 Wang 等^[18]筛选到 EGCG 具有抑制 PEDV 的作用,随后 Huan 等^[19]证实,EGCG 通过阻碍 PEDV 的附着、入侵、复制和组装发挥抗病毒效应。此外,EGCG 被发现也具有抗 SARS-CoV-2 的作用,无论是体外细胞试验还是小鼠感染研究,EGCG 均可降低 SARS-CoV-2 的增殖^[20]。通过电镜观察和分子动力学模拟表明,EGCG 可与冠状病毒 3CLpro 和 PLPro 蛋白酶结合,从而阻碍病毒复制并诱导机体的抗病毒反应^[20]。金丝桃素是从贯叶连翘中提取的具有抗病毒活性的二萜酮化合物,能显著抑制 Vero 细胞中 PEDV 的增殖,通过分子对接和荧光能量共振转移技术证实,该化合物可与 PEDV 3CLpro 结合并阻碍蛋白酶的活性,从而发挥抗病毒作用^[21]。

1.3 生物碱

黄连素具有抗菌消炎、抗病毒、免疫调节和改善心脑血管疾病的功效。叶跃天等^[22]发现黄连素对 PEDV 的复制和组装起到明显的抑制作用,并且减弱 PEDV 诱导的细胞凋亡反应。Wang 等^[18]从 FDA 批准的 911 种天然产物中筛选到 4 种显著抑制 PEDV 感染的活性物质(番茄碱、纽莫康定 B0、醉鱼草皂苷 IV 和表没食子儿茶素没食子酸酯),其中番茄碱抗病毒活性最强。与金丝桃素相同,番茄碱能与 PEDV 3CLpro 结合并直接阻碍蛋白酶的活性,从而发挥抗病毒作用,并且对其他能够表达 3CLpro 的病毒诸如 TGEV、猪繁殖与呼吸综合征病毒(PRRSV)和塞尼卡病毒 A 型(SVA)均有很好的抑制效果^[18],由此可见番茄碱在治疗和预防 PEDV 感染中有很

大的应用潜力。高三尖杉酯碱(homoharringtonine, HHT)是存在于三尖杉属植物的一种用于治疗慢性髓细胞白血病的生物碱,其在抗 PEDV 感染中也具有效果^[23]。无论是抑制细胞中 PEDV 的增殖,还是治疗 PEDV 感染的仔猪,HHT 均表现出良好的生物活性^[23]。

1.4 皂苷类化合物

甘草是我国传统中草药,其主要的活性成分甘草酸被证实对 PEDV 有较强的抑制能力,通过阻碍病毒进入和复制,降低约 50% N 蛋白表达量^[24]。甘草酸作为高迁移率族蛋白 B (high mobility group box-1, HMGB1) 的抑制剂,显著降低了 PEDV 感染过程中由 HMGB1 介导的细胞炎症反应,从而减轻 PEDV 感染造成的临床症状^[24]。以甘草酸为基础采用水热法转化成生物相容性良好的甘草酸碳原子点也展现出很好的抗 PEDV 活性^[25]。此外,从日本七叶树种子的提取物中分离鉴定出的 7 种皂苷化合物表现出抑制 PEDV 增殖的活性,且这些化合物在 20 $\mu\text{mol/L}$ 的浓度下对细胞几乎无毒性影响^[26]。

1.5 其他活性物质

欧当归内酯 A (levistolide A, LA) 是从中药川芎中提取的藁本内酯二聚体,在抗 PEDV 感染中表现出良好的效果。在病毒对细胞的吸附或穿入阶段,LA 通过调控 ROS 介导的内质网应激反应发挥抗病毒作用^[27]。Yang 等^[28]从山茶花中鉴定出 4 种五环三萜类化合物通过抑制 PEDV 基因编码的多个蛋白质的合成而影响病毒增殖,发挥较强的抗病毒活性。随后,该团队又从防风植物的甲醇提取物中分离并鉴定出 9 种抑制 PEDV 增殖的化合物,尤其是一种香豆素类化合物的抗病毒活性最强,通过抑制病毒核衣壳蛋白和棘突蛋白的合成发挥抗病毒活性^[29]。2019 年,该研究团队又从柠檬清风藤叶中分离到 2 种酚类物质通过抑制病毒的复制发挥较强的抗 PEDV 功效^[30]。

2 单味中草药提取物

芦荟是一种常见的观赏性药食同源的植物,具有抗感染、抗炎、抗氧化、防辐射以及提高机体免疫等功能,现已证实其在抗 PEDV 感染中发挥重要功能。Xu 等^[31]发现芦荟提取物在 PEDV 复制周

期的晚期产生抑制作用,且能直接灭活病毒粒子但不影响病毒基因组及蛋白的完整性。同时,以 100 mg/kg 的剂量经口灌服仔猪后,对感染 PEDV 的仔猪具有明显的保护作用,仔猪的存活情况、临床症状及肠道组织的病理变化均优于不给药仔猪,由此可见芦荟提取物具有较好的抗 PDEV 活性和潜在的应用价值^[31]。Cho 等^[32]筛选了 333 种药用植物水浸提物的抗 PEDV 活性,发现朝鲜淫羊藿和金银花具有抑制 PEDV 增殖的作用,其中朝鲜淫羊藿的抗病毒活性强于金银花,且对细胞的毒性低。进一步将朝鲜淫羊藿的水浸提物添加到感染了 PEDV 仔猪的日粮中,发现仔猪的肠道病变、粪便的形态和病毒载量均有明显改善,提示淫羊藿具有良好的抗 PEDV 功效^[32]。淫羊藿具有广泛的抗病毒活性,富含多糖和黄酮等有效成分,二者均能够刺激淋巴细胞增殖并诱导 I 性干扰素和促炎性细胞因子的表达,从而增强机体的抗病毒能力^[33]。辣木因营养价值高、生长快、抗逆性强,具有提高猪肉品质的作用,叶子被广泛用作畜禽饲料。近年来,辣木提取物的抗病毒功能被逐渐挖掘,其中辣木叶的水浸提物可通过抑制 PEDV 诱导的细胞凋亡在病毒复制阶段发挥抗病毒活性,并且还能够降低 PEDV 诱导的炎症反应^[34]。辣木提取物中富含芦丁和槲皮素等活性成分^[34],而这些单体物质在抗冠状病毒感染的活性已被证实,由此可见辣木在抗冠状病毒感染中具有较大的应用潜力。越南也拥有丰富的药用植物资源,Trinh 等^[35]筛选了 17 种药用植物水浸提物和乙醇浸提物的抗 PEDV 活性,发现其中 14 种植物的水浸提物和 4 种植物的乙醇浸提物均具有抗病毒活性,尤其闭脉斑果藤的乙醇浸提物活性最强。相较于中草药单体物质,单味中草药提取物的提取工艺相对简单,副作用低,可以饲料添加剂的形式应用到猪饲料和饮水中。然而单味中草药提取物的成分复杂,缺乏其抗病毒作用机制研究,无法保证其临床应用的安全性。

3 中草药复方制剂

复方中药是中医治疗疾病的主要形式和中医的精髓,既体现了中医的“辨证论治”,又强调了中医的“整体观念”。PED 在中兽医辨证中属脾虚湿

邪内聚,宜健脾利水止泻^[36]。朱买勋等^[36]发现由白术、茯苓、黄芪和黄芩组成的复方术芩提取液能有效抑制 PEDV 的致病变作用,其通过直接灭活病毒和抑制病毒复制而发挥抗病毒功效。香连溶液是由黄连、香薷、艾叶等多味中药提取精制而成,具有杀灭病原、解毒消疮的功效。常洪涛等^[37]发现香连溶液不仅能够抑制 PEDV 的增殖,而且使用该溶液擦拭母猪乳头并配合环境消毒或产前免疫,可有效降低仔猪 PED 的发病率。与香连溶液类似,由杜仲、桑叶等多味中药组成的杜桑溶液也具有抑制 PEDV 增殖的活性,利用该溶液擦拭母猪乳头并配合环境消毒或母猪产前免疫可有效降低仔猪 PED 的发病率^[38],暗示香连溶液和杜桑溶液在阻断猪场大面积感染 PEDV 中具有较大的应用潜力。由黄芩和秦皮等组成的复方中药,经水煎煮灌服 PEDV 感染的仔猪,治愈率可达 86.67%;组织观察发现该复方药可加速消化道黏膜修复,还可减轻病毒诱导的炎症反应^[39]。此外,该复方中药可显著提高肠道单胺氧化酶、琥珀酸脱氢酶等消化酶的活性,促进感染期仔猪对营养物质的吸收,改善机体的免疫能力^[40]。王亚欣等^[41]采用不同剂量由黄连、鱼腥草等组成的复方制剂治疗患病仔猪时,发现该复方中药可治愈 53.3%–66.6% 的患病仔猪和降低 60% 以上的仔猪死亡率,并且还能改善仔猪的生长性能和肠道健康。另外,Kim 等^[42]用紫花地丁、蒲公英、板蓝根和黄连组成的复方中药对感染 PEDV 的仔猪进行保护性试验,仔猪在平均日增重、肠绒毛萎缩和隐窝增生程度方面均有显著改善。综上,复方中药汇集了多种单味中药的活性成分,不仅可以间接抑制病毒活性或直接杀灭病毒粒子,还能调控机体免疫反应,降低病毒感染造成的损伤,同时还可提高消化道酶活性,修复胃肠道的消化功能。

4 藻类天然产物

藻类含有陆生植物不具有的天然活性物质,近年来多项研究发现并证实多种藻类活性物质具有抗病毒感染的作用。Griffithsin 是从海洋红藻 *Griffithsia* spp. 提取物中分离到的一种高甘露糖型植物凝集素,最初被发现具有抗 HIV 的作用,随后在抑制 PEDV、PDCoV 等病毒感染的活性相继被证实^[43–44]。在

PEDV 感染中, Griffithsin 通过阻碍病毒的附着以及干扰病毒在细胞间的传播发挥抗病毒效应, 8 $\mu\text{g/mL}$ 重组 Griffithsin 可降低细胞中约 80% PEDV 的感染, 且对细胞无毒性^[44]。基于 Griffithsin 对 SARS-CoV、PDCoV 等冠状病毒的研究发现, 该分子能与冠状病毒的棘突蛋白 S 特异性结合, 阻断病毒入侵^[44]。因此, Griffithsin 在开发以冠状病毒入侵为靶点的抗病毒药物中具有巨大的潜力。褐藻苷苔的多酚类活性物质具有良好的抗 PEDV 活性。Kwon 等^[45]从褐藻苷苔中发现 2 种在 PEDV 感染的晚期对病毒 RNA 和蛋白的合成表现出强烈抑制活性的多酚类物质, 并且可通过血凝抑制反应阻碍病毒的入侵。在此之前, Park 等^[46]也从褐藻苷苔中鉴定到 1 种二鹅掌菜酚的多酚化合物能抑制 SARS-CoV 3CL^{pro} 的活性, 并发挥抗 SARS-CoV 功效。由此可见, 褐藻苷苔多酚具有较为广泛的抗冠状病毒活性, 具有进一步开发和应用潜力。

5 微生物代谢物

微生物的代谢产物具有丰富的生物活性, 在抗氧化、抗病毒、抗细菌、免疫调节和肠道菌群调节等方面发挥重要的生物学功能。表面活性素 (surfactin) 是枯草芽孢杆菌产生的一种由七肽和脂肪酸组成的环状脂肽表面活性剂, 其在抑制 PEDV 感染中发挥重要作用。Yuan 等^[47]利用从枯草芽孢杆菌的发酵液中提取的 surfactin 处理 PEDV 感染的 Vero 细胞发现, surfactin 可直接作用于病毒粒子, 以较低的剂量 (15 $\mu\text{g/mL}$) 即可完全抑制病毒的复制。作为一种脂肽分子, surfactin 能直接插入到 PEDV 囊膜中, 在入侵时阻碍病毒囊膜与细胞膜融合, 从而阻断囊膜病毒的感染^[47]。另外, 利用该物质预先灌服仔猪后, 可保护仔猪免受 PEDV 的感染^[47], 提示表面活性素具有较大的临床应用前景。来源于嗜盐性放线菌类链霉菌 (*Streptomyces* sp.) 产生的吡啶倍半萜类化合物 xiamycins 也具有抗 PEDV 活性。Kim 等^[48]从盐田源链霉菌的代谢物种鉴定出 3 种 xiamycins (C-E), 其中 xiamycin D 通过抑制病毒结构蛋白的表达发挥抗病毒活性。此外, 由白色链霉菌产生的盐霉素也可通过抑制病毒的入侵和复制发挥抗病毒活性, 同时该物质可改善 PEDV 感染诱导

的 ERK1/2 和 p38MAPK 信号通路激活反应, 但不影响 ROS 产生, 暗示盐霉素可能通过调控 ERK1/2 和 p38MAPK 通路发挥抗病毒活性^[49]。除了细菌之外, 由真菌、地衣产生的麦角甾醇过氧化物 (ergosterol peroxide, EP) 也表现出抗 PEDV 活性, 其不但能够直接灭活 PEDV 病毒粒子, 而且在病毒内化、复制和释放阶段发挥抗病毒活性^[50]。PEDV 感染时可通过线粒体途径引发细胞凋亡, 以促进病毒增殖和细胞病变的产生, 而 EP 则可通过降低 PEDV 感染时引起的线粒体膜电位差, 从而抑制 p53 蛋白的激活和 ROS 生成, 缓解 PEDV 诱导的细胞凋亡反应。

6 动物来源的活性物质

月桂酸甘油酯是一种主要存在于母乳中的中链脂肪酸, 具有良好的乳化和抗菌效果, 被广泛用于食品、日用品或化妆品中。Zhang 等^[12]证实月桂酸甘油酯具有抗 PEDV 的功能, 可改善患病仔猪的临床症状、肠绒毛损伤, 提高机体 IFNs 及其他免疫相关因子的表达, 暗示月桂酸甘油酯可能通过调控机体免疫应答并维持体内稳态发挥抗 PEDV 功能。因此, 基于月桂酸甘油酯良好的乳化性、适口性和廉价易得等特点, 具有开发成饲料添加剂的潜力。褪黑素是松果腺分泌的吲哚类物质, 起到调节机体生物节律的功能。研究发现其具有抑制 PEDV 增殖的功能, 尽管不能直接杀灭病毒粒子, 但在病毒侵入细胞以及病毒复制早期表现抗病毒效应^[51]。同时, 褪黑素对 TGEV 和 PDCoV 也具有抑制活性, 表明褪黑素具有广泛的抗冠状病毒活性^[51]。此外, 来自甲壳类动物的壳聚糖具有直接杀灭 PEDV 的活性, 可作为 PEDV 甚至其他冠状病毒潜在的消毒剂^[52]。不同天然产物抗 PEDV 的功效及作用机制见表 1。

7 小结与展望

PED 的防控是困扰当前养猪业的大难题之一, 现有的疫苗难以预防多种 PEDV 变异株的感染。天然产物以其丰富多样的活性成分和多靶点、多途径的抗病毒活性为 PED 的防治提供了可能。近年来, 越来越多的研究发现并证实了中草药单体、单味中药提取物、中药复方制剂、微生物代谢物、藻类和动物来源的天然产物具有抗 PEDV 的活性, 其抑制 PEDV 的方式主要有: (1) 直接杀灭病毒; (2) 作

表 1 抗 PEDV 感染的天然产物

化合物 / 成分	来源	分类	EC ₅₀ /IC ₅₀	作用机制	参考文献
Compound/Component	Source	Classification		Mechanism of action	Reference
银杏多糖	银杏外果皮	植物多糖	(1.7 ± 1.3) g/mL	阻碍 PEDV 对细胞的吸附和侵入	[6]
马齿苋多糖	马齿苋	植物多糖		阻碍 PEDV 对细胞的吸附并能抑制病毒感染引起的炎症细胞因子分泌	[7]
黄芪多糖	发酵黄芪	植物多糖		抑制 PEDV 的复制; 增强机体免疫反应	[8]
PCP1.1, 1.2, 2.1 和 2.2	广藿香	植物多糖		抑制 PEDV 增殖; 阻断病毒侵入细胞	[9]
AOFP3	益智仁	植物多糖		增强宿主细胞抗氧化活性, 降低 PEDV 感染诱导的 ROS	[10]
槲皮素	中草药	黄酮类	2.12–2.56 μmol/L	与 PEDV 3CL ^{pro} 结合并抑制蛋白酶活性	[13]
槲皮素 -7- 鼠李糖苷	中草药	黄酮类	0.014 μg/mL	影响 PEDV 感染的初始阶段	[14–15]
黄腐酚	啤酒花	类黄酮	3.865 μmol/L	降低 PEDV 感染诱导的 ROS	[16–17]
表没食子儿茶素没食子酸酯	茶叶	多酚	12.39 μmol/L	阻碍 PEDV 的附着、入侵、复制和组装	[19–20]
金丝桃素	贯叶连翘	二萜酮	(3.53 ± 0.33) μmol/L	与 PEDV 3CL ^{pro} 结合并抑制蛋白酶的活性	[21]
黄连素	黄连、黄柏	生物碱		抑制 PEDV 的复制和组装, 减弱病毒诱导的细胞凋亡反应	[22]
番茄碱	番茄	生物碱	3.447 μmol/L	与 PEDV 3CL ^{pro} 结合并抑制蛋白酶的活性	[18]
高三尖杉酯碱	三尖杉属植物	生物碱	0.112 μmol/L	抑制 PEDV 增殖	[23]
甘草酸	甘草	三萜类皂苷		阻碍病毒侵入和复制; 减轻病毒感染引起的细胞炎症反应	[24–25]
七叶皂苷	七叶树种子	皂苷类		抑制 PEDV 的复制	[26]
欧当归内酯 A	川芎	苯醌类		调控 ROS 介导的内质网应激反应; 抑制 PEDV 对细胞的吸附或侵入	[27]
Oleanane triterpene 6, 9, 11, 13	山茶花	五环三萜类	0.28–0.93 μmol/L	抑制 PEDV 蛋白的合成	[28]
Coumarin compound 5	防风	香豆素类	(4.85 ± 0.43) μmol/L	抑制 PEDV 核衣壳蛋白和棘突蛋白的合成	[29]
Phenolic compound 15, 16	柠檬清风藤	酚类	7.5–8.0 μmol/L	抑制 PEDV 的复制	[30]
芦荟提取物	芦荟			直接杀灭病毒粒子; 抑制 PEDV 复制	[31]
淫羊藿水浸提物	淫羊藿			增强机体免疫反应; 抑制 PEDV 增殖	[32]
金银花水浸提物	金银花			抑制 PEDV 增殖; 调节机体免疫反应	[32]
辣木叶水浸提物	辣木			抑制 PEDV 诱导的细胞凋亡; 降低 PEDV 诱导的炎症反应	[34]
闭脉斑果藤乙醇浸提物	闭脉斑果藤		0.15 μg/mL	抑制 PEDV 增殖	[35]
Griffithsin	海洋红藻	蛋白		阻碍 PEDV 的附着; 干扰 PEDV 在细胞间的传播	[44]
Phlorotannin compound 4, 5	褐藻甘苔	多酚类	12.2–14.6 μmol/L	抑制 PEDV RNA 和蛋白的合成; 通过血凝抑制反应阻碍病毒的侵入	[45]
Surfactin	枯草芽孢杆菌	脂肽		直接插入到 PEDV 囊膜中, 阻碍病毒囊膜与宿主细胞膜融合	[47]
Xiamycin D	链霉菌	吡啶倍半萜	0.93 μmol/L	抑制 PEDV 结构蛋白的表达	[48]
盐霉素	白色链霉菌	羧酸聚醚类		调控 ERK1/2 和 p38MAPK 通路发挥抗病毒反应	[49]
麦角甾醇过氧化物	真菌、地衣、海绵	甾醇		直接杀灭病毒粒子; 通过抑制 p53 蛋白的激活和 ROS 生成降低 PEDV 感染诱导的细胞凋亡反应	[50]
月桂酸甘油酯	母乳	脂肪酸		调控机体免疫应答并维持体内稳态发挥抗 PEDV 功能	[12]
褪黑素	动物松果腺	吲哚类		抑制 PEDV 的侵入和复制	[51]
壳聚糖	甲壳类动物	多糖		直接杀灭病毒粒子	[52]

用于病毒蛋白抑制病毒吸附、入侵、复制和合成;(3) 调节宿主免疫反应增强机体抗病毒效应;(4) 修复并改善机体消化道功能,降低 ROS 对细胞损伤和炎症反应(图 1)。

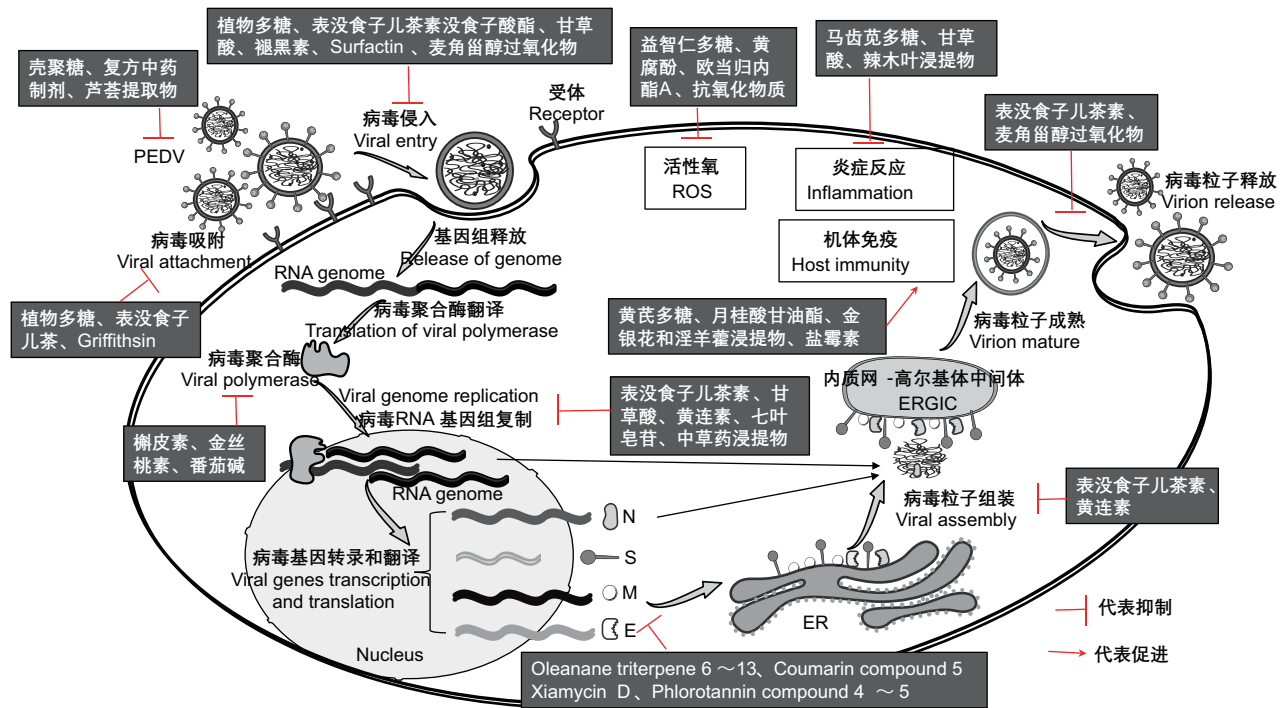


图 1 不同抗病毒天然产物靶向 PEDV 的复制周期

Fig. 1 Different natural antiviral products target for the replication cycle of PEDV

尽管目前发现多种天然产物在抗 PEDV 方面具有较大的应用价值,但都停留在实验室研究阶段,缺乏动物试验和临床药物安全评价。同时,天然产物种类繁多,提取工艺相对复杂,分离后的稳定性也难以保证。因此,针对天然产物的抗 PEDV 应用还有许多亟待解决的问题,如中草药抗 PEDV 主要活性成分和作用机制,天然产物的分离提取工艺和活性评价,抗 PEDV 活性物质动物试验和安全性评估,中草药提取物与疫苗联合使用等。针对这些问题,采用分子虚拟对接以及蛋白质组学、代谢组学和化学物质组等多组学的技术挖掘并解析中草药的活性成分和抗病毒机制,对抗冠状病毒药物的创制和疾病防控具有重要的指导意义。

参考文献

[1] 成温玉,白云,贾怀杰,等.猪流行性腹泻病毒蛋白拮抗宿主天然免疫应答的研究进展[J].生物技术通报,2020,36(12):

229-238.
Cheng WY, Bai Y, Jia HJ, et al. Research progress on proteins of PEDV antagonizing host innate immune responses [J]. Biotechnol Bull, 2020, 36 (12): 229-238.
[2] Li ZW, Ma ZQ, Li Y, et al. Porcine epidemic diarrhea virus: molecular mechanisms of attenuation and vaccines [J]. Microb Pathog, 2020, 149: 104553.
[3] Li W, Zhang MJ, Zheng HJ, et al. Construction of a recombinant porcine epidemic diarrhea virus encoding nanoluciferase for high-throughput screening of natural antiviral products [J]. Viruses, 2021, 13 (9): 1866.
[4] Mani JS, Johnson JB, Steel JC, et al. Natural product-derived phytochemicals as potential agents against coronaviruses: a review [J]. Virus Res, 2020, 284: 197989.
[5] He XR, Fang JC, Guo Q, et al. Advances in antiviral polysaccharides derived from edible and medicinal plants and mushrooms [J]. Carbohydr Polym, 2020, 229: 115548.

- [6] Lee JH, Park JS, Lee SW, et al. Porcine epidemic diarrhea virus infection : inhibition by polysaccharide from *Ginkgo biloba* exocarp and mode of its action [J]. *Virus Res*, 2015, 195 : 148-152.
- [7] 赵鲁, 刘月月, 林树乾, 等. 马齿苋多糖对猪流行性腹泻病毒抑制作用的研究 [J]. *中国兽医科学*, 2020, 50 (8) : 1066-1072.
- Zhao L, Liu YY, Lin SQ, et al. Inhibitory effect of *Portulaca oleracea* polysaccharide on porcine epidemic diarrhea virus [J]. *Chin Vet Sci*, 2020, 50 (8) : 1066-1072.
- [8] 王亭亭. 黄芩发酵多糖提取物组份鉴定及其对猪流行性腹泻的免疫调节作用 [D]. 泰安 : 山东农业大学, 2020.
- Wang TT. Components identification of the polysaccharide extract originated from *Astragalus* fermentation and the immunomodulation in PEDV vaccine [D]. Tai'an : Shandong Agricultural University, 2020.
- [9] Chen Y, Luo QY, Li SM, et al. Antiviral activity against porcine epidemic diarrhea virus of *Pogostemon cablin* polysaccharide [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 259 : 113009.
- [10] Chen Y, Zhang Y, Luo QY, et al. Inhibition of porcine epidemic diarrhea virus by *Alpiniae oxyphyllae* fructus polysaccharide 3 [J]. *Res Vet Sci*, 2021, 141 : 146-155.
- [11] Xu XG, Xu Y, Zhang Q, et al. Porcine epidemic diarrhea virus infections induce apoptosis in Vero cells via a reactive oxygen species (ROS) /p53, but not p38 MAPK and SAPK/JNK signalling pathways [J]. *Vet Microbiol*, 2019, 232 : 1-12.
- [12] Zhang Q, Yi D, Ji CZ, et al. Monolaurin confers a protective effect against porcine epidemic diarrhea virus infection in piglets by regulating the interferon pathway [J]. *Front Immunol*, 2022, 12 : 797476.
- [13] Li ZH, Cao H, Cheng YF, et al. Inhibition of porcine epidemic diarrhea virus replication and viral 3C-like protease by quercetin [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21 (21) : 8095.
- [14] Choi HJ, Kim JH, Lee CH, et al. Antiviral activity of quercetin 7-rhamnoside against porcine epidemic diarrhea virus [J]. *Antiviral Res*, 2009, 81 (1) : 77-81.
- [15] Song JH, Shim JK, Choi HJ. Quercetin 7-rhamnoside reduces porcine epidemic diarrhea virus replication via independent pathway of viral induced reactive oxygen species [J]. *Virology*, 2011, 8 : 460.
- [16] 赵诗莹, 陈新, 陈欢, 等. 黄腐酚对猪流行性腹泻病毒的体外抑制作用 [J]. *病毒学报*, 2020, 36 (5) : 907-912.
- Zhao SY, Chen X, Chen H, et al. Inhibitory effect of xanthohumol on the porcine epidemic diarrhea virus *in vitro* [J]. *Chin J Virol*, 2020, 36 (5) : 907-912.
- [17] Lin YX, Zang RC, Ma YL, et al. Xanthohumol is a potent pan-inhibitor of coronaviruses targeting main protease [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22 (22) : 12134.
- [18] Wang PC, Bai J, Liu XW, et al. Tomatidine inhibits porcine epidemic diarrhea virus replication by targeting 3CL protease [J]. *Vet Res*, 2020, 51 (1) : 136.
- [19] Huan CC, Xu WY, Ni B, et al. Epigallocatechin-3-gallate, the main polyphenol in green tea, inhibits porcine epidemic diarrhea virus *in vitro* [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12 : 628526.
- [20] Zhao ZJ, Feng MY, Wan J, et al. Research progress of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) on anti-pathogenic microbes and immune regulation activities [J]. *Food Funct*, 2021, 12 (20) : 9607-9619.
- [21] Zhang Y, Chen HJ, Zou MM, et al. Hypericin inhibit alpha-coronavirus replication by targeting 3CL protease [J]. *Viruses*, 2021, 13 (9) : 1825.
- [22] 叶跃天, 郇文彬, 陈欢, 等. 黄连素抑制猪流行性腹泻病毒复制和组装 [J]. *中国兽医学报*, 2019, 39 (9) : 1829-1835.
- Ye YT, Huan WB, Chen H, et al. Berberine inhibits porcine epidemic diarrhea virus replication and assembly [J]. *Chin J Vet Sci*, 2019, 39 (9) : 1829-1835.
- [23] Dong HJ, Wang ZH, Meng W, et al. The natural compound homoharringtonine presents broad antiviral activity *in vitro* and *in vivo* [J]. *Viruses*, 2018, 10 (11) : 601.
- [24] Huan CC, Wang HX, Sheng XX, et al. Glycyrrhizin inhibits porcine epidemic diarrhea virus infection and attenuates the proinflammatory responses by inhibition of high mobility group box-1 protein [J]. *Arch Virol*, 2017, 162 (6) : 1467-1476.
- [25] Tong T, Hu HW, Zhou JW, et al. Glycyrrhizic-acid-based carbon dots with high antiviral activity by multisite inhibition mechanisms [J]. *Small*, 2020, 16 (13) : e1906206.
- [26] Kim JW, Ha TK, Cho H, et al. Antiviral escin derivatives from the seeds of *Aesculus turbinata* Blume (Japanese horse chestnut) [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2017, 27 (13) : 3019-3025.
- [27] Zeng W, Ren JP, Li ZH, et al. Levistolide A inhibits PEDV replication via inducing ROS generation [J]. *Viruses*, 2022, 14 (2) :

- 258.
- [28] Yang JL, Ha TK, Dhodary B, et al. Oleanane triterpenes from the flowers of *Camellia japonica* inhibit porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) replication [J]. *J Med Chem*, 2015, 58 (3): 1268-1280.
- [29] Yang JL, Dhodary B, Ha TKQ, et al. Three new coumarins from *Saposhnikovia divaricata* and their porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) inhibitory activity [J]. *Tetrahedron*, 2015, 71 (28): 4651-4658.
- [30] Cho HM, Ha TK, Dang LH, et al. Prenylated phenolic compounds from the leaves of *Sabia limoniacea* and their antiviral activities against porcine epidemic diarrhea virus [J]. *J Nat Prod*, 2019, 82 (4): 702-713.
- [31] Xu ZC, Liu Y, Peng P, et al. *Aloe* extract inhibits porcine epidemic diarrhea virus *in vitro* and *in vivo* [J]. *Vet Microbiol*, 2020, 249: 108849.
- [32] Cho WK, Kim H, Choi YJ, et al. *Epimedium koreanum* nakai water extract exhibits antiviral activity against porcine epidemic diarrhea virus *in vitro* and *in vivo* [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012, 2012: 985151.
- [33] Cho WK, Weeratunga P, Lee BH, et al. *Epimedium koreanum* Nakai displays broad spectrum of antiviral activity *in vitro* and *in vivo* by inducing cellular antiviral state [J]. *Viruses*, 2015, 7 (1): 352-377.
- [34] Cao YN, Zhang SS, Huang YJ, et al. The aqueous leaf extract of *M. oleifera* inhibits PEDV replication through suppressing oxidative stress-mediated apoptosis [J]. *Animals (Basel)*, 2022, 12 (4): 458.
- [35] Trinh TBN, Le DH, Nguyen TTK, et al. *In vitro* antiviral activities of ethanol and aqueous extracts of Vietnamese traditional medicinal plants against Porcine Epidemic Diarrhea virus: a coronavirus family member [J]. *Virusdisease*, 2021, 32 (4): 797-803.
- [36] 朱买勋, 余春成, 朱兆荣, 等. 复方天芩提取液体外抗 PEDV 感染 PK-15 细胞的作用效果 [J]. *中国兽医学报*, 2014, 34 (3): 485-488, 491.
- Zhu MX, Yu CC, Zhu ZR, et al. The effect of compound Zhuqin extract resisting porcine epidemic diarrhea virus infecting PK-15 cells *in vitro* [J]. *Chin J Vet Sci*, 2014, 34 (3): 485-488, 491.
- [37] 常洪涛, 李永涛, 黄慧敏, 等. 香连溶液阻断猪流行性腹泻病毒感染临床效力研究 [J]. *中国兽医杂志*, 2018, 54 (1): 8-11, 65.
- Chang HT, Li YT, Huang HM, et al. Study of clinical efficacy on porcine epidemic diarrhea virus infection blocked by Xianglian solution [J]. *Chin J Vet Med*, 2018, 54 (1): 8-11, 65.
- [38] 管远红, 陈晓兰, 王海燕, 等. 复方杜桑溶液对猪流行性腹泻病毒感染阻断作用的研究及应用 [J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2018 (14): 186-189, 250.
- Guan YH, Chen XL, Wang HY, et al. Study and application of compound Dusang solution on blocking porcine epidemic diarrhea virus infection [J]. *Heilongjiang Animal Sci Vet Med*, 2018 (14): 186-189, 250.
- [39] 杨云乔, 郑建高, 姜军华, 等. 复方中药对猪流行性腹泻的治疗效果 [J]. *中国兽医学报*, 2017, 37 (7): 1353-1358.
- Yang YQ, Zheng JG, Jiang JH, et al. Therapeutic effect of compound Chinese herbal medicine on porcine epidemic diarrhea [J]. *Chin J Vet Sci*, 2017, 37 (7): 1353-1358.
- [40] 杨云乔, 郑建高, 姜军华, 等. 复方中药治疗流行性腹泻病毒感染猪的消化道黏膜电镜观察及相关酶检测 [J]. *江苏农业科学*, 2017, 45 (17): 159-163.
- Yang YQ, Zheng JG, Jiang JH, et al. Observation of digestive tract mucosa using electron microscopy and detection of related enzymes in pigs infected with epidemic diarrhea virus treated by compound Chinese medicine [J]. *Jiangsu Agric Sci*, 2017, 45 (17): 159-163.
- [41] 王亚欣, 康艳梅, 方心灵, 等. 复合中草药制剂对猪流行性腹泻的治疗效果研究 [J]. *中国饲料*, 2020 (12): 28-31.
- Wang YX, Kang YM, Fang XL, et al. Study on the therapeutic effect of compound Chinese herbal medicine on porcine epidemic diarrhea [J]. *China Feed*, 2020 (12): 28-31.
- [42] Kim HB, Lee CY, Kim SJ, et al. Medicinal herb extracts ameliorate impaired growth performance and intestinal lesion of newborn piglets challenged with the virulent porcine epidemic diarrhea virus [J]. *J Anim Sci Technol*, 2015, 57: 33.
- [43] Tang RF, Guo LJ, Fan QJ, et al. Porcine *Deltacoronavirus* infection is inhibited by Griffithsin in cell culture [J]. *Vet Microbiol*, 2022, 264: 109299.
- [44] Li L, Yu XM, Zhang HM, et al. *In vitro* antiviral activity of Griffithsin against porcine epidemic diarrhea virus [J]. *Virus Genes*, 2019, 55 (2): 174-181.
- [45] Kwon HJ, Ryu YB, Kim YM, et al. *In vitro* antiviral activity of

- phlorotannins isolated from *Ecklonia cava* against porcine epidemic diarrhea coronavirus infection and hemagglutination [J]. *Bioorg Med Chem*, 2013, 21 (15): 4706-4713.
- [46] Park JY, Kim JH, Kwon JM, et al. Dieckol, a SARS-CoV 3CL (pro) inhibitor, isolated from the edible brown algae *Ecklonia cava* [J]. *Bioorg Med Chem*, 2013, 21 (13): 3730-3737.
- [47] Yuan LF, Zhang S, Wang YH, et al. Surfactin inhibits membrane fusion during invasion of epithelial cells by enveloped viruses [J]. *J Virol*, 2018, 92 (21): e00809-e00818.
- [48] Kim SH, Ha TKQ, Oh WK, et al. Antiviral indolosesquiterpenoid xiamycins C-E from a halophilic actinomycete [J]. *J Nat Prod*, 2016, 79 (1): 51-58.
- [49] Yuan C, Huang XT, Zhai RY, et al. *In vitro* antiviral activities of salinomycin on porcine epidemic diarrhea virus [J]. *Viruses*, 2021, 13 (4): 580.
- [50] Liu Y, Wang X, Wang J, et al. Ergosterol peroxide inhibits porcine epidemic diarrhea virus infection in vero cells by suppressing ROS generation and p53 activation [J]. *Viruses*, 2022, 14 (2): 402.
- [51] Zhai XF, Wang NN, Jiao HQ, et al. Melatonin and other indoles show antiviral activities against swine coronaviruses *in vitro* at pharmacological concentrations [J]. *J Pineal Res*, 2021, 71 (2): e12754.
- [52] Kim SJ, Nguyen VG, Kim CU, et al. Application of chitosan as a natural disinfectant against porcine epidemic diarrhoea virus [J]. *Acta Vet Hung*, 2021, 69 (1): 94-99.

(责任编辑 张婷婷)