

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2018.23.017

清气解毒方含药血清干预呼吸道合胞病毒感染人喉癌上皮细胞 Hep-2 的体外实验研究

周雅萍¹, 李国春[✉], 叶放², 吴勉华²

(1. 南京中医药大学医学与生命科学学院, 江苏省南京市栖霞区仙林大道 138 号, 210023; 2. 南京中医药大学第一临床医学院)

摘要 目的 探讨清气解毒方抗呼吸道合胞病毒 (RSV) 感染的作用及可能机制。方法 3 只新西兰白兔分为空白血清组、利巴韦林组和清气解毒方组, 每组 1 只。清气解毒方组灌胃量为 36.32 mg/(kg·d), 利巴韦林组给药量为 18.24 mg/(kg·d), 空白血清组给予 50 ml 生理盐水灌胃, 均连续灌胃 3 天后制备含药血清。检测 RSV 半数感染量 (TCID₅₀) 并筛选清气解毒方、利巴韦林药物最大无毒浓度用于后续实验。Hep-2 细胞以 1×10^5 /ml 种于 96 孔板中, 分为细胞组、病毒组、利巴韦林组和清气解毒方组, 每组设 6 个复孔。利巴韦林组加入利巴韦林血清, 清气解毒方组加入清气解毒方血清, 细胞组和病毒组加入细胞维持液。分别培养 48、72、96 h 后检测各组细胞病毒抑制情况, 96 h 后观察各组细胞周期及凋亡率。结果 呼吸道合胞病毒 A 亚型 (Long 株) TCID₅₀ 为 $10^{-4.581}$ /100 μl。最终筛选出浓度为 40% 的清气解毒方含药血清作为其最大细胞无毒浓度, 即 0.363 g/ml; 浓度为 50% 的利巴韦林含药血清作为其最大细胞无毒浓度, 即 0.228 mg/ml。与细胞组比较, 感染后 48、72、96 h 病毒组 OD 值明显降低 ($P < 0.01$); 与病毒组比较, 利巴韦林组和清气解毒方组在 48、72、96 h 时 OD 值均明显升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。清气解毒方组在 48、72、96 h 病毒抑制率分别为 42.1%、57.0%、66.6%, 低于同时间利巴韦林组的 51.2%、69.6%、77.3%。与细胞组比较, 病毒组 G1 期明显升高, S 期明显降低, 凋亡率亦升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与病毒组比较, 利巴韦林组与清气解毒方组 G1 期明显降低, S 期和 G2 期明显升高, 凋亡率亦降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论 清气解毒方具有一定的体外抗 RSV 作用, 效果略差于利巴韦林。

关键词 清气解毒方; 呼吸道合胞病毒; 抗病毒; 利巴韦林

呼吸道合胞病毒 (respiratory syncytial virus, RSV) 是一种引发婴幼儿、儿童、老年人等免疫力低下者各种呼吸道疾病的常见 RNA 病毒^[1]。根据世界卫生组织报告, 超过 60% 的儿童急性呼吸道感染和超过 80% 的婴幼儿肺炎和支气管炎与 RSV 感染相关^[2]。全世界每年约有 5.3 万至 19.9 万五岁以下儿童死于此感染^[3]。另外, RSV 感染也是引起老年人住院和死亡的一个主要原因, 在其流行季节甚至超过流感病毒成为最主要的呼吸道感染病毒^[4]。然而, 预防和治疗 RSV 感染的有效药物至今也未满足临床要求^[5]。清气解毒方是国医大师周仲瑛教授所拟的抗呼吸道病毒方, 本实验通过检测清气解毒方对 RSV 感染细胞的病毒抑制和凋亡情况, 来验证 RSV 对机体的感染损伤以及清气解毒

方抗 RSV 的治疗效果, 为临床应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物、细胞及病毒

SPF 级新西兰白兔 3 只, 雄性, 体重 2.0 ~ 2.5 kg, 由南京中医药大学实验动物中心提供, 实验动物许可证号: SCXK (苏) 2007-0008。人喉癌上皮细胞 Hep-2、呼吸道合胞病毒 A 亚型 (Long 株), 均由南京中医药大学第一临床医学院儿科研究所惠赠。

1.2 药物

清气解毒方由生石膏、知母、黄芩、淡竹叶、芦根、青蒿、金银花、大青叶、大黄和栀子十味药组成, 各药物含量分别为 18.5%、6.2%、7.4%、9.3%、12.3%、12.3%、12.3%、9.3%、6.2%、6.2%, 药物购自南京中医药大学百草堂中医门诊部。根据实验动物 (兔) 和人临床用药剂量的估

基金项目: 江苏省中医药局科技项目 (YB201804)

* 通讯作者: liguochun@126.com, 13913841075

算公式^[8]，并结合实验需求，清气解毒方 3 剂，加水煎煮 2 次，第 1 次 10 倍量水，煎煮 0.5 h，第 2 次 8 倍量水，煎煮 0.5 h，滤过，滤液减压浓缩至浓度为 0.908 g/ml，冷却，分装，置于 4℃ 冰箱保存。

利巴韦林颗粒（新博林），由四川百利药业有限责任公司生产，批号：111216，用 45.6 mg 利巴韦林颗粒加入 100 ml 生理盐水稀释，药物浓度为 0.456 mg/ml，置于 4℃ 冰箱保存备用。

1.3 主要试剂及仪器

新生牛血清（杭州四季青生物工程材料有限公司，批号：051120）；DMEM 培养基（批号：31600-034）、胰酶（批号：833117），均为美国 GIBCO 公司；四甲基偶氮唑盐（MTT，南京凯基生物科技发展有限公司，批号：060526）；PI 染液（上海前尘生物科技有限公司，批号：080712）。

CO₂ 培养箱（Forma3111 型，美国 Thermo 公司）；酶联免疫检测仪（DG3022A 型，国营华东电子管厂）；流式细胞仪（FACSCanto 型，美国 BD 公司）。

1.4 含药血清的制备

3 只新西兰白兔适应性喂养 3 天后分为空白血清组、利巴韦林组、清气解毒方组，每组 1 只。第 4 天开始灌胃，连续灌 3 天，每日 2 次。根据兔和人临床用药剂量的换算公式^[9]计算，清气解毒方组灌胃量为 36.32 mg/(kg·d)（相当于人临床等效剂量的 4 倍）。利巴韦林组给药量为 18.24 mg/(kg·d)，空白血清组给予 50 ml 生理盐水灌胃。末次给药 1 h 后，在兔子清醒的状态下行颈动脉分离插管采血，血液静置 3 h 左右后，3000 r/min 离心 15 min，取上层血清，56℃ 水浴灭活 30 min，滤过，分装，置于 -20℃ 保存备用。

1.5 RSV 组织培养半数感染量（TCID₅₀）的测定

Hep-2 细胞以 1×10^5 /ml 浓度接种于 96 孔板，100 μl/孔，置 37℃、5% CO₂ 孵箱培养；病毒悬液用维持液 10 倍稀释（ 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} 、 10^{-8} ）8 个浓度；在接种细胞后 18~36 h 内，细胞长成单层时吸弃培养液，PBS 洗细胞面，接种各稀释度的病毒液，每个稀释度接种 8 孔，100 μl/孔，正常细胞对照孔加入 100 μl 维持液，置 37℃、5% CO₂ 培养箱中吸附 2 h；每 15 min 轻轻摇晃培养板 1 次，使病毒均匀吸附；吸弃病毒液，每孔加入 2% 维持液 100 μl，置 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养，逐日观察病变。以最高稀

释度不再出现新病变时为终点，观察出现细胞病变效应（CPE）的孔数，细胞病变程度^[10]用（-）~（++++）表示：无细胞病变时为（-），≤25% 细胞出现病变为（+），26%~50% 为（++），51%~75% 为（+++），>75% 为（++++）。根据 Reed-Muench 法^[11]可计算 TCID₅₀：距离比率 = ($>50\%$ 百分数 - 50) / ($>50\%$ 百分数 - $<50\%$ 百分数)，最后将大于 50% 的阳性百分率稀释度的对数与距离比率相加即为 TCID₅₀，即 TCID₅₀ = 大于 50% 的阳性百分率稀释度的对数 + 距离比率。

1.6 MTT 法测定药物最大无毒浓度

Hep-2 细胞以 1×10^5 /ml 浓度加入 96 孔板，100 μl/孔，待长成单层后，加入不同浓度清气解毒方含药血清（用维持液稀释成不同浓度）100%、90%、80%、70%、60%、50%、40%、30%、20%、10%，用维持液稀释的利巴韦林含药血清 100%、90%、80%、70%、60%、50%、40%、30%、20%、10%，100 μl/孔；设正常细胞对照，置 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h，每孔加入 MTT（5 mg/ml）20 μl，置培养箱培养 4 h，吸弃孔内上清液，每孔加入 150 μl DMSO，振荡使结晶物充分溶解，酶标仪 490 nm 波长测定各孔光密度值（OD 值），确定各药物的最大无毒浓度。细胞存活率 = 加药组 OD 值 / 对照组 OD 值。本实验采用存活率 ≥ 90% 的药物浓度作为药物最大无毒浓度。

1.7 观察指标及方法

1.7.1 清气解毒方对 RSV 感染细胞病毒抑制率的影响 用 0.25% 胰酶消化单层 Hep-2 细胞，以 1×10^5 /ml 的浓度种于 96 孔板中，100 μl/孔，共种 3 板，置于 37℃、5% CO₂ 孵箱里进行培养；待细胞长满至 80% 时，吸去培养液，PBS 洗 2 遍；每块板分细胞组、病毒组、利巴韦林组和清气解毒方组，用 100 TCID₅₀/100 μl RSV 感染各组细胞（细胞组除外），细胞组加维持液 100 μl，每组设 6 个复孔；37℃、5% CO₂ 孵箱里吸附 1.5~2 h，每隔 15 min 轻轻摇晃培养板 1 次，使病毒吸附均匀充分；吸去病毒液，PBS 洗 2 遍，利巴韦林组加入利巴韦林血清，清气解毒方组加入清气解毒方血清，细胞组和病毒组加入细胞维持液，100 μl/孔，置于 37℃、5% CO₂ 孵箱里进行培养；逐日在倒置显微镜下观察，直至感染后 48 h 发现病毒感染组细胞 CPE 达（++++）时进行下一步操作；分别于感染后的 48、72、96 h 连续 3 个时间段分别加入

预先过滤除菌的 5 mg/ml 的 MTT 溶液 20 μ l/孔, 然后继续置于 37℃、5% CO₂ 孵箱里进行培养 4 h; 去培养孔中的上清液, 加入 DMSO 溶液 150 μ l/孔, 避光震荡 10 min, 静置 5 min, 使结晶物充分溶解; 选择 490 nm 波长, 在酶标检测仪测定各孔光密度值 (OD 值), 通过病毒抑制率公式计算药物对病毒的抑制率。病毒抑制率 (%) = (药物组平均 OD 值 - 病毒感染组平均 OD 值) / (细胞对照组平均 OD 值 - 病毒感染组平均 OD 值) $\times$ 100%。

1.7.2 清气解毒方对 RSV 感染细胞周期及凋亡的影响 根据清气解毒方对 RSV 感染细胞病毒抑制率的结果, 病毒感染后 96 h 收获 Hep-2 细胞, 1600 r/min, 离心 5 min; 弃上清, 用 2 ml 的 PBS 清洗 2 遍, 1000 r/min, 离心 5 min; 弃上清, 加入 300 μ l PBS, 然后转移细胞至上样管, 加入 300 μ l 的 PI 染液; 放入 4℃ 冰箱, 避光 30 min, 流式细胞仪待测。细胞凋亡率 = 凋亡细胞数 / 总细胞数 $\times$ 100%

1.8 统计学方法

采用 SPSS 19.0 软件进行统计处理, 计量数据用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TCID₅₀测定结果

不同稀释度呼吸道合胞病毒液干预 Hep-2 细胞后出现细胞病变效应情况具体见表 1。LogTCID₅₀ = (100 - 50) / (100 - 14) $\times$ (-1) + (-4) = -4.581。因此, 在 Hep-2 细胞中呼吸道合胞病毒 A 亚型 (Long 株) TCID₅₀ 为 10^{-4.581}/100 μ l。

表 1 呼吸道合胞病毒干预 Hep-2 细胞
出现细胞病变效应情况

病毒液 稀释度	孔数	累计细胞 病变效应 孔数	累计无细胞 病变效应 孔数	出现细胞 病变效应孔数 所占百分比 (%)
10 ⁻¹	33	33	0	100
10 ⁻²	25	25	0	100
10 ⁻³	17	17	0	100
10 ⁻⁴	9	9	0	100
10 ⁻⁵	7	1	6	14
10 ⁻⁶	15	0	15	0
10 ⁻⁷	23	0	23	0
10 ⁻⁸	31	0	31	0

2.2 清气解毒方含药血清和利巴韦林含药血清最大无毒浓度检测结果

表 2 示, 选择浓度为 40% 的清气解毒方含药

血清作为其最大细胞无毒浓度, 清气解毒方血清液的配置比例为 4 倍的血清和 6 倍的维持液, 即浓度为 0.363 g/ml。选择浓度为 50% 的利巴韦林含药血清作为其最大细胞无毒浓度, 利巴韦林血清液的配置比例为 5 倍的血清和 5 倍的维持液, 即 0.228 mg/ml。

表 2 不同浓度清气解毒方含药血清和利巴韦林含药血清对 Hep-2 细胞存活率的影响

药物浓度 (%)	细胞存活率 (%)	
	清气解毒方	利巴韦林
100	26.80	24.77
90	33.93	34.84
80	45.67	48.12
70	72.56	69.23
60	79.83	81.21
50	86.87	90.18
40	91.94	93.27
30	97.66	97.75
20	98.15	98.57
10	99.49	99.38

2.3 各组不同时间病毒抑制情况比较

表 3 示, 与细胞组比较, 感染后 48 h、72 h 和 96 h 病毒组 OD 值明显降低 ($P < 0.01$); 与病毒组比较, 利巴韦林组和清气解毒方组在 48 h、72 h 和 96 h 时 OD 值均明显升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与利巴韦林组比较, 清气解毒方组在 48 h 和 72 h 时 OD 值差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 在 96 h 时清气解毒方组 OD 值低于利巴韦林组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 说明 96 h 清气解毒方疗效不如利巴韦林。病毒抑制率方面, 清气解毒方与利巴韦林在 48 h、72 h 和 96 h 均表现出明显的病毒抑制, 并且随着时间的推移病毒抑制率逐渐升高, 并且利巴韦林组病毒抑制率高于清气解毒方组。

2.4 各组细胞周期及凋亡率比较

细胞周期分为 G1 期 (DNA 合成前期)、S 期 (DNA 合成期)、G2 期 (DNA 合成后期) 和 M 期 (有丝分裂期)。表 4 示, 与细胞组比较, 病毒组 G1 期明显升高, S 期明显降低, 凋亡率亦升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 说明病毒组细胞的增值明显受到抑制。与病毒组比较, 利巴韦林组与清气解毒方组 G1 期明显降低, S 期和 G2 期明显升高, 凋亡率亦降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与利巴韦林组比较, 清气解毒方组 G1、S 期升高, G2 期降低, 凋亡率亦升高 ($P < 0.05$), 说明说明清气解毒方抗病毒疗效弱于利巴韦林。

表 3 各组 RSV 病毒感染细胞不同时间病毒抑制情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	48 h		72 h		96 h	
		OD 值 ($\bar{x} \pm s$)	病毒抑制率 (%)	OD 值 ($\bar{x} \pm s$)	病毒抑制率 (%)	OD 值 ($\bar{x} \pm s$)	病毒抑制率 (%)
细胞组	6	0.55 ± 0.04	—	0.64 ± 0.05	—	0.77 ± 0.09	—
病毒组	6	0.43 ± 0.04*	—	0.33 ± 0.09*	—	0.24 ± 0.07*	—
利巴韦林组	6	0.49 ± 0.04 [△]	51.2	0.55 ± 0.09 ^{△△}	69.6	0.65 ± 0.05 ^{△△}	77.3
清气解毒方组	6	0.48 ± 0.03 [△]	42.1	0.51 ± 0.04 ^{△△}	57.0	0.59 ± 0.03 ^{△△▲}	66.6

注: RSV, 呼吸道合胞病毒; 与细胞组比较, * $P < 0.01$; 与病毒组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与利巴韦林组比较, $\Delta\Delta P < 0.05$

表 4 各组 RSV 感染细胞周期及凋亡率比较 ($\bar{x} \pm s$)

分组	样本数	细胞周期			凋亡率 (%)
		G1 期	S 期	G2 期	
细胞组	6	48.46 ± 0.22	41.20 ± 0.90	10.35 ± 0.50	2.82 ± 0.53
病毒组	6	56.78 ± 0.67**	28.48 ± 0.62*	10.08 ± 0.65	57.58 ± 0.87**
利巴韦林组	6	23.04 ± 0.37 ^{△△}	30.88 ± 0.61 [△]	45.08 ± 0.51 ^{△△}	36.52 ± 0.35 ^{△△}
清气解毒方组	6	37.55 ± 0.36 ^{△△▲}	39.10 ± 0.64 ^{△△▲}	23.36 ± 0.61 ^{△▲}	42.01 ± 0.67 ^{△△▲}

注: RSV, 呼吸道合胞病毒; 与细胞组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与病毒组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与利巴韦林组比较, $\Delta\Delta P < 0.05$

3 讨论

RSV 是一种 RNA 病毒, 是儿童呼吸道感染最常见的病原体之一, 儿童 RSV 相关下呼吸道感染常见为毛细支气管炎和肺炎, 发病率高, 其中部分患儿需要住院治疗, 严重威胁患儿生命健康^[8]。目前, 中医药抗呼吸道病毒的研究和应用已引起国内外广泛关注, 中药作用靶点多, 既有直接杀灭病毒作用, 又有抑制病毒复制作用, 不良反应少, 药源丰富, 价格低廉^[9]。与其他抗感染药物相比, 中药治疗 RSV 病毒引起的呼吸道感染副作用较轻^[10]。清气解毒方是周仲瑛教授防治外感热病的临证经验方, 具有清气泻热、凉营解毒之功效。本研究发现, 呼吸道合胞病毒 A 亚型 (Long 株) TCID₅₀ 为 $10^{-4.581}$ /100 μ l。筛选出浓度为 40% 的清气解毒方含药血清作为其最大细胞无毒浓度, 即 0.363 g/ml; 浓度为 50% 的利巴韦林含药血清作为其最大细胞无毒浓度, 即 0.228 mg/ml, 进行下一步具体实验。

本实验结果显示, RSV 感染 Hep-2 细胞后, 采用 MTT 法检测各孔在 48、72、96 h 时 OD 值降低, 而清气解毒方和利巴韦林均能使 OD 值增高, 病毒抑制率升高, 并且清气解毒方和利巴韦林抗病毒作用随着时间的推移抗病毒作用逐渐增强, 但清气解毒方抗病毒作用弱于利巴韦林。另外, RSV 攻击 Hep-2 细胞能使细胞周期中的 G1 期细胞数量增多, G2 期数量降低, 细胞的凋亡率升高。而清气解毒方和利巴韦林均能使 G1 期细胞数量减少, G2 期数量增多, 细胞凋亡率降低, 且利巴韦林组强于

清气解毒方组, 提示清气解毒方和利巴韦林均能对 RSV 感染有明显的抑制作用, 但利巴韦林的疗效优于清气解毒方。

综上所述, 清气解毒方具有一定抗 RSV 的效果, 并随着时间的推移疗效愈加显著。其可能通过促进 RSV 感染细胞增殖而使病毒抑制率升高, 从而有效降低 RSV 感染细胞的凋亡率, 最终对机体能产生一定的保护效应。

参考文献

- [1] BAILY B, RICHARD CA, SHARMA G, et al. Targeting human respiratory virus transcription anti-termination factor M2-1 to inhibit in vivo viral replication [J]. Sci Rep, 2016. doi: 10.1038/srep25806.
- [2] BYINGTON CL, WILKES J, KORGESKI K, et al. Respiratory syncytial virus-associated mortality in hospitalized infants and young children [J]. Pediatrics, 2015, 135(1): e24-e31.
- [3] 谢秀春, 徐建亚, 汪受传. 白藜芦醇抗呼吸道合胞病毒作用体外实验研究 [J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(11): 3182-3184.
- [4] 祖向阳, 高伟娜, 杜喆, 等. 呼吸道合胞病毒疫苗的研究进展 [J]. 中国疫苗和免疫, 2018, 24(2): 237-242.
- [5] 潘永刚, 刘晓志, 高健, 等. 呼吸道合胞病毒的治疗药物研发进展 [J]. 现代药物与临床, 2018, 33(2): 433-438.
- [6] 陈奇. 中药药理研究方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993: 33.
- [7] 李佳曦. 金欣口服液及白藜芦醇对 RSV 活化诱导的 TLR3 及其信号通路的调控作用 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2012.

[] 李俊英, 李际强. 苏黄止咳胶囊对呼吸道合胞病毒作用的体外实验研究 [] . 河北中医, 2017, 39(4) : 575-578.
[] 王学文. 复方中药制剂对甲型流感病毒感染的抑制作用及其作用机制的研究 [D] . 北京: 中国农业大学,

2017: 18-19.

[] 张梦迪, 王厚伟. 抗人呼吸道合胞病毒中药抑制剂研究进展 [] . 中草药, 2017, 48(17) : 3650-3653.

Research on *Qingqi Jiedu Decoction* (清气解毒方) Containing Serum to Intervene Respiratory Syncytial Virus Infected Human Laryngeal Epithelial Cell Hep-2: *In Vitro* Experimental Study

ZHOU Yaping¹, LI Guochun¹, YE Fang², WU Mianhua²

(1. Medicine and Life Sciences College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023; 2. First Clinical Medical College, Nanjing University of Chinese Medicine)

ABSTRACT Objective To study the effects and possible mechanism of *Qingqi Jiedu Decoction* (清气解毒方) against respiratory syncytial virus (RSV) . **Methods** Three New Zealand white rabbits were divided into blank serum group, ribavirin group and *Qingqi Jiedu Decoction* group, with 1 rabbit in each group. The *Qingqi Jiedu Decoction* group was administered with 36.32 mg/(kg · d) *Qingqi Jiedu Decoction*, the ribavirin group was given 18.24 mg/(kg · d) ribavirin, and the blank serum group was given 50 ml normal saline. The drug-containing serum was prepared after continuous administration for 3 days. The half-infection of RSV (TCID₅₀) was detected and the maximum non-toxic concentration of *Qingqi Jiedu Decoction* and ribavirin was screened for subsequent experiments. Hep-2 cells were seeded in 96-well plates at 1 × 10⁵/ml, and were divided into cell group, virus group, ribavirin group and *Qingqi Jiedu Decoction* group, with 6 duplicate wells in each group. The ribavirin group was added with ribavirin serum, the *Qingqi Jiedu Decoction* group was added with *Qingqi Jiedu Decoction* serum, and the cell group as well as virus group were added with the cell maintenance solution. After 48, 72, and 96 hours of culture, the virus inhibition of each group was detected. After 96 hours, the cell cycle and apoptosis rate of each group were observed. **Results** The respiratory syncytial virus A subtype (Long strain) had a TCID₅₀ of 10^{-4.581}/100 μl. The concentration of 40% *Qingqi Jiedu Decoction* drug-containing serum was screened out as its maximum cell non-toxic concentration (0.363 g/ml) , and the concentration of 50% ribavirin-containing serum was screened out as its maximum cell non-toxic concentration (0.228 mg/ml) . Compared with the cell group, the OD value of the virus group was significantly decreased at 48, 72 and 96 hours after infection (*P* < 0.01) . Compared with the virus group, the OD values of the ribavirin group and the *Qingqi Jiedu Decoction* group were significantly increased at 48, 72, and 96 h (*P* < 0.05 or *P* < 0.01) . The virus inhibition rates of *Qingqi Jiedu Decoction* group were 42.1% , 57.0% , and 66.6% at 48, 72, and 96 h, respectively, which were lower than 51.2% , 69.6% , and 77.3% of the ribavirin group. Compared with the cell group, the G1 phase of the virus group was significantly increased, the S phase was significantly decreased, and the apoptotic rate was also increased (*P* < 0.05 or *P* < 0.01) . Compared with the virus group, the G1 phase of the ribavirin group and the *Qingqi Jiedu Decoction* group was significantly decreased, the S phase and the G2 phase were significantly increased, and the apoptotic rate was also decreased (*P* < 0.05 or *P* < 0.01) . **Conclusion** *Qingqi Jiedu Decoction* has a certain anti-RSV effect in vitro, and the effect is slightly worse than ribavirin.

Keywords *Qingqi Jiedu Decoction*; respiratory syncytial virus; anti-virus; ribavirin

(收稿日期: 2018 - 06 - 05; 修回稿件: 2018 - 09 - 03)

编辑: 邓 媛