

## 천연 Quercitrin의 항헤피스바이러스작용과 Nucleoside계 항헤피스바이러스제와의 병용효과

김영소 · 어성국 · 김홍진<sup>1</sup> · 이도익<sup>1</sup> · 김기호<sup>1</sup> · 한성순\*  
충북대학교 약학대학, <sup>1</sup>중앙대학교 약학대학

### Antiherpetic Activities of Natural Quercitrin Alone and in Combinations with Nucleoside Antiherpetic Agents

Young-So KIM, Seong-Kug EO, Hong-Jin KIM<sup>1</sup>, Do-Ik LEE<sup>1</sup>,  
Ki-Ho KIM<sup>1</sup> and Seong-Sun HAN\*

College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

<sup>1</sup>College of Pharmacy, Chungang University, Seoul 156-756, Korea

(Received April 14, 1999; accepted May 7, 1999)

**Abstract** – In order to find less toxic antiherpetic agents, antiviral activities of quercitrin against two strains of pathogenic viruses such as herpes simplex virus type 1 (HSV-1) and type 2 (HSV-2) were determined in Vero cells using plaque reduction assay *in vitro*. Quercitrin showed a concentration-dependent decrease in plaque formation of HSV-1 and HSV-2. It also exhibited more potent antiherpetic activity on HSV-1 with 50% effective concentration (EC<sub>50</sub>) of 20.4 µg/ml than on HSV-2 with EC<sub>50</sub> of 30.4 µg/ml. The combined antiherpetic effects of quercitrin with nucleoside antiherpetic agents, acyclovir and vidarabine, were examined on the multiplication of these two strains of herpesviruses in Vero cells by the combination assay. The results of combination assay were evaluated by the combination index (CI) that was calculated by the multiple drug effect analysis. The combinations of quercitrin with acyclovir and vidarabine on HSV-1 showed more potent synergism with CI values of 0.27~0.81 for 50%, 70%, 90% effective levels than those on HSV-2 with CI values of 1.03~2.20.

**Keywords** □ Quercitrin, Herpes simplex virus, Plaque reduction assay, Antiherpetic activity, Combination index (CI), Multiple drug effect analysis

Quercitrin(querctin-3-*o*- $\alpha$ -L-rhamnoside)은 quercetin의 배당체로 식물체에 널리 분포하는 flavonoid로서 모세혈관 강화작용, 지방산화저지작용, 이뇨작용, 효소활성작용 등 다양한 생리활성을 가지고 있다(Willaman, 1955).

Herpesvirus는 herpes simplex virus type 1(HSV-1)과 type 2(HSV-2), varicella zoster virus(VZV), cytomegalovirus(CMV), Epstein-Barr virus(EBV), human herpes virus-6(HHV-6), HHV-7 등 7종이며 이중 HSV-1과 HSV-2가 대표적인 바이러스이다. 현재 임상적으로 사용되고 있는 항헤피스바이러스제는 acyclovir(ACV), penciclovir(PCV), ganciclovir(DHPG), idoxuridine(IDU), vidarabine(ara-A) 등의 nucleoside계 유도체와 foscarnet 등의 pyrophosphate 유도체 등이 있다(Mindel, 1989).

Quercitrin의 항바이러스효과에 관한 연구는 mouse의

ectromelia virus, vaccina virus 및 rabies virus 감염에 대하여 예방효과가 있다고 보고되었으며(Cutting 등, 1949), quercitrin의 비당체인 quercetin의 항바이러스작용에 관한 연구는 pseudorabies virus에 대한 항바이러스작용(Beladi 등, 1997), human immunodeficiency virus(HIV)와 Rauscher murine leukemia virus(RLV)에 대한 항바이러스작용이 보고되었다(Ono 등, 1990). 병용효과에 관한 연구는 HSV-1과 pseudorabies virus에 대한 quercetin과 5-ethyl-2'-deoxyuridine의 병용효과(Musci 등, 1984), mouse의 mengo virus 감염에 대한 quercetin과 murine alpha 및 beta interferon과의 병용효과에 대하여 보고된 바 있다(Veckenstedt 등, 1987).

이상의 연구보고를 종합한 결과를 토대로 하여 우리나라에 풍부하게 분포되어 있는 땅비싸리 *Indigofera kirilowii* Max.의 잎에서 quercitrin을 단리하여 HSV-1과 HSV-2에 대한 항헤피스바이러스 효과를 plaque reduction assay에

\*To whom correspondence should be addressed.

따라 측정하고, nucleoside계 항헤피스바이러스제인 acyclovir 및 vidarabine과의 병용시험을 실시하여 그 결과를 평가하였다.

**실험방법**

**재료 및 시약**

Quercitrin은 팽비싸리 *Indigofera kirilowii* Max.의 잎에서 추출, 단리하여 실험에 사용하였다. Eagle's minimum essential medium(EMEM), fetal bovine serum(FBS), trypsin, penicillin G, streptomycin, amphotericin B는 Gibco BRL Co., 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT), crystal violet, 9-[(2-hydroxyethoxy)methyl] guanine(acyclovir), adenine 9-β-D-arabinofuranoside(vidarabine)는 Sigma Co. 제품을 사용하였다.

**세포 및 바이러스**

숙주세포는 Vero 세포(Kidney, African Green Monkey, *Cercopithecus aethiops*) ATCC CCL81을, 시험바이러스는 herpes simplex virus type 1(F strain) ATCC VR-733과 herpes simplex virus type 2(G strain) ATCC VR-734를 사용하였다.

**세포독성시험**

숙주세포에 대한 독성은 Vero 세포( $3.5 \times 10^4$  cells/well)를 96 well plate에 분주하고 5% CO<sub>2</sub>, 37°C에서 24시간 배양하여 세포단층을 얻은 후, 최고농도 500 µg/ml의 시료를 6단계로 배수희석하여 100 µg/ml씩 분주하고 48시간 배양하여 MTT reduction assay(Scubiero, 1988)에 따라 시험하였다. ELISA reader로 570 nm에서 흡광도를 측정하여 50% cytotoxic concentration (CC<sub>50</sub>)의 값을 계산하였다.

**항바이러스시험**

항헤피스바이러스효과는 plaque reduction assay에 따라 시험하였다(Langford 등, 1981). Vero 세포( $5 \times 10^5$  cells/well)를 24 well plate에 분주하고 5% CO<sub>2</sub>, 37°C에서 세포단층을 얻었다. 세포단층을 PBS로 세척하고 약 150

pfu/well로 희석한 바이러스용액을 접종하고 세포에 흡착되도록 1시간 배양한 다음, 1, 10, 20, 30 및 40 µg/ml의 quercitrin과 1% agar를 함유한 EMEM을 가한 후 plaque이 형성될 때까지 배양하였다. Plaque이 형성되면 agar overlay medium을 떼어내고 5% formalin-PBS로 세포를 고정시킨 후, 0.1% crystal violet 용액으로 염색하여 plaque 수를 세었다. Plaque 수를 대조군과 비교하여 바이러스의 증식을 50%, 70%, 90%까지 억제시키는 quercitrin의 농도인 50% effective concentration(EC<sub>50</sub>), EC<sub>70</sub> 및 EC<sub>90</sub>를 구하고 selectivity index (SI)로 항헤피스바이러스 효과를 판정하였다.

**병용시험**

병용효과는 Tachedjian 등(1992)의 방법에 따라 시험하였다. Vero 세포( $5 \times 10^5$  cells/well)를 24 well plate에 분주하고 5% CO<sub>2</sub>, 37°C에서 배양하여 세포단층을 형성시킨 후, 약 150 pfu/well로 희석한 바이러스용액을 접종, 바이러스를 세포에 흡착시킨 후 더 배양하였다. Quercitrin은 1~40 µg/ml, acyclovir는 0.05~2.00 µg/ml, vidarabine은 0.25~10.00 µg/ml의 농도범위내에서 quercitrin과 acyclovir는 20:1, quercitrin과 vidarabine은 4:1의 농도비율로 조제하여 plaque이 형성될 때까지 5% CO<sub>2</sub>, 37°C에서 배양하였다. Plaque이 형성되면 agar overlay medium을 제거하고 5% formalin-PBS로 세포를 고정시키고 0.1% crystal violet 용액으로 염색한 후 plaque 수를 세었다.

**시험결과와 분석**

시험결과는 Chou와 Talalay(1984)의 multiple drug effect analysis에 따라 분석하였다. 대조군과 비교하여 증식의 억제가 일어나는 정도인 affected fraction (f(a))에 따라 combination index (CI)로 상승효과, 상가효과 및 길항효과로 판정하였다.

**실험결과**

**항바이러스효과**

**Table I.** Antiherpetic activities of quercitrin by plaque reduction assay

Sample	Virus	CC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (µg/ml)	EC <sup>b</sup> (µg/ml)			SI <sup>c</sup>
			EC <sub>50</sub>	EC <sub>70</sub>	EC <sub>90</sub>	
Quercitrin	HSV-1	130.8	20.4	26.5	35.5	6.4
	HSV-2	130.8	30.4	46.7	63.2	4.3
Acyclovir	HSV-1	913.7	1.7	2.4	3.1	537.5
	HSV-2	913.7	0.5	0.9	1.3	1827.4
Vidarabine	HSV-1	117.6	6.2	8.6	19.0	19.0
	HSV-2	117.6	5.5	8.6	11.6	21.4

<sup>a</sup>50% cytotoxicity concentration (CC<sub>50</sub>) is the concentration of the 50% cytotoxic effect.

<sup>b</sup>Effective concentration (EC) is the concentration of quercitrin required to reduce plaque formation of virus by 50%, 70%, and 90%.

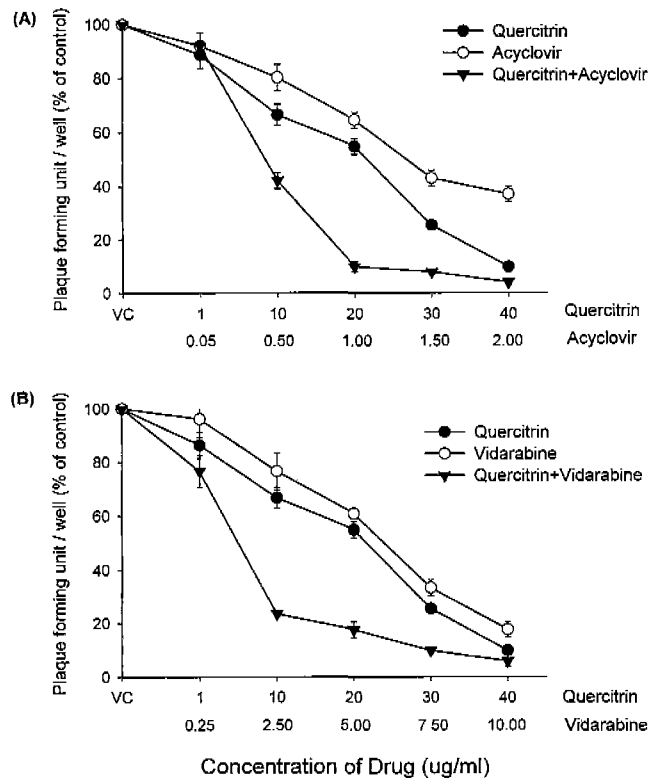
<sup>c</sup>Selectivity Index (SI) = CC<sub>50</sub>/EC<sub>50</sub>

Quercitrin의 HSV-1과 HSV-2에 대한 항헤피스바이러스 효과를 plaque reduction assay 및 MTT reduction assay에 따라 측정 한 결과는 Table I과 같다. Quercitrin의 Vero 세포에 대한  $CC_{50}$ 은 130.8이었으며, HSV-1, HSV-2에 대해 용량의존적으로 plaque형성을 억제하였다. Plaque 수를 대조군과 비교하여 바이러스의 증식을 50%, 70%, 90%까지 억제시키는 quercitrin의 농도인 50% effective concentration ( $EC_{50}$ ),  $EC_{70}$  및  $EC_{90}$ 를 살펴보면 HSV-1에 대해서는 20.4  $\mu\text{g/ml}$ , 26.5  $\mu\text{g/ml}$  및 35.5  $\mu\text{g/ml}$ 를, HSV-2에 대하여는 30.4  $\mu\text{g/ml}$ , 46.7  $\mu\text{g/ml}$  및 63.2  $\mu\text{g/ml}$ 를 각각 나타내었다. 즉 quercitrin은 HSV-2보다 HSV-1에 대해 더 유효한  $EC_{50}$ 을 나타내었다. 또한 HSV-1의 SI는 6.4를, HSV-2의 SI는 4.3을 나타냄으로써 HSV-1에 대해 더 우수한 항헤피스바이러스효과를 나타내었다.

**병용효과**

**HSV-1의 quercitrin과 acyclovir 및 vidarabine**

Quercitrin과 acyclovir 및 vidarabine과의 병용시 Vero 세포에서 HSV-1에 대한 효과는 Fig. 1과 같으며 상승효과로 판정되었다. 단독처리시 quercitrin은 20  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 45%, acyclovir는 1.00  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 35%의 plaque형성 억제효과를 보였으나 이 두 물질을 병용시 plaque형성 억제율은 91%로 상승되었다. 7.5  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 vidarabine의 병용시 억제율은 91%로 vidarabine 단독처리시의 67% 보다 상승하였다. Fig. 1에 나타난 결과를 median-effect equation으로 바꾸어  $\log[\text{concentration}]$ 에 대해  $\log[(f(a))^{-1}-1]^{-1}$ 의 값을 계산한 결과 median-effect plot으로부터 결정된 parameter를 Table II에 나타내었다. HSV-1에 quercitrin과 acyclovir 및 vidarabine을 병용하였을 때 f(a)에 따른 CI value는 Fig. 2와 같다. Quercitrin



**Fig. 1.** Inhibitory effect of plaque formation of herpes simplex virus type 1 in Vero cells by quercitrin, acyclovir(A) and vidarabine(B) alone, and their combination at a fixed ratio. Results are expressed as percent with respect to virus control (VC) group. Each value is the mean  $\pm$  S.D. of quadruplicate determinations.

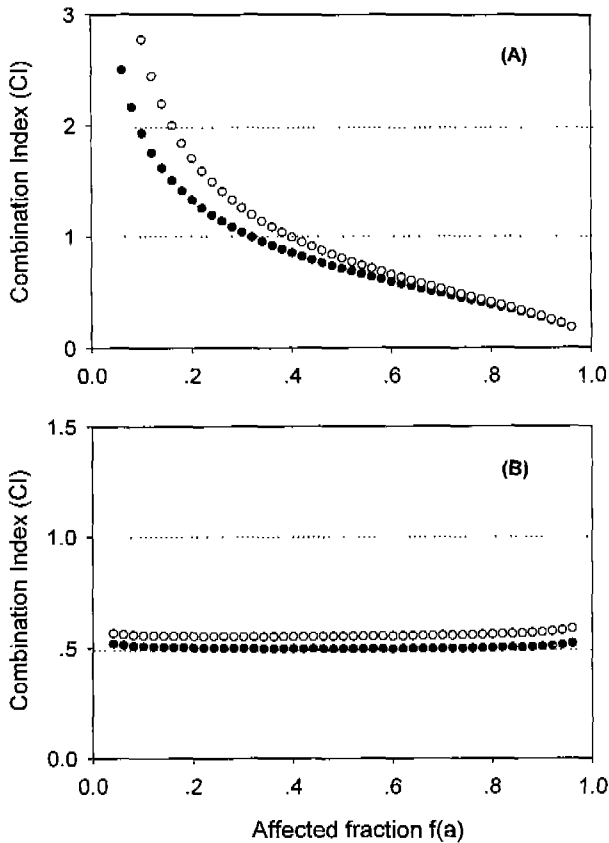
과 acyclovir와의 병용시 CI value는 f(a)가 0.50에서 0.90 사이인 유효농도 범위내에서 0.27~0.81의 값을 나타냈고,

**Table II.** Median effective concentrations and CI values of combinations of quercitrin with acyclovir and vidarabine on the plaque formation of herpes simplex virus type 1 and type 2 in Vero cells.

Virus	Drug	Parameters <sup>a</sup>			CI at f(a) of <sup>b</sup>		
		m	$EC_{50}(\mu\text{g/ml})$	r	0.50	0.70	0.90
HSV-1	Quercitrin	0.96	10.32	0.77			
	Acyclovir	0.79	1.58	0.87			
	Vidarabine	1.19	4.60	0.93			
	Quercitrin/Acyclovir(20:1)	1.53	5.81	0.97	0.71(0.81)	0.49(0.53)	0.27(0.28)
	Quercitrin/Vidarabine(4:1)	1.03	4.09	0.98	0.49(0.55)	0.50(0.56)	0.51(0.57)
HSV-2	Quercitrin	0.77	29.74	0.98			
	Acyclovir	1.16	0.25	0.98			
	Vidarabine	1.00	4.17	0.88			
	Quercitrin/Acyclovir(20:1)	1.18	5.19	0.97	1.15(1.32)	1.09(1.20)	1.03(1.09)
	Quercitrin/Vidarabine(4:1)	1.07	21.71	0.86	1.61(2.20)	1.40(1.80)	1.15(1.37)

<sup>a</sup>m is the slope,  $EC_{50}$  is the median effective concentration, and r is the correlation coefficient as determined from the median-effect plot.

<sup>b</sup>CI < 1, synergism; CI > 1, additive effect; CI  $\approx$  1, antagonism. f(a) is a component of the median-effect equation referring to the fraction of the system affected(e.g., 0.5 means the CI at a 50% reduction of activity). CI values were determined under both mutually exclusive and mutually nonexclusive(numbers in parentheses) assumptions.

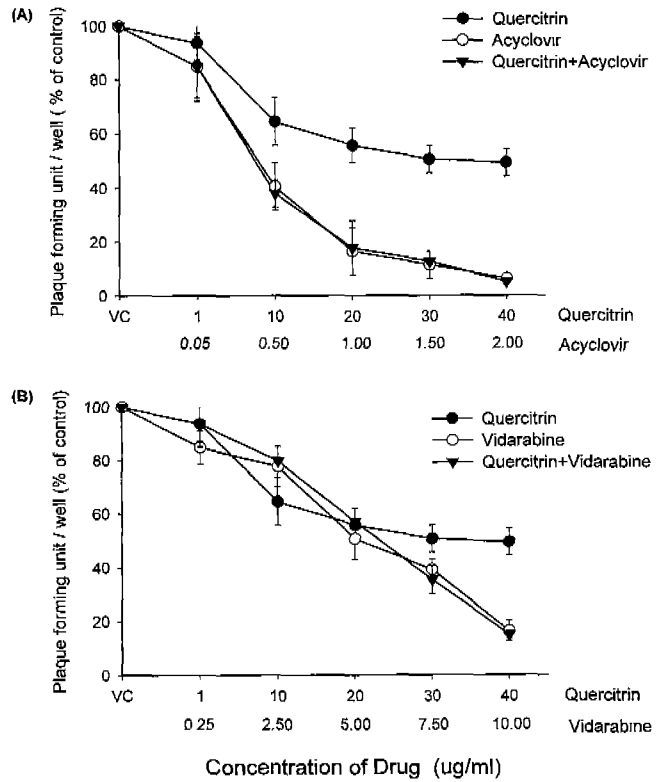


**Fig. 2.** CI values for combinations of quercitrin with acyclovir(A) and vidarabine(B) on herpes simplex virus type 1 corresponding to affected fraction f(a) ranging from 0.05 to 0.95. CI values were calculated under both mutually exclusive (●) and nonexclusive(○) assumptions.

vidarabine과의 병용시 CI value는 유효농도 범위내에서 0.49~0.57을 나타냈다. 즉 quercitrin과 acyclovir 및 vidarabine과의 병용은 모두 상승효과를 나타내었다.

**HSV-2의 quercitrin과 acyclovir 및 vidarabine**

Quercitrin과 acyclovir 및 vidarabine과의 병용시 Vero 세포에서 HSV-2의 plaque 형성에 대한 영향은 Fig. 3과 같다. Quercitrin과 acyclovir 및 vidarabine의 병용시 HSV-1에서보다 낮은 병용효과가 관찰되었다. 단독처리시 quercitrin은 10 µg/ml의 농도에서 35%, acyclovir는 0.50 µg/ml의 농도에서 59%의 plaque형성을 억제하였는 바 두 물질울 병용시에는 plaque형성 억제율이 62%이므로 상승작용이 관찰되지 않았다. Vidarabine과의 병용시에도 상승작용은 관찰되지 않았다. Fig. 3에 나타난 결과를 median-effect equation으로 바꾸어 log[concentration]에 대해 log[(f(a))<sup>-1</sup>-1]의 값을 계산한 결과 median-effect plot으로부터 결정된 parameter를 Table II에 나타내었다. HSV-2에 quercitrin과 acyclovir 및 vidarabine을 병용하였을때 f(a)에 따른 CI value는 quercitrin과 acyclovir와의 병용시



**Fig. 3.** Inhibitory effect of plaque formation of herpes simplex virus type 2 in Vero cells by quercitrin, acyclovir(A) and vidarabine(B) alone, and their combination at a fixed ratio. Results are expressed as percent with respect to virus control (VC) group. Each value is the mean ± S.D. of quadruplicate determinations.

f(a)가 0.50에서 0.90사이인 유효농도 범위내에서 1.03~1.32의 값을 나타냈고, vidarabine과의 병용시 유효농도 범위내에서 1.15~2.20을 나타냈다. 즉, HSV-2에 대한 quercitrin과 acyclovir 및 vidarabine과의 병용은 CI value가 1보다 큰 값을 나타내어 HSV-1에 대한 항바이러스제와의 병용이 HSV-2에 대한 병용보다 더 우수한 것으로 나타났다.

**고 찰**

땅비짜리 *Indigofera kirilowii* Max로부터 추출, 단리한 quercitrin의 항헤피스바이러스 효과를 plaque reduction assay에 따라 측정된 결과 HSV-1에 대한 EC<sub>50</sub>는 20.4 µg/ml였으며 EC<sub>70</sub>, EC<sub>90</sub>는 각각 26.5 µg/ml, 35.5 µg/ml를 나타내었다. HSV-2에 대한 EC<sub>50</sub>는 24.5 µg/ml를, EC<sub>70</sub> 및 EC<sub>90</sub>는 46.7 µg/ml, 63.2 µg/ml를 나타내었으며, 용량의존적으로 plaque형성을 억제하였다. MTT reduction assay에 의한 Vero cell에 대한 quercitrin의 세포독성은 CC<sub>50</sub>가 130.8 µg/ml이며, SI value는 HSV-1에 대해서는 6.4이고 HSV-2에 대해서는 4.3을 나타내었으므로 HSV-1

에 대해 더 우수한 항허피스바이러스효과를 나타내었다. 이러한 결과는 기존의 항바이러스제보다는 낮은 SI value를 나타낸 것으로 flavonoid의 비교적 높은 세포독성에 기인한 것이라 사료된다. 일반적으로 flavonoid는 T lymphocyte를 비롯한 조직배양된 동물세포에 대해 독성을 나타내지만 실제로 *in vivo*에서는 flavonoid가 간에서 대사되어 체내에 축적되지 않으며 rat를 대상으로 한 실험에서 LD<sub>50</sub>는 2~10 g을 나타내며 독성이 미약하다고 보고된 바 있으므로 (Havsteen, 1983) 안전성에 있어서 크게 문제가 되지 않을 것으로 생각된다.

최근 몇종의 항허피스바이러스제가 개발, 임상적으로 사용되면서 허피스바이러스질환의 치료에 획기적인 발전이 있었으나, 현재 면역기능이 저하된 환자에게 항바이러스에 내성인 HSV가 매우 빈번하게 관찰되고 있다(Palmela 등, 1992). 따라서 항바이러스제의 부작용을 최소화하고 내성균주의 발현을 억제하며, 단독투여시보다 상승효과를 얻기 위하여 서로 다른 항바이러스작용 기전을 갖는 약제를 동시 투여하는 병용투여법에 관한 많은 관심이 집중되고 있다.

Quercitrin의 항허피스바이러스기전에 관한 연구로 quercitrin이 cAMP phosphodiesterase를 억제하여 세포내 cAMP의 양을 증가시킴으로써 바이러스를 억제한다고 보고된 바 있으며(Musci와 Pragi, 1985), quercetin에 대한 기전으로는 quercetin이 HSV-1에 대해 virucidal effect를 갖고 있어 항바이러스작용을 나타내는것으로 보고되었으나 (Putzai 등, 1968), quercitrin의 확실한 항바이러스작용 기전은 알려져 있지 않다.

본 연구에서 실시한 quercitrin과 nucleoside계 항허피스 바이러스제인 acyclovir 및 vidarabine과의 병용시험은 acyclovir와 병용시 유효농도범위에서 CI value가 0.27~0.81을, vidarabine과의 병용시 0.49~0.57을 나타내며 약물 단독투여시보다 HSV-1의 증식을 더 강하게 억제하였다. Acyclovir와 flavonoid와의 병용시 상승효과는 세포내에서 바이러스의 DNA polymerase를 억제하여 항바이러스작용을 나타내는 acyclovir와 flavonoid의 작용기전이 서로 상이하기 때문에 상승작용을 나타낸다고 하였다 (Musci 등, 1992). 병용시 HSV-1에 대해서 우수한 상승효과를 나타낸 것은 허피스바이러스의 감수성에 차이가 있음을 시사하는 것이다. Acyclovir 및 vidarabine과의 병용시 상승, 상가, 길항효과를 판정하는 CI value로 나타내었을 때, quercitrin과 acyclovir 및 vidarabine과의 병용은 HSV-1에 대해 유효농도 범위에서 CI value가 1.0보다 작은 값을 나타내었으므로 상승효과가 관찰되었으나 HSV-2에 대해서는 1보다 큰 값을 나타내었다. 그러므로 HSV-1에 대한 quercitrin과 acyclovir 및 vidarabine과의 병용은 HSV-2에 비해 더 우수한 병용효과를 나타내었다.

이상의 연구결과를 종합하여 볼 때 quercitrin은 항허피

스바이러스제로 개발될 가능성을 시사하며, 기항허피스바이러스제와의 병용시 부작용을 최소화하고 내성균주의 발현을 억제하며, 단독투여시보다 상승작용을 얻을 수 있는 병용투여제로 응용될 수 있을 것으로 사료된다.

## 참고문헌

- Beladi, I., Pusztai, R., Mucsi, I., Bakay, M. and Gabor, M. (1997). Activity of some flavonoids against viruses. *Annals New York Academy Sciences* **284**, 358-364.
- Chou, T. C. and Talalay, P. (1984). Quantitative analysis of dose-effect relationships; The Combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. *Adv. Enzyme Regul.* **22**, 27-55.
- Cutting, W. C., Dreisbach, R. H., and Mastushiba, F. (1953). Antiviral Chemotherapy VI, Parenteral and other effects of flavonoids. *Stanford Med. Bull.* **II** (4), 227-229.
- Havsteen, B. (1983). Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem. Pharmacol.* **32**, 1141-1148.
- Langford, M. P. and Weight, D. A. (1981). Virus plaque-reduction assay for Interferon; Microplaque and regular macroplaque reduction assays. In Sidney Pegstka (ed.), Academic Press, New York **78**, 339-346.
- Mindel, A. (1989). The bloomsbury series in clinical science; Herpes simplex virus, 1-4. Great Britain, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg.
- Musci, I. (1984). Combined antiviral effects of flavonoids and 5-ethyl-2'-deoxyuridine on the multiplication of herpesviruses. *Acta Virol.* **28**, 395-400.
- Musci, I. and Pragai, B. M. (1985). Inhibition of virus multiplication and alternation of cyclic AMP level in cell cultures by flavonoids. *Experientia* **41**, 930-931.
- Musci, I., Gyulai, Z. and Beladi, I. (1992). Combined effects of flavonoids and acyclovir against herpesviruses in cell cultures. *Acta Microbiology Hungarica* **39**(2), 137-147.
- Ono, K., Nakane H., Fukushima M., Chermann, J-C. and Barre-sinoussi F. (1990). Differential inhibitory effects of various flavonoids on the activities of reverse transcriptase and cellular DNA and RNA polymerases. *Eur. J. Biochem.* **190**, 269-476.
- Pamela, A. A. and Chartis, S. C. (1992). Resistance of herpesviruses to antiviral drugs. *Antimicrob. Agents chemother.* **36**(8), 1589-1595.
- Pusztai, R., Beladi, I., Bakai, M. and Kukan, E. (1968). Study on the effect of flavonoids and related substances. The effect of quercetin on different viruses. *Acta Microbiologica Academiae Scientiarum Hungaricae* **13**, 113-118.
- Scubiero, D. A., Shoemaker, R. H., Paull, K. D., Tierney, S., Nofziger, T. H., Currens, M. J., Seniff, D. and Boyd, M. R. (1988). Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in cell culture using human and other tumor cell line. *Cancer Res.* **48**, 4827-4833.
- Tachedjian, G., Tyssen, D., Jardine, D., Locarnini, S. and Birch, C. (1992). Synergistic inhibition of human immuno-

- deficiency virus type I *in vitro* by interferon alpha and coumermycin A1. *Antiviral Chem. Chemother.* (3), 183-188.
- Veckenstedt, A., Guttner, J. and Beladi, I. (1987). Synergistic action of quercetin and murine alpha/beta interferon in the treatment of Mengo virus infection in mice. *Antiviral Res.* 7, 169-178.
- Willaman, J. J. (1955). Some biological effects of the flavonoids. *J. Ame. Pharm. Asso.* 44(7), 404-408.