

# 五倍子抑制流感病毒神经氨酸酶活性及活性部位的 UPLC-Q-TOF-MS 分析

杨贤英<sup>1,2</sup>, 李金花<sup>2</sup>, 段宝忠<sup>1\*</sup>, 黄林芳<sup>2\*</sup>

(1. 大理大学 药学与化学学院, 云南 大理 671000;

2. 中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所, 北京 100193)

**[摘要]** **目的:**研究五倍子的流感病毒神经氨酸酶抑制活性,并采用超高效液相色谱串联四级杆飞行时间质谱仪(UPLC-Q-TOF-MS)对其活性部位化学成分进行分析。**方法:**采用神经氨酸酶抑制剂筛选试剂盒检测五倍子乙酸乙酯、乙醇、石油醚及水提取物对流感病毒神经氨酸酶的抑制作用。采用 Acquity UPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱,以 0.1% 甲酸水-甲醇溶液为流动相,梯度洗脱,电喷雾离子源(ESI)负离子模式,扫描抗神经氨酸酶活性较强的乙酸乙酯及乙醇部位并采集数据。**结果:**质量浓度为 75 mg·L<sup>-1</sup>时,五倍子 4 个提取物均显示了一定的神经氨酸酶抑制活性。五倍子的乙酸乙酯、乙醇提取物活性较强,抑制率分别为 69.64%, 78.24%。从 2 个提取物中分析鉴定出 18 个化合物。其中五没食子酰基葡萄糖、鞣花酸、没食子酸显示不同程度的神经氨酸酶抑制活性,半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)分别为 46.15, 143.42, 249.51 μmol·L<sup>-1</sup>。**结论:**该研究表明五倍子具有较强的抑制神经氨酸酶活性,通过 UPLC-Q-TOF-MS 明确了五倍子提取物中 18 个主要成分,为五倍子抗病毒活性研究及其作用机制提供了依据。

**[关键词]** 五倍子; 神经氨酸酶抑制作用; 有效成分; 抗流感; 超高效液相色谱串联四级杆飞行时间质谱仪

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)16-0068-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017160068

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170526.1051.064.html>

**[网络出版时间]** 2017-05-26 10:51

## Anti-influenza Virus Activity of Galla Chinensis Extracts and UPLC-Q-TOF-MS Analysis on Its Effective Part

YANG Xian-ying<sup>1,2</sup>, LI Jin-hua<sup>2</sup>, DUAN Bao-zhong<sup>1\*</sup>, HUANG Lin-fang<sup>2\*</sup>

(1. College of Pharmacy and Chemistry, Dali University, Dali 671000, China;

2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100193, China)

**[Abstract]** **Objective:** The anti-influenza virus activity of Galla Chinensis extracts was evaluated by an influenza virus neuraminidase (NA) inhibition assay. The constituents in the active extract were identified using ultra-high performance liquid coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS) major constituents were used to further evaluate the NA inhibitory activity. **Method:** Using Neuraminidase Inhibitors Screen Kit to screen the four extracts of Galla Chinensis with anti-influenza virus activity. The chromatographic separation was performed on a C<sub>18</sub> column with a gradient elution of methanol-aqueous formic acid 0.1%. The mass spectrometer equipped with electron spray ionization source was used as detector and the data was collected under the negative ion modes. **Result:** The results showed that four extracts of Galla Chinensis both presented NA

**[收稿日期]** 20170108(008)

**[基金项目]** 国家自然科学基金面上项目(81274013,81473315);中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(2016-I2M-3-015)

**[第一作者]** 杨贤英, 硕士, 从事药理学研究, Tel:18608852405, E-mail: 18608852405@139.com

**[通讯作者]** \* 段宝忠, 副教授, 从事生药学研究, Tel: 0872-2257411, E-mail: bzduan@126.com;

\* 黄林芳, 研究员, 从事中药与质量评价研究, Tel:010-57833197, E-mail: lfhuang@implad.ac.cn

inhibition activity. The ethyl acetate extract (EA) and the ethanol extract (E) presented strong. NA inhibitory activity with inhibition ratio of 69.64% and 78.24%, respectively. Eighteen constituents were characterized in these two active extracts by UPLC-Q-TOF-MS analysis, and three constituents (pentagalloyl glucose, ellagic acid, gallic acid) exhibited high activity against the influenza virus,  $IC_{50}$  values of 46.15, 143.42, 249.51  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  respectively. **Conclusion:** *Galla Chinensis* has significant influenza virus neuraminidase inhibitory activity. Eighteen phenolic acids constituents were identified by UPLC-Q-TOF-MS. The results indicate that *Galla Chinensis* contains phenolic acids constituents as inhibitors of NA and provide a basis for anti-Influenza Virus Activity of *Galla Chinensis* study on its mechanism.

[**Key words**] *Galla Chinensis*; neuraminidase inhibition; chemical constituents; anti-influenza activity; UPLC-Q-TOF-MS

五倍子为漆树科植物盐肤木、青麸杨或红麸杨叶上的虫瘿,主要由五倍子蚜寄生而形成。五倍子具有敛肺降火、涩肠止泻、敛汗、止血、收湿敛疮之功效。主治肺虚久咳、肺热痰嗽、久泻久痢、自汗盗汗、消渴、便血痔血、外伤出血、痈肿疮毒、皮肤溃烂<sup>[1]</sup>。现代药理研究表明,五倍子具有抗炎、抗菌、抗病毒、抗肿瘤、抗氧化等药理作用<sup>[2]</sup>。已有相关研究显示五倍子水煎剂具有较强的神经氨酸酶抑制活性<sup>[3]</sup>。神经氨酸酶抑制剂被公认为重要的抗流感病毒药物,广泛用于治疗甲型流感病毒<sup>[4-7]</sup>。中药材抑制流感病毒神经氨酸酶活性相关报道屡见不鲜<sup>[8-17]</sup>。然而,五倍子提取物抑制神经氨酸酶活性及其物质基础仍未见报道。因此,研究五倍子对流感病毒神经氨酸酶抑制活性及其物质基础仍具有重要意义。本实验采用神经氨酸酶抑制剂筛选试剂盒测定五倍子不同提取部位神经氨酸酶抑制活性,采用超高效液相色谱与串联四级杆飞行时间质谱仪联用技术(UPLC-Q-TOF-MS)对其活性部位化学成分进行定性分析并对其主要成分进行神经氨酸酶活性测定。本实验阐明五倍子提取物及主要成分具较强的神经氨酸酶抑制作用,为五倍子抗病毒方面研究提供科学依据,并为五倍子抗流感药物的研发奠定基础。

## 1 材料

Waters ACQUITY 型 UPLC 超高效液相色谱系统(包括二元溶剂系统、自动进样系统和一个光电二极管阵列探测器)和 ACQUITY UPLC H-Class XEVO TQD 型液质联用仪(美国 Waters 公司),WassLynx V4.1 质谱工作站(美国 Waters 公司),POLAR stargalaxy 型微板光学测定仪(德国 BMG 公司)。

乙腈为色谱纯(美国 Fisher 公司),其他试剂均为分析纯(北京化工厂有限公司中国),去离子水自制,Milli-Q 型纯化系统(美国 Millipore 公司)。

角倍于 2011 年 11 月由黄林芳研究员和银福军副研究员采于重庆长寿云集。样品经中国医学科学院药用植物研究鉴定中心林余霖教授鉴定为漆树科植物盐肤木 *Rhus chinensis* 的叶上虫瘿。

没食子酸(批号 MUST-16022801,纯度 > 98%),五没食子酰基葡萄糖(批号 150827,纯度 > 98%),鞣花酸(批号 151106,纯度 > 98%)购于成都曼斯特生物科技有限公司。奥司他韦酸(美国 MCE 公司,批号 GS 4071,纯度 > 98%),亮氨酸脑啡肽(美国 Sigma 公司,批号 H2016-1VL,纯度 > 95%)。

神经氨酸酶抑制剂筛选试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,批号 P0309),包括神经氨酸酶检测缓冲液 10 mL,神经氨酸 1 mL,神经氨酸酶荧光底物 1 mL,纯净水 1.2 mL。

## 2 方法与结果

**2.1 粗提物的提取** 药材样品粉碎成粗粉,取粗粉 500 g,用石油醚浸泡 1 d 后渗滤提取至提取 5 倍药材量,回收石油醚,得石油醚提取物;残渣挥去石油醚,用 80% 乙醇湿润后,再用 3 倍量 80% 乙醇回流提取 2 次,每次 2 h,合并提取液,减压回收乙醇至无醇味,用等体积乙酸乙酯萃取 2 次,合并乙酸乙酯萃取液,回收乙酸乙酯至干,得乙酸乙酯萃取物;母液浓缩至干,得乙醇提取物;残渣挥干乙醇,用 3 倍量的水煎煮 2 次,每次 2 h,合并水煎液,浓缩至干,得水提取物。

**2.2 色谱条件** 采用 Waters ACQUITY UPLC 系统,ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm × 100 mm,1.7  $\mu\text{m}$ )。流动相 0.1% 甲酸水(A)-甲醇(B)梯度洗脱(0~2 min,5% B;2~4 min,5%~10% B;4~7 min,10%~15% B;7~15 min,15%~20% B;15~20 min,20%~30% B;20~22 min,30%~35% B),流速 0.3  $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$  进样量 2  $\mu\text{L}$ ,柱温 15  $^{\circ}\text{C}$ 。

**2.3 质谱条件** 电喷雾离子源(ESI),采用负离

子模式检测。离子源温度 100 ℃,脱溶剂气流量为 800 L·h<sup>-1</sup>,脱溶剂气温调至 450 ℃,锥孔气流量设定 800 L·h<sup>-1</sup>,毛细管电压 3 kV (ESI<sup>+</sup>) 或 2.2 kV (ESI<sup>-</sup>),样品锥孔电压为 35 kV,提取物锥电压 4 kV。扫描范围 *m/z* 100 ~ 1 200。用甲酸钠对质谱仪进行校正,恒流为 5 μL·min<sup>-1</sup>,亮氨酸脑啡肽作为外参。数据采用 MassLynx V4.1 软件处理。

**2.4 供试品溶液的制备** 取五倍子乙酸乙酯、乙醇提取物各 50 mg,精密测定,置于 10 mL 量瓶,甲醇定容,制成 5 g·L<sup>-1</sup>的溶液,进样前用 0.22 μm 的微

孔滤膜过滤,即得。

按 2.2,2.3 项下分析条件进行化学成分的定性分析,根据保留时间、负离子模式的一级质谱分子离子峰可得到相应化合物的相对分子质量,计算出其元素组成。根据所查文献<sup>[19-21]</sup>及 METLIN 数据库结合负离子的二级质谱碎片信息对五倍子乙酸乙酯和乙醇提取物用 UPLC 分离出的 18 个主要峰进行分析,推断出主要成分,结果见表 1。主要以酚酸类化合物为主,如没食子酸、鞣花酸、没食子酸酰基葡萄糖等,五倍子乙酸乙酯、乙醇提取物的离子流图见图 1。

表 1 通过 UPLC-Q/TOF-MS/MS 对五倍子提取物的化学成分鉴定

Table 1 Characterization of chemical compounds of extracts of *Galla Chinensis* by UPLC-Q-TOF-MS/MS in negative mode

峰号	<i>t<sub>R</sub></i> /min	化学式	[M-H] <sup>-</sup> 理论值	[M-H] <sup>-</sup> 测定值	MS/MS 碎片	结构鉴定	提取物	参考文献
1	0.69	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> O <sub>10</sub>	331.066 0	331.081 0	169.035 8, 125.045 1	单没食子酸酯葡萄糖(1GG)	EA, E	[18]
2	0.81	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	169.013 2	169.036 0	125.046 4	没食子酸(GA)	EA, E	[18,20]
3	0.98	C <sub>19</sub> H <sub>26</sub> O <sub>15</sub>	493.132 0	493.125 3	331.081 7, 169.036 8, 125.046 9	没食子酸酰蔗糖	EA, E	[18]
4	3.37	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>5</sub>	183.028 8	183.052 1	169.036 9, 168.029 2, 125.045 5, 124.035 8	没食子酸甲酯	E	[20]
5	3.83	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>14</sub>	483.076 9	483.080 9	331.079 1, 169.036 1, 125.046 5	双没食子酸酰基葡萄糖(2GG)	EA, E	[18]
6	4.39	C <sub>27</sub> H <sub>24</sub> O <sub>18</sub>	635.087 9	635.082 8	483.084 4, 169.035 2, 125.047 1	三没食子酸酰基葡萄糖(3GG)	EA, E	[18]
7	4.86	C <sub>27</sub> H <sub>24</sub> O <sub>18</sub>	635.087 9	635.080 9	483.080 3, 331.076 0, 169.035 9, 125.043 9	三没食子酸酰基葡萄糖同分异构体(3GG isomer)	EA	[18]
8	5.90	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	197.044 5	197.067 3	169.036 5, 125.046 4, 124.039 0	没食子酸乙酯	EA, E	[20]
9	6.62	C <sub>34</sub> H <sub>28</sub> O <sub>22</sub>	787.098 9	787.076 8	635.077 1, 183.051 4, 169.036 3, 125.045 1, 124.039 0	四没食子酸酰基葡萄糖(4GG)	E	[18]
10	7.41	C <sub>34</sub> H <sub>28</sub> O <sub>22</sub>	787.098 9	787.076 8	617.072 5, 183.050 2, 169.035 7, 125.046 0, 124.041 7	四没食子酸酰基葡萄糖同分异构体 I (4GG isomer I)	EA, E	[18]
11	7.66	C <sub>34</sub> H <sub>28</sub> O <sub>22</sub>	787.098 9	787.076 8	617.074 2, 393.204 3, 183.050 3, 169.036 1, 168.028 3, 125.046 9, 124.037 9	四没食子酸酰基葡萄糖同分异构体 II (4GG isomer II)	EA, E	[18]
12	8.76	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>9</sub>	335.039 8	335.055 8	183.051 8, 168.029 2, 124.039 1	methyl digallate	EA, E	[18]
13	9.23	C <sub>41</sub> H <sub>32</sub> O <sub>26</sub>	939.109 8	939.074 7	769.069 6, 469.214 8, 197.066 9, 169.035 7, 125.062 8	五没食子酸酰基葡萄糖(5GG)	EA, E	[19]
14	11.02	C <sub>48</sub> H <sub>36</sub> O <sub>30</sub>	1 091.120 8	1 091.069 7	939.075 2, 769.069 6, 617.081 0, 469.210 7, 197.067 1, 169.036 4, 125.054 6, 124.033 8	六没食子酸酰基葡萄糖(6GG)	EA, E	[19]
15	11.42	C <sub>48</sub> H <sub>36</sub> O <sub>30</sub>	1 091.120 8	1 091.071 3	939.076 0, 769.069 9, 617.084 9, 469.210 5, 197.066 7, 169.036 7, 125.043 2, 124.035 2	六没食子酸酰基葡萄糖同分异构体 I (6GG isomer I)	EA, E	[19]
16	11.99	C <sub>14</sub> H <sub>6</sub> O <sub>8</sub>	300.997 9	300.997 9	229.201	鞣花酸	EA, E	[20]
17	12.34	C <sub>48</sub> H <sub>36</sub> O <sub>30</sub>	1 091.120 8	1 091.069 6	939.073 9, 787.079 3, 469.217 9, 197.067 3, 169.036 7, 125.045 5, 124.036 8	六没食子酸酰基葡萄糖同分异构体 II (6GG isomer II)	EA, E	[19]
18	17.1	C <sub>48</sub> H <sub>346</sub> O <sub>30</sub>	1 091.120 8	1 091.066 2	939.075 1, 787.087 1, 769.067 2, 469.207 9, 349.070 5, 197.066 9, 169.035 2, 125.042 7	六没食子酸酰基葡萄糖同分异构体 III (6GG isomer III)	EA	[19]

注:EA. 乙酸乙酯萃取物;E. 乙醇萃取物。

## 2.5 神经氨酸酶抑制酶反应试验

**2.5.1 酶反应样品的配制** 石油醚、乙酸乙酯、乙醇、水提取物及没食子酸、五没食子酰基葡萄糖、鞣

花酸、奥司他韦酸用 DMSO 溶解配成 2 g·L<sup>-1</sup>的储备液,用时再用 DMSO 稀释成不同质量浓度。

**2.5.2 神经氨酸酶抑制酶反应操作** 按照神经氨

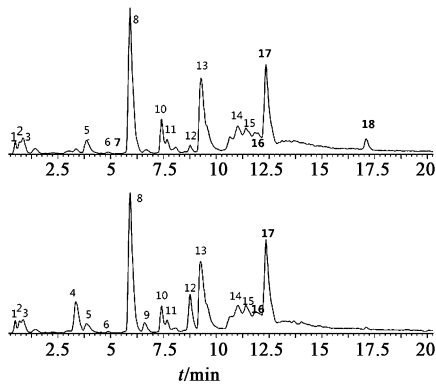


图 1 五倍子乙酸乙酯 (A), 乙醇 (B) 提取物的 UPLC-Q-TOF-MS (ESI<sup>-</sup>) 离子流

Fig.1 Base peak ion chromatograms of ethyl acetate extract and ethanol extracts of Galla Chinensis by UPLC-Q-TOF-MS in negative ion mode

酸酶抑制剂筛选试剂盒使用说明分步进行:在 96 孔荧光酶标板内每孔加入神经氨酸酶检测缓冲液 70  $\mu\text{L}$ ,每孔加入神经氨酸酶 10  $\mu\text{L}$ ,每孔再加入待筛选的神经氨酸酶抑制剂样品 0 ~ 10  $\mu\text{L}$ 。每孔加入纯净水 0 ~ 10  $\mu\text{L}$  使每孔总体积为 90  $\mu\text{L}$ 。振动混匀约 1 min。37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 2 min 使抑制剂和神经氨酸酶充分相互作用,每孔加入神经氨酸酶荧光底物 10  $\mu\text{L}$ 。再振动混匀约 1 min。37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 30 min 后进行荧光测定。激发波长为 322 nm,发射波长为 450 nm。阴性对照为不加神经氨酸酶抑制剂样品,纯净水组为空白组。调零空为未加任何试剂的 96 孔荧光酶标板孔所显示。

$$\text{NA 抑制率} = [1 - (F_s - F_0) / (F_m - F_0)] \times 100\%$$

式中  $F_s$  为样品荧光强度,  $F_m$  为阴性对照荧光强度,  $F_0$  为调零孔荧光强度。

在质量浓度为 75  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,五倍子的 4 个提取部位表现出不同程度的神经氨酸酶抑制活性,从高到低依次为乙醇提取物 (78.24%),乙酸乙酯萃取物 (69.64%),水提取物 (35.11%) 和石油醚提取物 (26.60%),其中乙酸乙酯和乙醇提取物显示较强抑制活性且存在剂量依赖性,乙酸乙酯提取物的半数抑制浓度 ( $\text{IC}_{50}$ ) 为 62.81  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,乙醇提取物的  $\text{IC}_{50}$  为 58.31  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,见表 2。

确定主要成分后,为进一步研究五倍子乙酸乙酯、乙醇提取物中主要成分抑制神经氨酸酶的活性,本研究对其中 3 个主要成分 (没食子酸、鞣花酸及五没食子酸酰基葡萄糖) 进行神经氨酸酶抑制活性的测定。结果显示,3 个成分都具有较强的神经氨酸酶抑制活性且表现出剂量依赖性,见图 2。五没

表 2 五倍子不同提取部位及主要单体化合物神经氨酸酶抑制活性测定

Table 2 NA inhibitory activity of two extracts of Galla Chinensis

组别	抑制率/%	$\text{IC}_{50} / \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$
石油醚	26.60	-
乙醇	78.24	58.31
乙酸乙酯	69.64	62.81
水	35.11	-
奥司他韦酸	75.32	61.67

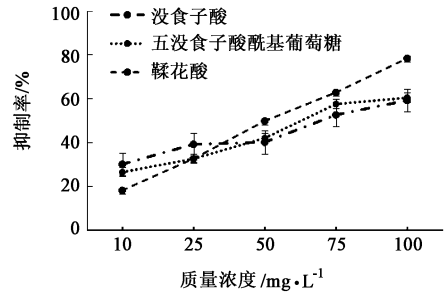


图 2 五倍子 3 个主要成分对流感病毒神经氨酸酶活性抑制作用  
Fig. 2 NA inhibitory activity of 3 major constituents and extracts of Galla Chinensis

食子酰基葡萄糖、鞣花酸、没食子酸对神经氨酸酶的  $\text{IC}_{50}$  分别为 46.15, 143.42, 249.51  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 阳性对照奥司他韦酸的  $\text{IC}_{50}$  为 150.41  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

### 3 讨论

神经氨酸酶是流感病毒外壳的糖蛋白,在病毒表面位点与宿主细胞膜吸附过程中起到至关重要的作用。神经氨酸酶抑制剂将有效地阻断病毒对宿主细胞的侵染。目前,神经氨酸酶抑制剂作为一种重要的抗流感病毒药物。

抗流感中药具有效果良好且毒副作用较小的特点,如鱼腥草、金银花、板蓝根等,其机制一般是通过增强机体免疫或抑制病毒活性发挥抗病毒作用。五倍子载于《本草拾遗》,《开宝本草》,《本草纲目》等论著中。早年,张志军<sup>[21]</sup>对传统药物五倍子抗单纯疱疹病毒 (HSV) 作用进行了研究,研究表明五倍子对 HSV 复发感染有预防性治疗效果。近年来,五倍子相关抗病毒活性已逐渐受到人们的关注。杨寒冰等<sup>[22]</sup>对五倍子提取物进行化合物鉴定和分析,并对其中的化合物 1, 2, 3, 4, 6-penta-O-galloyl- $\beta$ -D-glucose 进行了体外抗 HSV-1, RSV A strain, RSV Long strain 病毒活性测试,研究结果表明该化合物表现出良好的抗病毒活性。王睿睿等<sup>[23]</sup>对药用植物盐肤木抗 HIV-1 活性成分研究发现盐肤木茎提取物有较好的抗 HIV-1 病毒作用,并从中提取化合物

进一步分析其抗 HIV-1 病毒作用及机制。前人的研究表明五倍子具有一定的抗病毒作用,但对五倍子抗流感病毒的研究尚且较少,且通过抑制神经氨酸酶活性实现抗流感作用的研究未见报道。

本研究对五倍子乙酸乙酯、乙醇、石油醚及水提取物进行了抑制流感病毒神经氨酸酶活性筛选,显示较好的抗病毒活性。并对其活性部位用 UPLC-Q-TOF-MS 进行成分分析,分析鉴定出 18 个化学成分,均为酚酸类成分,如没食子酸、五没食子酸酰基葡萄糖、鞣花酸等。这 3 种酚酸类化合物表现出较好的抗病毒活性,其中五没食子酸酰基葡萄糖和鞣花酸对神经氨酸酶的抑制活性均强于奥司他韦酸,IC<sub>50</sub>分别为 46.15,143.42 μmol·L<sup>-1</sup>,而奥司他韦酸的 IC<sub>50</sub>仅 150.41 μmol·L<sup>-1</sup>。说明五倍子提取物含有的酚酸类化合物为抑制神经氨酸酶活性的主要成分,为进一步研究五倍子活性成分奠定基础。作为中国特产的五倍子在抗病毒方面其他物质基础和作用机制方面有待更深入地研究,以利于新药的开发和为临床应用研究提供严严实实的依据。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 67.

[2] 周劲光. 五倍子的药理作用与临床研究进展[J]. 海峡药学, 2010, 22(4): 30-32.

[3] 张波, 周芳亮, 卢芳国, 等. 96 种中药材对流感病毒神经氨酸酶活性的影响[J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(9): 2788-2792.

[4] Gubareva L V, Kaiser L, Hayden F G. Influenza virus neuraminidase inhibitors [J]. Lancet, 2000, 355(9206): 827-835.

[5] Kubo S, Tomozawa T, Kakuta M, et al. Laninamivir prodrug CS-8958, a long-acting neuraminidase inhibitor, shows superior anti-influenza virus activity after a single administration [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2010, 54(3): 1256-1264.

[6] 孙家英. 抗流感病毒神经氨酸酶抑制剂的种类及活性的研究进展[J]. 广东化工, 2015, 42(21): 90-92.

[7] 池絮影, 傅咏梅, 崔曰新, 等. 板蓝根化学成分与抗流感病毒神经氨酸酶活性相关性的探讨[J]. 中草药, 2016, 47(22): 3982-3989.

[8] 陈宝龙, 邓旭, 曾光尧, 等. 神经氨酸酶抑制剂抗流感病毒的研究进展[J]. 中国药学杂志, 2015, 50(1): 7-14.

[9] 史海龙, 李军, 魏敏慧, 等. 传统中药中 H7N9 病毒神

经氨酸酶抑制剂的计算机虚拟筛选[J]. 时珍国医国药, 2016, 27(3): 762-765.

[10] 梁宇楠, 王德传, 王悦畅, 等. 黄酮类神经氨酸酶抑制剂的研究进展[J]. 广东化工, 2016, 43(9): 120-122.

[11] 葛资宇, 童骄, 那婧婧, 等. 不同煎煮方法的麻杏石甘汤及其含药血清对 A 型流感病毒神经氨酸酶活性的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2016, 36(9): 1119-1123.

[12] YANG X Y, LIU A, LIU S, et al. Screening for neuraminidase inhibitory activity in traditional Chinese medicines used to treat influenza[J]. Molecules, 2016, 21(9): 1138-1146.

[13] 杜昕, 宣碧霞, 沈征武. 毛茛子梢中天然高活性的神经氨酸酶抑制成分的研究[J]. 化学学报, 2015, 73(7): 741-748.

[14] 刘舒, 邢俊鹏, 闫峻, 等. 中药黄芩中神经氨酸酶抑制剂的超滤质谱筛选研究[J]. 化学学报, 2011, 69(13): 1570-1574.

[15] 陈考坛. 源于虎杖的 H1N1 流感病毒神经氨酸酶小分子抑制剂一分离鉴定, 结构修饰和生物活性研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2012.

[16] 陈考坛, 周伟玲, 刘嘉伟, 等. 虎杖抗 H1N1 流感病毒神经氨酸酶活性成分研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(20): 3068-3073.

[17] 杨威. 流感病毒神经氨酸酶的检测及人参多糖对其抑制作用的研究[D]. 长春: 东北师范大学, 2012.

[18] HUANG X L, LIU M D, LI J Y, et al. Chemical composition of Galla Chinensis extract and the effect of its main component (s) on the prevention of enamel demineralization in vitro [J]. Int J Oral Sci, 2012, 4(3): 146-151.

[19] Djakpo O. Rhus chinensis and Galla Chinensis- folklore to modern evidence: review [J]. Phytother Res, 2010, 24(12): 1739-1747.

[20] 谷竹义. 五倍子中化合物的分离与鉴定[D]. 沈阳: 辽宁师范大学, 2012.

[21] 张志军. 从传统药物中开发抗病毒药[J]. 国外医学: 中医中药分册, 1999, 21(1): 12-15.

[22] 杨寒冰, 杨文强, 宋敏, 等. 五倍子中酚性化学成分及其抗病毒活性[J]. 中国药科大学学报, 2016, 47(5): 566-569.

[23] 王睿睿, 顾琼, 杨柳萌, 等. 药用植物盐肤木抗 HIV-1 活性成分研究[C]//中华中医药学会. 防治艾滋病分会第六届学术年会论文汇编: 2008. 北京: 中国学术期刊(光盘版)电子杂志社, 2008: 272-280.

[责任编辑 顾雪竹]