基于亲和超滤-液质联用技术的柴胡中神经氨酸酶抑制剂筛选

田振华，马　祯，池冰清，王丙康，李彩玉，周洪雷*
山东中医药大学，山东 济南　250355

摘　要：目的　基于超高效液相色谱-轨道阱高分辨质谱（UPLC-HR-Orbitrap-MS）和亲和超滤技术，筛选柴胡中的神经氨酸酶抑制剂，寻找具有神经氨酸酶抑制活性的单体并进行体外验证。**方法**　建立柴胡提取物的 UPLC-HR-Orbitrap-MS 分析方法，结合亲和超滤实验筛选柴胡中能够与神经氨酸酶特异性结合的活性单体成分，通过质谱解析及对照品验证确定成分，对筛选的活性单体进行体外神经氨酸酶抑制检测，并采用分子对接分析潜在的对接位点。**结果**　在柴胡中共筛选出能够与神经氨酸酶特异性结合的单体化合物 10 个，包括皂苷类、黄酮类和酚酸类，其中 6″-*O*-柴胡皂苷 A 等的神经氨酸酶体外抑制活性为 49.53%～78.07%，分子对接结果与体外神经氨酸酶结果存在差异。**结论**　亲和超滤-液质联用技术能够快速筛选中药中特异性活性成分，为中药活性标志物的发现提供新思路。

关键词：柴胡；超高效液相色谱-轨道阱高分辨质谱；亲和超滤；神经氨酸酶；柴胡皂苷；6″-*O*-柴胡皂苷 A
中图分类号：R284.1　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**0253 - 2670(2025)03 - 0779 - 06
DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.03.005

Screening of neuraminidase inhibitors in *Bupleuri Radix* based on affinity ultrafiltration and LC-MS

TIAN Zhenhua, MA Zhen, CHI Bingqing, WANG Bingkang, LI Caiyu, ZHOU Honglei
Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

Abstract: Objective　Based on ultrahigh performance liquid chromatography Orbitrap high resolution mass spectrometry (UPLC-HR-Orbitrap-MS) and affinity ultrafiltration technology, the monomers with neuraminidase inhibitory activity in *Bupleuri Radix* were screened, and then to verify *in vitro*. **Methods**　The UPLC-HR-Orbitrap-MS analysis method of the extract of *Bupleuri Radix* was established. The active monomers in it which can specifically bind to neuraminidase were screened by affinity ultrafiltration. The components were determined by mass spectrometry and control product verification and the neuraminidase inhibitions of the selected active monomers were detected *in vitro*, and the potential docking sites were analyzed by molecular docking. **Results**　A total of ten monomers, including saponins, flavonoids and phenolic acids, were screened for specific binding to neuraminidase in *Bupleuri Radix*. Among them, the neuraminidase inhibitory activities of 6″-*O*- saikosaponin A and others ranged from 49.53% to 78.07% *in vitro*, and the molecular docking results were different from those of neuraminidase *in vitro*. **Conclusion**　Affinity ultrafiltration-LC-MS can rapidly screen the specific active components in traditional Chinese medicine, which provides a new idea for the discovery of active markers of traditional Chinese medicine.

Key words: *Bupleuri Radix*, UPLC-HR-Orbitrap-MS, affinity ultrafiltration, neuraminidase, saikosaponin; 6″-*O*-saikosaponin A

柴胡为伞形科植物柴胡 *Bupleurem chinense* DC.或狭叶柴胡 *B. scorzonerifolium* Willd.的干燥根，按性状不同，分别习称“北柴胡”和“南柴胡”[1]。柴胡始载于《神农本草经》，归肝、胆经，具有解表退热、疏肝解郁、升举阳气的功效。常用于感冒发热、寒热往来、胸胁胀痛、月经不调、子宫脱垂、脱肛的治疗[2]。柴胡中主要有皂苷、挥发油、多糖、黄酮等多类成分，其中柴胡皂苷为其主要成分[3]。《中

收稿日期：2024-05-06
基金项目：国家自然科学基金面上项目（81774173）；山东省高等学校青创人才引育计划（活性天然产物发现与开发研究团队）；山东省中医药科技发展计划（2019-0019，2019-0021）
作者简介：田振华（1992—），博士研究生，研究方向为中药药效物质基础。Tel: (0531)89628014　E-mail: tianzhenhuatina@163.com
***通信作者：**周洪雷，博士，研究方向为中药药效物质基础。Tel: (0531)89628234　E-mail: zhouhongleitcm@126.com

国药典》2020 年版一部将柴胡皂苷 A 和柴胡皂苷 D 的含量作为柴胡的治疗控制标准。现代药理表明，柴胡具有解热、镇痛、抗炎、神经保护、抗毒素、抗真菌、抗微生物和抗血小板聚集的作用[4]。前期研究表明，柴胡具有较好的体外神经氨酸酶抑制活性[5]。

神经氨酸酶（neuraminidase，NA）是流感病毒表面的一种包膜糖蛋白，与流感病毒的复制和传播密切相关[6]。神经氨酸酶抑制剂的设计和开发可以同时治疗甲型和乙型流感，这使得神经氨酸酶成为抗流感药物研究的理想靶点[7]。目前，神经氨酸酶抑制剂广泛用于治疗流感[8]。然而，这些药物的疗效随着暴露的增加而下降，同时合成的神经氨酸酶抑制剂会产生恶心、呕吐、腹泻、腹痛等不良反应[9]。因此，从天然产物，特别是植物中筛选神经氨酸酶抑制剂越来越受到国内外研究人员的关注。

亲和超滤-液质联用技术是一种成熟的高通量筛选方法，用于鉴定复杂天然产物中的特定目标化合物。亲和超滤-液质联用技术利用小分子药物配体和靶点之间特异性结合的特性，将药物提取物和酶共孵育后，去除未与酶结合的化合物，并用特定溶剂从蛋白上解离收集具有亲和活性的组分，然后通过 LC-MS 分析获得的化合物。与传统的分离鉴定方法相比，该技术具有操作简单、靶向性强、样本量小等优点[10]。

目前，有关柴胡解表退热物质基础的研究较少，通过亲和超滤-液质联用技术寻找能够与神经氨酸酶特异性结合的小分子，适用于传统中药复杂体系活性成分的筛选。本研究中，通过液质联用和亲和超滤技术筛选柴胡中具有神经氨酸酶抑制活性的单体化合物，共筛选出化合物 10 个，包括柴胡皂苷 A、柴胡皂苷 D、异鼠李素、阿魏酸等柴胡皂苷类以及黄酮类和酚酸类化合物，体外活性验证结果表明 6″-*O*-柴胡皂苷 A 和柴胡皂苷 E 具有较高的神经氨酸酶抑制活性，为进一步研究其活性机制，采用分子对接模拟单体化合物与神经氨酸酶的对接情况，以期发现柴胡抗流感可能的药效成分，为阐明柴胡解表退热功效的物质基础具有重要意义。

1　仪器与材料

1.1　试剂与药材

对照品柴胡皂苷 A（批号 PCS0202）、柴胡皂苷 D（批号 PCS0206）、柴胡皂苷 C（批号 PCS0205）、柴胡皂苷 F（批号 PCS1168）、柴胡皂苷 E（批号 PCS1532）、6″-*O*-乙酰基柴胡皂苷 A（批号 PCS3089）、咖啡酸（批号 PCS0557）均购自成都植标化纯生物技术有限公司，阿魏酸（批号 H27J7L16718）、异鼠李素（批号 D24GB172444）和神经氨酸酶（梭酶，10 U，货号 A22GS146231）购自上海源叶生物科技有限公司；奥司他韦（批号 HY-13318）由 MedChemExpress 公司提供；色谱级甲醇（批号 211769）由赛默飞公司提供，分析级甲醇（批号 20220824）购自中国国药集团化学试剂有限公司。

柴胡药材（批号 2112300202）购自亳州市沪谯药业有限公司，由山东中医药大学刘红燕教授鉴定为柴胡 *B. chinense* DC.的干燥根。

1.2　仪器与设备

Q-Exactive Orbitrap-MS 液质联用仪（美国赛默飞公司），KQ-250E 型超声清洗器（昆山市超声仪器有限公司），CPA 2250 十万分之一电子天平（德国 Sartorius AG），Cytation 5 全波长酶标仪（美国 BioTek）。

2　方法

2.1　样品制备

精密称取柴胡药材 10 g，加 10 倍量甲醇超声提取 2 次，合并滤液，旋蒸后蒸干。精密称取蒸干的柴胡粗体物 50 mg，甲醇溶解，配制得到质量浓度为 50 mg/mL 的溶液，4 ℃备用。

2.2　亲和超滤

将 10 U 神经氨酸酶溶解至 2 mL 的缓冲液中，配制得到浓度为 5 U/mL 的 NA 溶液。吸取柴胡提取样品 60 μL 与 5 U/mL NA 缓冲液 60 μL，混合 30 s，置孵育箱反应 30 min 后，转移至截留相对分子质量为 1×10^5 的 YM-100 型超滤管中，离心（13 000×*g*、15 min），超滤管加缓冲液 100 μL 离心清洗 3 次，洗去未结合成分，再向滤膜中加入甲醇 200 μL，静置 15 min 后离心（13 000×*g*、10 min），释放结合的配体成分，重复 3 次，收集洗脱液，氮吹后加 200 μL 甲醇-水（50∶50）溶解，用于 LC-MS 分析。阴性对照组以缓冲液代替神经氨酸酶溶液。

2.3　LC-MS 分析

2.3.1　液相色谱条件　色谱柱：Waters ACQUITY UPLC HSS T3（100 mm×2.1 mm，1.8 μm），流动相 A 为 0.05 %甲酸-水溶液，B 为 0.05%甲酸-乙腈，0～2 min，100%A；2～20 min，40%～60%B；40～40.1 min，60%～100%B；40.1～43 min，100%B。柱温 30 ℃，体积流量 0.3 mL/min，进样量 10 μL。

2.3.2 质谱系统 电喷雾离子源（ESI），扫描范围 *m/z* 80～1 200，采样速率 2 spectra/s，干燥气（N_2）体积流量 10 L/min，干燥气温度 350 ℃，毛细管电压 4 kV，喷雾器压力 0.28 MPa，碎裂电压 175 V，正、负离子模式。

2.4 体外神经氨酸酶活性研究

根据神经氨酸酶抑制剂筛选试剂盒操作步骤，在 96 孔荧光酶标板内每孔加入 70 μL 神经氨酸酶检测缓冲液，样品组加入 10 μL 神经氨酸酶和 10 μL 样品，对照组加入 10 μL 神经氨酸酶和 10 μL Milli-Q 水，空白组加入 20 μL Milli-Q 水，使每孔总体积为 90 μL。振动混匀约 1 min，37 ℃孵育 2 min 使抑制剂和神经氨酸酶充分相互作用。每孔加入 10 μL 神经氨酸酶荧光底物，振动混匀约 1 min，37 ℃孵育 20 min 后进行荧光测定。激发波长为 322 nm，发射波长为 450 nm。以奥司他韦为阳性对照组，样品及阳性对照浓度均为 20 μmol/L，每组实验重复 3 次。抑制率按以下公式计算。

$$抑制率=(C-S)/(C-C_0)$$

C 和 S 分别代表对照组和样品组的荧光吸收，C_0 代表空白荧光吸收。

2.5 分子对接

分子对接以探索分子-酶复合物的结合能，并鉴定潜在的神经氨酸酶抑制成分。从 PDB 数据库下载神经氨酸酶靶蛋白（PDB:3TI6）的 3D 结构（http://www.wwpdb.org/），保存为.pdb 格式，在 TCMSP 数据库中搜索活性成分的 3D 结构，并将其保存为.pdb 格式。将通过除水除配体预处理后的 NA 蛋白结构和活性成分导入 AutoDock Tools 进行分子对接。结果文件通过 Open Babel GUI 软件转换为.pdb 格式，分子对接可视化分析通过 PyMOL 软件进行。根据结果文件中配体和受体的结合能和结合位点判断结合活性和可能性。

3 结果

3.1 亲和超滤样品解析

柴胡药材液质联用分析总离子流图见图 1，亲和超滤与神经氨酸酶特异性结合的化合物液质分析总离子流结果如图 2 所示。基于课题组前期液质分析、提取分离数据等文献资料建立柴胡化合物成分数据库，进一步通过与对照品保留时间、二级质谱碎片离子等信息，解析柴胡中的化学成分[11]，共鉴定出能够与神经氨酸酶特异性结合的单体化合物 10 个，鉴定结果见表 1。包括皂苷类 6 个：柴胡皂苷 C、柴胡皂苷 F、柴胡皂苷 A、柴胡皂苷 E、6″-*O*-乙酰基柴胡皂苷 A 和柴胡皂苷 D；酚酸类成分 2 个：咖啡酸和阿魏酸；黄酮类成分 2 个：芹菜素和异鼠李素。

3.2 体外神经氨酸酶抑制活性结果

神经氨酸酶体外抑制活性结果如表 2 所示。其

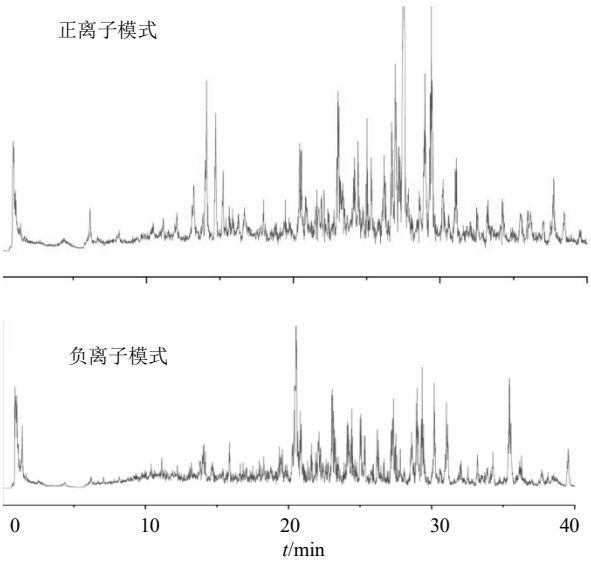
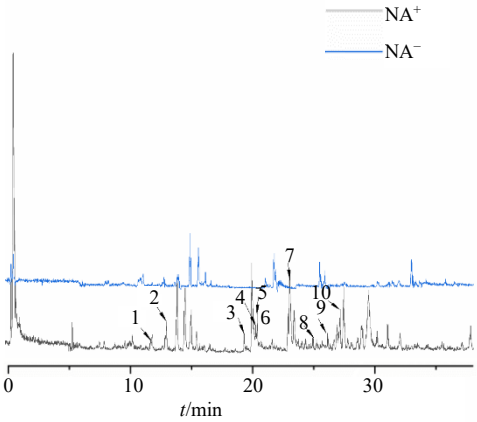


图 1 柴胡药材提取物总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatogram of *Bupleuri Radix* extract



1-咖啡酸；2-阿魏酸；3-芹菜素；4-异鼠李素；5-柴胡皂苷 C；6-柴胡皂苷 F；7-柴胡皂苷 A；8-柴胡皂苷 E；9-6″-*O*-乙酰基柴胡皂苷 A；10-柴胡皂苷 D。

1-caffeic acid; 2-ferulic acid; 3-apigenin; 4-isorhamnetin; 5-saikosaponin C; 6- saikosaponin F; 7-saikosaponin A; 8-saikosaponin E; 9-6″-*O*-acetylsaikosaponin A; 10- saikosaponin D.

图 2 正离子模式下柴胡与神经氨酸酶特异性结合化合物总离子流图（NA^+）和阴性对照总离子流图（NA^-）

Fig. 2 Total ion chromatogram of *Bupleuri Radix* and neuraminidase-specific binding compound (NA^+) in positive ion mode and negative control (NA^-)

表 1　柴胡单体化合物 UPLC-HR-Orbitrap-MS 质谱数据

Table 1　Mass spectrometric data of monomeric components from *Bupleuri Radix* though UPLC-HR-Orbitrap-MS

编号	t_R/min	化合物	模式	分子式	理论值 (*m*/*z*)	实测值 (*m*/*z*)	误差 ($\times10^{-6}$)	二级碎片
1	12.97	咖啡酸	M－H	$C_9H_8O_4$	179.033 9	179.033 6	−1.593	179.033 6, 164.010 3, 135.043 7
2	13.29	阿魏酸	M＋H	$C_{10}H_{10}O_4$	195.065 2	195.064 9	−1.463	195.064 9, 177.054 5, 163.038 8, 149.059 8, 134.036 2, 117.033 7, 89.039 1
3	19.72	芹菜素	M－H	$C_{15}H_{10}O_5$	269.044 4	269.045 5	3.903	269.045 5, 225.054 3, 201.054 9, 117.032 9
4	20.41	异鼠李素	M－H	$C_{16}H_{12}O_7$	315.049 9	315.050 9	3.177	315.050 9, 300.027 4, 151.002 3
5	20.49	柴胡皂苷 C	M＋H	$C_{48}H_{78}O_{17}$	927.531 2	439.355 9	−2.566	439.355 9, 421.346 2, 403.337 4, 309.118 8
6	20.89	柴胡皂苷 F	M＋H	$C_{48}H_{80}O_{17}$	929.546 8	423.362 6	1.175	423.362 6, 309.116 7, 255.085 5, 215.179 4
7	23.18	柴胡皂苷 A	M＋H	$C_{42}H_{68}O_{13}$	781.473 3	455.351 0	−2.046	455.351 0, 437.341 2
8	25.37	柴胡皂苷 E	M－H	$C_{42}H_{68}O_{12}$	765.478 4	439.357 4	0.689	439.357 4, 421.345 6, 403.337 4, 187.148 3, 145.101 3
9	26.35	6″-*O*-乙酰基柴胡皂苷 A	M＋H	$C_{44}H_{70}O_{14}$	823.483 9	455.349 4	−5.582	455.349 4, 437.341 9, 419.331 0, 361.286 8, 205.070 7
10	27.31	柴胡皂苷 D	M＋H	$C_{42}H_{68}O_{13}$	781.473 3	455.351 2	−1.695	455.351 2, 437.340 2, 425.342 7, 407.329 9

表 2　柴胡提取物及单体神经氨酸酶抑制活性

Table 2　Neuraminidase inhibitory activity of *Bupleuri Radix* extracts and monomers

样品	抑制率/%
柴胡皂苷 A	49.53
柴胡皂苷 C	55.17
柴胡皂苷 D	65.15
柴胡皂苷 E	69.04
柴胡皂苷 F	61.75
咖啡酸	58.69
6″-*O*-乙酰基柴胡皂苷 A	78.07
芹菜素	62.81
阿魏酸	57.16
异鼠李素	54.80
柴胡提取物（50 mg/mL）	43.33
奥司他韦	68.62

表 3　分子对接结果

Table 3　Molecular docking results

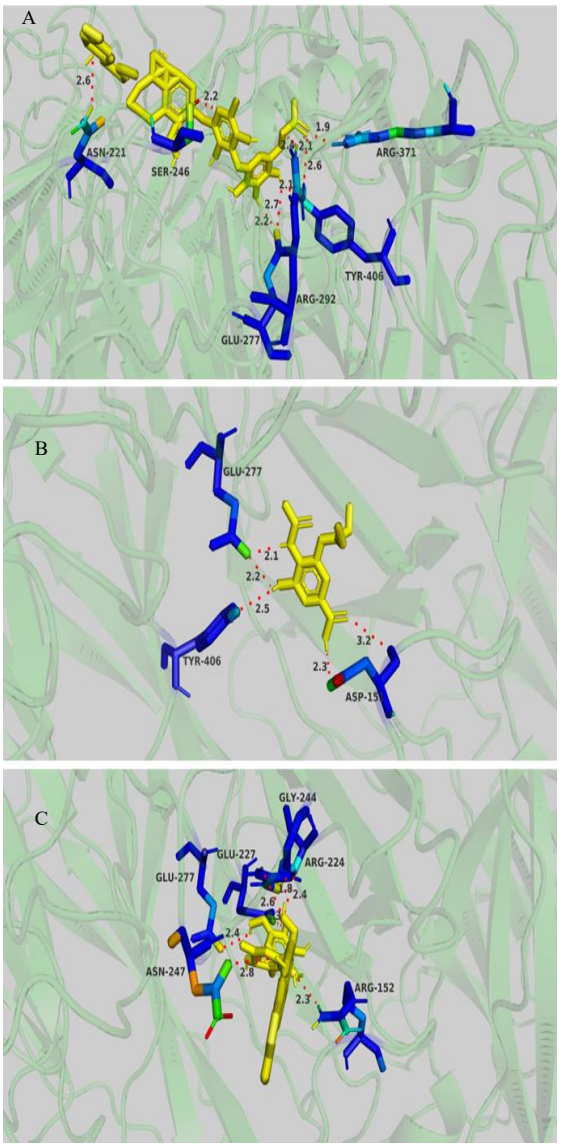
样品名称	全对接结合能/ (kJ·mol^{-1})	靶点对接结合能/ (kJ·mol^{-1})
柴胡皂苷 A	−35.15	−49.29
柴胡皂苷 D	−37.91	−38.70
柴胡皂苷 C	−65.73	−55.40
柴胡皂苷 E	−46.53	−45.48
柴胡皂苷 F	−40.54	−40.21
6″-*O*-乙酰基柴胡皂苷 A	−39.54	−41.84
阿魏酸	−27.82	−20.13
咖啡酸	−22.59	−14.81
芹菜素	−25.86	−21.80
异鼠李素	−24.69	−20.71
奥司他韦	−26.23	−24.73

中阳性对照药物奥司他韦抑制率为 68.62%，柴胡皂苷 A 抑制率最低仅为 49.53%，6″-*O*-乙酰基柴胡皂苷 A 抑制率最高，达到 78.07%。

3.3　分子对接结果

分子对接是用于预测受体-配体复合物结合的模拟计算机程序，同时也可以用于预测受体-配体的结合位点[12]。分子对接结果如表 3 所示，分子对接的结合能负值越大其结合能力越强。样品和阳性对照品的结合能为−65.73～−22.59 kJ/mol，其中柴胡皂苷 C 结合能负值最大，咖啡酸的结合能负值最小，阳性药奥司他韦结合能为−26.23 kJ/mol。该结果与体外神经氨酸酶的抑制活性存在差异，为进一步表征样品与神经氨酸酶的结合方式，参考文献研究的神经氨酸酶活性位点[13]，将其设为模拟对接的分子

口袋。单体化合物与特定对接位点结合能见表 3，其中结合能最大的化合物依然为柴胡皂苷 C，最小的化合物为咖啡酸。部分化合物的结合能发生变化，柴胡皂苷 A 结合能显著提高。部分单体成分与神经氨酸酶结合位点见图 3。



A-6″-*O*-乙酰基柴胡皂苷 A；B-奥司他韦；C-柴胡皂苷 A。
A-6"-*O*-acetylsaikosaponin A; B-oseltamivir; C-saikosaponin A.

图 3 部分单体化合物与神经氨酸酶分子对接图

Fig. 3 Molecular docking of some monomer compounds with neuraminidase

4 讨论

亲和超滤技术作为一种基于受体-配体相互作用研究的通用方法，在中药活性成分筛选过程中发挥着越来越重要的作用[14]，目前已经应用于虎杖[15]、刺五加[16]、黄芩[17]等药材活性成分的筛选。课题组前期研究表明，基于亲和超滤技术能够对中药提取物中的神经氨酸酶抑制剂进行筛选，且单体化合物具有较好的神经氨酸酶抑制活性[18]。为进一步筛选柴胡中的神经氨酸酶抑制剂，本实验通过亲和超滤-液质联用技术对柴胡的中药提取物进行表征，解析其成分并进一步通过对照品验证，共筛选出 10 个能够与神经氨酸酶特异性结合的成分，包括柴胡中的特征性成分柴胡皂苷 A、柴胡皂苷 D 等 6 种柴胡皂苷，黄酮类成分异鼠李素和芹菜素及酚酸类成分咖啡酸和阿魏酸。进一步对柴胡提取物及柴胡中单体进行神经氨酸酶体外抑制实验，结果表明筛选出的化合物均具有神经氨酸酶抑制活性，其中 6″-*O*-乙酰柴胡皂苷的抑制率最高，柴胡皂苷 A 抑制率最低。亲和超滤技术筛选出的化合物为能够与酶特异性结合成分，化合物与酶结合过程中，可能会提高酶活、抑制酶活，也可能对酶活无明显作用。为进一步研究化合物结合位点，采用分子对接进行探讨，结果表明不论是对整个神经氨酸酶分子的全对接还是特定靶点的靶向对接，结果都与活性结果不完全对应。分子对接结果表明，两种对接方式中柴胡皂苷类成分具有较低的结合能，均小于−35 kJ/mol，酚酸和黄酮类成分的结合能都偏大。体外抑制活性结果表明，柴胡皂苷 E 和 6″-*O*-乙酰基柴胡皂苷 A 活性高于阳性药，芹菜素作为黄酮类成分抑制活性能达到 62.81%。这种分子对接的结果与体外实验的结果不完全一致可能的原因是，在分子对接过程中，所有可能的分子空间结构都会被模拟，但并非所有可能的空间结构都能稳定存在[19]。

中药具有多成分、多靶点以及协同发挥药理作用的特点[20]，本研究通过亲和超滤-液质联用技术比较柴胡亲和超滤前后发生变化的成分，筛选并鉴定出能够与神经氨酸酶发生特异性结合的单体 10 个；进一步体外研究表明 6″-*O*-乙酰基柴胡皂苷 A 及柴胡皂苷 E 具有显著神经氨酸酶抑制活性；结合分子对接技术，探讨其潜在作用靶点。本研究提供了一种快速有效的从中药中筛选活性成分的策略，对中药药效物质基础的阐明具有中药意义。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 293.
[2] 颜美玲, 杨柳, 侯阿娇, 等. 柴胡化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中医药信息, 2018, 35(5): 103-109.

[3] 王梦迪, 靳光乾. 柴胡中药资源研究进展 [J]. 山东农林科技, 2019, 3: 107-114.

[4] Liu J L, Fang Y, Yang L, *et al*. A qualitative, and quantitative determination and pharmacokinetic study of four polyacetylenes from *Radix Bupleuri* by UPLC-PDA-MS [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2015, 111: 257-265.

[5] 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.

[6] Air G M. Influenza neuraminidase [J]. *Influenza Other Respir Viruses*, 2012, 6(4): 245-256.

[7] Jiang Y L, Xu Z J, Cao Y F, *et al*. HPLC fingerprinting-based multivariate analysis of chemical components in *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg: Correlation to their antioxidant and neuraminidase inhibition activities [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2021, 205: 114314.

[8] Yang X Y, Liu A L, Liu S J, *et al*. Screening for neuraminidase inhibitory activity in traditional Chinese medicines used to treat influenza [J]. *Molecules*, 2016, 21(9): 1138.

[9] Park S, Kim N, Nhiem N X, *et al*. Neuraminidase inhibitors from the roots of *Caragana sinica* [J]. *Chem Biodivers*, 2020, 17(11): e2000470.

[10] Huang Q Y, Tang J Y, Chai X X, *et al*. Affinity ultrafiltration and UPLC-HR-Orbitrap-MS based screening of thrombin-targeted small molecules with anticoagulation activity from *Poecilobdella manillensis* [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2021, 1178: 122822.

[11] 刘月程, 田振华. 超高效液相色谱-四极杆静电场轨道阱质谱法快速鉴定柴胡化学成分 [J]. 化学分析计量, 2022, 3(18): 5-12.

[12] Dias R, de Azevedo W F Jr. Molecular docking algorithms [J]. *Curr Drug Targets*, 2008, 9(12): 1040-1047.

[13] Vavricka C J, Li Q, Wu Y, *et al*. Structural and functional analysis of laninamivir and its octanoate prodrug reveals group specific mechanisms for influenza NA inhibition [J]. *PLoS Pathog*, 2011, 7(10): e1002249.

[14] 杨丽, 赵伯原, 李春龙, 等. 亲和超滤-液质联用技术在药用植物活性成分筛选中的应用研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(8): 196-208.

[15] 杨冬, 刘舒, 宋凤瑞, 等. 虎杖和大黄中 α-葡萄萄糖苷抑制剂的超滤质朴研究 [J]. 分析化学, 2014, 42(4): 552-558.

[16] Zhou H, Xing J P, Liu S, *et al*. Screening and determination for potential α-glucosidase inhibitors from leaves of *Acanthopanax senticosus* harms by using UF-LC/MS and ESI-MS(n) [J]. *Phytochem Anal*, 2012, 23(4): 315-323.

[17] Wang J, Liu S, Li S N, *et al*. Ultrafiltration LC-PDA-ESI/MS combined with reverse phase-medium pressure liquid chromatography for screening and isolation potential α-glucosidase inhibitors from *Scutellaria baicalensis* Georgi [J]. *Anal Methods*, 2014, 6(15): 5918.

[18] Tian Z H, Sun L P, Chi B Q, *et al*. Affinity ultrafiltration and UPLC-HR-Orbitrap-MS based screening of neuraminidase inhibitors from *Angelica pubescens* [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2022, 1208: 123398.

[19] Yu P F, Chen Z S, Liu Y C, *et al*. Bioactivity-guided separation of anti-cholinesterase alkaloids from *Uncaria rhynchophlly* (Miq.) Miq. ex havil based on HSCCC coupled with molecular docking [J]. *Molecules*, 2022, 27(6): 2013.

[20] 周慧, 王义民, 郑重, 等. 亲和超滤质谱技术在中药活性成分筛选中的研究进展 [J]. 质谱学报, 2018, 39(6): 641-652.

[责任编辑 王文倩]