

基于UPLC-Q-Orbitrap HRMS技术的龙眼叶降血糖有效部位化学成分分析

黄光强¹, 梁洁^{1*}, 韦金玉¹, 黄冬芳¹, 林婧¹, 陈晓思¹, 柳贤福^{2*}

(1. 广西中医药大学 广西壮瑶药工程技术研究中心, 南宁 530200;

2. 广西中医药大学 赛恩斯新医药学院, 南宁 530222)

[摘要] 目的:为明确龙眼叶的降血糖物质基础,采用超高效液相色谱-四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱法(UPLC-Q-Orbitrap HRMS)对龙眼叶有效部位的化学成分进行快速分析和鉴定。方法:采用Thermo Hypersil GOLD C₁₈色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.9 μm),流动相0.1%甲酸乙腈溶液-0.1%甲酸水溶液(含10 mmol乙酸铵)梯度洗脱,通过正、负离子模式进行扫描,扫描范围 m/z 100~1 500。结果:利用目标化合物的二级碎片离子信息与数据库及相关文献报道的化合物质谱信息进行比对,从乙醇部位中共鉴定出了9个化合物(木犀草苷、山柰酚、槲皮苷、木犀草素、莽草酸、柠檬酸、腺苷、烟酰胺和L-酪氨酸),乙酸乙酯部位中共鉴定出了11个化合物(木犀草苷、槲皮苷、山柰酚、木犀草素、莽草酸、没食子酸、原儿茶酸、腺苷、烟酰胺、东莨菪内酯和L-苯丙氨酸),正丁醇部位共鉴定出了10个化合物(木犀草苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷、山柰酚、紫云英苷、木犀草素、柠檬酸、没食子酸、腺苷、烟酰胺和5-羟甲基糠醛),其中这3个活性部位的共有成分有5个(木犀草苷、山柰酚、木犀草素、腺苷和烟酰胺)。结论:建立的UPLC-Q-Orbitrap HRMS可快速鉴定龙眼叶中3个降血糖有效部位的化学成分。龙眼叶降血糖部位的主要化学成分为黄酮及其苷类、有机酸类和含氮类化合物。

[关键词] 龙眼叶; 降血糖; 物质基础; 乙酸乙酯部位; 正丁醇部位; 乙醇部位

[中图分类号] R22;R28;R977.1+5;O657 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)06-0127-12

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20201752

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200610.1649.006.html>

[网络出版日期] 2020-6-11 10:32

Analysis and Identification of Chemical Constituents in Hypoglycemic Effective Fractions of Longan Folium Based on UPLC-Q-Orbitrap HRMS

HUANG Guang-qiang¹, LIANG Jie^{1*}, WEI Jin-yu¹, HUANG Dong-fang¹, LIN Jing¹,
CHEN Xiao-si¹, LIU Xian-fu^{2*}

(1. Guangxi Zhuang Yao Medicine Engineering Technology Research Center,

Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China;

2. Faculty of Chinese Medicine Science, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530222, China)

[Abstract] **Objective:** Chemical constituents in hypoglycemic effective fractions of Longan Folium were isolated and identified by ultra performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry (UPLC-Q-Orbitrap HRMS) to clarify the hypoglycemic substance basis of Longan Folium. **Method:** Chemical constituents in hypoglycemic effective fractions of Longan Folium were

[收稿日期] 20200416(009)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81560691);广西高等学校高水平创新团队及卓越学者计划项目(桂教师范[2019]52号);广西高等学校千名中青年骨干教师培育计划(桂教人[2019]5号);中药学广西一流学科建设项目(桂教科研[2018]12号);第八批广西壮族自治区特聘专家项目(桂人才通字[2019]13号)

[第一作者] 黄光强,在读硕士,从事中药民族药质量分析研究,E-mail:443773694@qq.com

[通信作者] *梁洁,博士,教授,从事中药药效物质基础与质量控制研究,Tel:0771-4953513,E-mail:liangjie1101@126.com;

*柳贤福,硕士,高级实验师,从事中药民族药质量分析研究,Tel:0771-4736466,E-mail:176336350@qq.com

isolated on a Thermo Hypersil GOLD C₁₈ column (2.1 mm×100 mm, 1.9 μm), the mobile phase was 0.1% formic acid acetonitrile solution and 0.1% formic acid solution (containing and 10 mmol ammonium acetate) for gradient elution. HRMS was operated in the positive and negative ion modes with the scanning range of *m/z* 100-1 500. **Result:** The secondary fragment ion information of target compounds was selected and compared with the compounds reported in the databases and related literature to further confirm these compounds. Nine compounds were identified in the ethanol fraction of Longan Folium, including cynaroside, kaempferol, quercitrin, luteolin, shikimic acid, citric acid, *L*-tyrosine, adenosine and nicotinamide. A total of 11 compounds were determined in the ethyl acetate fraction (cynaroside, quercitrin, kaempferol, luteolin, shikimic acid, gallic acid, protocatechuic acid, adenosine, nicotinamide, *L*-phenylalanine and scopoletin), and 10 compounds were identified in the *n*-butanol fraction (cynaroside, kaempferol-3-*O*-rutinoside, kaempferol, astragalol, luteolin, citric acid, gallic acid, adenosine, nicotinamide and 5-hydroxymethylfurfural). And five common compounds were identified in these three hypoglycemic effective fractions. **Conclusion:** The established UPLC-Q-Orbitrap HRMS can quickly identify chemical constituents in three hypoglycemic effective fractions of Longan Folium, their main chemical constituents are flavonoids and their glycosides, organic acids and nitrogen-containing compounds, which provides technical support and scientific evidence for the study on pharmacodynamic material basis and quality control of Longan Folium.

[**Key words**] Longan Folium; hypoglycemic; material basis; ethyl acetate fraction; *n*-butanol fraction; ethanol fraction

龙眼叶味甘淡、性平,具有发表清热、解毒、燥湿等功效^[1],最早收载于《滇南本草图说》,广泛分布在我国福建、广西等地^[2]。现代研究表明龙眼叶具有降血糖、抗氧化和抗肾结石等药理活性^[3-5]。本课题组前期采用高糖高脂饮食联合注射链脲佐菌素(STZ)制备2型糖尿病小鼠模型,发现龙眼叶的乙醇部位、乙酸乙酯部位及正丁醇部位显示出了一定的降血糖活性,其中乙酸乙酯部位降血糖活性最强^[6],但这3个部位中的化学成分并不十分明确。

查阅国内外文献发现,目前对于龙眼叶活性部位化学成分研究的报道较少。仅有本课题组前期从龙眼叶乙酸乙酯部位和石油醚部位中分离得到了4个黄酮类成分,3个醇类,2个有机酸及胡萝卜苷、没食子酸乙酯共11个化合物^[7]。然而,对于前期筛选出的具有降血糖活性的乙醇部位和正丁醇部位中的化学成分分析并无相关报道。

采用传统的柱色谱法进行化学成分分析时,耗时且单体化合物不易分离与鉴定,存在一定的局限性。超高效液相色谱-四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱法(UPLC-Q-Orbitrap HRMS)技术可以快速得到样品的一级、二级及多级碎片离子信息,最终得到准确质量数和准确离子碎片信息^[8]。该技术具有快速、准确、高选择性等特点,现已逐渐成为中药及其复方体系成分分析的重要方法^[9]。

因此,为进一步明确龙眼叶有效部位的化学成

分,本实验采用UPLC-Q-Orbitrap HRMS技术对其化学成分进行快速分析,以期对龙眼叶药效物质基础及质量控制研究提供实验依据。

1 材料

U3000型超高效液相色谱仪,Q-Exactive型质谱仪及TraceFinder数据分析系统(美国Thermo Fisher公司),Milli-Q Synergy型超纯水仪(美国Millipore公司),XS205DU型1/10万电子分析天平(瑞士Mettler-Toledo公司),5430R型离心机(艾本德中国有限公司)。

龙眼叶于2019年11月采自广西贺州市,经广西中医药大学滕建北教授鉴定为无患子科植物龙眼 *Dimocarpus longan* 的叶;水为超纯水,甲酸、甲醇、乙腈、乙酸铵为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 色谱条件 Thermo Hypersil GOLD C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.9 μm),流速0.3 mL·min⁻¹,进样量1 μL,柱温35 °C,流动相0.1%甲酸乙腈溶液(A)-0.1%甲酸水溶液(含10 mmol乙酸铵)(B)梯度洗脱(0~2 min, 5%A; 2~42 min, 5%~95%A; 42~47 min, 95%A; 47~50 min, 95%~5%A)。

2.2 质谱条件 采用加热电喷雾离子源(HESI),选择正、负离子模式同时检测,离子源的喷雾电压分别为3.5, 3.2 kV;雾化气为氮气(N₂),碰撞气为高纯N₂,鞘气体积流量30 μL·min⁻¹,辅助气流量设定

10 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$, 辅助气温度 300 $^{\circ}\text{C}$, 离子传输管温度 320 $^{\circ}\text{C}$ 。扫描方式为全扫描/数据依赖二级扫描 (Full MS/dd-MS²), 一级分辨率 7 万, 二级分辨率设定 17 500, 扫描范围 m/z 100~1 500。

2.3 供试品溶液的制备

2.3.1 乙醇部位 龙眼叶药材洗净烘干后粉碎成粗粉, 精密称取 2.0 g, 依次用 95% 乙醇和 50% 乙醇 25 mL 超声 (频率 50 kHz, 功率 250 W, 温度 25 $^{\circ}\text{C}$) 提取 1 h, 合并提取液, 过滤, 将所得滤液放入旋转蒸发仪中, 回收乙醇至无醇味后, 将所得滤液放入蒸发皿中蒸干, 残渣用甲醇 1 mL 复溶至离心管中, 室温下静置澄清后, 取上清液适量, 经 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 置于样品瓶中, 即得乙醇部位。

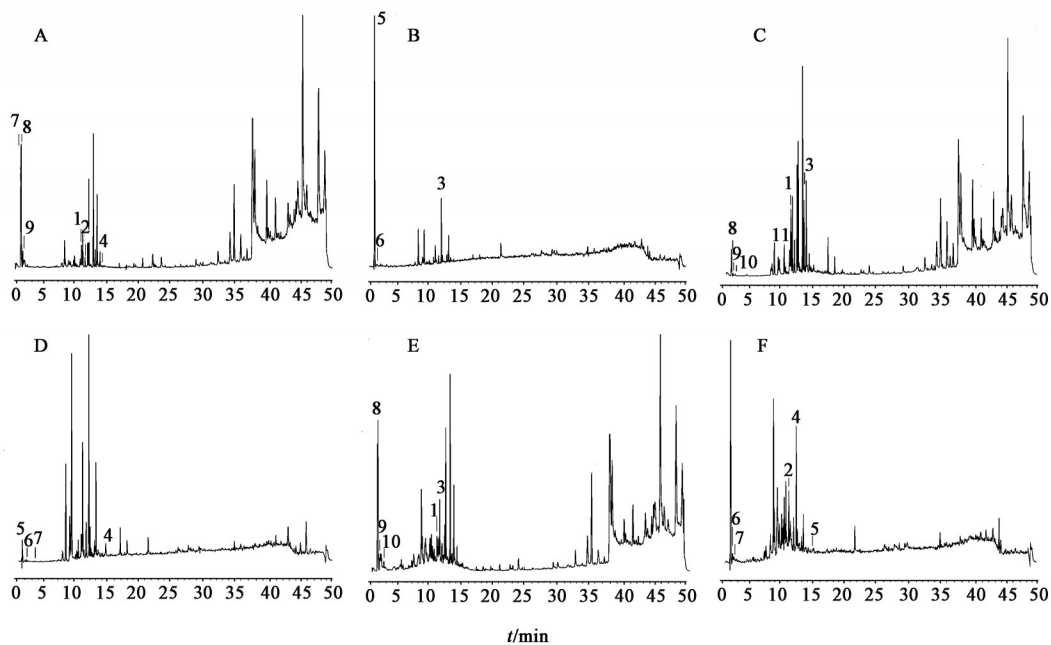
2.3.2 乙酸乙酯部位和正丁醇部位 称取龙眼叶药材 10 g, 按 2.3.1 项下方法得到乙醇部位。将乙醇部位加适量水悬浮, 依次用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取 3 次, 过滤, 将所得滤液放入旋转蒸发仪中蒸发适量试剂后, 放入蒸发皿中蒸干, 残渣使用甲

醇 1 mL 复溶至离心管中, 室温下静置澄清后, 取上清液适量, 经 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 置于样品瓶中, 即得石油醚、乙酸乙酯部位和正丁醇部位。取乙酸乙酯部位和正丁醇部位进样分析。

2.4 数据处理 利用 TraceFinder 数据分析系统拟合得到分子式和一级质谱的精确相对分子质量, 将所得结果与仪器现有数据库进行比对, 对各色谱峰的进行初步推测。利用目标化合物的一级碎片离子和二级碎片离子信息与国内外参考文献, ChemSpider 及 MassBank 等数据库提供的质谱信息进行比对, 进一步推测和鉴定未知化学成分。

3 结果

在正、负离子检测模式下, 得龙眼叶各部位的总离子流图, 见图 1。结果从乙醇部位中鉴定出 9 个化合物, 乙酸乙酯部位中鉴定出 11 个化合物, 正丁醇部位中鉴定出 10 个化合物, 其中三者共有成分有 5 个, 鉴定出的化学成分主要为黄酮类、有机酸类和含氮类化合物, 相关信息见表 1~3。



A, C, E. 正离子模式; B, D, F. 负离子模式; A, B. 乙醇部位; C, D. 乙酸乙酯部位; E, F. 正丁醇部位

图 1 龙眼叶有效部位的总离子流

Fig. 1 Total ion chromatograms of effective fractions of Longan Folium

3.1 黄酮及其苷类化合物的鉴定 黄酮类化合物是指含有 C6-C3-C6 母核的一类有机化合物。质谱裂解规律主要是失去 C 环中的羰基 CO, CO₂, 中性水分子 H₂O 及侧链取代基, 易发生逆狄尔斯-阿尔德 (RDA) 裂解^[28-29]。以乙醇部位中的峰 2 为例, 在正离子模式下的准分子离子峰为 m/z 287.054 8 [M+H]⁺, 准分子离子峰发生裂解, 首先失去 1 个中性 CO

分子, 再先后分别失去 C₆H₆O 碎片基团和 1 个中性 H₂O 分子, 并分别得到碎片离子 m/z 165.018 5 [M+H-CO-C₆H₆O]⁺ 和 m/z 241.050 5 [M+H-CO-H₂O]⁺。同时, 准分子离子峰先后失去 C₄H₄O₄ 的碎片基团和 1 个中性 H₂O 分子, 产生 m/z 153.018 4 [M+H-C₄H₄O₄-H₂O]⁺ 的碎片离子。随后, m/z 153.018 4 碎片离子继续裂解, 失去 CH₃O 的碎片基团, 产生 m/z

表1 龙眼叶乙醇部位中化学成分的UPLC-Q-Orbitrap HRMS鉴定

Table 1 Identification of chemical constituents in ethanol fraction of Longan Folium by UPLC-Q-Orbitrap HRMS

分类	峰号	t_R /min	加荷方 式	m/z		δ /ppm	分子式	主要碎片离子	化合物
				理论值	实测值				
黄酮 及黄酮 苷类	1	10.48	[M+H] ⁺	449.107 8	449.107 4	-0.9	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	287.054 7 [M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺ , 153.018 3 [M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ - C ₈ H ₆ O ₂] ⁺ , 135.044 1 [M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₈ H ₆ O ₂ -H ₂ O] ⁺	木犀草苷 ^[10]
	2	11.00	[M+H] ⁺	287.055 0	287.054 8	-0.7	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	241.050 5 [M+H-CO-H ₂ O] ⁺ , 165.018 5 [M+H-CO- C ₆ H ₆ O] ⁺ , 153.018 4 [M+H-C ₄ H ₄ O ₄ -H ₂ O] ⁺ , 121.028 7 [M+H- C ₄ H ₄ O ₄ -H ₂ O-CH ₄ O] ⁺	山柰酚 ^[11]
	3	11.42	[M-H] ⁻	447.093 3	447.093 7	0.9	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	301.035 6 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₄] ⁻ , 300.027 6 [M-H-C ₆ H ₁₁ O ₄] ⁻ , 榭皮苷 ^[12] 255.030 0 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₄ -CO-H ₂ O] ⁻ , 271.024 8 [M-H- C ₆ H ₁₀ O ₄ -2H-CO] ⁻ , 163.004 0 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₄ -CO-C ₆ H ₆ O ₂] ⁻ , 151.003 9 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₄ -C ₇ H ₆ O ₂ -CO] ⁻ , 121.029 7 [M-H- C ₆ H ₁₀ O ₄ -C ₆ H ₄ O ₃ -2CO] ⁻	
	4	14.15	[M+H] ⁺	287.055 0	287.054 9	-0.3	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	269.045 4 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 153.018 4 [M+H-C ₈ H ₆ O ₂] ⁺ , 木犀草素 ^[13] 135.043 7 [M+H-C ₇ H ₄ O ₄] ⁺	
有机 酸类	5	0.89	[M-H] ⁻	173.045 6	173.045 4	-1.0	C ₇ H ₁₀ O ₅	137.024 4 [M-H-2H ₂ O] ⁻ , 111.045 2 [M-H-H ₂ O-CO ₂] ⁻ , 莽草酸 ^[14] 93.034 5 [M-H-2H ₂ O-CO ₂] ⁻	
	6	0.92	[M-H] ⁻	191.019 7	191.019 7	-0.1	C ₆ H ₈ O ₇	173.009 1 [M-H-H ₂ O] ⁻ , 129.019 4 [M-H-H ₂ O-CO ₂] ⁻ , 柠檬酸 ^[15] 111.008 8 [M-H-H ₂ O-CO ₂ -H ₂ O] ⁻ , 102.948 8 [M-H-2CO ₂] ⁻ , 87.008 7 [M-H-H ₂ O-CO ₂ -C ₂ H ₂ O] ⁻	
含氮 类物质	7	0.90	[M+H] ⁺	182.081 2	182.081 3	0.5	C ₉ H ₁₁ NO ₃	136.075 7 [M+H-HCOOH] ⁺ , 119.049 3 [M+H-HCOOH- NH ₃] ⁺ , 91.054 7 [M+H-C ₂ H ₅ NO ₃] ⁺	L-酪氨酸 ^[16]
	8	0.90	[M+H] ⁺	268.104 0	268.103 9	-0.7	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	136.061 8 [M+H-C ₅ H ₈ O ₄] ⁺ , 119.035 4 [M+H-C ₅ H ₈ O ₄ -NH ₃] ⁺	腺苷 ^[17]
	9	0.97	[M+H] ⁺	123.055 3	123.055 5	2.0	C ₆ H ₆ N ₂ O	96.044 9 [M+H-CHN] ⁺ , 95.049 6 [M+H-CO] ⁺ , 80.050 1 烟酰胺 ^[18] [M+H-CONH] ⁺ , 78.034 5 [M+H-NH ₃ -CO] ⁺	

表2 龙眼叶乙酸乙酯部位化学成分的UPLC-Q-Orbitrap HRMS鉴定

Table 2 Identification of chemical constituents in ethyl acetate fraction of Longan Folium by UPLC-Q-Orbitrap HRMS

分类	峰号	t_R /min	加荷方 式	m/z		δ /ppm	分子式	主要碎片离子	化合物
				理论值	实测值				
黄酮 及黄酮 苷类	1	10.49	[M+H] ⁺	449.107 8	449.107 7	-0.3	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	287.054 9 [M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺ , 153.018 4 [M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ - C ₈ H ₆ O ₂] ⁺ , 135.044 5 [M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₈ H ₆ O ₂ -H ₂ O] ⁺	木犀草苷 ^[10]
	2	11.39	[M-H] ⁻	447.093 3	447.093 7	0.8	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	300.027 7 [M-H-C ₆ H ₁₁ O ₄] ⁻ , 151.003 7 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₄ - C ₇ H ₆ O ₂ -CO] ⁻ , 121.029 5 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₄ -C ₆ H ₄ O ₃ -2CO] ⁻	榭皮苷 ^[12]
	3	12.54	[M+H] ⁺	287.055 0	287.054 9	-0.4	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	213.054 7 [M+H-CO-H ₂ O-CO] ⁺ , 165.018 4 [M+H- CO-C ₆ H ₆ O] ⁺ , 153.018 3 [M+H-C ₄ H ₄ O ₄ -H ₂ O] ⁺ , 121.028 7 [M+H-C ₄ H ₄ O ₄ -H ₂ O-CH ₄ O] ⁺	山柰酚 ^[11]
	4	14.10	[M-H] ⁻	285.040 7	285.040 6	0.6	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	201.019 6 [M-H-3CO] ⁻ , 151.003 7 [M-H-C ₈ H ₆ O ₂] ⁻ , 木犀草素 ^[19] 133.029 4 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄] ⁻ , 107.013 9 [M-H-C ₈ H ₆ O ₂ - CO ₂] ⁻	
有机 酸类	5	0.90	[M-H] ⁻	173.045 6	173.045 4	-0.7	C ₇ H ₁₀ O ₅	155.035 4 [M-H-H ₂ O] ⁻ , 137.024 5 [M-H-2H ₂ O] ⁻ , 莽草酸 ^[14] 111.045 3 [M-H-H ₂ O-CO ₂] ⁻ , 93.034 6 [M-H-2H ₂ O- CO ₂] ⁻ , 83.050 2 [M-H-H ₂ O-CO ₂ -CO] ⁻	
	6	1.53	[M-H] ⁻	169.014 3	169.014 2	-0.3	C ₇ H ₆ O ₅	125.024 5 [M-H-CO ₂] ⁻ , 97.029 6 [M-H-CO ₂ -CO] ⁻ , 没食子酸 ^[20] 79.019 0 [M-H-CO ₂ -CO-H ₂ O] ⁻ , 69.034 6 [M-H-CO ₂ - 2CO] ⁻	
	7	2.84	[M-H] ⁻	153.019 3	153.019 4	0.3	C ₇ H ₆ O ₄	109.029 5 [M-H-CO ₂] ⁻ , 81.034 9 [M-H-CO ₂ -CO] ⁻	原儿茶酸 ^[21]
含氮 类物质	8	0.92	[M+H] ⁺	268.104 0	268.103 9	-0.6	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	136.061 8 [M+H-C ₅ H ₈ O ₄] ⁺ , 119.035 4 [M+H-C ₅ H ₈ O ₄ - NH ₃] ⁺	腺苷 ^[17]
	9	0.95	[M+H] ⁺	123.055 3	123.055 5	2.0	C ₆ H ₆ N ₂ O	106.028 9 [M+H-NH ₃] ⁺ , 96.044 9 [M+H-CHN] ⁺ , 烟酰胺 ^[18] 80.050 1 [M+H-CONH] ⁺	
	10	1.85	[M+H] ⁺	166.086 3	166.086 4	0.5	C ₉ H ₁₁ NO ₂	131.049 3 [M+H-H ₂ O-NH ₃] ⁺ , 103.054 7 [M+H- HCOOH-NH ₃] ⁺ , 120.081 1 [M+H-HCOOH] ⁺	L-苯丙氨酸 ^[16,22]
香豆 素类	11	9.32	[M+H] ⁺	193.049 5	193.049 6	0.5	C ₁₀ H ₈ O ₄	178.026 2 [M+H-CH ₃] ⁺ , 149.059 7 [M+H-CO ₂] ⁺ , 东莨菪内酯 ^[23] 137.059 9 [M+H-2CO] ⁺ , 133.028 5 [M+H-CH ₃ OH-CO] ⁺	

表 3 龙眼叶正丁醇部位化学成分的 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 鉴定

Table 3 Identification of chemical constituents in *n*-butanol fraction of Longan Folium by UPLC-Q-Orbitrap HRMS

分类	峰号	t_R /min	加荷方式	m/z		δ /ppm	分子式	主要碎片离子	化合物
				理论值	实测值				
黄酮及黄酮苷类	1	10.50	[M+H] ⁺	449.107 8	449.107 8	0	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	287.054 8 [M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺ , 179.033 7 [M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₇ H ₈ O] ⁺ , 135.044 1 [M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₈ H ₆ O ₂ -H ₂ O] ⁺	木犀草苷 ^[10]
	2	10.59	[M-H] ⁻	593.152 2	593.152 1	1.5	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	285.040 5 [M-H-C ₁₂ H ₂₀ O ₉] ⁻ , 284.033 0 [M-H-C ₁₂ H ₂₁ O ₉] ⁻ , 255.030 5 [M-H-C ₁₂ H ₂₀ O ₉ -CO-2H] ⁻ , 227.035 5 [M-H-O-芸香糖苷 ^[24] C ₁₂ H ₂₀ O ₉ -CO-2H-CO] ⁻ , 151.004 0 [M-H-C ₁₂ H ₂₀ O ₉ -C ₈ H ₆ O ₂] ⁻	山柰酚-3- <i>O</i> -芸香糖苷 ^[24]
	3	10.98	[M+H] ⁺	287.055 0	287.054 9	-0.4	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	241.049 6 [M+H-CO-H ₂ O] ⁺ , 213.0546 [M+H-CO-H ₂ O-CO] ⁺ , 165.018 3 [M+H-CO-C ₆ H ₆ O] ⁺ , 153.018 3 [M+H-C ₄ H ₄ O ₄ -H ₂ O] ⁺ , 121.028 6 [M+H-C ₄ H ₄ O ₄ -H ₂ O-CH ₄ O] ⁺	山柰酚 ^[11]
	4	11.43	[M-H] ⁻	447.093 3	447.093 7	1.0	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	285.060 4 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 284.032 7 [M-H-C ₆ H ₁₁ O ₅] ⁻ , 256.038 7 [M-H-C ₆ H ₁₁ O ₅ -CO] ⁻ , 255.030 3 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -CO-2H] ⁻ , 227.035 3 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -CO-2H-CO] ⁻ , 151.004 3 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₈ H ₆ O ₂] ⁻	紫云英苷 ^[25-26]
	5	14.09	[M-H] ⁻	285.040 5	285.040 6	0.5	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	201.019 6 [M-H-3CO] ⁻ , 175.040 0 [MH-CO-C ₄ H ₂ O ₂] ⁻ , 151.003 5 [M-H-C ₈ H ₆ O ₂] ⁻ , 133.029 5 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄] ⁻ , 107.014 0 [M-H-C ₈ H ₆ O ₂ -CO ₂] ⁻	木犀草素 ^[19]
有机酸	6	0.93	[M-H] ⁻	191.019 7	191.019 7	0.0	C ₆ H ₈ O ₇	129.019 3 [M-H-H ₂ O-CO ₂] ⁻ , 111.008 8 [M-H-H ₂ O-CO ₂ -H ₂ O] ⁻ , 102.948 8 [M-H-2CO ₂] ⁻ , 87.008 1 [M-H-H ₂ O-CO ₂ -C ₂ H ₂ O] ⁻	柠檬酸 ^[15]
	7	1.51	[M-H] ⁻	169.014 3	169.014 2	-0.2	C ₇ H ₆ O ₅	125.024 4 [M-H-CO ₂] ⁻ , 107.013 8 [M-H-CO ₂ -H ₂ O] ⁻ , 97.013 8 [M-H-CO ₂ -CO] ⁻ , 69.034 7 [M-H-CO ₂ -2CO] ⁻	没食子酸 ^[20]
含氮类物质	8	0.91	[M+H] ⁺	268.104 0	268.104 1	0.1	C ₁₀ H ₁₃ N ₃ O ₄	136.061 9 [M+H-C ₅ H ₈ O ₄] ⁺ , 119.035 4 [M+H-C ₅ H ₈ O ₄ -NH ₃] ⁺	腺苷 ^[17]
	9	0.94	[M+H] ⁺	123.055 3	123.055 6	2.2	C ₆ H ₆ N ₂ O	106.029 3 [M+H-NH ₃] ⁺ , 96.044 9 [M+H-CHN] ⁺ , 95.049 2 [M+H-CO] ⁺ , 80.050 1 [M+H-CONH] ⁺ , 78.034 7 [M+H-NH ₃ -CO] ⁺	烟酰胺 ^[18]
醛类	10	1.86	[M+H] ⁺	127.039 0	127.039 2	2.0	C ₆ H ₆ O ₃	109.028 9 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 81.034 0 [M+H-H ₂ O-CO] ⁺ , 53.039 3 [M+H-H ₂ O-2CO] ⁺	5-羟甲基糠醛 ^[27]

121.028 7 [M+H-C₄H₄O₄-H₂O-CH₄O]⁺的碎片离子。中的峰 2 为山柰酚,并推测其可能的裂解路径结合文献[11]报道的质谱碎片信息,推测乙醇部位见图 2。

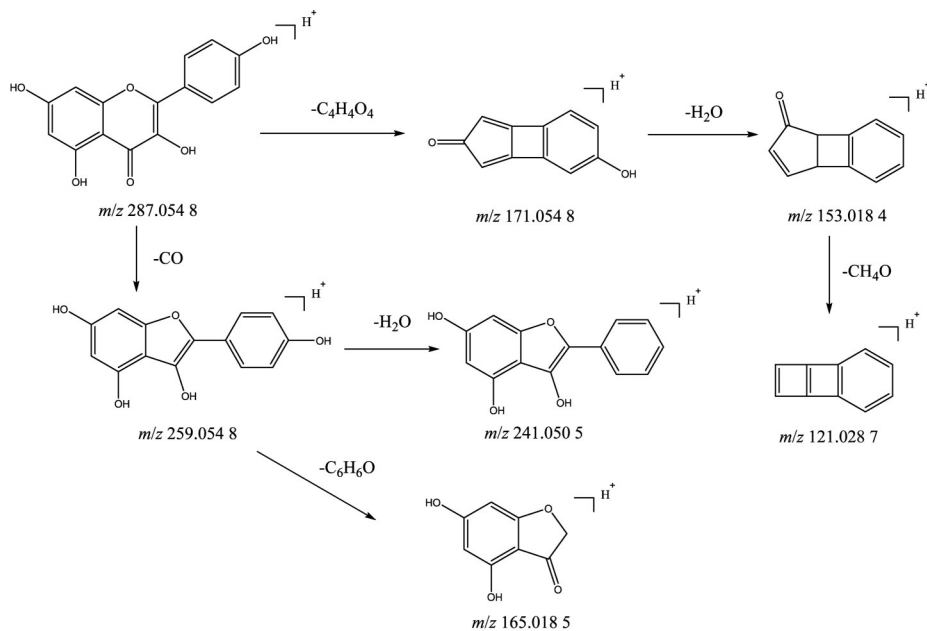


图 2 山柰酚可能的裂解路径

Fig. 2 Possible fragmentation pathways of kaempferol

乙酸乙酯部位中的峰4在负离子模式下的准分子离子峰为 m/z 285.040 6 $[M-H]^-$, 其发生裂解后失去3个中性CO分子, 得 m/z 201.019 6 $[M-H-3CO]^-$ 的碎片离子; 此外, 该准分子离子峰易发生RDA裂解, 分别失去 $C_7H_4O_4$ 和 $C_8H_6O_2$ 的碎片基团后

得到 m/z 133.029 4 $[M-H-C_7H_4O_4]^-$ 和 m/z 151.003 7 $[M-H-C_8H_6O_2]^-$ 。随后, m/z 151.003 7 继续裂解失去1个 CO_2 分子, 得到 m/z 107.013 9 $[M-H-C_8H_6O_2-CO_2]^-$ 的碎片离子, 由此推测乙酸乙酯部位中的峰4为木犀草素^[19], 并推测其可能的裂解路径见图3。

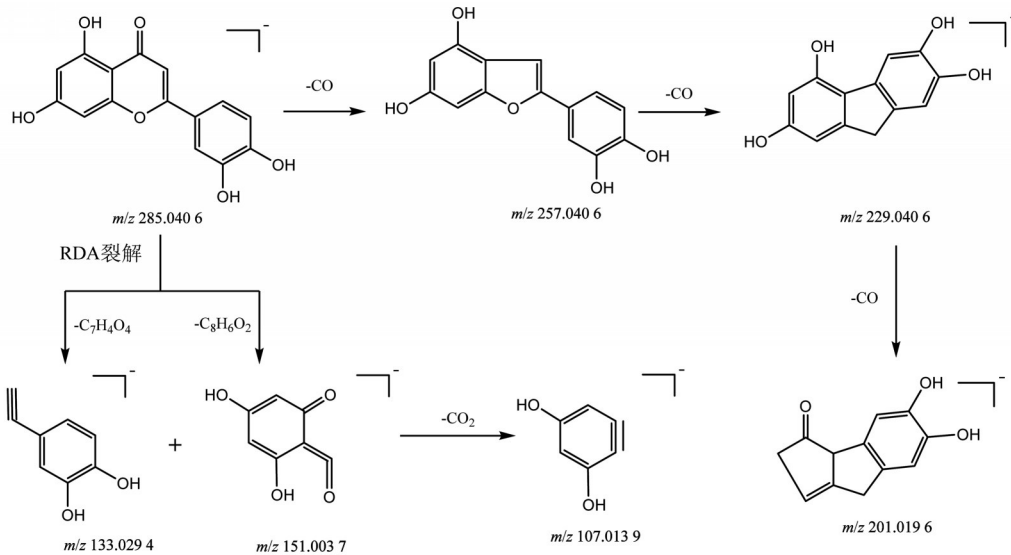


图3 木犀草素可能的裂解路径

Fig. 3 Possible fragmentation pathways of luteolin

按上述黄酮类成分的质谱裂解规律, 推测乙醇部位中的峰4和正丁醇中的峰5为木犀草素, 乙酸乙酯和正丁醇部位中的峰3为山柰酚。自然界中的黄酮类成分大多以黄酮苷形式存在。黄酮苷类成分的裂解主要以糖苷键的断裂为主, 随后失去糖基碎片^[30]。以乙醇部位中的峰3为例, 在负离子模式下的准分子离子峰为 m/z 447.093 7 $[M-H]^-$, 该准分子离子峰发生裂解, 分别失去1个鼠李糖基 $C_6H_{10}O_4$ 和 $C_6H_{11}O_4$ 的碎片基团, 分别得到 m/z 301.035 6 $[M-H-C_6H_{10}O_4]^-$ 和 m/z 300.027 6 $[M-H-C_6H_{11}O_4]^-$ 的碎片离子。随后, m/z 301.035 6 的碎片离子继续裂解, 先后失去1个中性CO分子后, 再先后分别失去1个中性 H_2O 分子和1个 $C_6H_6O_2$ 的碎片基团, 并分别得到 m/z 255.030 0 $[M-H-C_6H_{10}O_4-CO-H_2O]^-$ 和 m/z 163.004 0 $[M-H-C_6H_{10}O_4-CO-C_6H_6O_2]^-$ 的碎片离子。同时, 得到的 m/z 301.035 6 碎片离子也可先脱去2个H原子, 然后再失去1个CO分子, 产生 m/z 271.024 8 $[M-H-C_6H_{10}O_4-2H-CO]^-$ 的碎片离子。此外, m/z 301.035 6 碎片离子也可先后失去 $C_6H_4O_3$ 和2个CO中性分子, 得到 m/z 121.029 7 $[M-H-C_6H_{10}O_4-C_6H_4O_3-2CO]^-$ 的碎片离子。准分子离子也可发生RDA裂解, 首先失去 $C_7H_6O_2$ 的碎片基团后, 再失去1个CO中性分子, 得

到 m/z 151.003 9 $[M-H-C_6H_{10}O_4-C_7H_6O_2-CO]^-$ 的碎片离子。根据参考文献报道的质谱信息^[12], 推测乙醇部位中的峰3为槲皮苷, 其可能的裂解路径见图4。

乙酸乙酯部位中的峰1在正离子模式下的准分子离子峰为 m/z 449.107 7 $[M+H]^+$, 该准分子离子峰发生裂解, 糖苷键断裂, 失去 $C_6H_{10}O_5$ 葡萄糖基碎片, 产生 m/z 287.054 9 $[M+H-C_6H_{10}O_5]^+$ 的碎片离子。随后, m/z 287.054 9 的碎片离子继续发生RDA裂解, 失去 $C_8H_6O_2$ 的碎片基团, 产生 m/z 153.018 4 $[M+H-C_6H_{10}O_5-C_8H_6O_2]^+$ 的碎片离子。随后, 得到的 m/z 153.018 4 碎片离子还能继续裂解, 失去1个中性 H_2O 分子, 同时产生 m/z 135.044 5 $[M+H-C_6H_{10}O_5-C_8H_6O_2-H_2O]^+$ 的碎片离子, 结合参考文献^[10], 推测乙酸乙酯部位中的峰1为木犀草苷。正丁醇部位中的峰4在负离子模式下的准分子离子峰为 m/z 447.093 7 $[M-H]^-$, 该准分子离子峰发生裂解, 分别失去 $C_6H_{10}O_5$ 和 $C_6H_{11}O_5$ 的碎片基团, 并分别得到 m/z 285.060 4 $[M-H-C_6H_{10}O_5]^-$ 和 m/z 284.032 7 $[M-H-C_6H_{11}O_5]^-$ 的碎片离子。随后, m/z 284.032 7 的碎片离子继续裂解, 失去1个中性CO分子, 产生 m/z 256.038 7 $[M-H-C_6H_{11}O_5-CO]^-$ 的碎片离子。同时, 所得 m/z 285.060 4 的碎片离子也能继续裂解,

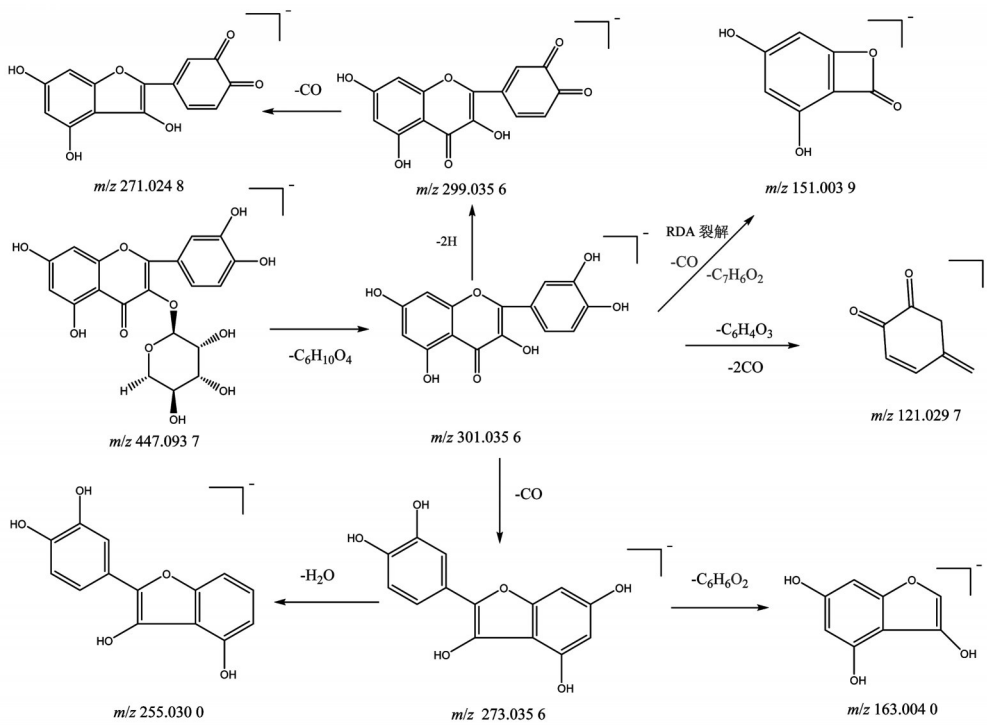


图4 槲皮苷可能的裂解路径

Fig. 4 Possible fragmentation pathways of quercitrin

失去1个中性CO分子后重排失去2个H原子,产生 m/z 255.0303 $[M-H-C_6H_{10}O_5-CO-2H]^-$ 的碎片离子。最后,得到的 m/z 255.0303 碎片离子继续裂解,失去1个中性CO分子,产生 m/z 227.0353 $[M-H-C_6H_{10}O_5-CO-2H-CO]^-$ 的碎片离子。此外, m/z 285.0604 碎片离子也可发生RDA裂解,失去 $C_8H_6O_2$ 的碎片基团,产生 m/z 151.0043

$[M-H-C_6H_{10}O_5-C_8H_6O_2]^-$ 的碎片离子,基于以上分析,推测龙眼叶正丁醇部位中的峰4为紫云英苷^[25-26],推测该化合物可能的裂解路径见图5。按上述黄酮苷成分的质谱裂解规律,推测龙眼叶乙醇和正丁醇部位中的峰1为木犀草苷,乙酸乙酯部位中的峰2为槲皮苷,正丁醇部位中的峰2为山柰酚-3-O-芸香糖苷。

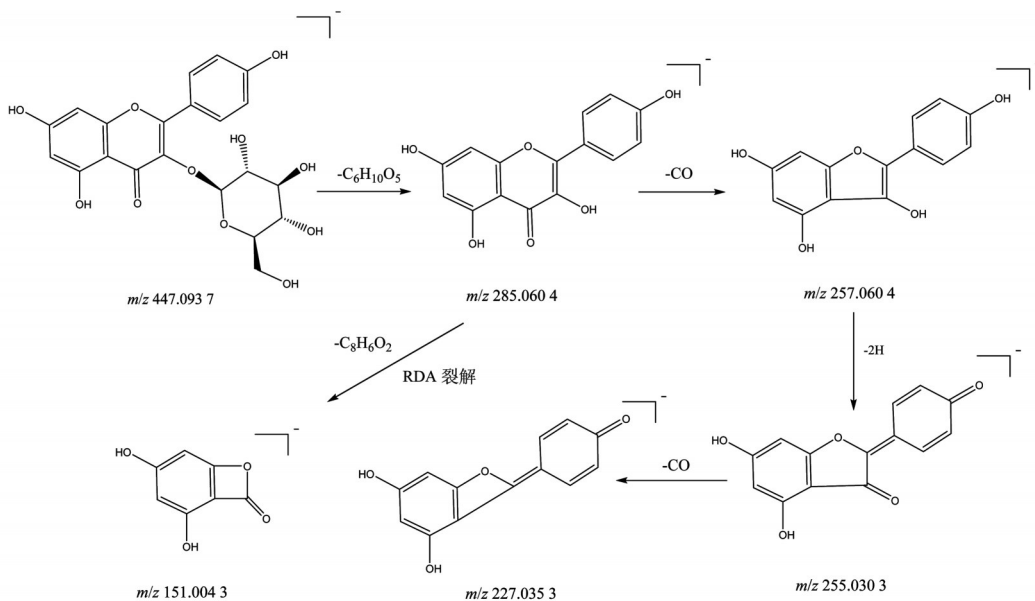


图5 紫云英苷可能的裂解路径

Fig. 5 Possible fragmentation pathways of astragalins

3.2 有机酸类化合物鉴定 有机酸类化合物是指分子结构中含有羧基的一类有机化合物。有机酸的质谱裂解规律主要表现为失去 H_2O 、 CO 和 CO_2 等中性分子。以乙醇部位中的峰6为例,在负离子模式下的准分子离子峰为 m/z 191.019 7 $[M-H]^-$,其发生裂解,失去1个 H_2O 分子,产生 m/z 173.009 1 $[M-H-H_2O]^-$ 的碎片离子;该碎片离子继续裂解,失去1个中性 CO_2 分子,产生 m/z 129.019 4 $[M-H-$

$H_2O-CO_2]^-$,此碎片离子继续裂解,先后失去1个 H_2O 和1个乙酰基碎片 C_2H_3O 基团,并分别产生 m/z 111.008 8 $[M-H-H_2O-CO_2-H_2O]^-$ 和 m/z 87.008 7 $[M-H-H_2O-CO_2-C_2H_3O]^-$ 。此外,对该化合物碎片离子作进一步分析,发现其碎片离子中还存在 m/z 102.948 8的碎片离子,推测该碎片离子可能是由准分子离子峰先后失去2个 CO_2 分子后产生,故推测乙醇部位中的峰6为柠檬酸^[15],裂解路径见图6。

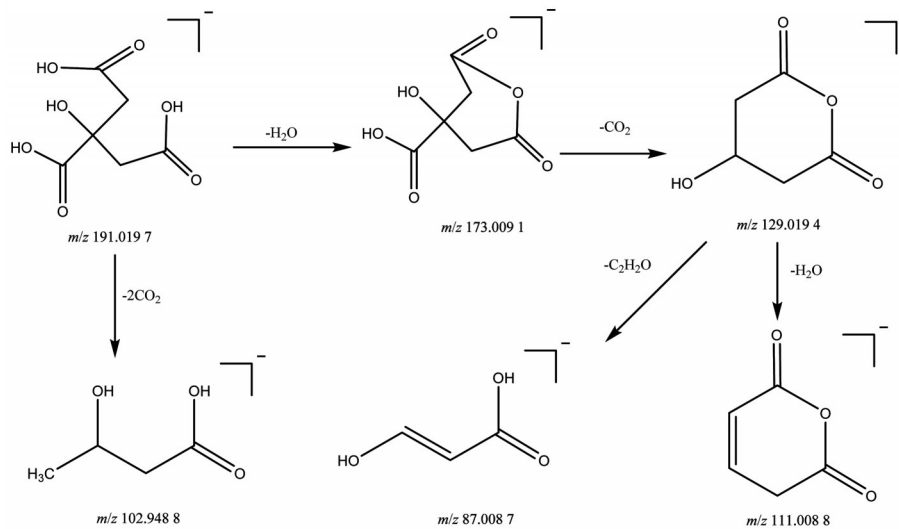


图6 柠檬酸可能的裂解路径

Fig. 6 Possible fragmentation pathways of citric acid

乙酸乙酯部位中的峰5在负离子模式下的准分子离子峰为 m/z 173.045 4 $[M-H]^-$,准分子离子峰发生裂解,失去1个中性 H_2O 分子,产生 m/z 155.035 4 $[M-H-H_2O]^-$ 的碎片离子。 m/z 155.035 4碎片离子继续裂解,分别失去1个 H_2O 分子和1个中性 CO_2 分子,并分别产生了 m/z 137.024 5 $[M-H-2H_2O]^-$ 和 m/z 111.045 3 $[M-H-H_2O-CO_2]^-$ 的碎片离子。随后 m/z 137.024 5碎片离子继续裂解,失去1个中性 CO_2 分子,产生 m/z 93.034 6 $[M-H-2H_2O-CO_2]^-$ 的碎片离子。同时, m/z 111.045 3碎片离子继续裂解,失去1个中性 CO 分子,产生 m/z 83.050 2 $[M-H-H_2O-CO_2-CO]^-$ 的碎片离子,由此推测乙酸乙酯部位中的峰5为莽草酸^[14],其可能的裂解路径见图7。

乙酸乙酯部位中的峰7在负离子模式下的准分子离子峰为 m/z 153.019 4 $[M-H]^-$,分子离子峰发生裂解,失去1个中性 CO_2 分子,得到 m/z 109.029 5 $[M-H-CO_2]^-$ 的特征碎片离子。随后 m/z 109.029 5碎片离子继续裂解,失去1个中性 CO 分子,产生了 m/z 81.034 9 $[M-H-CO_2-CO]^-$ 的碎片离子。结合文献[21]提供的碎片信息,推测乙酸乙酯部位中的

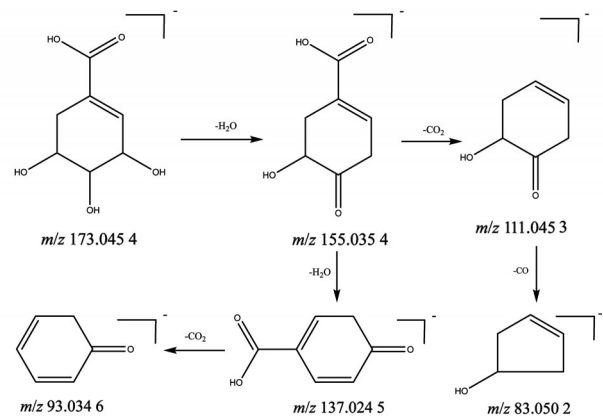


图7 莽草酸可能的裂解路径

Fig. 7 Possible fragmentation pathways of shikimic acid

峰7为原儿茶酸。正丁醇部位中的峰7在负离子模式下的分子离子峰为 m/z 169.014 2 $[M-H]^-$,准分子离子峰发生裂解,失去1个中性 CO_2 分子,产生 m/z 125.024 4 $[M-H-CO_2]^-$ 的特征碎片离子。所得 m/z 125.024 4碎片离子继续裂解,失去1个中性 H_2O 分子和1个中性 CO 分子,分别产生 m/z 107.013 8 $[M-H-CO_2-H_2O]^-$ 和 m/z 97.013 8 $[M-H-CO_2-CO]^-$ 的碎片离子。随后 m/z 97.013 8碎片基团继续

裂解,失去1个中性CO分子,产生 m/z 69.034 7 $[M-H-CO_2-2CO]^+$ 的碎片离子,故推测正丁醇部位中的峰7为没食子酸^[20]。按上述有机酸类成分的质谱裂解规律,推测乙醇部位的峰5为莽草酸,乙酸乙酯部位的峰6为没食子酸。

3.3 含氮类化合物鉴定 含氮类化合物是指分子结构中含有N元素的一类有机化合物,主要包含氨基酸类、核苷类及维生素类等成分。含氮类化合物的裂解主要是失去 NH_3 , CO 及 HCOOH 碎片基

团。以乙醇部位中的峰7为例,在正离子模式下的准分子离子峰为 m/z 182.081 3 $[M+H]^+$,其发生裂解,失去 HCOOH 的碎片基团,得到 m/z 136.075 7 $[M+H-HCOOH]^+$,此碎片离子继续裂解,失去1个 NH_3 分子,产生 m/z 119.049 3 $[M+H-HCOOH-NH_3]^+$ 。此外,准分子离子峰发生裂解,失去 $C_2H_5NO_3$ 的碎片基团,得到 m/z 91.054 7 $[M+H-C_2H_5NO_3]^+$ 的碎片离子,由此推测乙醇部位中的峰7为L-酪氨酸^[16],并推测其可能的裂解路径见图8。

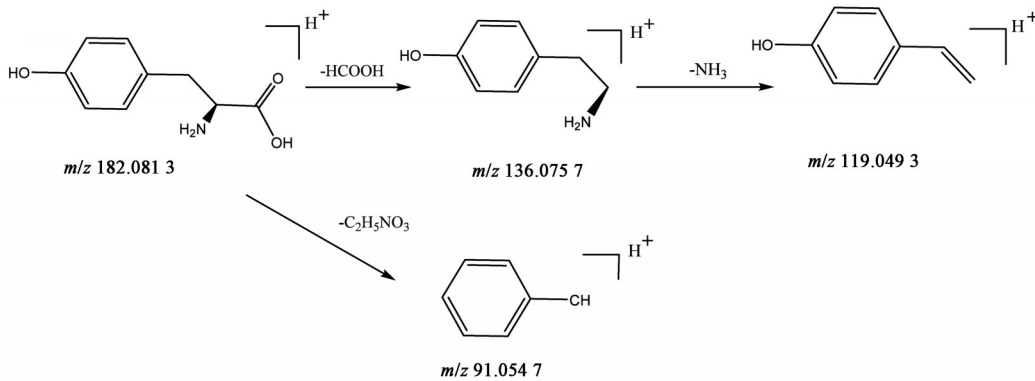


图8 L-酪氨酸可能的裂解路径

Fig. 8 Possible fragmentation pathways of L-tyrosine

乙醇部位中的峰8在正离子模式下的准分子离子峰为 m/z 268.103 9 $[M+H]^+$,准分子离子峰发生裂解,失去1个五碳糖 $C_5H_8O_4$ 的碎片基团,产生 m/z 136.061 8 $[M+H-C_5H_8O_4]^+$ 的特征碎片离子。得到的 m/z 136.061 8 的碎片离子继续裂解,失去1个中性 NH_3 分子,产生 m/z 119.035 4 $[M+H-C_5H_8O_4-NH_3]^+$ 的碎片离子。结合文献^[17]报道的质谱碎片信息,推测乙醇部位中的峰8为腺苷。正丁醇部位中的峰9在正离子模式下的准分子离子峰为 m/z 123.055 6 $[M+H]^+$,准分子离子峰发生裂解,苯环与羰基所连的C-C键发生断裂,失去 CONH 的碎片,产生 m/z 80.050 1 $[M+H-CONH]^+$ 的特征碎片离子。同时,准分子离子峰发生裂解,分别失去1个 NH_3 分子和1个中性CO分子,并分别产生 m/z 106.029 3 $[M+H-NH_3]^+$ 和 m/z 95.049 2 $[M+H-CO]^+$ 的碎片离子。准分子离子峰也可先后失去1个 NH_3 分子和1个中性CO分子,得到 m/z 78.034 7 $[M+H-NH_3-CO]^+$ 的碎片离子。此外,准分子离子峰中的吡啶环也可发生裂解,失去 CHN 的碎片基团,产生 m/z 96.044 9 $[M+H-CHN]^+$,由此推测正丁醇部位中的峰9为烟酰胺^[18]。按上述含氮类化合物的裂解规律,推测乙醇部位和乙酸乙酯部位中的峰9均为烟酰胺,乙酸乙酯和正丁醇部位中的峰8为腺苷,乙酸

乙酯部位中的峰10为L-苯丙氨酸。

3.4 其他类化合物鉴定 除上述推测鉴定出的化合物外,从龙眼叶中还分离鉴定出一些其他成分,主要包括香豆素类和醛类成分。以乙酸乙酯部位中的峰11为例,在正离子模式下的准分子离子峰为 m/z 193.049 6 $[M+H]^+$,准分子离子峰发生裂解,分别失去1个 CH_3 碎片基团,1个中性 CO_2 分子和2个CO,并分别产生 m/z 178.026 2 $[M+H-CH_3]^+$, m/z 149.059 7 $[M+H-CO_2]^+$ 和 m/z 137.059 9 $[M+H-2CO]^+$ 的碎片离子。此外,准分子离子峰也可先后失去 CH_3OH 基团和1个中性CO分子,得到 m/z 133.028 5 $[M+H-CH_3OH-CO]^+$ 的碎片离子,由此推测乙酸乙酯部位中的峰11为东莨菪内酯^[23],并推测其可能的裂解路径见图9。

正丁醇部位中的峰10在正离子模式下的准分子离子峰为 m/z 127.039 2 $[M+H]^+$,准分子离子峰发生裂解,失去1个中性 H_2O 分子,产生 m/z 109.028 9 $[M+H-H_2O]^+$ 的碎片离子。得到的 m/z 109.028 9 碎片离子继续裂解,失去1个中性CO分子,产生了 m/z 81.034 0 $[M+H-H_2O-CO]^+$ 的碎片离子。得到的 m/z 81.034 0 碎片离子继续裂解,失去1个中性CO分子,产生 m/z 53.039 3 $[M+H-H_2O-2CO]^+$ 的碎片离子,结合文献^[27]提供的质谱碎片信息,推测

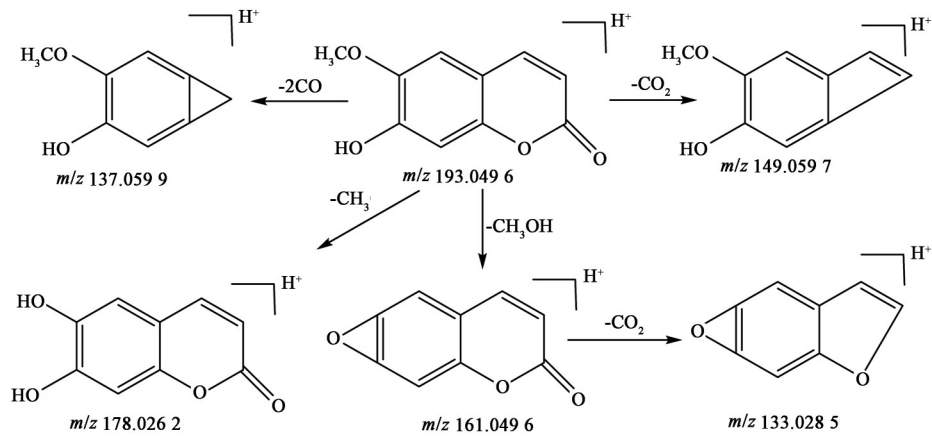


图9 东莨菪内酯可能的裂解路径
Fig. 9 Possible fragmentation pathways of scopoletin

正丁醇部位中的峰10为5-羟甲基糠醛,并推测其可能的裂解路径见图10。

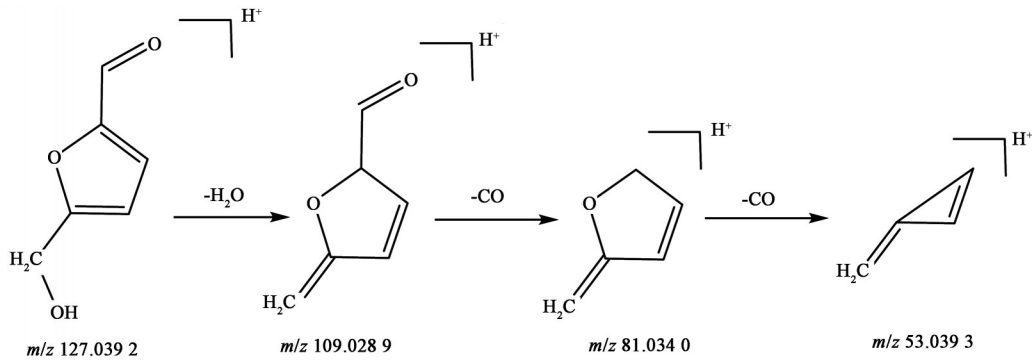


图10 5-羟甲基糠醛可能的裂解路径
Fig. 10 Possible fragmentation pathways of 5-hydroxymethylfurfural

4 讨论

本研究利用UPLC-Q-Orbitrap HRMS技术对龙眼叶降血糖活性部位的化学成分进行了分析,从龙眼叶3个活性部位(乙醇部位、乙酸乙酯部位及正丁醇部位)中分别鉴定出9,11,10个化合物,主要为黄酮及其苷类、有机酸类及含氮类化合物等,这与本课题组前期研究的实验结果基本一致^[7,31]。此外,在对龙眼叶乙醇部位和正丁醇部位中柠檬酸的碎片离子进行分析时,发现柠檬酸的质谱碎片中还存在 m/z 102.9488的碎片离子,但其离子相对强度极低,因此,能否将其作为柠檬酸的特征碎片离子及该碎片离子具体如何通过准分子离子裂解产生,还需后期进一步研究确认。

结合现有文献资料的报道^[32-34],本课题组发现从龙眼叶活性部位中分离出的山柰酚、木犀草素及槲皮苷等黄酮类成分都具有降血糖活性。山柰酚可激活环腺苷酸/蛋白激酶A(cAMP/PKA)和磷脂酰肌醇-3激酶/蛋白激酶B(PI3K/Akt)信号通路,增强抗凋亡蛋白B细胞淋巴瘤/白血病-2(Bcl-2)基因

表达和降低半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)活性,进而发挥降血糖功能^[35]。山柰酚和木犀草素也能够部分激活过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ)和腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)信号通路,进一步增强胰岛素敏感性,改善胰腺 β 细胞功能障碍,进而发挥降血糖作用^[36-38]。木犀草素可调节分泌型糖蛋白Wnt/ β -连环蛋白(β -catenin)信号通路,减轻胰腺组织的损伤,使胰腺 β 细胞发挥正常功能,从而改善糖尿病大鼠糖脂代谢功能^[39]。槲皮苷能改善糖尿病大鼠组织中的抗氧化状态,增加胰岛素分泌,还能通过线粒体途径和调节核转录因子- κ B(NF- κ B)信号通路,从而保护胰岛 β 细胞,最终发挥降血糖作用^[40-41]。此外,本研究鉴定出的木犀草苷、紫云英苷及山柰酚-3-O-芸香糖苷等黄酮类成分已在多个中药降血糖活性部位中均有发现^[42-44],但有关这些单体化合物降血糖作用机制研究的报道较少,后续还需进行深入研究。综上分析,龙眼叶活性部位中的黄酮类成分很可能是该药材主要发挥降血糖作用的物质基础,但其作用机制尚不清

楚。后续将采用代谢组学及网络药理学等技术手段进一步研究龙眼叶降血糖的作用机制。

由于现有仪器数据库及文献资料的限制,总离子流图中保留时间较长的弱极性化合物及一些响应度较高的色谱峰与谱库匹配度较低,这些化合物并未被鉴定出来。前期研究结果发现龙眼叶中可能还有糖类成分^[31],并有报道指出中药的糖类成分具有很好的降血糖作用^[45]。推测这些响应度较高的色谱峰可能为糖类化合物,后续将对这些化合物作进一步的验证与分析,并结合半制备液相、核磁共振氢谱及碳谱等分析技术对其进行鉴定,为全面阐释龙眼叶降血糖作用的药效物质基础提供参考,并为龙眼叶的降血糖作用机制研究提供实验依据。

[参考文献]

[1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草:13卷[J]. 上海:上海科学技术出版社,1999:112.

[2] 麦嘉妮,梁洁,徐晖,等. 龙眼叶抗氧化活性部位的血清药物化学初步研究[J]. 时珍国医国药,2018,29(12):2817-2821.

[3] 梁洁,金青青,黄团心,等. 龙眼叶乙酸乙酯提取物对2型糖尿病大鼠降血糖作用机制的研究[J]. 中华中医药杂志,2019,34(2):563-568.

[4] 梁洁,麦嘉妮,徐晖,等. 龙眼叶抗氧化和抑制 α -葡萄糖苷酶活性的谱效关系研究[J]. 中药材,2019,42(6):1328-1333.

[5] 张凌云,叶迪,楼招欢. 龙眼叶水提物抗实验性肾结石作用的研究[J]. 现代食品科技,2018,34(2):25-31.

[6] 金青青. 龙眼叶总黄酮提取工艺及抗2型糖尿病药理作用的研究[D]. 南宁:广西中医药大学,2017.

[7] 黄春燕,梁洁,麦嘉妮,等. 龙眼叶的化学成分研究[J]. 中药材,2017,40(10):2344-2346.

[8] 刘瑞,王瑞,裴科,等. UHPLC-Q-Orbitrap HRMS快速鉴定羊红膻药材的化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(5):145-151.

[9] 胡瀚文,赵永艳,杨天龙,等. 基于UPLC-Q-Orbitrap HRMS的川佛手化学成分分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(7):148-155.

[10] 王冬梅,林森森,郑司浩,等. UPLC-Q-TOF-MS分析鸡血藤乙酸乙酯提取物中抑制表皮生长因子受体活性成分[J]. 北京中医药大学学报,2014,37(1):58-62.

[11] 夏玮,古丽加玛丽·阿比斯,潘晨,等. 腊梅花中黄酮类化合物的UHPLC/QTOF-MS分析[J]. 中成药,2014,36(11):2345-2349.

[12] 许文,傅志勤,林婧,等. HPLC-Q-TOF-MS和UPLC-

QqQ-MS的三叶青主要成分定性研究与定量研究[J]. 中国中药杂志,2014,39(22):4365-4372.

[13] GAO D, WANG D D, ZHANG Q, et al. *In vivo* selective capture and rapid identification of luteolin and its metabolites in rat livers by molecularly imprinted solid-phase microextraction [J]. J Agric Food Chem,2017,65(6):1158-1166.

[14] 卞振华,金舒,周春刚,等. 五味子对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌体外抑菌活性部位的筛选和UPLC-QTOF-MS/MS分析活性组分化学成分[J]. 中国医院药学杂志,2018,38(19):2008-2012.

[15] 张波泳,江振作,王跃飞,等. UPLC/ESI-Q-TOF MS法分析鲜地黄、生地黄、熟地黄的化学成分[J]. 中成药,2016,38(5):1104-1108.

[16] 陈宏昌,魏文峰,霍金海,等. UPLC-Q-TOF-MS/MS分析刺五加的化学成分[J]. 中药材,2016,39(7):1536-1540.

[17] OUYANG H, LI T E, HE M Z, et al. Identification and quantification analysis on the chemical constituents from traditional Mongolian medicine Flos Scabiosae using UHPLC-DAD-Q-TOF-MS combined with UHPLC-QqQ-MS[J]. J Chromatogr Sci,2016,54(6):1028-1036.

[18] INAMADUGU J K, DAMARAMADUGU R, MULLANGI R, et al. Simultaneous determination of niacin and its metabolites-nicotinamide, nicotinic acid and *N*-methyl-2-pyridone-5-carboxamide-in human plasma by LC-MS/MS and its application to a human pharmacokinetic study [J]. Biomed Chromatogr,2010,24(10):1059-1074.

[19] 谢晶,张丽,曾金祥,等. 基于UPLC-Q-TOF-MS/MS技术的短管兔耳草化学成分快速识别研究[J]. 中国中药杂志,2017,42(11):2123-2130.

[20] ZHANG C X, LIAN R X, MAHMOODURRAHMAN M, et al. Serum pharmacochimistry for tracking bioactive components by UPLC-Q-TOF-MS/MS combined chromatographic fingerprint for quality assessment of Sanziguben granule[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci,2016,1029-1030:128-136.

[21] CHEN H F, LI M L, ZHANG C, et al. Isolation and identification of the anti-oxidant constituents from *Loropetalum chinense* (R. Brown) Oliv. based on UHPLC-Q-TOF-MS/MS[J]. Molecules,2018,23(7):1720.

[22] SWANN L M, Busetti F, Lewis S W. Determination of amino acids and amines in mammalian decomposition fluid by direct injection

- liquid chromatography-electrospray ionisation-tandem mass spectrometry [J]. *Anal Methods*, 2012, 4 (2) : 363-370.
- [23] ZENG Y C, LI S, WANG X H, et al. Validated LC-MS/MS method for the determination of scopoletin in rat plasma and its application to pharmacokinetic studies [J]. *Molecules*, 2015, 20(10) : 18988-19001.
- [24] SERMUKHAMEDOVA O, WOJTANOWSKI K K, WIDELSKI J, et al. Metabolic profile of and antimicrobial activity in the aerial part of *Leonurus turkestanicus* V. I. Krecz. et Kuprian. from Kazakhstan [J]. *J AOAC Int*, 2017, 100 (6) : 1700-1705.
- [25] 吴欢, 占远, 陈海芳, 等. UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS对紫花地丁中化学成分的快速表征[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(24) : 70-75.
- [26] YE M, YAN Y N, GUO D A. Characterization of phenolic compounds in the Chinese herbal drug Tu-Si-Zi by liquid chromatography coupled to electrospray ionization mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2005, 19(11) : 1469-1484.
- [27] HE Y J, DONG X, JIA X X, et al. Qualitative and quantitative analysis on chemical constituents from *Curculigo orchoides* using ultra high performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2015, 102 : 236-245.
- [28] 张雯霞, 冯敏, 苗雨露, 等. 基于UPLC-Q-TOF-MS/MS技术的还贝止咳方化学成分分析[J]. *中国中药杂志*, 2019, 44(14) : 3022-3034.
- [29] 徐露露, 焦其树, 杨佳颖, 等. UHPLC-LTQ-Orbitrap HRMS法结合特征裂解途径分析鉴定薄荷水提取物中4种类群化学成分[J]. *质谱学报*, 2018, 39(4) : 424-438.
- [30] 党立志, 张翼鹏, 张健, 等. LC-MS技术快速识别迷迭香中黄酮苷类化合物[J]. *云南农业大学学报: 自然科学版*, 2017, 32(2) : 358-365.
- [31] 梁洁, 滕建北, 柳贤福, 等. 龙眼叶化学成分预试研究[J]. *中国民族民间医药*, 2010, 19(4) : 142-143.
- [32] ALKHALIDY H, MOORE W, WANG Y, et al. The flavonoid kaempferol ameliorates streptozotocin-induced diabetes by suppressing hepatic glucose production [J]. *Molecules*, 2018, 23(9) : 2338.
- [33] ZANG Y Q, IGARASHI K, LI Y. Anti-diabetic effects of luteolin and luteolin-7-O-glucoside on KK-*A*^y mice [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2016, 80(8) : 1580-1586.
- [34] 汤小平, 施宁川, 丁志山, 等. 槲皮苷对原发性糖尿病大鼠血糖的作用研究[J]. *中国药师*, 2016, 19(8) : 1449-1451, 1454.
- [35] ZHANG Y L, LIU D M. Flavonol kaempferol improves chronic hyperglycemia-impaired pancreatic β -cell viability and insulin secretory function [J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 670(1) : 325-332.
- [36] 吴瑛. 二氢杨梅素通过PPAR γ /FGF21/AMPK信号通路改善胰岛素抵抗的机制研究[D]. 重庆: 第三军医大学, 2015.
- [37] 张雨点, 谢锦艳, 李小川, 等. 木犀草素是具有PPAR γ 激动剂活性的新型AMPK激活剂[J]. *现代生物医学进展*, 2019, 19(9) : 1601-1607.
- [38] ALKHALIDY H, MOORE W, ZHANG Y L, et al. Small molecule kaempferol promotes insulin sensitivity and preserved pancreatic β -cell mass in middle-aged obese diabetic mice [J]. *J Diabetes Res*, 2015, doi:10.1155/2015/532984.
- [39] 袁寅, 胡依萌, 程思源, 等. 木犀草素通过调节Wnt/ β -catenin信号通路对糖尿病大鼠的胰腺保护作用[J]. *武汉大学学报: 医学版*, 2018, 39(5) : 760-764.
- [40] BABUJANARTHANAM R, KAVITHA P, RAO U S, et al. Quercitrin a bioflavonoid improves the antioxidant status in streptozotocin induced diabetic rat tissues [J]. *Mol Cell Biochem*, 2011, 358 (1/2) : 121-129.
- [41] DAI X Q, DING Y, ZHANG Z F, et al. Quercetin and quercitrin protect against cytokine-induced injuries in RINm5F β -cells via the mitochondrial pathway and NF- κ B signaling [J]. *Int J Mol Med*, 2013, 31 (1) : 265-271.
- [42] 王丽. 中华苦蕒菜正丁醇部位的化学成分及主要成分的降血糖作用机制研究[D]. 晋中: 山西中医学院, 2015.
- [43] 王会, 刘汇, 张楠茜, 等. 核桃楸叶降血糖和抗氧化有效部位的筛选及其成分分析[J]. *中国现代中药*, 2019, 21(3) : 312-315, 322.
- [44] 余晓霞, 张亭亭, 王定勇. 南蛇藤叶降血糖有效部位化学成分研究[J]. *中药材*, 2014, 37(6) : 998-1000.
- [45] 董文南, 李克招, 张文婷, 等. 多糖降血糖作用及其机制研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25 (19) : 219-225.

[责任编辑 刘德文]