

UPLC-Q-Orbitrap HRMS技术分析荔枝叶不同极性部位化学成分及体外降血糖活性比较

梁洁^{1,2}, 陆春莲^{1,2}, 黄冬芳^{1,2}, 郑飘雪^{1,2}, 梁炎丽^{1,2}, 谢晶晶¹, 彭嘉文¹, 马玉明¹, 魏江存³, 秦祖杰^{3*}
(1. 广西中医药大学药学院, 广西南宁 530200) (2. 广西高校中药提取纯化与质量分析重点实验室, 广西南宁 530200) (3. 广西国际壮医医院, 广西南宁 530201)

摘要: 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)解析荔枝叶不同极性部位的化学成分; 比较荔枝叶不同极性部位体外降血糖活性的强弱。采用PNPG法(p-Nitrophenyl- α -D-glucopyranoside)、DNS法(3,5-dinitro salicylic acid)考察荔枝叶不同极性部位对 α -葡萄糖苷酶、 α -淀粉酶活性的抑制作用。化学成分鉴定结果表明荔枝叶不同极性部位中含29个化合物, 分别为有机酸类8个, 黄酮及其苷类10个, 原花青素类3个, 含氮类5个, 香豆素类1个, 糖苷类1个, 其他类1个; 体外降血糖活性比较考察结果发现, 乙酸乙酯萃取相的抑制活性最强, IC₅₀分别为54.50、122.20 μ g/mL。原儿茶酸、木犀草苷、表儿茶素、山柰酚等成分可能是乙酸乙酯萃取相体外降血糖活性作用的物质基础, 这为后续的荔枝叶质量控制研究奠定了前期基础。

关键词: 荔枝叶; 不同极性部位; 化学成分; UPLC-Q-Orbitrap HRMS; 降血糖

文章编号: 1673-9078(2024)11-166-179

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.11.1248

UPLC-Q-Orbitrap HRMS for Analysis of Chemical Constituents of *Litchi Chinensis* Sonn Leaves and Comparison of Hypoglycemic Active Parts *in Vitro*

LIANG Jie^{1,2}, LU Chunlian^{1,2}, HUANG Dongfang^{1,2}, ZHENG PiaoXue^{1,2}, LIANG Yanli^{1,2}, XIE Jingjing¹,
PENG Jiawen¹, MA Yuming¹, WEI Jiangcun³, QIN Zujie^{3*}

(1.College of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China)

(2.Key Laboratory of TCM Extraction and Purification and Quality Analysis (Guangxi University of Chinese

引文格式:

梁洁,陆春莲,黄冬芳,等.UPLC-Q-Orbitrap HRMS技术分析荔枝叶不同极性部位化学成分及体外降血糖活性比较[J].现代食品科技,2024,40(11):166-179.

LIANG Jie, LU Chunlian, HUANG Dongfang, et al. UPLC-Q-Orbitrap HRMS for analysis of chemical constituents of *Litchi chinensis* sonn leaves and comparison of hypoglycemic active parts *in vitro* [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(11): 166-179.

收稿日期: 2023-10-18

基金项目: 国家中医药管理局高水平中医药重点学科建设项目-少数民族药学(壮药学)(zyyzdxk-2023165); 广西壮瑶药重点实验室(桂科基字[2014]32号); 广西中医药多学科交叉创新团队项目(GZKJ2309); 壮瑶药协同创新中心(桂教科研[2013]20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); 广西壮族自治区民族药资源与应用工程研究中心(桂发改高技函[2020]2605号); 广西中医药重点学科壮药学(GZXK-Z-20-64); 广西重点研发计划项目(桂科AB21196016); 广西科技基地和人才专项(桂科AD20238058); 广西一流学科中药学(民族药学)(桂教科研[2018]12号); 广西中医药大学“高层次人才培养创新团队”资助项目(2022A008); 广西中医药大学第三批“岐黄工程”高层次人才团队培育项目(202406)

作者简介: 梁洁(1979-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 中药药效物质基础与质量分析研究, E-mail: liangjie1101@126.com

通讯作者: 秦祖杰(1966-), 男, 硕士, 教授, 研究方向: 中医临床研究, E-mail: 109741754@qq.com

Medicine), Education Department of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530200, China)

(3. Guangxi International Zhuang Medicine Hospital, Nanning 530201, China)

Abstract: The chemical constituents of different polar fractions of the leaves of *Litchi chinensis* Sonn were analyzed using ultra-performance liquid chromatography-quadrupole-electrostatic orbitrap high-resolution mass spectrometry (UPLC-Q-Orbitrap HRMS), and the p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (PNPG) and 3,5-dinitro salicylic acid (DNS) methods were used to compare the sites of hypoglycemic activity of lychee leaves *in vitro*. The inhibitory activities against α -glucosidase and α -amylase of different polar fractions of the leaves were investigated using PNPG and DNS methods. The results of chemical composition identification revealed 29 compounds from different polar fractions of the leaves of *L. chinensis*, including eight organic acids, ten flavonoids and their glycosides, three procyanidins, five nitrogen-containing compounds, one coumarin, one glycoside, and one compound of another class. The ethyl acetate extract of the leaves exhibited the strongest inhibitory activity against α -glucosidase and α -amylase, with IC_{50} values of 54.50 and 122.20 μ g/mL, respectively. Protocatechuic acid, luteolin, epicatechin, kaempferol and other components are potential pharmacodynamic factors contributing to the *in vitro* hypoglycemic activity of ethyl acetate extracts. These results establish a foundation for further investigations on the quality control of *L. chinensis*.

Key words: litchi leaves; different polar parts; chemical constituents; ultra-performance liquid chromatography-quadrupole-electrostatic orbitrap high-resolution mass spectrometry; hypoglycemic

荔枝叶是无患子科植物荔枝 (*Litchi chinensis* Sonn.) 的叶子, 载于《中华本草》, 味辛、微苦, 性凉, 主治湿疹、烂疮, 能除湿解毒^[1]。目前随着种植技术的发展, 荔枝的种植面积一步步的扩大, 2021年广西荔枝面积占全国 38.62%, 荔枝品种众多, 含有妃子笑、黑叶、怀枝、白糖罂、鸡嘴荔、桂味、无核荔、香荔、三月红、马贵荔、玉荷包等品种^[2]。荔枝叶在荔枝中占大部分, 可见广西开发荔枝叶资源有着得天独厚的优势。相关文献显示荔枝叶含有氨基酸、黄酮类、鞣质、萜醌、多糖或苷、还原糖、生物碱、皂苷、蛋白质和多肽等物质^[3]。研究发现主要成分原花青素 A₂、表儿茶素是荔枝叶具有很强抗氧化能力的主要原因^[4]; 荔枝叶石油醚提取物具有抗炎、止痛、退热的功效^[5]。此外, 荔枝叶不仅能治虚喘, 还具有降血糖的功效^[6,7], 揭示荔枝叶作为药用植物进行临床研究的潜在价值。

2型糖尿病 (T2DM) 又称为非胰岛素依赖性糖尿病, 是临床上最常见的一种以糖代谢紊乱为特征的慢性全身性代谢疾病, 大约 90% 的患者都属于 2型糖尿病, 已接近流行病的水平。T2DM 主要表现为高血糖、胰岛素相对缺乏或胰岛素抵抗^[8]。人体血糖的主要来源是有人体消化吸收分解食物中的碳水化合物和糖类, 继而转化进入血液中的葡萄糖^[9], 而影响碳水化合物在机体内的消化和吸收的关键酶是 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶, 碳水化合物依次被 α -淀粉酶、 α -葡萄糖苷酶催化水解为葡萄糖等

单糖^[10], 因此抑制 α -葡萄糖苷酶、 α -淀粉酶活性, 使低聚糖水解为单糖的反应减慢, 从而降低葡萄糖的生成速率, 控制餐后血糖水平可以有效地治疗糖尿病^[11]。查阅国内外研究发现, 目前对荔枝叶进行系统性的化学成分的研究较少, 且对其不同极性部位体外降血糖活性研究尚未有相关报道, 故本实验以上述两种酶作为考察荔枝叶体外降血糖活性部位的模型, 确定其体外降血糖活性作用的药效物质基础。

具备超高效液相色谱的高效分离能力、静电场轨道的高分辨扫描能力以及四极杆母离子的高选择能力三者特点的 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 分析技术, 能够快速地采集到样品的碎片离子信息, 准确地提供相对分子质量, 是分析鉴定中药及其处方中含有多种化学成分的有效方法^[12]。本实验运用 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 分析技术, 得到有关的质谱数据信息如化合物的加荷方式、碎片离子峰、保留时间、相对分子质量等, 通过对照品比对, 结合参考文献及质谱数据匹配, 鉴定出荔枝叶不同极性部位可能含有的化学成分。通过采用 PNPG 法、DNS 法比较出荔枝叶体外降血糖的活性部位, 为荔枝叶的进一步质量控制研究及阐明降血糖药效物质基础提供一定的参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

荔枝叶药材来源于广西灵山县, 于 2020 年 5

月采摘,由广西中医药大学药学院的滕建北教授鉴定为无患子科植物荔枝 (*Litchi chinensis* Sonn.) 的叶子。甲醇、乙腈、甲酸(质谱纯),购于赛默飞世尔科技(中国)有限公司;对硝基苯- α -D-吡喃葡萄糖苷(简称PNPG)、 α -葡萄糖苷酶、 α -淀粉酶购自北京索莱宝科技有限公司。3,5-二硝基水杨酸(简称DNS),天津市大茂化学试剂厂;可溶性淀粉,购于成都金山化学试剂有限公司;阿卡波糖,上海源叶生物科技有限公司;山柰酚-7-O- β -D-葡萄糖苷、柠檬酸、山柰苷、漆黄素、田基黄苷、原花青素 A₂、原花青素 B₂、小檗碱、右旋奎宁酸、山柰酚-3-O-芸香糖苷、没食子酸、表儿茶素、山柰酚、莽草酸、原儿茶酸、木犀草苷、原儿茶醛、芦丁对照品均购自成都麦德生科技有限公司。

1.2 仪器与设备

Q-Exactive 质谱仪,超高效液相色谱仪(U3000型),TraceFinder 数据分析系统,美国 Thermo Fisher 公司;1/10 万电子分析天平(XS205DU 型),瑞士 Mettler-Toledo 公司;超纯水仪(Milli-Q Synergy 型),美国 Millipore 公司;5430R 型离心机,艾本德中国有限公司;全波长酶标仪,瑞士 Tecan 公司;恒温恒湿培养箱,韶关市科力实验仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 溶液的制备

1.3.1.1 荔枝叶的乙醇、石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取相及水萃取相的制备

取荔枝叶粉末 20 g,置于 500 mL 的圆底烧瓶中,加入 200 mL $\varphi=80\%$ 乙醇溶液作为提取溶剂,加热回流提取,提取 3 次,每次提取 1 h,滤液合并,浓缩,得到乙醇总提取部位 2.96 g。6 倍量的纯水融化乙醇浸膏,石油醚、乙酸乙酯、正丁醇依次萃取,剩余为水萃取相。回收溶剂,浓缩,分别得到石油醚萃取相 0.16 g,乙酸乙酯萃取相 0.70 g,正丁醇萃取相 0.86 g,水萃取相 0.96 g 四种不同极性部位荔枝叶浸膏。取各部位分别用甲醇复溶,13 000 r/min 离心 10 min,微孔滤膜过滤处理上清液,即得到不同极性部位样品。

1.3.1.2 荔枝叶水煎液提取物的制备

取荔枝叶粉末 10 g,加入 100 mL 的水,煎煮 3 次,每次 1 h,滤液合并,浓缩,得水煎液浸膏 1.4 g,将浸膏用甲醇复溶,离心、过滤操作同 1.3.1.1 项,得到水煎液提取物。

1.3.1.3 对照品溶液的配制

取山柰酚-7-O- β -D-葡萄糖苷、柠檬酸、山柰苷、漆黄素、田基黄苷、原花青素 A₂、原花青素 B₂、小檗碱、右旋奎宁酸、没食子酸、表儿茶素、山柰酚、原儿茶酸、原儿茶醛、山柰酚-3-O-芸香糖苷、木犀草苷、莽草酸、芦丁对照品适量,加甲醇溶化并定容至 10 mL,即得。

1.3.2 检测条件

1.3.2.1 色谱条件

色谱柱: Thermo Gold C₁₈ (2.1 mm \times 100 mm, 1.9 μ m); 进样量: 1 μ L; 柱温: 35 $^{\circ}$ C, 流量: 0.3 mL/min。流动相:(A) 0.1% 甲酸乙腈-(B) 0.1% 甲酸水(含 10 mmol 乙酸铵)溶液; 梯度洗脱: 0~2.0 min, 5% A; 2.0~42.0 min, 5%~95% A; 42.0~47.0 min, 95% A; 47.0~50 min, 95%~5% A。

1.3.2.2 质谱条件

离子源: 加热电喷雾离子源(H-ESI); 喷雾电压: 3.5 kV(+), 3.2 kV(-); 鞘气体积流量: 30 μ L/min, 离子传输管温度: 320 $^{\circ}$ C; 辅助气体流量: 10 μ L/min; 辅助气温度: 300 $^{\circ}$ C。喷雾气: N₂; 碰撞气: 高纯 N。扫描方式: Full MS/dd-MS² 模式, 正、负离子同时采集; 正、负离子扫描 m/z 范围: 100~1 500。其中一级 Full MS 全扫描分辨率: 70 000 FWHM; dd-MS² 的二级扫描分辨率: 17 500 FWHM。

1.3.3 酶溶液的配制

分别取 α -葡萄糖苷酶、 α -淀粉酶适量置于量瓶中,加 PBS 溶液溶解并稀释至刻度线,得到质量浓度分别为 0.2、1 U/mL 的 α -葡萄糖苷酶溶液和 α -淀粉酶溶液。

1.3.4 底物溶液配制

取 PNPG 适量并置于容量瓶中,加 PBS 溶液溶解并稀释至刻度,得到浓度为 5.0 mmol/L 的 PNPG。取可溶性淀粉适量,加一定量纯水进行溶解并煮沸至完全溶解,得到 1% 的可溶性淀粉溶液。

1.3.5 相关溶液配制

纯水溶解适量 Na₂CO₃, 得到 0.2 mol/L 浓度的 Na₂CO₃ 溶液。纯水溶解适量 NaOH, 得到 2 mol/L 的 NaOH 溶液。取 DNS、2 mol/L NaOH 溶液、酒石酸钾钠、无水亚硫酸钠、苯酚适量依次放置量瓶中,用纯水溶解并稀释刻度线,于室温的条件下放置 1 周后再使用。取上述“1.3.1”中得到的各不同极性部位浸膏适量和阿卡波糖,用 PBS 溶液溶解,

并各自稀释为 1.0、0.8、0.6、0.4、0.2 mg/mL 质量浓度的溶液。

1.3.6 α -葡萄糖苷酶抑制率及 IC_{50} 的测定

参照文献^[13]的方法稍作修改，建立反应体系。空白组、对照组、样品空白组、样品组、阳性组分别加入 150 μ L PBS 溶液、50 μ L PBS 和 100 μ L α -葡萄糖苷酶溶液、100 μ L PBS 和 50 μ L 样品溶液、50 μ L 样品和 100 μ L α -葡萄糖苷酶溶液、50 μ L 阿卡波糖样品和 100 μ L α -葡萄糖苷酶溶液于 96 孔板中，混匀，将 96 孔板置于 37 $^{\circ}$ C 准确反应 10 min。再各加入 50 μ L 底物 PNPG，37 $^{\circ}$ C 下反应 15 min，后各加入 100 μ L Na_2CO_3 停止底物反应。酶标仪波长为 405 nm 测定各组吸光度值 3 次。 α -葡萄糖苷酶的抑制率计算公式如下：

$$D_1 = (A - A_0) - \frac{A_1 - A_2}{A - A_0} \quad (1)$$

式中：

D_1 — α -葡萄糖苷酶抑制率，%；

A —对照品吸光度；

A_0 —空白组吸光度；

A_1 —样品吸光度；

A_2 —样品空白组吸光度。

1.3.7 α -淀粉酶抑制率及 IC_{50} 的测定

参考文献^[14]的方法，建立反应体系。空白组、对照组、样品空白组、样品组、阳性组分别加入 40 μ L

PBS 缓冲溶液、PBS 溶液和 α -淀粉酶溶液各 20 μ L、PBS 溶液和样品溶液各 20 μ L、样品溶液和 α -淀粉酶溶液各 20 μ L、阿卡波糖样品和 α -淀粉酶溶液各 20 μ L 到 2 mL 离心管中，放在 37 $^{\circ}$ C 下反应 10 min。各加入 40 μ L 1% 可溶性淀粉溶液并混匀，37 $^{\circ}$ C 下再反应 15 min，反应结束后再各加入 80 μ L DNS 溶液，沸水中加热反应液 5 min 后取出，采用冰水浴迅速冷却，冷却后将各离心管内溶液吸取到相应 96 孔板上，并使用酶标仪在 540 nm 波长处测定吸光度值，进行测定 3 次。 α -淀粉酶的抑制率计算公式如下：

$$D_2 = (A - A_0) - \frac{A_1 - A_2}{A - A_0} \quad (2)$$

式中：

D_2 — α -淀粉酶抑制率，%；

A —对照品吸光度；

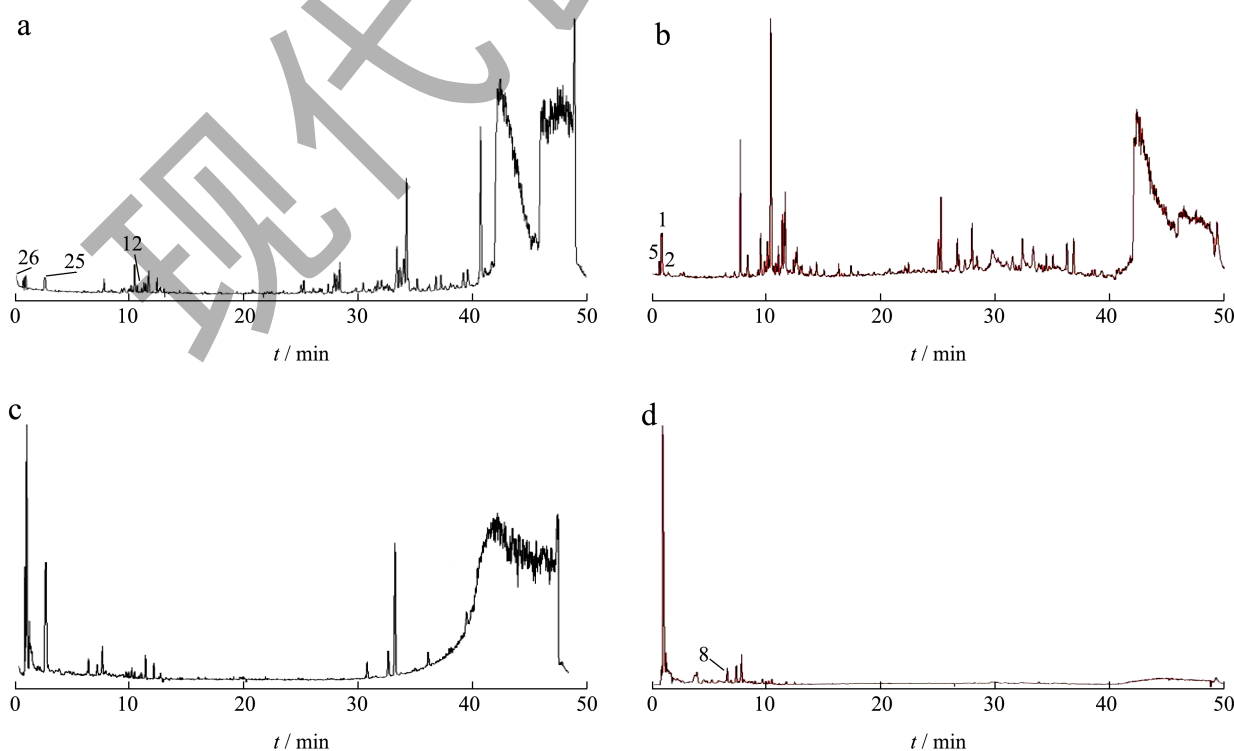
A_0 —空白组吸光度；

A_1 —样品吸光度；

A_2 —样品空白组吸光度。

1.3.8 数据分析

采用 TraceFinder 数据分析系统进行分析，得到相对分子量、分子式及碎片信息较精确的化合物，利用得到的目标化合物的一级及二级碎片离子信息与仪器现有数据库仪器及谱库进行匹配，通过对照品比对并结合参考国内外相关文献资料，推测和鉴定出化学成分。



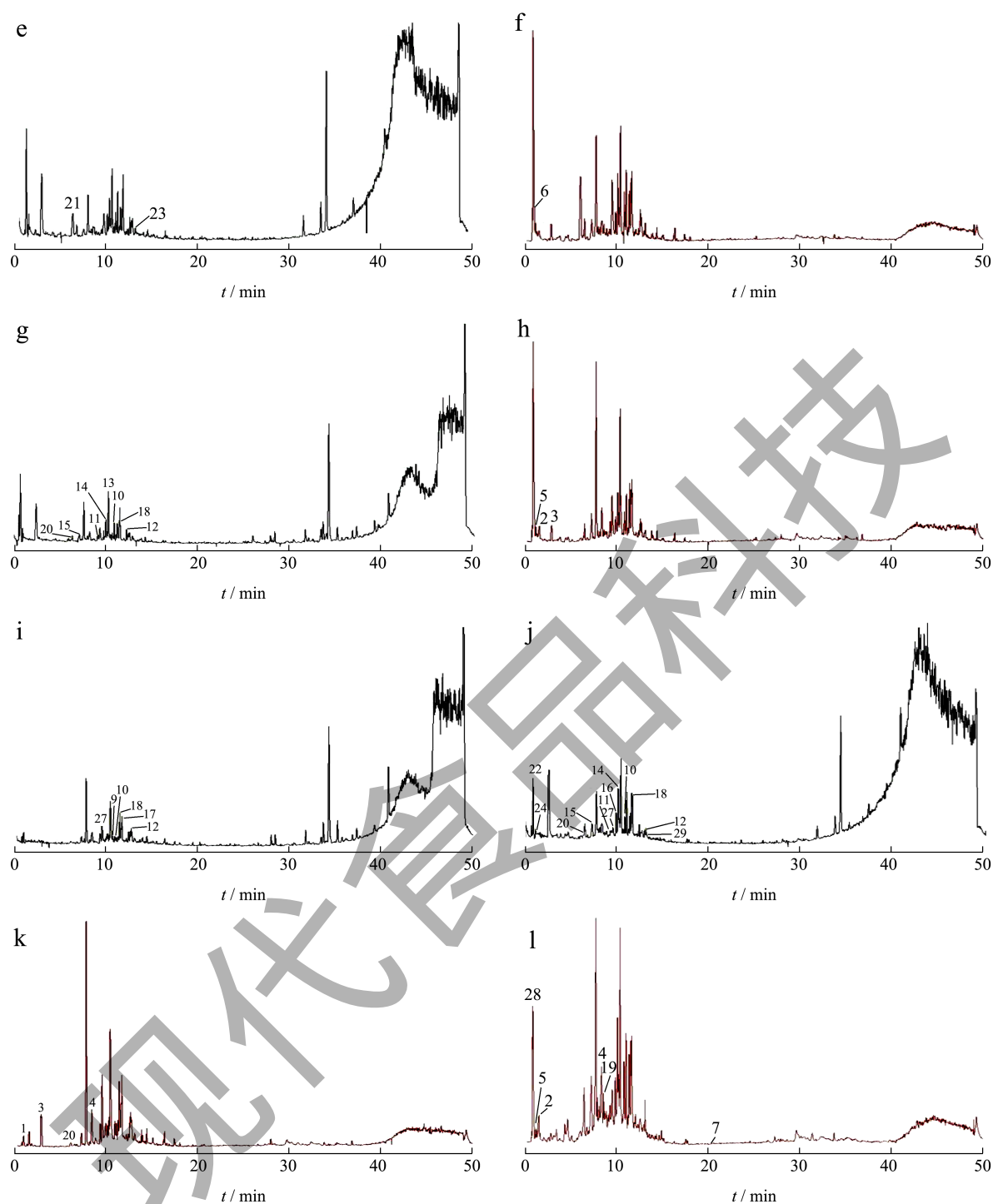


图1 荔枝叶不同极性部位的总离子流图

Fig.1 Total ion current map of different polar parts of the leaves of *Litchi chinensis* Sonn

注: a、b 为石油醚萃取相, c、d 为水萃取相, e、f 为水煎液提取物, g、h 为乙醇提取部位, i、j 为乙酸乙酯萃取相, k、l 为正丁醇萃取相。左侧为正离子模式, 右侧为负离子模式。

2 结果与讨论

2.1 化学成分鉴定结果

2.1.1 荔枝叶不同极性部位化学成分的分析与鉴定

荔枝叶不同极性萃取相在正、负离子模式下的

总离子流图, 实验结果见图1, 通过谱库比对及参考文献等, 从荔枝叶不同极性部位中共鉴定出29个化合物, 29个化合物的保留时间、理论值、测定值、分子式及主要碎片离子的相关信息见表1。

表 1 荔枝叶不同极性部位化学成分鉴定结果

Table 1 Identification results of chemical constituents in different polar parts of the leaves of *Litchi chinensis* Sonn

No.	t_R /min	加荷方式	理论值 (m/z)	测定 (m/z)	误差 / $\times 10^{-6}$	分子式	主要碎片离子	化合物	类别	来源	参考文献
1 ¹⁾	0.93	[M-H] ⁻	173.04	173.04	-0.98	C ₇ H ₁₀ O ₅	137.0242, 111.0450, 93.0344, 83.0501	莽草酸		b, c	[15]
2 ¹⁾	1.53	[M-H] ⁻	169.01	169.01	-0.35	C ₇ H ₈ O ₅	125.0243, 124.0166, 95.0139, 79.0189	没食子酸		a, b, d	[16]
3 ¹⁾	2.86	[M-H] ⁻	153.02	153.02	-0.47	C ₇ H ₈ O ₄	109.0294, 81.0345	原儿茶酸		a, c	[17]
4 ¹⁾	8.42	[M-H] ⁻	137.02	137.02	-0.93	C ₇ H ₆ O ₃	108.0215, 93.0344, 81.0345	原儿茶酸		c, d	[16]
5 ¹⁾	0.89	[M-H] ⁻	191.06	191.06	-0.33	C ₇ H ₁₂ O ₆	171.0296, 127.0400, 85.0294	右旋奎宁酸		a, b, d	[18]
6 ¹⁾	0.92	[M-H] ⁻	191.02	191.02	-0.08	C ₆ H ₈ O ₇	173.0089, 129.0193, 111.0087, 87.0087	柠檬酸	A	f	[19]
7	20.65	[M-H] ⁻	293.18	293.18	0.77	C ₁₇ H ₂₆ O ₄	192.1154, 177.0919	6-姜酚		d	[16]
8	6.40	[M-H] ⁻	163.04	163.04	0.37	C ₉ H ₈ O ₃	119.0501	对羟基肉桂酸		e	[20]
9 ¹⁾	10.54	[M+H] ⁺	449.11	449.11	-0.45	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	287.0546, 241.0496, 135.0441	木犀草苷		c	[21]
10 ¹⁾	10.87	[M+H] ⁺	579.17	579.17	-0.61	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	433.1123, 287.0545, 258.0514, 153.0180, 121.0283	山茶苷		a, c, d	[22]
11 ¹⁾	9.16	[M+H] ⁺	611.16	611.16	0.07	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	303.0495, 229.0494, 153.0182	芦丁		a, d	[23]
12 ¹⁾	11.40	[M+H] ⁺	287.06	287.06	-0.91	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	241.0494, 213.0544, 165.0181, 153.0181, 121.0285	山茶酚		a, b, c, d	[24]
13 ¹⁾	10.37	[M+H] ⁺	287.06	287.06	-1.01	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	269.0438, 241.0493, 137.0234	漆黄素		a	[25]
14 ¹⁾	10.26	[M+H] ⁺	449.11	449.11	-0.52	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	303.0495, 137.0233	田基黄苷		a, d	[18]
15	7.34	[M+H] ⁺	183.06	183.06	0.14	C ₉ H ₁₀ O ₄	155.0701, 140.0466, 123.0441, 95.0495	丁香醛		a, d	[26]
16 ¹⁾	10.05	[M+H] ⁺	595.16	595.16	0.13	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	287.0551, 147.0649	山奈酚-3-O-芸香糖苷	B	d	[27]
17	11.68	[M+H] ⁺	433.11	433.11	-0.85	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	271.0597, 153.0182, 119.0493	山奈酚-7-O-β-D-吡喃葡萄糖苷		c	[28]
18 ¹⁾	11.40	[M+H] ⁺	449.11	449.11	-0.72	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	287.0546, 213.0547, 121.0285	山奈酚-7-O-β-D-吡喃葡萄糖苷		a, c, d	[29]
19 ¹⁾	8.78	[M-H] ⁻	575.12	575.12	0.64	C ₃₀ H ₂₄ O ₁₂	161.0244, 125.0243	原花青素 A ₂		d	[30]
20 ¹⁾	6.10	[M-H] ⁻	289.07	289.07	0.58	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	245.0819, 205.0504, 203.0713	表儿茶素	C	a, c, d	[31]
21 ¹⁾	6.28	[M+H] ⁺	579.15	579.15	-0.28	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	409.0910, 287.0546	原花青素 B ₂		f	[31]
22	0.88	[M+H] ⁺	152.06	152.06	0.17	C ₃ H ₅ N ₃ O	135.03025, 110.0351	鸟嘌呤		d	[32]
23 ¹⁾	13.04	[M] ⁺	336.12	336.12	-0.94	C ₂₀ H ₁₈ NO ₄	320.0910, 292.0962, 278.0805	小檗碱		f	[33]
24	1.18	[M+H] ⁺	182.08	182.08	1.21	C ₉ H ₁₁ NO ₃	136.0756, 119.0492, 91.0546	L-酪氨酸	D	d	[34]
25	1.91	[M+H] ⁺	166.09	166.09	-0.01	C ₉ H ₁₁ NO ₂	120.0809, 103.0545, 93.0702	L-苯丙氨酸		b	[34]
26	0.91	[M+H] ⁺	123.06	123.06	1.67	C ₆ H ₆ N ₂ O	105.0446, 96.0448, 95.0607, 78.0343	烟酰胺		b	[35]
27	9.27	[M+H] ⁺	193.05	193.05	0.73	C ₁₀ H ₈ O ₄	149.0596, 137.0597, 133.0284	东莨菪内酯	E	c, d	[21]
28	0.86	[M-H] ⁻	181.07	181.07	-0.40	C ₆ H ₁₄ O ₆	89.02437, 73.0294, 71.0137	甘露醇	F	d	[36]
29	12.91	[M+H] ⁺	209.08	209.08	-0.06	C ₁₁ H ₁₂ O ₄	177.0547, 149.0597, 134.0363	阿魏酸甲酯	G	d	[37]

注: 1) 与对照品比对确定。A. 有机酸类; B. 黄酮及其苷类; C. 原花青素类; D. 含氮类; E. 香豆素类; F. 糖苷类; G. 其他类。a. 乙醇提取部位; b. 石油醚萃取相; c. 乙酸乙酯萃取相; d. 正丁醇萃取相; e. 水的萃取相; f. 水煎液提取物。

2.1.2 有机酸类化合物的鉴定分析

有机酸类化合物是广泛存在于植物中，二级质谱中主要丢失 CO 、 CO_2 、 H_2O 、 COOH 等中性分子。以化合物 1 为例，分子式为 $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_5$ ，保留时间 (t_R) 为 0.93 min，准分子离子峰在负离子模式下为 m/z 173.045 3 $[\text{M}-\text{H}]^-$ ，该准分子离子峰发生裂解，丢失 2 个中性 H_2O 分子，产生 m/z 137.024 2 $[\text{M}-\text{H}-2\text{H}_2\text{O}]^-$ 的碎片离子，该碎片离子继续裂解，掉落 1 个中性 CO_2 分子，产生 m/z 93.034 4 $[\text{M}-\text{H}-2\text{H}_2\text{O}-\text{CO}_2]^-$ 的碎片离子。同时，准分子离子峰发生裂解，丢失 1 个 H_2O 分子后，继而再掉落 1 个 CO_2 分子，产生 m/z 111.045 0 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}_2]^-$ 的碎片离子，该碎片离子继续丢失 1 个 CO 分子，产生 m/z 83.050 1 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}_2-\text{CO}]^-$ 的碎片离子。根据文献^[15]，推测该化合物 1 为莽草酸，其可能的裂解途径见图 2。以化合物 2 为例，分子式为 $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$ ， t_R 为 1.53 min，准分子离子峰为 m/z 169.014 1 $[\text{M}-\text{H}]^-$ ，准分子离子峰发生裂解，分别丢失 1 个中性 CO_2 分子和 1 个中性 COOH 分子，分别产生 m/z 125.024 3 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$ 和 m/z 124.016 6 $[\text{M}-\text{H}-\text{CHO}_2]^-$ 的碎片离子， m/z 125.024 3 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$ 的碎片离子继续裂解，丢失 1 个中性 CO 分子产生 m/z 95.013 9 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2-\text{CO}]^-$ 的碎片离子，该碎片离子继续裂解，丢失 1 个中性 H_2O 分子，得到 m/z 79.018 9 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2-\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^-$ 的碎片离子，故推测该化合物 2 为没食子酸^[16]，可能的裂解途径见图 3。以化合物 4 为例，分子式为 $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$ ， t_R 为 8.42 min，准分子离子峰为 m/z 137.024 2 $[\text{M}-\text{H}]^-$ ， m/z 137.024 2 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 发生裂解，分别丢失 CO_2 、 CO 和 $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}$ 的碎片，分别产生 m/z 93.034 4 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$ 、 m/z 108.021 5 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}]^-$ 、 m/z 81.034 5 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}]^-$ 的碎片离子。综合文献判定化合物 4 为原儿茶醛^[16]，可能的裂解途径见图 4。以化合物 6 为例，分子式为 $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ ， t_R 为 0.92 min，准分子离子峰为 m/z 191.019 7 $[\text{M}-\text{H}]^-$ ， m/z 191.019 7 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 发生裂解，丢失 1 个中性 H_2O 分子，获得 m/z 173.008 9 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^-$ 的碎片离子，该 m/z 173.008 9 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^-$ 的碎片离子继续发生裂解，丢失 1 个中性 CO_2 分子，继而产生 m/z 129.019 3 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}_2]^-$ 的碎片离子。同时，得到的 m/z 129.019 3 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}_2]^-$ 碎片离子继续裂解，分别丢失 H_2O 、 $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}$ 的碎片离子，分别得到 m/z 111.008 7 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}_2-\text{H}_2\text{O}]^-$ 、 m/z 87.008 7 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}_2-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}]^-$ 的碎片离子。参考文献^[19]，推测该化合物 6 为柠檬酸，可能的裂解途径见图 5。

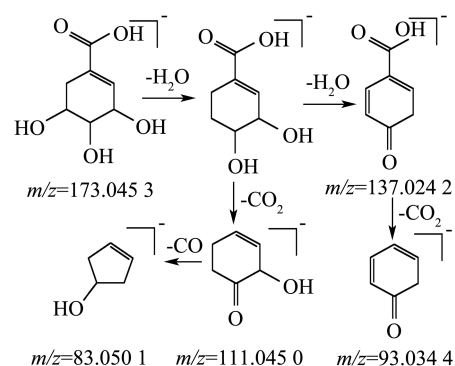


图 2 莽草酸可能的裂解途径

Fig.2 Possible fragmentation pathways of shikimic acid

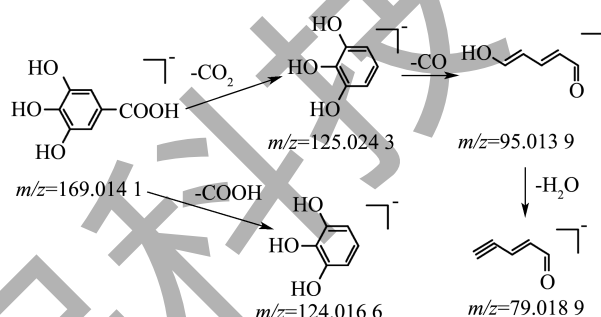


图 3 没食子酸可能的裂解途径

Fig.3 Possible fragmentation pathways of gallic acid

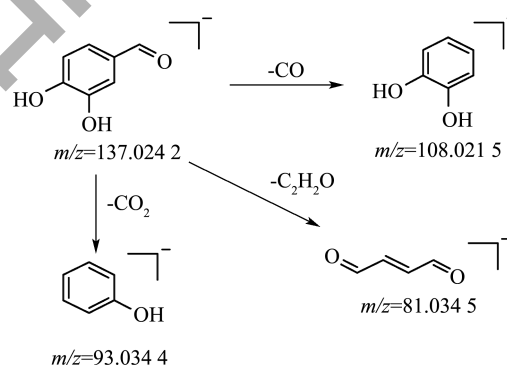


图 4 原儿茶醛可能的裂解途径

Fig.4 Possible fragmentation pathways of protocatechualdehyde

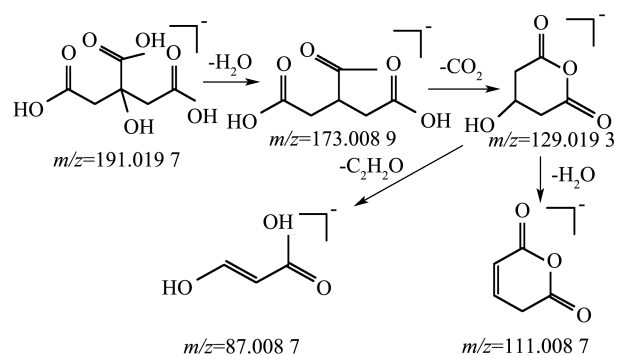


图 5 柠檬酸可能的裂解途径

Fig.5 Possible fragmentation pathways of citric acid

2.1.3 黄酮及其苷类化合物鉴定分析

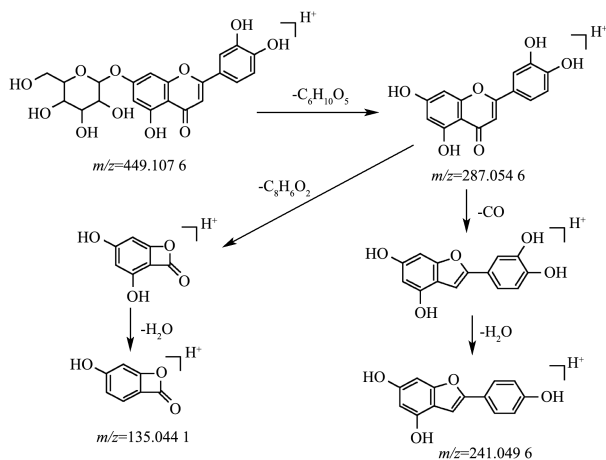


图6 木犀草苷可能的裂解途径

Fig.6 Possible fragmentation pathways of cynaroside

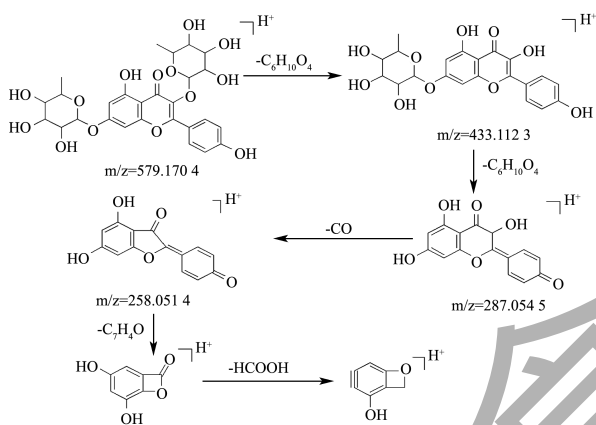


图7 山柰苷可能的裂解途径

Fig.7 Possible fragmentation pathways of kaempferitrin

黄酮类化合物是一类以 C₆-C₃-C₆ 为母核基本结构的一类化合物，质谱中断裂的途径主要是丢失 C 环中的羰基 CO₂、CO，中性 H₂O 分子及糖基，且易出现逆狄尔斯-阿尔德 (RDA) 裂解^[38]。以化合物 9 为例，分子式为 C₂₇H₃₀O₁₁，t_R 为 10.54 min，准分子离子峰在正离子模式下为 m/z 449.107 6[M+H]⁺，m/z 449.107 6[M+H]⁺ 发生裂解，首先丢失 C₆H₁₀O₅ 的碎片基团，得到 m/z 287.054 6[M+H-C₆H₁₀O₅]⁺ 碎片离子，m/z 287.054 6[M+H-C₆H₁₀O₅]⁺ 碎片离子继续裂解，分别先后丢失 1 个 CO 和 1 个中性 H₂O 分子，以及先后丢失 C₈H₆O₂ 的碎片基团和 1 个中性 H₂O 分子，分别产生 m/z 241.049 6[M+H-C₆H₁₀O₅-CO-H₂O]⁺、m/z 135.044 1[M+H-C₆H₁₀O₅-C₈H₆O₂-H₂O]⁺ 的碎片离子。结合文献参考^[21]，认为该化合物 9 为木犀草苷，可能的裂解途径见图 6。以化合物 10 为例，分子式为 C₂₇H₃₀O₁₄，t_R 为 10.87 min，准分子离子峰为 m/z 579.170 4[M+H]⁺，m/z 579.170 4[M+H]⁺

发生裂解，首先丢失 C₆H₁₀O₄ 的碎片基团，得 m/z 433.112 3[M+H-C₆H₁₀O₄]⁺ 的碎片离子，该碎片离子继续丢失 C₆H₁₀O₄ 的碎片基团，产生 m/z 287.054 5[M+H-2C₆H₁₀O₄]⁺ 的碎片离子，随后，m/z 287.054 5[M+H-2C₆H₁₀O₄]⁺ 碎片离子继续丢失 1 个中性 CO 分子，得到 m/z 258.051 4[M+H-2C₆H₁₀O₄-CO]⁺ 的碎片离子，该碎片离子继续发生裂解，掉落 C₇H₄O 的碎片基团，产生 m/z 153.018 0[M+H-2C₆H₁₀O₄-CO-C₇H₄O]⁺ 的碎片离子，m/z 153.018 0[M+H-2C₆H₁₀O₄-CO-C₇H₄O]⁺ 的碎片离子继续发生裂解，丢失 CH₂O₂ 碎片基团，得 121.028 3[M+H-2C₆H₁₀O₄-CO-C₇H₄O-CH₂O₂]⁺，结合文献推测该化合物 10 为山柰苷^[22]，可能的裂解途径见图 7。以化合物 11 为例，分子式为 C₂₇H₃₀O₁₆，t_R 为 9.16 min，准分子离子峰为 m/z 611.160 7[M+H]⁺，m/z 611.160 7[M+H]⁺ 发生裂解，首先丢失 C₁₂H₂₀O₉ 的碎片基团，得到 m/z 303.049 5[M+H-C₁₂H₂₀O₉]⁺ 的碎片离子，该碎片离子继续裂解，分别先后丢失 1 个中性 H₂O 分子、2 个中性 CO 分子，以及丢失 C₈H₆O₃ 的碎片基团，分别产生 m/z 229.049 4[M+H-C₁₂H₂₀O₉-H₂O-2CO]⁺、m/z 153.018 2[M+H-C₁₂H₂₀O₉-C₈H₆O₃]⁺ 的碎片离子，结合文献推测该化合物 11 为芦丁^[23]，可能的裂解途径见图 8。

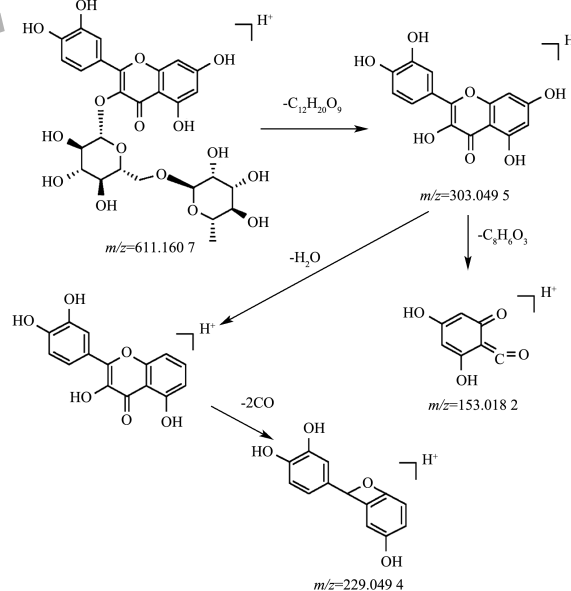


图8 芦丁可能的裂解途径

Fig.8 Possible fragmentation pathways of rutin

以化合物 12 为例，分子式为 C₁₅H₁₀O₆，t_R 为 11.40 min，准分子离子峰为 m/z 287.054 7[M+H]⁺，m/z 287.054 7[M+H]⁺ 发生裂解，首先先后丢失 C₇H₄O₄ 的碎片基团和 1 个中性 H₂O 分子，得到

m/z 121.028 5 $[M+H-C_7H_4O_4-H_2O]^+$ 的碎片离子。 m/z 287.054 7 $[M+H]^+$ 碎片离子发生 RDA 裂解脱去 $C_8H_6O_2$ 的碎片基团, 产生得到 m/z 153.018 1 $[M+H-C_8H_6O_2]^+$ 的碎片离子。 m/z 287.054 7 $[M+H]^+$ 的碎片离子先后丢失 1 个中性 CO 分子和 1 个中性 H_2O 分子, 产生 m/z 241.049 4 $[M+H-CO-H_2O]^+$ 的碎片离子。其次, m/z 287.054 7 $[M+H]^+$ 的碎片离子先后掉落 1 个中性 CO 分子和 HCOOH 的碎片基团, 产生 m/z 213.054 4 $[M+H-CO-CH_2O_2]^+$ 的碎片离子。同时 m/z 287.054 7 $[M+H]^+$ 的碎片离子先后丢失 1 个中性 CO 分子和 C_6H_6O 的碎片基团, 产生 m/z 165.0181 $[M+H-CO-C_6H_6O]^+$ 的碎片离子, 结合文献参考^[24], 与所报道的典型碎片离子相似, 推测该化合物 12 为山柰酚, 可能的裂解途径见图 9。以化合物 13 为例, 分子式为 $C_{15}H_{10}O_6$, t_R 为 10.37 min, 准分子离子峰为 m/z 287.054 7 $[M+H]^+$, 该离子峰发生裂解, 掉落 1 个中性 H_2O 分子, 产生 m/z 269.043 8 $[M+H-H_2O]^+$ 的碎片离子, 同时 m/z 269.043 8 $[M+H-H_2O]^+$ 的碎片离子继续丢失 1 个中性 CO 分子, 得到 m/z 241.049 3 $[M+H-H_2O-CO]^+$ 的碎片离子。 m/z 287.054 7 $[M+H]^+$ 碎片离子发生 RDA 裂解, 丢失 1 个中性 CO 分子和 $C_7H_6O_2$ 的碎片基团, 得到 m/z 137.023 4 $[M+H-CO-C_7H_6O_2]^+$ 的碎片离子, 结合文献参考^[25], 推测该化合物 13 为漆黄素, 可能的裂解途径见图 10。以化合物 14 为例, 分子式为 $C_{21}H_{20}O_{11}$, t_R 为 10.26 min, 准分子离子峰为 m/z 449.107 6 $[M+H]^+$, 分子离子峰发生裂解, 脱去 $C_6H_{10}O_4$ 的碎片基团, 得到 m/z 303.049 5 $[M+H-C_6H_{10}O_4]^+$ 的碎片离子, m/z 303.049 5 $[M+H-C_6H_{10}O_4]^+$ 的碎片离子继续脱去 $C_8H_6O_3$ 的碎片基团, 产生 m/z 137.023 3 $[M+H-C_6H_{10}O_4-C_8H_6O_3]^+$ 的碎片离子。结合文献参考^[18], 推测该化合物 14 为田基黄苷, 可能的裂解途径见图 11。以化合物 15 为例, 分子式为 $C_9H_{10}O_4$, t_R 为 7.34 min, 准分子离子峰为 m/z 183.065 2 $[M+H]^+$, 该离子峰发生裂解, 丢失 1 个中性 CO 分子, 产生 m/z 155.070 1 $[M+H-CO]^+$ 的碎片离子, 该碎片离子发生裂解, 丢失 1 个 CH_3 分子, 产生 m/z 140.046 6 $[M+H-CO-CH_3]^+$ 的碎片离子。 m/z 155.070 1 $[M+H-CO]^+$ 的碎片离子发生裂解, 分别丢失 $C_2H_4O_2$ 的碎片基团和 CH_3OH 的碎片基团, 分别得到 m/z 95.049 5 $[M+H-CO-C_2H_4O_2]^+$ 和 m/z 123.044 1 $[M+H-CO-CH_3OH]^+$ 的碎片离子。结合文献参考^[26], 推测该化合物 15 为丁香醛, 可能的裂解途径见图 12。以化合物 17 为例, 分子式为 $C_{21}H_{20}O_{10}$, t_R 为 11.68 min, 准分子离子峰为

m/z 433.112 5 $[M+H]^+$, 分子离子峰发生裂解, 脱去 $C_6H_{10}O_5$ 的碎片基团, 产生 m/z 271.059 7 $[M+H-C_6H_{10}O_5]^+$ 的碎片离子, 该碎片离子继续发生裂解, 分别丢失 C_8H_6O 的碎片基团和 $C_7H_4O_4$ 的碎片基团, 分别得到 m/z 153.018 2 $[M+H-C_6H_{10}O_5-C_8H_6O]^+$ 和 m/z 119.049 3 $[M+H-C_6H_{10}O_5-C_7H_4O_4]^+$ 的碎片离子。结合文献参考^[28], 推测该化合物 17 为芹菜素-7- O - β -D-吡喃葡萄糖苷, 可能的裂解途径见图 13。

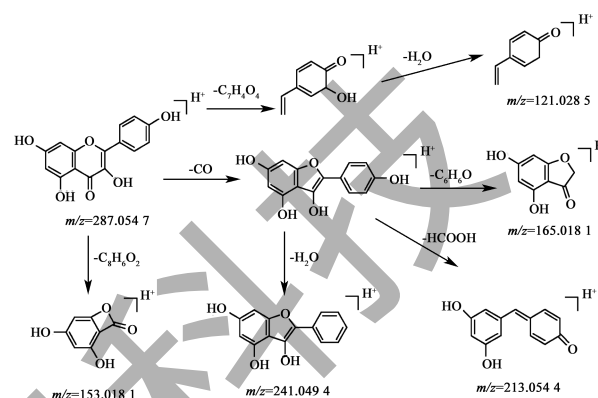


图 9 山柰酚可能的裂解途径

Fig.9 Possible fragmentation pathways of Kaempferol

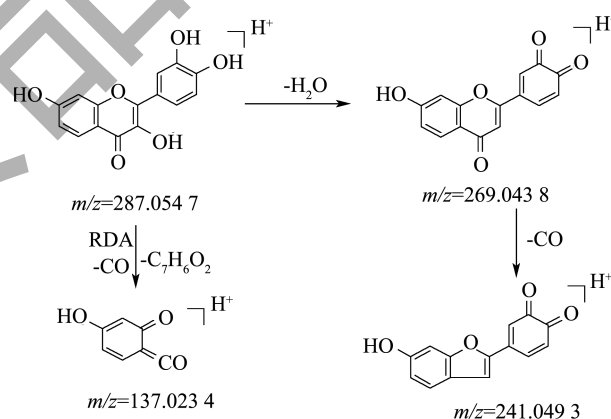


图 10 漆黄素可能的裂解途径

Fig.10 Possible fragmentation pathways of Fisetin

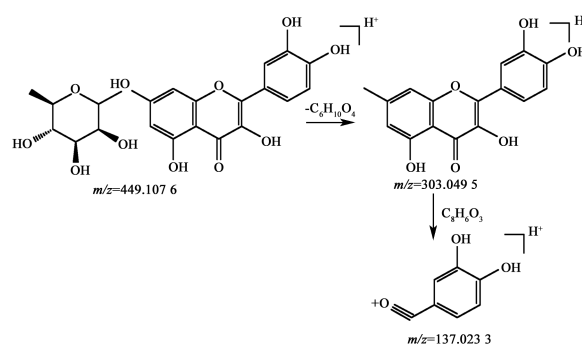


图 11 田基黄苷可能的裂解途径

Fig.11 Possible fragmentation pathways of quercetin 7-rhamnoside

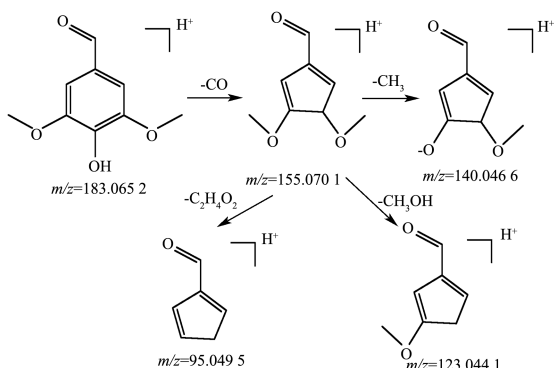


图 12 丁香醛可能的裂解途径

Fig.12 Possible fragmentation pathways of 3,5-Dimethoxy-4-hydroxybenzaldehyde

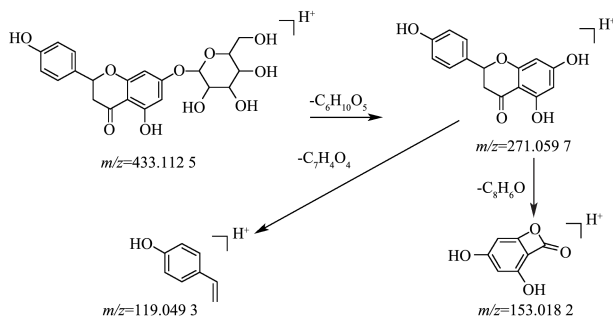


图 13 芹菜素-7-O-β-D-吡喃葡萄糖苷可能的裂解途径

Fig.13 Possible fragmentation pathways of a pigenin-7-O-β-D-glucoside

2.1.4 原花青素类化合物鉴定分析

原花青素类化合物是一类聚合物，可以分为多聚体及低聚物，主要是以黄烷-3-醇作为基本结构，因其连接方式的不同可以划分为 A 型和 B 型，聚合体质谱裂解规律主要是结构单元间的共价键断裂^[26]。以化合物 19 为例，分子式为 $C_{30}H_{24}O_{12}$ ， t_R 为 8.78 min，准分子离子峰为 m/z 575.119 8[M-H]⁻，分子离子峰发生裂解，脱去 $C_{24}H_{18}O_9$ 的碎片基团，产生 m/z 125.024 3[M-H- $C_{24}H_{18}O_9$]⁻ 的碎片离子；同时准分子离子峰先后脱去 $C_{15}H_{10}O_6$ 的碎片基团和 $C_6H_8O_3$ 的碎片基团，得到碎片离子 m/z 161.024 4[M-H- $C_{15}H_{10}O_6$ - $C_6H_8O_3$]⁻。结合文献参考^[30]，推测该化合物 19 为原花青素 A₂，可能的裂解途径见图 14。以化合物 20 为例，分子式为 $C_{15}H_{14}O_6$ ， t_R 为 6.10 min，准分子离子峰为 m/z 289.071 9[M-H]⁻，继而该碎片离子发生裂解，分别丢失 1 个中性 CO_2 分子和 2 个 C_2H_2O 分子，分别得到 m/z 245.081 9[M-H- CO_2]⁻、 m/z 205.050 4[M-H-2 C_2H_2O]⁻ 的碎片离子；而 m/z 245.081 9[M-H- CO_2]⁻ 的碎片离子脱去 1 个 C_2H_2O 分子产生 m/z 203.071 3[M-H- CO_2 - C_2H_2O]⁻ 的碎片离子。结合文献参考^[31]，推测该化合物 20 为表儿茶

素，可能的裂解途径见图 15。以化合物 21 为例，分子式为 $C_{30}H_{26}O_{12}$ ， t_R 为 6.28 min，准分子离子峰为 m/z 579.149 5[M+H]⁺，该碎片离子发生裂解，丢失 $C_{15}H_{12}O_6$ 的碎片基团，得到 m/z 287.054 6[M+H- $C_{15}H_{12}O_6$]⁺。同时 m/z 579.149 5[M+H]⁺ 的碎片离子首先脱去 1 个中性 H_2O 分子，随后发生 RDA 裂解脱去 $C_8H_8O_3$ 的碎片离子，产生 m/z 409.091 0[M+H- H_2O - $C_8H_8O_3$]⁺ 的碎片离子。结合文献参考^[31]，推测该化合物 21 为原花青素 B₂，可能的裂解途径见图 16。

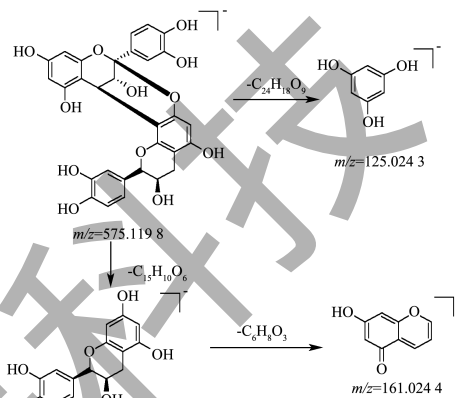


图 14 原花青素 A₂ 可能的裂解途径

Fig.14 Possible fragmentation pathways of procyanidin A₂

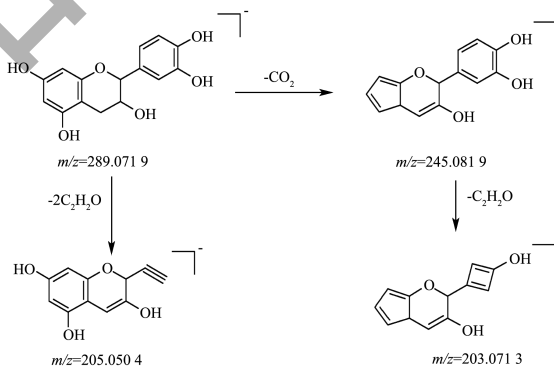


图 15 表儿茶素可能的裂解途径

Fig.15 Possible fragmentation pathways of epicatechin

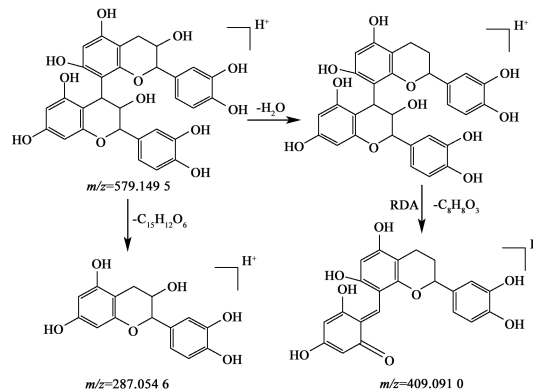


图 16 原花青素 B₂ 可能的裂解途径

Fig.16 Possible fragmentation pathways of procyanidin B₂

2.1.5 含氮类化合物鉴定分析

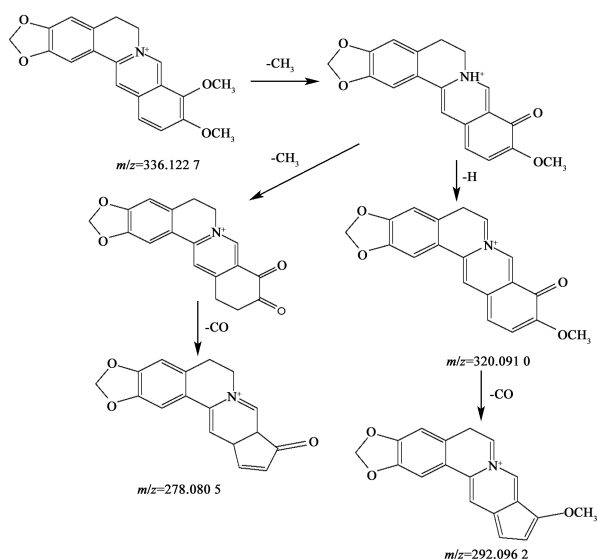


图 17 小檗碱可能的裂解途径

Fig.17 Possible fragmentation pathways of berberine

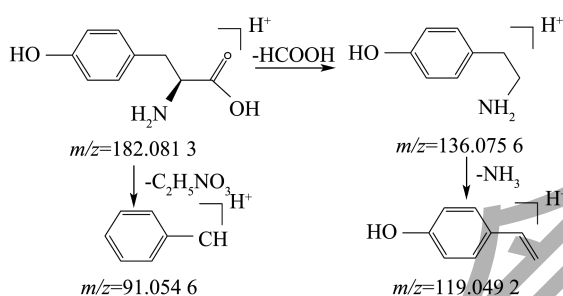


图 18 L-酪氨酸可能的裂解途径

Fig.18 Possible fragmentation pathways of L-tyrosine

含氮类化合物是指含有N元素的一类化合物，其质谱裂解行为主要是失去CO、NH₃、HCOOH的碎片基团^[21]。以化合物23为例，分子式为C₂₀H₁₈NO₄，*t_R*为13.04 min，准分子离子峰为 *m/z* 336.122 7[M]⁺，分子离子峰发生裂解，先后丢失的2个CH₃分子，1个CO分子，得到 *m/z* 278.080 5 [M-2CH₃-CO]⁺的碎片离子。同时 *m/z* 336.122 7 [M]⁺的碎片离子先后脱去1个CH₃分子、1个H原子，产生 *m/z* 320.091 0[M-CH₃-H]⁺的碎片离子，随后继续发生裂解脱去1个CO分子，产生 *m/z* 292.096 2 [M-CH₃-H-CO]⁺的碎片离子。结合文献参考^[33]，推测该化合物23为小檗碱，可能的裂解途径见图17。以化合物24为例，分子式为C₉H₁₁NO₃，*t_R*为1.18 min，准分子离子峰为 *m/z* 182.081 3[M+H]⁺，该碎片离子发生裂解，分别丢失C₂H₅NO₃、HCOOH的碎片基团，分别得到 *m/z* 91.054 6[M+H-C₂H₅NO₃]⁺及 *m/z* 136.075 6

[M+H-HCOOH]⁺的碎片离子。随后 *m/z* 136.075 6 [M+H-HCOOH]⁺的碎片离子继续裂解脱去1个NH₃分子，产生 *m/z* 119.049 2[M+H--HCOOH-NH₃]⁺的碎片离子。结合文献参考^[34]，推测该化合物24为L-酪氨酸，可能的裂解途径见图18。以化合物25为例，分子式为C₉H₁₁NO₂，*t_R*为1.91 min，准分子离子峰为 *m/z* 166.086 2[M+H]⁺，准分子离子峰发生裂解，分别丢失C₂H₅NO₂、HCOOH的碎片基团，分别产生得到 *m/z* 93.070 2[M+H-C₂H₅NO₂]⁺、*m/z* 120.080 9 [M+H-HCOOH]⁺的碎片离子；其次后者碎片离子继续脱去1个NH₃分子，产生 *m/z* 103.054 5[M+H-HCOOH-NH₃]⁺的碎片离子。结合文献参考^[34]，推测该化合物25为L-苯丙氨酸，可能的裂解途径见图19。

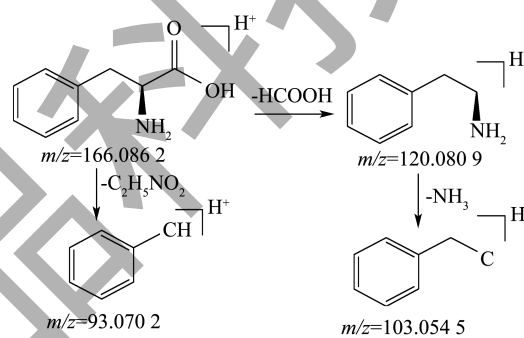


图 19 L-苯丙氨酸可能的裂解途径

Fig.19 Possible fragmentation pathways of L-phenylalanine

2.1.6 其他类别化合物鉴定分析

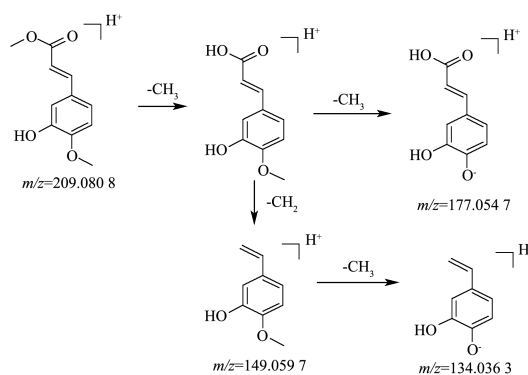


图 20 阿魏酸甲酯可能的裂解途径

Fig.20 Possible fragmentation pathways of Methyl 4-hydroxy-3-methoxycinnamate

以化合物29为例，分子式为C₁₁H₁₂O₄，*t_R*为12.91 min，准分子离子峰为 *m/z* 209.080 8[M+H]⁺，该离子峰发生裂解，先后丢失2个CH₃分子，产生得到 *m/z* 177.054 7[M+H-2CH₃]⁺；准分子离子峰发生裂解，先后丢失1个CH₃分子、1个中性CO₂分子，产生 *m/z* 149.059 7[M+H-CH₃-CO₂]⁺的碎片离子，该

碎片离子继续脱去1个CH₃分子,产生 m/z 134.036 3 [M+H-CH₃-CO₂-CH₃]⁺ 的碎片离子。结合文献参考^[37],推测该化合物29为阿魏酸甲酯,可能的裂解途径见图20。

2.2 荔枝叶不同极性部位对 α -葡萄糖苷酶、 α -淀粉酶抑制率的测定结果

2.2.1 荔枝叶不同极性部位对 α -葡萄糖苷酶的抑制率和IC₅₀测定

不同极性部位对 α -葡萄糖苷酶活性均有一定抑制作用,在本实验的样品质量浓度范围内,呈现一定的量效关系。抑制活性的强弱为乙酸乙酯萃取相>正丁醇萃取相>乙醇提取物>石油醚萃取相>水萃取相,IC₅₀分别为54.50、78.80、116.20、160.00、238.40 $\mu\text{g/mL}$,实验结果见表2。由表1可知,乙酸乙酯萃取相、正丁醇萃取相、乙醇萃取相含有成分多为黄酮类及有机酸类成分。有研究表明黄酮含量与其体外降血糖活性呈显著正相关关系^[39],且黄酮类成分更易溶于乙酸乙酯^[40],黄酮类成分主要富集于乙酸乙酯萃取相,故乙酸乙酯萃取相抑制 α -葡萄糖苷酶活性最强。荔枝叶对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制结果与龙眼叶的体外降血糖实验结果相比,前

者的乙酸乙酯萃取相和正丁醇萃取相较后者的对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制程度弱,前者的水萃取相较后者的对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制程度强^[41]。综上所述,荔枝叶化学成分对 α -葡萄糖苷酶活性具有较好的抑制能力。

2.2.2 荔枝叶不同极性部位对 α -淀粉酶的抑制率和IC₅₀测定

α -淀粉酶对荔枝叶不同极性部位均有一定的敏感度,各个极性部位随着样品质量浓度的增大,抑制 α -淀粉酶活性的作用也逐渐增强,表现为:乙酸乙酯萃取相>正丁醇萃取相>乙醇萃取相>石油醚萃取相>水萃取相,IC₅₀分别为122.20、158.60、231.90、327.40、1 246.00 $\mu\text{g/mL}$,实验结果见表3。同2.2.1项,由表1可得黄酮类成分主要分布在乙酸乙酯萃取相、正丁醇萃取相和乙醇萃取相,黄酮类成分更易富集于乙酸乙酯,且黄酮类成分是体外降血糖活性的主要药效物质^[39,40]。另外荔枝叶与橡子仁萃取物对 α -淀粉酶活性抑制强弱相比,荔枝叶的乙酸乙酯萃取相、正丁醇萃取相、水萃取相对 α -淀粉酶活性抑制程度均比橡子仁同种萃取相对 α -淀粉酶活性的抑制程度强^[42]。由此可得,荔枝叶化学成分对 α -淀粉酶活性具有较好的抑制能力。

表2 荔枝叶不同极性部位对 α -葡萄糖苷酶的抑制率及IC₅₀

Table 2 Inhibitory rate and IC₅₀ of different polar parts of the leaves of *Litchi chinensis* Sonn on α -glucosidase

样品	抑制率/%					IC ₅₀ /($\mu\text{g/mL}$)
	200 $\mu\text{g/mL}$	400 $\mu\text{g/mL}$	600 $\mu\text{g/mL}$	800 $\mu\text{g/mL}$	1 000 $\mu\text{g/mL}$	
乙醇	60.61 ± 0.25	66.84 ± 0.70	70.34 ± 0.41	77.03 ± 1.57	84.55 ± 1.64	116.20
石油醚	55.69 ± 0.98	61.21 ± 0.62	66.20 ± 0.76	72.06 ± 1.00	80.10 ± 0.14	160.00
乙酸乙酯	76.77 ± 0.68	80.08 ± 0.71	86.08 ± 1.80	91.32 ± 0.88	96.26 ± 2.16	54.50
正丁醇	69.68 ± 1.24	74.66 ± 0.79	81.73 ± 0.73	87.58 ± 1.96	91.40 ± 1.43	78.80
水部位	50.16 ± 0.23	53.10 ± 0.71	60.55 ± 0.35	65.34 ± 1.05	70.88 ± 1.21	238.40
阿卡波糖	85.20 ± 0.35	89.54 ± 0.75	93.62 ± 0.50	94.80 ± 1.98	99.82 ± 2.20	3.80

表3 荔枝叶不同极性部位对 α -淀粉酶的抑制率及IC₅₀

Table 3 Inhibition rate and IC₅₀ of different polar parts of the leaves of *Litchi chinensis* Sonn on α -amylase

样品	抑制率/%					IC ₅₀ /($\mu\text{g/mL}$)
	200 $\mu\text{g/mL}$	400 $\mu\text{g/mL}$	600 $\mu\text{g/mL}$	800 $\mu\text{g/mL}$	1 000 $\mu\text{g/mL}$	
乙醇	49.68 ± 1.09	58.08 ± 0.32	61.37 ± 1.30	70.36 ± 0.54	79.18 ± 0.70	231.90
石油醚	39.37 ± 0.20	55.86 ± 0.78	59.93 ± 0.68	68.37 ± 0.30	76.95 ± 0.56	327.40
乙酸乙酯	60.33 ± 0.24	70.21 ± 0.16	76.34 ± 0.58	79.68 ± 0.04	86.44 ± 0.20	122.20
正丁醇	55.37 ± 1.36	68.74 ± 0.37	71.98 ± 0.46	78.69 ± 0.10	85.15 ± 0.97	158.60
水部位	23.77 ± 1.87	27.57 ± 0.70	37.10 ± 0.66	42.92 ± 1.35	46.85 ± 1.16	1246.00
阿卡波糖	70.43 ± 1.61	81.60 ± 0.58	88.13 ± 0.49	91.72 ± 0.80	98.62 ± 0.94	5.50

3 结论

本研究首先利用 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 的技术、通过对照品比对及结合主要碎片离子信息、参考文献等从荔枝叶乙醇提取物中鉴定出 11 个化合物, 乙酸乙酯萃取相 10 个, 石油醚萃取相 6 个, 正丁醇萃取相 18 个, 水萃取相 1 个和水煎液提取物 3 个化合物; 其中没食子酸、右旋奎宁酸在乙醇萃取相、石油醚萃取相、正丁醇萃取相中都有发现。乙醇萃取相、乙酸乙酯萃取相和正丁醇萃取相中发现了 3 个共有成分(山柰苷、山柰酚-7-O- β -D-葡萄糖苷、表儿茶素)。山柰酚为 4 种有机溶剂萃取相共有化合物。揭示了黄酮及其苷类化合物、原花青素类、含氮类、香豆素类、糖苷类、有机酸类化合物为荔枝叶的化学物质基础。

其次, 本文以 α -葡萄糖苷酶、 α -淀粉酶为研究对象比较荔枝叶各不同极性部位体外降血糖活性的强弱, 实验结果均显示乙酸乙酯萃取相的体外抑制两种酶是最强, IC_{50} 分别为 54.50、122.20 $\mu\text{g/mL}$ 。其次是正丁醇萃取相, IC_{50} 各为 78.80、158.60 $\mu\text{g/mL}$, 最弱的部位则是水萃取相, IC_{50} 分别为 238.40、1 246.00 $\mu\text{g/mL}$ 。初步阐明原儿茶酸、木犀草苷、表儿茶素、山柰酚等成分可能是荔枝叶乙酸乙酯萃取相发挥体外降血糖活性作用的药效物质基础。此外, 荔枝叶不同极性部位的体内降血糖药效结果与体外药效结果是否一致, 后期还需要通过实验进一步探究。

本实验的结果对于揭示荔枝叶降血糖的药效物质基础提供了一定的科学依据, 这些为后续荔枝叶的质量控制研究及不同极性部位的进一步深入研究奠定了前期基础。

参考文献

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会编. 中华本草 13 卷[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 119.
- [2] 陈厚彬, 苏钻贤. 2021 年全国荔枝生产形势分析[J]. 中国热带农业, 2021, 2: 5-18.
- [3] 黄绍军. 荔枝叶化学成分的研究[D]. 桂林: 广西师范大学, 2005.
- [4] 温玲蓉. 荔枝叶活性成分鉴定及其生物活性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2013.
- [5] BASRA S E, SHARMA R M, GOMES A. Antiinflammatory effect of petroleum ether extract of leaves of *Litchi chinensis* Gaertn. (Sapindaceae) [J]. Journal of Ethnopharmacology, 1996, 54(1): 1-6.
- [6] 陈箭. 松针荔枝叶袋泡茶及其加工方法: 中国, CN201310524827[P]. 2014-03-05.
- [7] SRIVASTAVA V, VISWAKARMA B, DEEP P, et al. A phytopharmacological review of *Litchi chinensis* [J]. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 2018, 51(1): 58-65.
- [8] JARALD E, JOSHI S B, JAIN D C. Diabetes and herbal medicines [J]. Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics, 2008, 7(1): 97-106.
- [9] 沈威. 柑橘黄酮对血糖的调节及其作用机制研究[D]. 上海: 华东理工大学, 2013.
- [10] 林宝妹, 洪佳敏, 邱珊莲, 等. 嘉宝果果皮提取物体外降糖活性研究[J]. 南方农业学报, 2020, 51(2): 376-384.
- [11] CHINENVE S, YOUNG E E. Isolated postprandial hyperglycemia in type 2 diabetic patients in a nigerian tertiary health center [J]. Indian Journal of Endocrinology and Metabolism, 2012, 16(4): 604-608.
- [12] 李丹, 李爱平, 李科, 等. 液质联用技术在中药化学成分定性分析中的研究进展[J]. 药物评价研究, 2020, 43(10): 2112-2119.
- [13] 龚凌霄, 曹文燕, 张英, 等. 青稞麸皮提取物抑制 α -葡萄糖苷酶活性研究及成分分析[J]. 食品科学, 2017, 38(6): 179-184.
- [14] 伍城颖, 吴启南, 王红, 等. 茨种皮多酚提取物体外抑制 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶活性研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(16): 91-94, 99.
- [15] 韦玮, 张萌, 周江煜, 等. UPLC-Q-Exactive 四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱联用快速分析瑶药黄红钻的成分[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2020, 22(11): 3928-3935.
- [16] 任慧, 崔小敏, 胡静, 等. 秦岭岩白菜根茎化学成分的 UHPLC-Q Exactive Focus MS/MS 分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(9): 118-128.
- [17] 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.
- [18] 郑娟梅, 王海波, 郑美玲, 等. UPLC-Q-Orbitrap HRMS 四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪在复方扶芳藤合剂中的定性应用[J]. 药物分析杂志, 2020, 40(5): 889-899.
- [19] 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.
- [20] 于雪娥, 秦建平, 李家春, 等. 基于 UPLC/Q-TOF-MS/MS 技术快速分析淫羊藿总黄酮胶囊中的化学成分[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(24): 4587-4597.
- [21] 黄光强, 梁洁, 韦金玉, 等. 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[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(6): 127-138.
- [22] 李伟, 冯育林, 黎田儿, 等. UPLC-Q-TOF/MS 技术结合诊

- 断离子方法快速分析连钱草中黄酮类化合物[J]. 质谱学报, 2016, 37(6): 504-516.
- [23] 雒晓梅, 宿美凤, 常晓燕, 等. 基于LC-MS联用的杜仲主要化学成分定性及定量分析[J]. 中国现代中药, 2019, 21(8): 1029-1040.
- [24] 石典花, 戴衍朋, 王丽凤, 等. 基于UHPLC-QTOF-MS/MS辨识的侧柏叶炒炭前后化学成分分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(8): 107-116.
- [25] 孟晓伟, 朱清, 张妮, 等. 基于UPLC-Q-TOF-MS/MS技术快速鉴定降香中化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(10): 107-118.
- [26] 郭顺悦. 红花蜜和五倍子蜜中特征性成分鉴定及指纹图谱建立[D]. 北京: 中国农业科学院, 2020.
- [27] 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]. Journal of Aoc International, 2017, 100(6): 1700-1705.
- [28] 杨放晴, 何丽英, 杨丹, 等. 不同陈化时间广陈皮中黄酮类成分的UPLC-Q-Orbitrap HRMS分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(12): 125-132.
- [29] 姬瑞芳, 全庆华, 郭晓宇, 等. UPLC-LTQ-Orbitrap-MS法快速分析鬼箭羽中的化学成分[J]. 质谱学报, 2018, 39(5): 540-551.
- [30] 肖观林, 江洁怡, 李素梅, 等. 基于UPLC-Q-TOF-MS/MS技术的布渣叶化学成分分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(3): 138-148.
- [31] 王晴, 卢志威, 刘月红, 等. UPLC-Q-TOF/MS-E结合诊断离子过滤方法快速分析大黄中酚类成分[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(10): 1922-1931.
- [32] 张玉, 董文婷, 霍金海, 等. 基于UPLC-Q-TOF-MS技术的广地龙化学成分分析[J]. 中草药, 2017, 48(2): 252-262.
- [33] 霍志鹏, 王玉, 周水平, 等. 黄连生物碱成分的HPLCDADMS分析[J]. 天津药学, 2016, 28(2): 8-12.
- [34] 陈宏昌, 魏文峰, 霍金海, 等. UPLC-Q-TOF-MS/MS分析刺五加叶的化学成分[J]. 中药材, 2016, 39(7): 1536-1540.
- [35] INAMADUGU J K, DAMARAMADUGU R, MULLANGI R, et al. Simultaneous determination of niacin and its metabolites-nicotinamide, nicotinuric acid and N-methyl-2-pyridone-5-carboxamide-in human plasma by LC-MS/MS and its application to a human pharmacokinetic study [J]. Biomedical Chromatography, 2010, 24(10): 1059-1074.
- [36] 秦伟瀚, 阳勇, 李卿, 等. 基于UPLC-Q-TOF-MS分析尼泊尔产虫草化学成分[J]. 中国新药杂志, 2019, 28(13): 1574-1581.
- [37] 李郭帅, 马阳, 耿婷, 等. UPLC-Q-TOF-MS/MS分析复方南星止痛膏化学成分[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(2): 298-307.
- [38] 施怀生, 毕小凤, 史宪海. UPLC-Q-Exactive四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱联用分析黄芪根及其茎叶中黄酮和皂苷类成分[J]. 世界中西医结合杂志, 2018, 13(3): 357-361, 365.
- [39] 李榕娣, 庄远杯, 魏爱红, 等. 不同蕨菜制品醇提物体外抗氧化及降血糖活性研究[J]. 食品工业科技, 2021, 42(19): 56-63.
- [40] 苏新芳, 闫晓荣, 闫桂琴. 接骨木叶黄酮提取工艺及体外抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(16): 242-247.
- [41] 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.
- [42] 梁宗瑶, 魏园园, 任维维, 等. 橡子仁萃取物成分分析及对 α -淀粉酶、 α -葡萄糖苷酶的抑制作用[J]. 食品工业科技, 2021, 42(17): 47-55.