

基于 HPLC-Q-TOF-MS 鉴定杜仲不同部位中化学成分及其降血糖活性研究

盛益华¹, 王 洪², 李思迪¹, 吴一振², 向 晟³, 张罗琴⁴, 李 萍⁴, 李中正^{4*}

1. 吉首大学药学院, 湖南 吉首 416000

2. 湘西土家族苗族自治州民族中医院 药剂科, 湖南 吉首 416000

3. 湘西土家族苗族自治州民族医药研究所, 湖南 吉首 416000

4. 吉首大学医学, 湖南 吉首 416000

摘要: 目的 研究杜仲 *Eucommia ulmoides* 不同部位提取物中的主要成分, 并对其降血糖活性进行研究, 阐明其降血糖的药效物质基础。方法 基于 HPLC-Q-TOF-MS 技术研究杜仲中主要类型化合物的质谱裂解规律, 基于质谱裂解规律结合质谱挖掘技术对杜仲不同部位提取物中的活性成分进行系统鉴定, 并基于糖尿病小鼠模型对杜仲不同部位提取物及主要成分降血糖活性进行评价。结果 阐明了杜仲中环烯醚萜、呋喃型木脂素、黄酮及多酚类化合物的质谱裂解规律, 构建了杜仲植株中化合物的挖掘方法, 从杜仲的皮、叶、枝、根中共鉴定了 60 个化合物, 包括环烯醚萜类化合物 17 个、呋喃型木脂素类化合物 13 个、黄酮类化合物 18 个、多酚类化合物 10 个、其他类型化合物 2 个。其中 25 个化合物首次在杜仲中报道。杜仲枝提取物及其主要成分(化合物 27, 京尼平苷)表现出显著的降血糖活性, 使小鼠血糖水平从最初的 (26.33 ± 0.57) 、 (25.34 ± 0.24) mmol/L 分别下降到 (20.56 ± 1.23) 、 (21.56 ± 1.56) mmol/L。杜仲枝提取物及化合物 27 还能改善糖尿病引起的多饮、多食及体重减轻的症状。结论 环烯醚萜、呋喃型木脂素、黄酮及多酚类化合物为杜仲中主要成分, 且杜仲枝提取物及其主要成分-京尼平苷具有显著的降血糖活性, 具有开发成为降血糖药物的潜力。

关键词: 杜仲; 降血糖活性; HPLC-Q-TOF-MS; 质谱裂解规律; 京尼平苷; 环烯醚萜; 呋喃型木脂素

中图分类号: R284.1; R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)19-6228-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.19.005

Identification of chemical components in different parts of *Eucommia ulmoides* by HPLC-Q-TOF-MS and investigation of its hypoglycemic activities

SHENG Yi-hua¹, WANG Hong², LI Si-di¹, WU Yi-zhen², XIANG Sheng³, ZHANG Luo-qin⁴, LI Ping⁴, LI Zhong-zheng⁴

1. College of Pharmaceutical Sciences, JiShou University, Jishou 416000, China

2. Department of Pharmacy, Minzu Hospital of Xiangxi Tujia and Miao Autonomous Prefecture, Jishou 416000, China

3. Institute of Ethnic Medicine Research, Xiangxi Tujia and Miao Autonomous Prefecture, Jishou 416000, China

4. Medical College of Jishou University, Jishou 416000, China

Abstract: Objective To identify the chemical constituents in extracts from different parts of *Eucommia ulmoides* and investigate its hypoglycemic activities. **Methods** High performance liquid chromatography-tandem quadrupole time-of-flight mass spectrometry (HPLC-Q-TOF-MS) was applied to profile the mass fragmentation pattern of chemical constituents in *E. ulmoides*, and the active ingredients in extracts from different parts of *E. ulmoides* were identified based on the well-established mass fragmentation pattern combined with mass spectrometry mining technology. The main identified components in extracts from different parts of *E. ulmoides* were evaluated for the hypoglycemic effect in a hyperglycemia mouse model. **Results** The mass fragmentation pathways of iridoids, furanoid lignans, flavonoids and polyphenols in *E. ulmoides* were clarified to establish the mining technology of compounds in *E. ulmoides*. Sixty compounds, including 17 iridoids, 13 furanoid lignans, 18 flavonoids, ten polyphenols, and two others, were identified or tentatively characterized from the roots, stems, leaves and bark of *E. ulmoides*. A total of 25 compounds

收稿日期: 2023-04-15

基金项目: 杜仲综合利用技术国家地方联合工程实验室开放项目(NLE201608)

作者简介: 盛益华, 博士, 讲师, 硕士生导师, 主要从事中药药效物质基础与保健食品研究。E-mail: shengyihua2000@163.com

*通信作者: 李中正, 博士, 副教授, 硕士生导师, 主要从事中药药效物质基础与作用机制研究。E-mail: 397182163@163.com

were reported for the first time. The dominant component from the twig extract, geniposide, exhibited significant hypoglycemic activity by lowering blood glucose levels from (26.33 ± 0.57) and (25.34 ± 0.24) mmol/L to (20.56 ± 1.23) and (21.56 ± 1.56) mmol/L, respectively. Diabetes-related symptoms, such as polydipsia, polyphagia, and weight loss, were alleviated after administering geniposide and the total twig extract. **Conclusion** Iridoids, furanoid lignans, flavonoids and polyphenols are the main components of *E. ulmoides*. The extract of *E. ulmoides* twig and its main component, geniposide, have significant hypoglycemic activity, providing further insights into their potential as bioactive hypoglycemic components.

Key words: *Eucommia ulmoides* Oliv.; hypoglycemic activity; HPLC-Q-TOF-MS/MS; fragmentation pathways; geniposide; iridoids; furanoid lignans

杜仲 *Eucommia ulmoides* Oliv. 为杜仲科杜仲属多年生植物, 其干燥树皮(杜仲皮)是我国名贵滋补中药材, 具有强肝肾、补筋骨的功效, 用于治疗肝肾不足、筋骨酸软, 《神农本草经》将杜根列为滋补上品^[1-2]。现代药理学与医学研究表明杜仲具有抗骨质疏松、增强机体免疫力、降血糖、调血脂、抗衰老、抗氧化、预防血管硬化、防癌抗癌与降血压等功效^[3-6]。杜仲中环烯醚萜类、绿原酸类、多酚类、黄酮类化合物及多糖类化合物为其发挥活性的物质基础^[7]。在民间, 杜仲叶泡水用于辅助降血糖, 现代药理学也证明了杜仲具有一定的降血糖效果^[8-9], 但是对于杜仲不同部位降血糖活性的比较研究及其降血糖活性成分的研究鲜见报道。本研究首先利用 HPLC-Q-TOF-MS 技术对杜仲不同部位的化学成分进行分析, 鉴定出主要成分, 然后对杜仲不同部位提取物及其主要成分降血糖活性进行研究, 初步阐明杜仲降血糖的活性部位及降血糖的药效物质基础。

1 材料

1.1 仪器

1290 型超高液相色谱-6540 四级杆质谱联用仪(安捷伦科技有限公司, 美国); Milli-Q Advantage A10 系统(美国 MILLIPORE 公司); SKP-3150 型粉碎机(SHIMONO, 中国); AR2140 型电子天秤(OHAUS Corp, 美国); Holdolph 旋转蒸发仪(Holdolph, 德国); GHP-9160 型烘箱(上海恒一精密仪器有限公司); 血糖仪及试纸(稳择易型, 上海强生医疗器械有限公司)。

1.2 药物与试剂

本研究共使用 8 个对照品用于研究杜仲中化合物的质谱裂解规律及降血糖活性, 包括京尼平苷酸(批号 1244)、京尼平苷(批号 8598)、松脂醇二葡萄糖苷(批号 8944)、绿原酸(批号 3478)、芦丁(批号 5689)、槲皮素(批号 9614)、黄芩素(批号 7683)和咖啡酸(批号 8792), 均购买于上海诗

丹德生物技术有限公司, 质量分数均 $\geq 98\%$ 。链脲佐菌素(质量分数 $> 99\%$, 批号 18822-64-6)购买于大连美伦生物技术有限公司, 阿卡波糖(质量分数 $\geq 95\%$, 批号 S30N12T105698)购买于上海源叶生物科技有限公司, 分析用的乙腈和甲酸(色谱纯)均购自国药集团化学试剂有限公司。

1.3 样品

20 棵杜仲植株的根、茎、叶和皮采集于湖南省慈利县农户杜仲种植园, 杜仲植株由湘西土家族苗族自治州民族中医院药剂科王洪副主任中药师所鉴定为杜仲科植物杜仲 *E. ulmoides* Oliv.。

1.4 实验动物

SPF 级昆明小鼠购买于湖南斯莱克景达实验动物有限公司, 使用许可证号: SCXK(湘)2019-0004。小鼠饲养于洁净动物房, 饲养温度为 $20 \sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, 相对湿度保持在 $50\% \sim 70\%$, 12 h 光照与黑夜循环, 实验期间动物自由饮水进食。该实验由吉首大学生物医学伦理委员会批准实施(JSDX-2023-0001)。

2 方法

2.1 杜仲提取物的制备

将采集的杜仲植株根、茎、叶和皮于 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘箱中干燥(每个部位鲜质量约 2 kg), 干燥完成后使用粉碎机将样品打成粉末, 分别加入 5 L 70%乙醇溶液回流提取杜仲根、茎、叶和皮(粉末), 提取时间为 60 min, 提取完成后将药渣和提取液分离, 减压回收提取液中的溶剂, 获得流状浸膏, 浸膏冷冻干燥后备用。

2.2 对照品溶液的配制

精密称取对照品各 10.00 mg, 准确加入 10 mL 甲醇溶液, 超声溶解, 溶液过 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜, 部分过膜溶液转入液相小瓶中用于杜仲中化合物的质谱裂解规律研究。

2.3 供试品溶液的配制

精密称取干燥后的杜仲各部位提取物各 10.00

mg, 准确加入 10 mL 甲醇溶液, 超声溶解, 溶液过 0.22 μm 微孔滤膜, 部分过膜溶液转入液相小瓶中用于杜仲中化合物的结构鉴定。

2.4 色谱与质谱条件

2.4.1 液相色谱条件 Agilent Zorbax SB-C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 0.1%甲酸水 (A)-0.1%甲酸乙腈 (B) 为流动相, 梯度洗脱 (0~10 min, 5%~29% B; 10~24 min, 29%~59% B; 24~30

min, 59%~90% B); 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长 254 nm; 体积流量 0.3 mL/min; 进样量 3 μL 。

2.4.2 质谱条件 ESI 离子源, 采用负离子检测模式; 干燥气温度 300 $^{\circ}\text{C}$; 干燥气体积流量 8 L/min; 雾化气压力 379.2 kPa; 鞘气温度 350 $^{\circ}\text{C}$; 鞘气体积流量 12 L/min; 毛细管电压 3500 V; 锥孔电压 100 V; 扫描范围 m/z 100~1200; 二级裂解电压为 5~30 eV。杜仲不同部位总离子流图见图 1。

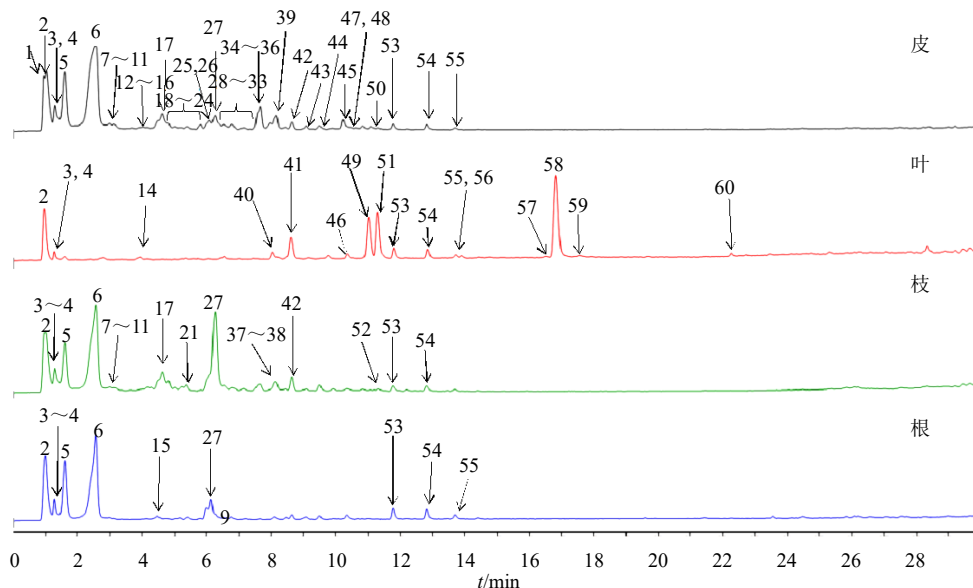


图 1 杜仲不同部位 (皮、叶、枝和根) 的总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatograms of barks, leaves, twigs and roots of *E. ulmoides*

2.5 杜仲提取物中化合物的鉴定方法

杜仲中含有大量的化合物, 并且在质谱分析的过程中, 复杂的基质影响着化合物的响应与鉴定, 为了尽可能地鉴定杜仲提取物中的代谢产物, 本研究采用 2 种方法对杜仲提取物中主要代谢产物进行鉴定。方法 1: 非靶向方法, 将杜仲提取物总离子流图中所有高丰度的化合物选定, 做出其二级质谱, 基于质谱裂解规律及其二级质谱对化合物的结构进行鉴定^[10-12]。方法 2: 精准靶向方法, 将杜仲植株中目前报道的化合物进行总结, 然后将这些已经报道的化合物的精确相对分子质量在杜仲提取物的总离子流图中进行搜索, 如果存在精确相对分子质量, 则做出其二级质谱, 判断其结构是否与二级质谱相符从而初步确定其结构^[13-14]。

2.6 体内降血糖活性研究

2.6.1 糖尿病小鼠模型的构建及分组、给药 选取昆明小鼠 100 只 (体质量 20~24 g), 小鼠适应性喂养 1 周, 更换高脂饲料饲养 30 d, 除空白组以

外, 其余 90 只小鼠 ip 链脲佐菌素 80 mg/kg, 空白组 ip 等体积的蒸馏水, 连续 ip 3 d。ip 后第 3 天测定小鼠空腹血糖, 空腹血糖 < 11.1 mmol/L 的小鼠需按小鼠体质量补 ip 30 mg/kg 链脲佐菌素溶液, 第 7 天再次测定小鼠空腹血糖, 空腹血糖 > 11.1 mmol/L 且 < 33.3 mmol/L 的小鼠即为造模成功。将造模成功的小鼠分别按体质量和空腹血糖浓度分为 7 组, 分别为模型组、阳性对照组 (阿卡波糖)、杜仲皮提取物组、杜仲叶提取物组、杜仲枝提取物组、杜仲根提取物组和化合物 27 组, 每组 10 只。空白组和模型组每日 ig 蒸馏水, 阳性对照组每日 ig 阿卡波糖 (100 mg/kg), 给药组给予相应的药液 (根据先前的研究^[15], 阳性对照药阿卡波糖在 100 mg/kg 具有显著的降血糖活性, 为了将杜仲不同部位提取物降血糖活性与阳性对照药进行比较, 将 4 组提取物的剂量设置为 100 mg/kg。化合物 27 的给药剂量设置为 50 mg/kg), 连续给药 28 d, 分别在 0、7、14、21、28 d 时测定各组小鼠的空腹血糖。

2.6.2 小鼠饮水量测定 各组小鼠的饮水量测定从给药的第 1 天开始到第 4 周第 7 天结束, 每日将各组小鼠饮水瓶补满至 200 mL, 24 h 后取回测定瓶中的剩余水的体积, 并通过公式计算小鼠每日饮水量。

饮水量=(初始水量-剩余水量)/小鼠体质量

2.6.3 小鼠采食量测定 各组小鼠从给药的第 1 天开始到第 4 周第 7 天结束, 以小鼠每日采食量为基准, 每日补充一定量的高脂饲料, 24 h 后称取剩余饲料质量, 并通过下列公式计算小鼠每日采食量。

采食量=(初始饲料质量-剩余饲料质量)/小鼠体质量

3 结果

3.1 环烯醚萜类化合物的结构鉴定

3.1.1 裂解规律研究 此类化合物的质谱裂解主要有 3 条途径^[16-17]。第一, 当化合物为环烯醚萜苷时, 化合物在质谱中会丢失所有的糖, 从而形成高丰度的骨架离子。京尼平苷酸(化合物 6, m/z 373.113 8 $[M-H]^-$)和京尼平苷(化合物 27, m/z 433.139 1 $[M+HCOO]^-$)均为环烯醚萜苷类化合物, 在其二级质谱中, 会丢失葡萄糖基从而形成 m/z 211.062 2 和 225.076 3 的环烯醚萜骨架碎片离子(图 2-A、B)。第二, 中性丢失小分子基团, 如 H_2O 和 CO_2 等; 在京尼平苷酸和京尼平苷的二级质谱中, 碎片离子 m/z 193.050 2 和 207.064 3 则是由母离子 m/z 211.062 2 和 225.076 3 分别中性失去 1 分子 H_2O 而形成。在京尼平苷酸的结构式中存在 1 个羧基, 则在其二级质谱中, 会丢失 1 分子 CO_2 而形成 m/z 167.072 0 的碎片离子(图 2-A、B)。第三, 骨架会发生 RDA 裂解从而形成高丰度的碎片离子。在京尼平苷酸和京尼平苷的二级质谱中, 碎片离子 m/z 123.045 8 和 123.044 8 则是由 RDA 裂解所形成。

3.1.2 杜仲提取物中环烯醚萜类化合物的结构鉴定 根据环烯醚萜类化合物的质谱裂解规律及化合物的二级质谱, 化合物 1、2、4~6、9、10、12~14、19~21、23、27、29 和 32 被鉴定为环烯醚萜类化合物。以化合物 4 为例来说明环烯醚萜类化合物的结构鉴定。在化合物 4 的二级质谱中, 母离子 m/z 389.109 6 会失去 1 分子葡萄糖基从而形成 m/z 227.058 1 的母核碎片离子, 说明化合物 4 的结构中存在葡萄糖基。母核碎片离子会继续分别丢失 1 分子 H_2O 和 CO_2 从而形成 m/z 209.047 3 和 183.066 8 的碎片离子, 说明化合物 4 的结构中存在羟基(-OH)及羧基(-COOH)。化合物 4 的二级质谱和京尼平苷酸(6)的二级质谱裂解方式非常相似, 化

合物 4 (m/z 389.109 6)和京尼平苷酸(m/z 373.113 8) m/z 的差值为 15.995 8, 说明化合物 4 比京尼平苷酸多 1 个羟基(-OH)。化合物 4 二级质谱中存在 m/z 139.041 6 的碎片离子说明羟基可能存在于化合物 4 的 6 位。综上所述, 化合物 4 被初步鉴定为 6-羟基京尼平苷酸(图 3-A), 此化合物在杜仲中首次被报道。通过相同的方式, 化合物 1、2、5~6、9、10、12~14、19~21、23、27、29 和 32 被鉴定为环烯醚萜类化合物, 其质谱信息见表 1。

3.2 呋喃型木脂素类化合物的结构鉴定

3.2.1 裂解规律研究 此类化合物的质谱裂解主要有 2 条途径^[18-19]。第一, 当化合物为呋喃型木脂素苷时, 化合物在质谱中会丢失所有的糖, 从而形成高丰度的骨架离子。松脂醇二葡萄糖苷(化合物 34, m/z 727.245 5 $[M+HCOO]^-$)结构式中含有 2 分子葡萄糖, 在其二级质谱中, 会逐步地丢失葡萄糖基从而形成 m/z 519.187 2 和 357.134 3 的碎片离子(图 2-C)。第二, 呋喃型木脂素中的呋喃环会发生裂解从而形成特征性的碎片离子, 在松脂醇二葡萄糖苷的二级质谱中, 特征性的碎片离子 m/z 151.040 5 则是由母核离子 m/z 357.134 3 中的呋喃环裂解所形成。

3.2.2 杜仲提取物中呋喃型木脂素类化合物的结构鉴定 根据呋喃型木脂素类化合物的质谱裂解规律及化合物的二级质谱, 化合物 22、26、28、30、31、34、35、38、39、42、47、50 和 52 被鉴定为呋喃型木脂素类化合物。以化合物 39 为例来说明呋喃型木脂素类化合物的结构鉴定。在化合物 39 的二级质谱中, 母离子 m/z 757.239 2 ($[M+HCOO]^-$)会连续失去 2 分子葡萄糖基从而形成 m/z 387.146 2 的母核碎片离子, 说明化合物 39 的结构中存在 2 分子葡萄糖基。母核碎片离子会继续发生裂解从而形成 m/z 151.041 6 的特征性碎片离子, 说明化合物 39 为呋喃型木脂素类化合物。化合物 39 的二级质谱和松脂醇二葡萄糖苷(34)的二级质谱裂解方式非常相似, 化合物 39 (m/z 387.146 2)和松脂醇二葡萄糖苷(m/z 357.134 3)母核离子的质荷比的差值为 30.011 9, 说明化合物 39 的母核比松脂醇二葡萄糖苷的母核多 1 个甲氧基(-OCH₃)。综上所述, 化合物 39 被初步鉴定为表松脂醇二葡萄糖苷(图 3-B)。通过相似的方法, 化合物 22、26、28、30、31、34、35、38、42、47、50 和 52 被鉴定为呋喃型木脂素类化合物, 其质谱信息见表 1。

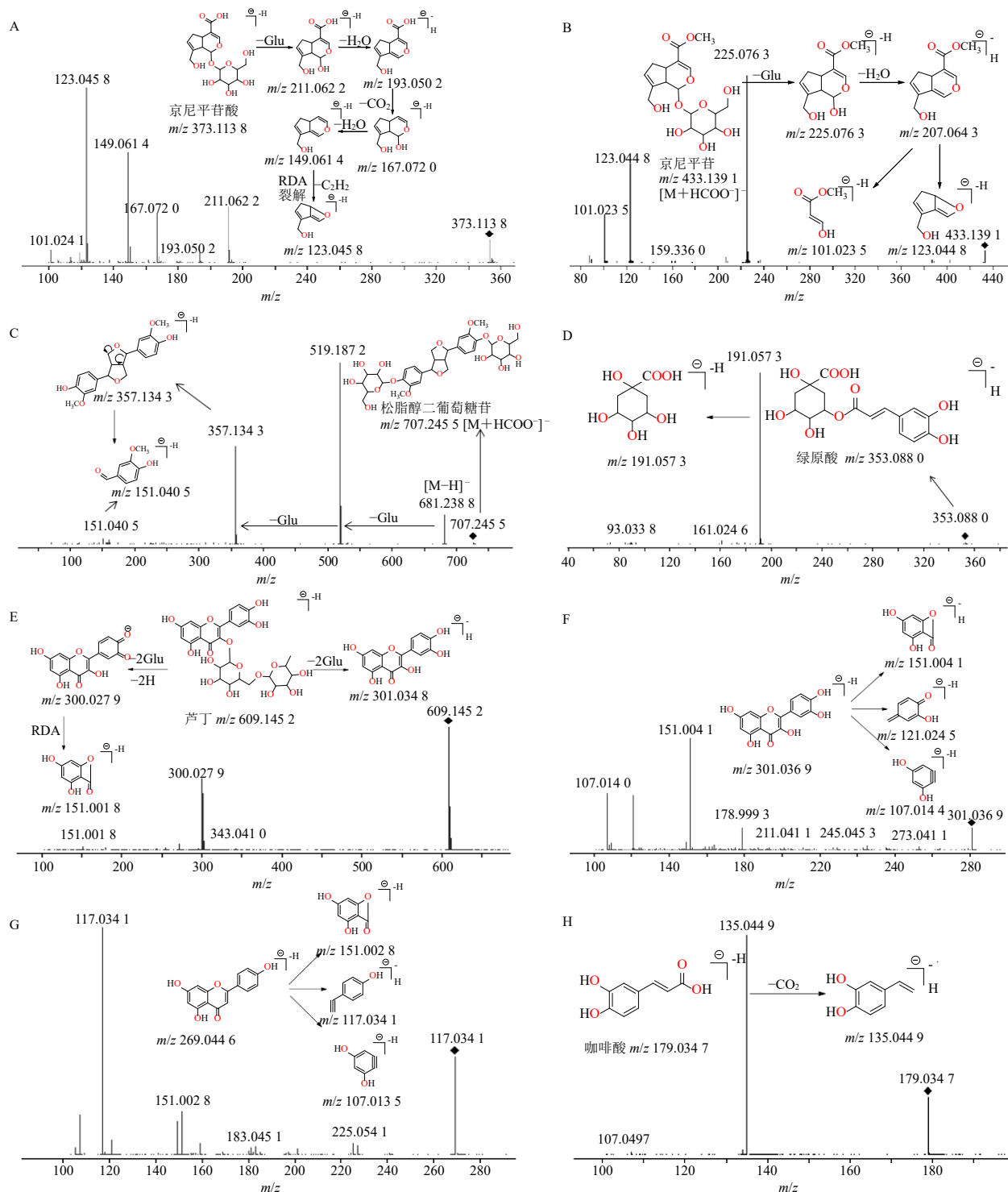


图2 京尼平苷酸 (A)、京尼平苷 (B)、松脂醇二葡萄糖苷 (C)、芦丁 (D)、槲皮素 (E)、芹菜素 (F)、绿原酸 (G) 和咖啡酸 (H) 的二级质谱及其质谱裂解模式

Fig. 2 Fragmentation pathways and corresponding MS/MS spectra of geniposidic acid (A), geniposide (B), pinoresinol diglucoside (C), rutin (D), quercetin (E), apigenin (F), chlorogenic acid (G) and caffeic acid (H)

3.3 黄酮类化合物的结构鉴定

3.3.1 质谱裂解规律研究 此类化合物的质谱裂解主要有2条途径。第一、当化合物为黄酮苷时，化

合物在质谱中会丢失所有的糖，从而形成高丰度的骨架离子。芦丁(化合物 **45**, m/z 609.1452 $[M-H]^-$) 为黄酮类化合物，在其二级质谱中，会丢失葡萄糖

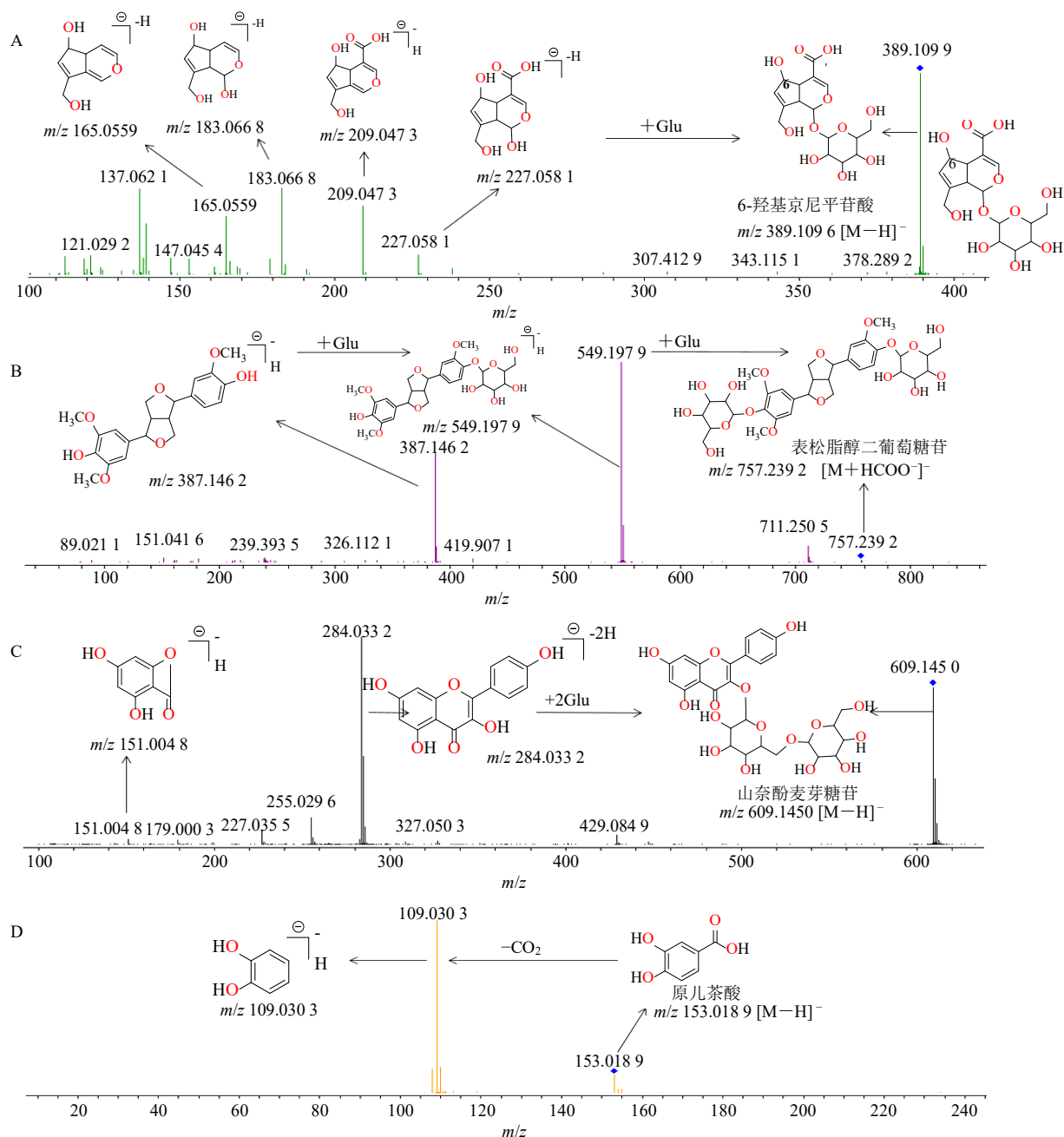


图 3 6-羟基京尼平苷酸 (A)、表松脂醇二葡萄糖苷 (B)、山奈酚麦芽糖苷 (C) 和原儿茶酸 (D) 的二级质谱及结构鉴定
 Fig. 3 Structure identification of 6-hydroxyl-geniposidic acid (A), methoxyl-pinoresinol diglucoside (B), kaempferol maltoside (C) and protocatechuic acid (D) based on their MS/MS spectra

和鼠李糖基从而形成高丰度的 m/z 300.027 9 的骨架碎片离子 (图 2-D) [13]。第二、杜仲中黄酮类化合物会发生 C-环的裂解从而形成一系列的高丰度的特征性碎片离子。在槲皮素 (m/z 301.036 9 [M-H]⁻) 和芹菜素 (化合物 58, m/z 269.044 6 [M-H]⁻) 的二级质谱中, 碎片离子 m/z 151.000 0、121.024 5、117.034 1 和 107.010 0 则是由母离子的 C-环的裂解从而形成一系列的高丰度的特征性碎片离子 (图

2-E、F) [13]。

3.3.2 杜仲提取物中黄酮类化合物的结构鉴定
 根据黄酮类化合物的质谱裂解规律及化合物的二级质谱, 化合物 36、40、41、43~46、48~49、51 和 53~60 被鉴定为黄酮类化合物。以化合物 41 和 45 为例来说明杜仲中黄酮类化合物的结构鉴定。化合物 41 (m/z 609.145 0) 和 45 (m/z 609.145 7) 为同分异构体, 化合物 45 通过与对照品比对保留

表 1 基于 HPLC-Q-TOF-MS 鉴定杜仲中的化学成分

Table 1 Phytochemical compounds identified in *E. ulmoides* by HPLC-Q-TOF-MS

编号	<i>t_R</i> /min	[M-H] ⁻ (<i>m/z</i>)	误差 (×10 ⁻⁶)	分子式	MS/MS (<i>m/z</i>)	存在部位	化合物鉴定
1 [*]	0.96	341.123 25	-0.3	C ₁₆ H ₂₂ O ₈	179.057 8, 143.035 6, 119.034 9	皮	新杜仲苷
2 [*]	1.05	373.113 3	-0.5	C ₁₆ H ₂₂ O ₁₀	211.061 7, 149.060 1, 123.048 7	皮、叶、枝、根	异京尼平苷酸
3 [*]	1.27	191.050 6	-5.2	C ₇ H ₁₂ O ₆	129.016 4, 111.008 8	皮、叶、枝、根	奎宁酸
4 [*]	1.29	389.109 6	3.1	C ₁₆ H ₂₂ O ₁₁	227.058 1, 209.047 3, 183.066 8, 165.055 9	皮、叶、枝、根	6-羟基京尼平苷酸
5	1.62	391.126 5 ^a	6.1	C ₁₅ H ₂₂ O ₉	345.123 5, 183.065 7, 165.053 8, 139.039 1	皮、叶、枝、根	桃叶珊瑚苷
6 ⁱⁱ	2.51	373.112 3	-3.2	C ₁₆ H ₂₂ O ₁₀	211.063 1, 167.072 0, 149.061 8, 123.045 7	皮、枝、根	京尼平苷酸
7	2.76	153.018 9	0.6	C ₇ H ₆ O ₄	109.030 3	皮、枝、根	原儿茶酸
8 [*]	3.01	353.088 6	3.6	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	191.057 1, 179.033 6	皮、枝	新绿原酸
9 [*]	3.03	359.099 8	5.5	C ₁₅ H ₂₀ O ₁₀	197.045 1, 153.056 6	皮、枝	去甲基京尼平苷酸
10 [*]	3.05	375.128 2	-2.4	C ₁₆ H ₂₄ O ₁₀	213.078 3, 195.071 3	皮、枝	二氢京尼平苷酸
11 [*]	3.13	337.095 3	3.9	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	191.056 1, 163.041 0	皮、叶、枝、根	5-香豆酰喹宁酸
12 [*]	3.89	375.129 0	-0.2	C ₁₆ H ₂₄ O ₁₀	213.081 1, 169.089 9	皮、枝	二氢异京尼平苷酸
13 [*]	4.15	451.144 0	-2.4	C ₁₇ H ₂₆ O ₁₁	405.130 0, 259.076 6	皮、枝	杜仲苷I
14	4.16	167.034 3	-1.2	C ₈ H ₈ O ₄	152.009 3, 123.041 5, 108.023 7	皮、叶、枝	香草酸
15 [*]	4.55	745.240 7 ^a	0.6	C ₂₈ H ₄₄ O ₂₀	699.248 7, 537.207 5, 375.146 5	皮、根	双葡萄糖基二氢京尼平苷酸
16	4.62	341.086 7	-1.7	C ₁₅ H ₁₈ O ₉	179.034 1, 135.045 4	皮、枝	咖啡酸葡萄糖苷
17 ⁱⁱ	4.63	353.087 5	0.5	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	191.056 7, 161.026 0	皮、枝	绿原酸
18 [*]	5.05	353.087 1	-0.5	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	191.057 0, 162.024 9	皮、枝	隐绿原酸
19	5.20	401.109 7	3.2	C ₁₇ H ₂₂ O ₁₁	239.142 5, 219.177 4, 175.037 0	皮、枝	乙酰木糖基京平尼苷
20	5.25	459.117 1 ^a	6.9	C ₁₈ H ₂₂ O ₁₁	413.105 5, 251.060 9, 147.045 5	皮、枝	车叶草苷
21 [*]	5.38	459.116 4 ^a	5.4	C ₁₈ H ₂₂ O ₁₁	413.107 0, 251.061 7, 147.045 7	皮、枝	异车叶草苷
22	5.48	583.202 9 ^a	0.3	C ₂₂ H ₃₄ O ₁₅	537.247 9, 375.139 5, 233.531 7	皮、枝	橄榄脂素-4'-葡萄糖苷
23 [*]	5.49	745.245 7 ^a	7.3	C ₂₈ H ₄₄ O ₂₀	699.242 9, 537.199 7, 375.144 6	皮、枝	双葡萄糖基二氢异京尼平苷酸
24	5.85	515.116 1	-5.6	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	497.204 9, 317.358 3, 191.055 8	皮、枝	异绿原酸 A
25 [*]	6.06	337.092 5	6.7	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	179.035 3, 163.022 0	皮、枝、根	3-香豆酰喹宁酸
26 [*]	6.12	583.203 0 ^a	0.5	C ₂₂ H ₃₄ O ₁₅	537.244 2, 375.143 1, 233.532 3	皮、枝、根	异橄榄脂素-4'-葡萄糖苷
27 ⁱⁱ	6.27	433.131 6 ^a	-4.6	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₀	387.123 0, 225.076 9, 123.045 4	皮、枝、根	京尼平苷
28	6.35	583.202 5 ^a	-0.3	C ₂₂ H ₃₄ O ₁₅	537.201 6, 375.144 7, 327.124 0	皮、叶、枝	橄榄脂-4"-葡萄糖苷
29	6.38	433.133 1 ^a	-3.4	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₀	387.128 5, 225.077 2, 123.044 9	皮、枝	异京尼平苷
30 [*]	6.53	583.203 7 ^a	1.7	C ₂₂ H ₃₄ O ₁₅	537.189 6, 327.119 2, 195.064 9	皮、枝、根	异橄榄脂-4"-葡萄糖苷
31	6.59	743.234 8 ^a	-6.8	C ₃₂ H ₄₂ O ₁₇	697.219 1, 585.181 6, 373.124 4	皮、枝	1-羟基松脂醇双葡萄糖苷
32 [*]	6.77	415.126 3	5.2	C ₁₈ H ₂₄ O ₁₁	269.100 3, 193.043 1, 175.043 8	皮、枝	乙酰鼠李糖基京平尼苷
33 ⁱⁱ	7.65	179.034 1	-2.2	C ₉ H ₈ O ₄	135.044 2, 117.035 5, 107.048 5	皮、枝	咖啡酸
34 ⁱⁱ	7.70	727.245 5 ^a	0.8	C ₃₂ H ₄₂ O ₁₆	681.238 8, 519.187 2, 357.134 3	皮	松脂醇二葡萄糖苷

续表 1

编号	t_R/min	$[M-H]^-$ (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	分子式	MS/MS (m/z)	存在部位	化合物鉴定
35*	7.99	727.243 5 ^a	-1.9	C ₃₂ H ₄₂ O ₁₆	681.244 4, 519.187 7, 357.134 1	皮	异松脂醇二葡萄糖苷
36*	8.03	755.201 1	-3.1	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₁	575.134 8, 285.039 0, 284.032 6	皮、枝	山柰酚三糖苷
37	8.13	613.216 4 ^a	-5.2	C ₂₇ H ₃₆ O ₁₃	567.207 0, 405.159 1, 273.474 8	皮、枝、根	柑属苷 B
38*	8.15	711.253 6	5.0	C ₃₃ H ₄₄ O ₁₇	549.199 2, 387.144 1, 271.258 9	皮、枝、根	异表松脂醇二葡萄糖苷
39	8.20	757.250 4 ^a	-6.7	C ₃₃ H ₄₄ O ₁₇	711.248 9, 549.196 5, 387.145 1	皮	表松脂醇二葡萄糖苷
40	8.24	595.128 2	-2.8	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₆	301.033 0, 300.029 0, 271.024 4	叶	槲皮素糖苷
41	8.62	609.144 2	-2.2	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	447.092 9, 285.039 2, 284.033 5	叶	山柰酚麦芽糖苷
42	8.63	787.261 8 ^a	-5.4	C ₃₄ H ₄₆ O ₁₈	741.264 6, 579.207 9, 417.154 2	皮、枝、根	鹅掌楸苷
43	9.50	593.151 3	1.0	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	271.024 4, 255.029 0, 178.997 1, 151.005 1	皮、枝	槲皮素双鼠李糖苷
44*	9.76	477.100 9 ^a	-5.0	C ₃₄ H ₄₆ O ₁₈	431.098 5, 269.047 1	皮、枝	异黄芩素葡萄糖苷
45 [#]	10.35	609.145 7	0.1	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	301.032 9, 300.027 2, 151.003 2	皮、枝	芦丁
46	10.51	563.141 6	2.6	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	285.039 3, 284.031 7, 151.004 5	叶	山柰酚鼠李糖木糖苷
47	10.86	519.185 9	-1.5	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₁	357.134 1, 151.042 4	皮、枝	松脂素单葡萄糖苷
48	10.89	447.093 1	0.6	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	285.042 2, 255.031 7, 227.034 2	皮、枝	紫云英苷
49*	11.00	431.096 9	-2.0	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	269.043 5, 268.038 4, 239.035 1	叶	黄芩素葡萄糖苷
50*	11.31	549.195 0 ^a	-4.0	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₀	503.246 2, 371.208 9, 233.065 6	皮、枝	甲基松脂素木糖苷
51*	11.32	577.156 5	1.2	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	431.100 2, 609.044 4, 268.039 2	叶	黄芩素芸香糖苷
52	11.42	595.202 2	-0.8	C ₂₇ H ₃₄ O ₁₂	549.187 7, 387.142 3, 369.130 7	枝	表松脂醇单葡萄糖苷
53	11.79	463.088 3	1.2	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	301.036 3, 151.002 7	皮、叶、枝、根	金丝桃苷
54	12.85	447.092 1	-1.5	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	301.034 3, 255.029 9, 151.002 1	皮、叶、枝、根	槲皮素鼠李糖苷
55	13.70	417.083 2	2.3	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₀	285.041 1, 284.033 2	皮、叶、枝、根	山柰酚木糖苷
56	13.90	433.076 6	-1.1	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	301.035 0, 300.026 7, 151.003 1	叶	槲皮素木糖苷
57	16.52	317.028 6	-3.7	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	273.044 1, 165.015 5, 153.018 3	叶	杨梅素
58 [#]	16.81	269.046 1	4.0	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	241.050 5, 224.048 4, 159.045 4, 133.029 7, 107.014 0	叶	芹菜素
59	17.55	285.040 6	2.4	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	257.043 6, 151.002 9	叶	山柰酚
60	19.67	317.066 2	0.0	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	302.043 8, 153.013 4	叶	二氢鼠李素

*表示化合物首次在杜仲植物中报道, ^a代表 $[M+HCOO]^-$, [#]代表化合物通过对照品鉴定*The compound was first reported in *E. ulmoides*, ^a represents $[M+HCOO]^-$, [#] The compound that was identified by the standard

时间, 一级及二级质谱被鉴定为芦丁。在化合物 41 的二级质谱中, 母离子 m/z 609.145 0 会失去 2 分子葡萄糖基从而形成 m/z 284.033 2 的母核碎片离子, 说明化合物 41 的结构中存在 2 分子葡萄糖基及化合物 41 的母核可能为山柰酚。特征性碎片离子 m/z 255.029 6、227.035 5 和 151.004 8 进一步说明化合物 41 的母核为山柰酚^[13]。综上所述, 化合物 41 被初步鉴定为山柰酚麦芽糖苷(图 3-C)。通过相同的方式, 化合物 36、40、41、43、44、46、48~49、51 和 53~60 被鉴定为黄酮类化合物, 其质谱信息见表 1。

3.4 多酚类化合物的结构鉴定

3.4.1 杜仲中多酚类化合物的质谱裂解规律研究

多酚类化合物是杜仲中主要的化学成分, 主要有绿原酸类化合物和咖啡酸类化合物。绿原酸类化合物的主要质谱裂解途径为断裂奎宁酸和咖啡酸之间的酯基从而形成高丰度的碎片离子。绿原酸(化合物 17, m/z 353.087 5 $[M-H]^-$) 二级质谱中高丰度的碎片离子 m/z 191.056 7 和 161.026 0 来源于绿原酸结构中的奎宁酸和咖啡酸之间的酯基裂解而形成(图 2-G)^[13]。咖啡酸类化合物的主要质谱裂解途径为丢失结构中的取代基。在咖啡酸(化合物 33, m/z 179.034 7 $[M-H]^-$) 的二级质谱中, 高丰度的碎片离子 m/z 135.044 9 来源于咖啡酸中羧基的丢失(图 2-H)^[13]。

3.4.2 杜仲提取物中多酚类化合物的结构鉴定
根据绿原酸类化合物和咖啡酸类化合物的质谱裂解规律及化合物的二级质谱, 化合物 **8**、**11**、**16**~**18**、**24** 和 **25** 被鉴定为绿原酸类化合物。以化合物 **8** 和 **18** 为例来说明杜仲提取物中绿原酸类化合物的结构鉴定。根据化合物 **8** (m/z 353.085 6) 和 **18** (m/z 353.087 1) 的质荷比, 其为绿原酸的同分异构体。化合物 **8** 和 **18** 的二级质谱和对照品绿原酸的二级质谱高度一致, 存在 m/z 191.057 1、179.033 6 和

161.026 0 的碎片离子(图 4), 说明化合物 **8** 和 **18** 与绿原酸的结构高度相似。绿原酸是由咖啡酸中羧基与奎宁酸中 5 位的羟基通过酯化缩合而成, 而奎宁酸结构中还存在类似的 3 位和 4 位羟基, 因此自然界还存在新绿原酸(咖啡酸与 3 位羟基缩合)和隐绿原酸(咖啡酸与 4 位羟基缩合)。根据文献报道^[20-21], 在反相 C_{18} 色谱柱上, 此 3 个化合物的出峰顺序为新绿原酸、绿原酸和隐绿原酸, 因此化合物 **8** 和 **18** 分别被初步鉴定为新绿原酸和隐绿原酸。

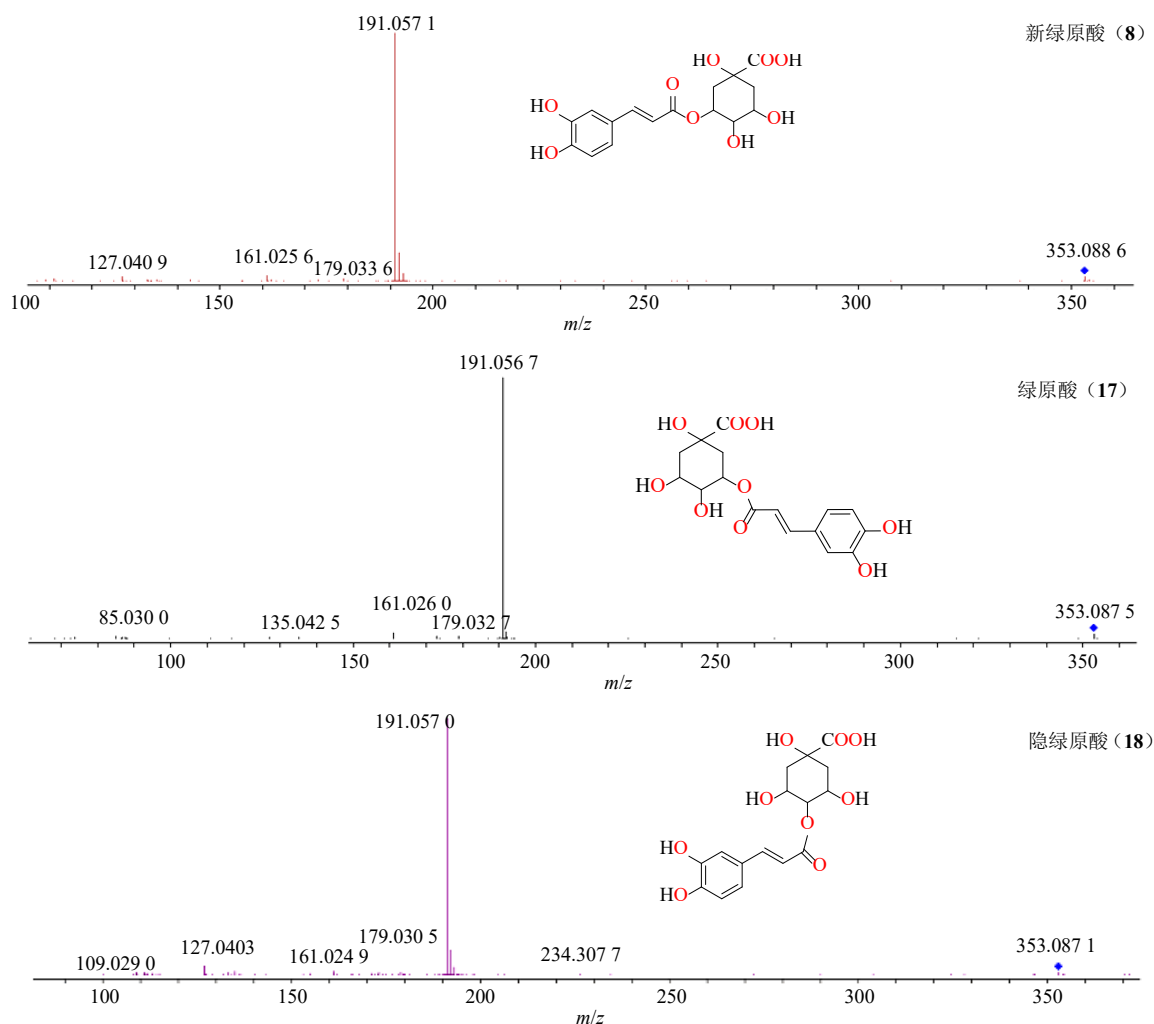


图 4 绿原酸类同分异构体 (化合物 **8**、**17** 和 **18**) 的二级质谱及结构初步鉴定

Fig. 4 MS/MS spectra and corresponding structural identification of chlorogenic acid isomers (compounds **8**, **17** and **18**)

化合物 **7**、**14** 和 **33** 被鉴定为咖啡酸类化合物。以化合物 **7** 为例来说明杜仲提取物中咖啡酸类化合物的结构鉴定。在化合物 **7** 的二级质谱中, 母离子 m/z 153.018 9 会失去 1 分子 CO_2 从而形成 m/z 109.030 3 的碎片离子, 说明化合物 **7** 的结构中存在羧基($-COOH$)。化合物 **7** 的二级质谱和咖啡酸(化

合物 **33**) 的二级质谱裂解方式非常相似, 化合物 **7** (m/z 153.018 9) 和咖啡酸 (m/z 179.034 7) 质荷比的差值为 26.015 8, 说明化合物 **7** 比咖啡酸少 1 个乙烯基($-CH=CH-$)。综上所述, 化合物 **7** 被初步鉴定为原儿茶酸(图 3-D), 此化合物在杜仲中已经被报道。化合物 **8**、**11**、**16**~**18**、**24** 和 **25** 被鉴定

为绿原酸类化合物，化合物 **7**、**14** 和 **33** 被鉴定为咖啡酸类化合物，其质谱信息见表 1。

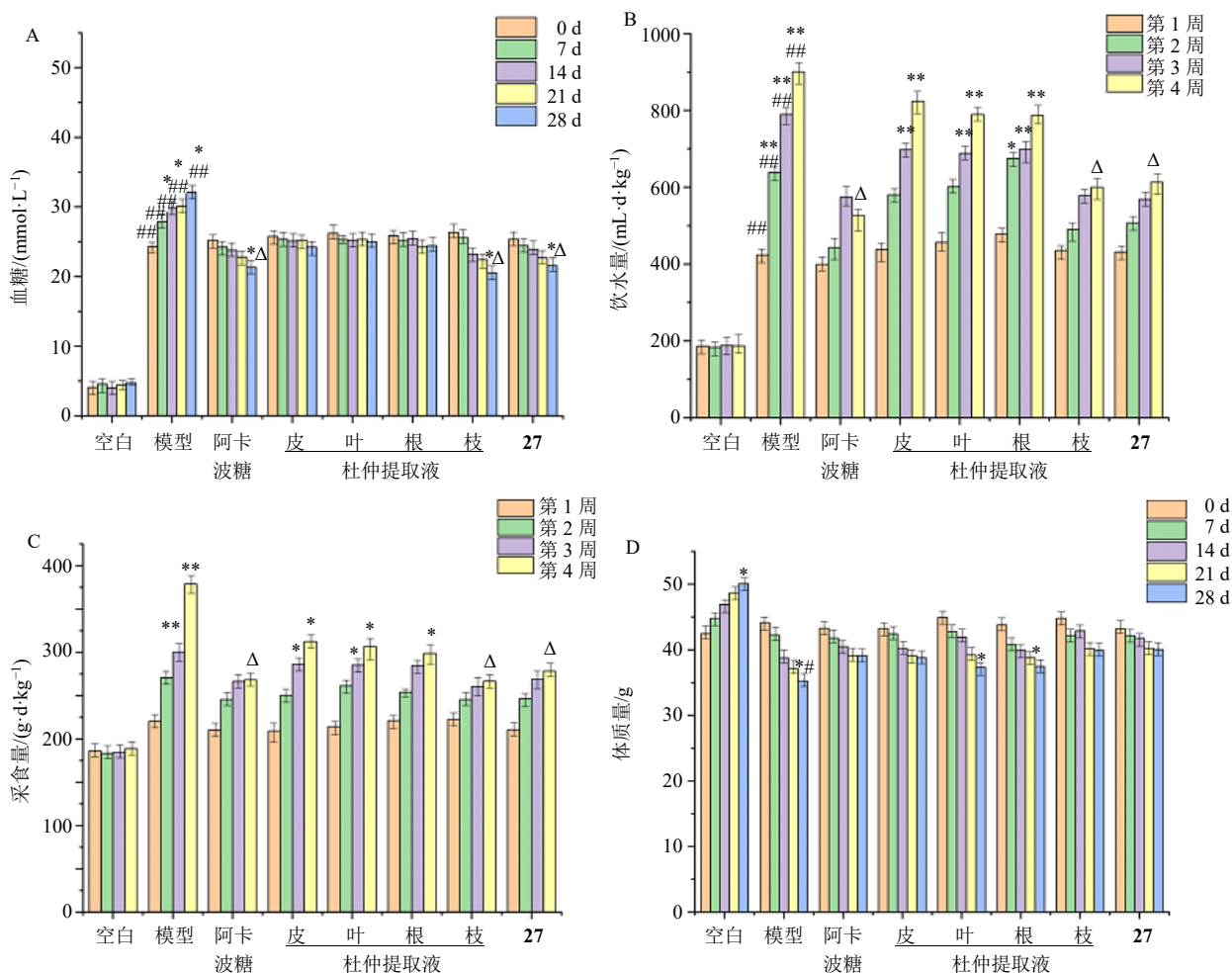
3.5 杜仲提取物中其他类化合物的结构鉴定

化合物 **3** 的质荷比为 m/z 191.020 6，通过与杜仲中已报道的化合物进行比对发现，其可能为奎宁酸，从其二级质谱可以看出，其会失去 1 分子 H_2O 从而形成高丰度 m/z 111.008 8 的碎片离子，说明化合物 **3** 的结构式中存在羟基 ($-OH$)。化合物 **3** 的母核离子会失去 1 分子 CO_2 从而形成碎片离子 m/z 85.017 4，从而说明化合物的结构中存在羧基 ($-COOH$)。化合物 **3** 的二级质谱与奎宁酸相符，因此化合物 **3** 被初步鉴定为奎宁酸^[15]。通过相似的方法，化合物 **37** 被初步鉴定为柑属苷 B^[22]，其质

谱信息见表 1。

3.6 杜仲提取物及其主要成分（化合物 **27**）降血糖活性研究

3.6.1 对高血糖小鼠的降血糖作用 由图 5-A 可见，模型组小鼠在第 0 天 [(24.27 ± 1.26) mmol/L]、7 天 [(27.86 ± 1.03) mmol/L]、14 天 [(29.84 ± 1.02) mmol/L]、21 天 [(30.11 ± 1.54) mmol/L] 和 28 天 [(32.11 ± 1.09) mmol/L] 时，其血糖水平显著高于空白组 ($P < 0.01$)，说明小鼠高血糖模型造模成功，且随着造模时间的延长，小鼠的血糖水平越来越高，在第 14、21、28 天时，血糖水平显著高于初始的血糖水平 ($P < 0.05$)。从阳性对照组（阿卡波糖）可以看出，其具有显著的降



与同组第 0 天或第 1 周比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与空白组同期比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$; 与模型组同期比较: $\Delta P < 0.05$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs the data at 0 day or the first week in same group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs the blank group in the same period; $\Delta P < 0.05$ vs the model group in the same period

图 5 杜仲提取物及化合物 **27** 对高血糖小鼠血糖 (A)、饮水量 (B)、采食量 (C) 和体质量 (D) 的影响

Fig. 5 Effects of *E. ulmoides* extracts and compound **27** on e blood glucose concentration (A), water consumption (B), food intake (C) and body weight (D) of hyperglycemic mice

血糖活性 ($P < 0.05$), 血糖水平从最初的 (25.21 ± 1.23) mmol/L 下降到 (21.34 ± 1.54) mmol/L (第 28 天)。杜仲皮、叶、根提取物均具有一定的降血糖活性, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 但杜仲枝提取物降血糖效果最好, 能够显著降低小鼠的血糖水平 ($P < 0.05$), 使小鼠血糖水平从最初的 (26.33 ± 0.57) mmol/L 下降到 (20.56 ± 1.23) mmol/L。与模型组相比, 杜仲枝提取物也表现出显著的降血糖活性 (第 28 天, $P < 0.05$)。对杜仲枝提取物主要成分进行分析发现, 其主要成分为环烯醚萜类化合物, 相对含量最高的是化合物 **6** (京尼平苷酸) 和 **27** (京尼平苷)。杜仲皮提取物和杜仲根提取物也含有含量较高的化合物 **6**, 但是其均未表现出显著的降血糖活性, 因此, 对化合物 **27** 继续进行降血糖活性研究, 发现化合物 **27** 具有显著的降血糖活性 ($P < 0.05$), 使小鼠血糖水平从最初的 (25.34 ± 0.24) mmol/L 下降到 (21.56 ± 1.56) mmol/L。与同期模型组相比, 化合物 **27** 也表现出显著的降血糖活性 (第 28 天, $P < 0.05$)。以上实验结果说明京尼平苷 (**27**) 为杜仲枝提取物中主要的降血糖活性成分之一。

3.6.2 对高血糖小鼠饮水量的影响 由图 5-B 可知, 与空白组相比, 模型组小鼠周饮水量显著增加 ($P < 0.01$), 说明造模成功。与第 1 周相比, 杜仲皮、叶和根提取物组的小鼠在第 2~4 周的饮水量均有不同程度的增加 ($P < 0.05$ 、 0.01), 而杜仲枝提取物和化合物 **27** 则能缓解饮水量增加的幅度。与模型组对比, 在第 4 周, 阳性对照组 (阿卡波糖)、杜仲枝提取物组和化合物 **27** 组的饮水量显著降低 ($P < 0.05$)。

3.6.3 对高血糖小鼠采食量的影响 从图 5-C 可知, 与空白组相比, 模型组小鼠在第 3~4 周采食量显著增加 ($P < 0.01$), 说明造模成功。与第 1 周相比, 杜仲皮、叶和根提取物组的小鼠在第 4 周的采食量显著增加 ($P < 0.05$), 而杜仲枝提取物和化合物 **27** 则能缓解采食量增加的幅度。通过与模型组对比, 在第 4 周, 阳性对照组 (阿卡波糖)、杜仲枝提取物组和化合物 **27** 组的采食量显著降低 ($P < 0.05$)。

3.6.4 对高血糖小鼠体质量的影响 从图 5-D 可知, 与空白组相比, 模型组小鼠在第 4 周体质量显著降低 ($P < 0.05$), 说明造模成功。与初始体质量相比, 杜仲叶、根提取物组的小鼠在第 28 天的体

质量显著降低 ($P < 0.05$), 而杜仲枝提取物和化合物 **27** 则能缓解小鼠体质量减轻的幅度。

血糖浓度为评价杜仲降血糖活性的直接指标, 此外, 糖尿病小鼠临床表现为多饮、多食及体型消瘦, 因此, 本研究从小鼠的饮水量、采食量及体质量 3 个方面继续评价杜仲降血糖活性, 进一步说明杜仲枝提取物及其主要活性成分化合物 **27** 具有显著的降血糖活性。

4 讨论

杜仲是一种使用频率高的中药材, 其化学成分研究主要集中在杜仲皮和杜仲叶, 对杜仲其他部位研究较少^[8]。同一株药用植物, 不同的部位, 其活性成分差异较大, 从而出现不同药用部位功效差异显著^[23-24]。本研究基于 HPLC-Q-TOF-MS 技术结合质谱裂解规律对杜仲皮、叶、枝和根中化学成分进行系统鉴定和比较分析。实验结果表明杜仲中主要成分为环烯醚萜、呋喃型木脂素、黄酮类和多酚类化合物。杜仲皮中化合物最为丰富, 含有大量的环烯醚萜, 呋喃型木脂素及多酚类化合物, 化合物 **1** (新杜仲苷)、**34** (松脂醇二葡萄糖苷)、**35** (异松脂醇二葡萄糖苷) 和 **39** (表松脂醇二葡萄糖苷) 为杜仲皮中特征性化合物。在杜仲叶中, 黄酮类化合物最为丰富, 大部分黄酮类化合物聚集在杜仲叶, 其他部位含量很低。化合物 **41** (山柰酚二葡萄糖苷)、**49** (黄芩素葡萄糖苷)、**51** (黄芩素芸香糖) 和 **58** (芹菜素) 为杜仲叶特征性化合物。杜仲枝中主要成分为环烯醚萜类化合物, 如化合物 **6** (京尼平苷酸) 和 **27** (京尼平苷) 为杜仲枝中特征性的化合物, 而杜仲根中化合物含量较少。杜仲植株不同部位高含量的化合物也存在明显差异, 化合物 **6** 在杜仲皮、枝和根中含量均较高, 而在叶中含量极低。化合物 **27** 主要存在于杜仲枝中, 而在其他部位含量较低。化合物 **49**、**51** 和 **58** 主要存在于杜仲叶中, 在其他部位含量很低。杜仲不同部位化学成分的鉴定及比较分析为杜仲植株的综合利用奠定基础。

科研人员对杜仲降血糖活性研究主要集中在杜仲叶中多糖类化合物, 而对于其他部位则研究较少^[25]。杜仲皮、叶、根和枝提取物降血糖活性评价结果表明, 杜仲枝提取物表现出显著的降血糖活性, 而杜仲皮、叶和根提取物则未表现出显著降血糖活性, 从谱效关系分析可知, 杜仲枝提取物中相对高含量的化合物 **6** (京尼平苷酸) 和 **27** (京尼平苷) 为潜

在降血糖活性物质。但是杜仲皮、根和枝中化合物 6 的含量相近,而杜仲皮和根却未表现出显著的降血糖活性,因此化合物 6 为降血糖活性物质的可能性低,据此,化合物 27 被锁定为潜在降血糖活性成分。降血糖实验结果表明杜仲枝的主要成分京尼平苷(化合物 27)具有显著的降血糖活性,能够改善糖尿病引起的多饮、多食及体质量减轻的症状^[26],本研究阐明了杜仲枝中降血糖的活性物质基础之一为京尼平苷。本研究也发现杜仲叶也具有一定的降血糖活性,能够降低糖尿病小鼠的血糖,但是其活性弱于杜仲枝提取物,而杜仲叶中未含有化合物 27,说明杜仲叶中黄酮类化合物具有一定的降血糖活性。在以前的研究中,杜仲枝一直未被充分利用,本研究发现杜仲枝及其高含量化合物 27 具有显著的降血糖活性,为杜仲枝的高值化综合利用和降血糖药物的开发奠定基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 刘星,王玲,姚帅,等. 高效薄层色谱、薄层质谱和 HPLC 指纹图谱联用技术鉴定杜仲不同部位的化学成分差异 [J]. 中草药, 2022, 53(7): 1-10.
- [2] Zhang S S, Yu Z P, Xia J Y, et al. Anti-Parkinson's disease activity of phenolic acids from *Eucommia ulmoides* Oliver leaf extracts and their autophagy activation mechanism [J]. *Food Funct*, 2020, 11(2): 1425-1440.
- [3] Xing Y F, He D, Wang Y, et al. Chemical constituents, biological functions and pharmacological effects for comprehensive utilization of *Eucommia ulmoides* Oliver [J]. *Food Sci Hum Wellness*, 2019, 8(2): 177-188.
- [4] He X R, Wang J H, Li M X, et al. *Eucommia ulmoides* Oliv.: Ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of an important traditional Chinese medicine [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 151(1): 78-92.
- [5] Ding Z J, Liang C, Wang X A, et al. Antihypertensive activity of *Eucommia ulmoides* Oliv: Male flower extract in spontaneously hypertensive rats [J]. *Evid Based Complementary Altern Med*, 2020, 2020: 1-6.
- [6] Luo L F, Wu W H, Zhou Y J, et al. Antihypertensive effect of *Eucommia ulmoides* Oliv. extracts in spontaneously hypertensive rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 129(2): 238-243.
- [7] He M Z, Jia J, Li J M, et al. Application of characteristic ion filtering with ultra-high performance liquid chromatography quadrupole time of flight tandem mass spectrometry for rapid detection and identification of chemical profiling in *Eucommia ulmoides* Oliv [J]. *J Chromatogr A*, 2018, 1554: 81-91.
- [8] 刘聪,郭非非,肖军平,等. 杜仲不同部位化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(3): 497-512.
- [9] 郎茜,龚蕾,叶婧,等. 杜仲叶多糖对糖尿病大鼠的降血糖作用 [J]. 现代食品科技, 2020, 36(10): 27-32.
- [10] Chen J Y, Wang W T, Kong J Q, et al. Application of UHPLC-Q-TOF MS based untargeted metabolomics reveals variation and correlation amongst different tissues of *Eucommia ulmoides* Oliver [J]. *Microchem J*, 2022, 172: 106919.
- [11] Li X Y, Fu Y J, Fu Y F, et al. Simultaneous quantification of fourteen characteristic active compounds in *Eucommia ulmoides* Oliver and its tea product by ultra-high performance liquid chromatography coupled with triple quadrupole mass spectrometry (UPLC-QqQ-MS/MS) [J]. *Food Chem*, 2022, 389: 133106.
- [12] Liu T, Cao X Z, Cao D M. Combination of UHPLC-Q Exactive-Orbitrap MS and network pharmacology to reveal the mechanism of *Eucommia ulmoides* leaves in the treatment of osteoarthritis [J]. *J Food Biochem*, 2022, 46(8): e14204.
- [13] Liu J H, Zhong X H, Jiang Y Y, et al. Systematic identification metabolites of *Hemerocallis citrina* Borani by high-performance liquid chromatography/quadrupole-time-of-flight mass spectrometry combined with a screening method [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2020, 186: 113314.
- [14] Yu L Y, Chen M F, Liu J H, et al. Systematic detection and identification of bioactive ingredients from *Citrus aurantium* L. var. *amara* using HPLC-Q-TOF-MS combined with a screening method [J]. *Molecules*, 2020, 25(2): 357.
- [15] Agada R, Usman W A, Shehu S, et al. *In vitro* and *in vivo* inhibitory effects of *Carica papaya* seed on α -amylase and α -glucosidase enzymes [J]. *Heliyon*, 2020, 6(3): e03618.
- [16] Pi J J, Wu X, Rui W, et al. Identification and fragmentation mechanisms of two kinds of chemical compositions in *Eucommia ulmoides* by UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS [J]. *Chem Nat Compd*, 2016, 52(1): 144-148.
- [17] 严颖,赵慧,邹立思,等. 杜仲雄花化学成分的液相色谱-电喷雾三重四极杆飞行时间质谱分析 [J]. 食品科学, 2018, 39(6): 215-221.
- [18] Liu P F, Wang L, Du Q X, et al. Chemotype classification and biomarker screening of male *Eucommia ulmoides*

- Oliv. flower core collections using UPLC-QTOF/MS-based non-targeted metabolomics [J]. *Peer J*, 2020, 8: e9786.
- [19] Yan Y, Zhao H, Chen C H, *et al.* Comparison of multiple bioactive constituents in different parts of *Eucommia ulmoides* based on UFLC-QTRAP-MS/MS combined with PCA [J]. *Molecules*, 2018, 23(3): 643.
- [20] 周凡, 李淑萍, 贺飞, 等. 一测多评法测定藏茴香中异绿原酸 A、新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 C [J]. 药物评价研究, 2023, 46(4): 703-710.
- [21] 张文芳, 胡梅, 陈锦霞, 等. UPLC 法测定不同产地白术中新绿原酸、绿原酸和隐绿原酸的含量 [J]. 广东药科大学学报, 2020, 36(4): 479-483.
- [22] 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.
- [23] 赵继荣, 杨涛, 陈祁青, 等. 基于网络药理学及分子对接探讨杜仲叶防治骨质疏松的作用机制 [J]. 世界中医药, 2022, 17(5): 664-670.
- [24] Zhou Q Y J, Liao X, Kuang H M, *et al.* LC-MS metabolite profiling and the hypoglycemic activity of *Morus alba* L. extracts [J]. *Molecules*, 2022, 27(17): 5360.
- [25] 张晓芳, 胡文忠, 姜爱丽, 等. 杜仲多糖的提取方法及药理作用研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2021, 30(4): 347-351.
- [26] Zhou H, Zhang S, Chen L, *et al.* Effective therapeutic verification of crocin I, geniposide, and gardenia (*Gardenia jasminoides* Ellis) on type 2 diabetes mellitus *in vivo* and *in vitro* [J]. *Foods*, 2023, 12: 1688.

[责任编辑 王文倩]