龙眼叶乙醇提取物在大鼠体内的代谢产物初步研究Δ

胡　珏[1,2*]，黄光强[1]，梁　洁[1,3,4#]，柳贤福[5]，曹玉嫔[1,5]，陈奎奎[1]，李耀华[1,2]，安施佳[1]，梁晶春[1]（1.广西中医药大学药学院，南宁　530200；2.广西高校中药提取纯化与质量分析实验室，南宁　530200；3.中药固体制剂制造技术国家工程研究中心华南分中心，南宁　530200；4.广西壮瑶药工程技术研究中心，南宁　530200；5.广西中医药大学赛恩斯新医药学院，南宁　530222）

中图分类号　R917；R284　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2022）21-2572-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2022.21.03

摘　要　目的　初步研究龙眼叶乙醇提取物在大鼠体内的代谢产物，为阐明龙眼叶降血糖的可能作用机制提供参考。**方法**　以龙眼叶乙醇提取物、大鼠灌胃龙眼叶乙醇提取物33.8 g/kg（以提取物计）后0～72 h的粪便和0～48 h的尿液，以及大鼠灌胃生理盐水（空白对照）后对应时段的粪便和尿液作为检测样品，采用超高效液相色谱-串联四极杆飞行时间质谱技术进行分析。收集化合物的精确相对分子量、分子式及碎片信息，通过与仪器自带数据库、谱库进行匹配，以及与对照品和相关文献进行比对，对化合物进行推测和鉴定。**结果**　在大鼠粪便和尿液样品中共鉴定出了8个化合物，包括2个原型成分和6个代谢产物。从大鼠粪便样品中鉴定出了3个化合物，包括槲皮素、木犀草素2个原型成分以及木犀草素或山柰酚的1个代谢产物；从大鼠尿液样品中鉴定出了5个化合物（均为代谢产物），涉及槲皮素、木犀草素或山柰酚的代谢产物。代谢产物的类型主要为甲基化、葡萄糖醛酸化及氧化产物。**结论**　龙眼叶乙醇提取物灌胃后在大鼠体内主要经甲基化、葡萄糖醛酸化等途径代谢，鉴定出的化合物多为槲皮素和木犀草素的代谢产物。

关键词　龙眼叶；乙醇提取物；超高效液相色谱-串联四极杆飞行时间质谱；粪便；尿液；代谢产物

Preliminary study on metabolites derived from the ethanol extract from the leaves of *Dimocarpus longan* in rats *in vivo*

HU Jue[1,2], HUANG Guangqiang[1], LIANG Jie[1,3,4], LIU Xianfu[5], CAO Yupin[1,5], CHEN Kuikui[1], LI Yaohua[1,2], AN Shijia[1], LIANG Jingchun[1]（1. School of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China; 2. Key Laboratory of Chinese Medicine Extraction Purification and Quality Analysis of Guangxi Universities and Colleges, Nanning 530200, China; 3. South China Branch of National Engineering Research Center for Manufacturing Technology of Traditional Chinese Medicine Solid Preparation, Nanning 530200, China; 4. Guangxi Engineering and Technology Center for Zhuang Yao Medicine, Nanning 530200, China; 5. Faculty of Chinese Medicine Science, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530222, China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To study the metabolites derived from the ethanol extract from the leaves of *Dimocarpus longan* preliminarily in rats *in vivo*, and to provide reference for elucidating the possible metabolic mechanism of the leaves of *D. longan* in lowering blood glucose. **METHODS** Ultra high performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS/MS) was adopted by taking ethanol extract of *D. longan* leaves, the feces and urine of rats at 0-72 h and 0-48 h after intragastric administration of 33.8 g/kg ethanol extract of *D. longan* leaves (by extract), the feces and urine of rats at the corresponding time after intragastric administration of normal saline (blank control) as samples. The accurate relative molecular weight, formula and fragment information of the compounds were collected, and the compounds were speculated and identified by matching with the database and spectrum library of the instrument, and comparing with the reference substance and relevant literature.

Δ**基金项目**　国家自然科学基金资助项目（No.82160771）；广西研究生教育创新计划项目（No.YCSW2021227）；广西高等学校千名中青年骨干教师培育计划项目（No.桂教人〔2019〕5号）；广西一流学科建设项目（No.桂教科研〔2018〕12号）；广西壮瑶药协同创新中心项目（No.桂教科研〔2013〕20号）；广西壮瑶药重点实验室培育基地项目（No.桂科基字〔2014〕32号）；广西第八批自治区特聘专家项目（No.桂人才通字〔2019〕13号）；广西高等学校高水平创新团队项目（No.桂教师范〔2019〕52号）；广西科技基地和人才专项（No.桂科AD20238058）

＊**第一作者**　硕士研究生。研究方向：中药质量分析。电话：0771-4953513。E-mail：790238537@qq.com

＃**通信作者**　教授，硕士生导师，博士。研究方向：中药药效物质基础与质量控制。电话：0771-4953513。E-mail：liangjie1101@126.com

RESULTS A total of eight compounds were identified in urine and feces of rats, including 2 prototype components and 6 metabolites. Three compounds (including two prototype components as quercetin, luteolin and one metabolite as luteolin or kaempferol) in feces of rats were identified; five compounds (all metabolites) in urine of rats were identified, involving metabolites of quercetin, luteolin or kaempferol. Metabolites mainly included the products of methylation, glucuronidation and oxidation. **CONCLUSIONS** After intragastric administration, the ethanol extract from the leaves of *D. longan* is mainly metabolized in rats through methylation, glucuronidation and other pathways. The identified compounds are mostly metabolites of quercetin and luteolin.

KEYWORDS Leaves of *Dimocarpus longan*; ethanol extract; UPLC-Q-TOF-MS/MS; feces; urine; metabolites

龙眼叶是无患子科龙眼属植物龙眼 *Dimocarpus longan* Lour. 的叶或嫩芽，味甘淡、性平，具有发表清热、解毒、燥湿等功效，主要用于治疗发热、湿疹、肠炎等[1]。在广西崇左和贺州等地，龙眼叶一直被作为民间中草药使用，常以单方形式用于治疗糖尿病。本课题组前期已经对龙眼叶不同极性部位的药理活性进行了筛选，发现龙眼叶乙醇提取物具有一定的降血糖作用[2]。此外，本课题组前期对龙眼叶的血清药物化学进行了研究，在大鼠血清样品中发现了槲皮素和木犀草素等原型成分[3]，但未对给药后的动物尿液及粪便样品进行分析。为了更加系统地对龙眼叶乙醇活性部位进入到体内的代谢情况进行分析，本研究利用超高效液相色谱-串联四极杆飞行时间质谱（UPLC-Q-TOF-MS/MS）技术，对大鼠给予龙眼叶乙醇提取物后尿液及粪便样品进行检测，分析其原型成分及可能的代谢产物，并为进一步阐明龙眼叶降血糖的作用机制提供科学依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用的主要仪器有：ACQUITY UPLC Ⅰ-Class型UPLC仪、Xevo G2-Q-TOF四极杆飞行时间质谱仪（美国Waters公司），SQP型万分之一电子分析天平[赛多利斯科学仪器（北京）有限公司]，Milli-Q synergy型超纯水仪（美国Millipore公司），CT15RE型高速冷冻离心机（日立工机株式会社），ND100-1型氮气吹扫仪（上海析维医疗科技有限公司）。

1.2 主要药材与试剂

龙眼叶药材于2019年11月采自广西贺州，经广西中医药大学药学院滕建北教授鉴定为无患子科植物龙眼 *D. longan* Lour. 的叶；山柰酚对照品、木犀草素对照品、槲皮素对照品（批号分别为RP200312、RP190505、RP200917，纯度均不低于98%）均购自成都麦德生科技有限公司；甲醇、乙腈、甲酸为质谱纯，其他试剂均为分析纯，水为超纯水。

1.3 动物

本研究所用动物为健康清洁级Wistar大鼠，共6只，雄性，体质量为（200±20）g，购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司，动物生产合格证号为SCXK（湘）2019-0004。将大鼠饲养于温度（23±2）℃、相对湿度（55±10）%的动物房中，饲养期间自由饮水、进食。本动物实验方案经广西中医药大学伦理委员会批准（批准号为20220110-035）。

2 方法

2.1 龙眼叶乙醇提取物与混合对照品溶液的制备

2.1.1 龙眼叶乙醇提取物的制备 取龙眼叶粗粉1 500 g，依次加6倍量（mL/g）95%乙醇和50%乙醇加热回流提取，每次2 h，合并滤液。回收乙醇后，将提取液干燥浓缩至无醇味，即得乙醇提取物浸膏（得膏率约为15%），于4 ℃下保存，备用。临用时，用甲醇溶解，过0.22 μm微孔滤膜，取上清液进样分析。

2.1.2 混合对照品溶液的制备 取山柰酚、木犀草素、槲皮素对照品各适量，置于同一10 mL棕色量瓶中，加甲醇溶解并定容，即得。

2.2 动物分组与给药

将大鼠适应性饲养1周后，按体质量随机分为2组：龙眼叶乙醇提取物给药组（后文简称“给药组”）和空白对照组，每组3只。给药组大鼠在实验前禁食不禁水12 h，然后灌胃龙眼叶乙醇提取物33.8 g/kg（以提取物计，1/3最大耐受剂量），每天2次，连续给药3 d[4]；空白对照组大鼠同步灌胃等体积生理盐水。

2.3 粪便和尿液样品采集与处理

分别收集给药后0～72 h的大鼠粪便和给药后0～48 h的大鼠尿液，每12 h收集1次。将粪便样品在50 ℃下烘干，碾碎。将尿液样品以2 500 r/min离心5 min后取上清液。随后将粪便和尿液样品置于－80 ℃下保存，备用。

2.4 粪便和尿液供试品溶液的制备

2.4.1 粪便供试品溶液的制备 将各时间段的粪便样品混合均匀后，取0.3 g粪便粉末，加入1.5 mL甲醇，涡旋振荡2 min，超声（功率250 W，频率50 kHz）提取30 min后，在4 ℃下以13 000 r/min离心10 min（下同），取上清液，过0.22 μm微孔滤膜，收集滤液，即为粪便供试品溶液。

2.4.2　尿液供试品溶液的制备　取各时间段尿液样品混合均匀，在37 ℃下吹氮气浓缩至2 mL。加2 mL甲醇沉淀蛋白，离心，取1 mL上清液吹干，加400 μL 0.1%甲酸-乙腈溶液复溶后，离心，取上清液，过0.22 μm微孔滤膜，收集滤液，即为尿液供试品溶液。

2.5　色谱与质谱条件

2.5.1　色谱条件　采用ACQUITY UPLC HSS T3色谱柱（100 mm×2.1 mm，1.8 μm），以乙腈（A）-0.1%甲酸溶液（B）为流动相进行梯度洗脱（0～8 min，10%A→55%A；8～12 min，55%A→63%A；12～14 min，63%A→67%A；14～16 min，67%A→70%A；16～17 min，70%A→80%A；17～18 min，80%A→90%A；18～18.5 min，90%A→100%A；18.5～19 min，100%A→10%A；19～20 min，10%A）；流速为0.3 mL/min；柱温为35 ℃；进样量为4 μL。

2.5.2　质谱条件　采用电喷雾离子源（electrospray ionization，ESI），选择正离子模式进行检测，离子源温度为140 ℃；毛细管电压为3.0 kV，锥孔电压为40 V；脱溶剂电压为80 V，脱溶剂气温度为400 ℃，脱溶剂气流量为800 L/h；锥孔气流量为50 L/h；扫描范围为质荷比（*m/z*）50～1 200。

2.6　样品分析

取龙眼叶乙醇提取物、粪便供试品溶液、尿液供试品溶液，分别按“2.5”项下色谱与质谱条件进样检测。采用Masslynx v4.1数据处理软件对实验数据进行分析，得到化合物的精确相对分子量、分子式及碎片信息。利用得到的目标化合物的一级、二级碎片离子信息与仪器自带的数据库及谱库进行匹配，并通过与对照品图谱和国内外相关文献资料进行比对，对化合物进行推测和鉴定。

3　结果

3.1　龙眼叶乙醇提取物在大鼠体内的主要代谢产物分析

在正离子检测模式下获得的各样品的基峰色谱图见图1。结果显示，从大鼠粪便和尿液样品中共鉴定出8个化合物。通过将龙眼叶乙醇提取物色谱图与给药组、空白对照组大鼠粪便和尿液样品色谱图进行比对，共发现2个原型成分（峰**1**、**2**），其余6个为代谢产物（峰**M1**～**M6**）。通过进一步比较空白对照组和给药组大鼠粪便和尿液样品的色谱图，从给药组大鼠粪便样品中初步鉴定出了3个化合物（包括2个原型成分和1个代谢产物），从大鼠尿液样品中初步鉴定出了5个化合物（均为代谢产物），结果见表1。

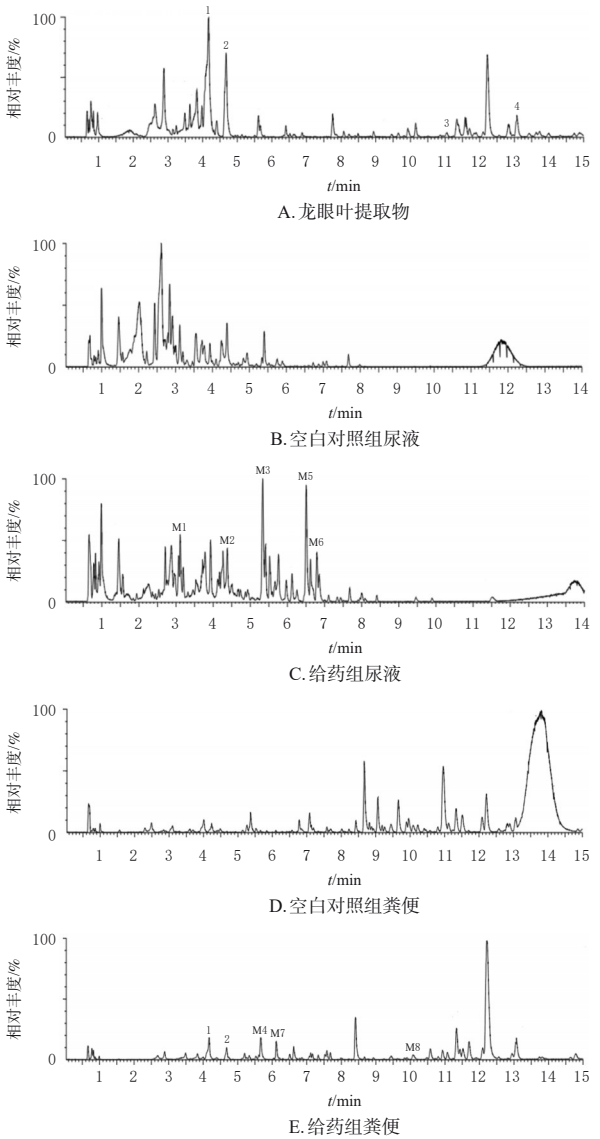


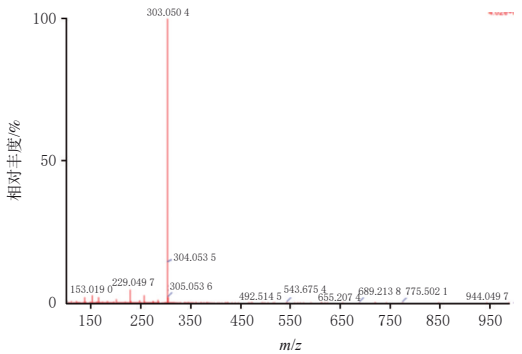
图1　正离子模式下各样品的基峰色谱图

表1　龙眼叶乙醇提取物在大鼠体内的主要代谢产物分析结果

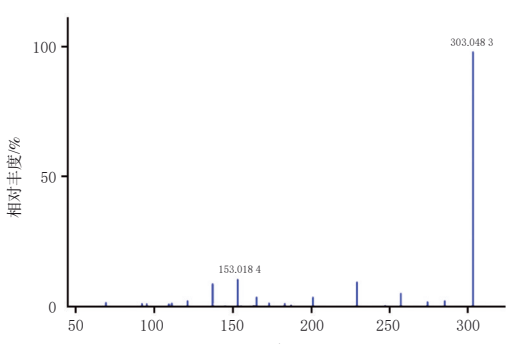
峰号	t_R/min	$[M+H]^+$ *m/z*	误差/ppm	主要的二级碎片离子 *m/z*	分子式	来源	鉴定成分	化合物类型
1	4.13	303.050 4	−0.3	229.049 7、153.019 0	$C_{15}H_{11}O_7$	龙眼叶乙醇提取物、粪便	槲皮素[5-6]	原型成分
2	4.64	287.055 8	−1.0	213.055 4、153.019 3	$C_{15}H_{11}O_6$	龙眼叶乙醇提取物、粪便	木犀草素[7]	原型成分
M1	3.11	431.090 7	0.2	255.065 8、199.074 5、149.022 2	$C_{21}H_{19}O_{10}$	尿液	木犀草素或山柰酚脱氧后葡萄糖醛酸化产物[8]	代谢产物
M2	4.38	493.099 0	1.6	403.130 0、317.066 9、220.139 2、182.774 5	$C_{22}H_{21}O_{13}$	尿液	槲皮素甲基化后葡萄糖醛酸化产物[9]	代谢产物
M3	5.34	255.066 2	2.0	227.071 0、199.075 7、181.065 9、137.024 4、133.028 9	$C_{15}H_{11}O_4$	尿液	木犀草素或山柰酚脱氧产物[8]	代谢产物
M4	5.67	303.050 5	0.0	285.042 5、257.045 3、229.050 3、201.056 0、173.059 4、165.019 1、153.018 6、137.024 5	$C_{15}H_{11}O_7$	粪便	木犀草素氧化产物[10]	代谢产物
M5	6.50	271.060 8	0.7	243.065 8、215.070 8、197.061 9、169.062 4、153.018 9、149.024 7	$C_{15}H_{11}O_5$	尿液	槲皮素脱氧产物[11]	代谢产物
M6	6.79	317.066 4	0.9	302.041 3、285.039 9、274.044 5、229.047 1、201.057 1、165.020 9、153.019 5、139.041 5	$C_{16}H_{13}O_7$	尿液	槲皮素甲基化产物[9]	代谢产物

3.2 龙眼叶乙醇提取物中原型成分的鉴定

3.2.1 峰1的鉴定 龙眼叶乙醇提取物质谱图中峰1的保留时间为4.13 min，由一级质谱图得到其准分子离子峰为 *m/z* 303.050 4[M+H]$^+$，分子式为 $C_{15}H_{11}O_7$。二级质谱图中存在 *m/z* 229.049 7 和 *m/z* 153.019 0 的特征碎片离子。其中 *m/z* 153.019 0 的特征碎片离子与槲皮素对照品一致。对比空白对照组大鼠粪便样品质谱图发现，给药组大鼠粪便样品质谱图中峰1的保留时间为4.17 min，且由一级质谱图得到其准分子离子峰为 *m/z* 303.050 5[M+H]$^+$，由此推测龙眼叶乙醇提取物中的峰1是以原型成分进入到大鼠粪便之中。根据文献[5－6]报道的质谱信息，推测峰1为槲皮素。龙眼叶乙醇提取物中峰1和槲皮素对照品的二级质谱图见图2。



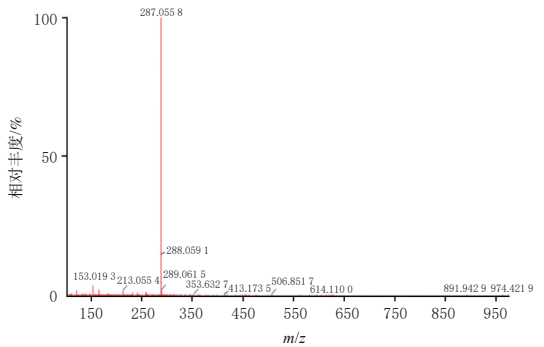
A. 峰1



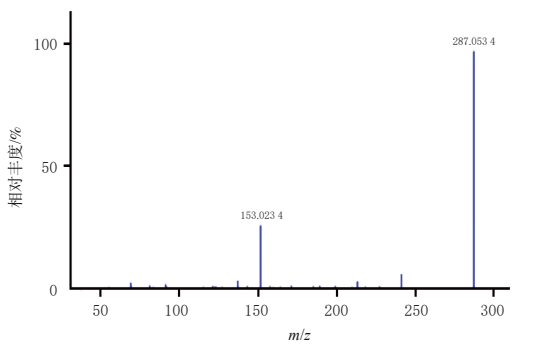
B. 槲皮素对照品

图2 龙眼叶乙醇提取物中峰1和槲皮素对照品的二级质谱图

3.2.2 峰2的鉴定 龙眼叶乙醇提取物中峰2的保留时间为4.64 min，准分子离子峰为 *m/z* 287.055 8[M+H]$^+$，分子式为 $C_{15}H_{11}O_6$，二级质谱图中存在 *m/z* 213.055 4 和 *m/z* 153.019 3 的特征碎片离子，推测其可能为木犀草素或山柰酚[5,7]。同时，对比空白对照组大鼠粪便样品发现，给药组大鼠粪便样品中峰2的保留时间为4.68 min，准分子离子峰为 *m/z* 287.055 5[M+H]$^+$，由此推测龙眼叶乙醇提取物中峰2是以原型成分进入到大鼠粪便之中。其中，龙眼叶乙醇提取物中峰2的碎片离子 *m/z* 153.019 3 是黄酮类化合物发生逆狄尔斯-阿德尔反应（Retro Diels-Alder reaction，RDA）裂解所产生的特征碎片离子，与木犀草素对照品一致，再结合峰2的出峰时间，推测峰2为木犀草素。龙眼叶乙醇提取物中峰2和木犀草素对照品的二级质谱图见图3。



A. 峰2



B. 木犀草素对照品

图3 龙眼叶乙醇提取物中峰2和木犀草素对照品的二级质谱图

3.3 尿液和粪便样品中代谢产物的鉴定

3.3.1 峰**M1**的鉴定 给药组大鼠尿液样品中峰**M1**的保留时间为3.11 min，准分子离子峰为 *m/z* 431.090 7[M+H]$^+$，分子式为 $C_{21}H_{19}O_{10}$。二级质谱图中存在 *m/z* 255.065 8、*m/z* 199.074 5 和 *m/z* 149.022 2 的碎片离子。其裂解过程为准分子离子峰 *m/z* 431.090 7[M+H]$^+$失去1个 $C_6H_8O_6$ 碎片离子，得到 *m/z* 255.065 8 的碎片离子，推测该化合物可能存在葡萄糖醛酸化过程。随后此碎片离子继续裂解，先后失去1个CO中性分子，产生 *m/z* 199.074 5 的碎片离子。二级碎片离子 *m/z* 255.065 8 与木犀草素或山柰酚的准分子离子峰的分子量相差32，提示 *m/z* 255.065 8 的碎片离子可能为木犀草素或山柰酚的脱氧产物。结合文献[8]报道的质谱信息，初步推测峰**M1**为木犀草素或山柰酚脱氧后与葡萄糖醛酸的结合产物，其在大鼠体内的可能代谢途径见图4。

3.3.2 峰**M2**的鉴定 给药组大鼠尿液样品中峰**M2**的保留时间为4.38 min，准分子离子峰为 *m/z* 493.099 0[M+H]$^+$，分子式为 $C_{22}H_{21}O_{13}$。二级质谱图中存在 *m/z* 403.130 0、*m/z* 317.066 9、*m/z* 220.139 2 和 *m/z* 182.774 5 的碎片离子，其中 *m/z* 317.066 9 的丰度较高，由此推测该化合物可能含有槲皮素甲基化的母核。进一步对准分子离子

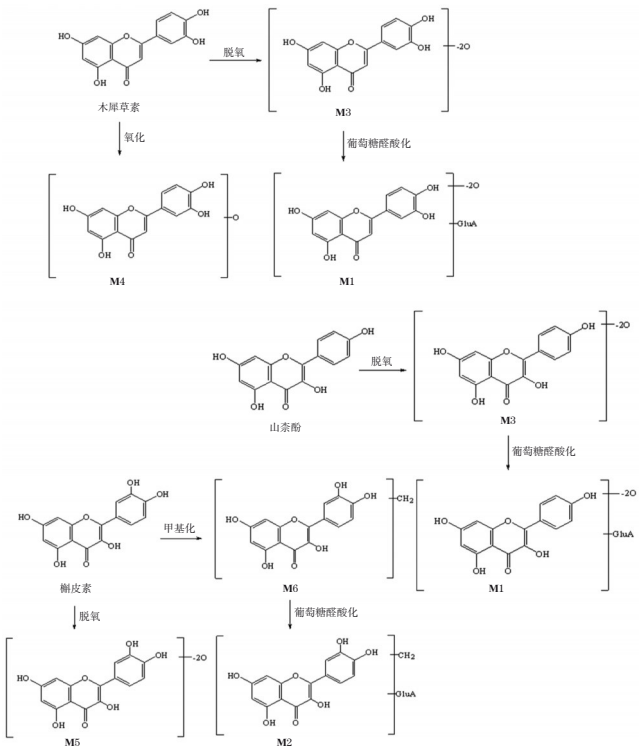


图4　龙眼叶乙醇提取物在大鼠体内的可能代谢途径

峰进行分析，发现准分子离子峰 *m/z* 493.099 0[M+H]$^+$比碎片离子 *m/z* 317.066 9 的分子量多了176，提示该化合物可能存在葡萄糖醛酸化代谢过程，由此推测该化合物可能是槲皮素先发生甲基化后再与葡萄糖醛酸结合形成的代谢产物。结合文献[9]报道的质谱信息，推测峰**M2**为槲皮素甲基化后葡萄糖醛酸化产物，其可能的代谢途径见图4。

3.3.3　峰**M3**的鉴定　给药组大鼠尿液样品中峰**M3**的保留时间为5.34 min，准分子离子峰为 *m/z* 255.066 2[M+H]$^+$，分子式为$C_{15}H_{11}O_4$。二级质谱图中存在 *m/z* 227.071 0、*m/z* 199.075 7、*m/z* 181.065 9、*m/z* 137.024 4 和 *m/z* 133.028 9的碎片离子。其裂解过程为准分子离子峰 *m/z* 255.066 2[M+H]$^+$先后失去1个CO中性分子后，分别得到 *m/z* 227.071 0 与 *m/z* 199.075 7 的碎片离子。*m/z* 199.075 7碎片离子继续裂解，失去1个中性H_2O分子，产生 *m/z* 181.065 9的碎片离子，后者再失去1个中性CO_2分子，产生 *m/z* 137.024 4 的碎片离子。此外，还存在 *m/z* 133.028 9 的碎片离子，这是黄酮类成分发生RDA裂解所产生的特征碎片离子。同时，该化合物的准分子离子峰 *m/z* 255.066 2 比木犀草素或山柰酚准分子离子峰的分子量少了32，推测其可能为木犀草素或山柰酚脱氧后的代谢产物。结合文献[8]报道的质谱信息，推测峰**M3**为木犀草素或山柰酚的脱氧产物，其可能的代谢途径见图4。

3.3.4　峰**M4**的鉴定　给药组大鼠粪便样品中峰**M4**的保留时间为5.67 min，准分子离子峰为 *m/z* 303.050 5[M+H]$^+$，分子式为$C_{15}H_{11}O_7$。二级质谱图中存在 *m/z* 285.042 5、*m/z* 257.045 3、*m/z* 229.050 3、*m/z* 201.056 0、*m/z* 173.059 4、*m/z* 165.019 1、*m/z* 153.018 6 和 *m/z* 137.024 5 的碎片离子，这与文献[6]报道的槲皮素二级质谱裂解信息基本一致，由此推测其可能为槲皮素。同时，该化合物的准分子离子峰 *m/z* 303.050 5[M+H]$^+$比木犀草素准分子离子峰 *m/z* 287.055 8[M+H]$^+$的分子量大16，结合文献[10]报道的质谱信息，推测峰**M4**也可能为木犀草素的氧化产物。再结合化合物的出峰时间，推测峰**M4**为木犀草素的氧化产物，其可能的代谢途径见图4。

3.3.5　峰**M5**的鉴定　给药组大鼠尿液样品中峰**M5**的保留时间为6.50 min，准分子离子峰为 *m/z* 271.060 8[M+H]$^+$，分子式为$C_{15}H_{11}O_5$。二级质谱图中存在 *m/z* 243.065 8、*m/z* 215.070 8、*m/z* 197.061 9、*m/z* 169.062 4、*m/z* 153.018 9 和 *m/z* 149.024 7 的碎片离子。其裂解过程为准分子离子峰先后失去1个CO中性分子，分别得到 *m/z* 243.065 8与 *m/z* 215.070 8的碎片离子。*m/z* 215.070 8 碎片离子可继续裂解，失去1个中性H_2O分子，产生 *m/z* 197.061 9 的碎片离子。*m/z* 197.061 9 碎片离子继续裂解，失去1个中性CO分子，产生 *m/z* 169.062 4的碎片离子。此外，还存在 *m/z* 153.018 9 的碎片离子，这是黄酮类成分发生RDA裂解所产生的特征碎片离子。同时，该化合物的准分离子峰 *m/z* 271.060 8[M+H]$^+$比槲皮素准分子离子峰 *m/z* 303.050 4[M+H]$^+$的分子量小32，提示其可能为槲皮素脱氧后的代谢产物。进一步结合文献[11]报道的质谱信息，推测峰**M5**为槲皮素脱氧后的代谢产物，其可能的代谢途径见图4。

3.3.6　峰**M6**的鉴定　给药组大鼠尿液样品中峰**M6**的保留时间为6.79 min，由一级质谱图得到其准分子离子峰为 *m/z* 317.066 4[M+H]$^+$，分子式为$C_{16}H_{13}O_7$。二级质谱图中存在 *m/z* 302.041 3、*m/z* 285.039 9、*m/z* 274.044 5、*m/z* 229.047 1、*m/z* 201.057 1、*m/z* 165.020 9、*m/z* 153.019 5 和 *m/z* 139.041 5 的碎片离子。由文献报道可知，*m/z* 285.039 9、*m/z* 229.047 1、*m/z* 201.057 1、*m/z* 165.020 9 和 *m/z* 153.019 5 是槲皮素的特征碎片离子[6]，由此推测该化合物结构中存在槲皮素的母核。同时，该化合物的准分子离子峰 *m/z* 317.066 4[M+H]$^+$比槲皮素准分子离子峰 *m/z* 303.050 4 [M+H]$^+$的分子量大14，推测其可能为槲皮素与甲基结合后得到的代谢产物。进一步结合文献[9]报道的质谱信息，推测**M6**为槲皮素甲基化产物，其可能的代谢途径见图4。

4　讨论

通过与空白对照组大鼠尿液和粪便样品的基峰色谱图比对，在给药组大鼠粪便样品中发现了槲皮素和木犀草素的原型成分，这与本课题组的前期研究结果基本

一致[12]。但是在本研究中，槲皮苷与没食子酸乙酯在大鼠代谢产物中未被检出，这可能是因为其含量太低无法检测到或代谢较慢未能收集到。初步鉴定出的化合物多为槲皮素和木犀草素的代谢产物，其代谢路径主要包括甲基化、葡萄糖醛酸化和氧化过程，与文献[13－14]报道的代谢途径一致。黄酮类化合物广泛存在于中药中，其在治疗糖尿病、阿尔茨海默病和抗氧化、降血脂、抗炎等方面都具有一定功效[15－17]。如槲皮素可以通过抑制胰岛细胞凋亡以及降低机体氧化应激水平来降血糖，木犀草素也具有一定的降糖活性[18－19]。本研究结果表明，龙眼叶乙醇提取物中槲皮素和木犀草素参与了大鼠体内代谢，这在一定程度上说明了龙眼叶中的黄酮类成分可能是其发挥降血糖作用的药效物质。

在本研究中，给药组大鼠粪便样品中的化学成分多以原型成分存在，尿液样品中的化学成分多以代谢产物的形式存在，笔者推测这可能是由于龙眼叶乙醇提取物在大鼠粪便中代谢较慢或药物浓度较高，导致许多化学成分还没有进行彻底代谢就随粪便排泄到体外。此外，本研究在给药组大鼠粪便样品的基峰色谱图中发现了准分子离子峰为 *m/z* 520.340 8$[M+H]^+$、*m/z* 522.355 9$[M+H]^+$的化合物（峰3、4），经与龙眼叶乙醇提取物比对，确定其为原型成分；同时，笔者还发现了只有在给药组大鼠粪便样品中才存在的代谢产物（如峰**M7**、**M8**）。但由于文献资料的限制，仅从已知的一级质谱和二级质谱信息暂时未能对这些化合物的结构进行鉴定，这些化合物的碎片信息还需要在后期研究中进一步分析。

综上，本研究利用UPLC-Q-TOF-MS/MS技术对龙眼叶乙醇提取物在大鼠体内的代谢产物进行了初步研究，发现龙眼叶乙醇提取物灌胃后在大鼠体内主要经甲基化、葡萄糖醛酸化等途径代谢，为寻找龙眼叶降血糖的可能代谢途径提供了一定的参考。但是，还有部分原型成分及代谢产物无法进行鉴定，为了明确其化合物的具体结构，后期还需结合多级质谱信息及对照品比对，对分离出的化合物进一步分析鉴定，以便对龙眼叶降血糖的代谢途径进行更为全面的分析。

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[M]. 上海：上海科学技术出版社，1999：112.

[2] 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.

[3] 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.

[4] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 2版. 上海：上海科学技术出版社，2006：50-60.

[5] 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.

[6] 李宇航，戴海学，汪明明，等. 槲皮素的电喷雾离子阱质谱分析[J]. 质谱学报，2009，30(6)：374-378.

[7] 王清，刘敬，陈晓兰，等. 基于LC/QTOF-MS/MS法鉴定兰考泡桐花化学成分[J]. 中医药学报，2015，43(5)：70-76.

[8] 曹旭. 桑叶降血糖有效部位在大鼠体内的药物动力学及代谢产物研究[D]. 镇江：江苏大学，2013.

[9] 伍明江，吴晓磊，张德芹，等. UPLC-Q-TOF/MS鉴定大鼠口服桑叶黄酮后的体内物质[J]. 中草药，2017，48(14)：2832-2838.

[10] 李军茂，何明珍，冯育林，等. 木犀草素及木犀草苷在大鼠体内的代谢研究[J]. 中药新药与临床药理，2017，28(1)：61-68.

[11] 仝保慧. 草棉花活性组黄酮醇类多成分质谱定量及其体内代谢产物分析方法比较[D]. 长春：吉林大学，2009.

[12] 梁洁，韦金玉，黄冬芳，等. 基于UPLC-Q-TOF-MS/MS技术的龙眼叶入血成分分析[J]. 中药材，2021，44(3)：615-621.

[13] 刘海帆，崔洁，王文全. 甘草地上部分黄酮类成分的代谢物及药代动力学参数研究概述[J]. 天津中医药大学学报，2022，41(1)：90-101.

[14] 余芳，金涌. 黄酮类化合物的体内外代谢研究进展[J]. 山东化工，2021，50(22)：106-108，112.

[15] 王秀秀，邹丽，钱薇，等. 黄酮类化合物对心肌细胞离子通道作用的研究进展[J]. 中国现代应用药学，2019，36(7)：885-887.

[16] 邵骏菁，张晓平，杨颖，等. 黄酮类化合物防治阿尔茨海默病的研究进展[J]. 中国药房，2020，31(24)：3066-3072.

[17] 顾丽媛，唐海涛，孙云，等. 中药黄酮类化合物治疗糖尿病肾病的研究现状[J]. 中国临床药理学杂志，2020，36(12)：1729-1732.

[18] 王建礼，杨作成，王聪，等. 槲皮素对糖尿病大鼠的降糖作用及机制研究[J]. 济宁医学院学报，2018，41(2)：135-138.

[19] 程艳刚，谭金燕，裴妙荣. 基于网络药理学的木犀草素治疗2型糖尿病作用机制研究[J]. 中华中医药学刊，2021，39(3)：51-55，262.

（收稿日期：2022-03-18　修回日期：2022-09-07）

（编辑：林　静）