

液相色谱-质谱法分析鉴定红芽木的功能性成分及其生物活性研究

李文琪¹, 陆国寿^{1,2*}, 胡筱希¹, 黄周峰¹, 黄建猷¹

(1. 广西壮族自治区中医药研究院, 南宁 530022; 2. 广西中药质量标准研究重点实验室, 南宁 530022)

摘要: 目的 分析红芽木的化学成分, 并对其抗氧化、降糖及降脂功能活性进行研究。**方法** 采用液相色谱-质谱法采集数据, 对各色谱峰的质谱数据进行解析、结构推测和确认; 采用自由基清除能力方法对红芽木样品抗氧化活性进行研究; 考察红芽木对 α -葡萄糖苷酶抑制活性及对胰岛素抵抗的影响; 通过建立人肝癌高脂模型测试红芽木的降脂活性。**结果** 从红芽木中共鉴定了 68 个化合物, 抗氧化结果显示红芽木清除 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基及 2,2'-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐阳离子自由基的半抑制浓度分别为(0.21 ± 0.05) mg/mL、(0.14 ± 0.03) mg/mL; 红芽木对 α -葡萄糖苷酶抑制活性的半抑制浓度为(63.52 ± 3.12) μ g/mL; 降糖实验结果显示可以改善 HepG2 细胞的胰岛素抵抗; 降脂实验结果显示红芽木提取物具有一定的降脂作用。**结论** 红芽木化学成分丰富, 并具有较好的抗氧化、降糖及降脂活性, 本研究为红芽木的深入研究开发提供了参考。

关键词: 红芽木; 液相色谱-质谱法; 功能性成分; 抗氧化活性; 降糖活性; 降脂活性

Analysis and identification of the functional components of *Cratoxylum formosum* by liquid chromatography-mass spectrometry and study on their biological activities

LI Wen-Qi¹, LU Guo-Shou^{1,2*}, HU Xiao-Xi¹, HUANG Zhou-Feng¹, HUANG Jian-You¹

(1. Guangxi Institute of Traditional Medical and Pharmaceutical Sciences, Nanning 530022, China;
2. Guangxi Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality Standards, Nanning 530022, China)

ABSTRACT: Objective To analyze the chemical constituents of *Cratoxylum formosum* and study its antioxidant, hypoglycemic, and lipid-lowering activities. **Methods** Data were collected by liquid chromatography-mass spectrometry, and the mass spectrometry data of each chromatographic peak were analyzed, inferred and confirmed. The antioxidant activity of *Cratoxylum formosum* was studied by radical scavenging ability method. The inhibitory activity of *Cratoxylum formosum* on α -glucosidase and its effect on insulin resistance were investigated; the lipid-lowering activity of *Cratoxylum formosum* was tested by establishing a high-fat model of human liver cancer. **Results** A total of 68 compounds were identified from *Cratoxylum formosum*. The antioxidant results showed that the

基金项目: 中央补助广西中药资源质量评价与标准化公共服务检测平台建设项目(桂中医药发(2021)8 号)、广西中药质量标准研究重点实验室课题项目(桂中重自 201414)

Fund: Supported by the Central Government Subsidizes the Construction Project of Guangxi Traditional Chinese Medicine Resources Quality Evaluation and Standardized Public Service Testing Platform (Guangxi Administration of Traditional Chinese Medicine Issue (2021) No.8), and the Guangxi Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality Standards Subject (GZZZ 201414)

*通信作者: 陆国寿, 主任药师, 主要研究方向为中药分析及物质基础。E-mail: luguoshou@foxmail.com

*Corresponding author: LU Guo-Shou, Chief Pharmacist, Guangxi Institute of Traditional Medical and Pharmaceutical Sciences, No.20-1, Dongge Road, Nanning 530022, China. E-mail: luguoshou@foxmail.com

half maximal inhibitory concentrations of *Cratoxylum formosum* for scavenging 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) ammonium salt anion radicals were (0.21 ± 0.05) mg/mL and (0.14 ± 0.03) mg/mL, respectively. The semi-inhibitory concentration for α -glucosidase activity of *Cratoxylum formosum* was (63.52 ± 3.12) μ g/mL. The results of hypoglycemic experiment showed that it could improve the insulin resistance of HepG2 cells. The results of lipid-lowering experiment showed that the extract of *Cratoxylum formosum* had a certain lipid-lowering effect. **Conclusion** *Cratoxylum formosum* is rich in chemical components and has good antioxidant, hypoglycemic and lipid-lowering activities. This study provides a reference for the in-depth research and development of *Cratoxylum formosum*.

KEY WORDS: *Cratoxylum formosum*; liquid chromatography-mass spectrometry; functional components; antioxidant activity; hypoglycemic activity; lipid-lowering activity

0 引言

红芽木(*Cratoxylum formosum* subsp. *pruniflorum*)是藤黄科黄牛木属下的一个亚种,别名苦丁茶、土茶、五月茶,分布于广西南部和云南南部的山地次生疏林或灌丛中。红芽木是广西民间有名的药茶两用植物,壮药名“茶盖”,其嫩叶可作茶叶代用品,在桂南民间饮用人群广泛。红芽木的药茶作用由古至今的历代医药名著都有记录,被《本经逢原》《医林纂要》《中华本草》《广西药用植物名录》等收录,其性凉、味甘淡、微苦,具有解暑清热、化湿消滞的功效,民间用于治疗感冒、中暑发热、黄疸、急性胃肠炎、阿米巴痢疾、疮疖等^[1-2]。

目前,红芽木的化学成分研究手段仅限于传统的通过提取分离纯化获得单体化合物再进行结构鉴定的方法,该方法耗时耗力。液相色谱-质谱法(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)进行化学成分分析,是近年发展迅速及应用范围日益广泛的一种化学成分辨识技术手段,可以快速、灵敏地分析出样品中的化学成分。此外,红芽木主要有抗癌、抗菌、抗炎等方面的研究报道^[3-6],但作为少数民族常见茶饮,其保健功能研究少见报道。鉴于此,本研究拟建立红芽木的LC-MS化学成分研究手段,并对红芽木的抗氧化活性、对胰岛素抵抗、降脂等方面的活性进行研究,为实现红芽木或其产品的化学成分快速辨识、功能活性研究等提供参考,并为充分利用红芽木资源提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 仪器

Q-Exactive型液相色谱-线性轨道离子阱组合质谱系统(美国热电公司); Multiskan Go型全波长酶标仪、Thermo Hypersil GOLD 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.9 μ m)(美国赛默飞公司); XS-205型电子天平(精密度 0.01 mg, 瑞士梅特勒托利多公司); CKX53倒置相差显微镜(日本Olympus公司);

BJ-J1606 细胞培养箱(上海博迅医疗生物仪器股份有限公司); 1-14K 冷冻离心机(美国 Sigma 公司); 0.23 μ m、0.45 μ m 微孔滤膜(天津市津腾实验设备有限公司)。

1.2 材料

1.2.1 试剂

阿卡波糖、对硝基苯- α -D-吡喃葡萄糖苷(4-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside, PNPG)、 α -葡萄糖苷酶(73.6 U/mg)、油酸钠、4%组织细胞固定液、饱和油红 O 染色液、二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)(北京索莱宝科技有限公司); 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)(纯度 95%)、2,2'-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐[2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) ammonium salt, ABTS](纯度 98%)(上海麦克林生化科技股份有限公司); L(+)-抗坏血酸(广东光华科技股份有限公司); 磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS, 武汉赛维尔生物科技有限公司); 乙腈(色谱纯, 德国 Merck 公司); 木犀草素(含量 96.3%)、儿茶素(含量 96.6%)、槲皮素(含量 99.1%)、大黄素甲醚(含量 98.9%)(中国食品药品检定研究院); 碳酸钠(Na₂CO₃)(分析纯, 国药集团化学试剂上海有限公司); 葡萄糖试剂盒(南京建成生物工程研究所); 细胞计数 CCK-8 试剂盒(日本同仁化学)。

1.2.2 药材

红芽木采自广西金秀县,由广西壮族自治区中医药研究院黄云峰主任药师来源鉴定为藤黄科黄牛木属红芽木(*Cratoxylum formosum*)。

1.2.3 细胞

人肝癌 HepG2 细胞购自武汉普诺赛生命科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 对照品及供试品溶液的制备

对照品溶液的制备: 取各对照品适量,以甲醇为溶剂,制备成混合对照品溶液(木犀草素 73.2 μ g/mL、儿茶素 118.0 μ g/mL、槲皮素 54.0 μ g/mL、大黄素甲醚 154.8 μ g/mL),用 0.23 μ m 微孔滤膜滤过,即得。供试品溶液的制备: 取红

芽木药材粉末 10 g, 加 300 mL 75%乙醇回流提取 30 min, 放冷, 滤过, 滤液取适量用 0.23 μm 微孔滤膜滤过, 即得。称取适量稠膏, 配制成 400 mg/mL 的母液, 按实际需要稀释至适宜质量浓度, 13000 r/min 离心 10 min, 取上清液过 0.45 μm 滤膜备用, 用于活性研究。

1.3.2 色谱条件

采用 Thermo Hypersil GOLD 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.9 μm), 流动相为乙腈(A)-水(B), 梯度洗脱(0~6 min, 5% A; 6~50 min, 5%~95% A; 50~60 min, 95% A; 60~61 min, 95%~5% A); 流速为 0.35 mL/min; 柱温为 30°C, 进样量为 1 μL。

1.3.3 质谱条件

采用加热电喷雾离子源, 负离子扫描模式, 鞘气压力为 35 arb, 辅助气压力为 10 arb, 喷雾电压为 -3.0 kV, 毛细管温度为 320°C, 脱气溶剂温度 350°C; 脱气溶剂气流量 10 L/min, 扫描模式: Full MS/dd-MS², Full MS 分辨率: 70000, dd-MS² 分辨率: 35000, 扫描范围为 *m/z* 100~1500, 碰撞能力为 20、40、60 eV。

1.3.4 化合物结构分析

查询红芽木及其同属植物的国内外化学成分相关文献^[7~11], 整理相关文献中所涉及化合物的数据内容用于自建红芽木化学成分数据库。利用 LC-MS 采集数据后, 提取各色谱峰的质谱图, 根据准分子离子等信息, 得到一级质谱精确相对分子质量, 与自建成分数据库进行比对, 对各色谱峰进行初步判断。筛选信噪比较好的二级质谱图, 提取色谱峰的二级质谱信息, 并获得相应的碎片离子, 根据碎片离子的裂解情况并结合文献数据进一步对比推测化学成分。

1.3.5 抗氧化活性测定

清除 DPPH 自由基活性: 参考文献[12~15]方法, 采用清除 DPPH 自由基的方法测定成分的抗氧化能力: 称取 25.4 mg 的 DPPH, 使用无水乙醇溶解, 定容于 100 mL 容量瓶, 备用, 使用时稀释 10 倍; 样品及阳性对照均质量浓度设置为 5 个梯度(1.0000、0.5000、0.2500、0.1250、0.0625 mg/mL), 分别取 20 μL 不同浓度供试液加入到 96 孔板中, 各孔再继续加入 180 μL DPPH 溶液, 并设立对照组、空白组。充分混匀, 避光放置 30 min, 酶标仪 515 nm 波长下测定。

清除 ABTS 阳离子自由基活性: 将 3 mL 的 7 mmol/L ABTS 和 3 mL 的 2.45 mmol/L 过硫酸钾溶液混合, 避光静置 12 h, 反应后溶液即为 ABTS 阳离子自由基储备液。使用前用 70%乙醇稀释, 调节吸光度为 0.700±0.005, 加入 20 μL 的样品于 96 孔板各孔中, 样品及阳性对照均浓度设置 5 个梯度(1.0000、0.5000、0.2500、0.1250、0.0625 mg/mL), 再加入 180 μL ABTS 自由基工作液, 并设立对照组、空白组。充分混合后, 避光静置 10 min, 在酶标仪 734 nm 波长下测定。清除率按公式(1)进行计算:

$$\text{自由基清除率} = [1 - (A_i - A_j)/A_0] \times 100\% \quad (1)$$

其中: A_0 为加入 180 μL DPPH/ABTS 和 20 μL 试样溶剂混匀后测定的吸光度值; A_i 为 180 μL DPPH/ABTS 和 20 μL 试样混匀后测定的吸光度值; A_j 为 180 μL 试样溶剂和 20 μL 试样混匀后测定的吸光度值。以供试液质量浓度、清除率分别为横、纵坐标作图。

1.3.6 α -葡萄糖苷酶抑制活性测定

参考文献[16]实验方法, 以 PNPG 为底物, 分组如下: 样品空白组(红芽木提取物+PBS+酶)、酶空白组(PBS+酶)、酶活性对照组(PBS+PNPG+酶)、阳性对照组(阿卡波糖+PBS+PNPG+酶)和供试样品组(红芽木提取物+PBS+PNPG+酶)。将 α -葡萄糖苷酶液(1.0 U/mL)溶液 40 μL 加入 96 孔板, 再加入质量浓度依次为 100.00、50.00、25.00、12.50、6.25 μg/mL 的红芽木供试品溶液 10 μL, 充分混匀后, 37°C 条件下反应 10 min 后, 再加 PNPG 底物 50 μL, 37°C 再反应 30 min, 用 100 μL 的 1.0 mol/L Na₂CO₃ 中止反应, 酶标仪 405 nm 波长下, 测定吸光度值, α -葡萄糖苷酶活性的抑制率参照公式(2)。

$$\alpha\text{-葡萄糖苷酶抑制率}/\% = 1 - [(A_{\text{样}} - A_{\text{样空}})/(A_{\text{酶}} - A_{\text{酶空}})] \times 100\% \quad (2)$$

每一组重复 3 次, 用 SPSS 22.0 计算其半抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC₅₀)值。

1.3.7 对 HepG2 细胞胰岛素抵抗的影响

(1) 红芽木提取物对 HepG2 细胞增殖的影响

取对数生长期的 HepG2 细胞, 按密度 5 万/mL 接种于 96 孔板, 同时设置实验组、对照组及空白组。实验组按不同质量浓度加入红芽木提取物(400.00、200.00、100.00、50.00、25.00、12.50、6.25、3.13 μg/mL), 以含 10%胎牛血清和 1%青链霉素混合液的完全培养基配制, 对照组细胞加入完全培养基, 空白组加入无细胞、无药物的完全培养基, 每孔均为 100 μL, 各组均设置 5 个复孔, 培养箱于 37°C、5% CO₂ 的条件下培养 24 h, 检测时将 CCK-8 试剂与无血清的培养液按 1:10 (V:V) 比例配制工作液, 每孔加入 100 μL 工作液, 放入 CO₂ 培养箱中 37°C 恒温孵育 1 h, 放入全波长酶标仪中, 在 450 nm 波长下检测吸光度, 计算细胞活性。

(2) 红芽木提取物对 HepG2 细胞胰岛素抵抗模型葡萄糖消耗量影响

取对数生长期的 HepG2 细胞, 按 5 万/mL 接种于 96 孔板中, 设置空白、对照组、实验样品组(100.00、50.00、25.00、12.50、6.25 μg/mL)和模型组, 每组平行 3 个复孔, 观察细胞贴壁后, 空白组不接种细胞, 对照组加入完全培养基, 参考文献[17]模型组加入棕榈酸(palmic acid, PA) 75 μmol/L 的完全培养基, 培养 24 h 后, 吸去上清液, PBS 洗 2 次, 加入不含酚红的 DMEM 高糖培养基, 继续培养 24 h, 利用酶标仪按

照检测试剂盒检测葡萄糖含量，并计算葡萄糖消耗量，葡萄糖消耗量=空白组的葡萄糖含量-各组葡萄糖含量均值。

1.3.8 降脂活性测定

取对数生长期的 HepG2 细胞，按 5 万/mL 接种于 96 孔板中，实验分为对照组、实验样品组(100.00、50.00、25.00、12.50、6.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$)和模型组(80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 油酸钠)，油酸钠浓度参考文献[18-19]，每组平行 3 个复孔，细胞贴壁后，各组除空白组外，均加入质量浓度为 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 油酸钠溶液，继续在培养箱中培养 24 h，再加入不同浓度的药物，继续培养 24 h 后弃去上清液。PBS 清洗 2 次，每次 200 μL ，每孔加入 4% 多聚甲醛 200 μL ，室温下静置 15 min 后弃去，PBS 清洗 2 次，每次 200 μL ，每孔加入油红 O 工作液 200 μL ，染色 15 min 后弃去，200 μL PBS 清洗 2 次后，加入 200 mL DMSO 溶解，酶标仪 515 nm 波长下测定吸光度(A)值，以吸光度(A)值表示降脂活性。

1.4 数据处理

根据不同实验，每组进行 3 次或者 5 次重复实验，所有结果均以“平均值±标准偏差”的形式表示，实验结果用 SPSS 22.0 的单因素分析(analyses of variance, ANOVA)进行

统一分析，显著性差异为 $P<0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 总离子流图及成分鉴定结果

红芽木提取物样品在 1.3.2 项色谱条件及 1.3.3 质谱条件下分析得 HPLC-MS 总离子流图，见图 1，共分析鉴定出 68 种成分，结果见表 1。

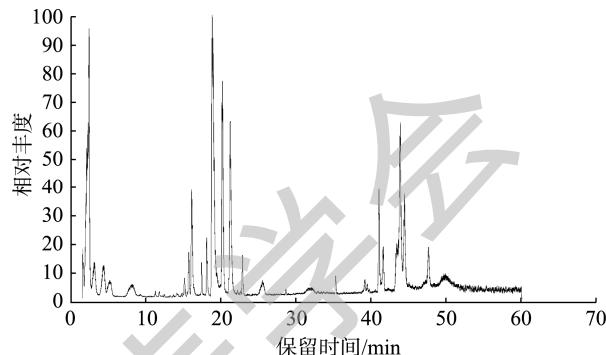


图 1 红芽木负离子模式总离子流图

Fig.1 Total ion flow diagram of negative ion mode of *Cratoxylum formosum*

表 1 红芽木二级质谱数据
Table 1 Secondary mass spectrometry data of *Cratoxylum formosum*

序号	保留时间 /min	离子模式	分子式	理论值 (m/z)	测得值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	特征离子 MS	名称	分类
1	1.63	[M-H] ⁻	C ₁₀ H ₈ O ₄	191.0344	191.0340	2.09	148,120,104	东莨菪素	香豆素类
2	1.68	[M-H] ⁻	C ₄ H ₆ O ₄	115.0031	115.0023	6.96	117,99,73	琥珀酸	有机酸类
3	1.98	[M-H] ⁻	C ₉ H ₁₁ NO ₂	164.0711	164.0706	3.05	147,103	苯丙氨酸	氨基酸类
4	2.1	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	255.0657	255.0688	-12.15	135,119	异甘草素	黄酮类
5	2.12	[M-H] ⁻	C ₆ H ₈ O ₇	191.0192	191.0186	3.14	113,85	异柠檬酸	有机酸类
6	2.66	[M-H] ⁻	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	331.0665	331.0665	0.00	212,153	Beta-葡萄糖倍昔	黄酮苷类
7	3.08	[M-H] ⁻	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	203.082	203.0817	1.48	190,133	色氨酸	有机酸类
8	3.31	[M-H] ⁻	C ₁₈ H ₁₆ O ₆ H ₂ O	345.0974	345.0901	21.15	221.135	pruniflоро	双苯吡酮类
9	3.69	[M-H] ⁻	C ₄ H ₆ O ₅	133.0137	133.0129	6.01	117,72	L-苹果酸	有机酸类
10	3.7	[M-H] ⁻	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353.0872	353.0874	-0.57	191,176,148	东莨菪苷	黄酮苷类
11	3.71	[M-H] ⁻	C ₇ H ₆ O ₅	169.0137	169.0131	3.55	125,97	没食子酸	有机酚类
12	3.74	[M-H] ⁻	C ₇ H ₆ O ₂	121.0289	121.0282	5.78	108,93	4-羟基苯甲醛	有机醛类
13	4.17	[M-H] ⁻	C ₈ H ₈ O ₃	151.0395	151.0386	5.96	125,106	香兰素	有机醛类
14	4.4	[M-H] ⁻	C ₉ H ₈ O ₃	163.0395	163.0388	4.29	147,93	4-羟基肉桂酸	有机酸类
15	5.26	[M-H] ⁻	C ₉ H ₈ O ₄	179.0344	179.0340	2.23	135,118	咖啡酸	有机酸类
16	6.18	[M-H] ⁻	C ₁₆ H ₁₆ O ₇	319.0818	319.0819	-0.31	279,119	4-香豆酰莽草酸	有机酸类
17	6.24	[M-H] ⁻	C ₁₀ H ₁₀ O ₅	209.045	209.0446	1.91	166,121	5-羟基阿魏酸	有机酸类
18	8.17	[M-H] ⁻	C ₉ H ₆ O ₃	161.0238	161.0232	3.73	135,117	伞形花内酯	香豆素类
19	10.8	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₂ O ₈	319.0454	319.0454	0.00	181,137	二氢杨梅素	黄酮类
20	11.13	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	287.0555	287.0558	-1.05	251,174	pruniflorone M	双苯吡酮类
21	11.29	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	287.0555	287.0558	-1.05	238,158	1,6-dihydroxy-7,8-dimethoxyxanthone	双苯吡酮类
22	11.47	[M-H] ⁻	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	577.1346	577.1348	-0.35	451,289	原花青素 B ₂	有机酚类
23	11.73	[M-H] ⁻	C ₇ H ₆ O ₂	121.0289	121.0281	6.61	91	水杨醛	有机醛类
24	11.93	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289.0712	289.0716	-1.38	270,202	儿茶素	黄酮类

表1(续)

序号	保留时间 /min	离子模式	分子式	理论值 (<i>m/z</i>)	测得值 (<i>m/z</i>)	误差 ($\times 10^{-6}$)	特征离子 MS	名称	分类
25	12.09	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289.0712	289.0714	-0.69	123,109	表儿茶素	黄酮类
26	12.17	[M-H] ⁻	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609.1455	609.1456	-0.16	300	芦丁	黄酮类
27	12.23	[M-H] ⁻	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₁	449.1084	449.1085	-0.22	284,235	pruniflorosides A	双苯吡酮苷类
28	12.35	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	287.0555	287.0559	-1.39	269,151	二氢山奈酚	黄酮类
29	13.48	[M-H] ⁻	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	433.1134	433.1138	-0.92	271,169	樱桃苷	黄酮苷类
30	13.86	[M-H] ⁻	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₂	461.072	461.0726	-1.30	285,133	木犀草素-7-葡萄糖 醛酸苷	黄酮苷类
31	14.1	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	301.0348	301.0349	-0.33	150	3',4',5',5,7-五羟黄酮	黄酮类
32	14.28	[M-H] ⁻	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	447.0927	447.0929	-0.45	369,303	槲皮苷	黄酮苷类
33	14.37	[M-H] ⁻	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	579.1714	579.1716	-0.35	271,151	柚皮苷	黄酮苷类
34	14.42	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₂ O ₇	303.0505	303.0506	-0.33	213,125	pruniflorone O	双苯吡酮类
35	14.65	[M-H] ⁻	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609.1455	609.1455	0.00	447,285	槐属黄酮苷	黄酮苷类
36	14.81	[M-H] ⁻	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463.0876	463.0871	1.08	301,85	异槲皮苷	黄酮苷类
37	14.91	[M-H] ⁻	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	431.0978	431.0977	0.23	283,117	牡荆素	黄酮苷类
38	15.2	[M-H] ⁻	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	577.1557	577.1558	-0.17	269	野漆树苷	黄酮苷类
39	15.63	[M-H] ⁻	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	593.1506	593.1507	-0.17	255,169	牡荆素 2'-葡萄糖苷	黄酮苷类
40	15.96	[M-H] ⁻	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	315.0505	315.0508	-0.95	299,137	3-O-甲基槲皮素	黄酮类
41	16.26	[M-H] ⁻	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463.0876	463.0873	0.65	300,145	金丝桃苷	黄酮苷类
42	16.36	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	271.0606	271.0607	-0.37	119,109	柚皮素	黄酮类
43	16.56	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	287.0555	287.0557	-0.70	257	黄颜木素	黄酮类
44	17.17	[M-H] ⁻	C ₂₁ H ₂₄ O ₁₀	435.1291	435.1291	0.00	273,167	根皮苷	黄酮苷类
45	17.60	[M-H] ⁻	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	431.0978	431.0979	-0.23	398,311	异牡荆黄素	黄酮类
46	18.00	[M-H] ⁻	C ₃₀ H ₂₂ O ₁₂	573.1033	573.1034	-0.17	269,151	GB-2	双黄酮类
47	18.02	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₁ O ₆ ⁺	286.0477	286.0479	-0.70	211,119	花青色素	有机酚类
48	18.36	[M-H] ⁻	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₁	449.1084	449.1087	-0.67	299,125	pruniflorosides B	双苯吡酮苷类
49	18.61	[M-H] ⁻	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	447.0927	447.0927	0.00	429,285	紫云英苷	黄酮苷类
50	18.77	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	269.045	269.0449	0.37	156	芹菜素	黄酮类
51	18.93	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	269.045	269.0452	-0.74	223	大黄素	蒽醌类
52	19.19	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	301.0348	301.0349	-0.33	151,107	槲皮素	黄酮类
53	20.62	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	271.0606	271.0610	-1.48	251,159	紫铆花素	黄酮类
54	21.19	[M-H] ⁻	C ₁₃ H ₁₈ O ₇	285.0374	285.0399	-8.77	131,107	水杨苷	其它苷类
55	22.69	[M-H] ⁻	C ₃₀ H ₂₂ O ₁₁	557.1084	557.1084	0.00	278,135	GB-2a	双黄酮类
56	22.79	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	285.0399	285.0399	0.00	256,227	山奈酚	黄酮类
57	22.8	[M-H] ⁻	C ₃₀ H ₂₂ O ₁₀	541.1134	541.1135	-0.18	270,151,128	GB-1a	双黄酮类
58	23.58	[M-H] ⁻	C ₁₈ H ₁₆ O ₆	327.0868	327.0870	-0.61	282,172	isocudraniaxanthone A	双苯吡酮类
59	24.44	[M-H] ⁻	C ₁₈ H ₁₆ O ₆	327.0868	327.0870	-0.61	267,125	nerifolone C	双苯吡酮类
60	24.82	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	255.0657	255.0659	-0.78	255,145	甘草素	黄酮类
61	25.52	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	285.0399	285.0399	0.00	151,133	木犀草素	黄酮类
62	27.4	[M-H] ⁻	C ₁₈ H ₁₄ O ₆	325.0712	325.0712	0.00	163,125	toxyloxanthone B	双苯吡酮类
63	28.67	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	269.045	269.0450	0.00	249,213	染料木素	黄酮类
64	28.92	[M-H] ⁻	C ₁₈ H ₁₆ O ₅	311.0919	311.0920	0.00	183,119	1,3,7-trihydroxy-2-prenylxanthone	双苯吡酮类
65	30.1	[M-H] ⁻	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	313.0712	313.0780	-0.32	254,225	豌豆素	有机酚类
66	30.6	[M-H] ⁻	C ₂₄ H ₂₆ O ₇	425.16	425.1602	-21.72	300	pruniflorone U	双苯吡酮类
67	33.89	[M-H] ⁻	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	283.0606	283.0606	-0.47	270,242	大黄素甲醚	蒽醌类
68	36.03	[M-H] ⁻	C ₂₁ H ₂₀ O ₆	367.1181	367.1183	0.00	205,149	vismiaquinone B	蒽醌类

2.2 红芽木中化合物的鉴定

2.2.1 黄酮化合物

山奈酚首先从分子离子上失去一个质量数为 28 的基团 m/z 256 [M-H-CO]⁻, 根据其分子结构, 失去 CO 是由 C 环断裂所致, m/z 227 [M-H-2CO]⁻是[M-H-CO]⁻碎片继续失去一分子 CO 得到的, 质谱元素组成计算得出分子式为 $C_{15}H_{10}O_6$, 根据碎片离子分析, 并结合文献报道^[20], 鉴定其为山奈酚。裂解示意图见图 2A。

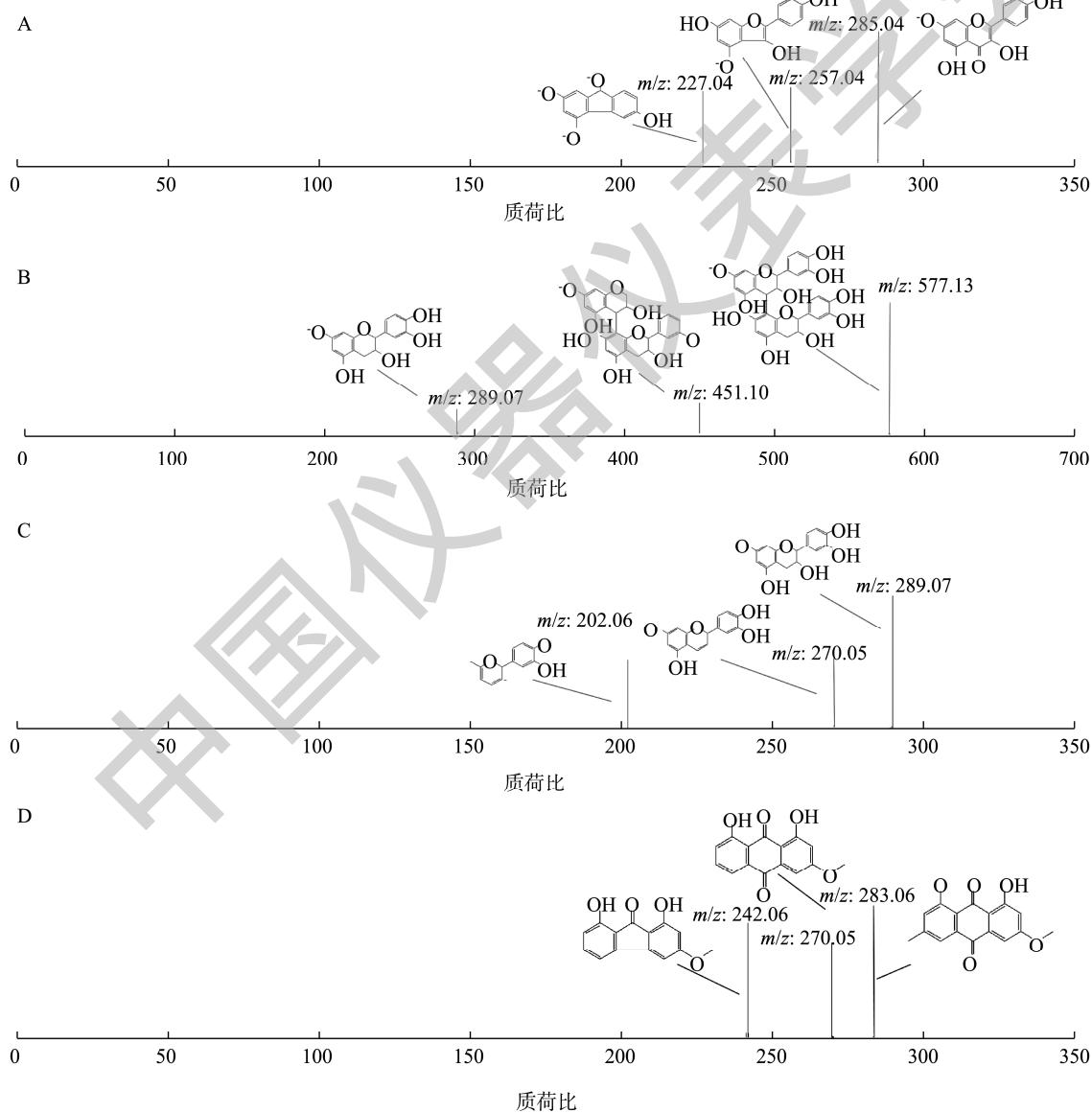
2.2.2 花青素类化合物

类黄酮化合物原花青素 B₂ 非酯型二聚体原花青素裂解存在逆狄尔斯-阿德尔(Retro Diels-Alder reaction, RDA)反应, (1)失去 1 个聚合单元得到 m/z 289 的碎片离子; (2)或

先失去一个分子水, 进而失去 1 个 3,4-二羟基苯的片段, 得到 m/z 451 离子碎片。质谱元素组成计算得出分子式为 $C_{30}H_{26}O_{12}$, 根据碎片离子分析, 并结合文献报道^[21], 鉴定其为原花青素 B₂。裂解示意图见图 2B。

2.2.3 多酚类化合物

儿茶素母离子为 m/z 289 [M-H]⁻, 碎片离子 m/z 270 是由母离子丢失一分子 H₂O 产生的, m/z 202 是由母离子再失去一分子 C₃O₂ 及一分子 H₂O 产生的碎片离子。综上碎片离子信息及文献比对, 儿茶素具有非对映异构体, 分子量相同, 构型不同, 没有提及特定的异构体, 该分子可以称为儿茶素, 因此初步鉴定为儿茶素^[22], 具体构型需进一步验证。裂解示意图见图 2C。



注: A: 山奈酚; B: 原花青素B₂; C: 儿茶素; D: 大黄素甲醚。

图2 红芽木部分化合物物质谱解析图

Fig.2 Analytical diagrams of partial compound mass spectra of *Cratoxylum formosum*

2.2.4 葵醌类化合物

大黄素甲醚属于大黄葵醌类化合物, 由于共轭体系结构, 使其分子较稳定, 导致二级质谱碎片较少, 首先母离子 m/z 283 [M-H] 失去一分子甲基形成大黄素 m/z 270, 继而再失去母核基团中的 CO 是共轭体系的主要裂解方式, 形成 m/z 242 的碎片离子, 结合文献报道, 推断出其为大黄素甲醚^[23]。裂解示意图见图 2D。

2.3 抗氧化活性结果

从清除 DPPH 自由基及 ABTS 阳离子自由基能力的实验结果显示, 红芽木提取物具有较好的抗氧化活性。在测定的浓度范围内, 抗氧化活性随着红芽木样品浓度的增加而增强, 具有较好的剂量依赖性, 见图 3, 红芽木提取物、阳性对照抗坏血酸清除 DPPH 自由基的 IC_{50} 分别为 (0.21 ± 0.05) mg/mL、 (0.15 ± 0.04) mg/mL, 清除 ABTS 阳离子自由基的 IC_{50} 为 (0.14 ± 0.03) mg/mL、 (0.04 ± 0.01) mg/mL。

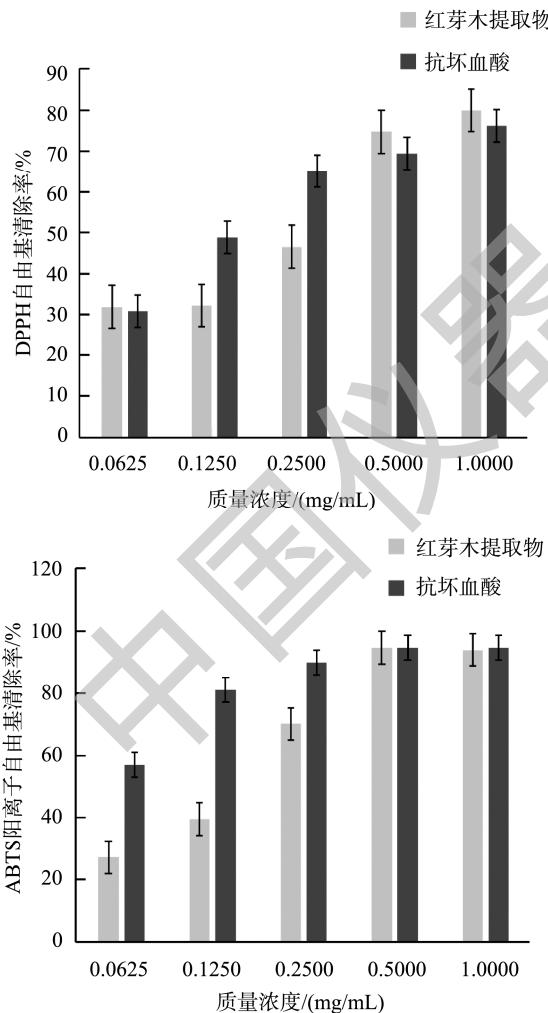


图3 红芽木提取物对DPPH自由基及ABTS阳离子自由基的清除能力($n=5$)

Fig.3 DPPH radical and ABTS cation radical scavenging activity of *Cratoxylum formosum* extract ($n=5$)

2.4 α -葡萄糖苷酶抑制活性

在测定的质量浓度范围(100.00、50.00、25.00、12.50、6.25 μ g/mL)内, α -葡萄糖苷酶的抑制活性随红芽木样品浓度的增加而增强, 呈现剂量依赖性, 见图 4。红芽木提取物、阳性对照阿卡波糖对 α -葡萄糖苷酶抑制活性的 IC_{50} 分别为 (63.52 ± 3.12) μ g/mL、 (0.04 ± 0.01) μ g/mL。

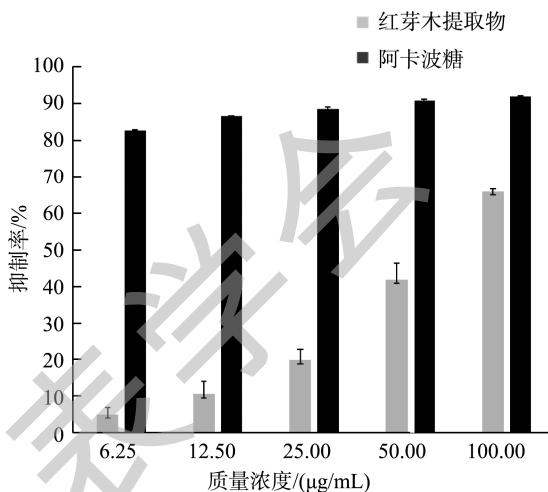
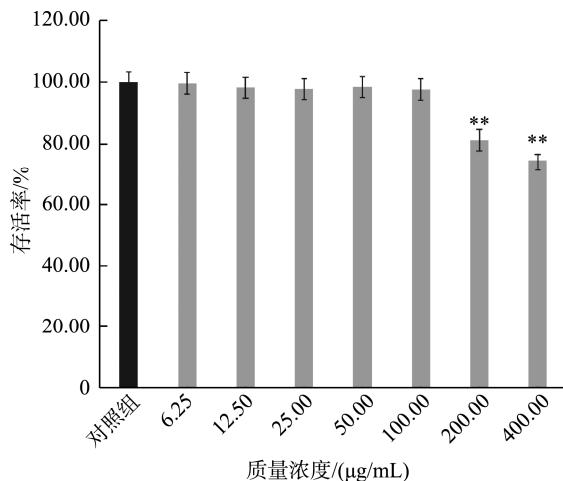


图4 红芽木提取物对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性($n=3$)

Fig.4 The α -glucosidase inhibition by *Cratoxylum formosum* extract ($n=3$)

2.5 对 HepG2 细胞胰岛素抵抗的影响

CCK8 结果显示, 与对照组比较, 6.25~100.00 μ g/mL 的红芽木提取物对 HepG2 细胞的存活率没有显著影响 ($P>0.05$), 200.00~400.00 μ g/mL 及以上浓度的红芽木提取物可以显著降低 HepG2 细胞的存活率($P<0.01$), 如图 5 所示, 因此, 选择 100.00 μ g/mL 及以下浓度的红芽木提取物

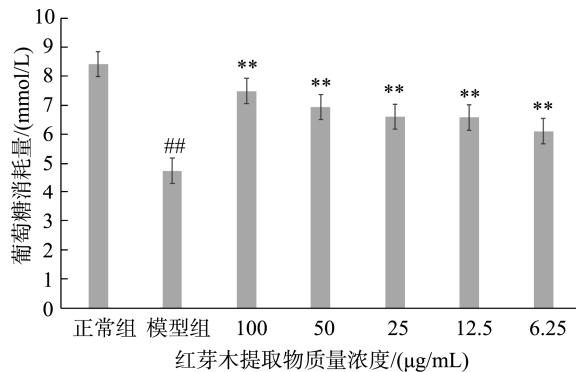


注: 与对照组比较, ** $P<0.01$ 。

图5 红芽木提取物对 HepG2 细胞存活率的影响($n=5$)

Fig.5 Effects of *Cratoxylum formosum* extract on the survival rates of HepG2 cells ($n=5$)

进行后续研究。HepG2 细胞胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)模型葡萄糖消耗量结果显示,与正常组进行比较,经棕榈酸作用 24 h 后,模型组葡萄糖消耗量显著下降($P<0.01$),说明模型可用;胰岛素抵抗是指机体对胰岛素生物反应性降低的一种现象,表现为胰岛素促进葡萄糖摄取和利用的效率下降,与模型组相比,红芽木提取物不同质量浓度的各组细胞的葡萄糖消耗量均显著增加($P<0.01$),说明红芽木提取物可以改善 HepG2 细胞的胰岛素抵抗,结果见图 6。



注: 与正常组比较,## $P<0.01$, 与模型组比较, ** $P<0.01$ 。
图 6 红芽木提取物对 HepG2 细胞 IR 模型葡萄糖消耗量的影响($n=3$)
Fig.6 Effects of *Cratoxylum formosum* extract on glucose consumption in IR model of HepG2 cells ($n=3$)

2.6 降脂活性结果

与正常组相比, 80.00 $\mu\text{g/mL}$ 油酸钠溶液模型组的吸光度显著升高($P<0.01$), 提示造模成功, 与模型组比较, 红芽木提取物 25.00~100.00 $\mu\text{g/mL}$ 组吸光度值显著降低($P<0.01$), 说明红芽木提取物具有一定的降脂作用, 见表 2。

表 2 红芽木提取物在油酸钠诱导的 HepG2 高脂模型中的降脂作用结果($n=3$)

Table 2 Results of lipid-lowering action in a model of HepG2 hyperlipidemia induced by oleic acid of *Cratoxylum formosum* extract ($n=3$)

组别	吸光度 A
正常组	0.84±0.02
油酸钠模型组 80.00 $\mu\text{g/mL}$	1.36±0.09##
红芽木提取物 100.00 $\mu\text{g/mL}$	0.98±0.02**
红芽木提取物 50.00 $\mu\text{g/mL}$	1.11±0.05**
红芽木提取物 25.00 $\mu\text{g/mL}$	1.15±0.06**
红芽木提取物 12.50 $\mu\text{g/mL}$	1.36±0.01
红芽木提取物 6.25 $\mu\text{g/mL}$	1.41±0.11

注: 与正常组比较,## $P<0.01$; 与模型组比较, ** $P<0.01$ 。

3 讨论与结论

经 HPLC-MS 检测, 对各色谱峰的质谱图高分辨一级和二级质谱数据进行解析, 与文献数据库进行对比, 对各

色谱峰进行结构推测和确认, 其中包括黄酮类化合物 17 种(牡荆素、二氢杨梅素、异甘草素等)、黄酮苷类化合物 11 种(槲皮苷、柚皮苷、根皮苷等)、双苯吡酮类化合物 9 种(pruniflorones M、pruniflorosides A、Nerifolone C 等)、有机酸类化合物 8 种(柠檬酸、咖啡酸、4-羟基肉桂酸等)、蒽醌类化合物 3 种(大黄素、大黄素甲醚、Vismiaquinone B)、其他化合物 20 种。这些成分与已报道的红芽木化学成分基本一致, 说明利用 LC-MS 辨识红芽木的化学成分具有高效的优势。

通过红芽木提取物清除 DPPH 自由基及 ABTS 阳离子自由基能力的实验结果可以, 红芽木提取物、阳性对照抗坏血酸清除 DPPH 自由基的 IC_{50} 分别为(0.21 ± 0.05) mg/mL、(0.15 ± 0.04) mg/mL, 清除 ABTS 自由基的 IC_{50} 为(0.14 ± 0.03) mg/mL、(0.04 ± 0.01) mg/mL。 IC_{50} 与阳性药抗坏血酸差别不大, 说明红芽木提取物具有较好的抗氧化活性。红芽木中具有大量的黄酮成分, 黄酮类化合物通常具有很强的抗氧化活性, 其通过清除自由基和活性氧, 从而避免氧化损伤, 羟基取代基是黄酮化合物清除自由基的活性基团, 其可以电离出氢原子, 从而中和氧自由基, 再和化合物结合成二聚体, 阻止逆向结合来清除自由基^[24-25]。本研究利用 LC-MS 检测出来的黄酮类成分, 如二氢杨梅素、槲皮素及儿茶素等均已报道有很强的抗氧化活性^[26-27]。

α -葡萄糖苷酶能将人体摄入的碳水化合物中的双糖及多糖分解为单糖从而被肠粘膜吸收至血液中, 增加血糖的含量。目前已报道多种黄酮可以作为 α -葡萄糖苷酶抑制剂。同时可以抑制 α -淀粉酶、糖原磷酸化酶、葡萄糖-6-磷酸化酶来共同达到降血糖的目的。本研究以 PNPG 为底物, 阿卡波糖为阳性对照, 对红芽木提取物进行降糖活性筛选, 在测定的浓度范围内, α -葡萄糖苷酶抑制活性随着样品浓度的增加而逐渐增强, 呈现良好的剂量依赖性, 红芽木提取物、阳性对照阿卡波糖对 α -葡萄糖苷酶抑制活性的 IC_{50} 分别为(63.52 ± 3.12) $\mu\text{g/mL}$ 、(0.04 ± 0.01) $\mu\text{g/mL}$, 结果显示红芽木提取物具有一定的 α -葡萄糖苷酶抑制活性, 但与阳性对照阿卡波糖相比不是很强, 可能与红芽木提取物的化学成分及化合物的相对含量有关。本研究结果显示, 经不同质量浓度的红芽木提取物处理后, 各组细胞的葡萄糖消耗量均显著增加($P<0.01$), 说明红芽木提取物可以改善 HepG2 细胞的胰岛素抵抗, 胰岛素抵抗是 2 型糖尿病(type 2 diabetes, T2DM)的主要病理生理特征, 改善胰岛素抵抗对于 T2DM 的治疗具有重要意义^[28-29]。近年来, 已发现多种中药提取物特别是总黄酮成分具有改善 IR 的作用^[30-31]。

红芽木在广西具有悠久的民间饮用历史。红芽木在国内外研究相对较少, 尤其是国内学者研究较少。本研究对红芽木化学成分与体外功能活性展开了研究, 研究表明红芽木的抗氧化、降糖降脂作用均有可能与其黄酮类成分有

关, 故建议以红芽木中的黄酮类成分为切入点进行研究, 从而达到更快更好地开发利用红芽木资源的目的。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 2013.
- Editorial Committee of Flora Reipublicae Popularis Sinicae, Chinese Academy of Sciences. Flora Reipublicae Popularis Sinicae [M]. Beijing: Science Press, 2013.
- [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草(第三册)[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.
- Editorial Board of State Administration of Traditional Chinese Medicine. *Chinese materia medica* (No.3) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1999.
- [3] NAWONG B, CHATCHANOK K, SUCHADA C, et al. Bioactive prenylated xanthones and anthraquinones from *Cratoxylum formosum* ssp. *Pruniflorum* [J]. Tetrahedron, 2006, 62(37): 8850–8859.
- [4] YING HD, YI D, GUANG HW, et al. Bioactive xanthones from the stems of *Cratoxylum formosum* ssp. *Pruniflorum* [J]. J Nat Prod, 2010, 73(7): 1283–1287.
- [5] PIMAN P, NATTHIDA W, RAWIWAN W. Chemopreventive effect of *Cratoxylum formosum* (Jack) ssp. *Pruniflorum* on initial stage hepatocarcinogenesis in rats [J]. Molecules, 2021, 26(14): 4235.
- [6] NAWONG B, ACHJANA K, CHATCHANOK K, et al. Nitric oxide inhibitory activity of xanthones from the green fruits of *Cratoxylum formosum* ssp. *Pruniflorum* [J]. Aust J Chem, 2010, 63(11): 1550–1556.
- [7] DUAN YH, DAI Y, WANG GH, et al. Xanthone and benzophenone glycosides from the stems of *Cratoxylum formosum* ssp. *Pruniflorum* [J]. Chem Pharm Bull, 2011, 59(2): 231–234.
- [8] NAWONG B, SUCHADA C, SUPINYA T, et al. Inhibition of nitric oxide production in lipopolysaccharide-activated RAW264.7 macrophages by isolated xanthones from the roots of *Cratoxylum formosum* ssp. *Pruniflorum* [J]. Arch Pharm Res, 2014, 37(10): 1329–1335.
- [9] QING FF, ZHI N, HUA BH, et al. Chemical compounds from the bark of *Cratoxylum formosum* ssp. *Pruniflorum* [J]. Chem Nat Com, 2014, 50(1): 137–138.
- [10] JUAN X, XIN HL, VAN BB. Phenolic constituents from the leaves of *Cratoxylum formosum* ssp. *Pruniflorum* [J]. Fitoterapia, 2014, 94(4): 114–119.
- [11] 裴文平. 三种药用植物的化学成分及其生物活性研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2013.
- PEI WP. Studies on the chemical constituents and biological activities of three medicinal plants [D]. Shanghai: East China Normal University, 2013.
- [12] 梁恒宇, 高浩祥, 何强, 等. 粗壮女贞苦丁茶提取物对油脂氧化的抑制作用[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(15): 6139–6145.
- LIANG HY, GAO HX, HE Q, et al. Inhibition effect of *Ligustrum robustum* (Rxob.) Blume extract on the oxidation of oil [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(15): 6139–6145.
- [13] 孟楠, 秦令祥, 曹源, 等. 超微冷冻前处理协同渗漉法提取食叶草黄酮工艺优化及其抗氧化、降血糖活性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(13): 249–257.
- MENG N, QIN LX, CAO Y, et al. Optimization of extraction process of flavonoids from *Rumex patientia* L.×*Rumex tianschanicus* A. LOS by ultramicro freezing pretreatment assisted percolation method and study its antioxidant and hypoglycemic activity [J]. J Food Saf Qual, 2023, 14(13): 249–257.
- [14] 黄建猷, 胡筱希, 黄周锋, 等. 基于化学模式识别法的翼核果指纹图谱及抗氧化活性研究[J]. 中草药, 2021, 52(16): 5021–5027.
- HUANG JY, HU XX, HUANG ZF, et al. Chromatographic fingerprints and antioxidant activity of *Ventilago leiocarpa* based on chemical pattern recognition [J]. Chin Tradit Herb Drug, 2021, 52(16): 5021–5027.
- [15] 谭小青, 刘布鸣, 黄艳, 等. 圆果算盘子脂溶性成分及其抗氧化活性研究[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(2): 196–200.
- TAN XQ, LIU BM, HUANG Y, et al. Study on liposoluble constituents from *Glochidion Sphaerogynum* (Muell. Arg.) Kurz and its antioxidant activities [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2021, 38(2): 196–200.
- [16] 王洁雪, 陶果, 杨帆, 等. 藏药绿萝花化学成分及其降糖活性研究[J]. 药学学报, 2021, 56(5): 1434–1438.
- WANG JX, TAO G, YANG F, et al. Chemical composition and hypoglycemic activity of *Edgeworthia gardneri* [J]. Acta Pharm Sin, 2021, 56(5): 1434–1438.
- [17] 庞晓军, 卢琳琳, 黎东旺, 等. 鬼针草总黄酮对 HepG2 细胞胰岛素抵抗的影响[J]. 中国药房, 2022, 33(8): 968–974.
- PANG XJ, LU LL, LI DW, et al. Effects of total flavonoids of *Bidens pilosa* on insulin resistance in HepG2 cells [J]. Chin Pharm, 2022, 33(8): 968–974.
- [18] 余玉萍, 张沛沛, 胡静燕, 等. 经方中的北柴胡与南柴胡精准化应用探究[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(3): 681–688.
- SHE YP, ZHANG PP, HU JY, et al. Precise application of Beichaihu and Nanchaihu in classical formulas [J]. Chin J Chin Mater Med, 2023, 48(3): 681–688.
- [19] 刘宏栋, 高余英, 高琦, 等. 窄叶鲜卑花地上部分化学成分及降血脂活性研究[J]. 中草药, 2022, 53(14): 4276–4284.
- LIU HD, GAO YY, GAO Q, et al. Chemical constituents from the aerial part of *Sibiraea angustata* and their hypolipidemic activity [J]. Chin Tradit Herb Drug, 2022, 53(14): 4276–4284.
- [20] 梁艳, 于世锋, 陈卫军, 等. 山奈酚的电喷雾质谱裂解途径[J]. 应用化学, 2009, 26(10): 1250–1252.
- LIANG Y, YU SF, CHEN WJ, et al. Fragmentation pathway of kaempferol in electrospray [J]. Chin J Appl Chem, 2009, 26(10): 1250–1252.
- [21] 杨代晓, 陈晓静, 胡秋菊, 等. 液相色谱-质谱联用法分析葡萄籽提取物中的 5 种多酚类成分[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(8): 1330–1337.
- YANG DX, CHEN XJ, HU QJ, et al. LC-MS method for determination of

- 5 kinds of polyphenols in grape seed extract [J]. Chin J Pharm Anal, 2016, 36(8): 1330–1337.
- [22] 李晓娜, 董馨, 李娜, 等. 四味土木香散化学成分 HPLC-Q-Exactive-MS/MS 高分辨质谱快速分析鉴定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 2(6): 121–131.
- LI XN, DONG X, LI N, et al. Rapid analysis and identification of chemical constituents from Siwei Tumuxiang San by HPLC-Q-Exactive-MS/MS [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2020, 2(6): 121–131.
- [23] 马小红, 沈少林, 韩凤梅, 等. 大黄蒽醌类化合物电喷雾质谱研究[J]. 湖北大学学报(自然科学版), 2006, (4): 403–406.
- MA XH, SHEN SL, HAN FM, et al. The electrospray ionization-mass spectra of *Radix et rhizoma rhei* anthraquinones [J]. J Hubei Univ (Nat Sci), 2006, (4): 403–406.
- [24] ZHOU WN, PENG CY, WANG DS, et al. Interaction mechanism between OVA and flavonoids with different hydroxyl groups on b-ring and effect on antioxidant activity [J]. Foods, 2022, 11(9): 1302.
- [25] SPEISKY H, SHAHIDI F, COSTA CA, et al. Revisiting the oxidation of flavonoids: Loss, conservation or enhancement of their antioxidant properties [J]. Antioxidants-Basel, 2022, 11(1): 133.
- [26] GUO ZY, CHEN XL, HUANG ZQ, et al. Effect of dietary dihydromyricetin supplementation on lipid metabolism, antioxidant capacity and skeletal muscle fiber type transformation in mice [J]. Anim Biotechnol, 2022, 33(3): 555–562.
- [27] KRISTINA Z, RAIMONDAS B, DARIUS T, et al. Different effects of quercetin glycosides and quercetin on kidney mitochondrial function uncoupling, cytochrome C reducing and antioxidant activity [J]. Antioxidants-Basel, 2022, 27(19): 6377.
- [28] LEE SH, PARK SY, CHOI CS. Insulin resistance: From mechanisms to therapeutic strategies [J]. Diabetes Metab, 2023, 12(2): 511.
- [29] MUSTAFA H, EDA B, HAFIZE SV, et al. The role of resveratrol in diabetes and obesity associated with insulin resistance [J]. Arch Physiol Biochem, 2023, 129(2): 555–561.
- [30] GU WJ, WANG RQ, CAI ZW, et al. Hawthorn total flavonoids ameliorate ambient fine particulate matter-induced insulin resistance and metabolic abnormalities of lipids in mice [J]. Ecotox Environ Saf, 2023, 38(1): 2199168.
- [31] REEM SA, GOMAA MH, GOMAA MH, et al. A flavonoid-rich fraction of *Euphorbia peplus* attenuates hyperglycemia, insulin resistance, and oxidative stress in a type 2 diabetes rat model [J]. Front Pharmacol, 2023, 14(6): 1204641.

(责任编辑: 张晓寒 于梦娇)

作者简介



李文琪, 副主任药师, 主要研究方向为中药新产品研究与开发。
E-mail: 77230921@qq.com



陆国寿, 主任药师, 主要研究方向为中药分析及物质基础。
E-mail: luguoshou@foxmail.com