

# 基于 UPLC-Q-Exactive 技术结合 OTCML 数据库快速分析沙棘的功效成分

孙燕<sup>1,2</sup>, 冯峰<sup>2</sup>, 黄特辉<sup>1</sup>, 张旭帆<sup>1</sup>, 曹俊岭<sup>1,3\*</sup>, 张峰<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>北京中医药大学中药学院, 北京 100029; <sup>2</sup>中国检验检疫科学研究院, 食品安全研究所, 北京 100176;

<sup>3</sup>北京中医药大学东直门医院, 北京 100700

**摘要:**为探讨沙棘果茎叶功效成分的整体差异。实验应用超高效液相色谱-四极杆静电场轨道阱高分辨质谱联用技术(UPLC-Q-Exactive)结合中药成分高分辨质谱数据库(OTCML),对沙棘果茎叶的化学成分进行了快速鉴定与比较分析。色谱柱为 Hypersil GOLD aQ 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.9 μm),流动相为 0.1% 甲酸乙腈(A)-0.1% 甲酸水(B)梯度洗脱,流速为 0.3 mL/min,高分辨质谱采用电喷雾离子源(ESI)正、负离子同时扫描模式。基于 OTCML 中所包含的 1 200 余种中药化合物对照品的保留时间,分子离子、二级碎片离子谱图信息和文献数据进行结构鉴定。结果共鉴定出沙棘中 102 个功效成分,包括苷类 18 个,黄酮类 21 个,萜类 18 个,苯丙素类 13 个,生物碱类 6 个,挥发成分 14 个,多酚 12 个;其中有 17 个化合物是在沙棘中首次发现,对沙棘果茎叶比较表明这些功效成分在不同部位分布有明显差异。该方法为今后充分开发利用沙棘资源提供了基础数据,也为沙棘相关产品的质量控制和药效物质基础研究奠定了基础。

**关键词:**超高效液相色谱-四极杆静电场轨道阱高分辨质谱联用技术;沙棘;功效成分;中药成分高分辨质谱数据库

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2019)7-1192-11

DOI:10.16333/j.1001-6880.2019.7.011

## Rapid analysis of functional components of *Hippophae rhamnoides* by UPLC-Q-Exactive and OTCML database

SUN Yan<sup>1,2</sup>, FENG Feng<sup>2</sup>, HUANG Te-hui<sup>1</sup>, ZHANG Xu-fan<sup>1</sup>, CAO Jun-ling<sup>1,3\*</sup>, ZHANG Feng<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

<sup>2</sup>China Academy of Inspection and Quarantine, Institute of Food Safety, Beijing 100176, China;

<sup>3</sup>Dongzhimen Hospital, Beijing University of traditional Chinese Medicine, Beijing 100700, China

**Abstract:** In order to explore the overall difference of the functional components of the fruit stem and leaf of *Hippophae rhamnoides*, ultra-high performance liquid chromatography coupled to quadrupole Orbitrap high resolution mass spectrometry (UPLC-Q-Exactive) combined with database of Orbitrap traditional Chinese medicine library (OTCML) used in this study. The chromatographic column is Hypersil GOLD aQ column (2.1 mm × 100 mm, 1.9 μm). Meanwhile 0.1% formic acid acetonitrile (A)-0.1% formic acid water (B) gradient elution as the mobile phase, flowing at rate 0.3 mL/min. High resolution mass spectrometry with electrospray ionization (ESI) set positive and negative scanning mode at the same time. Based on the retention time, molecular ion, secondary fragment ion spectrum information and literature data of more than 1 200 kinds of traditional Chinese medicine compounds contained in OTCML database, then the structure was identified. As results, 102 active components were identified, including 18 glycosides, 21 flavonoids, 18 terpenoids, 13 phenylpropanoids, 6 alkaloids, 14 volatile components and 12 polyphenols. Seventeen of these compounds were first found in *Hippophae rhamnoides*. There were obvious differences in the distribution of different parts. This method provides basic data for the development and utilization of *Hippophae rhamnoides* resources in the future, and also lays a foundation for the quality control of *Hippophae rhamnoides* related

收稿日期:2018-10-30 接受日期:2019-04-22

基金项目:国家重点研发计划(2017YFF0211000)

\* 通信作者 E-mail:caojunling72@163.com, fengzhang@126.com

products and the basic research on the substance of medicinal effects.

**Key words:** UPLC-Q-Exactive; *Hippophae rhamnoides*; Functional components; OTCML

沙棘 *Hippophae rhamnoides* L., 胡颓子科沙棘属植物, 含有丰富的营养物质和功效成分, 具有健脾消食, 止咳祛痰, 活血散瘀等功效<sup>[1-3]</sup>。对于沙棘中功效成分的研究, 文献中已有报导, 发现的功效成分包括多糖类、黄酮类、维生素类、脂类以及三萜类和甾醇类等<sup>[4]</sup>。传统检测技术只能依据功效成分对照品对沙棘进行检测, 对于没有对照品的功效成分, 则无法识别<sup>[5,6]</sup>。由于对照品价格昂贵, 每个实验室的种类有限, 所以目前对于沙棘中功效成分的研究还不够全面。此外, 由于《中国药典》中仅以沙棘果实入药, 所以对于沙棘中功效成分的研究多集中在果实上面。随着近些年沙棘资源受到了越来越广泛的重视, 沙棘的茎和叶中也被检出含有大量的功效成分<sup>[7]</sup>。对于沙棘果、叶、茎中功效成分的差异研究, 目前尚未见报道。

本研究建立了一种超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱 (UPLC-Q-Exactive) 进行沙棘中功效成分的非靶标分析方法, 在优化样品提取条件的基础上, 基于中药成分高分辨质谱数据库 OTCML 中存储的 1 200 余种中药化合物对照品的 7 000 多张一级和碎片质谱图库及色谱保留时间信息, 对沙棘样品果、叶、茎中的功效成分进行了鉴定。本研究为全面表征沙棘中的功效成分及充分理解沙棘功效成分的构效关系提供有力手段。

## 1 仪器与材料

超高效液相色谱系统 (Dionex UltiMate 3000) 串联四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱系统 (Q-Exactive) (美国 Thermo Fisher 公司); 数据处理用 Compound Discover 2.0 软件 (美国 Thermo Fisher 公司); 中药成分高分辨质谱数据库 (Orbitrap Traditional Chinese Medicine Library, OTCML) (美国 Thermo Fisher 公司), 分析天平 XP 105 (瑞士 Mettler 公司); Milli-Q Advantage A10 超纯水机 (美国 Millipore 公司); Centrifuge 5415D 型离心机 (德国 Eppendorf 公司); KQ-500DE 型超声清洗机, 超声功率 100 W (昆山市超声仪器有限公司)。

对照品: 羽扇烯酮 (批号: 1617-70-5), 齐墩果酮酸 (批号: 17990-42-0), 科罗索酸 (批号: 4547-24-4), 路路通酸 (批号: 4481-62-3) 购自美国阿尔法公司; 甘草次酸 (批号: 471-53-4), 熊果酸 (批号: 77-52-

1), 雷公藤红素 (批号: 34157-83-0), 山楂酸 (批号: 4373-41-5) 购自美国西格玛公司; 熊果酮酸 (批号: 6246-46-4), 刺囊酸 (批号: 808769-54-2), 积雪草酸 (批号: 150821-16-2), 皂皮酸 (批号: 194027-11-7) 购自云南西力生物技术有限公司; 以上对照品纯度  $\geq 98\%$ 。甲醇、乙腈、乙醇、异丙醇、乙酸乙酯、二氯甲烷为色谱纯 (美国 Fisher 公司), 水为超纯水, 甲酸为优级纯 (美国 Fisher 公司)。沙棘果、茎、叶等样品采集于山西省吕梁市文水县, 经北京中医药大学东直门医院药学部曹俊岭主任鉴定为胡颓子科沙棘属植物中国沙棘 *H. rhamnoides* subsp. *sinensis*。

## 2 实验方法

### 2.1 对照品溶液制备

精密称取对照品羽扇烯酮、齐墩果酮酸、科罗索酸、路路通酸、甘草次酸、熊果酸、雷公藤红素、山楂酸、熊果酮酸、刺囊酸、积雪草酸和皂皮酸各 10 mg, 分别置于 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 配成质量浓度为 1 000 mg/L 的储备液, 于 4 °C 下避光保存, 使用时稀释。

### 2.2 供试品制备

将干燥的沙棘果、叶、茎样品粉碎过 50 目筛。分别准确称取各粉末 1 g 后置于 50 mL 离心管中, 向每个供试品中分别加水、甲醇、乙腈、乙醇、异丙醇、乙酸乙酯、二氯甲烷各 10 mL, 盖上盖后超声提取 30 min, 5 000 rpm 离心 10 min 后取上层清液, 过 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜, 待上机检测。

### 2.3 色谱条件

色谱分离采用 Thermo Hypersil GOLD aQ 色谱柱 (2.1 mm  $\times$  100 mm, 1.9  $\mu\text{m}$ , 美国 Thermo 公司)。流动相 A 为含 0.1% 甲酸乙腈, B 为 0.1% 甲酸水溶液。梯度洗脱程序: 0 ~ 2 min, 5% A; 2 ~ 42 min, 5% ~ 95% A; 42 ~ 47 min, 95% A; 47.1 ~ 50 min, 5% A。流速 0.3 mL/min, 柱温 40 °C, 进样量 5  $\mu\text{L}$ 。

### 2.4 质谱条件

质谱系统采用电喷雾离子源 (ESI), 正、负离子模式同时扫描: 扫描范围 ( $m/z$ ) 100 ~ 1 500; 数据采集使用一级母离子全扫描和数据依赖的二级子离子扫描模式 (Full MS / dd-MS<sup>2</sup>); 喷雾电压: 3.2 kV (-) / 3.5 kV (+); 离子源温度: 320 °C; 传输金属毛细管温度: 350 °C; 鞘气压力: 35 arb; 辅助气压力: 10

arb;一级质谱全扫描(full scan)分辨率: $R = 70\ 000$ ;自动增益控制进入轨道阱中的离子数(AGC target): $1e^6$ ;最大注入时间:100 ms。

### 3 结果与分析

#### 3.1 样品提取条件的优化

由于沙棘提取物中功效成分复杂,不同功效成分极性差异大,为全面识别和表征沙棘中各类成分,本实验对沙棘样品的提取溶剂进行了优化,并对每种提取溶剂在正、负离子模式下进行了分析。在分别选用了水、甲醇、乙腈、乙醇、异丙醇、乙酸乙酯、二氯甲烷 7 种提取溶剂对样品进行提取和净化后(提

取方式如 2.2 节所述),通过 UPLC-Q-Exactive 系统进行了分析,得到了不同提取溶剂正、负离子模式下的总离子色谱图。典型提取溶剂的色谱图见图 1。通过对不同提取条件下的总离子色谱图进行积分处理,并对所有的色谱峰进行归一化处理及多维统计分析,表明使用 7 种溶剂提取的化合物种类和含量均有差别(见图 2a),通过对所有的色谱峰进行主成分分析(图 2b),表明水、甲醇和二氯甲烷三种提取溶剂提取的化合物差异最大,用这三种提取溶剂就可以涵盖沙棘中功效成分最全面的信息。

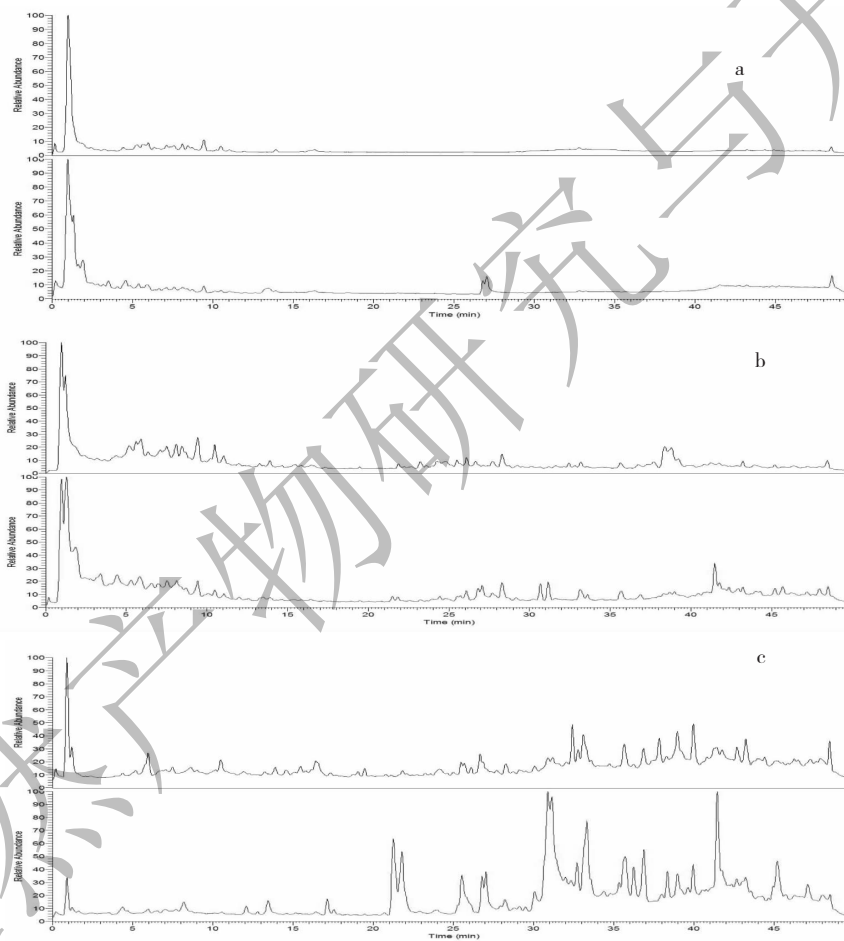


图 1 正负离子模式下沙棘果茎叶水(a),甲醇(b),二氯甲烷(c)提取液的总离子流图

Fig. 1 Total ion flow diagram of *Hippophae rhamnoides* fruit stem and leaf extracts from water (a), methanol (b) and dichloromethane (c) with positive and negative mode

#### 3.2 样品 OTCML 谱库检索条件的优化

为了鉴定出沙棘中尽可能多的功效成分,需要对上述总离子色谱图中的所有分子离子质量数进行提取,然后将提取到的分子离子色谱峰、保留时间、对应的碎片离子色谱峰及同位素峰强度等信息与

OTCML 中药成分高分辨质谱数据库中的相应信息进行检索,然后根据给出的匹配度分值对样品中的功效成分进行鉴定。本研究使用 Thermo 公司开发的 CD 软件完成上述谱库检索操作。在此过程中,为了避免基质的干扰及噪音的影响,需要定义分子

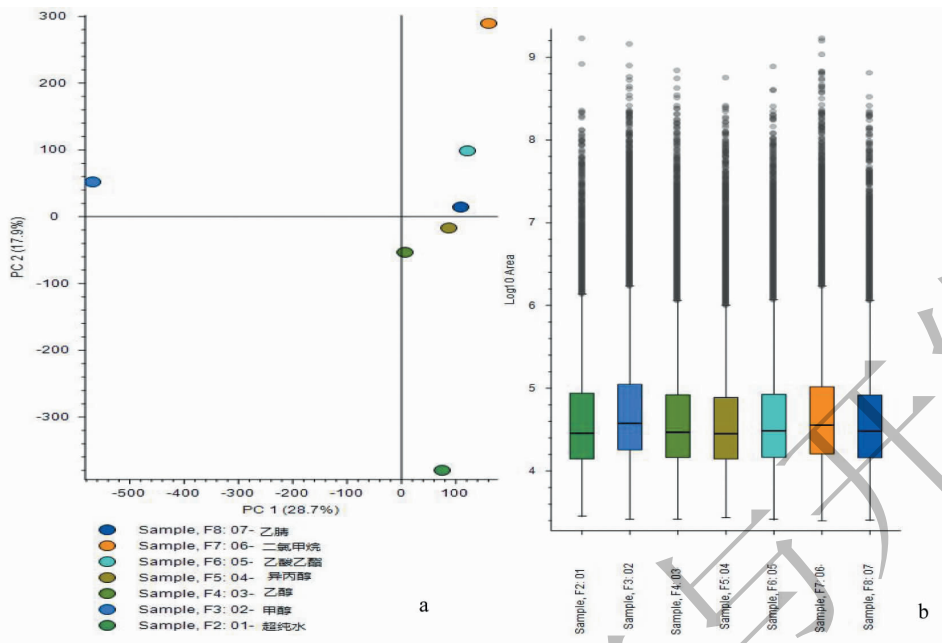


图 2 7 种提取溶液下沙棘中功效成分种类以及提取量差异比较

Fig. 2 Comparison of functional components and extraction amount of *Hippophae rhamnoides* in seven extraction solutions

离子提取峰的规则如质量偏差、信噪比、目标峰的强度阈值等。因 aq 柱更有利于分离极性物质,且能用全水相,为此,本研究选择实验室订购的 12 个极性化合物五环三萜类对照品对峰提取条件和谱库匹配度参数进行了验证。12 个五环三萜类对照品采用空白溶剂的方式进行进样分析,选用的进样浓度为 1 mg/L,色谱条件同供试品分析条件。结果表明在此条件下,所有 12 种化合物的分子离子峰面积都在  $1 \times 10^5$  以上,信噪比均大于 100,分子离子及其二级碎片离子质量精度均小于 5 ppm。鉴于此,为保证检索出尽可能多的化合物,同时提高准确性,本研究设定的峰提取条件定为:峰面积阈值设置为 80 000,信噪比阈值设置为 10,一级及其二级质量精度阈值设置为 5 ppm,只有高于上述阈值的化合物才通过 OTCML 进行检索。

通过使用 CD 软件对上述 12 种对照品的一级分子离子色谱峰和二级碎片离子色谱峰与 OTCML 中的对照化合物谱图库进行比对,结果表明 12 种化合物都得到了识别,其中羽扇烯酮、雷公藤红素、山楂酸、熊果酮酸、熊果酸、科罗素酸、齐墩果酮酸 7 种化合物的谱图匹配高达 90 以上;其余甘草次酸、刺囊酸、路路通酸、积雪草酸、皂皮酸 5 种化合物的谱图匹配度在 80~90。CD 软件还提供了一些匹配度在 80 分以下的化合物,经结构分析表明,这些化合

物是 OTCML 中存储的与上述化合物结构类似的化合物,如与齐墩果酮酸互为同分异构体的雷公藤内酯甲也被检索出来,但匹配度低于 80 分(详见图 3)且 OTCML 谱库中存储的雷公藤内酯甲二级质谱图与实际谱图比较相差较大。鉴于此,本研究设定匹配度达 80 分以上的化合物为样品中包含的功效成分。

### 3.3 样品中功效成分的鉴定

基于上述确定的峰提取条件和谱库匹配度参数,本研究利用 CD 软件对沙棘果、茎、叶中的功效成分进行了分析,每个部位的样品均平行分析 3 个样品,以 3 个样品中均有检出的确定为检出。此外,对于鉴定出的沙棘中的功效成分本研究也与文献报导的进行了比对和验证,以进一步排除假阳性结果。结果表明,在沙棘中,共有 102 个功效成分,包括苷类 18 个,黄酮类 21 个,萜类 18 个,苯丙素类 13 个,生物碱类 6 个,挥发成分 14 个,多酚 12 个;其中有 17 个化合物是在沙棘中首次发现,详见表 1。

### 3.4 沙棘果茎叶的功效成分差异分析

#### 3.4.1 苷类的差异

研究表明,苷类化合物是沙棘抗氧化增强免疫的主要有效成分<sup>[8,9]</sup>,其中多为黄酮苷类。基于 OTCML 中药成分高分辨液质数据库的检索结果,本研究在沙棘果、茎、叶中共识别出 18 个苷类化合物,

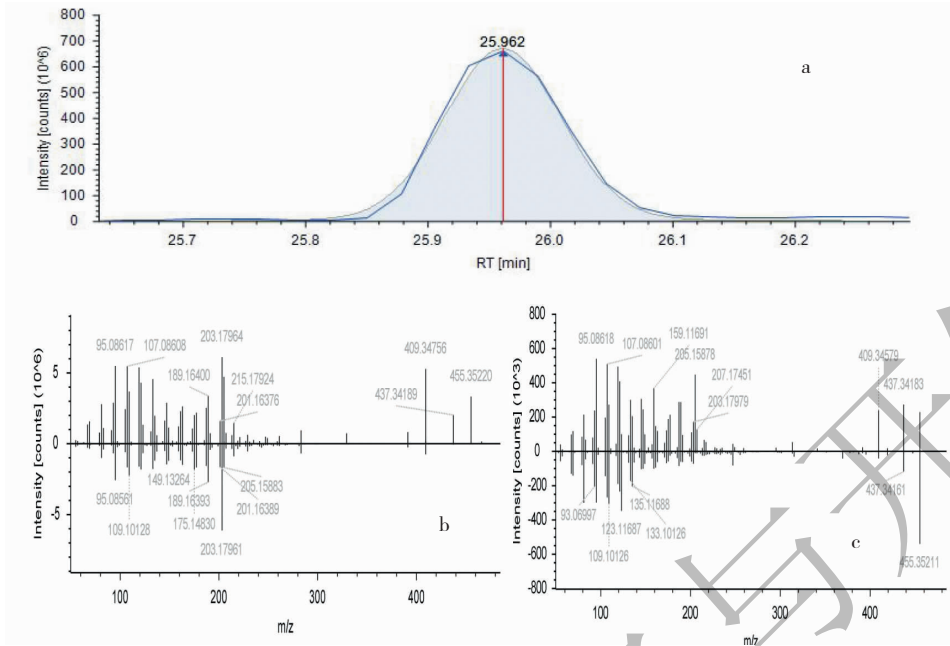


图3 CD软件中实际对照品的二级质谱图与OTCML中的对照化合物谱图库的匹配图

Fig. 3 Matching charts between secondary mass spectrogram of actual reference material and spectrogram library of contrast compounds of OTCML in CD Software

注: a.  $m/z$  455.3520 的分子离子色谱峰; b. 齐墩果酮酸标品(上半部分)与 OTCML 谱库中齐墩果酮酸二级质谱图(下半部分); c. OTCML 谱库中雷公藤内酯甲二级质谱图与实际谱图。

Note: a.  $m/z$  455.3520 ion chromatographic peak; b. Oleanolic acid standard (upper half) compared with oleanolic acid secondary mass spectrogram in the OTCML library (lower part); c. Comparison of triptolide A secondary mass spectrogram in the OTCML with the actual spectrum.

表1 沙棘不同部位识别出的化学成分

Table 1 Chemical constituents identified from different parts of *Hippophae rhamnoides*

分类 Classify	保留时间 $t_R$	序号 No.	化合物名称 Compound	分子式 Formula	准分子离子峰 Ion peak	碎片离子 Fragment ion	部位 Position
黄酮苷类 Flavonoid glycosides	10.25	1	山奈酚-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷 Kaempferol-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside	$C_{21}H_{20}O_{11}$	449.1087 [M+H] <sup>+</sup>	85.0291, 153.0183, 287.0549	果, 茎, 叶
	15.80	2	忍冬苷 Lonicerin	$C_{27}H_{30}O_{15}$	593.1511 [M-H] <sup>-</sup>	285.0403	果, 茎, 叶
	9.26	3	百蕊草素 I Kaempferol 3-glucorhamnosid	$C_{27}H_{30}O_{15}$	595.1669 [M-H] <sup>-</sup>	121.0287, 287.0551	果, 茎, 叶
	9.26	4	山奈酚-3-O-芸香糖苷 Kaempferol-3-O-rutinoside	$C_{27}H_{30}O_{15}$	593.1511 [M-H] <sup>-</sup>	227.0348, 255.0298, 285.0402	果, 茎, 叶
	10.50	5	异鼠李素-3-O-新橙皮苷 Isorhamnetin-3-O-nehesperidine	$C_{28}H_{32}O_{16}$	623.1615 [M-H] <sup>-</sup>	243.0296, 271.0246, 299.0195, 314.0430	果, 茎
	10.50	6	水仙苷 Narcissoside	$C_{28}H_{32}O_{16}$	623.1613 [M-H] <sup>-</sup>	243.0298, 271.0248, 315.0509	果, 茎
	9.40	7	金丝桃苷 Hyperoside	$C_{21}H_{20}O_{12}$	463.0902 [M-H] <sup>-</sup>	271.0256, 300.0283	果, 茎
	9.40	8	异槲皮苷 Isoquercitrin	$C_{21}H_{20}O_{12}$	463.0902 [M-H] <sup>-</sup>	255.0305, 271.0256, 300.0283	果, 茎

续表 1 (Continued Tab. 1)

分类 Classify	保留时间 $t_R$	序号 No.	化合物名称 Compound	分子式 Formula	准分子离子峰 Ion peak	碎片离子 Fragment ion	部位 Position
	10.25	9	槲皮甙 Quercitrin	$C_{21}H_{20}O_{11}$	449.108 8 [M+H] <sup>+</sup>	151.003 5, 287.054 9	果, 叶
	10.25	10	紫云英苷 Astragalgin	$C_{21}H_{20}O_{11}$	447.093 7 [M-H] <sup>-</sup>	107.013 8, 151.003 5, 301.035 2	果, 叶
	12.52	11	槲皮素 7-鼠李糖苷 Quercetin 7-rhamnoside	$C_{21}H_{20}O_{11}$	447.093 7 [M-H] <sup>-</sup>	107.013 8, 151.003 5, 301.035 2	果, 叶
	14.30	12	芦丁 Rutin	$C_{27}H_{30}O_{16}$	609.145 8 [M-H] <sup>-</sup>	151.003 5, 255.029 8, 271.024 7, 300.027 3	果
	8.21	13	异夏佛塔苷 Isoschaftoside	$C_{26}H_{28}O_{14}$	565.155 2 [M+H] <sup>+</sup>	121.028 5, 295.059 7, 325.070 1, 379.080 5, 427.102 3, 511.123 8	果
	7.71	14	刺五加苷 E Eleutheroside E	$C_{34}H_{46}O_{18}$	741.260 4 [M-H] <sup>-</sup>	161.024 0, 179.034 6, 194.058 2, 209.081 7	果
	5.83	15	刺五加苷 B Eleutheroside B	$C_{17}H_{24}O_9$	371.142 0 [M-H] <sup>-</sup>	166.026 9, 181.050 5, 387.108 1, 417.155 6	果
	29.00	16	松脂醇二葡萄糖苷 Pinoresinol diglucoside	$C_{32}H_{42}O_{16}$	681.239 7 [M-H] <sup>-</sup>	136.016 4, 151.039 9, 357.134 1	果
	9.71	17	丁香树脂醇二葡萄糖苷 Syringaresinol di-O-glucoside	$C_{34}H_{46}O_{18}$	741.260 4 [M-H] <sup>-</sup>	166.026 9, 181.050 5, 387.108 1, 417.155 6	果
	10.21	18	松脂素-β-D-吡喃葡萄糖苷 Pinoresinol 4-O-glucoside	$C_{26}H_{32}O_{11}$	519.187 0 [M-H] <sup>-</sup>	136.016 4, 151.039 8, 177.019 1, 357.134 4	果
黄酮醇类 Flavonols	13.77	19	异鼠李素 Isorhamnetin	$C_{16}H_{12}O_7$	315.051 1 [M-H] <sup>-</sup>	151.003 5, 300.027 3	果, 茎, 叶
	15.43	20	杨梅素 Myricetin	$C_{15}H_{10}O_8$	317.031 5 [M-H] <sup>-</sup>	107.014 1, 137.024 8, 151.004 0, 178.999 1	叶
	15.52	21	山奈酚 Kaempferol	$C_{15}H_{10}O_6$	287.055 4 [M+H] <sup>+</sup>	121.028 7, 153.018 3, 287.055 0	叶
	17.07	22	桑黄素 Morin	$C_{15}H_{10}O_7$	301.036 5 [M-H] <sup>-</sup>	151.004 0, 229.014 9	叶
	18.07	23	槲皮素 Quercetin	$C_{15}H_{10}O_7$	301.036 4 [M-H] <sup>-</sup>	151.004 0	叶
	15.71	24	松属素 Pinocebrin	$C_{15}H_{12}O_4$	255.066 8 [M-H] <sup>-</sup>	145.066 0, 213.056 0	果, 茎, 叶
	20.82	25	柚皮素 Naringenin	$C_{15}H_{12}O_5$	271.061 8 [M-H] <sup>-</sup>	119.050 3, 151.003 8	茎
	16.57	26	橙皮素 Hesperetin	$C_{16}H_{14}O_6$	301.072 4 [M-H] <sup>-</sup>	134.037 5, 151.003 8	茎
	26.48	27	二氢杨梅素 Dihydromyricetin	$C_{15}H_{12}O_8$	319.046 9 [M-H] <sup>-</sup>	125.024 7, 175.004 0, 193.014 3, 301.036 0	茎
	32.26	28	圣草酚 Eriodictyol	$C_{15}H_{12}O_6$	287.057 2 [M-H] <sup>-</sup>	135.045 6, 151.004 1	茎
	18.78	29	二氢槲皮素 Taxifolin	$C_{15}H_{12}O_7$	303.051 7 [M-H] <sup>-</sup>	125.024 6, 175.040 3, 285.041 0	叶
	18.17	30	木犀草素 Luteolin	$C_{15}H_{10}O_6$	285.041 6 [M-H] <sup>-</sup>	133.029 9, 151.004 1	茎
	18.95	31	芹菜素 Apigenin	$C_{15}H_{10}O_5$	269.045 6 [M-H] <sup>-</sup>	117.034 5, 151.003 5	果
	3.06	32	儿茶素 Catechin hydrate	$C_{15}H_{14}O_6$	289.072 9 [M-H] <sup>-</sup>	109.029 8, 123.045 5, 203.072 0, 245.082 6	叶
	6.69	33	表儿茶素 Epicatechin	$C_{15}H_{14}O_6$	291.089 1 [M-H] <sup>-</sup>	109.029 8, 123.045 5, 203.072 0, 245.082 6	叶
	6.28	34	表没食子儿茶素 Epigallo- catechin	$C_{15}H_{14}O_7$	305.067 8 [M-H] <sup>-</sup>	125.024 0, 137.024 8, 165.019 0, 219.066 9	叶

续表 1 (Continued Tab. 1)

分类 Classify	保留时间 $t_R$	序号 No.	化合物名称 Compound	分子式 Formula	准分子离子峰 Ion peak	碎片离子 Fragment ion	部位 Position
	2.06	35	没食子儿茶素 Gallo catechin	$C_{15}H_{14}O_7$	307.081 7 [M + H] <sup>+</sup>	125.024 0, 137.024 8, 165.019 0, 219.066 9	叶
	5.92	36	原花青素 B2 Procyanidin B2	$C_{30}H_{26}O_{12}$	577.136 1 [M-H] <sup>-</sup>	125.024 5, 289.072 3, 407.077 6, 425.088 9	茎
	5.92	37	原花青素 B1 Procyanidin B1	$C_{30}H_{26}O_{12}$	579.150 8 [M + H] <sup>+</sup>	125.024 5, 289.072 3, 407.077 6, 425.088 9	茎
	31.18	38	柚皮苷查尔酮 Naringenin chalcone	$C_{15}H_{12}O_5$	271.061 8 [M-H] <sup>-</sup>	119.050 3, 151.003 8, 253.051 1	茎
	33.51	39	根皮素 Phloretin	$C_{15}H_{14}O_5$	273.077 9 [M-H] <sup>-</sup>	81.034 8, 123.045 5, 167.035 4, 273.077 8	茎
四环二萜类 Tetracyclic diterpenes	33.76	40	熊果酸 Ursolic acid	$C_{30}H_{48}O_3$	457.368 2 [M + H] <sup>+</sup>	107.086 0, 121.101 5, 163.148 1, 189.163 8, 203.179 7, 411.362 3	茎, 叶
	27.29	41	熊果酮酸 Ursonic acid	$C_{30}H_{46}O_3$	455.352 8 [M + H] <sup>+</sup>	107.085 9, 121.101 3, 175.148 3, 187.148 2, 205.158 6, 409.346 3	茎, 叶
	27.25	42	科罗索酸 Corosolic acid	$C_{30}H_{48}O_4$	473.363 5 [M + H] <sup>+</sup>	107.085 9, 121.101 3, 189.163 8, 205.158 7, 409.346 7, 427.356 4	茎, 叶
	22.55	43	积雪草酸 Asiatic acid	$C_{30}H_{48}O_5$	489.368 3 [M + H] <sup>+</sup>	107.085 9, 133.101 3, 159.116 6, 203.179 5, 407.330 6, 453.334 4	叶
	30.75	44	刺囊酸 Echinocystic acid	$C_{30}H_{48}O_4$	473.363 5 [M + H] <sup>+</sup>	189.163 8, 471.347 0	果, 茎, 叶
	25.25	45	山楂酸 Maslinic acid	$C_{30}H_{48}O_4$	473.362 6 [M + H] <sup>+</sup>	175.148 4, 189.163 9, 203.179 7, 231.175 7, 409.346 9, 427.362 4	茎, 叶
	26.29	46	齐墩果酮酸 Oleanonic acid	$C_{30}H_{46}O_3$	455.352 6 [M + H] <sup>+</sup>	95.086 0, 107.085 9, 177.163 8, 203.179 5, 409.346 5	茎, 叶
	24.60	47	甘草次酸 Glycyrrhetic acid	$C_{30}H_{46}O_4$	471.347 3 [M + H] <sup>+</sup>	107.085 9, 119.085 7, 189.163 6, 425.340 9	茎, 叶
	22.83	48	皂皮酸 Quillaic acid	$C_{30}H_{46}O_5$	487.342 6 [M + H] <sup>+</sup>	119.085 7, 175.148 0, 187.148 1, 451.320 5	叶
	30.85	49	羽扇烯酮 Lupenone	$C_{30}H_{48}O$	425.378 2 [M + H] <sup>+</sup>	69.070 7, 95.086 1, 109.101 5, 137.132 5	果, 茎, 叶
	26.29	50	路路通酸 Liquidambaric acid	$C_{30}H_{46}O_3$	455.352 5 [M + H] <sup>+</sup>	107.085 9, 119.085 7, 177.163 7, 205.158 8, 409.346 4	茎, 叶
	28.19	51	栎樱酸 3beta-hydroxy	$C_{30}H_{48}O_2$	441.373 3 [M + H] <sup>+</sup>	95.086 1, 107.086 0, 423.362 3	茎, 叶
	9.94	52	樟脑 Camphor	$C_{10}H_{16}O$	153.127 4 [M + H] <sup>+</sup>	93.070 3, 107.085 8, 135.116 7	果, 茎, 叶
	0.34	53	紫苏烯 Perillene	$C_{10}H_{14}O$	151.112 0 [M + H] <sup>+</sup>	93.070 5, 133.101 3	茎, 叶
	15.76	54	莪术烯醇 Curcumenol	$C_{15}H_{22}O_2$	235.169 4 [M + H] <sup>+</sup>	79.055 0, 93.070 4, 121.101 4	茎, 叶
	25.97	55	青蒿酸 Artemisinic acid	$C_{15}H_{22}O_2$	235.169 5 [M + H] <sup>+</sup>	79.055 0, 93.070 4, 121.101 4	茎, 叶
	15.65	56	异甜菊醇 Isosteviol	$C_{20}H_{30}O_3$	319.227 3 [M + H] <sup>+</sup>	105.070 4, 255.210 8, 273.221 3	茎

续表 1 (Continued Tab. 1)

分类 Classify	保留时间 $t_R$	序号 No.	化合物名称 Compound	分子式 Formula	准分子离子峰 Ion peak	碎片离子 Fragment ion	部位 Position
苷型生物碱类 Glycoside alkaloids	16.65	57	甜菊醇 Steviol	$C_{20}H_{30}O_3$	319.227 3 [M + H] <sup>+</sup>	105.070 4, 119.085 9, 199.147 9, 255.210 8, 273.221 3	茎
	1.21	58	腺苷 Adenosine	$C_{10}H_{13}N_5O_4$	268.104 4 [M + H] <sup>+</sup>	136.061 8, 268.103 9	果, 茎, 叶
	1.85	59	鸟苷 Guanosine	$C_{10}H_{13}N_5O_5$	284.099 5 [M + H] <sup>+</sup>	135.030 5, 152.056 9	果, 茎
	1.26	60	巴豆苷 Isoguanosine	$C_{10}H_{13}N_5O_5$	284.098 8 [M + H] <sup>+</sup>	152.056 5	果
	2.27	61	烟酰胺 Nicotinamide	$C_6H_6N_2O$	123.055 7 [M + H] <sup>+</sup>	80.050 2, 95.045 0	果, 茎, 叶
香豆素类 Coumarins	0.92	62	盐酸胡芦巴碱 Trigonelline HCl	$C_7H_7N O_2$	138.055 2 [M + H] <sup>+</sup>	94.065 8, 110.060 4	茎, 叶
	3.27	63	虫草素 Cordycepin	$C_{10}H_{13}N_5O_3$	252.109 3 [M + H] <sup>+</sup>	136.061 7	茎
	7.37	64	香豆素 Coumarin	$C_9H_6O_2$	147.044 2 [M + H] <sup>+</sup>	91.054 8, 119.049 4	茎, 叶
	32.61	65	甲氧基香豆素 Methoxy- coumarin	$C_{10}H_8O_3$	177.054 7 [M + H] <sup>+</sup>	121.064 9, 133.06 4	茎
	6.09	66	东莨菪内酯 Scopoletin	$C_{10}H_8O_4$	193.049 9 [M + H] <sup>+</sup>	150.031 3, 178.026 2	茎
	25.71	67	异莨菪亭 Isoscooletin	$C_{10}H_8O_4$	193.049 7 [M + H] <sup>+</sup>	150.031 1, 178.026 0	茎
	34.76	68	松柏醛 Ferulaldehyde	$C_{10}H_{10}O_3$	179.070 5 [M + H] <sup>+</sup>	91.054 8, 119.049 4, 133.064 8, 147.044 0, 161.059 7	果, 茎, 叶
	28.56	69	甲基丁香酚 Methyl eugenol	$C_{11}H_{14}O_2$	179.070 3 [M + H] <sup>+</sup>	91.054 8, 119.049 3, 147.043 9, 161.059 6	果
	33.87	70	肉桂醛 Cinnamaldehyde	$C_9H_8O$	133.064 8 [M + H] <sup>+</sup>	105.070 1	茎
	21.50	71	6-姜酚 6-Gingerol	$C_{17}H_{26}O_4$	293.176 8 [M-H] <sup>-</sup>	221.155 1, 236.105 9	果, 茎, 叶
脂肪族类 Fat	22.89	72	芥子酸 Sinapic acid	$C_{11}H_{12}O_5$	225.076 3 [M-H] <sup>-</sup>	91.055 0, 119.049 6, 147.044 3, 175.039 3, 207.065 5	茎, 叶
	24.59	73	阿魏酸 Ferulic acid	$C_{10}H_{10}O_4$	195.065 5 [M-H] <sup>-</sup>	89.039 2, 117.033 8, 145.028 5, 149.059 8, 177.054 7	茎, 叶
	24.59	74	异阿魏酸 Isoferulic acid	$C_{10}H_{10}O_4$	195.065 6 [M-H] <sup>-</sup>	89.039 2, 117.033 8, 145.028 5, 149.059 8, 177.054 7	茎, 叶
	26.99	75	肉桂酸 Cinnamic acid	$C_9H_8O_2$	149.059 7 [M-H] <sup>-</sup>	65.039 4, 121.028 5	茎
	31.42	76	对羟基肉桂酸 Coumaric acid	$C_9H_8O_3$	165.054 6 [M-H] <sup>-</sup>	91.054 7, 119.049 2, 123.044 1, 136.075 5	茎
	42.97	77	亚麻酸乙酯 Linolenic acid ethyl ester	$C_{20}H_{34}O_2$	307.263 5 [M + H] <sup>+</sup>	67.055 1, 81.070 6, 95. 086 1, 109.101 6	果, 茎, 叶
	22.31	78	脱落酸 Abscisic acid	$C_{15}H_{20}O_4$	263.129 8 [M-H] <sup>-</sup>	204.116 0, 219.139 5	果, 茎, 叶
	21.04	79	柠檬酸 Citric acid	$C_6H_8O_7$	191.020 6 [M-H] <sup>-</sup>	85.029 8, 87.009 1, 111. 009 2	果, 茎, 叶
	25.54	80	$\alpha$ -亚麻酸 $\alpha$ -Linolenic acid	$C_{18}H_{30}O_2$	279.231 8 [M + H] <sup>+</sup>	67.055 0, 81.070 5, 95. 086 0, 149.023 2	果, 茎, 叶



续表 1 (Continued Tab. 1)

分类 Classify	保留时间 $t_R$	序号 No.	化合物名称 Compound	分子式 Formula	准分子离子峰 Ion peak	碎片离子 Fragment ion	部位 Position
	21.48	81	壬二酸 Azelaic acid	$C_9H_{16}O_4$	187.098 0 [M-H] <sup>-</sup>	97.066 1, 125.097 5	果, 茎, 叶
	4.61	82	水杨酸 Salicylic acid	$C_7H_6O_3$	137.024 8 [M-H] <sup>-</sup>	93.034 8	果, 茎, 叶
	3.59	83	4-甲氧基水杨酸 4-Methoxysalicylic acid	$C_8H_8O_4$	167.035 4 [M-H] <sup>-</sup>	79.055 5, 123.045 4	果, 茎, 叶
	5.45	84	对羟基苯甲酸 4-Hydroxybenzoic acid	$C_7H_6O_3$	137.024 4 [M-H] <sup>-</sup>	93.034 5	果, 茎, 叶
	2.51	85	龙胆酸 Gentisic acid	$C_7H_6O_4$	153.019 9 [M-H] <sup>-</sup>	108.022 0, 109.029 8	果, 茎, 叶
	35.84	86	丁香醛 3, 5-Dimethoxy-4- hydroxybenzaldehyde	$C_9H_{10}O_4$	183.065 4 [M+H] <sup>+</sup>	56.943 1, 113.963 9, 131.974 2, 159.969 1	果, 茎, 叶
	37.96	87	香兰素 Vanillin	$C_8H_8O_3$	153.054 6 [M+H] <sup>+</sup>	65.039 4, 70.942 6, 93. 034 0, 111.044 4, 125. 059 8, 129.979 0	果, 茎, 叶
	39.96	88	异香兰素 Isovanillin	$C_8H_8O_3$	153.054 7 [M+H] <sup>+</sup>	65.039 4, 93.034 0, 111. 044 4, 125.059 8	果, 茎, 叶
	24.48	89	对羟基安息香醛 p- Hydroxybenzaldehyde	$C_7H_6O_2$	121.029 8 [M-H] <sup>-</sup>	92.027 0	果, 茎, 叶
	30.96	90	4-甲氧基水杨醛 Hydroxy-4- methoxybenzaldehyde	$C_8H_8O_3$	153.054 7 [M+H] <sup>+</sup>	65.039 4, 93.034 0, 111. 044 4, 125.059 8	果, 茎, 叶
鞣质类多酚 Tannins polyphenols	2.51	91	原儿茶酸 Protocatechuic acid	$C_7H_6O_4$	153.019 3 [M-H] <sup>-</sup>	109.029 3	茎, 叶
	1.47	92	没食子酸 Gallic acid	$C_7H_6O_5$	169.014 6 [M-H] <sup>-</sup>	125.024 6	茎, 叶
	29.12	93	鞣花酸 Ellagic acid	$C_{14}H_6O_8$	301.000 0 [M-H] <sup>-</sup>	185.024 9, 229.992 1	茎, 叶
	30.65	94	没食子酸甲酯 Methyl gal- late	$C_8H_8O_5$	183.030 4 [M-H] <sup>-</sup>	124.016 9	茎, 叶
	31.47	95	焦性没食子酸 Pyrogallol	$C_6H_6O_3$	127.039 2 [M-H] <sup>-</sup>	81.034 1, 109.028 7	茎, 叶
	33.68	96	咖啡酸苯乙酯 Phenethyl caffeate	$C_{17}H_{16}O_4$	283.098 5 [M-H] <sup>-</sup>	135.045 6, 161.024 9, 179.035 4, 203.144 7	果
	5.61	97	咖啡酰奎宁酸 Caffeoylquin- ic acid	$C_{16}H_{18}O_9$	353.087 8 [M-H] <sup>-</sup>	85.029 4, 191.056 0	果
	0.76	98	右旋奎宁酸 Quinic acid	$C_7H_{12}O_6$	191.056 9 [M-H] <sup>-</sup>	85.029 8, 87.009 1, 111. 009 2	果
	5.42	99	新绿原酸 Neochlorogenic acid	$C_{16}H_{18}O_9$	355.102 4 [M+H] <sup>+</sup>	117.033 7, 135.044 0, 163.038 8	果
	6.61	100	隐绿原酸 Cryptochlorogenic acid	$C_{16}H_{18}O_9$	353.087 8 [M-H] <sup>-</sup>	135.045 1, 191.056 0	果
	7.24	101	绿原酸 Chlorogenic acid	$C_{16}H_{18}O_9$	353.087 8 [M-H] <sup>-</sup>	85.029 4, 191.055 9	果
	25.76	102	咖啡酸 Caffeic acid	$C_9H_8O_4$	179.035 8 [M-H] <sup>-</sup>	135.045 7	果

除了文献中已经报导的 13 个黄酮苷类之外, 还识别出 5 个松脂醇苷(刺五加苷 E、刺五加苷 B、松脂醇二葡萄糖苷、丁香树脂醇双葡萄糖苷、松脂素- $\beta$ -D-

吡喃葡萄糖苷)类糖苷化合物。上述新发现的功效成分仅在沙棘果中有检出外, 剩余化合物在果、茎、叶中均有检出, 但是果中含量明显高于茎和叶中的

含量。

### 3.4.2 黄酮类的差异

黄酮类化合物是沙棘中研究最多的一类功效成分<sup>[10,11]</sup>。基于 OTCML 的谱库信息,本研究识别出 21 个黄酮类化合物,包括 5 个黄酮醇类(异鼠李素、杨梅素、山奈酚、桑黄素、槲皮素),4 个黄烷醇类(儿茶素、表儿茶素、表没食子儿茶素、没食子儿茶素),6 个二氢黄酮类(松属素、柚皮素、橙皮素、二氢杨梅素、圣草酚、二氢槲皮素),2 个原花青素类和 2 个查尔酮类;其余 2 个为 2-苯基色原酮类。对这些化合物的分布研究表明,黄酮醇类主要集中在沙棘果中(其他部位也有微量检出),黄烷醇类仅存在于沙棘叶中,二氢黄酮类、原花青素类和查尔酮类则集中在沙棘茎中。当前对于沙棘中黄酮类化合物的利用,还是集中在沙棘果的利用<sup>[12]</sup>,本研究对于沙棘叶和沙棘茎中黄酮类化合物的检出,对于今后指导沙棘产品的充分和全面利用,将起到积极的推动作用。

### 3.4.3 萜类的差异

目前文献中关于沙棘中萜类的研究还较少<sup>[13,14]</sup>。本研究基于 OTCML 的谱库信息,识别出沙棘中 18 个萜类化合物,包括 12 个五环三萜类(见表 1),2 个四环二萜类(甜菊醇、异甜菊醇),2 个双环单萜类(樟脑、紫苏烯)和 2 个倍半萜类(莜术烯醇、青蒿酸)。对这些化合物的分布研究表明,五环三萜类多在沙棘叶茎中富集,而四环二萜类、双环单萜类和倍半萜类仅存在于沙棘茎中。除了五环三萜类外,其余 6 种萜类为沙棘中首次发现。

### 3.4.4 苯丙素类的差异

目前文献中有关沙棘中苯丙素类的研究也较少<sup>[15]</sup>,本研究基于 OTCML 的谱库信息,识别出沙棘中 13 个苯丙素类,包括 3 个苯丙烯类,6 个苯丙酸类(详细名称见表 1),4 个香豆素类(香豆素、甲氧基香豆素、东莪萜内酯、异莪萜亭)。这类化合物在沙棘的果茎叶均有分布,但香豆素类化合物在沙棘茎叶中为首次检出。

### 3.4.5 生物碱类的差异

关于沙棘中生物碱类功效成分的研究,文献中仅对总量有所报道<sup>[16]</sup>,具体种类则尚无研究。本研究基于 OTCML 的谱库信息,鉴定出沙棘中 6 个生物碱类化合物:生物碱烟酰胺、盐酸胡芦巴碱、虫草素和 3 个苷型生物碱(巴豆苷、鸟苷、腺苷),这 6 种生物碱类化合物为沙棘中首次报道,且其在沙棘果、茎、叶中均有检出。

### 3.4.6 挥发成分的差异

文献对于沙棘中的挥发成分研究多在沙棘果<sup>[17,18]</sup>。本研究基于 OTCML 的谱库信息,识别出沙棘中 14 个挥发油类:包括 5 个脂肪族类和 9 个芳香族类,这些功效成分含量较低,但在沙棘的果、茎、叶中均有分布,为今后沙棘挥发油的全面提取,起到积极的推动作用。

### 3.4.7 多酚类的差异

文献对于沙棘中的挥发成分研究多提取总量<sup>[19,20]</sup>,具体种类则尚不全面。本研究基于 OTCML 的谱库信息,识别出沙棘中 12 个多酚类。包括 5 个鞣质类(原儿茶酸、鞣花酸、没食子酸、没食子酸甲酯、焦性没食子酸)和 7 个苯丙素类多酚(咖啡酸苯乙酯、咖啡酰奎宁酸、右旋奎宁酸、新绿原酸、隐绿原酸、绿原酸、咖啡酸)。鞣质类多酚仅存在于沙棘茎叶中,苯丙素类多酚仅在沙棘果中有检出。

## 4 结论

本研究运用 UPLC-Q-Exactive 技术结合 OTCML 中药成分高分辨质谱数据库对沙棘果、茎、叶中的功效成分进行了快速和精准的鉴定。基于 OTCML 数据库中所包含的 1 200 余种中药化合物的质谱信息,本研究在不需标准品的情况下,共鉴定出沙棘中 102 个功效成分,其中 17 种功效成分为沙棘中首次发现。对于在沙棘果、茎、叶中检出的功效成分分布表明,沙棘果中主要含有苷类(结构类型为黄酮苷类、松脂醇苷类、苷类生物碱类),黄酮类(结构类型为黄酮醇类)及苯丙素类多酚;沙棘茎中主要含有黄酮类(结构类型为二氢黄酮类、花青素类、查尔酮类),萜类(结构类型为双环单萜类、倍半萜类、四环二萜类),苯丙素类(结构类型为香豆素类、苯丙烯类、苯丙酸类)及游离生物碱;沙棘叶中主要含有黄酮类(结构类型为黄烷醇类),萜类(结构类型为五环三萜:熊果烷、齐墩果烷、羽扇豆烷)及鞣质类。本研究对今后科学开发沙棘资源有重要意义。另外,该方法有望在别的中药及天然产物成分的快速鉴定中发挥重要作用。

## 参考文献

- 1 Liu Y, Lian YS, Wang YL, et al. Review on research and development of *Hippophae rhamnoides* and its significance[J]. Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2014, 39: 1547-1552.
- 2 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the

- People's Republic of China: Vol I (中华人民共和国药典: 第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015: 184.
- 3 Guan BB, Sun P. Advances in research on the resources and breeding techniques of *Hippophae* L. [J]. J Anhui Agri Sci (安徽农业科学), 2014, 42: 7401-7403.
  - 4 Lian YS. Natural products of *Hippophae* and their main physiological and pharmacological functions [J]. Seabuckthorn *Hippophae* (沙棘), 2005, 3: 8-19.
  - 5 Wang ZF, Zhao Y, Fan ZQ, et al. Rapid qualitative analysis of chemical constituents of Siwu decoction based on traditional Chinese medicine composition database [J]. Acta Pharmacol Sin (药学学报), 2015, 50: 1309-1317.
  - 6 Kang LP, Zhao Y, Pang X, et al. Characterization and identification of steroidal saponins from the seeds of *Trigonella foenum-graecum* by ultra high-performance liquid chromatography and hybrid time-of-flight mass spectrometry [J]. J Pharm Biomed Anal, 2013, 74: 257-267.
  - 7 Jiayi C, Kazunao K, Yasuhiro S, et al. Inhibitory effects of total flavones of *Hippophae rhamnoides* L. on thrombosis in mouse femoral artery and *in vitro* platelet aggregation [J]. Life Sci, 2003, 72: 2263-2271.
  - 8 Qin ZX, Zhang Y, Qi MD, et al. Rapid UPLC/Q-TOF-MS analysis of chemical constituents in leaves of *Hippophae rhamnoides* [J]. Chin J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2016, 41: 1461-1468.
  - 9 Qi SG, Li L. Determination of flavonoid glycosides in branches of *Hippophae rhamnoides chinensis* and *Hippophae rhamnoides* by RP-HPLC [J]. J Qinghai Univ: Nat Sci (青海大学学报: 自科版), 2011, 29(2): 58-61.
  - 10 Zhang XJ, Chang BB. Total flavones of *Hippophae rhamnoides* L. for essential hypertension: a systematic review of randomized controlled trials [J]. Int J Cardiol, 2009, 137(2): 37-45.
  - 11 Fu SC, Hui CWC, Li LC, et al. Total flavones of *Hippophae rhamnoides* promotes early restoration of ultimate stress of healing patellar tendon in a rat model [J]. Med Eng Phys, 2004, 27: 313-321.
  - 12 Liu X, Zhou YM. Study on the fingerprint of flavonoids in *Hippophae rhamnoides* by capillary electrophoresis [J]. Mod Agri Sci Technol (现代农业科技), 2007, 3: 13-20.
  - 13 Pisha E, Chai H, Lee IS, et al. Discovery of betulinic acid as a selective inhibitor of human melanoma that functions by induction of apoptosis [J]. Nat Med, 1995, 1: 1046-1051.
  - 14 Sunil C, Duraipandiyan V, Ignacimuthu S, et al. Antioxidant, free radical scavenging and liver protective effects of friedelin isolated from *Azima tetraacantha Lam* leaves [J]. Food Chem, 2013, 139: 860-865.
  - 15 Zhang YN. Comparative study on active components of different strains of *Hippophae rhamnoides* in China [D]. Changchun: Jilin Agricultural University (吉林农业大学), 2008.
  - 16 Tai XX, Sun J, Cao LY, et al. Extraction of alkaloids from *Hippophae rhamnoides* seed meal and its anti-inflammatory and analgesic effects [J]. Lishizhen Med Mater Med Res (时珍国医国药), 2013, 24: 1140-1142.
  - 17 Gu B, Zhang Y, Lai XR, et al. Determination of fatty acid composition and linoleic acid content in *Hippophae rhamnoides* oil by GC-MS [J]. J Chengdu Univ Trad Chin Med (成都中医药大学学报), 2005, 28(4): 49-52.
  - 18 Chen QH, Wang SC, Yu F, et al. Analysis of fat-soluble components of *Hippophae rhamnoides* oil extracted by supercritical CO<sub>2</sub> fluid gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chin Pharmaceuticals (中国药业), 2014, 23: 229-240.
  - 19 Liu M, Ren X, Yao YJ, et al. Study on antioxidation and hypoglycemic activity of *Hippophae rhamnoides* leaves polyphenol extract *in vitro* [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2017, 29: 1013-1019.
  - 20 Zhang YY, Lv S, Chen MJ, et al. Determination of the content of phenols in *Hippophae rhamnoides* and study on the correlation analysis of the quality characterization of its characteristic map [J]. J Beijing Univ Trad Chin Med (北京中医药大学学报), 2018, 41: 383-394.