

山楂体外降三酰甘油主要活性组分谱效关系研究

邵峰¹, 谷丽菲², 钟丹丹¹, 刘荣华^{1*}, 赵海平¹, 黄慧莲¹, 杨明¹

1. 江西中医药大学 现代中药制剂教育部重点实验室, 江西 南昌 330004

2. 中国药科大学, 江苏 南京 211198

摘要: 目的 探讨山楂降三酰甘油(TG)主要活性成分 UPLC 指纹图谱与药效之间的相关性。方法 利用 TG 体外模拟消化模型, 筛选出山楂降 TG 主要活性组分。采用 UPLC 法建立 12 批不同产地山楂降 TG 主要活性组分指纹图谱, 并获取相应的药效数据, 运用偏最小二乘法, 进行相关性分析。结果 山楂中富含黄酮的组分能够明显地降低 TG 水平。经相关性分析, 在该组分指纹图谱所含的 11 个共有峰中, 1 (B 型原花青素二聚体)、3 (原花青素 C1)、4 (B 型原花青素二聚体)、5 (芦丁)、6 (金丝桃苷)、7 (异槲皮苷)、8 (B 型原花青素二聚体) 号色谱峰所对应的化合物对降 TG 呈正相关作用, 其余包括 2 (表儿茶素)、10 (槲皮素)、11 (5-*O*-咖啡奎尼丁酯) 号色谱峰在内的各峰则呈负相关。结论 山楂黄酮类成分对降低 TG 水平存在不同程度的影响。

关键词: 山楂; 黄酮; 三酰甘油; 指纹图谱; 偏最小二乘法; 谱效关系

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)02-0339-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.02.020

Spectrum-effect relationship of triglyceride-lowering fraction of *Crataegus pinnatifida* fruit

SHAO Feng¹, GU Li-fei², ZHONG Dan-dan¹, LIU Rong-hua¹, ZHAO Hai-ping¹, HUANG Hui-lian¹, YANG Ming¹

1. Key Laboratory of Modern Preparation of TCM, Ministry of Education, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

2. China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China

Abstract: Objective To investigate the correlation between UPLC fingerprints of triglyceride (TG)-lowering fraction of *Crataegus pinnatifida* fruit and its efficacy. **Methods** *In vitro* digestion model for TG was applied to screen the TG-lowering fraction of *C. pinnatifida* fruit. The fingerprints of TG-lowering fraction of 12 batches of hawthorn fruits from different habitats were established by UPLC. And the partial least squares regression (PLSR) analysis was used to explore the correlation between peak areas of UPLC fingerprints and TG content. **Results** Flavonoids rich fraction of *C. pinnatifida* fruit exhibited stronger TG decreasing activity than other fractions. Eleven common peaks of the active fraction were selected. Peaks 1 (procyanidins dimers B), 3 (procyanidins C1), 4 (procyanidins dimers B), 5 (rutin), 6 (hyperoside), 7 (isoquercitrin), and 8 (procyanidins dimers B) had positive effect on TG decreasing activity, while peaks 2 (epicatechin), 10 (quercetin), and 11 (5-*O*-caffeoyl quinic acid butyl ester) had negative effect. **Conclusion** The TG-lowering effect is closely related to flavonoids.

Key words: fruit of *Crataegus pinnatifida*; flavonoids; triglyceride; fingerprints; partial least squares regression; spectrum-effect relationship

山楂为蔷薇科(Rosaceae)山楂属 *Crataegus* L. 植物山里红 *Crataegus pinnatifida* Bge. var. *major* N. E. Br 或山楂 *Crataegus pinnatifida* Bge. 的干燥成熟果实, 味酸、甘, 性微温, 归脾、胃、肝经, 具有

消食健胃、行气散瘀之功效^[1]。山楂临床常用于治疗高血脂、消化不良、冠心病及心绞痛等疾病^[2-3]。本课题组前期研究表明, 山楂能够显著降低高血脂症大鼠血清中的三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)

收稿日期: 2016-08-01

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81260638); 江西省自然科学基金项目(20161BAB205220)

作者简介: 邵峰(1980—), 男, 江西九江人, 副教授, 硕士生导师, 主要从事中药质量评价研究。E-mail: shaofeng0729@163.com

*通信作者 刘荣华(1964—), 男, 江西永新人, 教授, 博士生导师。Tel: 13576043161 E-mail: rhlou@163.com

及降低低密度脂蛋白 (LDL) 水平^[4]。其中, TG 是评价高血脂及心血管疾病的重要指标^[5]。然而, 山楂化学成分与降 TG 相关性研究尚未见报道。

中药谱效关系研究是通过数学统计分析方法, 对中药指纹图谱中化学成分的变化与药效信息进行相关性分析, 从而确定与药效相关的化学成分群。目前, 构建谱效关系的数学统计分析方法主要有偏最小二乘法、多元线性回归分析、灰色关联度分析及人工神经网络分析等^[6]。其中, 偏最小二乘法在解决自变量之间多重相关性、样本点容量少于变量个数等问题方面具有独特的优势^[7]。因此, 本实验应用偏最小二乘法, 对山楂降 TG 主要活性组分指纹图谱与药效进行相关性分析, 以期初步揭示山楂降 TG 作用的物质基础。

1 材料

1.1 药品与试剂

山楂 (12 批药材产地见表 1, 采集时间 2014 年 10~11 月) 经江西中医药大学刘荣华教授鉴定为山里红 *Crataegus pinnatifida* Bge. var. *major* N. E. Br. 的干燥成熟果实, 凭证标本 (SZ20141001~SZ20141012) 保存于江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室 B 座 501 室。

对照品表儿茶素 (中国食品药品检定研究院, 批号 878-200102); 芦丁、槲皮素、金丝桃苷 (成都曼斯特生物科技有限公司, 批号分别为 MUST-15010707、MUST-12072505、MUST-15050713), 质量分数均大于 98%; TG 测试盒 (批

号 20150810, 南京建成生物工程研究所); 胃蛋白酶 (Sigma Aldrich 有限公司); 胰酶 (上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 盐酸、氯化钠、氯化钾、氯化钙、碳酸氢钠 (分析纯, 西陇化工股份有限公司); 奥利司他胶囊 (山东新时代药业有限公司, 批号 085150303); 猪胆盐 (北京索莱宝科学技术有限公司); 双蒸水自制。

1.2 仪器

Triple TOF 5600 四级杆飞行时间质谱 (美国 AB 公司); Ultimate 3000 型超高效液相色谱仪 (3600RS 型六元泵、3000TFC 型自动进样器、3000RS 型柱温箱、3000RS 型 DAD 检测器, 美国 Thermo Scientific 公司); LC-30A 液相色谱仪与 UV-2550 型紫外-可见分光光度计 (日本 Shimadzu 公司); BT25S 型万分之一电子天平 [德国 Sartorius (北京) 公司]; HWS24 型电热恒温水浴锅 (上海一恒科学仪器有限公司); GL-16-II 型高速冷冻离心机 (上海安亭仪器厂); QYC-200 型恒温摇床 (上海福玛试验设备有限公司)。

2 方法与结果

2.1 山楂不同化学物质组制备

称量山楂 200 g, 按 1:3 的料液比加入 70%乙醇, 回流提取 3 次, 每次 2 h, 合并提取液, 减压回收乙醇, 得到山楂 70%乙醇提取物, 即组分 I。将山楂乙醇提取物总浸膏按 1:1 加水混悬, 用石油醚按 1:1 萃取 3 次, 得石油醚部位与水部位, 将石油醚部位, 减压回收溶剂, 得组分 II。将水部位用盐酸调 pH 值至 2.0 ± 0.5 , 再用水饱和正丁醇萃取, 得水饱和正丁醇萃取部位与萃余水部位, 萃余水部位加乙醇沉淀, 得沉淀物, 即组分 III。将水饱和正丁醇部位用 1% NaHCO_3 溶液按 1:1 萃取 3 次, 得碱水萃取部位和萃余后的水饱和正丁醇部位, 将萃余后的水饱和正丁醇部位减压回收溶剂, 得组分 IV。在碱水萃取部位再次加入盐酸调 pH 值至 2.0 ± 0.5 , 再用水饱和正丁醇按 1:1 萃取 3 次, 得水饱和正丁醇萃取部位, 减压回收溶剂, 得组分 V。

2.2 不同化学物质组总黄酮量比较

依据文献报道^[8], 采用 $\text{NaNO}_3\text{-AlCl}_3\text{-NaOH}$ 法, 以芦丁为对照品, 在 500 nm 波长处测定吸光度值, 绘制标准曲线 $Y=1.132\ 0\ X-0.021\ 6$, $r=0.999\ 3$ (Y 为吸光度值, X 为质量), 以芦丁计在 0.001~0.005 mg/mL 内线性关系良好。在此基础上, 对组分 I~V 中的总黄酮量进行比较, 结果显示山楂组分 IV 中总黄酮的量明显高于其他组分, 见表 2。

表 1 山楂药材来源

Table 1 Sources of *C. pinnatifida*

样品编号	产地
S1	福建省福州市
S2	山东省济宁市
S3	山东省莱芜市
S4	山西省吕梁市
S5	辽宁省丹东市
S6	安徽省安庆市
S7	河南省信阳市
S8	山东省临沂市
S9	湖南省常德市
S10	山西省运城市
S11	山东省枣庄市
S12	山东省德州市

表 2 山楂不同化学物质组总黄酮量比较 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

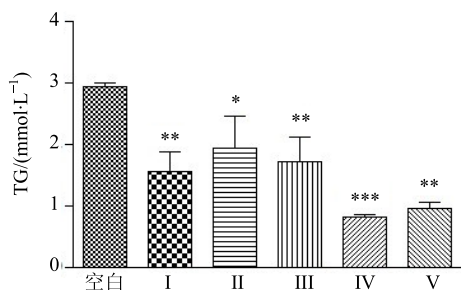
Table 2 Comparison of total flavonoid content in different fractions of *C. pinnatifida* ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组分	总黄酮/(mg·g ⁻¹)
I	133.10 ± 1.10
II	未检测到
III	54.80 ± 1.55
IV	915.80 ± 2.55
V	134.90 ± 2.44

2.3 山楂降 TG 活性组分筛选^[9-10]

2.3.1 葵花籽油乳剂配制 将 20 mL 乳化剂溶液 (含 0.2 mL 聚山梨酯 80、11.70 mg NaCl 及 100 mg NaN₃) 与 30 mL 葵花籽油混合搅拌 5 min, 再经匀浆机进行乳化, 制得葵花籽油乳剂, 备用。

2.3.2 不同组分对体外 TG 水平的影响 分别称取 100 mg 不同组分样品溶于 8.5 mL 盐溶液 (含 29.33 mg NaCl、22.18 mg KCl 及 3.30 mg CaCl₂) 于具塞锥形瓶中, 加入 6.5 mL 胃蛋白酶溶液 (含 12.48 mg 胃蛋白酶与 250 mmol/L 盐酸), 加入 200 μL 葵花籽油乳剂, 搅拌溶液 30 min。然后, 加入 6.05% NaHCO₃ 溶液 5 mL 并摇匀。加入 10 mL 胰酶胆盐溶液 (含 30 mg 胰酶与 375 mg 猪胆盐), 使得终体积为 30 mL。盖紧瓶塞反应 2 h, 再打开瓶塞反应 30 min, 最后, 盖紧瓶塞反应 1.5 h。当 pH 值由 6.2 变为 7.5 时, 加入 24 mg 奥利司他, 反应 10 min。取一定量反应液, 离心, 吸取上清液。经 TG 试剂盒测试, 结果显示: 与空白组 (不加组分样品) 相比, 山楂各组分均可不同程度地降低 TG 水平 ($P < 0.05$), 其中, 组分 IV 降低 TG 能力最强 ($P < 0.001$), 见图 1。



与空白组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs blank group

图 1 山楂不同组分对体外 TG 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Fig. 1 Effect of different fractions of *C. pinnatifida* on TG level in vitro ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

2.4 山楂组分 IV 的 UPLC 指纹图谱建立

ACQUITY UPLC[®] HSS T3 色谱柱 (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm), 流动相为乙腈 (A) -0.1% 甲酸水 (B); 梯度洗脱程序: 0~33 min, 7%→19% A; 33~50 min, 19%→28% A; 50~60 min, 28% A; 体积流量 0.3 mL/min; 检测波长 210 nm; 柱温 30 °C; 进样量 10 μL。按照“2.1 项”中组分 IV 的制备方法, 从 12 批不同产地山楂药材中提取得到相应组分 IV, 按照上述色谱条件, 得到相应的 UPLC 指纹图谱。利用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2004A 版)》软件, 自动匹配 12 批次山楂组分 IV 样品, 得到了 11 个共有指纹峰, 2 号峰为参比峰, 见图 2。

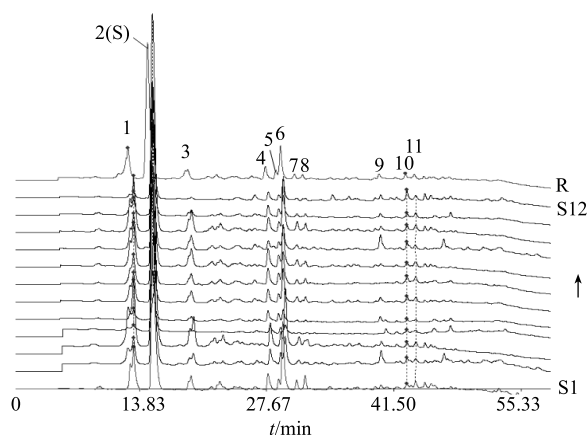


图 2 12 批山楂组分 IV 的 UPLC 指纹图谱

Fig. 2 UPLC-DAD for 12 batches of fraction IV of *C. pinnatifida* from different habitats

2.5 组分 IV 化学成分分析

AB Triple TOF 5600 四级杆飞行时间质谱仪采用电喷雾离子化 (ESI) 源, 喷雾电压 (IS): -4 500 V; 离子化温度 (TEM): 600 °C; 雾化气 (GS1) 压力: 344.74 kPa (50 psi); 辅助加热气 (GS2) 压力: 344.74 kPa (50 psi); 气帘气 (CUR) 压力: 172.37 kPa (25 psi); 碰撞气 (CAD): Medium; 扫描模式: Negative。一级质谱采集范围为 m/z 100~1 000, 累积时间为 200 ms; 二级质谱采集范围为 m/z 85~1 000, 累积时间为 100 ms; 碰撞能量 (CE): 40 eV; 碰撞能量叠加 (CES): 15。组分 IV 总离子流图见图 3。

根据山楂组分 IV 总离子流图、准相对分子质量及碎片离子信息, 归属山楂组分 IV 共有峰的成分, 结果显示: 峰 2、3、5、6、7、10、11 分别为表儿茶素、原花青素 C1、芦丁、金丝桃苷、异槲皮

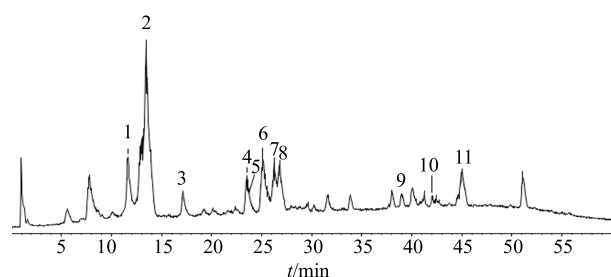


图 3 山楂组分 IV 负离子模式总离子流图

Fig. 3 Total ion chromatogram (TIC) in negative ion mode of fraction IV of *C. pinnatifida*

苷、槲皮素、5-*O*-咖啡奎尼丁酯，峰 1、4、8 为 B 型原花青素二聚体，色谱峰 9 待定，见表 3。

2.6 偏最小二乘法相关性分析

应用 SIMCA-P+ 12.0 软件，以 11 个共有峰的峰面积作为自变量 (X)，以 ΔTG (即 $TG_{空白}$ 与各批次 $TG_{实测}$ 之间差值) 作为因变量 (Y)，运用偏最小二乘法进行相关性分析，见表 4，拟合得到回归方程为 $Y=0.103 X_1-0.055 X_2+0.084 X_3+0.129 X_4+0.258 X_5+0.059 X_6+0.043 X_7+0.186 X_8-0.194 X_9-0.287 X_{10}-0.023 X_{11}$ ，其中，1、3、4、5、6、

表 3 山楂组分 IV 共有峰归属

Table 3 Common peaks determined by UPLC-Q-TOF-MS of fraction IV of *C. pinnatifida*

峰号	化合物	分子式	离子模式	t_R/min	相对分子质量			碎片离子 (m/z)	误差
					理论值	测定值			
1	B 型原花青素二聚体 ^[11-12]	$C_{30}H_{26}O_{12}$	—	11.67	577.135 15	577.134 15	577.134 1		-1.7
2	表儿茶素 [#]	$C_{15}H_{14}O_6$	—	13.50	289.071 76	289.071 51	289.071 5		-0.9
3	原花青素 C1 ^[11]	$C_{45}H_{38}O_{18}$	—	17.12	865.198 54	865.196 98	865.198 9, 577.132 3, 407.075 8, 289.071 5		-2.1
4	B 型原花青素二聚体 ^[11-12]	$C_{30}H_{26}O_{12}$	—	23.28	577.133 73	577.131 48	425.087 3, 407.076 4, 289.070 5, 245.084 3, 125.027 9		-3.9
5	芦丁 [#]	$C_{27}H_{30}O_{16}$	—	24.50	609.142 94	609.142 85	300.027 3		-0.2
6	金丝桃苷 [#]	$C_{21}H_{20}O_{12}$	—	25.13	463.088 2	463.086 87	463.087 2, 300.027 3, 271.024 5, 255.029 4		-2.9
7	异槲皮苷 ^[13]	$C_{21}H_{20}O_{12}$	—	26.26	463.088 2	463.086 74	463.083 5, 300.026 1, 271.023 8, 255.029 3		-3.2
8	B 型原花青素二聚体 ^[11-12]	$C_{30}H_{26}O_{12}$	—	26.82	577.132 72	577.132 61	425.085 2, 407.075 4, 289.070 9, 245.081 2, 125.026 7		-0.2
9	待定	$C_{20}H_{24}O_9$	—	41.36	407.132 55	407.132 59	245.081 6, 230.058 5, 215.035 8, 187.039 6		0.1
10	槲皮素 [#]	$C_{15}H_{10}O_7$	—	45.02	301.034 87	301.034 89	301.033 7, 273.039 3, 245.043 8, 227.034 7, 151.004 1		0.1
11	5- <i>O</i> -咖啡奎尼丁酯 ^[14]	$C_{20}H_{26}O_9$	—	46.72	409.148 24	409.148 25	409.149 1, 191.055 3, 179.036 4, 161.025 9, 135.046 5		0.0

[#]表示与对照品信息一致

[#]Identified by comparing with the reference standards

7、8 号色谱峰回归系数为正，即对 ΔTG 呈正相关，其余各峰则呈负相关，同时结果显示：以上各色谱峰所对应化合物对降 TG 作用贡献由大到小依次为芦丁 (5)、B 型原花青素二聚体 (8)、B 型原花青素二聚体 (4)、B 型原花青素二聚体 (1)、原花青素 C1 (3)、金丝桃苷 (6)、异槲皮苷 (7)、5-*O*-咖啡奎尼丁酯 (11)、表儿茶素 (2)、槲皮素 (10)。

3 讨论

高脂血症临床主要表现为血清中 TG、TC 及 LDL 水平升高，高密度脂蛋白 (HDL) 水平降低。山楂黄酮能够显著地降低高血脂大鼠血清中 TG、

TC 及 LDL 水平和升高 HDL 水平^[15]。本实验通过体外降 TG 研究发现，与其他组分相比，富含黄酮组分具有更强的降 TG 作用。这可能与过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ)、CCAAT 增强子结合蛋白 α (C/EBP α)、固醇调节元件结合蛋白 (SREBP-1c) 及脂肪酸结合蛋白 2 (aP2) 基因表达的下调有关^[16]。对该组分指纹图谱中的 11 个共有峰进行定性分析，已推测得到 9 个黄酮类成分 (槲皮素、表儿茶素、异槲皮苷、原花青素 C1、金丝桃苷、芦丁和 3 个 B 型原花青素二聚体) 和 1 个非黄酮类成分 (5-*O*-咖啡奎尼丁酯)。相关文献报道，金

表 4 山楂组分 IV 指纹图谱峰面积与 TG 药效数据
Table 4 Peak areas and TG content of Fr. IV of *C. pinnatifida* fruit

编号	峰面积											TG/(mmol·L ⁻¹)	ΔTG/(mmol·L ⁻¹)
	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8	峰 9	峰 10	峰 11		
空白	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.94	0
S1	147.00	881.41	64.07	52.73	13.94	224.71	24.62	35.19	15.30	17.14	20.57	0.46	2.48
S2	115.17	674.13	41.30	60.68	33.01	101.58	15.02	11.44	37.93	17.89	12.06	1.01	1.93
S3	290.70	1 235.08	104.61	77.03	20.92	215.88	35.44	18.53	15.40	12.25	15.16	0.68	2.26
S4	14.00	187.56	25.85	16.24	30.42	0.00	0.00	0.00	13.66	10.24	12.11	0.97	1.97
S5	39.76	183.70	18.47	34.81	17.75	35.27	4.65	2.93	14.52	10.28	12.91	1.09	1.85
S6	144.91	506.69	50.62	41.02	13.15	110.77	14.86	9.78	13.02	12.89	11.79	0.57	2.37
S7	162.94	495.39	50.79	53.15	30.17	111.55	15.00	20.15	0.00	17.63	15.39	0.53	2.41
S8	226.10	828.13	83.70	58.56	29.47	131.91	17.01	18.99	9.16	10.51	15.15	0.52	2.42
S9	185.89	569.88	66.00	34.90	9.40	92.05	13.43	2.42	46.43	23.16	10.84	1.22	1.72
S10	214.80	1 042.53	94.68	48.06	12.80	181.61	24.67	22.82	12.50	13.95	16.68	1.19	1.75
S11	65.75	389.73	9.07	34.87	19.36	68.59	8.66	6.45	16.63	10.97	11.78	1.19	1.75
S12	12.83	476.73	8.27	25.40	7.07	68.70	6.03	2.47	17.72	32.30	17.12	1.74	1.20

丝桃苷^[17]、原花青素^[18]、槲皮素^[19]及表儿茶素^[20-21]，等黄酮类成分能够显著降低高血脂大鼠血清中 TG 水平。而上述研究成果与本研究结果不尽相同。究其原因，本课题组认为作为一个多成分、多靶点综合作用的复杂整体，山楂降 TG 作用并非仅由个别成分的药效作用所决定。各成分在降 TG 过程中的相互作用，仍是不可忽视的关键问题。而本实验所采用的谱效关系研究优势在于可以阐明指纹图谱特征化学成分与药效的相互关系，确定相应的药效物质基础。通过体内药效验证实验，研究各成分在降 TG 主要活性组分中的贡献大小及 1、4、8、9 号色谱峰的结构鉴定将是本课题组下一阶段开展的研究工作。

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
[2] 杨志明. 浅议山楂临床作用 [J]. 中医杂志, 2010, 51(S2): 150-151.
[3] 吴士杰, 李秋津, 肖学凤, 等. 山楂化学成分及药理作用的研究 [J]. 药物评价研究, 2010, 33(4): 316-319.
[4] Shao F, Gu L F, Chen H J, *et al.* Comparison of hypolipidemic and antioxidant effects of aqueous and ethanol extracts of *Crataegus pinnatifida* fruit in high-fat emulsion-induced hyperlipidemia rats [J]. *Pharmacognosy Magazine*, 2016, 12(45): 64-69.
[5] Nordestgaard B G, Varbo A. Triglycerides and cardiovascular disease [J]. *Lancet*, 2014, 384(9943): 626-635.
[6] 秦昆明, 郑礼娟, 沈保家, 等. 谱效关系在中药研究中的应用及相关思考 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(1):

26-31.

[7] 唐启义, 唐洁. 偏最小二乘回归分析在均匀设计试验建模分析中的应用 [J]. 数理统计与管理, 2005, 25(5): 45-49.
[8] 邵峰, 谷丽菲, 陈慧娟, 等. 不同产地山里红野山楂中总黄酮总有机酸含量比较 [J]. 时珍国医国药, 2015, 26(1): 11-13.
[9] Vinarov Z, Petrova L, Tcholakova S, *et al.* *In vitro* study of triglyceride lipolysis and phase distribution of the reaction products and cholesterol: effects of calcium and bicarbonate [J]. *Food Funct*, 2012, 3(11): 1206-1220.
[10] Vinarova L, Vinarov Z, Atanasov V, *et al.* Lowering of cholesterol bioaccessibility and serum concentrations by saponins: *in vitro* and *in vivo* studies [J]. *Food Funct*, 2015, 6(2): 501-512.
[11] Prodanov M, Visitación V, Hernández T, *et al.* Chemical characterisation of *Malvar* grape seeds (*Vitis vinifera* L.) by ultrafiltration and RP-HPLC-PAD-MS [J]. *J Food Compos Anal*, 2013, 31(2): 284-292.
[12] 许文, 傅志勤, 林婧, 等. HPLC-Q-TOF-MS 和 UPLC-QqQ-MS 的三叶青主要成分定性定量研究 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(22): 4365-4372.
[13] Liu P, Yang B, Kallio H. Characterization of phenolic compounds in Chinese hawthorn (*Crataegus pinnatifida* Bge. var. major) fruit by high performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2010, 121(4): 1188-1197.
[14] Clifford M N, Knight S, Kuhnert N. Discriminating

- between the six isomers of dicaffeoylquinic acid by LC-MSn [J]. *J Agric Food Chem*, 2005, 53(10): 3821-3832.
- [15] 刘北林, 董继生, 倪小虎, 等. 山楂黄酮提取及降血脂研究 [J]. 食品科学, 2007, 28(5): 324-327.
- [16] Wang T, An Y T, Zhao C F, *et al*. Regulation Effects of *Crataegus pinnatifida* leaf on glucose and lipids metabolism [J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(9): 4987-4994.
- [17] 李贵海, 孙敬勇, 张希林, 等. 山楂降血脂有效成分的实验研究 [J]. 中草药, 2002, 33(1): 52-54.
- [18] Bladé C, Arola L, Salvadó M J. Hypolipidemic effects of proanthocyanidins and their underlying biochemical and molecular mechanisms [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2010, 54(1): 37-59.
- [19] Juźwiak S, Wójcicki J, Mokrzycki K, *et al*. Effect of quercetin on experimental hyperlipidemia and atherosclerosis in rabbits [J]. *Pharmacol Rep*, 2005, 57(5): 604-609.
- [20] 林亲录, 施兆鹏, 刘湘新, 等. 儿茶素和表儿茶素对动物血脂的影响 [J]. 中国食品学报, 2002, 2(3): 16-20.
- [21] Ngamukote S, Mäkynen K, Thilawech T, *et al*. Cholesterol-lowering activity of the major polyphenols in grape seed [J]. *Molecules*, 2011, 16(6): 5054-5061.