

异绿原酸 A、B 和 C 的制备工艺研究

倪付勇^{1,2}, 宋亚玲^{1,2}, 刘露^{1,2}, 赵祎武^{1,2}, 黄文哲^{1,2}, 王振中^{1,2}, 萧伟^{1,2*}

1. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222000

2. 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏 连云港 222000

摘要: 目的 建立从金银花 *Lonicera japonica* 中分离制备高质量分数异绿原酸 A、B 和 C 的方法。方法 采用 D-101 大孔树脂、中低压制备色谱分离制备金银花中异绿原酸 A、B 和 C 单体, 根据理化性质和波谱数据鉴定其结构。结果 分离制备的异绿原酸 A、B 和 C 质量分数分别为 98.7%、99.2% 和 97.6%。结论 该方法经济、简单、快速, 可用于制备高质量分数的异绿原酸 A、B 和 C。

关键词: 异绿原酸 A; 异绿原酸 B; 异绿原酸 C; 金银花; D-101 大孔树脂; 中低压制备色谱

中图分类号: R284.2

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2015)03-0369-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.03.012

Preparation technology of isochlorogenic acids A, B, and C

NI Fu-yong^{1,2}, SONG Ya-ling^{1,2}, LIU Lu^{1,2}, ZHAO Yi-wu^{1,2}, HUANG Wen-zhe^{1,2}, WANG Zhen-zhong^{1,2}, XIAO Wei^{1,2}

1. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222000, China

2. State Key Laboratory of New-tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Lianyungang 222000, China

Abstract: Objective To establish a method for separation of isochlorogenic acids A, B, and C from *Lonicerae Flos*. **Methods** Isochlorogenic acids A, B, and C in *Lonicerae Flos* were isolated and purified by macroporous resin and medium-low-pressure preparative chromatography. Their structures were identified on the basis of the spectral data and physicochemical property. **Results** The contents of prepared isochlorogenic acids A, B and C were 98.7%, 99.2%, and 97.6%, respectively. **Conclusion** This method is economic, simple, rapid, and effective for the preparation of isochlorogenic acids A, B, and C with high purity.

Key words: isochlorogenic acid A; isochlorogenic acid B; isochlorogenic acid C; *Lonicerae Flos*; D-101 macroporous resin; medium-low-pressure preparative chromatography

金银花 *Lonicerae Flos* 为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花蕾或初开的花, 是我国常用中药, 具有清热解毒、凉散风热之功效、常用于热血毒痢、风热感冒、痈肿疮疖、瘟病发热等疾病^[1]。金银花中含有大量的有机酸类化合物, 主要药理活性有抗菌作用、抗炎、抑制血小板聚集、抗血栓、抗氧化作用等^[2-3]。

异绿原酸 A、B 和 C 是二咖啡酰奎宁酸类化合物, 是金银花中的有效活性成分, 是一类由奎宁酸与数目不等的咖啡酸通过酯化反应缩合而成的有机酸类天然成分, 广泛存在于植物界中^[4]。近 20 年来

国内外学者就二咖啡酰奎宁酸类的植物化学和药理进行了深入研究, 发现其具有一些重要生物活性, 极具临床应用价值。主要的药理活性有抗氧化、抑制氧酶、抗动脉粥样硬化、抗动脉粥样硬化、抗血小板活性物质、调血脂、抗炎、抗病毒、抑制组胺释放、抗纤维化、抑制平滑肌收缩等作用^[4]。研究发现异绿原酸 A 和异绿原酸 C 可以抑制白细胞迁移和炎症过程超氧阴离子的产生, 具有良好的体外抗炎作用。Kimura 等^[5]发现异绿原酸 A、B、C 抑制人外周血多形核白细胞中钙离子 A23187 诱导的白三烯 B₄ 产生, 并且异绿原酸 B 能促进前列腺素 E₂

收稿日期: 2014-08-13

基金项目: 科技部重大新药创制: 现代中药创新集群与数字制药技术平台 (2013ZX09402203)

作者简介: 倪付勇, 男, 研究员, 从事天然产物化学研究。Tel: (0518)81152323 E-mail: nifuyong163@163.com

*通信作者 萧伟, 男, 研究员级高级工程师, 博士, 研究方向为中药新药的研究与开发。

Tel: (0518)81152337 Fax: (0518)81152327 E-mail: kanionlunwen@163.com

的形成,呈现较好的抗炎活性;Iwai等^[6]对绿咖啡豆中的7个咖啡酰奎宁酸类化合物抗氧化活性测试结果显示异绿原酸C的活性最好。另外研究发现异绿原酸A不仅抑制HIV-1整合酶,并且能抑制HIV-1在组织中的复制,选择治疗指数大于100^[7]。Oh等^[8]研究表明异绿原酸A和异绿原酸C对血管紧张素转换酶的抑制活性分别为596、534 $\mu\text{mol/L}$,提示咖啡酰奎宁酸类化合物可能是降压的有效成分。周志娥等^[9]在对大肠杆菌的抑菌机制实验中发现绿原酸类物质在较短时间内破坏大肠杆菌细胞壁、细胞膜的结构,增加细胞的通透性,致使细胞电解质、酶及DNA、RNA外泄,1-N-苯萘胺(NPN)渗透进入细胞壁,从而影响细胞结构的稳定性,使细胞死亡,而异绿原酸A在抑菌效果及对细胞壁、细胞膜的作用程度都强于绿原酸。

异绿原酸A、B和C互为同分异构体,药理活性较好,但是制备高纯度单体的难度较大,这就制约了其药理药效的深入研究,故需要一种快速、简便、高效的制备方法对其进行分离纯化。中低压制备色谱技术即闪式制备色谱技术,其最大特点是分离速度快,可制备毫克级至百克级的样品。可使用正相填料和反相填料,具有比常压柱色谱分辨率高,分离速度快的特点;具有比高效制备液相制备量大、时间短、工作效率高、节约生产成本的优点。随着天然产物分离纯化技术的发展,中低压制备色谱技术越来越受到广泛的应用^[10]。

本实验采用大孔树脂对金银花70%乙醇提取物进行初步分离并富集,利用中低压制备色谱技术从中分离制备出高质量分数的咖啡酰奎宁酸类化合物,经ESI-MS、¹³C-NMR和¹H-NMR对其进行结构鉴定。本方法实现了经济、快速、有效分离异绿原酸A、B和C的目的,为金银花的进一步开发应用提供了参考数据。

1 仪器与材料

Agilent 1260 高效液相色谱仪,美国 Agilent 公司,配自动进样器、四元泵、MWD 检测器;Reveleris 中低压制备色谱仪,美国 GRACE 公司,配四元泵、UV、ELSD 检测器;Bruker AV-400 型核磁共振光谱仪,瑞士 Bruker 公司;Agilent 1290-6538 液质联用仪,美国 Agilent 公司;AE240 电子分析天平,瑞士 Mettler 公司。

金银花药材于2013年11月购自安徽亳州药材市场(产地:山东),经南京中医药大学吴启南教授

鉴定为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花;异绿原酸A(批号A0025,质量分数>98%)、异绿原酸B(批号071130,质量分数>98%)、异绿原酸C(批号MUST-09041001,质量分数>98%)对照品购自成都曼斯特生物科技有限公司;HP20 型大孔树脂,河北沧州宝恩吸附材料科技有限公司;HPD-200A 型大孔吸附树脂,郑州勤实科技有限公司;D-101、HP100 型大孔吸附树脂,天津海光化工有限公司;YMC-C₁₈, 粒径50 μm , 日本 YMC 公司;甲醇、乙腈,色谱纯,瑞典 Oceanpak 公司;甲酸,分析纯,南京化学试剂有限公司;95%乙醇,食用级,连云港长和酒业有限公司;双蒸水,自制。

2 方法与结果

2.1 异绿原酸A、B、C定量测定

2.1.1 混合对照品溶液制备^[11] 异绿原酸A、B和C在药材中的质量分数分别为0.32%、0.17%、0.63%,故取异绿原酸A、B和C对照品各4.80、2.56、9.45 mg,置于20 mL量瓶中,加入甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,配制成质量浓度分别为240.00、128.00、472.50 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照溶液。

2.1.2 供试品溶液制备^[11] 称取“2.3.3”项下异绿原酸粗品20.00 mg置于20 mL量瓶中,加入甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,配制成供试品溶液。

2.1.3 检测波长选择 取“2.1.1”项下对照品溶液在紫外分光光度计190~600 nm进行全波长扫描,结果显示在240、280、326 nm处均有较大吸收;取“2.1.2”项下供试品溶液在紫外分光光度计190~600 nm进行全波长扫描,以对照品扫描图作为对照,结果显示供试品与对照品的图谱基本一致,而两者都在326 nm处的吸光度值最大,与文献中检测异绿原酸所选波长基本一致^[12],故以326 nm作为对照品检测和分离的波长。

2.1.4 色谱条件 色谱柱为Acuity C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.5%甲酸水溶液, 体积流量1.0 mL/min。梯度洗脱条件:0~30 min, 25%~60%乙腈;30~45 min, 60%~100%乙腈;进样体积10 μL , 柱温30 $^{\circ}\text{C}$, 检测波长326 nm。

2.2 提取工艺

取金银花10.0 kg,用10倍量70%乙醇回流提取2 h,滤渣加8倍量70%乙醇回流提取1 h,合并提取液,滤过,滤液减压浓缩至相对密度1.05(25 $^{\circ}\text{C}$)。搅拌加入乙醇至体积分数为80%,静置过夜

(12 h), 滤过, 滤液减压浓缩至无醇味, 加水稀释至 1:1, 静置过夜 (12 h), 滤过, 弃去不溶物, 即得金银花提取液, 备用。异绿原酸 A、B 和 C 的转移率为 92.6%。

2.3 纯化工艺

2.3.1 树脂型号筛选^[13] 由于“2.2”项下制备的滤液含大量极性杂质成分, 需要用树脂工艺纯化。考察 D-101、HPD200A、HP100、HP-20 4 种经预处理的大孔树脂对样品中异绿原酸 A、B 和 C 的吸附、解吸附效果。平行取“2.2”项下金银花提取液 4 份, 每份 100 mL, 分别加入到已处理好的含 40 g D-101、HPD200A、HP100、HP-20 大孔吸附树脂中 (径高

比为 1:8), 吸附, 水洗, 水液减压浓缩, 甲醇定容至 100 mL; 适量 60%乙醇洗脱, 合并洗脱液, 浓缩至无醇味, 甲醇定容至 100 mL。

取上样液和洗脱液, 分别采用“2.1”项方法测定, 计算比吸附量、比洗脱量和解吸率, 见表 1。结果表明 D-101 为最佳应用树脂。

比吸附量=(上样液质量浓度×上样液体积-过柱液质量浓度×过柱液体积-水洗液质量浓度×水洗液体积)/树脂质量

比洗脱量=乙醇洗脱液的质量浓度×乙醇洗脱液体积/树脂质量

解吸率=洗脱量/吸附量

表 1 不同树脂的考察

Table 1 Investigation of different macroporous resins

树脂类型	上样量/(mg·mL ⁻¹)			比吸附量/(mg·g ⁻¹)			比洗脱量/(mg·g ⁻¹)			解吸率/%		
	异绿原酸 A	异绿原酸 B	异绿原酸 C	异绿原酸 A	异绿原酸 B	异绿原酸 C	异绿原酸 A	异绿原酸 B	异绿原酸 C	异绿原酸 A	异绿原酸 B	异绿原酸 C
D-101	9.28	4.91	18.28	22.24	11.76	43.26	21.00	11.20	40.96	94.42	95.24	94.68
HPD200A	9.28	4.91	18.28	20.73	10.96	41.96	16.13	8.93	28.16	77.81	81.48	67.11
HP100	9.28	4.91	18.28	21.38	8.67	44.32	16.21	7.63	36.98	75.82	88.00	83.44
HP-20	9.28	4.91	18.28	20.05	9.49	38.28	15.93	7.56	34.21	79.45	77.66	89.37

2.3.2 洗脱剂的选择 按照优选的 D-101 树脂平行取 5 份, 进行样品吸附后, 先用水洗至无色后, 分别用 15%、25%、30%、45%、60%乙醇溶液进行洗脱, HPLC 跟踪检测, 计算洗脱率, 结果分别为 0、48.1%、88.5%、98.8%、98.8%。流出液减压浓缩并干燥, 测定异绿原酸 A、B 和 C 的总量, 结果分别为 0、5.4%、8.2%、23.6%、2.6%。可知, 15%乙醇洗脱未见目标产物 (主要为绿原酸); 25%、30%乙醇洗脱液有部分洗脱下来, 但是洗脱不完全; 60%乙醇洗脱可将异绿原酸 A、B 和 C 几乎完全洗脱下来, 但同时洗脱下的杂质也增多, 综合成本考虑, 确定采用 45%乙醇洗脱异绿原酸 A、B 和 C, 洗脱体积与树脂质量比为 4:1。

2.3.3 树脂柱色谱

(1) 树脂预处理: 选用 D-101 型大孔树脂用 5%氢氧化钠溶液 4 BV 浸泡 24 h, 加 4 BV 水洗至中性, 加 5%盐酸溶液 4 BV 浸泡 6 h, 水洗至中性, 加 95%乙醇浸泡 12 h 后洗脱, 至流出乙醇液与水混合不产生白色浑浊为止, 用足量水洗至无醇味, 备用。

(2) 吸附洗脱: 取预处理好的 D-101 型大孔树脂柱 (600 mm×80 mm), 精密量取“2.2”项下的

提取液上柱, 吸附完成后先用水洗除去黏液质等杂质, 再用 15%乙醇洗脱 4 BV, 最后用 45%乙醇洗脱 4 BV, 收集 45%乙醇洗脱液, 减压浓缩, 真空干燥, 研碎, 得异绿原酸粗品 165 g (异绿原酸 A、B 和 C 的质量分数分别为 15.7%、8.3%、30.9%), 备用。

2.4 中低压制备色谱条件的优化

2.4.1 柱填料的选择 选择反相硅胶 (YMC-C₁₈, 50 μm) 和硅胶为填料进行色谱分离, 结果表明利用反相硅胶可避免正相硅胶死吸附大、样品损失多的问题, 且预试验证明, 采用反相硅胶为填料, 异绿原酸的分离度较好, 故选择 YMC-C₁₈ 为分离填料。

2.4.2 洗脱剂的选择 分别以甲醇-水、甲醇-0.5%甲酸水溶液、乙腈-水、乙腈-0.5%甲酸水溶液系统及相同系统下不同配比为洗脱剂进行分离, 最终确定以乙腈-0.5%甲酸水溶液 (32:68) 为洗脱系统, 此系统条件各色谱峰分离度较好, 能使异绿原酸 A、B 和 C 得到有效分离, 故选择乙腈-0.5%甲酸水溶液系统为洗脱剂。

2.4.3 体积流量选择 分别以 10、20、30 mL/min 的体积流量进行洗脱, 发现以 10 mL/min 洗脱时样品保留时间较长, 而以 30 mL/min 洗脱时的保留时

间和 20 mL/min 的保留时间相差不大, 综合试剂成本和分离效率考虑, 选择 20 mL/min 进行洗脱。

2.5 异绿原酸 A、B 和 C 的制备

将乙腈溶液作为 A 相, 0.5% 甲酸水溶液为 B 相, 将 2 个灌注管路分别放入 A 相和 B 相中, 然后进入洗脱程序表按照优选的溶剂体系比例进行设定 (A 相 32%, B 相 68%), 时间 30 min, 体积流量 20 mL/min, 再进入紫外检测器的选择系统, 设定波长为 326 nm。将自制 C₁₈ 填料色谱柱 (400 mm×80 mm, 50 μm) 安装好, 取“2.3.3”项下异绿原酸粗品 30.0 g, 用适量甲醇溶解, 分次进样, 按上述条件洗脱, 并收集保留时间为 10.8~12.5、14.2~16.8 和 18.5~22.0 min 的组分, 减压浓缩收集液, 冷冻干燥, 并计算收率 (收率=制备得到的目标成分量/粗品中目标成分量) 得异绿原酸 A (峰 2) 白色粉末 4.08 g (收率为 86.6%)、异绿原酸 B (峰 1) 白色粉末 2.03 g (收率为 81.5%) 和异绿原酸 C (峰 3) 白色粉末 8.17 g (收率为 88.1%)。色谱图见图 1。

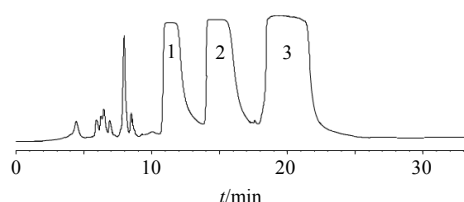


图 1 异绿原酸 A、B 和 C 的制备 HPLC 图
Fig. 1 Pre-HPLC of isochlorogenic acids A, B, and C

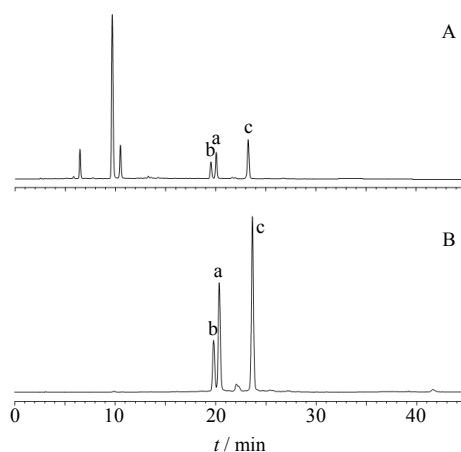
2.6 异绿原酸 A、B 和 C 的质量分数测定

利用 HPLC 法测定自制异绿原酸 A、B 和 C 的质量分数。按“2.1”项下色谱方法测定, 用面积归一化法计算, 确定异绿原酸 A、B 和 C 的质量分数分别为 98.7%、99.2% 和 97.6%。

异绿原酸 A、B 和 C (互为同分异构体) 样品经 ESI-MS 分析, m/z : 515.123 9 [M-H]⁻, 计算相对分子质量均为 516, 峰 a、b、c 分别为异绿原酸 A、B 和 C。色谱图见图 2。

2.6 异绿原酸 A、B 和 C 的结构鉴定

2.6.1 异绿原酸 A 白色粉末 (甲醇), ESI-MS m/z : 515 [M-H]⁻。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 2.13~2.34 (4H, m, H-2, 6), 3.98 (1H, dd, J = 3.4, 7.6 Hz, H-4), 5.39 (1H, ddd, J = 4.5, 8.2, 10.8 Hz, H-5), 5.43 (1H, m, H-3), 6.26 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-8'), 6.33 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-8''), 6.77 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5'), 6.78 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5''), 6.96 (1H, dd, J =



a-异绿原酸 A b-异绿原酸 B c-异绿原酸 C
a-isochlorogenic acid A b-isochlorogenic acid B c-isochlorogenic acid C

图 2 金银花提取液 (A) 和 45% 乙醇洗脱部位 (B) 的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC of extracts from *Lonicera Flos* (A) and 45% ethanol elution (B)

2.0, 8.2 Hz, H-6'), 6.97 (1H, dd, J = 2.0, 8.0 Hz, H-6''), 7.06 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 7.07 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2''), 7.56 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-7'), 7.60 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-7''); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 36.3 (C-2), 37.5 (C-6), 70.6 (C-4), 72.4 (C-3), 72.8 (C-5), 74.8 (C-1), 115.4 (C-8''), 115.6 (C-8'), 115.8 (C-2', 2''), 116.7 (C-5', 5''), 123.1 (C-6', 6''), 127.9 (C-1', 1''), 146.8 (C-3', 3''), 147.4 (C-7'), 147.6 (C-7''), 149.8 (C-4', 4''), 168.5 (C-9'), 168.9 (C-9''), 175.8 (COOH)。以上数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定化合物为 3, 5-*O*-二咖啡酰奎宁酸 (异绿原酸 A)。

2.6.2 异绿原酸 B 白色粉末 (甲醇), ESI-MS m/z : 515 [M-H]⁻。 δ : ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 2.15~2.30 (4H, m, H-2, 6), 4.39 (1H, m, H-5), 5.13 (1H, dd, J = 3.1, 9.0 Hz, H-4), 5.63 (1H, m, H-3), 6.17 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-8'), 6.27 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-8''), 6.74 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5'), 6.76 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5''), 6.90 (1H, dd, J = 2.0, 8.2 Hz, H-6'), 6.91 (1H, dd, J = 2.0, 8.0 Hz, H-6''), 7.01 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 7.02 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2''), 7.53 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-7'), 7.58 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-7''); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 38.4 (C-6), 39.4 (C-2), 68.9 (C-3), 69.4 (C-5), 75.8 (C-4), 76.1 (C-1), 114.7 (C-8'), 114.8 (C-8''), 115.2 (C-2', 2''), 116.5 (C-5', 5''), 123.1 (C-6', 6''), 127.7 (C-1', 1''),

146.8 (C-3', 3''), 147.6 (C-7'), 147.9 (C-7''), 149.7 (C-4', 4''), 168.2 (C-9'), 168.6 (C-9''), 176.8 (COOH)。以上数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物为 3, 4-*O*-二咖啡酰奎宁酸 (异绿原酸 B)。

2.6.3 异绿原酸 C 淡黄色粉末 (甲醇), ESI-MS m/z : 515 $[M-H]^-$ 。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 1.94~2.34 (2H, m, J = 6.4 Hz, H-2), 4.35 (1H, m, J = 3.2 Hz, H-3), 5.02 (1H, dd, J = 3.2, 8.2 Hz, H-4), 5.63 (1H, ddd, J = 4.5, 8.2, 10.8 Hz, H-5), 1.94~2.34 (H, m, J = 4.6, 10.8 Hz, H-6), 7.02 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 6.74 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5'), 6.88 (1H, dd, J = 2.0, 8.0 Hz, H-6'), 7.53 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-7'), 6.24 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-8'), 7.04 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2''), 6.76 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5''), 6.89 (1H, dd, J = 2.0, 8.0 Hz, H-6''), 7.59 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-7''), 6.28 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-8'')。 ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 38.6 (C-2), 39.5 (C-6), 69.4 (C-3), 69.5 (C-5), 75.9 (C-4), 76.2 (C-1), 114.8 (C-8''), 114.9 (C-8'), 115.4 (C-2', 2''), 116.7 (C-5', 5''), 123.1 (C-6', 6''), 127.6 (C-1', 1''), 146.8 (C-3', 3''), 147.8 (C-7'), 147.9 (C-7''), 149.8 (C-4', 4''), 168.5 (C-9'), 168.9 (C-9''), 175.8 (COOH)。以上数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定化合物为 4, 5-*O*-二咖啡酰奎宁酸 (异绿原酸 C)。

3 讨论

咖啡酰奎宁酸类化合物在植物中分布广泛, 并且具有多种药理活性, 其中二咖啡酰奎宁酸类对心血管和血液系统、免疫系统以及消化和呼吸系统有很好的应用前景^[4]。本实验通过大孔树脂富集目标化合物, 利用中低压制备色谱技术制备同时得到高纯度的异绿原酸 A、B 和 C, 质量分数分别为 98.7%、99.2%和 97.6%, 可作为常规分析检测、新药研究以及进一步综合控制金银花药材质量用的对照品, 也可用于药理药效的筛选。

本研究建立了一种高质量分数异绿原酸 A、B 和 C 的分离方法, 具有经济、简单、快速等优点, 同时转移率较高, 使目标产物总量达到 54.9%, 满足中药 5 类新药中有效部位的量应高于 50%的规定, 为金银花以有效部位为基础的单方及复方制剂的进一步研究和开发提供参考。

参考文献

[1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草 (第

7 卷) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.

- [2] 汤喜兰, 刘建勋, 李 磊. 中药有机酸类成分的药理作用及在心血管疾病的应用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(5): 243-246.
- [3] 陈 奇, 邓雁如, 夏 娜. 金银花多酚类物质的纯化研究 [J]. 药物评价研究, 2012, 35(3): 185-189.
- [4] 李祖晟, 朱志安. 二咖啡酰奎宁酸药理实验研究进展 [J]. 医药综述, 2004, 10(4): 249-250.
- [5] Kimura Y, Okuda H, Okuda T, *et al.* Studies on the activities of tannins and related compounds, X. Effects of caffeetannins and related compounds on arachidonate metabolism in human polymorphonuclear leukocytes [J]. *J Nat Prod*, 1987, 50(3): 392-399.
- [6] Iwai K, Kishimoto N, Kakin Y, *et al.* *In vitro* antioxidative effects and tyrosinase inhibitory activities of seven hydroxycinnamoyl derivatives in green coffee beans [J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52(15): 4893-4898.
- [7] Robinson W E, Reinecke M G, Abdel-Malek S, *et al.* Inhibitors of HIV-1 replication that inhibit HIV integrase [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93(13): 6323-6331.
- [8] Oh H, Kang D G, Lee S, *et al.* Angiotensin converting enzyme inhibitors from *Cuscuta japonica* Chosy [J]. *J Ethnopharm*, 2002, 83(12): 105-108.
- [9] 周志娥, 罗秋水, 熊建华, 等. 绿原酸、异绿原酸 A 对大肠杆菌的抑菌机制 [J]. 食品科技, 2014, 39(3): 228-231.
- [10] Raman G, Cho M, Brodbelt J S, *et al.* Isolation and purification of closely related *Citrus* limonoid glucosides by flash chromatography [J]. *Phytochem Anal*, 2005, 16(3): 155-160.
- [11] 李 淼, 王永香, 孟 谨, 等. HPLC 法测定金银花中新绿原酸等 8 中成分的量 [J]. 中草药, 2014, 45(7): 1006-1010.
- [12] 朱粉霞, 贾晓斌, 李秀峰, 等. UPLC 法同时测定胆木注射液中原儿茶酸、新绿原酸、绿原酸和隐绿原酸 [J]. 中草药, 2013, 44(5): 571-573.
- [13] 张 桥, 沈 娟, 赵玮武, 等. 凌霄花中洋丁香苷的制备 [J]. 中草药, 2011, 42(12): 2465-2467.
- [14] Zhu X F, Zhang H X, Lo R. Phenolic compounds from the leaf extract artichoke (*Cynara scolymus* L.) and their antimicrobial activities [J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52(24): 7272-7278.
- [15] 汤 丹, 李会军, 钱正明, 等. 黄褐毛忍冬花蕾咖啡酰奎宁酸类成分研究 [J]. 中国药理学杂志, 2007, 42(20): 1537-1539.
- [16] Zhu X F, Zhang H X, Lo R. Three di-*O*-caffeoylquinic acid derivatives from the heads of *Cynara scolymus* L. [J]. *Nat Prod Res*, 2009, 23(6): 527-532.