

蔓三七叶中分离绿原酸和异绿原酸及其抗氧化活性研究

胡居吾¹, 吴磊^{1*}, 涂招秀¹, 谢欣¹, 黄斌华²¹江西省科学院应用化学研究所, 南昌 3300962; ²江西华紫仁农业开发有限公司, 赣州 330000

摘要:以蔓三七叶为原料, 制备其中的绿原酸和异绿原酸 A、B 和 C, 并对它们进行结构鉴定; 同时, 采用 DPPH 法、水杨酸比色法、邻苯三酚自氧化法来对其进行体外抗氧化活性研究。结果表明, 分离制备的绿原酸和异绿原酸 A、B 和 C 质量分数分别为 96.8%、98.2%、97.6% 和 98.7%。在 0.5 ~ 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内, 绿原酸和异绿原酸 A、B 和 C 对 DPPH 和羟基自由基表现出了较好的清除作用, 随浓度升高而逐渐增大; 但它们对超氧自由基的清除作用时, 浓度从 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 升高到 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 清除作用都未出现明显的剂量依赖性, 各样品与阳性对照组 (VC) 相比较而言, 其清除超氧自由基的作用明显较弱。本文揭示了蔓三七叶中的绿原酸和异绿原酸 A、B 和 C 具有不同的抗氧化效果。

关键词:蔓三七叶; 绿原酸; 异绿原酸; 抗氧化能力

中图分类号: R284.2; Q946

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2019)1-0038-06

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2019.1.006

Extraction and antioxidant activity of chlorogenic acids and isochlorogenic acids from *Gynura procumbens* (Lour.) Merr.

HU Ju-wu¹, WU Lei^{1*}, TU Zhao-xiu¹, XIE Xin¹, HUANG Bin-hua²

¹Institute of Applied Chemistry, Jiangxi Academy of Sciences, Nanchang Jiangxi, 330029;

²Jiangxi Huaziren Agricultural Development Co., Ltd., Ganzhou Jiangxi, 330000

Abstract: The chlorogenic acids and isochlorogenic acid A, B and C from *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. was extracted and its structural identification. The antioxidant activities of chlorogenic acids and isochlorogenic acid A, B and C were evaluated by spectrophotometry on its ability of scavenging DPPH·, ·OH and O₂⁻. The result showed that the contents of prepared chlorogenic acids and isochlorogenic acids A, B and C were 96.8%, 98.2%, 97.6% and 98.7%, respectively. The chlorogenic acid and isochlorogenic acid A, B and C had well scavenging activity to DPPH· and ·OH in the range of experimental concentration, and with the concentration increases, it increases gradually. But when the concentration increased from 5 to 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, the ability of scavenging O₂⁻ had no obvious dose dependence, and compared with the positive control group (V_c), the effect was significantly weaker. The chlorogenic acids and isochlorogenic acid A, B and C from *Gynura procumbens* (Lour.) Merr had different antioxidant activities.

Key words: *Gynura procumbens* (Lour.) Merr; chlorogenic acid; isochlorogenic acid; antioxidant activities

蔓三七, 又名平卧菊三七、蛇接骨、续命草、神仙草, 味辛、微苦、性凉, 为多年生草本药食两用植物。蔓三七茎叶营养丰富, 富含粗多糖和绿原酸和异绿原酸, 同时还含有维生素 A、维生素 C、氨基酸, 富含有机钙等成分。民间利用其通经活络, 消肿止痛, 消炎止咳, 治疗跌打损伤, 支气管肺炎、肺结核等^[1]。

绿原酸类是由咖啡酸 (caffeic) 与奎尼酸 (quinic

acid) 组成的缩酚酸, 含有羟基和邻二酚羧基的有机物, 是植物体在有氧呼吸过程中经莽草酸途径产生的一种苯丙素类化合物^[2]。绿原酸药用历史悠久, 具有抗菌^[3-5]、抗病毒^[6-8]、保肝利胆之功效^[9]。

异绿原酸 A、B 和 C 是二咖啡酰奎宁酸类化合物, 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。研究发现, 它们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

收稿日期: 2018-07-12 接受日期: 2018-09-27

基金项目: 江西省重大科技支撑项目 (20171ACF60009); 江西省科学院重点研发项目 (2016-YZDZ-03)

* 通信作者 wulei858196@163.com

纤维化、抑制平滑肌收缩等作用^[10]。

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。

本实验先采用大孔吸附树脂对蔓三七叶 50% 乙醇提取物进行吸附富集,吸附后采用不同浓度的乙醇溶液对树脂进行解吸,得到蔓三七绿原酸提物和异绿原酸提取物,再利用葡聚糖凝胶 Sephadex LH20 对异绿原酸提取物进行分离。采用 ESI-MS、¹³C NMR 和 ¹H NMR 对它们进行结构鉴定。最后对它们进行抗氧化活性研究。本方法实现了经济、快速、有效分离绿原酸和异绿原酸的目的,为蔓三七的进一步开发应用提供了参考数据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

蔓三七叶,江西华紫仁农业开发有限公司,烘干、粉碎后过 60 目筛备用。

306 型大孔吸附树脂(郑州勤实科技有限公司);1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)(上海梯希爱化成发展有限公司);葡聚糖凝胶 Sephadex LH20(200~300 目)(青岛海洋化工厂);HPLC 用甲醇、乙腈(色谱纯,美国 Tedia 公司);其他试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

SYKAM S501 Series 高效液相色谱仪(德国 SYKAM 公司,配有 S-3250 紫外检测器;S-4115 柱温箱;S-5300 自动进样器;S-1130 四元泵;SYKAM 色谱工作站);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)。

1.3 实验方法

1.3.1 提取工艺^[10]

取烘干、粉碎后过 60 目筛的蔓三七叶 100 g,加入 1:15(质量:体积)的 50% 乙醇,调 pH2.5,提取温度 50 ℃,在微波(功率 500 W)辅助提取 1 h,滤渣再加入 1:12(质量:体积)的 50% 乙醇,调 pH2.5,提取温度 50 ℃,在微波(功率 500 W)辅助提取 1 h,合并两次提取液,过滤,滤液减压浓缩至相对密度 1.05(25 ℃)。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,即得蔓三七提取液,备用。

1.3.2 纯化工艺

将上述提取液过预处理好的 306 型大孔吸附树脂,吸附完全后,先用蒸馏水对树脂进行洗涤,洗至无色后,依次用 30% 和 60% 乙醇溶液进行洗脱,减压浓缩冷冻干燥后,HPLC 跟踪监测,绿原酸主要集中在 30% 洗脱段;异绿原酸主要集中在 60% 洗脱段。

称取 30% 萃取段 10 g,采用胡居吾等^[16]人“双相萃取法”,得绿原酸(7.56 g,96.8%)。

称取 60% 萃取段 10 g,用少量 30% 甲醇水溶液溶解后,上葡聚糖凝胶 Sephadex LH20,依次采用 30%、50%、70% 和 100% 甲醇梯度洗脱,薄层色谱跟踪检测。再经高效制备液相色谱,得到异绿原酸 A(0.82 g,98.2%),异绿原酸 B(1.15 g,97.6%) 和异绿原酸 C(0.51 g,98.7%)。

1.3.3 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 ℃,检测波长 326 nm。

1.3.4 绿原酸和异绿原酸体外抗氧化实验

1.3.4.1 DPPH 自由基清除实验

测定样品对 DPPH 自由基的清除作用。将各样品用 DMSO 配制成 2 mg/mL 的母液,再分别用水依次稀释为 10.0、5.0、2.5、1.0、0.5 μg/mL 的实验浓度。

0.1 mmol/L DPPH 溶液用无水乙醇配制,锡箔纸包裹避光备用。分别准确吸取 200 μL 不同浓度的各样品溶液和 300 μL 新配制的 0.1 mmol/L DPPH 溶液到 EP 管中,混合均匀,锡箔纸包裹后于室温暗反应 30 min,以 V_c 溶液作为阳性对照,在 517 nm 处用酶标仪测定反应液的吸光度。各样品对 DPPH 清除率的计算公式为:

$$\text{DPPH 清除率}(\%) = [1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100$$

其中, A₁ 为样品溶液的吸光度, A₂ 为抗氧化剂本底吸光度, A₀ 为空白对照吸光度。

1.3.4.2 羟基自由基清除实验

采用水杨酸比色法测定各样品对羟基自由基的清除作用。将各样品用 DMSO 配制成 2 mg/mL 的母液,再分别用水依次稀释为 10.0、5.0、2.5、1.0、0.5 μg/mL 的实验浓度。在 EP 管中依次加入 100 μL FeSO₄ 溶液, 100 μL 不同浓度抗氧化剂溶液, 100

μL 水杨酸乙醇溶液,混合均匀,最后加入 $100 \mu\text{L}$ 6 mmol/L H_2O_2 溶液,反应开始,置 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴反应 30 min ,用酶标仪于 510 nm 处测得吸光度。各样品对羟基自由基清除率的计算公式为:

$$\text{羟基自由基清除率}(\%) = [1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100$$

其中, A_1 为样品溶液的吸光度, A_2 为抗氧化剂本底吸光度, A_0 为空白对照吸光度。

1.3.4.3 超氧自由基清除实验

采用邻苯三酚自氧化法测定各样品对超氧自由基的清除作用。将各样品用 DMSO 配制成 2 mg/mL 的母液,再分别用水依次稀释为 100.0 、 50.0 、 25.0 、 10.0 、 $5.0 \mu\text{g/mL}$ 的实验浓度。取 $450 \mu\text{L}$ 50 mmol/L Tris-HCl 缓冲液和 $100 \mu\text{L}$ 的不同浓度的各样品溶液到 EP 管中,混合均匀, $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴 20 min 后,加入 $40 \mu\text{L}$ $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 预热的邻苯三酚溶液,混匀,置于 $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴 4 min 后,立刻加入 $100 \mu\text{L}$ 8 mmol/L 的盐酸溶液。用酶标仪测定 320 nm 波长处的吸光度值,以 VC 溶液作为阳性对照。超氧自由基清除率计算公式如下:

$$\text{超氧自由基清除率}(\%) = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100$$

式中, A_0 为不加抗氧化剂的空白对照吸光度, A_1 为抗氧化剂吸光度。

1.3.5 数据处理

实验数据以 $x \pm s$ 表示,采用 Origin 8.0 软件作图,SPSS13.0 软件进行方差分析, $P < 0.05$ 表示组间有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 绿原酸和异绿原酸的结构确定

2.1.1 绿原酸

分析氢谱和碳谱数据得其中一种化合物为绿原酸,淡白色粉末 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz , CD_3OD) δ : $2.05 \sim 2.13$ (2H , m, H-6, H-2), 2.17 (1H , dd, H-2), $2.22 \sim 2.28$ (1H , m, H-6), 3.75 (1H , dd, $J = 3.0, 9.0 \text{ Hz}$, H-4), 4.20 (1H , dd, $J = 3.0, 7.2 \text{ Hz}$, H-5), $5.34 \sim 5.39$ (1H , m, H-3), 6.27 (1H , d, $J = 15.6 \text{ Hz}$, H-8'), 6.80 (1H , d, $J = 8.1 \text{ Hz}$, H-5'), 6.98 (1H , d, $J = 10.2 \text{ Hz}$, H-6'), 7.08 (1H , brs, H-2), 7.56 (1H , d, $J = 15.9 \text{ Hz}$, H-7'); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz , CD_3OD) δ : 126.3 (C-1), 117.2 (C-2), 150.3 (C-3), 144.8 (C-4), 117.8 (C-5), 122.5 (C-6), 145.2 (C-7), 113.8 (C-8), 166.8 (C-9), 72.6 (C-1'), 36.9 (C-2'), 68.3 (C-3'), 72.1 (C-4'), 70.3 (C-5'), 36.5 (C-6'), 176.1 (C-7')。该化合物波谱数据与文献^[11]报道

基本一致,故鉴定化合物为绿原酸。

2.1.2 异绿原酸 A

分析氢谱和碳谱数据得其中一种化合物为异绿原酸 A,白色粉末(甲醇),ESI-MS: m/z 515 [M-H] $^-$; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz , CD_3OD) δ : $2.10 \sim 2.44$ (4H , m, H-2, 6), 3.87 (1H , dd, $J = 3.5, 7.6 \text{ Hz}$, H-4), 5.38 (1H , ddd, $J = 4.6, 8.0, 10.8 \text{ Hz}$, H-5), 5.48 (1H , m, H-3), 6.18 (1H , d, $J = 16.0 \text{ Hz}$, H-8'), 6.43 (1H , d, $J = 16.1 \text{ Hz}$, H-8''), 6.78 (1H , d, $J = 8.3 \text{ Hz}$, H-5'), 6.88 (1H , d, $J = 8.3 \text{ Hz}$, H-5''), 6.86 (1H , dd, $J = 2.0, 8.2 \text{ Hz}$, H-6'), 6.96 (1H , dd, $J = 2.1, 8.0 \text{ Hz}$, H-6''), 7.08 (1H , d, $J = 2.0 \text{ Hz}$, H-2'), 7.17 (1H , d, $J = 2.0 \text{ Hz}$, H-2''), 7.66 (1H , d, $J = 16.1 \text{ Hz}$, H-7'), 7.62 (1H , d, $J = 16.0 \text{ Hz}$, H-7''); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz , CD_3OD) δ : 36.5 (C-2), 36.5 (C-6), 70.7 (C-4), 72.2 (C-3), 72.6 (C-5), 74.6 (C-1), 115.0 (C-8''), 115.4 (C-8'), 115.6 (C-2', 2''), 117.0 (C-5', 5''), 123.3 (C-6', 6''), 127.8 (C-1', 1''), 146.6 (C-3', 3''), 146.8 (C-7'), 147.5 (C-7''), 149.0 (C-4', 4''), 168.8 (C-9'), 169.7 (C-9''), 175.6 (COOH)。以上数据与文献^[12]报道基本一致,故鉴定化合物为 3,5-O-二咖啡酰奎宁酸(异绿原酸 A)。

2.1.3 异绿原酸 B

分析氢谱和碳谱数据得其中一种化合物为异绿原酸 B,白色粉末(甲醇),ESI-MS: m/z 515 [M-H] $^-$ 。 δ : $^1\text{H NMR}$ (400 MHz , CD_3OD) δ : $2.14 \sim 2.32$ (4H , m, H-2, 6), 4.49 (1H , m, H-5), 5.16 (1H , dd, $J = 3.2, 9.0 \text{ Hz}$, H-4), 5.59 (1H , m, H-3), 6.20 (1H , d, $J = 16.0 \text{ Hz}$, H-8'), 6.17 (1H , d, $J = 16.0 \text{ Hz}$, H-8''), 6.80 (1H , d, $J = 8.1 \text{ Hz}$, H-5'), 6.74 (1H , d, $J = 8.3 \text{ Hz}$, H-5''), 6.91 (1H , dd, $J = 2.1, 8.2 \text{ Hz}$, H-6'), 6.90 (1H , dd, $J = 2.2, 8.0 \text{ Hz}$, H-6''), 7.11 (1H , d, $J = 2.0 \text{ Hz}$, H-2'), 7.06 (1H , d, $J = 2.0 \text{ Hz}$, H-2''), 7.54 (1H , d, $J = 16.2 \text{ Hz}$, H-7'), 7.60 (1H , d, $J = 16.1 \text{ Hz}$, H-7''); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz , CD_3OD) δ : 38.6 (C-6), 39.5 (C-2), 68.6 (C-3), 69.5 (C-5), 75.6 (C-4), 76.0 (C-1), 114.3 (C-8'), 114.4 (C-8''), 115.6 (C-2', 2''), 116.4 (C-5', 5''), 123.3 (C-6', 6''), 127.5 (C-1', 1''), 146.5 (C-3', 3''), 147.3 (C-7'), 148.2 (C-7''), 149.0 (C-4', 4''), 168.1 (C-9'), 168.4 (C-9''), 176.2 (COOH)。以上数据与文献^[13]报道基本一致,故鉴

定化合物为 3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸(异绿原酸 B)。

2.1.4 异绿原酸 C

分析氢谱和碳谱数据得其中一种化合物为异绿原酸 C, 淡黄色粉末(甲醇), ESI-MS: m/z 515 [M-H]⁻; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 1.90 ~ 2.38 (2H, m, $J = 6.4$ Hz, H-2), 4.45 (1H, m, $J = 3.3$ Hz, H-3), 5.06 (1H, dd, $J = 3.1, 8.2$ Hz, H-4), 5.66 (1H, ddd, $J = 4.5, 8.0, 10.6$ Hz, H-5), 1.92 ~ 2.33 (H, m, $J = 4.6, 10.8$ Hz, H-6), 7.12 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-2'), 6.76 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.68 (1H, dd, $J = 2.2, 8.0$ Hz, H-6'), 7.55 (1H, d, $J = 15.5$ Hz, H-7'), 6.34 (1H, d, $J = 15.7$ Hz, H-8'), 7.09 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2''), 6.66 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5''), 6.99 (1H, dd, $J = 2.0, 8.0$ Hz, H-6''), 7.59 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-7''), 6.20 (1H, d, $J = 15.7$ Hz, H-8''); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 38.4 (C-2), 39.7 (C-6), 69.3 (C-3), 69.6 (C-5), 75.0 (C-4), 76.6 (C-1), 114.8 (C-8''), 115.0 (C-8'), 115.2 (C-2', 2''), 116.1 (C-5', 5''), 123.3 (C-6', 6''), 127.7 (C-1', 1''), 146.5 (C-3', 3''), 147.1 (C-7'), 147.6 (C-7''), 149.4 (C-4', 4''), 168.5 (C-9'), 168.5 (C-9''), 175.4 (COOH)。以上数据与文献^[14]报道基本一致,故鉴定化合物为 4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸(异绿原酸 C)。

2.2 体外抗氧化作用

2.2.1 对 DPPH 自由基清除活性

各样品对 DPPH 自由基清除活性结果如图 1 所示,在该实验浓度 0.5 ~ 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内,绿原酸和异绿原酸 A、B 和 C 对 DPPH 的清除作用随浓度的升高而逐渐增强,呈现明显的剂量-浓度效应。由图可知, V_C 在实验浓度为 600 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时对 DPPH 清除率达到 98.61%,而异绿原酸 A 在浓度仅为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时清除率就达到 92.16%,这说明异绿原酸 A 具有比 V_C 更强的 DPPH 清除作用。同时,异绿原酸 A 对 DPPH 的清除效果强于绿原酸。各样品对 DPPH 自由基清除效果顺序为异绿原酸 A > 绿原酸 > 异绿原酸 B > 异绿原酸 C。

2.2.2 对羟基自由基清除活性

各样品的羟基自由基清除活性结果如图 3 所示,在该实验浓度 0.5 ~ 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内,绿原酸和异绿原酸 A、B 和 C 对羟基自由基的清除率随浓度升高而逐渐增大,在 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,绿原酸和异绿原酸 A、B 和 C 清除率分别为 66.3%、61.6%、53.4%

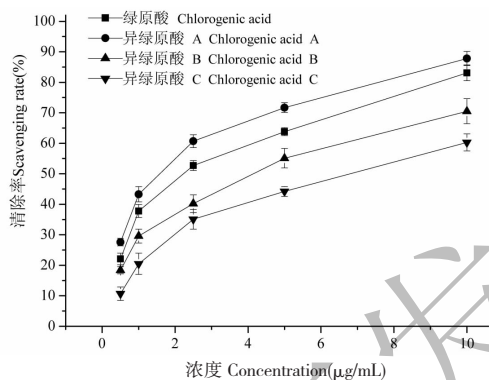


图 1 不同浓度样品对 DPPH· 的清除作用

Fig. 1 Scavenging effect of DPPH in different concentration samples

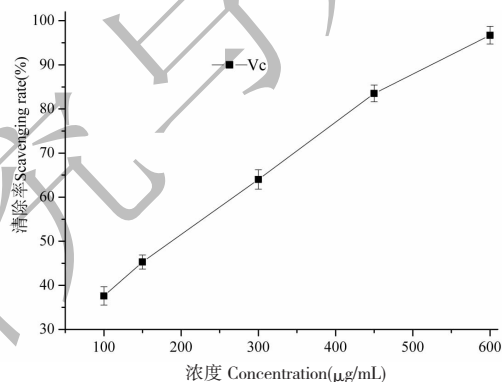


图 2 不同浓度 Vc 对 DPPH 的清除作用

Fig. 2 Scavenging effect of DPPH in different Vc concentration

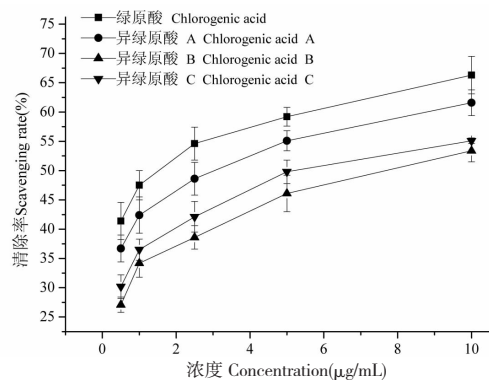


图 3 不同浓度样品对羟基自由基的清除作用

Fig. 3 Scavenging effect of $\cdot\text{OH}$ in different concentration samples

和 55.1%, 而由图 4 可知, V_C 浓度在 600 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时清除率为 44.6%。实验表明,绿原酸和异绿原酸 A、B 和 C 表现出高于 V_C 的良好的羟基自由基清除能力。绿原酸比异绿原酸 A、B 和 C 对羟基自由基具有更好的清除作用,这可能是因为绿原酸和异绿

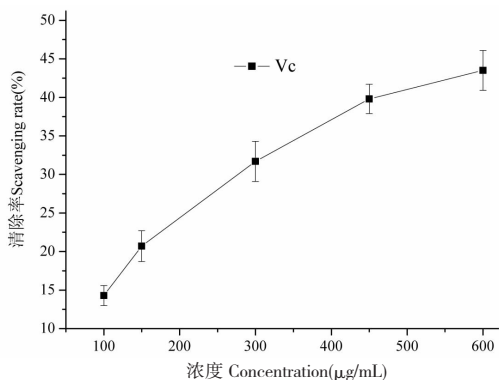


图4 不同浓度Vc对羟基自由基的清除作用

Fig. 4 Scavenging effect of OH· in different Vc concentration

原酸相比较,在于绿原酸在六元环上的4'位多一个羟基,酚羟基结构极易与自由基反应,提供质子和电子使其失去反应活性,故具有更显著的抗氧化特性^[15]。

2.2.3 对超氧自由基清除活性

各样品的超氧自由基清除活性结果如图5所示,浓度从5 µg/mL升高到100 µg/mL时,绿原酸对超氧自由基的清除率从23.1%上升到26.4%;异绿原酸A对超氧自由基的清除率从20.3%上升到24.8%;异绿原酸B对超氧自由基的清除率从22.4%上升到24.6%;异绿原酸C对超氧自由基的清除率从16.4%上升到21.0%;都未出现明显的剂量依赖性。V_c浓度从5 µg/mL升高到100 µg/mL时,其对超氧自由基的清除率从41.6%上升到66.3%。各样品与阳性对照组(V_c)相比较而言,其清除超氧自由基的作用明显较弱。

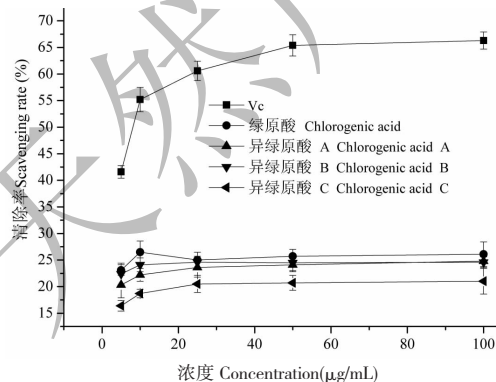


图5 不同浓度样品对超氧自由基的清除作用

Fig. 5 Scavenging effect of O₂^{·-} in different concentration samples

3 结论

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^[10]。

本实验从蔓三七叶中分离绿原酸和异绿原酸A、B和C,对其进行了结构鉴定,化合物的波谱数据与相关文献报道中的数据基本一致,各自对它们进行了鉴定。采用DPPH法、水杨酸比色法、邻苯三酚自氧化法来对其进行体外抗氧化活性研究。结果表明,分离制备的绿原酸和异绿原酸A、B、C质量分数分别为96.8%、98.2%、97.6%和98.7%。在0.5~10 g/mL范围内,绿原酸和异绿原酸A、B和C对DPPH和羟基自由基表现出了较好的清除作用,随浓度升高而逐渐增大;但它们对超氧自由基的清除作用时,浓度从5 µg/mL升高到100 µg/mL时,清除作用都未出现明显的剂量依赖性,各样品与阳性对照组(V_c)相比较而言,其清除超氧自由基的作用明显较弱。

参考文献

- Zhang XF, Tab BK. Effects of an ethanolic extract of gynura procumbens on serum glucose, cholesterol and triglyceride levels in normal and streptozotocin-induced diabetic rats[J]. Singap Med J, 2000, 41(1):9-13.
- Yang ML, Hao FX. Study on isolation and purification of chlorogenic acid in *Flos Lonicerae* [J]. Food Sci (食品科学), 2007, 28:255-259.
- Zhao JJ, Dai XM, Qu YS, et al. Progress in the pharmacodynamics of chlorogenic acid[J]. Chin Wild Plant Res (中国野生植物资源), 2013, 32(4):1-5.
- Lo HH, Chunn JG. The effects of plant phenolics, caffeic acid, chlorogenic acid and ferulic acid on arylamine N-acetyltransferase activities in human gastrointestinal microflora [J]. Anticancer Res, 1999, 19:133-139.
- Donasaki C, Shindo T, Furuhashi K, et al. Identification of chemical structure of antibacterial components against *Listeria monocytogenes* in a coffee beverage [J]. Ynaeugaku Znsshi, 2002, 122:487-494.
- Boon AC, Vos AP, Glans YM, et al. In vitro effect of bioactive compounds on influenza virus specific B- and T-cell responses [J]. Scand J Immunol, 2002, 55:24-32.
- Chiang LC, Ng LT, Chiang W, et al. Immunomodulatory activities of flavonoids, monoterpenoids, triterpenoids, iridoid glycoside and phenolic compounds of *Plantago* species [J]. Planta Med, 2003, 69:600-604.
- Hu KJ, Qu FJ, Wang ZL, et al. Experimental study on the induction of α -interferon of human leucocyte *in vitro* by chlo-

- rogenic acid[J]. J. Harbin Medical Univ(哈尔滨医科大学学报),2004,38:120-122.
- 9 Lou HX, Lang WJ, Li MJ. Water soluble constituents from Japanese Honeysuckle (*Lonicera Japonica*) [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药),1996,27:195-199.
- 10 Hu JW, Han XD, Li XH, et al. Antimicrobial and antioxidant effects of 3 chlorogenic acid extracts[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2017,29:1928-1933.
- 11 Yang XF, Wang Y, Ma YM. Extraction, separation and structural identification of chlorogenic acid from *eucommia ulmoides* leaves[J]. Food R&D(食品研究与开发),2013,4:32-34.
- 12 Zhu XF, Zhang HX, Lo R. Phenolic compounds from the leaf extract artichoke (*Cynara scolymus* L.) and their antimicrobial activities[J]. J Agric Food Chem,2004,52:7272-7278.
- 13 Xu XY, Chen HQ, Zheng YM, et al. Isolation and identification of caffeoylquinic acid compounds in the extractive of *fructus arctii*[J]. J Southwest Univ; Nat Sci(西南大学学报:自科版),2017,39:172-176.
- 14 Zhu XF, Zhang HX, Lo R. Three di-o-caffeoylquinic acid derivatives from the heads of *Cynara scolymus* L. [J]. Nat Prod Res,2009,23:527-532.
- 15 Carochi M. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives [J]. Food Chem Toxicol,2013,51:15-25.
- 16 Hu JW, Li XH, Xiong W, et al. Phase separation and extraction with n-hexane for the preparation of high purity chlorogenic acid[J]. Food Sci(食品科学),2010,34(14):37-41.
-
- (上接第 54 页)
- 8 Liang JQ, Lyu ZM, Tian SY, et al. Application of tetrahydrocyanin in the preparation of drugs for the treatment of senile dementia(四氢紫堇萨明在制备治疗老年性痴呆药物中的应用)[P]. ZL201210098959.4,2012-04-06.
- 9 Maccioni RB, Munoz JP, Barbeito L, et al. The molecular bases of Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders[J]. Arch Med Res,2001,32:367-381.
- 10 D Puzzo, W Gulisano, O Arancio. The keystone of Alzheimer pathogenesis might be sought in A β physiology[J]. Neuroscience,2015,307:26-36.
- 11 Yuan JY, Yankner BA. Apoptosis in the nervous system[J]. Nature,2009,40:802.
- 12 Barage SH, Sonawane KD. Amyloid cascade hypothesis; pathogenesis and therapeutic strategies in Alzheimer's disease [J]. Neuropeptides,2015,52:1-18.
- 13 Yu Y, He W. Effects of Imperatorin on the learning and memory impairment of A β 1-42-induced model of Alzheimer's disease in mice[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2017,29:1030-1034.
- 14 Orike N, Middleton G, Borthweick E, et al. Role of PI 3-kinase, Akt and Bcl-2-related proteins in sustaining the survival of neurotrophic factor-in-dependent adult sympathetic neurons[J]. J Cell Biol,2001,154:995-1005.
- 15 Chen Q, Ye HY, Chen YQ, et al. Ferulic acid protects against apoptosis of PC12 cells induced by kainic acid[J]. Chin J Pathophysiol(中国病理生理杂志),2013,29:1175-1180.
- 16 Spencer SL, Sorger PK. Measuring and modeling apoptosis in single cells[J]. Cell,2011,144:926-939.
- 17 Tait SW, Green DR. Mitochondrial regulation of cell death [J]. Csh Perspect Biol,2013,5(9):64-74.
- 18 Yin G. Effects of overexpressed AKT on induced apoptosis [D]. Wuhan, Huazhong University of Science and Technology(华中科技大学),2011.
- 19 Wang CH, Chen TT, Li GX, et al. Simvastatin prevents β -amyloid 25-35-impaired neurogenesis in hippocampal dentate gyrus through α 7nAChR-dependent cascading PI3K-Akt and increasing BDNF via reduction of farnesyl pyrophosphate [J]. Neuropharmacology,2015,97:122-132.