DOI:10.13652/j.issn.1003-5788.2019.03.032

朝鲜蓟中 2 种木犀草素类化合物液相制备条件优化

Optimization of two luteolin derivatives preparation from artichoke by HPLC

师明月[1] 曹清明[1] 李 群[1] 钟文惠[1]

SHI Ming-yue[1] *CAO Qing-ming*[1] *LI Qun*[1] *ZHONG Wen-hui*[1]

王元清[1] 刘志文[2] 张喜平[3]

WANG Yuan-qing[1] *LIU Zhi-wen*[2] *ZHANG Xi-ping*[3]

(1. 中南林业科技大学食品科学与工程学院,湖南 长沙 410004;2. 汇美农业科技有限公司,湖南 常德 415137;3. 常德市农林科学研究院,湖南 常德 415000)

(1. *Faculty of Food Science and Engineering, Central South University of Forestry and Technology, Changsha, Hunan* 410004, *China*; 2. *Huimei Agricultural Science and Technology Co., Ltd, Changde, Hunan* 415137, *China*; 3. *Changde Agriculture and Forestry Research Institute, Changde, Hunan* 415000, *China*)

摘要:研究了一种通过制备液相色谱从朝鲜蓟中分离得到 2 种木犀草素糖苷的方法。朝鲜蓟与 70%乙醇浸提液通过 AB-8 型大孔树脂吸附,分别用 20%,50%,80%乙醇洗脱,得到 50%乙醇洗脱部位 A27~29(4 g);A27~29 用 RP-C18 层析柱(270 mm×80 mm,40~60 μm)吸附,分别用 30%,48%,100%甲醇洗脱,得到 C16~19 目标组分0.32 g,其中含目标组分 H-01(10.4%)和 H-02(5.1%);以目标组分的分离度和峰形为优化条件,研究了 5 种不同流动相组合及 2 种流速对目标峰分离效果的影响,基于最优条件制备,得到了纯度分别为 97.8%和 96.5% 的 H-01 和 H-02;通过质谱、^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 表征,确定 H-01 和 H-02 分别为木犀草苷-7-芸香糖苷和木犀草素 7-*O*-*β*-*D*-葡萄糖苷。该方法优化了木犀草素类化合物的分离纯化生产工艺,并在保证高回收率的条件下有效降低了杂质水平。

关键词:朝鲜蓟;木犀草素类化合物;制备;优化

Abstract: This study describes a method for isolating two luteolin glycosides from artichokes(*Cynara scolymus* L.) by preparative liquid chromatography. The partion A27~29 (4 g) of 50% ethanol eluent was achieved by two steps, 70% ethanol extract of artichoke adsorbed by AB-8 macroporous resin and eluted with 20% ethanol, 50% ethanol and 80% ethanol successively. 0.32 g of target part C16~19 with target components H-01 (10.4%) and H-02 (5.1%) was achieved by two steps, A27~29 adsorbed by RP-C18 stationary phase column (270 mm×80 mm, 40~60 μm) and eluted with 30%, 48% and 100% methanol successively. Taking the resolution and shape of target peaks as optimization conditions, the effects of five different mobile phase combinations and two kinds of flow rates on the separation of target peaks were studied. Based on the optimal conditions, H-01 and H-02 with purity of 97.8% and 96.5%, respectively, were obtained. H-01 and H-02 were identified as luteolin-7-rutinoside and luteolin-7-*O*-*β*-*D*-glucoside, respectively, by mass spectrometry, ^{1}H-NMR and ^{13}C-NMR analysis. This method can effectively reduce the impurity level under the condition of high recovery, and provide a new method for the development of the separation and purification process of luteolin compounds.

Keywords: artichoke(*Cynara scolymus* L.); luteolin derivative; preparation; optimization

朝鲜蓟是一种高营养价值的保健蔬菜[1-2],被誉为“蔬菜之皇”[3-4],其提取物一直用于民间医药[5],在各种药理试验中表现出促进消化[6]、保肝[7]、利胆[8]、抗癌[9]以及抑制低密度脂蛋白氧化[10]的能力。临床试验表明,

基金项目:湖南省自然科学基金(编号:2016JJ5016);中南林业科技大学大学生研究性学习与创新性实验计划项目(编号:2018075)

作者简介:师明月,女,中南林业科技大学在读硕士研究生。

通信作者:曹清明(1968—),女,中南林业科技大学副教授,博士。E-mail:cqm2000cn@163.com

收稿日期:2019-01-03

朝鲜蓟具有降低血浆胆固醇[11-12]、降低肠易激综合征[13]、减肥[14]以及控制空腹血糖升高[15]等功效。

朝鲜蓟的次生代谢产物主要是多酚类化合物[16-18]和具有苦味的愈创木烷倍半萜内酯类化合物。多酚类化合物表现出抗氧化能力等活性,愈创木烷倍半萜内酯表现出抗炎及抑制肿瘤等多种功效[19-20]。

Pandino 等[21]报道了 6 个品种朝鲜蓟的 3 个部位(包括花托、外苞片和内苞片)的多酚含量,研究结果表明木犀草素糖苷类化合物含量为 24(Tema 2000 品种的外苞片)~620 mg/kg(Tondo di Paestum 品种的花托),其含量比咖啡酰奎宁酸类化合物含量[23(Tema 2000 品种的内苞片)~5 771 mg/kg(Violetto di Sicilia 品种的内苞片)]和芹菜素含量[870(Blanc Hyerois 品种的内苞片)~5 397 mg/kg(Tema 2000 品种的花托)]低。木犀草素(luteolin)类化合物含量虽低于其他 2 类酚类化合物,但由于其 B 环具有邻二酚羟基结构,表现出强抗氧化活性、抑制胆固醇合成、抑制糖尿病以及抗肿瘤活性等功效。Schlupper 等[22]研究木犀草素及其衍生物的活性发现,木犀草素、木犀草素 7-*O*-糖苷在极低浓度下表现出明显的抗氧化能力;Gebhardt[23]研究表明木犀草素类化合物的木犀草素配苷主要负责抑制肝脏胆固醇的生物合成,而绿原酸、咖啡酸、洋蓟素和其他二咖啡酰奎宁酸无显著影响;且木犀草素亦能有效阻断胰岛素对胆固醇生物合成的影响,从而验证了朝鲜蓟的降血脂作用。木犀草素对表皮生长因子受体—酪氨酸激酶(EGFR-TK)具有明显抑制作用。Rahimuddin 等[24]研究发现木犀草素及其糖苷对 UVA 导致的皮肤成纤维细胞脂质过氧化具有抑制作用。

目前,中国种植的朝鲜蓟品种主要有:改良绿球、绿宝石、帝王之星、A106、A109、洛尔卡和上海朝鲜蓟等[25]。洛尔卡(Lorca)是常德市于 2005 年从法国引进的一个加工型朝鲜蓟新品种,并通过常德市农业科学研究所、汇美农业科技有限公司选育,经过多年试验与示范,目前已成为湖南省的主要栽培品种[26]。课题组拟以洛尔卡朝鲜蓟作为研究对象,开发木犀草素类化合物的分离纯化新方法。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

朝鲜蓟(*Cynara scolymus* L.)花苞:洛尔卡(Lorca)品种,常德汇美农业科技有限公司提供。

大孔树脂:AB-8 型,安徽三星树脂科技有限公司;

木犀草苷-7-β-D-芸香糖苷标准品:HPLC 纯,纯度≥98.0%,美国 Sigma-Aldrich 公司;

木犀草素 7-*O*-β-D-葡萄糖苷标准品:HPLC 纯,纯度≥98.0%,美国 Sigma-Aldrich 公司;

氘代试剂 CH_3OD:氘代率≥99.8%,美国 Sigma-Aldrich 公司。

1.2　仪器与设备

RP-C18 层析柱:Sepax GP-C18 型,粒径 40~60 μm,苏州赛分科技有限公司;

Sepax GP-C18 柱:4.6 mm×150 mm,40~60 μm,自制;

Venusil MP C18 柱:4.6 mm×250 mm,5 μm,天津博纳艾杰尔科技有限公司;

Venusil MP C18 柱:10 mm×250 mm,5 μm,天津博纳艾杰尔科技有限公司;

Unitary C18 柱:4.6 mm×250 mm,5 μm,华谱新创科技有限公司;

高效液相色谱仪:LC3000 型(配备 Newstyle NU3000 Serials UV/VIS 检测器),北京创新恒通科技有限公司;

高效液相色谱:2695-2996 型,美国 Waters 公司;

质谱仪:UHPLC-QTOF/1290-6530 型,美国安捷伦科技有限公司;

核磁共振仪:Bruker AVANCE-500MHz 型,德国 Bruker 公司。

1.3　方法

1.3.1　朝鲜蓟粗提液的制备　将朝鲜蓟晒干,粉碎,得到 1.1 kg 朝鲜蓟粉末。在室温下,将 1.1 kg 朝鲜蓟粉末按料液比 1∶10(g/mL)的比例,用 70%乙醇浸提 72 h。过滤,得到 2 L 粗提液。

1.3.2　液相色谱条件　对朝鲜蓟粗提液进行液相条件摸索:进样量 20 μL,流动相为甲醇-0.1%甲酸水,流速 1 mL/min,检测波长 205 nm 时,峰的数量较多,为朝鲜蓟提取液分析的较好条件,如无另外说明,将采纳该条件。

1.3.3　AB-8 型大孔树脂对提取物进行粗分　采用大孔树脂吸附法(AB-8 型)对朝鲜蓟粗提液(1 L)进行分离纯化。具体步骤:将 1 L 柱体积的大孔树脂颗粒进行预处理后装柱,用水冲至无醇味,上样过程中,接收流出液进行液相色谱检测(分析上样量是否超载),洗脱梯度为 0~30 min,流动相 A 由 5%增至 100%。待样品完全吸附后,依次用水,20%,50%,80%乙醇进行洗脱,洗脱至无色或颜色较浅,将接收的流出液依次编号为:A1、A2、A3……,经高效液相色谱检测进行合并,洗脱梯度为 0~30 min,流动相 A 由 5%增至 100%。

1.3.4　RP-C18 对 A27~29 组分进行细分　用 Sepax GP-C18 填料(40~60 μm)自制液相柱优化洗脱程序,以确定 RP-C18 层析柱的洗脱程序。将 4 g 冷冻干燥样品(A27~29 组分)用 50%甲醇完全溶解,浓度为 40 mg/mL。根据分离度选择优化洗脱条件。将液相优

化程序用于柱层析洗脱程序。将接收的流出液依次编号为:C1、C2、C3……。

1.3.5　组分 C16～19 的液相半制备　由于半制备时液相色谱采用的色谱柱的灵敏度和分离度都较低,故在进行液相半制备之前,需对半制备条件进行摸索。试验以分离度和峰型为优化目的,设置了 5 种流动相组成(体积比),流动相 1、流动相 2、流动相 3、流动相 4 和流动相 5 分别为 60∶40 的甲醇－0.1%甲酸水、45∶55 的甲醇－0.1% 甲酸水、40∶60 的乙腈－0.1%甲酸水、30∶70 的乙腈－0.1%甲酸水、23∶77 的乙腈－0.1%甲酸水,比较分析以获得最佳流动相分析条件。待条件优化后,采用 Venusil MP C18(10 mm×250 mm,5 μm)半制备柱,流速增至 3 mL/min 进行放大制备。为避免样品浪费,缩短制备时间,还需确定进样量,试验设置了 30,50 μL 进样量进行研究。

1.3.6　质谱条件

(1) 质谱工作站软件:Agilent MassHunter B.06.00 版。色谱工作站软件:Agilent 1200 化学工作站。

(2) LC-MS 工作条件:Unitary C18(4.6 mm×250 mm,5 μm)色谱柱,洗脱剂乙腈—水(体积比 25∶75),进样量 2 μL,检测波长 254 nm;电喷雾离子源,正、负离子检测。

1.3.7　核磁共振检测条件　溶剂为 CH_3OD,NMR 的工作频率分别为 ^1H 谱 500 MHz,^{13}C 谱为 125 MHz。^1H-NMR 谱采样脉冲宽度 90°,累加 32 次;^{13}C-NMR 谱采样脉冲宽度 90°,累加 2 000 次。

2　结果与分析

2.1　AB-8 型大孔树脂对样品进行粗分

根据 HPLC 图的峰型和出峰时间进行合并,A27～29 组分出峰相对简单(如图 1 所示),3 个组分出峰相似,合并,浓缩,冷冻干燥,得到 4 g 目标组分 A27～29。

2.2　RP-C18 对 A27～29 组分进行细分

优化的洗脱条件见表 1,此条件下分离效果较好。将此条件用于 A27～29 组分的洗脱,即:依次用 30%,48%,100%甲醇进行洗脱。通过计算,30%甲醇用量为 6 L,48%甲醇用量为 4 L,100%甲醇用量为 2 L。根据液相检测结果合并为 C1、C2～4、C5～10、C11～15、C16～19……,分别减压浓缩,冷冻干燥,得到 C16～19 组分 0.32 g。图 2 中,组分 C16～19 出峰较为简单,能够分离出纯化合物,考虑对 C16～19 组分进行液相半制备。

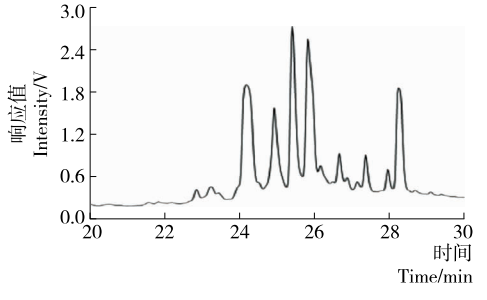

图 1　A29 组分的 HPLC 分析图

Figure 1　HPLC chromatogram of section A29

表 1　HPLC 洗脱程序

Figure 1　HPLC elution procedure

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%	流速/(mL·min^{-1})
初始	30.00	70.00	1.000
40.00	30.00	70.00	1.000
45.00	48.00	52.00	1.000
70.00	48.00	52.00	1.000
71.00	100.00	0.00	1.000
80.00	100.00	0.00	1.000

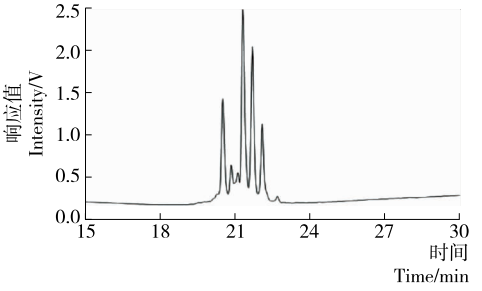

图 2　C16～19 组分的 HPLC 分析图

Figure 2　HPLC chromatogram of partion C16～19

2.3　组分 C16～19 的液相半制备

2.3.1　液相条件的优化

(1) 流动相的优化:对 5 个不同流动相进行比较,得到乙腈∶0.1%甲酸水(体积比)=23∶77(流动相 5)为最优流动相。

由图 3(a)可知,在流动相 1 条件下,甲醇浓度为 60%,由于甲醇浓度过高,造成各峰一起被洗脱,且未达到基线分离,故需要降低甲醇浓度。图 3(b)中,在流动相 2 条件下,降低甲醇浓度,分离效果仍不太理想,故改用乙腈作为流动相,40%乙腈浓度(流动相 3)色谱图如 3(c),峰一下被洗脱,需降低乙腈浓度,故改用流动相 4(30%乙腈),出峰如图 3(d),各峰集中,较快被洗脱,说明 30%乙腈浓度过高,将乙腈浓度降低到 23%(流动相 5),如图 3(e)所示,各峰的分离效果比较好。故优化的液相分析条件:流动相 A 为乙腈(23%),B 为 0.1%甲酸水(77%);优化的洗脱条件见表 2。

(2) 分离度比较:为判断物质在色谱柱中的分离情况,常用分离度作为柱的总分离效能指标,分离度越大则表明物质在色谱柱中的分离效果越好。对上述的 5 种不同的流动相分析条件所得的图谱进行分离度比较(以色

谱图中第一、第二 2 个峰之间的分离度计算),结果如表 3 所示。

从图 2(e)、表 3 可知,在乙腈:0.1%甲酸水为 23 ∶ 77(体积比)的条件下,分离度较大,分离效果最好,且峰

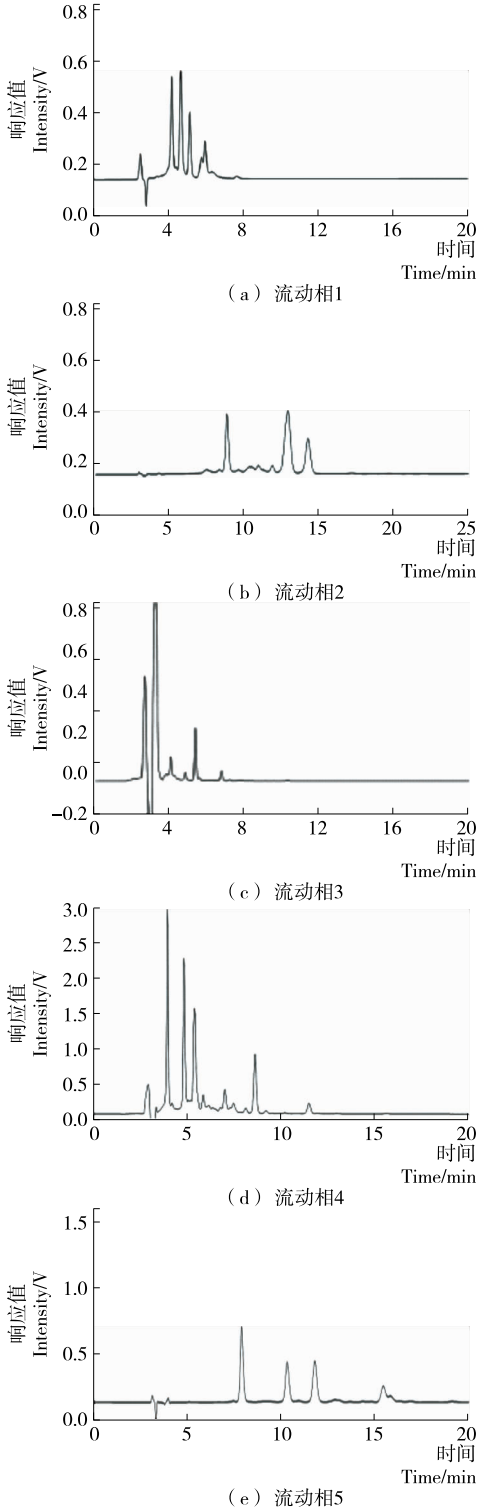

图 3　C16～19 组分在 5 种不同流动相下的 HPLC 分析图

Figure 3　HPLC chromatogram of partion C16～19

表 2　优化的 C16～19 组分 HPLC 洗脱程序

Table 2　Optimized elution procedure for partion C16～19

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
初始	23.00	77.00
40.00	23.00	77.00
45.00	100.00	0.00
55.00	100.00	0.00

表 3　5 种分离条件下的分离度

Table 3　Resolutions under five separation conditions

流动相条件(体积比)	分离度
甲醇:0.1%甲酸水=60∶40	2.15
甲醇:0.1%甲酸水=45∶55	4.13
乙腈:0.1%甲酸水=40∶60	未分开
乙腈:0.1%甲酸水=30∶70	2.34
乙腈:0.1%甲酸水=23∶77	4.36

形尖锐,保留时间合适,对环境有害的有机相使用比例更少。

(3) 制备条件的确定:利用上述优化的条件,除将柱子改为半制备柱[Venusil MP C18(10 mm×250 mm,5 μm),流速改为 3 mL/min]外,其他条件不变,即洗脱程序为表 2 所示。将 C16～19 组分用 23%乙腈溶解,分别对进样量 30,50 μL 进行优化,所得制备图(50 μL 进样量色谱见图 4)差异较小,为节省溶剂,缩短试验时间及损耗,本试验选择进样量为 50 μL。

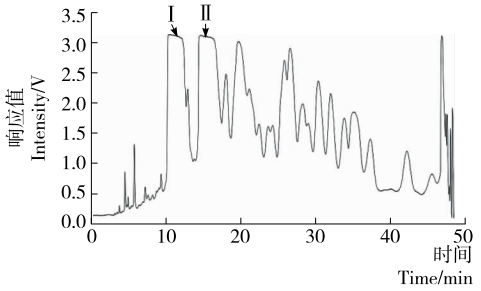

图 4　C16～19 组分的 HPLC 半制备图(50 μL)

Figure 4　Semi-preparative HPLC chromatogram(50 μL) of partion C16～19

综上所述,半制备条件为:流速 3 mL/min,进样量 50 μL,流动相 A 为乙腈,流动相 B 为 0.1%甲酸水,洗脱程序如表 2 所示(40 min 后的梯度为冲洗色谱柱)。

2.3.2　液相半制备　将 0.32 g C16～19 组分用 23%乙腈溶解,浓度为 200 mg/mL,按优化的条件制备。如图 4 所示,峰 I、II 分离效果较好,分别收集峰 I、II。将收集液减压浓缩,冷冻干燥后,称重,液相色谱测定纯度,并得到纯度较高的 2 个化合物,记为 H-01、H-02,其质量分别为

30,15 mg,提取得率分别为 54.5,27.3 mg/kg,纯度分别为 97.8%,96.5%。2 个样品纯度均符合核磁检测条件。

2.4 化合物的结构解析

2.4.1 H-01 ESI-MS 给出:正离子模式下,质谱数据 m/z 595.165 7[M+H]$^+$;负离子模式下,质谱数据 m/z 593.149 2[M-H]$^-$,推测其分子式为 $C_{27}H_{30}O_{15}$。1H-NMR:6.52(1H,s,H-3),6.46(1H,d,J = 2 Hz,H-6),6.63(1H,d,J = 2 Hz,H-8),7.33(2H,m,H-2′,6′),6.88(1H,s,H-5′),5.00(1H,m,H-1″),3.64(1H,m,H-6″a),4.05(1H,d,J = 9.7 Hz,H-6″b),4.73(1H,s,H-1‴),3.93(1H,s,H-2‴),3.76(1H,d,J = 9.4 Hz,H-3‴),1.20(3H,d,J = 5.8 Hz,H-6‴)。13C-NMR:166.73(C-2),104.14(C-3),183.85(C-4),162.76(C-5),101.07(C-6),164.57(C-7),96.16(C-8),158.67(C-9),107.00(C-10),123.37(C-1′),116.85(C-2′),146.84(C-3′),151.06(C-4′),114.29(C-5′),120.62(C-6′),102.05(C-1″),74.71(C-2″),77.73(C-3″),71.31(C-4″),77.09(C-5″),67.47(C-6″),101.54(C-1‴),72.37(C-2‴),72.03(C-3‴),74.03(C-4‴),69.77(C-5‴),17.91(C-6‴)。

综合所有核磁谱图及质谱结果,H-01 鉴定为 Luteolin 7-*O*-α-*L*-Rhamnosyl(1-6)-β-*D*-Glucoside(木犀草素 7-*O*-α-*L*-鼠李糖(1-6)-β-*D*-葡萄糖苷),将其 1H-NMR、13C-NMR 以及质谱数据与文献[27]报道的化合物 3 对照,基本一致。

2.4.2 H-02 质谱数据 m/z 449.109 4[M+H]$^+$、碎片离子 287.057 5+,推测其分子式为 $C_{21}H_{20}O_{11}$,含有一个黄酮骨架和一个葡萄糖糖苷。1H-NMR:6.56(1H,s,H-3),6.45(1H,s,H-6),6.74(1H,s,H-8),7.37(1H,s,H-2′),6.89(1H,d,J = 8.0 Hz,H-5′),7.38(1H,d,J = 8.0 Hz,H-6′),5.07(1H,d,J = 7.0 Hz,H-1″),3.50~3.60(2H,m,H-2″,H-3″),3.40(1H,m,H-5″),3.96(1H,d,J = 12.2 Hz,H-6″a),3.72-3.75(1H,dd,J = 12.2,5.6 Hz,H-6″b)。13C-NMR:166.82(C-2),107.08(C-3),183.99(C-4),164.74(C-5),101.16(C-6),,162.82(C-7),96.07(C-8),158.93(C-9),104.18(C-10),123.48(C-1′),114.31(C-2′),147.03(C-3′),151.16(C-4′),116.80(C-5′),120.53(C-6′),101.64(C-1″),74.75(C-2″),77.86(C-3″),71.29(C-4″),78.39(C-5″),62.49(C-6″)。

综合所有核磁谱图及质谱结果,H-02 鉴定为 Luteolin 7-*O*-β-*D*-Glucoside(木犀草素 7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷),将其^{1}H-NMR、^{13}C-NMR 及质谱数据与文献[28]报道的化合物 1 对照,基本一致。

2.5 C16~19 组分中木犀草素含量的确定

采用表 2 优化的液相条件,将木犀草苷-7-芸香糖苷和木犀草素 7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷标准样品分别用乙腈溶解,进行液相分析。采用外标法,对 C16~19 组分中的木犀草苷-7-芸香糖苷和木犀草素 7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷进行定量,结果表明,2 个化合物在 C16~19 流分中的含量分别为 10.4%,5.1%,C16~19 流分中 H-01 和 H-02 制备的得率分别为 90.1%,91.9%,说明该液相制备方法的优化合理,可应用于类似组分的分离制备。

3 结论

本研究以洛尔卡(Lorca)为研究对象,开发了木犀草素类化合物的分离纯化新方法,得到纯度分别为 97.8%和 96.5%的木犀草苷-7-芸香糖苷和木犀草素 7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷,其总提取得率分别为 54.5,27.3 mg/kg,与 Pandino 等[21]研究的朝鲜蓟相比,本试验中所采集的样品木犀草素类化合物含量中等,若能选择木犀草素类化合物含量高的样品,可制备更多的纯品。木犀草素糖苷由于 B 环具有 3',4'邻二酚羟基结构,其具有较强的抗氧化功能,分离和纯化木犀草素糖苷具有非常重要的意义。

参考文献

[1] 王天轶,王云志. 洋蓟叶提取物的生物活性研究[J]. 中草药,2006,37(8):1 281-1 283.

[2] SALEM M B,AFFES H,KSOUDA K,et al. Pharmacological Studies of Artichoke Leaf Extract and Their Health Benefits[J]. Plant Foods for Human Nutrition,2015,70(4):441-453.

[3] 徐琳琳,曹建新. 朝鲜蓟的化学成分及药理活性研究进展[J]. 天然产物研究与开发,2012,24(8):1 135-1 140.

[4] 师明月,曹清明,钟文惠,等. 朝鲜蓟多酚类化合物研究进展[J]. 食品与机械,2018,34(12):160-165.

[5] LATTANZIO V,KROON P A,LINSALATA V,et al. Globe artichoke:a functional food and source of nutraceutical ingredients[J]. Journal of Functional Food,2009,1(2):131-144.

[6] KRAFT K. Artichoke leaf extract-recent findings reflecting effects on lipid metabolism,liver and gastrointestinal tracts[J]. Phytomedicine,1997,4(4):369-378.

[7] SPERONI E,CERVELLATI R,GOVONI P,et al. Efficacy of different *Cynara scolymus* preparations on liver complaints[J]. Journal of ethnopharmacology,2003,86(2):203-211.

[8] GEBHARDT R. Prevention of taurolithocholate-induced hepatic bile canalicular distortions by HPLC-characterized extracts of artichoke (Cynara scolymus) leaves[J]. Planta Medica,2002,68(9):776-779.

[9] MICCADEI S,DI VENERE D,CARDINALI A,et al. An-

tioxidative and Apoptotic Properties of Polyphenolic Extracts from Edible Part of Artichoke (Cynara scolymus L.) on Cultured Rat Hepatocytes and on Human Hepatoma Cells[J]. Nutrition and Cancer, 2008, 60(2): 276-283.

[10] JIMENEZ-ESCRIG A, DRAGSTED L O, DANESHVAR B, et al. In vitro antioxidant activities of edible artichoke (*Cynara scolymus* L.) and effect on biomarkers of antioxidants in rats[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(18): 5 540-5 545.

[11] BUNDY R, WALKER A F, MIDDLETON R W, et al. Artichoke leaf extract (*Cynara scolymus*) reduces plasma cholesterol in otherwise healthy hypercholesterolemic adults: A randomized, double blind placebo controlled trial[J]. Phytomedicine, 2008, 15(9): 668-675.

[12] ENGLISCH W, BECKERS C, UNKAUF M, et al. Efficacy of Artichoke dry extract in patients with hyperlipoproteinemia[J]. Arzneimittel-Forschung, 2000, 50(3): 260-265.

[13] WALKER A F, MIDDLETON R W, PETROWICZ O. Artichoke leaf extract reduces symptoms of irritable bowel syndrome in a post-marketing surveillance study[J]. Phytotherapy Research, 2001, 15(1): 58-61.

[14] MISAEL P C E, DE GUADALUPE T, DEL CSGM P, et al. Effect of *Cynara scolymus* (artichoke) in homeopathic doses on body mass index in obese and overweight patients[J]. Biomed Pharmacol J, 2014, 7(2): 525-533.

[15] RONDANELLI M, OPIZZI A, FALIVA M, et al. Metabolic management in overweight subjects with naive impaired fasting glycaemia by means of a highly standardized extract from *Cynara scolymus*: A Double-blind, Placebo-controlled, Randomized Clinical Trial[J]. Phytotherapy Research, 2014, 28(1): 33-41.

[16] LOMBARDO S, PANDINO G, MAUROMICALE G, et al. Influence of genotype, harvest time and plant part on polyphenolic composition of globe artichoke [Cynara cardunculus L. var. scolymus (L.) Fiori][J]. Food Chemistry, 2010, 119(3): 1 175-1 181.

[17] ADZET T, CAMARASA J, LAGUNA J C. Hepatoprotective activity of polyphenolic compounds from *Cynara scolymus* against CCl4 toxicity in isolated rat hepatocytes[J]. Journal of Natural products, 1987, 50(4): 612-617.

[18] ROUPHAEL Y, BERNARDI J, CARDARELLI M, et al. Phenolic compounds and sesquiterpene lactones profile in leaves of nineteen artichoke cultivars[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(45): 8 540-8 548.

[19] CHO J Y, PARK J, YOO E S, et al. Inhibitory effect of sesquiterpene lactones from Saussurea lappa on tumor necrosis factor-α production in murine macrophage-like cells[J]. Planta medica, 1998, 64(7): 594-597.

[20] SHAKERI A, AMINI E, ASILI J, et al. Screening of several biological activities induced by different sesquiterpene lactones isolated from Centaurea behen L. andRhaponticum repens (L.) Hidalgo[J]. Natural Product Research, 2018, 32(12): 1 436-1 440.

[21] PANDINO G, LOMBARDO S, MAUROMICALE G, et al. Profile of polyphenols and phenolic acids in bracts and receptacles of globe artichoke (Cynara cardunculus var. scolymus) germplasm[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2011, 24(2): 148-153.

[22] SCHLUPPER D, GIESA S, GEBHARDT R. Influence of biotransformation of luteolin, luteolin 7-*O*-glucoside, 3′, 4′-dihydroxyflavone, and apigenin by cultured rat hepatocytes on antioxidative capacity and inhibition of EGF receptor tyrosine kinase activity[J]. Planta Medica, 2006, 72(7): 596-603.

[23] GEBHARDT R. Inhibition of cholesterol biosynthesis in primary cultured rat hepatocytes by artichoke (*Cynara scolymus* L.) extracts[J]. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 1998, 286(3): 1 122-1 128.

[24] RAHIMUDDIN S A, KHOJA S M, ZUHAIR M M, et al. Inhibition of lipid peroxidation in UVA-treated skin fibroblasts by luteolin and its glucosides[J]. European Journal of Lipid Science and Technology, 2007, 109(7): 647-655.

[25] 王中美, 张平喜, 李树举, 等. 朝鲜蓟种类及繁殖技术[J]. 湖南农业科学, 2015(5): 22-24.

[26] 张平喜, 王中美, 夏继国, 等. 朝鲜蓟'洛尔卡(LORCA)'植物学特性及栽培技术[J]. 中国园艺文摘, 2014, 30(5): 175-177.

[27] PETROVIC S D, GORUNOVIC M S, WRAY V, et al. A taraxasterol derivative and phenolic compounds from Hieracium gymnocephalum[J]. Phytochemistry, 1999, 50(2): 293-296.

[28] SHABANA M, GONAID M, SALAMA M M, et al. Phenylalkylamine alkaloids from Stapelia hirsuta L[J]. Nat Prod Res, 2006, 20(8): 710-714.

(上接第175页)

[10] 石绍淮, 张晨宁, 刘爱敬, 等. 益智仁化学成分的分离与鉴定[J]. 中国实验方剂学志, 2013, 19(17): 97-100.

[11] 李文兵. 基于中医"标本兼治"研究益智仁盐炙"温肾缩尿"作用机理[D]. 成都: 成都中医药大学, 2013: 31-33.

[12] 刘楠, 于新宇, 赵红, 等. 益智仁化学成分研究[J]. 中草药, 2009, 40(1): 29-32.

[13] 张俊清, 王勇, 陈峰, 等. 益智的化学成分与药理作用研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2013, 25(2): 280-287.