

徐玉平, 蒋向辉, 王翔. 一测多评法测定金银花中咖啡酰奎尼酸类化学成分的含量[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(1): 118-121.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.01.032

# 一测多评法测定金银花中咖啡酰奎尼酸类化学成分的含量

徐玉平, 蒋向辉, 王翔

(凯里学院化学与材料工程学院, 贵州凯里 556011)

**摘要:**建立金银花中 4 种绿原酸类成分的一测多评法(quantitative analysis of multi-components by single-marker, 简称 QAMS), 验证该方法在金银花质量评价中应用的准确性及可行性。以绿原酸为内标, 分别建立绿原酸、果酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C 的相对校正因子, 计算金银花中果酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C 的含量, 实现一测多评。对金银花样品同时采用外标法与一测多评法测定金银花中 6 种咖啡酰奎尼酸类成分的含量, 并比较计算值与实测值的差异, 以验证一测多评法在测定中的科学性与可行性。结果表明, 各相对校正因子重复性良好, 一测多评法测定结果与外标法测定结果进行  $t$  检验所得的  $P$  值均大于 0.05, 表明 2 种测定方法得到的含量之间无显著差异。以绿原酸为内标同时测定果酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B 与异绿原酸 C 的一测多评法可用于金银花的定量分析。

**关键词:**一测多评法; 金银花; 咖啡酰奎尼酸; 绿原酸; 内标法; 外标法

**中图分类号:** S567.7+90.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)01-0118-04

金银花别称忍冬(*Lonicera japonica*), 是忍冬科忍冬属药

收稿日期: 2017-04-26

基金项目: 贵州省科技合作计划(编号: 黔科合 LH 字[2015]7748 号); 贵州省科技计划联合基金(编号: 黔科合 LH 字[2014]7219); 贵州省科学技术基金(编号: 黔科合 J 字[2015]2131); 贵州省教育厅重点项目(编号: 黔教合 KY 字[2014]281、黔教合 KY 字[2014]228)。

作者简介: 徐玉平(1985—), 女, 贵州铜仁人, 硕士, 讲师, 从事中药及民族药药效物质基础及作用机制研究。E-mail: 306597035@qq.com。

通信作者: 蒋向辉, 博士, 副教授, 主要从事植物化学与分子生物学研究。Tel: (0855)8558093; E-mail: jxfei789@163.com。

RT-PCR 方法对华东地区 318 份临床腹泻发病猪病料进行检测, 发现其中 109 份为 PEDV 变异株阳性, 阳性率达 34.3%, 可见今年我国猪群腹泻发病的病因中, PEDV 变异株的感染仍是值得关注的问题。

## 参考文献:

- [1] 斯特劳, 阿莱尔, 蒙加林, 等. 猪病学[M]. 8 版. 北京: 中国农业大学出版社, 2000: 181-187.
- [2] 殷震, 刘景华. 动物病毒学[M]. 北京: 科学出版社, 1985: 688-690.
- [3] 施雯. 猪流行性腹泻病毒 SZ 株的分离与鉴定[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2011: 78-80.
- [4] 万遂如. 2011 年猪群中发生传染性腹泻疾病的流行状况与防控对策[J]. 养猪, 2011(5): 78-80.
- [5] 库旭钢, 刘云波, 凌泽熹, 等. 猪病毒性腹泻的流行病学调查及分析[J]. 养猪, 2012(5): 101-102.

用植物<sup>[1]</sup>。金银花作为一种常用中药, 已有上千年的使用历史。长期以来, 绿原酸与木犀草苷的含量被作为评价金银花质量的标志性成分, 而近年来的研究发现, 金银花中富含有机酸、黄酮、挥发油等多种生物活性成分<sup>[2]</sup>, 因此, 找到更多的能全面反映金银花质量的活性成分很有必要。金银花的花蕾与叶片中富含咖啡酰奎尼酸, 咖啡酰奎尼酸是奎尼酸与咖啡酸形成的酯, 由于咖啡酸的数目与位置不同, 咖啡酰奎尼酸包括绿原酸、果酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C 等 6 种不同单体<sup>[3]</sup>。咖啡酰奎尼酸有清热、解毒等功效<sup>[4-5]</sup>, 被广泛应用于医疗保健、食品和化妆品行业中<sup>[6-7]</sup>。

近年来, 已有采用外标法同时测定金银花中绿原酸、果酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C 等成分含

- [6] 秦毅斌, 卢冰霞, 赵武, 等. 猪流行性腹泻病毒变异毒株与经典毒株鉴别检测方法的建立及应用[J]. 中国兽医科学, 2014, 44(5): 509-514.
- [7] 李敬双, 于洋. 猪传染性胃肠炎病毒和猪流行性腹泻病毒二联 RT-PCR 检测方法的建立[J]. 中国农学通报, 2010, 26(23): 26-29.
- [8] 曾珑. 猪流行性腹泻及猪传染性胃肠炎双重 RT-PCR 检测方法的建立及 11 株 PEDV S1 全基因序列分析[D]. 南昌: 江西农业大学, 2013.
- [9] 吴学敏, 陈如敬, 王隆柏, 等. 猪流行性腹泻病毒 RT-PCR 检测方法建立及初步应用研究[J]. 中国农学通报, 2012, 28(26): 59-62.
- [10] 刘云波, 赵洪翠, 王志成, 等. 猪病毒性腹泻分子流行病学调查[J]. 中国畜牧兽医, 2013, 40(2): 204-207.
- [11] Kim O, Choi C, Kim B, et al. Detection and differentiation of porcine epidemic diarrhoea virus and transmissible gastroenteritis virus in clinical samples by multiplex RT-PCR[J]. The Veterinary Record, 2000, 146(22): 637-640.

量的相关报道<sup>[3,8]</sup>,由于异绿原酸 A、B、C 对照品的价格昂贵且不容易获得,导致外标法难以在实际工作中广泛应用,限制了金银花多指标成分质量控制模式的实现。随着通过测定一种成分来实现对多个成分含量检测的一测多评法(quantitative analysis of multi-components by single-marker,简称 QAMS)在药材或复方制剂含量测定中的应用<sup>[9-11]</sup>,一测多评法的优势突显。本课题组已经发现并证实绿原酸与异绿原酸 A、B、C 间存在相互转化,为更合理地评价金银花药材的品质,以绿原酸为对照品,采用一测多评法,同时测定金银花中果酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B 与异绿原酸 C 等成分的含量,为金银花药材的质量控制提供参考和依据。

1 材料与方法

1.1 试验仪器

主要仪器有 Waters2695 高效液相色谱仪、极管阵列检测器(photo-diode array,简称 PDA)、EmpowerTM 色谱工作站软件,均购自美国 Waters 公司;Hypersil ODS-2 色谱柱(5 μm, 4.6 mm×250.0 mm)(美国 Thermo 公司)、Hypersil ODS-2 色谱柱(5 μm, 4.6 mm×250.0 mm)(大连依利特分析仪器有限公司)、Fisher ODS-2 色谱柱(5 μm, 4.6 mm×250.0 mm)(北京赛维特姆科技有限公司)与 Spherisorb ODS-2 色谱柱(5 μm, 4.6 mm×250.0 mm)(美国 Waters 公司)等 4 种色谱柱;KQ-500DE 型数控超声波清洗器(东莞市科桥超声波设备有限公司);Milli-Q 超纯水机(德国 Merck 公司)。

1.2 试验试剂

主要试剂有甲醇、冰醋酸,均为色谱纯,其他试剂为优级纯;绿原酸、果酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B 与异绿原酸 C 标准品均购自湖南省食品药品检验研究院。定量测定的金银花样品分别采自山东省临沂市平邑县、湖南省邵阳市隆回县与河南省新乡市封丘县,经怀化学院刘光华教授鉴定为忍冬属植物金银花初期开的花。

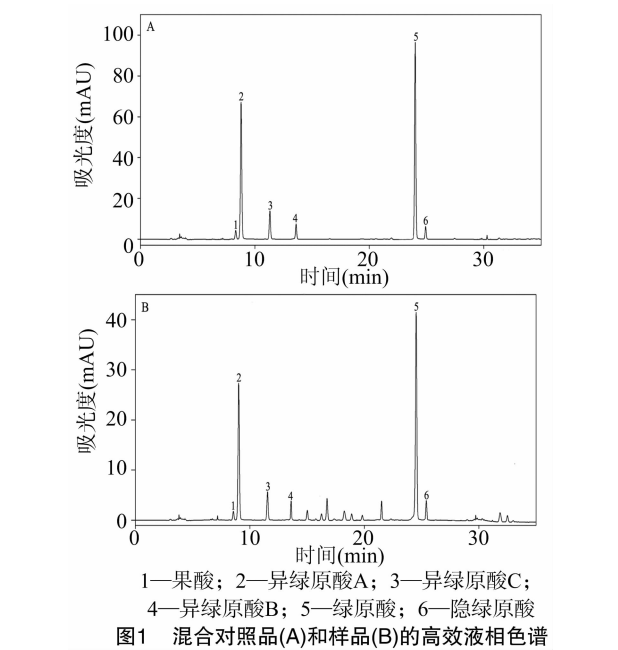
2 结果与分析

2.1 一测多评方法的考察

2.1.1 色谱条件 采用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography,简称 HPLC)<sup>[12]</sup>测定混合对照品溶液及供试品溶液样品中各成分的含量(图 1),色谱检测条件:反相 C<sub>18</sub>柱(5 μm, 250.0 mm×4.6 mm),流动相为甲醇-0.5%冰醋酸(体积比为 30:70),流速为 1.0 mL/min,进样量为 20 μL,柱温为 30℃。

2.1.2 混合对照品溶液的制备 分别称取 10 mg 绿原酸、果酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C 对照品,用甲醇溶解,制成质量浓度分别为 195.20、205.40、194.30、192.30、207.60、188.30 μg/mL 的混合对照品溶液,避光保存,放于 4℃冰箱中备用。

2.1.3 供试品溶液的制备 取金银花药材,在 60℃条件下烘干至恒质量,粉碎以后过 20 目筛。精确称取 5 g 金银花粉末,放入 250 mL 具塞锥形瓶中,按料液比 1 g:15 mL 加入 70%的乙醇溶液浸泡 1 h,在 55℃超声(60 kHz)提取 1 h,加 70%的乙醇补足减失的质量,摇匀,抽滤。再减压抽滤 3 次,旋转蒸发回收乙醇至干,残渣加适量 95%甲醇溶解,转移至



10 mL 量瓶中,继续加 95% 甲醇至刻度,搅拌均匀,用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤,取续滤液作为供试品溶液。

2.1.4 标准曲线的制备 精确吸取 0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 mL 混合对照品溶液至 10 mL 量瓶中,分别加 95% 甲醇至刻度,摇匀,用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤后,分别取 20 μL 滤液注入液相色谱仪,按“2.1.1”节色谱条件测定各成分含量。以浓度(C)的对数值对峰面积(A)的对数值进行线性回归处理,得到绿原酸、果酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C 的回归方程。结果表明,6 种咖啡酰奎尼酸成分在相应范围内线性关系良好(表 1)。

表 1 6 种咖啡酰奎尼酸类成分的线性关系和范围

指标成分	回归方程	线性范围 (μg/mL)	r
绿原酸	lgA = 1.113 4lgC + 3.160 8	13.21 ~ 216.35	0.999 2
果酸	lgA = 1.092 9lgC + 2.993 5	14.45 ~ 225.62	0.999 3
隐绿原酸	lgA = 1.056 5lgC + 2.986 6	10.00 ~ 190.47	0.999 0
异绿原酸 A	lgA = 1.153 8lgC + 3.067 5	9.38 ~ 202.44	0.999 4
异绿原酸 B	lgA = 1.172 6lgC + 2.964 7	8.95 ~ 189.73	0.999 2
异绿原酸 C	lgA = 1.107 2lgC + 3.034 2	14.29 ~ 214.66	0.999 5

2.1.5 相对校正因子(f<sub>si</sub>)的计算 参照郭盛等的方法<sup>[13]</sup>,以绿原酸为内参物,计算 f<sub>si</sub> = f<sub>i</sub>/f<sub>i</sub> = (lgA<sub>s</sub> × lgC<sub>i</sub>)/(lgC<sub>s</sub> × lgA<sub>i</sub>)。A<sub>s</sub> 为内参物绿原酸峰面积(mAu);C<sub>s</sub> 为绿原酸质量浓度(%);A<sub>i</sub> 为某待测成分 i 的峰面积(mAu);C<sub>i</sub> 为待测成分 i 的质量浓度(%);f<sub>s</sub> 为 lgA<sub>s</sub> 与 lgC<sub>i</sub> 的乘积;f<sub>i</sub> 为 lgA<sub>i</sub> 与 lgC<sub>i</sub> 的乘积。结合“2.1.4”节系列质量浓度对照品溶液所得峰面积数据,分别计算绿原酸对果酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C 的 f<sub>si</sub>,结果如表 2 所示。

2.1.6 精密度试验 精确吸取混合对照品溶液 20 μL,按“2.1.1”节色谱条件连续进样 6 次,记录色谱峰的峰面积。结果表明,绿原酸、果酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B 与异绿原酸 C 峰面积的相对标准偏差(relative standard deviation,简称 RSD)分别为 1.56%、2.06%、2.34%、1.78%、

表 2 5 种咖啡酰奎尼酸的相对校正因子

进样量 ( $\mu\text{L}$ )	$f_{\text{绿原酸}}/$ $f_{\text{果酸}}$	$f_{\text{绿原酸}}/$ $f_{\text{隐绿原酸}}$	$f_{\text{绿原酸}}/$ $f_{\text{异绿原酸A}}$	$f_{\text{绿原酸}}/$ $f_{\text{异绿原酸B}}$	$f_{\text{绿原酸}}/$ $f_{\text{异绿原酸C}}$
2	1.024	1.032	1.033	1.031	0.972
4	1.031	1.024	0.982	1.024	1.025
6	1.027	1.026	1.026	0.987	1.02
8	1.028	1.029	1.027	1.028	0.989
10	1.005	0.97	1.028	1.023	1.028
20	1.023	1.024	1.029	1.021	1.017
平均	1.023	1.018	1.021	1.019	1.009
相对标准偏差	0.913%	2.307%	1.879%	1.579%	2.248%

2.13%、1.96%，均小于 2.50%，表明仪器精密度较好。

2.1.7 稳定性试验 分别取产自山东省临沂市平邑县、湖南省邵阳市隆回县与河南省新乡市封丘县的金银花供试品溶液各 3 份，分别于制备后 0、2、4、8、16、20、24 h 进样测定咖啡酰奎尼酸类成分含量，结果表明绿原酸、果酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B 与异绿原酸 C 峰面积的  $RSD$  值分别为 1.87%、2.32%、1.99%、2.23%、1.76%、1.86%，均小于 2.50%。说明供试品溶液稳定性良好。

2.1.8 重复性试验 精确称取 3 个产地的金银花供试样品各 3 份，按“2.1.3”节的方法制备供试品溶液，并测定质量分数，绿原酸、果酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B 与异绿原酸

C 质量分数的  $RSD$  值分别为 2.42%、1.88%、2.38%、1.97%、2.45%、2.39%，均小于 2.5%，表明本方法重复性良好。

2.1.9 加样回收率试验 精确称取已测定质量分数的约 2.5 g 金银花花蕾粉末，平行 6 份，分别加入相当于药材中各指标成分量的对照品溶液，依“2.1.3”节方法制备供试品溶液，进样测定，计算加样回收率。结果表明，绿原酸、果酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B 与异绿原酸 C 的加样回收率分别为 99.36%、98.75%、102.9%、98.89%、99.76%、103.39%， $RSD$  值分别为 1.76%、2.48%、2.55%、2.06%、1.95%、2.82%。

2.2 一测多评法耐用性和系统适应性评价

2.2.1 校正因子的重现性考察 按照朱粉霞等的方法<sup>[14]</sup>取系列混合对照溶液，混合对照品溶液为 1 号，稀释倍数为 2、10、20、40 倍的分别为 2 号、3 号、4 号和 5 号，在 HPLC 考察 Hypersil ODS-2 色谱柱 (5  $\mu\text{m}$ , 4.6 mm  $\times$  250.0 mm)、Hypersil ODS-2 色谱柱 (5  $\mu\text{m}$ , 4.6 mm  $\times$  250.0 mm)、Fisher ODS-2 色谱柱 (5  $\mu\text{m}$ , 4.6 mm  $\times$  250.0 mm) 与 Spherisorb ODS-2 色谱柱 (5  $\mu\text{m}$ , 4.6 mm  $\times$  250.0 mm) 4 种色谱柱后所得的相对校正因子及其相对标准偏差如表 3 所示，结果表明，不同色谱柱所测得各成分的相对校正因子无显著差异，相对标准偏差均小于 2%。

表 3 不同色谱柱对  $f_{si}$  的影响

色谱柱	$f_{\text{绿原酸}}/f_{\text{果酸}}$	$f_{\text{绿原酸}}/f_{\text{隐绿原酸}}$	$f_{\text{绿原酸}}/f_{\text{异绿原酸A}}$	$f_{\text{绿原酸}}/f_{\text{异绿原酸B}}$	$f_{\text{绿原酸}}/f_{\text{异绿原酸C}}$
Thermo Hypersil ODS-2	1.028a	1.034a	1.026a	0.989a	1.010a
Elite Hypersil ODS-2	1.025a	0.991a	1.026a	1.022a	1.031a
Thermo Fisher ODS-2	1.009a	1.021a	1.033a	1.019a	1.013a
Waters Spherisorb ODS-2	1.012a	1.013a	0.997a	1.032a	0.984a
平均值	1.019	1.015	1.021	1.016	1.010
相对标准偏差	0.923%	1.778%	1.569%	1.824%	1.918%

注：同列数据后相同小写字母表示在 0.05 水平上差异不显著。

2.2.2 待测组分色谱峰的定位 通过计算在不同色谱柱中各待测成分色谱峰与绿原酸色谱峰的相对保留时间 ( $r_{si}$ )，对各待测成分进行定位，结果 (表 4) 表明，不同仪器和色谱柱测

得的  $r_{si}$  相对标准偏差均小于 2%，表明利用  $r_{si}$  进行峰的定位是可行的。

表 4 不同色谱柱对  $r_{si}$  的影响

色谱柱	$r_{\text{绿原酸}}/r_{\text{果酸}}$	$r_{\text{绿原酸}}/r_{\text{隐绿原酸}}$	$r_{\text{绿原酸}}/r_{\text{异绿原酸A}}$	$r_{\text{绿原酸}}/r_{\text{异绿原酸B}}$	$r_{\text{绿原酸}}/r_{\text{异绿原酸C}}$
Thermo Hypersil ODS-2	1.108	1.214	1.266	1.347	1.073
Elite Hypersil ODS-2	1.145	1.245	1.276	1.302	1.062
Thermo Fisher ODS-2	1.138	1.235	1.301	1.329	1.101
Waters Spherisorb ODS-2	1.157	1.257	1.277	1.292	1.103
平均值	1.137	1.238	1.280	1.318	1.085
相对标准偏差	1.835%	1.471%	1.161%	1.907%	1.884%

2.2.3 一测多评法与外标法测定结果的比较 取采自不同产地的金银花花蕾与幼叶粉末，按“2.1.3”节方法制备供试品溶液，精确吸取 20  $\mu\text{L}$  溶液注入液相色谱仪，按“2.1.2”节色谱条件测定各成分含量。分别采用外标法和一测多评法计算金银花花蕾与幼叶中绿原酸、果酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B 与异绿原酸 C 的含量。由表 5 可知，对 QAMS 与外标法所测得的各指标成分含量进行  $t$  检验所得的  $P$  值均大于 0.05，表明 2 种测定方法得到的含量之间无显著差异，说明 QAMS 用于金银花花蕾与幼叶中多种咖啡酰奎尼酸类成分质量评价是可行的。

3 讨论

咖啡酰奎尼酸类化学成分作为金银花的生物活性成分，有很好的抑菌、消炎与抗病毒的作用<sup>[15]</sup>，为金银花药材的主要活性成分。由于绿原酸在咖啡酰奎尼酸类成分含量相对较高，2015 年版《中国药典》规定绿原酸为金银花药材的主要考察指标，而由于异绿原酸和隐绿原酸在金银花中含量相对较低<sup>[14]</sup>，并且异绿原酸类同分异构体结构相似，获得单一的异绿原酸通常比较困难，导致在考察金银花药材质量时异绿原酸类成分的含量通常被忽视。大量研究表明，异绿原酸 A、异

表 5 QAMS 与外标法测定金银花咖啡酰奎尼酸类成分含量比较

样品来源	绿原酸 (mg/g)	果酸 (mg/g)		隐绿原酸 (mg/g)		异绿原酸 A (mg/g)		异绿原酸 B (mg/g)		异绿原酸 C (mg/g)	
	外标法	外标法	QAMS	外标法	QAMS	外标法	QAMS	外标法	QAMS	外标法	QAMS
山东平邑花蕾	3.045	0.036	0.032	0.563	0.557	1.612	1.592	1.098	1.103	1.208	1.213
山东平邑幼叶	2.132	0.023	0.024	0.312	0.309	0.813	0.797	0.592	0.587	1.118	1.202
湖南隆回花蕾	3.276	0.040	0.037	0.473	0.465	1.525	1.536	1.048	1.051	1.178	1.183
湖南隆回幼叶	1.986	0.021	0.019	0.272	0.268	0.791	0.787	0.497	0.510	0.775	0.781
河南封丘花蕾	3.162	0.038	0.041	0.397	0.402	1.605	1.597	1.138	1.142	1.154	1.157
河南封丘幼叶	1.963	0.021	0.019	0.195	0.212	0.811	0.796	0.698	0.704	0.077	0.081
<i>t</i> 检验		<i>P</i> = 0.328 > 0.05		<i>P</i> = 0.967 > 0.05		<i>P</i> = 0.117 > 0.05		<i>P</i> = 0.126 > 0.05		<i>P</i> = 0.236 > 0.05	

绿原酸 B 与异绿原酸 C 具有较强的抗病毒、抗氧化、抗真菌和抗人类免疫性缺陷病毒的作用<sup>[15]</sup>。因此,同时检测多种咖啡酰奎尼酸类化学成分的含量是合理和有效地考察金银花药材质量的方法。Guo 等采用高速逆流色谱技术与制备高效液相色谱技术成功地建立了异绿原酸 A 与异绿原酸 C 的分离技术体系<sup>[16]</sup>,为一测多评法在金银花药材质量控制中的应用打下了较好的基础。

本研究测定的 6 种成分中,以绿原酸相对含量较高,且在各样品中含量差异较小,绿原酸对照品易得,故以其作为内参物建立金银花药材的 QAMS 法,该方法所得到的 6 种咖啡酰奎尼酸含量的计算值与传统外标法所得实测值之间进行 t 检验,所得的 P 值均大于 0.05,显示 2 种测定方法得到的含量之间无显著差异,表明 QAMS 法可以在缺失对照品的情况下,以绿原酸为对照对金银花药材中多种咖啡酰奎尼酸类成分进行分析评价。本研究在建立的相对校正因子评价中,考察 4 种不同品牌、型号的色谱柱对各指标成分之间相对校正因子重现性的影响,相对标准偏差均小于 2%,结果表明不同色谱柱所测得各成分的相对校正因子之间差异未达到显著水平,说明一测多评法可以同时测定金银花药材绿原酸、果酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B 与异绿原酸 C 含量。

一测多评法是使用单一的标准品去同时检测多种成分的含量,其中目标分析物的相对转换因子是根据其紫外吸收与标准品紫外吸收的相对比率来确定的,这种方法适用于有相似紫外吸收特性的多种化合物的分析。在植物药中同时进行多种有效成分含量的检测将是药材质量控制发展的趋势。在金银花类药材分析中同时检测黄酮、皂苷、环烯醚萜苷等多类成分的含量是当前研究的重点<sup>[17]</sup>。但是,由于缺乏稳定可靠的标准对照品,限制了一测多评法的广泛应用与推广,这有待药用植物有效成分提取分离与纯化鉴定技术的进一步发展。

参考文献:

[1] Lu H X, Zhang L, Huang H. Study on the isolation of active constituents in *Lonicera japonica* and the mechanism of their anti-upper respiratory tract infection action in children[J]. African Health Sciences, 2015, 15(4): 1295-1301.

[2] 李娜, 阮文辉, 杨莹莹, 等. 金银花成分分析的研究进展[J]. 2011, 21(18): 178-181.

[3] Yan K, Cui M X, Zhao S J, et al. Salinity stress is beneficial to the accumulation of chlorogenic acids in honeysuckle (*Lonicera japonica* Thunb.) [J]. Front Plant Science, 2016(7): 1563-1569.

[4] Gordon M H, Wishart K. Effects of chlorogenic acid and bovine serum albumin on the oxidative stability of low density lipoproteins *in vitro*

[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(9): 5828-5833.

[5] Xu J G, Hu Q P, Liu Y. Antioxidant and DNA-protective activities of chlorogenic acid isomers [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(46): 11625-11630.

[6] Oksana S, Marian B, Mahendra R, et al. Plant phenolic compounds for food, pharmaceutical and cosmetics production [J]. Journal of Medicinal Plant Research, 2012, 6(13): 2526-2539.

[7] Sun P C, Liu Y, Yi Y T, et al. Preliminary enrichment and separation of chlorogenic acid from *Helianthus tuberosus* L. leaves extract by macroporous resins [J]. Food Chemistry, 2015, 168(9): 55-62.

[8] Li J, Jin S, Zu Y G, et al. Rapid preparative extraction and determination of major organic acids in honeysuckle (*Lonicera japonica* Thunb.) tea [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2014, 33(2): 139-145.

[9] 徐文芬, 杨雯, 何顺志, 等. 一测多评法测定淫羊藿中淫羊藿苷和朝藿定 A、B、C [J]. 中草药, 2016, 47(1): 130-137.

[10] 郝盛源, 王磊, 李红, 等. 一测多评法测定红曲及脂必妥片中洛伐他汀和洛伐他汀酸 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(5): 74-78.

[11] 黄玉瑶, 张洪坤, 路丽, 等. 一测多评法评价不同主产区春知母片的质量 [J]. 中药材, 2017, 40(2): 387-391.

[12] 蒋向辉. 金银花绿原酸合成途径关键酶基因克隆与功能分析 [D]. 长沙: 湖南大学, 2013.

[13] 郭盛, 段金殿, 朱邵晴, 等. 基于一测多评法的大枣药材三萜酸类化学成分检测分析方法的建立 [J]. 中草药, 2016, 47(21): 3884-3889.

[14] 朱粉霞, 张亚丽, 汪晶, 等. 一测多评法测定金银花复方制剂中新绿原酸、绿原酸和隐绿原酸 [J]. 中成药, 2013, 35(12): 2666-2671.

[15] Li Y L, But P P H, Ooi V E C. Antiviral activity and mode of action of caffeoylquinic acids from *Schefflera heptaphylla* (L.) Frodin [J]. Antiviral Research, 2005, 68(1): 1-9.

[16] Guo W, Wang L, Gao Y, et al. Isolation of isochlorogenic acid isomers in flower buds of *Lonicera japonica* by high-speed counter-current chromatography and preparative high performance liquid chromatography [J]. Journal of Chromatography B, 2015, 981/982: 27-32.

[17] Chen J, Song Y, Li P. Capillary high-performance liquid chromatography with mass spectrometry for simultaneous determination of major flavonoids, iridoid glucosides and saponins in flos *loniceræ* [J]. Journal of Chromatography A, 2007, 1157(1/2): 217-226.