

- [4] 廉莲, 咸晓燕, 楚冬海, 等. 川黄柏的化学成分研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(19): 149-152.
- [5] 刘蓬蓬, 徐珊, 张凡, 等. 黄柏炮制前后生物碱和柠檬苦素类成分的变化研究[J]. 现代药物与临床, 2015, 30(1): 18-23.
- [6] 徐珊, 张凡, 刘蓬蓬, 等. 基于大鼠物质、能量代谢研究炮制对黄柏药性的影响[J]. 中药材, 2015, 38(9): 1835-1841.
- [7] 徐珊, 张凡, 刘蓬蓬, 等. 黄柏及其酒和盐炙品改善热证大鼠能量代谢及其机制的研究[J]. 现代药物与临床, 2014, 29(12): 1334-1339.
- [8] 张凡, 徐珊, 刘蓬蓬, 等. 黄柏不同炮制品对甲亢型肾阴虚模型大鼠甲状腺和肾上腺皮质功能的影响[J]. 中国药房, 2017, 28(1): 27-30.
- [9] 毕肖林, 王亚, 池玉梅, 等. 液-质联用研究黄连生物碱类成分在大鼠体内的组织分布[J]. 中药材, 2016, 39(8): 1849-1853.
- [10] 梁瑞峰, 张峰, 李更生, 等. 吴茱萸对黄连有效成分在大鼠体内组织分布的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(23): 89-93.
- [11] 张晗. 三种天然产物中生物碱类化合物的液质联用分析[D]. 上海: 东华大学, 2013.
- [12] 裘国丽. 黄连—吴茱萸药对的体内分析及药动学研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2005.
- [13] Lin A H, Li J H, Li D, et al. Tissue distribution study of mangiferin after intragastric administration of mangiferin monomer, *Rhizoma Anemarrhenae*, and *Rhizoma Anemarrhenae-Phellodendron* decoctions in normal or type 2 diabetic rats by LC-MS/MS[J]. *J Chromatogr B*, 2019, 1122-1123: 18-28.
- [14] Liu R X, Chen Y, Zhao S, et al. Determination and tissue distribution studies of dantrolene sodium with hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin in rat tissue by HPLC/MS/MS[J]. *Biomedical Chromatography*, 2019, 33(3): e4616.
- [15] Sun L L, Ding F F, You G J, et al. Development and validation of an UPLC-MS/MS method for pharmacokinetic comparison of five alkaloids from JinQi Jiangtang tablets and its monarch drug *Coptidis Rhizoma*[J]. *Pharmaceutics*, 2017, 10(1): 4.
- [16] Liu L, Wang Z B, Song Y, et al. Simultaneous determination of eight alkaloids in rat plasma by UHPLC-MS/MS after oral administration of *Coptis deltoidea* C. Y. Cheng et Hsiao and *Coptis chinensis* Franch[J]. *Molecules*, 2016, 21(7): 913.
- [17] Luo H, Zhang L, Xu W, et al. Simultaneous determination of four main isosteroidal alkaloids of *Bulbus Fritillariae Cirrhosae* in rat plasma by LC-MS-MS[J]. *Chromatographia*, 2012, 75(13-14): 729-737.

## 干燥方式对丹参茎叶中酚酸类成分及其抗氧化活性的影响

敖青霞<sup>1</sup>, 姜媛媛<sup>1</sup>, 许轲<sup>2</sup>, 丰先红<sup>3</sup>, 赵茂俊<sup>1</sup>, 张利<sup>1\*</sup>

(1. 四川农业大学理学院, 四川雅安 625014; 2. 四川省园艺作物技术推广总站, 四川成都 610041; 3. 甘孜藏族自治州农业科学研究所, 四川康定 626000)

**摘要:** 目的 探究干燥方式对丹参茎叶中酚酸类成分及其抗氧化活性的影响。方法 采用福林-酚比色法测定丹参茎叶中总酚酸含量, HPLC法测定丹酚酸 B、迷迭香酸、丹参素、咖啡酸的含量; 采用铁氰化钾还原法、DPPH 自由基和超氧阴离子自由基清除法测定其抗氧化活性。结果 经真空冷冻干燥的丹参茎叶中总酚酸、迷迭香酸、丹参素和咖啡酸的含量均最高, 分别为 112.12、25.94、0.70、0.69 mg/g, 干燥方式对丹酚酸 B 含量无显著影响。3 种干燥方式处理抗氧化活性强弱依次为真空冷冻干燥、自然阴干、恒温鼓风干燥。结论 真空冷冻干燥为丹参茎叶的最佳干燥方式。

**关键词:** 丹参; 茎; 叶; 干燥方式; 酚酸类; 抗氧化活性

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2020)11-2959-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2020.11.025

收稿日期: 2019-12-01

基金项目: 四川省科技计划项目(2018TJPT0013); 四川省科技计划重点研发项目(2019YFS0021); 四川省科技计划重点研发项目(2019YFN0099); 国家现代农业产业技术体系四川创新团队道地中药材岗位(SCCXTD-2020-19); 四川省科技计划项目(2020YFN0002, 2020YFS0328); 国家现代农业产业技术体系四川创新团队道地中药材岗位(SCCXTD-2020-19)

作者简介: 敖青霞(1993—), 女, 硕士生, 研究方向为生物资源化学。E-mail: 1067284594@qq.com

\*通信作者: 张利(1969—), 女, 教授, 从事植物化学、分子生物学和药用植物资源评价与利用等研究。E-mail: zhang8434@sina.com

# Effects of drying methods on phenolic acids and antioxidant activities of stems and leaves of *Salvia miltiorrhiza*

AO Qing-xia<sup>1</sup>, JIANG Yuan-yuan<sup>1</sup>, XU Ke<sup>2</sup>, FENG Xian-hong<sup>3</sup>, ZHAO Mao-jun<sup>1</sup>, ZHANG Li<sup>1\*</sup>

(1. College of Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China; 2. Sichuan Provincial Horticultural Crop Technology Extension Station, Chengdu 610041, China; 3. Ganzi Tibetan Autonomous Prefecture Institute of Agricultural Sciences, Kangding 626000, China)

**ABSTRACT: AIM** To investigate the effects of drying methods on phenolic acids and antioxidant activities of stems and leaves of *Salvia miltiorrhiza* Bge.. **METHODS** The content of total phenolic acids in the stems and leaves of *S. miltiorrhiza* was determined by Folin-phenol colorimetry, and determination of salvianolic acid B, rosmarinic acid, danshensu and caffeic acid by HPLC. Potassium ferricyanide reduction method, DPPH radical and superoxide anion radical scavenging method were used to determine their antioxidant activity. **RESULTS** The content of total phenolic acid in the stems and leaves of *S. miltiorrhiza* was the highest after vacuum freeze drying (112.12 mg/g). The drying method had no significant effect on the content of salvianolic acid B. After vacuum freeze drying, the contents of rosemary acid, danshensu and caffeic acid were the highest in the stems and leaves of *S. miltiorrhiza*, which were 25.94, 0.70, 0.69 mg/g, respectively. The order of their antioxidant activity after treatment with three drying methods was vacuum freeze drying, natural drying, constant temperature blast drying. **CONCLUSION** Vacuum freeze-drying is the best way to dry the stems and leaves of *S. miltiorrhiza*.

**KEY WORDS:** *Salvia miltiorrhiza* Bge.; stems; leaves; drying methods; phenolic acids; antioxidant activity

丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 唇形科鼠尾草属多年生草本植物, 以其干燥根和根茎入药<sup>[1-2]</sup>, 是我国传统大宗药材。丹参主要有效成分为水溶性酚酸类和脂溶性丹参酮类, 其中酚酸类具有较强的抗脂质过氧化和清除自由基能力, 是目前已知抗氧化作用最强的天然产物之一<sup>[3]</sup>。李欣等<sup>[4]</sup>发现丹参叶中总酚酸含量较高, 且总酚酸含量和抗氧化活性之间有很高的相关性。曾慧婷等<sup>[5]</sup>发现, 丹参茎叶具有较强的抗氧化活性, 其提取物中富含酚酸类成分, 如丹酚酸 B、迷迭香酸、丹参素和咖啡酸。丹参茎叶虽富含酚酸类成分, 但在实际生产过程中并未被有效利用, 造成严重的资源浪费和环境污染<sup>[6-8]</sup>。

酚酸类成分性质极不稳定, 对热敏感, 在受热情况下极易发生分解、氧化以及脱氢羟基反应, 干燥时易造成酚酸类成分损失<sup>[9]</sup>。郭辉<sup>[10]</sup>采用不同干燥方式对丹参提取液进行干燥, 发现冷冻干燥对丹参提取液中酚酸含量的影响最小。陈立军等<sup>[11]</sup>研究真空减压干燥、喷雾干燥、微波干燥和冷冻干燥对丹参中酚酸含量的影响, 发现冷冻干燥能最大程度的保留丹参中酚酸类成分。沙秀秀<sup>[12]</sup>发现不同的干燥条件对丹参茎叶中酚酸类成分含量影响较大, 其中微波杀青-热风干燥的丹参茎叶品质较优。因此, 选用合适的干燥方式对丹

参茎叶中酚酸类成分的保留至关重要。目前关于干燥方式对丹参茎叶中酚酸类成分含量及其抗氧化活性的影响鲜有报道。本研究通过探讨不同干燥方式对丹参茎叶中总酚酸、丹酚酸 B、迷迭香酸、丹参素和咖啡酸含量及其抗氧化活性的影响, 以期筛选适合丹参茎叶的干燥方式, 为丹参茎叶的合理开发利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

1.1 试剂 丹酚酸 B (批号 MUST-18070503)、迷迭香酸 (批号 MUST-18053110)、丹参素 (批号 MUST-13030108)、咖啡酸 (批号 MUST-12042403) 对照品均购自成都曼思特生物科技有限公司, 纯度均大于 98%; 乙腈 (色谱纯, 美国 J. T. Baker 公司); 无水乙醇、甲醇 (分析纯, 成都市科隆化学制品有限公司)。

1.2 材料及干燥方法 丹参茎叶于 2018 年 8 月采自四川中江, 经四川农业大学生命科学学院杨瑞武教授鉴定为唇形科鼠尾草属植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的茎叶。将采集的丹参茎叶除去泥土, 切成均匀小段, 混匀后平均分为 3 份, 分别进行自然阴干、真空冷冻干燥和恒温鼓风干燥, 干燥至恒定质量, 粉碎, 过 50 目筛, 干燥保存备用。自然阴干, 将丹参茎叶置于室内通风处自然阴干; 真空冷冻干燥, 将经预冻处理的丹参茎叶置于真空冷冻

干燥机中；恒温鼓风干燥，将丹参茎叶置于鼓风干燥箱内烘干，温度 55 ℃。

1.3 丹参茎叶提取液制备 分别准确称取不同干燥方式处理的丹参茎叶粉末 0.5 g，置于具塞锥形瓶中，参照翟宏宇等<sup>[13]</sup>的方法提取丹参茎叶中的酚酸类成分。提取后过滤，取 1 mL 滤液，甲醇稀释定容至 25 mL，备用。

1.4 总酚酸含有量测定 参照文献 [14]，以没食子酸为对照品，采用福林-酚比色法测定丹参茎叶中总酚酸含有量，以吸光值为纵坐标 (Y)，以没食子酸浓度为横坐标 (X)，进行回归。

1.5 丹酚酸 B、迷迭香酸、丹参素、咖啡酸含有量测定

1.5.1 分析条件 参考文献 [2]，Agilent Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm)；流动相乙腈 (A) -0.05% 磷酸水 (B)；梯度洗脱 (0~15 min, 90%~80% B；15~35 min, 80%~75% B；35~45 min, 75%~70% B；45~55 min, 70%~10% B；55~70 min, 10% B)；体积流量 1.0 mL/min；柱温 30 ℃；检测波长 286 nm；进样量 10 μL。

1.5.2 对照品溶液制备 分别精密称取对照品丹酚酸 B、迷迭香酸、丹参素和咖啡酸各 5 mg，甲醇溶解后定容至 10 mL，制备成质量浓度为 0.5 mg/mL 的对照品贮备液。所有对照品溶液均在 4 ℃ 条件下保存。

分别精密吸取上述丹酚酸 B、迷迭香酸、丹参素和咖啡酸对照品贮备液 1.50、1.30、0.90、0.30 mL，甲醇定容至 10 mL，摇匀，即得 75 μg/mL 丹酚酸 B、65 μg/mL 迷迭香酸、45 μg/mL 丹参素、15 μg/mL 咖啡酸的混合对照品溶液。

在“1.5.1”项条件下测得丹酚酸 B、迷迭香酸、丹参素和咖啡酸的对照品在不同质量浓度时的峰面积，以峰面积为纵坐标 (Y)，质量浓度为横坐标 (X)，进行回归。

1.6 抗氧化活性测定

1.6.1 还原力 将不同干燥方式处理的丹参茎叶的提取液配成系列梯度质量浓度溶液 (0~30 μg/mL)，采用铁氰化钾还原法<sup>[15]</sup>测定丹参茎叶的还原力。平行实验 3 次，取其平均值。

1.6.2 DPPH 自由基清除活性 将不同干燥方式处理的丹参茎叶的提取液配成系列梯度质量浓度溶液 (10~300 μg/mL)，参照 Wang 等<sup>[16]</sup>方法，测定丹参茎叶的 DPPH 自由基清除活性。平行实验 3 次，取其平均值。按公式 (1) 计算：

$$\text{DPPH 自由基清除率} = \left( \frac{A_0 - A_s}{A_0} \right) \times 100\% \quad (1)$$

式中，A<sub>s</sub> 为含样品的溶液吸光值；A<sub>0</sub> 为水代替样品的溶液吸光值。

1.6.3 超氧阴离子自由基清除活性 将不同干燥方式处理的丹参茎叶的提取液配成系列梯度质量浓度溶液 (0~60 μg/mL)，参照 Lu 等<sup>[17]</sup>方法测定丹参茎叶的超氧阴离子自由基清除活性。平行实验 3 次，取其平均值。按公式 (2) 计算：

$$\text{超氧阴离子自由基清除率} = \left[ 1 - \frac{(A_1 - A_2)}{A_0} \right] \times 100\% \quad (2)$$

式中，A<sub>1</sub> 为加入样品溶液的吸光值；A<sub>0</sub> 为水代替样品混合溶液的吸光值；A<sub>2</sub> 为未加邻苯三酚的样品溶液的吸光度。

1.7 数据统计分析 采用 Microsoft excel 2010 和 Origin 8.5 软件对数据处理，并绘制相应的图表；采用 SPSS 23.0 软件对测定结果进行分析。

## 2 结果与分析

2.1 干燥方式对丹参茎叶中总酚酸含有量的影响

采用福林-酚比色法得到总酚酸的回归方程为 Y = 0.285 1X - 0.027 (r = 0.999 8)，在 500 ~ 5 500 μg/mL 范围内线性关系良好。用相同方法测定不同干燥方式处理后的丹参茎叶中总酚酸含有量。由表 1 可知，经自然阴干、真空冷冻干燥和恒温鼓风干燥 3 种干燥方式处理的丹参茎叶中总酚酸含有量分别为 107.63、112.12、87.95 mg/g；真空冷冻干燥的丹参茎叶中总酚酸含有量高于自然阴干 (P < 0.05)，且极显著恒温鼓风干燥 (P < 0.01)。

表 1 不同干燥方式处理后丹参茎叶总酚酸含有量

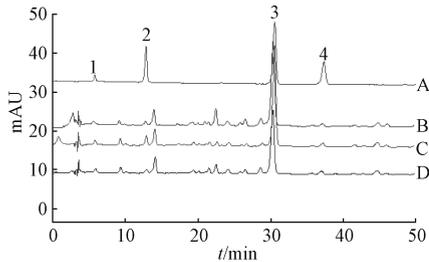
Tab.1 Content of total phenolic acids in stems and leaves of *S. miltiorrhiza* after different drying process

干燥方式	总酚酸/(mg·g <sup>-1</sup> )
自然阴干	107.63 <sup>Ab</sup>
真空冷冻干燥	112.12 <sup>Aa</sup>
恒温鼓风干燥	87.95 <sup>Bc</sup>

注：同列不同小写字母表示差异有统计学意义，P < 0.05，P < 0.01。

2.2 干燥方式对丹参茎叶中丹酚酸 B、迷迭香酸、丹参素和咖啡酸含有量的影响 采用 HPLC 法测定不同干燥方式处理后丹参茎叶中丹酚酸 B、迷迭香酸、丹参素和咖啡酸的含有量，结果见图 1、表 2~3。由表 3 可知，干燥方式对丹参茎叶中丹酚酸 B 含有量无显著影响。经 3 种干燥方式处理后丹参茎叶中迷迭香酸含有量存在统计学差异 (P < 0.01)，

真空冷冻干燥处理的丹参茎叶中迷迭香酸含有量最高 (25.94 mg/g); 自然阴干次之 (20.67 mg/g); 恒温鼓风干燥最低 (15.06 mg/g)。真空冷冻干燥和恒温鼓风干燥对丹参茎叶中丹参素含有量无显著影响, 其含有量分别为 0.70、0.68 mg/g, 且均高于自然阴干 ( $P < 0.05$ )。真空冷冻干燥的丹参茎叶中咖啡酸含有量高于其他 2 种干燥方式 ( $P < 0.01$ ), 达到 0.69 mg/g, 恒温鼓风干燥 (0.39 mg/g) 高于自然阴干 (0.36 mg/g) ( $P < 0.05$ )。



注: A~D 分别为对照品、自然阴干品、真空冷冻干燥品、恒温鼓风干燥品。

1. 丹参素 2. 咖啡酸 3. 迷迭香酸 4. 丹酚酸 B  
1. danshensu 2. caffeic acid 3. rosemary acid 4. salvianolic acid B

图 1 各成分 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of various constituents

表 2 各成分线性关系

Tab. 2 Linear relationships of various constituents

成分	回归方程	r	线性范围/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
丹酚酸 B	$Y = 71.487X + 4.944$	0.999 9	7.5~150
迷迭香酸	$Y = 109.730X + 12.348$	0.999 9	6.76~135.2
丹参素	$Y = 30.063X + 4.374.9$	0.999 8	4.5~90
咖啡酸	$Y = 39.903X + 4.189.8$	0.999 9	1.56~31.2

表 3 不同干燥方式处理后丹参茎叶中酚酸类成分含有量 (mg/g)

Tab. 3 Contents of phenolic acids in stems and leaves of *Salvia miltiorrhiza* after different drying processes (mg/g)

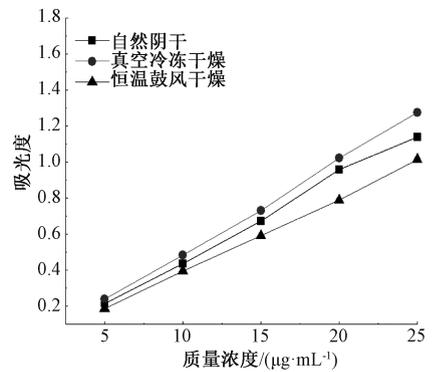
干燥方式	丹酚酸 B	迷迭香酸	丹参素	咖啡酸
自然阴干	4.34	20.67 <sup>Bb</sup>	0.60 <sup>Bb</sup>	0.36 <sup>Bc</sup>
真空冷冻干燥	3.79	25.94 <sup>Aa</sup>	0.70 <sup>Aa</sup>	0.69 <sup>Aa</sup>
恒温鼓风干燥	3.58	15.06 <sup>Cc</sup>	0.68 <sup>Aa</sup>	0.39 <sup>Bb</sup>

注: 同列不同小写字母表示差异有统计学意义,  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ 。

### 2.3 干燥方式对丹参茎叶抗氧化活性的影响

2.3.1 还原力 经不同干燥方式处理丹参茎叶后, 测定吸光度, 计算还原力, 结果见图 2。由结果可知, 丹参茎叶的还原力与提取液的浓度呈明显的量效关系。当提取液质量浓度一致时, 不同干燥方式处理的丹参茎叶的还原力大小依次为真空冷冻干

燥、自然阴干、恒温鼓风干燥。



注: 反应后溶液吸光度的大小可间接反映丹参茎叶提取液的还原力大小, 吸光度越大, 还原力越大。

图 2 不同干燥方式处理后丹参茎叶还原力

Fig. 2 Reductive power of stems and leaves of *S. miltiorrhiza* after different drying processes

2.3.2 DPPH 自由基清除能力 经不同干燥方式处理丹参茎叶后, 其 DPPH 自由基清除结果见图 3。由结果可知, 经不同干燥方式处理的丹参茎叶均具有较强的清除 DPPH 自由基能力。由曲线拟合所得, 经自然阴干、真空冷冻干燥和恒温鼓风干燥处理的丹参茎叶对 DPPH 自由基清除能力的  $IC_{50}$  值分别为 40、30、70  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 表明真空冷冻干燥处理的丹参茎叶清除 DPPH 自由基的能力最强, 自然阴干次之, 恒温鼓风干燥最弱。

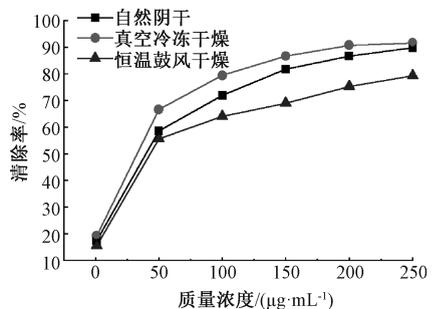


图 3 不同干燥方式处理后丹参茎叶 DPPH 自由基清除能力  
Fig. 3 DPPH free radical scavenging capacity of *S. miltiorrhiza* stems and leaves after different drying processes

2.3.3 超氧阴离子自由基清除作用 不同干燥方式处理丹参茎叶后其清除超氧阴离子自由基, 结果见图 4。由结果可知, 丹参茎叶提取液浓度与超氧阴离子自由基清除率呈正相关。由曲线拟合所得, 经自然阴干、真空冷冻干燥和恒温鼓风干燥处理的丹参茎叶对超氧阴离子自由基清除能力的  $IC_{50}$  值依次为 28、25、30  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。丹参茎叶清除超氧阴离子自由基能力从强到弱依次为以真空冷冻干燥、自

然阴干、恒温鼓风干燥。

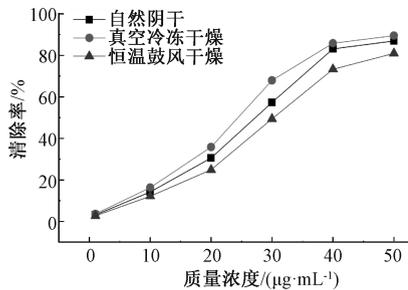


图4 不同干燥方式处理后丹参茎叶清除超氧阴离子自由基能力

Fig. 4 Scavenging capacity of superoxide anion free radicals in stems and leaves of *S. miltiorrhiza* after different drying processes

### 3 讨论

丹参茎叶常被当做农业废弃物，但早在清代的《医方守约》中已有记载将其捣碎合酒糟可消肿。现代研究表明丹参茎叶中含酚酸类成分，主要为丹参素、咖啡酸、迷迭香酸、丹酚酸B<sup>[4-5,18]</sup>。因此，研究丹参茎叶中酚酸类成分，不仅能提高对丹参茎叶的资源化利用，还能减少环境污染。但由于酚酸类成分不稳定，在干燥过程中易受温度、氧分压等因素影响，发生氧化、分解使其含有量减少<sup>[19]</sup>。

不同干燥方式对蓝莓叶<sup>[20]</sup>、甜菊叶<sup>[21]</sup>中酚酸类成分的影响，其研究结果均表明在干燥过程中温度和氧分压越低，越能有效的保留酚酸类成分。本研究发现真空冷冻干燥后丹参茎叶中总酚酸、迷迭香酸、丹参素和咖啡酸含有量均最高。可能是由于真空冷冻干燥是在低温、真空状态下，低温使丹参茎叶中的酶失活，最大程度减少丹参茎叶中酚酸类成分的降解和酶促反应，能较好的保存丹参茎叶中该类成分<sup>[20]</sup>。而恒温鼓风干燥后丹参茎叶中总酚酸和迷迭香酸含有量均最低，但丹参素和咖啡酸含有量却比自然阴干的丹参茎叶中高，可能是由于受热条件下酚酸类成分可自身降解<sup>[22]</sup>，导致丹参茎叶中其含有量减少。已有研究表明迷迭香酸可由咖啡酸和丹参素等小分子酚酸聚合形成，而迷迭香酸也可分解为小分子酚酸<sup>[14,23]</sup>。因此，推测在恒温鼓风干燥时可能由于温度较高致使迷迭香酸分解为咖啡酸和丹参素或其他小分子酚酸，使得恒温鼓风干燥的丹参茎叶中咖啡酸和丹参素含有量高于自然阴干的丹参茎叶。

本研究发现经不同干燥方式处理后丹参茎叶抗氧化活性强弱存在一定差异，可能是因不同干燥方

式对丹参茎叶中酚酸类成分的影响不同。大量研究表明，抗氧化活性与酚酸类成分含有量之间存在相关性<sup>[24-26]</sup>。如蓝莓叶<sup>[20]</sup>和金银花<sup>[22]</sup>提取物中酚酸类成分含有量反应了其抗氧化活性的强弱，且经真空冷冻干燥后蓝莓叶和金银花中酚酸类成分含有量最高，抗氧化活性也最强。本研究发现经真空冷冻干燥后丹参茎叶的还原力、DPPH自由基清除能力和超氧阴离子清除能力均最强，迷迭香酸、丹参素和咖啡酸含有量均最高。恒温鼓风干燥处理与自然阴干处理相比，丹参茎叶中迷迭香酸含有量较低，丹参素和咖啡酸含有量均较高，但其抗氧化活性低于自然阴干，因此，可推测丹参茎叶的抗氧化活性与迷迭香酸含有量成正相关。本研究发现，不同干燥方式对丹参茎叶中迷迭香酸含有量与抗氧化活性的影响趋势基本一致。因此，推测丹参茎叶发挥抗氧化活性的物质基础主要为迷迭香酸。

### 4 结论

干燥方式对丹参茎叶中总酚酸、迷迭香酸、丹参素和咖啡酸含有量有一定影响，对丹酚酸B含有量无显著影响。总酚酸、迷迭香酸、丹参素和咖啡酸含有量均以真空冷冻干燥后的丹参茎叶中最高。干燥方式对丹参茎叶抗氧化活性的影响由大到小依次为真空冷冻干燥、自然阴干、恒温鼓风干燥。综上所述，真空冷冻干燥为最适合丹参茎叶的干燥方式。

### 参考文献:

- [1] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1977: 145.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 75.
- [3] Zhang Y, Li X, Wang Z. Antioxidant activities of leaf extract of *Salvia miltiorrhiza* Bunge and related phenolic constituents[J]. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48(10): 2656-2662.
- [4] 李欣, 薛治浦, 朱文学. 丹参不同部位总酚酸和总黄酮含量分析及其抗氧化活性研究[J]. *食品科学*, 2011(3): 115-118.
- [5] 曾慧婷, 宿树兰, 沙秀秀, 等. 丹参茎叶提取物抗氧化活性物质基础与量效关系研究[J]. *中草药*, 2017, 48(22): 4688-4694.
- [6] 曾慧婷, 沙秀秀, 宿树兰, 等. 不同产地丹参茎叶UPLC指纹图谱与化学模式识别研究[J]. *中草药*, 2017, 48(4): 767-772.
- [7] Zhou G J, Wang W, Xie X M, et al. Post-harvest induced production of salvianolic acids and significant promotion of antioxidant properties in roots of *Salvia miltiorrhiza* (Danshen) [J]. *Molecules*, 2014, 19(6): 7207-7222.

- [ 8 ] 曾慧婷, 沙秀秀, 朱邵晴, 等. 丹参及丹参茎叶水提物 UPLC 指纹图谱研究与丹酚酸类成分定量分析[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(4): 602-609.
- [ 9 ] 喻芳君, 钱 浩, 马志国. 鲜丹参的干燥工艺研究[J]. 海峡药学, 2016, 28(11): 38-40.
- [ 10 ] 郭 辉. 不同干燥方式对丹参多酚酸类成分的影响[J]. 世界最新医学信息文摘, 2015, 15(17): 107; 112.
- [ 11 ] 陈立军, 黄文芳, 刘苗苗, 等. 丹参中多酚酸类成分的干燥方式研究[J]. 中药材, 2014, 37(9): 1680-1682.
- [ 12 ] 沙秀秀. 丹参茎叶资源化学研究与药材质量标准的建立[D]. 南京: 南京中医药大学, 2016.
- [ 13 ] 翟宏宇, 郝邦竹, 王海洋, 等. HPLC 测定丹参茎叶花中迷迭香酸和丹酚酸 B 的含量[J]. 中国现代中药, 2018, 20(3): 298-300.
- [ 14 ] 银慧慧, 刘 伟, 赵 武, 等. 桃金娘根总多酚的超声提取及抗氧化活性研究[J]. 中国医药导报, 2019, 16(10): 33-36.
- [ 15 ] Berker K I, Kubilay G, Tor I, *et al.* Total antioxidant capacity assay using optimized ferricyanide/prussian blue method[J]. *Food Anal Method*, 2010, 3(3): 154-168.
- [ 16 ] Wang C Y, Chen Y W, Hou C Y. Antioxidant and antibacterial activity of seven predominant terpenoids[J]. *Int J Food Prop*, 2019, 22(1): 230-238.
- [ 17 ] Lu C, Li H, Li C, *et al.* Chemical composition and radical scavenging activity of *Amygdalus pedunculata* Pall leaves' essential oil[J]. *Food Chem Toxicol*, 2018, 119: 368-374.
- [ 18 ] Li X, Wang Z Z. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil in leaves of *Salvia miltiorrhiza* Bunge[J]. *J Essent Oil Res*, 2009, 21(5): 476-480.
- [ 19 ] 刘铁军, 孙胜斌, 陈翔宇, 等. 不同浓缩方法对丹参提取液的影响[J]. 中国现代中药, 2018, 20(2): 208-212.
- [ 20 ] 李晓英, 薛 梅, 樊汶樵, 等. 不同干燥方式对蓝莓叶中酚类物质及其抗氧化活性的影响[J]. 中国农业科学, 2018, 51(13): 2570-2578.
- [ 21 ] Periche A, María Luisa Castelló, Heredia A, *et al.* Effect of different drying methods on the phenolic, flavonoid and volatile compounds of *Stevia rebaudiana* leaves[J]. *Flavour Fragr J*, 2015, 31(2): 173-177.
- [ 22 ] 邹 容, 游玉明, 陈泽雄, 等. 干燥方式对金银花多酚组分及其抗氧化活性的影响[J]. 食品科学, 2016, 37(5): 78-83.
- [ 23 ] 沙秀秀, 宿树兰, 沈 飞, 等. 不同生长期丹参茎叶及花序中丹酚酸类化学成分分布与积累动态分析评价[J]. 中草药, 2015, 46(22): 3414-3419.
- [ 24 ] Anwar F, Kalsoom U, Sultana B, *et al.* Effect of drying method and extraction solvent on the total phenolics and antioxidant activity of cauliflower (*Brassica oleracea* L.) extracts[J]. *Int Food Res J*, 2013, 20(2): 653-659.
- [ 25 ] 李 帆, 邵佩兰, 韩娅婷, 等. 干燥方式对红枣色素活性成分含量及抗氧化活性的影响[J]. 食品科技, 2019, 44(1): 120-124.
- [ 26 ] 余 茜, 马 燕, 范丹君, 等. NaCl-CaCl<sub>2</sub> 处理对发芽大豆酚类物质富集及抗氧化能力的影响[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(1): 152-158.

## 大蒜素对白色念珠菌毒力因子作用机制的研究

熊延靖, 吴艳红, 陈 京

(皖南医学院, 医学微生物学与医学免疫学教研室, 安徽 芜湖 241002)

**摘要:** 目的 探讨大蒜素对白色念珠菌毒力因子的作用机制。方法 采用 CLSI-M27-A3 微量液基稀释法检测大蒜素对白色念珠菌的最小抑菌浓度 (MIC); 通过时间-杀菌曲线检测大蒜素的杀菌作用; Spider 液体培养基中观察大蒜素对白色念珠菌菌丝生长的影响; qRT-PCR 法检测大蒜素对白色念珠菌菌丝相关基因表达的影响; 卵黄乳液琼脂平板法检测大蒜素对白色念珠菌细胞外磷脂酶活性的影响。结果 大蒜素对白色念珠菌的 MIC 值为 12.5~25 μg/mL; 时间-杀菌曲线显示 2 MIC、4 MIC 浓度的大蒜素对白色念珠菌生长保持有效的抑制作用; 在 Spider 液体培养基中, 1 MIC、2 MIC、4 MIC 浓度的大蒜素能明显抑制白色念珠菌菌丝的生长; qRT-PCR 结果显示, 在 1 MIC、2 MIC、4 MIC 浓度的大蒜素作用下, 白色念珠菌菌丝相关基因表达下调; 当大蒜素浓度 ≥ 1/2 MIC 时, 白色念珠菌细胞外磷脂酶的活性降低。结论 大蒜素可通过抑制白色念珠菌菌丝生长、调节菌丝相关基因的表达, 以及抑制细胞外磷脂酶活性等, 发挥抑制白色念珠菌毒力因子的作用。

**关键词:** 大蒜素; 白色念珠菌; 菌丝; 作用机制

**中图分类号:** R284.1

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-1528(2020)11-2964-07

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2020.11.026

收稿日期: 2019-11-19

基金项目: 皖南医学院自然科学研究项目 (WK201909); 安徽省教育厅自然科学重点项目 (KJ2019A0425)

作者简介: 熊延靖 (1982—), 女, 硕士, 讲师, 研究方向为药物分析。Tel: 13506552513, E-mail: 463658122@qq.com