

不同干燥方法对合欢花药材化学成分及其抗氧化活性影响

左亚锋^{1,2}, 徐秀泉^{1,2}, 李巧月^{1,2},
王孟虎^{1,2}, 孟祥松^{1,2*}, 闫攀^{1,2}, 金传山³, 吴德玲^{3*}

¹亳州学院中药学院; ²亳州学院 中药原料产品研发安徽普通高校重点实验室, 亳州 236800;

³安徽中医药大学药学院, 合肥 230012

摘要:建立测定合欢花药材中槲皮苷、异槲皮苷和槲皮素 3 种黄酮类成分含量测定的方法。通过化学成分含量及其抗氧化活性测定,探讨不同干燥方法对不同规格合欢花药材的影响,为合欢花药材的初加工工艺选择提供参考。通过晒干、阴干、蒸汽杀青后烘干、微波杀青后烘干、烘干(30、50、70、90 °C)、冷冻干燥的方式对两种规格合欢花药材进行干燥处理,采用紫外分光光度法、高效液相色谱法、比色法和 ABTS 法、DPPH 法等检测样品中总黄酮、异槲皮苷、槲皮苷、槲皮素含量及抗氧化活性。利用主成分分析、聚类分析和相关性分析对干燥后不同规格样品进行综合评价。研究表明,不同干燥处理合欢花药材样品化学成分和抗氧化活性结果存在显著差异。相关性分析表明,槲皮苷含量和总黄酮含量呈显著正相关($P < 0.05$),槲皮苷含量可作为总黄酮含量大小的评价指标,与 O₂ 自由基清除能力呈正相关但不显著。槲皮苷含量和总黄酮含量与其他四种抗氧化指标呈显著正相关($P < 0.05$)或极显著正相关($P < 0.01$),槲皮素含量与 ABTS 自由基清除能力呈显著正相关($P < 0.05$),推测槲皮苷和槲皮素是 2 种合欢花类药材主要抗氧化活性物质。不同干燥方法对 2 种规格合欢花药材影响显著,盛开的合欢花适合采用 70 °C 烘干处理,花蕾期的合欢米宜采用冷冻干燥处理,合欢花和合欢米均不宜采用阴干处理。本研究为 2 种合欢花类药材初加工方法的选择提供实验依据。

关键词:合欢花;干燥方法;化学成分;抗氧化活性

中图分类号:R282.4

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2024)1-0125-12

DOI:10.16333/j.1001-6880.2024.1.015

Effects of different drying methods on the chemical composition and antioxidant activity of Albiziae Flos

ZUO Ya-feng^{1,2}, XU Xiu-quan^{1,2}, LI Qiao-yue^{1,2},
WANG Meng-hu^{1,2}, MENG Xiang-song^{1,2*}, YAN Pan^{1,2}, JIN Chuan-shan³, WU De-ling^{3*}

¹School of Chinese Materia Medica, Bozhou University; ²Key Laboratory of Chinese Medicine Materials Research of Anhui Higher Education Institutes, Bozhou University, Bozhou 236800, China;

³School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China

Abstract: To establish a method for the determination of quercitrin, isoquercitrin and quercetin in Albiziae Flos. Through the determination of the contents of chemical components and their antioxidant activities, the effects of different drying methods on different specifications of Albiziae Flos were explored to provide a reference for the selection of the primary processing technology of Albiziae Flos. The two specifications of Albiziae Flos were dried by sun-drying, shade-drying, drying after steam-killing, drying after microwave-killing, hot-air drying (30, 50, 70, 90 °C), and freeze-drying, and the samples were tested for total flavonoids, isoquercitrin, quercitrin, quercetin content and antioxidant activity by ultraviolet spectrophotometry (UV), high-performance liquid chromatography (HPLC), colorimetric method and ABTS, DPPH methods. The samples of different specifications after drying were comprehensively evaluated using principal component analysis (PCA), cluster analysis (CA)

收稿日期:2023-08-14 接受日期:2023-11-16

基金项目:安徽省高等学校自然科学研究项目重点项目(KJ2020A0765);安徽省高等学校自然科学研究项目重点项目(2022AH052416);亳州学院中药学团队(BYZXKT202004);安徽省高校学科(专业)拔尖人才培养项目(gxbjZD2020095)

*通信作者 E-mail:ahmxs@163.com, dlwu7375@sina.com

and correlation analysis. The results of the study show that, the results of chemical composition and antioxidant activity of samples from different drying treatments were significantly different. Correlation analysis showed that the total flavonoid content and quercitrin content were significantly positively correlated ($P < 0.05$), and quercitrin content could be used as an evaluation index for the magnitude of the total flavonoid content, quercitrin was positively but not significantly correlated with O_2 radical scavenging capacity. Quercitrin content and total flavonoid content showed significant positive correlation ($P < 0.05$) or highly significant positive correlation ($P < 0.01$) with the other four antioxidant indices, and quercetin content was significantly and positively correlated with ABTS free radical scavenging capacity ($P < 0.05$) and it was hypothesised that quercitrin and quercetin were the main antioxidant active substance in the two specifications of *Albiziae Flos*. Different drying methods had significant effects on the two specifications of *Albiziae Flos*, and it was suitable and appropriate to use $70\text{ }^\circ\text{C}$ drying treatment for the *Albizia julibrissin* Durazz. flower (AJF), and freeze-drying treatment for *Albizia julibrissin* Durazz. flower bud (AJFB), and it was not suitable to use shade-drying treatment for both AJF and AJFB. This study provides an experimental basis for the selection of the primary processing methods of the two specifications of *Albiziae Flos*.

Key words: *Albiziae Flos*; drying methods; chemical composition; antioxidant activity

合欢花为豆科植物合欢 (*Albizia julibrissin* Durazz.) 的干燥花序或花蕾,前者称“合欢花”,后者称“合欢米”,其性甘,平,归心、肝经,具有解郁安神功效^[1]。合欢花药用历史悠久,始载于《神农本草经》,历代本草对其解郁安神之功效应用均有记载^[2]。现代研究表明合欢花含有槲皮苷、槲皮素等大量黄酮类成分^[3,4]和少量多糖、挥发油类等活性成分,具有抗抑郁、镇静催眠、抗焦虑、保肝和抗氧化等多种药理作用^[5]。

合欢花中含有大量黄酮苷类成分,苷类化合物易受酶的作用而水解,而含苷的中药往往也含有可水解该苷的酶。干制是新鲜合欢花产地采摘后必需的初加工过程,不同的干燥初加工过程可能会激活或抑制酶的活性,导致活性物质在酶的作用下水解或保存,从而引起合欢花药材品质的变化^[6,7]。“杀青”是通过一定方法将采收后植物体内相关酶进行灭活的方法。“杀青”方法在中药材初加工中应用广泛,合适的“杀青”方法可以破坏新鲜植物体内酶活性,有利于保留活性物质,影响着药材的性状和品质^[8]。合理的干制初加工方式对合欢花药材中黄酮苷类成分的保留发挥重要作用,合欢花传统的干燥方法为晒干^[2],传统晒干方法受自然环境影响较大,不同规格合欢花外观形态差异较大,合欢花和合欢米通用晒干方式是否合适尚不明确。

因此本研究以合欢花和合欢米为研究对象,比较传统干燥方法(晒干、阴干)、不同杀青干燥方法(蒸汽杀青后烘干、微波杀青后烘干)、烘干(30 、 50 、 70 、 $90\text{ }^\circ\text{C}$)和冷冻干燥方法对2种规格合欢花药材中关键活性物质和抗氧化活性的影响,为合欢花类药材的产地加工及利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 仪器

LC-20A型高效液相色谱仪(日本 Shimadzu 公司,配置 SPD-M20A 型紫外可见光检测器);A01-10NA0848 型冷冻干燥机(宁波新芝生物科技股份有限公司);UV-1900i 紫外可见分光光度计(岛津仪器(苏州)有限公司);XPR2 型 $1/100$ 万电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司),FA2104B 分析天平(上海越平科学仪器有限公司);Spectra-Max iD3 型酶标仪(美谷分子仪器(上海)有限公司)。

1.2 材料与试剂

2,2-联苯基-1-苦基肼基(DPPH)(上海源叶生物科技有限公司,批号:B25609-20 mg);2,2'-联氨-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二胺盐(ABTS)(上海源叶生物科技有限公司,批号:S19198-5 g);1,10-菲洛啉(上海源叶生物科技有限公司,批号:S19172-25 g);邻苯三酚(上海阿拉丁生化科技股份有限公司,P104235-100 g);异槲皮苷、槲皮苷、槲皮素对照品(成都普菲德生物技术有限公司,批号分别为 MUST-21041613、MUST-21080502、MUST-2203310,纯度均 $\geq 98\%$);乙腈、甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

合欢花采摘于安徽省亳州市亳州学院校园内,经安徽中医药大学金传山教授鉴定为豆科植物合欢 *Albizia julibrissin* Durazz. 的新鲜花序及花蕾。将新鲜合欢花和合欢米通过晒干(D1)、阴干(D2)、蒸汽杀青后烘干(D3)、微波杀青后烘干(D4)、 $30\text{ }^\circ\text{C}$ 烘干(D5)、 $50\text{ }^\circ\text{C}$ 烘干(D6)、 $70\text{ }^\circ\text{C}$ 烘干(D7)、 $90\text{ }^\circ\text{C}$ 烘干(D8)、冷冻干燥(D9)九种干燥方法进行干燥,干燥

后样品置于通风干燥处保存备用。

1.3 方法

1.3.1 合欢花药材的干燥处理

摘取新鲜合欢花药材,按照外观形态分为花蕾型(合欢米 *Albizia julibrissin* Durazz. flower bud, AJFB)和盛开型(合欢花 *Albizia julibrissin* Durazz. flower, AJF)2种规格(见图1)。取新鲜合欢花样品,均匀分成9份。取新鲜合欢花于干净托盘中,放置于阳光下干燥得到晒干样品;取新鲜合欢花于干净托盘中,放置于房间阴凉处通风干燥,及时翻动,得到阴干样品;取新鲜合欢花于冷冻干燥机中进行

冷冻干燥得到冷冻干燥样品;取新鲜合欢花于蒸汽锅中杀青4 min,取出置干净托盘中,然后在50℃烘箱中烘干得到蒸汽杀青后烘干样品;取新鲜合欢花于微波炉(700 W)中杀青4 min,取出置干净托盘中,然后在50℃烘箱中烘干得到微波杀青后烘干样品;取新鲜合欢花于干净托盘中,分别于30、50、70、90℃烘箱中干燥得到30、50、70、90℃烘干样品;取新鲜合欢米样品,均匀分成9份,按照上述合欢花样品方法干燥,样品均需干燥至含水量 $\leq 15\%$ ^[1]。将干燥后样品粉碎过三号筛(50目, $355 \pm 13 \mu\text{m}$),放干燥器中密封保存备用。



图1 不同规格合欢花药材

Fig. 1 *Albiziae* Flos in different specifications

1.3.2 总黄酮含量测定

参照文献总黄酮含量测定方法^[9]测定样品中总黄酮含量。

1.3.3 槲皮苷、槲皮素、异槲皮苷含量测定

1.3.3.1 对照品溶液的制备

分别精密称定槲皮苷对照品10.05 mg、异槲皮苷对照品6.02 mg、槲皮素对照品6.03 mg置于10 mL的容量瓶中,加甲醇溶解至刻度,定容,配成质量浓度分别为1.005、0.602、0.603 mg/mL的混合对照品溶液。

1.3.3.2 供试品溶液的制备

精密称取合欢花粉末(过三号筛)约2.0 g,放置于具塞锥形瓶中,然后加甲醇40 mL溶解并称定质量,超声处理40 min(40 kHz,300 W)取出放冷至室温后,用甲醇补足失重。先摇匀然后用滤纸滤去残渣,取上清液10 mL置于蒸发皿中,水浴(50℃)浓缩,加90%甲醇使溶解并定容至100 mL容量瓶中,用0.22 μm 微孔滤膜滤过,即得供试品溶液^[10]。

1.3.3.3 色谱条件

Welch Ultimate Polar RP 色谱柱(4.6 mm \times 250

mm,5 μm);甲醇(A)~0.1%磷酸水溶液(B)进行梯度洗脱(0~5 min,60% A;5~10 min,50% A \rightarrow 45% A;10~20 min,45% A \rightarrow 40% A;20~30 min,40% A \rightarrow 35% A;30~40 min,35% A \rightarrow 90% A;40~45 min,90% A \rightarrow 60% A;45~55 min,60% A)^[11];检测波长为360 nm;流速1 min/mL;柱温为35℃;进样量为10 μL ,合欢花药材样品溶液和混合对照品溶液 HPLC 色谱图(见图2)。

1.3.3.4 方法学考察

精密吸取“1.3.3.1”项下混合对照品工作液,按“1.3.3.3”项下色谱条件测定,以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,进行线性回归得回归方程(见表1)。

精密吸取“1.3.3.1”项下混合对照品工作液,连续进样6次,计算异槲皮苷、槲皮苷、槲皮素峰面积的RSD分别为0.35%、0.030%、0.050%,表明仪器精密性良好。

取晒干合欢花样品供试品溶液,按“1.3.3.3”项下色谱条件分别于0、2、4、8、12、24 h进样测定,计算异槲皮苷、槲皮苷、槲皮素峰面积的RSD分别

表 1 3 种黄酮类成分的线性关系

Table 1 Linear relationship of three flavonoid components

成分 Component	回归方程 Regression equation	线性范围 Linear range ($\mu\text{g/mL}$)	R^2
异槲皮苷 Isoquercitrin	$Y = 1.85 \times 10^7 X - 5.57 \times 10^3$	2.01 ~ 75.25	0.999 7
槲皮苷 Quercitrin	$Y = 2.06 \times 10^7 X - 1.79 \times 10^5$	50.25 ~ 502.50	0.999 1
槲皮素 Quercetin	$Y = 3.36 \times 10^7 X - 1.59 \times 10^3$	0.60 ~ 12.06	0.999 8

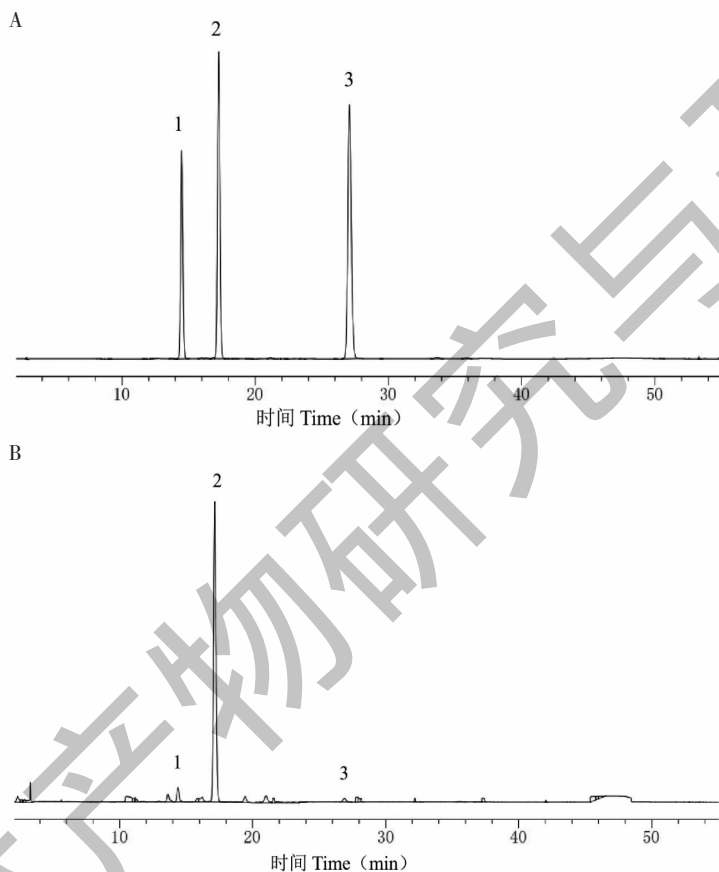


图 2 混合对照品溶液(A)和样品溶液(B)的 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of mixed controls (A) and samples solution (B)

注:1-异槲皮苷;2-槲皮苷;3-槲皮素。Note:1-Isoquercitrin;2-Quercitrin;3-Quercetin.

为 1.7%、0.14%、1.8%，表明在 24 h 内供试品溶液稳定性良好。

精密称取晒干合欢花样品粉末 6 份，按照“1.3.3.2”项下方法制备供试品溶液，按照“1.3.3.3”项下色谱条件进样测定。计算异槲皮苷、槲皮苷、槲皮素峰面积的 RSD 分别为 2.3%、0.56%、1.1%，表明该方法的重复性良好。

取已知含量的晒干合欢花样品（每 1 g 样品中含异槲皮苷、槲皮苷、槲皮素的量分别为 1.75、16.45、0.145 mg）粉末 6 份，每份约 1.0 g，精密称

定，分别加入混合对照品溶液（每 1 mL 分别含有异槲皮苷 0.182 3 mg、槲皮苷 1.638 5 mg 和槲皮素 15.20 μg ）10 mL 和甲醇溶液 30 mL，按“1.3.3.2”项下方法制备供试品溶液，按“1.3.3.3”项下色谱条件测定，计算加样回收率及 RSD 值，各成分异槲皮苷、槲皮苷、槲皮素回收率分别为 100.2%、100.0%、99.24%，RSD 值分别为 2.2%、0.29%、4.3%，表明方法较为准确可靠。

1.3.3.5 样品含量测定

分别精密吸取不同干燥处理合欢花药材样品的

供试品溶液,按“1.3.3.3”项下色谱条件测定异槲皮苷、槲皮苷、槲皮素含量。

1.3.4 抗氧化活性测定

1.3.4.1 Fe^{3+} 还原能力测定

参考文献方法测定样品 Fe^{3+} 还原能力^[8]。取 1 mL 供试品溶液(生药质量浓度为 5 mg/mL)加入 2.5 mL 磷酸盐缓冲液(pH 6.6)和 2.5 mL $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (1%, W/W)溶液中,50 °C 反应 20 min。冷却后,加入 2.5 mL 三氯乙酸(10%, W/V),离心(3 500 g)10 min。将上清液(2.5 mL)与蒸馏水(2.5 mL)和新鲜制备的 FeCl_3 溶液(1 mL, 0.1%, W/W)混合,取混合液 200 μL 置于 96 孔板中,在 700 nm 处立即记录吸光度。按公式计算 Fe^{3+} 还原能力: $R = A_1 - A_0$,式中, R 越大表明样品的还原能力越强, A_1 为加入样品后吸光度, A_0 为空白对照组吸光度。

1.3.4.2 DPPH 自由基清除能力测定

DPPH 自由基清除能力参考文献测定^[12-14]。取供试品溶液(生药质量浓度为 5 mg/mL)1 mL 与 3 mL DPPH(0.1 mmol/L)混合,将混合物摇匀,避光条件下室温保存 30 min,取混合液 200 μL 置于 96 孔板中,然后在 517 nm 处测定吸光度。DPPH 自由基清除率计算公式: $I = [1 - (A_2 - A_1)] / A_0 \times 100\%$ 。式中, I 表示清除率, A_2 为含空白溶剂的样品溶液, A_1 为含自由基工作溶液的样品溶液, A_0 为含有自由基工作溶液的空白溶剂。

1.3.4.3 ABTS 自由基清除能力测定

ABTS 自由基清除能力参考文献测定^[15,16]。将 7 mL ABTS(7 mmol/L)与 88 μL $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (140 mmol/L)混合,黑暗反应 14~16 h,得到 ABTS 工作溶液。然后用乙醇稀释,在 734 nm 处测得的吸光度为 0.70 ± 0.02 。然后,取 0.2 mL 供试品溶液(生药质量浓度为 5 mg/mL)和 8.8 mL ABTS 工作溶液完全混合,在避光条件下室温混合 15 min。在 734 nm 处测定吸光度。ABTS 自由基清除率计算公式: $I = [1 - (A_2 - A_1)] / A_0 \times 100\%$ 。式中, I 表示清除率, A_2 为含空白溶剂的样品溶液, A_1 为含自由基工作溶液的样品溶液, A_0 为含有自由基工作溶液的空白溶剂。

1.3.4.4 O_2^- 自由基清除能力测定

O_2^- 自由基清除能力参考文献测定^[17,18]。将 0.1 mL 供试品溶液(生药质量浓度为 5 mg/mL)与 4.5 mL Tris-HCl 缓冲液(50 mmol/L, pH 8.2)混合

在试管中,并将所得溶液置于 25 °C 的水浴中 20 min,然后加入 0.4 mL 邻苯三酚溶液(3 mmol/L)反应 6 min。最后加入 1 mL 盐酸(8 mmol/L)停止反应。取混合液 200 μL 置于 96 孔板中,在 320 nm 处测定吸光度。 O_2^- 自由基清除率计算公式: $I = [1 - (A_2 - A_1)] / A_0 \times 100\%$ 。式中, I 表示清除率, A_2 为含空白溶剂的样品溶液, A_1 为含自由基工作溶液的样品溶液, A_0 为含有自由基工作溶液的空白溶剂。

1.3.4.5 总抗氧化能力测定

总抗氧化能力参照文献测定^[19,20],首先用 1, 10-菲洛啉法绘制 FeSO_4 标准曲线, $Y = 1.329 7X - 0.018 3$ ($R^2 = 0.999 5$),然后精密移取系列稀释 100 倍供试品溶液(生药质量浓度为 5 mg/mL)1 mL, 0.2% FeCl_3 乙醇溶液 1 mL, 0.5% 1, 10-菲洛啉乙醇溶液 500 μL ,置于 10 mL 容量瓶中定容至刻度,黑暗处反应放置 20 min。以 1 mL 95% 的乙醇为空白对照,将样品放置于 96 孔板中,然后在 510 nm 处测定吸光度。将测得的吸光度数值代入上述标准曲线方程,计算不同样品 Fe^{2+} 当量, Fe^{2+} 浓度越高,表明样品具有越强的还原 Fe^{3+} 为 Fe^{2+} 的能力。

1.3.5 黄酮类成分与抗氧化活性相关性分析

将不同干燥处理合欢花药材的各化学成分标准化值分别与抗氧化活性标准化值进行 Spearman 相关性分析。

1.3.6 数据统计

采用 SPSS 27.0 软件对数据进行方差分析(ANOVA)、主成分分析、聚类分析和相关性分析,结果以基于样品重复数据($n = 3$)的平均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 Origin 2021b 软件进行绘图。

2 结果与分析

2.1 合欢花药材黄酮类成分测定

2.1.1 总黄酮类成分含量测定

总黄酮在不同干燥的合欢花药材样品中的含量(见图 3)。晒干、阴干、蒸汽杀青后烘干、90 °C 烘干、冷冻干燥对合欢花中总黄酮含量影响有显著差异($P < 0.05$),其中蒸汽杀青后烘干样品总黄酮含量最高,微波杀青后干燥和 70 °C 烘干、30 °C 烘干和 50 °C 烘干对合欢花中总黄酮含量影响无显著性差异,阴干的合欢花样品中总黄酮含量最低。与晒干的合欢米样品中总黄酮含量相比,其他干燥处理均显著提高总黄酮含量($P < 0.05$),冷冻干燥处理的

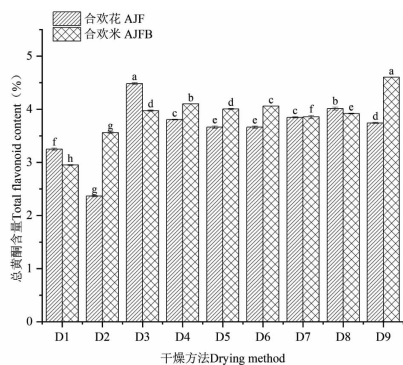


图3 不同干燥方法处理的2种规格合欢花药材中总黄酮含量

Fig. 3 The contents of total flavonoids in two specifications of Albiziae Flos treated with different drying methods
注:不同小写字母表示同一规格不同干燥样品间有显著性差异 ($P < 0.05$),下同。Note: Different lowercase letters indicate significant differences between different dried samples of the same specification ($P < 0.05$), the same below.

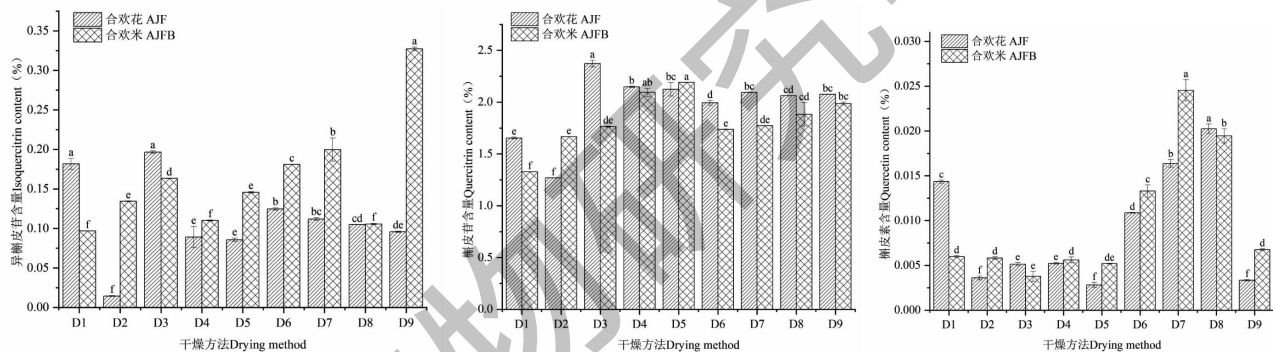


图4 不同干燥方法处理的2种规格合欢花药材中3种黄酮类成分含量

Fig. 4 The contents of three flavonoids in two specifications of Albiziae Flos treated with different drying methods

2.2 抗氧化活性

由于特异性和敏感性的限制,单一的抗氧化试验不能充分评估所研究的提取物中所有活性化合物,因此使用多种抗氧化方法来识别提取物的抗氧化机制至关重要。本研究分析不同干燥条件下2种规格合欢花药材提取物对 Fe^{3+} 还原能力、DPPH自由基清除能力、ABTS自由基清除能力、 O_2 自由基清除能力测定、总抗氧化能力的影响,结果见表2。冷冻干燥的合欢花样品对 Fe^{3+} 还原能力、DPPH自由基清除能力、ABTS自由基清除能力、总抗氧化能力影响最强($P < 0.05$)。70℃烘干样品对 O_2 自由基清除能力最强,冷冻干燥的合欢花样品对 O_2 自由基有一定清除能力,但与其他干燥样品相比无显著性差异。阴干和晒干样品对ABTS自由基清除能力、 O_2 自由基清除能力、总抗氧化能力最强,90℃烘干

合欢米样品中总黄酮含量最高。

2.1.2 异槲皮苷、槲皮苷、槲皮素含量测定

为综合评价合欢花药材的品质,测定干燥样品中异槲皮苷、槲皮苷、槲皮素等成分的含量(见图4)。蒸汽杀青后烘干的合欢花样品中异槲皮苷和槲皮苷含量最高,而槲皮素含量则较低。阴干的合欢花样品中异槲皮苷、槲皮苷和槲皮素含量都显著较低($P < 0.05$)。冷冻干燥的合欢米样品中异槲皮苷含量显著最高($P < 0.05$),其次是70、50℃、蒸汽杀青后烘干样品。30℃烘干和阴干样品,晒干、微波杀青后烘干和90℃烘干样品中异槲皮苷含量无显著性差异。冷冻干燥的合欢米样品中槲皮素含量较低,槲皮苷含量在冷冻干燥、微波杀青后烘干和30℃烘干条件下变化不显著,但含量显著高于其他干燥方法($P < 0.05$)。晒干的合欢米样品中异槲皮苷、槲皮苷和槲皮素含量都显著较低($P < 0.05$)。

样品对 Fe^{3+} 还原能力最弱,晒干和烘干样品对DPH自由基清除能力最弱。

70、90℃烘干和微波杀青后烘干合欢米样品对 Fe^{3+} 还原能力影响最强,且与其他干燥方法相比具有显著性差异($P < 0.05$)。70、90℃烘干样品对总抗氧化能力影响最强,且与其他干燥方法相比具有显著性差异($P < 0.05$)。冷冻干燥样品对DPPH自由基清除能力影响最强,显著优于其他8种干燥方式的处理($P < 0.05$)。90℃烘干样品对ABTS自由基清除能力影响最强,显著优于其他8种干燥方式的处理($P < 0.05$)。50、70℃烘干和蒸汽杀青后烘干样品对 O_2 自由基清除能力影响最强。阴干样品对 Fe^{3+} 还原能力、DPPH自由基清除能力、ABTS自由基清除能力、总抗氧化能力的影响最弱,且组间无显著性差异。

表2 不同干燥方式处理后2种规格合欢花类药材的抗氧化活性($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 2 Antioxidant activity of two specifications of Albizia flos after treatment with different drying methods($\bar{x} \pm s, n=3$)

规格 Specification	干燥方法 Drying method	抗氧化活性 Antioxidant activity				
		Fe ³⁺ 还原能力 Fe ³⁺ reducing ability	DPPH 自由基 清除能力 DPPH free radical scavenging ability(%)	ABTS 自由 基清除能力 ABTS free radical scavenging ability(%)	O ₂ 自由 基清除能力 Superoxide anionfree radical scavenging ability(%)	总抗氧化能力 Total antioxidant capacity
合欢花 AJF	D1	0.246 ± 0.008 ^{abc}	57.89 ± 3.654 ^e	62.977 ± 1.911 ^g	21.62 ± 2.632 ^c	0.116 ± 0.005 ^d
	D2	0.236 ± 0.003 ^{cd}	61.6 ± 2.043 ^{cd}	65.466 ± 0.473 ^{fg}	22.95 ± 0.069 ^c	0.122 ± 0.003 ^c
	D3	0.241 ± 0.008 ^{bc}	65.063 ± 0.439 ^{bc}	64.556 ± 4.618 ^{fg}	24.927 ± 1.443 ^{bc}	0.121 ± 0 ^c
	D4	0.257 ± 0 ^{ab}	65.653 ± 0.289 ^b	71.540 ± 0 ^{cd}	24.450 ± 0.346 ^{bc}	0.127 ± 0.002 ^b
	D5	0.263 ± 0.019 ^a	71.977 ± 0.282 ^a	74.306 ± 0.479 ^{bc}	23.370 ± 1.777 ^c	0.126 ± 0.003 ^{bc}
	D6	0.246 ± 0.005 ^{abc}	62.363 ± 1.461 ^{bc}	67.773 ± 0.161 ^{ef}	24.663 ± 0.531 ^{bc}	0.123 ± 0.002 ^{bc}
	D7	0.244 ± 0.016 ^{bc}	58.400 ± 2.338 ^{de}	74.950 ± 0.797 ^b	32.987 ± 2.499 ^a	0.126 ± 0 ^{bc}
	D8	0.220 ± 0.009 ^d	55.363 ± 3.215 ^e	70.347 ± 1.599 ^{de}	27.363 ± 3.158 ^b	0.123 ± 0.003 ^{bc}
	D9	0.256 ± 0.002 ^{ab}	74.850 ± 0.294 ^a	79.650 ± 0.797 ^a	21.813 ± 3.094 ^c	0.140 ± 0.003 ^a
合欢米 AJFB	D1	0.269 ± 0.010 ^c	60.084 ± 0.288 ^d	64.360 ± 0 ^{cd}	25.880 ± 0.208 ^b	0.134 ± 0.002 ^{cd}
	D2	0.234 ± 0.011 ^d	49.620 ± 1.32 ^f	59.420 ± 2.892 ^e	24.963 ± 0.393 ^{bc}	0.126 ± 0.001 ^d
	D3	0.273 ± 0.003 ^c	67.593 ± 0.439 ^b	65.650 ± 1.749 ^{cd}	26.070 ± 1.247 ^{ab}	0.143 ± 0.002 ^{bc}
	D4	0.301 ± 0.016 ^{ab}	65.060 ± 0 ^c	67.400 ± 1.437 ^{bc}	25.040 ± 0.329 ^{bc}	0.142 ± 0 ^{bc}
	D5	0.284 ± 0.008 ^{bc}	67.590 ± 0 ^b	62.617 ± 1.599 ^{de}	22.690 ± 1.975 ^c	0.146 ± 0.002 ^b
	D6	0.286 ± 0.002 ^{bc}	60.343 ± 0.289 ^d	65.470 ± 0.953 ^{cd}	26.297 ± 0.266 ^{ab}	0.139 ± 0.001 ^{bc}
	D7	0.305 ± 0.008 ^a	59.580 ± 0.294 ^d	67.770 ± 4.624 ^{bc}	28.310 ± 2.702 ^a	0.161 ± 0.012 ^a
	D8	0.310 ± 0.002 ^a	57.637 ± 0.289 ^e	78.913 ± 2.072 ^a	24.170 ± 0.398 ^{bc}	0.160 ± 0.006 ^a
	D9	0.279 ± 0.020 ^c	91.977 ± 0.150 ^a	69.980 ± 1.749 ^b	24.660 ± 0.814 ^{bc}	0.139 ± 0.003 ^{bc}

注:不同小写字母表示同一规格不同干燥样品间有显著性差异($P < 0.05$)。

Note: Different lower case letters indicate significant differences between different dried samples of the same specification ($P < 0.05$).

2.3 不同干燥处理的合欢花药材化学质量特征综合评价

2.3.1 主成分分析 PCA

以槲皮苷、槲皮素、异槲皮苷、总黄酮含量和 Fe³⁺ 还原能力、DPPH 自由基清除能力、ABTS 自由基清除能力、O₂ 自由基清除能力和总抗氧化能力为指标综合评价不同干燥方法对合欢花和合欢米质量的影响,利用 PCA 对合欢花和合欢米进行主成分分析。结果合欢花中提取了 3 个特征值大于 0.8 的主成分,三者累计方差贡献率达到 85.037%,合欢米中提取了 2 个特征值大于 0.8 的主成分,二者累计方差贡献率可达到 80.682% (见表 3)。说明合欢花和合欢米中 2-3 个主成分基本上可以客观地反映不同干燥方法处理后的样品质量,可用于对合欢花和合欢米进行综合评价。从载荷矩阵(见表 4)可以看出,合欢花主成分 1 主要反映 Fe³⁺ 还原能力、总

黄酮、总抗氧化能力、槲皮苷的信息表达,主成分 2 主要反映槲皮素的信息表达,主成分 3 主要反映异槲皮苷、O₂ 自由基清除能力的信息表达。合欢米主成分 1 主要反映槲皮苷、异槲皮苷、总黄酮含量和 Fe³⁺ 还原能力、DPPH 自由基清除能力、ABTS 自由基清除能力和总抗氧化能力的信息表达,主成分 2 主要反映槲皮素、O₂ 自由基清除能力的信息表达。利用各主成分和方差贡献率计算合欢花和合欢米综合得分,对不同干燥处理合欢花药材质量进行评价排序,质量越高综合得分越高,排序越靠前(见表 5)。

不同干燥方法对 2 种规格合欢花药材影响显著,综合评分表明盛开的合欢花适合宜采用 70 °C 烘干处理,花蕾期的合欢米宜采用冷冻干燥处理。阴干的合欢花样品综合得分最低,晒干和阴干的合欢米样品综合得分也排名靠后,综合评分表明阴干和晒干可能对合欢花和合欢米质量造成一定损失。

表3 主成分的特征值及方差贡献率

Table 3 The principal component value and contribution rate

规格 Specification	主成分 Principal component	特征值 Eigenvalue	方差贡献率 Variance contribution rate (%)	累计方差贡献率 Cumulative variance contribution rate (%)
合欢花 AJF	1	4.382	48.685	48.685
	2	1.944	21.604	70.288
	3	1.327	14.749	85.037
合欢米 AJFB	1	4.717	52.416	52.416
	2	2.544	28.266	80.682

表4 因子载荷矩阵

Table 4 Initial factor load matrix

合欢花各指标 AJF indicator	主成分 Principal component			合欢米各指标 AJFB indicator	主成分 Principal component	
	1	2	3		1	2
Fe ³⁺ 还原能力	0.906	0.098	-0.237	总抗氧化能力	0.912	0.155
总黄酮	0.9	-0.328	0.191	DPPH 自由基清除能力	0.905	-0.376
总抗氧化能力	0.861	0.252	-0.265	ABTS 自由基清除能力	0.848	0.460
槲皮苷	0.836	-0.467	0.113	总黄酮	0.833	0.296
ABTS 自由基清除能力	0.784	0.139	-0.419	槲皮苷	0.754	0.192
DPPH 自由基清除能力	0.273	-0.812	-0.012	异槲皮素苷	0.750	0.193
槲皮素	0.545	0.784	-0.032	Fe ³⁺ 还原能力	0.666	-0.534
异槲皮苷	0.528	-0.077	0.722	槲皮素	-0.222	0.941
O ₂ 自由基清除能力	0.215	0.497	0.673	O ₂ 自由基清除能力	-0.179	0.914

表5 不同干燥方法样品的主成分得分及其综合评价

Table 5 Principal component scores of samples with different drying methods and their comprehensive evaluation

规格 Specification	干燥方法 Drying method	主成分1得分 Principal Component 1 score	主成分2得分 Principal Component 2 score	主成分3得分 Principal Component 3 score	综合得分 Combined score	综合排序 Overall ordering
合欢花 AJF	D1	-0.93	0.97	1.26	-0.07	6
	D2	-4.75	0.96	-0.54	-2.57	9
	D3	1.16	-1.22	1.8	0.67	3
	D4	0.39	-0.61	-0.44	-0.01	5
	D5	-0.49	-1.47	-1	-0.83	8
	D6	-0.02	0.44	0.67	0.22	4
	D7	1.87	1.71	0.55	1.60	1
	D8	2.62	1.37	-1.82	1.53	2
	D9	0.15	-2.16	-0.47	-0.55	7

续表 5 (Continued Tab. 5)

规格 Specification	干燥方法 Drying method	主成分 1 得分 Principal Component 1 score	主成分 2 得分 Principal Component 2 score	主成分 3 得分 Principal Component 3 score	综合得分 Combined score	综合排序 Overall ordering
合欢米 AJFB	D1	-2.81	-1.93		-2.02	9
	D2	-1.48	-0.98		-1.05	8
	D3	-0.71	-0.73		-0.58	7
	D4	1.15	-0.60		0.43	4
	D5	2.01	-0.83		0.82	2
	D6	-0.42	0.04		-0.21	5
	D7	-0.21	3.18		0.79	3
	D8	-1.83	2.05		-0.38	6
	D9	4.30	-0.19		2.20	1

2.3.2 聚类分析 CA

通过系统聚类分析可进一步揭示了样品之间的差异和联系(见图 5),样品之间平方欧氏距离较长,对应的相似性较低,差异越大^[21]。

聚类分析显示,不同干燥处理的所有合欢花样品均可归入 4 个聚类。将晒干、50 °C 烘干、70 °C 烘干、蒸汽杀青后烘干、微波杀青后烘干和 30 °C 烘干处理的合欢花样品聚为一类,50 °C 烘干和 70 °C 烘干样品、蒸汽杀青后烘干和微波杀青后烘干样品特别接近,说明它们具有相似的理化和抗氧化性能。将经 30 °C 烘干处理的合欢花样品分为第 2 类,阴干样品分为第 3 类,冷冻干燥样品分为第 4 类。冷冻

干燥样品距离其他干燥方式样品最远,说明其与其他干燥方式差异最大。不同干燥处理的所有合欢米样品均可归入 3 个聚类。晒干、阴干、50 °C 烘干、蒸汽杀青后烘干和微波杀青后烘干处理的合欢米样品聚为一类,70 °C 烘干和 90 °C 烘干样品聚为第 2 类,30 °C 烘干和冷冻干燥样品分为第 3 类。这可能是由于合欢米在这些干燥过程中的化学反应和转化途径导致,这说明合欢米代谢产物的活性成分和抗氧化能力存在明显差异。合欢米样品的 3 个聚类距离差明显小于合欢花的,表明干燥方法对合欢米样品质量的影响差异小于合欢花样品。

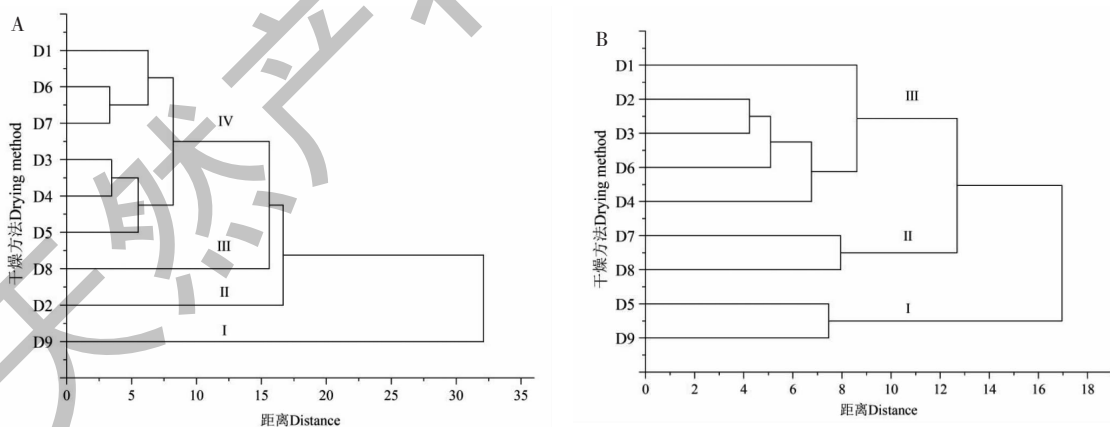


图 5 不同干燥方式处理后合欢花 (A) 和合欢米 (B) 的聚类分析

Fig. 5 Cluster analysis chart of AJF (A) and AJFB (B) treated with different drying methods

2.3.3 黄酮类成分与抗氧化活性相关性分析

2 种规格合欢花类药材的化学物质和抗氧化性能是质量归属的关键。因此,为了解释它们随不同干燥处理的变化,我们进行活性成分含量与抗氧化

活性的相关性分析。本研究中各变量之间的相关性不是线性的,且不完全满足方差齐性的条件^[22],同时为了避免由极值产生的虚假相关性^[23],采用 SPSS 中 Spearman 相关系数检验分析来揭示 2 种规

格合欢花类药材活性化合物与抗氧化活性之间的相互关系(见表6)。

总黄酮含量与异槲皮苷和槲皮苷含量呈显著正相关($P < 0.05$),与槲皮素呈正相关但不显著,槲皮苷含量可作为总黄酮含量大小的评价指标。5种抗氧化能力指标与4种活性成分之间的相关性表现不同。槲皮苷含量和总黄酮含量呈显著正相关($P < 0.05$),槲皮苷含量可作为总黄酮含量大小的评价指标,与 O_2 自由基清除能力呈正相关但不显著。槲皮苷含量和总黄酮含量与其他四种抗氧化指标呈显著正相关($P < 0.05$)或极显著正相关($P < 0.01$),

槲皮素含量与ABTS自由基清除能力呈显著正相关($P < 0.05$),异槲皮苷含量与5种抗氧化指标呈正相关或负相关,但不显著,推测槲皮苷和槲皮素可能是2种合欢花类药材主要抗氧化活性物质。 Fe^{3+} 还原能力和总抗氧化能力之间呈极显著正相关($P < 0.01$),这跟其原理均是研究活性成分的 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} 能力有关, O_2 自由基清除能力和DPPH自由基清除能力呈负相关不显著,其他抗氧化能力指标之间大部分呈正相关性不显著,这可能跟其应用范围有一定关系^[20]。

表6 不同干燥处理样品黄酮类成分与抗氧化活性相关性分析

Table 6 Correlation analysis of flavonoid composition and antioxidant activity of samples with different drying treatments

指标 Index	异槲皮苷 Isoquercitrin	槲皮苷 Quercitrin	槲皮素 Quercetin	总黄酮 Total flavonoid	Fe^{3+} 还原 能力 Fe^{3+} reducing ability	DPPH自由 基清除能力 DPPH free radical scavenging ability	ABTS自由 基清除能力 ABTS free radical scavenging ability	O_2 自由 基清除能力 Superoxide anionfree radical scavenging ability	总抗氧化 能力 Total antioxidant capacity
异槲皮苷 Isoquercitrin	1	-0.055	0.395	0.511 *	-0.195	0.253	0.381	0.193	-0.153
槲皮苷 Quercitrin	-0.055	1	-0.257	0.509 *	0.637 **	0.587 *	0.375	0.053	0.629 **
槲皮素 Quercetin	0.395	-0.257	1	0.152	0.011	-0.571 *	0.474 *	0.395	-0.024
总黄酮 Total flavonoid	0.511 *	0.509 *	0.152	1	0.084	0.451	0.736 **	-0.026	0.207
Fe^{3+} 还原能力 Fe^{3+} reducing ability	-0.195	0.637 **	0.011	0.084	1	0.247	0.133	0.034	0.832 **
DPPH自由基清除能力 DPPH free radical scavenging ability	0.253	0.587 *	-0.571 *	0.451	0.247	1	0.216	-0.366	0.221
ABTS自由基清除能力 ABTS free radical scavenging ability	0.381	0.375	0.474 *	0.736 **	0.133	0.216	1	0.038	0.188
O_2 自由基清除能力 Superoxide anionfree radical scavenging ability	0.193	0.053	0.395	-0.026	0.034	-0.366	0.038	1	0.142
总抗氧化能力 Total antioxidant capacity	-0.153	0.629 **	-0.024	0.207	0.832 **	0.221	0.188	0.142	1

注: * 在0.05级别(双尾),相关性显著; ** 在0.01级别(双尾),相关性显著。

Note: * At the 0.05 level (two tailed), the correlation was significant; ** At the 0.01 level (two tailed), the correlation was significant.

3 讨论与结论

本文研究传统干燥方法(晒干、阴干)、杀青干燥方法(蒸汽杀青后烘干、微波杀青后烘干)、烘干(30、50、70、90℃)和冷冻干燥对2种规格合欢花药材品质影响。建立HPLC法测定异槲皮苷、槲皮苷和槲皮素含量,采用紫外可见分光光度法测定总黄酮含量,比较不同干燥处理合欢花药材黄酮类成分含量差异。不同干燥处理的合欢花药材黄酮类成分含量差异显著。与传统干燥方法相比,蒸汽杀青后

烘干合欢花样品总黄酮含量、异槲皮苷、槲皮苷含量均显著较高,而槲皮素含量较低。冷冻干燥合欢米样品中总黄酮和异槲皮苷含量显著最高,蒸汽杀青后烘干样品槲皮苷含量显著最高。合适的“杀青”方法可以破坏新鲜植物体内酶活性,保留活性物质,此时透力较强的蒸汽杀青方法即能破坏细胞结构并抑制水解酶的活性,降低黄酮苷类成分的水解;冷冻干燥的过程中水分能直接从固态升华为气态除去,低温干燥可抑制水解酶的活性,也有利于活性成分

的保存^[24]。

合欢花中黄酮类成分异槲皮苷、槲皮苷及槲皮素为2种合欢花药材中主要活性成分,具有明显的抗氧化作用^[25-27]。本文采用5种抗氧化方法来评价合欢花类药材质量及其对不同自由基的清除活性,由于选择的5种抗氧化方法实验原理各不相同,可客观综合评价2种合欢花药材抗氧化活性。实验结果表明不同干燥处理合欢花药材样品抗氧化活性结果存在显著差异。相关性分析进一步表明,槲皮苷与DPPH自由基清除能力、 Fe^{3+} 还原能力、总抗氧化能力呈显著正相关($P < 0.05$),ABTS自由基清除能力与总黄酮含量呈极显著正相关($P < 0.01$),槲皮素含量与ABTS自由基清除能力呈显著正相关($P < 0.05$),总黄酮含量和槲皮苷含量呈显著正相关,槲皮苷含量可作为总黄酮含量大小的评价指标,推测槲皮苷和槲皮素是2种合欢花类药材主要抗氧化活性物质。

不同干燥处理对合欢花药材的化学成分含量和抗氧化活性均产生显著差异。PCA分析以槲皮苷、槲皮素、异槲皮苷、总黄酮含量和 Fe^{3+} 还原能力、DPPH自由基清除能力、ABTS自由基清除能力、 O_2 自由基清除能力和总抗氧化能力为指标综合评价不同干燥方法对合欢花和合欢米质量的影响,不同规格样品受干燥方式的影响差异显著,综合评价发现合欢花和合欢米均不宜采用阴干处理,阴干处理时间较长,可能导致样品发霉质量受损,合欢花适合采用70℃烘干处理,合欢米适合冷冻干燥处理,本研究为2种合欢花类药材初加工方法的合理选择、质控标准提高等研究提供参考。

参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol I (中华人民共和国药典: 第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 222.
- 2 Wang XY, Wu P, Gu JX, et al. *Albizia julibrissin* herbal examination [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2022, 44: 2613-2618.
- 3 Yahagi T, Daikonya A, Kitanaka S. Flavonol acylglycosides from flower of *Albizia julibrissin* and their inhibitory effects on lipid accumulation in 3T3-L1 cells [J]. Chem Pharm Bull, 2012, 60: 129-136.
- 4 Rong GQ, Geng CA, Mang BY, et al. Chemical constituents from ethyl acetate extract of flower of *Albizia julibrissin* [J].

- China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2014, 39: 845-1851.
- 5 Li R, Tian JF, Luo XJ, et al. Research progress on chemical components and pharmacological effects of the flowers of *Albizia julibrissin* Durazz. [J]. Tianjin Pharm (天津药学), 2022, 34: 66-71.
- 6 Chen LW, Qin KM, Zhu YH, et al. Research status and prospect of primary processing of traditional Chinese medicinal materials [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2015, 40: 602-606.
- 7 Cui JP, Geng XT, Cheng MC, et al. Examination of quality characteristics of *Rehmannia glutinosa* leaves by different fixation methods based on fingerprint and antioxidant activity [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 2022, 28: 197-204.
- 8 Wu Z, Gao RP, Li H, et al. How steaming and drying processes affect the active compounds and antioxidant specifications of *Gastrodia elata* Bl. f. *glauca* S. Chow [J]. Food Res Int, 2022, 157: 111277.
- 9 Wei W, Guo WY. Study on ultrasonic-surfactant extraction of total flavonoids from *Albizia julibrissin* flower by response surface methodology [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2015, 38: 606-609.
- 10 Wang M, Guo WY. Simultaneous determination of three flavonoids in *Albizia Flos* by RP-HPLC [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2013, 35: 1947-1950.
- 11 Li Y, Nie YS, Peng X, et al. Study on fingerprint pattern recognition of flower of *Albizia julibrissin* and determination of the content by HPLC [J]. Chin J Ethnomed Ethnopharm (中国民族民间医药), 2020, 29: 46-51.
- 12 Chouaibi M, Rezig L, Hamdi S, et al. Chemical characteristics and compositions of red pepper seed oils extracted by different methods [J]. Ind Crop Prod, 2019, 128: 363-370.
- 13 Sobuj MKA, Islam MA, Haque MA, et al. Evaluation of bioactive chemical composition, phenolic, and antioxidant profiling of different crude extracts of *Sargassum coriifolium* and *Hypnea pannosa* seaweeds [J]. Food Meas Charact, 2021, 15: 1653-1665.
- 14 Silva V, Falco V, Dias MI, et al. Evaluation of the phenolic profile of *Castanea sativa* Mill. by-products and their antioxidant and antimicrobial activity against multiresistant bacteria [J]. Antioxidants, 2020, 9: 87.
- 15 Sundaram V, Sadhasivam S, Chandrasekaran S, et al. *Strobilanthes heyneanus* root extract as a potential source for antioxidant and antimicrobial activity [J]. Futur J Pharm Sci, 2021, 7: 91.
- 16 Yang Y, Feng JW, Chen HP, et al. Correlation analysis of fla-

- vonoids content and antioxidant activity of *Zanthoxylum armatum* DC. [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2021, 33:1809-1817.
- 17 Tewari RK, Kumar P, Sharma PN. Antioxidant responses to enhanced generation of superoxide anion radical and hydrogen peroxide in the copper-stressed mulberry plants [J]. *Planta*, 2006, 223:1145-1153.
- 18 Lanez T, Henni M. Antioxidant activity and superoxide anion radical interaction with 2-(ferrocenylmethylamino) benzonitrile and 3-(ferrocenylmethylamino) benzonitrile [J]. *J Iran Chem Soc*, 2016 13:1741-1748.
- 19 Aleksandra SC, Csilla D, Katalin R, et al. Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods [J]. *Talanta*, 2008, 76:899-905.
- 20 Li F. Extraction of antioxidants from Rattan tea and evaluation the bioactivities of dihydromyricetin [D]. Zhengjiang: Jiangsu University (江苏大学), 2017.
- 21 An K, Zhao D, Wang Z, et al. Comparison of different drying methods on Chinese ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): Changes in volatiles, chemical profile, antioxidant properties, and microstructure [J]. *Food Chem*, 2016, 197:1292-1300.
- 22 Zebelman A, Vico I, Duduk N, et al. Profiling changes in primary metabolites and antioxidants during apple fruit decay caused by *Penicillium crustosum* [J]. *Physiol Mol Plant Pathol*, 2021, 113:101586.
- 23 Acosta-Quezada PG, Raig'on MD, Riofrío-Cuenca T, et al. Diversity for chemical composition in a collection of different varietal specifications of tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.), an Andean exotic fruit [J]. *Food Chem*, 2015, 169:327-335.
- 24 Zhang X, Zhang F, Gao XJ, et al. Effects of different drying methods on content of bioactive component and antioxidant activity in *Lycium ruthenicum* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2017, 42:3926-3931.
- 25 Xia BH, Zhou YM, Pin SL, et al. UPLC determination of isoquercitrin, an antioxidant active constituent of Isoquercitrin, rutin and astragaloside in *Morus alba* L. leaves [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2016, 39:586-589.
- 26 Xu JC. Study on *in-vitro* antioxidant activities of ethanol extracts of the leaves of *Lindera aggregata* (Sims) Kosterm and purification technology of quercitrin [D]. Hangzhou: Zhejiang University (浙江大学), 2015.
- 27 Lu J, Fu WJ, Yang EJ, et al. Effects of quercetin on growth performance, antioxidant capacity and intestinal microflora of hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus polyphekadion* ♂) [J]. *J Guangdong Ocean Univ* (广东海洋大学学报), 2022, 42:13-22.
- (上接第 174 页)
- 47 Jiang H, et al. Hedysarum polysaccharide mediates the STAT3 pathway to inhibit the immune escape of tumor cells in ovarian cancer mice [J]. *Immunol J* (免疫学杂志), 2023, 39:233-239.
- 48 Liu Y, et al. Effect of astragaloside on immune escape mechanism of NSCLC based on IL17A-PI3K/Akt-B7-H3 pathway [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2021, 44:2677-2682.
- 49 Li G, et al. Investigation on anti-tumor mechanism of tea polyphenol and epigallocatechin gallate based on immunity regulation [J]. *China Pharm* (中国药房), 2022, 33:3067-3072.
- 50 Ashrafzadeh M, et al. Curcumin therapeutic modulation of the Wnt signaling pathway [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2020, 21:1006-1015.
- 51 Zhang M, et al. Study on mechanism of inhibitory effect of 6, 7, 4'-trihydroxyisoflavone on immune escape of cervical cancer by up-regulating MICA/B expression [J]. *Chin J Immunol* (中国免疫学杂志), 2021, 37:2875-2879.
- 52 Tan X, et al. Gypenosides inhibits immune escape factors of non-small lung cancer cells by facilitating sTim-3/Tim-3 ratio [J]. *Immunol J* (免疫学杂志), 2021, 37:520-527.
- 53 Guo J, et al. Study on effect of diosgenin on inhibiting immune escape of cervical cancer microenvironment and its mechanism [J]. *Chin J Immunol* (中国免疫学杂志), 2021, 37:1830-1835.
- 54 Zhou H, et al. Influences of tetrandrine on the proliferation, apoptosis and immune escape of melanoma cells by regulating cGAS-STING signal pathway [J]. *Chin J Immunol* (免疫学杂志): 1-9 [2023-11-27]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/22.1126.R.20230412.1850.002.html>.
- 55 Que Z, et al. Study on the molecular mechanism of ganoderic acid intervention in IDO induced microenvironmental immune escape of lung cancer [C]//Proceedings of the 3rd Symposium of the Chinese Pharmacological Society (第三届中国药理学会补益药药理专业委员会学术研讨会论文集), 2011:38.
- 56 Cao QX, et al. Effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharide regulates ICOS/ICOSL's tumor suppression and immune escape in mice bearing cervical cancer [J]. *Chin J Immunol* (中国免疫学杂志), 2022, 38:833-837.