

藜蒿叶水提物对白色念珠菌的抗菌效应及强化措施

贤欢, 潘思轶, 徐晓云*

(华中农业大学 食品科学与技术学院, 武汉 430070)

[摘要] 目的:研究醇沉处理和中药配伍对藜蒿叶水提物抑制白色念珠菌生长作用的影响。方法:采用微量液基稀释法测定不同醇沉浓度纯化处理后的藜蒿叶水提物对白色念珠菌的抑制作用,包括对其菌体生长量、生物膜形成、芽管生成作用等方面的影响,并考察中药配伍对藜蒿叶水提物抗白色念珠菌活性的影响。结果:醇沉处理可显著降低藜蒿叶水提物对白色念珠菌的最小抑菌浓度(MIC),醇沉浓度90%处理使MIC₈₀(下降80%的药物质量浓度)由200 g·L⁻¹降至8 g·L⁻¹,同时增强了其对白色念珠菌芽管生成和生物膜形成作用的抑制效果;在选取的18种常见植物药材中,薰衣草、黄芩、莪术对藜蒿叶水提物表现出了显著的抑菌增效作用(部分抑制浓度指数<0.5),与黄芩联用时藜蒿叶水提物的MIC₈₀最小,达0.60 g·L⁻¹。结论:醇沉处理和中药配伍可显著提高藜蒿叶水提物对白色念珠菌的抑菌效果,为藜蒿副产物资源的综合利用提供参考。

[关键词] 藜蒿; 白色念珠菌; 抑菌活性; 中药; 醇沉处理

[中图分类号] R283.6;R862.2+3;R284.2;R931.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)20-0018-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016200018

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160829.1655.014.html>

[网络出版时间] 2016-08-29 16:55

Antifungal Activity and Strengthening Measures of Water Extract of *Artemisia selengensis* Leaves on *Candida albicans*

XIAN Huan, PAN Si-yi, XU Xiao-yun*

(College of Food Science & Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of alcohol precipitation and compatibility on inhibition of water extract of *Artemisia selengensis* leaves for *Candida albicans*. **Method:** Inhibition of water extract after alcohol precipitation with different concentration for *C. albicans* was determined by broth microdilution assay, including the inhibition of biomass growth, biofilm formation and germ tube formation. And the effect of compatibility between water extract and other herbs on activity of *C. albicans* was investigated. **Result:** Alcohol precipitation significantly reduced the minimum inhibitory concentration (MIC) of water extract to *C. albicans*, alcohol precipitation with 90% can let MIC₈₀ (down 80% of drug concentration) down from 200 g·L⁻¹ to 8 g·L⁻¹. Besides, the inhibition of biofilm formation and germ tube formation of *C. albicans* were improved. Among these selected 18 kinds of herbs, *Lavandula angustifolia*, *Scutellaria baicalensis* and *Curcuma phaeocaulis* showed significant synergistic effect for inhibition of *C. albicans* (fractional inhibitory concentration index was less than 0.5). MIC₈₀ of water extract was reduced to 0.60 g·L⁻¹ when combined with *S. baicalensis*. **Conclusion:** Alcohol precipitation and compatibility of water extract of *A. selengensis* leaves can improve its inhibitory activity for *C. albicans*.

[Key words] *Artemisia selengensis*; *Candida albicans*; inhibitory activity; Chinese materia medica; alcohol precipitation

[收稿日期] 20151118(017)

[基金项目] 国家科技支撑计划项目(2012BAD31B08)

[第一作者] 贤欢,在读硕士,从事天然产物化学研究,Tel:13886161477,E-mail:254878645@qq.com

[通讯作者] *徐晓云,博士,教授,从事天然产物化学研究,Tel:027-87671056,E-mail:xuxiaoyun@mail.hzau.edu.cn

民间以藜蒿鲜嫩茎秆供食(凉拌或炒食),其叶常被弃去,造成了大量资源浪费。目前,关于藜蒿的研究多以全草为主,多集中在活性成分的分析 and 提取工艺方面^[1-5];集中在藜蒿叶的研究较少,仅涉及挥发油的提取、成分分析及黄酮类成分的提取^[6-7]。藜蒿具有抗氧化、抗菌、抗肿瘤、护肝等活性^[8-12]。

研究报道藜蒿提取物对白色念珠菌具有抑制作用^[10-11],但鉴于提取物杂质较多,抑菌效果并不理想。而白色念珠菌是广泛存在于人体体表、黏膜上的一种条件致病性真菌^[13],口腔是该真菌在人体的主要分布区域。在口腔念珠菌患者的口腔内白色念珠菌属优势菌株,数量约占念珠菌总菌株的 61.6%,而分离得到的白色念珠菌中,78%的菌株具有形成生物膜的能力^[14]。随着白色念珠菌感染率日益增大,抗生素类药物、免疫抑制剂等的大量应用,白色念珠菌的耐药性问题已越发棘手。另外,治疗该类真菌感染的常规抗生素类药物多对肝、肾有较强的毒副作用^[15-16]。本实验拟研究乙醇纯化处理和中药配伍对藜蒿叶水提物抑制白色念珠菌生长的增效作用,为该水提物作为一种添加物应用于相关口腔保护提供依据,综合开发藜蒿资源的药用价值。

1 材料

6890N 型气相色谱仪和 5975B 型质谱仪(美国 Agilent 公司),SPME 型固相微萃取装置及萃取纤维头(美国 Supelco 公司),K9860 型全自动凯氏定氮仪(济南海能股份有限公司),Multiskan GO 型酶标仪(美国 Thermo 公司)。

芦丁(美国 Sigma,批号 101158599,纯度 $\geq 94\%$),熊果酸、麦角固醇和没食子酸(美国阿拉丁试剂有限公司,批号分别为 J1519045,26374,28105,纯度分别为 98.5%,95%,95%),RPMI-1640 培养基(美国 Hyclone 公司),小牛血清(美国 Gibco 公司),白色念珠菌 ATCC 90028(美国标准菌株贮藏中心),试剂均为分析纯。藜蒿采自武汉市蔡甸区金鸡村藜蒿生产基地,经华中农业大学汪李平教授鉴定为菊科植物藜蒿 *Artemisia selengensis* 的地上部分;受试 18 种植物药材购自安徽亳州苏紫养生堂,产地为安徽亳州,分别经湖北省中医院万明教授鉴定,均符合 2015 年版《中国药典》相关规定的要求。

2 方法与结果

2.1 受试提取物的制备及藜蒿叶水提物成分分析

2.1.1 藜蒿叶水提物和药材提取物的制备 摘取藜蒿鲜叶,50℃ 恒温烘干后粉碎,过 60 目筛待用;

称取适量藜蒿叶粉末和受试药材粉末,加 15 倍量沸水浸提 2 h 后过滤,收集滤液,滤渣按相同操作重复 2 次,合并滤液,减压浓缩;藜蒿叶浓缩液直接冷冻干燥得 WE₀,浓缩液分别加入无水乙醇使最终乙醇体积分数为 60%,70%,80% 和 90%,过滤,取上清液旋转蒸发去除乙醇后冷冻干燥,依次得到 WE₆₀,WE₇₀,WE₈₀,WE₉₀;药材提取液加入无水乙醇,使最终提取液中乙醇体积分数为 70%,过滤,取上清液旋转蒸发去除乙醇后冷冻干燥,得药材提取物。每 100 g 藜蒿叶加水提取,得 WE₀,WE₆₀,WE₇₀,WE₈₀,WE₉₀ 质量分别为 11.56,9.32,7.68,3.53,1.68 g。

2.1.2 醇沉对藜蒿叶水提物成分的影响 采用 AlCl₃-NaOH-NaNO₃ 比色法测定藜蒿叶水提物中总黄酮含量^[2],以芦丁为对照品;以熊果酸为对照品,采用香草醛-高氯酸比色法测定萜类成分含量^[17];以麦角固醇为对照品,利用 Liebermann-Burchard 显色法测定总甾体含量^[18];以葡萄糖为对照品,利用苯酚-硫酸法^[19]测定总多糖含量;运用凯式定氮法^[19]测定总蛋白含量,见表 1。结果发现醇沉可去除提取物中 >90% 的总糖,黄酮类、萜类及酚类的质量略微减小,但其相对质量分数基本呈上升趋势。

采用气相色谱-质谱联用技术分析提取物中挥发性小分子成分,气相条件为毛细管柱 HP-5(0.32 mm × 30 m × 0.25 μm),程序升温(初始温度 40℃,保持 12 min 后以 3℃·min⁻¹升至 160℃,保持 2 min 后以 8℃·min⁻¹升至 220℃,保持 3 min),载气 He,流速 1.2 mL·min⁻¹,压力 2.4 kPa,分流比 10:1。质谱条件为电子轰击离子源,电子能量 70 eV,离子源温度 230℃,四极杆温度 150℃,m/z 45~550。见表 2。结果发现 WE₀ 中鉴定出的酯类成分质量分数最高(15.93%),WE₉₀ 中所含醇、不饱和烯烃及酚类的总相对质量分数最高(49.05%)。WE₀ 含有大量糖类,是形成酯类的前体物。而醇沉去除了藜蒿叶水提物中多糖等大分子物质,而挥发性成分得以保留,使其所含萜类、酚类、醇和不饱和烯烃类,如右旋萜二烯、姜黄烯、香柠檬醇等的相对质量分数增大。

2.2 醇沉对藜蒿叶水提物抑制白色念珠菌生长作用的影响

2.2.1 菌体生长和生物膜形成 采用微量液基稀释法^[20]测定提取物对白色念珠菌的最小抑菌浓度(MIC)。将活化后的白色念珠菌菌体用 RPMI 1640 培养液配制并稀释为含菌量 1 × 10³ ~ 5 × 10³ CFU·mL⁻¹ 的菌悬液;无菌 96 孔板 1 至 11 号孔分别加入菌悬液 100 μL 和藜蒿叶水提物药液(以无菌培养液

表 1 醇沉对藜蒿叶水提取物中可溶性成分的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Effect of alcohol precipitation on soluble components in water extract of *Artemisia selengensis* leaves ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

提取物	总多糖	蛋白质	总黄酮	总酚	萜类	总甾体
WE ₀	6.73 ± 0.15	2.39 ± 0.56	0.31 ± 0.03	0.58 ± 0.10	0.57 ± 0.04	0.38 ± 0.11
WE ₆₀	4.30 ± 0.08	0.93 ± 0.97	0.27 ± 0.02	0.37 ± 0.07	0.48 ± 0.06	0.26 ± 0.09
WE ₇₀	3.36 ± 0.92	0.77 ± 0.26	0.22 ± 0.08	0.31 ± 0.06	0.45 ± 0.07	0.21 ± 0.12
WE ₈₀	1.44 ± 0.09	0.56 ± 0.05	0.12 ± 0.04	0.26 ± 0.09	0.41 ± 0.05	0.19 ± 0.09
WE ₉₀	0.61 ± 0.12	0.18 ± 0.09	0.11 ± 0.04	0.27 ± 0.08	0.40 ± 0.09	0.17 ± 0.06

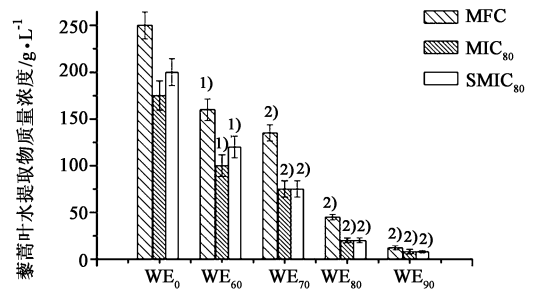
表 2 藜蒿叶水提取物醇沉后的挥发性成分 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Main volatile components in water extract of *Artemisia selengensis* leaves after alcohol precipitation ($\bar{x} \pm s, n = 3$) %

提取物	主要挥发性成分	相对质量分数
WE ₀	邻苯二甲酸二异丁酯	6.31 ± 1.35
	邻苯二甲酸二丁酯	5.77 ± 0.98
	α-封烯	1.41 ± 0.53
WE ₆₀	樟脑	1.25 ± 0.51
	邻苯二甲酸二异丁酯	9.78 ± 2.56
	邻苯二甲酸二丁酯	3.97 ± 0.86
	9-亚甲基-8,8-二甲基-1,5-环十一碳二烯	5.86 ± 1.73
WE ₇₀	2,6-二叔丁基对甲酚	1.61 ± 0.63
	邻苯二甲酸二异丁酯	5.74 ± 1.57
	邻苯二甲酸二丁酯	4.48 ± 0.79
	右旋萜二烯	4.01 ± 1.07
	姜黄烯	2.33 ± 0.77
WE ₈₀	2,6-二叔丁基对甲酚	1.67 ± 0.36
	右旋萜二烯	12.29 ± 2.05
	2,6,6-三甲基二环庚烷	6.90 ± 0.95
	1,6,9-十四碳三烯	6.51 ± 1.38
WE ₉₀	A-姜黄烯	3.22 ± 0.26
	2,6-二叔丁基对甲酚	16.34 ± 3.75
	香柠檬醇	8.05 ± 1.45
	芳姜黄烯	5.50 ± 1.53
	花侧柏烯	3.87 ± 0.61
	甘菊环烃	3.53 ± 0.39
	檀香烯	2.62 ± 0.53

配制) 100 μL 等度稀释至药物质量浓度 0 ~ 250 g · L⁻¹, 12 号孔以无菌培养液代替药液作阳性组, 同时以无菌培养液代替菌悬液作阴性组。采用酶标仪测定各孔在 600 nm 处吸光度, 与阳性相比下降 80% 的药物质量浓度为藜蒿叶水提取物的 MIC₈₀; 从高于 MIC₈₀ 培养孔中接种培养液 100 μL 于沙堡琼脂平板, 未见明显菌体生长 (CFU < 5) 的最低质量浓度为藜蒿叶水提取物的最低杀菌浓度 (MFC)^[21]。另外, 参照 Freires 等^[21] 结晶紫染色法, 在菌体培养 72 h 后测定各提取物对菌体生物膜形成产生 80% 抑制的最小质量浓度 (SMIC₈₀)。结果表明 WE₉₀ 对白色念

珠菌菌体生长和生物膜形成具有最强的抑制作用, 见图 1。醇沉处理提高了藜蒿叶水提取物对白色念珠菌的抑菌活性, 可能由于醇沉除去了大量益于白色念珠菌生长的营养物质, 如多糖、蛋白质等, 有助于藜蒿叶水提取物中抑菌活性物质发挥功效。



与 WE₀ 比较¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01

图 1 藜蒿叶水提取物对白色念珠菌菌体生长及黏附作用的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 1 Effect of water extract of *Artemisia selengensis* leaves on growth and adhesive action of *Candida albicans* ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

以总黄酮、萜类和总糖相对质量分数与 MIC₈₀ 进行回归分析, 得拟合方程分别为 $Y = 1\ 012.04 \times \exp(-X/2.43) + 8.59$ ($R^2 = 0.92$), $Y = 1.069 \times 10^8 \times \exp(-X/0.20) + 8.25$ ($R^2 = 0.96$), $Y = 9.362X - 337.53$ ($R^2 = 0.95$)。结果说明随着总糖相对质量分数的降低, 黄酮和萜类物质相对质量分数的升高, MIC₈₀ 呈显著降低的趋势。提示藜蒿叶水提取物中的糖类可能有益于菌体生长, 而黄酮类和萜类物质可能与抑菌活性相关。

2.2.2 芽管生成 用含 10% 小牛血清的 RPMI 1640 培养液将活化后的白色念珠菌菌体稀释成菌体浓度约 5×10^3 CFU · mL⁻¹ 的菌悬液, 分别加入 WE₀ 和 WE₉₀, 使培养液中药物终浓度分别为 0, MIC₈₀/4, MIC₈₀/2, MIC₈₀ (WE₀ 和 WE₉₀ 的 MIC₈₀ 分别为 200, 8 g · L⁻¹), 37 °C 恒温摇床 150 r · min⁻¹ 培养 2 h, 显微镜 (×40) 下观察各处理组菌体的芽管生成情况 (长度为菌体 2 倍以上视为芽管)。对照组白色念珠菌已形成可见假菌丝时, WE₀ 和 WE₉₀ 给药组 MIC₈₀ 处理浓度的菌体仍呈孢子状态。各处理组分

别选取 10 个显微镜观察视野,计算平均芽管生成率(芽管生成率 = 芽管生成细胞数/菌体细胞总数 × 100%)。结果表明 WE₀ 的 MIC₈₀/2 和 MIC₈₀/4 处理浓度组芽管生成率分别为 (34.11 ± 6.00)% 和 (65.08 ± 2.60)%, 即 WE₀ 处理组菌体在低于其 MIC₈₀ 处理浓度时表现出了芽管生成的趋势。而 WE₉₀ 给药组在 MIC₈₀/2 这一较低处理浓度时即可阻止菌体向菌丝相的转变,仍未观察到菌体芽管生成的现象,处理浓度为 MIC₈₀/4 时芽管生成率仅 (27.58 ± 2.60)%。

2.2.3 生长曲线 分别以不同浓度的 WE₈₀ 和 WE₉₀ 给药后,测定白色念珠菌菌体生长量随时间(1~7 d)的变化,绘制生长曲线,见图 2。结果显示未加药组的菌体生长量在整个实验周期中,表现出了先逐渐增长后保持平稳的趋势;WE₈₀ 处理组在处理浓度 ≤ 25 g·L⁻¹ 时,菌体生长仍可呈现增长的趋势,但其菌体生长量在各测试点均低于未加药组;而 WE₉₀ 处理组在给药浓度达 8 g·L⁻¹ 时,菌体生长已未见明显的增长趋势,说明该质量浓度下对白色念珠菌已有抑菌效果。

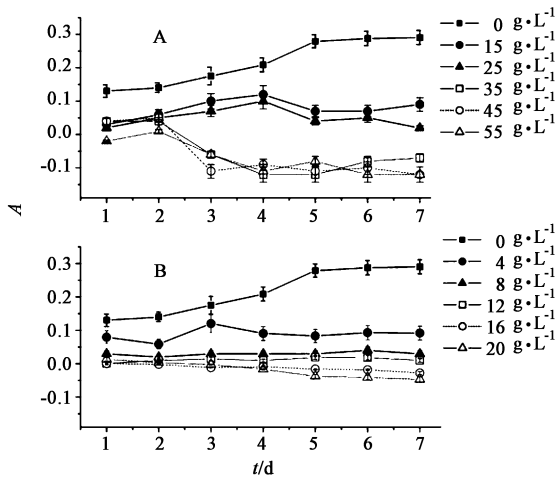
2.3 藜蒿叶水提物与常见药材对白色念珠菌的复合抗菌效果 测定 WE₉₀ 和药材提取物分别单独给药时对白色念珠菌产生 80% 抑制时的 MIC;采用棋盘微量稀释法^[20],以 WE₉₀ 和药材水提物分别在 96 孔板上纵向和横向倍比稀释,两药物以一系列质量浓度交叉配伍,测定对白色念珠菌产生 80% 抑制时两药物的最小浓度,即联合用药 MIC₈₀,以部分抑制浓度指数(FICI)评价联合用药的相互作用,FICI = 联合藜蒿叶水提物用药 MIC₈₀/WE₉₀ 单独用药

MIC₈₀ + 联合 WE₉₀ 用药 MIC₈₀/药材单独用药 MIC₈₀, FICI < 0.5 即可确定为协同作用。单独给药时,WE₉₀ 对白色念珠菌的抑制作用强于多数已报道对该菌有抑制作用的受试药材,见表 3。结果显示薰衣草、黄芩和莪术对藜蒿叶水提物抑制白色念珠菌生长表现出了协同作用;甘草、石榴皮等药材也可促进藜蒿叶水提物的抑菌活性(FICI < 1.0)。复合给药时,黄芩对藜蒿叶水提物表现出了最强的抗菌增效作用。

表 3 藜蒿叶水提物与 18 种药材单独或复合给药时对白色念珠菌的 MIC₈₀ 和 FICI

Table 3 MIC₈₀ and FICI of water extract of *Artemisia selengensis* leaves with or without 18 kinds of herbs on *Candida albicans*

名称	MIC ₈₀ /g·L ⁻¹			FICI
	单独给药	与 WE ₉₀ 联合给药	与藜蒿叶水提物联合给药	
WE ₉₀	8	-	-	-
艾叶	100	50.0	3.0	0.88
黄连	4	2.0	5.0	1.13
薰衣草	160	20.0	2.0	0.38
石榴皮	80	20.0	3.0	0.63
牡丹皮	40	10.0	3.0	0.63
黄柏	5	5.0	2.0	1.25
黄芩	60	15.0	0.6	0.33
肉桂	10	10.0	4.0	1.50
重楼	15	30.0	3.0	2.38
生姜	100	50.0	1.0	0.63
丁香	30	30.0	0.8	1.10
陈皮	200	25.0	4.0	0.63
马齿苋	150	50.0	3.0	0.71
连翘	100	25.0	3.0	0.63
鱼腥草	80	20.0	4.0	0.75
芍药	60	15.0	5.0	0.88
莪术	40	2.5	2.0	0.31
甘草	200	25.0	4.0	0.63



A. WE₈₀; B. WE₉₀

图 2 藜蒿叶水提物对白色念珠菌影响的时间-生长曲线($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 2 Time-growth curves of water extract of *Artemisia selengensis* leaves on *Candida albicans* ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3 讨论

藜蒿提取液的抗白色念珠菌活性已有报道,但研究结果显示其活性欠佳^[10-11],可能由于提取物未经过任何纯化处理,存在大量益于菌体生长的营养物质。色谱技术常用于活性成分的纯化,但纯化效率较低,成本较高。醇沉处理同样具备纯化作用^[22],本研究采用该方法去除了藜蒿叶水提物中大量多糖类成分,降低了碳水化合物促进白色念珠菌增殖的危险因素^[23];同时提高了萜类等抑菌活性相关物质的相对质量分数^[24]。

药物的联合应用以强化疗效成为了抗白色念珠菌感染治疗的一种发展方向。基于复合用药的理念,本研究提出了以中药配伍实现增强藜蒿叶水提

物抗白色念珠菌功效的方法,并筛选出了对藜蒿叶水提物抗白色念珠菌功效具有协同作用的 3 种药材,但未能明确复合增效机制。可能是由于药材中抑菌活性成分萜烯类^[25-26]、黄芩苷^[27-28]等与藜蒿叶水提物通过成分互补形成抑菌通路的多样化,实现了抗菌增效作用。

[参考文献]

[1] Peng L, Jia X, Wang Y, et al. Ultrasonically assisted extraction of rutin from *Artemisia selengensis* Turcz: comparison with conventional extraction techniques[J]. Food Anal Method, 2010, 3(3): 261-268.

[2] Zhang L, Tu Z C, Yuan T, et al. Solvent optimization, antioxidant activity, and chemical characterization of extracts from *Artemisia selengensis* Turcz[J]. Ind Crop Prod, 2014, 56(6): 223-230.

[3] 付明,任宝红,牛友芽,等.超声波辅助法提取藜蒿黄酮的工艺研究[J].怀化学院学报, 2009, 28(8): 40-43.

[4] 付明,夏伟,刘胜贵,等.藜蒿绿原酸的提取及抗脂质过氧化作用研究[J].怀化学院学报, 2011, 30(5): 23-26.

[5] 辛欣,范青生.藜蒿三萜的提取、分离及保护肝脏功能的研究[D].南昌:南昌大学, 2007.

[6] 孙菲,陈建雯,田昊,等.云南产藜蒿茎和叶挥发油的化学成分研究[J].云南中医学院学报, 2009, 32(5): 17-21.

[7] 扶庆权,侯佩,陈能.响应面法优化芦蒿叶总黄酮的提取工艺[J].食品科学, 2013, 34(4): 94-98.

[8] Shi F, Jia X, Zhao C, et al. Antioxidant activities of various extracts from *Artemisia selengensis* Turcz (LuHao)[J]. Molecules, 2010, 15(7): 4934-4946.

[9] Choi E, Park H, Lee J, et al. Anticancer, antiobesity, and anti-inflammatory activity of *Artemisia* species *in vitro* [J]. J Tradit Chin Med, 2013, 33(1): 92-97.

[10] 乔海霞,刘进军,张玉妥,等.东北藜蒿提取物体外抗菌作用的初步研究[J].河北北方学院学报:医学版, 2008, 25(6): 13-15.

[11] 尹卫东,乔海霞,张玉妥,等.藜蒿提取物对临床常见念珠菌的体外抗菌活性[J].山东医药, 2009, 49(3): 25.

[12] Choi E, Kim G. Effect of *Artemisia* species on cellular proliferation and apoptosis in human breast cancer cells via estrogen receptor-related pathway[J]. J Tradit Chin Med, 2013, 33(5): 658-663.

[13] Gozalbo D, Roig P, Villamon E, et al. *Candida* and candidiasis: The cell wall as a potential molecular target for antifungal therapy [J]. Curr Drug Targets, 2004, 4(2): 117-135.

[14] Muadcheingka T, Tantivitayakul P. Distribution of *Candida albicans* and non-*albicans Candida* species in

oral candidiasis patients: Correlation between cell surface hydrophobicity and biofilm forming activities [J]. Arch Oral Biol, 2015, 60(6): 894-901.

[15] Khan M S, Malik A, Ahmad I. Anti-candidal activity of essential oils alone and in combination with amphotericin B or fluconazole against multi-drug resistant isolates of *Candida albicans* [J]. Med Mycol, 2012, 50(1): 33-42.

[16] Taweechaisupapong S, Aieamsaard J, Chitropas P, et al. Inhibitory effect of lemongrass oil and its major constituents on *Candida* biofilm and germ tube formation [J]. S Afr J Bot, 2012, 81(4): 95-102.

[17] 胡漫妮. 枇杷果核中三萜类物质与多酚的分析研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2014.

[18] 张鹏. 珊瑚状猴头菌子实体化学成分及总甾体含量测定的研究 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2012.

[19] 谢笔钧, 何慧. 食品分析 [M]. 3 版. 北京: 科学出版社, 2009: 285-298.

[20] 安毛毛. Allicin 协同两性霉素 B 抗白色念珠菌机制研究 [D]. 上海: 第二军医大学, 2011.

[21] Freires I A, Murata R M, Furletti V F, et al. *Coriandrum sativum* L. (Coriander) essential oil: antifungal activity and mode of action on *Candida* spp., and molecular targets affected in human whole-genome expression [J]. PLoS One, 2014, 9(6): e99086.

[22] 王艳辉, 王伽伯, 郝庆秀, 等. 不同产地穿心莲的含量测定、化学指纹图谱及抑菌活性评价 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(9): 77-82.

[23] Jin Y, Samaranyake L P, Samaranyake Y, et al. Biofilm formation of *Candida albicans* is variably affected by saliva and dietary sugars [J]. Arch Oral Biol, 2004, 49(10): 789-798.

[24] Dalleau S, Cateau E, Berges T, et al. *In vitro* activity of terpenes against *Candida* biofilms [J]. Int J Antimicrob Agents, 2008, 31(6): 572-576.

[25] Estevinho M L, Afonso S E, Feás X. Antifungal effect of lavender honey against *Candida albicans*, *Candida krusei* and *Cryptococcus neoformans* [J]. J Food Sci Technol, 2011, 48(5): 640-643.

[26] Zhang H Y, Hu C X, Liu C P, et al. Screening and analysis of bioactive compounds in traditional Chinese medicines using cell extract and gas chromatography-mass spectrometry [J]. J Pharm Biomed Anal, 2007, 43(1): 151-157.

[27] Yang S, Fu Y, Wu X, et al. Baicalin prevents *Candida albicans* infections via increasing its apoptosis rate [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2014, 451(1): 36-41.

[28] Wang T M, Shi G X, Shao J, et al. *In vitro* antifungal activity of baicalin against *Candida albicans* biofilms via apoptotic induction [J]. Microb Pathog, 2015, 87: 21-29.

[责任编辑 刘德文]