

黄柏萃取物的抑菌活性 及其正丁醇萃取物化学成分分析

马欣¹, 成妍², 马蓉丽¹

(1. 运城职业技术大学健康学院, 山西运城 044000) (2. 山西农业大学园艺学院, 山西太原 030032)

摘要: 研究了黄柏提取物抑菌效果最强萃取相的抑菌活性及化学成分, 以期为新型植物源杀菌剂的开发奠定基础。采用超声波辅助醇提取法制备黄柏提取物, 依次用等体积的石油醚、三氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇分别萃取, 采用菌丝生长速率法测定各萃取相的抑菌活性, 采用 GC-MS 分析抑菌效果最强萃取相的化学成分。结果表明正丁醇萃取相的抑制作用最强, 抑菌率为 84.46%, 最小抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC) 为 20 mg/mL、半抑制浓度 (half maximal inhibitory concentration, EC₅₀) 值为 6.480 mg/mL。GC-MS 分析结果显示, 从正丁醇萃取相中分离鉴别出 26 种化合物, 以生物碱、有机酸、苷类、酰胺类等为主, 其中相对含量最高的成分是 5-(2-噻吩基)-4-嘧啶胺, 占 52.85%。黄柏枝皮提取物抗真菌活性成分主要存在于正丁醇部位, 以生物碱类化合物为主, 推测生物碱类化合物是黄柏枝皮抑制植物真菌病害的主要抑菌活性成分, 为今后研究黄柏在植物源杀菌剂方面的开发与应用提供了基础和参考依据。

关键词: 黄柏提取物; 抑菌活性; 化学成分; 气质联用

文章编号: 1673-9078(2021)04-96-101

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.4.1060

Antifungal Activities of Extracts and Chemical Constituents Analysis of

N-butanol Extract from *Phellodendron chinense*

MA Xin¹, GHENG Yan², MA Rong-li¹

(1. Public Health College, Yuncheng Vocational and Technical University, Yuncheng 044000, China)

(2. Horticulture College, Shanxi Agricultural University, Taiyuan 030032, China)

Abstract: The antifungal activity and chemical components of the extracts of *Phellodendron chinense* with the strongest antifungal effect were investigated to provide the foundation for the development of new botanical fungicides. The extract of *Phellodendron chinense* was prepared by ultrasonic-assisted ethanol extraction, and then extracted with equal volumes of petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, and n-butanol, respectively. The antifungal activity of each extract was determined by means of the mycelium growth rate method. The chemical components of the extract with the strongest antifungal effect were analyzed by GC-MS. The results indicated that n-butanol extract had the strongest inhibitory effect, with an antifungal rate of 84.46%, a minimum inhibitory concentration (MIC) of 20 mg/mL, and a half maximal inhibitory concentration (EC₅₀) value of 6.480 mg/mL, respectively. GC-MS analysis results showed that 26 compounds were separated and identified from n-butanol extract, mainly alkaloids, organic acids, glycosides and amides. The component with the highest relative content was 5-(2-Thienyl)-4-pyrimidinamine, accounting for 52.85%. The antifungal active ingredients of extracts of *Phellodendron chinense* branches and barks were mainly present in the n-butanol part, and were dominated by the alkaloids compound. It was supposed that the alkaloids compound was the main antifungal active ingredient of *Phellodendron chinense* branches and barks in inhibition of fungal diseases of plants, providing the

引文格式:

马欣,成妍,马蓉丽,等.黄柏萃取物的抑菌活性及其正丁醇萃取物化学成分分析[J].现代食品科技,2021,37(4):96-101

MA Xin, GHENG Yan, MA Rong-li. Antifungal activities of extracts and chemical constituents analysis of n-butanol extract from *Phellodendron chinense* [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(4): 96-101

收稿日期: 2020-11-17

基金项目: 山西省应用基础研究项目青年科技研究基金项目 (201801D221322); 山西省高等学校科技创新项目 (201804042)

作者简介: 马欣 (1985-), 女, 讲师, 研究方向: 植物病害生物防治与生物农药研究

通讯作者: 马蓉丽 (1957-), 女, 研究员, 研究方向: 蔬菜遗传育种

foundation and reference basis for development and application of botanical fungicides.

Key words: *Phellodendron chinensis* extract; antifungal active; chemical constituents; gas chromatography-mass spectrometry

黄柏, 为芸香科植物黄皮树 (*Phellodendron chinense* Schneid.) 的干燥树皮, 习称“川黄柏”^[1], 主产于我国四川、贵州、云南等地^[2]。黄柏性寒、味苦, 具有清热燥湿、泻火除蒸、解毒疗疮的功效^[2], 是临床常用中药。现代药理学表明, 川黄柏在抗菌消炎方面具有独特疗效^[3], 其对金黄色葡萄球菌、脑膜炎球菌、炭疽杆菌、痢疾杆菌、白喉杆菌、破伤风杆菌、溶血性链球菌等人体常见致病菌具有抑制作用^[4]。有研究表明黄柏除对人体致病菌具有抑菌活性外, 对多种植物病原真菌如稻瘟病菌、小麦纹枯病菌、稻纹枯病菌、小麦赤霉病菌、玉米小斑病菌等具有明显的抑制作用^[5,6], 笔者曾研究发现黄柏提取物对番茄枯萎病菌 (*Fusarium oxysporum* F. sp. *Lycopersici*) 的抑菌率高达 90%^[7], 对樱桃番茄主要采后病原菌如链格孢 (*Alternaria alternata*)、扩展青霉 (*Penicillium expansum*) 的抑菌率达 80%以上^[8], 因此, 黄柏可作为开发植物源杀菌剂的材料, 具有良好的开发潜力和应用前景。

植物能够产生多种次级代谢产物, 如生物碱、类黄酮、糖苷、单宁、萜类、皂甙、甾体、醌类等, 这些化合物是植物产生的天然抗菌活性物质^[9,10], 通过破坏细胞壁及细胞膜的完整性和抑制蛋白质、核酸的合成等途径抑制病原菌生长^[11]。目前, 已有研究表明黄柏药理作用的活性成分主要包括小檗碱、药根碱、巴马汀、非洲防己碱、木兰花碱、蝙蝠葛碱、黄柏酮、黄柏内酯等化合物^[4], 但黄柏对植物病原真菌的抑菌活性有效成分仍不清楚。因此, 本试验以黄柏为材料, 以番茄枯萎病菌为供试菌, 测定 5 种不同极性的萃取物的抑菌活性, 筛选出抑菌效果最强的萃取相, 对其抑菌活性进行研究, 采用 GS-MS 分析其化学成分, 为开发新型植物源杀菌剂奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 黄柏

供试中药黄柏, 购于山西省运城市中药市场, 使用枝皮部位。

1.1.2 供试菌种和培养基

番茄枯萎病菌病原菌 (*Fusarium oxysporum* F. sp. *Lycopersici*) 分离自发病番茄的根部, 由马铃薯葡萄糖琼脂 (PDA) 培养基 28 °C 下继代培养, 置于在 4 °C

冰箱保存备用。

1.2 方法

1.2.1 黄柏提取物的制备

采用超声波辅助醇提取法制备黄柏提取物。将阴干的黄柏枝皮在 45 °C 恒温电热鼓风干燥箱中吹干至发脆, 经粉碎后过 80 目筛备用。称取样品干粉 100 g, 用 70% 的乙醇按 6:1 (mL:g) 的液固比浸泡, 充分搅拌使溶剂完全浸没中草药材料, 置于避光处静置 24 h 后, 在 45 °C, 80 Hz 的条件下超声辅助提取 30 min, 减压抽滤得滤液, 残渣再次采取同样方法进行处理, 重复提取 3 次, 合并 3 次滤液。将滤液用旋转蒸发仪 40 °C 条件下减压浓缩至无溶剂蒸出 (呈浸膏状), 然后用 50% 的乙醇定容至 1000 mg/mL, 密封标记后置于 4 °C 冰箱中保存备用^[12]。

1.2.2 黄柏不同极性萃取物抑菌活性的测定

取质量浓度为 1000 mg/mL 的黄柏提取物原液, 旋转蒸发浓缩为浸膏, 用 100 mL 去离子水溶解, 得到混浊的水悬液, 摇匀, 依次用等体积的石油醚、三氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇分别萃取, 各级萃取液分别在 45、30、35、65 °C 下减压浓缩形成浆状物, 依次得到石油醚相、三氯甲烷相、乙酸乙酯相和正丁醇相, 正丁醇萃取后的剩余水溶液, 在 65 °C 下减压浓缩, 得到浆状物为水相^[13]。将上述各相萃取物用 50% 乙醇配制成质量浓度为 400 mg/mL 的溶液, 4 °C 保存备用。采用菌丝生长速率法^[14]测定各萃取相的抑菌活性, 取一定量的各萃取相溶液于 PDA 培养基中, 制备浓度为 10 mg/mL 的带药培养基, 取直径为 6 mm 的菌饼接种于培养皿中心, 每皿一个菌饼, 以含有 50% 乙醇的 PDA 培养基为对照, 每处理重复 3 次, 置于 28 °C 恒温培养箱中培养, 采用十字交叉法测量菌落直径, 计算各萃取相的抑菌率。

$$\text{抑菌率}/\% = \frac{\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径}}{\text{对照菌落直径}} \times 100\%$$

1.2.3 抑菌效果最强萃取相的最小抑菌浓度 (MIC) 的测定

经过抑菌活性测定, 确定最佳活性部位为正丁醇相, 采用二倍稀释法将质量浓度为 400 mg/mL 的正丁醇相溶液稀释, 制成终浓度为 0.078~40 mg/mL 的含药培养基, 待含药培养基凝固后, 吸取 20 μ L 孢子浓度为 10⁶ cfu/mL 的供试菌悬液均匀涂于含药培养基上, 以含有 50% 乙醇的 PDA 培养基为空白对照, 每处理

重复3次,置于28℃的培养箱中培养,2d后观察,以无菌生长的最低含药浓度为最小抑菌浓度(MIC) [15,16]。

1.2.4 抑菌效果最强萃取相对病原菌的室内毒力测定

选取抑菌活性较好的正丁醇相,将质量浓度为400 mg/mL的正丁醇相溶液按梯度稀释法稀释,制成最终质量浓度为16、8、4、2、1 mg/mL的含药培养基,采用菌丝生长速率法测定不同浓度正丁醇相溶液对病原菌生长的抑制作用,每处理重复3次,以含有50%乙醇的PDA培养基作为对照。使用SPSS 21.0软件,以正丁醇相溶液浓度的对数值为横坐标,平均抑制率的机率值为纵坐标,计算毒力回归方程、相关系数(r)、半数效应浓度(EC₅₀)和置信区间 [17]。

1.2.5 抑菌效果最强萃取相 GC-MS 化学成分分析

利用Agilent 7890B/5977B型气相色谱-质谱联用仪对最佳活性部位正丁醇相化学成分进行分析。升温程序为:起始温度50℃,保持2 min,以4℃/min的速度程序升温至300℃,保持2 min。气化室温度为250℃,载气为高纯氮气,载气流量为1.0 mL/min,分流进样,分流比为40:1,进样量1.0 μL。质谱分析条件:电离源为EI,电子能量70 eV,离子源温度230℃,四极杆温度150℃,质量扫描范围20~450 amu。采用标准质谱图库(NIST)进行检索,以质谱离子峰面积百分数表示各成分相对含量。

1.2.6 数据处理

采用SPSS 21.0软件对数据进行单因素方差分析,采用Duncan's多重比较法分析样本间的差异显著性。

2 结果与讨论

2.1 黄柏不同极性萃取物对番茄枯萎病菌的抑菌效果

由表1可知,黄柏不同极性萃取物对番茄枯萎病菌的抑菌效果存在明显差异。正丁醇相的抑菌效果最好,抑菌圈直径达到68.47 mm,抑菌率达80%以上。石油醚、氯仿和水相的抑菌圈直径分别为9.92、7.75、6.90 mm,抑菌率在10%左右,抑菌效果显著低于正丁醇相。乙酸乙酯相的抑菌效果最差,抑菌率为3.76%,对番茄枯萎病菌几乎没有抑制作用。此前有研究发现黄柏粗提物经正丁醇萃取后对链格孢(*Alternaria alternata*) [8]、扩展青霉(*Penicillium expansum*) [8]、意大利青霉(*Penicillium italicum*)、指

状青霉(*Penicillium digitatum*) [16]等植物病原真菌都表现出极强的抑菌活性,说明黄柏枝皮提取物抗真菌活性成分主要存在于正丁醇部位。

表1 黄柏提取物不同萃取相对番茄枯萎病菌的抑菌效果

Table 1 Antifungal activity of different polarity fractions of *P. chinense* Schneid. extracts against *F. oxysporum* F. sp. *Lycopersici*

萃取相	抑菌圈直径/mm	平均抑制率/%
石油醚相	9.92±0.49 ^c	12.23±0.01 ^b
氯仿相	7.75±1.28 ^d	9.56±0.02 ^c
正丁醇相	68.47±0.28 ^a	84.46±0.00 ^a
乙酸乙酯相	3.05±0.09 ^e	3.76±0.00 ^d
水相	6.90±0.47 ^d	8.51±0.01 ^c
黄柏粗提液	66.25±0.07 ^b	-
50%乙醇(对照)	-	-

注:同列数据右肩不同小写字母表示在5%平有显著性差异, $p < 0.05$ 。

2.2 正丁醇相对番茄枯萎病菌的室内毒力测定

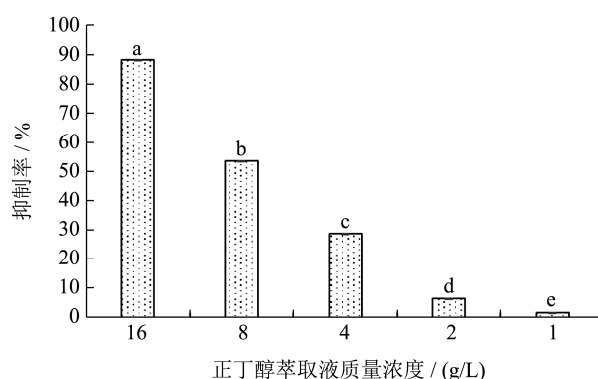


图1 不同浓度正丁醇萃取相对番茄枯萎病菌菌丝生长的抑制作用

Fig.1 Inhibitory effect of different concentrations of n-butanol extract against mycelia growth of *F.oxysporum* F. sp. *Lycopersici*

为了定量研究黄柏枝皮正丁醇相对番茄枯萎病菌的抑制作用,本试验测定了正丁醇相的最小抑菌浓度(MIC),进行了室内毒力试验。结果显示,正丁醇相对番茄枯萎病菌的MIC为20 mg/mL(表2)。不同浓度的正丁醇萃取相对番茄枯萎病菌的抑菌效果之间存在显著差异,如图1所示,当正丁醇萃取相浓度为1 mg/mL时,抑菌率为1.99%,几乎没有抑菌作用,随着溶液浓度增大,抑菌效果逐渐增强,当浓度为8 mg/mL时,抑菌率达到53.99%,当浓度为16 mg/mL时,抑菌率接近90%。利用回归分析方法评价正丁醇相对番茄枯萎病菌的毒力,由表2可知,毒力回归方

程的相关系数为 0.994,说明正丁醇萃取相质量浓度及 相对番茄枯萎病菌的 EC₅₀ 值为 6.480 mg/mL。 与之对应的抑菌率之间存在良好的线性关系, 正丁醇

表 2 正丁醇萃取相对番茄枯萎病菌的抑菌效果

Table 2 Antifungal activity of n-butanol extract against *F. oxysporum* F. sp. *Lycopersici*

供试菌种	MIC/(mg/mL)	毒力回归方程/(y=b+kx)	相关系数/r	EC ₅₀ /(mg/mL)	置信区间
番茄枯萎病菌	20	y=2.813+2.695x	0.994	6.480	5.058~8.304

表 3 黄柏枝皮正丁醇萃取相化学成分鉴定表

Table 3 Chemical compositions of *P. chinense* branchbark extracted with n-butanol

编号	保留时间/min	化合物名称	相对含量/%
1	59.64	5-(2-噻吩基)-4-嘧啶胺	52.85
2	65.22	2-(乙酰氧基甲基)-3-(甲氧基羰基)联苯	11.54
3	64.91	N-甲基-1-金刚烷乙酰胺	3.35
4	32.78	辛基-β-D-吡喃葡萄糖苷	2.73
5	34.52	右旋奎宁酸	2.64
6	66.72	1,4-二(三甲基硅烷基)苯	2.35
7	27.68	D(+)-洋地黄毒糖	1.71
8	33.17	正庚酸	1.70
9	34.78	α-甲基甘露呋喃糖苷	1.30
10	55.71	正二十烷	0.69
11	18.93	4-乙烯基-2-甲氧基苯酚(对乙烯基愈疮木酚)	0.58
12	42.71	1,2,3,4-四氢-3-甲基-2,4-二氧-7-苯基吡咯并[1,2-a]-1,3,5-三嗪-8-腈	0.54
13	16.20	5-羟甲基糠醛	0.53
14	37.73	反式芥子醇	0.44
15	57.86	3-甲基-2-[(三氟硫代乙酰基)亚氨基]-苯并噻唑啉	0.41
16	45.15	2-对乙酰丙酮	0.41
17	31.43	4-丙烯基-2-甲氧基苯酚(异丁香酚)	0.31
18	57.38	6-甲基-5-[1-哌啶基]-2,4-嘧啶二胺	0.26
19	25.16	2-乙基硫基-5-甲基咪唑啉	0.23
20	36.09	6-甲基苯并双环[2.2.1]庚烯酮-5	0.20
21	26.59	琥珀酸二正丁酯	0.17
22	37.17	4-乙基苯甲腈	0.16
23	49.37	10-甲基十八酸乙酯	0.14
24	54.03	正十八烷	0.11
25	43.79	α-甲基苯乙腈	0.08
26	31.91	2-乙基-己酸乙酯	0.07

2.3 黄柏枝皮正丁醇萃取相的化学成分分析

利用 GC-MS 对黄柏枝皮的正丁醇萃取相进行化学成分分析, 得到正丁醇萃取相化学成分的总离子流量图见图 2。通过 NIST 标准图库对各组分峰数据进行检索、人工谱图解析, 所鉴定的物质名称、保留时间、分子式、相对含量等结果见表 3。从正丁醇萃取相中共分离出 38 个峰, 鉴定出 26 种化合物, 占总峰面积的 89.73%, 其中化合物 5-(2-噻吩基)-4-嘧啶胺相对含量最高(52.85%), 其次为 2-(乙酰氧基甲基)-3-

(甲氧基羰基)联苯(11.54%)、N-甲基-1-金刚烷乙酰胺(3.35%)、辛基-β-D-吡喃葡萄糖苷(2.73%)。所鉴定的化合物主要是生物碱、有机酸、苷类、酰胺类等有机成分, 另外还有少量酚、酮、呋喃、酯类等物质, 其中含有 4 种生物碱、2 种有机酸、2 种苷类化合物、1 种酰胺类化合物, 相对含量分别为 53.74%、4.34%、4.03%、3.35%。

黄柏的化学成分报道最早见于日本学者村山义温等对日本产黄檗 *Phellodendron amurense* Rupr. 的研究, 从中分离得到小檗碱(berberine)及少量巴马汀

(palmatine), 此后国内外学者陆续报道了其他的化学成分^[1]。目前已从黄柏中分离鉴定出的化学成分主要包括生物碱类、柠檬苦素类、酚酸类、萜类、苯丙素类、挥发性成分、微量元素等^[4,18,19], 其中生物碱类是黄柏的主要活性成分之一^[20,21], 含量高达3%以上。黄柏中含有多种生物碱, 目前已从黄柏枝皮中分离得到25个生物碱类化合物, 主要包括小檗碱、巴马汀、药根碱、药根碱、黄柏碱、木兰碱等^[2,4,22]。本试验发现正丁醇萃取液以生物碱类化合物为主, 因此推测生物碱类化合物是黄柏抑制番茄枯萎病、樱桃番茄果实黑斑病和青霉果腐病^[8,14]等植物真菌病害的主要抑菌活性成分。

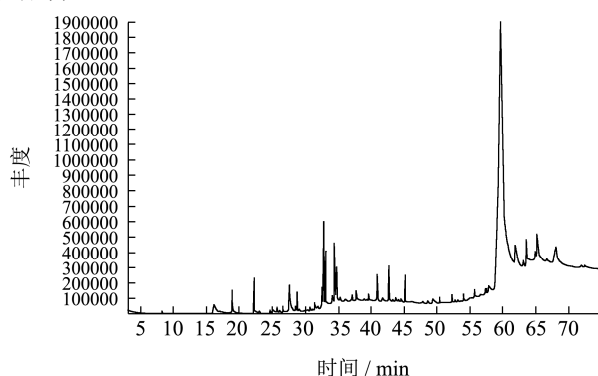


图2 黄柏枝皮正丁醇萃取相的GC-MS总离子流量图

Fig.2 GC-MS total ion chromatograms of n-butanol extract of *P. chinense* branchbark

3 结论

本实验以番茄枯萎病菌为指示菌, 对黄柏不同极性萃取物的抑菌活性进行测定, 研究结果表明, 正丁醇萃取相的抑制作用最强, 抑菌率为84.46%, 说明黄柏枝皮提取物抗真菌活性成分主要存在于正丁醇部位。进一步定量研究正丁醇萃取相的抑菌活性表明, 其对番茄枯萎病菌的抑制作用随着溶液质量浓度的增大而加强, MIC为20 mg/mL、EC₅₀值为6.480 mg/mL。GC-MS分析结果显示, 从正丁醇萃取相中分离鉴别出26种化合物, 以生物碱、有机酸、苷类、酰胺类等为主, 其中相对含量最高的成分是5-(2-噻吩基)-4-嘧啶胺, 占52.85%, 推测生物碱类化合物是黄柏枝皮抑制植物真菌病害的主要活性成分, 为今后研究黄柏在植物源杀菌剂方面的开发与应用提供了基础和参考依据。但具体的抑菌活性化合物仍不清楚, 有待进一步的分离纯化、筛选和鉴定。

参考文献

[1] 李艳萍, 李丹丹, 丁丽琴, 等. 黄柏非生物碱化学成分研究[J]. 中草药, 2016, 47(15): 2621-2626

LI Yan-ping, LI Dan-dan, DING Li-qin, et al. Non-alkaloids components from *Phellodendri* Cortex [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2016, 47(15): 2621-2626

[2] 刘洋, 冉聪, 游桂香, 等. 川黄柏中盐酸小檗碱 HPLC 测定优化及其抑菌活性评价[J]. 中国农业科技导报, 2020, 22(2): 179-186

LIU Yang, RAN Cong, YOU Gui-xiang, et al. Determination of berberine hydrochloride in crystal of *Phellodendron chinensis* by HPLC and evaluation of bacteriostatic activity [J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2020, 22(2): 179-186

[3] 闫玉鑫. 川黄柏的抗肿瘤化学成分研究[J]. 云南师范大学学报(自然科学版), 2015, 35(3): 75-78

YAN Yu-xin. Anticancer activity of constituents from *Phellodendron chinense* [J]. Journal of Yunnan Normal University (Natural Science Edition), 2015, 35(3): 75-78

[4] 李先宽, 冯杉, 郑艳超, 等. 黄柏与关黄柏的化学成分及生物活性研究进展[J]. 药物评价研究, 2019, 42(5): 1033-1037

LI Xian-kuan, FENG Shan, ZHENG Yan-chao, et al. Research progress on chemical constituents and bioactivity of *Phellodendri chinensis* Cortex and *Phellodendri Amurensis* Cortex [J]. Drug Evaluation Research, 2019, 42(5): 1033-1037

[5] 潘波, 蔡丽丽, 关丽杰. 22 种中草药提取物的抑菌活性研究[J]. 沈阳化工学院学报, 2007, 21(4): 257-260

PAN Bo, CAI Li-li, GUAN Li-jie. Studies on the antifungal activity of 22 kinds of Chinese herbs [J]. Journal of Shenyang University of Chemical Technology, 2007, 21(4): 257-260

[6] 唐静, 周立刚, 周亚明, 等. 黄柏果实提取物对植物病原真菌的抑制作用[J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20: 505-507

TANG Jing, ZHOU Li-gang, ZHOU Ya-ming, et al. Inhibitory effects of *Phellodendron chinense* Schneid. extracts on some phytopathogenic fungi [J]. Natural Product Research and Development, 2008, 20: 505-507

[7] 马欣, 乔俊卿. 中草药提取物对蔬菜土传病原真菌的抑制作用[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(6): 113-115

MA Xin, QIAO Jun-qing. Antifungal activity of Chinese herbal extracts against soil-borne pathogenic fungi of vegetables [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2015, 43(6): 113-115

[8] 马欣, 乔俊卿, 马蓉丽. 黄柏提取物对樱桃番茄采后主要病原菌的抑制效果[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(19): 186-191

MA Xin, QIAO Jun-qing, MA Rong-li. Effect of *Phellodendron chinense* extraction on inhibiting postharvest pathogens (*Alternaria alternata* and *Penicillium expansum*)

- of cherry tomato [J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(19): 186-191
- [9] Kim G, Gan R Y, Zhang D, et al. Large-scale screening of 239 traditional Chinese medicinal plant extracts for their antibacterial activities against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* and cytotoxic activities [J]. Pathogens, 2020, 9(3): 185
- [10] Elisha I L, Botha F S, McGaw L J, et al. The antibacterial activity of extracts of nine plant species with good activity against *Escherichia coli* against five other bacteria and cytotoxicity of extracts [J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2017, 17: 133
- [11] 邓超,付海田,谷鹏,等.长裙竹荪子实体乙醚和乙酸乙酯提取物的化学组成分析及抑菌活性研究[J].食品工业科技, 2014,22:128-134
- DENG Chao, FU Hai-tian, GU Peng, et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the extracts with ethylether and ethyl acetate from *Dictyophora indusiate* [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 22: 128-134
- [12] 马欣,马蓉丽,成妍,等.黄柏枝皮抑菌活性成分提取工艺及其稳定性研究[J].山东农业大学学报(自然科学版),2020, 51(4):587-592
- MA Xin, MA Rong-li, GHENG Yan, et al. Research on extraction process and stability of antifungal active components from *Phellodendron chinense* branch bark [J]. Journal of Shandong Agricultural University (Natural Science Edition), 2020, 51(4): 587-592
- [13] 吴永祥,程满怀,江海涛,等.白及萃取物的抑菌活性及其二氯甲烷萃取物化学成分分析[J].食品与机械,2017,33(12): 76-79
- WU Yong-xiang, CHENG Man-huai, JIANG Hai-tao, et al. Antibacterial activity of fractions and chemical constituents analysis of dichloromethane fraction from *Bletilla striata* [J]. Food and Machinery, 2017, 33(12): 76-79
- [14] 马欣,霍蓉,乔俊卿,等.黄柏提取物对番茄枯萎病的生物防治效果[J].江苏农业科学,2016,44(5):178-180
- MA Xin, HUO Rong, QIAO Jun-qing, et al. Biocontrol efficacy of *Phellodendron chinense* extraction on tomato fusarium wilt [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2016, 44(5): 178-180
- [15] 丁仁惠,何小娥,王文龙,等.柑橘采后主要病害植物源杀菌剂的筛选及抑菌效果分析[J].河南农业科学,2019,48(2): 91-97
- DING Ren-hui, HE Xiao-e, WANG Wen-long, et al. Screening of plant-derived fungicides for main diseases of postharvest citrus and analysis of antifungal effects [J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2019, 48(2): 91-97
- [16] 万春鹏,周梦娇,刘洋,等.桂枝抑制柑橘采后两种病原菌活性物质研究[J].江西农业大学学报,2014,36(2):319-325
- WAN Chun-peng, ZHOU Meng-jiao, LIU Yang, et al. Antifungal activity of *Ramulus cinamomi* extracts against two key *Citrus* postharvest pathogens [J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2014, 36(2): 319-325
- [17] 牛蓉,邱亚铁,倪林,等.羊蹄甲茎皮提取物抑菌活性及化学成分研究[J].农药,2018,57(3):184-188
- NIU Rong, QIU Ya-tie, NI Lin, et al. Study on the antifungal effect and chemical constituents from the extract of *Bauhinia purpurea* bark [J]. Agrochemicals, 2018, 57(3): 184-188
- [18] 雷华平,卜晓英,田向荣,等.超临界二氧化碳萃取川黄柏挥发性成分及其 GC-MS 分析[J].中国野生植物资源,2009, 28(6):61-62
- LEI Hua-ping, BU Xiao-ying, TIAN Xiang-rong, et al. Extraction of volatile compounds from *Phellodendron chinense* Schneid using supercritical carbon diox and GC-MS analysis [J]. Chinese Wild Plant Resources, 2009, 28(6): 61-62
- [19] 徐敏,万德光.川黄柏中微量元素的主成分分析和聚类分析[J].时珍国医国药,2008,19(1):151-153
- XU Min, WAN De-guang. Principal component analysis and cluster analysis of trace elements in *Phellodendron chinense* Schneid [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2008, 19(1): 151-153
- [20] Xian X, Sun B, Ye X, et al. Identification and analysis of alkaloids in cortex *Phellodendron amurense* by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization mass spectrometry coupled with photodiode array detection [J]. Journal of Separation Science, 2014, 37(13): 1533-1545
- [21] 陈瑶,张志鹏,张昭,等.土壤因子对关黄柏 10 种化学成分含量的影响[J].植物科学学报,2019,37(6):797-807
- CHEN Yao, ZHANG Zhi-peng, ZHANG Zhao, et al. Effect of soil factors on the content of chemical components in *Phellodendri amurenensis* Cortex [J]. Plant Science Journal, 2019, 37(6): 797-807
- [22] 高妍,周海芳,刘朵,等.黄柏化学成分分析及其药理作用研究进展[J].亚太传统医药,2019,15(4):207-209
- GAO Yan, ZHOU Hai-fang, LIU Duo, et al. Chemical composition analysis and pharmacological research progress of Cortex *Phellodendri* [J]. Asia-Pacific Traditional Medicine, 2019, 15(4): 207-209

