

土荆芥挥发油的化学成分及抗菌活性研究

聂小妮^{1,2},梁宗锁^{1,2},段琦梅^{1,2},兰晓继^{1,2}

(1 西北农林科技大学 生命科学学院,陕西 杨凌 712100;2 陕西省中药指纹图谱与天然产物库研究中心,陕西 杨凌 712100)

[摘要] 【目的】研究陕西土荆芥挥发油的化学成分及对15个临床消毒常见菌株的抗菌性能,为土荆芥天然消毒杀菌产品的开发利用提供科学依据。【方法】采用水蒸汽蒸馏法提取土荆芥挥发油,GC-MS测定其化学成分,分别用连续2倍梯度液体稀释法、液体转染法测定最小抑菌浓度(MIC)和最小杀菌浓度(MBC)。【结果】从陕西土荆芥挥发油中共检测到16种化学成分,并鉴定出了其中的15种成分,主要化学成分有p-伞花烃(29.95%)、驱蛔素(22.97%)、冰片烯(20.74%)、 α -松油烯(17.67%);在临床消毒常见的15种菌种中,土荆芥挥发油除对绿脓假单胞菌CMCC10211株无抑制作用外,对炭疽芽孢杆菌CMCC63001、白假丝酵母菌CMCC850216、乙型溶血性链球菌CMCC32210等其他14株标准菌株均有较好的抑制作用。【结论】陕西土荆芥挥发油的主要化学成分为p-伞花烃、驱蛔素、冰片烯和 α -松油烯;土荆芥挥发油具有广谱抗菌作用,对临床消毒常见的致病菌有较强的抑制和灭活作用。

[关键词] 土荆芥;挥发油;抗菌活性

[中图分类号] R284.1;R285.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2010)11-0151-05

Chemical constituents and antibacterial activities of essential oils from *Chenopodium ambrosioides* L.

NIE Xiao-ni^{1,2}, LIANG Zong-suo^{1,2}, DUAN Qi-mei^{1,2}, LAN Xiao-ji^{1,2}

(1 College of Life Sciences, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Shaanxi Research Center in Traditional Chinese Medicine Fingerprint & Natural Product Library, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】The chemical constituents and antibacterial activities of volatile oil from *Chenopodium ambrosioides* L (CML) were studied for its exploitation. 【Method】The volatile oil was extracted by steam distillation from CML, its chemical constituents were identified by GC-MS, meanwhile the anti-bacterial activities were expressed by minimal inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) and tested by continuous double dilution method and liquid infection protocol methods, respectively. 【Result】Sixteen components were detected and fifteen components were identified. The main chemical constituents of volatile oil from CML were p-cymene (29.95%), Ascaridole (22.97%), Bornylene (20.74%), and α -terpinene (17.67%). The volatile oil exhibited significant antibacterial activities to the common 15 bacterial strains (*Bacillus anthracis* CMCC63001, *Candida albicans* CMCC850216 and *Streptococcus hemolysis-β* CMCC32210 etc) of clinical sterilization except *Pseudomonas aeruginosa* CMCC10211 strain. 【Conclusion】The main chemical constituents of volatile oil from CML were p-cymene, Ascaridole, Bornylene, and α -terpinene. The volatile oil exhibited significant antibacterial activities.

Key words: *Chenopodium ambrosioides* L.; volatile oil; antibacterial activity

随着抗菌素种类的增多及其广泛使用,细菌耐药性问题日趋严重,药物的不良反应也在不断增加,

* [收稿日期] 2010-07-20

[基金项目] 国家“十一五”科技支撑计划项目(2008BAD98B08);中国科学院知识创新项目(KZCX2-XB2-05-01)

[作者简介] 聂小妮(1975—),女,陕西蓝田人,讲师,在读博士,主要从事中药化学研究。E-mail:niexiaoni@yahoo.com.cn

[通信作者] 梁宗锁(1965—),男,陕西扶风人,教授,博士生导师,主要从事中药化学研究。E-mail:Liangzs@ms.iswc.ac.cn

加之化学合成药物开发难度大、毒副作用强,使得源于中草药成分的消毒杀菌产品受到广泛关注^[1-3]。

土荆芥(*Chenopodium ambrosioides* L.)为藜科藜属植物,广泛分布于世界热带、亚热带及温带地区,以全草入药,具有祛风、除湿、杀虫、通经、止痛等功效,其挥发油具有镇痛、镇静及驱虫作用^[4-5]。近十年来,有关土荆芥全草及其挥发油化学成分的研究较多,结果表明,不同产地土荆芥挥发油的成分差异较大^[6-12],但对土荆芥挥发油抑菌抗菌性的研究鲜有报道。Okazaki 等^[13]研究认为,土荆芥挥发油对发癣菌等真菌有良好的抑制作用;王瑞明等^[14]认为,土荆芥挥发油有显著的抗溃疡及抑制幽门螺杆菌的作用;潘馨等^[15]通过初步体外抑菌试验得知,土荆芥挥发油对霉菌、金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌、枯草杆菌、肺炎双球菌等有较强的抑制作用。

上述研究样本均为生长于热带或亚热带地区的土荆芥挥发油,主要成分差异较大。本试验采用水蒸汽蒸馏法提取了陕西杨凌土荆芥的挥发油,采用 GC-MS 分析了其主要成分,并参考我国消毒技术规范(2003 版)中对于皮肤及器械消毒所要求的试验菌种,选取金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)等 15 种标准菌株,研究了土荆芥挥发油对这 15 个菌株的抗菌性能,以期为土荆芥天然消毒杀菌产品的开发利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料

土荆芥于 2009-08 采自陕西杨凌西北农林科技大学药用植物园,经西北农林科技大学药用植物教研室张跃进副教授鉴定,均为藜科藜属植物土荆芥(*Chenopodium ambrosioides* L.)。

1.2 挥发油的提取

取土荆芥适量,切成 0.5 cm 大小,放入 2 000 mL 圆底烧瓶中,采用文献[16]中的挥发油提取法(XD 甲法)提取,得到浅黄色透明挥发油,用无水硫酸钠脱水后密封,4 ℃ 遮光保存备用。

1.3 挥发油组分的测定

采用 GC-MS 气质联用仪(TRACE GC 2000/DSQ,美国热电公司),对土荆芥挥发油的化学成分进行分析测定。GC 条件: DB5 柱 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm);进样口温度 220 ℃;程序升温:60 ℃(2 min)→3 ℃/min→120 ℃(4 min)→10 ℃/min→240 ℃(20 min)→250 ℃(5 min);载气为高纯氮气,分流比 1 : 30,进样量 0.4 μL;GC/MS 接口温度 250 ℃;MS: EI 源(70 eV),离子源温度 220 ℃;扫描范围 30~500 m/Z。采用 NIST 质谱标准库,用计算机检索确定各成分,通过面积归一化法计算各组分的相对含量。

250 ℃(5 min);载气为高纯氮气,分流比 1 : 30,进样量 0.4 μL;GC/MS 接口温度 250 ℃;MS: EI 源(70 eV),离子源温度 220 ℃;扫描范围 30~500 m/Z。采用 NIST 质谱标准库,用计算机检索确定各成分,通过面积归一化法计算各组分的相对含量。

1.4 挥发油的抑菌试验

1.4.1 供试菌株 供试的 15 株菌株分别为金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)CMCC26112 株、表皮葡萄球菌(*S. epidermidis*) CMCC26069 株、卡他布朗汉姆氏菌(*Branhamella catarrhalis*)CMCC29103 株、甲型溶血性链球菌(*Streptococcus hemolysis-α*) CMCC32209 株、乙型溶血性链球菌(*Streptococcus hemolysis-β*) CMCC32210 株、肺炎克雷伯氏菌(*Klebsiella pneumoniae*) CMCC46117 株、肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*) CMCC31001 株、大肠埃希氏菌(*Escherichia coli*) CMCC44113 株、伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhi*) CMCC50127 株、福氏志贺氏菌(*Shigella flexneri*) CMCC51573 株、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) CMCC63501 株、变形杆菌(*Proteus* sp.) CMCC49027 株、炭疽芽孢杆菌(*Bacillus anthracis*) CMCC63001 株、绿脓假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*) CMCC10211 株和白假丝酵母菌(*Candida albicans*) CMCC850216 株。以上菌株冻干菌种由中国药品生物制品检定所中国医学细菌保藏中心提供,−80 ℃ 低温冰箱冻存,试验前复苏传代使用。

1.4.2 菌悬液的配制 将供试菌株菌种复苏,传代接种于 LB 培养液(甲型溶血性链球菌、乙型溶血性链球菌、肺炎球菌接种于含体积分数 5% 新生牛血清的 LB 肉汤)中,置普通培养箱中 37 ℃ 培养 24 h,采用比浊法与麦氏比浊管对比测定细菌数,用 LB 培养液调配成 10⁶ CFU/mL 菌悬液,并于 2 h 内使用。

1.4.3 抗菌活性的测定 采用连续 2 倍梯度液体稀释法测定最小抑菌浓度(Minimal inhibitory concentration, MIC),液体转染法测定最小杀菌浓度(Minimum bactericidal concentration, MBC)^[17]。

1) 最小抑菌浓度(MIC)的测定。配制葡萄糖发酵培养液(含溴甲酚紫指示剂),加入体积分数 10% 的吐温-80,用 1 mol/L NaOH 溶液调整 pH 至 7.4,灭菌处理。用体积分数 10% 吐温-80 葡萄糖发酵培养液,对 500 μL/mL 土荆芥挥发油进行连续 2 倍梯

度稀释, 共稀释为 11 个梯度(500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.63, 7.81, 3.91, 1.95, 0.98, 0.49 μL/mL), 按梯度顺序逐列加到 96 孔细胞培养板中, 0.2 mL/孔, 再逐行依次加入 10⁶ CFU/mL 的菌悬液, 10 μL/孔, 同时设立细菌以及培养基对照。测定样本对甲型溶血性链球菌、乙型溶血性链球菌和肺炎球菌的 MIC 时, 于培养液中加入体积分数 5% 的新生牛血清, 振荡器上混匀, 置普通培养箱中 37 °C 培养 48 h, 取出培养板观察结果。孔内培养液由清澈变浑浊、颜色由紫变黄, 表明有细菌生长, 无抑菌作用; 培养液为紫色清澈液体, 说明细菌生长为阴性, 有抑菌作用。能抑制细菌生长的最小样本浓度即为最小抑菌浓度(MIC)。

2) 最小杀菌浓度(MBC)的测定。观察记录 MIC 结果后, 将 MIC 孔、2×MIC 孔、4×MIC 孔、8×MIC 孔 4 个孔中的培养物各吸取 10 μL, 对应接

种到不含样本的无菌葡萄糖发酵培养液中(0.2 mL/孔), 并设立细菌和培养液对照, 其中甲型溶血性链球菌、乙型溶血性链球菌和肺炎球菌的培养液中加入体积分数 5% 新生牛血清, 混匀后置普通培养箱中 37 °C 培养 48 h, 观察结果。细菌生长阴性孔所对应的样本最小浓度即为最小杀菌浓度(MBC)。

2 结果与分析

2.1 土荆芥挥发油的化学成分

经 GC-MS 分析可知, 从土荆芥挥发油中共检测出 16 种化学成分(图 1), 鉴定出的其中 15 种成分, 占挥发油色谱峰总面积的 99.31%。在土荆芥挥发油的 15 种化学成分中, 相对含量较高的有 p-伞花烃(29.95%)、驱蛔素(22.97%)、冰片烯(20.74%)、α-松油烯(17.67%)、麝香草酚(1.47%)、异松莰酮(1.32%)等, 详见表 1。

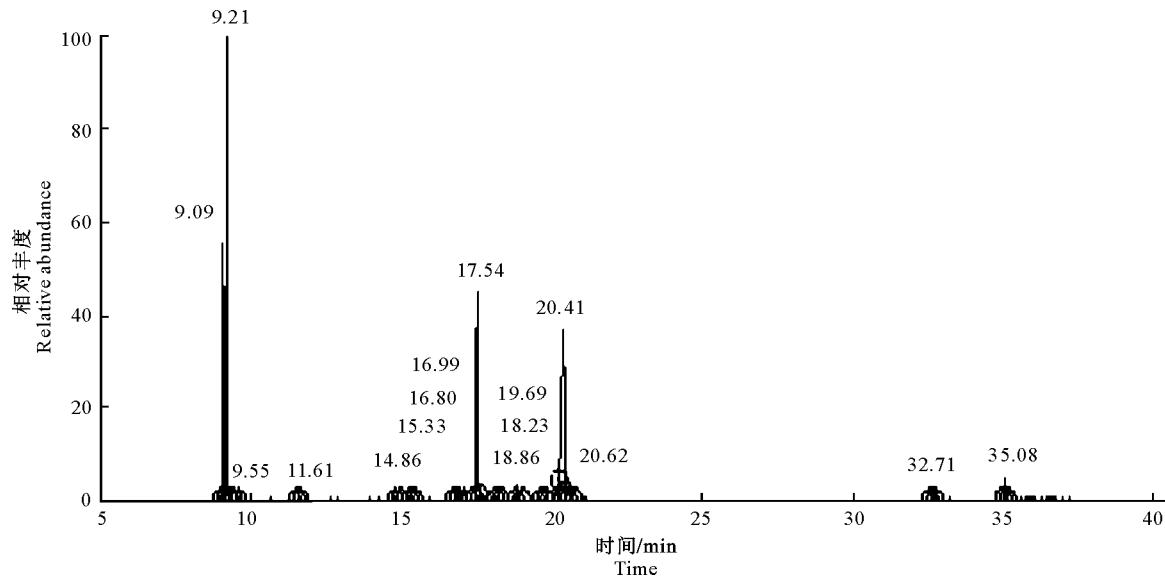


图 1 土荆芥挥发油的总离子流色谱图

Fig. 1 Total ion current chromatogram of essential oils from *C. ambrosioides* L.

表 1 土荆芥挥发油的化学成分

Table 1 Chemical constituents of volatile oil from *C. ambrosioides* L.

编号 No.	保留时间/min Retention time	化合物 Compound	分子式 Formulum	相对分子质量 Relative molecular weight	相对含量/% Content
1	9.09	α-松油烯 α-terpinene	C ₁₀ H ₁₆	136	17.67
2	9.21	p-伞花烃 p-cymene	C ₁₀ H ₁₄	134	29.95
3	9.55	蒈烯 3-Carene	C ₁₀ H ₁₆	136	0.39
4	11.61	二甲基丙烯苯 Benzene (2-methyl-1-propenyl)	C ₁₀ H ₁₂	132	0.38
5	14.86	桉叶油素 Cineole	C ₁₀ H ₁₆ O	152	0.50
6	15.33	香芹酚 Carvacrol	C ₁₀ H ₁₄ O	150	0.71
7	16.80	异驱蛔素 Isoascaridole	C ₁₀ H ₁₆ O ₂	168	0.38
8	16.99	布枯脑 Diosphenol	C ₁₀ H ₁₆ O ₂	168	0.53
9	17.54	冰片烯 Bornylene	C ₁₀ H ₁₆	136	20.74
10	18.23	癸酮 Decanone	C ₁₀ H ₁₆ O ₂	168	0.59

续表 1 Continue table 1

编号 No.	保留时间/min Retention time	化合物 Compound	分子式 Formulum	相对分子质量 Relative molecular weight	相对含量/% Content
11	18.86	异松莰酮 Isopinocamphone	C ₁₀ H ₁₆ O	152	1.32
12	19.69	松莰酮 Pinocamphone	C ₁₀ H ₁₆ O	152	0.66
13	20.41	驱蛔素 Ascaridole	C ₁₀ H ₁₆ O ₂	168	22.97
14	20.62	麝香草酚 Thymol	C ₁₀ H ₁₄ O	150	1.47
15	35.08	棕榈酸 Palmitic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	1.04

2.2 土荆芥挥发油的抑菌作用

从表 2 可以看出, 土荆芥挥发油除仅对绿脓假单胞菌 CMCC10211 株无抑制作用外, 对其他 14 种标准菌株均具有不同程度的抑制作用, 其中对炭疽芽孢杆菌 CMCC63001 株、白假丝酵母菌 CMCC850216 株、乙型溶血性链球菌 CMCC32210 株、肺炎链球菌 CMCC31001 株等 4 种菌株的抑菌作用较强; 对大肠埃希氏菌 CMCC44113 株、伤寒沙门氏

菌 CMCC50127 株、福氏志贺氏菌 CMCC51573 株、枯草芽孢杆菌 CMCC63501 株和卡他布朗汉姆氏菌 CMCC29103 株等 5 种菌株的抑菌作用次之; 对金黄色葡萄球菌 CMCC26112 株、表皮葡萄球菌 CMCC26069 株和变形杆菌 CMCC49027 株等 3 种菌株的抑菌作用较弱; 而对甲型溶血性链球菌 CMCC32209 株和肺炎克雷伯氏菌 CMCC46117 的抑菌作用相对最弱。

表 2 土荆芥挥发油的抑菌作用

Table 2 Antibacterial activities of volatile oil from *C. ambrosioides* L.

编号 No.	标准菌株 Standard bacterial strain	MIC (μ L · mL ⁻¹)	MBC/ (μ L · mL ⁻¹)
1	金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i> CMCC26112	31.25	31.25
2	表皮葡萄球菌 <i>S. epidermidis</i> CMCC26069	31.25	31.25
3	卡他布朗汉姆氏菌 <i>B. catarrhalis</i> CMCC29103	15.63	15.63
4	甲型溶血性链球菌 <i>S. hemolysins-a</i> CMCC32209	62.50	62.50
5	乙型溶血性链球菌 <i>S. hemolysins-β</i> CMCC32210	7.81	7.81
6	肺炎克雷伯氏菌 <i>K. pneumoniae</i> CMCC46117	62.50	250.00
7	肺炎链球菌 <i>S. pneumoniae</i> CMCC31001	7.81	31.25
8	大肠埃希氏菌 <i>E. coli</i> CMCC44113	15.63	15.63
9	伤寒沙门氏菌 <i>S. typhi</i> CMCC50127	15.63	31.25
10	福氏志贺氏菌 <i>S. flexneri</i> CMCC51573	15.63	31.25
11	枯草芽孢杆菌 <i>B. subtilis</i> CMCC63501	15.63	31.25
12	变形杆菌 <i>Proteus</i> sp. CMCC49027	31.25	62.50
13	炭疽芽孢杆菌 <i>B. anthracis</i> CMCC63001	1.95	7.81
14	绿脓假单胞菌 <i>P. aeruginosa</i> CMCC10211	+	+
15	白假丝酵母菌 <i>C. albicans</i> CMCC850216	3.91	7.81

注:“+”表示无抑菌作用。

Note: “+”represents no antibacterial activities.

2.3 土荆芥挥发油的杀菌作用

从表 2 可以看出, 土荆芥挥发油对 15 株标准菌株的杀菌作用与上述抑菌作用的结果基本一致。除绿脓假单胞菌外, 对其他 14 种标准菌株均有不同程度的杀菌作用, 其中对乙型溶血性链球菌 CMCC32210 株、炭疽芽孢杆菌 CMCC63001 株、白假丝酵母菌 CMCC850216 株、卡他布朗汉姆氏菌 CMCC29103 株、大肠埃希氏菌 CMCC44113 株的杀菌作用较强; 对金黄色葡萄球菌 CMCC26112 株、表皮葡萄球菌 CMCC26069 株、肺炎链球菌 CMCC31001 株、伤寒沙门氏菌 CMCC50127 株、福氏志贺氏菌 CMCC51573 株和枯草芽孢杆菌 CMCC63501 株等 6 株标准菌株的杀菌作用较弱, 其 MBC 值均为

31.25 μ L/mL; 对甲型溶血性链球菌 CMCC32209 株、变形杆菌 CMCC49027 株和肺炎克雷伯氏菌 CMCC46117 株的杀菌作用最弱, 其 MBC 值分别为 62.5, 62.5 和 250.0 μ L/mL。

3 结论与讨论

1) 本研究测定的陕西土荆芥挥发油中含 p-伞花烃 29.95%、驱蛔素 22.97%、冰片烯 20.74%、 α -松油烯 17.67%。从前人研究结果中可以看出, 不同产地土荆芥挥发油的化学组成差异较大, 总体来看, 以 α -松油烯、 α -异松油烯、p-伞花烃、驱蛔素、冰片烯、异驱蛔素等为主, 但各地所产土荆芥挥发油中这 6 种成分的含量差异较大^[5,7-12,15]。因此, 将土荆

芥作为中药或抗菌剂药源使用时,应建立土荆芥道地药材产地及土荆芥药材的指纹图谱,以土荆芥气相指纹图谱作为土荆芥药材挥发油质量控制的重要方法,严格进行质量控制,从而有效提高制备药剂的药效和疗效。

2) 植物精油作为杀虫剂已经产业化应用,但作为抗菌剂应用仍较少^[18]。从本研究结果来看,土荆芥挥发油具有广谱抗细菌和抗真菌的作用,对临床常见的致病菌有较强的抑制和灭活作用。在供试的 15 株标准菌株中,除对绿脓假单胞菌 CMCC10211 株无抑制作用外,对金黄色葡萄球菌等其他 14 株标准菌株均有较强的抑制作用,其最小抑菌浓度(MIC)值为 1.95~62.50 μL/mL,最小杀菌浓度(MBC)值为 7.81~250.00 μL/mL。由此可知,土荆芥挥发油具有广谱的抗菌效果,是一种开发利用价值很高的潜在抗菌药源,亟待进一步研究开发。

〔参考文献〕

- [1] Yu Y, Yi Z B, Liang Y Z, et al. Validate antibacterial mode and find main bioactive components of traditional Chinese medicine *Aquilegia oxysepala* [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2007, 17: 1855-1859.
- [2] Buwa L V, Staden J V. Antibacterial and antifungal activity of traditional medicinal plants used against venereal diseases in South Africa [J]. J Ethnopharmacology, 2006, 103: 139-142.
- [3] 侯洁, 尹艳, 邹国林. 九种中草药抗菌活性 [J]. 武汉大学学报: 理学版, 2009, 55(5): 597-601.
- Hou J, Yin Y, Zou G L. Antibacterial activities of nine Chinese medicinal plants [J]. J Wuhan Univ: Nat Sci Ed, 2009, 55(5): 597-601. (in Chinese)
- [4] 黄雪峰, 李凡, 陈才良, 等. 土荆芥化学成分的研究 [J]. 中国天然药物, 2003, 1(1): 24-26.
- Huang X F, Li F, Chen C L, et al. Chemical studies on the herb of *Chenopodium ambrosioides* [J]. China Journal of Natural Medicine, 2003, 1(1): 24-26. (in Chinese)
- [5] 贺祝英, 周欣, 王道平, 等. 贵州土荆芥挥发油化学成分研究 [J]. 贵州科学, 2002, 20(2): 76-79.
- He Z Y, Zhou X, Wang D P, et al. The studies on the chemical constituents of the volatile oil from *Chenopodium ambrosioides* L. grown in Guizhou Province [J]. Guizhou Science, 2002, 20(2): 76-79. (in Chinese)
- [6] 黄雪峰, 孔令义. 土荆芥挥发油的化学成分分析 [J]. 中国药科大学学报, 2002, 33(3): 256-257.
- Huang X F, Kong L Y. Study on chemical constituents of volatile oil from *Chenopodium ambrosioides* L. [J]. Journal of China Pharmaceutical University, 2002, 33(3): 256-257. (in Chinese)
- [7] 熊秀芳, 张银华, 龚复俊, 等. 湖北土荆芥挥发油化学成分研究 [J]. 武汉植物学研究, 1999, 17(3): 244-248.
- Xiong X F, Zhang Y H, Gong F J, et al. Studies on the chemical constituents of the volatile oil from *Chenopodium ambrosioides* L. grown in Hubei [J]. Journal of Wuhan Botanical Research, 1999, 17(3): 244-248. (in Chinese)
- [8] Cavalli J F, Tomi F, Bernardini A F, et al. Combined analysis of the essential oil of *Chenopodium ambrosioides* L. by GC, GC-MS and ¹³C-NMR [J]. Phytochem Anal, 2004, 15(5): 275-280.
- [9] Muhayimana A, Chalchat J C, Garry R P. Chemical composition of essential oils of *Chenopodium ambrosioides* L. from Rwanda [J]. J Essent Oil Res, 1998, 10: 690-692.
- [10] Onocha P A, Ekundayo O, Eramo T, et al. Essential oil constituents of *Chenopodium ambrosioides* L. leaves from Nigeria [J]. J Essent Oil Res, 1999, 11: 220-222.
- [11] Monzote L, Montalvo A M, Almanonni S, et al. Activity of the essential oil from *Chenopodium ambrosioides* grown in Cuba against *Leishmania amazonensis* [J]. Chemother, 2006, 52: 130-136.
- [12] Sagrero N L, Bartley J P. Volatile constituents from the leaves of *Chenopodium ambrosioides* L. [J]. J Essent Oil Res, 1995, 7(2): 221-225.
- [13] Okazaki K, Kawaguchi T. Antibacterial activity of higher plants, XI: Antimicrobial effect of essential oils. II. Chenopodium oil and ascaridol [J]. Yakugaku Zasshi, 1952, 72: 561-564.
- [14] 王瑞明, 谢振家, 张涌川. 中华胃康对实验性胃溃疡及抑制 HP 作用的研究 [J]. 海峡药学, 1999(2): 16-19.
- Wang R M, Xie Z J, Zhang Y C. Studies on anti-gastric ulcer action of Zhonghuawekang in rats mice and inhibitory effect on *Helicobacter pylori* [J]. J Strait Pharm, 1999(2): 16-19. (in Chinese)
- [15] 潘馨, 梁鸣, 陈森鸿. 土荆芥中挥发油的气相色谱-质谱分析 [J]. 药物分析杂志, 2007, 27(6): 909-911.
- Pan X, Liang M, Chen S H. GC-MS analysis of essential oil from *Chenopodium ambrosioides* L. [J]. Chin J Pharm Anal, 2007, 27(6): 909-911. (in Chinese)
- [16] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2005 年版一部 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 附录 57.
- Pharmacopoeia Commission of People's Republic of China. Pharmacopoeia of People's Republic of China: Part 1 2005 [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005: appendix 57. (in Chinese)
- [17] 中华人民共和国卫生部. 中药新药临床研究指导原则 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993: 144-145.
- Ministry of Health of the People's Republic of China. Guiding principles for clinical study on new Chinese-medicine [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1993: 144-145. (in Chinese)
- [18] 关文强, 李淑芬. 天然植物提取物在果蔬保鲜中应用研究进展 [J]. 农业工程学报, 2006, 22(7): 200-204.
- Guan W Q, Li S F. Research advances in application of natural plant extracts to postharvest preservation of fruits and vegetables [J]. Transactions of the CSAE, 2006, 22(7): 200-204. (in Chinese)