

柠条锦鸡儿不同极性部位抗氧化及抗须癣毛癣菌活性初筛

曾智^{1,2} 徐恒^{1,2} 白波^{1*} 王洪伦¹ 索有瑞¹¹中国科学院西北高原生物研究所藏药重点实验室 西宁 810008; ²中国科学院大学 北京 100049

摘要: 本文对柠条锦鸡儿的花、叶、枝皮和根皮的乙醇提取物进行了极性部位的分离,并对各部位的提取物进行了抗氧化及抗须癣毛癣菌的活性筛选。抗氧化活性通过 DPPH、ABTS、羟自由基($\cdot\text{OH}$)和超氧阴离子($\text{O}_2^{\cdot-}$)自由基的清除能力来评价,抗须癣毛癣菌活性通过抑菌圈实验来进行初步筛选。结果表明,以 Vc 为对照,柠条锦鸡儿花和叶的提取物具有很好的 DPPH 和 ABTS 自由基的清除能力,尤其是它们的乙酸乙酯部位;但所有的提取物对 $\cdot\text{OH}$ 和 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 自由基的清除能力均较弱($P < 0.001$)。抑菌圈实验发现,花、叶和枝皮的乙酸乙酯部位具有一定的抗菌活性,其中枝皮的抗菌活性最好;通过测定生物量,当秋季采集枝皮乙酸乙酯部位提取物浓度为 $128 \mu\text{g}/\text{mL}$ 其抑菌率可达到 50%。活性筛选结果说明柠条锦鸡儿的花、叶和枝皮具有一定的深入开发潜力。

关键词: 柠条锦鸡儿; 抗氧化; 须癣毛癣菌; 活性初筛

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.8.018

Preliminary Screening for Antioxidant and Anti-*Trichophyton mentagrophyte* Activities of Different Polarity Extracts from *Caragana korshinskii* Kom.

ZENG Zhi^{1,2}, XU Heng^{1,2}, BAI Bo^{1*}, WANG Hong-lun¹, SUO You-rui¹

¹Key Laboratory of Tibetan Medicine Research, Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, China; ²University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: In this study, the flowers, leaves, bark and root of *Caragana korshinskii* Kom. were separately extracted by ethanol. And then all the extracts were further fractionated by petroleum ether (Pe) and ethyl acetate (Et) in sequence. Those extracts were applied to screen the anti-oxidant and anti-fungal activities. The anti-oxidant activity was carried out by scavenging radicals of DPPH, ABTS, hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$) and superoxide anion ($\text{O}_2^{\cdot-}$). Inhibition zone was employed to evaluate the anti-fungal activity of those extracts. The results suggested that compared with vitamin C (Vc) the flowers and leaves of *C. korshinskii* showed good anti-oxidant activity of scavenging radical of DPPH and ABTS, especially for their Et fractions. However, all parts of the extracts showed weaker activity of scavenging $\cdot\text{OH}$ and $\text{O}_2^{\cdot-}$ than Vc ($p < 0.001$). Screening for anti-fungal activity, the results showed that the Et fraction of flowers, leaves and bark are anti-fungal of *Trichophyton mentagrophyte* to some extent, especially the bark. Moreover, the inhibition ratio can be up to 50% when the concentration of the Et fraction of bark collected in autumn. Those consequences turned out that flowers and leaves of *C. korshinskii* can be a potential and exploitative resource.

Key words: *Caragana korshinskii* Kom.; antioxidant activity; *Trichophyton mentagrophyte*; screening activity

柠条锦鸡儿(*Caragana korshinskii* Kom.)^[1,2]属于豆科锦鸡儿属,具有很强生命力。它作为退耕还林树种被广泛种植于干旱、半干旱的西北地区。目前,对柠条锦鸡儿的研究主要集中在其作为饲料^[3-5]及其对生态环境的保护作用,如改善土壤微环境^[6,7]、根部土壤微生物富集及提高林地土壤肥

力^[8,9]、水土保持^[10]、防止水土流失和滑坡^[11,12]等方面。近年来,对其同属植物小叶锦鸡儿(*C. microphylla* Lam.)的活性报道较多,研究发现小叶锦鸡儿具有抗镇痛^[13]、抗氧化^[14]、抗真菌^[15]、抗炎^[16]等作用,而关于柠条锦鸡儿的化学成分、药理活性的研究报道较少,研究发现柠条锦鸡儿中富含多种酚酸如绿原酸、香草酸、咖啡酸、迷迭香酸等^[17]。利用高速逆流色谱的方法从柠条锦鸡儿种子的乙醇提取物中分离得到到 5 个黄酮苷类化合物和 1 个木质素类化合物^[18]。体内外实验发现柠条锦鸡儿的种子油具

收稿日期: 2017-04-05 接受日期: 2017-06-20

基金项目: 青海省科技厅星火计划(2015-NK-302)

* 通信作者 E-mail: baibochina@163.com

有抗皮肤癣真菌作用^[19-20]。另外, 研究报道柠条锦鸡儿的多酚提取物具有较强的抗乙酰胆碱酯酶活性^[21]。

由皮肤癣菌引起的浅部真菌感染是皮肤科最常见的皮肤病, 且其发病率及复发率较高^[22]。目前已报到的治疗皮肤癣的特效成分主要是特比萘芬^[23], 市场上具有较好的治疗效果的药物有唑类^[24]。尽管这些药物具有安全、毒副作用小等优点, 但易产生耐药性。因此, 寻找具有治疗皮肤癣的植物药具有重要意义。《中国沙漠地区药用植物》记载, 柠条锦鸡儿籽油外涂可治神经性皮炎、牛皮癣、黄水疮; 或将其烧炭存性, 研末撒于疮面。牛皮癣亦可用其鲜树皮直接擦。

本论文对柠条锦鸡儿的花、叶、皮及根皮的乙醇提取物进行了极性部位分离, 并对其进行了抗氧化和抗皮肤癣菌须癣毛癣菌活性的初步筛选, 以期在其动物饲料和生态保护应用基础上更进一步地深入应用, 使资源的利用更加深入和合理。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

柠条锦鸡儿样品采集于青海省乐都县, 由中国科学院西北高原生物研究所的周昌范高工鉴定。根皮、叶均采集于2014年(B₁₄), 树皮分别采集于从2014年(B₁₄)和2015年6月(B₁₅), 花采集于2015年6月。野外采集回来, 即进行分类整理, 清洗, 晾干, 粉碎, 用自封袋装好备用。

须癣毛癣菌 (*Trichophyton mentagrophytes*, 60050), 由北京大学第一附属医院皮肤科真菌室提供; 乙醇、石油醚、乙酸乙酯(天津市百世化工有限公司), 为AR级别。DPPH 购买于美国 Sigma 试剂公司, 清除超氧阴离子(O₂⁻)和羟自由基(·OH)的试剂盒购买于南京建成生物工程研究所, ABTS 购买于上海碧云天生物技术有限公司。

仪器: HYY25L 中药煎药机(天津华延园机器有限公司); EYELAN1100 旋转蒸发仪(京东理化器械株式会社); 多功能酶标仪(Perkin Elmer Enspire) 购自于美国 Perkin Elmer 股份有限公司; 电子天平(海特勒一托利多(上海)有限公司 AB104-N); 电子恒温不锈钢水浴锅(上海宜昌仪器纱筛厂); 冰箱(河南新飞电器有限公司 BCD-222MKA); 超净工作台(双人单面净化工作台 SW-CJ-1C 沪净? 净化); 超声清洗机(AS3 120A 220V 120W)等。

1.2 实验方法

1.2.1 不同极性受试物的制备

将柠条锦鸡儿的花(F)、叶(L)、树皮(秋)(B₁₄)、树皮(夏)(B₁₅)、根皮(R)分别用70%的乙醇60℃中药煎药机热回流提取2h/次, 每个样品提取三次, 分别将其三次提取液合并, 用旋转蒸发仪蒸干酒精, 收集最终的提取物, 得到粗提物。然后将各粗提物分别用石油醚、乙酸乙酯萃取, 得到各个样品的石油醚部位(Pe)、乙酸乙酯部位(Et)和水部位(W)。各部位依次记为 FPe、FEt、FW; LPe、LEt、LW; B₁₄ Pe、B₁₄ Et、B₁₄ W; B₁₅ Pe、B₁₅ Et、B₁₅ W; RPe、REt、RW。

1.2.2 各受试物的抗氧化活性测定

将各样品的 Pe 和 Et 部位分别配成 64 mg/mL, W 部位为 256 mg/mL 的溶液。将上述样品溶液按倍比稀释的方法逐渐稀释, 得到一系列的浓度梯度待测。每个样品浓度做三次重复。

1.2.2.1 DPPH 自由基清除能力测定

DPPH 自由基清除能力是基于 Huang^[25] 的方法并做了适当修改。称取 1.97 mg DPPH, 用甲醇溶解, 定容到 25 mL, 得到浓度为 2×10^{-4} mol/L 的 DPPH 溶液备用(现配现用, 此过程注意避光)。测定时, 取稀释的不同浓度的样品溶液 10 μL 于 96 孔板中, 然后在避光的条件下加入 190 μL 配制的 DP-PH 溶液, 摇匀, 室温下反应 30 min。517 nm 下测定各个样品的吸光度值, 记为 A_{sample} 。DPPH 清除率由以下公式计算而得:

$$DPPH \text{ 自由基清除率} (\%) = \left[1 - \frac{(A_{sample} - A_{blank})}{A_{control}} \right] \times 100\%$$

公式中 A_{sample} 、 A_{blank} 和 $A_{control}$ 分别表示样品与 DP-PH 反应后的溶液、样品中加入与 DPPH 等量的甲醇溶液以及 DPPH 中加入与样品等量的甲醇溶液的吸光度值。

1.2.2.2 ABTS 自由基清除能力测定

ABTS (2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)) 自由基清除能力测定的反应原理是: 以 ABTS 为显色剂来测定受试物的总抗氧化能力, 当体系中存在氧化剂时, ABTS 会氧化成绿色的 ABTS^{·+}, 在抗氧化物存在时 ABTS^{·+} 的产生会被抑制。根据说明书的要求, 配制的 ABTS^{·+} 溶液在使用前需在室温下避光放置 12~16 h。最后将其用 80% 的乙醇稀释并在 734 nm 波长下将其吸光度值

调节至 0.7 ± 0.05 。测定时取 $10 \mu\text{L}$ 样品溶液与 $200 \mu\text{L}$ 稀释的 ABTS^+ 溶液混合, $2 \sim 6 \text{ min}$ 后, 734 nm 波长下测定其吸光度值。Trolox 是一种维生素 E (V_E) 的类似物, 具有和 V_E 相近的抗氧化能力, 用来作为标准品得到浓度范围为 0.15 到 1.5 mM 的工作曲线。结果用 TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) 来表示, 计算公式如下:

$$\text{TEAC}(\text{mmol/g}) = \frac{N_{\text{trolox}}}{C_{\text{sample}}}$$

注: N_{trolox} 和 C_{sample} 分别表示 trolox 的摩尔量和对应的样品浓度, N_{trolox} 是根据工作曲线得来的。

1.2.2.3 $\cdot\text{OH}$ 自由基清除能力测定

$\cdot\text{OH}$ 自由基清除能力是根据 Fenton 反应的原理来测定的, 即 $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \cdot\text{O}$ 。用试剂盒测定, 所用试剂均在使用前根据试剂盒的说明书配制, 并根据说明书加入所用试剂, 混匀, 37°C 反应 1 min , 然后在 550 nm 下测定其吸光度值。

$\cdot\text{OH}$ 的清除能力则根据以下公式来计算:

$$\cdot\text{OH} \text{ 自由基的清除率} (U/\text{mg}) = \frac{(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}})}{(A_{\text{control}} - A_{\text{blank}})} \times C_{Vc} \div [C_{\text{sample}} \times V_{\text{sample}}]$$

公式中 A_{control} 、 A_{sample} 、 A_{Vc} 分别表示对照、样品和维生素 C (Vc) 的吸光度值, C_{Vc} 和 C_{sample} 分别表示 Vc 和样品的浓度, V_{sample} 为所用样品的体积。

1.2.2.4 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 自由基清除能力测定

$\text{O}_2^{\cdot-}$ 自由基的清除能力是用 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的试剂盒测定的。所有的试剂均根据试剂盒的说明书配制, 待反应混合物在室温下反应 40 min 后再在 550 nm 下测定其吸光度值。 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 自由基的清除率由以下公式计算得到:

$$\text{O}_2^{\cdot-} \text{ 自由基的清除率} (U/\text{g}) = \frac{(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}})}{(A_{\text{control}} - A_{Vc})} \times$$

$$C_{Vc} \times 1000 \div C_{\text{sample}}$$

公式中 A_{control} 、 A_{sample} 、 A_{Vc} 分别表示对照、样品和 Vc 的吸光度值, C_{Vc} 和 C_{sample} 分别表示 Vc 和样品的浓度, 1000 是单位换算倍数。

1.2.3 各受试物的抗菌活性初步筛选

1.2.3.1 抑菌圈实验

(1) 培养基配制及实验前准备

SDA 培养基: 蛋白胨 10.0 g , 葡萄糖 20.0 g , 琼脂 18.0 g , 纯水定容至 1.0 L , 然后 121°C 灭菌 30 min , 倒平板备用。

实验前准备: 将实验中所需的镊子、棉签、纯水、

等提前消毒灭菌, 将超净工作台擦净, 紫外灭菌至少 30 min 。

(2) 菌种活化

将冷冻保藏的菌种接种于无菌的 SDA 培养基上, 置于 30.0°C 的培养箱中培养 $7 \sim 10 \text{ d}$ 备用。

(3) 抑菌圈实验

(1) 取活化的菌种用纯水配制浓度为 $10^6 \sim 10^7$ 个/mL 的菌悬液;

(2) 用灭菌的棉签蘸取混匀的菌悬液, 均匀涂抹于准备好的平板上, 每个平板涂抹 3 次;

(3) 取适量的提取物置于平板中央, 置于 30.0°C 的培养箱中培养 $5 \sim 7 \text{ d}$, 观察实验结果。

1.2.3.2 抑菌率测定

SD 培养基: 蛋白胨 10.0 g , 葡萄糖 20.0 g , 纯水定容至 1 L , 然后 121°C 灭菌 30 min , 备用。

生物量测定: 取活化的菌种用纯水配制浓度为 $10^7 \sim 10^8$ 个/mL 的菌悬液。将秋季采集的树皮的乙酸乙酯部位萃取物用吐温 80 溶解配制为 8 mg/mL 的储备液, 然后用上述备好的 SD 培养基稀释; 取 24 支洗净灭菌试管, 每个浓度 4 个重复, 每根试管中取 3.8 mL 上述含提取物的培养基, 然后加入 $200 \mu\text{L}$ 菌悬液, 使每各组中提取物的终浓度为 1024 、 512 、 256 、 $128 \mu\text{g/mL}$ 和 $64 \mu\text{g/mL}$; 另设一组生长对照直接取 3.8 mL SD 培养基, 然后加入 $200 \mu\text{L}$ 菌悬液。轻晃, 混匀, 置于 30°C 的培养箱中培养 $5 \sim 7 \text{ d}$ 。将生长 $5 \sim 7 \text{ d}$ 后的菌丝在超净工作台取出, 置于紫外灯下灭菌 1 h , 晾干, 称取各组菌丝的质量, 实验组记为 m_i , 对照组记为 m_0 , 则其抑菌率由以下公式计算得到:

$$\text{抑菌率} (\%) = \frac{(m_0 - m_i)}{m_0} \times 100\%$$

1.3 数据处理

实验数据用 SPSS Statistics 20.0 和 Origin Pro 8.5 处理。

2 结果与分析

2.1 受试物的抗氧化活性筛选结果与分析

2.1.1 DPPH 清除能力

如图 1 所示, 柠条锦鸡儿的根、花、叶和不同时间采集的树皮对 DPPH 清除率为 50% (IC_{50}) 时的样品浓度呈现了差异。其中 FPe、FEt、LEt 和 LW 的 IC_{50} 与 Vc 的没有显著性差异 ($P > 0.05$), 九月份采集的树皮比六月份采集的树皮的 Et 部位清除

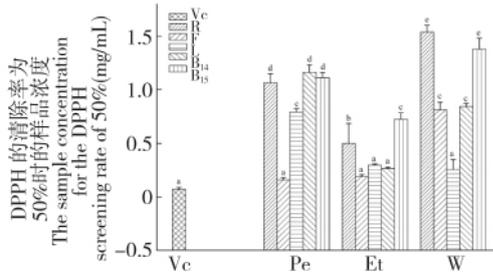


图1 DPPH清除率为50% (IC₅₀) 时柠条锦鸡儿的根、花、叶和树皮的石油醚、乙酸乙酯和水提取物浓度 (mg/mL)

Fig.1 DPPH scavenging activity of 50% for the concentration of samples from the root (R) ,flowers (F) ,leaves (L) and bark (B₁₄ &B₁₅) of *C. korshinskii* extracted by petroleum ether (Pe) ,ethyl acetate (Et) and water (W) (mg/mL)

注: 图中不同字母表示各个提取物对DPPH自由基清除能力的显著性差异水平 (P < 0.05) ,下同

Note: Different letters indicated significant difference (P < 0.05) , same as blow

DPPH的活性强,其他部位样品的IC₅₀均与Vc有显著性差异。总之,花和叶的提取物的IC₅₀较强,Et部位的抗氧化能力比Pe和W部位的好,这可能与物质基础有关。

2.1.2 ABTS总抗氧化能力

由图2可以看出,Pe和W部位中除了FPe和LW外,其它提取物的总抗氧化能力与Vc相比具有极显著差异 (P < 0.001) ,但其总抗氧化能力仅仅为Vc的10.3% ~ 67.1%。由此说明提取物的Pe和W部位的总抗氧化能力较弱。Et部位中除了六月份采集的树皮和花外,其他各部位均具有较强的抗

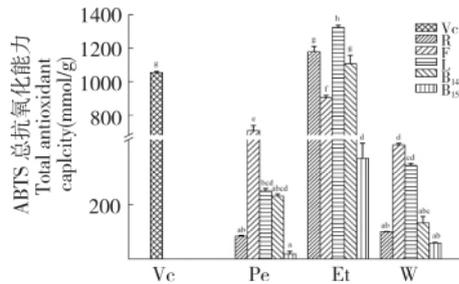


图2 ABTS测得的柠条锦鸡儿的根、花、叶和树皮的石油醚、乙酸乙酯和水的提取物的总抗氧化能力

Fig.2 ABTS radical-scavenging activity of samples from the root (R) ,flowers (F) ,leaves (L) and bark (B₁₄ &B₁₅) of *C. korshinskii* extracted by petroleum ether (Pe) ,ethyl acetate (Et) and water (W)

氧化能力,且叶子的Et部位的总抗氧化能力比Vc强,达到了显著差异水平 (P < 0.05)。

2.1.3 清除·OH自由基能力

在清除·OH自由基方面,柠条锦鸡儿的各个部位的不同提取物与Vc之间达到了极显著差异水平 (P < 0.001) ,但柠条锦鸡儿提取物清除·OH自由基的能力远低于Vc。总体来说,提取物中的Pe和Et部位清除·OH自由基的能力较强,六月份采集的树皮的各部位清除·OH自由基的能力是所有样品中最差的。

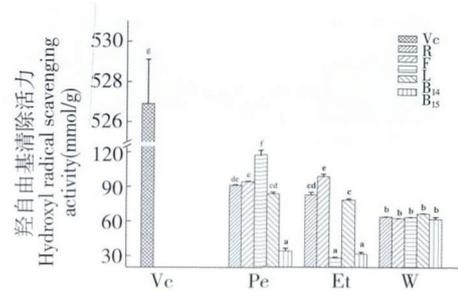


图3 柠条锦鸡儿的石油醚、乙酸乙酯和水的提取物清除羟自由基能力

Fig.3 Hydroxyl radical-scavenging activity of samples from the root (R) ,flowers (F) ,leaves (L) and bark (B₁₄ &B₁₅) of *C. korshinskii* extracted by petroleum ether (Pe) ,ethyl acetate (Et) and water (W)

2.1.4 O₂⁻自由基清除能力

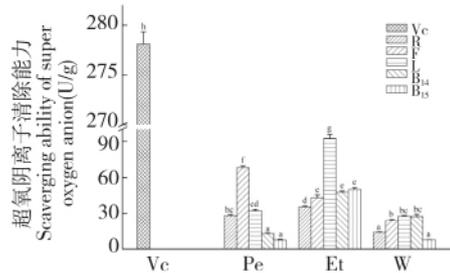


图4 柠条锦鸡儿的石油醚、乙酸乙酯和水的提取物清除超氧阴离子能力

Fig.4 Superoxide anion radical-scavenging activity of samples from the root (R) ,flowers (F) ,leaves (L) and bark (B₁₄ &B₁₅) of *C. korshinskii* extracted by petroleum ether (Pe) ,ethyl acetate (Et) and water (W)

由图4可以看出,柠条锦鸡儿根、花、叶和树皮的各部位提取物清除O₂⁻自由基的能力相比于Vc均较弱,其中FPe和LEt比其他部位强但最多也只有Vc清除能力的三分之一。总体来说,提取物的Et部位清除O₂⁻自由基的能力比Pe和W部位好。

2.2 受试物的体外抗菌活性筛选结果与分析

2.2.1 抑菌圈初筛结果

通过抑菌圈活性实验筛选,发现花、叶和九月份采集的树皮的乙酸乙酯部位具有一定的抗菌活性,

其它部位不如这三个部位的效果好,其中树皮又是这三个部位中效果最好的。抑菌圈实验证明树皮确实具有这一功效,但其作用机理及药效尚需进一步的探讨,具有深入研究和开发的潜在价值。

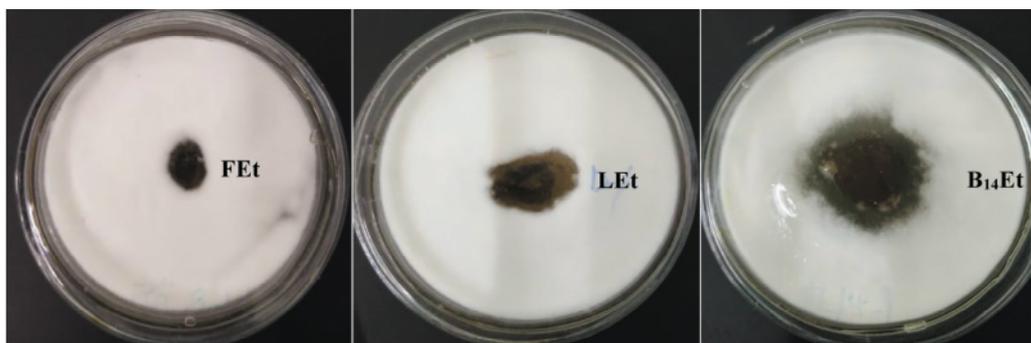


图5 抗须癣毛癣菌活性筛选结果

Fig. 5 The screening results of anti-fungal activity against *T. mentagrophyte*

2.2.2 抑菌率测定结果

根据抑菌圈活性筛选,将活性最好的提取物 B₁₄Et 进行了进一步的实验,结果见图 6。从图 6 中可以看出, B₁₄Et 对须癣毛癣菌的抑制作用呈剂量依赖,随着培养基中提取物浓度的增加,其抑菌作用逐渐增强,且当培养基中 B₁₄Et 的浓度为 128 μg/mL 时,对其菌丝体的抑制作用可达到 50% 左右。进一步证明柠条锦鸡儿树皮提取物的乙酸乙酯部位具有较好的抗菌活性,具有深入开发研究的潜值。

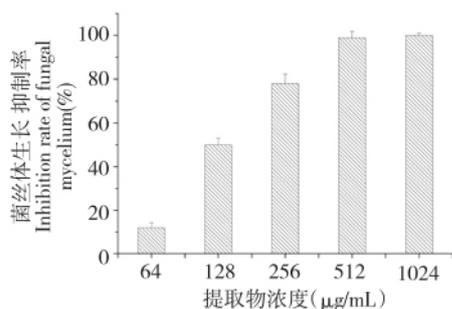


图6 不同浓度 B₁₄Et 提取物的菌丝体生长抑制率

Fig. 6 Inhibition rate of different concentrations of B₁₄Et extract on fungal mycelium

3 讨论

由实验结果可以看出,柠条锦鸡儿的花和叶的提取物 DPPH 的 IC₅₀ 和 ABTS 总抗氧化能力能与 Vc 相媲美,尤其是二者的乙酸乙酯部位。在后续的实验中发现,柠条锦鸡儿的花和叶中富含多种酚酸类物质,尤其是叶子中。花中的总多酚含量也较高,可达 22.84 ± 1.36 mg/g; 叶中总黄酮的含量也较高,可达 21.71 ± 0.45 mg/g^[17]。另外,花和叶中还富含

多种不饱和脂肪酸(数据还没报到)。由此说明, FPe、FEt、LEt 和 LW 具有作为抗氧化剂的潜力。因此,可以将其用来作为天然的抗氧化剂。·OH 和 O₂⁻ 自由基是生物体在代谢过程中产生的,但过多的自由基会导致细胞和组织器官损伤,诱发机体的许多功能障碍和疾病,如炎症、肿瘤、衰老等^[26]。柠条锦鸡儿的提取物在清除·OH 和 O₂⁻ 自由基方面的能力非常弱,这可能与其所具有的物质基础有关。秋季采集的树皮的提取物在抗氧化和抗菌活性中均表现出比夏季采集的效果好,这可能是由于夏季处于生长期而秋季树皮中物质积累较多的缘故。这为我们在今后的研究中采样时间提供了理论指导。研究^[25 27 28]表明,许多植物均具有很好的天然抗氧化活性,这可能是与其自然生态相适应的结果。

由于皮肤癣具有高发性、易复发性 and 易产生耐药性的特点,寻找具有抑菌作用的植物来源具有重要意义。通过抑菌圈实验发现秋季采集的柠条锦鸡儿树皮具有较好的抑菌活性,但其不如树皮。其中柠条锦鸡儿中起抗菌作用的物质基础和机理尚不清楚,需进一步实验进行深入探讨和分析。

通过体外抗氧化和抗菌活性实验初步筛选,发现柠条锦鸡儿除了其生态作用及作为饲料的用途之外,其花、叶和树皮还可以用来开发作为天然的抗氧化剂或消毒剂,甚至作为治疗皮肤癣的一个新的药用植物来源。

参考文献

- 1 Northwest Plateau Institute for Biological Studies. Qinghai flora. Xiling: People's publishing house in Qinghai (青海人民出版社), 1999. 2, 173-189.

- 2 Institute of botany. *Iconographia Cormophytorum Sinicorum Tomus II*. Beijing: Science Press (科学出版社), 1972. 412.
- 3 Wen XF (温学飞), Ma WZ (马文智), Li HB (李红兵), et al. Effect of several treatments on nutrients of *Caragana* and their degradation in cud. *Pratacul Sci* (草业科学), 2006 23: 38-42.
- 4 Yang ZP (杨治平), Zhang Q (张强), Zhou HP (周怀平), et al. Effect of different phosphorous rated on nutrients and yields of forage used *Caragana*. *Acta Pratacul Sin* (草业学报) 2010 19: 103-108.
- 5 Yao ZG (姚志刚), Li FX (李凤学). Utilization of *Caragana korshinskii* Kom. in the animal feed. *Chin Agric Sci Bull* (中国农学通报) 2007 23: 9-12.
- 6 Gao G, Ding G, Zhao Y, et al. Fractal approach to estimating changes in soil properties following the establishment of *Caragana korshinskii* shelterbelts in Ningxia, NW China. *Ecol Indic* 2014 43: 236-243.
- 7 Liu RT (刘任涛), Yang XG (杨新国), Song NP (宋乃平), et al. Soil properties following growing process of artificial forests (*Caragana microphylla*) in desert steppe. *J Soil Water Conserv* (水土保持学报) 2012 26: 108-112.
- 8 Jia G, Liu B, Wang G, et al. The microbial biomass and activity in soil with shrub (*Caragana korshinskii* Kom.) plantation in the semi-arid loess plateau in China. *Eur J Soil Biol* 2010 46: 6-10.
- 9 Xu M, Zhang J, Liu G, et al. Soil properties in natural grassland, *Caragana korshinskii* planted shrubland, and *Robinia pseudoacacia* planted forest in gullies on the hilly Loess Plateau, China. *Catena* 2014 119: 116-124.
- 10 Wang Z, Liu B, Liu G, et al. Soil water depletion depth by planted vegetation on the Loess Plateau. *Sci China Earth Sci*, 2009 52: 835-842.
- 11 Li X, Gao S, Xu H, et al. Growth of *Caragana korshinskii* using runoff-collecting microcatchments under semiarid condition. *J Hydrol* 2006 328: 338-346.
- 12 Hu X, Brierley G, Zhu H, et al. An exploratory analysis of vegetation strategies to reduce shallow landslide activity on loess hillslopes, Northeast Qinghai-Tibet Plateau, China. *J Mt Sci* 2013 10: 668-686.
- 13 Huo Y, Guo C, Zhang QY, et al. Antinociceptive activity and chemical composition of constituents from *Caragana microphylla* seeds. *Phytomedicine* 2007 14: 143-146.
- 14 Niu Y (牛宇), Zhang LZ (张丽珍), Niu W (牛伟), et al. Antioxidative activity of extract and flavonoid fractions with different polarity from *Caragana microphylla* Lam. flowers. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发) 2012 24: 1348-1354.
- 15 Niu Y (牛宇), Zhang LZ (张丽珍), Niu W (牛伟), et al. Preparation of flavonoids and polyphenols with different polarity from *Caragana microphylla* Lam. and their antimicrobial activity. *J Anhui Agric Sci* (安徽农业科学) 2012 40: 12848-12851.
- 16 Piao HS (朴惠顺), Jin GZ (金光洙), Li YJ (李迎军), et al. The anti-inflammatory effect of ethyl acetate extract of *Caragana microphylla* Lam. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药) 2006 17: 1453-1454.
- 17 Zeng Z, Ji Z, Hu N, et al. Synchronous determination with double-wavelength by RP-HPLC-UV and optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic acids from *Caragana* species using response surface methodology. *J Pharm Biomed Anal* 2017 140: 182-189.
- 18 Luan G, Wang H, Lv H, et al. Separation and purification of five flavone glucosides and one lignan from *Caragana korshinskii* Kom. by the combination of HSCCC and semi-preparative RPLC. *Chromatographia* 2016 79: 823-831.
- 19 Qiang W (强伟), Hu N (胡娜), Han LJ (韩丽娟), et al. Anti-fungal activity of seed oil from *Caragana korshinskii* Kom. and mechanism. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发) 2012 24: 1614-1617.
- 20 Zhou W, Xu H, Luan G, et al. *In vivo* anti-trichophyton activities of seed oil obtained from *Caragana korshinskii* Kom. *Skin Pharmacol Physiol* 2016 29: 243-249.
- 21 Yang ZD (杨中铎), Ren J (任晋), Xue PH (薛鹏辉). Acetylcholinesterase inhibitory activity of the plants of *Caragana* and *Rhododendron*. *Acta Chin Med Pharmacol* (中医药学报) 2012 40: 67-70.
- 22 Xiao YY (肖媛媛), Wang AP (王爱平). The research progress of skin tinea disease pathogenesis. *Chin J Mycol* (中国真菌学杂志) 2008 3: 57-60.
- 23 An HX (安慧霞), Si LP, AB (斯拉甫·艾白), Gu LNDWT (古力娜·达吾提), et al. The experimental study of terbinafine on antifungal activity and mechanism. *Chin J Antibiotics* (中国抗生素杂志) 2010 35: 479-482.
- 24 Wan Z (万喆), Wang AP (王爱平), Chen W (陈伟), et al. Evaluation of *in vitro* antifungal activities of six antifungal agents against dermatophytes. *Chin J Mycol* (中国真菌学杂志) 2009 4: 211-214.
- 25 Huang CY, Wu SJ, Yang WN, et al. Antioxidant activities of crude extracts of fucoidan extracted from *Sargassum glaucescens* by a compressional-puffing-hydrothermal extraction process. *Food Chem* 2016 197 Pt B: 1121-1129.
- 26 Li Y (李勇), Kong LQ (孔玲青), Gao H (高洪), et al. Research progress between free radicals and disease. *Progr Veterin Med* (动物医学进展) 20008 29: 85-88.
- 27 Geng D, Chi X, Dong Q, et al. Antioxidants screening in *Limonium aureum* by optimized on-line HPLC-DPPH assay. *Ind Crop Progr* 2015 67: 492-497.
- 28 Zou Z, Xi W, Hu Y, et al. Antioxidant activity of *Citrus* fruits. *Food Chem* 2016 196: 885-896.