

· 研究论文 ·

牛耳枫果实中抑菌活性成分的初步分离

李晶晶¹, 曾东强^{*2}

(1. 桂林医学院 公共卫生学院, 广西 桂林 541004;

2. 广西大学 农药与环境毒理研究所, 南宁 530005)

摘要:为探索牛耳枫 *Daphniphyllum calycinum* 在农业病害防治方面的应用前景, 采用柱层析和重结晶等分离技术, 从牛耳枫果实甲醇提取物的乙酸乙酯萃取物中分离得到 10 个已知化合物, 并以水稻纹枯病菌 *Rhizoctonia solani*、番茄白绢病菌 *Sclerotium rolfsii* 和香蕉枯萎病菌 *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* 3 种植物病原菌为指示菌种, 对化合物的抑菌活性成分进行了测定。经核磁共振氢谱和碳谱解析, 10 个化合物分别鉴定为: 对甲氧基苯甲酸(1)、对羟基苯甲醛(2)、5,7-二羟基色原酮(3)、对羟基苯甲酸(4)、反式对羟基肉桂酸(5)、5,7,4'-三羟基-3'-甲基黄酮(6)、山奈酚(7)、 β -胡萝卜素(8)、木犀草素(9)和 3,4-二羟基苯甲酸(10)。菌丝生长速率法测定结果表明: 在 100 mg/L 下, 化合物 3、6、7 和 10 对水稻纹枯病菌的抑制率分别为 58.1%、74.3%、85.0% 和 79.5%; 化合物 6 和 7 对番茄白绢病菌的抑制率分别为 66.2% 和 72.5%; 化合物 6 对香蕉枯萎病菌的抑制率为 54.5%。化合物 1~7 和 9~10 为首次从该植物的果实中分离得到。

关键词:牛耳枫; 活性成分; 抑菌活性; 分离

DOI: 10.3969/j.issn.1008-7303.2013.03.04

中图分类号: S482.292

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2013)03-0261-06

Isolation of antifungal components from the fruit of *Daphniphyllum calycinum* Benth

LI Jingjing¹, ZENG Dongqiang^{*2}

(1. School of Public Health, Guilin Medical University, Guilin 541004, Guangxi, China;

2. Institute of Pesticide & Environmental Toxicology, Guangxi University, Nanning 530005, China)

Abstract: In order to explore the application prospects of *Daphniphyllum calycinum* in controlling agricultural disease, ten compounds were isolated from acetic ether-soluble fraction of *D. calycinum* by column chromatography and recrystallization, and three plant pathogens (*Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*) were used to screen antifungal activity of the compounds. The structure of ten compounds were identified as *p*-methoxybenzoic acid (1), *p*-hydroxybenzaldehyde (2), 5,7-dihydroxychromone (3), *p*-hydroxybenzoic acid (4), *trans-p*-hydroxycinnamic acid (5), 5,7,4'-trihydroxy-3'-methoxyflavone (6), kaempferol (7), β -daucosterol (8), luteolin (9) and 3,4-dihydroxybenzoic acid (10) by NMR. The antifungal activities of nine compounds against the three plant pathogens were tested. At the concentration of 100 mg/L, compound 3, 6, 7 and 10 exhibited

收稿日期: 2012-12-06; 修回日期: 2013-01-04.

作者简介: 李晶晶, 女, 瑶族, 博士, 讲师, 主要从事天然产物及其生物活性方面的研究, E-mail: funnyazi@163.com; * 曾东强, 通信作者 (Author for correspondence), 男, 博士, 教授, 主要从事天然源农药、昆虫毒理学研究, E-mail: zengdq550@163.com

基金项目: 国家自然科学基金(31160375); 广西大学科研基金(XBZ110380); 桂林医学院科研启动基金(KY2012100); 广西特聘专家岗位项目。

antifungal activity against *R. solani*, with inhibitory rates of 58.1%, 74.3%, 85.0% and 79.5%, respectively; compound **6** and **7** showed potential antifungal activity against *S. rolfssii*, with inhibitory rates of 66.2% and 72.5%, respectively; compound **6** had weak antifungal activity against *F. oxysporum*, with inhibitory rate of 54.5%. Compound **1-7, 9-10** were obtained from the fruit of *D. calycinum* for the first time.

Key words: *Daphniphyllum calycinum*; bioactive constituents; antifungal activity; isolation

牛耳枫 *Daphniphyllum calycinum* Benth 为虎皮楠科 (Daphniphyllaceae) 虎皮楠属的一种常绿灌木, 我国有 10 个种, 广泛分布于广西、广东、福建、江西等长江以南的省区^[1]。牛耳枫是我国传统的民间药材, 主要用于治疗风湿骨痛、急性胃肠炎及感冒发烧等病症^[2-3]。目前对其农药活性的研究鲜有报道, 国内仅见牛耳枫甲醇粗提物对褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 和白背飞虱 *Sogatella furcifera* 具有杀虫活性^[4]、以及其生物碱成分对甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 酚氧化酶具有抑制活性的报道^[5], 尚未见有关其抑菌活性的报道。为了综合开发该植物资源, 寻找新的植物源杀菌剂, 笔者研究了牛耳枫果实甲醇粗提物及其萃取物对 3 种植物病原菌的抑菌活性, 对牛耳枫果实中的抑菌活性成分进行了系统的分离和结构鉴定, 共分离得到 10 个已知化合物, 并初步测定了其中 9 个化合物的抑菌活性。

1 材料和方法

1.1 供试材料

1.1.1 植物 牛耳枫果实于 2007 年 8 月采自广西十万大山地区, 由广西林业勘探设计院钟业聪高级工程师鉴定。

1.1.2 植物病原菌 水稻纹枯病菌 *Rhizoctonia solani* Kuhn、番茄白绢病菌 *Sclerotium rolfssii* Sacc 和香蕉枯萎病菌 *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Snyder and Hansen, 均由华南农业大学资源环境学院病理系提供。

1.1.3 主要仪器和药剂 EYELA-1 型旋转蒸发器 (日本 Tokyo Rikakikai 公司); 20L Laborate 4001 旋转蒸发器 (德国 Heidolph 公司); 101A-1E 型电热恒温鼓风干燥箱 (上海实验仪器有限公司); LRH-300-G II 光照培养箱 (广东省医疗器械厂); SW-CJ-1G 超净工作台 (浙江苏州净化设备有限公司); ZF7 三用紫外分析仪 (巩义市予华仪器有限责任公司); RY-LG 熔点仪 (天津市新天光仪器公司); Bruker AV-600 核磁共振仪 (瑞士 Bruker 公司)。

柱层析硅胶和 GF₂₅₄ 硅胶板 (青岛海洋化工

厂); Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶 (Sweden 公司); 大孔吸附树脂 HP-20 (日本三菱化工公司)。试剂均为分析纯 (广州化学试剂厂)。对照药剂多菌灵 (carbendazim) 原药 (含量 > 95%, 由农业部农药检定所提供)。

1.2 实验方法

1.2.1 化合物的提取与分离 将牛耳枫果实 (10 kg) 于通风处阴干, 粉碎过筛 (孔径 1.0 mm), 于恒温鼓风干燥箱中 60 °C 干燥 4 h。将干燥后的植物粉末放入容器中, 用是其体积 5 倍量的甲醇在室温下浸提, 72 h 后过滤, 收集滤液; 共提取 3 次, 合并滤液, 用旋转蒸发器减压浓缩, 得到甲醇粗提物。将其用去离子水饱和和悬浮, 依次用石油醚、乙酸乙酯萃取、浓缩, 分别得到各溶剂萃取物和水层浸膏, 分别进行生物活性测定。

选取生物活性最好的乙酸乙酯萃取物进行柱层析分离。先用适量甲醇溶解乙酸乙酯萃取物 (250 g), 加 500 g 硅胶 (100 ~ 160 目) 拌样, 待溶剂挥发后将其研磨成粉状加样于柱顶, 依次用 V(氯仿): V(甲醇) = 1:0 (2.5 L)、98:2 (4.0 L)、95:5 (4.0 L)、90:10 (4.0 L)、80:20 (3.0 L)、60:40 (3.0 L) 和 0:1 (4.0 L) 进行梯度洗脱, 收集馏分, 通过薄层层析 (TLC) 检测, 合并 R_f 值相近的馏分, 分别得到 A (16.5 g)、B (28.6 g)、C (25.8 g)、D (37.8 g)、E (68.6 g)、F (46.5 g) 共 6 个馏分段。分别进行抑菌活性测定。

采用硅胶柱层析、大孔吸附树脂柱层析、葡聚糖凝胶柱层析和溶剂重结晶等方法, 分别对 A ~ F 馏分段进一步分离, 共得到 10 个化合物, 分别为化合物 **1** (26.5 mg)、**2** (20.2 mg)、**3** (23.5 mg)、**4** (35.6 mg)、**5** (22.5 mg)、**6** (60.5 mg)、**7** (46.5 mg)、**8** (1.2 g)、**9** (32.5 mg) 和 **10** (16.5 mg)。

1.2.2 化合物结构鉴定 通过核磁共振氢谱 (¹H NMR, 600 MHz)、碳谱 (¹³C NMR, 150 MHz) 等图谱数据分析, 并与相关文献报道的数据进行比较, 确定化合物的化学结构。

1.2.3 抑菌活性测定方法 采用菌丝生长速率法^[6-7]测定。将供试样品用丙酮溶解, 用无菌水稀

释并配制所需浓度,与 PDA 培养基混合制成含药平板。以丙酮为溶剂对照,每处理重复 3 次。打取直径 5 mm 的供试菌饼,菌丝面向下接种于含药平板上,于 25 ~ 27 °C 培养箱中恒温培养。采用交叉法,分别于处理后 24 h 测定水稻纹枯病菌和番茄白绢病菌的菌落生长直径,72 h 测定香蕉枯萎病菌的菌落生长直径,根据公式(1)、(2)计算菌丝生长抑制率。

菌落生长直径 /mm =

$$\text{菌落直径平均值} - 5.0 (\text{菌饼直径}) \quad (1)$$

抑制率 /% =

$$\frac{\text{对照组菌落直径} - \text{处理组菌落直径}}{\text{对照组菌落直径}} \times 100 \quad (2)$$

对抑制率较高的化合物进行精密毒力测定。化合物 6 按质量浓度分别为 150、75、37.5、18.75、9.375 mg/L 配制药液;化合物 7 对水稻纹枯病菌按 150、75、37.5、18.75、9.375 mg/L、对番茄白绢病菌按 200、100、50、25、12.5 mg/L 配制药液。对照药剂多菌灵对水稻纹枯病菌按 5、2.5、1.25、0.625、

0.312 5 mg/L、对番茄白绢病菌按 15、7.5、3.75、1.875、0.937 5 mg/L 配制药液。用上述方法测定各化合物的抑菌活性。将质量浓度转化为常用对数,抑菌率转化为几率值,建立毒力回归方程($Y = a + bx$),分别求出化合物对 2 种植物病原菌的毒力(EC_{50} 及 95% 置信限)。

2 结果与分析

2.1 甲醇粗提物及萃取物的抑菌活性

测定结果(表 1)表明:牛耳枫果实甲醇提取物的乙酸乙酯萃取物具有较好的抑菌活性,在 2 mg/mL 下,其对水稻纹枯病菌、番茄白绢病菌和香蕉枯萎病菌的抑制率分别为 100.0%、66.4% 和 84.5%;而在相同浓度下,其甲醇粗提物、石油醚萃取物和水层浸膏对 3 种病原菌的抑制率仅在 8% ~ 45% 之间,说明牛耳枫果实的活性成分主要集中在其甲醇提取物的乙酸乙酯萃取层。对乙酸乙酯萃取物进一步分离得到的 6 个馏分段也均表现出一定的抑菌活性(抑菌率在 20% ~ 80% 之间)。

表 1 牛耳枫果实甲醇粗提物及萃取物对 3 种植物病原菌的抑菌活性

Table 1 Antifungal activities of the methanol extract and its solvent extracts from the fruit of *D. calycinum* against three plant pathogens

样品 ¹⁾ Samples	抑制率 ²⁾ Inhibitory rates \pm SE/%		
	水稻纹枯病菌(24 h) <i>R. solani</i>	番茄白绢病(24 h) <i>S. rolfsii</i>	香蕉枯萎病菌(72 h) <i>F. oxysporum</i>
甲醇粗提物 Methanol extract	23.7 \pm 1.23 b	25.9 \pm 1.32 c	8.5 \pm 0.60 c
石油醚萃取物 Petroleumether-soluble fraction	20.2 \pm 0.83 c	28.5 \pm 0.21 b	22.1 \pm 1.08 b
乙酸乙酯萃取物 EtOAc-soluble fraction	100 \pm 0.00 a	66.4 \pm 0.79 a	84.5 \pm 0.90 a
水层浸膏 H ₂ O-soluble fraction	13.9 \pm 1.05 d	18.9 \pm 1.52 d	5.3 \pm 2.68 d

¹⁾ 质量浓度为 2 mg/mL; ²⁾ 表中数据为 3 次重复的平均值 \pm 标准误,同列数据后字母相同者表示在 5% 水平上差异不显著(DMRT)。

¹⁾ The concentration of each sample is 2 mg/mL; ²⁾ The data (mean \pm SE) in the same column followed by same letters are not significantly different at 5% level according to Duncan's test.

2.2 化合物的结构鉴定

化合物 1: 无色针状晶体(石油醚/丙酮),分子式为 C₈H₈O₃,其 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据与文献[8]中数据基本一致,确定其为对甲氧基苯甲酸。

化合物 2: 无色针状晶体(丙酮),分子式为 C₇H₆O₂,其 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据与文献[9]一致,确定其为对羟基苯甲醛。

化合物 3: 黄色针状晶体(丙酮),分子式为 C₉H₆O₄,其 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据与文献[10]中数据一致,确定其为 5,7-二羟基色原酮。

化合物 4: 无色针状晶体(丙酮),分子式为 C₇H₆O₃,其 ¹H NMR 数据与文献[11]中数据比较,并通过 TLC 与对羟基苯甲酸标准品进行比较,其 R_f

值一致,通过与标准品混合后测定其熔点,发现熔点无下降,故确定其为对羟基苯甲酸。

化合物 5: 无色羽毛状晶体(丙酮),分子式为 C₉H₈O₂,其 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据与文献[12]一致,确定其为反式对羟基肉桂酸。

化合物 6: 黄色无定形粉末(丙酮),分子式为 C₁₆H₁₂O₆,其 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据与文献[13]基本一致,鉴定其为 5,7,4'-三羟基-3'-甲氧基黄酮。

化合物 7: 黄色无定形粉末(丙酮),分子式为 C₁₅H₁₀O₆,其 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据与文献[14]相符,故确定其为山柰酚。

化合物 8: 白色粉末(氯仿/甲醇),分子式为

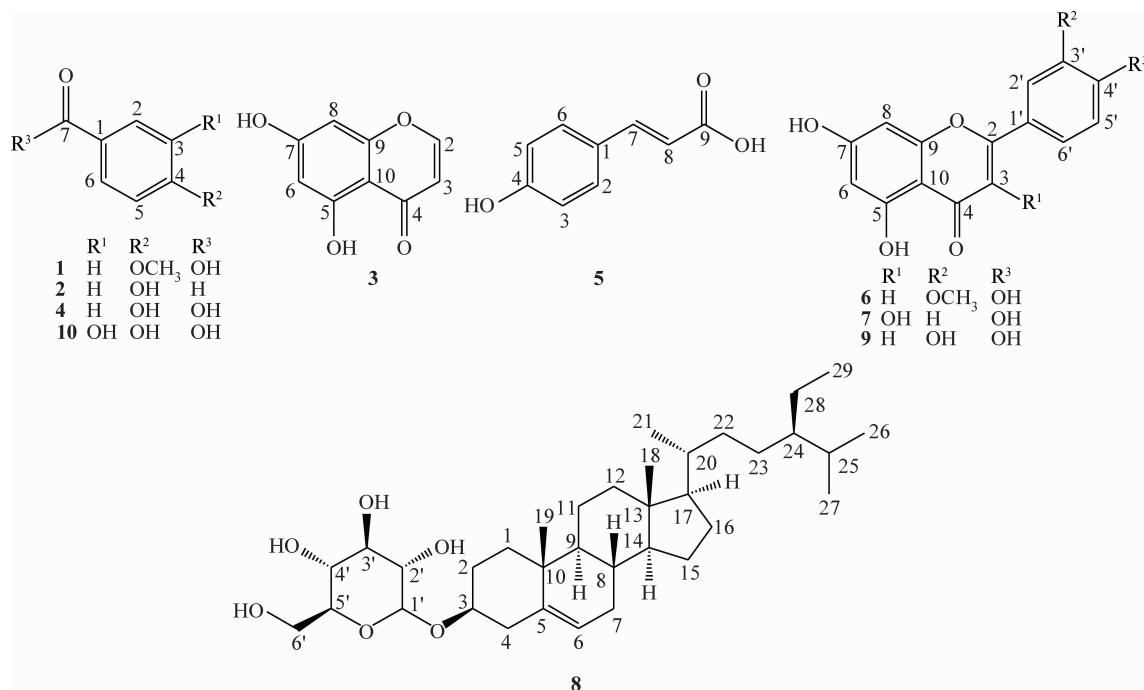
$C_{35}H_{60}O_6$, 将该化合物与 β -胡萝卜素标准品进行 TLC 测定, 其 R_f 值一致, 且混合物熔点不下降, 故鉴定为 β -胡萝卜素。

化合物 **9**: 黄色无定形粉末 (丙酮), 分子式 $C_{15}H_{10}O_6$, 其 1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据与文献 [15]

相符, 确定其为木犀草素。

化合物 **10**: 无色针晶 (丙酮), 分子式为 $C_7H_6O_4$, 其 1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据与文献 [16] 一致, 确定其为 3,4-二羟基苯甲酸。

化合物 **1~10** 的化学结构见 Scheme 1。



Scheme 1

2.3 化合物的抑菌活性

除化合物 **8** (β -胡萝卜素) 因在丙酮、甲醇等溶剂中的溶解性差而未能进行生物活性测定外, 对其余 9 个化合物进行了初步的抑菌活性测定。结果 (表 2) 表明: 在 100 mg/L 下, 化合物 **3**、**6**、**7** 和 **10** 对

水稻纹枯病菌的抑制率分别为 58.1%、74.3%、85.0% 和 79.5%; 化合物 **6** 和 **7** 对番茄白绢病菌的抑制率分别为 66.2% 和 72.5%; 对香蕉枯萎病菌只有化合物 **6** 的抑制率达 54.5%, 其余化合物的抑制作用均较弱。

表 2 供试化合物对 3 种植物病原菌的抑菌活性

Table 2 Antifungal activities of tested compounds against three plant pathogens

化合物编号 ¹⁾ Compounds No.	抑制率 ²⁾ Inhibitory rates $\pm SE/\%$		
	水稻纹枯病菌 (24 h) <i>R. solani</i>	番茄白绢病菌 (24 h) <i>S. rolfsii</i>	香蕉枯萎病菌 (72 h) <i>F. oxysporum</i>
1	17.0 \pm 1.73 g	47.8 \pm 3.31 c	33.2 \pm 1.24 b
2	-12.4 \pm 1.80 i	32.5 \pm 2.80 d	25.0 \pm 0.84 c
3	58.1 \pm 1.47 d	22.5 \pm 2.41 e	21.0 \pm 1.75 d
4	30.4 \pm 1.50 f	23.8 \pm 1.29 e	15.1 \pm 1.29 e
5	47.2 \pm 1.52 e	13.7 \pm 1.37 f	11.2 \pm 0.59 f
6	74.3 \pm 1.46 c	66.2 \pm 1.19 b	54.5 \pm 1.14 a
7	85.0 \pm 1.40 a	72.5 \pm 1.79 a	25.9 \pm 2.41 c
9	2.5 \pm 0.16 h	30.9 \pm 1.42 d	20.5 \pm 2.63 d
10	79.5 \pm 1.10 b	10.2 \pm 0.40 g	5.6 \pm 1.06 g

¹⁾ 质量浓度为 100 mg/L; ²⁾ 表中数据为 3 次重复的平均值 \pm 标准误, 同列数据后字母相同者表示在 5% 水平上差异不显著 (DMRT)。

¹⁾ The concentration of each compound was 100 mg/L; ²⁾ The data (mean \pm SE) in the same column followed by same letters are not significant different at 5% level.

鉴于化合物 **6** (5,7,4'-三羟基-3'-甲氧基黄酮) 和 **7** (山奈酚) 表现出了较宽的抑菌谱和较好的抑菌

活性,对这 2 个化合物又进行了精密毒力测定(表 3)。结果表明,其抑菌活性均低于对照药剂多菌灵。

表 3 化合物 **6** 和 **7** 对水稻纹枯病菌和番茄白绢病菌 24 h 的抑菌毒力

Table 3 Toxicities of compound **6** and **7** against *R. solani* and *S. rolfsii* after treatment in 24 h

化合物编号 Compounds No.	病原菌 Fung	毒力回归方程 Regression equation	EC ₅₀ (95% CL)/ (mg/L)	相关系数 Correlation coefficient	卡方值 X ² 值	相对毒力指数 Index of relative toxicity
6	水稻纹枯病菌 <i>R. solani</i>	$y = -6.4782 + 5.9087x$	87.61 (69.39 - 110.63)	0.9789	6.30*	25.62
	番茄白绢病菌 <i>S. rolfsii</i>	$y = -3.4808 + 4.0801x$	119.84 (77.19 - 186.07)	0.9870	6.45*	12.34
7	水稻纹枯病菌 <i>R. solani</i>	$y = -6.9874 + 6.1003x$	92.27 (74.90 - 113.66)	0.9870	5.30*	26.98
	番茄白绢病菌 <i>S. rolfsii</i>	$y = -4.0398 + 4.1562x$	149.63 (93.26 - 240.06)	0.9870	5.40*	15.41
多菌灵 carbendazim	水稻纹枯病菌 <i>R. solani</i>	$y = 1.1873 + 7.1406x$	3.42 (2.67 - 4.33)	0.9931	7.20*	1
	番茄白绢病菌 <i>S. rolfsii</i>	$y = -4.0398 + 4.1562x$	9.71 (6.46 - 14.60)	0.9890	6.16*	1

注:化合物 **6** 为 5,7,4'-三羟基-3'-甲氧基黄酮,化合物 **7** 为山奈酚。* $P > 0.05$ 。

Note: Compound **6** is 5,7,4'-trihydroxy-3'-methoxyflavone, compound **7** is kaempferol. * $P > 0.05$.

3 结论与讨论

目前,有关牛耳枫生物活性的研究主要集中在其抗肿瘤细胞活性方面^[17-20]。本研究首次以水稻纹枯病菌、番茄白绢病菌和香蕉枯萎病菌 3 种植物病原菌为指示菌种,对牛耳枫中的抑菌活性成分进行了初步分离。从牛耳枫果实的乙酸乙酯萃取物中分离得到 10 个已知化合物,除 β -胡萝卜素外,其余 9 个化合物均为首次从该植物的果实中分离得到。其中,5,7,4'-三羟基-3'-甲氧基黄酮(**6**)对 3 种供试病原菌均具有较好的抑菌活性,山奈酚(**7**)对水稻纹枯病菌和番茄白绢病菌表现出了较好的抑菌活性,而 5,7-二羟基色原酮(**3**)和 3,4-二羟基苯甲酸(**10**)对水稻纹枯病菌具有较好的抑菌活性。初步研究结果表明,这 4 个化合物可能是牛耳枫果实中主要的抑菌活性成分。

山奈酚是植物中较常见的一种黄酮类化合物。已有研究表明,其对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠埃希氏菌和铜绿假单胞菌等病原菌具有显著的抑菌活性^[21-22],但目前尚未见有关 5,7,4'-三羟基-3'-甲氧基黄酮的生物活性、以及 5,7-二羟基色原酮和 3,4-二羟基苯甲酸对植物病原菌抑菌活性的报道。

本研究仅对牛耳枫果实石油醚提取物的乙酸乙酯萃取物进行了初步分离,且仅选取 3 种植物病原菌进行了初步的抑菌活性测定。牛耳枫中是否还存在其他活性成分、以及其是否还具有其他抑菌活性等,还有待进一步研究。

参考文献 (Reference):

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1998, 45(1): 8.
Delectis Florae Reipublicae Popularis Sinicae Agendae Academicae Sinicae Edita. Flora Reipublicae Popularis Sinicae [M]. Beijing, Science Press, 1998, 45(1): 8. (in Chinese)
- [2] 李振宇, 郭跃伟. 虎皮楠生物碱研究进展[J]. 有机化学, 2007, 27(5): 565-575.
LI Zhenyu, GUO Yuewei. Progress in the study of *Daphniphyllum* alkaloids[J]. *Chin J Org Chem*, 2007, 27(5): 565-575. (in Chinese)
- [3] 杨卫丽, 曾祥周, 张俊清, 等. 牛耳枫与辣蓼提取物药效学研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(9): 9-11.
YANG Weili, ZENG Xiangzhou, ZHANG Junqing, et al. Pharmacodynamic study of extract of *Daphniphyllum calycinum* Benth and *Polygonum hydropiper* Linn [J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2008, 19(9): 9-11. (in Chinese)
- [4] 凌炎, 唐文伟, 曾东强, 等. 14 种植物的甲醇粗提物对白背飞虱和褐飞虱的生物活性[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2012, 38(1): 53-57.
LI Yan, TANG Wenwei, ZENG Dongqiang, et al. Bioactivity of methanol extracts from 14 species of plants against *Sogatella furcifera* Horvath and *Nilaparvata lugens* Stål [J]. *J Hunan Agric Univ: Nat Sci*, 2012, 38(1): 53-57. (in Chinese)
- [5] 刘伟, 肖婷, 杜磊, 等. 牛耳枫提取物对甜菜夜蛾酚氧化酶的抑制作用[J]. 中国农业科学, 2009, 42(10): 3720-3725.
LIU Wei, XIAO Ting, DU Lei, et al. Inhibitory effects of two compounds extracted from *Daphniphyllum calycinum* on phenoloxidase of *Spodoptera exigua* [J]. *Scientia Agriculture Sin*, 2009, 42(10): 3720-3725. (in Chinese)
- [6] 方中达. 植病研究方法[M]. 中国农业出版社, 1998: 53.
FANG Zhongda. Research Method of Plant Pathology [M].

- Beijing: China Agricultural Press, 1998; 53. (in Chinese)
- [7] 胡林峰, 冯俊涛, 张兴, 等. 孜然种子中杀菌活性成分分离及结构鉴定[J]. 农药学报, 2007, 9(4): 330-334.
HU Linfeng, FENG Juntao, ZHANG Xing, *et al.* Isolation and structure detection of fungicidal components from *Cuminum cyminum* Seed[J]. *Chin J Pestic Sci*, 2007, 9(4): 330-334. (in Chinese)
- [8] 王亚男, 林生, 陈明华, 等. 天麻水提取物的化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(12): 1775-1781.
WANG Yanan, LIN Sheng, CHEN Minghua, *et al.* Chemical constituents from aqueous extract of *Gastrodia elata*[J]. *Chin J Chin Mater Med*, 2012, 37(12): 1775-1781. (in Chinese)
- [9] TAGUCHI H, YOSIOKA I, YAMASAKI K, *et al.* Studies on the constituents of *Gastrodia elata* Blume [J]. *Chem Pharm Bull*, 1981, 29(1): 55-62.
- [10] 周道元, 阮金兰, 蔡亚玲. 复叶耳蕨地上部分黄酮类化合物[J]. 中国药理学杂志, 2008, 43(16): 1218-1220.
ZHOU Daoyuan, YUAN Jinlan, CAI Yaling. Flavonoids from aerial parts of *Arachniodes exilis* [J]. *Chin Pharm J*, 2008, 43(16): 1218-1220. (in Chinese)
- [11] 唐霆, 左来福, 纳智, 等. 总序葱臭木茎干的化学成分研究[J]. 中国药理学杂志, 2012, 37(9): 1237-1240.
TANG Ting, ZUO Laifu, NA Zhi, *et al.* Chemical constituents from stems of *Dysoxylum laxiracemosum* [J]. *Chin Pharm J*, 2012, 37(9): 1237-1240. (in Chinese)
- [12] 张维库, 杨国恩, 李茜, 等. 对叶大戟化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(20): 1695-1696.
ZHANG Weiku, YANG Guoen, LI Qian, *et al.* Studies on chemical constituents of *Euphorbia sororia* [J]. *Chin J Chin Mater Med*, 2006, 31(20): 1695-1696. (in Chinese)
- [13] PARK Y, MOON B H, YANG H J, *et al.* Spectral assignments and reference data magnetic resonance in chemistry [J]. *Magn Reson Chem*, 2007(45): 1072-1075.
- [14] 蓝洪桥. 褚头红化学成分研究[J]. 中药材, 2010, 33(4): 547-549.
LAN Hongqiao. Study on the chemical constituents from *Sarcopyramis nepalensis*[J]. *J Chin Med Mater*, 2010, 33(4): 547-549. (in Chinese)
- [15] 吕辉, 李茜, 仲婕, 等. 沙生蜡菊黄酮类成分的研究[J]. 中国药理学杂志, 2008, 43(1): 11-13.
LÜ Hui, LI Qian, ZHONG Jie, *et al.* Studies on flavonoids from *Helichrysum arenarium*[J]. *Chin Pharm J*, 2008, 43(1): 11-13. (in Chinese)
- [16] 张金超, 申勇, 朱国元, 等. 杜鹃兰的化学成分研究[J]. 中草药, 2007, 38(8): 1161-1162.
ZHANG Jinchao, SHEN Yong, ZHU Guoyuan, *et al.* Study on the chemical constituents from *Cremastra appendiculata* [J]. *Chun Tradit Herb Drug*, 2007, 38(8): 1161-1162. (in Chinese)
- [17] ZHAN Zhajun, ZHANG Chuanrui, YUE Jianmin. Caldaphnidines A-F, six new *Daphniphyllum* alkaloids from *Daphniphyllum calycinum*[J]. *Tetrahedron*, 2005, 61(46): 11038-11045.
- [18] YAHATA H, KUBOTA T, KOBAYASHI J. Calyciphyllines N-P alkaloid from *Daphniphyllum calycinum*[J]. *J Nat Prod*, 2009, 72(1): 148-151.
- [19] TANG Lan, RAO Guiwei, ZHAN Zhajun, *et al.* A novel alkaloid from the seeds of *Daphniphyllum calycinum* [J]. *J Chem Res*, 2008(4): 203-204.
- [20] LI Zhenyu, PENG Shuying, FANG Li, *et al.* Two new *Daphniphyllum* alkaloids from the stems and leaves of *Daphniphyllum calycinum* [J]. *Chem Biodivers*, 2009, 6(1): 105-110.
- [21] 袁珂, 朱建鑫, 斯金平, 等. 草珊瑚正丁醇部位化学成分及抑菌活性研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(15): 1843-1846.
YUAN Ke, ZHU Jianxin, SI Jinping, *et al.* Study on the chemical constituents and antibacterial activity from *n*-butanol extract of *Sarcandra glabra*[J]. *Chin J Chin Mater Med*, 2008, 33(15): 1843-1846. (in Chinese)
- [22] 孙丽萍, 杜夏, 陈有根, 等. 油菜蜂花粉中抑菌活性成分的分离纯化和结构鉴定[J]. 食品科学, 2011, 32(19): 77-80.
SUN Liping, DU Xia, CHEN Yougen, *et al.* Separation, purification and identification of antibacterial components in rape bee pollen [J]. *Food Sci*, 2011, 32(19): 77-80. (in Chinese)

(责任编辑: 金淑惠)