

桃金娘叶的化学成分研究

周学明¹, 刘洪新², 陈 寿³, 居学成⁴, 谭海波², 邱声祥^{2*}, 郑 超^{1,3*}

1. 海南师范大学化学与化工学院, 海南 海口 571158

2. 中国科学院华南植物园, 广东 广州 510650

3. 深圳赛欣瑞科技创新中心, 广东 深圳 518110

4. 北京大学深圳研究院, 广东 深圳 518057

摘要: 目的 研究桃金娘 *Rhodomyrtus tomentosa* 叶的化学成分及其抗菌活性。方法 应用各种色谱技术对桃金娘叶的粗提物进行分离纯化, 并利用质谱及核磁等波谱技术鉴定化合物结构; 采用微量稀释法对所得化合物进行抗菌活性测试。结果 从桃金娘叶95%乙醇提取物中分离得到21个化合物, 分别鉴定为生育酚(1)、新生育酚(2)、生育酚-对苯醌(3)、生育酚A(4)、(-)- α -tocospirone(5)、rhodomyrtosone F(6)、rhodomyrtosone C(7)、watsonianone A(8)、rhodomyrtone(9)、2,6-二羟基-苯甲酸苯甲酯(10)、肉桂酸甲酯(11)、柚皮素(12)、槲皮素(13)、杨梅素(14)、3,7,3'-三甲氧基-5,4',5'-三羟基黄酮(15)、5,7,3',5'-四羟基黄酮(16)、艾纳香素(17)、7,4'-二甲氧基二氢槲皮素(18)、4'-二甲氧基二氢槲皮素(19)、2,4,7,8,9,10-六羟基-3-甲氧基-6- O - β -L-吡喃鼠李糖苷(20)、4,8,9,10-四羟基-2,3,7-三甲氧基-6- O - β -D-吡喃葡萄糖苷(21)。结论 化合物6为新天然产物, 化合物2~5, 10~13及15~19为首次从该属植物中分离得到, 抗菌实验结果显示化合物3及6~9具有一定的抗菌活性。

关键词: 桃金娘; 间苯三酚; 生育酚; 黄酮; 抗菌活性

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2016)15-2614-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.15.006

Chemical constituents from leaves of *Rhodomyrtus tomentosa*

ZHOU Xue-ming¹, LIU Hong-xin², CHEN Shou³, JU Xue-cheng⁴, TAN Hai-bo², QIU Sheng-xiang², ZHENG Chao^{1,3}

1. College of Chemistry & Engineering, Hainan Normal University, Haikou 571158, China

2. South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China

3. Shenzhen Saixinrui Science and Technology Innovation Center, Shenzhen 518110, China

4. Shenzhen Graduate School, Peking University Shenzhen 518057, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from the leaves of *Rhodomyrtus tomentosa* and its antibacterial activities. **Methods** The compounds were isolated and purified by various column chromatographies. Their structures were elucidated by means of spectral analyses (MS and NMR). The antibacterial activity of the compounds was tested by micro dilution method. **Results** A total of 21 compounds were isolated from the 95% ethanol extract in the leaves of *R. tomentosa* and identified as (2*R*,4*R*,8*R*)- α -tocopherol (1), (2*R*,4*R*,8*R*)- β -tocopherol (2), α -tocopherol-quinone (3), α -tocopherol A (4), (-)- α -tocospirone (5), rhodomyrtosone F (6), rhodomyrtosone C (7), watsonianone A (8), rhodomyrtone (9), verimol K (10), methyl cinnamate (11), naringenin (12), quercetin (13), myricetin (14), 3,7,3'-trimethoxy-5,4',5'-trihydroxy flavone (15), 5,7,3',5'- tetrahydroxyflavanone (16), blumeatin (17), dihydroquercetin-7,4'-dimethylether (18), dihydroquercetin-4'-dimethoxy (19), 2,4,7,8,9,10-hexahydroxy-3-methoxyanthracene-6- O - β -L-rhamnopyranoside (20), and 4,8,9,10-tetrahydroxy-2,3,7-trimethoxyanthracene-6- O - β -D-glucopyranoside (21). **Conclusion** Compound 6 is a new natural product and compounds 2—5, 10—13, and 15—19 are isolated from the plants of *Rhodomyrtus* (DC.) Reich for the first time. Compounds 3 and 6—9 exhibit the antibacterial activities.

Key words: *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk; phloroglucinol; tocopherol; flavone; antibacterial activity

收稿日期: 2016-04-07

基金项目: 海南省自然科学基金资助项目(20152038); 海南省高等学校科学研究项目(Hnky2015-21)

作者简介: 周学明(1989—), 男, 博士研究生, 从事天然产物研究。E-mail: xueming2009211@126.com

*通信作者 郑 超, 男, 博士, 副教授。Tel: (0898)65730237 E-mail: zhengchaoustc@163.com

邱声祥, 男, 教授。Tel: (020)37081190 E-mail: sxqiu@scbg.ac.cn

桃金娘 *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk 为桃金娘科 (Myrtaceae) 桃金娘属 *Rhodomyrtus* (DC.) Reich 的常青灌木, 别名豆稔、山稔、稔子树等, 广泛的分布于东南亚地区, 在我国东南部、南部以及西南部均有分布^[1]。桃金娘全株都可入药, 其叶具有健脾益血和收敛解毒的功效, 其根具有祛风行气和益肾的功效^[2]。近年来研究表明桃金娘主要化学成分有间苯三酚类、黄酮类、甾体类、萜类以及三萜类等, 这些化合物大多具有较好的生物活性, 如抗菌、抗肿瘤、抗氧化等^[3-12]。本课题组在寻找具有抗菌活性天然产物过程中发现桃金娘的乙醇提取物具有较强的抗菌效果, 为了进一步研究桃金娘的抗菌活性成分, 本实验利用活性追踪的方法对桃金娘叶进行了系统的分离, 从中分离鉴定了 21 个化合物, 分别为生育酚 [(2*R*,4*R*,8*R*)- α -tocopherol, **1**]、新生育酚 [(2*R*,4*R*,8*R*)- β -tocopherol, **2**]、生育酚-对苯醌 (α -tocopherol-quinone, **3**)、生育酚 A (α -tocopherol A, **4**)、(-)- α -tocospirone (**5**)、rhodomyrtosone F (**6**)、rhodomyrtosone C (**7**)、watsonianone A (**8**)、rhodomyrtone (**9**)、2,6-二羟基-苯甲酸苯甲酯 (verimol K, **10**)、肉桂酸甲酯 (methyl cinnamate, **11**)、柚皮素 (naringenin, **12**)、槲皮素 (quercetin, **13**)、杨梅素 (myricetin, **14**)、3,7,3'-三甲氧基-5,4',5'-三羟基黄酮 (3,7,3'-trimethoxy-5,4',5'-trihydroxy flavone, **15**)、5,7,3',5'-四羟基黄酮 (5,7,3',5'-tetrahydroxyflavanone, **16**)、艾纳香素 (blumeatin, **17**)、7,4'-二甲氧基二氢槲皮素 (dihydroquercetin-7,4'-dimethylether, **18**)、4'-二甲氧基二氢槲皮素 (dihydroquercetin-4'-dimethoxy, **19**)、2,4,7,8,9,10-六羟基-3-甲氧基蒽-6-*O*- β -L-吡喃鼠李糖苷 (2,4,7,8,9,10-hexahydroxy-3-methoxyanthracene-6-*O*- β -L-rhamnopyranoside, **20**) 以及 4,8,9,10-四羟基-2,3,7-三甲氧基蒽-6-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷 (4,8,9,10-tetrahydroxy-2,3,7-trimethoxyanthracene-6-*O*- β -D-glucopyranoside, **21**)。其中化合物 **6** 为具有过氧桥键的新天然产物, 化合物 **2~5**, **10~13** 以及 **15~19** 为首次从该属植物中分离得到。另外, 本实验对所有化合物进行了抗菌活性测试, 抗菌实验结果显示化合物 **3** 及 **6~9** 对金黄色葡萄球菌具有一定的抗菌活性。

1 仪器与材料

Bruker AV-500 MHz 型核磁共振仪 (瑞士布鲁克公司); Bruker AV-400 MHz 型核磁共振仪 (瑞士

布鲁克公司); Agilent-1200 Bruker Esquire 6000 Ion Trap 液质联用仪 (瑞士布鲁克公司); PolAAr 3005 旋光仪 (OA 公司); 柱色谱所用填料: 硅胶 100~200、200~300、300~400 目 (青岛海洋化工厂分厂), Sephadex LH-20 (Pharmacia 公司); 薄层色谱板所用硅胶为 Kieselgel 60 F254、Kieselgel 60、WF254S (Merck 公司); 色谱用试剂均为分析纯; 高效液相试剂均为色谱纯。

桃金娘叶于 2013 年 7 月采自江西省南康市, 经海南师范大学生命科学技术学院钟琼芯教授鉴定为桃金娘科植物桃金娘 *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk。

2 提取分离

将采集的桃金娘叶风干, 约 4.3 kg, 粉碎后于 95%乙醇中室温浸泡提取 3 次, 每次 24 h, 合并提取液, 并于 50 °C 条件下减压浓缩至膏状 (400 g)。将所得的乙醇提取物用 80~100 目硅胶拌样, 采用硅胶常压柱依次用石油醚-醋酸乙酯 (100:0→0:100) 和氯仿-甲醇 (2:1→1:1) 进行梯度洗脱。经 TLC 检测后合并相似流分后得 7 个组分 Fr. 1~7。Fr. 2 用硅胶 (200~300 目) 拌样, 以石油醚-醋酸乙酯 (20:1→1:1) 进行梯度洗脱, TLC 检测后合并相似流分得 3 个组分 Fr. 2.1~2.3; 其中 Fr. 2.1 用凝胶 Sephadex LH-20 以甲醇-氯仿 (1:1) 进行纯化后得到化合物 **6** (18 mg)、**11** (12 mg) 和 **13** (10 mg)。Fr. 2.2 经 Sephadex LH-20 (氯仿-甲醇, 1:1) 除去色素后, 再由半制备高效液相色谱制备 (乙腈-水, 48:52) 得到化合物 **1** (6.3 mg)、**12** (8.1 mg)、**15** (10 mg) 和 **2** (5.8 mg)。Fr. 2.3 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱以甲醇洗脱后, 再由半制备高效液相色谱纯化 (乙腈-水, 45:55) 得到化合物 **3** (10 mg) 及 **14** (5.9 mg)。Fr. 3 用硅胶 (200~300 目) 拌样, 以石油醚-醋酸乙酯 (10:1→1:5) 进行梯度洗脱, TLC 检测后合并相似流分得 3 个组分 Fr. 3.1~3.3, 组分 Fr. 3.2 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱以甲醇洗脱后, 再由半制备高效液相色谱制备 (乙腈-水, 40:60) 得到化合物 **4** (9.2 mg)、**5** (7.8 mg)、**16** (8.3 mg) 和 **18** (8.8 mg)。Fr. 4 用硅胶 (200~300 目) 拌样, 以石油醚-醋酸乙酯 (5:1→1:10) 进行梯度洗脱, TLC 检测后合并相似流分得 4 个组分 Fr. 3.1~3.4; Fr. 3.3 经半制备高效液相制备 (乙腈-水, 35:65) 得到化合物 **7** (6.8 mg)、**8** (7.1 mg)、**9** (5.5 mg)、**10** (9.0 mg)、**17** (6.6 mg) 和 **19** (9.1

mg)。Fr. 5 用硅胶(200~300 目)拌样,以氯仿-甲醇(50:1→10:1)进行梯度洗脱,TLC 检测后合并相似流分得2个组分Fr. 5.1~5.2; Fr. 5.1 经半制备高效液相制备(乙腈-水,90:10)得到化合物**20**(8.8 mg)和**21**(9.7 mg)。

3 结构鉴定

化合物**1**: 淡黄色油状物, EI-MS m/z : 453.4 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 2.61 (2H, t, $J = 7.0$ Hz, H-4), 2.16 (3H, s, H-5a), 2.12 (6H, s, H-7a, 8b), 1.23 (3H, s, H-2a), 0.87 (6H, d, $J = 7.0$ Hz, H-4'a, 8'a), 0.86 (3H, d, $J = 5.0$ Hz, 12'a), 0.84 (3H, d, $J = 5.0$ Hz, 12'b); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 74.7 (C-2), 31.7 (C-3), 20.9 (C-4), 118.6 (C-5), 144.7 (C-6), 121.1 (C-7), 122.8 (C-8), 117.5 (C-4a), 145.7 (C-8a), 39.5 (C-1'), 21.2 (C-2'), 37.6 (C-3'), 32.9 (C-4'), 37.4 (C-5'), 24.6 (C-6'), 37.6 (C-7'), 32.9 (C-8'), 37.6 (C-9'), 25.0 (C-10'), 40.0 (C-11'), 28.1 (C-12'), 23.9 (C-2a), 11.4 (C-5a), 12.4 (C-7a), 11.9 (C-8a), 19.9 (C-4'a), 19.8 (C-8'a), 22.9 (C-12'a), 22.8 (C-12'a)。以上数据与文献报道一致^[13], 故鉴定化合物**1**为生育酚。

化合物**2**: 淡黄色油状物, EI-MS m/z : 439.4 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.37 (1H, s, H-7), 2.67 (2H, dd, $J = 11.5, 6.5$ Hz, H-4), 2.14 (3H, s, H-5a), 2.12 (3H, s, H-8b), 1.25 (3H, s, H-2a), 0.86 (6H, d, $J = 6.5$ Hz, H-4'a, 8'a), 0.85 (3H, d, $J = 5.0$ Hz, H-12'a), 0.84 (3H, d, $J = 5.0$ Hz, H-12'b)。该化合物氢谱数据与化合物**1**极为相似(多出一个芳香质子氢信号, 缺少一个单峰甲基氢信号)推测该化合物为新生育酚, 对照其主要特征峰与文献报道一致^[14], 经 TLC 分析与新生育酚对照品对比鉴定化合物**2**为新生育酚。

化合物**3**: 淡黄色油状物, EI-MS 显示 m/z : 469.4 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 2.54 (2H, dd, $J = 10.5, 6.5$ Hz, H-1'), 2.03 (3H, s, H-3a), 2.01 (3H, s, H-5a, 6a), 1.23 (3H, s, H-3'a), 0.87 (6H, d, $J = 6.5$ Hz, H-7'a, 11'a), 0.85 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, 15'a), 0.84 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, 15'b); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 187.4 (C-1), 144.6 (C-2), 140.3 (C-3), 187.9 (C-4), 140.7 (C-5), 140.6 (C-6), 12.5 (C-3a), 12.5 (C-5a), 12.1 (C-6a), 21.6 (C-1'), 40.4 (C-2'), 72.9 (C-3'), 42.4 (C-4'), 21.5 (C-5'), 37.8 (C-6'), 33.0 (C-7'), 37.6 (C-8'), 25.0 (C-9'), 37.6 (C-10'), 32.9 (C-11'), 37.4 (C-12'), 24.6 (C-13'), 39.5 (C-14'), 28.1

(C-15'), 22.8 (C-16'), 26.7 (C-3'a), 19.9 (C-7'a), 19.9 (C-11'a), 22.9 (C-15'a)。以上数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物**3**为生育酚-对苯醌。

化合物**4**: 无色油状物, EI-MS m/z : 485.4 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 4.72 (1H, s, OH), 2.43 (1H, dt, $J = 12.5, 6.0$ Hz, H $_{\beta}$ -7), 2.01 (3H, s, H-3a), 1.90 (1H, dt, $J = 12.5, 7.0$ Hz, H $_{\alpha}$ -8), 1.83 (3H, s, H-6a), 1.82 (3H, s, H-5a), 1.78 (1H, dt, $J = 12.5, 7.0$ Hz, H $_{\alpha}$ -7), 1.70 (1H, dt, $J = 12.5, 6.0$ Hz, H $_{\beta}$ -8), 1.05 (3H, s, H-9a), 0.87 (6H, d, $J = 6.5$ Hz, H-13a, 17a), 0.86 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-21a), 0.84 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-21b); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 205.1 (C-1), 92.3 (C-2), 207.3 (C-3), 89.2 (C-4), 163.2 (C-5), 139.5 (C-6), 32.9 (C-7), 36.3 (C-8), 87.2 (C-9), 41.6 (C-10), 22.6 (C-11), 37.6 (C-12), 33.0 (C-13), 37.7 (C-14), 25.0 (C-15), 37.7 (C-16), 33.0 (C-17), 37.4 (C-18), 24.6 (C-19), 39.5 (C-20), 28.1 (C-21), 22.9 (C-22), 25.0 (C-3a), 11.9 (C-5a), 8.8 (C-6a), 25.6 (C-9a), 19.8 (C-13a), 19.9 (C-17a), 22.8 (C-21a)。以上数据与文献报道一致^[16], 故鉴定化合物**4**为生育酚A。

化合物**5**: 无色油状物, EI-MS m/z : 485.4 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 3.82 (1H, s, OH), 2.06 (3H, s, H-6a), 2.05 (3H, s, H-5a), 2.03 (1H, m, H-7b), 1.94 (1H, m, H-8b), 1.69 (1H, m, H-7a), 1.66 (1H, m, H-10b), 1.60 (1H, m, H-8a), 1.58 (1H, m, H-10a), 1.36 (3H, s, H-3a), 1.33 (3H, s, H-9a), 0.87 (6H, d, $J = 7.0$ Hz, H-13a, 17a), 0.85 (3H, d, $J = 5.5$ Hz, H-21a), 0.84 (3H, d, $J = 5.5$ Hz, 21b); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 199.0 (C-1), 93.5 (C-2), 81.4 (C-3), 201.8 (C-4), 142.1 (C-5), 147.1 (C-6), 32.2 (C-7), 36.6 (C-8), 87.2 (C-9), 41.5 (C-10), 22.5 (C-11), 37.6 (C-12), 32.9 (C-13), 37.6 (C-14), 24.9 (C-15), 37.4 (C-16), 32.9 (C-17), 37.4 (C-18), 24.6 (C-19), 39.5 (C-20), 28.1 (C-21), 22.8 (C-22), 24.4 (C-3a), 13.2 (C-5a), 13.6 (C-6a), 25.9 (C-9a), 19.9 (C-13a), 19.9 (C-17a), 22.8 (C-21a)。以上数据与文献报道一致^[17], 故鉴定化合物**5**为(-)- α -tocospirone。

化合物**6**: 白色粉末状, EI-MS m/z : 305.1 $[M+Na]^+$, HR-ESI-MS 显示 m/z : 305.136 8 $[M+Na]^+$ 结合碳谱可以确定该化合物的分子式为 $C_{15}H_{22}O_5$ (不饱和度为5)。 1H -NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) 谱中(表1)显示存在1个烯氢信号 δ : 7.29 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-4), 1个连氧次甲基氢信号 4.73 (1H, dd, $J = 6.0$,

表1 化合物6 ^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 数据

Table 1 ^1H -NMR and ^{13}C -NMR data for compound 6		
碳位	δ_{H}	δ_{C}
3	4.73 (1H, dd, $J = 6.0, 1.5$ Hz)	83.7
4	7.29 (1H, d, $J = 1.5$ Hz)	138.1
4a		134.5
5		51.9
6		198.0
7		55.1
8		210.7
8a		98.1
9	2.01 (1H, m)	30.7
10	1.05 (3H, d, $J = 7.0$ Hz)	15.3
11	1.05 (3H, d, $J = 7.0$ Hz)	16.6
5a	1.02 (3H, s)	24.2
5b	1.31 (3H, s)	26.8
7a	1.37 (3H, s)	18.4
7b	1.39 (3H, s)	20.8

1.5 Hz, H-3) 以及 1 个次甲基氢信号 2.01 (1H, m, H-9), 此外还有 4 个甲基的单峰氢信号分别为 δ 1.39 (3H, s), 1.37 (3H, s), 1.31 (3H, s), 1.02 (3H, s), 以及 2 个化学位移相同的甲基双峰氢信号 1.05 (6H, d, $J = 7.0$ Hz)。 ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 125 MHz) 结合 DEPT 谱可知该化合物中存在 2 个羰基碳信号 δ 198.0 (C-6) 及 210.7 (C-8); 1 对双键碳信号 δ 138.1 (C-4) 及 134.5 (C-4a); 1 个连二氧饱和碳信号 δ 98.1 (C-8a); 1 个连氧碳信号 δ 83.7 (C-3); 2 个饱和季碳信号 δ 51.9 (C-5) 及 55.1 (C-7); 1 个饱和次甲基碳信号 δ 30.7 (C-9) 以及余下 6 个甲基碳信号分别为 δ 26.8, 24.2, 20.8, 18.4, 16.6 以及 15.3。以上数据说明该化合物为间苯三酚类衍生物。HMBC 谱中显示 H-5a, 5b 与 C-4a, 5, 6 相关; H-7a, 7b 与 C-6, 7, 8 位碳相关; H-4 与 C-4a, 5, 8a 相关可以说明 A 环的连接方式 (图 1)。 ^1H - ^1H COSY 谱中显示 H-11, 10 与 H-9, H-3, H-4 有相关说明存在如图 1 中加粗部分的片段, 该片段连在 C-4a 位是通过 HMBC 相关进一步确定的。从 3 位和 8 位碳的化学位移和高分辨质谱给出的分子式可以推断出 B 环的连接方式。因此确定该化合物的结构如图 1 所示, 并将化合物 6 命名为 rhodomyrtosone F。该化合物仅作为合成的中间产物被报道过^[18], 而从未从植物中分离得到, 因此化合物 6 为 1 个新的天然产物。

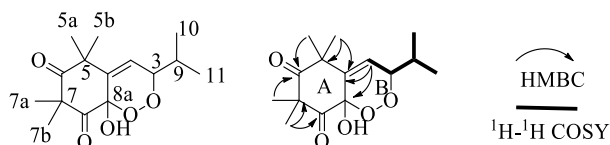


图1 化合物6的结构及重要的 HMBC、 ^1H - ^1H COSY 相关
Fig. 1 Structure and key correlations of HMBC and ^1H - ^1H COSY for compound 6

化合物 7: 黄色粉末, EI-MS m/z : 697.4 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 13.5 (1H, s, 8-OH), 4.39 (1H, t, $J = 3.5$ Hz, H-7''), 4.35 (1H, t, $J = 5.5$, H-9), 3.21 (1H, dd, $J = 17.5, 7.0$ Hz, H-2'a), 3.00 (1H, dd, $J = 17.5, 6.5$ Hz, H-2'b), 1.65 (3H, s, H-14'''), 1.62 (3H, s, H-12), 1.51 (3H, s, H-15'''), 1.47 (3H, s, H-13), 1.43 (3H, s, H-12'''), 1.41 (3H, s, H-13'''), 1.36 (3H, s, H-3a), 1.39 (3H, s, H-10), 1.36 (3H, s, H-11), 1.03 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-4'), 1.02 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-5'), 0.96 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-11'''), 0.89 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-4''), 0.82 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-10'''); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 197.6 (C-1), 56.2 (C-2), 211.8 (C-3), 47.4 (C-4), 166.8 (C-4a), 152.5 (C-4b), 105.8 (C-5), 150.6 (C-6), 107.7 (C-7), 160.8 (C-8), 107.7 (C-8a), 25.7 (C-9), 114.4 (C-9a), 25.0 (C-10), 24.5 (C-11), 24.8 (C-12), 25.1 (C-13), 204.7 (C-1'), 54.1 (C-2'), 24.7 (C-3'), 25.2 (C-4'), 22.8 (C-5'), 45.6 (C-1''), 25.4 (C-2''), 23.4 (C-3''), 23.5 (C-4''), 197.6 (C-1'''), 56.4 (C-2'''), 211.6 (C-3'''), 47.4 (C-4'''), 166.9 (C-5'''), 113.8 (C-6'''), 25.4 (C-7'''), 47.0 (C-8'''), 25.1 (C-9'''), 23.5 (C-10'''), 23.9 (C-11'''), 24.3 (C-12'''), 24.0 (C-13'''), 25.1 (C-14''')。以上数据与文献报道一致^[19], 故鉴定化合物 7 为 rhodomyrtosone C。

化合物 8: 黄色粉末, EI-MS m/z : 455.2 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 13.3 (2H, s, 5, 5''-OH), 4.09 (1H, t, $J = 7.5$, H-1'), 1.82 (2H, t, $J = 7.5$, H-2'), 1.43 (6H, s, H-9, 9''), 1.43 (6H, s, H-8, 8''), 1.39 (1H, m, H-3') 1.37 (6H, s, H-7, 7''), 1.36 (6H, s, H-10, 10''), 0.84 (6H, d, $J = 6.5$ Hz, H-4', 5'); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 191.8 (C-1, 1''), 52.3 (C-2, 2''), 212.5 (C-3, 3''), 51.6 (C-4, 4''), 191.5 (C-5, 5''), 114.2 (C-6, 6''), 24.2 (C-7, 7''), 26.1 (C-8, 8''), 25.1 (C-9, 9''), 25.4 (C-10, 10''), 29.7 (C-1'), 38.0 (C-2'), 27.0 (C-3'), 22.5 (C-4', 5')。以上数据与文献报道一致^[20], 故鉴定化合物 8 为 watsonianone A。

化合物 **9**: 黄色粉末, EI-MS m/z : 465.2 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.13 (1H, s, H-5), 4.20 (1H, t, $J = 6.5$, H-9), 3.03 (1H, dd, $J = 15.5$, 6.5 Hz, H-2'a), 2.97 (1H, dd, $J = 15.5$, 7.0 Hz, H-2'b), 2.25 (1H, m, H-3'), 1.56 (3H, s, H-12), 1.44 (3H, s, H-13), 1.42 (3H, s, H-10), 1.38 (3H, s, H-11), 0.98 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-4'), 0.98 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-5'), 0.87 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-4''), 0.84 (3H, d, $J = 5.5$ Hz, H-5''); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 199.5 (C-1), 57.1 (C-2), 213.5 (C-3), 48.5 (C-4), 168.9 (C-4a), 157.4 (C-4b), 95.2 (C-5), 164.2 (C-6), 108.9 (C-7), 161.8 (C-8), 106.1 (C-8a), 26.5 (C-9), 115.3 (C-9a), 26.2 (C-10), 24.1 (C-11), 24.9 (C-12), 24.3 (C-13), 208.6 (C-1'), 57.1 (C-2'), 26.4 (C-3'), 25.4 (C-4'), 23.7 (C-5'), 46.5 (C-1''), 26.4 (C-2''), 23.1 (C-3''), 24.3 (C-4'')。以上数据与文献报道一致^[3], 故鉴定化合物 **9** 为 rhodomartyosone。

化合物 **10**: 无色油状物, EI-MS m/z : 267.1 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 9.70 (2H, brs, 1', 3'-OH), 7.43 (5H, m, H-3~7), 7.31 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.47 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-4', 6'), 2.25 (1H, m, H-3'), 5.50 (2H, s, H-1); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 68.4 (C-1), 134.0 (C-2), 128.9 (C-3, 7), 129.2 (C-4, 6), 129.5 (C-5), 161.1 (C-1', 3'), 100.2 (C-2'), 108.4 (C-4', 6'), 136.9 (C-5'), 169.6 (C-7')。以上数据与文献报道一致^[21], 故鉴定化合物 **10** 为 2,6-二羟基-苯甲酸苯甲酯。

化合物 **11**: 无色针状结晶 (甲醇), EI-MS m/z : 163.1 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.69 (H, d, $J = 16.0$ Hz, H-2), 7.52 (2H, m, H-5, 9), 7.38 (3H, m, H-6~8), 6.44 (H, d, $J = 16.0$ Hz, H-3), 3.81 (3H, s, OMe); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 167.5 (C-1), 117.9 (C-2), 144.9 (C-3), 134.5 (C-4), 128.2 (C-5, 9), 128.9 (C-6, 8), 130.4 (C-7), 51.8 (OMe)。以上数据与文献报道一致^[22], 故鉴定化合物 **11** 为肉桂酸甲酯。

化合物 **12**: 白色针晶 (甲醇), mp 260~262 $^{\circ}C$, EI-MS m/z : 295.1 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD-d_4) δ : 2.68 (1H, dd, $J = 13.6$, 2.4 Hz, H-3a), 3.10 (1H, dd, $J = 13.6$, 10.4 Hz, H-3b), 5.32 (1H, dd, $J = 10.4$, 2.4 Hz, H-2), 5.88 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 5.89 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.81 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3', 5'), 7.30 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2', 6'); ^{13}C -NMR

(100 MHz, CD_3OD-d_4) δ : 44.0 (C-3), 80.5 (C-2), 96.2 (C-8), 97.0 (C-6), 103.3 (C-10), 116.3 (C-3', 5'), 129.0 (C-2', 6'), 131.1 (C-1'), 159.0 (C-4'), 164.9 (C-9), 165.5 (C-5), 168.3 (C-7), 197.8 (C-4)。以上数据与文献报道一致^[23], 故鉴定化合物 **12** 为柚皮素。

化合物 **13**: 黄色针晶 (甲醇), mp 308~309 $^{\circ}C$, EI-MS m/z : 325.0 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3COCD_3) δ : 6.27 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-6), 6.54 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-8), 7.00 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 7.70 (1H, dd, $J = 8.4$, 1.6 Hz, H-6'), 7.83 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-2'); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3COCD_3) δ : 94.4 (C-8), 99.0 (C-6), 104.0 (C-10), 115.7 (C-5'), 116.2 (C-2'), 121.4 (C-6'), 123.7 (C-1'), 136.7 (C-3), 145.7 (C-3'), 146.9 (C-2), 148.2 (C-4'), 157.8 (C-9), 162.0 (C-5), 164.9 (C-7), 176.5 (C-4)。以上数据与文献报道一致^[24], 故鉴定化合物 **13** 为槲皮素。

化合物 **14**: 黄色针晶 (甲醇), mp 323~324 $^{\circ}C$, EI-MS m/z : 341.0 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD-d_4) δ : 6.18 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-6), 6.38 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-8), 7.35 (2H, s, H-2', 6'); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD-d_4) δ : 94.4 (C-8), 99.2 (C-6), 104.5 (C-10), 108.5 (C-2', 6'), 123.1 (C-1'), 137.0 (C-3), 137.4 (C-4'), 146.7 (C-3', 5'), 148.0 (C-2), 158.2 (C-9), 162.5 (C-5), 165.6 (C-7), 177.3 (C-4)。以上数据与文献报道一致^[25], 故鉴定化合物 **14** 为杨梅素。

化合物 **15**: 黄色针晶 (甲醇), mp 198~199 $^{\circ}C$, EI-MS m/z : 383.1 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD-d_4) δ : 3.80 (3H, s, 3-OMe), 3.87 (3H, s, 7-OMe), 3.91 (3H, s, 3'-OMe), 6.29 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-6), 6.55 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-8), 7.31 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-6'), 7.34 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-3'); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD-d_4) δ : 93.1 (C-8), 98.9 (C-6), 105.3 (C-10), 106.7 (C-2'), 110.9 (C-6'), 121.7 (C-1'), 139.1 (C-4'), 139.9 (C-3), 146.6 (C-5'), 149.5 (C-3'), 158.1 (C-2), 158.2 (C-9), 162.8 (C-5), 167.3 (C-7), 180.0 (C-4)。以上数据与文献报道一致^[26], 故鉴定化合物 **15** 为 3,7,3'-三甲氧基-5,4',5'-三羟基黄酮。

化合物 **16**: 白色粉末 (甲醇), mp 265~266 $^{\circ}C$, EI-MS m/z : 311.1 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 2.66 (1H, dd, $J = 14.4$, 2.4 Hz, H-3a), 3.17 (1H, dd, $J = 14.4$, 12.0 Hz, H-3b), 5.35 (1H, dd, $J = 12.0$, 2.4 Hz, H-2), 5.88 (2H, s, H-6, 8), 6.75 (2H, s, H-2', 6'), 6.88 (1H, s, H-4'); ^{13}C -NMR (100 MHz,

DMSO- d_6) δ : 42.0 (C-3), 78.6 (C-2), 95.1 (C-8), 95.8 (C-6), 101.9 (C-10), 114.5 (C-2'), 115.2 (C-6'), 118.1 (C-4'), 129.6 (C-1'), 145.2 (C-3'), 145.9 (C-5'), 163.1 (C-5), 163.8 (C-9), 166.7 (C-7), 196.4 (C-4)。以上数据与文献报道一致^[27], 故鉴定化合物 **16** 为 5,7,3',5'-四羟基黄酮。

化合物 **17**: 白色粉末(甲醇), mp 217~218 °C, EI-MS m/z : 325.1 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 2.71 (1H, dd, $J = 14.0, 2.4$ Hz, H-3a), 3.23 (1H, dd, $J = 14.0, 11.2$ Hz, H-3b), 3.79 (3H, s, 7-OMe), 5.44 (1H, dd, $J = 11.2, 2.4$ Hz, H-2), 6.08 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-6), 6.11 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-8), 6.75 (2H, s, H-2', 6'), 6.89 (1H, s, H-4'); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 42.1 (C-3), 78.9 (C-2), 93.5 (C-8), 94.4 (C-6), 102.6 (C-10), 114.2 (C-2'), 115.5 (C-6'), 118.3 (C-4'), 129.5 (C-1'), 145.3 (C-3'), 145.9 (C-5'), 162.8 (C-5), 163.4 (C-9), 167.8 (C-7), 192.8 (C-4), 56.1 (7-OMe)。以上数据与文献报道一致^[27], 故鉴定化合物 **17** 为艾纳香素。

化合物 **18**: 白色粉末(甲醇), mp 165~167 °C, EI-MS m/z : 355.2 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 3.78 (3H, s, 4'-OMe), 3.81 (3H, s, 7-OMe), 4.58 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, H-3), 5.18 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, H-2), 6.08 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-6), 6.10 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-8), 6.91 (1H, dd, $J = 8.0, 2.4$ Hz, H-6'), 6.93 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-2'), 7.06 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 71.6 (C-3), 83.1 (C-2), 93.7 (C-8), 94.9 (C-6), 101.8 (C-10), 111.8 (C-5'), 115.3 (C-2'), 119.3 (C-6'), 129.5 (C-1'), 145.9 (C-3'), 148.2 (C-4'), 162.6 (C-9), 163.2 (C-5), 167.8 (C-7), 198.2 (C-4), 56.1 (7-OMe), 55.9 (4'-OMe)。以上数据与文献报道一致^[27], 故鉴定化合物 **18** 为 7,4'-二甲氧基二氢槲皮素。

化合物 **19**: 白色粉末(甲醇), mp 175~176 °C, EI-MS m/z : 341.2 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD₃OD- d_4) δ : 3.89 (3H, s, 4'-OMe), 4.58 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, H-3), 4.98 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, H-2), 5.90 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-6), 5.93 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-8), 6.83 (1H, d, $J = 6.4$ Hz, H-5'), 6.97 (1H, dd, $J = 6.4, 1.6$ Hz, H-6'), 7.11 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-2'); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD₃OD- d_4) δ : 74.0 (C-3), 85.3 (C-2), 97.2 (C-8), 98.5 (C-6), 102.8 (C-10), 114.8 (C-5'), 117.3 (C-2'), 121.3 (C-6'), 132.1 (C-1'), 148.9 (C-3'), 150.0

(C-4'), 164.6 (C-9), 165.3 (C-5), 169.8 (C-7), 199.2 (C-4), 58.2 (4'-OMe)。以上数据与文献报道一致^[27], 故鉴定化合物 **19** 为 4'-二甲氧基二氢槲皮素。

化合物 **20**: 黄色粉末(甲醇), EI-MS m/z : 489.4 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, Pyridine- d_5) δ : 1.68 (3H, d, $J = 5.2$ Hz, H-6'), 4.44 (1H, m, H-4'), 4.62 (1H, m, H-3'), 4.79 (1H, m, H-5'), 4.94 (1H, m, H-2'), 4.21 (3H, s, 3-OMe), 6.45 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-1'), 8.06 (1H, s, H-1), 8.50 (1H, s, H-5); ^{13}C -NMR (100 MHz, Pyridine- d_5) δ : 18.9 (C-6'), 71.8 (C-5'), 72.2 (C-3'), 72.9 (C-2'), 74.1 (C-4'), 102.5 (C-1'), 108.1 (C-8a), 112.5 (C-9a), 113.1 (C-1), 114.6 (C-5), 115.2 (C-4a), 115.8 (C-10a), 137.9 (C-7), 141.6 (C-3), 143.1 (C-4, 8), 148.3 (C-6), 154.6 (C-2), 159.8 (C-10), 160.1 (C-9), 61.6 (3-OMe)。以上数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 **20** 为 2,4,7,8,9,10-六羟基-3-甲氧基蒽-6- O - β -L-吡喃鼠李糖苷。

化合物 **21**: 黄色粉末(甲醇), EI-MS m/z : 533.3 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 3.23 (1H, m, H-4'), 3.34 (2H, m, H-2', 3'), 3.42 (1H, m, H-5'), 3.51 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, H-6'a), 3.70 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, H-6'b), 4.00 (3H, s, 2-OMe), 4.04 (3H, s, 3-OMe), 4.10 (3H, s, 7-OMe), 5.18 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1'), 7.63 (1H, s, H-1), 7.83 (1H, s, H-5); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 60.6 (C-6'), 69.5 (C-4'), 73.4 (C-2'), 76.5 (C-3'), 77.3 (C-5'), 101.3 (C-1'), 107.6 (C-1), 112.1 (C-5), 112.4 (C-8a), 112.7 (C-4a), 112.9 (C-9a), 113.7 (C-10a), 141.0 (C-3), 141.2 (C-4, 8), 141.8 (C-7), 151.9 (C-6), 154.4 (C-2), 158.2 (C-10), 158.4 (C-9), 56.8 (2-OMe), 61.4 (3-OMe), 61.7 (7-OMe)。以上数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 **21** 为 4,8,9,10-四羟基-2,3,7-三甲氧基蒽-6- O - β -D-吡喃葡萄糖苷。

4 抗菌活性

采用微量稀释法^[28]对分离得到的化合物 **1**~**21** 进行抗菌活性测试。供试菌株为大肠杆菌 *Escherichia coli* ATCC 25922 和金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* ATCC 8799, 阳性对照为红霉素, 其对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的 MIC 值分别为 125 $\mu\text{g/mL}$ 和 0.63 $\mu\text{g/mL}$ 。结果表明化合物 **9** 对金黄色葡萄球菌有较强的抑制活性, 其 MIC 为 1.25 $\mu\text{g/mL}$, 接近阳性对照组, 化合物 **3** 以及 **6**~**8** 则对金黄色葡萄球菌具有一定的抑制活性, 其 MIC 值分

别为10、10、2.5和5 $\mu\text{g/mL}$;其他化合物在20 $\mu\text{g/mL}$ 时对2种致病菌都未见有明显抑制活性。

参考文献

- [1] Winotai A, Wright T, Goolsby A J. Herbivores in Thailand on *Rhodomirtus tomentosa* (Myrtaceae), an invasive weed in Florida [J]. *Fla Entomol*, 2005, 88(1): 104-105.
- [2] 国家中医药管理局中华本草编委会, 中华本草 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.
- [3] Hiranrat A, Mahabusarakam W. New acylphloroglucinols from the leaves of *Rhodomirtus tomentosa* [J]. *Tetrahedron*, 2008, 64(49): 11193-11197.
- [4] Hiranrat A, Chitbankluoi W, Mahabusarakam W, et al. A new flavellagic acid derivative and phloroglucinol from *Rhodomirtus tomentosa* [J]. *Nat Prod Res*, 2012, 26(20): 1904-1909.
- [5] Hiranrat A, Mahabusarakam W, Carroll A R, et al. Tomentosones A and B, hexacyclic phloroglucinol derivatives from the Thai shrub *Rhodomirtus tomentosa* [J]. *J Org Chem*, 2012, 77(1): 680-683.
- [6] 侯爱君, 吴养洁, 刘延泽. 桃金娘中的黄酮苷和一种逆没食子丹宁 [J]. 中草药, 1999, 30(9): 645-648.
- [7] Hui W H, Li M M, Luk K. Triterpenoids and steroids from *Rhodomirtus tomentosa* [J]. *Phytochemistry*, 1975, 14(3): 833-834.
- [8] Tung N H, Ding Y, Choi E M, et al. New anthracene glycosides from *Rhodomirtus tomentosa* stimulate osteoblastic differentiation of MC3T3-E1 cells [J]. *Arc Pharm Res*, 2009, 32(4): 515-520.
- [9] 黄敏琪, 牙启康, 陈海燕, 等. 山荃茎枝化学成分的研究 [J]. 中草药, 2010, 41(7): 1079-1080.
- [10] Takahashi H, Iuchi M, Fujita Y, et al. Coumaroyl triterpenes from *Casuarina equisetifolia* [J]. *Phytochemistry*, 1999, 51(4): 543-550.
- [11] Hui W H, Li M M, Luk K. Triterpenoids and steroids from *Rhodomirtus tomentosa* [J]. *Phytochemistry*, 1975, 14(3): 833-834.
- [12] 肖婷, 崔炯谟, 李倩, 等. 桃金娘的化学成分、药理作用和临床应用研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2013, 28(5): 800-805.
- [13] Kitajima J, Kimizuka K, Arai M, et al. Constituents of *Ficus pumila* leaves [J]. *Chem Pharm Bull*, 1998, 46(10): 1647-1649.
- [14] 夏芳, 孙建, 姜勇, 等. 白木香叶的化学成分研究 (二) [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(19): 3299-3303.
- [15] Sung J H, Lee J O, Son J K, et al. Cytotoxic constituents from *Solidago virga-aurea* var. *gigantea* MIQ [J]. *Arch Pharm Res*, 1999, 22(6): 633-637.
- [16] Chiang Y M, Kuo Y H. Two novel α -tocopheroids from the aerial roots of *Ficus microcarpa* [J]. *Tetrahedron Lett*, 2003, 44(27): 5125-5128.
- [17] Lin W Y, Kuo Y H, Chang Y L, et al. Anti-platelet aggregation and chemical constituents from the rhizome of *Gynura japonica* [J]. *Planta Med*, 2003, 69(8): 757-764.
- [18] Gervais A, Lazarski K E, Porco J A. Divergent total syntheses of rhodomirtosones A and B [J]. *J Org Chem*, 2015, 80(19): 9584-9591.
- [19] Carroll A R, Avery V M, Duffy S, et al. Watsonianone A-C, anti-plasmodial β -triketones from the Australian tree, *Corymbia watsoniana* [J]. *Org Biomol Chem*, 2013, 11(3): 453-458.
- [20] Hamidi D, Salni S, Sargent M V, et al. Rhodomirtone, an antibiotic from *Rhodomirtus tomentosa* [J]. *Chem Inform*, 2002, 33(45): 229-232.
- [21] Sy L K, Brown G D. Novel phenylpropanoids and lignans from *Illicium verum* [J]. *J Nat Prod*, 1998, 61(8): 987-992.
- [22] Reta G F, Tonn C E, Ríos-Luci C, et al. Cytotoxic bioactivity of some phenylpropanoic acid derivatives [J]. *Nat Prod Commun*, 2012, 7(10): 1341-1346.
- [23] 官智, 谭颂德, 苏镜娱, 等. 云南多依 (*Docynia delavayi* (Franch.) Schneid.) 黄酮成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2000, 12(3): 34-37.
- [24] Liu R H, Wen X C, Shao F, et al. Flavonoids from heartwood of *Dalbergia cochinchinensis* [J]. *Chin Herb Med*, 2016, 8(1): 89-93.
- [25] 周先礼, 亲长红, 梅莹, 等. 髯花杜鹃叶的化学成分研究 [J]. 中草药, 2010, 41(2): 206-208.
- [26] Kumari G N K, Rao L J M, Rao N S P. Myricetin methyl ethers from *Solanum pubescens* [J]. *Phytochemistry*, 1984, 23(11): 2701-2702.
- [27] Nessa F, Ismail Z, Mohamed N, et al. Free radical-scavenging activity of organic extracts and of pure flavonoids of *Blumea balsamifera* DC. leaves [J]. *Food Chem*, 2004, 88(2): 243-252.
- [28] Pierce C G, Uppuluri P, Tristan A R, et al. A simple and reproducible 96-well plate-based method for the formation of fungal biofilms and its application to antifungal susceptibility testing [J]. *Nat Protoc*, 2008, 3(9): 1494-1500.