

源自桑树资源的 10 种酚类化合物的抑菌活性研究

庞道睿^{1,2}, 刘凡¹, 施英¹, 刘军¹, 沈维治¹, 邹宇晓¹, 廖森泰^{1*}, 肖更生¹

(¹ 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 广东省农产品加工重点实验室,
广州 510610; ² 华南农业大学食品学院, 广州 510642)

摘要 为了深入研究源自桑树资源的酚类化合物的抑菌活性, 采用琼脂扩散法和二倍微量稀释法, 测定了 Morusin、Kuwanon E 等 10 种桑树资源酚类化合物对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠埃希菌和沙门氏菌 4 种常见致病菌的抑菌圈直径和最低抑菌浓度。结果表明: 所测定化合物对革兰阳性菌(金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌)的抑菌效果普遍优于对革兰阴性菌(大肠埃希菌、沙门氏菌); 所测定化合物中, Morusin、Kuwanon E 和 Sanggenol A 的抑菌活性最强, 其中 Morusin 对枯草芽孢杆菌的最低抑菌浓度最低($< 3.72 \mu\text{mol/L}$)。对所测定化合物抑菌活性的构效关系进行了初步探讨, 发现化合物的立体构象、取代基种类和取代位置对其抑菌活性均有影响, 特别是异戊二烯基结构对化合物的抑菌活性影响最大。

关键词 桑树; 酚类化合物; 抑菌活性; 构效关系

中图分类号 R285 **文献标志码** A **文章编号** 1000–5048(2014)02–0221–06

doi: 10.11665/j.issn.1000–5048.20140216

Antibacterial activity of 10 phenolic compounds from mulberry

PANG Daorui^{1,2}, LIU Fan¹, SHI Ying¹, LIU Jun¹, SHEN Weizhi¹, ZOU Yuxiao¹, LIAO Sentai^{1*}, XIAO Gengsheng¹

¹ Sericulture and Farm Produce Processing Research Institute, Guangdong Provincial Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Agro-food Science and Technology of Guangdong, Guangzhou 510610; ² College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

Abstract Inhibition zone diameters and minimum inhibitory concentrations (MIC) of 10 phenolic compounds from mulberry (*Morus alba* L.) against 4 common pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp.) were tested by agar diffusion and micro-dilution in order to study the antibacterial activity of mulberry. The results indicated that the monomeric compounds exhibited more effect on Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) than Gram-negative ones (*E. coli*, *Salmonella*). The antibacterial activity of Morusin, Kuwanon E and Sanggenol A on Gram-positive bacteria were the best. Especially, the MIC of Morusin against *Bacillus subtilis* was below $3.72 \mu\text{mol/L}$. Structure-activity relationships of these compounds were also discussed. It was found that stereoisomerism, species and position of substituent had implications for their antibacterial activity. Especially, prenyl was very important for the antibacterial activity of compounds.

Key words mulberry; phenolic compounds; antibacterial activity; structure-activity relationship

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31071534); the Earmarked Fund for Modern Agro-industry Technology Research System (No. CARS-22); the Team Project of Natural Science Foundation of Guangdong Province (No. 9351064001000002) and the Project for Zhujiang Science and Technology New Star of Guangzhou (No. 2013J2200085).

桑树是桑科(*Moraceae*)桑属(*Morus*)的乔木性阔叶树种, 广泛分布于北纬 50°至南纬 30°间的寒带、温带与热带地域^[1]。我国桑树资源分布广

泛, 栽培历史悠久。桑树资源, 包括桑叶、桑枝、桑白皮、桑椹, 均是我国药典收录的中药材, 其中桑叶、桑椹还被国家卫生部正式列入“既是食品

* 收稿日期 2013-12-25 *通信作者 Tel: 020–87596248 E-mail: liaost@163.com

基金项目 国家自然科学基金资助项目(No. 31071534); 现代农业产业技术体系建设专项资金项目(No. CARS-22); 广东省自然科学基金团队项目(No. 9351064001000002); 广州市珠江科技新星专项资金项目(No. 2013J2200085)

又是药品”的资源名单,具有较高的食药用价值。现代药理学研究表明,桑树资源具有多种药理活性,如降血糖、降血脂、抗氧化、抑菌^[2]、抗病毒^[3]等。我国古代许多中医名著,如《神农本草经》、《本草纲目》、《百草镜》等亦有桑树资源入药的记载^[4]。

目前,桑树资源的抑菌活性越来越引起人们的关注。以桑叶及桑叶粗提物抑菌活性的研究报道越来越多。樊黎生^[5]研究发现桑叶汁对革兰阳性(G^+)和革兰阴性(G^-)细菌和部分酵母菌的生长有明显的抑制作用。陈佳佳等^[6]运用琼脂扩散法和2倍稀释法对5种溶剂提取的桑叶粗提物的抑菌活性及其抑菌稳定性进行了研究。迟晓喆等^[7]采用热水浸提法、乙醇提取法、水提-醇萃法3种方法获得桑叶的粗提物,并以抑菌圈直径为抑菌评价指标进行试验,发现3种提取物中,乙醇提取物对大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌的抑菌活性最强。Wang等^[8]利用滤纸片法测定冻干的桑椹多糖的抑菌活性,并测定了其对枯草芽孢杆菌、大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度,证明桑椹多糖有较好的抑菌活性。Qu等^[9]测定了桑树的韧皮纤维对金黄色葡萄球菌的抑菌率,证明其抑菌效果较好。但目前对来源于桑树资源具有抑菌活性的单体化合物的研究报道较少。Fukai等^[10]利用琼脂稀释法测定了Moracins C、M、P, mulberrofuran F、G, albanol B, mulberrofuran D、Y, Chalcomoracin等9种化合物的抑菌活性,国内外对桑根、桑白皮的抑菌活性研究较少。

本文对取自桑叶、桑枝、桑根等部位的10种桑树资源单体化合物进行抑菌活性测定,并对其进行抑菌作用的构效关系分析,旨在探明桑树资源抑菌作用的物质基础,为桑树资源的食药用途开发提供理论依据。

1 材 料

1.1 化合物、菌种和试剂

环桑根皮素(Cyclomorusin)、桑皮黄素(Mulberrin)、桑根皮醇(Morusinol)、桑皮酮E(Kuwanon E)、桑根皮醇A(Sanggenol A)、桑皮苷C(Mulberroside C)、桑根皮素(Morusin)、桑根酮C(Sanggenon C)、桑根酮D(Sanggenon D)、桑皮苷A(Mulberroside

A),纯度均大于95%,购自云南西力生物技术有限公司。氨苄西林(纯度96%,美国Sigma公司)。

金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* ATCC6538、枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* ATCC6633、大肠埃希菌 *Escherichia coli* ATCC8739、沙门氏菌 *Salmonella* spp. DSM4224、购自广东省微生物菌种保藏中心。营养肉汤培养基、琼脂粉(广东环凯生物科技有限公司);其余化学试剂均为市售分析纯。

1.2 仪 器

超净工作台(苏州安泰空气技术有限公司);压力蒸汽灭菌器(江阴滨江医疗设备厂);DH300电热恒温培养箱(上海佳胜实验仪器有限公司);游标卡尺(成都成量工具集团有限公司);UV-2450紫外分光光度计(日本岛津公司)。

2 方 法

2.1 测 试 菌 液 的 制 备

将4种测试细菌分别接种到液体培养基中,置37℃摇床培养箱中培养至对数期,菌液浓度为 1.0×10^9 CFU/mL,备用。

2.2 抑 菌 圈 直 径 的 测 定^[11-12]

采用琼脂扩散法,在超净工作台上用无菌移液器取待测试菌液(1.0×10^9 CFU/mL)200 μL于营养琼脂平板上,涂布均匀后,在平板上用直径为5.0 mm的打孔器均匀打孔,每板4孔,去除孔内固体培养基并适当封闭孔底。分别移取各酚类化合物(DMSO溶解,1.0 mg/mL)、阳性对照Ampicillin(DMSO溶解,1.0 mg/mL)和空白对照溶液(DMSO)20 μL加入相应孔内,放置1 h,使所加抑菌溶液均匀扩散。然后置37℃生化培养箱中培养24 h,测量其抑菌圈直径。重复3次,取平均值,并用SPSS软件中LSD法进行差异显著性分析。

2.3 最 小 抑 菌 浓 度 (MIC) 的 测 定^[5,13-14]

采用改良的微量二倍稀释法测定各化合物的最低抑菌浓度。将所测化合物和阳性对照品(ampicillin)用DMSO溶解并配制成系列梯度浓度溶液,备用。向96孔板每孔中依次加入营养肉汤培养液160 μL,各浓度的单体化合物或阳性对照品20 μL,测试菌液(1.0×10^7 CFU/mL)20 μL,使得每孔终体积为200 μL。以DMSO为

阴性对照,空白组仅加入营养肉汤培养液180 μL和DMSO 20 μL,以上操作均在超净工作台上完成。37 °C培养20 h后,向每孔中加入显色剂碘硝基四唑紫(INT)20 μL,继续于37 °C培养4 h,根据各孔颜色变化,判定化合物MIC。重复测定3次。

3 结果与分析

3.1 抑菌活性测定结果及分析

利用琼脂扩散法对10种单体化合物的抑菌活性进行测定,结果见表1,相应分子结构如图1所示。

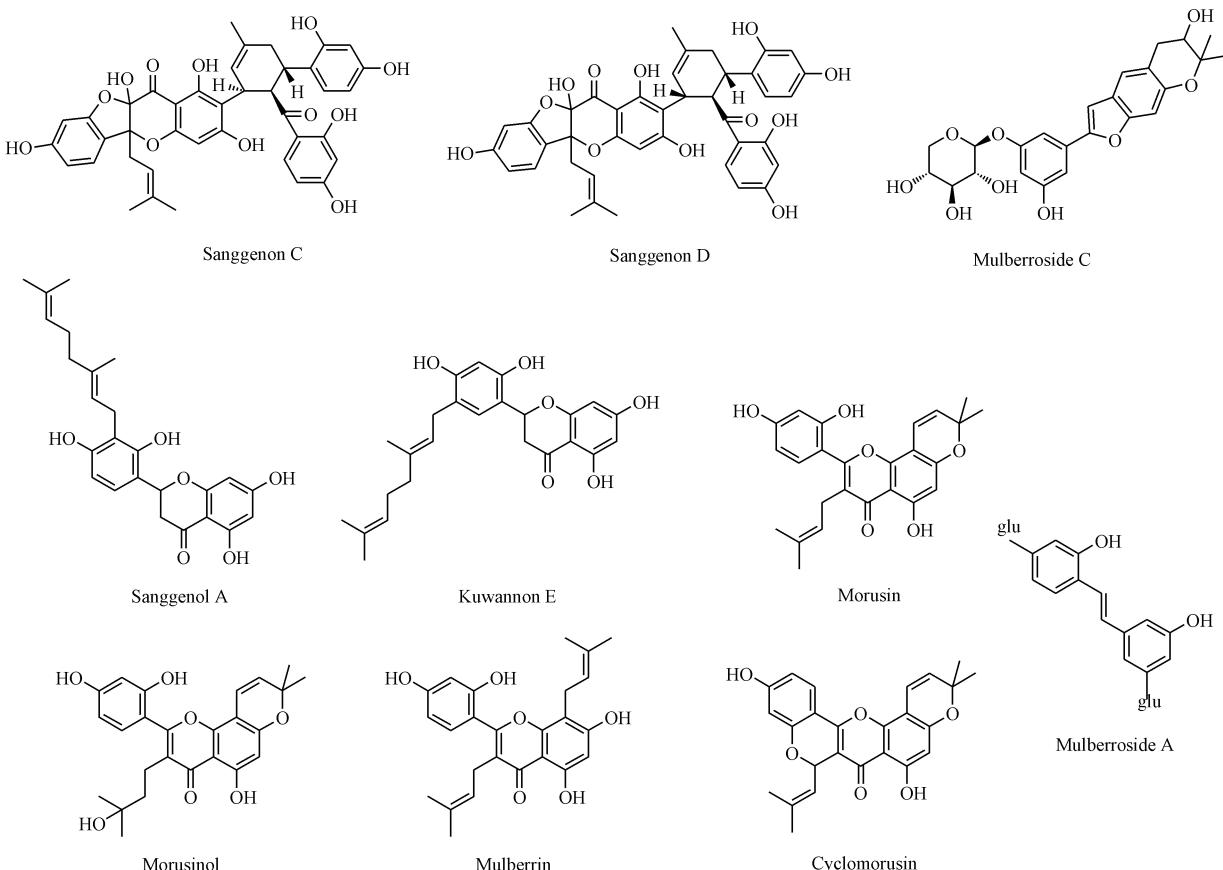


Figure 1 Structures of the 10 compounds

Table 1 Inhibition activities of 10 compounds from mulberry against 4 pathogenic bacteria ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Compd.	Inhibition zone diameter/mm			
	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella</i> spp.
CK	5.00 ± 0.00 ^a	5.00 ± 0.00 ^a	5.00 ± 0.00 ^a	5.00 ± 0.00 ^a
Ampicillin	40.33 ± 1.00 ^c	31.67 ± 3.00 ^e	15.00 ± 2.00 ^b	21.33 ± 2.00 ^c
Sanggenon C	15.33 ± 1.00 ^f	15.83 ± 1.50 ^d	5.00 ± 0.00 ^a	5.00 ± 0.00 ^a
Sanggenon D	14.67 ± 2.00 ^f	5.00 ± 0.00 ^a	5.00 ± 0.00 ^a	5.00 ± 0.00 ^a
Mulberroside A	5.00 ± 0.00 ^a	5.00 ± 0.00 ^a	5.00 ± 0.00 ^a	5.00 ± 0.00 ^a
Mulberroside C	5.00 ± 0.00 ^a	5.00 ± 0.00 ^a	5.00 ± 0.00 ^a	5.00 ± 0.00 ^a
Sanggenon A	11.67 ± 1.00 ^d	10.67 ± 1.00 ^b	5.00 ± 0.00 ^a	5.00 ± 0.00 ^a
Kuwanon E	11.67 ± 1.00 ^d	10.33 ± 1.00 ^b	5.00 ± 0.00 ^a	5.00 ± 0.00 ^a
Morusinol	13.33 ± 2.00 ^e	5.00 ± 0.00 ^a	5.00 ± 0.00 ^a	5.00 ± 0.00 ^a
Morusin	12.33 ± 1.00 ^{de}	11.67 ± 2.00 ^c	5.00 ± 0.00 ^a	7.33 ± 4.00 ^b
Mulberrin	10.00 ± 0.00 ^c	5.00 ± 0.00 ^a	5.00 ± 0.00 ^a	6.67 ± 1.00 ^b
Cyclomorusin	8.33 ± 2.00 ^b	5.00 ± 0.00 ^a	5.00 ± 0.00 ^a	5.00 ± 0.00 ^a

5.00 ± 0.00 mm means no inhibition zone were determined. $P < 0.05$

由表1可知,10种多酚类化合物的对4种测试菌的抑菌效果有较大差异。对于大肠埃希菌,10种化合物均未产生明显的抑菌圈。对于沙门氏菌,化合物Mulberrin和Morusin具有较好的抑菌效果,其余8种化合物均未检测到明显的抑菌活性。

对于金黄色葡萄球菌,Sanggenon C、Kuwanon E、Sanggenol A、Morusin具有较好的抑菌活性,产生明显的抑菌圈,其中Sanggenon C的抑菌圈直径最大。其余6种样品未检测到明显的抑菌活性。

对于枯草芽孢杆菌,Sanggenon D、Sanggenon C、Kuwanon E、Sanggenol A、Mulberrin、Morusin、Cyclomorusin、Morusin等8种化合物均有较强的抑菌活性,可观察到明显的抑菌圈,其中Sanggenon D、Sanggenon C对枯草芽孢杆菌抑菌效果最显著,其抑菌圈直径为14.67和15.33 mm。而Mulberroside A和Mulberroside C未能检测到明显的抑菌活性。

实验结果表明,来源于桑树资源的10种酚类化合物对革兰阳性菌(金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌)和革兰阴性菌(大肠埃希菌、沙门氏菌)抑制活性差异很大,整体而言,10种化合物对革兰阳性菌的抑菌效果强于革兰阴性菌。

3.2 最低抑菌浓度测定结果及分析

通过改良的微量二倍稀释法测定了10种酚类化合物对4种常见病原菌的抑菌活性,其结果见表2。

Table 2 MICs of 10 compounds from mulberry against 4 pathogenic bacteria

Compd.	MIC/(μmol/L)			
	Bacillus subtilis	Staphylococcus aureus	Escherichia coli	Salmonella spp.
Ampicillin	35.8	17.9	71.6	35.8
Sanggenon C	70.6	70.6	>141	>141
Sanggenon D	35.3	17.6	141	>141
Mulberroside A	>176	>176	>176	>176
Mulberroside C	>218	>218	>218	>218
Kuwanon E	7.36	58.9	236	>236
Sanggenol A	29.5	29.5	>236	>236
Morusinol	114	114	>228	>228
Morusin	<3.72	14.9	>238	>238
Mulberrin	59.2	118	237	237
Cyclomorusin	59.8	29.9	>239	>239

由表2可知,对枯草芽孢杆菌而言,Sanggenon C、Sanggenon D、Kuwanon E、Sanggenol A、Morusin的MIC均小于等于50 μmol/L,以Morusin的活性

最强,其MIC小于3.72 μmol/L。

对金黄色葡萄球菌而言,10种化合物抑菌活性由大到小排序为:Morusin、Sanggenon D、Sanggenon A、Cyclomorusin、Kuwanon E、Sanggenon C、Morusinol、Mulberrin、Mulberroside A、Mulberroside C。Morusin、Sanggenon D、Sanggenon A、Cyclomorusin 4种化合物的MIC均小于等于50 μmol/L,其中Morusin对金黄色葡萄球菌的MIC为14.9 μmol/L,表明Morusin对金黄色葡萄球菌的抑菌活性也非常强。对大肠埃希菌和沙门氏菌,10种酚类化合物对其MIC均大于等于100 μmol/L。此结果与抑菌圈直径测定的结果基本一致,但也存在一些差异,比如Sanggenon C、Sanggenon D对枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径较大(15 mm左右),甚至大于Morusin的抑菌圈直径,但其对枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌的MIC明显小于Morusin。可能是由于化合物溶液在营养琼脂上的扩散不够均匀等原因造成。

总之,10种化合物对革兰阳性菌(金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌)的抑菌效果优于革兰阴性菌(大肠埃希菌、沙门氏菌)。其中Morusin对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌的抑菌活性及Kuwanon E对枯草芽孢杆菌的抑菌活性均非常强,其MIC均低于15 μmol/L。尤其是Morusin对枯草芽孢杆菌的最低抑菌浓度低于3.72 μmol/L。

4 讨论

4.1 细菌细胞结构对抑菌化合物敏感性的影响

本研究中,在相同的试验条件下,革兰阳性菌(金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌)比革兰阴性菌(大肠埃希菌、沙门氏菌)对所测定的酚类化合物更为敏感。而革兰阳性菌与革兰阴性菌的主要差异在于其细胞生物膜结构及成分的不同。革兰阳性菌的细胞壁较厚,肽聚糖含量丰富,并有大量的磷壁酸,而革兰阴性菌的细胞壁较薄,肽聚糖含量低,脂类含量高,不含磷壁酸或脂磷壁酸,但其肽聚糖层具有外膜。

因此,可以初步推断:①所测定的酚类化合物更易穿过革兰阳性菌的肽聚糖结构,从而侵入细菌胞内起到抑菌的作用;②所测定的酚类化合物可以直接作用于革兰阳性菌的肽聚糖(或磷壁酸)相关位点,进而破坏革兰阳性菌的细胞壁结构导致胞内物质外泄,从而导致细菌的死亡。但具体是以哪种

形式为主,仍需要进一步的深入研究。

前期研究^[15~17]亦发现许多活性物质对革兰阳性菌的抑菌活性强于革兰阴性菌。其中,沈灵犀等^[18]通过研究推断抑菌活性物质可能更易通过革兰阳性菌的肽聚糖层,但不易透过革兰阴性菌的外膜,从而导致抑菌活性的差异,这些都与本研究的结果相吻合。

4.2 化合物结构对其抑菌活性的影响

化合物的分子结构对其活性具有重要影响,不同的基团对其活性的影响不同,有些基团的变化对化合物与靶点之间的相互作用影响很大,有些则影响不大。本研究通过考察所测定的酚类化合物的结构差异,初步考察了化合物的构效关系,探索了影响其抑菌活性的关键基团。

Kuwanon E、Cyclomorusin、Sanggenol A、Sanggenon C、Sanggenon D、Mulberrin、Morusinol、Morusin、Mulberroside C、Mulberroside A 等 10 种桑树特有的单体化合物均为酚类化合物,其中 Mulberroside C、Mulberroside A 还具有糖苷结构。

Sanggenon C 和 Sanggenon D 是一组同分异构体,两者仅在 B 环 2' 位置的手性碳原子存在旋光性差异,两者的抑菌活性亦出现差异,总体来看, Sanggenon D 的抑菌活性强于 Sanggenon C。因此,可以推断, Sanggenon C 和 Sanggenon D 的手性碳原子可能是重要的药效基团。化合物的旋光性(立体异构)差异对其生物活性具有重要影响。

Mulberroside C 和 Mulberroside A 都属于糖苷类化合物,其结构中都连了糖取代基,两者的抑菌活性均很弱。因此推断,糖取代基较大的空间位阻可能是导致化合物抑菌活性弱的重要原因。López-Posadas 等^[19]研究黄酮类化合物的构效关系发现:C 环 3 位糖基化使活性几乎完全丧失。Cholbi 等^[20]研究发现黄酮类化合物的羟基旁连接糖取代基,由于空间位阻的影响导致这些化合物的生理活性明显下降。

Kuwanon E 和 Sanggenol A 是一组同分异构体,两者化学式相同,B 环都有间位羟基,但其支链位置不同。Kuwanon E 的双异戊二烯结构在 B 环的 5' 位置,而 Sanggenol A 的双异戊二烯取代基在 B 环的 3' 位置,抑菌活性结果表明,Kuwanon E 对几种测试菌的抑菌活性强于 Sanggenol A。因此推断,异戊二烯基取代位置的差异对化合物的抑菌活

性影响较大。Nowakowska Z^[21]等研究发现,B 环 4' 位上的 C₆ 链烷基取代、哌啶基取代或羟基取代均能使查耳酮的抑菌活性增强。Batovska 等^[22]发现 B 环 3' 位或 5' 位上的三氟甲基或三溴甲基取代能提高黄酮类物质的抑菌活性。

Morusin、Morusinol 和 Cyclomorusin 均为黄酮类化合物,且为同系物。Morusin 的 C 环 3 位置有异戊二烯基结构,而 Morusinol 在同一位置没有异戊二烯基结构,碳碳双键被取代,产生一个醇羟基; Cyclomorusin C 环上 3 位置的异戊二烯基与 B 环 2 位上的羟基结合成环状结构。抑菌活性结果表明,Morusin 的活性明显强于 Morusinol 和 Cyclomorusin。因此推断,异戊二烯基是重要的药效基团,异戊二烯基结构的丧失可能是导致 Morusinol 和 Cyclomorusin 抑菌活性比 Morusin 有所减弱的重要原因。前人研究亦表明,异戊二烯基结构是化合物的抑菌、抗氧化、抗肿瘤活性的重要药效基团^[23~25]。李建康等^[26]通过 3D-QSAR 法对黄酮类化合物抑制细胞色素 P450 CYP1A2 的活性进行定量构效分析,发现立体场、疏水场和静电场均对黄酮类化合物抑制活性有影响,其中静电场影响最大,本研究中 Morusinol 的异戊烯基的碳碳双键打开,可能破坏了黄酮的共轭体系,降低了化合物的抑菌活性。

本研究对源自桑树的 10 种酚类化合物的抑菌活性进行了测定,并对其构效关系进行了初探,对抑菌作用量效关系还需进行大量的抑菌测试工作,结合定量构效分析软件进行更深入的研究。

参 考 文 献

- [1] Lv HS. *Principles of Moricultural Science* (裁桑学原理) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technique Publishing House, 2008:9~10.
- [2] Liao ST, Xiao GS. *Study of active substance from mulberry* (桑树活性物质研究) [M]. Beijing: China agricultural science and technology Publishing House, 2012, 1:186~208.
- [3] Wang H, Wu S, Sun YF, et al. An assay on the antiviral activity of mulberry leaf extract [J]. *Sci Sericulture* (蚕业科学), 2011, 37(5):952~956.
- [4] Zhou JY, Wang W, Zhou SW, et al. Advance on pharmacologic actions of medicament portions of mulberry [J]. *Chin J New Drugs Clin Rem* (中国新药与临床杂志), 2009, 28(16):895~898.
- [5] Fan LS. Research on the antimicrobial of *Morus alba* L. leaves

- [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2001, **13**:30 – 32.
- [6] Chen JJ, Liu F, Liao ST, et al. Study on antibacterial activity and stability of extracts from mulberry (*Morus alba* L.) leaves [J]. *Sci Technol Food Ind* (食品工业科技), 2012, **33**(9):88 – 91.
- [7] Chi XZ. *Extraction, separation and analysis of antibacterial component from mulberry leaves* (桑叶抑菌成分的提取分离及其分析) [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2012.
- [8] Wang F, Li J, Jiang Y. Polysaccharides from mulberry leaf in relation to their antioxidant activity and antibacterial ability [J]. *J Food Process Eng*, 2010, **33**(1):39 – 50.
- [9] Qu C, Wang S. Macro-micro structure, antibacterial activity, and physico-mechanical properties of the mulberry bast fibers [J]. *Fiber Polym*, 2011, **12**(4):471 – 477.
- [10] Fukai T, Kaitou K, Terada S. Antimicrobial activity of 2-arylbenzofurans from *Morus* species against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *Fitoterapia*, 2005, **76**(7):708 – 711.
- [11] Wan JH, Zhang XL, Xin SL. Antibacterial effect of Herba comeliniae (Yazhicali) [J]. *J Pub Health Prev Med* (公共卫生与预防医学), 2005, **16**(1):25 – 27.
- [12] Mathabe MC, Nikolova RV, Lall N, et al. Antibacterial activities of medicinal plants used for the treatment of diarrhoea in Limpopo Province, South Africa [J]. *J Ethnopharmacol*, 2006, **105**(1):286 – 293.
- [13] Amoo SO, Ndhlala AR, Finnie J F, et al. Antibacterial, antifungal and anti-inflammatory properties of *Burchellia bubalina* [J]. *South Afr J Bot*, 2009, **75**(1):60 – 63.
- [14] Wang HT. *Anti-microorganism activity and anti-microbial mechanism of soybean isoflavone* (大豆异黄酮的抑菌活性及其机制的研究) [D]. Dalian: Liaoning Normal University, 2009.
- [15] Li YN, Lv F, Liang H, et al. The antimicrobial activity of four essential oils and their stabilities [J]. *J Beijing Univ Chem Technol (Nat Sci)* [北京化工大学学报(自然科学版)], 2012, **39**(3):81 – 85.
- [16] Liu JH, Gao SL, Zhu DN, et al. Studies on antibacterial activity of ampelopsin [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2002, **33**(5):439 – 441.
- [17] Jiang HX, Nie YX, Ji HW, et al. GC-MS analysis and antimicrobial activity study of essential oil from *Perilla frutescens* leaves [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2011, **42**(10):1952 – 1955.
- [18] Shen LX, Tashi Tsing, Geng YP, et al. Chemical constituents of essential oils from six artemisia species in Tibet and their Antibacterial activity [J]. *J Fudan Univ* (复旦学报), 2010, **49**(1):73 – 80.
- [19] López-Posadas R, Ballester I, Abadía-Molina AC, et al. Effect of flavonoids on rat splenocytes, a structure-activity relationship study [J]. *Biochem Pharmacol*, 2008, **76**(4):495 – 506.
- [20] Cholbi MR, Paya M, Alcaraz MJ. Inhibitory effects of phenolic compounds on CCl_4 -induced microsomal lipid peroxidation [J]. *Experientia*, 1991, **47**(2):195 – 199.
- [21] Nowakowska Z, Kedzia B, Schroeder G. Synthesis, physicochemical properties and antimicrobial evaluation of new (E)-chalcones [J]. *Eur J Med Chem*, 2008, **43**(4):707 – 713.
- [22] Batovska D, Parushev S, Stamboliyska B, et al. Examination of growth inhibitory properties of synthetic chalcones for which antibacterial activity was predicted [J]. *Eur J Med Chem*, 2009, **44**(5):2211 – 2218.
- [23] Zou YS, Hou AJ, Zhu GF, et al. Cytotoxic isoprenylated xanthones from *Cudrania tricuspidata* [J]. *Bioorg Med Chem*, 2004, **12**(8):1947 – 1953.
- [24] Plochmann K, Korte G, Koutsilieri E, et al. Structure-activity relationships of flavonoid-induced cytotoxicity on human leukemia cells [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2007, **460**(1):1 – 9.
- [25] Avila HP, Smania EFA, Monache FD, et al. Structure-activity relationship of antibacterial chalcones [J]. *Bioorg Med Chem*, 2008, **16**(22):9790 – 9794.
- [26] Li JK, He F, Bi HC, et al. Inhibition of human cytochrome P-450 CYP1A2 by flavonoids: a quantitative structure-activity relationship study [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 2008, **43**(12):1198 – 1204.