

引用格式:

王伟, 潘梓健, 叶宇, 程思佳, 黄永芳, 单体江. 叶下珠 3 种提取物的抗菌和抗氧化活性[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2021, 47(5): 507–513.

WANG W, PAN Z J, YE Y, CHENG S J, HUANG Y F, SHAN T J. Antimicrobial and antioxidant activities of three kinds of extract from *Phyllanthus urinaria*[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2021, 47(5): 507–513.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



叶下珠 3 种提取物的抗菌和抗氧化活性

王伟¹, 潘梓健¹, 叶宇¹, 程思佳¹, 黄永芳^{1*}, 单体江^{1,2*}

(1.华南农业大学林学与风景园林学院, 广东 广州 510642; 2.广东省微生物信号与作物病害防控重点实验室, 广东 广州 510642)

摘 要: 采用甲醇冷浸提取法提取叶下珠次生代谢产物, 并依次采用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取, 得到不同极性的提取物, 通过 TLC-MTT-生物自显影法、菌丝生长速率法和 DPPH 法测定叶下珠不同提取物的抗菌、抗真菌和抗氧化活性, 采用高效液相色谱(HPLC)分析叶下珠不同提取物中次生代谢产物的分布情况。结果表明: 叶下珠乙酸乙酯和正丁醇层提取物均具有较好的抗细菌活性, 对木麻黄青枯病菌的抑制活性强于阳性对照硫酸链霉素; 叶下珠乙酸乙酯层提取物的抗真菌和抗氧化活性较强, 其 EC_{50} 和 IC_{50} 分别为 (1.02 ± 0.15) mg/mL、 (20.14 ± 0.58) μ g/mL; 高效液相色谱分析发现, 叶下珠乙酸乙酯层提取物中的化合物主要集中在保留时间 9~12 min 内。叶下珠乙酸乙酯层提取物具有较强的抗细菌、抗真菌和抗氧化活性, 可进一步作为活性成分分离和鉴定的候选资源。

关 键 词: 叶下珠; 提取物; 抗菌活性; 抗氧化活性; 高效液相色谱

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2021)05-0507-07

Antimicrobial and antioxidant activities of three kinds of extract from *Phyllanthus urinaria*

WANG Wei¹, PAN Zijian¹, YE Yu¹, CHENG Sijia¹, HUANG Yongfang^{1*}, SHAN Tijiang^{1,2*}

(1.College of Forestry and Landscape Architecture, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China; 2.Province Key Laboratory of Microbial Signals and Disease Control, Guangzhou, Guangdong 510642, China)

Abstract: To determine the antimicrobial and antioxidant activities of different extracts from *Phyllanthus urinaria*, the distribution of active components in different polarities solvents were clarified preliminarily. The secondary metabolites were extracted by methanol, by petroleum ether, and by ethyl acetate and *n*-butanol ordinally. Their antibacterial activities of the different extracts from *P. urinaria* L. were determined by TLC-MTT-bioautography assay. The inhibitory activities against *Colletotrichum gloeosporioides* were determined by mycelium growth rate method. The antioxidant activities were determined by a micro-plate spectrophotometric method based on the reduction of DPPH. Furthermore, HPLC was used to analyze and detect the distribution of secondary metabolites in different extracts from *P. urinaria*. The extracts of ethyl acetate and *n*-butanol showed antibacterial activities. Its inhibitory activity against *Ralstonia solanacearum* was significantly stronger than that of the positive control. In addition, the extract of ethyl acetate demonstrated the strongest antifungal and antioxidant activities, with the EC_{50} value of (1.02 ± 0.15) mg/mL and IC_{50} value of (20.14 ± 0.58) g/mL. It was found that the compounds of ethyl acetate extract from *P. urinaria* concentrated

收稿日期: 2020-06-16

修回日期: 2020-07-31

基金项目: 广东省林业科技创新项目(2017KJCX005); 中央财政林业科技推广示范项目(2016GDTK-01); 华南农业大学大学生科技创新创业项目(201910564453)

作者简介: 王伟(1993—), 男, 山西运城人, 博士研究生, 主要从事植物和微生物次生代谢产物研究, 18819465384@163.com; *通信作者, 黄永芳, 硕士, 教授, 主要从事经济林、林木种苗研究, hyfang@scau.edu.cn; *通信作者, 单体江, 博士, 讲师, 主要从事植物和微生物次生代谢产物的研究, tjshanscau@163.com

within the retention time of 9-12 min mainly according to the HPLC-UV analysis. In a word, the ethyl acetate extracts of *P. urinaria* displayed obvious antibacterial, antifungal and antioxidant activities. Ethyl acetate extract could be further used as a candidate resource for the separation and identification of active components.

Keywords: *Phyllanthus urinaria*; extracts; antimicrobial activities; antioxidant activities; high performance liquid chromatography

叶下珠(*Phyllanthus urinaria* L.)为大戟科、叶下珠属植物,又名珍珠草或真珠草,性温和,味苦涩,具有清热解毒和消肿明目功效^[1-3]。在民间,叶下珠常被用来治疗黄疸、肝炎、肠炎和痢疾等疾病^[4]。叶下珠富含黄酮类、萜类及木脂素类等物质,具有抗菌、抗氧化、抗癌、抗糖尿病以及保护心脏等作用^[5-10]。叶下珠作为一种重要的中草药,其药理作用的研究已经比较成熟。前期的研究^[3]表明,叶下珠具有较强的抗氧化和抗菌活性。叶下珠乙醇提取物对 DPPH 自由基和亚硝酸盐具有较强的清除作用^[11];从其丙酮提取物中分离出的香叶素也表现出较强的抗氧化活性,IC₅₀ 值为 1.27 μmol/L^[12];叶下珠提取物对大肠杆菌、幽门螺旋杆菌、伤寒沙门氏菌、痢疾志贺氏菌、蜡状芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌以及肠球菌等多种病原菌具有不同程度的抑制活性^[13-16]。而目前关于叶下珠提取物对农林病原菌抑制活性的报道较少。本研究中,采用甲醇冷浸提取法提取叶下珠次生代谢产物,用不同极性的石油醚、乙酸乙酯和正丁醇依次萃取,获得叶下珠不同提取物,并测定不同提取物对供试细菌和真菌的抗菌活性以及抗氧化活性;通过高效液相色谱分析叶下珠次生代谢产物在石油醚、乙酸乙酯和正丁醇层中的分布情况,探索不同提取物中的次生代谢产物与抗菌、抗氧化活性之间的关系,以期为植物病害的防治提供新思路,为叶下珠的综合开发和利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试植物

2018年9—11月于广州市天河区华南农业大学校园采集叶下珠,标本由华南农业大学林学与风景园林学院郑明轩鉴定。

1.1.2 供试菌株

供试菌株包括6种细菌和1种真菌,分别为根癌土壤杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*, G⁻)、黄瓜角斑病菌(*Pseudomonas lachrymans*, G⁻)、木麻黄青枯病菌(*Ralstonia solanacearum*, G⁻)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*, G⁺)、番茄疮痂菌(*Xanthomonas vesicatoria*, G⁻)、大肠杆菌(*Escherichia coli*, G⁻)和油茶炭疽病菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)。以上菌株均由华南农业大学林学与风景园林学院植物和微生物健康实验室提供。

1.1.3 实验仪器

旋转蒸发器 OSB-2100(东京理化器械株式会社);LC-16 高效液相色谱仪(日本岛津);Thermo Varioskan™ LUX 多功能酶标仪(赛默飞世尔科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 叶下珠不同提取物的制备

将采集的叶下珠全株洗净后剪碎,装入1L的三角瓶,加入3倍体积的甲醇,常温下冷浸提取3次,每次冷浸7d。将得到的甲醇提取液减压浓缩后,加入500mL蒸馏水,充分溶解混合均匀,然后分别用等体积石油醚、乙酸乙酯和正丁醇依次萃取3~7次,浓缩萃取液,即得到石油醚、乙酸乙酯和正丁醇层提取物,转入三角瓶,4℃冷藏,备用^[17]。

1.2.2 抗菌活性的测定

采用TLC-MTT-生物自显影法测定叶下珠石油醚、乙酸乙酯和正丁醇层提取物对供试细菌的抑制活性^[18],通过计算R_f值初步评价3种提取物的抗菌活性和极性大小,根据抑菌斑直径来评判抑菌活性的强弱。

$$R_f = \frac{D_1}{D_2}。$$

式中： D_1 表示抑菌斑与点样处之间的距离； D_2 表示展开剂前沿与点样处之间的距离。

1.2.3 抗氧化活性的测定

采用 DPPH 法测定叶下珠石油醚、乙酸乙酯和正丁醇层提取物对 DPPH 的清除率，以 IC_{50} 值表示不同提取物的抗氧化能力^[19]。精密称取 DPPH 20.0 mg 溶于 100 mL 无水乙醇中，振荡摇匀，使其终质量浓度为 200 $\mu\text{g/mL}$ 。用二甲基亚砷溶液(DMSO)配置初始质量浓度为 12.5 mg/mL 的不同提取层的样品母液，采用倍半稀释法依次稀释成质量浓度为 6.25 ~ 0.048 83 mg/mL 的溶液，阳性对照 2, 6-二叔丁基-4-甲基苯酚(BHT)初始质量浓度为 2 mg/mL，采用相同方法稀释成 1~0.031 25 mg/mL 的阳性对照溶液。然后向 96 微孔板中加入 80 μL 质量浓度为 200 $\mu\text{g/mL}$ 的 DPPH 无水乙醇溶液和 20 μL 系列浓度的待测样品溶液或阳性对照溶液，振荡摇匀。在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下水浴 30 min 后，使用多功能酶标仪测定 517 nm 下的吸光值。以 20 μL DMSO 溶液代替样品溶液作为空白对照，每个处理 3 个重复。供试样品对 DPPH 清除率的计算公式如下：

$$C = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100\%。$$

式中： C 表示 DPPH 清除率； A_c 表示空白对照的 $OD_{517\text{ nm}}$ ； A_s 表示样品溶液的 $OD_{517\text{ nm}}$ 。

运用 Excel 绘图，将供试样品浓度取对数(X)，清除率换算成机率值(Y)，最后计算出抗氧化活性 IC_{50} 值。

1.2.4 抗真菌活性的测定

采用菌丝生长速率法^[20]测定叶下珠不同提取物的抗真菌活性。用 30%的 DMSO 溶液配制石油醚、乙酸乙酯和正丁醇层样品溶液，制成 100、50、25、12.5、6.25、3.125 mg/mL 6 个浓度梯度的母液；再分别用移液枪取 1 mL 不同浓度梯度的母液注入 29 mL 灭菌后冷却至约 60 $^{\circ}\text{C}$ 的 PDA 培养基中，摇匀后均匀倒入 3 个培养皿中，其终质量浓度依次为 3.33、1.67、0.83、0.42、0.21、0.10 mg/mL，不同浓度梯度培养皿共计 18 个。以加入无菌水的培养基平板作为空白对照，以 30%的 DMSO 溶液作为阴性对照，以 98.4%的多菌灵为阳性对照，所有处

理均 3 次重复。测定不同提取物对油茶炭疽病菌的抑制活性，使用直径为 7 mm 的打孔器在 25 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中生长 7 d 的油茶炭疽病菌菌落边缘打取菌饼，然后接种到不同样品处理的培养基平板上(菌丝朝下)，放置于 25 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养。待空白对照组真菌菌落长至培养皿面积 2/3 时，采用十字交叉法测量不同处理菌落生长直径，最后求出不同处理的抑菌率。

$$I = \frac{L_1 - L_2}{L_1} \times 100\%。$$

式中： I 表示抑菌率； L_1 表示阴性对照菌落纯生长量； L_2 表示处理菌落纯生长量(菌落平均直径与菌饼直径差值)。

所得数据运用 Excel 进行分析，得出毒力回归方程，进而计算出 EC_{50} 值，并据此评判叶下珠不同提取层提取物对油茶炭疽病菌的抑制活性。

1.2.5 叶下珠不同提取物的高效液相色谱分析

为进一步阐明叶下珠不同提取物中次生代谢产物的情况，采用高效液相色谱(HPLC)对叶下珠石油醚、乙酸乙酯和正丁醇层提取物进行分析。各称取 20 mg 浓缩蒸干后的不同提取物，加入 1 mL 色谱甲醇，超声溶解，再用 0.22 μm 的有机滤膜过滤，配制成质量浓度为 20 mg/mL 的溶液，备用。流动相为乙腈和水，流速为 1 mL/min，色谱柱温度为 40 $^{\circ}\text{C}$ ，进样量为 5 μL 。石油醚层提取物的色谱条件为：0~1 min，体积分数为 50%的乙腈等度洗脱；>1~16 min，乙腈由 50%线性递增至 100%；>16~21 min，100%乙腈等度洗脱；>21~28 min，使用 50%乙腈对色谱柱进行平衡。乙酸乙酯层提取物的色谱条件为：0~1 min，10%的乙腈等度洗脱；>1~16 min，乙腈由 10%线性递增至 80%；>16~17 min，乙腈由 80%线性递增至 100%；>17~22 min，100%乙腈等度洗脱；>22~29 min，使用 10%乙腈对色谱柱进行平衡。正丁醇层提取物的色谱条件为：0~1 min，10%乙腈等度洗脱；>1~16 min，乙腈由 10%线性递增至 50%；>16~17 min，乙腈由 50%线性递增至 100%；>17~22 min，使用 10%乙腈对色谱柱进行平衡。采用紫外检测器 254 nm 通道采样。

2 结果与分析

2.1 不同提取物的抗菌活性

从表1可以看出,叶下珠不同提取物均具有一定的抗菌活性,但对不同供试细菌的抑制活性不同。其中,乙酸乙酯和正丁醇层提取物对所有供试细菌均表现出抑菌活性,而石油醚层提取物对除黄瓜角斑病菌之外的5种供试细菌表现出抑制活性。进一步分析发现,乙酸乙酯和正丁醇层提取物的抑菌活性明显强于石油醚层提取物。乙酸乙酯和正丁醇层提取物对根癌土壤杆菌、木麻黄青枯病菌和大肠杆菌均表现出较强的抑制能力,抑菌斑直径均大于10 mm。此外,乙酸乙酯层提取物对番茄疮痂菌的抑菌斑直径也大于10 mm,而正丁醇层提取物对枯草芽孢杆菌的部分抑菌斑直径大于10 mm。石油醚层提取物对所有供试细菌的抑菌斑直径均小于10 mm。叶下珠不同提取物对木麻黄青枯病菌表现出较好的抑制活性,乙酸乙酯和正丁醇层的抑菌斑

直径均大于阳性对照硫酸链霉素。

R_f 值与化合物的极性密切相关。 R_f 值越大,极性越大; R_f 值越小,极性越小。从表1可以看出,乙酸乙酯层提取物中具有抗菌活性的化合物其 R_f 值在0.00~0.25时,对所有的供试细菌均表现出抑制活性; R_f 值在0.83~1.00时,仅对根癌土壤杆菌、番茄疮痂菌和枯草芽孢杆菌表现出抑制活性。正丁醇层提取物中的抑菌活性物质 R_f 值多集中在0.00~0.50和0.83~1.00,其中0.00~0.50内的化合物抑菌活性更强。石油醚层提取物中具有抗菌活性的化合物 R_f 值范围更小,主要集中在0.00~0.08、0.33~0.37和0.43~0.47内,主要是一些极性相对偏大的物质。不同提取物对革兰阳性菌和革兰阴性菌的抑制活性无明显差异。综上所述,叶下珠次生代谢产物对6种供试细菌均具有较强的抑制活性,且抑菌活性成分主要存在于乙酸乙酯和正丁醇层提取物中。

表1 叶下珠不同提取物对不同供试细菌的抑制活性

供试样品	R_f 值					
	根癌土壤杆菌	木麻黄青枯病菌	番茄疮痂菌	枯草芽孢杆菌	黄瓜角斑病菌	大肠杆菌
石油醚层	0.00~0.05+; 0.33~0.37+; 0.43~0.47+	0.00~0.08++	0.00~0.50++	0.00~0.08++; 0.25~0.28+; 0.42~0.45+	—	0.00~0.33+; 0.37~0.75+
乙酸乙酯层	0.00~0.25+++; 0.83~1.00+++	0.00~0.22+++	0.00~0.25+++; 0.83~1.00+++	0.00~0.20++; 0.83~1.00++	0.00~0.25++	0.00~0.25+++
正丁醇层	0.00~0.50+++; 0.83~1.00+++	0.00~0.42+++	0.00~0.93++	0.00~0.47++; 0.83~1.00+++	0.00~0.37++	0.00~0.33+++
硫酸链霉素	+++	++	+++	+++	++	+++

石油醚层提取物展开剂中石油醚与丙酮的体积比为3:1;乙酸乙酯和正丁醇层提取物展开剂中氯仿与甲醇的体积比为3:1。“—”示无抑菌活性;“+”示抗菌斑点最大直径 $d < 5$ mm,“++”示 $5 < d < 10$ mm,“+++”表示 $d > 10$ mm;阳性对照为硫酸链霉素,且仅在原点样。

2.2 不同提取物的抗真菌活性

叶下珠不同提取物的抗真菌活性结果(表2)表明,乙酸乙酯层提取物对油茶炭疽病菌的抑制活性最好, EC_{50} 值为 (1.02 ± 0.15) mg/mL;其后依次是正丁醇和石油醚层提取物, EC_{50} 值分别为 (3.86 ± 0.52) mg/mL和 (3.99 ± 0.24) mg/mL。但叶下珠不同提取物对油茶炭疽病菌的抑制能力明显弱于阳性对照多菌灵。

表2 叶下珠不同提取物对油茶炭疽病的抑制活性

供试提取物	$EC_{50}/(mg \cdot mL^{-1})$
石油醚层	3.99 ± 0.24
乙酸乙酯层	1.02 ± 0.15
正丁醇层	3.86 ± 0.52
多菌灵	$(0.35 \pm 0.03) \times 10^{-3}$

2.3 不同提取物的抗氧化活性

叶下珠不同提取物的抗氧化活性结果(表 3)表明,叶下珠不同提取物均表现出一定的抗氧化活性,其中乙酸乙酯层提取物抗氧化活性最强,IC₅₀ 值为(20.14±0.58) μg/mL,强于阳性对照 BHT;其次是正丁醇层提取物;石油醚层提取物的抗氧化活性最弱。以上结果表明叶下珠中具有抗氧化活性的物质主要分布于乙酸乙酯层提取物中。

表 3 叶下珠不同提取物的抗氧化活性

Table 3 Antioxidant activities of different crude extracts

from <i>Phyllanthus urinaria</i>	
供试提取物	IC ₅₀ /(μg·mL ⁻¹)
石油醚层	170.40 ± 1.16
乙酸乙酯层	20.14 ± 0.58
正丁醇层	96.05 ± 2.19
BHT	40.93 ± 0.91

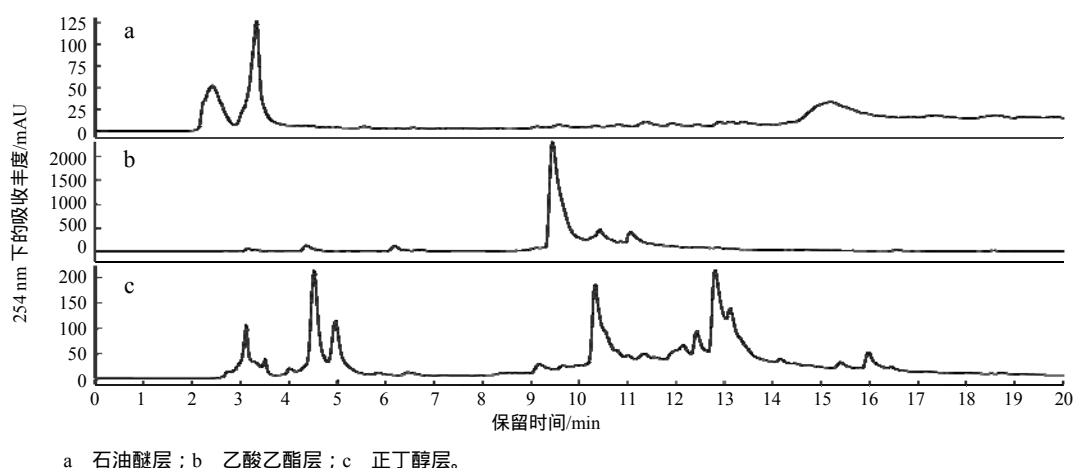


图 1 叶下珠不同提取物的 HPLC-UV 色谱图

Fig.1 HPLC-UV chromatograms for different crude extracts from *Phyllanthus urinaria*

3 结论与讨论

植物次生代谢产物及其衍生物一直是开发新型天然活性药物的重要来源^[5]。本研究,以常见的植物病原细菌和真菌作为供试靶标,分别采用 TLC-MTT-生物自显影法和菌丝生长速率法测定了叶下珠不同提取物的抗菌和抗真菌活性。TLC-MTT-生物自显影法是一种快速有效的筛选活性提取物的方法,可根据斑点的 R_f 值来初步评价样品中化合物的数量和极性,根据斑点的大小来初步评价化合物的活性,简单直观地显示样品中的生物活性成分^[21]。结果表明,乙酸乙酯和正丁醇层提取物对不同供试细菌均表现出较强的抑制能力,表

2.4 不同提取物的高效液相分析

叶下珠不同提取物在质量浓度均为 20 mg/mL 时的 HPLC-UV 色谱图如图 1 所示。从图 1 可以看出,在波长 254 nm 下,叶下珠石油醚、乙酸乙酯和正丁醇层提取物均含有一定量的次生代谢产物,但次生代谢产物在不同极性的溶剂中分布有差异。正丁醇层次生代谢产物的数量虽高于乙酸乙酯层和石油醚层,但在 254 nm 下的吸收丰度相对较低,明显低于乙酸乙酯层提取物。乙酸乙酯层提取物在保留时间 9~12 min 内存在 3 个主要的化合物,由于吸收丰度较高,可能掩盖了含量较低的化合物。本研究结果表明,乙酸乙酯和正丁醇层提取物表现出较强的抗菌活性,其中乙酸乙酯层提取物的抗氧化和抗真菌活性最强,其活性是否与这些含量较高的化学成分有关,还需要更深入的研究和探讨。

现出广谱的抑菌活性,同时对木麻黄青枯病菌的抑菌活性明显强于阳性对照硫酸链霉素;乙酸乙酯层提取物对油茶炭疽病菌具有较好的抑制活性,EC₅₀ 值为(1.02±0.15) mg/mL,但与阳性对照多菌灵相比还具有明显差距。抗氧化活性的结果表明,乙酸乙酯层提取物抗氧化活性最强,IC₅₀ 值为(20.14±0.58) μg/mL,其次是正丁醇层的,石油醚层的最弱,这与陈良华等^[22]的研究结果一致。其较强的抗氧化活性可能与叶下珠乙酸乙酯层提取物中富含黄酮类、单宁、酚酸类和木脂素类物质有关^[23-27]。从叶下珠乙酸乙酯和正丁醇层提取物中筛选抗菌活性成分,这为植物病害的生物防治提供了新的思路,且叶下珠所具有的低毒性也使其应用开发成为可能^[28]。

参考文献:

- [1] DAI W B, XIAO W J. Progress in pharmacological research of *Phyllanthus urinaria*[J]. Medicinal Plant, 2017, 8(6): 24–26.
- [2] GUO Q, ZHANG Q Q, CHEN J Q, et al. Liver metabolomics study reveals protective function of *Phyllanthus urinaria* against CCl₄-induced liver injury[J]. Chinese Journal of Natural Medicines, 2017, 15(7): 525–533.
- [3] 杨孟妮, 张慧, 刘娟, 等. 叶下珠化学成分研究[J]. 中草药, 2016, 47(20): 3573–3577.
YANG M N, ZHANG H, LIU J, et al. Study on chemical constituents from *Phyllanthus urinaria*[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2016, 47(20): 3573–3577.
- [4] 刘高, 饶立群, 范适, 等. 高效液相色谱法测定叶下珠中叶下珠素含量[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2008, 34(3): 277–280.
LIU G, RAO L Q, FAN S, et al. HPLC determination of phyllanthin constituent in *Phyllanthus urinaria* L[J]. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences), 2008, 34(3): 277–280.
- [5] GEETHANGILI M, DING S T. A review of the phytochemistry and pharmacology of *Phyllanthus urinaria* L[J]. Frontiers in Pharmacology, 2018, 9: 1109.
- [6] WU Y, XIE S S, HU Z X, et al. Triterpenoids from whole plants of *Phyllanthus urinaria*[J]. Chinese Herbal Medicines, 2017, 9(2): 193–196.
- [7] CHUNG C Y, LIU C H, BURNOUF T, et al. Activity-based and fraction-guided analysis of *Phyllanthus urinaria* identifies loliolide as a potent inhibitor of hepatitis C virus entry[J]. Antiviral Research, 2016, 130: 58–68.
- [8] LI Y, JIANG M J, LI M S, et al. Compound *Phyllanthus urinaria* L inhibits HBV-related HCC through HBx-SHH pathway axis inactivation[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2019, Article ID 1635837.
- [9] WU Y, LU Y, LI S Y, et al. Extract from *Phyllanthus urinaria* L. inhibits hepatitis B virus replication and expression in hepatitis B virus transfection model *in vitro*[J]. Chinese Journal of Integrative Medicine, 2015, 21(12): 938–943.
- [10] 朱芳娟, 侯灵莉, 孙黔云, 等. 叶下珠抗补体活性研究[J]. 中国药理学通报, 2018, 34(5): 686–690.
ZHU F J, HOU L L, SUN Q Y, et al. Anticomplementary activity and constituents of *Phyllanthus urinaria*[J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2018, 34(5): 686–690.
- [11] 李红念, 戴卫波, 梅全喜, 等. 叶下珠提取物对 DPPH 和亚硝酸盐的清除作用研究[J]. 广州中医药大学学报, 2019, 36(9): 1426–1430.
LI H N, DAI W B, MEI Q X, et al. Scavenging effect of extracts from *Herba Phyllanthi Urinariae* on DPPH and nitrite[J]. Journal of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, 2019, 36(9): 1426–1430.
- [12] LIN S Y, WANG C C, LU Y L, et al. Antioxidant, anti-semicarbazide-sensitive amine oxidase, and anti-hypertensive activities of geraniin isolated from *Phyllanthus urinaria*[J]. Food and Chemical Toxicology, 2008, 46(7): 2485–2492.
- [13] 杨映玲, 戴卫波. 叶下珠提取物体外抗菌活性的实验研究[J]. 新余学院学报, 2014, 19(3): 20–22.
YANG Y L, DAI W B. Experimental study on antimicrobial activity *in vitro* of *Phyllanthus urinaria* extract[J]. Journal of Xinyu University, 2014, 19(3): 20–22.
- [14] 邓志勇. 叶下珠提取物的抑菌活性研究[J]. 湖北农业科学, 2013, 52(12): 2812–2814.
DENG Z Y. Study on antibacterial activities of extracts from *Phyllanthus urinaria* Linn[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2013, 52(12): 2812–2814.
- [15] 戴卫波, 吴凤荣, 肖文娟, 等. 叶下珠甲醇提取物抗炎镇痛及体外抑菌作用研究[J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(4): 978–981.
DAI W B, WU F R, XIAO W J, et al. Study on analgesic and anti-inflammatory effects in methanol extracts of *Phyllanthus urinaria* L. and its effect on bacteria *in vitro*[J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2016, 34(4): 978–981.
- [16] LAI C H, FANG S H, RAO Y K, et al. Inhibition of *Helicobacter pylori*-induced inflammation in human gastric epithelial AGS cells by *Phyllanthus urinaria* extracts[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2008, 118(3): 522–526.
- [17] 单体江, 王伟, 余炳伟, 等. 鱼腥草次生代谢产物及其抗菌活性[J]. 西南农业学报, 2017, 30(5): 1041–1047.
SHAN T J, WANG W, YU B W, et al. Secondary metabolites from *Houttuynia cordata* Thunb. and their antibacterial activities[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2017, 30(5): 1041–1047.
- [18] 张伟豪, 刘易, 王小晴, 等. 糖胶树花次生代谢产物及其抗菌活性[J]. 热带农业科学, 2017, 37(3): 104–108.
ZHANG W H, LIU Y, WANG X Q, et al. Chemical analysis and antibacterial activity of the extract from *Alstonia scholaris*[J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2017, 37(3): 104–108.
- [19] OUYANG J K, MAO Z L, GUO H, et al. Mollicellins O-R, four new depsidones isolated from the endophytic fungus *Chaetomium* sp. Eef-10[J]. Molecules, 2018,

- 23(12): 3218 .
- [20] 宋慧云, 段志豪, 韦嘉怡, 等. 多穗柯炭疽病病原鉴定及其不同杀菌剂的室内毒力测定[J]. 南方农业学报, 2019, 50(3): 593–599 .
- SONG H Y, DUAN Z H, WEI J Y, et al . Pathogen identification of *Lithocarpus polystachyus* Rehd. anthracnose and indoor toxicity measurement of different fungicides[J]. Journal of Southern Agriculture, 2019, 50(3): 593–599 .
- [21] 单体江, 张伟豪, 王松, 等. TLC–生物自显影检测 26 种植物中的抗细菌和抗氧化活性物质[J]. 植物保护, 2018, 44(6): 66–72 .
- SHAN T J, ZHANG W H, WANG S, et al . Detection of the active ingredients from 26 plants using TLC-bioautography assay[J]. Plant Protection, 2018, 44(6): 66–72 .
- [22] 陈良华, 刘轩, 明艳林, 等. 叶下珠提取物对酪氨酸酶的抑制和抗氧化作用[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2012, 51(3): 410–414 .
- CHEN L H, LIU X, MING Y L, et al . Anti-tyrosinase and antioxidation activities of extract from *Phyllanthus urinaria*[J]. Journal of Xiamen University(Natural Science), 2012, 51(3): 410–414 .
- [23] 魏春山, 吴春, 胡辰, 等. 叶下珠中黄酮类化学成分及其生物活性[J]. 天然产物研究与开发, 2017, 29(12): 2056–2062 .
- WEI C S, WU C, HU C, et al . Chemical constituents, cytotoxic and antioxidant activities of flavanoids from *Phyllanthus urinaria*[J]. Natural Product Research and Development, 2017, 29(12): 2056–2062 .
- [24] XU M, ZHA Z J, QIN X L, et al . Phenolic antioxidants from the whole plant of *Phyllanthus urinaria*[J]. Chemistry & Biodiversity, 2007, 4(9): 2246–2252 .
- [25] WU C, WEI C S, YU S F, et al . Two new acetylated flavonoid glycosides from *Phyllanthus urinaria*[J]. Journal of Asian Natural Products Research, 2013, 15(7): 703–707 .
- [26] HUANG S T, WANG C Y, YANG R C, et al . Ellagic acid ,the active compound of *Phyllanthus urinaria* ,exerts *in vivo* anti-angiogenic effect and inhibits MMP-2 activity[J]. Evidence Based Complementary and Alternative Medicine, 2011, 2011: 215035 .
- [27] FANG S H, RAO Y K, TZENG Y M . Anti-oxidant and inflammatory mediator's growth inhibitory effects of compounds isolated from *Phyllanthus urinaria*[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2008, 116(2): 333–340 .
- [28] JUNG J, KIM N K, PARK S, et al . Inhibitory effect of *Phyllanthus urinaria* L . extract on the replication of lamivudine-resistant hepatitis B virus *in vitro*[J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2015, 15: 255 .

责任编辑: 毛友纯

英文编辑: 柳 正