

DOI: 10.3969/j.issn.1000-3142.2013.02.010

易湘茜 高程海 何碧娟 等. 红树植物木榄胚轴中苯丙素类化学成分研究[J]. 广西植物 2013 33(2): 191–194

Yi XX, Gao CH, He BJ *et al.* Study on phenylpropanoids from hypocotyls of the mangrove plant *Bruguiera gymnorrhiza* [J]. *Guihaia* 2013 33(2): 191–194

## 红树植物木榄胚轴中苯丙素类化学成分研究

易湘茜<sup>1</sup>, 高程海<sup>2\*</sup>, 何碧娟<sup>2</sup>, 陈波<sup>2</sup>

( 1. 广西中医药大学, 南宁 530001; 2. 广西科学院, 南宁 530007 )

**摘要:** 从木榄胚轴中分离出 7 个苯丙素类化合物, 运用波谱学确定了化合物结构, 分别鉴定为荜苳亭(1)、Balanophonin(2)、开环异落叶松脂素(3)、臭失菜素 A(4)、松脂素(5)、5'-甲氧基(-)-松脂素(6)、Lyoniresinol-3 $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranosides(7)。化合物 1、3、7 对肿瘤细胞株 A549 显示出弱抑制活性,  $IC_{50}$  值分别为 290.2、323.0、209.3  $\mu$ g/mL。除化合物 3 和 5 以外, 其他化合物均首次从该植物中分离得到。

**关键词:** 木榄; 苯丙素; 抗肿瘤

中图分类号: R914.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2013)02-0191-04

## \* Study on phenylpropanoids from hypocotyls of the mangrove plant *Bruguiera gymnorrhiza*

YI Xiang-Xi<sup>1</sup>, GAO Cheng-Hai<sup>2\*</sup>, HE Bi-Juan<sup>2</sup>, CHEN Bo<sup>2</sup>

( 1. *Guangxi University of Chinese Medicine*, Nanning 530001, China; 2. *Guangxi Academy of Sciences*, Nanning 530007, China )

**Abstract:** Seven phenylpropanoids were isolated from the hypocotyls of *Bruguiera gymnorrhiza* and purified by repeated column chromatography on silica Sephadex LH-20 gel and HPLC and structurally identified by spectral analysis. The compounds were identified as Scopoletin(1), Balanophonin(2), Secoisolariciresinol(3), Cleomiscosin A(4), Pinoresinol(5), Medioresinol(6), and Lyoniresinol-3 $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranosides(7). Anti-tumors activity bioassay indicated that compounds 1, 3 and 7 had weak cytotoxicity toward human cancer cell lines A549 with  $IC_{50}$  of 290.2, 323.0 and 209.3  $\mu$ g/mL, respectively. All compounds were isolated from this plant for the first time except 3 and 5.

**Key words:** *Bruguiera gymnorrhiza*; phenylpropanoids; anti-tumors

红树是指生长在热带和亚热带的海岸潮间带, 受周期性海水浸淹的木本植物(Tomlinson, 1986; 范航清, 2000)。木榄(*Bruguiera gymnorrhiza*)为红树科(Rhizophoraceae)木榄属(*Bruguiera*)植物(Teas, 1983), 在广西主要分布在北仑河口和山口镇英罗湾等地区。木榄有膝状呼吸根及支柱根, 具有胎生现象, 胚轴呈红色。木榄的化学成分主要有木质素

类、萜类、黄酮类、甾醇类、糖类、多聚二硫大环类化合物(尚随胜等, 2005; 刘海利等, 2008; 李昉等, 2010)。在广西民间, 木榄胚轴水煮液具有收敛止泻功效, 可用于治疗腹泻、脾虚、肾虚、糖尿病, 还有抗癌作用。然而, 目前对木榄胚轴的化学成分尚未见有文献报道, 本文试图从中寻找新颖结构和抗肿瘤细胞增殖活性的化合物。本研究共从木榄胚轴的

\* 收稿日期: 2012-11-27 修回日期: 2013-01-06

基金项目: 国家自然科学基金(81260480); 广西自然科学基金(2011GXNSFB018035, 2011GXNSFE018002, 2012GXNSFEA053001); 广西中医药大学科研项目(P12041)

作者简介: 易湘茜(1981-), 女(苗族), 博士, 主要从事海洋生物资源高值化利用方面等研究, (E-mail) xiangxiyi81@yahoo.com.cn。

通讯作者(Author for correspondence, E-mail: gaochenghai@yahoo.com.cn)

氯仿萃取部位中分离得到 7 个苯丙素类化合物,通过波谱学方法和文献对照,分别鉴定为茛菪亭、Bal-anophonin、开环异落叶松脂素、臭失菜素 A、松脂素、5'-甲氧基(-)-松脂素、Lyoniresinol-3 $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranosides。

## 1 材料与方 法

### 1.1 仪器与材料

Brucker Avance 500 型核磁共振波谱仪(瑞典 Bruck 公司),TMS 为内标;高效液相色谱仪为半制备型 Waters 2695(二极管阵列检测器,10 mm  $\times$  150 mm,5  $\mu$ m,Phenomenex);ESI-MS 质谱仪(Agilent 1200 LC-MS);薄层色谱硅胶与柱层析硅胶(青岛海洋化工有限公司生产),Sephadex LH-20(Pharmacia Biotech,Sweden)。高效液相色谱用试剂为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

样品于 2011 年 6 月采集,采集地点为广西北仑河口,由广西红树林研究中心王新助理研究员鉴定为木榄(*Bruguiera gymnorhiza*)的胚轴。

### 1.2 提取与分离

木榄胚轴(湿重约 12.0 kg)切碎,用乙醇-二氯甲烷混合溶剂(2:1, v: v)浸泡 3 次,每次约 1 周,提取液合并,减压浓缩得浸膏 915 g。浸膏加适量水溶解,依次氯仿、乙酸乙酯和正丁醇萃取,减压回收萃取溶剂,得氯仿萃取物 59 g。将氯仿萃取物采用正相硅胶层析,用石油醚-乙酸乙酯梯度(100:0~50:50)洗脱,得到 83 个流份。根据薄层色谱检测结果合并近似流份,共得到 10 个分离部位(A-J)。部位 D 经 Sephadex LH-20 凝胶柱分离后,用半制备 HPLC 进行分离(MeOH:H<sub>2</sub>O=20:80, v: v),得到化合物 6(2.4 mg)。部位 E 用制备薄层色谱(PTLC)分离(Pet.:Me<sub>2</sub>CO=2:1, v: v),得到化合物 1(2.6 mg)、3(15.6 mg)、7(3.3 mg)。部位 J 用硅胶柱色谱(200~300 目)进行分离,用石油醚-乙酸乙酯梯度(100:0~60:40)洗脱,得 4 个流份(J1-J4)。J3 用半制备 HPLC 进行分离(MeOH:H<sub>2</sub>O=15:85, v: v),得到化合物 2(10.0 mg)、4(15.9 mg)、5(2.8 mg)。

### 1.3 化合物 1-7 的结构鉴定

运用<sup>1</sup>H NMR、<sup>13</sup>C NMR、MS 等分析方法,对分离得到的单体化合物 1-7 进行结构鉴定。

### 1.4 化合物 1-7 的抗肿瘤活性测试

试验材料:化合物 1-7,氟尿嘧啶。试验癌细胞株:人宫颈癌细胞 HeLa,癌细胞 A435,肺腺癌细胞 A549,白血病细胞 K562。

测试方法(Mossman,1983):取对数生长期的肿瘤细胞,将细胞密度调至每毫升  $2 \times 10^5$  个,按每孔 200  $\mu$ L 加到 96 孔细胞培养板中,于 37  $^{\circ}$ C 通入 5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中培养 4 h。样品分别设定 5 个浓度梯度(2 000、1 000、500、250、125  $\mu$ g/mL),每个浓度设 3 个平行样,同时设阳性、阴性对照,每孔加样品液或空白液各 2  $\mu$ L,培养 72 h,然后每孔加 MTT 液 10  $\mu$ L,继续培养 4 h,37  $^{\circ}$ C、2 000 r/min 离心 8 min,吸去上清液。每孔加入 DMSO 各 100  $\mu$ L,在微量振荡器上振荡 15 min,至结晶完全溶解后,酶标仪测定每孔 570 nm 处的吸光值(OD 值)。

取平均 OD 值,按公式:IR%=(OD 空白对照-OD 样品)/OD 空白对照  $\times$  100%,计算样品对细胞增殖的抑制率(IR%),并采用 bliss 法计算出半数抑制率 IC<sub>50</sub>。

## 2 结构鉴定和抗癌细胞增殖活性

### 2.1 结构鉴定

化合物 1 淡黄色晶体,分子式为 C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>。<sup>1</sup>H NMR(500 MHz,C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) $\delta$ :12.70(1H,s,OH),7.65(1H,d,J=9.5 Hz,H-4),7.14(1H,s,H-8),7.05(1H,s,H-5),6.31(1H,d,J=9.5 Hz,H-3),3.75(3H,s,OCH<sub>3</sub>);<sup>13</sup>C NMR-DEPT(125 MHz,C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) $\delta$ :161.3(C-2,s),153.1(C-7,s),151.2(C-9,s),146.3(C-6,s),143.9(C-4,d),112.5(C-3,d),111.2(C-10,s),109.6(C-5,d),104.0(C-8,d),56.5(OCH<sub>3</sub>,q)。上述数据与报道数据基本一致(康文艺等 2004),故鉴定化合物 1 为茛菪亭。

化合物 2 透明无定型固体,分子式 C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub>。<sup>1</sup>H NMR(500 MHz,CD<sub>3</sub>OD) $\delta$ :9.57(1H,d,J=7.8 Hz,H-9'),7.66(1H,d,J=15.8 Hz,H-7'),7.31(1H,s,H-4'),7.25(1H,s,H-6'),6.97(1H,br s,H-2),6.86(1H,d,J=8.1 Hz,H-5),6.80(1H,d,J=8.1 Hz,H-6),6.70(1H,dd,J=7.8 Hz,15.8 Hz,H-7'),5.64(1H,d,J=6.4 Hz,H-7),3.94(3H,s,H-3'OMe),3.87(2H,m,H-9),3.84(3H,s,H-3 OMe),3.59(1H,m,H-8);<sup>13</sup>C NMR-DEPT(125 MHz,CD<sub>3</sub>OD) $\delta$ :196.2(C-9',s),156.1(C-7',d),153.1

(C-2' d) ,149.3(C-3 s) ,147.9(C-4 s) ,146.1(C-3' s) ,134.0(C-1 s) ,131.4(C-1' s) ,129.7(C-5' s) ,127.2(C-8' d) ,120.1(C-2 d) ,119.9(C-6' d) ,116.4(C-5 d) ,114.5(C-4' d) ,110.8(C-6 d) ,90.2(C-7 d) ,64.7(C-9 t) ,57.0(OCH<sub>3</sub>, C-3' ,q) ,56.5(OCH<sub>3</sub>, C-3 q) ,54.7(C-8 d) 。上述数据与报道数据基本一致( Lee *et al.* ,2007) ,故鉴定化合物 2 为 Balanophonin。

**化合物 3** 透明无定型固体,分子式 C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>O<sub>6</sub>。<sup>1</sup>H NMR(500 MHz ,CDCl<sub>3</sub>): δ 6.80(2H ,d ,J = 8.2 Hz ,H-5 5') 6.65(2H ,dd ,J = 8.2 ,1.5 Hz ,H-6 ,6') 6.60(2H ,d ,J = 1.5 Hz ,H-2 2') 3.82(6H ,s ,2 × OMe) 3.82(2H ,m ,H-9a ,9a') 3.58(2H ,dd ,J = 11.5 ,4.2 Hz ,H-9b ,9b') 2.75(2H ,dd ,J = 8.0 ,13.5 Hz ,H-7a ,7a') 2.65(2H ,dd ,J = 6.5 ,13.6 Hz ,H-7b ,7b') 1.87(2H ,m ,H-8 8') ;<sup>13</sup>C NMR-DEPT(125 MHz ,CDCl<sub>3</sub>): δ 146.5(C-3 3' ,s) ,143.9(C-4 A' ,s) ,132.5(C-1 ,1' ,s) ,121.8(C-6 6' ,d) ,114.0(C-5 5' d) ,111.5(C-2 2' ,d) ,60.8(C-9 9' ,t) ,43.9(C-8 8' ,d) ,35.8(C-7 7' ,t) ,55.9(OCH<sub>3</sub> ,C-3 3' ,q) 。上述数据与报道数据基本一致( Agrawal *et al.* ,1982) ,故鉴定化合物 3 为开环异落叶松脂素。

**化合物 4** 白色粉末,分子式为 C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>O<sub>8</sub>。<sup>1</sup>H NMR(500 MHz ,DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 9.17(1H ,s ,OH) 7.95(1H ,d ,J = 9.5 Hz ,H-4) 6.99(1H ,d ,J = 1.6 Hz ,H-2') 6.90(1H ,s ,H-5) 6.88(1H ,dd ,J = 8.1 ,1.6 Hz ,H-6') 6.82(1H ,d ,J = 8.1 Hz ,H-5') 6.35(1H ,d ,J = 9.5 Hz ,H-3) 4.97(1H ,d ,J = 7.9 Hz ,H-7') 4.31(1H ,m ,H-8') 3.78 3.77(3H ,s ,2 × OCH<sub>3</sub>) ;<sup>13</sup>C NMR-DEPT(125 MHz ,DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 160.5(C-2 ,s) ,148.2(C-3' ,s) ,147.9(C-4' ,s) ,145.8(C-6 ,s) ,145.3(C-4 d) ,138.5(C-9 ,s) ,137.7(C-7 ,s) ,132.2(C-8 ,s) ,127.2(C-1' ,s) ,121.3(C-6' d) ,116.0(C-5' d) ,113.7(C-3 d) ,112.6(C-2' ,d) ,111.8(C-10 ,s) ,101.6(C-5 ,d) ,78.4 ,78.4(C-8' ,d) ,76.7(C-7' d) ,60.3(C-9' t) ,56.4(OCH<sub>3</sub> ,C-3' ,q) ,55.9(OCH<sub>3</sub> ,C-3 ,q) 。上述数据与报道数据基本一致( Ray *et al.* ,1985) ,故鉴定化合物 4 为臭失菜素 A。

**化合物 5** 无定型固体,分子式为 C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>O<sub>6</sub>。负离子 ESIMS: m/z 357 [M-H]<sup>-</sup> 393 [M + Cl-H]<sup>-</sup>; 正离子 ESIMS: m/z 381 [M + Na]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H NMR(500 MHz ,CDCl<sub>3</sub>): δ 6.92(2H ,d ,J = 1.3 Hz ,H-2 2') 6.

90(2H ,d ,J = 8.1 Hz ,H-5 5') 6.82(2H ,dd ,J = 8.1 ,1.3 Hz ,H-6 6') 5.67(s ,OH) 4.76(2H ,d ,J = 3.8 Hz ,H-7 7') 3.90(6H ,s ,OMe) 4.27(2H ,dd ,J = 8.9 6.7 Hz ,H-9a ,9a') 3.91(2H ,dd ,J = 8.9 3.4 Hz ,H-9b ,9b') 3.12(2H ,m ,H-8 8') ;<sup>13</sup>C NMR-DEPT(125 MHz ,CDCl<sub>3</sub>): δ 146.7(C-3 3' ,s) ,145.3(C-4 A' ,s) ,132.8(C-1 ,1' ,d) ,119.0(C-6 6' ,d) ,114.3(C-5 5' d) ,108.7(C-2 2' ,d) ,85.9(C-7 7' ,d) ,71.7(C-9 9' ,t) ,56.0(OCH<sub>3</sub> ,C-3 3' ,q) ,54.2(C-8 8' ,d) 。上述数据与报道数据基本一致( El-hassan *et al.* ,2003) ,故鉴定化合物 5 为松脂素。

**化合物 6** 透明无定型固体,分子式 C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>O<sub>6</sub>。

<sup>1</sup>H NMR(500 MHz ,CDCl<sub>3</sub>): δ 6.91(1H ,d ,J = 1.7 Hz ,H-2') 6.90(1H ,d ,J = 8.1 Hz ,H-5') 6.83(1H ,dd ,J = 1.7 8.1 Hz ,H-6') 6.59(2H ,s ,H-2 6) 4.75(1H ,d ,J = 4.5 Hz ,H-7) 4.72(1H ,d ,J = 4.5 Hz ,H-7') 4.28(2H ,m ,H-9 9') 3.89(2H ,m ,H-9 9') ,3.91(9H ,s ,3 × OMe) ,3.11(2H ,m ,H-8 8') ;<sup>13</sup>C NMR-DEPT(125 MHz ,CDCl<sub>3</sub>): δ 147.2(C-3 ,s) ,147.2(C-5 ,s) ,146.7(C-3' ,s) ,145.3(C-4' ,s) ,134.4(C-4 ,s) ,132.9(C-1' ,s) ,132.2(C-1 ,s) ,119.0(C-6' d) ,114.3(C-5' d) ,108.6(C-2' ,d) ,102.8(C-2 d) ,102.8(C-6 d) ,86.2(C-7' d) ,85.8(C-7 ,d) ,71.9(C-9 t) ,71.6(C-9' t) ,56.4(OCH<sub>3</sub> ,C-3 ,q) ,56.4(CH<sub>3</sub> ,C-5 ,q) ,56.0(OCH<sub>3</sub> ,C-3' ,q) ,54.4(C-8 d) ,54.1(C-8' ,d) 。上述数据与报道数据基本一致( Casabuonon *et al.* ,1994) ,故鉴定化合物 6 为 5'-甲氧基(-)-松脂素。

**化合物 7** 白色粉末,分子式为 C<sub>28</sub>H<sub>38</sub>O<sub>8</sub>。

<sup>1</sup>H NMR(500 MHz ,CD<sub>3</sub>OD) δ: 6.59(2H ,s ,2 × H-8) 6.44(2H ,s ,H-2') 6.43(2H ,s ,6') 4.44(1H ,d ,J = 6.3 Hz ,H-4) 4.25(1H ,d ,J = 6.5 Hz ,H-4) ,4.30(1H ,d ,J = 7.8 Hz ,H-1'') 4.16(1H ,d ,J = 7.6 Hz ,H-1'') 3.88(6H ,s ,2 × 7-OCH<sub>3</sub>) 3.77(12H ,s ,2 × 3' 5'-OCH<sub>3</sub>) 3.36 3.34(3H ,s ,2 × 5-OCH<sub>3</sub>) 2.13(2H ,m ,2 × H-3) ,1.71(2H ,m ,2 × H-2) ;<sup>13</sup>C NMR-DEPT(125 MHz ,CD<sub>3</sub>OD) δ: 149.0(C-3' ,5' ,s) ,148.7(C-7 ,s) ,147.6(C-5 ,s) ,139.4(C-6 A' ,s) ,134.6(C-1' ,s) ,130.2(C-9 ,s) ,126.3(C-10 ,s) ,107.8(C-2' 6' d) ,106.9(C-8 d) ,104.3(C-1'' d) ,78.2(C-3'' d) ,78.0(C-5'' d) ,75.1(C-2'' d) ,71.5(C-3a t) ,71.7(C-4'' d) ,66.3(C-2a t) ,62.8(C-6'' d) ,60.3(5-OCH<sub>3</sub> ,q) ,56.8(3' 5'-OCH<sub>3</sub> ,q) ,56.

7(7-OCH<sub>3</sub>, q), 46.7(C-4, d), 42.8(C-3, d), 40.7(C-2, d), 33.8(C-1, t)。上述数据与报道数据基本一致(Ohashi *et al.*, 1994), 故鉴定化合物 7 为 Lyoniresinol 3 $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranosides。

## 2.2 抗肿瘤细胞增殖活性测试

样品 1-7 对肿瘤细胞株 HeLa 的 IC<sub>50</sub> 分别为 764.7、571.5、328.8  $\mu$ g/mL, 对肿瘤细胞株 A435 的

IC<sub>50</sub> 分别为 593.4、397.5、455.5  $\mu$ g/mL, 对肿瘤细胞株 A549 的 IC<sub>50</sub> 分别为 290.2、323.0、209.3  $\mu$ g/mL, 对肿瘤细胞株 K562 的 IC<sub>50</sub> 分别为 1487.7、768.8、361.9  $\mu$ g/mL。

样品 2-6 对肿瘤细胞株 HeLa, A435, A549, K562 的生长没有明显抑制活性。

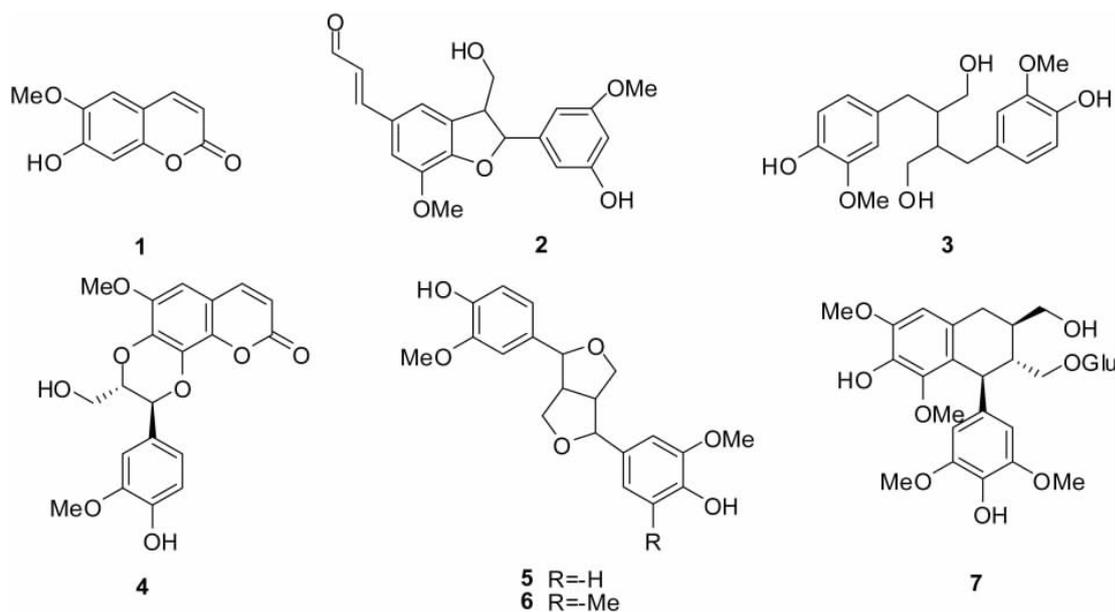


图 1 化合物 1-7 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1-7

## 3 结论

通过各种分离技术和结构鉴定方法,从木榄胚轴中分离鉴定了 7 个苯丙素类化合物,分别鉴定为萹苳亭、Balanophonin、开环异落叶松脂素、臭失菜素 A、松脂素、5'-甲氧基(-)-松脂素、Lyoniresinol-3 $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranosides。运用 MTT 法,测试了化合物 1-7 的抗肿瘤细胞增殖活性,结果显示化合物 1, 3-7 对肺腺癌细胞 A549 具有弱抑制活性,与该种植物的民间药用用途一致。除化合物 3 和 5 以外,其他化合物均首次从该植物中分离得到,该研究为广西木榄胚轴的开发利用提供科学支持。

## 参考文献:

- 范航清. 2000. 红树林海岸环保卫士[M]. 南宁: 广西科学技术出版社: 15-18  
Li F(李昉), Li XM(李晓明), Wang BG(王斌贵). 2010. Chemical constituents of marine mangrove plant *Bruguiera gymnorhiza*

(海洋红树林植物木榄化学成分研究)[J]. *Mar Sci(海洋科学)* 34(10): 24-27

Liu HL(刘海利), Shen X(沈旭), Jiang HL(蒋华良), *et al.* 2008. Structural studies on an unusual novel macrocyclic polydisulfide from the Chinese mangrove *Bruguiera gymnorhiza*(中国红树植物木榄中新颖罕见多聚二硫大环化合物的结构研究)[J]. *Chin J Org Chem(有机化学)* 28(2): 246-251

Shang SS(尚随胜), Long SJ(龙盛京). 2005. Overview to active constituents from mangrove *Bruguiera gymnorhiza*(红树植物木榄的活性成分研究概况)[J]. *Chin Trad Herb Drug(中草药)*, 36(3): 465-467

Kang WY(康文艺), Xu JX(徐建新), Hao XJ(郝小江). 2005. Study on constituents from *Neonauclea griffithii*(新乌檀化学成分研究)[J]. *J Chin Med Mat(中药材)* 27(5): 343-344

Agrawal PK, Rastogi RP. 1982. Two lignans from *Cedrus deodara*[J]. *Phytochemistry* 21(6): 1459-1461

Teas HJ. 1983. *Biology and Ecology of Mangroves* [M]. The Hague: Springer Publishers: 213

Tomlinson PB. 1986. *The Botany of Mangroves* [M]. Cambridge: Cambridge University Press: 101-104

Casabuonon AC, Pomilio A. 1994. Lignans and a stilbene from *Festuca Argentina*[J]. *Phytochemistry* 35(2): 479-483

(下转第 257 页 Continue on page 257)

- phosphorus in plants( 铬对生活污水中氮磷的植物净化效果及体内氮磷含量的影响) [J]. *Ecol Environ Sci*( 生态环境学报) **19**( 2): 286–290
- Li ZG( 李志刚), Jiang YH( 蒋越华), Li SL( 李素丽), et al. 2008. Effect of waste-water treatment on leaf photosynthesis and chlorophyll fluorescence properties of three plant species in constructed wetland( 人工湿地污水处理对三种植物光合作用及叶绿素荧光特性的影响) [J]. *Ecol Environ*( 生态环境), **17**( 6): 2 187–2 191
- Ling WW( 凌薇薇), Wu XF( 吴晓芙), Chen YH( 陈永华), et al. 2011. Screening of manganese resistant microorganism and their Characteristics on  $Mn^{2+}$  ion removal ( 除锰微生物的筛选及其除锰特性研究) [J]. *J Centr S Univ For & Technol*( 中南林业科技大学学报) **31**( 6): 152–156
- Matin CD, Moshiri GA. 1994. Nutrient reduction in an in-series constructed wetland system treating landfill leachate [J]. *Wat Sci & Tech* **29**( 4): 267–272
- Niu RC( 牛荣成), Wei SH( 魏树和), Zhou QX( 周启星), et al. 2010. Process of plant-microbe remediation of contaminated soil with heavy metal( 植物-微生物联合修复重金属污染土壤研究进展) [J]. *World Sci-Tech R & D*( 世界科技研究与发展) **32**( 5): 663–666
- Srinath T, Verma T, Ramteke PW, et al. 2002. Chromium ( VI) biosorption and bioaccumulation by chromate resistant bacteria [J]. *Chemosphere* **48**: 427–435
- Shi RJ( 石汝杰), Lu YG( 陆引罡). 2007. Effect of the rhizosphere on the microorganism and the enzyme activity in polluted soil with lead( 植物根际微生物和酶活性对铅污染的响应) [J]. *J Anhui Agric Sci*( 安徽农业科学) **35**( 30): 9 634–9 636
- TengY( 滕应), Huang CY( 黄昌勇), Luo YM( 骆永明), et al. 2004. Microbial Activities and Functional diversity of Community Soils Polluted with Pb-Zn-Ag mine tailings( 铅锌银尾矿区土壤微生物活性及其群落功能多样性研究) [J]. *Acta Pedol Sin*( 土壤学报) **41**( 1): 113–119
- Wei BM( 韦必帽), Zhang CL( 张超兰), Li QF( 李勤峰), et al. 2009. Dynamic changes of microbial population and enzyme activity inartificial wetland with Cd wastewater( 人工湿地处理含镉废水基质微生物和酶的动态变化研究) [J]. *Guangxi Agric Sci*( 广西农业科学) **40**( 5): 533–537
- Wang J( 王静), Tian R( 田然), Zhou H( 周辉), et al. 2010. Response of soil enzymes and microbial communities to elevated concentration of atmospheric  $CO_2$  under stress of cu pollution( 铜污染胁迫条件下农田土壤酶活性及微生物多样性对大气  $CO_2$  浓度升高的响应) [J]. *J Agro-Environ Sci*( 农业环境科学学报) **29**( 9): 1 706–1 711
- Wang JL( 王俊丽), Ren JG( 任建国). 2011. Screening of cadmium resistant microbes and analysis of their adsorption capability ( 耐镉微生物的筛选及其吸附能力研究) [J]. *Hubei Agric Sci*( 湖北农业科学) **50**( 3): 499–502
- Wang XL( 王秀丽), Xu JM( 徐建民), Yao HY( 姚槐应), et al. 2003. Effects of Cu Zn Cd and Pb compound contaminateon on soil microbial community( 重金属铜、锌、镉、铅复合污染对土壤环境微生物群落的影响) [J]. *Acta Sci Circum*( 环境科学学报) **23**( 1): 22–27
- Wu JJ( 吴建军), Jiang YM( 蒋艳梅), Wu YP( 吴愉萍), et al. 2008. Effects of complex heavy metal pollution on biomass and community structure of soil microbes in paddy soil( 重金属复合污染对水稻土微生物量和群落结构的影响) [J]. *Acta Pedol Sin*( 土壤学报) **45**( 6): 1 102–1 109
- Zhao K( 赵堃), Chai LY( 柴立元), Wang YY( 王云燕), et al. 2006. The existing form, migration and transformation laws of Cr in water environment( 水环境中铬的存在形态及迁移转化规律) [J]. *Industr Safety & Environ Protect*( 工业安全与环保) **8**( 32): 1–3
- Zhang CL( 张超兰), Wei BM( 韦必帽), Liu M( 刘敏), et al. 2010. Microorganism population and enzyme activity in substrate of vertical-flow constructed wetland treating Cd wastewater( 含镉废水人工湿地处理系统中基质微生物数量和酶活性研究) [J]. *Water Res Protect*( 水资源保护) **26**( 4): 57–61
- Zhang W( 张巍), Zhao J( 赵军), Lang CM( 郎成明), et al. 2010. Progress in studies on pollutant removal by microorganisms in constructed wetlands( 人工湿地系统微生物去除污染物的研究进展) [J]. *Chin J Environ Eng*( 环境工程学报) **4**( 4): 711–718
- Zhou HL( 周海兰). 2007. The application of constructed wetland for heavy metal wastewater treatment( 人工湿地在重金属废水处理中的应用) [J]. *Environ Sci Manag*( 环境科学与管理) **9**( 32): 89–91
- Zhu JH( 朱建华), Wang LL( 王莉莉). 1997. The toxicity of different valence chromium and effect on human body( 不同价态铬的毒性及其对人体影响) [J]. *Environ Expl*( 环境与开发) **12**( 3): 46–48

( 上接第 194 页 Continue from page 194 )

- El-Hassan A, El-Sayed M, Hamed AI, et al. 2003. Bioactive constituents of *Leptadenia arborea* [J]. *Fitoterapia* **74**: 184–187
- Lee DY, Song MC, Yoo KH, et al. 2007. Lignans from the fruits of *Cornus kousa* Burg. and their cytotoxic effects on human cancer cell lines [J]. *Arch Pharm Res* **30**( 4): 402–407
- Mossman T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assay [J]. *J Immunol Meth* **65**: 55–63
- Ohashi K, Watanabe H, Okumura Y, et al. 1994. Indonesian medicinal plants. XII. Four isomeric lignan-glucoside from the bark of *Aegle marmelos* ( Rutaceae) [J]. *Chem Pharm Bull* **42**( 9): 1 924–1 926
- Ray AB, Chattopadhyay SK, Kumar S. 1985. Structures of cleomiscosins coumarino-lignoids of *Cleome viscosa* seeds [J]. *Tetrahedron* **41**( 1): 209–214