

羊躑躅不同组织部位提取物的抑菌活性及抗氧化活性研究

宗露野,董丽敏,戴亮芳,杨 燕,吴青蕊,罗向东*

江西师范大学生命科学院,南昌 330022

摘要:羊躑躅是一种传统药材,具有重要的经济价值和药用价值。本文以野生羊躑躅的根、茎、叶和花为材料,对羊躑躅的有效成分进行提取,分析其体外抑菌活性和抗氧化活性。结果表明,同等浓度下羊躑躅各药用部分乙醇提取物的抑菌活性高于其水提物,叶提取物的抗菌活性和抗氧化活性强于其他组织。随后,用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇进一步萃取羊躑躅叶的乙醇提取物得到三个不同极性部位,分别分析它们的体外抑菌活性和抗氧化活性。结果显示,不同极性部位对 DPPH、ABTS 均具有较好的抗氧化能力,其中以乙酸乙酯部分最强,浓度为 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, DPPH 自由基清除率为 93.65%,对 DPPH 自由基 IC_{50} 最小(6.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$),优于对照组抗坏血酸。抑菌实验也表明,乙酸乙酯极性部位的抑菌作用最强,0.25 g/mL 的浓度对金黄色葡萄球菌的抑菌圈达 15.44 mm。本研究为深入挖掘羊躑躅的药用价值提供科学依据和参考。

关键词:羊躑躅;不同极性部位;抑菌活性;抗氧化活性

中图分类号:Q946;R284.2

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)Suppl-0020-06

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.S.004

The antioxidant and antimicrobial activities of extract from different tissue part of *Rhododendron molle* G. Don

ZONG Lu-ye, DONG Li-min, DAI Liang-fang, YANG Yan, WU Qing-ru, LUO Xiang-dong*

College of Life Science, Jiangxi Normal University, Nanchang 330022, China

Abstract: *Rhododendron molle* G. Don is a traditional Chinese medicinal material, which has important economic and medicinal value. In this paper, the roots, stems, leaves and flowers of wild *R. molle* were used as materials to extract the active ingredients, and analyze their antimicrobial and antioxidant activities *in vitro*. The results showed that the antimicrobial activity of ethanol extracts from different medicinal part was higher than that of water extracts, and the antimicrobial and antioxidant activities of leaf extracts were stronger than those of other tissues at the same concentration. Subsequently, petroleum ether, ethyl acetate and n-butanol were used to further extract the ethanol extracts from the leaves of *R. molle* to obtain three different polar parts, analyze their antimicrobial and antioxidant activities *in vitro*, respectively. Different polar parts showed notable antioxidant capacity to DPPH and ABTS. And the polar parts from ethyl acetate showed the strongest antioxidant capacity. When the concentration of ethyl acetate part was 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$, the scavenging rate of DPPH free radical was 93.65%, and the IC_{50} of DPPH free radical was the smallest (6.25 g/mL), which was better than that of control group Vc. The antimicrobial experiment also showed that the polar part of ethyl acetate had the strongest antimicrobial effect. The inhibition zone of 0.25 g/mL ethyl acetate part was to 15.44 mm for *Staphylococcus aureus*. This research provides a scientific basis for further exploring the medicinal value of *R. molle*.

Key words: *Rhododendron molle* G. Don; different polar parts; antimicrobial activity; antioxidant activity

羊躑躅 (*Rhododendron molle* G. Don) 又名闹羊花、黄杜鹃、八厘麻等,是我国杜鹃花科羊躑躅亚属

中唯一的原生种^[1]。它既是一种重要观赏植物,也是一种被列入中国药典的药用植物^[2-4],具有祛风除湿、散癖定痛之功效,用于风湿痹痛、偏正头痛、跌打肿痛、顽癣。研究表明,羊躑躅的花、根和果实等组织均可入药,对治疗温症、慢性肾小球肾炎、高血压、跌打损伤和类风湿等病具有良好效果,民间有“跌

收稿日期:2019-08-28

接受日期:2019-10-11

基金项目:国家自然科学基金(31360147,31660384);江西省自然科学基金(20151BAB204008,20171BAB204021)

* 通信作者 E-mail: xdluolf@163.com

倒地上爬,离不开八厘麻”的说法。另外,羊蹄躅的根具有一定的解热和免疫作用^[5],果实具有显著降血压的作用和减慢心率的作用,羊蹄躅叶的提取物具有一定的杀虫作用,花粉的抗炎、镇痛和麻醉的作用比较明显^[6-8]。因此,羊蹄躅是天然产物挖掘与利用的宝贵资源,进一步深入研究和分析羊蹄躅的药效及物质基础具有十分重要的意义。

已有的研究表明,羊蹄躅根、叶、花和果实中含有黄酮类化合物、二萜、香豆素、固醇类和木脂酸类等化合物。研究表明,二萜类化合物被认为是羊蹄躅的主要活性成分和毒性成分,其中闹羊花素Ⅱ和Ⅲ首次从羊蹄躅中分离得到^[9-11]。然而,先前有关羊蹄躅的研究主要集中在繁殖、组织培养^[12],遗传多样性和植物化学成分分析等方面,对其生物活性的研究较少。为此,本文拟研究羊蹄躅提取物在体外的抑菌活性及抗氧化活性,探索其有效部位,为深入挖掘羊蹄躅的药用价值以及充分开发和利用羊蹄躅资源提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料与试剂

本研究所用的羊蹄躅各组织材料取于江西省永修县。样品经液氮速冻后立即转入-80℃冰箱保存。实验菌种:大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、考克氏菌(*Kocuria* sp. mn22)由江西师范大学生命科学学院微生物课题组提供。培养基:LB培养基。

试剂:1,1-二苯基-2-苦基肼(DPPH)、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)、邻苯三酚、盐酸、甲醇、硫酸铁、邻啡罗啉、过氧化氢溶液、磷酸盐缓冲溶液(PBS)、过硫酸钾、三氯化铁、氯化亚铁、三氯乙酸、铁氰化钾等,所用其他试剂和化学药品均为分析纯。

1.2 羊蹄躅有效成分提取

将冷冻干燥的羊蹄躅根、茎、花、叶磨成粉末,用水和乙醇冷浸过夜提取,重复三次,将得到的提取液混合,真空水泵抽滤,将滤液旋转蒸发获得羊蹄躅各组织器官的水提取物和乙醇提取物浸膏。称取羊蹄躅叶的乙醇提取物浸膏20g,用2~3倍的去离子水分散,超声波充分溶解得到其水分散液,再依次用等体积的石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取4次,经旋转蒸发和冷冻干燥获得不同极性部位粉末。

1.3 抗菌实验

参照 Gao 等^[13]的方法,采用滤纸片扩散法测羊

蹄躅抗菌活性。称取羊蹄躅各组织部位的水和乙醇提取物浸膏以及羊蹄躅叶的各极性部位粉末,用甲醇将其配制成6种不同质量浓度的溶液(0.5、0.25、0.125、0.0625、0.03125和0.015625 mg/mL)。将3种供试菌接种在LB斜面培养基上活化,于37℃培养24h后再传代2次后,随后将其分别挑落在LB液体培养基中,在37℃,120 r/min的摇床中进行12h振荡培养,之后将活化的菌液稀释成 1.5×10^8 CFU的菌悬液,分别将35 μL的稀释菌液均匀涂布在带相应标记LB平板培养皿上。取直径5.5 mm的灭菌圆形滤纸片,在配置好的系列浓度样品溶液浸泡24h后,将浸泡过的药敏纸片贴于培养基上,甲醇为阴性对照组,于37℃培养24h,观察并测定其抑菌圈直径。

1.4 抗氧化实验

准确称取羊蹄躅水、乙醇提取物浸膏和各极性部位粉末,有机相采用甲醇,水相采用去离子水,依次稀释成50、25、12.5、6.25、3.125 μg/mL的系列质量浓度溶液,相应浓度的抗坏血酸为阳性对照。

1.4.1 DPPH法测定抗氧化活性

参考 Li 等^[14]的方法。将1.5 mL不同浓度的羊蹄躅提取样品分别与1.5 mL DPPH溶液混合,黑暗中温育30 min。于波长517 nm处记录其吸光度。DPPH自由基清除活性通过以下公式计算: DPPH自由基清除率 $S = [1 - (A_i - A_j) / A_0] \times 100\%$, A_i 为样品溶液吸光度, A_j 为样品对照吸光度, A_0 为空白对照吸光度。

1.4.2 ABTS法测定抗氧化活性

参考 Li 等^[15]的方法。不同浓度的提取物样品0.2 mL,分别加入1.9 mL ABTS自由基工作液,准确反应6 min后734 nm波长处测定吸光度(A_i),重复3次,结果取平均值。按公式计算 ABTS 自由基清除率。ABTS 自由基清除率 $S = [1 - (A_i - A_j) / A_0] \times 100\%$ 。

1.4.3 羟自由基的清除活性

参照邻二氮菲- Fe^{2+} - H_2O_2 法^[16]。不同浓度的提取物样品1 mL,与1 mL邻啡罗啉溶液,2 mL磷酸盐缓冲溶液(PBS),1 mL去离子水,1 mL FeSO_4 , 1 mL H_2O_2 溶液(0.01%)混合。将混合物在37℃下孵育60 min,并在512 nm处读取反应混合物的吸光度 A_i ,同上述方法不加提取物,加 H_2O_2 测 A_j ;不加提取物和 H_2O_2 测 A_0 。使用下式计算羟基自由基

清除率 $S = [A_i - A_j] / [A_0 - A_j] \times 100\%$ 。

1.4.4 铁还原抗氧化力测定

参照 Miao 等^[17] 方法,稍加更改。不同浓度的提取物样品溶液 2 mL,加入 2 mL 的磷酸缓冲液和 1% 铁氰化钾溶液 2 mL,混匀,50 °C 温育 20 min,加入 10% 的三氯乙酸溶液 2 mL,振荡混匀后取 2 mL 的混合液,加入 2 mL 去离子水和 0.1% 的三氯化铁溶液 0.4 mL,静置 10 min,用去离子水为空白,测 700 nm 处的吸光度。

2 结果与分析

2.1 羊蹄躅不同组织部位提取物的抑菌活性

分析图 1 可知,羊蹄躅不同部位的乙醇提取物对 3 种供试菌的生长均有不同程度的抑制作用,而

其相应的水提取物对 3 种供试菌基本没有抑制活性,表明提取试剂对羊蹄躅的抑菌活性具有较大的影响,即乙醇的提取效果优先于水。进一步分析发现,相同浓度下,羊蹄躅不同组织部位提取物的抑菌活性也具有明显差异。在 3 种供试菌中,均以叶的乙醇提取物抑菌活性最高。浓度为 50% 时,羊蹄躅叶的乙醇提取物对大肠杆菌、考克氏菌和金黄色葡萄球菌的抑菌圈的直径大小分别为 16.32、13.06、15.00 mm,而未添加提取物的阴性对照无抑菌活性,表明羊蹄躅叶的乙醇提取物抑菌活性最强。比较分析发现,羊蹄躅叶的乙醇提取物对革兰氏阳性菌的抑菌效果要优于革兰氏阴性菌,并且抑菌效果随着浓度增加而增强(图 1 和图 2)。

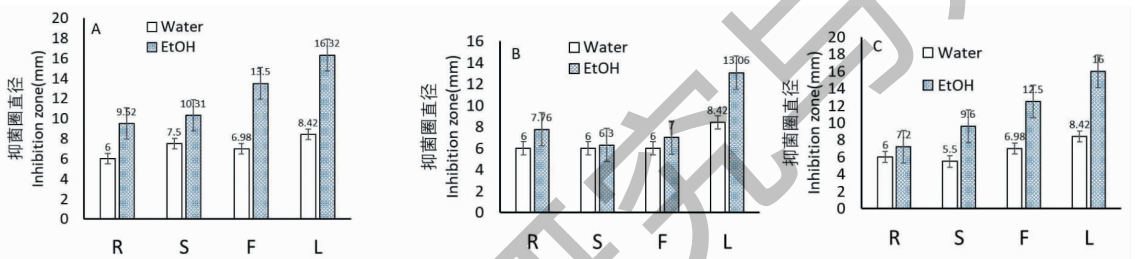


图 1 羊蹄躅各器官对不同供试菌的抑菌效果

Fig. 1 The bacteriostatic effect of different organs of *R. molle* on different fungi or bacteria

注:参与比较的样液浓度均为 50%;A:大肠杆菌,B:考克氏菌,C:金黄色葡萄球菌;"R"代表根提取物;"S"代表茎提取物;"F"代表花提取物;"L"代表叶提取物。Note:The concentration of sample solution was 50%;A:*E. coli*,B:*Kocuria* sp. mn22,C:*S. aureus*;"R" means root extract;"S" means stem extract;"F" means flower extract;"L" means leaf extract.

2.2 不同极性部位的抑菌活性分析

为了探明羊蹄躅叶提取物抑菌的活性,本文进一步分析了羊蹄躅叶的 3 种不同极性部位的抑菌活性。结果表明,3 种不同极性部位的抑菌活性呈现一定差异,其抑菌效果也因菌种不同而有所差异(表 1)。对于金黄色葡萄球菌,乙酸乙酯部位表现出最强的抑菌活性,浓度为 0.25 mg/mL 时,抑菌圈

直径达 15.44 mm,正丁醇部位对金黄色葡萄球菌亦有较强的抑制活性(13.20 mm)。对于考克氏菌,乙酸乙酯和正丁醇部位也均表现出较强的抑菌活性,石油醚部位对其抑菌效果都较弱。对于大肠杆菌,三种极性部位的抑菌活性均相对弱一点。由此表明,羊蹄躅叶的乙酸乙酯部位对供试菌的抑菌活性最强,石油醚部位的抑菌活性最弱。

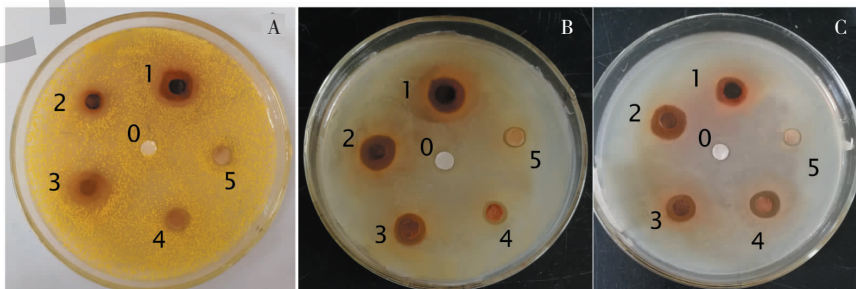


图 2 羊蹄躅叶的乙醇粗提取物对供试菌的抑菌活性

Fig. 2 The antibacterial activity ethanol extraction of the leaves in *R. molle* on tested bacteria

注:1~5 依次为二倍稀释的药液;1:0.25 g/mL;0:空白对照组;A:金黄色葡萄球菌;B:考克氏菌;C:大肠杆菌。Note:1-5 was the two-fold serial dilutions;1:0.25 g/mL;0:Blank control;A:*S. aureus*;B:*Kocuria* sp. mn22; C:*E. coli*.

表 1 0.25 mg/mL 羊蹄躑叶各部分提取物对供试菌的抑菌圈

Table 1 The antibacterial circles of *R. molle* leaf extracts (0.25 mg/mL) on tested bacteria

不同极性部位提取物 Extracts from different polar parts	革兰氏阳性菌 Gram-positive bacteria		革兰氏阴性菌 Gram-negative bacteria
	金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	考克氏菌 <i>Kocuria</i> sp. mn22	大肠杆菌 <i>E. coli</i>
石油醚 Petroleum ether	+	+	+
乙酸乙酯 Ethyl acetate	+++	++	+
正丁醇 Butanol	++	++	+

注：“+”为抑菌圈直径小于 10 mm，表示抗菌活性较弱；“++”为抑菌圈直径在 10~15 mm，表示抗菌活性一般；“+++”为抑菌圈直径超过 15 mm，表示抗菌活性强。

Note: "+" means inhibitory zone is less than 10 mm, indicating that the antimicrobial activity is weak; "++" means inhibitory zone is 10-15 mm, indicating that the antimicrobial activity is common; "+++ " means inhibitory zone is more than 15 mm, indicating that the antimicrobial activity is strong.

2.3 羊蹄躑不同部位抗氧化活性分析

分析羊蹄躑花和叶的乙醇提取物的抗氧化活性可知,羊蹄躑花和叶的乙醇粗提物对 DPPH 自由基、羟自由基、 Fe^{3+} 均具有清除效果,表现出良好的抗氧化活性,但它们对 DPPH 自由基和羟自由基的清除效果优于对 Fe^{3+} 的清除效果(图 3)。浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 时,羊蹄躑花对 DPPH 自由基(47.22%)、羟自由基(49.85%)和 Fe^{3+} (24.71%) 的清除率均小于羊蹄躑叶的清除率(分别为 96.88%、69.67%、34.47%),即同等浓度下叶的抗氧化活性强于花。比较分析发现,相同浓度下,羊蹄躑花乙醇提取物的抗氧化活性显著弱于阳性对照品抗坏血酸,羊蹄躑叶乙醇提取物的抗氧化活性略弱于抗坏血酸,对 DPPH 的清除率只有微小差距。

DPPH 自由基的清除率具有剂量依赖性,当浓度超过 100 $\mu\text{g/mL}$ 后,其清除率趋于平缓。不同极性部位对 DPPH 自由基清除的 IC_{50} 值具有一定差异为(石油醚>抗坏血酸>正丁醇>乙酸乙酯),其中乙酸乙酯萃取物的 IC_{50} 值最小(6.25 $\mu\text{g/mL}$),远小于阳性对照品抗坏血酸(22.5 $\mu\text{g/mL}$),表明乙酸乙酯萃取物对 DPPH 自由基清除的活性最强。

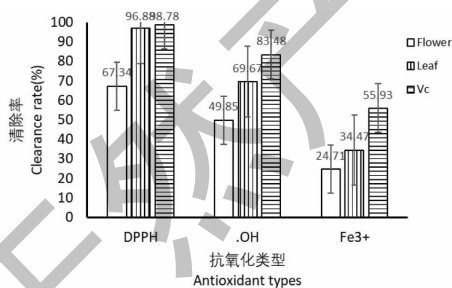


图 3 100 $\mu\text{g/mL}$ 羊蹄躑乙醇提取物的抗氧化活性

Fig. 3 The antioxidant activity of 100 $\mu\text{g/mL}$ ethanol extract of *R. molle*

2.4 羊蹄躑叶各极性部位抗氧化活性

为了探明羊蹄躑叶提取物抗氧化的活性,本文进一步分析了羊蹄躑叶的各极性部位对 DPPH 和 ABTS 自由基以及 Fe^{3+} 的清除效果(图 4~6)。分析图 4 可知,样品浓度在 0~100 $\mu\text{g/mL}$ 时,样品对

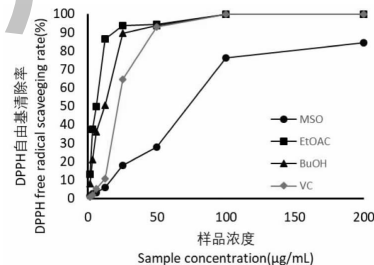


图 4 羊蹄躑叶各极性部位样品浓度与 DPPH 自由基清除率的关系

Fig. 4 The relationship between DPPH free radical scavenging rate and sample concentration in polar parts of the leaf in *R. molle*

注:MSO 为石油醚萃取物;EtOAc 为乙酸乙酯萃取物;BuOH 为正丁醇萃取物;下同。Note:MSO means petroleum ether extract;EtOAc means ethyl acetate extract;BuOH means butanol extract;same below.

分析羊蹄躑叶的各极性部位对 ABTS 自由基的清除效果发现(图 5),样品质量浓度为 0~100 $\mu\text{g/mL}$ 时,样品对 ABTS 自由基的清除率呈良好的量效关系(即浓度越高,清除效果显著上升)。当羊蹄躑叶各极性部位的质量浓度超过 100 $\mu\text{g/mL}$ 后,其清除率逐渐趋于平衡。与阳性对照抗坏血酸相比,低浓度羊蹄躑叶各极性部位对 ABTS 的清除活性显著低于抗坏血酸($P < 50 \mu\text{g/mL}$),但随着浓度的增大,其清除能力逐渐增大,与抗坏血酸清除能力的差异

减小。当浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,乙酸乙酯和正丁醇萃取物对 ABTS 自由基清除率与抗坏血酸差距进一步缩小,可达 99.55% 和 87.98%,表现出良好的 ABTS 自由基清除活性。对 ABTS 自由基的 IC_{50} 值略大于阳性对照品,顺序为:石油醚 > 正丁醇 > 乙酸乙酯 > 抗坏血酸。

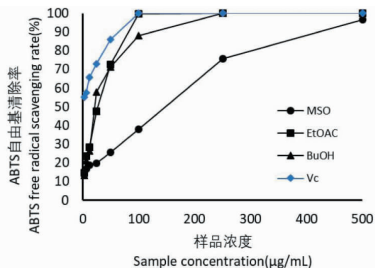


图5 羊蹄躅叶各极性部位样品浓度与 ABTS 自由基清除率的关系

Fig. 5 The relationship between ABTS free radical scavenging rate and sample concentration in polar parts of the leaf in *R. molle*

还原能力的强弱,能够反映药物的潜在抗氧化能力,是体外抗氧化能力的重要标准。分析羊蹄躅叶各极性部位对 Fe^{3+} 清除效果可知(图6),在测定的质量浓度范围内(0 ~ 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$),各极性部位的 Fe^{3+} 的清除率与浓度成正比。各极性部位还原能力弱于阳性对照物抗坏血酸。随着浓度的增加,乙酸乙酯、正丁醇萃取物清除 Fe^{3+} 能力与抗坏血酸差距逐渐缩小。不同极性部位对 Fe^{3+} 清除的 IC_{50} 值具有一定差异,其大小依次为:石油醚 > 正丁醇 > 乙酸乙酯 > 抗坏血酸。

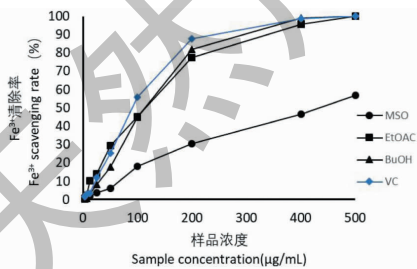


图6 羊蹄躅叶各极性部位样品浓度与 Fe^{3+} 清除率的关系

Fig. 6 The relationship between Fe^{3+} scavenging rate and sample concentration in polar parts of the leaf in *R. molle*

3 讨论

羊蹄躅在中医药治疗中应用非常普遍,常用于风湿痹痛、跌打损伤,其药理实验和临床应用都证明

羊蹄躅具有镇痛、免疫和降血压等作用^[18],对治疗皮肤顽癣也具有较好的功效^[19,20]。本研究对羊蹄躅不同组织器官的抑菌活性表明,羊蹄躅叶的提取物活性最强,并且它的乙酸乙酯萃取物对革兰氏阳性菌(金黄色葡萄球菌、考克氏菌)的抑菌活性强于对革兰氏阴性菌(大肠杆菌)的抑菌活性。这可能是由于革兰氏阳性菌细胞壁的表层主要由肽聚糖组成,而抑菌成分能够直接作用于肽聚糖,抑止肽聚糖的合成,从而对革兰氏阳性菌起抑制作用,这一结果与核桃青皮、鹰嘴豆、牛油果等提取物的抑菌特点相似^[21-23]。由于抗生素的滥用,病原菌广泛的耐药性成为已经成为全球公共卫生面临的严峻挑战之一,研发新的抗菌药势在必行,因而天然产物的抑菌作用受到了普遍关注。本研究发现,羊蹄躅能够有效抑制金黄色葡萄球菌、考克氏菌和大肠杆菌等,为羊蹄躅可治疗皮肤顽癣提供了一定的科学依据,为进一步研究和挖掘羊蹄躅的新型抗菌等药用价值奠定一定基础。

人体的生长代谢过程中会不断产生各种有一定免疫和传递信号功能的自由基,但过多的自由基对体内生物大分子会造成损伤,导致细胞和组织结构和功能衰退,并对机体的衰老产生影响,引发多种疾病^[24]。因此,评价和筛选含有天然强抗氧化物质的植物材料成为医学、生物学和食品科学研究的重要方向。本研究结果发现,羊蹄躅不同部位、不同溶剂的提取物均表现出良好的抗氧化活性,其中以羊蹄躅叶乙醇提取物的乙酸乙酯和正丁醇萃取部位的抗氧化活性最好,尤其是对 DPPH 自由基的清除能力强于阳性对照组抗坏血酸。由此可推测羊蹄躅叶中的抗氧化活性成分可能主要分布在乙酸乙酯和正丁醇等中等极性部位。这为研究和发掘羊蹄躅叶的药用价值,促进其在医药、健康产品中的开发和应用提供了有用的信息。但羊蹄躅叶乙酸乙酯和正丁醇部萃取部位中哪些主效成分具有抗氧化活性和其它活性还需进一步深入研究。

此前大多研究均以羊蹄躅的花、根和果实作为药用部位,而叶研究较少。然而,由于羊蹄躅根生长缓慢、且具有不可再生性;羊蹄躅的花数量较少、也受季节性影响;而茎的取材会影响羊蹄躅整体活性,并且目前野生羊蹄躅居群的数量不断减少,致使羊蹄躅的药用价值研究与应用受到极大限制^[25]。因此,研究和挖掘羊蹄躅可再生组织器官的药用价值具有重要的理论和实际应用价值。本文研究发现,羊蹄躅的叶提取物具有比根、茎、花更强的抑菌和抗

氧化能力,暗示着羊蹄躑叶有望成为可替代性的羊蹄躑药用部位,具有重要的研究和应用价值。我们调查也发现,羊蹄躑的叶再生能力强,生长比较快,一年中可多次采集,来源丰富,这不仅能为发掘羊蹄躑的药用价值提供资源保障,还能更有效保证羊蹄躑的可持续发展利用。

参考文献

- 1 Wu ZY. Flora of Yunnan(云南植物志)[M]. Beijing: Science Press, 1986.
- 2 Zhang CQ. Rhododendron(杜鹃花)[M]. Beijing: China Architecture & Building Press, 2003.
- 3 Ureshiino K, Miyajimal I, Akabane M. Effectiveness of three-way crossing for the breeding of yellow-flowered evergreen azalea[J]. Euphytica, 1998, 104: 113-118.
- 4 Liu ZL, Goh SH, Ho SH. Screening of Chinese medicinal herbs for bioactivity against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst) [J]. J Stored Prod Res, 2007, 43: 290-296.
- 5 Cheng ML, Dai LF, Luo XD, et al. Genetic diversity and genetic structure analysis on natural populations of endangered *Rhododendron molle* G. Don [J]. Acta Bot Bor-Occid Sin(西北植物学报), 2016, 36: 674-680.
- 6 Long QE. Studies on the active site and pharmacological activities of the root of *Rhododendron molle* G. Don [D]. Hubei: Huazhong University of Science and Technology(华中科技大学), 2011: 9.
- 7 Du XH, Zhao HM. Study on killing efficacy and mechanism of *Rhododendron molle* on oncomelania [J]. J Tradit Chin Vet Med(中兽医医药杂志), 2012, 2: 44-46.
- 8 Compilation Group of the National Compilation of Chinese Herbal Medicines. National Compilation of Chinese Herbal Medicine(全国中草药汇编)[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1976, 472-473.
- 9 Zhang HP, Wang HB, Wang LQ. A new 1,5-seco graymmtoxin from *Rhododendron decorum* [J]. J Asian Nat Prod Res, 2005, 7(1): 87.
- 10 Zou HY, Luo J, Xu DR, et al. Tandem solid-phase extraction followed by HPLC-ESI/QTOF/MS/MS for rapid screening and structural identification of trace diterpenoids in flowers of *Rhododendron molle* [J]. Phytochem Anal, 2014, 25: 255-265.
- 11 Zhong G, Hu M, Wei X, et al. Grayanane diterpenoids from the flowers of *Rhododendron molle* with cytotoxic activity against a *Spodoptera frugiperda* cell line [J]. J Nat Prod, 2005, 68: 924-926.
- 12 Luo XD, Dai LF, Luo JL, et al. *In vitro* micropropagation of the endangered *Rhododendron molle* G. Don [J]. Acta Bot Bor-Occid Sin(西北植物学报), 2010, 30: 844-848.
- 13 Gao FX, Liang YK, Li YX. Antibacterial effect and mechanism of dandelion phytic acid on *Salmonella* [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2019, 31: 975-980.
- 14 Li QM, Mo KJ. Study on the antioxidation activity comparison of several water-extraction of Pine Needle [J]. J Hubei Inst Nat; Nat Sci(湖北民族学院学报: 自科版), 2008, 26: 212-216.
- 15 Li YX, Ma WH, Yuan DB, et al. Antioxidant activities and antibacterial activities of the extract from *Pandanus tectorius* soland fruits [J]. Chin J Trop Agr(热带农业科学), 2013, 33(12): 57-65.
- 16 Han ZM, Li YY, Yang LM. Study on the scavenging hydroxyl radical of the extracts from *Smilacina japonica* [J]. J South Chin Agr Univ(华南农业大学学报), 2010, 31(2): 59-62.
- 17 Miao YM, Sun JQ, Xu RH. Optimization of the extraction process of polysaccharide from *Bubophyllum kwangtungense* and its antioxidant activity [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2019, 31: 779-785.
- 18 Pharmaceutical Institute of the Academy of Medical Science of China, ed. Chinese Medicine Record: Vol 3(中药志: 第三册) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1982: 111-115.
- 19 Compilation Group of Chinese Herbal Pharmacy of Nanjing Pharmaceutical College. Chinese Herbal Pharmacy: Medium volume(中草药学: 中册) [M]. Nanjing: Jiangsu People's Publishing House, 1976: 798.
- 20 Jiangsu New Medical College. Dictionary of Traditional Chinese Medicine(中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publishing House, 1986: 973, 1448.
- 21 Tian DD, Li Y, Mei XH. Identification, antioxidant and antibacterial activity of phytosterols in avocado [J]. Food Sci(食品科学), 2019, 40(3): 30-35.
- 22 Zhang WX, He KZ, Pu Q. Antimicrobial and antioxidant activities of extracts from walnut green husks [J]. Chin J Appl Environ Biol(应用与环境生物学报), 2014, 20: 87-92.
- 23 Jin RZ, Li FF, Zeng YY, et al. Optimization of extraction process of phytosterol from chickpea and antimicrobial activity [J]. Sci Technol Food Ind(食品工业科技): 1-10 [2019-12-26]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1759.TS.20190716.0848.002.html>.
- 24 Lqbal S, Haleem S, Akhtar M, et al. Efficiency of pomegranate peel extracts in stabilization of sunflower oil under accelerated conditions [J]. Food Res Int, 2008, 41: 194-200.
- 25 Zhou JF. Study on the chemical constituents and bioactivities for the leave of *Rhododendron molle* (Ericaceae) [D]. Hubei: Huazhong University of Science and Technology(华中科技大学), 2018, 5: 5-6.