

尖叶胡枝子总黄酮提取与纯化研究

吴洪新¹, 陈 晨²

(1. 中国农业科学院 草原研究所, 内蒙古 呼和浩特 010010; 2. 内蒙古农业大学, 内蒙古 呼和浩特 010010;)

摘 要:以总黄酮提取率为考查指标, 采用单因素试验和正交试验方法对尖叶胡枝子中黄酮类化合物的提取工艺进行优化, 最佳提取工艺为: 70% 的乙醇, 提取温度为 70℃, 固液比为 1 : 20, 提取时间为 2 h。同时, 将提取的粗黄酮进一步的分离纯化, 最终得到 8 个黄酮类的化合物, 分别为荭草素、异荭草素、牡荆苷、异牡荆苷、异杨梅树皮苷、槲皮素-3-O-β-D-葡萄糖苷、木犀草素-7-O-葡萄糖苷及 6-xylopyranosylluteolin。尖叶胡枝子富含较好药理活性的碳苷黄酮, 作为一种植物资源, 具有广阔的开发利用前景。

关键词:尖叶胡枝子; 黄酮; 提取; 分离与纯化

中图分类号: S718. 43 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-7461(2014)-02-0196-06

Extraction and isolation of Flavonoids From *Lespedeza hedysaroides*

WU Hong-xin¹, CHNE Chen²

(1. Grassland Research Institute of CAAS, Huhhot, Inner Mongolia 010010, China;
2. Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot, Inner Mongolia 010010, China)

Abstract: Optimum conditions of extracting flavonoids from *lespedeza hedysaroides* were investigated by orthogonal test. The extract was further purified. The optimal conditions of the extraction were solvent: 70% ethanol, temperature: 70℃, ratio of material to solvent: 1 : 20, and extraction time: 2 h. Eight flavonoids were isolated by chromatographic method, and their structures were identified as: orientin, isoorientin, vitexin, isovitexin, isomyricitrin, meletin-3-O-β-d-glucoside, luteolin-7-O-glucoside, and 6-xylopyranosylluteolin. in which in the flavonoids were mostly C-glycosides.

Key words: *Lespedeza hedysaroides*; flavonoid; extraction; isolation and purification

胡枝子属(*Lespedeza* Michx.)隶属于豆科(Leguminosae), 全世界约有 60 余种, 分布区域较广, 横跨太平洋形成东亚-北美洲间断分布, 向北可达亚寒带, 寒带边缘, 向南可到澳大利亚。《中国植物志》记载我国有胡枝子属植物 26 种, 其中有 2 个变种^[1]。胡枝子属植物多为民间常用中草药, 20 世纪六、七十年代国内外就有科研人员开展了对其化学成分的研究, 已从该属的圆叶胡枝子、兴安胡枝子、短梗胡枝子、大叶胡枝子、山豆花、美丽胡枝子等中分离出 64 种黄酮类化合物^[2], 尖叶胡枝子(*Lespedeza hedysaroides*)为胡枝子属多年生植物, 抗逆性强,

适应性广, 营养丰富, 家畜喜食, 是保持水土、改良草地和建植人工草地的优良豆科牧草^[3]。尖叶胡枝子具有较好的药用价值, 据《全国中草药汇编》记载: 全株可入药, 用于止泻、利尿, 有一定的止血功效, 主要用于治疗痢疾、吐血、遗精及子宫下垂。黄酮类化合物是尖叶胡枝子的主要活性物质且含量较高, 据笔者测定其叶含黄酮类占风干重的 2%~4%, 茎为 0.5%~0.8%。黄酮类化合物具有抗氧化清除自由基^[4-5]、雌激素作用^[6-7]、扩张心血管作用、降血脂、阻断动脉粥样硬化^[8-9]、抑菌抗病毒^[10-11]、调节免疫功能等方面的作用。尖叶胡枝子作为牧草与药用兼用

植物,提供优质牧草的同时可为医药、保健及食品提供高效、优质、价廉的黄酮类化合物原料,会为人类健康做出积极长远的贡献。本研究选取分布于内蒙古自治区的尖叶胡枝子为原料,对尖叶胡枝子黄酮的提取、分离与纯化工艺进行研究,研究结果有望为胡枝子的资源利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 仪器 岛津紫外可见分光光度计 2014、半制备高效液相色谱仪用 LC-6AD/RID-10 (日本 Shimadzu); ESIMS 用 API 2000 LC/MS/MS (美国 Applied Biosystems), 甲醇为溶剂, 直接进样测定; ¹H NMR 和 ¹³C NMR 用 Bruker DRX400 型超导核磁共振仪波谱测定(瑞士 Bruker), 以二甲基亚砜(DMSO)为内标。

1.1.2 材料 尖叶胡枝子全株,2007 年 7 月 2 日采于内蒙古林西县。暗处自然风干后,茎叶分离,粉碎备用。

1.1.3 试剂 芦丁(分析纯)、乙醚(分析纯,天津化学试剂有限公司)、无水乙醇(分析纯,天津市化学试剂三厂)、亚硝酸钠(分析纯,北京化工厂)、硝酸铝(分析纯,北京化工厂)、氢氧化钠(分析纯,北京化工厂)、蒸馏水(自制)、大孔吸附树脂柱色谱硅胶(100~200 目)青岛海洋化工厂;反相硅胶 Rp-18 为日本 Nomura Chemical Co. Ltd; 凝胶 Sephadex LH-20 (瑞典 Amersham Biosciences); 硅胶薄层色谱板(烟台黄务硅胶开发试验厂)、反相硅胶薄层色谱板(德国 Merck 公司)、柱色谱聚酰胺及聚酰胺薄层色谱薄膜(浙江省台州市路桥四甲生化塑料厂)。氘代试剂(DMSO-d₆), 甲醇(HPLC 级)。

1.2 试验方法

1.2.1 胡枝子黄酮的测定 NaOH-Al(NO₃)₃-NaNO₂ 比色法测定提取物总黄酮含量^[12]。

1.2.1.1 芦丁标准贮备液的制备 精密称取 120℃干燥至恒重的芦丁标准样品 20 mg,用 70%乙醇溶解后移至 100 ml 棕色容量瓶中,用 70%乙醇定容至刻度,放入冰箱中备用。

1.2.1.2 标准曲线的制备 精密吸取芦丁标准液各 0.0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL,分别置于 25 mL 具塞试管中,加水至 6 mL 起加 5%亚硝酸钠溶液 1 mL,使混匀,放置 6 min,加 10%硝酸铝溶液 1 mL,使混匀,放置 6 min,加 4%氢氧化钠试液 10 mL,再加水至刻度,摇匀,放置 15 min 后在 510 nm 处测吸光值。通过吸光度得标准曲线,回归方程 $A=0.0112x-0.0003$, 相关系数 $r^2=0.9994$ 。以芦丁标准曲线作参照物测算总黄酮的含量,按下式求出提取率 $W(\%)$ 。

$$C=(A+0.003)/0.0112 \tag{1}$$

$$W=(C_1\times V_2\times V_1/1\,000/M)\times 100\% \tag{2}$$

式中: C 为待测液的浓度, A 为吸光值, V_1 为原虑液定容的体积(100 mL), V_2 从原液中移取 1 mL 定容的溶液体积(25 mL), M 为称取的胡枝子茎(或叶)粉末的质量, C_1 为 3 次重复的浓度平均值, W 为总提取率。

1.2.2 尖叶胡枝子总黄酮提取影响因素 取尖叶胡枝子茎与叶各 1 g,采用不同的醇浓度、不同浸提时间、不同温度和固液比分次加热回流浸提,考察其各因素对尖叶胡枝子黄酮提取率的影响。

1.2.3 尖叶胡枝子黄酮提取条件的选择 根据 1.2.2 尖叶胡枝子黄酮的影响因素的结果,分别选取提取时间、乙醇浓度、温度及固液比 4 个因素进行正交试验,以确定最佳提取条件(表 1)。

表 1 正交提取的因素与水平
Table 1 Factors and levels of L₁₆(4⁵) test

水平	因素			
	A(乙醇浓度/%)	B(温度/℃)	C(固液比)	D(时间/h)
1	A ₁ (50)	B ₁ (40)	C ₁ (1:20)	D ₁ (2)
2	A ₂ (60)	B ₂ (50)	C ₂ (1:30)	D ₂ (3)
3	A ₃ (70)	B ₃ (60)	C ₃ (1:40)	D ₃ (3.5)
4	A ₄ (80)	B ₄ (70)	C ₄ (1:50)	D ₄ (4)

1.2.4 化学成分的提取 尖叶胡枝子草(2.5 kg)粉碎后放入多功能提取罐内加热回流提取,其中提取条件按所得的最佳提取条件进行。提取 3 次,合并乙醇提取液,减压浓缩后得粗提物,加水使成悬浮液;用石油醚萃取除叶绿素后,依次乙酸乙酯、正丁醇萃取,减压浓缩后得乙酸乙酯部及正丁醇部。

1.2.5 化合物的分离 乙酸乙酯部经硅胶柱色谱(100~200 目),氯仿-甲醇(98:2-70:30)梯度洗脱,TCL 检测合并相同组分,黄酮类化合物集中于氯仿-甲醇 80:20 洗脱部分,且部分流份有黄色晶体析出,过滤洗涤得黄色沉淀,经凝胶色谱(Sephadex LH-20)分离甲醇洗脱得化合物 1(30 mg)及化

合物 3(20 mg)。将滤液浓缩成浸膏,经聚酰胺柱(80~100 目)分离,乙醇水溶液洗脱,TCL 检测合并,黄酮集中于乙醇水 30%与 50%部。30%部经凝胶柱甲醇洗脱得化合物 2(28 mg)及化合物 4(15 mg),将其他未分开的流分合并,经反相柱,不同浓度梯度甲醇水(20%~40%)洗脱,将得到 35%的甲醇水流分浓缩,经高效液相制备色谱制备,流动相为 35%的甲醇水,得到化合物 6(15 mg)、化合物 7(13 mg)、化合物 8(16 mg),50%部经凝胶柱分离,甲醇洗脱得化合物 5(27 mg)。整个分离过程中的薄层定位用 5%硫酸乙醇溶液喷雾、加热、显色。

1.2.6 化合物的结构鉴定 得到的 8 个黄酮类化合物用 HNMR、CNMR、MS 等方法进行结构鉴定。

2 结果与分析

2.1 尖叶胡枝子总黄酮最佳提取工艺的确定

2.1.1 尖叶胡枝子黄酮提取单因素试验

2.1.1.1 乙醇浓度对尖叶胡枝子总黄酮提取率的影响 由图 1 可知,尖叶胡椒子叶中,随着乙醇浓度的升高,黄酮提取量增大,而对茎中黄酮的提取影响不大。

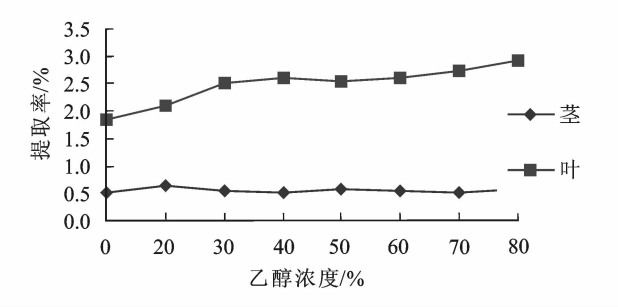


图 1 乙醇浓度对总黄酮提取率的影响
Fig. 1 Effect of ehanol concentration on the extraction

2.1.1.2 温度对总黄酮提取率的影响 由图 2 可知,当提取温度<70℃时叶中黄酮提取量随着提取温度的升高而变大,当提取温度>70℃后随着温度的升高提取量反而变小,可能是由于叶中蛋白含量较大,温度过高蛋白质变性,从而影响浸提效果。提取温度对茎中黄酮提取量影响不大。

2.1.1.3 料液比对尖叶胡枝子总黄酮量提取的影响 由图 3 可知,当固液比<1:40 时,随着溶剂的增大提取的黄酮量增大,当固液比>1:40 时,得到的黄酮的量降低。固液比对茎中黄酮的提取量影响不大。

2.1.1.4 时间变化对总黄酮提取的影响 由图 4 可知,当提取时间<2.5 h 时,随着提取时间的延长提取的黄酮量增大,当提取时间>2.5 h,随着提取时间的增大,提取的黄酮量变化不大,当提取时间>

4 h 时,提取量却变小。

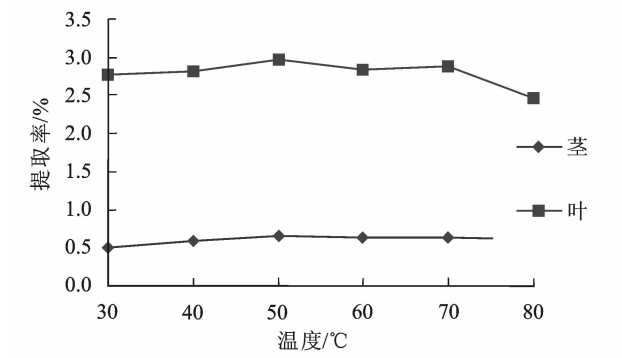


图 2 温度对总黄酮提取的影响
Fig. 2 Effect of the temperature on the extraction

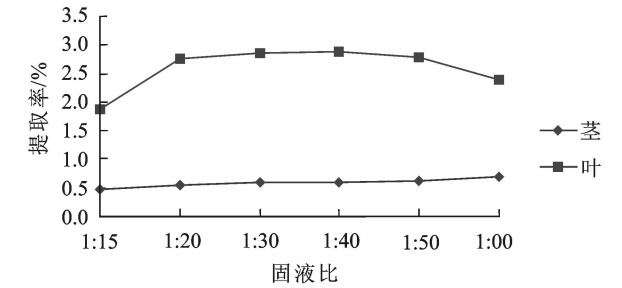


图 3 固液比对总黄酮提取率的影响
Fig. 3 Effect of the ratio of material to solvent on the extraction

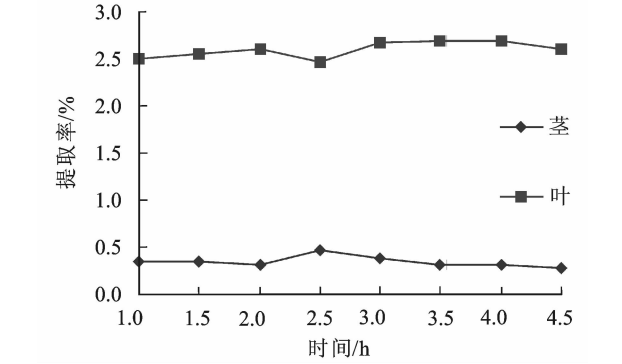


图 4 时间对尖叶胡枝子总黄酮提取率的影响
Fig. 4 Effect of the time on the extraction

2.1.2 尖叶胡枝子黄酮提取正交试验 由直观表 2 及方差分析表 3 可知,影响尖叶胡枝子黄酮提取率的因素由大到小依次为:A(乙醇浓度)、C(料液比)、D(时间 h)、B(温度),其中 A 以 A₃ 为好,B 以 B₄ 为好,C 以 C₁ 为好,D 以 D₁ 为好,因素 A 与因素 C 对提取率的影响达到极显著,而因素 D 对提取率的影响较显著,因素 B 对提取率的影响不显著,由于不考虑交互作用,故处理 A₃B₄C₁D₁ 应较优,但该处理未在试验之列,故需作进一步的验证工作。从正交结果中不难发现,试验组 A₃B₃C₁D₂ 条件下提取率达最高,提取率之和为 8.8%,平均提取率为 2.96%。经验证试验,在处理 A₃B₄C₁D₁ 条件下进行了 5 次平行试验,得到平均提取率为 3.285%,高

于在处理 A₃B₃C₁D₂ 条件下的提取率2.96%,故确定 A₃B₄C₁D₁ 条件下即乙醇浓度为 70%、温度为 70℃、料液比为 1:20、提取时间为 2 h 为尖叶胡枝子黄酮类化合物的最佳提取条件。

表 2 尖叶胡枝子正交试验方案及试验结果计算

Table 2 Results of orthogonal experiment

%

试验号						考察指标			
						I	II	III	和 T_{ijkl}
1	A ₁	B ₁	C ₁	D ₁	1	2.901	2.71	2.853	8.464
2	A ₁	B ₂	C ₂	D ₂	2	2.338	2.395	2.165	6.898
3	A ₁	B ₃	C ₃	D ₃	3	2.448	2.421	2.396	7.265
4	A ₁	B ₄	C ₄	D ₄	4	2.247	2.258	2.21	6.715
5	A ₂	B ₁	C ₂	D ₃	4	2.399	1.987	2.131	6.517
6	A ₂	B ₂	C ₁	D ₄	3	2.679	2.654	2.688	8.021
7	A ₂	B ₃	C ₄	D ₁	2	2.576	2.640	2.655	7.871
8	A ₂	B ₄	C ₃	D ₂	1	2.860	2.956	2.853	8.669
9	A ₃	B ₁	C ₃	D ₄	2	2.929	2.937	2.917	8.783
10	A ₃	B ₂	C ₄	D ₃	1	2.782	2.936	2.824	8.542
11	A ₃	B ₃	C ₁	D ₂	4	2.969	2.81	3.021	8.800
12	A ₃	B ₄	C ₂	D ₁	3	2.936	2.857	2.876	8.669
13	A ₄	B ₁	C ₄	D ₂	3	2.819	2.909	2.786	8.514
14	A ₄	B ₂	C ₃	D ₁	4	2.671	2.805	2.882	8.358
15	A ₄	B ₃	C ₂	D ₄	1	2.860	2.804	2.906	8.570
16	A ₄	B ₄	C ₁	D ₃	2	2.758	2.938	2.969	8.665
K ₁	29.342	32.278	33.950	33.362					129.321(T...)
K ₁	29.342	32.278	33.950	33.362					
K ₂	31.078	31.819	30.654	32.881					
K ₃	34.794	32.506	33.075	30.989					
K ₄	34.107	32.718	31.642	32.089					
R	4.765	0.440	2.421	2.373					

$C=\frac{T^2 \cdots}{48}$

表 3 尖叶胡枝子方差分析

Table 3 Variance analysis table of *L. hedysaroides*

方差来源	df	SS	MS	F	F_a
A	3	1.64	0.55	20.98**	$F_{0.05}(3,35)=2.28$
B	3	0.04	0.01	0.47	$F_{0.01}(3,35)=4.40$
C	3	0.54	0.18	6.88**	
D	3	0.27	0.09	3.43*	
误差 e_1	3	0.66			
误差 e_2	32	0.25			
误差 e_3	35	0.91	0.03		
总和	47	3.40			

2.2 尖叶胡枝子黄酮分离与化合物鉴定结果

尖叶胡枝子 70%乙醇提取物经石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取分部,其中乙酸乙酯部通过正相硅胶柱层析、聚酰胺、反相硅胶、sephadex LH-20 等柱色谱和 HPLC 方法分离纯化,分离得到了 8 个黄酮类化合物,分别为:(1)荭草素,(2)牡荆苷,(3)异荭草素,(4)异牡荆苷,(5)槲皮素-3-O-β-D-葡萄糖苷,(6)木犀草素-7-O-葡萄糖苷,(7)6-xylopyranosyl-luteolin,(8)异杨梅树皮苷。鉴定了这些化合物的化学结构^[13],其化合物结构如图 5 所示。

3 结论与讨论

从单因素试验中不难发现,提取温度、乙醇浓度、固液比及提取时间对尖叶胡枝子叶中黄酮提取

的影响较茎中黄酮提取的影响大,且茎中提取的黄酮量低于叶中提取黄酮的量。产生这以上现象的原因可能是由于茎中黄酮含量不如叶中的高,另外茎的木质化程度比较高,所以改变提取条件茎中黄酮提取的影响效果不显著。在考察单因素对黄酮提取的影响中发现,当总黄酮达到极值后随着提取温度、时间、的增大而提取总量会降低。说明提取温度过高可能会破坏某些不稳定黄酮类物质的结构,提取时间过长,会使原材料对黄酮类物质产生一定的吸附作用,导致提取液中黄酮类物质含量降低,进而影响到黄酮类物质的提取。

正交试验结果表明:在影响尖叶胡枝子总黄酮的提取因素中,溶剂浓度和固液比及提取温度是影响提取率的主要因素,提取时间影响相对较小,其中

最佳工艺参数:乙醇浓度为 70%、温度为 70℃、料液比为 1 : 20、时间为 2 h。

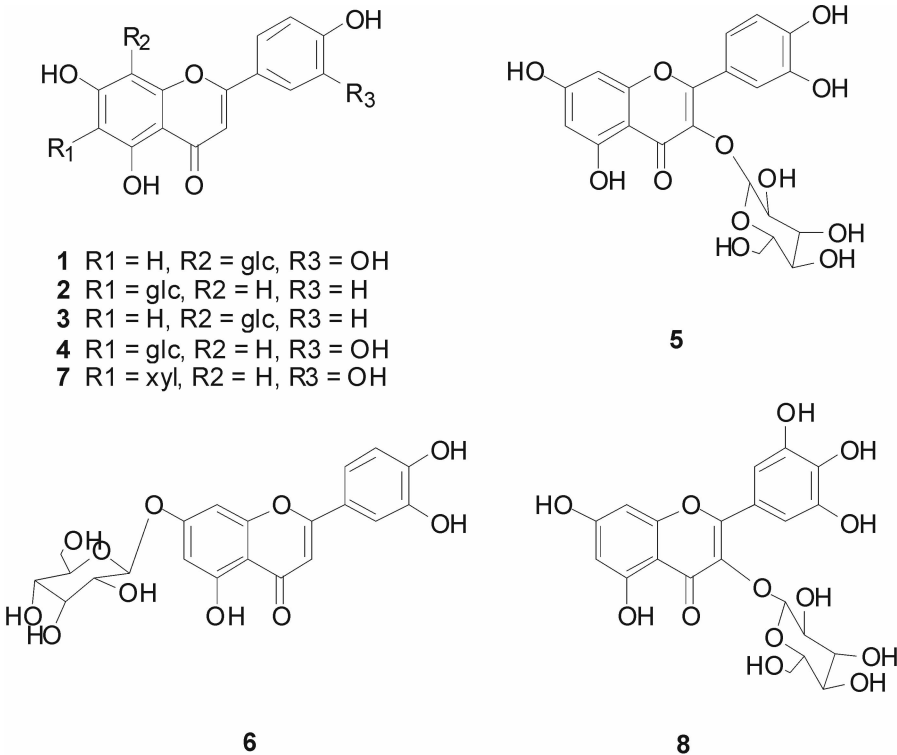


图 5 化合物结构

Fig. 5 Compounds structural

对尖叶胡枝子黄酮进行了单体分离及结构鉴定,最终得到 8 个黄酮类的化合物,分别为:荭草素、异荭草素、牡荆苷、异牡荆苷、异杨梅树皮苷、槲皮素-3-O-β-D-葡萄糖苷、木犀草素-7-O-葡萄糖苷及 6-xylopyranosylluteolin。其中异杨梅树皮苷、槲皮素-3-O-β-D-葡萄糖苷、木犀草素-7-O-葡萄糖苷、6-xylopyranosylluteolin 这 4 个化合物均为首次从胡枝子属植物中分离得到。尖叶胡枝子所含的黄酮类以碳苷黄酮为主,包括荭草素(Orientin)、异荭草素(Isoorientin)、牡荆苷(Vitexin)和异牡荆苷(Isovitexin)。据文献报道,这些化合物均有较好的生理活性:具有一定的保肝及抗氧化作用^[14-15],可抑制甲状腺过氧化酶活性及抗甲状腺和致甲状腺肿作用^[16-17],具有抗 Para3(副流感病毒)病毒的活性、对金黄色葡萄球菌及表皮葡萄球菌有较强的抑制作用^[18-19],对人类癌细胞显示了一定的细胞毒作用^[20],对心血管疾病有一定的效果。

黄酮类在大部分植物中都有分布,但受资源与成本的限制真正用于黄酮提取的植物较少,尖叶胡枝子作为黄酮提取的原料具有黄酮含量高、价格低、资源丰富、无污染等优势。所以,尖叶胡枝子作为一种植物资源具有一定的开发利用价值。

参考文献:

[1] 赵杨,陈晓阳,骈瑞琪,等. 胡枝子属研究进展[J]. 西北林学院学报,2006,21(2): 71-75.
ZHAO Y, CHEN X Y, PIAN R Q, *et al.* Research advances of *Lespedeza Michx*[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2006, 21(2): 71-75. (in Chinese)
[2] 王威,闫喜英,王永奇. 胡枝子属植物化学成分及药理活性研究进展[J]. 中草药, 2000, 31(2): 144-145.
WANG W, YAN X Y, WANG Y Q. Research development of chemical composition and pharmacological activity of *Lespedeza Michx*[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2000, 31 (2): 144-145.
[3] 孙启忠,高丽,赵淑芬. 尖叶胡枝子[J]. 畜牧与饲料科学, 2007, 6(3): 19-20.
SUN Q Z, GAO L, ZHAO S F. *Lespedeza hedysaroides*[J]. Animal Husbandry and Feed Science, 2007, 6(3): 19-20.
[4] NAIN M, GESTETNER B, ZILKAH S, *et al.* A new isoflavone from soybean[J]. Phytochemistry, 1973, 12: 169-170.
[5] LICHTENSTEIN A. Soy protein, isoflavones and cardiovascular diseases risk [J]. Nutr. 1998, 128: 1589-1592.
[6] ANTONY M S, CLARKSON T, *et al.* Soybean isoflavones improve cardiovascular risk factors without affecting the reproductive system of peripubertal rhesus monkeys [J]. Nutr., 1996, 126: 43-50.
[7] VERDEAL K. AFFINITY of phytoestrogen for estradiol binding proteion and effects of comestrol of growth 7, 12-dimethllenz. (a) anthtacene induced rat mammary tumors[J]. J. Nat. Cancer Inst., 1980, 64: 285.
[8] FARMAKALIDIS E, HATHCOCK J, MURRPHY P. Oestro-

genic potency of genistin and daidzin in mice[J]. Food Chem. Toxic. ,1985,23;741-745.

[9] 戴尧天,张昭,高子芬,等. 刺梨降低鸚鵡血脂和阻断动脉粥样硬化形成的作用[J]. 营养学报,1994,16 (2):200-203. DAI Y T,ZHANG Z,GAO Z F, *et al.* Effect of Ci-Li(*Rosa vobxburghii* Tratt) on experimental hyperlipidemia and atherosclerosis in quails [J]. Acta Nutrimenta Sinica, 1994,16(2): 200-203. (in Chinese)

[10] ZHONG Z X,CHEN X F,ZHOU G F, *et al.* Pharmacological action of total flavones of Ampelopsis grossedentata from Guangxi[J]. Guangxi Sciences ,1999,6(3):216-218.

[11] NAIM M,GESETNER B, *et al.* . Soybean isoflavones characterization, determination ,and antifungal activity[J]. Arei, Food Chem. ,1974,22(5);806-810.

[12] 王光亚. 保健食品功效成分检测方法[M]. 北京:中国轻工业出版社, 2002; 29-31.

[13] 吴洪新,魏孝义,冯世秀,等. 尖叶胡枝子黄酮类化学成分的研究[J]. 西北植物学报,2009,29(9): 1904-1908. WU H X,WEI X Y,FENG S X, *et al.* A study on the flavonoids of *Lespedeza hedysaroides*[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2009,29(9):1904-1908. (in Chinese)

[14] DELIORMAN O D,ASLAN M,A G, *et al.* . Evaluation of hepato-protective effect of *Gentiana olivieri* herbs on subacute administration and isolation of active principle [J]. Life Sciences,2003,72 (20):2273-2283.

[15] BUDZIANOWSKI J, *et al.* . Studies on antioxidative activity of some C-glycosylflavones[J]. J. Pharmacol Pharm. , 1991,43 (5);395-399.

[16] GAITAN E,LINDSY RH,REICHERT R D, *et al.* . Antithyroid and goitrogenic effects of millet: role of C-glycosylflavones[J]. J. Clin . Endocrinol Metab. , 1989 , 68(4) : 707-714.

[17] GAITAN E ,COOKSEY R C ,LEGAN J, *et al.* . Antithyroid effects in vivo and *in vitro* of vitexin C-glucosylflavone in millet [J]. J . Clin. Endocrinol Metab. , 1995 , 80(4) : 1144-1148.

[18] 王凌云,周艳辉,李药兰. 长瓣金莲花中黄酮苷的抑菌活性研究及牡荆苷的含量测定[J]. 中国新药与临床药理, 2003,14 (4):252-253. WANG L Y,ZHOU Y H,LI Y L. Antiviral activities of flavonoids from *Trollius chinensis* Bunge and content menstruation of vitexin [J]. Traditional Chinese Drugs Research and Clinical Pharmacology, 2003,14(4):252-253.

[19] LI Y L,MA S C,YANG Y T, *et al.* . Antiviral activities of flavonoids and organic acid from *Trollius chinensis* Bunge[J]. J. Ethnopharmacol,2002,79;365-368.

[20] DIAZ F,CHAVEZ D,LEE D, *et al.* . Cytotoxic flavone analogues of vitexicarp a constituent of the leaves of vitex negundo[J]. J. Nat. Prod. ,2003,66(6):865-867.

(上接第 159 页)

[16] 韩崇选,李金钢,杨学军,等. 中国农林啮齿动物与科学管理[M]. 杨陵:西北农林科技大学出版社,2005:197-234.

[17] 韩崇选. 农林啮齿动物灾害环境修复与安全诊断[M]. 杨陵:西北农林科技大学出版社,2004:161-382.

[18] 胡长清,陈晓萍,王福生. 湖南省生态公益林效益评价[J]. 湖南林业科技,2011,28(5):4-8.

[19] 张树慧,石建宁,韩崇选,等. 灌木围障预防林木兔害投入产出效益分析[J]. 西北林学院学报,2013,28(4):255-263. ZHANG S H, SHI J N, HAN C X, *et al.* Input-output benefit analysis on using shrub bamiers to prevent hare damage [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2013, 128 (4):255-263. (in Chinese)

[20] 张芳宝,韩崇选,党齐域,等. 植物抗逆剂蘸浆造林经济效益评价(Ⅰ)—成本核算[J]. 西北林学院学报,2013,28(6):244-252. ZHANG F B,HAN C X,DANG Q Y, *et al.* Estimation on the economic benefit of afforestation by dipping the seedling roots into slurry with plant stress-resistance agent(Ⅰ):cost accounting[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2013,28(6):244-252. (in Chinese)

[21] 石建宁,韩崇选,党齐域,等. 植物抗逆剂蘸浆造林经济效益评价(Ⅱ)—林木产值分析[J]. 西北林学院学报,2014,29(1): 253-262. SHI J N,HAN C X,DANG Q Y, *et al.* Estimation on the economic benefit of afforestation by dipping the seedling roots into slurry with plant stress-resistance agent(Ⅱ):estimation of the benefits from timber[J]. Journal of Northwest Forestry University,2014,29(1):253-262. (in Chinese)

[22] 中华人民共和国国家标准. 造林技术规程(GB/T15776-1995)[S]. 2008.

[23] 中国社科院.《经济蓝皮书》2009 年中国经济形势分析与预测[M]. 北京:社会科学文献出版社, 2009.

[24] 中国社科院.《经济蓝皮书》2011 年中国经济形势分析与预测 [M]. 北京:社会科学文献出版社,2010.

[25] 中国社科院.《经济蓝皮书》2012 年中国经济形势分析与预测 [M]. 北京:社会科学文献出版社,2011.