

DOI: 10.3969/j.issn.1000-3142.2013.01.019

李育川,郭巧生,房海灵,等.小桐子果壳杀虫活性部位的分离及其 HPLC-MS 分析[J].广西植物,2013,33(1):107-111

Li YC, Guo QS, Fang HL, et al. Isolation and HPLC-MS analysis insecticidal activity fractions from *Jatropha curcas* fruit shell[J]. *Guihaia*, 2013,33(1):107-111

小桐子果壳杀虫活性部位的分离 及其 HPLC-MS 分析

李育川^{1,2}, 郭巧生^{2*}, 房海灵^{2,3}, 李维莉¹, 耿开友¹, 李绍萍¹, 王崇亮¹

(1. 昆明学院, 昆明 650214; 2. 南京农业大学 中药材研究所, 南京 210095; 3. 江西省林科院, 南昌 330032)

摘要: 为寻找小桐子果壳的杀虫活性物质,以小桐子果壳乙醇粗提物的正丁醇萃取相为实验材料,对其采用硅胶柱反复柱层析,同时对各阶段分离产物进行活性追踪,筛选出具有杀虫作用的活性部位 WD1,最后采用 HPLC-MS 分析,初步鉴定出活性部位主体成分。结果表明,WD1 活性组分在浓度为 $8\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,对桃蚜 (*Myzus persicae*) 和菜青虫 (*Pieris rapae*) 的 24 h(72 h) 校正死亡率均大于 70%,显示出极高的毒杀活性。通过对 WD1 进行 HPLC-MS 分析,鉴定了含量较高的 7 个化合物,为总量的 80.72%,初步鉴定为 2 α ,3 α ,24-三羟基-12-20(30)-二烯-28-乌索酸、环辛肽 B、牡荆素、松香烷二萜、麻疯树酚酮 A、Curcusone A 或 Curcusone B。

关键词: 小桐子果壳; 杀虫活性物质; 分离鉴定; HPLC-MS

中图分类号: Q946 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2013)01-0107-05

Isolation and HPLC-MS analysis insecticidal activity fractions from *Jatropha curcas* fruit shell

LI Yu-Chuan^{1,2}, GUO Qiao-Sheng^{2*}, FANG Hai-Ling^{2,3},

LI Wei-Li¹, GENG Kai-You¹, LI Shao-Ping¹, WANG Chong-Liang¹

(1. Kunming University, Kunming 650214, China; 2. Institute of Chinese Medicinal Materials, Nanjing Agricultural University, Njing 210095, China; 3. Jiangxi Academy of Forest, Nanchang 330032, China)

Abstract: To seek insecticidal activity components from *Jatropha curcas* fruit shell, using alcohol crude extract of butanol partitioned extract in *J. curcas* fruit shells as an experimental material in our investigation, and then silica gel chromatography, at same time, separated products of the each stage were carried out by tracking activity, analyzed by HPLC-MS, and the main components of active part were initially identified. The results showed that the concentration of colony WD1 reached $8\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, *Myzus persicae* and *Pieris rapae* corrected mortality exceeded 70% in 24 h(72 h), which showed that toxic activity was very high. Through the analysis of WD1 by HPLC-MS, seven compounds with maximum contents were identified, with total amount up to 80.72%. They were 2 α ,3 α ,23-Trihydroxyurs-12,20(30)-dien-28-oi, Cyclogrossine B, Vitexin, Diterpene, Jatroplone A, Curcusone A or Curcusone B.

Key words: *Jatropha curcas*; fruit shell; insecticidal activity components; isolation and identification; HPLC-MS

* 收稿日期: 2012-06-13 修回日期: 2012-08-11

基金项目: 云南省自然科学基金(2011FB086)

作者简介: 李育川(1972-),男(彝族),云南永仁人,博士,高级讲师,主要从事药用植物资源利用与评价,(E-mail)lychuan72@163.com。

* 通讯作者: 郭巧生,教授,博士生导师,主要从事药用植物资源品质评价与利用研究,(E-mail)gqs@njau.edu.cn。

小桐子(*Jatropha curcas*)因其种仁含油量高,在我国热带地区作为一种极为适宜的生物柴油原料植物被大面积栽培。目前,国内外对小桐子杀虫活性已有少量研究,李静等(2005)利用种子毒蛋白、种子油、种子乙醇提取物和种子石油醚提取物对桃蚜(*Myzus persicae*)、菜青虫(*Pieris rapae*)、米象(*Rice weevil*)和萝卜蚜(*Lipaphis erysimi*)进行毒杀作用研究;Fagbenro *et al.* (1998)利用茎枝石油醚粗提取物对柠檬凤蝶(*Pappilio dem oleus*)3龄幼虫进行杀虫活性研究;李育川等(2009)利用小桐子枝叶提取物对蚜虫进行了毒杀活性测定,结果小桐子枝叶乙醇提取物的石油醚萃取物具有很强的毒杀活性。除此之外,尚未见其它报道。笔者对小桐子果壳杀虫活性物质进行分离和初步鉴定,以期为利用小桐子果壳开发植物源杀虫剂提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料与仪器

小桐子果壳于2007年10月采自云南永仁县,经南京农业大学中药材研究所郭巧生教授鉴定为麻疯树(*Jatropha curcas*)的干燥果壳,凭证标本(2007109)存放于南京农业大学中药材研究所标本室。新鲜成熟果实剥下种子后,将果壳晒干保存粉碎后备用。

实验用的桃蚜(*Myzus persicae*)和菜青虫(*Pieris rapae*)均采自南京农业大学下马坊附近农田,经南京农业大学植保学院孟铃教授鉴定。美国 Thermo Finnigan 生产的 LC-MS(LC pumper survegor, auto sampler survegor, LCQ DECA XP plus)。乙醇、乙酸乙酯和甲醇均为国产分析纯。必喜3号(70%吡虫啉水分散剂),由浙江海正股份有限公司生产。吐温-80,上海化学试剂公司生产。乙腈为色谱纯(Fisher公司),实验用水为娃哈哈纯净水。

1.2 试验方法

1.2.1 待分离样品的制备 按照李育川等(2009)的方法对小桐子果壳先用95%乙醇冷浸提取,减压浓缩后再将浸膏用水溶解,滤后不溶解丢弃,依次用石油醚、三氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇对小桐子果壳乙醇粗提取物的水溶液进行分离萃取,将正丁醇萃取相减压浓缩,获得具有杀虫活性的待分离样品(A3-4)。

1.2.2 硅胶柱层析分离 第一步,大柱粗分:以硅胶柱 H(100~200 目)(400 g)柱径 8 cm,常规湿法装柱,

硅胶装柱高度约 80 cm,取正丁醇萃取物(A3-4)样品 20 g 上样,以乙酸乙酯:甲醇(10:1,5:1,1:2)为流动相进行梯度洗脱,连接 HD-5 电脑紫外检测仪(检测波长 275 nm)在线检测,合并同一吸收峰收集液,将各流份减压浓缩称重,结合活性测定。第二步,中柱细分:以硅胶柱 H(200~300 目)(250 g)柱径 5 cm,常规湿法装柱,硅胶柱高度约 45 cm,取活性较强的 A3-4 样品 3 g;以乙酸乙酯:甲醇(1:1,1:1.5)为流动相进行梯度洗脱,将各馏分减压浓缩称重,结合活性测定。

具体分离流程如图 1 所示:①以乙酸乙酯:甲醇(10:1)混合溶液。②以乙酸乙酯:甲醇(5:1)混合溶液。③以乙酸乙酯:甲醇(1:2)混合溶液。④以乙酸乙酯:甲醇(1:1)混合溶液。⑤以乙酸乙酯:甲醇(1:1.5)混合溶液。

1.2.3 杀虫活性测定 根据李育川(2011)利用小桐子果壳提取物对蚜虫和菜青虫活性测试发现,小桐子果壳乙醇提取物对豌豆长管蚜的 LC_{50} 的 95%置信限为 $3.20\sim 4.29\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的结果,本研究确定将各流份处理液浓度为 $8\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理液。分别准确称取各样品 0.8 g,分别用加 0.8 mL 吐温-80,拌匀,使其充分乳化,再用蒸馏水溶解,定容至 100 mL,制成 $8\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理液。对照液用 0.8 mL 吐温-80 加蒸馏水定容至 100 mL 制成。分别采用喷雾法(张宗炳,1988)对桃蚜和菜青虫进行处理。桃蚜每组 100 头,菜青虫每组 30 头,每处理设 3 个重复,分别于处理 24 h 后和 72 h 后调查残虫数,计算死亡率。

校正死亡率(%) = $[(\text{处理组死亡率} - \text{对照组死亡率}) / (1 - \text{对照组死亡率})] \times 100$

1.2.4 HPLC-MS 分析 HPLC 条件:仪器为 Thermo Electron corporation,色谱柱 Zorbax SB-C₁₈ (250 mm×2.1 mm,5 μm),流动相为溶剂 A(乙腈):溶剂 B(水)=15:85,等度洗脱;流速为 $0.2\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,自动进样 $0.2\text{ }\mu\text{L}$ 。质谱条件:LCQ DECA XP plus(电喷雾离子阱质谱仪),离子源为 ESI,质量分析器为离子阱分析器,正、负离子检测模式,毛细管温度为 275 °C,源电压为 5 kV,源毛细管电压为 15 kV,质量数范围 100~2 000 m/z,干燥气为氮气,进样量为 $20\text{ }\mu\text{L}$ 。质谱数据采集模式:自动质谱/质谱。高效液相和质谱数据采集和分析采用化学工作站进行(美国, Thermo Finnigan)。

1.3 数据处理与分析

数据采用 SPSS 16.0 进行方差分析。

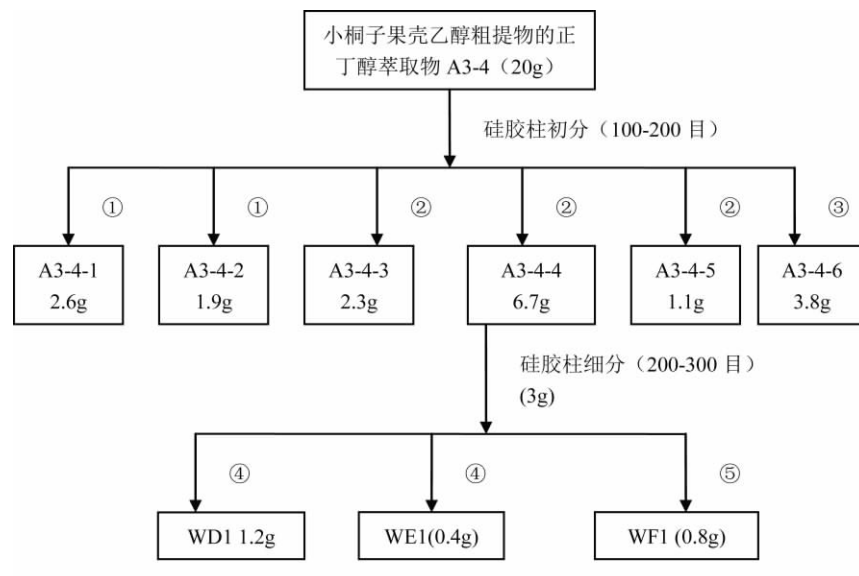


图 1 小桐子果壳杀虫活性组分分离流程图

Fig. 1 Isolating method of pesticidal components in *Jatropha curcas* seedcase

2 结果与分析

2.1 A3-4 样品柱层析流份的杀虫活性分析

2.1.1 大柱初分样品各流份的杀虫活性测定 (1) 大柱初分样品各流份对桃蚜的毒力活性测定: 将小桐子果壳乙醇粗提物的正丁醇萃取物样品, 如图 1 所示进行大柱初分, 梯度洗脱, 共收集到 6 个流份; 将各流份的收集液减压浓缩, 利用桃蚜分别对 6 种流份进行杀虫活性测定, 测定结果见表 1。杀虫活性测定结果表明, 编号 A3-4-4、A3-4-1 和 A3-4-5 流份对桃蚜都具有毒杀活性, 3 种流份对桃蚜毒杀活性极显著高于其它流份, 其 24 h 校正死亡率分别是 80.35%、48.07% 和 7.89%, 三者对桃蚜毒杀活性差异极显著; 具有毒杀活性的 3 个流份中, 编号 A3-4-4 流份的活性最强, 虽然其对桃蚜的毒杀活性极显著低于吡虫啉, 但因其相对数量最多, 值得对其进行进一步分离研究。

(2) 大柱初分样品各流份对菜青虫的毒力活性测定: 利用菜青虫再分别对 6 种流份进行杀虫活性测定, 测定结果见表 2。测定结果表明: 编号 A3-4-4 流份和 A3-4-1 流份对菜青虫都具有毒杀活性, 2 种流份对菜青虫毒杀活性极显著高于其它流份, 其 72h 校正死亡率分别是 85.86% 和 54.83%, 二者对菜青虫的毒杀活性差异极显著; 具有毒杀活性的 2 个流份中, 编号 A3-4-4 流份的活性最强, 但其对

菜青虫的毒杀活性极显著低于吡虫啉, 但仍然在 80% 以上。

通过利用桃蚜和菜青虫对以上 6 种流份进行活性追踪发现, 小桐子果壳中的杀虫活性物质主要存在于编号 A3-4-4 流份和编号 A3-4-1 流份中, 且其相对含量都较高, 值得进一步对其进行分离研究。

表 1 $8\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 小桐子果壳乙醇粗提物的正丁醇

萃取物柱层析各流份对桃蚜的生物活性测定

Table 1 Biological activity of $8\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ various fractions from butanol partitioned extract in *Jatropha curcas* seedcase of ethanol extract after column chromatography to *M. persicae sulzer*

流份 Fractions	24 h 死亡率 24 h Mortality (%)	24 h 校正死亡率 24 h Adjusted mortality (%)
A3-4-1	50.67	48.07C c
A3-4-2	5.33	0.35E e
A3-4-3	4.67	0 E e
A3-4-4	81.33	80.35 B b
A3-4-5	12.50	7.89 D d
A3-4-6	4.46	0 E e
70% 吡虫啉 70% Imidacloprid	94.00	93.68 A a
CK(水) CK(Water)	5.00	0 E e

注: 表中数据为 3 次重复的平均值; 同列中不同的小写字母表示在 5% 水平上差异显著, 同列中大写字母表示在 1% 水平上差异显著。下同。

Note: The datums in this table are the average value of the three replications; different small letters in the same column indicate the significant difference at 5% level, different capital letters in the same column indicate the significant difference at 5% level. The same below.

2.1.2 A3-4-4 样品中柱细分各流份的杀虫活性测定

(1) A3-4-4 样品中柱细分各流份对桃蚜的毒杀活性测定 经过对小桐子果壳乙醇粗提物的正丁醇萃取物进行大柱初分,并对各流份进行活性追踪,发现编号 A3-4-4 的流份活性最强,相对含量也最高。因此选择编号 A3-4-4 流份膏,如图 1 所示,继续进行柱细分,共收集到 3 个流份;将各流份的收集液减压浓缩,利用桃蚜分别对 3 种流份进行杀虫活性测定,测定结果见表 3。活性测定结果表明,编号为 WD1 流份、WE1 流份和 WF1 流份均对桃蚜具有一定的毒杀活性,其 24h 校正死亡率分别为 85.66%、23.66%、和 25.81%,3 种流份对桃蚜的毒杀活性极显著高于空白对照,显示出一定的毒杀活性;三种流份中,WD1 流份对桃蚜的毒杀活性最高,其极显著高于 WE1 和 WF1,但低于 70%吡虫啉;WE1 和 WF1 对桃蚜的毒杀活性无显著差异。

表 2 $8 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 小桐子果壳乙醇粗提物的正丁醇萃取物柱层析各流份对菜青虫的生物活性测定
Table 2 Biological activity of $8 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ various fractions from butanol bartitioned extract in *Jatropha curcas* seedcase of ethanol extract after column chromatography to *Pieris rapae*

流份 Frantions	72 h 死亡率 72 h Mortality (%)	72 h 校正死亡率 72 h Adjusted mortality (%)
A3-4-1	56.33	54.83 C c
A3-4-2	4.00	0.69 D d
A3-4-3	3.67	0.35 D d
A3-4-4	86.33	85.86 B b
A3-4-5	4.33	1.04 D d
A3-4-6	2.67	0 D d
70%吡虫啉 70% Imidacloprid	97.67	97.59 A a
CK(水) CK(Water)	3.33	0 D d

表 3 $8 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ A3-4-4 样品柱层析各流份对桃蚜的生物活性测定
Table 3 Biological activity of $8 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ various fractions from A3-4-4 frantion after column chromatography to *M. persicae* Sulzer

流份 Frantions	24 h 死亡率 24 h Mortality (%)	24 h 校正死亡率 24 h Adjusted mortality (%)
WD1	86.67	85.66 B b
WE1	29.00	23.66 C c
WF1	31.00	25.81 C c
70%吡虫啉 70% Imidacloprid	96.38	96.06 A a
CK(水) CK(Water)	7.00	0 D d

(2) A3-4-4 样品中柱细分各流份对菜青虫的毒杀活性测定.利用菜青虫分别对 A3-4-4 样品中柱细分 3 种馏分进行杀虫活性测定,测定结果见表 4。活性测定结果表明,所得的流份 WD1、WE1 和 WF1 均对菜青虫具有一定的毒杀活性,其 72h 校正死亡率分别为 89.51%、31.47%和 33.56%,3 种流份对菜青虫的毒杀活性极显著高于空白对照,显示出一定的毒杀活性;三种流份中,WD1 对菜青虫的毒杀活性最高,其极显著高于 WE1 和 WF1,但低于 70%吡虫啉;WE1 和 WF1 对菜青虫的毒杀活性无显著差异。

表 4 $8 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ A3-4-4 样品柱层析各流份对菜青虫的生物活性测定
Table 4 Biological activity of $8 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ various fractions from A3-4-4 frantion after column chromatography to *Pieris rapae*

流份 Frantions	72 h 死亡率 72 h Mortality (%)	72 h 校正死亡率 72 h Adjusted mortality (%)
WD1	90.00	89.51 B b
WE1	34.67	31.47 C c
WF1	36.67	33.56 C c
70%吡虫啉 70% Imidacloprid	97.67	97.55 A a
CK(水) CK(Water)	4.67	0 D d

由以上结果看出,三种流份都具有一定的杀虫活性,其杀虫活性可能表现为多种物质的协同作用;流份 WD1 活性极显著高于其它 2 种流份,且其相对含量也最高,可以作为指标性成分对其进行进一步的分离纯化、鉴定等研究。

2.2 样品 WD1 的化学组成及其相对含量分析:

通过对 WD1 样品进行 HPLC-MS 分析,在正、负离子模式下检出,各化合物在负离子模式下都有比较好的响应。结合文献资料,对图谱进行解析,解析了含量较高的 7 个化合物,为总量的 80.72%,分别为 $2\alpha, 3\beta, 24$ -三羟基-12-20(30)-二烯-28-乌索酸 [$2\alpha, 3\alpha, 23$ -trihydroxyurs-12,20(30)dien-28-oi]、环辛肽 B(Cyclgrossine B)、牡荊素(Vitexin)、松香烷二萜(Diterpene)、麻疯树酚酮 A(Jatrophlone A)和 Curcusone A 或 Curcusone B。主要属于二萜类化合物、三萜类、黄酮类、肽及蛋白类化合物,其中二萜最多为 5 个。具体如下:

化合物 1 RT:32.82;相对质量分数 5.24%。EI-MS[M]⁺ m/z: 485.7、486.7,主要质谱数据与 Kojima *et al.* (1991)报道的 $2\alpha, 3\alpha, 24$ -三羟基-12-20

(30)-二烯-28-乌索酸相似,鉴定为 2 α ,3 α ,24-三羟基-12-20(30)-二烯-28-乌索酸 [2 α ,3 α ,23-trihydroxyurs-12,20(30)-dien-28-oi],为三萜酸。

化合物 2 RT:34.19;相对质量分数 20.97%。EI-MS[M]⁺ *m/z*:781,主要质谱数据与 Catherin Auvinquette *et al.* (1997)报道的化合物环辛肽 B 基本一致,鉴定为环辛肽 B(Cyclgrossine B)。

化合物 3 RT:34.27;相对质量分数 17.19%。EI-MS[M]⁺ *m/z*:431.9,与陈泉等(1996)报道的化合物牡荆素(Vitexin)基本一致,鉴定为牡荆素(Vitexin),为黄酮类。

化合物 4 RT:36.74;相对质量分数 6.29%。EI-MS[M]⁺ *m/z*:227.1、304.7、327.2、328.3、363.1,质谱数据与丛浦珠等(2003)报道的《化合物 4781》基本一致,为松香烷二萜化合物。

化合物 5 RT:37.33;相对质量分数 6.71%。EI-MS[M]⁺ *m/z*:295.4,质谱数据与 Parthasarathy *et al.* (1984)报道的化合物香豆素-木脂素,又名麻疯树酚酮 A(Jatrophlone A)一致,为二萜化合物。

化合物 6 RT:38.07;相对质量分数 16.35%。EI-MS[M]⁺ *m/z*:296,质谱数据与 Naengchomng *et al.* (1986)报道的化合物 Curcusone A 或 B 基本一致,鉴定为二萜化合物。

化合物 7 RT:39.60;相对质量分数 7.97%。EI-MS[M]⁺ *m/z*:296,质谱数据与 Naengchomng (1986)报道的化合物 Curcusone A 或 B 基本一致,为二萜化合物。

3 结论与讨论

将小桐子果壳经乙醇提取,依次利用石油醚、三氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇对乙醇提取物的水溶液进行萃取;选择活性最强的正丁醇萃取相上硅胶柱进行大柱初分,以乙酸乙酯:甲醇(10:1、5:1、1:2)为流动相进行梯度洗脱,共获得 6 个流份,结合利用桃蚜和菜青虫进行活性追踪筛选,筛选出活性强、含量最高 A3-4-4 流份;将 A3-4-4 流份浓缩后再上硅胶柱进行中柱细分,以乙酸乙酯:甲醇(1:1、1:1.5)对流动相进行梯度洗脱,获得 3 个流份,同时结合活性追踪筛选,获得含量最高、活性最强的 WD1 流份;最后将 WD1 进行 HPLC-MS 分析,鉴定了含量较高的 7 个化合物,为总量的 80.72%,初步鉴定为 2 α ,3 α ,24-三羟基-12-20(30)-二烯-28-乌索酸、环

辛肽 B、牡荆素、松香烷二萜、麻疯树酚酮 A、Curcusone A 或 Curcusone B。

笔者 2011 年研究发现,小桐子果壳和枝叶的乙醇提取物对多种试虫具有多种作用方式的毒杀活性,小桐子果壳的乙醇提取物会导致试虫出现明显的拒食、腹泄、麻痹、趋避、触杀(虫体发黑软烂)、肿胀等中毒症状,这可能是小桐子果壳含有多种杀虫活性成分综合作用的结果。本研究发现小桐子果壳含有丰富的杀虫活性物质,其杀虫活性物质可能是 2 α ,3 α ,24-三羟基-12-20(30)-二烯-28-乌索酸、环辛肽 B、牡荆素、松香烷二萜、麻疯树酚酮 A、Curcusone A 或 Curcusone B 中的一种或者多种,具体杀虫活性成分种类的确定还有待于对其继续进行分离和鉴定研究。

参考文献:

- 丛浦珠,李笋玉. 2003. 天然有机质谱学[M]. 北京:中国医药科技出版社:942
- 张宗炳. 1988. 杀虫药剂的毒力测定[M]. 北京:科学出版社:85-87.
- Catherine Auvinquette,Carine Baraguey,Alain Blond,*et al.* 1997. Cyclogrossine B,a cyclic octapeptide from *Jatropha gossypifolic*[J]. *J Nat Prod*,**60**(11):1 155-1 157
- Chen Q(陈泉),Wu LJ(吴立军),Ruan LJ(阮立军). 1996. Chemical studies on the constituents of *Lophatherum gracile* (中药淡竹叶的化学成分研究(II))[J]. *J Shenyang Pharm Univ*(沈阳药科大学学报),**13**(1):31-33,72
- Fagbenro AF,Oyilbo WA,Anuformo BC. 1998. Disinfectant/antiparasitic activities of *Jatropha curcas*[J]. *East Afr Med J*,**75**(9):508-511
- Kojima H,Tominaga H,Sato S,*et al.* 1991. Pentacyclic tritecpenoid from pranella valgaris[J]. *Phytochemistry*,**30**(4)1 169-1 173
- Li YC(李育川),Guo QS(郭巧生),Shao QS(邵清松),*et al.* 2009. Toxicity of extracts from branches and leaves of *Jatropha curcas* against aphids(小桐子枝叶提取物对蚜虫的毒杀活性)[J]. *J Plant Res & Environ*(植物资源与环境学报),**18**(2):89-93
- Li YC(李育川),Guo QS(郭巧生),Wang DK(王定康),*et al.* 2011. Bioassay on insecticidal activity of extracts from *Jatropha curcas* seedcase(小桐子果壳提取物杀虫活性的生物测定)[J]. *Guihaia* (广西植物),**31**(1):129-133
- Li J(李静). 2005. Study of insecticidal active components in *Jatropha curcas* seed on its extraction,isolation and toxicity action mechanism(麻疯树种子杀虫活性物质分离、纯化及作用机理研究)[D]. Sichuan University(四川大学):42-56
- Naengchomng W,Thebtaramonth Y,Wiriyaichitra P,*et al.* 1986. Isolation and structure ditectpenes from *Jatropha curcas* [J]. *Tetrahedron Letters*,**27**(2):2 443-2 444
- Parthasarathy MR,Pardha K,Saradhi A. 1984. Coumarino-Lignan from *Jatropha glandulifera*[J]. *Phytochemistry*,**23**(4):867-869