

瑞香狼毒杀螨活性物质的分离与鉴定

梁 为¹, 白雪娜², 成 军², 师光禄², 王有年^{2,*}, 王战全³

(¹北京林业大学林学院, 北京 100083; ²农业部都市农业(北方)重点开放实验室, 北京农学院, 北京 102206; ³平谷区马昌营镇人民政府, 北京 101200)

摘 要: 采用活性跟踪法, 对瑞香狼毒(*Stellera chamaejasme* L.) 中的杀螨活性成分进行研究。从瑞香狼毒乙酸乙酯提取物中分离出对朱砂叶螨(*Tetranychus cinnabarinus*) 具有较强触杀和内吸活性的化合物IV, 通过核磁共振(¹H NMR, ¹³C NMR)、红外色谱(IR)等方法对化合物IV进行鉴定, 确定该化合物为东莨菪内酯(scopoletin)。杀螨活性的测定结果表明, 东莨菪内酯可能是瑞香狼毒中重要的杀螨活性物质。东莨菪内酯对朱砂叶螨触杀活性的半致死浓度(LC₅₀)值为 1.267 mg · mL⁻¹, 内吸活性的 LC₅₀ 值为 7.388 mg · mL⁻¹。

关键词: 瑞香狼毒; 杀螨活性; 朱砂叶螨; 东莨菪内酯

中图分类号: S 482; S 567 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2011) 05-0947-08

Isolation and Identification of the Principal Acaricidal Components from *Stellera chamaejasme*

LIANG Wei¹, BAI Xue-na², CHENG Jun², SHI Guang-lu², WANG You-nian^{2,*}, and WANG Zhan-quan³

(¹College of Forestry, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; ²Key Laboratory of Urban Agriculture (North) Ministry of Agriculture, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China; ³Machangying Town People's Government, Pinggu District, Beijing 101200, China)

Abstract: Using the acaricidal activity to guide the isolation, the compound IV, which had the highest contact and systemic toxicity to *Tetranychus cinnabarinus*, was obtained from ethyl acetate extracts of roots of *Stellera chamaejasme* L. The structure of compound IV was established as scopoletin by analysis of NMR (¹H NMR, ¹³C NMR) and IR data. The results of acaricidal activity analysis showed that scopoletin may be the principal acaricidal substance in the ethyl acetate extracts of *S. chamaejasme* extracts. And the mean lethal concentrations (LC₅₀) of scopoletin for contact and systemic toxicity were 1.267 and 7.388 mg · mL⁻¹, respectively. Subsequently, compound IV was analyzed by NMR and IR methods, and its contact and systemic toxicity to mites were determined. In accordance with the spectral data (¹H NMR, ¹³C NMR and IR) of compound IV, the chemical compound was identified as scopoletin. Scopoletin may be the principal acaricidal substance in *S. chamaejasme* extracts. And the mean lethal concentrations (LC₅₀) of scopoletin for contact and systemic toxicity were 1.267 and 7.388 mg · mL⁻¹, respectively.

收稿日期: 2010 - 12 - 02; **修回日期:** 2011 - 05 - 03

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30872029); 北京市自然科学基金重点项目 (6071001); 北京市自然科学基金项目 (6092007); 北京市教委重点项目 (KZ201010020016); 北京市教委平台建设项目; 北京市属高校人才强教深化计划项目 (PHR20090516, PHR200906134)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: wyn1951@126.com)

Key words: *Stellera chamaejasme*; acaricidal activity; *Tetranychus cinnabarinus*; scopoletin

朱砂叶螨 (*Tetranychus cinnabarinus*) 又名红蜘蛛, 是世界性经济害螨之一, 也是我国分布最广、发生最严重的农业害螨, 严重影响园艺作物、农作物及经济林的产量和品质 (Mo & Liu, 2006; Wang et al., 2007)。化学杀螨剂的使用, 在杀灭害螨的同时也杀伤了天敌及其他有益生物, 使用不当会造成产品的农药残留, 还引起害螨的抗药性和再猖獗, 造成恶性循环 (何林 等, 2003; He et al., 2009; Wang et al., 2009)。因此, 寻找新型、高效和安全的杀螨剂势在必行。植物源杀螨剂具有作用机理独特, 对环境和非靶标生物安全性高等特点, 已成为综合治理农业害螨的重要选择。

瑞香狼毒 (*Stellera chamaejasme* L.) 为瑞香科狼毒属植物, 根部可入药, 主要分布于我国东北、华北和西北草原。研究表明, 瑞香狼毒主要含有黄酮类 (Niwa et al., 1984)、香豆素类 (Modonova et al., 1985)、二萜类 (Feng et al., 1997) 和木脂素类 (Jin et al., 1999) 等化学成分, 具有抗肿瘤、抗病毒等作用 (于保青和胥维昌, 2008; Tsolmon et al., 2010)。与其他植物材料相比, 瑞香狼毒的生存力和繁殖力强, 具有生物入侵性, 属于草原杂草, 一直被视为有害植物。因此, 对瑞香狼毒农用活性的开发, 特别是在病虫害防治等方面的应用, 能够充分利用植物资源, 变害为宝。目前已报道瑞香狼毒提取物对棉蚜 (Gao et al., 2001)、菜粉蝶 (张国洲 等, 2000; 王亚维 等, 2004; Liu et al., 2008) 等具有较强的杀虫活性。瑞香狼毒的杀螨活性也有相关报道 (曹挥 等, 2003; Shi et al., 2004), 但没有分离并验证瑞香狼毒中的杀螨活性成分。作者对瑞香狼毒不同溶剂提取物的杀螨活性进行研究, 采用活性跟踪法, 对杀螨活性较强的物质成分进行分离、纯化和鉴定, 以揭示瑞香狼毒杀螨活性物质的天然构造, 为研制经济、安全、高效的新型杀螨剂提供新的活性先导化合物。

1 材料与方法

1.1 供试材料

试验于2009年6月至10月在北京农学院农业部都市农业 (北方) 重点开放实验室内完成。瑞香狼毒 (*Stellera chamaejasme* L.) 取自山西省大同地区金沙滩。将其根置于通风处 (25 ± 3) °C 阴干, 用粉碎机粉碎 (粒度60目)。朱砂叶螨 (*Tetranychus cinnabarinus*) 由农业部都市农业 (北方) 重点开放实验室提供, 为室内饲养的敏感品系, 实验室内用芸豆幼苗饲养。饲养环境为温度 (25 ± 1) °C, 相对湿度 $60\% \pm 10\%$, 光照18 h/黑暗6 h。

1.2 冷浸提取方法

将50 g 瑞香狼毒干粉装入广口瓶中, 分别加入250 g 左右的石油醚、环己烷、二氯甲烷、正丁醇、乙酸乙酯、三氯甲烷、甲醇和无水乙醇 (均为分析纯), 室温下浸泡5 d 后过滤, 滤渣继续浸泡3 d, 重复3次。将浸提液合并后减压浓缩, 得到不同溶剂提取物。

1.3 生物活性测定

触杀活性测定: 参照Busvine (1980) 的玻片浸渍法稍作改进。将双面胶带粘贴于玻片一端, 揭去上面的纸片, 用零号毛笔挑取大小一致、颜色鲜艳的活泼雌成螨, 将其背部粘在双面胶带上, 不粘住螨足、口器及须肢, 保证螨足自由活动, 每片粘30头。粘好后在双目解剖镜下检查, 剔除不活动、受伤和粘的不合格的螨。将供试螨浸入待测药液 (提取物 + 蒸馏水 + 1% 体积吐温 - 80) 中轻轻摇动约5 s 后取出, 用吸水纸条小心吸去螨体周围的多余药液。以蒸馏水加1% 体积吐温 - 80 作为对照。在上述同等的饲养条件下培养24 h 后, 在双目解剖镜下统计螨虫死亡率。用毛笔轻触螨体, 以

螨足不动者为死亡。待测药液设5个浓度, 且使螨的死亡率维持在20%~90%之间, 每一浓度重复3次。

内吸活性测定: 采集新鲜的芸豆叶片, 将叶柄截去0.5 cm, 插于药液中, 72 h后取出置于培养皿中。将大小一致、颜色鲜艳的雌成螨个体接于叶片上, 取食24 h后观察其死亡率。每一叶片接螨30头, 以蒸馏水加1%体积的吐温-80作为对照。待测药液设5个浓度, 且使螨的死亡率维持在20%~90%之间, 每一浓度重复3次。

1.4 杀螨活性成分的追踪分离及 HPLC 检测

将8种不同溶剂提取物中杀螨效果较好的部分进行中压柱层析分离。采用 Biotage SNAP 100 g 柱。采取干法加样, 即称取杀螨活性高的提取物5 g 充分溶解, 加入7.5 g 硅胶(200~300目, 青岛海洋生物试剂厂)搅拌均匀, 减压浓缩后加样。以乙酸乙酯: 甲醇为流动相进行洗脱, 流速 $40 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 每试管9 mL。制备程序为: 0~3 CV (柱体积, column volumes) 乙酸乙酯 100%; 3~23 CV 甲醇由0增加至100%梯度洗脱, 每 CV 增加5%; 23~26 CV 甲醇 100%洗脱清柱。薄层检测采用可裁剪型硅胶板(天津天河医疗仪器有限公司), 饱和碘蒸气显色检识, 合并相同组分。

分别测定合并后各组分的杀螨活性, 并采用 Agilent 1200 型 HPLC 法对活性最高的流分进行纯度检测。检测条件: SUPELCO 色谱柱 ($15 \text{ cm} \times 4.6 \text{ mm} \times 5 \mu\text{m}$), 柱温 25°C , 流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 进样量 $20 \mu\text{L}$, 流动相为水和甲醇。检测程序为: 0~10 min 甲醇 10%, 水 90%; 10~100 min 甲醇由10%增加至100%, 每分钟增加1%; 100~120 min 甲醇 100%洗脱。

1.5 流分的 HPLC 制备

根据 HPLC 纯度检测结果, 采用 Varian Prostar 210 型 HPLC 对主要流分进行制备。制备条件为: Waters $5\text{C}_{18}\text{-MS-II}$ 色谱柱 ($20 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$), 柱温 25°C , 流速 $10.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 进样量 $500 \mu\text{L}$, 流动相为水 20%, 甲醇 80%。

1.6 杀螨活性成分的结构解析

红外分析: 取 1.0 mg 样品粉末与 100.0 mg 的 KBr 混合, 在红外灯下研磨均匀, 压片, 将样品的 KBr 压片置于傅立叶变换红外光谱仪 (Thermo NICOLET iS10) 的测定窗口, 按照设定的仪器条件, 在 $4000 \sim 600 \text{ cm}^{-1}$ 波数范围内扫描。

核磁共振分析: 采用 Bruker-300 型核磁共振仪, 以氘代氯仿 (CDCl_3) 为溶剂溶解样品, 采集样品的 ^1H NMR 谱、 ^{13}C NMR 谱数据, 结合文献报道的化合物的核磁数据, 鉴定化合物结构。

熔点分析: 采用 X-6 型精密显微熔点测定仪 (北京福凯科技有限公司) 进行分析。

1.7 数据处理

所得数据用 Abbot 公式进行校正, 采用几率分析法计算毒力回归方程。采用 SPSS17.0 完成数据的方差分析和 Duncan's 检验, 并计算 LC_{50} 、 LC_{90} 和 95% 置信区间。死亡率 (%) = 死亡螨数 / 总螨数 $\times 100$ 。校正死亡率 (%) = (处理死亡螨数 - 对照死亡螨数) / (总螨数 - 对照死亡螨数) $\times 100$ 。

2 结果与分析

2.1 瑞香狼毒冷浸提取物对朱砂叶螨生物活性的测定

根据瑞香狼毒8种溶剂提取物的浓度对数值与朱砂叶螨校正死亡率几率值分别求出毒力回归方程, 并计算致死浓度 (LC_{50} 和 LC_{90}) 及其 95% 置信限, 结果见表1和表2。

瑞香狼毒不同溶剂提取物对朱砂叶螨的雌成螨均有一定的触杀和内吸活性。在触杀活性中，石油醚提取物活性最强，乙酸乙酯次之，24 h 后的 LC_{50} 值分别为 2.849 和 $4.186\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。在内吸活性中，乙酸乙酯提取物的活性最强，三氯甲烷次之，24 h 后的 LC_{50} 值分别为 2.533 和 $2.816\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ；甲醇提取物的触杀和内吸活性均为最低，24 h 后的 LC_{50} 分别为 7.673 和 $8.602\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。其中，石油醚提取物采用 GC - MS 进行成分分析（另文报道）。本研究中选择触杀和内吸活性均表现良好的乙酸乙酯提取物进行下一步的柱层析分离。

表 1 瑞香狼毒提取物对朱砂叶螨的触杀活性
Table 1 Contact toxicity of the crude extracts of *S. chamaejasme* against *T. cinnabarinus*

溶剂 Solvent	回归方程 Regressive equation	LC_{50} (95%置信限) / ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) LC_{50} (95% confidence limit)	LC_{90} (95%置信限) / ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) LC_{90} (95% confidence limit)
石油醚 Petroleum ether	$y = 2.713x - 1.234$	2.849 (2.520 ~ 3.238)	8.452 (6.939 ~ 10.919)
环己烷 Cyclohexane	$y = 2.554x - 1.594$	4.208 (3.676 ~ 4.900)	13.359 (10.453 ~ 18.667)
二氯甲烷 Dichloromethane	$y = 3.154x - 2.467$	6.059 (5.328 ~ 7.089)	15.444 (12.100 ~ 22.148)
正丁醇 n-butanol	$y = 2.370x - 1.509$	4.333 (3.751 ~ 5.114)	15.050 (11.470 ~ 21.911)
无水乙醇 Alcohol	$y = 2.891x - 2.432$	6.938 (5.979 ~ 8.436)	19.255 (14.333 ~ 30.334)
乙酸乙酯 Ethyl acetate	$y = 3.095x - 1.924$	4.186 (3.721 ~ 4.762)	10.864 (8.906 ~ 14.192)
三氯甲烷 Chloroform	$y = 2.428x - 1.521$	4.231 (3.677 ~ 4.965)	14.268 (10.983 ~ 20.455)
甲醇 Methanol	$y = 2.576x - 2.279$	7.673 (6.437 ~ 9.780)	24.128 (16.933 ~ 42.110)

表 2 瑞香狼毒提取物对朱砂叶螨的内吸活性
Table 2 Systemic toxicity of the crude extracts of *S. chamaejasme* against *T. cinnabarinus*

溶剂 Solvent	回归方程 Regressive equation	LC_{50} (95%置信限) / ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) LC_{50} (95% confidence limit)	LC_{90} (95%置信限) / ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) LC_{90} (95% confidence limit)
石油醚 Petroleum ether	$y = 2.719x - 1.511$	3.596 (3.173 ~ 4.117)	10.646 (8.592 ~ 14.169)
环己烷 Cyclohexane	$y = 2.374x - 1.654$	4.975 (4.280 ~ 5.952)	17.247 (12.902 ~ 25.963)
二氯甲烷 Dichloromethane	$y = 2.721x - 1.548$	3.722 (3.281 ~ 4.269)	11.048 (8.884 ~ 14.799)
正丁醇 n-butanol	$y = 2.763x - 1.408$	3.232 (2.860 ~ 3.678)	9.405 (7.688 ~ 12.260)
无水乙醇 Alcohol	$y = 2.598x - 2.209$	7.080 (6.004 ~ 8.818)	22.044 (15.849 ~ 36.542)
乙酸乙酯 Ethyl acetate	$y = 3.549x - 1.432$	2.533 (2.282 ~ 2.816)	5.818 (5.006 ~ 7.046)
三氯甲烷 Chloroform	$y = 3.137x - 1.410$	2.816 (2.517 ~ 3.159)	7.215 (6.093 ~ 8.963)
甲醇 Methanol	$y = 2.738x - 2.559$	8.602 (7.559 ~ 9.952)	25.267 (20.031 ~ 34.709)

2.2 柱层析分离结果

通过中压柱层析，从瑞香狼毒根的乙酸乙酯提取物中分离得到 15 种流分。其中流分 E7 的杀螨活性最高，结果如表 3 所示。采用几率分析法计算流分 E7 的毒力回归方程和致死浓度，其中触杀活性的毒力回归方程为 $y = 3.363x - 0.464$ ，24 h 的 LC_{50} 为 $1.374\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，95%置信区间为 $1.255 \sim 1.529\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ；内吸活性的毒力回归方程为 $y = 1.482x - 1.449$ ， LC_{50} 为 $9.501\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，95%置信区间为 $7.940 \sim 11.682\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。该流分对朱砂叶螨的触杀活性比乙酸乙酯提取物高，而内吸活性有所下降。因此，对流分 E7 进行下一步研究。

表 3 流分 E7 对朱砂叶螨的毒杀活性
Table 3 Contact and systemic toxicity of fraction E7 against *T. cinnabarinus*

触杀活性 Contact toxicity		内吸活性 Systemic toxicity	
浓度/ ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) Concentration	校正死亡率/% Corrected mortality (Mean \pm SD)	浓度/ ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) Concentration	校正死亡率/% Corrected mortality (Mean \pm SD)
0.50	$10.00 \pm 0.29\text{ e}$	2.00	$16.67 \pm 0.48\text{ e}$
0.75	$15.56 \pm 0.45\text{ d}$	4.00	$33.33 \pm 0.96\text{ d}$
1.00	$28.89 \pm 0.83\text{ c}$	8.00	$44.44 \pm 1.28\text{ c}$
1.50	$56.67 \pm 1.64\text{ b}$	16.00	$60.00 \pm 1.73\text{ b}$
2.00	$72.22 \pm 2.08\text{ a}$	24.00	$73.33 \pm 2.12\text{ a}$

注：小写字母表示 $P = 0.05$ 水平下的差异显著性（Duncan's 检验）。
Note: Small letter indicates the significant difference at $P = 0.05$ level (Duncan's test).

2.3 流分 E7 纯度检测

采用 Agilent 1200 型 HPLC 对流分 E7 进行纯度检测（检测波长范围 190 ~ 950 nm，二极管阵列检测器），确定流分 E7 的纯度，并为采用 HPLC 制备提供参考数据。通过全波长扫描发现，当检测波长为 230 nm 时，样品的吸收峰数量最多，区分效果最好。其中 2 号峰（保留时间 20.567 min）的峰面积百分比为 20.903%，4 号峰（保留时间 27.487 min）为 47.367%（图 1）。

根据 HPLC 结果，采用 Varian 制备型 HPLC 对 4 号峰进行收集，得到流分 E7-4。再次经 HPLC 检测，其峰面积达到 97.756%（图 2），说明该样品已具有很高的纯度。流分 E7-4 经真空干燥后得到化合物 IV。

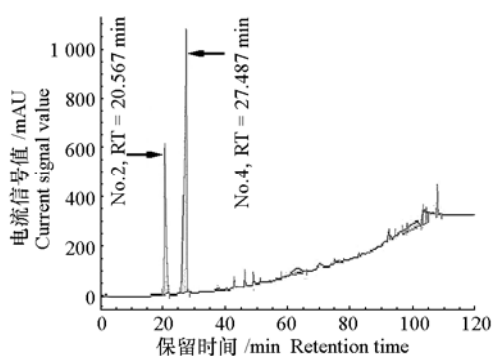


图 1 流分 E7 的 HPLC 图谱 (230 nm)

Fig. 1 HPLC analysis of fraction E7

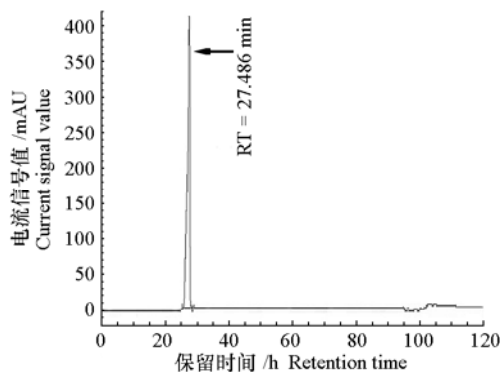


图 2 流分 E7-4 的 HPLC 图谱 (230 nm)

Fig. 2 HPLC analysis of fraction E7-4

2.4 结构鉴定

化合物 IV 的熔点为 200 ~ 201 °C，样品在紫外灯下有蓝色荧光，初步判断为香豆素类化合物。红外分析结果表明，化合物 IV 在 1 701 cm^{-1} 处存在羰基特征吸收峰；在 1 645 ~ 1 490 cm^{-1} 范围内存在芳环双键特征吸收峰；在 3 338 cm^{-1} 处存在羟基取代特征吸收峰（图 3）。据此推断化合物 IV 具有苯骈 α -吡喃酮结构，属于香豆素类化合物。

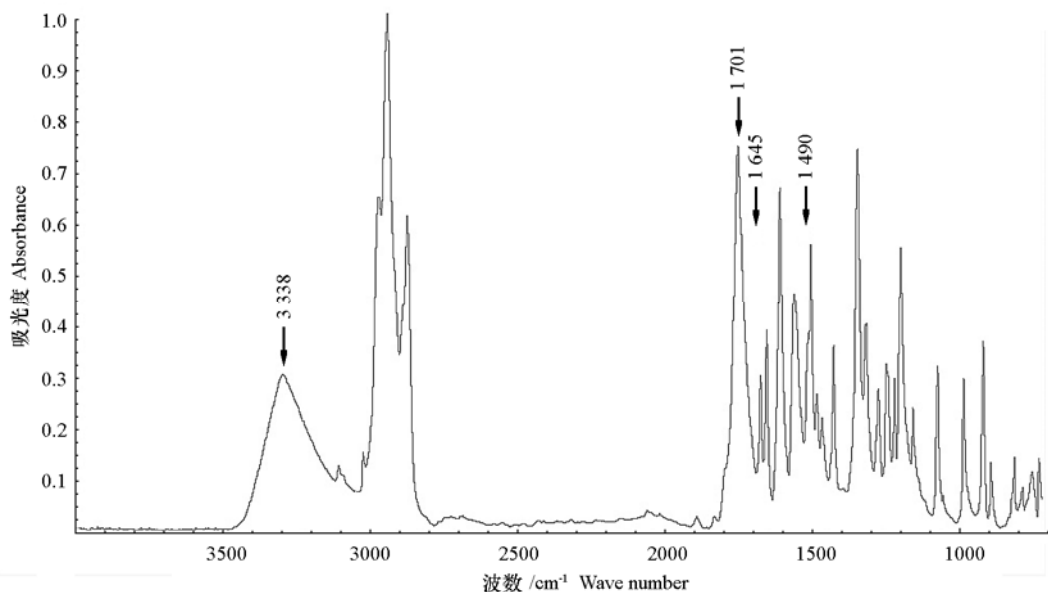


图 3 化合物 IV 的 IR 谱图

Fig. 3 IR spectra of compound IV

进一步采集核磁共振数据，获得化合物IV中碳、氢原子的化学位移值（图 4 和图 5），并结合参考文献（王栋 等，1997；张健 等，2004）推断碳、氢原子在分子中所处的位置及相对数量，与已知化合物的核磁共振数据进行比较（表 4），发现化合物IV与东莨菪内酯的碳、氢核磁共振数据吻合度极高。综合分析红外与核磁共振数据，最终推断化合物IV为东莨菪内酯（Scopoletin）。

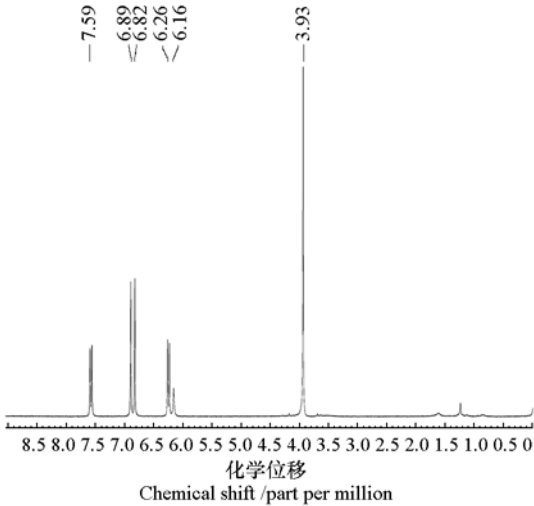


图 4 化合物IV的 ¹H NMR 谱图
Fig. 4 ¹H NMR of compound IV

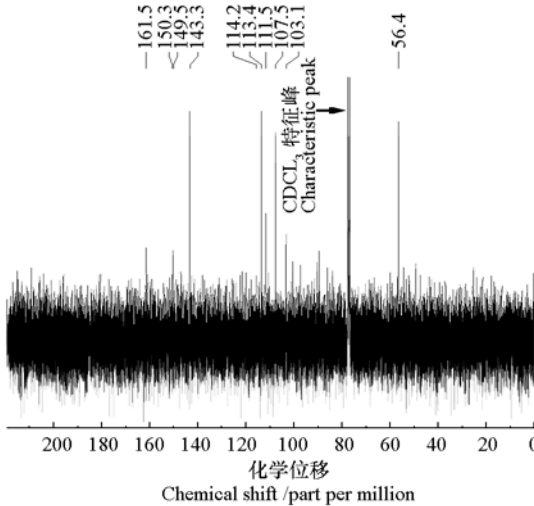


图 5 化合物IV的 ¹³C NMR 谱图
Fig. 5 ¹³C NMR of compound IV

表 4 化合物IV与文献报道的核磁数据
Table 4 ¹H and ¹³C NMR data of compound IV and references

¹ H NMR 数据 ¹ H NMR data		¹³ C NMR 数据 ¹³ C NMR data			
文献值 Reference value	测定值 Measured value	文献值 Reference value	测定值 Measured value	文献值 Reference value	测定值 Measured value
6.25	6.26	161.5	161.5	103.2	103.1
7.60	7.59	107.6	107.5	149.8	149.5
6.92	6.89	143.4	143.3	111.5	111.5
6.85	6.82	113.4	113.4	56.5	56.4
6.16	6.16	144.1	114.2	-	-
3.95	3.93	150.3	150.3	-	-

注：核磁共振溶剂为CDCl₃。
Note: The solvent used in NMR is CDCl₃.

2.5 活性成分的验证

采用 Sigma-Aldrich 公司的东莨菪内酯标准品（纯度≥99%）进行杀螨活性验证，结果如表 5 所示。采用几率分析法计算标准品的毒力回归方程和致死浓度，其中触杀活性的毒力回归方程为

表 5 东莨菪内酯对朱砂叶螨的毒杀活性
Table 5 Contact and systemic toxicity of scopoletin against *T. cinnabarinus*

触杀活性 Contact toxicity		内吸活性 Systemic toxicity	
浓度/（mg·mL ⁻¹ ） Concentration	校正死亡率/% Corrected mortality (Mean ± SD)	浓度/（mg·mL ⁻¹ ） Concentration	校正死亡率/% Corrected mortality (Mean ± SD)
0.50	10.00 ± 0.32 e	2.00	18.89 ± 0.54 e
0.75	16.67 ± 0.48 d	4.00	36.67 ± 1.05 d
1.00	31.11 ± 0.90 c	8.00	48.89 ± 1.41 c
1.50	60.00 ± 1.73 b	16.00	65.56 ± 1.89 b
2.00	76.67 ± 2.21 a	24.00	80.00 ± 2.31 a

注：小写字母表示P = 0.05水平下的差异显著性（Duncan's检验）。
Note: Small letter indicates the significant difference at P = 0.05 level (Duncan's test) .

$y = 3.519x - 0.362$, LC_{50} 为 $1.267 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 95% 置信区间 $1.164 \sim 1.393 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; 内吸活性的毒力回归方程为 $y = 1.599x - 1.389$, LC_{50} 为 $7.388 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 95% 置信区间为 $6.304 \sim 8.814 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。标准品的触杀和内吸活性比流分 E7 高, 但是与乙酸乙酯提取物相比, 内吸活性下降较多。

3 讨论

目前有关瑞香狼毒提取物杀螨活性的报道较多。王伟等 (2010) 采用 6 种溶剂对瑞香狼毒进行提取, 并研究了不同提取物对朱砂叶螨的触杀活性, 结果表明, 瑞香狼毒石油醚提取物的触杀效果最好, 但杀卵效果最差。本试验结果也表明, 瑞香狼毒石油醚提取物的触杀活性较强, 但内吸活性表现一般, 而乙酸乙酯提取物的触杀和内吸活性均表现较好。推测瑞香狼毒乙酸乙酯提取物中可能含有多种对农业害虫、害螨具有毒杀活性的物质。

东莨菪内酯属于香豆素类化合物, 具有镇痛、抗炎、降血压和缓解肌肉痉挛等作用 (魏丽娟 等, 2009)。前人曾采用制备型薄层层析法、树脂吸附法和重结晶法从植物材料中获得东莨菪内酯 (Feng et al., 2001; 梁冉, 2005; 张永强 等, 2008), 但分离效率和化合物纯度较低。本研究采用中压柱层析和制备型 HPLC 分离得到东莨菪内酯, 避免了制备型薄层层析产物易氧化的缺陷, 克服了氧化铝对样品的吸附损耗, 防止了树脂吸附过程对样品的二次污染, 分离效率和化合物纯度均优于前人的方法, 具有良好的适用性。此外, 本研究也首次证明东莨菪内酯是瑞香狼毒中重要的杀螨活性成分, 并且对朱砂叶螨兼有触杀和内吸活性。

本研究中对乙酸乙酯提取物进行分离纯化, 最终得到东莨菪内酯。在提取过程中, 样品的触杀毒性随提取过程的深入而逐渐增强, 这可能是由于有效物质的纯度升高引起的, 也可以推测, 乙酸乙酯提取物中的其他化学成分可能对东莨菪内酯的触杀活性有抑制作用; 而内吸活性随提取过程的深入有所下降, 可能是由于乙酸乙酯提取物中的部分化学成分对东莨菪内酯的内吸活性有增效作用, 也可能存在其他内吸活性较高的成分。因此, 今后有必要对乙酸乙酯提取物的化学成分组成, 以及化学成分间的相互作用开展进一步研究。此外, 今后需进一步明确东莨菪内酯的杀螨机理, 为开发新型、高效和安全的杀螨剂提供理论依据。

References

- Busvine J R. 1980. Recommended methods for measurement of resistance to pesticides // FAO. Plant production and protection 21. Rome: FAO: 77 - 90.
- Cao Hui, Liu Su-qi, Zhao Li-lin, Shi Guang-lu, Zeng Xin-nian. 2003. The effects of the extracts from *Stellera chamaejasme* L. on the biological and enzyme activity of *Tetranychus Viennensis* Zacher. *Scientia Silvae Sinicae*, 39 (1): 98 - 102. (in Chinese)
- 曹 挥, 刘素琪, 赵莉茜, 师光禄, 曾鑫年. 2003. 瑞香狼毒提取物对山楂叶螨的生物活性及酶活性影响. *林业科学*, 39 (1): 98 - 102.
- Feng B M, Pei Y H, Hua H M. 2001. Chemical constituents of *Stellera chamaejasme* L. *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences*, 10 (2): 65 - 66.
- Feng W J, Fujimoto Y, Ohkawa M, Teragawa T, Xu J Y, Yoshida M, Ikekawa T. 1997. Piscicidal constituents of *Stellera chamaejasme* L. *Chinese Journal of Cancer Research*, 9 (2): 89 - 95.
- Gao P. 2001. Activity of the botanical aphicides 1,5-diphenyl-1-pentanone and 1,5-diphenyl-2-penten-1-one on two species of aphididae. *Pest Management Science*, 57 (3): 307 - 310.
- He L, Gao X W, Wang J J, Zhao Z M, Liu N N. 2009. Genetic analysis of abamectin resistance in *Tetranychus cinnabarinus*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 95 (3): 147 - 151.
- He Lin, Zhao Zhi-mo, Deng Xin-ping, Wang Jin-jun, Liu Huai, Liu Ying-hong. 2003. Resistance selection of *Tetranychus cinnabarinus* to three acaricides and its management strategy. *Scientia Agricultura Sinica*, 36 (4): 403 - 408. (in Chinese)
- 何 林, 赵志模, 邓新平, 王进军, 刘 怀, 刘映红. 2003. 朱砂叶螨对 3 种杀螨剂的抗性选育及抗性治理研究. *中国农业科学*, 36 (4): 403 - 408.

- Jin C D, Ronald G, Micetich D, Mohsen D. 1999. Phenylpropanoid glycosides from *Stellera chamaejasme*. *Phytochemistry*, 50 (4): 677 - 679.
- Liang Ran. 2005. Study on coumarin constituents from *Stellera chamaejasme* L. [M. D. Dissertation]. Shaanxi: Northwest A & F University. (in Chinese)
- 梁 冉. 2005. 瑞香狼毒中香豆素类化学成分研究[硕士论文]. 陕西: 西北农林科技大学.
- Liu Q, Jia H, Xiao B, Chen L, Zhou B, Hou T P. 2008. A new compound against *Peries rapae* from *Stellera chamaejasme*. *Natural Product Research*, 22 (4): 248 - 252.
- Mo T L, Liu T X. 2006. Biology, life table and predation of *Feltiella acarisuga* (Diptera: Cecidomyiidae) feeding on *Tetranychus cinnabarinus* eggs (Acari: Tetranychidae). *Biological Control*, 39 (3): 418 - 426.
- Modonova L D, Zhapova T, Bulatova N V, Semenov A A. 1985. Coumarins from *Stellera chamaejasme*. *Chemistry of Natural Compounds*, 21 (5): 666 - 667.
- Niwa M, Liu G Q, Tatematsu H, Hirata Y. 1984. Chamaechromone, a novel rearranged biflavonoid from *Stellera chamaejasme* L. *Tetrahedron Letters*, 25 (34): 3735 - 3738.
- Shi G L, Liu S Q, Cao H, Zhao L L, Li J, Li S Y. 2004. Acaricidal activities of extracts of *Stellera chamaejasme* against *Tetranychus viennensis* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology*, 97 (6): 1912 - 1916.
- Tsolmon S, Han J Y, Isoda H. 2010. Inhibition of cell growth by *Stellera chamaejasme* extract is associated with induction of autophagy and differentiation in chronic leukemia K562 cells. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 110 (2): 262 - 268.
- Wang Dong, Sun Hui, Han Ying-mei, Wang Xi-jun, Yuan Chun-sheng. 1997. Studies on chemical constituents of the stems and leaves of *Trigonella foenum graecum* L. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 22 (8): 486 - 488. (in Chinese)
- 王 栋, 孙 晖, 韩英梅, 王喜军, 苑春升. 1997. 胡芦巴茎叶化学成分研究. *中国中药杂志*, 22 (8): 486 - 488.
- Wang Wei, Tong Bao-sheng, Shi Guang-lu, Wang You-nian. 2010. Acaricidal activity of extracts from *Stellera chamaejasme* against *Tetranychus cinnabarinus*. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 26 (11): 36 - 39. (in Chinese)
- 王 伟, 仝宝胜, 师光禄, 王有年. 2010. 瑞香狼毒粗提物对朱砂叶螨的生物活性. *中国农学通报*, 26 (11): 36 - 39.
- Wang Y N, Shi G L, Zhao L L, Liu S Q, Yu T Q, Clarke S R, Sun J H. 2007. Acaricidal activity of *Juglans regia* leaf extracts on *Tetranychus viennensis* and *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology*, 100 (4): 1298 - 1303.
- Wang Y N, Wang H X, Shen Z J, Zhao L L, Clarke S R, Sun J H, Du Y Y, Shi G L. 2009. Methyl palmitate, an acaricidal compound occurring in green walnut husks. *Journal of Economic Entomology*, 102 (1): 196 - 202.
- Wang Ya-wei, Zhang Guo-zhou, Xu Han-hong, Zhao Shan-huan. 2004. Separation and identification of extraction of *Stellera Chamaejasme*. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 32 (4): 671 - 672. (in Chinese)
- 王亚维, 张国洲, 徐汉虹, 赵善欢. 2004. 瑞香狼毒杀虫活性成分的提取与分离. *安徽农业科学*, 32 (4): 671 - 672.
- Wei Li-juan, Zhou Jin-pei, Dai Yue. 2009. Progress in the study of natural product scopoletin. *Strait Pharmaceutical Journal*, 21 (4): 10 - 13. (in Chinese)
- 魏丽娟, 周金培, 戴 岳. 2009. 天然产物东莨菪素的研究进展. *海峡药学*, 21 (4): 10 - 13.
- Yu Bao-qing, Xu Wei-chang. 2008. Advances chemical constituents and activity studies on *Stellera chamaejasme* L. *Agrochemicals*, 47 (12): 863 - 866, 895. (in Chinese)
- 于保青, 胥维昌. 2008. 瑞香狼毒化学成分及活性的研究进展. *农药*, 47 (12): 863 - 866, 895.
- Zhang Guo-zhou, Xu Han-hong, Zhao Shan-huan, Wang Ya-wei. 2000. Separation and identification of insecticidal extracts of *Stellera chamaejasme*. *Journal of Hubei Agricultural College*, 20 (1): 19 - 22. (in Chinese)
- 张国洲, 徐汉虹, 赵善欢, 王亚维. 2000. 瑞香狼毒根提取物杀虫活性成分的分离与鉴定. *湖北农学院学报*, 20 (1): 19 - 22.
- Zhang Jian, Lin Yu-ying, Kong Ling-yi. 2004. Studies on the chemical constituents of *Artemisia selengensis* Turcz. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 35 (9): 979 - 980. (in Chinese)
- 张 健, 林玉英, 孔令义. 2004. 萎蒿的化学成分研究. *中草药*, 35 (9): 979 - 980.
- Zhang Yong-qiang. 2008. Studies on Acaricidal action mechanism and bio-guided isolation of bioactive substance from *Artemisia Annuu* L. [Ph. D. Dissertation]. Chongqing: Southwest University. (in Chinese)
- 张永强. 2008. 黄花蒿杀螨物质活性追踪及杀螨作用机理研究[博士论文]. 重庆: 西南大学.