

# 杠柳叶的化学成分及其粗提物杀虫活性研究

陈 玲<sup>1</sup>, 马养民<sup>1,2\*</sup>, 史清华<sup>3</sup>, 童小翠<sup>1</sup>, 姜少娟<sup>1</sup>

(1. 西北农林科技大学 生命科学院, 陕西 杨陵 712100; 2. 陕西科技大学 化学与化工学院, 陕西 咸阳 712081;  
3. 西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨陵 712100)

**摘 要:**通过对杠柳叶的化学成分系统预试, 检测出杠柳叶中存在酚性成分、有机酸、皂苷、黄酮类及其苷类、植物甾醇、三萜类化合物。同时以生物活性跟踪法测定了杠柳叶萃取物对三龄粘虫和菊小长管蚜的杀虫活性。结果表明, 乙酸乙酯萃取物的活性最高。乙酸乙酯萃取物经硅胶柱层析分离后 F3 组分的触杀活性最高, 72 h 对粘虫触杀  $LC_{50}$  是  $2.903\ 2\ \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 24 h 对蚜虫触杀的  $LC_{50}$  为  $0.526\ 3\ \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

**关键词:**杠柳; 系统预试; 提取物; 杀虫活性

**中图分类号:**S793.908

**文献标识码:**A

**文章编号:**1001-7461(2007)02-0142-04

## Chemical Composition and Insecticidal Activity of Extracts from *Periploca sepium* Leaves

CHEN Ling<sup>1</sup>, MA Yang-min<sup>1,2,\*</sup>, SHI Qing-hua<sup>3</sup>, TONG Xiao-cui<sup>1</sup>, JIANG Shao-juan<sup>1</sup>

(1. College of Life Science, Northwest A & F University; 2. College of Chemistry & Chemical Engineering,

Shaanxi University of Science & Technology, Xianyang, Shaanxi 712081 China;

3. College of Forestry, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** Through preliminary systematic test on chemical composition of *Periploca sepium* leaves, it was found that the leaves contained phenols, organic acids, saponins, flavonoids and its glycosides, steroids, and triterpenoids. Meanwhile, insecticidal activities of the extracts from *P. sepium* leaves against *Mythimn separate* and *Macrosiphoniella sanborni* were measured by bioactivity-guided separation. The results showed that ethyl acetate fraction was more active than others. After ethyl acetate fraction was separated in the silica gel column, fraction No. 3 exhibited the strongest contact toxicity with  $LC_{50}$   $2.903\ 2\ \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  in 72 hours against *M. separate*, and  $0.526\ 3\ \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  in 24 hours against *M. sanborni*.

**Key words:** *Periploca sepium*; preliminary systematic test; extraction; insecticidal activity

杠柳(*Periploca sepium*)系萝藦科杠柳属植物, 藤状灌木, 分布于亚洲温带地区、欧洲南部和热带非洲。全世界约有 12 种, 我国产 4 种, 分布于东北、华北、西北、西南及广西、湖南、湖北、河南等省区<sup>[1]</sup>。杠柳的根皮和茎皮可供药用, 能祛风湿、壮筋骨强腰膝、治风寒湿痹、腰腿关节疼痛等, 但不宜久服, 以免中毒<sup>[2]</sup>。目前关于杠柳的研究主要集中在其根茎部分的化学成分和药理、杀虫活性方面<sup>[3-8]</sup>。对其叶的研究较少, 为了进一步开发和利用杠柳这一丰富的植物资源, 对杠柳叶的化学成分进行了系统预试, 并对其提取分离物的杀虫活性进行了初步的跟踪研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

杠柳叶于 2003 年 7 月采自周至楼观台, 树龄 2~3 年生, 生长健康、无病害。室内风干, 粉碎备用。

### 1.2 实验对象

3 龄粘虫(*Mythimn separata*), 由西北农林科技大学无公害农药研究服务中心提供。

菊小长管蚜(*Macrosiphoniella sanborni*), 采自西北农林科技大学田间, 挑选虫龄一致, 体形大小均匀的无翅蚜虫。

收稿日期: 2006-07-21 修回日期: 2006-09-13

基金项目: 陕西省自然科学基金(2003C125)、国家林业局黄土高原林木培育重点实验室基金(K03-01)

作者简介: 陈玲(1981-), 女, 河南郸城人, 在读硕士, 主要从事天然产物化学方面的研究。

\* 通讯作者: 马养民(1963-), 男, 陕西乾县人, 教授, 博士, 主要从事天然产物化学及有机合成方面的研究。E-mail: mym63@sina.com

1.3 化学成分系统预试

采用试管预试法和圆形滤纸层析法进行化学成分系统预试<sup>[9]</sup>。检测项目包括酚性成分、有机酸、生物碱、氨基酸、多肽和蛋白质、糖、多糖和苷类、皂苷、黄酮类及其苷类、蒽酮及其苷类、强心苷、内酯、香豆素及其苷类、植物甾醇、三萜类、挥发油、油脂。

1.4 杠柳叶提取物的制备

1.4.1 杠柳叶乙醇浸膏的制备 称取杠柳叶 3.9 kg, 用 95%乙醇冷浸 48 h, 在旋转蒸发仪上减压浓缩, 回收乙醇, 重复浸提 5 次, 制得粗提物。

1.4.2 不同溶剂萃取物的制备 将粗提物悬浮于 800 mL 水中, 依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取、浓缩、干燥, 得到石油醚萃取物 A(42.0 g)、乙酸乙酯萃取物 B(47.0 g)、正丁醇萃取物 C(47.3 g)、水相 D(132.5 g) 4 种萃取物。

1.4.3 柱层析分离组分的制备 将乙酸乙酯萃取物 B(47.0 g) 用硅胶柱层析, 用氯仿-甲醇为洗脱系统进行梯度洗脱(体积比为 1:0、20:1、10:1、5:1、2:1、1:1、0:1) 得到 F1~F7 共 7 个部分。

1.5 生物活性的测定

1.5.1 杠柳叶提取物对粘虫的杀虫活性测定

1.5.1.1 触杀活性

采用点滴法<sup>[10]</sup>。用 10 μL 注射器将药液点滴在 3 龄粘虫前胸背板上, 点滴量为 1 μL。对照为丙酮(下同)。点滴后每 10 头幼虫置于同一保湿培养皿中, 饲以新鲜小麦叶, 72 h 后调查死亡数。每处理重复 3 次。死亡标准为虫体失水皱缩, 无法取食, 触之不动。计算死亡率、校正死亡率<sup>[10]</sup>;

死亡率(%) = (试虫死亡数/供试总虫数 × 100)%;

校正死亡率(%) = [(处理死亡率 - 对照死亡率)/(100 - 对照死亡率) × 100]%。

1.5.1.2 拒食及胃毒活性

采用小叶碟添加法<sup>[11]</sup>。将 1 cm × 2 cm 的小麦叶片在药液(每 10 mL 药液加 10% 的吐温-二甲苯 1 滴, 下同)中浸渍 2 s, 待溶剂自然晾干后, 转入垫有保湿滤纸的培养皿中, 每皿 10 片。将已饥饿 12 h 的 3 龄粘虫接入培养皿中, 每皿 10 头, 每处理重复 3 次。24 h 后用坐标法测取食面积, 48 h 后更换无毒新鲜小麦叶, 72 h 后调查死亡数、死亡率、校正死亡率(计算方法同上)。

拒食率(%) = [(对照组试虫取食面积 - 处理组试虫取食面积)/对照组试虫取食面积 × 100]%。

1.5.2 杠柳叶提取物对蚜虫的触杀活性测定 采用点滴法<sup>[12]</sup>。用毛笔挑选大小一致、均匀的无翅蚜虫, 用 10 μL 注射器将药液点滴在蚜虫前胸背板上,

点滴量为 1 μL。点滴后置于垫有保湿滤纸的培养皿上, 24 h 后调查死亡数, 计算死亡率和校正死亡率(方法同上)。每皿 30~50 头试虫, 每处理重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 化学成分系统预试结果

表 1 表明, 杠柳叶中存在酚性成分、有机酸、皂苷、黄酮类及其苷类、植物甾醇、三萜类化合物。可能含有生物碱、糖、多糖和苷类、强心苷、内酯、香豆素及其苷类。由于试管预试法是利用植物中各类成分溶解度的差异, 选用适当的溶剂将一类溶解度相近的成分提出, 再对提取液做一些特异的颜色反应或沉淀反应, 初步判定其所含成分, 本试验的材料是杠柳叶, 含植物色素较多, 其颜色反应不易观察, 故有时影响实验结果的正确判断。圆形滤纸层析法是用层析方法将植物粗提取液中的成分在纸上展开, 利用各种显色剂显色, 来检查所含的成分, 这种方法简便、快速、用量少, 但也存在前述的缺点。总之预试验只能提供初步的线索不能完全肯定或否定某种成分的存在。本研究以 2 种检测方法均为阳性结果者确定为有, 均为阴性结果者确定为无, 其中之一为阳性者认为可能有。

表 1 杠柳叶化学成分预试结果

Table 1 The results of systematic preliminary test on chemical constituents from *P. sepium* leaves

成分	A (试管法)	B (圆形滤纸法)
酚性成分	+	+
有机酸	+	+
生物碱	+	—
氨基酸、多肽和蛋白质	—	—
糖、多糖和苷类	+	
皂苷	+	+
黄酮类及其苷类	+	+
强心苷	+	—
内酯、香豆素或其苷类	+	—
植物甾醇、三萜成分	+	+
蒽酮及其苷类	—	—
挥发油、油脂	—	—

注: “+”表示阳性反应, “—”表示阴性反映。

2.2 不同溶剂萃取物的活性

2.2.1 4 种萃取物 A、B、C、D 对三龄粘虫的生物活性 取各萃取物适量。配成浓度为 1.0、2.0、10.0 mg · mL<sup>-1</sup> 的丙酮溶液(用于触杀活性)和 20% 的丙酮水溶液(用于胃毒和拒食活性), 测试其活性。由图 1、图 2 可知, 4 种萃取物 A、B、C、D 对三龄粘虫均有一定的触杀活性和胃毒活性, 随着样品浓度的的升

高,校正死亡率逐渐增加。其中B的胃毒活性高于其他相,D的触杀活性高于其他相,但在2.0 mg · mL<sup>-1</sup>以后校正死亡率没有上升趋势,而B在10.0 mg · mL<sup>-1</sup>后校正死亡率则有超过水相的趋

势。  
4种萃取物A、B、C、D对三龄粘虫的拒食率分别为64.6%、99.8%、22.5%、59.2%。B对三龄粘虫的拒食活性较高,拒食率为99.8%。

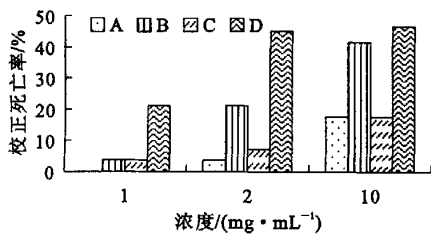


图1 红柳叶不同溶剂萃取物对粘虫的触杀活性  
Fig.1 Contact poison activity of different extracts of leaves form *P. sepium* against *M. separate*

2.2.2 4种萃取物A、B、C、D对蚜虫的触杀活性  
取各萃取物适量,配成浓度为1.0、2.0、10.0 mg · mL<sup>-1</sup>的丙酮溶液,测试其活性。图3结果表明,红柳叶不同溶剂萃取物A、B、C、D对蚜虫有较高的触杀活性,A、B、C3种萃取物浓度为10.0 mg · mL<sup>-1</sup>时对蚜虫的触杀活性最好,其校正死亡率分别为69.2%、63.0%、65.2%,随着样品浓度的降低,其死亡率逐渐降低,但是B部分降低的不太明显,浓度为1.0 mg · mL<sup>-1</sup>时其校正死亡率仍有39.4%。综合比较图2、图3可以看出,红柳叶杀虫活性成分主要集中在乙酸乙酯萃取物B部分。

2.3 柱层析各组分的活性

将活性较强的乙酸乙酯萃取物B进一步用硅胶柱层析,得F1~F7各组分,取上述各部分用丙酮配成浓度为10.0(用于粘虫)、5.0 mg · mL<sup>-1</sup>的药液(用于蚜虫),跟踪测试其活性。

2.3.1 柱层析各组分对3龄粘虫的触杀活性、胃毒活性和拒食作用  
由表2可以看出,F1~F7各组分

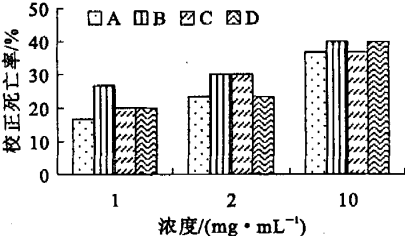


图2 红柳叶不同溶剂萃取物对粘虫的胃毒活性  
Fig.2 Insecticidal activity of different extracts of leaves form *P. sepium* against *M. separate*

对三龄粘虫有一定的触杀活性,其中F3的触杀活性最高,处理72 h后校正死亡率为67.9%,而对3龄粘虫的胃毒和拒食活性较低。

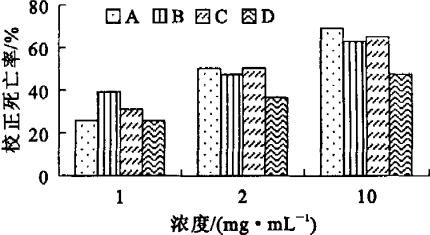


图3 红柳叶不同溶剂萃取物对蚜虫的触杀活性  
Fig.3 Contact poison activity of different extracts of leaves from *P. sepium* against *M. sanborni*

2.3.2 柱层析各组分对蚜虫的触杀活性  
表3表明,F3、F4组分对蚜虫的触杀活性最高,处理24 h后其校正死亡率分别为78.5%、63.2%,F1、F2、F5~F7这5个组分对蚜虫的触杀活性较低,均小于50.0%。结合表2可以看出,F3组分的触杀活性最高。

表2 柱层析各组分对粘虫的触杀活性、胃毒活性和拒食作用

Table 4 Contact poison activity,insecticidal activity,antifeedant activity of different fractions from extract B after column chromatography against *M. separata*

/%

处理		F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	CK
触杀活性	死亡率	63.3	43.3	70.0	66.7	63.3	20.0	20.0	6.7
	校正死亡率	60.7	39.2	67.9	64.3	60.7	14.3	14.3	
胃毒活性	死亡率	13.8	17.2	14.3	21.2	20.0	39.3	26.7	6.7
	校正死亡率	7.6	11.3	8.2	15.6	14.3	34.9	21.5	
拒食活性	拒食率	31.4	16.5	37.0	21.3	11.0	29.1	7.5	

表3 柱层析各组分对蚜虫的触杀活性

Table 5 Contact poison activity of different fractions from extract after column chromatography against *M. sanborni*

处理	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	CK(丙酮)
死亡率	41.1	47.9	79.4	64.7	44.3	41.2	36.8	4.2
校正死亡率	38.5	45.6	78.5	63.2	41.8	38.6	34.0	

2.3.3 F3 组分系列浓度对粘虫和蚜虫的触杀活性  
将触杀活性最高的 F3 配成 10.000、5.000、2.500、1.250、0.625 mg · mL<sup>-1</sup> 5 个浓度的丙酮溶液,检测各浓度对粘虫的触杀活性;将 F3 配成 5.000、2.500、1.250、0.625、0.156 mg · mL<sup>-1</sup> 5 个浓度的丙酮溶液,检测各浓度对蚜虫的触杀活性。

由表 4、表 5 可知,F3 组分对蚜虫的触杀活性较强,其 24 h 对蚜虫的致死中浓度(LC<sub>50</sub>)是 0.526 3 mg · mL<sup>-1</sup>, F3 组分 72 h 对粘虫的致死中浓度(LC<sub>50</sub>)是 2.903 2 mg · mL<sup>-1</sup>。

表 4 F3 组分系列浓度 72 h 后对粘虫触杀活性结果

Table 4 Contact poison activity of a series of fraction No. 3 against *M. separate* after 72 h

浓度 /(mg · mL <sup>-1</sup> )	log(C×100) (X)	死亡率 %	校正死亡 率/%	死亡机率 值(Y)
10.000	1.000 0	70.0	67.9	5.463 7
5.000	0.699 0	60.7	57.9	5.199 5
2.500	0.397 9	57.1	54.0	5.102 5
1.250	0.096 9	36.7	32.2	4.536 3
0.625	-0.204 1	32.1	27.2	4.396 1
CK		6.7		
回归模型 Y=4.569 7+0.929 6X				
相关系数 r=0.973 2				
LC <sub>50</sub> 数据 2.903 2				

表 5 F3 组分系列浓度 24 h 后对蚜虫触杀活性结果

Table 6 Contact poison activity of a series of fraction No. 3 against *M. sanborni* after 24 h

浓度 /(mg · mL <sup>-1</sup> )	log(C×100) (X)	死亡率 /%	校正死亡 率/%	死亡机率 值(Y)
5.000	0.699 0	79.4	78.5	5.789 4
2.500	0.397 9	72.0	70.7	5.545 5
1.250	0.096 9	63.0	61.4	5.289 1
0.625	-0.204 1	54.0	52.0	5.049 6
0.156	-0.806 2	36.8	34.0	4.587 9
CK		4.2		
回归模型 Y=5.223 0+0.799 8X				
相关系数 r=0.999 8				
LC <sub>50</sub> 0.526 3				

3 结论与讨论

乙酸乙酯萃取物 B 经硅胶柱层析分离后,F3 组

分对粘虫和蚜虫的触杀活性高于乙酸乙酯,F1、F2、F4~F7 部分,说明杀虫活性成分主要集中在 F3 组分中。杠柳叶粗提物对粘虫的杀虫活性表现在触杀、胃毒和拒食活性方面,其中乙酸乙酯萃取物 B 部分对粘虫的拒食率较高,但是乙酸乙酯萃取物 B 部分经硅胶柱分离后对粘虫的胃毒和拒食活性明显降低,这可能是具有胃毒和拒食活性的乙酸乙酯部分由于各活性成分之间存在不同程度的交互作用,在分离后交互作用减少,从而作用效果受到影响。

本实验只做了杠柳叶提取分离物对粘虫和蚜虫的生物活性,结果表明,F3 组分对粘虫和蚜虫都具有较高的触杀活性。F3 组分经 TLC 检测含有黄酮、甾体等,但是对于具体的具有较高杀虫活性的化合物的分离正在进一步研究中。

参考文献:

[1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社,1977. 63-272.

[2] 中国科学院西北植物研究所. 秦岭植物志(第一卷)种子植物(第四册) [M]. 北京: 科学出版社,1983. 135.

[3] Xu J, Takeya K, Itokawa H. Pregnanes and cardenolides from *Periploca sepium* [J]. Phytochemistry, 1990, 29(1): 344-346.

[4] Xu J, Takeya K. Antitumor fraction from *Periploca sepium* [J]. Chem. Pharm. Bull, 1987, 35(11): 4524-4529.

[5] 李洪刚,李广义. 杠柳属植物研究概况[J]. 中草药, 1992, 23(8): 150-158.

[6] 张援虎,王锋鹏. 杠柳属植物化学成分研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2003, 15(2): 157-161.

[7] 朱九生,乔雄梧,王静,等. 杠柳根皮乙醇粗提液对菜青虫的拒食作用及其防治效果[J]. 昆虫知识, 2004, (6): 548-552.

[8] 朱九生,乔雄梧,王静,等. 杠柳的不同溶剂提取分离物对小菜蛾幼虫的拒食和毒杀作用[J]. 农药学报, 2004, (2): 48-52.

[9] 中国医学科学院药物研究所. 中草药有效成分的研究(第一分册)提取、分离、鉴定和含量测定[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1972. 11-24.

[10] 吴文君. 天然产物杀虫剂-原理、方法、实践[M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1998.

[11] 张兴,潘文亮. 缓效型杀虫剂室内生物测定的药效计算和评价[J]. 农业新技术, 1989, (3): 6-10.

[12] 吴文君,刘惠霞,朱靖博,等. 天然产物杀虫剂[M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1997. 1126-1271.