

九牛造杀虫活性成分研究

原春兰, 郭进宝

(宝鸡文理学院化学化工系, 陕西 宝鸡 721007)

Biological and insecticidal activity of extracts from *Euphorbia hylonomia* YUAN Chun-lan, GUO Jin-bao
(Department of Chemistry and Chemical Engineering, Baoji University of Arts and Science, Baoji 721007, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2005, 14(3): 59–60

Abstract: By means of the reflux extracting and the systemic solvent separating method, the active parts were obtained from *Euphorbia hylonomia* Hand.-Mazz. Their bioactivity against armyworm, *Leucania separata* Walker, were determined by the conventional leaf disk method. The results indicated that petroleum ether and benzene extracts had strong antifeeding property and killing function on the 3rd larvae of armyworm, their antifeeding rate and mortality of 72 h were 100.0%, 100.0% and 80.0%, 83.3% respectively, which means that the substances having bioactivity were non-polar. Four kinds of component were obtained from its benzene extracts by column chromatography, except No. 4 extract, the antifeeding rate of others in 72 h were all over 50% in 0.1% concentration.

关键词: 九牛造; 生物活性; 活性成分

Key words: *Euphorbia hylonomia* Hand.-Mazz.; bioactivity; active component

中图分类号: S482.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0978(2005)03-0059-02

无公害农药具有杀虫活性高、无污染、与环境相容性好等特点, 开发此类农药具有重要意义^[1,2]。中国秦岭山脉蕴藏着大量具有毒性的天然植物, 通过对秦岭太白山区上百种植物的排查、筛选, 发现资源分布丰富的中草药九牛造(*Euphorbia hylonomia* Hand.-Mazz.)对粘虫(*Leucania separata* Walker)具有较强的毒杀作用。为了获得经济实用、高效安全的植物杀虫剂, 有必要研究其杀虫活性及作用机理。

九牛造, 别名五朵云、翻天印、震天雷, 为大戟科(Euphorbiaceae)大戟属(*Euphorbia* Linn.)植物湖北大戟(九牛造)的干燥根皮, 以根或地上部分入药。根具有通便利水、消积破瘀、止痛的功效, 用于治疗大便不通, 肝硬化腹水, 瘀血作痛等; 地上部分有止血、止痛、生肌之功效, 适用于外伤^[3]。作为天然农药尚未见有研究报道^[4]。本文对九牛造的杀虫活性成分进行了提取分离, 并对其生物活性进行了测定, 旨在为开发和利用这一杀虫植物资源提供理论依据和应用基础。

1 材料和方法

1.1 材料

九牛造采自陕西太白山, 风干, 磨成粉, 备用。供试粘虫为3龄幼虫, 由西北农林科技大学无公害农药研究服务中心提供并测试。

1.2 方法

1.2.1 九牛造提取物的分离 九牛造粗粉400 g, 加入适量甲醇浸泡24 h后, 用4 000 mL甲醇分3次回流提取, 抽滤, 合并滤液, 出现浅黄色菊花状结晶, 放置16 h, 过滤, 甲醇重结晶2次, 得柱状晶体A。滤液用旋转蒸发仪蒸去溶剂浓

缩至30 mL, 得甲醇提取物。将上述提取物加230 mL水悬浮, 采用系统溶剂分离法^[5]进行分离, 依次用石油醚、苯、氯仿萃取3~4次, 每次150 mL, 萃取物挥发掉部分溶剂浓缩至30 mL分别得到石油醚萃取物、苯萃取物和氯仿萃取物。

1.2.2 杀虫活性测定方法 采用小叶碟添加法^[6]分别测定供试样品对粘虫3龄幼虫的毒杀活性, 并用相应的溶剂作对照。

将新鲜的面积约1 cm²的小麦(*Triticum aestivum* Linn.)叶片在药液中浸1~2 s, 取出置于室温晾干, 备用。每处理重复3次, 每重复10头试虫, 将各处理试虫置于养虫室[温度(25±1)℃, 相对湿度70%~80%, 每天光照12 h]中, 分别在24、48和72 h检查试虫取食情况并分级记录, 同时记录试虫死亡情况, 计算拒食率和死亡率。拒食率为对照取食指数与处理取食指数的差占对照取食指数的百分比; 死亡率为死亡虫数占参试总虫数的百分比。

1.2.3 九牛造苯提取物的柱层析 九牛造粗粉1.0 kg, 加入10 L苯分3次回流提取, 每次1.5 h, 抽滤, 合并滤液, 浓缩至30 mL, 装样, 上柱, 以V(环己烷):V(乙酸乙酯)=25:1为展开剂对样品进行硅胶G柱层析, 分离获得4种碘蒸气显色成分(以J₁、J₂、J₃及J₄表示, d_f值分别为0.67、0.53、0.48和0.32), 得率分别为J₁ 0.031 g、J₂ 0.20 g、J₃ 0.38 g和J₄ 0.27 g。用小叶碟添加法测定它们在浓度为0.1%时的

收稿日期: 2004-11-23

基金项目: 陕西省自然科学基金资助项目(2002B22)和陕西省重点实验室重点科研项目(04JS37)

作者简介: 原春兰(1962-), 女, 河南温县人, 本科, 副教授, 主要从事生物振荡及中草药研究。

生物活性。

2 结果和讨论

2.1 不同溶剂提取物和萃取物对粘虫幼虫的活性测定

经系统溶剂分离获得的供试样品在浓度为 0.1% 时的活性测定结果见表 1。

由表 1 可以看出,采用系统溶剂分离获得的石油醚萃取物和苯萃取物对粘虫 3 龄幼虫有较强的拒食和毒杀活性,其 72 h 拒食率和死亡率分别为 100.0% 和 100.0% 及 80.0% 和 83.3%;氯仿萃取物对粘虫的活性主要表现为拒食作用,毒

杀作用较小,其 72 h 拒食率为 87.2%,死亡率仅为 30.0%。说明九牛造中活性成分主要为极性较小的物质。为此用苯作提取剂,再对苯提取物进行柱层析。

2.2 九牛造苯提取物的柱层析及活性测定结果

九牛造苯提取物柱层析所得 4 种物质 J₁、J₂、J₃ 和 J₄ 的生物活性测定结果见表 2。

从表 2 可以看出,在供试剂量下(0.1%),4 种柱层析分离物除分离物 J₄ 外,其余 3 种样品都对粘虫 3 龄幼虫有一定的拒食活性,72 h 拒食率均高于 50%。若剂量提高,可能会对粘虫具有较强的胃毒毒杀活性。

表 1 0.1% 九牛造系统溶剂分离物对粘虫 3 龄幼虫的生物活性测定结果¹⁾

Table 1 The bioactivities of extracts (0.1%) from *Euphorbia hyaloinoma* Hand.-Mazz. to 3rd armyworm, *Leucania separata* Walker¹⁾

样品 Sample		拒食率/% Antifeeding rate			死亡率/% Mortality		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
甲醇提取物 Methanol extracts		71.0	64.7	61.1	0.0	13.3	30.0
CK ₁ (甲醇 Methanol)		-	-	-	6.7	6.7	6.7
石油醚萃取物 Petroleum ether extracts		100.0	100.0	100.0	13.3	23.3	80.0
CK ₂ (石油醚 Petroleum ether)		-	-	-	3.3	13.3	13.3
苯萃取物 Benzene extracts		100.0	100.0	100.0	0	16.7	83.3
CK ₃ (苯 Benzene)		-	-	-	3.3	3.3	6.7
氯仿萃取物 Chloroform extracts		93.3	92.6	87.2	0	10.0	30.0
CK ₄ (氯仿 Chloroform)		-	-	-	0.0	0.0	0.0

¹⁾ 每个样品用 30 头粘虫 3 龄幼虫 Each sample with 30 tested 3rd armyworm, *L. separata* Walker. - : 无拒食活性 No antifeeding activity.

表 2 九牛造苯提取物的柱层析分离物(0.1%)对粘虫 3 龄幼虫的生物活性检测结果

Table 2 The bioactivities of samples (0.1%) by column chromatography of benzene extracts from *Euphorbia hyaloinoma* Hand.-Mazz. to 3rd armyworm, *Leucania separata* Walker

样品 Sample	d _f	试虫数 Number of armyworm	拒食率/% Antifeeding rate			死亡率/% Mortality 72 h
			24 h	48 h	72 h	
J ₁	0.67	30	63.1	35.7	56.4	0
J ₂	0.53	29	46.9	32.1	55.9	0
J ₃	0.48	32	62.6	40.1	52.7	0
J ₄	0.32	27	38.0	35.6	43.4	0

3 结论

由上述实验结果可以看出,九牛造的石油醚和苯提取物对粘虫 3 龄幼虫具有较强的毒杀活性,杀虫活性物质主要是极性较小的成分。经柱层析获得 4 种成分,在浓度为 0.1%

时对粘虫 3 龄幼虫具有一定的拒食活性。下一步将研究其结晶条件,以期通过光谱数据确定活性物质的结构,为将九牛造开发成为新的天然植物农药提供实验和理论数据。

参考文献:

- [1] 刘长令. 植物杀虫剂前景广阔[J]. 世界农业, 1998(5): 36-37.
- [2] 梁文平, 郑斐能, 王仪, 等. 21 世纪农药发展的趋势: 绿色农药与绿色农药制剂[J]. 农药, 1999, 38(9): 1-2.
- [3] 宝鸡市卫生局. 太白山本草志[M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1993.
- [4] 郭增军, 朱蓉, 吕居娴, 等. 九牛造化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 1995, 20(12): 744-745.
- [5] 张继杰. 天然药物化学[M]. 北京: 人民出版社, 1997.
- [6] 吴文君, 刘惠霞, 朱靖博, 等. 天然产物杀虫剂——原理、方法和实践[M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1998.

(责任编辑:张垂胜)