

马铃薯花杀螨活性成分分离、鉴定及其杀螨活性

王玉灵, 胡冠芳*, 牛树君*, 余海涛, 赵峰

(甘肃省农业科学院 植物保护研究所, 兰州 730070)

摘要: 以马铃薯花乙酸乙酯粗提物为分离对象, 以朱砂叶螨 *Tetranychus cinnabarinus* 等 4 种叶螨为供试靶标, 采用生物活性追踪法, 分离得到 2 种具有杀螨活性的化合物 (**6a** 和 **2'a**)。依据质谱、核磁共振氢谱和碳谱, 并结合相关文献数据鉴定了其化学结构, 分别为江户樱花苷 (5, 7, 4'-三羟基二氢黄酮-7-O- β -D-吡喃葡萄糖苷)(**6a**) 和 α -卡茄碱 (**2'a**), 前者系首次从茄科植物马铃薯中分离得到。采用玻片浸渍法测定了 2 个化合物对朱砂叶螨等 4 种叶螨的触杀活性。结果表明, 化合物 **6a**(江户樱花苷) 对朱砂叶螨、二斑叶螨 *T. urticae* 和山楂叶螨 *T. viennensis* 24 h LC₅₀ 值分别为 461.98、338.76 和 732.08 mg/L, 其触杀活性强于对照药剂鱼藤酮, 相对毒力分别为鱼藤酮的 1.17、1.52 和 3.07 倍; 化合物 **2'a**(α -卡茄碱) 对二斑叶螨和山楂叶螨 24 h LC₅₀ 分别为 480.79 和 834.98 mg/L, 相对毒力分别为鱼藤酮的 1.07 和 2.69 倍。可见, 江户樱花苷和 α -卡茄碱具有一定的杀螨活性和潜在的应用价值。

关键词: 植物源农药; 马铃薯花; 活性成分; 分离鉴定; 江户樱花苷; 卡茄碱; 杀螨活性
中图分类号: S482.5; TQ458.2 文献标志码: A 文章编号: 1008-7303(2019)01-0019-07

Separation and identification of activity ingredients in potato flowers and their acaricidal activities

WANG Yuling, HU Guanfang*, NIU Shujun*, YU Haitao, ZHAO Feng
(Institute of Plant Protection, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730070, China)

Abstract: Two compounds, **6a** and **2'a**, with acaricidal activities against four species of mites using bioassay-guided methods were isolated from the ethyl acetate extract of potato flowers. These two compounds were identified as prunin (5, 7, 4'-trihydroxyflavanone-7-O- β -D-glucopyranoside) (**6a**) and α -chaconine (**2'a**) by mass spectrometry, ¹³C and ¹H nuclear magnetic resonance (NMR) and comparison with data from literatures. The former was first isolated from the Solanaceae plant potato. We determined the contact acaricidal activities of prunin and α -chaconine against four species of mites by slide-dip method and the results demonstrated that these compounds were more effective compared to pesticide rotenone, which was the positive control. The 24 h LC₅₀ for prunin against *Tetranychus cinnabarinus*, *T. urticae* and *T. viennensis* were 461.98, 338.76 and 732.08 mg/L, respectively, which

收稿日期: 2018-05-07; 录用日期: 2018-11-07.

基金项目: 甘肃省农业科学院中青年基金 (2018GAAS09); 国家地区科学基金 (31660540); 植物病虫害生物学国家重点实验室开放基金课题 (SKLOF201712); 甘肃省农业科学院《农药与杂草创新团队》(2017GAAS24); 国家重点研发计划子课题《马铃薯有害生物防控农药雾化技术及参数优化验证》(2017YFD020030304).

作者简介: 王玉灵, 女, 研究实习员, 主要从事植物源农药研究, E-mail: wylb1116@163.com; *胡冠芳, 通信作者 (Author for correspondence), 研究员, 主要从事植物源农药研究, E-mail: huguanfang@126.com; 牛树君, 共同通信作者 (Co-author for correspondence), 助理研究员, 主要从事植物源农药研究, E-mail: niu.shujun@163.com

were 1.17, 1.52 and 3.07 times more active than rotenone, respectively. The 24 h LC_{50} for α -chaconine against *T. urticae* and *T. viennensis* were 480.79 and 834.98 mg/L, respectively, the relative toxicity are 1.07 and 2.69 times higher compared to rotenone, respectively. Obviously, prunin and α -chaconine have acaricidal activities and potential application value.

Keywords: botanical pesticides; potato flowers; active ingredients; separation and identification; prunin; chaconine; acaricidal activity

马铃薯 *Solanum tuberosum* 属茄科 (Solanaceae) 茄属 (*Solanum*) 一年生草本植物。已有研究证实, 马铃薯块茎在发芽过程中可产生一种具有复杂含氮杂环的碱性天然毒素——糖苷生物碱, 它是马铃薯在协同进化过程中机体自身产生的针对病原体、昆虫、寄生虫和食肉动物的具有天然防御作用的次生代谢产物, 主要为茄碱 (solanine) 和卡茄碱 (chaconine) 2 类, 占其总含量的 90% 以上^[1]。诸多研究表明, 糖苷生物碱对丽蝇科幼虫等昆虫具有拒食作用^[2], 其中茄碱和卡茄碱具有抵御昆虫侵袭的作用^[3], 对蜗牛 *Helix aspersa* 也有驱食作用^[4]。此外, 也有研究表明: 茄碱和卡茄碱还具有抗真菌活性^[5-7], 将茄碱和卡茄碱混合使用还具有协同抗真菌效应^[8-10]。

笔者在进行马铃薯代谢物毒性研究中发现, 马铃薯花的提取物具有一定的杀螨活性。马铃薯花是马铃薯生产的下游植物资源, 在马铃薯开花时需摘除花茎, 以利于薯块膨大生长。目前关于马铃薯花提取物对农业害虫 (螨) 的生物活性研究报道甚少。胡冠芳等^[11]、郭致杰等^[12]及王玉灵等^[13]测定了庄薯 3 号马铃薯花乙酸乙酯粗提物的杀虫活性。结果表明, 其对粘虫 *Mythimna separate*、小菜蛾 *Plutella xylostella* 等 5 种鳞翅目幼虫以及萝卜蚜 *Lipaphis erysimi* 具有很强或较强的触杀作用, 但并未对其有效成分进行分离鉴定, 也未见有关其杀螨活性的报道。鉴于此, 笔者对马铃薯花的乙酸乙酯粗提物进行了初步分离, 并以 4 种叶螨为供试靶标, 采用生物活性追踪法对其杀螨活性成分进行了分离鉴定。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 植物材料 庄薯 3 号马铃薯盛花期之花于 2016 年 7 月采自甘肃省渭源县会川镇, 室内自然阴干, 粉碎后过 380 μm 孔径筛, 室温下保存备用。

1.1.2 试剂与仪器 江户樱花苷 (prunin, 纯度 98%)、 α -卡茄碱 (α -chaconine, 纯度 98%) 和鱼藤酮 (rotenone, 纯度 99%) 标准品均购于百灵威科技有限公司。柱层析硅胶 (48~75 μm)、薄层层析硅胶 (GF₂₅₄) 和聚酰胺树脂 (250~270 μm) 均由青岛海洋化工有限公司生产。其余试剂均为分析纯。

Bruker APEX II 质谱仪和 Bruker DRX400 核磁共振波谱仪, 德国 Bruker 公司生产; X-4 型显微熔点仪 (温度未校正), 上海精密科学仪器有限公司生产; ZF7-C 三用紫外分析仪, 上海康华生化仪器制造有限公司生产; TSQ Quantum LC/MS 液质联用仪, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司生产。

1.1.3 供试叶螨 朱砂叶螨 *Tetranychus cinnabarinus*、二斑叶螨 *T. urticae*、截形叶螨 *T. truncatus* 和山楂叶螨 *T. viennensis*, 均采自甘肃省农业科学院未施药的大豆、菜豆或桃树、苹果树叶片上。

1.2 化合物的分离鉴定方法

1.2.1 活性化合物提取与分离 称取马铃薯花粉末 25 kg, 用乙醇浸提 3 次 (浸提时间分别为 72、48、24 h), 过滤, 合并滤液, 减压浓缩至干, 得到 1 150 g 乙醇粗提物浸膏 (1a)。将该浸膏 575 g 悬浮于 1 500 mL 蒸馏水中, 依次用石油醚、乙酸乙酯和水饱和的正丁醇萃取, 分别得到石油醚部分 (2a) 106.17 g、乙酸乙酯部分 (2b) 20.39 g 和正丁醇部分 (2c) 226.67 g。

1) 化合物 6a 的分离 将乙酸乙酯部分 (20.39 g) 用硅胶柱进一步分离, 依次用水饱和乙酸乙酯、 $V(\text{水饱和乙酸乙酯}) : V(\text{乙醇}) = (20 : 1, 10 : 1, 5 : 1, 2 : 1, 1 : 1)$ 和乙醇洗脱, 分别按等体积 (150 mL) 收集馏分, 以 $V(\text{乙酸乙酯}) : V(\text{乙醇}) = 3 : 1$ 为展开剂, 经薄层层析 (TLC) 检测 (用 5% 硫酸-乙醇液显色), 合并相同馏分, 得到 8 个极性段 (3a~3h, 产量依次为 1.58、0.51、0.95、0.33、1.22、0.88、0.12 和 0.17 g)。将 3e (1.22 g) 极性段用甲醇冲洗除去不溶物, 共得到 2 个部分 4a (733 mg) 和 4b

(322 mg, 为不溶物)。在 **4a** (733 mg) 中加入 12 g 硅胶, 减压蒸馏至干, 用硅胶柱分离, 依次用三氯甲烷、 $V(\text{三氯甲烷}):V(\text{甲醇})=(20:1, 10:1, 5:1, 3:1, 2:1, 1:1)$ 和甲醇梯度洗脱, 以 $V(\text{三氯甲烷}):V(\text{甲醇})=3:1$ 为展开剂, 经 TLC 检测 (用 5% 硫酸-乙醇液显色), 合并相同馏分, 共得到 3 个组分 **5a** (152 mg)、**5b** (27 mg) 和 **5c** (103 mg)。其中, **5a** (152 mg) 再用聚酰胺进行柱层析分离, 依次用 $V(\text{甲醇}):V(\text{水})=1:4$ 和甲醇洗脱, 收集馏分, 减压蒸馏至干, 再经硅胶柱层析纯化, 以 $V(\text{二氯甲烷}):V(\text{甲醇}):V(\text{氨水})=4:1:0.05$ 为洗脱剂, 最后得到化合物 **6a** (81 mg)。

2) 化合物 **2'a** 的分离 取乙醇粗提物浸膏 (**1a**) 575 g, 用质量分数为 4% 的盐酸溶液溶解后, 于 8000 r/min 下离心, 取上清液。重复浸提 1 次, 合并酸溶液。酸溶液先用少量三氯甲烷洗涤, 以除去脂溶性杂质, 再用浓氨水调节 pH=9~10 后, 用三氯甲烷等体积萃取 2 次。合并有机相, 减压浓缩至膏状。将膏状物用三氯甲烷溶解, 经硅胶柱分离, 以 $V(\text{三氯甲烷}):V(\text{甲醇})=20:1, 10:1, 5:1, 3:1, 2:1$ 和 $1:1$ 进行梯度洗脱, TLC 检测 (以 $V(\text{三氯甲烷}):V(\text{甲醇})=3:1$ 为展开剂), 合并相同馏分, 分别得到 2 个组分 **1'a** (2.23 g) 和 **1'b** (2.66 g)。将 **1'b** (2.66 g) 再经硅胶柱层析, 用 $V(\text{三氯甲烷}):V(\text{甲醇}):V(\text{氨水})=4:1:0.05$ 洗脱, 得到化合物 **2'a** (72 mg)。

1.2.2 化合物结构鉴定 取分离所得的化合物 **6a** 和 **2'a**, 在紫外灯 (254 nm) 下观察其荧光强弱, 用 5% 硫酸-乙醇溶液加热进行显色反应, 观察颜色变化。化合物 **6a** 用聚酰胺薄层层析后, 用 5% 的 FeCl_3 水溶液显色; 化合物 **2'a** 用改良的碘化铊钾试剂显色, 观察其颜色变化, 通过化合物特征颜色反应对其类型进行初步判定^[14]。最后经过质谱、核磁共振氢谱和碳谱分析, 并结合相关文献, 对化合物的结构进行解析。

1.3 杀螨活性测定

1.3.1 药液配制 将分离得到的不同分离段产物及江户樱花苷、 α -卡茄碱标准品以及对照药剂鱼藤酮分别用二甲基亚砜 (DMSO) 溶解, 并加入质量分数为 1% 的表面活性剂 JFC (C7~C9 烷醇聚氧乙烯醚)。依据预试验结果, 各分离段产物仅设置 1 个浓度进行杀虫活性追踪, 江户樱花苷和 α -卡茄碱在 166.7~2 000.0 mg/L 之间设置 5 个不同梯度

质量浓度进行测定。每个处理均设溶剂对照及药剂对照, 其量按处理的同等浓度或梯度浓度设置。**1.3.2 触杀活性测定** 采用 FAO 推荐的玻片浸渍法^[15]。用毛笔挑选大小一致、体色鲜艳、行动活泼的雌成螨, 将其背部粘在载玻片一端的双面胶带上, 每片粘 30 头。在温度 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、相对湿度 60%~80%、光照:黑暗=14:10 条件下饲养, 及时加水保湿, 4 h 后用双目镜观察, 剔除死亡或不活泼个体。将带螨玻片的一端浸入药液中, 轻轻摇动 5 s 后取出, 用吸水纸迅速吸干螨体及其周围多余的药液, 每个浓度重复 3 次。处理后将试螨置于上述条件的生化培养箱中培养。24 h 后用双目镜调查死亡数。分别按公式 (1)~(3) 计算死亡率 (M)、校正死亡率 (M_c) 及相对毒力 (R_t)。

$$M/\% = \frac{D_n}{T_n} \times 100 \quad (1)$$

$$M_c/\% = \frac{M_t - M_0}{100 - M_0} \times 100 \quad (2)$$

$$R_t = \frac{P_c(\text{LC}_{50})}{P_t(\text{LC}_{50})} \quad (3)$$

式中: D_n 为死亡螨数, T_n 为处理螨数; M_t 为处理死亡率, M_0 为对照死亡率; $P_c(\text{LC}_{50})$ 为对照药剂的 LC_{50} 值, $P_t(\text{LC}_{50})$ 为供试药剂 LC_{50} 值。

用 SPSS17.0 软件对数据进行回归及方差分析, 得毒力回归方程 ($y = A + Bx$), 计算致死中浓度 LC_{50} 值及 95% 置信限。

2 结果与分析

2.1 活性化合物结构鉴定

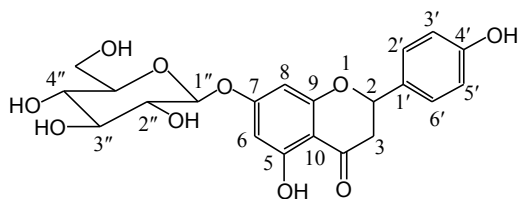
化合物 **6a**: 白色粉末, 熔点 $223\sim 224^\circ\text{C}$, 254 nm 紫外灯下荧光较强, 在 5% 硫酸-乙醇溶液中加热先显黄色, 后呈黑色。用聚酰胺薄层层析后, 用 5% 的 FeCl_3 水溶液进行显色处理, 呈棕色, 说明该化合物可能为黄酮类, 且连有糖基, 可能为二氢黄酮、二氢黄酮苷或异黄酮类化合物^[14]。ESI-MS, m/z : 435 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 457 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 473 $[\text{M} + \text{K}]^+$, 表明化合物的相对分子质量为 434, 分子式 $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$ 。在化合物的 ^{13}C NMR 数据中, 存在 δ 197.26、42.11 和 78.72 的特征化学位移, 表明该化合物母体骨架为二氢黄酮, 通过与 naringnin-7-*O*-neohesperidoside 的 ^{13}C NMR 化学位移进行比较, 发现母体骨架与 naringnin^[16] 完全相同, 只是糖苷部分少了一个鼠李糖的信号, 但与葡萄糖的

信号一致,证明糖苷为葡萄糖且通过糖苷键连接在 naringinin 的 7 位碳上。化合物的核磁共振数据如下。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), δ : 12.03 (1H, s, 5-OH), 9.62 (1H, s, 4'-OH), 7.33 (2H, d, $J=8.5$ Hz, 2', 6'-H), 6.80 (2H, d, $J=8.4$ Hz, 3', 5'-H), 6.13 (1H, d, $J=1.8$ Hz, 6-H), 6.14 (1H, d, $J=1.8$ Hz, 8-H), 5.50 (1H, dd, $J=12.7, 2.8$ Hz, 2-H), 4.96 (1H, d, $J=7.7$ Hz, 1''-H), 2.75 (1H, s)。

^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), δ : 78.72 (C-2), 42.11 (C-3), 197.26 (C-4), 162.98 (C-5), 96.54 (C-6), 165.35 (C-7), 95.49 (C-8), 162.79 (C-9), 103.29 (C-10), 128.67 (C-1'), 128.49 (C-2'), 115.24 (C-3'), 157.84 (C-4'), 115.24 (C-5'), 128.49 (C-6'), 99.64 (C-1''), 73.05 (C-2''), 77.11 (C-3''), 69.53 (C-4''), 76.34 (C-5''), 60.61 (C-6'')。

通过对比发现,化合物 **6a** 的 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 与文献[16-17]的数值基本一致,由此确定该化合物为 5, 7, 4'-三羟基二氢黄酮-7-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷,即江户樱花苷 (prunin), 结构式见图式 1。



图式 1 江户樱花苷 (**6a**) 结构式

Scheme 1 Structural formula of prunin (**6a**)

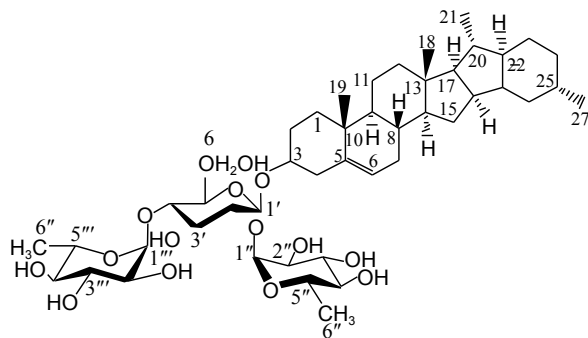
化合物 **2'a**: 白色粉末, 熔点 230~232 $^{\circ}\text{C}$, 在 254 nm 紫外光下荧光很弱, 在 5% 硫酸-乙醇溶液中加热先显红色, 后呈暗绿色; 用改良的碘化铋钾试剂显色呈阳性, 说明该化合物为生物碱类^[14]。ESI-MS, m/z : 852 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 表明该化合物的相对分子质量为 851, 分子式 $\text{C}_{45}\text{H}_{73}\text{O}_{14}\text{N}$ 。在化合物的 ^{13}C NMR 数据中, 存在 δ 140.30、121.48、16.66、19.01、18.33 和 19.43 的特征化学位移, 表明该化合物母体骨架为茄属生物碱 solanidine^[16], 并含有 100.57 (C-1'''), 100.35 (C-1'') 和 98.31 (C-1') 3 个糖的异头碳信号, 证明是一个生物碱的三糖苷。化合物的核磁共振数据如下。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), δ : 5.31 (1H, d, $J=4.2$ Hz), 5.01 (1H, s), 4.91 (1H, d, $J=6.5$ Hz), 4.71-4.66 (3H, m), 4.66-4.61 (2H, m), 4.55 (1H, d, $J=4.3$ Hz), 4.45 (2H, dd, $J=11.2,$

5.9 Hz), 4.38 (1H, d, $J=7.8$ Hz), 4.09 (3H, q, $J=5.2$ Hz), 3.97 (1H, dd, $J=9.4, 6.2$ Hz), 3.84 (1H, dd, $J=9.3, 6.2$ Hz), 3.67 (1H, s), 3.58 (2H, d, $J=10.3$ Hz), 2.79 (1H, d, $J=7.4$ Hz), 2.59 (1H, dd, $J=15.8, 6.8$ Hz), 2.38 (1H, dd, $J=12.9, 3.2$ Hz), 2.15 (1H, t, $J=12.0$ Hz), 1.98-1.87 (1H, m), 1.83-1.61 (7H, m), 1.56-1.42 (9H, m), 1.39-1.29 (2H, m), 1.22 (1H, s), 1.10-1.07 (10H, m), 0.94-0.89 (8H, m), 0.80-0.78 (7H, m)。

^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), δ : 37.68 (C-1), 31.56 (C-2), 77.02 (C-3), 140.30 (C-5), 121.48 (C-6), 32.96 (C-7), 31.29 (C-8), 49.72 (C-9), 36.89 (C-10), 20.46 (C-11), 57.01 (C-14), 36.21 (C-15), 68.73 (C-16), 62.54 (C-17), 16.66 (C-18), 19.01 (C-19), 36.429 (C-20), 18.33 (C-21), 76.74 (C-22), 28.98 (C-23), 30.71 (C-24), 30.99 (C-25), 59.64 (C-26), 19.43 (C-27), 98.31 (C-1'), 74.10 (C-2'), 76.18 (C-3'), 76.42 (C-4'), 74.10 (C-5'), 60.07 (C-6'), 100.35 (C-1''), 70.48 (C-2''), 70.62 (C-3''), 71.97 (C-4''), 68.02 (C-5''), 17.84 (C-6''), 100.57 (C-1'''), 70.76 (C-2'''), 70.62 (C-3'''), 71.97 (C-4'''), 68.47 (C-5'''), 17.79 (C-6''')。

经对比, 发现化合物 **2'a** 与文献[16, 18]数据基本一致, 由此确定化合物 **2'a** 为 α -卡茄碱 (α -chaconine), 其结构式见图式 2。



图式 2 α -卡茄碱 (**2'a**) 结构式

Scheme 2 Structural formula of α -chaconine (**2'a**)

2.2 杀螨活性

2.2.1 不同分离段产物的杀螨活性 分离过程中的活性追踪数据表明 (表 1), 马铃薯花的乙醇粗提物 (**1a**) 及其乙酸乙酯萃取段 (**2b**) 的活性较强, 在 2 000.0 mg/L 下对 4 种叶螨 24 h 的校正死亡率达 70% 以上。随后通过柱层析得到的 **3e** 极性段及其进一步分离得到的 **4a** 部分活性最强, 分别在 1 333.3

表 1 不同分离段产物及活性化合物对 4 种叶螨的触杀活性

Table 1 Contact toxicity of different separation products and active compounds against four species of mites

| 不同分离段产物及活性化合物 Different separation product and active compound | 供试浓度 Tested concentration/(mg/L) | 24 h 校正死亡率 Corrected mortality of 24 h/% | | | |
|---|-------------------------------------|---|---------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| | | 朱砂叶螨 <i>T. cinnabarinus</i> | 二斑叶螨 <i>T. urticae</i> | 截形叶螨 <i>T. truncatus</i> | 山楂叶螨 <i>T. viennensis</i> |
| 1a | 2 000.0 | 78.4 | 80.8 | 82.6 | 71.2 |
| 2a | 2 000.0 | 12.1 | 33.2 | 9.1 | 8.4 |
| 2b | 2 000.0 | 86.3 | 89.4 | 90.4 | 82.0 |
| 2c | 2 000.0 | 40.0 | 28.9 | 12.9 | 10.7 |
| 鱼藤酮 Rotenone | 2 000.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 |
| 3a | 1 333.3 | 34.4 | 44.6 | 11.4 | 12.4 |
| 3b | 1 333.3 | 12.2 | 23.0 | 17.8 | 11.0 |
| 3c | 1 333.3 | 19.0 | 30.1 | 19.5 | 9.5 |
| 3d | 1 333.3 | 16.5 | 46.8 | 21.2 | 16.7 |
| 3e | 1 333.3 | 83.3 | 85.5 | 82.0 | 78.8 |
| 3f | 1 333.3 | 48.3 | 16.2 | 34.0 | 19.0 |
| 3 g | 1 333.3 | 44.3 | 18.0 | 43.9 | 21.1 |
| 3 h | 1 333.3 | 50.0 | 10.4 | 38.7 | 20.4 |
| 鱼藤酮 Rotenone | 1 333.3 | 99.5 | 100.0 | 100.0 | 100.0 |
| 4a | 1 000.0 | 84.1 | 88.2 | 90.5 | 84.1 |
| 4b | 1 000.0 | 38.5 | 41.2 | 39.0 | 27.6 |
| 鱼藤酮 Rotenone | 1 000.0 | 97.4 | 99.4 | 100.0 | 99.5 |
| 5a | 666.7 | 78.7 | 80.0 | 79.2 | 25.4 |
| 5b | 666.7 | 10.3 | 15.9 | 17.2 | 13.4 |
| 5c | 666.7 | 14.4 | 10.4 | 15.5 | 8.8 |
| 6a | 666.7 | 86.2 | 94.2 | 86.5 | 43.4 |
| 1'a | 666.7 | 47.8 | 48.0 | 48.0 | 30.8 |
| 1'b | 666.7 | 29.5 | 70.8 | 83.2 | 18.8 |
| 2'a | 666.7 | 43.2 | 83.9 | 92.1 | 30.0 |
| 鱼藤酮 Rotenone | 666.7 | 66.7 | 77.8 | 99.4 | 97.2 |

和 1 000.0 mg/L 时, 24 h 校正死亡率均在 80% 左右。由 **4a** 部分分离得到的 **5a**, 在 666.7 mg/L 下除对山楂叶螨的活性较弱外, 对其他 3 种叶螨的 24 h 校正死亡率均在 80% 左右。最后从 **5a** 中分离获得的化合物 **6a** 对朱砂叶螨、二斑叶螨和截形叶螨均具有优异的触杀活性, 在 666.7 mg/L 下的 24 h 校正死亡率分别为 86.2%、94.2% 和 86.5%, 且对前 2 种叶螨的活性强于对照药剂鱼藤酮, 对截形叶螨活性略低于鱼藤酮。以分离生物碱为目的对马铃薯花的乙醇粗提物处理后共得到 **1'a** 和 **1'b** 2 个组分, 杀螨活性成分主要存在于 **1'b** 组分, 继续分离得到的化合物 **2'a**, 其对二斑叶螨和截形叶螨均具有很强的触杀活性, 在 666.7 mg/L 下, 24 h 校正死亡率分别为 83.9% 和 92.1%, 活性强于鱼

藤酮或与鱼藤酮相当。

2.2.2 化合物 **6a** 和 **2'a** 的杀螨活性 测定结果 (表 2) 表明: 化合物 **6a** 对朱砂叶螨、二斑叶螨和山楂叶螨的 LC_{50} 值分别为 461.98、338.76 和 732.08 mg/L, 其触杀活性均强于化合物 **2'a**; 而对于截形叶螨, 2 种化合物的触杀活性相当。与对照药剂鱼藤酮比较, 化合物 **6a** 对朱砂叶螨、二斑叶螨和山楂叶螨的毒力均高于鱼藤酮, 相对毒力分别为鱼藤酮的 1.17、1.52 和 3.07 倍, 但对截形叶螨的毒力则不及鱼藤酮, 相对毒力仅为鱼藤酮的 0.45 倍; 化合物 **2'a** 对二斑叶螨和山楂叶螨的毒力高于鱼藤酮, 相对毒力为鱼藤酮的 1.07 和 2.69 倍, 而对朱砂叶螨和截形叶螨的毒力则不及鱼藤酮, 相对毒力仅为鱼藤酮的 0.56 和 0.45 倍。

表 2 化合物 6a 和 2'a 对 4 种叶螨的毒力

Table 2 Toxicities of compound 6a and 2'a against four species of mites

| 化合物 Compound | 供试叶螨 Tested mites | 毒力回归方程 (y=) Toxicity regression equation | LC ₅₀ (95%置信区间) (95% Confidence limit)/(mg/L) | 相对毒力 Relative toxicity |
|-----------------|-----------------------------|---|---|---------------------------|
| 6a | 朱砂叶螨 <i>T. cinnabarinus</i> | 7.274 2 + 6.781 0x | 462 (425 ~ 503) | 1.17 |
| | 二斑叶螨 <i>T. urticae</i> | 7.491 6 + 5.300 1x | 339 (302 ~ 381) | 1.52 |
| | 截形叶螨 <i>T. truncatus</i> | 7.125 5 + 5.920 2x | 438 (402 ~ 472) | 0.45 |
| | 山楂叶螨 <i>T. viennensis</i> | 5.589 2 + 4.350 3x | 732 (705 ~ 768) | 3.07 |
| 2'a | 朱砂叶螨 <i>T. cinnabarinus</i> | -1.885 6 + 3.473 1x | 961 (845 ~ 1 063) | 0.56 |
| | 二斑叶螨 <i>T. urticae</i> | 7.189 4 + 6.884 0x | 481 (463 ~ 504) | 1.07 |
| | 截形叶螨 <i>T. truncatus</i> | 7.748 7 + 7.708 3x | 440 (404 ~ 493) | 0.45 |
| | 山楂叶螨 <i>T. viennensis</i> | 5.433 6 + 5.536 0x | 835 (752 ~ 927) | 2.69 |
| 鱼藤酮 Rotenone | 朱砂叶螨 <i>T. cinnabarinus</i> | 6.945 8 + 7.258 1x | 539 (535 ~ 550) | 1.00 |
| | 二斑叶螨 <i>T. urticae</i> | 6.941 1 + 6.717 3x | 514 (491 ~ 542) | 1.00 |
| | 截形叶螨 <i>T. truncatus</i> | -5.968 0 + 4.781 1x | 197 (178 ~ 213) | 1.00 |
| | 山楂叶螨 <i>T. viennensis</i> | -4.249 1 + 3.955 2x | 2 250 (1 702 ~ 2 705) | 1.00 |

3 结论与讨论

本文沿 2 条主线, 以朱砂叶螨等 4 种叶螨为靶标对马铃薯花中的杀螨活性成分进行了追踪分离, 以同等浓度下鱼藤酮的活性数据为参考, 将校正死亡率略小于鱼藤酮或与其相当的分段确定为进一步分离的对象, 依次递进, 并采用硅胶柱层析和薄层层析等方法最终分离获得了 2 个含量较高的杀螨活性化合物 **6a** 和 **2'a**, 利用核磁共振氢谱和碳谱结合质谱分析, 并参照相关文献数据, 最终确定 2 个活性化合物分别为江户樱花苷和 α -卡茄碱。杀螨活性测定结果表明: 江户樱花苷 (**6a**) 对朱砂叶螨、二斑叶螨和山楂叶螨的触杀活性强于鱼藤酮; α -卡茄碱 (**2'a**) 对二斑叶螨和山楂叶螨的触杀活性也强于鱼藤酮。由此可见, 来源于马铃薯花的次生代谢产物且未经任何结构修饰的江户樱花苷和 α -卡茄碱是 2 种具有一定杀螨活性的天然化合物。

关于江户樱花苷, 已有学者先后从唇形科植物风轮菜 *Clinopodium umbrosum*^[19]、报春花科植物珍珠菜 *Lysimachia clethroides*^[20]、菊科植物蜡菊 *Helichrysum bracteatum*^[21] 和水龙骨科植物槲蕨 *Drymaria fortunei*^[17] 等植物中分离得到, 但从茄科植物马铃薯花中分离得到尚属首次。有关其生物活性, 研究报道较多的是在医学抗肿瘤方面^[22], 其对农业害虫 (螨) 的生物活性尚未见报道。从化学结构和杀螨活性分析, 江户樱花苷应是一种较理想的先导化合物, 对其进行结构优化与衍生合成, 极有可能发现杀螨活性更强的新化合物, 进

而创制出新型植物源杀螨剂。

参考文献 (Reference):

- [1] 木泰华, 李鹏高. 马铃薯中生物活性成分及其功能[J]. *食品科学*, 2016, 37(19): 269-276.
MU T H, LI P G. Bioactive components of potato and their functions[J]. *Food Sci*, 2016, 37(19): 269-276.
- [2] BLADES D, MITCHELL B K. Effect of alkaloids on feeding by *Phormia regina*[J]. *Entomol Exp Appl*, 1986, 41(3): 299-304.
- [3] SINDEN S L, SANFORD L L, OSMAN S F. Glycoalkaloids and resistance to the Colorado potato beetle in *Solanum chacoense* bitter[J]. *Am Potato J*, 1980, 57(7): 331-343.
- [4] SMITH D B, RODDICK J G, JONES J L. Synergism between the potato glycoalkaloids α -chaconine and α -solanine in inhibition of snail feeding[J]. *Phytochemistry*, 2001, 57(2): 229-234.
- [5] ALLEN E H, KUC J. α -solanine and α -chaconine as fungitoxic compounds in extracts of Irish potato tubers[J]. *Phytopathology*, 1968, 58(6): 776-781.
- [6] FEWELL A M, RODDICK J G. Interactive antifungal activity of the glycoalkaloids α -solanine and α -chaconine[J]. *Phytochemistry*, 1993, 33(2): 323-328.
- [7] FRIEDMAN M, HENIKA P R. Absence of genotoxicity of potato alkaloids α -chaconine, α -solanine and solanidine in the ames salmonella and adult and foetal erythrocyte micronucleus assays[J]. *Food Chem Toxic*, 1992, 30(8): 689-694.
- [8] FEWELL A M, RODDICK J G, WEISSENBERG M. Interactions between the glycoalkaloids solasonine and solamargine in relation to inhibition of fungal growth[J]. *Phytochemistry*, 1994, 37(4): 1007-1011.
- [9] MORRISSEY J P, OSBOURN A E. Fungal resistance to plant antibiotics as a mechanism of pathogenesis[J]. *Microbiol Mol Biol*

- Rev, 1999, 63(3): 708-724.
- [10] KEUKENS E A J, DE VRIJE T, FABRIE C H J P, et al. Dual specificity of sterol-mediated glycoalkaloid induced membrane disruption[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1992, 1110(2): 127-136.
- [11] 胡冠芳. 马铃薯芽与花杀虫活性的研究及活性成分的分离鉴定[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2012.
- HU G F. Insecticidal activities, separation and identification of active compositions on buds and flowers of *Solanum tuberosum* L.[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2012.
- [12] 郭致杰, 胡冠芳, 刘敏艳, 等. 马铃薯无光干芽和花乙酸乙酯粗提物杀虫活性的研究[J]. *草业学报*, 2013, 22(6): 173-181.
- GUO Z J, HU G F, LIU M Y, et al. Insecticidal activity of ethyl acetate extract from dry buds on dark condition and flowers of *Solanum tuberosum*[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2013, 22(6): 173-181.
- [13] 王玉灵, 刘敏艳, 胡冠芳, 等. 马铃薯花杀虫活性成分提取方法的研究[J]. *西南农业学报*, 2014, 27(4): 1499-1504.
- WANG Y L, LIU M Y, HU G F, et al. Extraction method of insecticidal active composition from flowers of *Solanum tuberosum*[J]. *Southwest China J Agric Sci*, 2014, 27(4): 1499-1504.
- [14] 陈晓青, 蒋新宇, 刘佳佳. 中草药成分分离分析技术与方法[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006: 56-60.
- CHEN X Q, JIANG X Y, LIU J J. Technology and method for analysis and separation of Chinese traditional herbal medicine components[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2006: 56-60.
- [15] 陈年春. 农药生物测定技术[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1991: 68-71.
- CHEN N C. Pesticide bioassay technology[M]. Beijing: China Agricultural University Press, 1991: 68-71.
- [16] 龚运淮, 丁立生. 天然产物核磁共振谱分析[M]. 昆明: 云南科技出版社, 2006: 569-574.
- GONG Y H, DING L S. ¹³C NMR analysis of natural products[M]. Kunming: Yunnan Science and Technology Press, 2006: 569-574.
- [17] 高颖. 骨碎补抗骨质疏松活性部位的化学成分研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2008.
- GAO Y. Studies on the chemical constituents of anti-osteoporosis active site of *Rhizoma Drynariae*[D]. Shenyang: Shenyang Pharmaceutical University, 2008.
- [18] COWAN M M. Plant products as antimicrobial agent[J]. *Clin Microbiol Rev*, 1999, 12(4): 564-582.
- [19] 柯樱, 蒋毅, 罗思齐. 风轮菜的化学成分研究[J]. *中草药*, 1999, 30(1): 10-12.
- KE Y, JIANG Y, LUO S Q. Studies on the chemical constituents of *Clinopodium chinense*[J]. *Chin Tradit Herbal Drugs*, 1999, 30(1): 10-12.
- [20] 邹海艳, 屠鹏飞. 珍珠菜黄酮类化合物的研究[J]. *中国天然药物*, 2004, 2(1): 59-61.
- ZOU H Y, TU P F. Study on flavonoids from *Lysimachia clethroides*[J]. *Chin J Nat Med*, 2004, 2(1): 59-61.
- [21] 刘海洋, 何红平, 杨献文, 等. 蜡菊花的化学成分研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2007, 19(3): 423-426.
- LIU H Y, HE H P, YANG X W, et al. Chemical constituents of the flowers of *Helichrysum bracteatum*[J]. *Nat Prod Res Dev*, 2007, 19(3): 423-426.
- [22] 唐丽华, 徐向毅, 游本刚, 等. 珍珠菜总黄酮苷的抗肿瘤作用及机制研究[J]. *上海中医药杂志*, 2007, 41(5): 74-76.
- TANG L H, XU X Y, YOU B G, et al. Anti-tumor effect and its mechanism of total flavones of *Lysimachia clethroides* DUBY[J]. *Shanghai J Tradit Chin Med*, 2007, 41(5): 74-76.

(责任编辑: 金淑惠)