

苦楝果实中化学成分进一步 研究及生物活性测定

汪文陆

(广东省食品发酵工业研究所)

赵善欢

(植保系)

摘要 采用生物活性追踪法,从苦楝果实中分离得苦楝新醇(I)、苦楝酮(II)、苦楝醇(III)、苦楝二醇(IV)、苦楝三醇(V)、香草酸(VI)、香草醛(VII)和川楝素(VIII),并根据波谱(IR, MS, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$)分析和理化常数测定确定其结构。其中II、III、IV和V的21-H存在差向异构现象。生测结果表明, I~V和VIII对菜青虫(*Pieris rapae*)有明显的拒食活性, VIII还表现出明显的胃毒活性; I、IV和VI仅表现出一定的拒食活性。

关键词 苦楝; 苦楝新醇; 苦楝二醇; 川楝素; 菜青虫; 生物活性

苦楝是一种常见的楝科(Meliaceae)植物,很早就注意到这种植物的杀虫活性。近10年来华南农业大学昆虫毒理研究室对楝科植物,特别是对苦楝的杀虫作用进行了较系统的研究,苦楝抽提物对多种害虫有明显的拒食和忌避作用^[2],对亚洲玉米螟(*Ostrinia furnacalis*)的生长发育有较强的抑制作用^[4]。已知苦楝根皮和树皮中的主要杀虫有效成分为川楝素^[3,5]。苦楝果实对害虫的生物活性有别于苦楝根皮或树皮,为此,我们对苦楝果实的生物活性和化学成分进行了较系统的研究。

从不同地区的苦楝果实中先后分离出8个化学成分,经IR, MS, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ 及NOE差谱等波谱分析和理化常数测定,分别鉴定为苦楝新醇(melianoninol, I),苦楝酮(melianone, II),苦楝醇(melianol, III),苦楝二醇(meliandiol, IV),苦楝三醇(meliantriol, V),香草酸(vanillic acid, VI),香草醛(vanillin, VII)和川楝素(toosendanin, VIII)^[1]。本文对II、III、IV和V的结构进行了修正,并对各成分生物活性进行了测定和比较。

1 材料与方法

1.1 化学分离方法

熔点用Büchi 510熔点测定仪测定; IR谱用Perkin-Elmer 599型红外仪测定; UV谱用Shimadzu UV-365型紫外仪测定; $^1\text{H-NMR}$ 谱用Bruker Am-400型核磁共振仪测定; MS谱用MAT-44型质谱仪测定; 层析硅胶用青岛海洋化工厂产品。

苦楝果实的来源不同,其生物活性差异很大(见表2),其中所含的化学成分也有所不同。当以广州产苦楝果(5 kg)为材料时,采用索氏(Sohxlet)抽提法,先用石油醚抽提,得率为7.19%,残渣用氯仿抽提,得率为2.44%,最后用甲醇抽提,得率为15.64%。由

1992-10-31收稿

于氯仿抽提物的生物活性最高,本实验仅对氯仿抽提物进行分离。氯仿抽提物经过硅胶(100~200目)柱层析,石油醚—乙醚—乙酸乙酯梯度洗脱。石油醚—乙醚—乙酸乙酯(8:1:1)流分得香草醛 96 mg 和香草酸 65 mg;石油醚—乙醚—乙酸乙酯(14:3:3)流分得苦楝酮 115 mg;石油醚—乙醚—乙酸乙酯(3:1:1)流分得苦楝新醇 75 mg 和苦楝二醇 830 mg。当以海南三亚产苦楝果(4 kg)为材料时,石油醚抽提率为 6.60%,氯仿抽提率为 2.37%,甲醇抽提率为 13.96%。氯仿抽提物经硅胶(200~300目)柱层析,以苯—乙酸乙酯洗脱,苯—乙酸乙酯(4:1)流分得苦楝酮 711 mg,苦楝醇 237 mg 和苦楝醇 3.08 g;苯—乙酸乙酯(3:2)流分得苦楝三醇 119 mg;苯—乙酸乙酯(2:3)流分得川楝素 35 mg。

1.2 生测方法

本试验以菜青虫为试虫,虫源从田间采回五龄初期幼虫直接用于试验。样品均用丙酮溶解。拒食活性测定方法为非选择性叶碟法,用拒食率(以 24 h 计)评价各药物的拒食活性:

$$\text{拒食率}(\%) = \frac{\text{对照组取食叶面积} - \text{处理组取食叶面积}}{\text{对照组取食叶面积}} \times 100$$

胃毒活性测定方法同上,让试虫取食处理叶碟 48 h 或 72 h 后换为正常菜叶,观察并记录试虫的成活情况,用校正死亡率评价胃毒活性,其计算方法与汪文陆等^[1]所述相同。

2 结果与分析

2.1 化学成分部分

2.1.1 不同地区苦楝果实的化学成分 采用薄板层析和高效液相色谱法对几种不同地区苦楝果实氯仿抽提物的化学成分进行了分析,并与已知成分进行对照,发现样品来源不同,其化学成分差异较大,其中海南苦楝果实与其他省市样品之间的差异较为明显,如表 1 所示。

表 1 不同地区苦楝果实化学成分的比较^{*}

化合物	海南 三亚	海南 琼山	广东 广州	广东 斗门	贵州 沿河	湖南 沅江	河南 郑州
苦楝新醇	—	—	+	—	—	—	—
苦楝酮	+++	+++	+	++	+	+	+
苦楝醇	++	++	—	—	—	—	—
苦楝二醇	+++	+++	++	++	+	+	+
苦楝三醇	+	+	—	—	—	—	—
香草酸	—	—	+	+	+	+	—
香草醛	—	—	+	+	—	—	+
川楝素	+	—	—	—	—	—	—

^{*}表中结果均指氯仿抽提物(—:未检出;+:已检出,含量低;+:含量中等;+++ :含量较高)。

2.1.2 化学成分结构鉴定 作者从苦楝果实中分得晶 I ~ VIII 种化学成分, 其中晶 I、II、III、IV、VI 和 VII 已经鉴定分别为苦楝新醇、苦楝酮、苦楝醇、苦楝二醇、香草酸和香草醛^[6], 晶 V 和晶 VIII 分别为苦楝三醇和川楝素^[1]。

苦楝二醇的结构原定为 IVa, 但是, 通过进一步的实验研究, 发现 IVa 不能完全反映苦楝二醇的结构。例如, 在高分辨 400MHz 的 ¹H-核磁共振光谱中, 21-H、23-H 和 24-H 均存在两个吸收峰; 苦楝二醇乙酰化产物不能结晶, 经硅胶薄层层析展开有两个斑点, 以二氯甲烷—乙醚 (10:1) 展开, 其 R_f 值分别为 0.36 和 0.16。

¹H-核磁共振光谱 δ 值 (CDCl₃, ppm): 5.30 (1H, 宽单峰, 7-H), 5.27, 5.21 (合 1H, 双峰, J=6.7Hz, 21-H), 4.43, 4.37 (合 1H, 多峰, 23-H), 4.10 (合 1H, 双峰, J=6.9Hz, 24-H), 1.28, 1.25 (6H, 均为单峰, 26-CH₃ 和 27-CH₃), 1.10, 1.03, 1.01, 0.99, 0.82 (15H, 均为单峰, 5 个 CH₃)。

从上述光谱数据和理化性质分析证实, 苦楝二醇存在互变异构体, 即其 21-H 具有上下两种结构, 分别为 meliandiol (IVa) 和 epimeliandiol (IVb)。在溶液中, 两者能以如下形式相互转变:

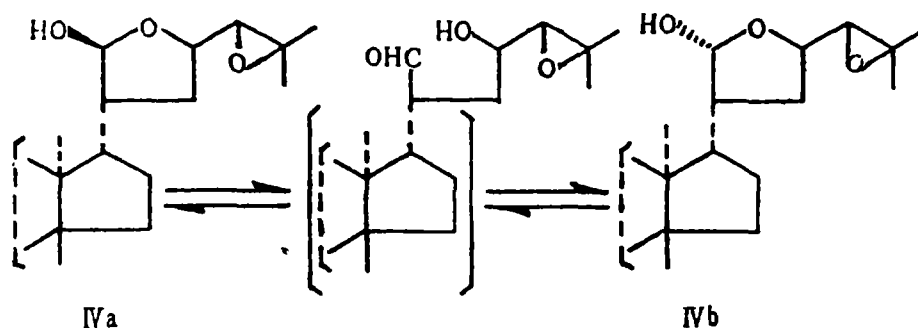


图1 苦楝二醇结构的互变异构现象

进一步的实验还发现, 苦楝酮、苦楝醇和苦楝三醇均存在类似的互变异构体。Lavie 等^[6]在分析苦楝酮的结构时, 发现乙酰化产物不能结晶, Inubushi 等^[7]用柱层析法分离乙酰苦楝酮时, 得到 melianone acetate 和 epimilianone acetate 两种物质, 曾报道苦楝酮 21-H 存在差向异构现象, 这种现象在本研究中得到进一步证实, 而且发现苦楝醇、苦楝二醇和苦楝三醇均存在类似的结构。

2.2 生测部分

2.2.1 不同地区苦楝果实生物活性的比较 在研究苦楝根皮或树皮的杀虫作用时就已经注意到, 不同地区样品的生物活性差异很大, 而且其有效成分的含量已有明显不同^[3]。为了较全面地研究苦楝果实的生物活性, 本试验以菜青虫为试虫, 对采自海南三亚、琼山、广东广州、斗门、博罗、罗定、贵州沿河、湖南沅江和河南郑州的苦楝果实氯仿抽提物进行了比较, 结果如表 2。各样品对菜青虫均表现出较强的拒食活性, 其中海南三亚、琼山、广东斗门和博罗样品的拒食率都在 94.6% 以上。苦楝果实对菜青虫的胃毒活性因地区差异很大, 采自海南三亚、琼山和广东斗门等沿海地区的样品, 胃毒活性很高; 而采自内地样品

的活性则明显差。这些现象与前面对苦楝果实化学成分的分析结果是一致的,在海南三亚和琼山样品中,不仅苦楝酮和苦楝二醇的含量很高,而且还含有苦楝醇、苦楝三醇或川楝素等三萜化合物。进一步的生测结果表明,这些三萜化合物是苦楝果实中的主要杀虫有效成分(见表3)。

表2 不同地区苦楝果实对菜青虫的生物活性^{*}

地 区	拒食率 (%)	死亡率 (%)	校正死亡率 (%)
海南三亚	98.2 a	93.9	93.6
海南琼山	97.6 a	91.9	91.9
广东广州	89.5 b	56.7	54.8
广东斗门	96.8 a	88.7	88.2
广东博罗	94.6 a	53.2	51.2
广东罗定	88.7 b	48.5	46.3
贵州沿河	91.9 b	40.5	38.0
湖南沅江	73.2 c	46.1	43.8
河南郑州	73.1 c	23.6	20.3
对 照		4.1	

* 1. 苦楝果实样品均为氯仿提取物,浓度为1%,试虫取食72h。

2. 表中数据为40~50头试虫的平均值,数据同列含相同字母者,在DMRT分析中,于5%水准无显著性差异。

表3 几种化合物纯品对菜青虫的生物活性^{*}

地区	浓度 (ppm)	拒食率 (%)	死亡率 (%)	校正死亡率 (%)
对照			3.3	
苦楝新醇	2000	30.6 e	20.1	17.4
苦楝酮	2000	68.1 d	20.3	17.6
苦楝醇	2000	65.2 d	25.5	23.0
苦楝二醇	2000	81.9 c	28.9	26.5
苦楝三醇	2000	87.1 b	40.8	38.8
香草酸	2000	12.7 f	18.7	15.9
香草醛	2000	-19.6 g	2.6	-0.7
川楝素	200	95.8 a	98.1	98.0
印楝素	40	90.6 b	60.5	59.2

* 表中数据为41~56头试虫的平均值,数据同列含相同字母者,在DMRT分析中,于5%水准无显著性差异。

2.2.2 苦楝果实中几种化学成分生物活性的比较 所有化合物在使用前经多次重结晶,使熔点不再变化为止,纯度在99.0%以上,使用浓度除川楝素为200 ppm外,其他均为2 000 ppm。另选用40 ppm印楝素(99.0%)作比较药物,样品由美国犹它大学J. A. Klocke博士提供。试验结果如表3,几种三萜化合物对菜青虫均有较强的拒食活性,如2 000 ppm的苦楝酮、苦楝醇、苦楝二醇和苦楝三醇等原柠檬素类化合物的拒食率都在65.2%以上;川楝素(200 ppm)和印楝素(40 ppm)在较低浓度时也有明显的拒食活性,而上述原柠檬素类化合物在较低浓度时(如500 ppm)拒食活性明显降低。苦楝果实中分离的各化合物对菜青虫的胃毒活性差异很大,仅200 ppm的川楝素表现出明显的胃毒活性,校正死亡率达98.1%。苦楝二醇等原柠檬素化合物对菜青虫也有一定的胃毒活性,但使用浓度较高。

3 讨论

苦楝果实抽提物对菜青虫的生物活性及活性成分因产地不同差异很大。采自海南三亚和琼山等沿海地区的样品往往具有较高的拒食活性和胃毒活性,而采自内地的样品仅表现出较强的拒食活性。化学分离和检验工作表明,苦楝果实的生物活性是由多种活性成分共同起作用的结果,其中主要的活性成分均属四环三萜类物质。苦楝果实生物活性的大小与四环三萜类活性成分的种类和含量关系极大,如海南三亚苦楝果实样品具有较高的生物活性,其中含有较高含量的苦楝酮等四种原柠檬素类化合物及微量的川楝素,而在采自内地的样品中仅含有一定量的苦楝酮和苦楝二醇(表1)。苦楝果实的生物活性及其活性成分因产地而异,这种现象在澳洲也有过类似的报导^[9],了解这一现象对于在开发利用该植物防治害虫时如何选择合适的材料及使用方法是有意義的。

苦楝果实中有效成分多样,对菜青虫表现出不同的生物活性,但其中主要杀虫有效成分有别于苦楝树皮或根皮。本试验从苦楝果实中分离出8种化学成分,这些成分除香草醛外对菜青虫均表现出一定的拒食活性,其中苦楝酮等三萜类物质的活性较高。虽然从海南三亚样品中分离出微量的川楝素,但从其他地区的样品中却未检验出这种成分,可见苦楝果实与苦楝树皮或根皮(主要有效成分为川楝素)的杀虫有效成分是有明显差异的。

苦楝果实有效成分单独时的生物活性与其在抽提物中混合时有明显不同。例如海南琼山样品氯仿抽提物(1%)对菜青虫有明显的胃毒活性,校正死亡率达91.9%,但其中所含的几种有效成分均无明显胃毒活性。这种现象可能与几种物质的共同作用有关,但还有待于进一步的工作加以解释。这也是在利用植物物质防治害虫时应当注意的现象。

参 考 文 献

- 1 汪文陆,赵善欢,韩玖等.苦楝中几种杀虫有效成分对菜青虫和亚洲玉米螟的生物活性.植物保护学报,1992,19(4):395~364
- 2 张兴,赵善欢.楝科物质对几种害虫的拒食和忌避作用.华南农业大学学报,1983,4(3):1~7
- 3 赵善欢,张兴.植物性物质川楝素的研究概况.华南农业大学学报,1987,8(2):57~67
- 4 赵善欢,黄端平,张兴.楝科物质对亚洲玉米螟幼虫取食和生长发育的影响.昆虫学报,1985,85(4):450~453
- 5 钟炽昌,谢晶曦,陈淑凤等.川楝素的化学结构.化学学报,1975,33(1):35~47

- 6 韩玖, 林文翰, 徐任生等. 苦楝化学成分的研究. 药学学报, 1991, 26(6): 426~429
- 7 Inubushi Y, Hibino T. Components of fruits of *Melia azedarach* var. *japonica*. Yakugaku Zasshi(药学杂志), 1970, 90(1): 99~102.
- 8 Lavie D, et al. Alocust phagorepellent from two *Melia* species. J Chem Soc Chem Commun, 1967(18): 910~911
- 9 Oelrichs P B, et al. Toxic tetranortriterpenes of the fruits of *Melia azedarach*. Phytochemistry, 1983, 22(2): 531~534

STUDIES ON THE INSECTICIDAL PRINCIPLES AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF MELIA AZEDARACH L.

Wang Wenlu¹ Chiu Shin—Foon²

(1 Food and Fermentation Industry Institute of Guangdong Province, Guangzhou,

2 South China Agricultural University)

Abstract Melianoninol (I), melianone (II), melianol (III), meliandiol (IV), meliantriol (V), vanillic acid (VI), vanillin (VII) and toosendanin (VIII) were extracted from the fruits of chinaberry, *Melia azedarach* L. by following the biological effects to the tested insects, and their chemical structures were elucidated by means of IR, MS, ¹H—NMR, ¹³C—NMR and other spectral evidences. It was found that compound II, III, IV, and V were all epimeric mixtures at 21—H, and Triterpenes II—V and VIII exhibited the strong antifeedant activities against the cabbage worm, *Pieris rapae* L., among which only compound VIII showed a stomach toxicity to the insects. The bioactivities of compound I, VI and VII were much lower than that of the triterpenes.

Key words *Melia azedarach*; Melianoninol; Meliandiol; Toosendanin; *Pieris rapae*; Bioactivity