

海芒果叶挥发油化学成分及杀虫活性研究

庄礼珂^{1,2}, 王 潘¹, 梁木森², 刘 敏², 朱 文^{3*}¹海南大学环境与植物保护学院, 海南儋州 571737; ²海南正业中农高科股份有限公司,海南海口 570206 ³海南大学材料与化工学院, 海口 570206

摘 要: 采用水蒸气蒸馏法提取, 运用气相色谱-质谱联用技术对海芒果叶挥发油化学成分进行分析, 用气相色谱面积归一化法测定了各成分的相对百分含量。经毛细管色谱分离鉴定了 13 个化合物。研究了挥发油对赤拟谷盗的活性: 触杀活性测定发现挥发油对赤拟谷盗 48 h 的 LC_{50} 为 1.0067 mL/L; 忌避活性测定发现 1 mL/L 浓度在 12~48 h 内忌避率都在 80% 以上; 熏蒸活性测定发现 24、48、72 h 的 LC_{50} 分别为 2.0207、1.7450、1.0160 mL/L。

关键词: 海芒果; 挥发油; 杀虫活性

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

Chemical Constituents and Insecticidal Activity of the volatile oil from *Cerbera manghas* LeavesZHUANG L i k e^{1,2}, WANG Pan¹, LIANG M u - s e n², L I U M i n², ZHU W e n³¹Environment and Plant Protection College, Hainan University, Hainan danzhou 571737, China²Hainan Zheng Ye Zhong Nong Geng Technology Co., LTD, Hainan haikou 570206, China³Chemical and Material College, Hainan University, Hainan haikou 570206, China

Abstract The essential oil of the *Cerbera manghas* leaves was extracted by steam distillation, and the chemical compositions were analyzed by GC-MS. And the peak-area normalization method in gas chromatography was applied to ensure the relative contents of these components. The results showed that there are 13 compounds in the essential oil of the *Cerbera manghas* leaves. At the same time, contact toxicity test showed that LC_{50} is 1.0067 mL/L for 48 h. Repellent test showed that repellent rate is over 80% with concentration of 1 mL/L in 12-48 h, and Infumigation test showed that LC_{50} is 2.0207, 1.7450 and 1.0160 mL/L for 24 h, 48 h and 72 h, respectively.

Key words *Cerbera manghas*; essential oil; insecticidal activity

红树林植物海芒果 (*Cerbera manghas*), 别名黄金茄、牛金茄、牛心荔、黄金调, 为夹竹桃科 (Apocynaceae) 海芒果属植物, 分布于亚洲和澳大利亚的热带地区, 我国主要分布在广东南部、广西南部、海南和台湾。其树皮、叶和乳汁能制药剂, 有催吐、下泻与堕胎之效^[1], 其毒性成分是强心甙类^[2]。国外研究表明, 海芒果中主要含有强心苷、木脂素、环烯醚萜苷和降单萜等类型的化合物^[3-6]。缅甸人曾把海芒果和其他油剂一起混用作为杀虫剂^[7,8]。Tiän Thi minh Hên 等对海芒果叶子进行老鼠的毒性生物测定^[9]。Laphookhieo^[10] 等从海芒果种子中成功

分离出一系列具有抗癌活性的强心甙类化合物。Chang 等^[11] 从海芒果根中也分离出两种化合物具有抗增殖和抗雌激素活性, 能明显地抑制人体结肠癌细胞系和伊沙科蛙细胞系, 并利用紫外光谱、红外光谱、核磁共振仪和质谱测定出其结构。未见海芒果叶挥发油成分的报道。

本文利用气相色谱-质谱联用技术对海芒果叶中挥发油的化学成分进行了分析, 并进行了杀虫活性研究, 为红树林植物资源的开发利用提供科学依据。

1 实验部分

1.1 仪器、材料与试剂

仪器: GC6890/5973MS (美国惠普公司)、RE52CS-2 旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂)、

收稿日期: 2009-03-16 接受日期: 2010-02-04

* 通讯作者 Tel 86-013976731588; E-mail wen_zhu@163.com

SH2-D(III)循环水式真空本泵(巩义市英峪子华仪器厂);丙酮、无水乙醚、无水硫酸镁等均为国产分析纯。

供试昆虫为海南大学环境与植物保护学院化保实验室饲养的赤拟谷盗。用全麦粉:干酵母粉=20:1(质量比)混合而成的饲料饲养赤拟谷盗,以供试验使用。

海芒果叶,2008年10月采于海南热带植物园南药圃,经海南大学朱文教授鉴定为夹竹桃科植物海芒果的叶子,标本存放于海南大学材料与化工学院。

1.2 海芒果叶挥发油的提取

称取100g新鲜海芒果叶,洗净后用剪刀剪碎,置于1000mL圆底烧瓶中,水蒸汽蒸馏3h,蒸馏液用无水乙醚萃取3次,合并乙醚萃取液,加入无水硫酸镁干燥过夜,常压浓缩至不含溶剂,得黄色挥发油,出油率为1.74%。

1.3 海芒果叶挥发油对赤拟谷盗成虫的触杀试验

采用滤纸药膜法^[12]。将直径为9cm的圆形滤纸放入相同直径的玻璃皿中,吸取不同浓度供试精油溶液(以60%丙酮水作溶剂)3.2、1.0、5.0、25mL/L,1mL均匀滴在滤纸上,再取1mL的60%丙酮水设为对照。晾干后在每个玻璃皿中放入20头试虫,用深色的布罩起使虫分散,每个浓度设三个重复,48h后检查记录死亡虫数。

1.4 海芒果叶挥发油对赤拟谷盗成虫的忌避试验

采用培养皿滤纸涂药法。将直径为9cm的滤纸等分两半,一边是处理,一边为对照,中间用透明胶连结起来(滤纸不能连结在一起),将提取挥发油

用60%丙酮水配成浓度为1.0、8.0、6.0、4.0、2mL/L的药液,取0.2mL的药液,均匀涂布干滤纸半圆的一边,另一边涂等量60%丙酮水(事先用铅笔写明标记),等丙酮全部自然挥发后,将滤纸放入培养皿内。每皿接入试虫20头,盖好培养皿(用纱网),重复3次,12、24、36、48、60h检查对照边和处理边虫数。

1.5 海芒果叶挥发油对赤拟谷盗成虫的熏蒸试验

采用三角瓶密闭熏蒸法。在(250mL)三角瓶中接入20头赤拟谷盗,给滤纸条(2cm×8cm)上分别滴加定量的不同浓度供试精油溶液(以60%丙酮水作溶剂)3.2、1.0、5.0、25mL/L,滤纸条距三角瓶底部2~3cm,迅速用塑料纸(双层)压住滤纸,用橡皮筋封好瓶口,对照为滤纸条上加等量的60%的丙酮水。处理重复3次,每重复试虫20头,将三角瓶置于室内,24、48、72h检查死亡数,计算死亡率和校正死亡率。

1.6 GC-MS测定条件

气相色谱条件:石英毛细管柱HP-FFAP(30m×0.25mm,0.25μm),程序升温:从60℃开始,以4℃/min升到120℃,再以6℃/min升到250℃,保持5min;载气为He,柱流量1.0mL/min,进样口温度250℃,分流比50:1。

质谱条件:EI源;电离电压70eV,离子源温度230℃,扫描范围10~500amu,进样量1.0μL。

2 结果与分析

2.1 海芒果叶挥发油的化学成分鉴定

表1 海芒果叶挥发油化学成分

Table 1 Chemical constituents of essential oil from the leaves of *Cerbera manghas*

保留时间 Retention time(min)	化合物名称 Compound	分子式 Molecular formula	分子量 M	相对含量 Relative content(%)
13.12	1,4-Methanoazulene, decahydro-4,8,8-trimethyl-9-methylene-, [1S-(1α,3α,β,4α,β,8α,β)]-长叶烯	C ₁₅ H ₂₄	204.19	1.86
15.59	Benzofuran 苯并呋喃	C ₈ H ₆ O	118.04	3.76
19.44	Benzene propyl 丙苯	C ₉ H ₁₂	120.09	2.81
20.21	Benzyl alcohol 苯甲醇	C ₇ H ₈ O	108.06	2.38
20.88	Butylated Hydroxytoluene 4-甲基-2,6-二叔丁基苯酚	C ₁₅ H ₂₄ O	220.18	71.63
22.51	Phenol 苯酚	C ₆ H ₆ O	94.04	4.27
25.71	6-Methyl-1,2,4-triazole (2,3-b) (1,2,4)-triazine 6-甲基-三唑并(2,3-b)(1,2,4)三嗪	C ₅ H ₅ N ₅	135.05	0.77
27.90	Propan-1,3-diol 4-methylbenzenboronate 3-丙二醇-4-甲基苯硼酸酯	C ₁₀ H ₁₃ BO ₂	176.10	5.51
28.51	Acetic acid mercapt, ethyl ester 巯基乙酸乙酯	C ₄ H ₈ O ₂ S	120.03	0.89

30 49	Benzofuran-2-one 4-aminor-2, 3-dihydro-4-氨基苯并-2, 3-二氢-2-呋喃酮	C ₈ H ₇ NO ₂	149 05	1 14
32 44	1H-Benzotriazole, 4-methoxy-4-甲氧基-1H-苯并三唑	C ₇ H ₇ N ₃ O	149 06	0 83
34 90	Tetradecanoic acid 肉豆蔻酸	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228 21	2 71
37 61	2-Hexyl-1-octanol-2-己基-1-辛醇	C ₁₄ H ₃₀ O	214 23	2 00

按上述 GC-MS 条件对海芒果叶挥发油进行分析, 得其总离子流图, 对总离子流图中的各峰经质谱扫描后得到质谱图, 经过过质谱计算机数据系统检索 (质谱数据库: NIST, NBS), 人工谱图解析, 按各色谱峰的质谱裂片图与文献核对, 查对有关质谱资料^[13-15], 对基峰、质荷比和相对丰度等方面进行直观比较, 分别对各色谱峰加以确认, 综合各项分析鉴定, 鉴定出 13 个化合物。用面积归一化法确定了各成分的相对百分含量, 结果见表 1。

2 2 海芒果叶挥发油对赤拟谷盗成虫的触杀活性

表 2 海芒果叶挥发油对赤拟谷盗的毒力测定结果
Table 2 *Cerbera manghas* essential oil of the *Tribolium castaneum* herbst Toxicity results

浓度 Concentration	活虫数 /头 live insects	死亡虫数 /头 definct adult	死亡率 % Mortality	
	施药前 Before spray ing	施药 48 h spray ing 48 h	实际值 Actual value	校正值 Corection vahie
3 mL/L	60	56	93.3 a	93.2 a
2 mL/L	60	43	71.7 b	71.2 b
1 mL/L	60	26	43.3 c	42.3 c
0.5 mL/L	60	13	21.7 d	20.3 d
0.25 mL/L	60	6	10.0 de	8.4 de
对照	60	1	1.7 e	

注: 表中数字后的小写字母表示 Duncan 新复极差测验的 5% 水平的差异显著性 (毒力回归方程: $y = 4.9927 + 2.5397x$, 相关系数 $R = 0.9641$), 致死中浓度 $LC_{50} = 1.0067$ mL/L, 95% 置信区为 4.6390-5.3464)
Note: The lowercase letters after the number in the table means the significant differences of 5% of Duncan's new multiple range test (virulence regression equation: $y = 4.9927 + 2.5397x$, correlation coefficient $R = 0.9641$, median lethal concentration $LC_{50} = 1.0067$ mL/L, 95% confidence region 4.6390-5.3464)

表 2 可见海芒果叶挥发油 5 个浓度对赤拟谷盗

毒力测定的方差分析达到极显著水平, 随着处理浓度的增加, 对赤拟谷盗的毒杀作用增强。

2 3 海芒果叶挥发油对赤拟谷盗成虫的忌避作用
表 3 海芒果叶挥发油对赤拟谷盗成虫的忌避性测定结果

Table 3 *Cerbera manghas* essential oil of the *Tribolium castaneum* herbst repellence results

浓度 Concentration	忌避率 % deterrent rate				
	12 h	24 h	36 h	48 h	60 h
1 mL/L	98.2 a	94.5 a	90.8 a	82.4 a	77.5 a
忌避等级	V	V	V	V	IV
0.8 mL/L	86.7 ab	84.7 a	77.5 b	63.1 b	53.5 b
忌避等级	V	V	IV	IV	III
0.6 mL/L	77.5 b	74.7 a	66.3 b	53.5 bc	49.8 bc
忌避等级	IV	IV	IV	III	III
0.4 mL/L	55.7 c	48.7 b	41.9 c	37.6 cd	32.5 cd
忌避等级	III	III	III	II	II
0.2 mL/L	41.2 c	41.2 b	37.6 c	27.5 d	17.1 c
忌避等级	III	III	II	II	I

注: 表中数字后的小写字母表示 Duncan 新复极差测验的 5% 水平的差异显著性
Note: The lowercase letters after the number in the table means the significant differences of 5% of Duncan's new multiple range test

海芒果叶挥发油在不同浓度和不同时间下对赤拟谷盗都表现出一定的忌避活性 (见表 3)。海芒果叶精油对赤拟谷盗的忌避效果随着用药浓度的增大而增强, 在当浓度增大为 1 mL/L 时, 达到 IV 级水平; 随着处理时间的延长, 海芒果叶挥发油的忌避效果逐渐降低, 但在 60 h 后还有一定的驱避作用, 尤其是高浓度下。60 h 后驱避等级还是 IV 级水平, 这说明海芒果叶挥发油对赤拟谷盗驱避作用的持效期比较长, 且浓度越高持效期越久。

表 4 海芒果叶挥发油对赤拟谷盗成虫的熏蒸测定结果

Table 4 *Cerbera manghas* essential oil of the *Tribolium castaneum* herbst Fumigation results

浓度 Concentration	死亡率 % Mortality			校正死亡率 % corrected mortality		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
3 mL/L	63.3 a	70 a	88.3 a	62 a	69 a	87.7 a
2 mL/L	51.7 b	46.7 b	66.7 b	50 b	44.9 b	64.9 b
1 mL/L	33.3 b	41.7 b	56.7 b	31 b	39.7 b	54.4 b

0.5 mL/L	16.7 c	21.7 c	26.7 c	13.9 c	19 c	22.8 c
0.25 mL/L	11.7 cd	15 cd	18.3 cd	8.7 cd	12.1 cd	14 cd
对照	3.3 d	3.3 d	5 d			

注: 表中数字后的小写字母表示 Duncan新复极差测验的 5% 水平的差异显著性
Note The lowercase letters after the number in the table means the significant differences of 5% of Duncan's new multiple range test

表 5 海芒果叶挥发油对赤拟谷盗成虫的熏蒸测定结果分析

Table 5 *Cerbera manghas* essential oil of the *Tribolium castaneum* herbst fumigation results analyse

时间 Time	毒力回归方程 toxicity regression equation	R	LC ₅₀ (mol/L)	95% 置信区 95% CI
24 h	y = 4.5129 + 1.5945x	0.9885	2.0207	4.3998~ 4.6369
48 h	y = 4.6481 + 1.4555x	0.9482	1.7450	4.4027~ 4.8935
72 h	y = 5.0139 + 2.0103x	0.9582	1.0160	4.7109~ 5.3170

2.4 海芒果叶挥发油对赤拟谷盗成虫的熏蒸作用

表 4、5 可见海芒果叶挥发油对对赤拟谷盗有一定的熏蒸活性, 5 个浓度对赤拟谷盗熏蒸活性测定的方差分析达到极显著水平, 随着处理浓度和时间的增加, 对赤拟谷盗的熏蒸作用增强。在 3、2、1、0.5、0.25 mL/L 浓度下测得 24、48、72 h 的 LC₅₀ 分别为 2.0207、1.745、1.016 mL/L。

3 小结

试验结果表明, 应用水蒸汽蒸馏技术提取的海芒果叶挥发油对赤拟谷盗不仅具有较强的驱虫、杀虫活性, 而且其作用包括熏蒸、触杀、忌避多种方式。4-甲基-2, 6-二叔丁基苯酚, 苯酚, 6-甲基-三唑并(2,3-b)(1,2,4)三嗪都具有一定的杀虫毒性。而海芒果叶挥发油中 4-甲基-2, 6-二叔丁基苯酚含量较高, 因此 4-甲基-2, 6-二叔丁基苯酚可能是海芒果叶挥发油的主要活性成分之一, 也可能是多种活性成分共同作用的结果。本文仅对其挥发油的生物活性做了初步试验, 其杀虫活性组分的分离、提纯和鉴定有待今后进一步深入研究。

参考文献

1 Edited by Chinese Academy of Sciences (中国科学院主编). Flora China Tomus 63(中国植物志, 第 63 卷), Beijing Science Press 1974. 33
2 Chen JS(陈冀胜), Zheng S(郑硕). Chinese Poisonous Plants(中国有毒植物), Beijing Science Press, 1987. 78-

79.
3 Abe F, Yamauchi T. Studies on *Cerbera Cardiac* glycosides in the seeds, bark, and leaves of *Cerbera mangras* L. *Chem Pharm Bull* 1977; 25: 2744-2748.
4 Abe F, Yamauchi T, Wan ASC. Sesquiterpene and triterpenes from stems of *Cerbera manghas* and *C. odollam*. *Phytochemistry*, 1988; 27: 3627-3631.
5 Yamauchi T, Abe F, Wan ASC. 10-O-benzoylhydroxy and 10-dehydrogeneposide from the leaves of *Cerbera manghas* *Phytochemistry*, 1990; 29: 2327-2328.
6 Abe F, Yamauchi T, Wan ASC. Monoterpene and their allylpyranosides from the leaves of *Cerbera* species (studies on *Cerbera* V III). *Chem Pharm bull*, 1989; 37: 2639-2642.
7 Chopra RN, Nayar S L, Chopra IC. Glossary of Indian medicinal plants New Delhi: SIIR, 1956: 67-75.
8 Gaillard Y, Krishnamoorthy A, Bevalle F. *Cerbera odollam*: a 'suicide tree' and cause of death in the state of Kerala, India. *J Ethnopharmacology*, 2004; 95: 123-126.
9 Tãñ Thi M ình H ãñ, Ch Navar, Demasure and Tãñ N Vy. Toxicity and effects on the central nervous system of a *Cerbera odollam* leaf extract. *J Ethnopharmacology*, 1991; 34: 201-206.
10 Laphookhieo S *et al*. Cytotoxic cardenolide glycoside from the seeds of *Cerbera odollam*. *Phytochemistry*, 2004; 65: 507-510.
11 Chang LC, *et al*. Activity-guided isolation of constituents of *Cerbera manghas* with antiproliferative and antiestrogenic activities. *J Biorg Med Chem Lett* 2000; 10: 2431-2434.
12 Xun HH (徐汉虹), Zhao SH (赵善欢). Studies on insecticidal activity of cassia oil and its toxic constituent analysis. *South China Agric Univ* (华南农业大学学报). 1994; 15: 27-33.
13 Cong PZ(丛浦珠). The Application of Mass Spectra in Natural Organic Chemistry. Beijing: Science Press, 1987. 329.
14 Masada Y. Analysis of Essential Oils by Gas Chromatography and Mass Spectrometry. New York: John Wiley and Sons Inc, 1976. 31.
15 Adams RZP. Identification of Essential Oils by Ion Trap Mass Spectroscopy. San Diego: Academic Press, 1989. 1.