

雷公藤生物碱的化学成分及杀虫作用研究进展

周 琳, 高 飞, 孙淑君

(河南农业大学 植物保护学院, 河南 郑州 450002)

摘要: 对杀虫植物雷公藤生物碱的化学成分、提取制备与分析方法以及杀虫活性、作用机理、田间药效等方面研究做一综述, 并对雷公藤生物碱作为杀虫物质的开发利用前景和今后的研究方向进行了展望。

关键词: 植物杀虫剂; 雷公藤; 生物碱; 杀虫作用

中图分类号: S482.3⁺9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2009)01-0014-04

雷公藤 (*Tripterygium wilfordii* Hook) 为卫矛科雷公藤属植物, 广泛分布于我国长江以南, 不仅是我国优良的中草药资源, 也是传统的植物杀虫剂, 在民间很早即被用于防治农业害虫。20 世纪 30 年代, 我国学者就开始了雷公藤杀虫作用的研究, 直到 70 年代初, 人们发现其有明显的抗肿瘤、抗风湿等作用后而处于停滞阶段。华南农业大学和西北农林科技大学不懈地对雷公藤的特异性杀虫作用进行系统研究, 初步明确了生物碱是该植物中的主要杀虫活性成分。以下就雷公藤生物碱的化学成分及其杀虫作用的研究情况进行了简要概述, 旨在为新型植物源农药品种的开发利用提供信息和思路。

1 雷公藤生物碱的化学成分

倍半萜类生物碱是雷公藤中的主要生理活性物质, 舒孝顺等^[1]于 2003 年报道的雷公藤倍半萜类生物碱有 wilforine (雷公藤次碱)、wilfordine (雷公藤定碱)、wilforgine (雷公藤吉碱)、wilfortrine (雷公藤春碱)、wilforzine (雷公藤增碱)、wilfordmine (euonine, 雷公藤新碱)、wilfordine (雷公藤碱戊)、wilfordconine (雷公藤康碱)、wilfordsine (雷公藤明碱)、euonymine、wilfordsuine (雷公藤植碱)、wilfordinine (雷公藤定宁)、isowilfortrine (异雷公藤春碱)、isowilfordine (异雷公藤碱)、peritassines A 和南蛇藤蛇碱等 22 种。2006 年, Horiuch 等^[2]又从雷公藤根中分离得到 3 个新的倍半萜吡啶生物碱 tripfordine A, B, C。此外, 还分离得到了 celacinine (苯乙烯南蛇碱)、celafurine (呋喃南蛇碱)、

celabenzine (苯代南蛇碱)、celalocinnine (南蛇藤别肉桂酰胺碱) 4 种精咪类生物碱和卫矛碱、翅卫矛辛宁^[1]。

2 雷公藤生物碱的提取制备

雷公藤生物碱提取制备方法有物理提取法、化学合成法和生物法。其中物理提取法虽有耗时长、效率低、提取物一般为混合物的缺点, 但仍是目前最经典的方法; 化学合成法和生物法目前多处于实验室研究阶段, 相应的制备技术和较大规模的生产工艺尚待进一步研究、完善, 但通过这 2 种方法大规模制备雷公藤生物碱的前景非常广阔。

2.1 物理提取法

最常用的物理提取法是以乙醇为溶剂, 采用浸渍、渗漉、回流等提取方法, 直接从粉碎过筛后的雷公藤样品中提出生物碱, 回收溶剂后, 可得浓缩的生物碱提取液。另一种是用酸 (如盐酸、醋酸等) 水浸提、渗漉粉碎后的雷公藤样品, 将提取液减压浓缩后加碱 (NaOH 或浓氨水) 碱化后, 再与水不混溶的有机溶剂提取出游离生物碱, 回收溶剂后可得生物碱粗制品。此外, 超临界萃取、微波提取、超声提取和破碎提取等方法近来也受到人们的关注, 但尚未见在雷公藤生物碱的提取中得以应用的报道。

2.2 化学合成法

Li Ya^[3]用 frontalin analogs 和类异戊二烯合成了新生物碱。Spivey 等^[4]研究了卫矛科植物倍半萜类生物碱的化学合成, 从 (-)-香芹酮 (carvone) 等多种化合物开始, 化学合成了倍半萜骨架; Yamada

收稿日期: 2008-06-25

基金项目: 河南省科技攻关项目 (082102350033)

作者简介: 周 琳 (1971-), 女, 河南南阳人, 副教授, 博士, 主要从事生物农药与植物保护研究。

等^[5]经过6步反应最终合成了(-)-卫矛羧碱(evo-nine, 一种存在于 *Euonymus sieboldianus* 中的倍半萜生物碱), 从而打通了合成该类生物碱的全部化学合成过程, 为将来雷公藤生物碱的较大规模合成制备提供了有力的依据。但该类生物碱的化学合成目前仍存在如何降低合成成本、实现合成产物的立体构像构建等问题, 而这些问题正是化学合成最终能否实现产业化的前提和关键。

2.3 生物法

1972年, Lee等^[6]利用 nicotinic acid-6-¹⁴C 和 nicotinamide adenine dinucleotide-carbonyl-¹⁴C 在雷公藤植株内生物合成了4种吡啶半萜酯类生物碱。目前, 植物次生物质的生物合成途径研究倍受人们关注, 如生物碱、萜类等植物次生物质生物合成过程中的多个合成酶已研究清楚。但因雷公藤生物碱为倍半萜类生物碱, 包括萜类和生物碱2条生物合成途径, 在植物体内涉及上千个生物合成酶, 关键酶也有几十个, 所以, 通过基因修饰等生物调控技术达到雷公藤生物碱的高产尚待进一步研究。

人们由组织培养法从雷公藤中分离出蛇藤醇生物碱, 并详细研究了 PRL-4medium, PRO₂Co₁₀₀ 及 PRD₂Co₆₀ 等培养基的组成对生成物及其产量的影响^[7]。国内通过细胞系悬浮培养技术实现了雷公藤总生物碱的制备, 提取量为植物体内的2.9倍^[8]。因此, 利用组织和细胞培养方法生产雷公藤生物碱前景广阔。

Strobel等^[9]从雷公藤茎的内皮上分离的内生菌(*Cryptosporiopsis cf. quercina*)能产生一种新型环肽抗生素 cryptocandin, 其对癣菌及白色念珠菌等人类病原真菌具有强烈抑杀作用。Li等^[10]由该内生菌分离到一种对稻瘟病菌(*Pyricularia oryzae*)等多种植物病原真菌有较强抑杀作用的新酰胺生物碱 cryptocin。Wagenaar等^[11]又分离出另一种内生真菌(*Rhinochadiella* sp.), 并从其发酵代谢物中分离到3种能强烈抑制多种人类肿瘤细胞的新生物碱。虽然目前尚处于实验室研究阶段, 但利用内生真菌发酵获取目标次生代谢产物具有快速、经济、简单等优点, 因此, 该方法可谓是获取雷公藤生物碱最具应用潜力的途径之一。

3 雷公藤生物碱的分析方法

3.1 重量法

重量法为传统经典方法, 被广泛用于分析雷公藤总生物碱的含量。戴克敏等^[12]用重量法测定了

不同地区雷公藤的不同药用部位的总生物碱含量, 结果表明, 其根总生物碱含量在1%左右。重量法简便易操作, 但误差较大, 重现性差。

3.2 薄层扫描法

薄层色谱法是使用最为广泛的方法, 中国药典推荐的也是此法。薄板为硅胶板, 展开剂为2:1的氯仿-乙醚混合溶剂, 显色剂为2% 3, 5-二硝基苯甲酸与2 mol/L的NaOH乙醇溶液按1:3混合, 用薄层扫描仪以双波长($\lambda_s = 535 \text{ nm}$, $\lambda_R = 650 \text{ nm}$)反射锯齿扫描法测定。设备较贵, 但方法可靠, 操作简便。

3.3 紫外分光光度法

雷公藤生物碱主要为倍半萜大环内酯类生物碱, 已报道的15个单体碱紫外光谱在(226 ± 2) nm 和(267 ± 1) nm 波长处均有共同吸收^[13]。张荣等^[14]用醇提-氧化铝柱层析-紫外分光光度法测定雷公藤口服液中的雷公藤倍半萜类生物碱含量, 平均回收率为98.08%, RSD为0.359%(n=5), 发现该法适用于雷公藤制剂中总生物碱含量的测定。

3.4 液相色谱法

汤长明等^[15]采用高效液相色谱法(HPLC)测定湿疹净喷雾剂中雷公藤吉碱的含量, 采用Hypersil ODS 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-磷酸二氢钠水溶液(6:4), 测定结果准确、灵敏, 重复性好。陈列忠等^[16]以乙腈+0.02 mol/L 磷酸二氢钾水溶液(50+50)作为流动相, 流速为1 mL/min, C18反相色谱柱, 紫外检测波长为195 nm, 用外标法对雷公藤总生物碱中的雷公藤次碱进行了定性定量分析, 方法的变异系数为0.24%, 线性相关系数为0.9995, 平均回收率为99.8%。

4 雷公藤生物碱的杀虫作用

4.1 雷公藤生物碱的杀虫活性

自1933年陈同素^[17]首次报道雷公藤对家蚕(*Bombyx mori*)具胃毒和触杀作用及有效成分分布于根系后, 人们便纷纷开始对雷公藤的杀虫作用进行探讨, 主要集中在雷公藤根粗提物的杀虫活性上, 研究表明, 其对鳞翅目、鞘翅目、双翅目、同翅目、蜚蠊目等多种昆虫具有较强的毒杀、拒食、麻醉、生长发育抑制和种群抑制活性^[18~25]。但有关雷公藤生物碱单体的杀虫作用研究较少, 目前仅报道有6种杀虫生物碱。1950年, A cree等^[26]从雷公藤中分离出雷公藤定碱, 并首次发现其杀虫活性; 赵善欢^[27]报道, 其对三化螟(*Tryporyza incertulas*)幼虫具很

强的内吸毒杀作用。Beroza 等^[28~31]先后从雷公藤根中分离到雷公藤定碱、雷公藤次碱、雷公藤春碱、雷公藤吉碱 4 种杀虫生物碱,对欧洲玉米螟(*Pyrausta nubilalis*)初孵幼虫有很强的毒杀活性,600 mg/L 处理后,初孵幼虫 3 d,死亡率分别为 100%,54%,100%,73%。童红云等^[32]研究表明,高浓度雷公藤次碱处理菜青虫(*Pieris rapae*)幼虫可致其死亡,低浓度处理使幼虫生长发育受到影响,发育成畸形蛹或不良成虫,成虫卵巢发育受到严重影响。Brüning 等^[33]分离出了杀虫生物碱雷公藤增碱。罗都强等^[34,35]后又从雷公藤根皮中分离出一种杀虫生物碱雷公藤新碱,并测得雷公藤次碱、雷公藤定碱、雷公藤新碱和雷公藤吉碱对黏虫 *Mythimna separate* 五龄幼虫拒食中浓度(AFC₅₀)分别为 30.85, 40.17, 53.22 和 77.15 mg/L,麻醉中浓度(ND₅₀)分别为 20.67, 82.70, 128.93 和 262.80 μg/g,无熏蒸和触杀作用。

4.2 雷公藤生物碱对昆虫的作用机制

雷公藤总生物碱引起中毒黏虫行动迟缓、停止取食、继而麻醉、后复苏(或死亡),复苏试虫可再次取食、麻醉、复苏(或死亡)。症状反应表明,雷公藤生物碱作用于昆虫的神经系统;进一步结合生化分析结果,推测雷公藤总生物碱可能作用于昆虫的神经-肌肉接点^[36]。但这有待于通过电生理等技术进一步研究证实。中毒试虫中肠消化酶(蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶)活性和正常试虫无明显差异,而电镜观察发现,中肠细胞及其细胞器发生明显病变,柱状细胞顶膜微绒毛零乱、减少;线粒体肿胀,出现空白亮区,双层膜不完整;细胞质密度降低,细胞器排列紊乱;内质网池扩张,囊泡化;杯状细胞杯腔变大,微绒毛减少^[36]。童红云^[32]曾报道,菜青虫中毒后,大多数体表出现黑斑,表皮层增厚,真皮细胞和内表皮间出现肿瘤,肿瘤附近的真皮细胞和内表皮脱落,在肿瘤附近形成空腔;且试虫取食雷公藤次碱后出现昏迷时呼吸节律不明显,波幅变小,CO₂ 释放量减少,5 d 后体内脂肪体和消化道干瘪,中肠肠壁细胞和围食膜被破坏;五龄菜青虫经雷公藤处理后,其雌成虫卵巢显著小于对照试虫。可见,雷公藤生物碱主要作用于昆虫的神经系统,引起昆虫麻醉,同时破坏昆虫中肠肠壁细胞,影响取食和代谢,对昆虫的呼吸系统等也有一定的影响。雷公藤生物碱的杀虫作用机理比较特殊,且具多个作用靶标。

4.3 雷公藤生物碱的田间药效

用以雷公藤总生物碱为主要活性成分加工而成

的 1.0%雷公藤生物碱乳油进行田间试验^[37],证明该制剂对小菜蛾和菜青虫的控制效果非常显著,药后 7 d,经 40 mg/L 处理的防治效果与 0.9%阿维菌素 3 000 倍液相当,且对作物相对较为安全,但雷公藤生物碱的速效性和持效性较阿维菌素差,这可通过合理复配来加以改善和提高。

5 展望

雷公藤生物碱对昆虫具有广谱、高效、作用方式多样等特点,且作用机理独特、作用部位复杂,田间防治效果好,具有开发成新型特异性害虫控制剂的广阔前景。但要真正实现雷公藤生物碱的产业化,尚有以下几方面的工作亟待进行:应继续加强雷公藤生物碱的分离鉴定工作;雷公藤含有 20 余种生物碱,除已知的 6 种杀虫生物碱外,其他生物碱是否也具有杀虫活性,尚需进一步研究确定;主要杀虫生物碱的作用机理尚需通过电生理等技术进行深入地研究确证,其分子靶标也有待于深入探讨;进一步加强雷公藤生物碱的化学法和生物法规模化提取制备工艺研究与实践,以解决其资源问题。此外,对雷公藤生物碱制剂加工、田间应用技术研究和环境安全性评价也是实现雷公藤产业化的前提与基础。

参考文献:

- [1] 舒孝顺,高中洪,杨祥良.雷公藤生物碱的化学和药理活性研究进展[J].广东药学院学报,2003,19(2):150—154.
- [2] Horiuchi M, Murakami C, Fukamiya N, et al. Tripteridines A-C, sesquiterpene pyridine alkaloids from *Tripterygium wilfordii*, and structure anti-HIV activity relationships of *Tripterygium* alkaloids[J]. J Nat Prod 2006, 69(9): 1271—1274.
- [3] Li Ya. New alkaloids synthesis of frontalin analogs and isoprenoids[J]. Diss Abstr Int B, 1995(8): 3291.
- [4] Spivey A C, Weston M, Woodhead S. Celastraceae sesquiterpenoids: biological activity and synthesis[J]. Chem Soc Rev, 2002, 31: 43.
- [5] Yamada Y, Yamamoto T, Okawara M. Synthesis and reaction of new type IN Ylide, N-Tosyliminoindane[J]. Chem Lett, 1975, 6: 579—588.
- [6] Lee H J, Waller G R. Biosynthesis of pyridine alkaloids from *Tripterygium wilfordii*[J]. Phytochemistry, 1972, 11(7): 2233—2240.
- [7] 曹伟平,杨更亮,张红医,等.雷公藤有效成分制备的研究进展[J].中草药,2002,33(2):186—188.
- [8] 曹华兴,胡凡.植物悬浮培养细胞生产雷公藤总生物碱

- 的方法; 中国, CN1434123A[P] . 2003—08—06.
- [9] Strobel G A, Miller R V, Martinez-Miller C, *et al.* Cryptocandin, a potent antimycotic from the endophytic fungus *Cryptosporiopsis cf. quercina*[J] . Microbiology, 1999, 145: 1919—1926.
- [10] Li J Y, Strobel G A, Harper J, *et al.* Cryptocin, a potent tetramic acid antimycotic from the endophytic fungus *Cryptosporiopsis cf. quercina*[J] . Org Lett, 2000, 23: 767—770.
- [11] Wagenaar M M, Corwin J, Strobel G, *et al.* Three new cytechalasin produced by an endophytic fungus in the genus *Rhizoctonia*[J] . J Nat Prod, 2000, 63: 1692—1695.
- [12] 戴克敏, 王艳. 不同地区不同药用部位雷公藤和昆明山海棠的总生物碱含量测定[J] . 中成药, 1994, 16(11): 41—43.
- [13] 徐力红, 苗抗立, 黄丽瑛, 等. 雷公藤生物碱的分离鉴定[J] . 中国药房, 1995, 6(4): 12—13.
- [14] 张荣, 汤秋华, 胡永狮, 等. 紫外分光光度法测定雷公藤口服液总生物碱的含量[J] . 华西药理学杂志, 2000, 15(1): 133—135.
- [15] 汤长明, 李军, 庞晓东. HPLC 法测定湿疹净中雷公藤吉碱和苦参碱的含量[J] . 解放军药理学学报, 2002, 18(5): 306—308.
- [16] 陈列忠, 陈建明, 吕仲贤, 等. 雷公藤次碱的高效液相色谱分析方法[J] . 农药, 2005, 44(4): 172—173.
- [17] 陈同素. 国产杀虫剂雷公藤调查报告[J] . 中华农学会报, 1933, 125: 79—82.
- [18] 张兴, 赵善欢. 几种植物性物质对米象、玉米象的初步试验[J] . 粮食贮藏, 1983, 12(1): 1—8.
- [19] 宋晓钢, 阮冠华, 林树青. 植物性药剂对蜚蠊的毒效[J] . 昆虫知识, 1999, 36(1): 29—30.
- [20] 郑许松, 俞晓平, 吕仲贤, 等. 雷公藤根皮提取物对茭白二化螟的生物活性[J] . 植物保护, 2003, 2(3): 31—35.
- [21] 周琳, 冯俊涛, 张锦恬, 等. 雷公藤总生物碱对几种昆虫的生物活性[J] . 植物保护, 2007, 45(6): 60—63.
- [22] 周琳, 冯俊涛, 马志卿, 等. 雷公藤总生物碱对粘虫的生物活性[J] . 植物保护学报, 2006, 33(4): 401—406.
- [23] 徐红星, 俞晓平, 陈建明, 等. 雷公藤提取物对小菜蛾的生物活性[J] . 浙江农业学报, 2003, 15(2): 83—86.
- [24] 周小慧, 王平, 陈延伟, 等. 雷公藤提取液对卫矛尺蠖取食和生长的影响[J] . 湖南农业科学, 2004(2): 43—45.
- [25] 孙兆贵, 王元秀. 亚致死剂量的雷公藤抑制赤拟谷盗种群增殖和增加农药敏感性[J] . 山东师范大学学报(自然科学版), 2005, 20(3): 75—76, 82.
- [26] Acree F, Haller H L. Wilfordine, an insecticidal alkaloid from *Tripterygium wilfordii* Hook[J] . J Amer Chem Soc, 1950(72): 1608—1611.
- [27] 赵善欢, 张兴. 植物性杀虫剂对水稻三化螟拒食及内吸毒力试验[J] . 中国农业科学, 1982, 15(2): 55—62.
- [28] Beroza M. Alkaloids from *Tripterygium wilfordii* Hook-wilforine and wilfordine[J] . J Amer Chem Soc, 1951, 73: 3656—3659.
- [29] Beroza M. Alkaloids from *Tripterygium wilfordii* Hook-wilforine and wilfortrine[J] . J Amer Chem Soc, 1952, 74: 1585—1588.
- [30] Beroza M. Alkaloids from *Tripterygium wilfordii* Hook. The structure of wilforine, wilfordine, wilfortrine and wilfortrine[J] . J Amer Chem Soc, 1953, 75: 44—49.
- [31] Beroza M, Bottger G T. The insecticidal value of *Tripterygium wilfordii*[J] . J Amer Chem Soc, 1954, 76: 188—199.
- [32] 童红云, 赵善欢. 雷公藤对菜青虫的毒理效应及防治[J] . 华南农业大学学报, 1988, 9(4): 14—20.
- [33] Brüning R, Wanger H. Übersicht über die celastaceen-inhaltstoffe; chemotaxonomie, biosynthese, pharmakologie[J] . Phytochemistry, 1978, 17: 1821—1838.
- [34] Luo D Q, Zhang X, Tian X, *et al.* Insecticidal compounds from *Tripterygium wilfordii* active against *Mythimna separate*[J] . Z Naturforsch, 2004, 59: 421—426.
- [35] 罗都强. 雷公藤有效成分的分离与杀虫作用研究[D] . 杨凌: 西北农林科技大学, 2002.
- [36] 周琳. 雷公藤总生物碱的杀虫作用研究[D] . 杨凌: 西北农林科技大学, 2007.
- [37] 周琳, 马志卿, 冯俊涛, 等. 雷公藤生物碱制品对小菜蛾和菜青虫的控制效果[J] . 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2006, 34(12): 169—173.