

姜黄素类化合物对朱砂叶螨的生物活性

张永强, 丁伟*, 赵志模

(西南大学植物保护学院, 重庆 400716)

摘要: 分别用玻片浸渍法和叶片浸渍法测定了从姜黄中分离的姜黄素(curcumin, CCM)、去甲氧基姜黄素(demethoxycurcumin, DMC)和双去甲氧基姜黄素(bisdemethoxycurcumin, BDMC) 3种天然姜黄素类化合物对朱砂叶螨(*Tetranychus cinnabarinus* Boisduval)的成螨、若螨、卵的触杀活性以及对成螨产卵的抑制作用。结果表明: 3种化合物对朱砂叶螨的生物活性大小依次为 BDMC > DMC > CCM。3种化合物对朱砂叶螨成螨触杀活性最高者为 BDMC, 处理 24 h 和 48 h 其 LC_{50} 分别为 1.18 和 0.51 mg/mL。对若螨触杀活性的大体趋势与对成螨的相同, 其中处理 48 h, BDMC 对若螨的 LC_{50} 最小, 为 2.48 mg/mL。3种化合物对朱砂叶螨卵的触杀毒力也同样表现为 BDMC > DMC > CCM。3种单体化合物都表现出一定的对朱砂叶螨雌成螨的产卵抑制作用。对姜黄素类化合物构效关系的初步研究, 明确了甲氧基在姜黄素模板上对杀螨活性的贡献, 对于开发具经济价值的叶螨类杀螨剂或者筛选先导化合物模板, 具有一定的参考价值。

关键词: 朱砂叶螨; 姜黄素类化合物; 生物活性

中图分类号: S482.5 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2007)12-1304-05

Biological activities of curcuminoids against *Tetranychus cinnabarinus* Boisduval (Acari: Tetranychidae)

ZHANG Yong-Qiang, DING Wei*, ZHAO Zhi-Mo (College of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400716, China)

Abstract: The direct contact activities of the curcumin (CCM), demethoxycurcumin (DMC) and bisdemethoxycurcumin (BDMC), isolated from the rhizomes of *Curcuma longa*, against the adults, nymphs and eggs of *Tetranychus cinnabarinus* Boisduval and oviposition inhibition against female adult mites were examined under the laboratory condition by slide-dip and leaf-dip method, respectively. The results showed that evaluated with the medium lethal concentration (LC_{50}) values, the biological activities of both contact action and oviposition inhibition of three monomers against *T. cinnabarinus* were in the tendency of BDMC > DMC > CCM. BDMC showed the highest contact toxicity against adult *T. cinnabarinus* among the three components, whose LC_{50} values at 24 h and 48 h were 1.18 mg/mL and 0.51 mg/mL, respectively. The general tendency of contact action against *T. cinnabarinus* nymph was same as against the adult, and the most toxic component to the nymph was BDMC, whose LC_{50} at 48 h was 2.48 mg/mL. The contact toxicity of curcuminoids against *T. cinnabarinus* egg also exhibited the tendency of BDMC > DMC > CCM. All the three components showed certain oviposition inhibition activity against *T. cinnabarinus* female adults. Through the primary structure-activity relationship analysis of curcuminoids, the attribution of methoxy to acaricidal activities was determined, which could provide valuable information for developing potential new phytophagous acaricide or lead compound.

Key words: *Tetranychus cinnabarinus*; curcuminoids; biological activity

基金项目: 国家自然科学基金项目(30671392); 重庆市科技攻关项目(2001-6599)

作者简介: 张永强, 男, 1980年9月生, 博士研究生, 从事植物源杀螨剂研究, E-mail: zhangyq80@tom.com

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: dding818@yahoo.com.cn

收稿日期 Received: 2007-04-09; 接受日期 Accepted: 2007-11-05

朱砂叶螨 *Tetranychus cinnabarinus* Boisduval 属于蛛形纲 (Arachnida) 蜱螨亚纲 (Acari) 螨目 (Acariformes) 叶螨科 (Tetranychidae), 在我国分布广泛, 是棉花和多种蔬菜上危害严重而难以防治的一种害螨 (何林等, 2005)。多年来, 对害螨的控制主要依赖化学农药, 但大量使用化学农药不可避免地会产生“3R”问题 (苗慧等, 2004)。为了克服化学农药带来的副作用, 许多研究人员在探讨非化学措施控制该螨, 这些措施包括抗性植物品种的筛选、捕食螨的释放等。但是, 在当前情况下, 控制螨类的发生和危害最主要的措施还是药剂控制, 因此, 开发新的杀螨剂是当前农药研究的一个重点。研究植物提取物对螨的控制效果也取得了很大进展, 方才君和胡仕林 (1997) 测定了 6 种植物精油对朱砂叶螨的毒性; 贺春贵 (1996) 测定了 5 种中药植物对该螨的控制效果; Chiasson 等 (2001) 研究报道了以 3 种提取方法从苦艾 *Artemisia absinthium* 和艾菊 *Tanacetum vulgare* 中获得的植物精油对二斑叶螨 *Tetranychus urticae* 的作用效果。这些研究报道明确了从植物中可以获得比较理想的杀螨活性物质, 为进一步开发植物性的杀螨剂奠定了一定的基础。

有关中药植物姜黄 *Curcuma longa* 生物活性的研究报道表明, 姜黄提取物有一定的杀虫和抑菌活性 (Murugan and Jeyabalan, 1998; Eigner and Scholz, 1999; Parihar *et al.*, 1999; Araújo and Leon, 2001; Tripathi *et al.*, 2002; 丁伟等, 2003)。张永强等 (2004) 报道了姜黄的苯提取物具有较强的杀螨活性。Chowdhury 等 (2000) 研究了姜黄素、姜黄精油、姜黄根茎的苯提取物对红螨 *Dysdercus koenigii* 若虫和沙漠蝗虫 *Schistocerca gregaria* 的生长抑制作用。姜黄素类化合物是姜黄的主要成分, 姜黄素在医药上有很重要的价值 (Egan *et al.*, 2004), 但有关姜黄素类化合物对螨的生物活性研究还未见报道。我们利用分离得到的 3 种姜黄素类化合物, 测定了其对于螨类的生物活性, 并讨论了该 3 种化合物结构与活性的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试螨类: 朱砂叶螨最初采自重庆市北碚区田间豇豆苗上, 后在人工气候室内 ($26^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, RH 60% ~ 80%, 光周期 16L:8D) 用盆栽豇豆苗饲养多年。

1.1.2 姜黄素类化合物的提取分离: 姜黄根茎购自重庆市中药材市场, 置 60°C 烘干粉碎, 过 60 目筛。前期处理同杨模坤等 (1984) 方法, 之后用柱层析 ($100\text{ cm} \times 3\text{ cm}$, 填充料为柱层析硅胶 60 ~ 100 目, 洗脱剂用氯仿: 甲醇: 甲酸 = 96: 4: 0.1) 把姜黄素类化合物分为 3 个组分。经薄层层析鉴定为姜黄素 (curcumin, CCM), 去甲氧基姜黄素 (demethoxycurcumin, DMC) 和双去甲氧基姜黄素 (bis-demethoxycurcumin, BDMC)。

1.2 方法

1.2.1 姜黄素类化合物对朱砂叶螨成螨的触杀毒力测定: 参照 FAO 推荐的测定螨类抗药性的标准方法—玻片浸渍法 (FAO, 1980) 并加以改进。用 0 号软毛笔挑取雌成螨放在玻片双面胶带上, 每片 40 只左右, 每个处理浓度至少 3 片, 之后在 $26^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、RH 60% ~ 80% 条件下放置 4 h, 用双目解剖镜检查, 剔除死亡和不活泼的个体, 记载活螨数。将带螨的一端浸入事先配好的药液中 5 s 后取出, 迅速用吸水纸吸干螨体及其周围多余的药液。相同饲养条件下保湿放置 3 天, 每 24 h 检查一次结果。用毛笔轻触其身体, 以螨螯肢不动者为死亡。实验重复 3 ~ 4 次。

1.2.2 姜黄素类化合物对朱砂叶螨若螨的触杀毒力测定: 步骤同 1.2.1 节, 只是供试螨选择整齐一致的 3 日龄的若螨。

1.2.3 姜黄素类化合物对朱砂叶螨卵的触杀毒力测定: 参照 Insecticide Resistance Action Committee (2000) 方法。采集新鲜的豇豆叶片, 洗净晾干, 在叶背划出一个约 3 cm^2 的区域, 叶背朝上放置在垫一层湿棉花的培养皿 (直径 5 cm) 中, 区域两侧用湿棉花覆盖, 使叶片紧贴棉花。用 0 号软毛笔向区域内接 15 头 5 日龄的雌成螨, 置养虫室中任其产卵 12 h 移去成螨。将粘有螨卵的叶片在药液中浸渍 5 s。药液设置 6 ~ 7 个浓度, 每处理设置 3 次重复, 以不作药液处理的为对照。叶片晾干后按照上述方法重新放入培养皿中, 检查并记录剩余螨卵数。每日往培养皿中加水保湿, 每 24 h 观察卵孵化情况, 观察 4 天, 外界环境同 1.2.1 节, 当对照卵全部孵化时, 处理卵仍没有孵化的视为死亡。

1.2.4 姜黄素类化合物对朱砂叶螨成螨产卵的抑制作用: 参照 1.2.3 节的方法, 叶片涂布药液后接入 20 头 5 日龄的雌成螨, 统计 24 h 的产卵量。计算活螨平均产卵量、产卵抑制指数和产卵抑制率。

产卵抑制指数 = $(\text{对照产卵数} - \text{处理产卵数}) / (\text{对照产卵数} + \text{处理产卵数})$

产卵抑制率(%) = [(对照产卵数 - 处理产卵数) / 对照产卵数] × 100%

1.3 数据分析

计算死亡率和校正死亡率;采用 Finney 机率值分析法,将浓度取对数,将校正死亡率转换成机率值,得线性回归方程和致死中浓度。

2 结果与分析

2.1 姜黄素类化合物对朱砂叶螨成螨的触杀活性

从表 1 看出,3 种化合物对朱砂叶螨成螨的触杀活性存在一定差异,总体表现为 BDMC > DMC > CCM,如 24 h 三者的 LC_{50} 分别为 1.18, 15.62 和

24.57 mg/mL;处理 48 h 三者的 LC_{50} 分别为 0.51, 2.57 和 2.64 mg/mL,其回归直线的斜率分别为 1.14, 0.91 和 0.67。从斜率的生物学意义讲,就是朱砂叶螨成螨对药剂浓度的敏感性大小顺序为 BDMC > DMC > CCM,即随着药剂浓度的增加,BDMC 对朱砂叶螨的致死效应要强于 DMC 和 CCM。

3 种化合物对朱砂叶螨若螨的触杀活性差异没有对成螨的明显,但总体趋势还是表现为 BDMC > DMC > CCM,如 24 h 三者的 LC_{50} 分别为 8.57, 9.77 和 14.38 mg/mL。单从数值上看,BDMC 对朱砂叶螨成螨的活性较若螨强(表 1)。随着姜黄素母体化合物的取代基团的简化,对螨卵的触杀活性增强,其中 BDMC 对朱砂叶螨卵的触杀 LC_{50} 为 8.19 mg/mL(表 1)。

表 1 3 种姜黄素类化合物对朱砂叶螨的生物活性

Table 1 Biological activities of three curcuminoid compounds against *Tetranychus cinnabarinus*

发育历期 Developmental stage	化合物 Compound	处理时间(h) Exposure time	供试螨数 <i>n</i>	LC_{50} (mg/mL)及其 95% 置信区间 LC_{50} (mg/mL) and 95% CI	斜率 ± 标准误 Slope ± SE	χ^2
成螨 Adult	CCM	24	2 158	24.57 (21.38 - 27.76)	0.51 ± 0.05	0.2557
		48	2 018	2.64 (2.49 - 2.77)	0.67 ± 0.09	1.7476
	DMC	24	2 015	15.62 (13.52 - 17.72)	0.60 ± 0.07	0.4903
		48	2 028	2.57 (1.80 - 3.44)	0.91 ± 0.15	5.0622
	BDMC	24	2 145	1.18 (0.93 - 1.43)	1.01 ± 0.12	0.5861
		48	2 160	0.51 (0.40 - 0.62)	1.14 ± 0.06	4.3816
若螨 Nymph	CCM	24	2 105	14.38 (12.28 - 16.48)	0.88 ± 0.05	0.2158
		48	2 069	3.27 (2.90 - 3.64)	1.18 ± 0.13	4.8218
	DMC	24	2 148	9.77 (7.10 - 12.44)	0.76 ± 0.16	1.1707
		48	2 210	3.15 (2.71 - 3.59)	0.91 ± 0.09	0.4772
	BDMC	24	2 063	8.57 (7.57 - 9.57)	0.70 ± 0.08	3.9058
		48	2 045	2.48 (2.10 - 2.88)	0.77 ± 0.09	2.4227
卵 Egg	CCM		2 147	22.59 (20.27 - 24.91)	1.18 ± 0.06	1.4092
	DMC		2 019	11.96 (10.82 - 13.10)	1.29 ± 0.08	3.9848
	BDMC		2 049	8.19 (7.37 - 9.07)	1.19 ± 0.14	1.7873

CCM: 姜黄素 Curcumin; DMC: 去甲氧基姜黄素 Demethoxycurcumin; BDMC: 双去甲氧基姜黄素 Bisdemethoxycurcumin。用玻片浸渍法测定成、若螨的触杀活性,用叶片浸渍法测定杀卵和成螨产卵抑制作用 The contact activity against adult, and nymph was determined by slide-dip method, while the ovicidal activity and the adult oviposition inhibition were determined by leaf-dip method.

2.2 姜黄素类化合物对朱砂叶螨雌成螨产卵的抑制作用

从图 1 看出,无论从产卵抑制指数还是产卵抑制率来看,BDMC 的生物活性在同等剂量下都比 DMC 和 CCM 高,在 10 mg/mL 和 5 mg/mL 时的产卵抑制率分别达到 98.54% 和 96.26%,并且值得注意的是 BDMC 浓度仅为 0.83 mg/mL 时的产卵抑制率仍可达 75.29%。

3 讨论

姜黄素类化合物是姜黄根茎粉末中的主要颜料

成分,主要包含姜黄素、去甲氧基姜黄素和双去甲氧基姜黄素。本研究结果表明:姜黄素、去甲氧基姜黄素和双去甲氧基姜黄素对朱砂叶螨成螨的触杀活性存在一定差异,24 h 和 48 h 总体表现为 BDMC > DMC > CCM;3 种化合物对朱砂叶螨若螨的触杀活性差异没有对成螨的明显,但总体趋势还是相同的;并且 BDMC 对朱砂叶螨雌成螨的产卵抑制指数和产卵抑制率都是最高的,每雌产卵量是最少的。从医学方面研究姜黄的主要成分姜黄素类化合物的活性差异亦有报道(Wahl *et al.*, 2007);Simon 等(1998)研究姜黄素类化合物对人类乳腺肿瘤 MCF-7 的增殖作用,结果表明:去甲氧基姜黄素表现出最强的

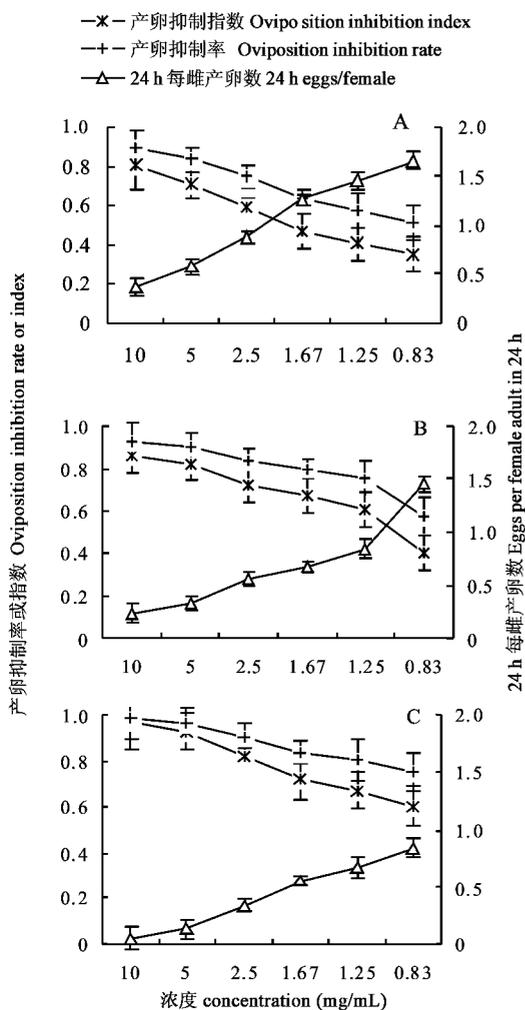


图 1 3 种姜黄素类化合物对朱砂叶螨雌成螨产卵的抑制作用

Fig. 1 Oviposition inhibition activity of three curcuminoids against *Tetranychus cinnabarinus* female adults
A: 姜黄素 Curcumin; B: 去甲氧基姜黄素 Demethoxycurcumin;
C: 双去甲氧基姜黄素 Bisdemethoxycurcumin.

抑制作用,姜黄素和双去甲氧基姜黄素次之,而合成的三环姜黄素(缺少二酮结构)抑制作用较差;姜黄素分子中二酮结构的存在似乎是抑制作用所必需的结构。

对姜黄素类化合物构效关系的初步研究,明确了甲氧基在姜黄素模板上对杀螨活性的贡献,对于开发具经济价值的叶螨类杀螨剂或者筛选先导化合物模板,具有一定的参考价值。今后我们将在这 3 种化合物的作用机理,作用方式以及有效的结构修饰方面继续开展研究。

参 考 文 献 (References)

Araújo CAC, Leon LL, 2001. Biological activities of *Curcuma longa* L. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96: 723–728.
Chiasson H, Bélanger A, Bostanlan N, Vincent C, Poliquin A, 2001.

Acaricidal properties of *Artemisia absinthium* and *Tanacetum vulgare* (Asteraceae) essential oils obtained by three methods of extraction. *Journal of Economic Entomology*, 94(1): 167–171.

Chowdhury H, Walia S, Saxena VS, 2000. Isolation, characterization and insect growth inhibitory activity of major turmeric constituents and their derivatives against *Schistocerca gregaria* (Forsk) and *Dysdercus koenigii* (Walk). *Pest Management Science*, 56: 1086–1092.

Ding W, Zhang YQ, Chen SJ, Zhao ZM, Zhu YZ, 2003. Preliminary research of insecticidal activities of fourteen Chinese material medicines. *Journal of Southwest Agricultural University (Natural Science)*, 25(5): 417–420. [丁伟,张永强,陈仕江,赵志模,朱聿振,2003. 14 种中药植物杀虫活性的初步研究. 西南农业大学学报(自然科学版), 25(5): 417–420]

Egan ME, Pearson M, Weiner SA, Rajendran V, Rubin D, Glockner-Pagel J, Canny S, Du K, Lukacs GL, Caplan MJ, 2004. Curcumin, a major constituent of turmeric, corrects cystic fibrosis defects. *Science*, 304: 600–602.

Eigner D, Scholz D, 1999. *Ferula asa-foetida* and *Curcuma longa* in traditional medical treatment and diet in Nepal. *Journal of Ethnopharmacology*, 67: 1–6.

FAO, 1980. Recommended methods for measurement of pest resistance to pesticides. In: FAO Plant Production and Protection Paper 21. Rome. 49–54.

Fang CJ, Hu SL, 1997. Toxicity evaluation of essential oils on *Tetranychus cinnabarinus*. *Journal of Southwest China Normal University (Natural Science)*, 22(4): 470–472. [方才君,胡仕林,1997. 植物精油对朱砂叶螨的毒性试验. 西南师范大学学报(自然科学版), 22(4): 470–472]

He CG, 1996. Bioassay of several botanical insecticides. *Journal of Gansu Agricultural University*, 31(3): 233–235. [贺春贵, 1996. 几种植物杀虫剂的初步研究. 甘肃农业大学学报, 31(3): 233–235]

He L, Zhao ZM, Cao XF, Deng XP, Wang JJ, 2005. Effect of temperature on development and fecundity of resistant *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduvai). *Acta Entomologica Sinica*, 48(2): 203–207. [何林,赵志模,曹小芳,邓新平,王进军,2005. 温度对抗性朱砂叶螨发育和繁殖的影响. 昆虫学报, 48(2): 203–207]

Insecticide Resistance Action Committee, 2000. Proposed Insecticide/Acaricide Susceptibility Tests. IRAC Method No.3.

Miao H, Hong XY, Xie L, Xue XF, 2004. Sequencing and sequence analysis of the *usp* gene of *Wolbachia* in *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae). *Acta Entomologica Sinica*, 47(6): 738–743. [苗慧,洪晓月,谢霖,薛晓峰,2004. 朱砂叶螨体内感染的 *Wolbachia* 的 *usp* 基因序列测定与分析. 昆虫学报, 47(6): 738–743]

Murugan K, Jayabalan D, 1998. Effect of certain plant extracts against the mosquito, *Anopheles stephensi* Liston. *Current Science*, 76: 631–633.

Parihar SBS, Thapliyal P, Ramkishore, 1999. Effect of botanicals on peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer). *Insect Environment*, 53: 296.

Simon A, Allais DP, Duroux JL, Basly JP, Durand-fontanier S, Delage C, 1998. Inhibitory effect of curcuminoids on MCF-7 cell proliferation and structure-activity relationships. *Cancer Letter*, 129: 111–116.

Tripathi AK, Prajapati V, Verma N, Bahl JR, Bansal RP, Khanuja SPS,

- Kumar S, 2002. Bioactivities of the leaf essential oil of *Curcuma longa* (var. Ch-66) on three species of stored-product beetles (Coleoptera). *Journal of Economic Entomology*, 95 : 183 – 189.
- Wahl H, Tan LJ, Griffith K, Choi M, Liu JR, 2007. Curcumin enhances Apo2L/TRAIL-induced apoptosis in chemoresistant ovarian cancer cells. *Gynecologic Oncology*, 105(1): 104 – 112.
- Yang MK, Dong XP, Tang YS, 1984. Study on the chemical component in turmeric. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 15(5): 5. [杨模坤, 董小萍, 唐耀书, 1984. 姜黄化学成分的研究. 中草药, 15(5): 5]
- Zhang YQ, Ding W, Zhao ZM, Wang JJ, Liao HJ, 2004. Research on acaricidal bioactivities of turmeric, *Curcuma longa*. *Acta Phytophylacica Sinica*, 31(4): 390 – 394. [张永强, 丁伟, 赵志模, 王进军, 廖涵杰, 2004. 姜黄对朱砂叶螨的生物活性. 植物保护学报, 31(4): 390 – 394]

(责任编辑 : 黄玲巧)