

印楝素 A 和印楝素 B 的稳定性比较

张志祥¹, 田永清¹, 程东美², 徐汉虹¹, 江定心¹

(1. 华南农业大学昆虫毒理研究室, 广东 广州 510642; 2. 仲恺农业技术学院植保系, 广东 广州 510225)

摘要: 印楝种子甲醇抽提物在甲醇+水(体积比为 55:5)中于(54±1)下贮存 7 和 14 d, 印楝素 A 的降解率分别为 33.59% 和 54.45%, 印楝素 B 的为 11.96% 和 21.11%; 印楝种子甲醇抽提物在(54±1)下贮存 7 和 14 d, 印楝素 A 的降解率为 82.35% 和 94.79%, 印楝素 B 的为 20.32% 和 54.75%; 印楝素干粉于(54±1)下贮存 14 d, 印楝素 A 和印楝素 B 的降解率分别为 90.15% 和 81.85%。在(54±1)下热贮 7 d, 在甲醇、甲醇+水(9:1)和甲醇+印楝油(9:1)中印楝素 A 的降解率分别为 29.65%、44.99% 和 12.76%, 印楝素 B 的分别为 19.68%、25.65% 和 9.67%。印楝油对印楝素 A 和印楝素 B 均有保护作用。

关键词: 印楝素 A; 印楝素 B; 稳定性

中图分类号: S482.3⁺9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-2030(2005)01-0125-03

Stability comparison of azadirachtin A and azadirachtin B

ZHANG Zhi-xiang¹, TAN Yong-qing¹, CHENG Dong-mei², XU Han-hong¹, JIANG Ding-xin¹

(1. Laboratory of Insect Toxicology, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

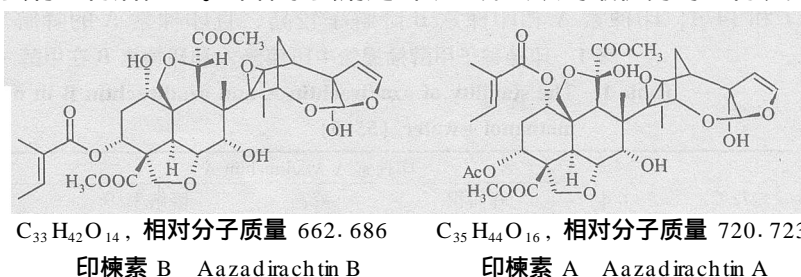
2. Plant Protection Department, Zhongkai Agrotechnical College, Guangzhou 510225, China)

Abstract: Stored in methanol+water (55:5, v/v) at (54±1) for 7 d and 14 d, degraded rates of azadirachtin A in neem seed methanol extracts were 33.59% and 54.45%, and degraded rates of azadirachtin B in same condition were 11.96% and 21.11%. Stored at (54±1) for 7 d and 14 d, degraded rates of azadirachtin A in neem seed methanol extracts were 82.35% and 94.79%, and degraded rates of azadirachtin B in same condition were 20.32% and 54.75%. Stored at (54±1) for 14 d, degraded rates of azadirachtin A and azadirachtin B in azadirachtin powder were 90.15% and 81.85%. Stored in methanol, methanol+water (9:1, v/v) and methanol+neem oil (9:1, v/v) at (54±1) for 7 d, degraded rates of azadirachtin A were 29.65%, 44.99% and 12.76%, and degraded rates of azadirachtin B in same condition were 19.68%, 25.65% and 9.67%. Neem oil could increase stability of azadirachtin A and azadirachtin B.

Key words: azadirachtin A; azadirachtin B; stability

印楝 (*Azadirachta indica* A. Juss.) 是楝科楝属乔木, 原产于印度次大陆, 具有杀虫、杀菌和杀线虫等多种生物活性^[1]。现从印楝中发现了以印楝素 (azadirachtin) 为主的 80 余种杀虫活性物质, 对 10 余目 400 多种农、林、储粮和卫生害虫有生物活性^[2]。印楝杀虫剂是当今世界公认的最优秀的生物农药之一, 其国际影响与市场空间日益扩大^[3,4]。

为了研制印楝素新型制剂, 华南农业大学昆虫毒理研究室研制了 5% ~ 30% 的印楝素干粉, 印楝素 A 和印楝素 B 是干粉中的主要活性成分, 其结构式如右图。



从结构式可以看出, 印楝素 B

与印楝素 A 的主要不同之处在于丁烯酯部分的位置发生了变化, 以及环氧结构上的 -H 和 -OH 的不同。虽然两种结构差异较小, 但在研究印楝抽提物的稳定性时, 笔者发现印楝素 B 的稳定性高于印楝

收稿日期: 2004-01-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (20377015)

作者简介: 张志祥 (1974-), 博士, 讲师, 从事天然源农药研究与开发, E-mail: zdsys@scau.edu.cn

素 A。为了明确印楝素 A 和印楝素 B 的稳定性差异, 笔者进行了以下研究旨在为生产研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料与仪器

印楝素 A 标样购自 Sigma 公司; 印楝素 B 标样由华南农业大学昆虫毒理研究室从印楝种子中分离纯化并进行结构鉴定; 印楝种子甲醇抽提物中印楝素 A 含量为 1.02%; 印楝油是由印楝种子机械冷榨而得到的植物油; 印楝素干粉中印楝素 A 含量为 7.920%, 印楝素 B 含量为 6.133%, 由华南农业大学昆虫毒理研究室制备。

1100 型高效液相色谱仪由美国惠普公司生产。

1.2 试验方法

1.2.1 HPLC 检测条件 采用高效液相色谱仪 (HPLC) 定量检测印楝素 A 和印楝素 B 的含量, 其色谱条件为: 紫外检测器, 波长 217 nm, 色谱柱为 C_{18} 反相柱, 流速为 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 进样量为 $10 \mu\text{L}$ 。为缩短检测时间, 本方法采用梯度洗脱法, 其流动相为乙腈 + 水, 两者的体积比分别为 40:60 (进样后 0~3 min)、30:70 (进样后 3~9 min)、100:0 (进样后 9~13 min)、40:60 (进样后 13~15 min)。

1.2.2 印楝素 A、印楝素 B、印楝素干粉及印楝种子甲醇抽提物中印楝素 A 和印楝素 B 在溶液中的稳定性测定 称取一定量印楝素 A 和印楝素 B 于 200 mL 的三角瓶中, 加入适量甲醇、甲醇 + 水 (体积比为 9:1) 或甲醇 + 印楝油 (9:1), 使样品完全溶解; 称取一定量印楝素干粉和印楝种子甲醇抽提物于 200 mL 的三角瓶中, 加入适量甲醇 + 水 (55:5), 使样品完全溶解。然后将溶液分装于安瓿瓶内, 用酒精喷灯封严瓶口, 每种溶液封 15 瓶, 平均分成 3 份, 贴上标签, 分别存放于恒温冰箱 (0 ± 1) 中、室温 ($20 \sim 33$) 下及恒温水浴锅 (54 ± 1) 中。贮前测定每种样品中印楝素 A 和印楝素 B 的初始含量。分别于存放 7 和 14 d 后取样, 用带针头过滤头的注射器过滤, 然后测定印楝素 A 和印楝素 B 的含量, 每处理测 3 次, 计算平均值。按下列公式计算降解率。

$$\text{降解率} (\%) = \frac{\text{处理前印楝素含量} - \text{处理后印楝素含量}}{\text{处理前印楝素含量}} \times 100\%$$

1.2.3 印楝种子甲醇抽提物和印楝素干粉中印楝素 A 和印楝素 B 的热稳定性测定 将印楝种子甲醇抽提物或印楝素干粉分装于安瓿瓶中, 分装前用电子天平称安瓿瓶空重, 装药后再称瓶重, 计算加入的样品质量并记录。按 1.2.2 的方法封口、贮存及测定。

2 结果与分析

2.1 印楝种子甲醇抽提物中印楝素 A 和印楝素 B 在甲醇 + 水中的稳定性

从表 1 可以看出, 在甲醇 + 水 (55:5) 中, 于 0 下贮存 7 和 14 d, 印楝素 A 和印楝素 B 均没有明显的降解; 室温下贮存, 均有一定的降解, 但降解幅度不大, 且两者差异不显著; (54 ± 1) 下贮存 7 和 14 d, 印楝素 A 和印楝素 B 降解率较高, 且印楝素 A 的降解率高于印楝素 B 的。

表 1 印楝种子甲醇抽提物中印楝素 A 和印楝素 B 在甲醇 + 水 (55:5) 中的热稳定性

Table 1 The stability of azadirachtin A and azadirachtin B in neem seed methanol extracts stored in methanol+water (55:5)

T/	t/d	印楝素 A Azadirachtin A			印楝素 B Azadirachtin B		
		峰面积 Apex area	峰高 Apex height	降解率 / % Degraded rates	峰面积 Apex area	峰高 Apex height	降解率 / % Degraded rates
0 ±1	0	2 976.2	82.8		1 295.0	37.3	
	7	2 960.5	83.1	0.53	1 301.7	39.4	- 0.52
	14	2 976.1	89.5	0.00	1 343.8	41.1	- 3.77
20 ~ 33	7	2 774.5	84.1	6.78	1 247.3	39.8	3.68
	14	2 653.9	87.5	10.83	1 169.4	38.9	9.70
54 ±1	7	1 976.5	58.2	33.59	1 140.1	37.2	11.96
	14	1 355.7	44.7	54.45	1 021.6	36.2	21.11

2.2 印楝种子甲醇抽提物中印楝素 A 和印楝素 B 的热稳定性

由表 2 结果表明, 在室温下贮存 7 和 14 d, 印楝素 A 有较高的降解, 而印楝素 B 的降解不明显;

在 (54 ±1) 贮存 7 和 14 d, 印楝素 A 和印楝素 B 均有一定的降解, 且印楝素 A 的降解率高于印楝素 B 的。

表 2 印楝种子甲醇抽提物中印楝素 A 和印楝素 B 的热贮稳定性

Table 2 The hot stability of azadirachtin A and azadirachtin B in neem seed methanol extracts

T/	t/d	印楝素 A Azadirachtin A			印楝素 B Azadirachtin B		
		峰面积 Apex area	峰高 Apex height	降解率 / % Degraded rates	峰面积 Apex area	峰高 Apex height	降解率 / % Degraded rates
0	7	2 111.8	53.4		1 774.3	50.7	
	14	3 314.3	70.1		2 183.1	59.1	
20 ~ 33	7	1 866.8	54.9	11.60	1 817.2	57.7	- 2.42
	14	2 748.2	59.1	17.08	2 130.3	57.6	2.42
54 ±1	7	372.7	16.9	82.35	1 413.8	39.5	20.32
	14	172.8	8.2	94.79	987.8	21.2	54.75

2.3 印楝素干粉中印楝素 A 和印楝素 B 的热贮稳定性

表 3 结果表明, 不溶于其他溶剂, 直接将印楝素干粉置于密闭的安瓿瓶中, 室温和 (54 ±1) 下贮存 14 d 后, 干粉中印楝素 A 和 B 均有较高的降解率, 其中 54 的降解率高达 80% 以上, 这表明干粉中的印楝素易热分解。

表 3 印楝素干粉中印楝素 A 和印楝素 B 的热贮稳定性

Table 3 The hot stability of azadirachtin A and azadirachtin B in azadirachtin powder

t/d	样品 Sample	贮前峰面积	20 ~ 33		(54 ±1)	
		Apex area before storing	峰面积 Apex area	降解率 / % Degraded rates	峰面积 Apex area	降解率 / % Degraded rates
7	Azadirachtin A	2 531.3	2 401.4	5.13		
	Azadirachtin B	1 960.0	2 014.6	- 2.79		
14	Azadirachtin A	2 531.3	1 627.0	35.72	249.3	90.15
	Azadirachtin B	1 960.0	1 565.3	20.14	355.7	81.85

2.4 印楝油对印楝素 A 和印楝素 B 的保护作用

由表 4 结果表明, 在室温下贮存 7 d, 印楝素 B 的稳定性优于印楝素 A。在溶液中加入印楝油, 比较明显地抑制了印楝素 A 和印楝素 B 的降解, 说明印楝油对印楝素 A 和印楝素 B 均有保护作用; 在有水的情况下, 印楝素 A 和印楝素 B 的降解率均明显提高, 印楝素 A 的降解比印楝素 B 更为显著。

表 4 印楝素 A 和印楝素 B 贮存 7 d 后的稳定性

Table 4 The hot stability of azadirachtin A and azadirachtin B stored 7 days

样品 Sample	溶剂 Solvent	贮前峰面积	20 ~ 33		(54 ±1)	
		Apex area before storing	峰面积 Apex area	降解率 / % Degraded rates	峰面积 Apex area	降解率 / % Degraded rates
印楝素 A Azadirachtin A	甲醇*	3 210.7	3 118.4	2.87	2 258.6	29.65
	甲醇 + 水 (9 1)	1 557.0	1 401.1	10.01	856.5	44.99
	甲醇 + 印楝油 (9 1)	1 976.5	1 961.3	0.77	1 724.3	12.76
印楝素 B Azadirachtin B	甲醇	2 370.8	2 410.2	- 1.66	1 904.2	19.68
	甲醇 + 水 (9 1)	2 855.9	2 694.0	5.67	2 123.5	25.65
	甲醇 + 印楝油 (9 1)	2 104.5	2 099.7	0.23	1 901.0	9.67

* 甲醇: Methanol; 甲醇 + 水: Methanol + water; 甲醇 + 印楝油: Methanol + neem oil

3 总 结

在室温和 (54 ±1) 下, 印楝素干粉和印楝种子甲醇抽提物中印楝素 A 和印楝素 B 在甲醇和甲醇 + 水中或直接热贮均易降解且印楝素 A 降解率高于印楝素 B, 印楝种子甲醇抽提物中印楝素 A 和印楝素 B 的稳定性高于印楝素干粉, 说明抽提物中含有保护印楝素 A 的物质。

印楝种子抽提物中含有印楝油而印楝素干粉中不含印楝油, 印楝油是抽提物中保护印楝素的主要物质之一, 在生产中应在制剂中加入一定量的印楝油以提高印楝素 A 和印楝素 B 的稳定性。

参考文献:

[1] Dhawan B N, Patnaik J K. Pharmacological studies for therapeutic potential [A]. In: Randhawa N S, Pamar B S, eds. Neem Research and Development [M]. India: Society of Pesticide Science, 1993. 242 ~ 249.

[2] Schmutterer H. Properties and potential of natural pesticides from neem tree, *Azadirachta indica* [J]. Annual Review of Entomology, 1990, 35: 271 ~ 297.

[3] 徐汉虹, 张志祥, 查友贵. 中国植物性农药开发前景 [J]. 农药, 2003, 43(3): 1 ~ 9.

[4] 徐汉虹, 张志祥, 程东美, 等. 植物源农药与农业可持续发展 [J]. 科技导报, 2002 (7): 42 ~ 44.

责任编辑: 夏爱红