

闹羊花素类化合物对斜纹夜蛾幼虫表皮成分的影响及构效关系

钟国华, 刘金香, 官 珊, 谢建军, 胡美英*

(华南农业大学昆虫毒理研究室 农药与化学生物学教育部重点实验室 广州 510642)

摘要: 从我国特有的高效杀虫植物闹羊花 *Rhododendron molle* G. Don 中分离提纯了 14 个活性化合物, 并研究了这些化合物对斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 幼虫表皮成分的影响及构效关系, 为揭示闹羊花素类化合物的作用机制、优化结构及确定先导化合物提供了参考。通过 IR, UV, NMR, MS 等光谱鉴定了 3 个新化合物黄杜鹃素 A, B, C (rhodomolin A, B, C)。结果表明: 闹羊花素 III (rhodojaponin III), 黄杜鹃素 A, 羊躑躅素 I (rhodomollein I), 黄杜鹃素 B, 黄杜鹃素 C, 羊躑躅素 XVIII (rhodomollein XVIII), 木藜芦素 III (grayantoxin III) 和对照药剂印楝素 (azadirachtin) 的生长发育抑制活性明显高于其他化合物, 以 50 mg/L 浓度浸渍叶碟饲喂斜纹夜蛾 4 龄幼虫后, 虫重、蛹重以及羽化率均显著低于空白对照。处理后 120 h, 各化合物处理和空白对照试虫表皮几丁质相对含量为 28.15% ~ 35.18%, 差异不显著。闹羊花素 III, 黄杜鹃素 A, B, C, 羊躑躅素 XVIII 和印楝素处理显著降低试虫表皮总蛋白的相对含量, 提高了表皮总脂肪的相对含量。进一步研究发现, 闹羊花素 III 和印楝素处理后, 试虫表皮水溶性蛋白、氢键结合蛋白和共价键结合蛋白相对含量显著降低, 弱键结合蛋白相对含量显著提高, 而对电价键结合蛋白相对含量无明显影响。闹羊花素 III 处理试虫表皮水溶性蛋白相对含量为对照的 50%。闹羊花素类化合物对昆虫生长发育抑制作用不属于“几丁质合成抑制型”, 而属于“内分泌干扰型”, 显著降低表皮水溶性蛋白是其重要机制之一。构效关系定性分析表明, 木藜芦烷类闹羊花素化合物基本结构中的 C-2, 3 环氧基、C-6, C-10 和 C-14 取代基结构对化合物的生长发育抑制活性具有重要意义。还讨论比较了闹羊花素类化合物与印楝素对昆虫生长发育抑制作用机制的差异。

关键词: 闹羊花素; 斜纹夜蛾; 表皮成分; 构效关系

中图分类号: S492.39 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2004)06-0705-10

Effects of rhodojaponins from *Rhododendron molle* on cuticle components of *Spodoptera litura* larvae and their structure-activity relationship

ZHONG Guo-Hua, LIU Jin-Xiang, GUAN Shan, XIE Jian-Jun, HU Mei-Ying* (Laboratory of Insect Toxicology, South China Agricultural University & Key Laboratory of Pesticide and Chemical Biology, Ministry of Education, Guangzhou 510642, China)

Abstract: The effects of fourteen active compounds previously isolated from *Rhododendron molle* G. Don on the cuticle components of *Spodoptera litura* larvae and their structure-activity relationship were studied to illustrate the mode of action and optimize rhodojaponins structure. The structures of three new compounds, rhodomolin A, B and C, were elucidated based on IR, UV, NMR and MS spectroscopic data. When the fourth instar larvae of *S. litura* were treated with 50 mg/L of compounds rhodojaponin III, rhodomolin A, rhodomollein I, rhodomolin B, rhodomolin C, rhodomollein XVIII, grayantoxin III and azadirachtin, an known botanical insect growth regulator, respectively, the weight of larvae and pupae and the emergence rate were significantly less than CK, which showed greater insect growth inhibition activities than other tested compounds from *R. molle*. After 120 h treatment, all the cuticle chitin contents of larvae, both treated with compounds and CK, were 28.15% - 35.18%, which show no significant difference. When treated with compounds rhodojaponin III, rhodomolin A, rhodomolin B, rhodomolin C, rhodomollein XVIII and azadirachtin, however, the contents of total protein of larvae cuticle significantly increased and those of total fats decreased than those of CK, respectively. Furthermore, the contents of water soluble protein, hydrogen bond combined protein and covalent bond

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30270886); 广东省自然科学基金资助项目(010301)

作者简介: 钟国华, 男, 博士, 讲师, 主要研究方向为昆虫生理毒理及天然源农药, E-mail: guohuazhong@163.net

* 通讯作者 Author for correspondence, Tel.: 020-85280308; E-mail: humy@scau.edu.cn

收稿日期 Received: 2004-05-13; 接受日期 Accepted: 2004-11-02

combined protein in the cuticle decreased significantly, while the content of weak bond combined protein increased significantly and the content of electrovalence bond combined protein was not significantly different from that of CK when larvae were treated with compound rhodojaponin III and azadirachtin. It was inferred that the action mode of insect growth inhibition in rhodojaponins is not to inhibit chitin syntheses, but to disturb internal secretion, and significantly decreasing the content of water soluble protein in cuticle would be one important mechanism. Preliminary analysis of their structure-activity relationship showed that substitute group structures of C-2 β -epoxy, C-6, C-10 and C-14 were most important to these grayanoid diterpenoids with insect growth inhibition activity. The difference of model of inhibition action between rhodojaponins and azadirachtin was also discussed.

Key words: Rhodojaponins; *Spodoptera litura*; cuticle component; structure-activity relationship

闹羊花 *Rhododendron molle* G. Don 是我国特有的高效杀虫植物(陈冀胜和郑硕, 1987), 闹羊花素(rhodojaponin)是从其中分离的一类具有木藜芦烷结构的四环二萜类活性成分的统称, 目前已经从闹羊花中分离鉴定此类化合物 17 种(Liu and Pan, 1989; 刘助国等, 1990; 尚稚珍等, 1990; Klocke *et al.*, 1991; Li *et al.*, 2000; 钟国华, 2002; 李灿军等, 2003)。与鱼藤酮、印楝素等植物源活性化合物相比, 闹羊花素基本结构较简单, 杀虫活性显著。如闹羊花素 III(rhodojaponin III)对马铃薯甲虫 *Leptinotarsa decemlineata*、草地夜蛾 *Spodoptera frugiperda*、杂拟谷盗 *Tribolium confusum* (Klocke *et al.*, 1991; Hu *et al.*, 1993) 粘虫 *Mythimna separata* (尚稚珍等, 1990)、斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* (李晓东等, 1995; 钟国华等, 2001)、美洲斑潜蝇 *Liriomyza sativae* (Hu *et al.*, 2000) 和菜粉蝶 *Pieris rapae* (Zhong *et al.*, 2001) 等具有强烈的生长发育抑制、忌避、拒食、毒杀等活性。此类化合物对昆虫神经系统的作用机制已有研究报道(Xu *et al.*, 1996; 钟国华等, 2000), 但对昆虫生长发育抑制作用机制的相关报道很少。本文作者从闹羊花中分离获得了 14 个活性化合物, 分析了这些化合物对斜纹夜蛾幼虫表皮主要成分组成的影响动态, 旨在为揭示其作用机制和优化闹羊花素结构及确定先导化合物提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试化合物

从广东省曲江县和乳源县采集闹羊花, 晾干粉碎, 过 40 目筛后, 采用甲醇浸泡提取法提取总活性成分, 采用液-液分配法分离甲醇浸提物, 综合应用硅胶柱、 C_{18} 反相柱、LH-20 凝胶柱层析和高效液相色谱(HPLC)、高效薄层层析(HPTLC)制备等技术(Klocke *et al.*, 1991; 钟国华等, 2001), 以活性追踪为

原则, 先后从闹羊花中分离提纯和鉴定活性单体成分 14 个。对照药剂印楝素(azadirachtin)是已知的植物源昆虫生长发育调节剂(Schmutterer, 1990), 由华南农业大学昆虫毒理研究室从采自缅甸的印楝 *Azadirachta indica* A. Juss. 种子分离提纯。所有供试化合物纯度均在 90% 以上。

1.2 供试昆虫

从未施农药的试验菜地采回斜纹夜蛾幼虫, 用木薯 *Manihot esculenta* Crantz 叶室内饲养至 6 龄后, 老熟幼虫进入薄层砂质土中化蛹, 转移至纱笼内(1.0 m × 0.5 m × 0.4 m), 成虫羽化后, 饲以 5% ~ 10% 蜜糖水, 让成虫产卵于蜡纸上, 待卵孵化出幼虫, 以芋头 *Colocasia esculenta* (L.) Schott 叶饲养至 3 龄, 改用木薯叶饲喂。挑选 F_1 代个体基本一致的 4 龄幼虫供试。

1.3 生长发育抑制作用测定

根据钟国华等(2001)所测闹羊花素 III 对斜纹夜蛾 4 龄幼虫生长发育抑制中浓度 IC_{50} 为 41.70 mg/L, 本实验所有供试化合物均以丙酮溶解至 50 mg/L, 采用浸渍叶碟饲喂法测定生长发育抑制作用。将木薯叶在供试化合物丙酮溶液中浸 2 ~ 5 s, 晾干后放入培养皿($\Phi = 7$ cm)。对照(CK)用丙酮处理。每皿接入 1 头饥饿 2 ~ 4 h 的斜纹夜蛾 4 龄试虫。每处理 3 个重复, 每重复 15 ~ 20 头试虫。含药叶碟饲喂 48 h 后, 改为无毒饲料饲喂至试虫化蛹和羽化。记录处理前和处理后 120 h 虫重(mg), 计算平均蛹重和羽化率, 分析供试化合物的生长发育抑制活性。

1.4 表皮总脂肪、总蛋白和几丁质相对含量分析

按 1.3 节所述方法处理试虫后 120 h, 取处理试虫, 剪头去尾, 将虫体沿腹中线纵向剖开, 去除消化道、脂肪体和肌肉层后, 将体壁用蒸馏水冲洗干净, 60℃ 烘干至恒重(W_0); 加入 10 倍质量的石油醚, 超声波提取 5 min 后, 取出溶剂, 再加入石油醚, 反复提取 5 次后, 加入 20 ~ 30 倍质量的石油醚振荡提取

8 h。将脱脂后的表皮 80℃烘干至恒重,用电子天平(精确到 0.0001 g)称重(W_1), W_0 与 W_1 的差值($W_0 - W_1$)即为总脂肪含量(W_{10})。再把脱脂后的干表皮用饱和 KOH 溶液在甘油浴 160℃消化 30 min。碱解蛋白质后剩余下透明几丁质残基,流水冲洗,再经 95%、100% 乙醇脱水,称重即得几丁质含量(W_2) (陈长琨,1993)。 W_1 与 W_2 的差值($W_1 - W_2$)即为总蛋白含量(W_{21})。分别计算干表皮中总脂肪、总蛋白和几丁质的相对含量(%)。每处理 3 个重复,每重复 15~20 头试虫。

1.5 表皮几种主要蛋白质相对含量的动态分析

选取对试虫生长发育抑制作用明显,对表皮总蛋白含量影响显著的闹羊花素 III 和对对照药剂印楝素按 1.3 节方法饲喂试虫,取不同处理时间的试虫,按 1.4 节方法去除试虫消化道、脂肪体和肌肉层后,将体壁用蒸馏水冲洗干净,60℃烘干至恒重,得表皮干重 W_0 。参照王荫长和龚国玑(1986)方法分析表皮主要蛋白质相对含量:①将样品放入装有 2 mL pH 7.0 冷蒸馏水的试管内,22~25℃振荡提取 48 h 后,取出溶液,分析水溶性蛋白含量。②将经过步骤①处理的表皮样品移入有 2 mL 0.167 mol/L pH 7.0 Na_2SO_4 的试管内,22~25℃振荡提取 48 h 后,取出溶液,分析弱键结合蛋白含量。③将经步骤②提取后的表皮样品移入有 2 mL 0.7 mol/L 尿素 [$(\text{NH}_2)_2\text{CO}$] 溶液的试管内,22~25℃振荡提取 48 h 后,取出溶液,分析氢键结合蛋白质含量。④将经步骤③提取后的表皮移入有 2 mL 0.01 mol/L NaOH 溶液的试管内,22~25℃振荡提取 5 h 后,取出溶液,分析电价键结合蛋白含量。⑤把经过步骤④提取后的表皮残留放入 2 mL 1.0 mol/L NaOH 溶液的试管内,移至 50~60℃水浴振荡提取 5 h,取出溶液,分析共价键结合蛋白含量。上述各步骤所提取溶液均采用考马斯亮蓝法测定蛋白质含量,计算各类蛋白质占表皮干重 W_0 的相对含量(%)。

1.6 构效关系定性分析

根据上述生长发育抑制活性及表皮成分的测定结果,选择基本结构相似的化合物 1~13(图 1),从定性角度系统比较分析闹羊花素类化合物主要基团的差异及其对其活性的影响,归纳总结构效关系特征。

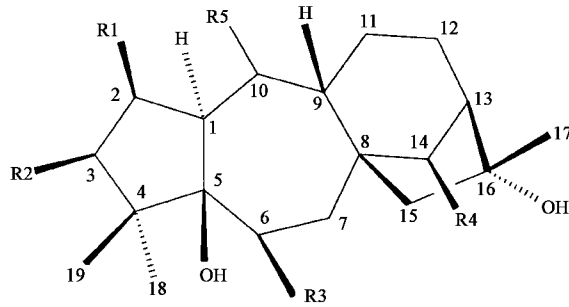
2 结果与分析

2.1 化合物分离鉴定结果

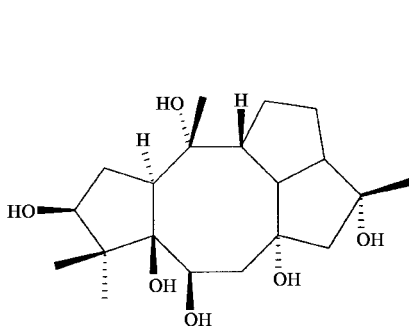
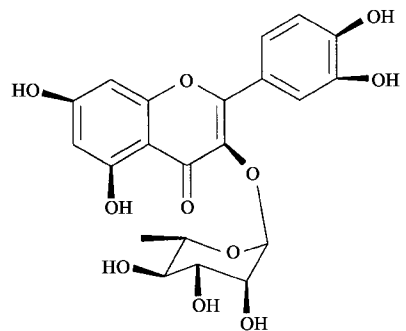
从供试植物材料中分离提纯获得单体成分 14 个(化合物 1~14,见图 1)经过核磁共振谱(包括 ^1H NMR、 ^{13}C NMR、DEPT135、DEPT90、COSY、TCOSY、XHCORR、NOESY、HMBC 等)质谱(包括 EI-MS 和 HRFAB-MS)紫外光谱(UV)和红外光谱(IR)等鉴定和比旋光测定,确定其中 11 个为已知化合物,化合物 5、7、8 为新化合物(图 1),主要数据如下,具体结构鉴定过程将另文报道。

化合物 5 为黄杜鹃素 A (rhodomolin A),无色油状; $[\alpha]_D^{25} = -13.1^\circ$ (c 0.11, MeOH); IR (KBr) ν_{\max} 3 384 (br, OH), 2 937, 1 446, 1 373 (m, CH, CH_2 , CH_3), 1 255, 1 095, 883, 802 cm^{-1} 。 ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) 和 ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) 谱与化合物 6 (羊蹄躅素 I, rhodomollein I) 相似,所不同的是,化合物 5 多 1 个甲氧基信号(δ_{H} 3.39, δ_{C} 58.1), H-2 质子信号向高场位移至 δ 3.73 (dd, $J = 7.6, 1.6$ Hz), C-2 的碳信号向低场位移至 δ 94.8, 提示化合物 5 的 C-2 位为甲氧基取代。在 NOESY 谱中, H-2 与甲氧基质子信号之间有很强的交叉峰,证明甲氧基取代于 C-2 位。由 ^1H - ^1H COSY 和 ^{13}C - ^1H COSY 可将化合物 5 的 ^1H 和 ^{13}C NMR 信号全部归属。EI-MS (m/z): 382 (M^+ , 2.5), 364 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$, 5), 346 ($\text{M}^+ - 2 \text{H}_2\text{O}$, 11), 119 ($\text{C}_4\text{H}_7\text{O}_4^+$, 91); HRFAB-MS (m/z): 405.2243 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$ (calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{O}_6\text{Na}$, 405.2253)。

化合物 7 为黄杜鹃素 B (rhodomolin B), 无定形粉末; $[\alpha]_D^{25} = -8.8^\circ$ (c 0.20, MeOH); IR (KBr) ν_{\max} 3 384 (br, OH), 2 937, 1 631, 1 442, 1 384 (m, CH, CH_2 , CH_3), 1 247, 1 091, 1 078, 1 045, 902, 722 cm^{-1} 。 ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) 和 ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) 谱与化合物 6 很相似,但化合物 7 的 ^1H NMR 谱中在 δ 5.13 (1H, br s) 多出 1 个烯键质子信号, H-17 (CH_3) 质子信号向低场位移至 δ 1.72, 而且呈双重峰 ($J = 1.2$ Hz), ^1H - ^1H COSY 谱显示 δ 1.72 的甲基质子信号与 δ 5.13 的烯氢质子信号相关,在 ^{13}C NMR 谱中,无 δ 61.6 的亚甲基碳和 δ 82.7 的季碳信号,而代之以 δ 134.9 的次甲基碳和 δ 143.4 季碳信号, C-17 向高场位移至 δ 15.9。这些数据说明化合物 7 的 C-15 和 C-16 之间为一双键,其他部分与化合物 6 相同。由 ^1H - ^1H COSY 和 ^{13}C - ^1H COSY 可将化合物 7 的 ^1H 和 ^{13}C NMR 信号全部归属。EI-MS (m/z): 350, 314, 267, 212, 159, 135, 107, 91, 79, 55; HRFAB-MS (m/z): 373.1978 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$



编号 No.	化合物 Compound	R1	R2	R3	R4	C ₁₅ —C ₁₆	C ₁₀ —R5	文献 Reference
1	闹羊花素 III Rhodojaponin III			OH	OH	C—C		Klocke <i>et al.</i> , 1991
2	6-O-丙酰基闹羊花素 Rhodojaponin III -6- propionate			CH ₃ COO	OH	C—C		季小慎等, 1996
3	羊躑躅素 III Rhodomollein III	OH	OH	COOH	OH	C—C		刘助国等, 1990
4	羊躑躅素 XVI Rhodomollein XVI	OH	OH	OH	COOH	C—C		Li <i>et al.</i> , 2000
5	黄杜鹃素 A Rhodomolin A	MeO	OH	OH	OH	C—C	C=C	钟国华, 2002
6	羊躑躅素 I Rhodomollein I	OH	OH	OH	OH	C—C	C=C	Liu and Pan, 1989
7	黄杜鹃素 B Rhodomolin B	OH	OH	OH	OH	C=C	C=C	钟国华, 2002
8	黄杜鹃素 C Rhodomolin C	OH	OH	OH	CH ₃ COO	C—C	C=C	钟国华, 2002
9	木藜芦素 I Grayanotoxin I	H	OH	OH	COOH	C—C		Kinghorn <i>et al.</i> , 1978
10	羊躑躅 XVIII Rhodomollein XVIII	OH	OH	OH	OH	C—C		Li <i>et al.</i> , 2000
11	木藜芦素 II Grayanotoxin II	H	OH	OH	OH	C—C	C=C	Liu and Pan, 1989
12	木藜芦素 III Grayanotoxin III	H	OH	OH	OH	C—C		Klocke <i>et al.</i> , 1991

No. 13 Kalmanol (Klocke *et al.*, 1991)

No. 14 槲皮素 Quercetin (Chen and Zheng, 1987)

图 1 供试化合物的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of tested compounds

(calcd for C₂₀H₃₀O₅Na, 373.1990). EI-MS、HRFAB-MS 和 NOESY 谱均支持上述结论。

化合物 8 为黄杜鹃素 C (rhodomolin C), 无色晶体; $[\alpha]_D^{25} = -9.0^\circ$ (c 0.17, MeOH); IR (KBr) ν_{\max} 3 407 (br, OH), 2 939, 1 710, 1 450, 1 377 (m, CH, CH₂, CH₃), 1 249, 1 037, 887, 810 cm⁻¹. ¹H NMR

(400 MHz, CD₃OD) 和 ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) 显示该化合物与化合物 6 非常相似, 但化合物 8 的 ¹H NMR 在 δ 2.09 多出一甲基质子信号, ¹³C NMR 谱多出一个酯羰基 (δ 173.1) 和一个甲基 (δ 21.3) 碳信号, 说明分子中有一乙酰氧基; 在 ¹H NMR 谱中, H-14 向低场位移至 δ 4.99 (br s), 在 ¹³C NMR 谱中, 与化合物 6 相比, C-14 向低场位移了 0.8 ppm, C-16 向高场

位移了 2.3 ppm,说明乙酰氧基取代于 C-14 位。由 $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY 和 $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ COSY 可将化合物 8 的 ^1H 和 ^{13}C NMR 信号全部归属。EI-MS(m/z): 410 (M^+), 374, 314, 290, 248, 230, 212, 119, 69; HRFAB-MS(m/z): 433.2210 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$ (calad for $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_7\text{Na}$, 433.2202)。EI-MS、HRFAB-MS 和 NOESY 谱与上述结构吻合。

2.2 供试化合物对斜纹夜蛾幼虫的生长发育抑制作用

供试化合物对斜纹夜蛾 4 龄幼虫的生长发育抑制作用结果见表 1。以 50 mg/L 浓度处理叶碟饲喂 48 h 后,改用无毒饲料饲喂至处理后 120 h 时,各处理间虫重差异显著。化合物 1 处理后虫重不仅显著低于对照,也显著低于印楝素和化合物 2~14,化合物 4,9,11 和 14 处理后虫重则与对照处于同一水平。从蛹的发育来看,除化合物 14 与对照蛹重差异不显著外,其余各化合物处理均显著低于对照,其中以化合物 1,8,10 和 12 处理的蛹重尤其明显低于对照。化合物 3,4,9,11,13 和 14 处理后,试虫羽化率与对照之间不存在显著差异。化合物 1,10 和 12 处理的羽化率均显著低于对照,但与化合物 6 和 7 以及对照药剂印楝素处理差异不显著。活性测定结果表明,化合物 1,5,6,7,8,10 和 12 对斜纹夜蛾幼虫的生长发育抑制活性明显高于其他供试化合物,而

与对照药剂印楝素差异不显著。

2.3 供试化合物对斜纹夜蛾幼虫表皮成分含量的影响

各供试化合物处理试虫后 120 h,存活试虫表皮总重量及脂肪、蛋白和几丁质的相对含量见表 2。各处理对试虫表皮总重量的影响差异显著:化合物 1 处理后试虫表皮总重量最小,显著低于对照;化合物 5,7,8,10 和印楝素处理后,试虫表皮总重量显著低于对照,但与化合物 1 处理差异不显著;化合物 4,11,13 和 14 处理后试虫表皮总重量与对照差异不显著,对试虫表皮干重影响也不明显。

闹羊花素类化合物处理后不仅显著减少试虫表皮总重量,而且可能显著改变表皮中各种成分的相对含量。化合物 1,5,7,8 和 10 处理后,试虫表皮脂肪的相对含量达到 17.18%~22.54%,是对照(5.66%)的 3~4 倍,印楝素处理后幼虫表皮脂肪的相对含量则是对照的 2.46 倍。其余各化合物处理后试虫表皮中脂肪的含量则与对照差异不显著。化合物 2,3,4,6,11,12,13 和 14 处理后,幼虫表皮蛋白的相对含量在 59.13%~64.03%,与对照(62.61%)差异不显著,但化合物 1,5,7,8,9,10 和印楝素处理后试虫表皮中蛋白的相对含量均显著低于对照。从表 2 可知,各供试化合物(包括印楝素)处理后,试虫表皮几丁质的相对含量在 28.15%~35.18%,均与

表 1 闹羊花素类化合物对斜纹夜蛾 4 龄幼虫的生长发育抑制作用

Table 1 Insect growth inhibition of rhodojaponins to 4th instar larvae of *Spodoptera litura*

编号 No.	化合物 Compound	处理前虫重(mg/虫) Weight of larva before treatment (mg/larva)	处理后 120 h 虫重(mg/虫) Weight of larva after 120 h treatment (mg/larva)	蛹重(mg/蛹) Weight of pupa (mg/pupa)	羽化率(%) Emergence rate
1	闹羊花素 III Rhodojaponin III	58.12 ± 3.34 a	197.00 ± 16.70 c	234.67 ± 24.78 c	37.25 ± 5.19 c
2	6-O-丙酰基闹羊花素 Rhodojaponin III-6- propionate	59.23 ± 2.66 a	268.33 ± 13.69 b	299.33 ± 7.22 b	50.98 ± 5.19 b
3	羊躑躅素 III Rhodomollein III	55.80 ± 1.92 a	267.00 ± 18.18 b	262.67 ± 21.05 bc	68.75 ± 3.61 ab
4	羊躑躅素 XVI Rhodomollein XVI	56.54 ± 2.81 a	281.33 ± 13.69 ab	264.67 ± 19.64 bc	55.56 ± 5.88 ab
5	黄杜鹃素 A Rhodomolin A	58.93 ± 3.71 a	243.67 ± 22.15 b	249.33 ± 20.17 bc	53.70 ± 4.90 b
6	羊躑躅素 I Rhodomollein I	59.09 ± 2.44 a	247.33 ± 24.46 b	255.67 ± 24.69 bc	46.30 ± 6.68 bc
7	黄杜鹃素 B Rhodomolin B	53.65 ± 1.35 a	247.00 ± 4.36 b	260.67 ± 16.60 bc	46.30 ± 8.07 bc
8	黄杜鹃素 C Rhodomolin C	56.30 ± 3.85 a	224.33 ± 15.25 b	217.00 ± 8.72 c	50.00 ± 5.56 b
9	木藜芦素 I Grayanotoxin I	54.90 ± 3.41 a	277.00 ± 13.58 ab	277.00 ± 13.58 bc	62.22 ± 2.22 ab
10	羊躑躅 XVIII Rhodomollein XVIII	58.61 ± 1.23 a	232.00 ± 19.66 b	236.00 ± 14.01 c	40.74 ± 3.70 c
11	木藜芦素 II Grayanotoxin II	57.03 ± 2.26 a	273.33 ± 12.20 ab	273.33 ± 12.20 bc	55.56 ± 3.21 ab
12	木藜芦素 III Grayanotoxin III	60.43 ± 2.34 a	232.00 ± 8.14 b	231.33 ± 12.39 c	42.59 ± 6.68 c
13	Kalmanol	56.77 ± 2.35 a	250.33 ± 20.96 b	300.33 ± 12.13 b	62.22 ± 8.89 ab
14	槲皮素 Quercetin	55.23 ± 1.22 a	286.67 ± 8.01 ab	350.33 ± 22.30 a	68.63 ± 5.19 ab
	印楝素 Azadirachtin	56.78 ± 2.73 a	255.00 ± 27.22 b	257.33 ± 23.26 bc	48.33 ± 4.41 bc
	对照 CK	58.87 ± 2.44 a	333.67 ± 11.61 a	358.00 ± 11.02 a	71.67 ± 3.33 a

表中数据为 3 个重复平均值 ± 标准误差, 同列数据后字母相同表示在 5% 水平差异不显著(DMRT 法); 表 2 同。

The values in table were mean ± SE of three replicates. Means within a column followed by a common letter are not significantly different at $P = 0.05$ (DMRT). The same for Table 2.

对照差异不显著。这些结果表明,闹羊花素类化合物对斜纹夜蛾幼虫表皮几丁质相对含量无显著影响,化合物 1,5,7,8,10 和印楝素处理显著降低试虫

表皮蛋白的相对含量,提高了表皮脂肪的相对含量,说明闹羊花素类化合物对昆虫的生长发育抑制作用机制不同于传统的昆虫几丁质合成抑制剂。

表 2 闹羊花素类化合物对斜纹夜蛾幼虫表皮成分含量的影响

Table 2 Effects of rhodojaponins on the contents of total fats, total protein and chitin in cuticle of *S. litura* larvae

编号 No.	化合物 Compound	表皮总重量 (mg/虫) Total weight of cuticle (mg/larva)	总脂肪 相对含量(%) Content of total fats	总蛋白 相对含量(%) Content of total protein	几丁质 相对含量(%) Content of chitin
1	闹羊花素 III Rhodojaponin III	4.86 ± 0.07 d	25.57 ± 2.41 a	40.49 ± 3.98 c	33.94 ± 1.13 ab
2	6-O-丙酰基闹羊花素 Rhodojaponin III-6-propionate	5.90 ± 0.11 b	5.86 ± 0.40 c	59.13 ± 3.93 ab	35.01 ± 1.03 a
3	羊蹄躅素 III Rhodomollein III	5.84 ± 0.11 b	5.07 ± 0.34 c	60.92 ± 3.08 ab	34.01 ± 0.45 a
4	羊蹄躅素 XVI Rhodomollein XVI	6.11 ± 0.06 ab	3.41 ± 0.33 cd	63.44 ± 4.91 a	33.15 ± 0.97 ab
5	黄杜鹃素 A Rhodomolin A	5.23 ± 0.10 cd	18.68 ± 0.43 a	49.07 ± 4.24 c	32.25 ± 1.28 ab
6	羊蹄躅素 I Rhodomollein I	5.23 ± 0.04 cd	3.25 ± 0.24 cd	62.50 ± 5.05 a	34.25 ± 1.03 a
7	黄杜鹃素 B Rhodomolin B	5.39 ± 0.14 c	17.18 ± 1.35 a	52.54 ± 1.83 bc	30.28 ± 1.90 ab
8	黄杜鹃素 C Rhodomolin C	5.20 ± 0.06 cd	20.44 ± 0.37 a	51.41 ± 0.75 bc	28.15 ± 0.81 b
9	木藜芦素 I Grayanotoxin I	5.84 ± 0.03b	8.18 ± 0.39 bc	57.24 ± 6.10 b	34.58 ± 0.88 a
10	羊蹄躅 XVIII Rhodomollein XVIII	5.30 ± 0.10 cd	22.54 ± 1.13 a	47.35 ± 2.55 c	30.11 ± 0.67 ab
11	木藜芦素 II Grayanotoxin II	6.06 ± 0.08 ab	5.98 ± 0.56 c	62.06 ± 1.85 a	31.96 ± 0.71 ab
12	木藜芦素 III Grayanotoxin III	5.38 ± 0.15 c	2.91 ± 0.90 cd	61.91 ± 5.57 a	35.18 ± 0.97 ab
13	Kalmanol	6.08 ± 0.08 ab	2.15 ± 0.13 d	61.76 ± 1.35 ab	33.09 ± 1.34 ab
14	槲皮素 Quercetin	6.30 ± 0.07ab	2.45 ± 0.14 cd	64.03 ± 1.09 a	33.52 ± 1.19 ab
	印楝素 Azadirachtin	4.99 ± 0.10 cd	14.91 ± 1.89 b	54.21 ± 0.73 bc	30.88 ± 1.44 ab
	对照 CK	6.60 ± 0.10 a	5.66 ± 0.59 c	62.61 ± 1.07a	31.73 ± 0.59 ab

2.4 闹羊花素 III 和印楝素处理对幼虫表皮主要种类蛋白质相对含量的影响动态

进一步分析闹羊花素 III 和印楝素处理对昆虫表皮几种主要蛋白质相对含量的影响规律,结果见图 2。昆虫表皮各种蛋白质中,水溶性蛋白质相对含量最高。对照试虫中,表皮水溶性蛋白相对含量在处理 48 h 和 96 h 各有一个显著的增长峰,处理后 96 h 相对含量最高达到约 30%,随后稍有回落。闹羊花素 III 处理后 24 h,水溶性蛋白质相对含量尽管达到整个实验过程中的最高(约 14%),仍明显低于同期对照试虫的相对含量(约 22%);处理后 48 ~ 120 h,表皮水溶性蛋白质相对含量均没有明显增加,甚至略有下降。印楝素处理后 72 h 内,试虫表皮水溶性蛋白质相对含量持续缓慢增长,到处理后 96 h,出现显著的增长峰,相对含量达到 25%,至处理后 120 h 又回落到 19%(图 2:a)。这表明闹羊花素 III 和印楝素对水溶性蛋白质相对含量的调节机制可能不一样,前者可能是抑制了水溶性蛋白的合成,后者更可能是推迟了水溶性蛋白的合成高峰。

从图 2(b)可知,对照试虫氢键结合蛋白相对含量在处理 48 h 后持续明显增加,闹羊花素 III 处理后 72 h 内与对照差异不显著,但处理后 96 h 和 120 h 相对含量下降,显著低于对照;印楝素则在处理 48 h 起试虫氢键结合蛋白相对含量没有明显提高,处理后

72 h、96 h 和 120 h 氢键结合蛋白相对含量均显著低于对照。弱键结合蛋白的变化动态则与氢键结合蛋白相反,闹羊花素 III 和印楝素处理后其相对含量均不断提高,尤其是处理后 96 h 和 120 h,显著高于对照(图 2:c)。闹羊花素 III 和印楝素处理后,电价键结合蛋白相对含量变动趋势基本与对照一致,表明这两种化合物对昆虫表皮电价键结合蛋白相对含量无显著影响(图 2:d)。

闹羊花素 III 和印楝素处理对昆虫表皮共价键结合蛋白相对含量也有不同的效果。闹羊花素 III 处理后 12 h 内,相对含量略有上升,随后一直下降,直至处理后 120 h 内,相对含量一直没有超过 5%,显著低于对照。印楝素处理后,共价键结合蛋白相对含量呈持续缓慢提高的趋势,处理后 24 h 起,相对含量约为闹羊花素 III 处理的 2 倍,但从处理后 72 ~ 120 h 相对含量也显著低于对照试虫(图 2:e)。

2.5 构效关系定性分析

供试化合物 1 ~ 13 均是具有木藜芦烷结构的二萜类化合物,深入比较其结构特征可为分析总结构效关系,指导优化结构提供参考。供试化合物的结构差异主要体现在 C-2,3, C-6, C-10, C-14 和 C-15 支链的差别。从化学结构分析,只有化合物 1 和 2 具有 C-2,3-环氧基结构,其他化合物的 C-2 和 C-3(即 R1 和 R2)均是 OH、MeO 或 H,可看作是 C-2,3-环氧

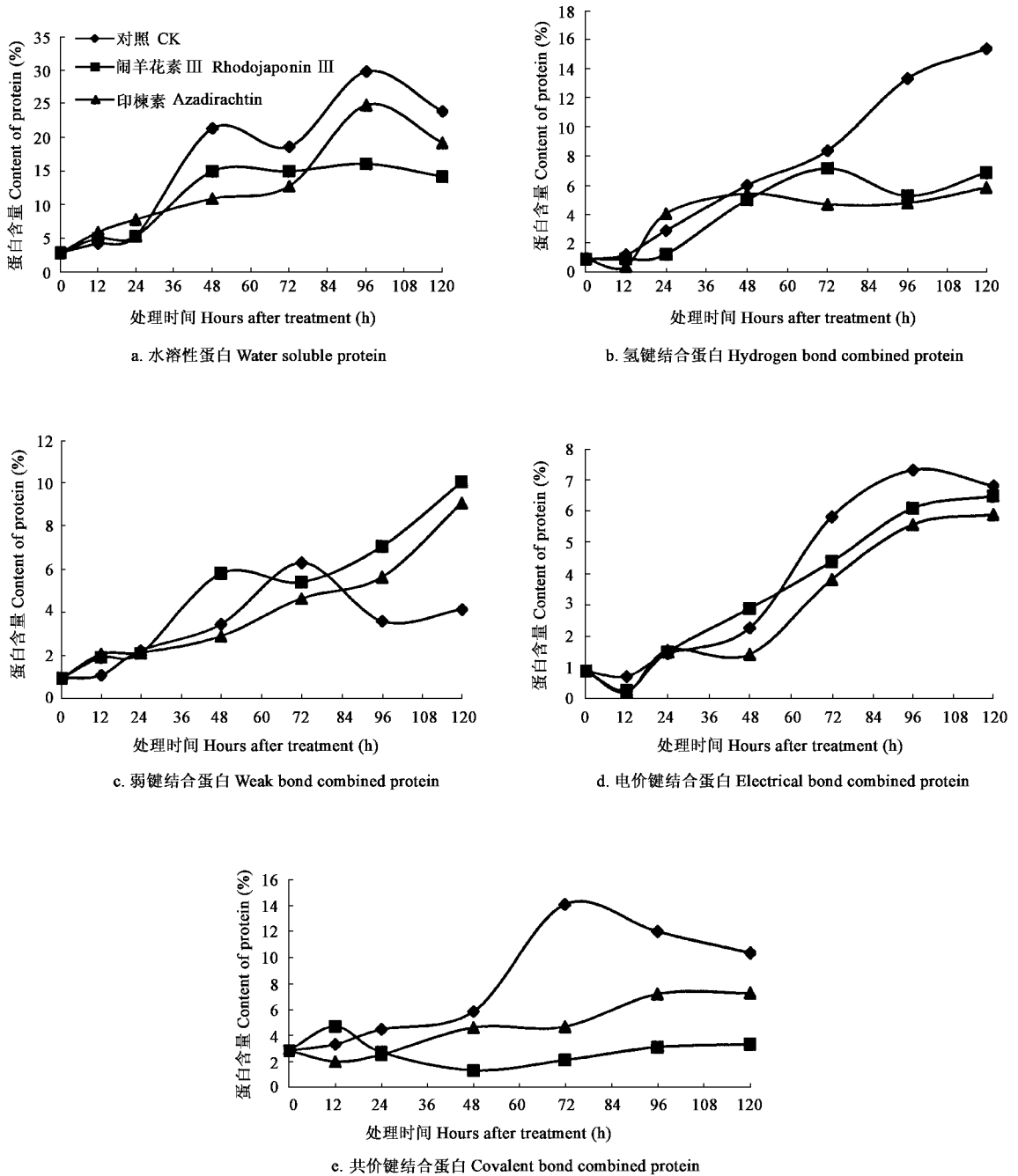


图2 闹羊花素III和印楝素对斜纹夜蛾4龄幼虫表皮主要蛋白含量的影响动态

Fig. 2 Effects of rhodojaponin III and azadirachtin against fourth instar larvae of *S. litura* on the contents of several kinds of protein in cuticle

基的裂解产物。实验结果表明,化合物1对试虫的生长发育抑制活性均显著强于其他化合物,化合物1处理对表皮组成成分的影响也最为显著。陈常英等(1992)对从杜鹃花科植物中提取分离的9个化合物,进行量子化学计算,得出轨道波函数等多种电子结构信息,讨论了作用机理及电子结构与毒性之间的关系,并从电子结构角度证明了C-2,3-环氧基对

生物活性的重要贡献。季小慎等(2000)通过对闹羊花素类化合物分子轨道、电荷分布和分子静电势的比较分析也表明,C-2,3-环氧基团是最重要的负电中心,起供电子作用;团花毒素(rhodoanthin)毒性高于马醉木毒素III(asebotoxin III)的原因是由于 $\alpha(10)-\beta-OH$ 比 $\alpha(10)-\alpha-OH$ 周围的负电势场强,且 $\alpha(10)-\beta-OH$ 能增强C-2,3-环氧基团的负电势

场。根据文献和本研究结果,可初步判断 C-2,3 环氧基的存在与否对活性影响显著,C-2,3-环氧基团的负电中心性质可能对于化合物与具体作用靶标的结合起重要作用,结构优化时应该保持这个结构或以其他适当的基团取代。

Hikino 等(1976)测定了杜鹃花科 36 种毒素和人工合成衍生物对鼠的毒性,发现 C-6 β -OH(可能还有 C-5 β -OH)对木藜芦烷毒素活性影响甚大。Hotta 等(1980)用豚鼠(guinea pig)做实验,也发现 C-3 β -OH 和 C-6 β -OH 对活性的重要贡献。季小慎等(1996)在化合物 1 的 C-6 引入丙酰基后,对昆明小鼠的毒性下降了 5 倍。本研究表明,如果 C-6 以 HCOO—或 C₂H₅COO—取代—OH,其活性将显著降低,如化合物 2 与化合物 1 相比,仅由于 C-6 由—OH 改为 C₂H₅COO—,活性即显著下降,化合物 3 与化合物 4~13 相比,也由于 C-6 以 HCOO—取代—OH,对斜纹夜蛾幼虫的生长抑制活性显著下降。这说明,如果在 C-6 引进电性更大的取代基,增大区域电子云密度,可能显著降低其活性。

供试化合物中 C10 与 R5 的连接取代基可分为两类:一类是以 OH 和 CH₃通过单键相连,如化合物 1,2,3,4,9,10,12,13;另一类是通过碳碳双键 C=C 连接,如化合物 5,6,7,8 和 11。从活性测定结果看,OH 取代连接的化合物在同等条件下生长发育抑制作用活性强于双键连接,可能与 C-10—OH 能够增强 C-2,3 负电场有关。C14 取代基的变化主要为两种:一是连接 OH,二是连接由 OH 衍生化所引入的酯基。如化合物 8 的 C-14 的—OH 改为 CH₃COO—后,活性比化合物 5,6,7 均有一定程度提高,也高于 C-14—OH 的 HCOO—取代产物化合物 4 和 9(如对表皮总蛋白含量的降低作用,见表 2)。作者推测认为,在一定活性范围内,C-14—OH 中引入 CH₃COO—或其他合适酯基取代基后,生物活性可能会有较明显的提高,因为其在代谢上比—OH 和 HCOO—更为稳定,这与 Mager 等(1981)以豚鼠为试验材料发现木藜芦毒素 14 β -OOCCH₂CH₃ 和 14 β -OOCCH(OH)CH₃ 是其重要的活性部位结论相一致。

3 讨论

闹羊花提取物对昆虫的生长发育抑制活性已有文献报道,本研究结果也再次证实了不同结构的闹羊花素类化合物对斜纹夜蛾幼虫不同程度的生长发

育抑制活性(表 1)。从目前的文献报道看,作者认为,根据对昆虫表皮几丁质影响的显著程度,植物源昆虫生长发育抑制活性物质主要可分为“内分泌干扰型”和“几丁质合成抑制型”两类,前者的典型代表是印楝素,主要是通过昆虫取食,干扰神经内分泌系统,干扰昆虫体内激素分泌协调平衡以及正常生理功能,最终抑制昆虫生长发育,一般对表皮几丁质含量影响不显著(Schmutterer,1990);后者如从蓝雪花科植物 *Plumbago capensis* 中分离到的蓝雪花素(plumbagin),这种活性物质的作用机制与苯酰基脲类化合物相似,抑制几丁质合成,进而抑制新表皮形成(Kubo *et al.*,1983)。本实验中,试虫通过取食处理叶碟从而摄入供试化合物,进而抑制昆虫生长发育。进一步分析发现,供试昆虫表皮几丁质相对含量与对照差异不显著,但能够显著提高总脂肪含量,降低总蛋白相对含量(表 2)。这说明,闹羊花素类化合物对昆虫的生长发育抑制作用机制并不属于“几丁质合成抑制型”,更可能属于“内分泌干扰型”。

为了深入研究闹羊花素类化合物抑制昆虫生长发育的作用机制,我们进一步研究了闹羊花素 III 对幼虫表皮几种主要蛋白质相对含量的影响动态。昆虫表皮蛋白质主要包括水溶性蛋白、氢键结合蛋白、弱键结合蛋白、电价键结合蛋白和共价键结合蛋白,其中水溶性蛋白所占比重最大,其中还有相当一部分是功能蛋白酶,担负着维持表皮新陈代谢、协调平衡各种生理生化功能之责(Heber *et al.*,1973;王荫长 2001)。本研究结果显示,闹羊花素 III 处理对试虫表皮蛋白相对含量的影响规律与印楝素相似,是降低了水溶性蛋白、氢键结合蛋白和共价键结合蛋白相对含量,提高了弱键结合蛋白相对含量,对电价键结合蛋白相对含量影响不显著(图 2)。其原因可能是选择性抑制了相关蛋白质合成过程关键酶活性(如 RNA 聚合酶 III),因为蛋白质的合成过程中要经过氨基酸键合到相应 tRNA、形成合成起始复合物、多肽链的延长等多个步骤,可以在任何水平上进行调节,特别是对合成过程中某些专一性酶的活化或抑制作用,能够在基因水平和反应产物上直接影响到蛋白质含量。干扰了蛋白质的合成与相对含量的正常调节机制,则将抑制昆虫形态发育。当然,闹羊花素 III 和印楝素处理对表皮蛋白质的影响也存在差异。如印楝素处理更可能是推迟了水溶性蛋白合成高峰的出现,而闹羊花素 III 处理后,水溶性蛋白相对含量的变化没有明显的高峰和回落,更可能是闹羊花素 III 在试虫体内达到一定的积累后,干扰昆虫内

分泌系统或其他生理生化功能,选择性地抑制了水溶性蛋白质的合成。另外,文献报道印楝素处理斜纹夜蛾幼虫能够推迟蜕皮酮滴度高峰 48~72 h (Rao *et al.*, 1996; 李晓东等, 1995)。本研究中印楝素处理后幼虫表皮中水溶性蛋白峰的出现,与对照相比也恰好推迟了 48 h,这与蜕皮酮滴度有无直接联系,仍需进一步研究。

陈冀胜和郑硕(1987)研究认为杜鹃花科植物毒素对哺乳动物是一种较专一的神经细胞膜毒素。Xu 等(1996)利用细胞内微电极记录技术(microelectrode intracellular recording technique)研究表明,闹羊花素 III 在 1% 供试浓度处理时可抑制并最终阻断果蝇 *Drosophila melanogaster* 3 龄幼虫腹侧纵肌细胞内神经肌肉兴奋性接点电位(neuromuscular excitatory junction potentials),因而认为其对昆虫神经肌肉传递的破坏作用可能与致死效应有关。作者的研究也表明闹羊花素 III 以 5~10 $\mu\text{g}/\text{虫}$ 处理后能引起菜粉蝶 5 龄幼虫 ACh 含量下降,对 ATP 酶活性有可逆性激活作用,其可逆程度依剂量高低而分为两种情况:低剂量时可恢复正常水平,高剂量时则最终表现为抑制酶活力(钟国华等, 2000)。这些结果充分说明闹羊花素类化合物作用位点的多样性,其中的差异可能是由于哺乳动物和昆虫的差异以及实验方法、化合物浓度剂量等的差异而产生不同的活性。ATP 酶在生物体的能量代谢、信息传递、生长发育等方面发挥重要作用(张宗炳, 1987)。作者认为,闹羊花素类化合物以较低浓度处理时,会在一定程度上干扰 ATP 酶活性,最终也会影响试虫机体细胞的代谢生长、细胞信息传递功能,从而抑制试虫生长发育。至于是否通过影响昆虫中枢神经系统,进而调节内分泌系统,调控昆虫表皮水溶性蛋白等的合成,尚需要通过大量深入研究来论证。

本研究供试的从闹羊花中分离的 14 个化合物,除化合物 14 属槲皮素类物质,对昆虫的活性较低外,其他 13 个均属木藜芦烷类二萜化合物,基本骨架相似,但不同结构所造成的活性差异显著。作者初步总结了闹羊花素类化合物结构与昆虫生长发育抑制之间的某些重要特征,指出其 C-2, 3 环氧基, C-6, C-10 和 C-14 基团对活性的贡献,但这些特征的建立还仅是初步的定性分析。今后应该分离、改造获得更多的此类化合物,采用化学生物学方法和技术,作用机制研究与化合物改造相结合,从定量分析构效关系,特别是三维定量分析构效关系角度深入研究,可为闹羊花素类化合物结构优化及确定高效先

导化合物提供依据。

参考文献 (References)

- Chen CY, Liu ZG, Pan XF, Chen JS, 1992. Studies on the electronic structure of ericeous toxins and their structure-activity relationship. *Acta Chim. Sin.*, 50(3): 237-243. [陈常英, 刘助国, 潘心富, 陈冀胜, 1992. 杜鹃花科植物有毒成分的电子结构及构效关系. 化学学报, 50(3): 237-243]
- Chen CK, 1993. *Methods of Insect Physiology and Biochemistry*. Beijing: Agriculture Press. 1-15. [陈长琨, 1993. 昆虫生理生化实验. 北京: 农业出版社. 1-15]
- Chen JS, Zheng S, 1987. *Chinese Poisonous Plants*. Beijing: Science Press. 429-450. [陈冀胜, 郑硕, 1987. 中国有毒植物. 北京: 科学出版社. 429-450]
- Heber U, Tyankova L, Santarius KA, 1973. Effects of freezing on biological membranes *in vivo* and *in vitro*. *Acta Biochem. Biophys.*, 9: 21-23.
- Hikino H, Ohta T, Ogura M, 1976. Structure-activity relationship of ericeous toxins on acute toxicity in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 35(2): 303-310.
- Hotta Y, Takeya K, Kobayashi S, 1980. Relationship between structure, positive inotropic potency and lethal dose of grayanotoxins in guinea pig. *Arch. Toxicol.*, 44(4): 259-267.
- Hu MY, Klocke JA, Chiu SF, Kubo I, 1993. Response of five insects to botanical insecticides, rhodajaponin-III. *J. Econ. Entomol.*, 86(3): 706-711.
- Hu MY, Zhong GH, Wu QS, Chiu SF, 2000. The biological activities of yellow azalea, *Rhododendron molle* G. Don against the vegetable leafminer, *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae). *Entomol. Sin.*, 7: 65-70.
- Ji XS, Chen CY, Liu ZG, Yan SM, Chen JS, 2000. Studies on relationship between toxicity and electronic structure of some ericeous toxins. *Pharm. J. Chin. PLA*, 16(4): 175-178. [季小慎, 陈常英, 刘助国, 颜松民, 陈冀胜, 2000. 某些杜鹃花科植物毒素的毒性与电子结构相关性研究. 解放军药学报, 16(4): 175-178]
- Ji XS, Liu ZG, Chen CY, Yan SM, Chen JS, 1996. Synthesis of rhodajaponin III 6-propionate. *Chin. Pharm. J.*, 31(12): 752-753. [季小慎, 刘助国, 陈常英, 颜松民, 陈冀胜, 1996. 6-O-丙酰基日本杜鹃素 III 的合成. 中国药学杂志, 31(12): 752-753]
- Kinghorn AD, Jaward FH, Doorenbos NJ, 1978. Thin-layer chromatographic and spectroscopic characterization of some diterpenes of the grayanotoxin type. *J. Chromatogr.*, 147: 298-308.
- Klocke JA, Hu MY, Chiu SF, Kubo I, 1991. Grayanoid diterpene insect antifeedants and insecticides from *Rhododendron molle*. *Phytochemistry*, 30(6): 1797-1800.
- Kubo IJ, Klocke A, Matsumoto J, 1983. Plumbagin as model for insect ecdysis inhibitory activity. In: Little JA ed. *Rational and Biorational Design of Pesticides and Growth Regulators*. Utah: Paragon Press. 73-76.
- Li CJ, Liu H, Wang LQ, Jin MW, Chen SN, Bao GH, Qin GW, 2003. Diterpenoids from the fruits of *Rhododendron molle*. *Acta Chim. Sin.*, 61(7): 1153-1156. [李灿军, 刘慧, 汪礼权, 金满文, 陈绍农, 鲍官虎, 秦国伟, 2003. 羊躑躅果实中的二萜化合物. 化学学

- 报, 6(7):1 153-1 156]
- Li CJ, Wang LQ, Chen SN, Qin GW, 2000. Diterpenoids from the fruits of *Rhododendron molle*. *J. Nat. Prod.*, 63:1 214-1 217.
- Li XD, Chen WK, Hu MY, 1995. Studies on the effects and mechanisms of azadirachtin and rhodojaponin-III on *Spodoptera litura* (F.). *J. South China Agric. Univ.*, 16(2):80-85. [李晓东, 陈文奎, 胡美英, 1995. 印楝素、Rhodojaponin-III 对斜纹夜蛾的生物活性及作用机理的研究. 华南农业大学学报, 16(2):80-85]
- Liu ZG, Pan XF, 1989. Studies on the chemical constituents of China azalea. *Acta Chim. Sin.* (English edition), 3:235-239.
- Liu ZG, Pan XF, Chen CY, Chen JS, 1990. Studies on the chemical constituents of *Rhododendron molle* G. Don. *Acta Pharm. Sin.*, 25(11):830-833. [刘助国, 潘心富, 陈常英, 陈冀胜, 1990. 中国羊躑躅花化学成分研究. 药学报, 25(11):830-833]
- Mager PP, Seese A, Takeya K, 1981. Structure-toxicity relationships applied to grayanotoxins. *Pharmazie*, 36(5):381-382.
- Rao PJ, Gupta S, Kranthi KR, 1996. Neem effects on *Spodoptera litura*: A holistic study. In: Singh RP, Chari MS, Raheja AK, Kraus W eds. *Neem and Environment*. New Delhi: Oxford & Publishing Co. Pvt. Ltd. 357-374.
- Schmutterer H, 1990. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Annu Rev. Entomol.*, 25:271-297.
- Shang ZZ, Zhang QL, Liu Z, Chen RY, Chiu SF, Feng X, 1990. Extraction and bioassay of insecticidal compounds from *Rhododendron molle*. *Ecochemicals*, 2(1):6-9. [尚稚珍, 张庆林, 刘准, 陈茹玉, 赵善欢, 冯夏, 1990. 黄杜鹃杀虫物质的提取与活性研究. 化学生态物质, 2(1):6-9]
- Wang YC, 2001. *Insect Biochemistry*. Beijing: China Agriculture Press. 42-56. [王荫长, 2001. 昆虫生物化学. 北京: 中国农业出版社. 42-56]
- Wang YC, Gong GJ, 1986. *Methods of Insect Physiology and Biochemistry*. Nanjing: Nanjing Agricultural University. 12-15. [王荫长, 龚国玑, 1986. 昆虫生理生化实验技术. 南京: 南京农业大学. 12-15]
- Xu JH, Liu AX, Shang ZZ, 1996. Preliminary observation of toxicological effects of rhodojaponins and toosendanin on neuromuscular transmission of larval *Drosophila melanogaster* Meigen. *Entomol. Sin.*, 43(4):338-345.
- Zhang ZB, 1987. *Molecule Toxicology of Insecticide*. Beijing: Agriculture Press. 30-64. [张宗炳, 1987. 杀虫剂的分子毒理学. 北京: 农业出版社. 30-64]
- Zhong GH, 2002. Studies on the active ingredients, mode of insecticidal action and their structure-activity relationships of the yellow azalea, *Rhododendron molle* G. Don. Guangzhou: Dissertation for Ph D, South China Agricultural University. [钟国华, 2002. 黄杜鹃花杀虫活性成分、作用机制及构效关系研究. 广州: 华南农业大学博士学位论文]
- Zhong GH, Hu MY, Chiu SF, Cheng DM, 2000. Effects of rhodojaponin-III on nervous system of larvae of imported cabbage worm, *Pieris rapae* L. *Chin. J. Pesti. Sci.*, 2(1):13-18. [钟国华, 胡美英, 赵善欢, 程东美, 2000. 闹羊花素-III 对菜青虫神经系统的影响. 农药学报, 2(1):13-18]
- Zhong GH, Hu MY, Chiu SF, Weng QF, 2001. Preliminary study on insecticidal constituents of *Rhododendron molle* flowers and their bioactivity against *Spodoptera litura*. *Acta Phytophylacica Sin.*, 28(3):269-273. [钟国华, 胡美英, 赵善欢, 翁群芳, 2001. 黄杜鹃花杀虫活性成分及其对斜纹夜蛾的生物活性. 植物保护学报, 28(3):269-273]
- Zhong GH, Hu MY, Weng QF, Ma AQ, Xu WS, 2001. Laboratory and field evaluations of extracts from *Rhododendron molle* flowers as insect growth regulator to imported cabbage worm, *Pieris rapae* L. (Lepidoptera: Pieridae). *J. Appl. Entomol.*, 125:563-569.

(责任编辑: 黄玲巧)