

## 桉树叶提取物杀灭钉螺筛选试验

陈婷婷<sup>1</sup>, 周晓农<sup>2</sup>, 朱丹<sup>2</sup>, 李明亚<sup>1\*</sup>

**【摘要】 目的** 观察广东5种桉树叶提取物的杀灭钉螺效果。**方法** 采用有机溶剂萃取法和水提醇沉法分别得到5种桉树叶的挥发油、水溶性挥发成分、醇提流浸膏和醇沉物样品,设置不同浓度处理液,以去氯水作为对照组,按WHO推荐的室内浸杀法进行杀螺药效试验,观察比较钉螺死亡率。**结果** 5种桉树叶挥发油在浓度为100 mg/L时,浸杀48 h后钉螺死亡率均 $\geq$ 80.0%,其中经柠檬桉和尾叶桉挥发油浸杀的钉螺死亡率均为93.3%,在浓度为10 mg/L时,浸杀48 h钉螺死亡率亦 $>$ 60.0%;尾叶桉叶醇提流浸膏及其石油醚萃取物和氯仿萃取物浸杀钉螺48 h的死亡率 $\geq$ 65%,其中氯仿萃取物浸杀钉螺死亡率高达95%,且其浓度在10 mg/L时钉螺死亡率也高达60%。**结论** 广东5种桉叶挥发油和尾叶桉的醇提流浸膏均有较好的杀钉螺效果,且尾叶桉醇提流浸膏氯仿萃取物的杀钉螺效果好于其他有机溶剂萃取物。

**【关键词】** 钉螺;杀螺效果;桉树叶;萃取物;筛选

**【中图分类号】** R383.24 **【文献标识码】** B

## Preliminary screening tests of molluscicidal effect of extracts from *Eucalyptus* leaves

CHEN Ting-ting<sup>1</sup>, ZHOU Xiao-nong<sup>2</sup>, ZHU Dan<sup>2</sup>, LI Ming-ya<sup>1\*</sup>

1 Department of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical College, Guangzhou 510006, China; 2 National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention, China

\* Corresponding author

**【Abstract】 Objective** To investigate the molluscicidal effects of extracts from five *Eucalyptus* leaves collected from Guangdong Province, China. **Methods** According to the WHO recommended indoor immersed method, the molluscicidal effects of extracts from five *Eucalyptus* leaves with 250, 100, 10 mg/L of water extraction, alcohol precipitation and organic solvent extraction were investigated. **Results** The dose-effect relationship showed that all the mortality rates of *Oncomelania hupensis* reached 80% with the volatile oil from five *Eucalyptus* leaves immersed at the concentrations of 100 mg/L for 48 h, and the mortality rates were both 93.3% with the volatile oil from *Corymbia citriodora* and *Eucalyptus urophylla* leaves. The mortality rate was up to 95% with the chloroform extract, and the mortality rate reached 60% at the concentrations of 10 mg/L for 48 h. **Conclusion** The volatile oils from five *Eucalyptus* leaves and the chloroform extract in alcohol extraction from *Eucalyptus urophylla* leaves are better than other solvents.

**【Key words】** *Oncomelania hupensis*; Molluscicidal effect; *Eucalyptus* leaves; Extract; Screening

钉螺是日本血吸虫的唯一中间宿主,是血吸虫病的传播媒介。因此,杀灭钉螺是控制血吸虫病流行的的重要手段<sup>[1-3]</sup>。采用氯硝柳胺等化学药物来灭螺是目前国内外使用较多的控制钉螺方法,但这些化学灭螺药物因其对环境的污染和对非靶生物的毒性等缺陷而限制了其使用。利用植物化学成分灭螺和有机合成新的仿生灭螺剂是目前研究植物灭螺剂的重

点<sup>[4-5]</sup>。桉树(*Eucalyptus*)原产于澳大利亚,别名尤加利、白柴油树、莽树,是桃金娘科(Myrtaceae)杯果木属(*Angophora*)、伞房属(*Corymbra*)和桉树属(*Eucalyptae*)的总称,其叶和挥发油可入药,有消炎、杀菌、健胃、祛痰、驱风之效。洪青标等<sup>[6-8]</sup>采用室内浸杀法证实赤桉和异叶心桉有灭螺作用,表明桉树含有杀灭钉螺的有效成分。本研究采用水提醇沉法、系统有机溶剂分离法提取与分离广东省托里桉(*Corymbia torelliana*)、柠檬桉(*Corymbia citriodora* Hook.f.)、巨桉(*Eucalyptus grandis*)、尾叶桉(*Eucalyptus urophylla*)和尾巨桉(*Eucalyptus urophylla* × *Eucalyptus grandis*)5种桉树叶的化学成分,结合药理活性实验分别筛选出杀灭钉

**【基金项目】** 国家重大科技专项(2008ZX10004-011)

**【作者简介】** 1 广东药学院药科学院(广州 510006); 2 中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所

**【作者单位】** 陈婷婷,女,硕士研究生。研究方向:新药筛选与作用机制

\* 通信作者 E-mail: mingyal@yahoo.com.cn

螺活性成分,为探讨桉树叶灭螺作用机制及深入研究开发灭螺药物提供参考资料。

## 1 材料与方法

1.1 实验材料与主要仪器 钉螺由中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所提供。5种桉树叶的样品均于2010年8月采摘于广东省樟木头林场,经华南农业大学林学院黄少伟教授和中国林业科学研究院热带林业研究所甘四明研究员共同鉴定,分别为托里桉、柠檬桉、巨桉、尾叶桉和尾巨桉。采集时每种桉树随机选择5~15棵树,选择颜色为绿色、有刺激性清凉药用气味的叶片为采集样品。将采集到的样品现场称重后密封于保鲜袋内,保存于4℃冰箱中,于2周内处理完毕。实验用主要仪器有:DT-2000型电子天平(美国双杰兄弟集团有限公司常熟双杰测试仪器厂)、30B型万能粉碎机(江阴市鑫达药化机械制造有限公司)、TN-100微型多能提取和浓缩机组(温州市利宏轻工机械有限公司)、RE-5299旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);所用化学试剂均为分析纯。

### 1.2 实验方法

1.2.1 桉叶挥发油和水溶性挥发成分提取 未经清洗的新鲜桉叶剪碎后和蒸馏水按1:8(质量比)的比例于室温下浸泡5 h后加热至100℃,保持微沸状态5 h,收集上层为挥发油1;下层的水层经无水乙醚萃取、分离,加入活化过的无水硫酸钠脱水,得挥发油2;合并挥发油1和2(为具有浓郁的特殊香味的淡黄色或黄色油状物)。剩余部分除去乙醚,为水溶性挥发成分,密封避光保存备用。

1.2.2 桉叶醇提流浸膏和醇沉物提取 将提取挥发油后得到的桉叶水提液减压浓缩除水得到水提流浸膏,用4倍体积的95%乙醇醇沉并过滤3次后合并醇提液,经减压浓缩得醇提流浸膏(D30);其剩余物置于烧杯中于65℃烘箱烘至恒重,即得醇沉物。

1.2.3 尾叶桉醇提流浸膏的不同溶剂萃取物提取 尾叶桉的醇提流浸膏依次经石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇、乙醇和蒸馏水进行萃取分离,分别得到相应较纯的组分,分别为石油醚萃取物(D31)、氯仿萃取物(D32)、乙酸乙酯萃取物(D33)、正丁醇萃取物(D34)、乙醇萃取物(D35)、蒸馏水萃取物(D36)和其剩余物(D37)。

### 1.3 室内浸杀钉螺试验

1.3.1 杀钉螺试验 桉叶挥发油、水溶性挥发成分、醇提流浸膏和醇沉物杀螺试验采用WHO推荐的浸杀法进行<sup>[9-11]</sup>。称取一定量的各提取物,以去氯自来水分别配制成等比浓度溶液(其中挥发油样品先加入

1~2滴吐温-90助溶)进行浸杀钉螺实验。以15只成螺为1组,将其装入自制尼龙网袋后投入药液中,在(25±2)℃的室温下浸泡48 h后清水冲洗数次,复苏72 h,用水养加敲击法检查钉螺死活;另设无氯自来水为对照组。重复测定3次,计算钉螺死亡率。

1.3.2 尾叶桉醇提流浸膏的不同萃取物 各萃取物分别配成等比浓度的处理溶液,进行浸杀钉螺试验。将20只钉螺装入1个尼龙网袋中,投入药液中,在(25±2)℃的室温下浸泡48 h后用清水冲洗数次,复苏72 h,用水养加敲击法测定钉螺死活;另设无氯自来水为对照组。重复测定3次,计算钉螺死亡率。

## 2 结果

2.1 挥发油浸杀钉螺效果 5种桉树叶提取的挥发油在100 mg/L时浸杀钉螺48 h后的死亡率均≥80%,其中柠檬桉和尾叶桉挥发油浸杀钉螺的死亡率均达到93.3%;5种桉树叶挥发油在10 mg/L时浸杀48 h后钉螺的死亡率也均≥60%。提示5种桉叶的挥发油均具有较好的杀钉螺效果,且柠檬桉和尾叶桉挥发油的效果好于其他3种桉叶(表1)。

2.2 水溶性挥发成分浸杀钉螺效果 托里桉和柠檬桉桉树叶提取的水溶性挥发成分在浓度为250 mg/L时浸杀48 h后钉螺的死亡率分别为33.3%和6.7%,其他3种桉树叶浸杀钉螺的死亡率均为0(表1),提示其杀灭钉螺作用较弱。

2.3 醇提流浸膏浸杀钉螺效果 托里桉、柠檬桉、巨桉和尾巨桉4种桉树叶的醇提流浸膏在浓度为100 mg/L时浸杀钉螺48 h后的死亡率均<50%,而尾叶桉叶的醇提流浸膏在此浓度下浸杀钉螺48 h后的死亡率为80%,且在10 mg/L浓度时浸杀钉螺48 h后的死亡率也达到66.7%。提示尾叶桉叶的醇提流浸膏杀钉螺的效果较好。

2.4 醇沉物浸杀钉螺效果 托里桉、柠檬桉、尾叶桉和尾巨桉4种桉树叶的醇沉物在100 mg/L浓度时浸杀钉螺48 h后的死亡率均<50%,巨桉叶浸杀钉螺的死亡率为0,提示其杀灭钉螺作用较弱。

2.5 尾叶桉叶醇提流浸膏不同溶剂萃取物浸杀钉螺效果 如表2所示,尾叶桉叶醇提流浸膏及其石油醚萃取物(D31)、氯仿萃取物(D32)和剩余物在100 mg/L浓度时浸杀钉螺48 h后的死亡率均≥65%,且氯仿萃取物浸杀钉螺死亡率达95%。此外,氯仿萃取物在10 mg/L浓度时浸杀钉螺48 h后的死亡率也达60%。结果显示,尾叶桉醇提流浸膏的石油醚萃取物和氯仿萃取物都具有杀钉螺作用,且氯仿萃取物的杀钉螺效果要好于其他有机溶剂萃取物。

表1 5种桉树叶各种提取物室内浸杀钉螺48 h结果( $n = 45$ )

样品	剂量 (mg/L)	托里桉		柠檬桉		巨桉		尾叶桉		尾巨桉	
		死亡螺数 (只)	死亡率 (%)	死亡螺数 (只)	死亡率 (%)	死亡螺数 (只)	死亡率 (%)	死亡螺数 (只)	死亡率 (%)	死亡螺数 (只)	死亡率 (%)
挥发油	100	36	80.0	42	93.3	36	80.0	42	93.3	36	80.0
	10	30	66.7	39	86.7	27	60.0	42	93.3	27	60.0
水溶性挥发成分	250	15	33.3	3	6.7	0	0.0	0	0.0	0	0.0
	100	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
醇提流浸膏	100	21	46.7	18	40.0	21	46.7	36	80.0	15	33.3
	10	3	6.7	9	20.0	6	13.3	30	66.7	0	0
醇沉物	100	12	26.7	12	26.7	0	0.0	12	26.7	6	13.3
	10	9	20.0	9	20.0	0	0.0	3	6.7	3	6.7
去氯自来水对照组	0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0

表2 尾叶桉叶醇提取物不同溶剂萃取物室内浸杀钉螺死亡率( $n = 60$ , %)

剂量(mg/L)	D30	D31	D32	D33	D34	D35	D36	D37
100	80.0	65.0	95.0	30.0	30.0	25.0	30.0	70.0
10	65.0	20.0	60.0	20.0	0.0	15.0	15.0	20.0
1	5.0	5.0	5.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
去氯自来水对照组	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

### 3 讨论

桉树叶对螺类有毒性作用的报道较早<sup>[6-8, 12]</sup>, 但仅停留于个别桉树品种的单一或2种溶剂初提取物中, 未见对桉树品种筛选及系统提取、分离和纯化桉树叶各部位进行杀螺实验进而筛选出有效单体或有效成分的研究。本研究采用萃取法分离和纯化桉叶各提取物, 并通过浸杀钉螺试验比较了广东省5种桉树的不同提取物对钉螺的杀灭效果。实验结果显示, 用不同浓度的桉叶提取物处理液浸杀钉螺, 处理不同时间后, 钉螺死亡率存在差异, 其规律是钉螺死亡率随溶液浓度和浸杀时间的增加而升高。托里桉、柠檬桉、巨桉、尾叶桉和尾巨桉5种桉树叶提取的挥发油和尾叶桉叶的醇提流浸膏均有较好的杀钉螺效果。尾叶桉叶醇提流浸膏杀钉螺有效成分主要存在于石油醚萃取物和氯仿萃取物中, 且氯仿萃取物的杀钉螺效果要好于其他有机溶剂萃取物。参照WHO筛选植物杀螺药物的条件, 初步研究表明, 所采集的广东省5种桉树叶提取物中含有较高的杀钉螺成分。本试验为进一步探讨桉叶灭螺作用机制及对灭螺药物的深入研究开发提供了参考资料。

### 【参考文献】

- [1] 戴建荣, 黄铭西, 朱荫昌. 灭螺药物的研究进展[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2000, 12(3): 189-192.
- [2] 崔东亚, 蒋继志, 杨美玲, 等. 植物源杀虫剂活性成分研究进展[J]. 山西农业科学, 2008, 36(6): 42-44.
- [3] Perrett S. Currently available molluscicides [J]. Parasitol Today, 1996, 12(4): 156-158.
- [4] 吴亮, 陈盛霞, 杨小明. 植物灭螺剂及其灭螺机理的研究进展[J]. 江苏大学学报(医学版), 2007, 4(1): 8790.
- [5] 李洁, 钱万红, 黄轶昕, 等. 植物灭螺药物研究进展[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2002, 14(1): 84-86.
- [6] 洪青标, 周晓农, 杭盘宇, 等. 异心叶桉杀灭钉螺效果的初步观察[J]. 实用寄生虫病杂志, 1997, 5(3): 115-116.
- [7] 洪青标, 周晓农, 韩英, 等. 赤桉提取物杀灭钉螺效果的观察[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2001, 13(1): 18-20.
- [8] 洪青标, 周晓农, 韩英, 等. 桉树植物杀灭钉螺的初步研究[J]. 桉树科技, 2002, 1(1): 37-40.
- [9] 刘颖芳, 彭宇, 刘凤想. 中国灭螺技术的研究进展[J]. 四川动物, 2005, 24(4): 651-654.
- [10] 戴建荣, 梁幼生, 张燕萍, 等. 杀螺剂室内筛选实验方法标准化的研究Ⅱ实验钉螺饲养时间对杀螺效果的影响[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2003, 15(5): 346-348.
- [11] 周晓农, 张仪, 洪青标, 等. 实用钉螺学[M]. 北京: 科学出版社, 2005: 266-290.
- [12] 周晓农. 赤桉和贝螺杀对光滑双脐螺作用的研究[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 1991, 3(5): 263-265.

【收稿日期】 2012-06-15      【编辑】 钱熠礼