

网络出版时间:2018-05-25 09:43

DOI: 10.13207/j.cnki.jnwfufu.2018.11.013

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20180525.0940.026.html>

别隐品碱衍生物的合成及其生物活性

李浩鹏, 史晨燕, 刘睿媛, 耿会玲

(西北农林科技大学 化学与药学院, 陕西 杨凌 712100)

【摘要】【目的】测定别隐品碱化合物抗植物病原真菌和杀灭兔痒螨的活性, 为后续结构优化和药品研发提供依据。【方法】以从博落回中分离的别隐品碱为原药, 对其十元氮杂环进行结构修饰, 合成了 12 种衍生物 A1~A12, 采用质谱(ESI-MS)、核磁共振谱(^1H NMR 和 ^{13}C NMR)对其结构进行表征。以喹啉酯为阳性对照, 采用菌丝生长速率法, 测定 50 $\mu\text{g/mL}$ 目标化合物对 6 种常见植物病原真菌(苹果腐烂病菌(*Valsa mali*)、番茄早疫病菌(*Alternaria solani*)、小麦赤霉病菌(*Fusarium graminearum*)、玉米弯孢病菌(*Curvularia lunata*)、马铃薯干腐病菌(*Fusarium solani*)、水稻稻瘟病菌(*Pyricularia oryzae*))的体外抗菌活性; 采用浸虫法检测 5 mg/mL 目标化合物对兔痒螨(*Psoroptes cuniculi*)的体外杀灭活性。【结果】确认了 12 种别隐品碱衍生物的结构, 它们对供试菌均具有不同程度的抑制活性, 对兔痒螨具有一定的杀灭活性。其中, 以化合物 A11 的抑菌活性和杀螨活性最高, 其对苹果腐烂病菌的抑制率达 73.28%, 对兔痒螨的致死率达 61.55%。【结论】原药别隐品碱十元氮杂环上的羰基被还原成羟基后, 不仅提高了其抗菌活性和杀螨活性, 同时也拓宽了其抗菌谱。

【关键词】 别隐品碱; 结构修饰; 抗菌活性; 杀螨活性

【中图分类号】 O621.2; S482.5

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2018)11-0096-09

Synthesis and biological activities of alkaloids from allocryptopine

LI Haopeng, SHI Chenyan, LIU Ruiyuan, GENG Huiling

(School of Chemistry and Pharmacy, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】A series of allocryptopine derivatives were obtained by modifying the structure of allocryptopine and the antifungal activity against six phytopathogens and mortality against *Psoroptes cuniculi* were evaluated to provide basis for optimization and design of these chemicals. 【Method】In this paper, twelve derivatives (A1—A12) were synthesized through structural modification on ten-membered N-heterocycle and they were characterized by ESI-MS, ^1H NMR, and ^{13}C NMR. Growth rate method was used to test antifungal activity of these compounds against six phytopathogens *Valsa mali*, *Alternaria solani*, *Fusarium graminearum*, *Curvularia lunata*, *Fusarium solani*, *Fusarium graminearum* at the concentration of 50 $\mu\text{g/mL}$ and the dipping-insect method was used to test the activity against *P. cuniculi* at the concentration of 5 mg/mL . 【Result】Twelve derivatives were synthesized and their structures were confirmed by ESI-MS, ^1H NMR and ^{13}C NMR. The bioassay results showed that these compounds exhibited different inhibiting effects against all the tested phytopathogens. They also had certain poisonous activity against *P. cuniculi*. A11 had the highest inhibitory activity and acaricidal activity with the inhibition rate of 73.28% against *Valsa mali* and the lethality rate of 61.55% against *P. cuniculi*. 【Conclusion】Reduction of carbonyl of ten-membered N-heterocycle to hydroxyl increased the antimicrobial activity and acaricidal activity

【收稿日期】 2017-09-01

【基金项目】 国家自然科学基金项目(31572038); 陕西省农业攻关项目(2016NY-130); 陕西省博士后科学基金项目(2014-03)

【作者简介】 李浩鹏(1991—), 男, 河南登封人, 硕士, 主要从事有机合成研究。E-mail: lih1983@126.com

【通信作者】 耿会玲(1977—), 女, 陕西澄城人, 副教授, 主要从事天然产物源农药合成及其生物活性研究。

E-mail: genghuiling@nwsuaf.edu.cn

and broadened the antifungal spectrum.

Key words: allocryptopine; structure modification; antifungal activity; acaricidal activity

别隐品碱对肿瘤细胞和恶性癌变细胞具有细胞毒活性和抑制细胞增殖活性,但比抗肿瘤药物奥沙利铂(oxaliplatin)、长春花碱(vinblastine)和环磷酰胺(cyclophosphamide)的效果稍差^[1]。Sener 和 Orhan^[2]研究了 20 多种球果紫堇属植物提取物(主要成分为原阿片碱和别隐品碱)对乙酰胆碱酯酶的抑制活性发现,其抗乙酰胆碱酯酶作用具有可逆性和竞争性,且与剂量有关。目前临床上使用的许多药物都是在天然产物结构基础上经过修饰改造获得的模仿和优化产物^[3]。对 1981—2006 年上半年全球上市新药来源的统计结果显示,所有药物中小分子新化合物实体药物占 82%,其中 6%直接来源于天然产物,36%来源于全合成;其余 58%介于两者之间,包括天然产物衍生物、类似物、模拟物等^[4]。可见对新药研发而言,天然产物的结构修饰是极其重要的内容。

别隐品碱是普罗托品类生物碱中的一种,普罗托品类生物碱具有多种药理活性,目前对其作用机理的研究也越来越深入。胡海军等^[5]研究了血根碱和白屈菜红碱杀螨活性的构效关系,确定了此类化合物的活性部位是 $C=N^+$ 离子型双键。通过对普罗托品类生物碱的羰基和 N 进行初步结构修饰及杀螨活性构效关系的研究,推测 14-位的羰基不是活性基团,但将其转化为羟基后活性大大提高;N 不是活性部位,将其甲基化或氮氧化后所得衍生物的杀兔痒螨活性均无明显变化^[6-9]。为了更系统地研究别隐品碱类生物碱的杀螨活性构效关系,进一步寻找杀螨活性药物,本试验以别隐品碱为原药,对其苯环和十元氮杂环进行结构修饰与改造及杀螨活性测定,分析其杀螨活性的构效关系,以期为后续结构优化和药品研发提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试病原菌 供试苹果腐烂病菌(*Valsa mali*)、番茄早疫病菌(*Alternaria solani*)、小麦赤霉病菌(*Fusarium graminearum*)、玉米弯孢病菌(*Curvularia lunata*)、马铃薯干腐病菌(*Fusarium solani*)、水稻稻瘟病菌(*Pyricularia oryza*),由西北农林科技大学无公害农药研究中心提供。

兔痒螨采自患有螨病的兔子(2015 年 11 月购

自陕西省周至县哑柏镇),经西北农林科技大学宋晓平教授鉴定为痒螨科(Psoroptidae)兔痒螨(*P. cuniculi*)。

1.1.2 仪器与试剂 XT-4 显微熔点仪(北京泰克仪器有限公司),Bruker AVANCE III 400 MHz 核磁共振仪(德国 Bruker 公司),Finnigan Trace 质谱仪(美国 Thermo Finnigan 公司)。

原药别隐品碱为在博落回中分离所得;98.5% 噁菌酯(Azoxystrobin)原药(北京颖泰嘉和科技有限公司产品);柱层析硅胶,0.050~0.074 mm(青岛海洋化工厂产品);用于分离纯化的试剂为重蒸的工业试剂,甲醇、无水乙醇和二氯甲烷等试剂均为市售分析纯试剂,必要时处理后使用。

1.2 目标化合物的合成

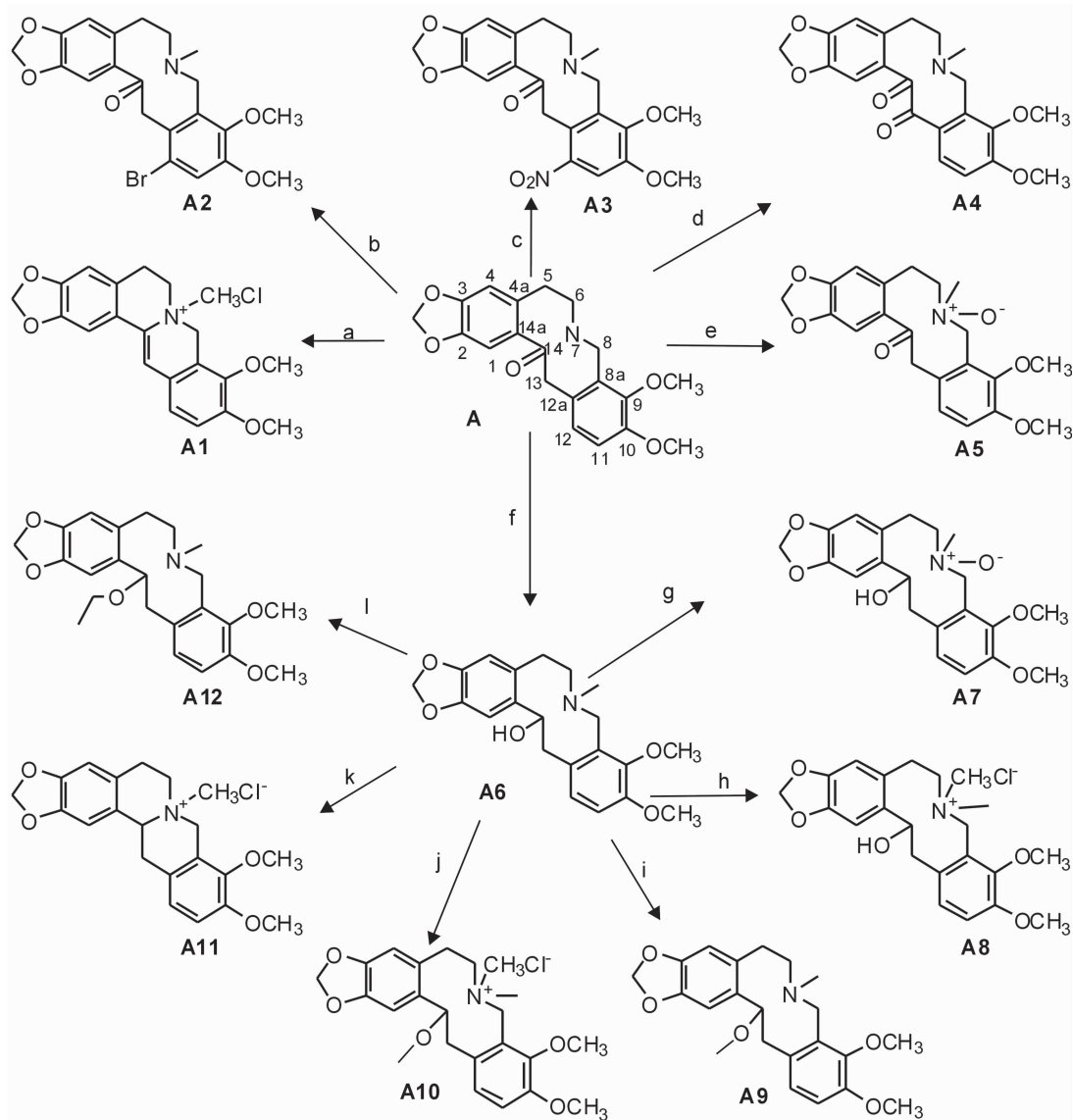
以别隐品碱(A)为原药,参考文献报道方法合成 12 种目标化合物,合成路线如图 1 所示。

1.2.1 化合物 A1 依次将 185 mg 别隐品碱(0.5 mmol)和 10 mL 干燥氯仿加入 50 mL 圆底烧瓶中,再在剧烈搅拌下缓慢滴加 0.5 mL 草酰氯($(COCl)_2$),回流 2 h 后产生黄色沉淀,TLC 检测显示反应完全。将反应液冷却至室温,减压抽滤得黄色粗产物^[10],用乙醚洗涤 3 次(每次 3~5 mL),抽干,得淡黄色粉末即化合物 A1(167 mg),产率 86%。

1.2.2 化合物 A2 依次将 148 mg 别隐品碱(0.4 mmol)和 8 mL 乙酸加入 25 mL 圆底烧瓶中, N_2 保护下加入 4 mL 新配制的溴素乙酸溶液(19.7 mg/mL, Br_2 -AcOH)。室温搅拌 1 h,有黄色固体生成^[11]。减压抽滤,乙酸洗涤 2 次(每次 3~5 mL)。滤液置换 N_2 后再加入 2 mL 溴素乙酸溶液,减压抽滤,合并黄色固体^[12]。硅胶柱层析($V_{乙醚} : V_{乙醇} = 1 : 1$)分离纯化得白色粉末状化合物 A2(48 mg),产率 27%。

1.2.3 化合物 A3 分别将 185 mg 别隐品碱(0.5 mmol)和 20 mL 乙酸加入 100 mL 圆底烧瓶中,室温搅拌下,缓慢滴加 5 mL 新配制的 HNO_3 -AcOH(二者体积比 3 : 2)混合溶液。反应 15 min 后,溶液变成红棕色,TLC 检测显示反应完全^[13-14],停止反应。将反应液倒入 50 mL 冰水中,用饱和 $NaHCO_3$ 溶液调 pH 至中性。用二氯甲烷萃取(15 mL $\times$ 2),合并有机相,用饱和食盐水洗 3 次,无水 Na_2SO_4 干

干燥,硅胶柱层析($V_{\text{二氯甲烷}}:V_{\text{甲醇}}=10:1$)分离纯化得淡黄色结晶即化合物 A3(80 mg),产率 38%。



a. $(\text{COCl})_2, \text{CHCl}_3$, reflux; b. $\text{Br}_2\text{-AcOH}, \text{N}_2$; c. $\text{HNO}_3\text{-AcOH}(3:2)$, 15 min; d. $\text{I}_2, \text{AcONa}, \text{EtOH}$, reflux; e. $m\text{-CPBA}$, 0°C ; f. LiAlH_4 , THF;

g. $m\text{-CPBA}$, 0°C ; h. $\text{CH}_3\text{I}, \text{CHCl}_3$; i. $\text{NaH}(65\%), \text{CH}_3\text{I}, \text{THF}$; j. $\text{NaH}(65\%), \text{CH}_3\text{I}, \text{THF}$, 40°C ; k. CH_3COCl ; l. $\text{NaH}(65\%), \text{CH}_3\text{CH}_2\text{I}, \text{THF}$

图 1 目标化合物 A1~A12 的合成路线

Fig. 1 Synthetic route for target compounds A1—A12

1.2.4 化合物 A4 分别将 370 mg 别隐品碱(1 mmol)和 60 mL 无水乙醇加入 150 mL 圆底烧瓶, 60°C 加热搅拌溶解后,滴加 10 mL 的 I_2 溶液(0.5 mol/L, 溶剂为乙醇)。回流反应 1 h, 向烧瓶中加入 3 mL 醋酸钠溶液(AcONa), 继续反应 2 h, TLC 检测显示反应完全, 停止反应^[15]。蒸干溶剂, 加入 40 mL 二氯甲烷溶解, 再加入 30 mL 饱和 NaHSO_3 水溶液, 静置分液。水相用二氯甲烷萃取(15 mL $\times$ 2), 合并有机相, 饱和 NaHCO_3 水溶液洗 1 次, 饱和食盐水洗 3 次, 无水 Na_2SO_4 干燥, 硅胶柱层析($V_{\text{二氯甲烷}}:V_{\text{甲醇}}=5:1$)分离纯化得无色结晶即

化合物 A4(200 mg), 产率 52%。

1.2.5 化合物 A5 在 100 mL 圆底烧瓶中分别加入 185 mg(0.5 mmol)别隐品碱和 20 mL 干燥的氯仿, 溶解完全后在冰浴中搅拌 0.5 h, 缓慢加入 10 mL 间氯过氧苯甲酸钠($m\text{-CPBA}$, 体积分数 75%)的氯仿溶液, -18°C 下搅拌反应 25 h, TLC 检测反应完全。边搅拌边向反应液中缓慢加入 20 mL 体积分数 5% 的 Na_2CO_3 溶液, 氯仿萃取(30 mL $\times$ 3), 合并有机相, 无水 Na_2SO_4 干燥, 硅胶柱层析($V_{\text{二氯甲烷}}:V_{\text{甲醇}}=10:1$)分离纯化得白色粉末即化合物 A5(169 mg), 产率 89%。

1.2.6 还原产物 A6 将 185 mg(0.5 mmol)别隐品碱加入 250 mL 圆底烧瓶中,加入约 60 mL 无水四氢呋喃(THF),加热(40 °C)溶解完全,冷却至室温后,边搅拌边缓慢加入 40 mL 用无水 THF 溶解的 2.5 mmol 氢化铝锂(LiAlH_4)。8 h 后 TLC 检测反应完全^[16-17]。边搅拌边向反应液中逐滴加入约 2 mL 甲醇至溶液不再产生气泡,再加入 2 mL 体积分数 10% 的 NaOH 溶液,溶液中出现白色絮状沉淀,过滤,将滤液减压蒸除溶剂,得粗产物。硅胶柱层析($V_{\text{石油醚}}:V_{\text{乙酸乙酯}}=5:1$)分离纯化得到无色晶体即化合物 A6(159 mg),产率 86%。

1.2.7 化合物 A7 将 186 mg(0.5 mmol)化合物 A6 和 20 mL 干燥氯仿加入 100 mL 圆底烧瓶中,加热(40 °C)溶解完全。冷却至室温,在冰浴中搅拌 0.5 h 后缓慢加入 10 mL 含间氯过氧苯甲酸钠(*m*-CPBA,体积分数 75%)的氯仿溶液,−18 °C 下搅拌反应 25 h 后,TLC 检测反应完全^[18]。边搅拌边向反应液中缓慢加入 20 mL 体积分数 5% 的 Na_2CO_3 溶液,氯仿萃取(30 mL $\times$ 3),合并有机相,无水 Na_2SO_4 干燥,过滤,减压浓缩有机相得粗产物。硅胶柱层析($V_{\text{氯仿}}:V_{\text{甲醇}}=10:1$)分离纯化得白色粉末即化合物 A7(165 mg),产率 80%。

1.2.8 化合物 A8 依次将 185 mg(0.5 mmol)化合物 A6 和 40 mL 干燥氯仿加入 100 mL 圆底烧瓶中,超声并加热溶解完全。冷却至室温后,加入 2 mL CH_3I ,室温下搅拌,溶液中缓慢出现白色不溶物,每隔 24 h 抽滤不溶物同时补加 1 mL CH_3I ,TLC 检测反应完全^[19-20]。减压抽滤,用无水乙醇冲洗(15 mL $\times$ 2),烘干后得白色粉末即化合物 A8(165 mg),产率 80%。

1.2.9 化合物 A9 向 100 mL 圆底烧瓶中加入 37 mg(0.1 mmol)化合物 A6 和 10 mL 干燥的 THF,室温搅拌下,加入约 5 mg 体积分数 65% 的 NaH,至不再产生气泡。5 min 后向反应瓶中缓慢加入 2 mL CH_3I ,常温搅拌反应 20 h 后 TLC 检测反应完全,用约 3 mL 甲醇淬灭反应。溶液加压浓缩至干后加入 10 mL CH_2Cl_2 溶解,再加入 10 mL 水,用氯仿萃取(10 mL $\times$ 3),合并有机相,用适量无水 Na_2SO_4 干燥,硅胶柱层析($V_{\text{氯仿}}:V_{\text{甲醇}}=10:1$)分离纯化得无色晶体即化合物 A9(28 mg),产率 78%。

1.2.10 化合物 A10 依次将 186 mg(0.5 mmol)化合物 A6 和 15 mL 干燥 THF 加入 100 mL 圆底烧瓶中,完全溶解后,搅拌下分批加入 0.2 g 体积分数 65% 的 NaH。80 °C 加热回流 1 h 后,得白色悬浮

溶液,降温至 40 °C。将 2 mL 干燥碘甲烷缓慢滴加入上述反应液中,8 h 后 TLC 检测原料反应完全。加入 10 mL 甲醇淬灭反应,减压蒸干溶剂,加入约 40 mL 水和 40 mL 二氯甲烷搅拌溶解,静置分液。水相用二氯甲烷萃取(20 mL $\times$ 2),合并有机相,饱和食盐水洗 2 次,无水 Na_2SO_4 干燥,硅胶柱层析($V_{\text{二氯甲烷}}:V_{\text{甲醇}}=8:1$)分离纯化得白色粉末即化合物 A10(140 mg),产率 78%。

1.2.11 化合物 A11 依次将 100 mg(0.27 mmol)化合物 A6 和 7 mL 干燥 CH_2Cl_2 加入 50 mL 圆底烧瓶中,缓慢滴加 4 mL 乙酰氯(CH_3COCl),室温反应 16 h,TLC 检测反应完全。加入 10 mL H_2O 水解多余的乙酰氯,饱和 NaHCO_3 溶液调节 pH 至中性,补加 15 mL 水和 15 mL 二氯甲烷,静置分液。水相用二氯甲烷萃取(15 mL $\times$ 2),合并有机相,饱和食盐水洗 2 次,无水 Na_2SO_4 干燥,蒸干溶剂得粗品^[21]。粗品用甲醇/乙醚($V_{\text{甲醇}}:V_{\text{乙醚}}=1:1$)重结晶,抽滤,减压烘干,得白色固体即化合物 A11(71 mg),产率 75%。

1.2.12 化合物 A12 依次将 186 mg(0.5 mmol)化合物 A6 和 15 mL 干燥 THF 加入 100 mL 圆底烧瓶中,搅拌下分批加入 0.2 g NaH(3 mmol),80 °C 加热回流 1 h 后,得白色悬浮溶液,冷却至室温。将 1.5 mL 干燥碘乙烷溶于 5 mL 干燥四氢呋喃中稀释后,分 3 次加入上述反应液中,24 h 后 TLC 检测原料反应完全^[22-23]。加入 10 mL 甲醇淬灭反应,减压蒸干溶剂,加入约 40 mL 水和 40 mL 二氯甲烷搅拌溶解,静置分液。水相用二氯甲烷萃取(20 mL $\times$ 2),合并有机相,饱和食盐水洗 2 次,无水 Na_2SO_4 干燥,硅胶柱层析($V_{\text{石油醚}}:V_{\text{乙酸乙酯}}=5:1$)分离纯化得白色固体即化合物 A12(130 mg),产率 70%。

1.3 化合物结构表征

采用质谱(ESI-MS)和核磁共振谱(^1H NMR、 ^{13}C NMR)等分析手段,对化合物 A1~A12 的结构进行表征。

1.4 化合物 A1~A12 生物活性的测定

1.4.1 抗菌活性 采用菌丝生长速率法^[24]测定目标化合物 A1~A12 对 6 种供试植物病原真菌的体外抑菌活性。将已准确称量的 5 mg 待测化合物完全溶于体积分数 5% DMSO 水溶液中,以噻菌酯原药和体积分数 5% 的 DMSO 水溶液作为空白对照;将 10 mL 待测液或对照溶液与 90 mL 无菌 PDA 培养基于 50 °C 左右快速混匀,得到质量浓度为 50

μg/mL 的药液;趁热倒入已灭菌的培养皿内,每皿 10 mL,冷却备用。将供试病原菌(菌饼直径 5 mm)接种到上述培养皿中,每个测试组设 3 个平行^[5],于湿度 60%、28 ℃下恒温培养 72 h,用十字交叉法测量菌落直径(mm),按下式计算菌丝生长抑制率(inhibition rate,IR):

$$IR=(d_c-d_s)/(d_c-d_0)\times 100\%$$

式中: d_c 为空白对照组菌落平均直径, d_s 为样品组菌落平均直径, d_0 为菌饼直径(5 mm),。

1.4.2 杀螨活性 用昆虫分离针挑取大小均一、活力较强的成年体兔痒螨作为受试对象^[25]。分别称取待测样品 A1~A12 5.0 mg,用 0.1 mL DMSO 超声溶解,加入 0.1 mL 吐温-80、0.8 mL 质量分数 0.9%的生理盐水,超声振荡下溶解均匀,配制得到浓度为 5 mg/mL 的供试药液。空白对照组 CK 为

0.5 mL DMSO、0.5 mL 的吐温-80 和 4.0 mL 的质量分数 0.9%生理盐水的混合液。在 48 孔细胞培养板的每孔中各加入 0.2 mL 供试药液和 20 只兔痒螨,每种药液设 3 组重复^[26-28]。将培养板置于饱和湿度为 22 ℃的培养箱内,24 h 后检查结果,用昆虫分离针刺激所有不活动的兔痒螨,没有反应则表示死亡。以空白对照组 CK 为参照计算致死率:

致死率=死亡螨虫数/供试螨虫数×100%。

校正致死率=(药液组致死率-对照组致死率)/(1-对照组致死率)×100%。

2 结果与分析

2.1 目标化合物的基本性质

目标化合物 A1~A12 的理化性质及 ESI-MS 数据见表 1,¹H NMR(δ)及¹³C NMR(δ)数据见表 2。

表 1 12 种化合物的理化性质及 ESI-MS 数据

Table 1 Physico-chemical properties and ESI-MS data of the target 12 compounds				
化合物 Compound	物态 State	产率/% Yield	熔点/℃ Melting point	质谱(m/z) ESI-MS
A1	淡黄色粉末 Pale yellow powder	86	151~152	352.2 [M] ⁺
A2	白色粉末 White powder	27	181~182	450.1 [M+H] ⁺
A3	浅黄色晶体 Pale yellow crystal	38	202~203	415.2 [M+H] ⁺
A4	无色晶体 Colorless crystal	52	88~89	384.1 [M+H] ⁺
A5	白色粉末 White powder	89	140~141	386.0 [M+H] ⁺
A6	无色晶体 Colorless crystal	86	160~161	372.1 [M+H] ⁺
A7	白色粉末 White powder	80	138~139	388.0 [M+H] ⁺
A8	白色粉末 White powder	80	138~139	386.1 [M] ⁺
A9	无色晶体 Colorless crystal	78	164~165	386.0 [M+H] ⁺
A10	白色粉末 White powder	78	210~211	386.1 [M] ⁺
A11	白色固体 White solid	75	300~303	354.2 [M] ⁺
A12	白色固体 White solid	70	264~265	400.6 [M+H] ⁺

表 2 12 种目标化合物的¹H NMR(δ)及¹³C NMR(δ)数据

Table 2 ¹ H NMR(δ) and ¹³ C NMR(δ) data of the target 12 compounds		
化合物 Compound	¹ H NMR(δ) (CDCl ₃ /CD ₃ OD, 500 MHz, TMS)	¹³ C NMR(δ) (CDCl ₃ /DMSO- <i>d</i> ₆ , 125 MHz, TMS)
A1	7.53(s, 1H, H-13), 7.47(s, 1H, H-1), 7.31(d, <i>J</i> = 8.3 Hz, 1H, H-12), 7.19(d, <i>J</i> = 8.3 Hz, 1H, H-11), 6.84(s, 1H, H-4), 6.06(s, 2H, -OCH ₂ O-), 5.16(d, <i>J</i> = 14.7 Hz, 1H, H-8), 4.84(d, <i>J</i> = 14.7 Hz, 1H, H-8'), 4.22(m, <i>J</i> = 11.5 Hz, 1H, H-6), 4.04(m, <i>J</i> = 11.5 Hz, 1H, H-6'), 3.96(s, 6H, 2×-OCH ₃), 3.54(m, <i>J</i> = 13.6 Hz, 1H, H-5), 3.21(m, 1H, H-5'), 3.16(s, 3H, N-CH ₃)	154.4(C-9), 149.6(C-3), 148.6(C-10), 146.0(C-2), 135.2(C-14), 125.7(C-4a), 123.8(C-12a), 121.7(C-14a), 118.4(C-8a), 118.2(C-12), 115.4(C-13), 113.2(C-4), 108.0(C-1), 103.0(C-11), 102.1(-OCH ₂ O-), 61.3(-OCH ₃), 60.8(-OCH ₃), 60.4(C-6), 55.2(C-8), 44.6(N-CH ₃), 23.8(C-5)
A2	7.42(s, 1H, H-11), 7.23(s, 1H, H-1), 6.85(s, 1H, H-4), 6.07(s, 2H, -OCH ₂ O-), 4.70(s, 2H, H-13), 4.07(m, 1H, H-8), 3.94(s, 3H, -OCH ₃), 3.92(s, 3H, -OCH ₃), 3.80(m, 1H, H-8'), 3.44(m, 2H, H-6), 3.19(s, 2H, H-5), 3.04(s, 3H, N-CH ₃)	190.7(C=O), 151.8(C-3), 149.3(C-10), 148.1(C-9), 144.9(C-2), 124.9(C-4a), 124.2(C-12a), 122.0(C-14a), 121.1(C-8a), 118.4(C-12), 117.0(C-11), 108.1(C-1), 105.4(C-4), 102.0(-OCH ₂ O-), 59.8(-OCH ₃), 56.1(C-6), 55.4(-OCH ₃), 54.0(C-8), 41.5(N-CH ₃), 36.9(C-13), 23.4(C-5)
A3	7.47(s, 1H, H-11), 7.04(s, 1H, H-1), 6.66(s, 1H, H-4), 5.97(s, 2H, -OCH ₂ O-), 4.15(s, 2H, H-13), 3.94(s, 3H, -OCH ₃), 3.87(s, 3H, -OCH ₃), 3.81(m, 2H, H-8), 3.41(m, 1H, H-6), 2.89(m, 1H, H-6'), 2.60(m, 1H, H-5), 2.36(m, 1H, H-5'), 1.80(s, 3H, N-CH ₃)	190.2(C-14), 151.1(C-12), 151.1(C-3), 148.5(C-9), 147.0(C-10), 146.5(C-2), 135.3(C-4a), 132.5(C-14a), 131.1(C-12a), 124.6(C-8a), 110.4(C-1), 110.2(C-4), 107.7(C-11), 101.3(-OCH ₂ O-), 60.9(-OCH ₃), 57.4(-OCH ₃), 56.1(C-6), 49.6(C-8), 41.1(N-CH ₃), 40.3(C-13), 32.7(C-5)

表 2(续) Continued table 2

化合物 Compound	¹ H NMR(δ) (CDCl ₃ /CD ₃ OD,500 MHz,TMS)	¹³ C NMR(δ) (CDCl ₃ /DMSO- <i>d</i> ₆ ,125 MHz,TMS)
A4	7.69(d, <i>J</i> =8.6 Hz,1H,H-12),7.41(s,1H,H-1),6.94(d, <i>J</i> =8.6 Hz,1H,H-11),6.68(s,1H,H-4),5.99(s,2H,—OCH ₂ O—),3.94(s,3H,—OCH ₃),3.83(s,3H,—OCH ₃),3.07(m,2H,H-8),2.48(m,2H,H-6),1.94(s,3H,N—CH ₃),1.91(s,2H,H-5)	191.5(2×C=O),156.2(C-3),148.5(C-10),146.0(C-9),145.6(C-2),131.9(C-4a),130.7(C-12a),127.0(C-14a),126.6(C-8a),111.5(C-12),110.8(C-1),109.3(C-4),109.3(C-11),101.2(—OCH ₂ O—),64.2(C-6),60.8(—OCH ₃),55.9(—OCH ₃),50.3(C-8),42.4(N—CH ₃),28.8(C-5)
	7.42(d, <i>J</i> =8.5 Hz,1H,H-12),7.23(d, <i>J</i> =8.5 Hz,1H,H-11),7.03(s,1H,H-1),6.84(s,1H,H-4),6.03(d, <i>J</i> =11.3 Hz,2H,—OCH ₂ O—),4.98(d, <i>J</i> =13.4 Hz,1H,H-8),4.93(m,1H,H-13),4.90~4.76(m,1H,H-13'),4.69(s, <i>J</i> =13.4 Hz,1H,H-8'),4.12(s,1H,H-5),3.91(d, <i>J</i> =10.0 Hz,6H,2×—OCH ₃),3.48(s,1H,H-5'),3.37~3.33(m,1H,H-6),3.08(s,3H,—NCH ₃),2.86(s,1H,H-6')	201.2(C-14),151.7(C-3),151.0(C-2),149.0(C-9),147.4(C-10),133.6(C-4a),130.5(C-14a),129.2(C-12a),127.8(C-12),127.4(C-8a),122.3(C-1),114.5(C-11),109.5(C-4),102.2(—OCH ₂ O—),64.5(C-6),60.6(C-8),59.9(—OCH ₃),56.1(—NCH ₃),55.0(—OCH ₃),41.7(C-13),29.8(C-5)
A5	7.09(s,1H,H-1),6.96(d, <i>J</i> =8.1 Hz,1H,H-12),6.75(d, <i>J</i> =8.1 Hz,1H,H-11),6.60(s,1H,H-4),5.92(s,2H,—OCH ₂ O—),5.32(s,1H,H-14),4.03(d, <i>J</i> =13.3 Hz,1H,H-8),3.84(s,3H,—OCH ₃),3.77(s,3H,—OCH ₃),3.62(d, <i>J</i> =13.3 Hz,1H,H-8'),3.44(d, <i>J</i> =10.6 Hz,1H,H-13),2.95(t,1H,H-5),2.83(d, <i>J</i> =12.4 Hz,1H,H-6),2.67(dd, <i>J</i> =10.6,7.7 Hz,1H,H-13'),2.62~2.55(m,1H,H-5'),2.48(s,1H,H-6'),2.09(s,3H,—NCH ₃)	151.4(C-9),147.8(C-3),146.3(C-10),146.1(C-2),139.4(C-12a),132.5(C-4a),131.8(C-14a),131.6(C-8a),126.5(C-12),110.5(C-11),110.0(C-4),105.7(C-1),100.8(—OCH ₂ O—),71.11(C-14),60.8(—OCH ₃),59.9(C-6),55.7(—OCH ₃),52.3(C-8),47.1(C-13),42.2(—NCH ₃),33.5(C-5)
	7.50(d, <i>J</i> =8.0 Hz,1H,H-12),7.23(d, <i>J</i> =8.0 Hz,1H,H-11),7.14(s,1H,H-1),6.63(s,1H,H-4),5.92(s,2H,—OCH ₂ O—),4.89(s,1H,H-13),4.81(d, <i>J</i> =13.5 Hz,1H,H-8),4.62(d, <i>J</i> =13.5 Hz,1H,H-8'),3.91(s,6H,2×—OCH ₃),3.91~3.73(m,1H,H-13'),3.48(s,1H,H-5),3.19(s,3H,—NCH ₃),3.07(m,2H,H-5',6),2.45(s,1H,H-6')	151.3(C-9),146.7(C-3),146.8(C-10),146.2(C-2),136.5(C-4a),131.5(C-14a),132.6(C-12a),132.6(C-8a),125.8(C-12),110.4(C-11),109.9(C-4),105.1(C-1),100.8(—OCH ₂ O—),81.1(C-14),60.63(C-16),58.9(—OCH ₃),54.8(—OCH ₃),52.0(C-8),45.7(C-13),41.4(—NCH ₃),32.1(C-5)
A6	7.46(d, <i>J</i> =7.5 Hz,1H,H-12),7.31(d, <i>J</i> =7.5 Hz,1H,H-11),7.12(s,1H,H-1),6.70(s,1H,H-4),5.98(d, <i>J</i> =6.4 Hz,2H,—OCH ₂ O—),5.85(s,1H,H-14),4.78(d, <i>J</i> =13.1 Hz,2H,H-8,13),4.49(d, <i>J</i> =13.1 Hz,1H,H-8'),3.85(s,3H,—OCH ₃),3.82(s,3H,—OCH ₃),3.62(s,2H,H-13',5),3.36(s,3H,—NCH ₃),3.22~3.07(m,1H,H-5'),3.00(d, <i>J</i> =4.4 Hz,1H,H-6),2.97(s,3H,—NCH ₃),2.50(s,1H,H-6')	151.4(C-9),147.6(C-3),145.8(C-10),146.7(C-2),138.2(C-4a),132.5(C-12a),131.8(C-14a),131.5(C-8a),126.7(C-12),111.2(C-4),108.9(C-1),104.8(C-11),101.7(—OCH ₂ O—),79.1(C-14),64.1(9—OCH ₃),59.9(C-6),59.1(10—OCH ₃),52.1(C-14),43.8(N—CH ₃),41.1(N—CH ₃),30.3(C-13),29.1(C-5)
	6.99(s,1H,H-1),6.94(d, <i>J</i> =8.2 Hz,1H,H-12),6.72(d, <i>J</i> =8.2 Hz,1H,H-11),6.62(s,1H,H-4),5.93(d, <i>J</i> =6.3 Hz,2H,—OCH ₂ O—),4.84(d, <i>J</i> =7.3 Hz,1H,H-14),4.06(d, <i>J</i> =14.6 Hz,1H,H-8),3.84(s,3H,—OCH ₃),3.77(s,3H,—OCH ₃),3.63(d, <i>J</i> =14.6 Hz,1H,H-8'),3.37(d, <i>J</i> =10.6 Hz,1H,H-13),3.07(s, <i>J</i> =9.3 Hz,3H,16—OCH ₃),3.04(d, <i>J</i> =10.6 Hz,1H,H-13'),2.79(d, <i>J</i> =12.5 Hz,1H,H-5),2.72(m,1H,H-6),2.53(t, <i>J</i> =12.5 Hz,1H,H-5'),2.42(d, <i>J</i> =14.5 Hz,1H,H-6'),2.06(s,3H,—NCH ₃)	151.2(C-9),147.7(C-3),146.5(C-10),146.2(C-2),137.2(C-4a),133.3(C-14a),132.6(C-12a),132.6(C-8a),126.9(C-12),110.1(C-11),109.9(C-4),105.3(C-1),100.8(—OCH ₂ O—),80.0(C-14),60.63(C-16),59.8(—OCH ₃),56.8(—OCH ₃),55.6(—OCH ₃),52.0(C-8),45.7(C-13),42.4(—NCH ₃),33.0(C-5)
A7	7.31(d, <i>J</i> =8.6 Hz,1H,H-12),7.14(d, <i>J</i> =8.5 Hz,1H,H-11),6.94(s,1H,H-1),6.89(s,1H,H-4),5.96(d, <i>J</i> =5.0 Hz,2H,—OCH ₂ O—),4.88(s,1H,H-14),4.74(s,2H,H-8),4.45(s,1H,H-6),3.96(s,3H,—OCH ₃),3.95(s,3H,—OCH ₃),3.90(d, <i>J</i> =1.6 Hz,1H,H-6),3.79(s,3H,14—OCH ₃),3.53(d, <i>J</i> =5.4 Hz,2H,H-6',H-13),3.40(d, <i>J</i> =15.9 Hz,3H,N—CH ₃),3.32(s,3H,N—CH ₃),3.27(s,1H,H-13'),3.17(s,1H,H-5),3.06(s,1H,H-5')	151.04(C-9),147.51(C-3),146.41(C-10),146.07(C-2),138.02(C-4a),133.05(C-12a),132.85(C-14a),131.5(C-8a),127.1(C-12),110.1(C-4),109.8(C-1),105.6(C-11),100.7(—OCH ₂ O—),78.04(C-14),64.01(9—OCH ₃),60.7(C-6),59.66(10—OCH ₃),55.59(14—OCH ₃),52.1(C-8),45.5(N—CH ₃),42.2(N—CH ₃),33.3(C-13),29.7(C-5)
	7.18(d, <i>J</i> =8.5 Hz,1H,H-12),7.15(d, <i>J</i> =8.6 Hz,1H,H-11),7.03(s,1H,H-1),6.84(s,1H,H-4),6.03(s,2H,—OCH ₂ O—),4.90(m,1H,H-8),4.69(d, <i>J</i> =15.9 Hz,1H,H-8'),4.05~3.96(m,2H,H-6),3.93(d, <i>J</i> =8.6 Hz,6H,2×—OCH ₃),3.36(d, <i>J</i> =18.6 Hz,2H,H-13),3.13~3.07(m,2H,H-5),2.97(s,3H,—NCH ₃)	151.3(C-9),148.4(C-3),148.0(C-10),145.5(C-2),124.2(C-12a),123.8(C-4a),122.7(C-14a),122.3(C-8a),119.9(C-12),113.4(C-11),108.1(C-4),105.3(C-1),101.7(C-15),66.1(C-14),61.5(C-8),61.4(—OCH ₃),59.6(C-6),55.1(—OCH ₃),38.0(—NCH ₃),28.2(C-13),23.4(C-5)
A8	7.09(s,1H,H-1),7.01(d, <i>J</i> =8.3 Hz,1H,H-12),6.76(d, <i>J</i> =8.3 Hz,1H,H-11),6.64(s,1H,H-4),5.97(dd, <i>J</i> =6.5,1.5 Hz,2H,—OCH ₂ O—),5.00(d, <i>J</i> =7.4 Hz,1H,H-14),4.08(d, <i>J</i> =14.5 Hz,1H,H-8),3.89(s,3H,—OCH ₃),3.81(s,3H,—OCH ₃),3.66(d, <i>J</i> =14.5 Hz,1H,H-8'),3.36~3.26(m,2H,14—OCH ₂ —),3.26~3.17(m,1H,H-13),3.03(d, <i>J</i> =12.7 Hz,1H,H-13'),2.87~2.76(m,2H,H-6),2.56(m,1H,H-5'),2.46(m,1H,H-5'),2.13(s,3H,N—CH ₃),1.11(t, <i>J</i> =7.0 Hz,3H,—CH ₃)	151.0(C-9),147.5(C-3),146.4(C-10),146.1(C-2),138.0(C-4a),133.0(C-12a),132.8(C-14a),131.5(C-8a),127.1(C-12),110.1(C-4),109.8(C-1),105.5(C-11),100.7(—OCH ₂ O—),78.0(C-14),64.0(9—OCH ₃),60.7(10—OCH ₃),59.6(C-6),55.6(14—OCH ₂ —),52.1(C-8),45.5(C-13),42.2(N—CH ₃),33.3(C-5),15.43(—CH ₃)
A9		
A10		
A11		
A12		

2.2 目标化合物的抗菌活性及构效分析

12 种目标化合物(50 μg/mL)对 6 种植物病原菌的体外抑制活性测定结果见表 3。表 3 显示,绝大多数化合物均表现出程度不一的抑菌活性;且对番茄早疫病菌的抑制率明显高于其他病原菌,但抑菌效果都不如药物对照噁菌酯。对比发现,化合物 A2、A6 和 A11 对 6 种供试病原菌的抑制率均比原药别隐品碱有较大提高。这可能是因为,化合物 A2

是在原药别隐品碱的 12-位碳引入卤族元素 Br 的产物,有效提高了化合物的抑菌活性;化合物 A6 是将原药的 14-位羰基还原为羟基,化合物的抑菌活性也得到提高;化合物 A11 形成了哌啶环,增加了氢键配体,同时其空间位阻减小,化合物的抑菌活性得到提高。化合物 A11 对苹果腐烂病菌的抑菌活性最高,抑制率达 73.28%,且其比化合物 A6 和 A2 对 6 种供试病原菌的体外抑制活性更具有广谱性。

Table 3 Antigungal activity of the target compounds against six plant pathogenic fungus							%
化合物 Compound	苹果腐烂病菌 <i>Valsa mali</i>	番茄早疫病菌 <i>Alternaria solani</i>	小麦赤霉病菌 <i>Fusarium graminearum</i>	玉米弯孢病菌 <i>Curcularia lunata</i>	马铃薯干腐病菌 <i>Fusarium solani</i>	水稻稻瘟病菌 <i>Pyricularia oryza</i>	
别隐品碱原药 A Allocrypto pine	—	9.30±0.82	—	—	5.09±2.38	—	
A1	9.22±0.79	9.64±0.98	29.37±8.05	30.35±0.08	7.64±1.42	—	
A2	22.60±1.21	15.88±1.42	22.74±1.70	35.35±1.75	28.57±1.56	5.44±1.19	
A3	—	30.42±5.08	—	11.92±1.23	17.85±0.57	—	
A4	—	31.08±2.76	10.62±1.61	7.05±7.19	19.37±4.23	10.87±0.98	
A5	—	14.62±1.01	—	11.21±0.82	—	—	
A6	9.90±1.30	41.52±1.01	10.06±1.67	28.71±1.65	16.27±2.13	13.50±2.15	
A7	—	9.36±2.03	—	—	—	8.03±1.86	
A8	—	6.43±1.01	10.73±0.90	9.87±0.82	—	—	
A9	—	6.89±1.11	—	10.98±1.98	—	9.54±1.34	
A10	—	7.18±2.75	17.55±2.22	—	—	13.56±2.08	
A11	73.28±1.24	26.94±3.93	34.85±0.53	26.37±2.29	33.18±1.29	11.55±0.99	
A12	—	24.34±1.86	—	—	18.31±2.16	8.29±2.57	
噁菌酯(CK) Azoxystrobin	31.3±0.70	100.0±0.00	51.6±0.97	28.9±0.00	48.1±1.58	32.1±0.09	

注:表中“—”表示无活性。
Note: The “—” denotes that it is inactive.

2.3 目标化合物的杀螨活性

采用浸虫法测定别隐品碱原药及目标化合物的杀螨活性,结果见表 4。由表 4 可以看出,在质量浓度为 5 mg/mL 时,别隐品碱及其修饰物大多都对兔痒螨有一定的杀灭活性。其中以化合物 A11 对兔痒螨的杀灭活性最好,致死率和校正致死率分别为 61.55% 和 58.2%。与原药相比,化合物 A6 对兔痒螨的致死率从 30.42% 提高至 40.30%,可见在

别隐品碱 14-位引入羟基有利于提高杀螨活性。
化合物 A5 比原药对兔痒螨的杀灭活性降低(表 4),说明氧化 7-位的氮原子不能提高化合物的杀螨活性。与化合物 A6 相比,化合物 A7 的杀螨活性相对较差,说明 N 被氧化的别隐品碱类化合物对螨虫的杀灭活性没有提高。与化合物 A6 相比,化合物 A8 的杀螨活性稍微降低,说明在 N 上多引入 1 个甲基不能提高此类化合物的杀螨活性。

Table 4 Caricidal activity of the target compounds against <i>Psoroptes cuniculi</i>						%
化合物 Compound	致死率 Average fatality rate	校正致死率 Correction fatality rate	化合物 Compound	致死率 Average fatality rate	校正致死率 Correction fatality rate	
别隐品碱原药 A Allocrypto pine	30.42±3.84	26.2	A7	26.89±2.40	20.6	
A1	47.37±2.35	43.6	A8	35.78±3.27	30.2	
A2	31.80±3.21	25.9	A9	44.00±3.46	39.2	
A3	31.52±4.88	25.6	A10	15.69±3.03	9.7	
A4	25.77±9.51	19.4	A11	61.55±4.85	58.2	
A5	16.21±3.35	9.0	A12	33.80±5.87	29.1	
A6	40.30±2.29	35.1	空白对照(CK) Blank control	6.67±7.64	0.0	

3 结 论

本研究发现,别隐品碱类修饰化合物大多表现出中低程度的杀菌和杀虫活性;其中化合物 A1 的抑制活性有较明显提高。与别隐品碱原药相比,化合物 A2 对苹果腐烂病菌、玉米弯孢病菌和马铃薯干腐病菌的抑菌活性都有所提高,可见苯环上的 H 被 Br 取代后,抑菌活性提高。在别隐品碱的 14-位引入羟基有利于提高其杀螨活性,由此可知 14-位羰基是别隐品碱的活性位点,将其还原成羟基后可以提高抗真菌活性和杀螨活性,还可拓宽其抗菌谱。

[参考文献]

- [1] 崔文博,钱金楸. 普罗托品的研究进展 [J]. 医学综述,2012,18(14):2260-2262.
Cui W B, Qian J F. Research progress of protopine [J]. Medical Recapitulate, 2012, 18(14): 2260-2262.
- [2] Sener B, Orhan I. Discovery of drug candidates from some turkish plants and conservation of biodiversity [J]. Pure and Applied Chemistry, 2005, 77(1): 53-64.
- [3] 肖 俐,曾建国,刘 林,等. 别隐品碱抗肝纤维化作用 [J]. 中草药,2011,42(6):1158-1163.
Xiao L, Zeng J G, Liu L, et al. Effect of allocryptopine on antagonizing hepatic fibrosis [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2011, 42(6): 1158-1163.
- [4] Newman D J, Cragg G M. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years [J]. Nat Prod, 2007, 70: 461-477.
- [5] 胡海军,李晓惠,李福华,等. 小果博落回总生物碱的抑菌活性研究 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2009,37(4):208-212.
Hu H J, Li X H, Li F H, et al. Antibacterial activity of the total alkaloids from *Macleaya microcarpa* [J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2009, 37(4): 208-212.
- [6] 黄 敬,曾建国,罗卫梅,等. HPLC 法同时测定博落回不同部位原阿片碱、别隐品碱的含量 [J]. 湖南中医药大学学报,2010,30(1):41-42.
Huang J, Zeng J G, Luo W M, et al. Determination of protopine and allocryptopine in different parts of *Macleaya cordata* (Willd.) R. Br by HPLC [J]. Journal of Hunan University of Chinese Medicine, 2010, 30(1): 41-42.
- [7] 刘朝亮,程轩轩,王冬梅,等. 原阿片碱和别隐品碱对 DNA 拓扑异构酶 I 的抑制活性 [J]. 时珍国医国药,2010,21(9):2376-2377.
Liu C L, Cheng X X, Wang D M, et al. The inhibitory activity of protopine and allocryptopine on the DNA topoisomeric I [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2010, 21(9): 2376-2377.
- [8] Iwasa K, Moriyasu M, Yamori T, et al. *In vitro* cytotoxicity of the protoberberine-type alkaloids [J]. Journal of Natural Prod-

ucts, 2001, 64(7): 896-898.

- [9] 王 欣. 博落回生物碱成分的研究 [D]. 陕西杨凌:西北农林科技大学,2005.
Wang X. Study on the alkaloids from *Macleaya cordata* [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2005.
- [10] Maria V, Amelia D, Rafael S, et al. From berbines to protopines: regiocontrolled hofmann elimination/hydroboration/oxidation of N-substituted berbinium salts [J]. European Journal of Organic Chemistry, 2006(4): 964-971.
- [11] Bosch D, Kettenes V J, Saleminck C, et al. Biological activity of the alkaloids of *Papaver bracteatum* Lindl [J]. Journal of Ethnopharmacology, 1981, 3(1): 21-38.
- [12] Bringmann G, Zhang G, Hager A, et al. Anti-tumoral activities of dioncoquinones B and C and related naphthoquinones gained from total synthesis or isolation from plants [J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2011, 46(12): 5778-5789.
- [13] 秦玉燕. 普罗托品类化合物的结构修饰及杀螨构效关系研究 [D]. 陕西杨凌:西北农林科技大学,2013.
Qin Y Y. Structure-acaricidal activity relationship of protopines and their direviatives [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2013.
- [14] 孙文文. 三种普罗托品化合物的结构修饰、生物活性及其构效关系 [D]. 陕西杨凌:西北农林科技大学,2014.
Sun W W. Biological-antifungal activity relationship of three protopines and their direviatives [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2014.
- [15] Davies S G, Goodfellow C L, Peach J M, et al. Stereoselective and regioselective functionalisation of protopine alkaloids; the synthesis of 1-substituted O-methyldihydrocryptopines [J]. Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1, 1991, 1(5): 1019-1025.
- [16] Yasuhiro W, Harumi K, Shiho U, et al. On the synthesis of protopine alkaloids [J]. The Journal of Organic Chemistry, 2007, 72: 7301-7306.
- [17] Jeffs P W, Scharver J D. Biosynthesis of ophiocarpine, introduction of a stereospecific label through transannular cyclization [J]. Journal of the American Chemical Society, 1976, 98(14): 4301-4310.
- [18] Dostál J, Man S, Seckárová P, et al. Berberine and coptisine free bases [J]. Journal of Molecular Structure, 2004, 687(1): 135-142.
- [19] Saeed S A, Gilani A H, Majoo R U, et al. Antithrombotic and anti-inflammatory effects of protopine [J]. Pharmacological Research, 1997, 36(1): 1-7.
- [20] Huang Y J, Xiao S, Sun Z L, et al. Identification of allocryptopine and protopine metabolites in rat liver S9 by high-performance liquid chromatography/quadrupole time of flight mass spectrometry [J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2016, 30(13): 1549-1559.
- [21] Jan V, Daniela W, Eva V, et al. The chemical and biological properties of protopine and allocryptopine [J]. Heterocycles,

2010,81(8):1773-1789.

[22] Rath A, Srivastava A K, Shirwaikar A, et al. Hepatoprotective potential of *Fumaria indica* Pugsley whole plant extracts, fractions and an isolated alkaloid protopine [J]. *Phyto-medicine*, 2008, 15(6): 470-477.

[23] Turabekova M A, Vinogradova V I, Rasulev B F, et al. Antiparasitic activity of certain isoquinoline alkaloids and their hypothetical complexes with oligonucleotides [J]. *Chemistry of Natural Compounds*, 2008, 44(3): 341-345.

[24] Maria V, Amelia D, Gregorio T, et al. From protopines to berbines: synthesis of 1-methoxystylophine and its N-metho salts from coulteropine [J]. *Tetrahedron*, 2002, 58(25): 5053-5059.

[25] 陈新华, 邓业成, 朱燕红. 46 种植物提取物对柑橘红蜘蛛的杀螨活性 [J]. *广西师范大学学报(自然科学版)*, 2006, 24(1): 94-97.

Chen X H, Deng Y C, Zhu Y H. The effect of 46 plant extracts on the killing of citrus red spider [J]. *Journal of Guangxi Normal University(Natural Science Edition)*, 2006, 24(1): 94-97.

[26] 黄素青, 徐汉虹, 曾东强, 等. 农田害螨的几种生物测定方法 [J]. *植物保护*, 2005, 31(1): 79-81.

Huang S Q, Xu H H, Zeng D Q, et al. Methods of biological determination of mite in farmland [J]. *Plant Protection*, 2005, 31(1): 79-81.

[27] 毛 鹏. 博落回生物碱成分及杀螨活性研究 [D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2004.

Mao P. Study on the alkaloids and anti-acarid components of *Macleaya cordata* [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2004.

[28] Paul M W, John H V, Gary A. Protopine alkaloids in horse urine [J]. *Journal of Chromatography B*, 2004, 811(1): 85-91.