

· 研究简报 ·

菲并吡啶里西啉生物碱及其盐衍生物 的生物活性研究

王开亮, 吴 萌, 刘智慧, 苏 波, 李 玲,
刘玉秀, 黄润秋, 刘 育, 汪清民*

(南开大学 元素有机化学国家重点实验室/元素有机化学研究所, 天津 300071)

摘 要: 分别采用菌丝生长速率法和盆栽法, 测定了一系列菲并吡啶里西啉生物碱及其盐衍生物的杀菌及除草活性。结果表明: 该类生物碱及其盐衍生物表现出了很好的杀菌活性, 尤其是生物碱安托芬 [$(\pm)$ -antofine] (2) 和脱氧娃儿藤宁碱 [$(\pm)$ -deoxytylophorinine] (3) 在 50 $\mu\text{g/mL}$ 下, 对番茄早疫 *Alternaria solani*、花生褐斑 *Cercospora arachidicola*、苹果轮纹 *Physalospora piricola* 和黄瓜枯萎 *Cladosporium cucumerium* 4 种菌体的抑制率达 70% ~ 100%; 但未表现出明显的除草活性。

关键词: 菲并吡啶里西啉生物碱; 盐衍生物; 杀菌活性

DOI: 10.3969/j.issn.1008-7303.2010.04.23

中图分类号: O625.15; S482.2

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2010)04-0507-04

Bioactivity of phenanthroindolizidine alkaloids and their salt derivatives

WANG Kai-liang, WU Meng, LIU Zhi-hui, SU Bo, LI Ling, LIU Yu-xiu,
HUANG Run-qiu, LIU Yu, WANG Qing-min*

(State Key Laboratory of Elemento-Organic Chemistry/Institute of Elemento-organic Chemistry,
Nankai University, Tianjin 300071, China)

Abstract: Fungicidal and herbicidal activity of a series of phenanthroindolizidine alkaloid and its salt derivatives were determined by mycelial growth method and pot experiment. The results showed that the alkaloid and derivatives have good fungicidal activity, especially $(\pm)$ -antofine (2) and $(\pm)$ -deoxytylophorinine (3), which showed 70% - 100% inhibition rate against *Alternaria solani*, *Cercospora arachidicola*, *Physalospora piricola* and *Cladosporium cucumerium* at 50 $\mu\text{g/mL}$; however, the alkaloid and derivatives showed no herbicidal activity.

Key words: phenanthroindolizidine alkaloids; salt derivatives; fungicidal activity

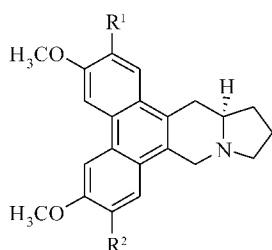
自 1935 年第一个菲并吡啶里西啉生物碱-娃儿藤碱 [$R-(-)$ -tylophorine] (1) 被分离并确定结构以来^[1], 由于该类生物碱具有独特的生物活性^[2], 如抗肿瘤^[3-4]、消炎^[7-8]等, 而引起了植物学家、化学家

和药学家的广泛关注。迄今研究最多的典型菲并吡啶里西啉生物碱除娃儿藤碱(1)以外, 还有安托芬 [$R-(-)$ -antofine] (2) 和脱氧娃儿藤宁碱 [$R-(-)$ -deoxytylophorinine] (3) (Scheme 1)。

收稿日期: 2010-07-23; 修回日期: 2010-09-26.

作者简介: 王开亮(1979-), 男, 山东淄博人, 博士后, 主要从事天然源农药创制研究, E-mail: klwang1979@sina.com; * 通讯作者(Author for correspondence): 汪清民(1970-), 男, 甘肃民勤人, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事天然源农药和绿色化学农药创制研究, 电话: 022-23499842, E-mail: wangqm@nankai.edu.cn

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973计划)项目(2010CB126106); 国家自然科学基金(20872072); 中国博士后科学基金(20090460057)资助。



1: $R^1 = OCH_3$, $R^2 = OCH_3$; 2: $R^1 = OCH_3$, $R^2 = H$; 3: $R^1 = H$, $R^2 = OCH_3$

Scheme 1

在研究与开发新型、高效、低毒的抗植物病毒药物过程中,本课题组首次发现萝藦科鹅绒藤属植物牛心朴子草 *Cynanchum komarovii* Al. Iljinski 的浸取物对烟草花叶病毒(TMV)具有极高的抑制活性,进一步的室内生物活性跟踪化学分离研究表明:该草中抗TMV的活性物质为娃儿藤碱类生物碱——安托芬(antofine)。该活性物质在 $1.0 \mu\text{g/mL}$ 下对TMV的抑制率达60%,比已报道的植物病毒抑制剂的活性高1~2个数量级^[9-11]。但是,安托芬在牛

心朴子草粗提物中的质量分数仅为0.2%左右,极大地限制了其应用。本课题组设计并完成了新颖且有实用价值的制备外消旋菲并吡啶里西啶类生物碱及其衍生物的全合成路线,并利用该路线大量制备了上述3种外消旋生物碱1、2和3^[12]。

实验发现,该类生物碱在光照下不稳定,且水溶性差。为了寻求光照下稳定和水溶性好的衍生物,作者对该类生物碱进行了结构改造和修饰。以外消旋娃儿藤碱(1)为先导化合物,通过与无机酸或有机酸反应制备了一系列生物碱的盐衍生物4~19。生物测定结果表明,该系列化合物均表现出了比对照药剂宁南霉素更好的抗植物病毒活性^[13]。

有关化合物1~3及4~19的合成及结构鉴定已在前文中报道^[13],本文报道其生物活性普筛结果。

1 材料与方法

1.1 供试材料

化合物4~19中所用酸的结构及化合物的收率见表1。

表1 所用酸的结构及其目标化合物的收率

Table 1 The structures of acids and yields of title compounds

化合物 Compd.	酸 Acid	收率 Yield/%	化合物 Compd.	酸 Acid	收率 Yield/%	化合物 Compd.	酸 Acid	收率 Yield/%
4	HCl	89.2	10		91.7	15		94.7
5	HBr	86.5	11		93.3	16		92.1
6	HI	85.3	12		88.6	17		92.3
7		91.6	13		93.8	18		90.2
8		92.5	14		96.0	19		90.7
9		87.5						

1.2 生物活性测试

1.2.1 杀菌活性测试 采用菌丝生长速率法测定了供试药剂对小麦赤霉病菌 *Gibberella zeae*、番茄早疫病菌 *Alternaria solani*、花生褐斑病菌

Cercospora arachidicola、苹果轮纹病菌 *Physalospora piricola* 和黄瓜枯萎病菌 *Cladosporium cucumerium* 的杀菌活性^[14]。将供试药剂在无菌条件下用0.1%的吐温-80无菌水稀释成所需倍数,各

吸取 1 mL 药液注入培养皿内,再分别加入 9 mL PDA(马铃薯琼脂)培养基,摇匀后制成 50 μg/mL 含药平板,以添加 1 mL 灭菌水的平板作空白对照。用直径 4 mm 的打孔器沿菌丝外缘切取菌盘,移至含药平板上。每处理重复 3 次。将培养皿放在 (24 ± 1) °C 恒温培养箱内培养。72 h 后调查各处理的菌盘扩展直径,求平均值,由 (1) 式计算相对抑制率。测试质量浓度分别为 50 和 25 μg/mL。

相对抑菌率/% = (对照组菌盘扩展平均直径 - 处理组菌盘扩展平均直径) / 对照组菌盘扩展平均

直径 × 100 (1)

1.2.2 除草活性测试 采用盆栽法^[13]测试了化合物 1 ~ 19 对双子叶杂草油菜 *Brassica campestris* 和单子叶杂草稗草 *Echinochloa crus-galli* 植株生长的抑制率,测试剂量为 1.5 kg/hm²。

2 结果与讨论

2.1 目标化合物结构与杀菌活性的关系

由表 2 结果可见,安托芬(antofine) (2) 和脱氧娃儿藤宁碱(deoxytylophorinine) (3) 表现出了非常

表 2 化合物 1 ~ 19 的杀菌活性(抑制率/%)
Table 2 Fungicidal activity of the title compounds 1 ~ 19(Inhibition rate/%)

化合物 Compd.	质量浓度 Mass conc. / (μg/mL)	小麦赤霉病菌 <i>G. zeae</i>	番茄早疫病菌 <i>A. solani</i>	花生褐斑病菌 <i>C. arachidicola</i>	苹果轮纹病菌 <i>P. piricola</i>	黄瓜枯萎病菌 <i>C. cucumerium</i>
1	50	0	10	20	0	30
	25	0	0	0	0	0
2	50	50	90	100	99	70
	25	20	70	100	95	50
3	50	70	90	100	99	100
	25	30	70	100	50	70
4	50	0	60	90	40	40
	25	0	20	70	0	0
5	50	0	60	80	20	20
	25	0	20	40	10	10
6	50	0	50	80	50	50
	25	0	10	40	0	30
7	50	0	20	50	0	10
	25	0	10	20	0	10
8	50	0	40	80	20	50
	25	0	20	50	0	0
9	50	0	0	0	0	0
	25	0	0	0	0	0
10	50	0	0	30	0	20
	25	0	0	0	0	0
11	50	0	70	95	50	20
	25	0	30	70	40	10
12	50	0	50	95	60	30
	25	0	30	50	10	0
13	50	0	30	80	20	30
	25	0	10	40	20	20
14	50	0	70	95	50	20
	25	0	30	70	0	0
15	50	10	50	95	20	20
	25	0	30	30	10	10
16	50	20	60	95	20	50
	25	0	30	40	0	40
17	50	0	10	10	10	10
	25	0	0	0	0	0
18	50	0	40	70	40	40
	25	0	0	40	0	10
19	50	10	40	70	30	30
	25	0	0	20	0	20

好的杀菌活性,它们对番茄早疫、花生褐斑、苹果轮纹和黄瓜枯萎 4 种病菌的杀菌活性高于对小麦赤霉病菌的活性,50 $\mu\text{g/mL}$ 下的抑制率介于 70%~100% 之间。尤其是对于花生褐斑病菌,在 50 和 25 $\mu\text{g/mL}$ 两种质量浓度下,化合物 2 和 3 均表现出了 100% 的抑制活性。相比较而言,娃儿藤碱(1)的杀菌活性要低于 2 和 3。结合其化学结构的差别可以看出,在菲环的 2 位或 7 位少一个甲氧基,即菲环上共有 3 个甲氧基的生物碱 2 和 3 比带有 4 个甲氧基的生物碱 1 的杀菌活性更高。1 的杀菌活性相对较低的另一个原因有可能是其水溶解性差。与先导化合物 1 相比,盐衍生物除 9、10、17 未表现出明显的杀菌活性外,其余对供试 4 种病原菌都表现出了较好的杀菌活性,尤其是 4 和 11~16,其在 50 $\mu\text{g/mL}$ 下对花生褐斑病菌的抑制率在 80%~95% 之间,远高于 1 的活性。可见,通过生物碱成盐衍生化后的化合物杀菌活性比生物碱本身的活性提高很多,这为该生物碱生物活性的进一步研究奠定了基础。

2.2 除草活性

苗前与苗后除草活性测试结果表明,化合物 1~19 对油菜和稗草的抑制率均低于 30%,均未表现出明显的除草活性。

谨以此文敬贺李正名院士八十华诞!

参考文献:

- [1] RATNAGIRISWARAN A N, VENKATACHALAM K. The chemical examination of *Tylophora asthmatica* and isolation of the alkaloids tylophorine and tylophorinine [J]. *Indian J Med Res*, 1935, 22: 433 - 441.
- [2] SAIFAH E, KELLEY C J, LEARY J D. Constituents of the leaves of *Cissus rheifolia* [J]. *J Nat Prod*, 1983, 46(3): 353 - 358.
- [3] RAO K V, WILSON R A, CUMMINGS R. Alkaloids of tylophora. III. New alkaloids of *Tylophora indica* (Burm) Merrill and *Tylophora dalzellii* Hook. F. [J]. *J Pharm Sci*, 1971, 60(11): 1725 - 1726.
- [4] PETTIT G R, GOSWAMI A, CRAGG G M, et al. Antineoplastic agents, 103. The isolation and structure of hypoeestatin 1 and 2 from the east African *Hypoestes verticillaris* [J]. *J Nat Prod*, 1984, 47(6): 913 - 919.
- [5] TANNER U, WIEGREBE W. Alkaloids of *Cynanchum vincetoxicum*: efficacy against MDA-MB-231 mammary carcinoma cells [J]. *Arch Pharm (Weinheim)*, 1993, 326(2): 67 - 72.
- [6] STARK D, CHRISTENSEN J, LEMINICH E, et al. Cytotoxic activity of some phenanthroindolizidine N-oxide alkaloids from *Cynanchum vincetoxicum*. [J]. *J Nat Prod*, 2000, 63: 1584 - 1586.
- [7] DUAN Jing-yun (段泾云), YU Li-sen (于利森). 娃儿藤总碱的抗炎作用 [J]. *Chinese Herbal Medicine (中草药)*, 1991, 22(7): 316 - 318.
- [8] YANG C W, CHEN W L, WU P L, et al. Anti-inflammatory mechanisms of phenanthroindolizidine alkaloids [J]. *Mol Pharmacol*, 2006, 69(3): 749 - 758.
- [9] YAO Yu-cheng (姚宇澄), AN Tian-ying (安天英), GAO Jun (高俊), et al. 牛心朴子草植物农药的化学成份与生物活性研究 [J]. *Chin J Org Chem (有机化学)*, 2001, 21(11): 1024 - 1028.
- [10] AN T Y, LI G R, YAO Y C. Alkaloids from *Cynanchum komarovii* with inhibitory activity against the tobacco mosaic virus [J]. *Phytochemistry*, 2001, 58: 1267 - 1269.
- [11] LI Guang-ren (李广仁), AN Tian-ying (安天英), YANG Zhao (杨昭), et al. *Cynanchum komarovii* extract and its application (牛心朴子草提取液及其应用) CN 1321642A [P]. 2001-11-14.
- [12] WANG K L, LU M Y, WANG Q M, et al. Iron(III) chloride-based mild synthesis of phenanthrene and its application to total synthesis of phenanthroindolizidine alkaloids [J]. *Tetrahedron*, 2008, 64: 7504 - 7510.
- [13] WANG K L, SU B, WANG Z W, et al. Synthesis and antiviral activities of phenanthroindolizidine alkaloids and their derivatives [J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(5): 2703 - 2709.
- [14] CLOUGH J M, GODFREY C R A. The Strobilurin Fungicides [M] // HUTSON D H, MIYAMOTO J. Fungicidal Activity, Chemical and Biological Approaches to Plant Protection. Wiley Series in Agrochemicals and Plant Protection. John Wiley & Sons: Surrey, United Kingdom, 1998: 109 - 148.
- [15] WANG Q M, SUN H K, CAO H Y, et al. Synthesis and herbicidal activity of 2-cyano-3-substituted-pyridinemethyl-aminoacrylates. [J]. *J Agric Food Chem*, 2003, 51(17): 5030 - 5035.

(责任编辑: 金淑惠)