



范丹丽, 杨玲玲, 曾东强, 唐文伟. 拟黄花乌头中生物碱的杀虫活性研究 [J]. 环境昆虫学报, 2020, 42 (5): 1250–1256.

拟黄花乌头中生物碱的杀虫活性研究

范丹丽, 杨玲玲, 曾东强, 唐文伟*

(广西大学农学院, 广西农业环境与农产品安全重点实验室, 南宁 530005)

摘要: 为探索拟黄花乌头 *Aconitum anthoroideum* DC. 作为生物农药的应用价值, 以拟黄花乌头整株为研究对象, 在活性跟踪的基础上, 综合应用硅胶柱层析、ODS、Sephadex LH-20 等方法对拟黄花乌头甲醇粗提物进行分离纯化, 从中分离得到了 4 个生物碱类化合物, 分别为 4-hydroxynicotinic acid methyl ester (1)、Ranaconitine (2)、Lappaconitine (3)、13-hydroxylappaconitine (4), 其中 4-hydroxynicotinic acid methyl ester 为首次从天然产物中分离得到。采用点滴法测定 4 个化合物对褐飞虱 *Nilaparvata lugens* Stål 和白背飞虱 *Sogatella furcifera* Horvath 的触杀活性, 结果表明 4 种化合物对褐飞虱和白背飞虱具有显著的触杀活性, 处理后 48 h 的 LD_{50} 分别为 0.26 ~ 0.38 $\mu\text{g}/\text{头}$ 、0.25 ~ 0.33 $\mu\text{g}/\text{头}$ 。研究结果为进一步研究拟黄花乌头中的杀虫活性成分提供基础数据。

关键词: 拟黄花乌头; 天然产物; 杀虫活性

中图分类号: Q968.1; S433

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2020) 05-1250-07

Insecticidal alkaloids constituents from *Aconitum anthoroideum* DC.

FAN Dan-Li, YANG Lin-Lin, ZENG Dong-Qiang, TANG Wen-Xiu* (Guangxi Key Laboratory of Agricultural Environment and Agricultural Product Safety, College of Agriculture, Guangxi University, Nanning 530005, China)

Abstract: In order to explore the application value of *Aconitum anthoroideum* DC. as biological pesticides, 4-hydroxynicotinic acid methyl ester (1), which is described herein as a natural product for the first time, with three norditerpenoid alkaloids constituents, Ranaconitine (2), Lappaconitine (3), 13-hydroxylappaconitine (4), were isolated from the methanol extract of the whole plant of *A. anthoroideum* followed by the activity-guided method with combination of column chromatography of silica gel, ODS, Sephadex LH-20, etc. Compounds 1 to 4 exhibited activities with LD_{50} values for 48 h ranging from 0.26 to 0.38 $\mu\text{g}/\text{insect}$ against *Nilaparvata lugens* and from 0.25 to 0.33 $\mu\text{g}/\text{insect}$ against *Sogatella furcifera* by drop-method, respectively. The results provided a theoretical basis for further research on the insecticidal activity of natural products of *A. anthoroideum*.

Key words: *Aconitum anthoroideum* DC.; natural product; insecticidal activity

拟黄花乌头 *Aconitum anthoroideum* DC., 毛茛科 Ranunculaceae 乌头属 *Aconitum*, 多年生草本植物, 分布于阿尔泰山脉, 新疆特有植物。随着生物技术的发展, 乌头属植物的药用价值被广泛研究, 其天然产物的生物活性也得到了越来越全面

的发掘。关于乌头属的生物活性报道其主要作用成分为二萜类生物碱 (徐汉虹, 2004; 杨丽华, 2016; 尹田鹏, 2016), 其在临床医学方面研究较多, 谢艳芳从制黄草乌中分离得到具有抗人卵巢腺癌细胞 SK-OV-3、人肺癌细胞 A549、人宫颈癌

基金项目: 国家自然科学基金 (31660529); 广西自然科学基金重点项目 (2017GXNSFDA198049)

作者简介: 范丹丽, 女, 1996 年生, 山西运城人, 硕士研究生, 主要研究方向为农药学, E-mail: fdlyean@163.com

* 通讯作者 Author for correspondence: 唐文伟, 男, 博士, 副教授, 主要研究方向为农药毒理学, E-mail: wenweitg@163.com

收稿日期 Received: 2019-11-03; 接受日期 Accepted: 2019-11-25

细胞 Hela 活性的化合物 (谢艳芳, 2015), 蒋莹从毛茛吉林乌头中分离得到 9 个二萜生物碱化合物, 其中 Delcosine (1), Tuguaconitine (2), Denudatine (3) 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌具有一定的抑制作用, Delcosine (1), Tuguaconitine (2), Lepenine (5), 11 α -hydroxy lepenine (6), JiYuan-Aconitine (7) 具有抗人前列腺癌细胞 PC-3 的作用 (蒋莹, 2010), 海力马依·海米提等从乌头属植物中分离得到对人宫颈癌细胞 Hela 细胞、人肺腺癌细胞 A549 细胞株具有细胞毒活性的生物碱 (海力马依·海米提, 2016)。乌头属植物在农业上的生物活性也有一些研究, 顾地周等人发现高山乌头、北乌头、黄头乌头长白山 3 种乌头属植物的水蒸气蒸馏液对大豆荚螟、大螟、玉米螟有触杀活性 (顾地周, 2011), 陈琳在展毛大渡乌头和毛序准喝尔乌头中发现 aconitine、pubescensine、3-deoxyaconitine 和 chasmanthinine ($EC_{50} \leq 0.07$ mg/cm) 对甜菜夜蛾幼虫有显著拒食作用 (陈琳, 2017)。拟黄花乌头天然产物成分近年来研究较多, 张吉发从拟黄花乌头中共分离鉴定了 22 个二萜生物碱, 发现化合物 Nominine 对 MPP⁺ 诱导的 SH-SY5Y 慢性损伤细胞有较弱保护性 (张吉发, 2018), 但鲜见拟黄花乌头在农业领域的生物活性报道。

本研究发现拟黄花乌头的甲醇粗提物对褐飞虱、白背飞虱具有显著的触杀活性, 为明确其触杀活性成分, 基于活性跟踪对其进行天然产物分离, 以期开发拟黄花乌头提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试植物

拟黄花乌头 *Aconitum anthoroideum* DC., 全草, 2006 年采自新疆石河子, 由广西林业勘察设计院钟业聪研究员鉴定。

1.1.2 供试昆虫

褐飞虱 *Nilaparvata lugens* Stål: 从田间采集褐飞虱成虫或若虫 400 头, 放在网室中用分蘖期至孕穗期的 TN1 水稻品种饲养 1~2 代, 待其种群繁殖到足够的数量时, 用长翅成虫作为供试昆虫。

白背飞虱 *Sogatella furcifera* Horvath: 从田间采集白背飞虱成虫或若虫 400 头, 饲养方法同褐飞虱, 用长翅成虫作为供试昆虫。

Tn5B1-4 (*Trichoplusia ni*) 为粉纹夜蛾卵巢细胞, 引自华中师范大学, 由华南农业大学天然农药与化学生物学教育部重点实验室传代培养。培养温度为 $27 \pm 1^\circ\text{C}$, 无需 CO_2 , 在单层细胞生长至铺满整个瓶底时, 用吸管轻轻吹打成细胞悬液, 以 1:3 的比例传代培养。培养基为 Grace's 昆虫细胞培养基, 加适量酵母提取物、水解乳蛋白, 用超纯水溶解。完全培养基按 9% 的比例加入新生牛血清即可。

1.2 试验方法

1.2.1 植物粗提物的提取

采用冷浸法提取, 将采集的植物材料放在室内通风处阴干, 再在 50°C 的恒温鼓风干燥箱内充分干燥, 用植物粉碎机粉碎。将材料干粉 (2.0 kg) 装入大型溶剂桶内 (10 kg), 加入甲醇, 溶剂比为 5:1 (v/m), 期间间断摇晃溶剂桶, 每次提取 72 h, 重复提取 3 次, 合并滤液用大型浓缩仪减压浓缩, 得到甲醇粗提物 (30 g), 置于冰箱中备用。

1.2.2 植物材料生物活性成分的分离

以活性跟踪为基础, 确定活性部位, 综合应用硅胶柱层析、MCI 柱层析、Sephadex LH-20、HPLC 制备等方法对甲醇粗提物分离纯化, 得到化合物。

1.2.3 结构鉴定

核磁共振谱 (NMR) 测定: 以氘代试剂为溶剂, 四甲基硅烷 (TMS) 为内标, 测定 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 和必要的 2D NMR; 质谱 (MS) 测定: 采取 EI 源、ESI 源测定。根据 MS 图谱分析判断出化合物的分子量, 由核磁共振谱推测 C、H 原子数及相关基团, 结合二者的情况推测出化合物的结构, 然后通过比对文献, 鉴定出化合物的结构, 并进行波谱数据的归属。

1.2.4 生物活性测定

1.2.4.1 褐飞虱的生物活性测定

采用毛细管微量点滴法。先用丙酮或甲醇将植物甲醇粗提物或化合物溶解, 再用丙酮配成所需浓度的药液。从网室中采回 2~5 日龄的褐飞虱长翅成虫, 雌雄虫分开采集和测定, 用 CO_2 气体麻醉后, 用毛细管将 0.09239 μL 或 0.1164 μL 药液 (对照用相应溶剂) 点滴在虫体的前胸背板上。每种药剂共点滴 90 头虫左右, 重复 3 次。处理过的试虫待苏醒后放入自制的养虫笼中, 每个养虫笼放虫约 30 头。养虫笼是用聚酯薄膜制成的高

14 cm、直径 7 cm 的圆筒，圆筒下部用海绵塞堵住，上部用纱布封口，笼中放 2 支 TN1 稻茎，稻茎穿过海绵塞剪口浸入罐头瓶的水中。将养虫笼连同盛水的罐头瓶放进温度 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ，相对湿度 75% ~ 85%，每日光照 16 h 的光照培养箱中，分别于 24 h、48 h 检查死虫数。计算死亡率 (Fujie *et al.*, 1987; Yecheng *et al.*, 2005; Wenwei *et al.*, 2009)。校正死亡率按公式: 校正死亡率 (%) = (处理组死亡率 - 对照组死亡率) / (1 - 对照组死亡率) $\times 100$ 。

1.2.4.2 化合物的细胞毒性测定

药液配制: 用少量丙酮或二甲基亚砜 (DMSO) 将供试化合物溶解后配成母液，在超净工作台上以 0.22 μm 的微孔滤膜过滤除菌，并用含 1% DMSO 的培养基分别将药剂配成试验所需浓度，丙酮最终浓度为 2.5%，DMSO 最终浓度为 1%。以含 1% DMSO 或 2.5% 丙酮的培养基为对照。

MTT (methylthiazoletrazolium) 溶液配制: 称取 50.0 mg MTT，加入 10 mL 三蒸水培养基，待完全溶解后过滤，此时 MTT 溶液的浓度为 5 mg/mL，置于 4°C 冰箱中备用。

测试方法为 MTT 法 (Fickova *et al.*, 2008; Zhangli, 2008): 取对数生长期的 SL 细胞接种于 96 孔培养板内，每孔加入 100 μL ，培养 24 h，将培养板翻转倒出培养液，每孔加入 100 μL 相应浓度的药液，继续培养 20 h、44 h，即测定前 4 h 加入 MTT 母液 10 μL 并轻微震荡，放入 27°C 继续培养 4 h 后倒出培养液，每孔加入 100 μL DMSO 用酶标仪进行检测 490 nm 的吸光值，整个过程需避光。以对照的细胞相对活力为 100%，将各组吸光值按以下公式换算为细胞相对活力。细胞活力小

于 100% 表示药剂降低了细胞活力，反之则表明药剂对细胞活力影响不大。细胞活力 (%) = 凋零后受试组 OD_{490} / 凋零后对照组 $\text{OD}_{490} \times 100$ ，细胞抑制率 (%) = (1 - 细胞活力) $\times 100$ 。

1.2.5 数据分析

本文中，生物活性测定结果的平均数据均以“平均数 $\pm$ 标准误 (SE)”表示，采用 DPS 7.05 软件计算死亡率、毒力回归方程、 LD_{50} 及其 95% 置信区间。方差分析采用邓肯氏极差多重比较法 (Duncan's Multiple Range Test, DMRT)。

2 结果与分析

2.1 植物提取物的生物活性

植物材料 (2.0 kg) 经烘干、粉碎后，用甲醇采用冷浸法提取，浓缩得到甲醇粗提物 (30.0 g)。甲醇粗提物用 2% HCl 水溶解，过滤，过滤后固体物加蒸馏水洗至 pH 值为 7.0，然后过滤， 60°C 烘干，为非生物碱部分；酸水层加氨水调节 pH 值为 9.0， CHCl_3 萃取，萃取液 Na_2SO_4 干燥后浓缩，为生物总碱部分。

测定了拟黄花岗头的非生物碱和生物总碱部分对白背飞虱、褐飞虱的触杀活性。非生物碱部分和生物碱部分，分别以 5 μg /头 (毛细管 0.1164 μL) 的剂量测定了其褐飞虱和白背飞虱长翅型雌虫 48 h 的触杀活性，结果见表 1。结果表明，拟黄花岗头中对褐飞虱和白背飞虱具有触杀活性的主要成分分布于总生物碱部分。

进一步测定了拟黄花岗头生物总碱对褐飞虱和白背飞虱长翅型成虫 48 h 的触杀毒力，结果见表 2。

表 1 拟黄花岗头粗提物 (5 μg /头) 对褐飞虱和白背飞虱长翅型成虫 48 h 的触杀活性
Table 1 Contact toxicities of extracts of *Aconitum anthoroideum* against the macropterous of *Nilaparvata lugens* and *Sogatella furcifera* at the concentration of 5 μg /insect (48 h)

提取物 Extracts	校正死亡率 ¹⁾ (%) Corrected mortality ²⁾	
	褐飞虱 <i>Nilaparvata lugens</i>	白背飞虱 <i>Sogatella furcifera</i>
生物总碱 Alkaloids	95.10 $\pm$ 1.01 a	100.0 $\pm$ 1.11 a
非生物碱 Not alkaloids	14.22 $\pm$ 1.18 b	15.32 $\pm$ 2.10 b
对照 CK	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00

注: ¹⁾，表中同列数据后小写字母相同者表示在 5% 水平上差异不显著 (DMTR 法)。²⁾，表中数据为平均数 $\pm$ SE，CK 栏数据是指死亡率，n=3。Note: ¹⁾，The data within a column followed by the same letter were not significantly different at $P=0.05$, based on Duncan's multiple range test (DMRT). ²⁾，The data were mean $\pm$ SE and the data of CK were mortality, n=3.

表 2 拟黄花乌头生物总碱对褐飞虱和白背飞虱长翅型成虫 48 h 的触杀毒力
Table 2 Contact toxicities of extracts of *Aconitum anthoroideum* against the macropterous
of *Nilaparvata lugens* and *Sogatella furcifera* (48 h)

供试昆虫 Insects	回归方程 Regression equation	LD ₅₀ (μg/insect)	决定系数 Coefficient of determination	95% 置信限 95% limit distance
褐飞虱 <i>Nilaparvata lugens</i>	$Y = 4.6745 + 2.9007x$	1.29	0.9955	0.99 – 1.58
白背飞虱 <i>Sogatella furcifera</i>	$Y = 5.04424 + 1.9901x$	0.95	0.9847	0.72 – 1.25

拟黄花乌头生物总碱部分对两种稻飞虱均具有一定的触杀活性, 其对褐飞虱和白背飞虱的 48 h 触杀毒力 LD₅₀ 值分别为 1.29 μg/头、0.95 μg/头 (表 2)。

2.2 拟黄花乌头中生物活性成分的分离

拟黄花乌头中生物活性成分的分离以活性追踪为基础, 综合应用硅胶柱层析、ODS、Sephadex LH-20 等方法对拟黄花乌头生物总碱部分进行分离纯化, 从中分离鉴定了 4 个化合物, 分别为 4-hydroxynicotinic acid methyl ester (1), Ranaconitine (2)、Lappaconitine (3)、13-hydroxylappaconitine (4)。

化合物 1 为无色针状结晶, 溶于甲醇、丙酮, 难溶于氯仿。

根据化合物 1 的 EIMS m/z 153 [M]⁺ 准分子离子峰, 结合 ¹³C NMR 和 DEPT 谱, 可判断其分子式为 C₇H₇NO₃。综合化合物 1 的 ¹H NMR、¹³C NMR 和 DEPT 谱示有一个间位取代的质子 (δ_H 8.43, d, $J = 3.0$ Hz, H-6)、两个邻位取代的质子 (δ_H 7.95, dd, $J = 9.6, 2.4$ Hz, H-2)、(δ_H 6.51, d, $J = 9.0$ Hz, H-3), 一个羰基碳 (δ_C 167.1, C-7)、一个与羟基相连的碳 (δ_C 165.3, C-4), 一个甲氧基 (δ_H 3.60, s, 3H, δ_C 38.5)。结合 HSQC、HMBC 归属了化合物 1 的 ¹H、¹³C 关系, 其波谱数据归属如下:

¹H NMR (600MHz, CD₃OD): δ8.43 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-6), 7.95 (1H, dd, $J = 9.6, 2.4$ Hz, H-2), 6.51 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-3), 3.60 (3H, s, OMe);

¹³C NMR (150MHz, CD₃OD): δ167.1 (C-7), 165.3 (C-4), 145.7 (C-6), 141.0 (C-2), 119.3 (C-3), 112.3 (C-5), 38.5 (OMe)。

上述数据根据 ¹H NMR、¹³C NMR、HSQC、HMBC 进行归属, 经鉴定化合物 1 为 4-hydroxynicotinic acid methyl ester。该化合物在文献上首次出现为化学合成中间产物 (Kitagawa, 1978), 其后的文献报道也都为合成中间体或终产

物 (Bernofsky, 1979; Maquestiau *et al.*, 1988)。该化合物为首次从天然产物中分离得到并对其进行波谱数据归属, 其分子式为 C₇H₇NO₃, 化学结构图如图 1 中化合物 1 所示。

Ranaconitine (2): 无色针状结晶; ESI-MS m/z 600 [M]⁺; 波谱数据与文献中 Ranaconitine 相同 (Pelletier *et al.*, 1978; Ayhan *et al.*, 1996; Tan *et al.*, 2006); Lappaconitine (3): 无色针状结晶; ESI-MS m/z 584 [M]⁺; 波谱数据与文献中 Lappaconitine 相同 (Manzoor *et al.*, 2008; Nikolay *et al.*, 2008); 13-hydroxylappaconitine (4): 无色无定形粉末; ESI-MS m/z 600 [M]⁺; 波谱数据与文献中 13-hydroxylappaconitine 相同 (Manzoor *et al.*, 2008)。

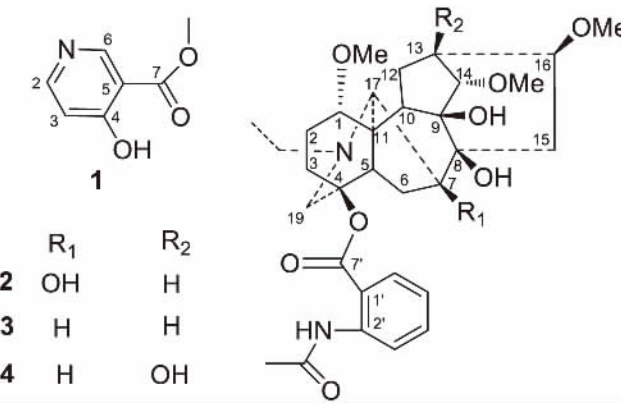


图 1 拟黄花乌头甲醇层分离得到的化合物
Fig. 1 Structures of compounds 1 to 4 isolated from *Aconitum anthoroideum*

2.3 化合物对褐飞虱和白背飞虱的毒杀活性

用毛细管微量点滴法, 测定了化合物 4-hydroxynicotinic acid methyl ester (1), Ranaconitine (2)、Lappaconitine (3)、13-hydroxylappaconitine (4), 对褐飞虱, 白背飞虱长翅型雌成虫处理 48 h 后的触杀毒力, 结果见表 3。

4 个化合物在处理 48 h 后对褐飞虱和白背飞虱长翅型雌成虫均具有触杀活性, 其中

Ranaconitine 的杀虫活性最强, 对褐飞虱和白背飞虱点滴处理后 48 h 的 LD_{50} 值分别为 0.26 $\mu\text{g}/\text{头}$ 、0.25 $\mu\text{g}/\text{头}$ (表 3)。

表 3 供试化合物对褐飞虱和白背飞虱长翅型雌成虫 48 h 的触杀毒力

Table 3 Contact toxicity of compound 1 to 4 isolated from *Aconitum anthoroideum* against *Nilaparvata lugens* and *Sogatella furcifera* (LD_{50} , $\mu\text{g}/\text{insect}$) at 48 h

化合物 Compound	褐飞虱 <i>Nilaparvata lugens</i>	白背飞虱 <i>Sogatella furcifera</i>
1	0.33 $\pm$ 0.05	0.26 $\pm$ 0.03
2	0.26 $\pm$ 0.03	0.25 $\pm$ 0.02
3	0.34 $\pm$ 0.05	0.30 $\pm$ 0.01
4	0.38 $\pm$ 0.05	0.33 $\pm$ 0.02
Malathion	0.23 $\pm$ 0.04	0.19 $\pm$ 0.03

注: 数据为平均数 $\pm$ S. D. Note: Data represent the mean $\pm$ S. D. of three separate experiments.

2.4 化合物的细胞毒性

在 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的浓度下测定了化合物 Ranaconitine (2) 对粉纹夜蛾卵巢细胞 (Tn5B1-4) 24 h 的细胞毒性, 结果见表 4。

由表 4 可以看出, 在 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度下, 化合物 Ranaconitine 对 Tn5B1-4 细胞的细胞毒性均较弱, 校正死亡率均在 50% 以下。

表 5 Ranaconitine 对 Tn5B1-4 细胞膜通透性影响 (48 h)

Table 5 Effect of the membrane permeability of Ranaconitine to Tn5B1-4 (48 h)

化合物 Compound	荧光强度值 The values of OD			平均荧光强度值 ¹⁾ Average values of OD	增加率 (%) Increase rate
CK	6.23	6.25	6.22	6.23 $\pm$ 0.88 d	—
印楝素 AZA	12.70	12.71	12.68	12.69 $\pm$ 0.58 a	103.7
Ranaconitine (2)	6.30	6.32	6.34	6.32 $\pm$ 0.18 c	1.44

注: 同列数据后小写字母相同者表示在 5% 水平上差异不显著 (DMTR 法), 数据为平均数 $\pm$ SE, $n=3$ 。Note: The data within a column followed by the same letter were not significantly different at $P=0.05$, based on Duncan's multiple range test (DMRT) and the data were mean $\pm$ SE, $n=3$.

3 结论与讨论

在前期试验活性测定结果的基础上, 综合应用硅胶柱层析、ODS、Sephadex LH-20 等方法对拟黄花乌头中对褐飞虱和白背飞虱具有杀虫活性的

表 4 供试化合物对 Tn5B1-4 细胞的毒性

Table 4 Growth inhibition of compounds to Tn5B1-4 insect cells

化合物 Compound	校正死亡率 ¹⁾ (%) Corrected mortality	50 $\mu\text{g}/\text{mL}$	100 $\mu\text{g}/\text{mL}$
Ranaconitine (2)	23.96 $\pm$ 0.60 a	44.89 $\pm$ 0.87 a	
印楝素 AZA ²⁾	51.85 $\pm$ 0.13 b	24.85 $\pm$ 0.69 b	

注: ¹⁾, 同列数据后小写字母相同者表示在 5% 水平上差异不显著 (DMTR 法), 数据为平均数 $\pm$ SE, $n=3$ 。²⁾, AZA 为印楝素。Note: ¹⁾, The data within a column followed by the same letter were not significantly different at $P=0.05$, based on Duncan's multiple range test (DMRT) and the data were mean $\pm$ SE, $n=3$ 。²⁾, AZA.

2.5 Ranaconitine 对 Tn5B1-4 细胞膜通透性影响

在测定 Ranaconitine 对 Tn5B1-4 细胞的细胞毒性时, 通过显微镜观察发现, 经化合物 Ranaconitine 处理的细胞的细胞膜有明显的孔洞, 为进一步明确其对 Tn5B1-4 细胞膜的影响, 以 FITC 法检测了化合物 Ranaconitine 在 50 mg/mL 浓度下对 Tn5B1-4 细胞膜的通透性影响, 结果见表 5 和图 2。

从表 5 可以看出, 处理 48 h 后, Ranaconitine 的 FITC 的荧光强度值为 6.32, 荧光强度增加率为 1.44%, 低于印楝素 A。从图 2 可以看出, Ranaconitine 处理后有一定的影响, 但作用远低于印楝素。

化学成分进行分离纯化, 从中分离得到了 4 个化合物, 4-hydroxynicotinic acid methyl ester (1)、Ranaconitine (2)、Lappaconitine (3)、13-hydroxylappaconitine (4), 关于活性有研究报道 Lappaconitine 有清除自由基, 镇痛, 抗心律失常, 抗炎作用 (Niu *et al.*, 2018; Sun *et al.*, 2018),

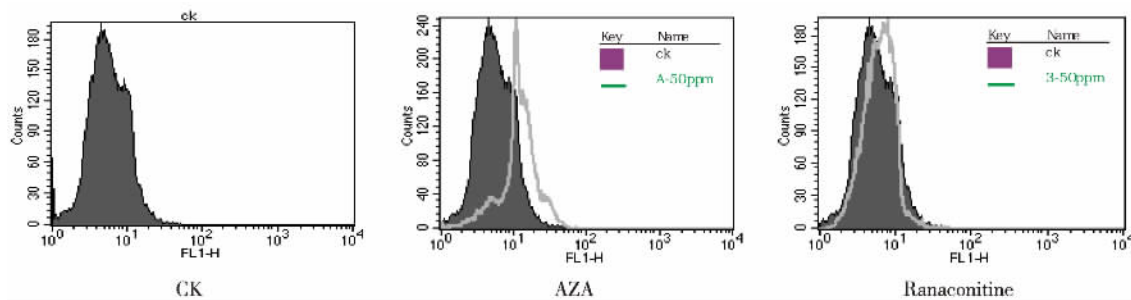


图2 Ranaconitine 对 Tn5B1-4 细胞膜通透性影响 (48 h)

Fig.2 Effect of the membrane permeability of Ranaconitine to Tn5B1-4

从异叶乌头 *Aconitum heterophyllum* Wall. 中分离得到的 13-hydroxylappaconitine 对金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* Rosenbach. 有抑菌作用, Lappaconitine 对铜绿假单胞杆菌 *Pseudomonas aeruginosa* Schr9ter. 和伤寒沙门氏杆菌 *Salmonella typhi* 有抑菌作用 (周利娟等, 2017), 本实验分离得到的 4 个化合物均具有杀虫活性, 其中化合物 Ranaconitine (2) 对稻飞虱的触杀活性最为显著。从现有研究结果来看, 从拟黄花乌头中分离得到的成分以二萜生物碱为主, 有研究表明半枝莲中二萜生物碱 Scutegxatbine F, Scutebate F, Scutebarbatine F, Scutebarbatine Y 具有逆转肿瘤多药耐药性 (李丹丹, 2018), 从紫花高乌头中分离得到的 Lappaconitine (1)、Ranaconitine (2)、septentriodine (3)、6-demethyldelsodine (4)、6-methylumbrofine (5)、8-methyl-10-hydroxylycoctonine (6) 和 8-methyllycoctonine (7) 对慢性支气管炎有一定的治疗效果 (王艳等, 2019)。本研究中分离鉴定的 Ranaconitine 对稻飞虱有好的触杀活性, 在杀虫谱上是否具有拓展潜力有待进一步研究。本研究首次对拟黄花乌头的化学成分展开研究, 因为采集到的植物材料量少的原因, 分离和活性测定研究并不完全, 是否还有其他对稻飞虱有活性的成分或者对其他生物有活性的化学成分有待进一步研究。

参考文献 (Reference)

- Ayhan U, Ali HM, Filiz M, *et al.* Diterpenoid alkaloids from *Aconitum orientale* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 41: 957–961.
- Chen L. Studies on Alkaloid Constituents of Four Medicinal Plants and Antifeedant Activities of *Spodoptera exigua* Hübner (Beet armyworm) [D]. Chengdu: Southwest Jiaotong University, 2017. [陈琳. 四种药用植物中生物碱成分及甜菜夜蛾拒食活性研究 [D]. 成都: 西南交通大学, 2017]
- Deng YC, Xu HH. Studies on insecticidal activities and active ingredients of *Stephania kwangsiensis* Lo [J]. *Agricultural Sciences in China*, 2005, 4: 608–684. [邓业成, 徐汉虹. 广西地不容的杀虫活性及有效成分研究 [J]. 中国农业科学, 2005, 4: 608–684]
- DuZL, Yin ZQ, Wang L, *et al.* Coumarins and flavonoids from leaves of *Broussonetia papyrifera* [J]. *Nat. Prod. Res. Dev.*, 2008, 20 (4): 630–632. [杜彰礼, 殷志琦, 王磊, 等. 楮叶中香豆素和黄酮类化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20 (4): 630–632]
- FickovaM, Pravdova E, Rondhal L, *et al.* In vitro antiproliferative and cytotoxic activities of novel kojic acid derivatives: 5-benzyloxy-2-selenocyanatomethyl-and 5-methoxy-2-seleno-cyanato methyl-4-pyrone [J]. *Appl. Toxicol.*, 2008, 28 (4): 554–559.
- FujieT. Methods for determination of resistance in agricultural insects [J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 1987, 20: 107–122.
- Gu DZ, Ba CY, Xie YJ. Compared the contacting activity of three Aconitum in mountain Changbai against the borer of three crops [J]. *Agrochemicals*, 2011, 50 (4): 296–299. [顾地周, 巴春影, 谢艳君. 长白山区 3 种乌头属植物对 3 种农作物螟虫触杀活性的比较 [J]. 农药, 2011, 50 (4): 296–299]
- Helimay H, Zhao B, Hou XL, *et al.* NMR features and antitumor activities of diterpenoid alkaloid from Xinjiang local plants [J]. *Central South Pharmacy*, 2016, 14 (4): 378–384. [海力马依·海米提, 赵波, 侯雪玲, 等. 新疆道地药材中二萜类生物碱的核磁共振特征与抗肿瘤活性分析 [J]. 中南药学, 2016, 14 (4): 378–384]
- Hong Y, Wang QH, Bli LGT, *et al.* Isolation and identification of total alkaloids from Mongolian medicine *Aconitum excelsum* and its therapeutic mechanism on chronic bronchitis in rats [J]. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2019, 54 (2): 91–97. [红艳, 王青虎, 毕力格图, 等. 蒙药紫花高乌头总生物碱的分离鉴定及其对大鼠慢性支气管炎的治疗作用机制研究 [J]. 中国药杂志, 2019, 54 (2): 91–97]
- Jiang Y. Alkaloids from *Aconitum kirinense* [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2010. [蒋莹. 毛果吉林乌头生物碱成分的研究 [D]. 郑州: 郑州大学, 2010]
- Kitagawa T, Matsumoto K, Hirai E. Equilibrium studies of 5-substituted 4-hydroxy-2-methylpyrimidines. V. Lactim-lactam tautomerism in ethereal solvents [J]. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 1978,

- 26 (5): 1415 – 1425.
- Li DD. Studies on the Chemical Constituents and Multidrug Resistance Reversal of *Scutellaria barbata* [D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology, 2018. [李丹丹. 半枝莲的化学成分及逆转肿瘤多药耐药活性研究 [D]. 昆明: 昆明理工大学, 2018]
- Manzoor A, Waqar A, Mansoor A, *et al.* Norditerpenoid alkaloids from the roots of *Aconitum heterophyllum* wall with antibacterial activity [J]. *Enzyme. Inhib. Med. Chem.*, 2008, 23: 1018 – 1022.
- Maquestiau A, Flammang R, Monique F. B, *et al.* A new example of internal oxidation of remote groups in organic nitroaromatic ions [J]. *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes*, 1988, 86: 235 – 248.
- Nikolay EP, Tatyana VL, Alexey VT, *et al.* Phototransformation products of the alkaloid Lappaconitine: Multinuclear NMR study [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2008, 197: 290 – 294.
- Niu XL, Zhang YQ, Shi GF, *et al.* Electrochemical interaction between free radicals and lappaconitines [J]. *International Journal of Electrochemical Science*, 2018, 13 (11): 10193 – 10206.
- Pelletier SW, Mody NV, Venkov AP, *et al.* The structure of Ranaconitine, a new diterpenoid alkaloid of *Aconitum ranunculaefolium* [J]. *Tetrahedron Letter*, 1978, 19: 5045 – 5046.
- Sun ML, Ao JP, Wang YR, *et al.* Lappaconitine, a C18-Diterpenoid alkaloid, exhibits antihypersensitivity in chronic pain through stimulation of spinal dynorphin a expression [J]. *Psychopharmacology*, 2018, 235 (9): 2559 – 2571.
- Tan JJ, Tan CH, Ruan BQ, *et al.* Two new 18-carbon norditerpenoid alkaloids from *Aconitum sinomontanum* [J]. *Journal of Asian Natural Products Research*, 2006, 8: 535 – 539.
- Wenwei T, Xiaoyi W, Hanhong X, *et al.* 13-deoxyitol A, a new insecticidal isoryanodane diterpene from the seeds of *Itoa orientalis* [J]. *Fitoterapia*, 2009, 80: 286 – 289.
- Xie YF, Study on Chemical Constituents from Water Soluble of Processed Products of Radix Aconitum Vilmorinian Komarov [D]. Kunming: Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, 2015. [谢艳芳. 制黄草乌水溶性部位的化学成分研究 [D]. 昆明: 云南中医药大学, 2015]
- Xu HH, Insecticidal Plants and Botanical Insecticides [M]. China Agriculture Press, 2004: 377. [徐汉虹. 杀虫植物与植物性杀虫剂 [M]. 中国农业出版社, 2004: 377]
- Yang LH, Study on Diterpenoid Alkaloids from the Whole Plants of *Aconitum tanguticum* [D]. Guangzhou: Guangdong Pharmaceutical University, 2016. [杨丽华. 藏药甘青乌头中二萜生物碱的研究 [D]. 广州: 广东药科大学, 2016]
- Yi TP. Alkaloids of Six Aconitum Plants from Yunnan Province [D]. Kunming: Yunnan University, 2016. [尹田鹏. 六种云南产乌头属植物的生物碱成分研究 [D]. 昆明: 云南大学, 2016.]
- Zhang JF. Studies on Diterpenoid Alkaloids and Biological Activity of Five Specific Traditional Chinese Medicines “Cao Wu” in Xinjiang [D]. Sichuan: Southwest Jiaotong University, 2018. [张吉发. 五种新疆特有药用草乌生物碱成分及生物活性研究 [D]. 四川: 西南交通大学, 2018]
- Zhou LJ, Tian YQ, He JT. Pesticide activities and active ingredients of Ranunculaceae plants [J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2017, 39 (2): 261 – 271. [周利娟, 田延琴, 何江涛. 毛茛科植物的农药活性及成分 [J]. 江西农业大学学报, 2017, 39 (2): 261 – 271]