

博落回茎中抗玉米大斑病的生物碱类成分研究

刘友花*, 李健, 王丹, 解福双, 郭志刚

浙江清华长三角研究院, 嘉兴 314000

摘要:为了解博落回茎中具有抗玉米大斑病的活性成分,采用天然产物分离和活性追踪的方法分离鉴定了8个生物碱类化合物。这8个化合物分别为6-(2-羟基乙基)-5,6-二氢血根碱(1)、6-(2-甲氧基-2-氧代乙基)-5,6-二氢血根碱(2)、6-丙酮基二氢血根碱(3)、6-丙酮基白屈菜红碱(4)、isointegriamide(5)、arnottianamide(6)、二氢血根碱(7)和白屈菜红碱(8)。其中化合物1、2、5、6首次从博落回茎中分离得到。以上生物碱类化合物(1~8)通过滤纸片琼脂糖扩散法对玉米大斑病进行抗菌测试,确定了化合物8具有显著的抗玉米大斑病的生物活性,然后用48孔板测定了化合物8对玉米大斑病孢子萌发实验,其IC₅₀值为12.0 μg/mL,以上研究为防治玉米大斑病提供了一种潜在的新型生物农药原料。

关键词:博落回;生物碱;玉米大斑病;活性成分

中图分类号:R932

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2021)6-0977-05

DOI:10.16333/j.1001-6880.2021.6.011

Alkaloids from the stem of *Macleaya cordata* against *Exserohilum turcicum*

LIU You-hua*, LI Jian, WANG Dan, XIE Fu-shuang, GUO Zhi-gang

Yangtze Delta Region Institute of Tsinghua University, Jiaxing 314000, China

Abstract: Eight alkaloids were isolated and identified by natural product separation and activity tracking in order to find out the active components in *Macleaya cordata* that were resistant to *Exserohilum turcicum*. The eight alkaloids were 6-(2-hydroxyethyl)-5,6-dihydrosanguinarine (1), 6-(2-methoxy-2-oxyethyl)-5,6-dihydrosanguinarine (2), 6-acetodihydrosanguinarine (3), 6-acetyldehydorchelerythrine (4), isointegriamide (5), arnottianamide (6), dihydrosanguinarine (7) and chelerythrine (8). Compounds 1, 2, 5, 6 were isolated from the stem of *M. cordata* for the first time. The above alkaloid compounds (1~8) were tested by agar diffusion method with filter paper. It was confirmed that compound 8 had significant biological activity against *E. turcicum*. Then, the IC₅₀ value of compound 8 on spore germination of *E. turcicum* was 12.0 μg/mL. From these results, our understanding of antifungal activity of chelerythrine against *E. turcicum* was enriched and this research is relevant for developing novel pesticides.

Key words: *Macleaya cordata*; alkaloids; *Exserohilum turcicum*; active components

玉米大斑病又称枯叶病,分布广泛,染病后叶枯死,导致减产,是目前玉米生产中经常遇到的主要叶斑病害之一,给中国玉米种植业造成严重损失^[1]。目前主要用来防治该病的农药常为化学农药,而化学农药一方面会使菌株产生多种防御机制,产生新的耐药株,另一方面影响食品安全,危害人类健康,因此研发高效、低毒、无残留的生物农药势在必行^[2-4]。博落回属(*Macleaya*)植物隶属罂粟科,是生于海拔150~830 m的丘陵或低山林、灌丛或草丛间的多年生草本植物,全株含有乳黄色毒汁,来源丰

富,分布广泛,民间常用作杀虫。中国植物志记载了博落回(*M. cordata*)和小果博落回(*M. microcarpa*)两种,有清热解毒,杀虫止痒的作用^[5-7]。目前,关于博落回的研究主要集中在国内,且主要集中在博落回粗提取物或者主要成分的杀虫活性方面的研究^[8-10],鲜有对博落回中单体化合物抑制玉米大斑病的活性探讨。本文将报道这些生物碱类成分的提取分离方法、结构鉴定以及体外抗玉米大斑病的活性研究。

1 材料与方法

1.1 材料

博落回粗粉于2017年8月1日购置长沙上禾

生物有限公司,由郭志刚教授鉴定,标本存放于浙江清华长三角研究院 1801 标本柜。

1.2 仪器和试剂

柱色谱正相硅胶(200~300 目)为青岛海洋化工厂生产。

分析制备用 HPLC 仪器为 LC-20A 型液相色谱仪(日本岛津公司);MPLC 采用 Dr Flash-S 分离纯化系统(苏州汇通有限公司的),色谱柱为 ODS(C₁₈, MB 100 40~75 μm, Fuji, 日本);ESI-MS 采用 Agilent 1200-1600 MS, 以甲醇为溶剂,直接进样测定;¹H 和¹³C NMR 谱采用 Bruker 核磁共振仪,以 TMS 为内标。

1.3 实验方法

1.3.1 提取和分离

博落回茎粗粉 20 kg,用 75% 乙醇回流提取 2 次,每次 2 h,料液比为 1:20,得到乙醇提取液经过减压浓缩后依次用石油醚和乙酸乙酯萃取 3~4 次,经 HPLC 检测石油醚部位提取物和乙酸乙酯部位提取物成分类似,故合并,共得到 140 g,记为 M。

将 M 组分经正相硅胶柱层析,石油醚-乙酸乙酯[100:0→0:100 (V/V, 下同)]逐步增加梯度洗脱,每收集 2 L 为一馏分,经 TLC 检查合并,得到组分 M1~M8,经过活性跟踪的方法确定了 M1、M4、M5 以及 M6 共 4 个组分具有抗玉米大斑病的活性。

M1(13 g)采用 1.5 倍 200~300 目的硅胶拌样,18 倍硅胶填充正相硅胶柱,石油醚/乙酸乙酯(93:7)等梯度洗脱,每份收集 50 mL,收集各流份后经过 TLC 板检查合并,得到 M1-1~M1-7 共 7 个组份,将这 7 个组分进行抗玉米大斑病活性检测,得到 M1-2 具有微弱活性,然后将 M1-2 重结晶得到化合物 7(15 mg)。

M4(31 g)经过 MPLC 分离,甲醇-水(40:70→100:0)梯度洗脱,流速 8 mL/min,每份收集 200 mL,收集各流份后经过 TLC 板检查合并,得到 M4-1~M4-10 共 10 个组份,将这 10 个组分进行抗玉米大斑病活性筛选,得到 M4-4 和 M4-6 共 2 个组分具有活性。其中 M4-4 经过 HPLC 76% (流速为 6 mL/min) 的甲醇-水得到组分 M4-4-1~M4-4-8 共 8 个组分,将这些组分采用 TLC 板以及 HPLC 分析验纯以及活性追踪,得到化合物 1(25 mg, *t*_R = 41 min) 和 2(35 mg, *t*_R = 62 min),另外将 M4-4-1 进一步用 70% (流速为 5 mL/min) 的甲醇-水纯化得到化合物 8(20 mg, *t*_R = 21 min),经过活性追踪得到化合物 8

具有显著的抗玉米大斑病的活性。M4-6 经过 HPLC 71% (流速为 5 mL/min) 的甲醇-水得到组分 M4-6-1~M4-6-8 共 8 个组分,将这些组分采用 TLC 板以及 HPLC 分析验纯和活性追踪得到化合物 3(15 mg, *t*_R = 64 min) 和 4(20 mg, *t*_R = 73 min)。

M(28 g)经过 MPLC 分离,甲醇-水(40:70→100:0)梯度洗脱,流速 8 mL/min,每份收集 250 mL,收集各流份后经过 TLC 板检查合并,得到 M5-1~M5-9 共 9 个组份,将这 9 个组分进行活性追踪筛选,得到 M5-5 组分具有抗玉米大斑病活性,然后 M5-5 经过 HPLC 71% (流速为 5 mL/min) 的甲醇-水得到化合物 5(10 mg, *t*_R = 54 min) 和 6(8 mg, *t*_R = 72 min)。

1.3.2 抗玉米大斑病活性测试

按照 Xu 等^[1]的滤纸片琼脂糖扩散法测定化合物 1~8。在含有 PDA 培养基的培养皿中接种 10 μL 玉米大斑病的分子孢子,涂布均匀,然后在同一培养皿上将灭菌纸盘(直径 6 mm)置于真菌接种剂周围,每个纸盘含有 31.25 μg 的测试样品、阳性对照(吡唑醚菌酯)以及相当体积的丙酮,每个药量重复 3 次,在 30 °C 黑暗条件下生长 3 天后,观察抑菌圈的大小。然后将具有明显抑菌圈的化合物用 48 孔培养板进行玉米大斑病孢子萌发研究,用于这些实验的分生孢子是从生长在 PDA 上的 3 天龄真菌培养基中收集的。收集分生孢子用 1/2 马铃薯葡萄糖肉汤(PDB:水 = 1:1)稀释悬浮液计数并立即用于生物测定。将供试样品溶解并用丙酮:水 = 1:1 稀释得到两倍的梯度浓度,并将 5 μL 样品添加到含有 95 μL 孢子悬浮液中。从而获得 9.76 到 312.50 μg/mL 的最终浓度,在旋转摇床上以 150 rpm, 30 °C 下培养 48 h 后使用光学显微镜对萌发和未萌发的分生孢子进行计数,并计算孢子发芽率。当芽管长度为孢子直径的 1.5 倍时认为孢子萌发。对每种浓度进行三个重复并在每个重复中计数 200 多个分生孢子。以吡唑醚菌酯为阳性对照,丙酮:水 = 1:1 为阴性对照。用 logistic 剂量-反应曲线(GraphPad Prism 5 统计软件)进行非线性回归分析得到 IC₅₀ 值。

2 实验结果

2.1 结构鉴定

化合物 1 黄色粉末;分子式 C₂₂H₁₉NO₅; ESI-MS: *m/z* 378 [M + H]⁺。¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ: 7.54(1H, s, H-1), 7.11(1H, s, H-4), 6.86(1H, d,

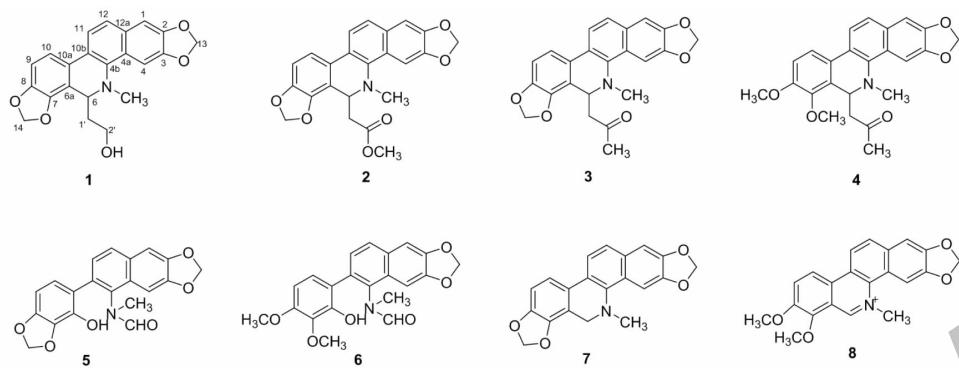


图 1 化合物 1~8 的化学结构

Fig. 1 The chemical structures of compounds 1-8

$J = 8.2$ Hz, H-9), 7.33 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-10), 7.49 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-11), 7.68 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-12), 6.06 (2H, s, H-13), 6.03 (2H, s, H-14), 4.47 (1H, dd, $J = 10.0, 4.9$ Hz, H-6), 1.80 (1H, m, H-1'a), 1.57 (1H, dt, $J = 14.4, 4.8$ Hz, H-1'b), 3.80 (2H, m, H-2'), 2.69 (3H, s, N-CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 99.9 (C-1), 147.1 (C-2), 148.5 (C-3), 104.6 (C-4), 127.1 (C-4a), 139.0 (C-4b), 56.8 (C-6), 125.6 (C-6a), 144.3 (C-7), 147.6 (C-8), 107.5 (C-9), 116.7 (C-10), 116.9 (C-10a), 123.9 (C-10b), 124.3 (C-11), 120.1 (C-12), 131.1 (C-12a), 101.4 (C-13), 101.1 (C-14), 43.0 (N-CH₃), 35.2 (C-1'), 61.6 (C-2')。以上数据与文献^[12]基本一致,故确定化合物 1 为 6-(2-羟基乙基)-5,6-二氢血根碱(结构见图 1)。

化合物 2 黄色粉末;分子式 C₂₃H₁₉NO₆;ESI-MS: m/z 406 [M + H]⁺。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.54 (1H, s, H-1), 7.09 (1H, s, H-4), 4.82 (1H, dd, $J = 8.7, 6.7$ Hz, H-6), 6.86 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-9), 7.34 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-10), 7.47 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-11), 7.69 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-12), 6.05 (2H, s, H-13), 6.04 (2H, s, H-14), 2.41 (2H, m, H-1'), 1.57 (1H, dt, $J = 14.4, 4.8$ Hz, H-1'b), 3.80 (2H, m, H-2'), 2.65 (3H, s, N-CH₃), 3.67 (3H, s, 2'-OCH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 101.6 (C-1), 147.6 (C-2), 147.1 (C-3), 104.3 (C-4), 127.6 (C-4a), 139.2 (C-4b), 54.7 (C-6), 125.8 (C-6a), 147.6 (C-7), 144.5 (C-8), 107.7 (C-9), 116.5 (C-10), 115.6 (C-10a), 124.0 (C-10b), 123.2 (C-11), 120.0 (C-12), 131.0 (C-12a), 100.8 (C-13), 101.0 (C-14), 43.1 (N-CH₃), 38.8 (C-1'), 171.8 (C-2'),

51.5 (2'-OMe)。以上数据与文献^[13]基本一致,故确定化合物 2 为 6-(2-甲氧基-2-氧化乙基)-5,6-二氢血根碱。

化合物 3 黄色粉末;分子式 C₂₃H₁₉NO₅;ESI-MS: m/z 390 [M + H]⁺。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.52 (1H, s, H-1), 7.10 (1H, s, H-4), 4.87 (1H, dd, $J = 10.5, 4.2$ Hz, H-6), 6.86 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-9), 7.33 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-10), 7.48 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-11), 7.70 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-12), 6.05 (2H, s, H-13), 6.03 (2H, s, H-14), 2.64 (1H, m, H-1'a), 2.30 (1H, dd, $J = 15.2, 4.2$ Hz, H-1'b), 2.06 (3H, s, H-3'), 2.65 (3H, s, N-CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 104.4 (C-1), 147.6 (C-2), 148.2 (C-3), 100.6 (C-4), 125.7 (C-4a), 139.3 (C-4b), 54.5 (C-6), 127.5 (C-6a), 144.3 (C-7), 147.2 (C-8), 107.6 (C-9), 116.1 (C-10), 124.0 (C-10a), 123.5 (C-10b), 116.5 (C-11), 120.0 (C-12), 131.0 (C-12a), 101.6 (C-13), 101.1 (C-14), 43.1 (N-CH₃), 46.6 (C-1'), 207.2 (C-2'), 31.3 (C-3')。以上数据与文献^[14]基本一致,故确定化合物 3 为 6-丙酮基二氢血根碱。

化合物 4 黄色粉末;分子式 C₂₄H₂₃NO₅;ESI-MS: m/z 406 [M + H]⁺。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.51 (1H, s, H-1), 7.10 (1H, s, H-4), 5.04 (1H, dd, $J = 11.2, 3.7$ Hz, H-6), 6.96 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-9), 7.54 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-10), 7.51 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-11), 7.71 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-12), 6.04 (2H, s, H-13), 2.58 (1H, dd, $J = 14.9, 11.3$ Hz, H-1'a), 2.26 (1H, dd, $J = 14.9, 3.7$ Hz, H-1'b), 2.06 (3H, s, H-3'), 2.64 (3H, s, N-CH₃), 3.96 (3H, s, 7-OCH₃), 3.93 (3H, s, 8-OCH₃); ¹³C NMR

(100 MHz, CDCl₃) δ: 104.5 (C-1), 147.6 (C-2), 148.2 (C-3), 100.6 (C-4), 128.2 (C-4a), 139.3 (C-4b), 54.9 (C-6), 127.4 (C-6a), 145.5 (C-7), 152.1 (C-8), 111.5 (C-9), 118.8 (C-10), 124.8 (C-10a), 123.8 (C-10b), 119.8 (C-11), 123.3 (C-12), 131.1 (C-12a), 101.0 (C-13), 61.0 (7-OCH₃), 55.8 (8-OCH₃), 42.8 (N-CH₃), 46.9 (C-1'), 207.6 (C-2'), 31.1 (C-3')。以上数据与文献^[15]基本一致,故确定化合物**4**为6-丙酮基白屈菜红碱。

化合物5 黄色粉末;分子式C₂₀H₁₅NO₆;ESI-MS:*m/z* 366 [M+H]⁺。¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ: 7.19 (1H, s, H-1), 7.06 (1H, s, H-4), 6.50 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-9), 6.60 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-10), 7.28 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-11), 7.73 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-12), 6.08 (2H, s, H-13), 6.00 (2H, s, H-14), 8.18 (1H, s, H-CHO), 2.99 (3H, s, N-CH₃);¹³C NMR(100 MHz, CDCl₃) δ: 99.0 (C-1), 149.5 (C-2), 148.5 (C-3), 101.6 (C-4), 135.9 (C-4a), 134.6 (C-4b), 165.4 (C-6), 148.2 (C-6a), 137.5 (C-7), 150.3 (C-8), 104.4 (C-9), 123.4 (C-10), 121.7 (C-10a), 128.7 (C-10b), 127.5 (C-11), 127.8 (C-12), 131.4 (C-12a), 101.6 (C-13), 101.6 (C-14), 33.0 (N-CH₃)。以上数据与文献^[16]基本一致,故确定化合物**5**该化合物为isointegramide。

化合物6 黄色粉末;分子式C₂₁H₁₉NO₆;ESI-MS:*m/z* 382 [M+H]⁺。¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ: 7.19 (1H, s, H-1), 7.06 (1H, s, H-4), 6.50 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-9), 6.59 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-10), 7.31 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-11), 7.72 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-12), 6.08 (2H, s, H-13), 8.18 (1H, s, H-CHO), 3.91 (3H, s, 7-OCH₃), 3.90 (3H, s, 8-OCH₃), 2.99 (3H, s, N-CH₃);¹³C NMR(100 MHz, CDCl₃) δ: 99.2 (C-1), 149.3 (C-2), 148.1 (C-3), 104.0 (C-4), 135.7 (C-4a), 128.7 (C-4b), 164.7 (C-6), 146.8 (C-6a), 135.8 (C-7), 152.1 (C-8), 104.3 (C-9), 125.1 (C-10), 118.7 (C-10a), 133.4 (C-10b), 127.4 (C-11), 127.5 (C-12), 131.3 (C-12a), 101.5 (C-13), 61.2 (7-OCH₃), 55.9 (8-OCH₃), 33.1 (N-CH₃)。以上数据与文献^[17]基本一致,故确定化合物**6**为arnottianamide。

化合物7 淡黄色粉末;分子式C₂₀H₁₅NO₄;ESI-MS:*m/z* 334 [M+H]⁺。¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ: 7.07 (1H, s, H-1), 7.66 (1H, s, H-4), 4.18 (2H, s, H-6), 6.82 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-9), 7.26 (1H,

d, *J* = 8.1 Hz, H-10), 7.44 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-11), 7.65 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-12), 6.01 (2H, s, H-13), 5.99 (2H, s, H-14), 2.59 (3H, s, N-CH₃);¹³C NMR(100 MHz, CDCl₃) δ: 104.2 (C-1), 147.9 (C-2), 147.4 (C-3), 100.6 (C-4), 126.4 (C-4a), 147.0 (C-4b), 48.5 (C-6), 113.5 (C-6a), 142.4 (C-7), 144.5 (C-8), 107.9 (C-9), 116.1 (C-10), 127.1 (C-10a), 124.3 (C-10b), 120.2 (C-11), 123.8 (C-12), 130.7 (C-12a), 100.9 (C-13), 101.2 (C-14), 41.6 (N-CH₃)。以上数据与文献^[18]基本一致,故确定化合物**7**为二氢血根碱。

化合物8 黄色粉末;分子式C₂₁H₁₈NO₄⁺;ESI-MS:*m/z* 349 [M+H]⁺。¹H NMR(400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.77 (1H, s, H-1), 7.77 (1H, s, H-4), 10.11 (1H, s, H-6), 8.31 (1H, d, *J* = 8.9 Hz, H-9), 8.83 (1H, d, *J* = 8.9 Hz, H-10), 8.28 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-11), 8.27 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-12), 6.35 (2H, s, H-13), 5.00 (3H, s, N-CH₃);¹³C NMR(100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 106.3 (C-1), 149.2 (C-2), 148.2 (C-3), 106.3 (C-4), 120.7 (C-4a), 132.0 (C-4b), 150.4 (C-6), 119.2 (C-6a), 151.3 (C-7), 145.9 (C-8), 131.5 (C-9), 119.8 (C-10), 128.5 (C-10a), 132.7 (C-10b), 104.8 (C-11), 126.5 (C-12), 132.0 (C-12a), 103.4 (C-13), 52.7 (N-CH₃), 57.5 (7-OCH₃), 62.7 (8-OCH₃)。以上数据与文献^[19]基本一致,故确定化合物**8**为白屈菜红碱。

2.2 抗玉米大斑病活性筛选

对从博落回茎中分离得到的8个单体化合物进行抗玉米大斑病活性测试,化合物**1~7**在31.25 μg/纸片剂量下对玉米大斑病无活性,而化合物**8**能明显观察到抑菌区。然后对化合物**8**进行玉米大斑病孢子萌发实验,化合物**8**表现出比阳性对照吡唑醚菌酯($IC_{50} = 18.0 \pm 0.5 \mu\text{g/mL}$)更强的活性,其 IC_{50} 值为 $12.0 \pm 0.1 \mu\text{g/mL}$ 。

3 结论

本研究采用活性追踪的方法以及正反相硅胶和HPLC等分离技术对博落回茎中的生物碱类成分进行了系统研究,共分离鉴定了8个生物碱类化合物,其中化合物**1,2,5,6**首次从博落回茎中分离得到。在抗玉米大斑病活性筛选测试中,化合物**8**表现出明显的抑菌活性,而化合物**1~7**在31.25 μg/纸片剂量未表现出明显的抑菌活性。然后化合物**8**在玉米大斑病孢子萌发实验中,表现出比阳性对照吡唑醚菌酯($IC_{50} = 18.0 \pm 0.5 \mu\text{g/mL}$)更强的活性,其

IC_{50} 值为 $12.0 \pm 0.1 \mu\text{g/mL}$ 。其中化合物**8**(白屈菜红碱)首次报道抗玉米大斑病的活性,强于阳性对照(吡唑醚菌酯),而吡唑醚菌酯是一种广泛用于农业上控制植物病原真菌的新型杀菌剂。其他化合物未表现明显的抗玉米大斑病活性,这与以往没有文献报道这些化合物具有抗植物病原真菌活性保持一致。白屈菜红碱具有抗植物病原菌的活性,如抗番茄灰霉病^[20]、水稻绿脓杆菌^[21]等植物病原菌,而抑制水稻绿脓杆菌的可能机制是使其细胞壁变薄破裂以及破坏菌丝膜孢子活性氧积累,从而导致病原真菌凋亡。

以上研究初步表明白屈菜红碱可用作防治玉米大斑病的一种潜在新型生物农药,为开发新型生物农药的原料提供了一种可能,但是还需要进一步的机理机制研究来阐明白屈菜红碱抗玉米大斑病等植物病原真菌机制的特定靶标,从而有助于新型生物农药的潜在研发及利用。

参考文献

- Yang SS, Chen GL, Wei J. Research progress and control measures of *Exserohilum turcicum* [J]. Bull Agr Sci Technol (农业科技通讯), 2019, 1(1): 134-136.
- Spotts RA, Cervantes LA. Populations, pathogenicity, and benomyl resistance of *Botrytis* spp., *Penicillium* spp. and *Mucor piriformis* in packing houses [J]. Plant Dis, 1986, 70: 106-108.
- Gan-Mor S, Matthews GA. Recent developments in sprayers for application of biopesticides [J]. Biosyst Eng, 2003, 84: 119-125.
- Feng G, Zhang J, Feng JT, et al. Isolation and identification of insecticidal composition of *Macleaya microcarpa* [J]. Acta Bot Bor-Oecd Sin (西北植物学报), 2008, 28 (1): 179-182.
- Feng G, Zhang J, Liu YQ. Inhibitory activity of dihydrosanguinarine and dihydrochelerythrine against phytopathogenic fungi [J]. Nat Prod Res, 2011, 25: 1082-1089.
- Liu H, Tan ML, Shan TJ, et al. Alkaloids and biological activities of *Macleaya cordata* and their application [J]. Chin Wild Plant Resour (中国野生植物资源), 2009, 28 (3): 21-23.
- Yu XL, Gao XL, Zhu ZX, et al. Alkaloids from the Tribe Bocconiaeae (Papaveraceae): a chemical and biological [J]. Molecules, 2014, 19: 13042-13060.
- Wang XJ, Min CL, Han PL. Antibacterial effect of the extracts from different parts of *Macleaya cordata* against coliforms [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2016, 28: 247-250.
- Zhang GZ, You MS. Study on the Insecticidal Action of *Macleaya cordata* [J]. J Anhui Agr Sci (安徽农业科学), 2008, 36: 7312-7313.
- Zhou XY, Yin J, Chen LJ, et al. Effect of extracts from *Macleaya cordata* on the bioactivities of two pests in tea [J]. J Anhui Agr Sci (安徽农业科学), 2007, 35: 1408-1415.
- Xu LX, Wu P, Wright SJ, et al. Bioactive polycyclic tetramate macrolactams from *Lysobacter enzymogenes* and their absolute configurations by theoretical ECD calculations [J]. J Nat Prod, 2015, 78: 1841-1847.
- Wang YW, Zhang GZ. Bioactivity and effective components of *Macleaya cordata*, a pesticidal plant [J]. Guizhou Agr Sci (贵州农业科学), 2011, 39 (12): 136-138.
- Chun MS, Da HL, Sheng GL, et al. Racemic alkaloids from *Macleaya cordata*: structural elucidation, chiral resolution, and cytotoxic, antibacterial activities [J]. RSC Adv, 2016, 6: 41173-41180.
- Julian A, Delgado G. (±) Bocconarborines A and bnovel 1, 3-bis-benzo[c] phenanthridinyl acetone alkaloids from *Bocconia arborea* [J]. Rev Soc Quim MES, 2001, 45 (4): 189-194.
- Miao F, Yang XJ, Zhou L, et al. Structural modification of sanguinarine and chelerythrine and their antibacterial activity [J]. Nat Prod Res, 2011, 25: 863-875.
- Hu J, Shi XD, Chen JG, et al. Alkaloids from *Toddalia asiatica* and their cytotoxic, antimicrobial and antifungal activities [J]. Food Chem, 2014, 148: 437-444.
- Wang CF, Fan L, Tian M, et al. Cytotoxicity of benzophenanthridine alkaloids from the roots of *Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC. var. *fastuosum* How ex Huang [J]. Nat Prod Res, 2015, 29: 1380-1383.
- Peng WA, Liao HQ, Yi CY. Study on isolation and identification of alkaloids from *Eomecn chionantha* [J]. Guid J Tradit Chin Med Pharm (中医药导报), 2018, 24 (17): 64-65.
- Meng FY, Zuo GY, Hao XY. Antifungal activity of the benzo[c]phenanthridine alkaloids from *Chelidonium majus* Linn against resistant clinical yeast isolates [J]. J Ethnopharmacol, 2009, 125: 494-496.
- Wianowska D, Garbaczewska S, Cieniecka-Roslonkiewicz A, et al. Chemical composition and antifungal activity of *Chelidonium majus* extracts-antagonistic action of chelerythrine and sanguinarine against *Botrytis cinerea* [J]. Chem Ecol, 2018, 34: 582-594.
- Wei QH, Cui DZ, Liu XF, et al. *In vitro* antifungal activity and possible mechanisms of action of chelerythrine [J]. Pestic Biochem Physiol, 2020, 164: 140-148.