

◎ 王 沫 主编

农药发展与 环境安全

*Nongyao
Faxhan Yu Huanjing Anquan*



中国农业出版社



农药发展与环境安全

王 沫 主 编

中 国 农 业 出 版 社

图书在版编目 (CIP) 数据

农药发展与环境安全 / 王沫主编. —北京: 中国农业出版社, 2006. 8

ISBN 7-109-11149-0

I. 农... II. 王... III. 农药污染-污染防治-学术会议-文集 IV. X592-53

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2006) 第 109573 号

中国农业出版社出版发行

(北京市朝阳区农展馆北路 2 号)

(邮政编码 100026)

责任编辑 李文宾

北京昌平环球印刷厂印刷

2006 年 9 月第 1 版 2006 年 9 月北京第 1 次印刷

开本: 787mm×1092mm 1/16 印张: 16

字数: 382 千字

定价: 80.00 元

(凡本版图书出现印刷、装订错误, 请向出版社发行部调换)

第九届全国农药学科教学 科研研讨会贺词

(代序)

首先让我热烈祝贺“第九届全国农药学科教学科研研讨会”在华中农业大学隆重召开，韩国和我国有关部门领导、专家、企业家光临会议，必将在会议上提出农药发展新思路、增添新内容、扩大各单位间交流沟通的渠道。在此我衷心祝愿大会取得圆满成功。

我作为研讨会发起人之一，在此简述其历程。该会原名为“全国农业高校植物化学保护教学科研研讨会”。进入 20 世纪 90 年代后期，由于化保、农药学在很多学校发展迅速，人才市场看好，各校除了将化保继续作为植保专业五门专业骨干课外，还增加了一些有关农药学选修课，有的院校相继建立了农药学专业。因此于第五届研讨会上代表们通过讨论决定更名为“全国农业高校农药学科教学科研研讨会”，第六届会议由山东农业大学主办，参会代表较为广泛，不仅有农业高校，而且有农药科研部门以及农药行政管理部门的代表参加，代表们经讨论又进一步将会议名称改称为全国农药学科教学科研研讨会，至今，已是第三届沿用这个会议名称。回忆 1990—2004 年分别在安徽农业大学、新疆农业大学、华南农业大学、吉林农业大学、云南农业大学、山东农业大学、中国农业大学、西北农业大学相继召开的八届研讨会，每届会议均体现内容务实、学术思想时代性强，创新点明显等特点，从而促进了化保、农药学科的改革与发展。从这次研讨会的主题与内容看，进一步体现了这些特点，我相信，会议一定会取得丰硕成果。

化保、农药学的教学与科研在各校为何能取得如此惊人速度的发展，这首先应归功于长期从事这一领域教学与科研的老师们勇于探索、大胆创新和

永不满足的新时代精神，并且坚持走教学、科研、开发三结合道路。每前进一步都留下了老师们的深深脚印，老师们，你们辛苦了。

回首往事，过去绝大多数院校从事化保教学的仅为 1~2 人，分属昆虫或植病教研室，设备简陋，有的甚至没有专用实验室，按现代用词可谓“弱势群体”。而当今，从事这一领域工作的高学位、高职称，硕、博研究生导师汇聚一堂，设备先进或正在走向先进，很多人手中都有科研项目甚至国家级重点研究项目，招收的研究生对其素质及录取分数线的要求也越来越严、越高。由“弱势群体”一跃而成学生和社会羡慕的学科或专业。通过这次会议，希望代表们进一步交流发展和创新经验，相互学习、共同提高，再创辉煌。

老师们，让我们划起智慧的双桨，把握住前进方向，迎风破浪，逆流而上，那边风光独秀、更好。

谢谢会议主持单位华中农业大学和工作人员。

谢谢各位贵宾和出席会议的全体代表！

山东农业大学 慕立义 敬贺

2006 年 7 月

前 言

农药发展是一个永恒的主题,环境安全是其根本。本书以《农药发展与环境安全》为书名,汇集了我国农药学高等教育领域和农药科研领域的部分最新研究成果。作为第九届全国农药学科教学科研研讨会的部分参会论文,不但反映了我国近年来的农药学人才培养经验和教学改革成果,而且比较全面的反映了以环境安全为根本目的的农药发展趋势,对今后一个时期我国农药学高等教育和新农药研发具有不可忽视的借鉴作用。

全国农药学科教学科研研讨会是我国农药学高等教育领域的一个传统性会议,起始于1990年,当时称之为“全国《植物化学保护》课程教学科研研讨会”,第五届时经代表讨论改称为“全国农业高校农药学科教学科研研讨会”,第六届时,又改称为“全国农药学科教学科研研讨会”,为使会议的组织规范化,在第八届会议上由代表推举产生了一个7校联络组,西北农林科技大学为秘书单位,并规定每届会议闭会时要决定下届会议的主办单位,负责筹划每2年一届的研讨会。从其会议名称的几度演变,可以看出我国农药学高等教育的发展不是孤立的,农药学人才培养也不仅仅是高等学校的事,更不可能仅仅是农业高校的事,农药学人才培养需要多部门、多学科的合力,此届会议代表的广泛性正显示了我国农药学人才培养的这种必然。

本届会议还吸引了韩国国立首尔大学等韩国高等学校及韩国农

林振兴厅的代表莅会,并为会议撰写了较高学术水平的研究论文。韩国的农药学高等教育有其独特的地方,从其论文可见一斑,韩国的农药研究成果也值得我们参考。

本书疏漏或不当之处,恳请读者批评指正。本书的出版得到香港惠记集团武汉天惠生物工程有限公司、珠海旺世有限公司、拜耳作物科学公司、武汉瑞华仪器设备有限责任公司和中国农业出版社的大力支持,在此一并致谢。

编 者

2006年7月

目 录

► 综述论文

新烟碱类杀虫剂选择作用的分子机理	唐振华 (2)
我国农用杀螨剂的开发研究进展	周 靖 徐汉虹 (12)
荧光探针技术及其在农业中的应用研究进展	王玉健 徐汉虹 (17)
松墨天牛的研究进展	张垒岩 徐汉虹 郭 景 (23)
生物多样性与农药安全	查友贵 王 静 汤东生 肖 春 (30)
甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂抗药性研究进展	
..... 侯东艳 陈明丽 纪明山 祁之秋 谷祖敏 张 扬 (36)	
地衣芽孢杆菌及其对香蕉黄叶病菌拮抗活性研究进展	张玉娟 朱西儒 刘聪敏 (41)
农用抗生素多杀菌素(Spinosyns)的研究进展	夏海洋 王晓芳 林开春 (47)
蛇床子素的杀菌机理	朱福兴 游 红 曾水云 (60)
Botanical House Dust Mite Control Agents and Mite Allergen Denaturing Agents: Development and Commercialization	
..... Young - Joon Ahn Hyun - Kyung Kim Jun - Jae Lee (65)	
Recent Development of Microbial Insecticides in Korea	
..... Yeon Ho Je Jae Young Choi Ming Shun Li (72)	

► 教改论文

《植物化学保护》实验教学体系改革与实践	
..... 王英姿 纪明山 程根武 魏松红 祁之秋 谷祖敏 张 扬 李兴海 (78)	
《植物化学保护》课程双语教学的探讨 ——杀菌剂部分双语教学改革的实践与体会	
..... 潘汝谦 雷贺春 徐大高 徐汉虹 曾鑫年 (81)	
植物化学保护实验教学改革与建设	高聪芬 苏建亚 施海燕 陈 进 沈晋良 (85)
培养创新性人才的方法与体会	王开运 王金信 姜兴印 慕 卫 罗万春 (88)
浅谈植保专业农药学课程的设置	王 静 查友贵 肖 春 兰建强 (91)
河北农业大学实行学分制条件下农药学课程体系的建设	
..... 张金林 刘颖超 张利辉 庞民好 赤国彤 张凤国 (94)	
基于 powerbuilder 可视化《农药概论》试卷库的研制	
..... 刘颖超 庞民好 张利辉 张金林 (98)	
《农药分析》课程的教学与实践	曾水云 朱福兴 游 红 王 沫 (102)
产学研结合服务的平台 ——武汉天惠生物技术产业化孵化器	吴 华 朱福兴 曾水云 (107)

研究论文

- α -三联噻吩的环糊精包合物对松材线虫的杀虫作用 宛梅丹 徐汉虹 胡 林 (112)
- 雀儿舌头根提取物对菜粉蝶幼虫生物活性的研究 韩巨才 刘慧平 王文琪 孙九光 (117)
- 三种杀虫剂对主要麦田天敌的室内毒力评价 高占林 党志红 李耀发 潘文亮 (122)
- 吸水膨胀型灭鼠剂活性成分的分析测定研究 曾鑫年 杨淑芳 黎卓维 (127)
- 几种生物农药对叶菜主要害虫的毒力测定 贤振华 叶一强 龙明华 韦 锋 巫敏权 邓一芝 (133)
- 三种植物提取物对二点叶螨的生物活性 杨顺义 郭东艳 沈慧敏 张新虎 (140)
- 拮抗放线菌 A11 防治水稻稻瘟病的研究 叶亚军 张 敏 王学贵 汤志良 辛庆德 杨开烈 (145)
- 福星和世高及其复配剂对黄瓜枯萎病菌的毒力测定 梁巧兰 徐秉良 马鸿文 (151)
- 植物内生细菌 fq12 与 yc8 对灰霉病菌的拮抗作用 刘慧平 韩巨才 张立新 张 姝 (155)
- 几种新合成化合物的抑菌活性初探 游 红 李建洪 马敬中 朱福兴 曾水云 (159)
- 几种杀菌剂对水稻稻曲病病菌的室内毒力测定 高 娃 陈 冲 罗汉刚 张凯雄 王胜桥 张求东 李建洪 (166)
- 拟青霉 NL0710 的分离和特性研究 王小欣 李建洪 (170)
- 2,4-D 抗原合成及多克隆抗体制备 魏松红 刘 冰 田成文 纪明山 李会娜 曹远银 (175)
- 黄曲条跳甲对不同杀虫剂抗性机理的初步研究 傅建炜 魏 辉 李建宇 邱良妙 尤民生 (179)
- 植物提取物对小菜蛾部分抗药性相关酶系和保护酶系活性的影响 魏 辉 邱良妙 傅建炜 黄玉清 吴 玮 占志雄 (187)
- 溴氰菊酯对甜菜夜蛾蛹黑型突变体的抗性选育及生化机理研究 马 琛 王 沫 (194)
- 甜菜夜蛾对辛硫磷的抗性筛选 刘子晶 曾水云 王 沫 朱福兴 (201)
- 不同处理对稻米中农药残留的消解去除作用研究 刘贤进 余向阳 张心明 (207)
- 农药厂排放废水中扑草净的气相色谱检测 王再强 周天雄 (214)
- 氟氯氰菊酯在资丘木瓜中的残留动态研究 舒少华 王 沫 许勇华 张振媛 (218)
- 多菌灵和多抗霉素可湿性粉剂加工的初步研究 王学贵 邓 杨 蒋素蓉 王海建 张 敏 (223)
- 正交试验法优选川乌提取工艺的研究 许勇华 王 沫 (228)
- Strategy of Resistance Management for Twospotted Spider Mite in Korea Joon-Ho Lee Sanghyun Koh JaeSeong Im JeongJoon Ahn (232)
- 防治茶云纹叶枯病混配剂的筛选与联合毒力测定 王学贵 祝冬勤 陈华保 蒋素蓉 张 敏 (235)
- 氧化乐果对棉花幼苗多酚氧化酶活性的影响 王世霞 高希武 梁 沛 史雪岩 (240)

综 述 论 文

新烟碱类杀虫剂选择作用的分子机理

唐振华

(中国科学院上海植物生理生态研究所, 上海 200032)

摘要: 新烟碱类是重要的一类新颖杀虫剂, 它们的发现是近 30 年来杀虫剂研究的一个里程碑。烟碱类和新烟碱类杀虫剂虽然都是作为后突触烟碱乙酰胆碱受体 (nAChRs) 的激动剂作用于神经系统, 但由于它们的分子特性和作用方式不同, 新烟碱类杀虫剂对昆虫表现出明显的选择性毒性。本文根据烟碱类和新烟碱类的结构与活性的关系、分子特性以及它们与 nAChR 的结合部位和亚部位的选择性来阐释新烟碱类杀虫剂选择作用的分子机理。

关键词: 新烟碱类; 烟碱类; nAChRs; 选择性毒性; 分子机理

烟碱乙酰胆碱受体 (nicotinic acetylcholine receptors, nAChRs) 是烟碱、新烟碱类、沙蚕毒素类和多杀菌素等杀虫剂的作用靶标, 但由于它们的作用位点和作用方式不同, 在害虫防治中发挥着不同的作用, 由于这类杀虫剂的作用靶标与有机氯、有机磷和氨基甲酸以及拟除虫菊酯类杀虫剂不同, 故它们之间不存在靶标交互抗性^[1]。新烟碱类是自拟除虫菊酯类杀虫剂商品化以来, 增长最快的一类杀虫剂, 该类杀虫剂的销售量约占杀虫剂市场的 15%^[2~4]。就吡虫啉而言, 全世界年销售额已达 14 亿美元 (不包括中国) (刘长令, 张敏恒, 2004, 个人通信)。新烟碱类与烟碱类虽然都作为激动剂作用于神经后突触 nAChRs, 但由于它们的分子特性和作用方式不同而表现出明显的选择性。“新烟碱类” (neonicotinoids) 是由 Tomizawa 和 Yamamoto^[5]在 1993 年提出的, 是指涵盖吡虫啉及其相关的杀虫剂。“烟碱类” (nicotinoids) 是指天然烟碱、epibatidine 和合成的 ABT-594 和去硝基吡虫啉等。这两类杀虫剂的选择性毒性有很大的差异。烟碱类对哺乳动物毒性高, 而杀虫活性有限; 新烟碱类是高活性的杀虫剂, 对哺乳动物毒性低。本文试图从新烟碱和烟碱类的分子结构和特性、作用方式以及对 nAChRs 的作用部位和亚部位的选择性来阐释其选择作用的分子机理。

1 烟碱类与新烟碱类化合物

当前的合成有机杀虫剂往往是通过天然产物进行修饰改造后发现的。从天然除虫菊到合成的拟除虫菊酯就是一个很好的例证。烟碱虽然现在仍作为一种杀虫剂, 但也曾试图改进其杀虫活性, 例如 3', 4'-去氢烟碱和 3-(烷甲氨基)-吡啶类, 但至今未获成功。在 1970 年壳牌发展公司发现新烟碱的先导, 2-(二溴硝甲基)-3-甲基吡啶, 对家蝇和桃蚜有中等活性^[6~8], 然后经结构优化, 获得了对玉米螟幼虫具有较高活性的虫噻烷 (nithiazine)。但由于其光不稳定而未能商品化。后来日本拜耳作物公司对其结构做了重要改进, 即引入一个氯代吡啶甲基基团, 产生了一个对叶蝉有很好效果的硝基亚甲基原型 (nitrom-

ethylene prototype) 化合物, 但仍未解决光不稳定性问题。于是对其结构与活性作进一步研究后发现, 用噻唑啉或氧代二噻, 或用非环对应物取代吡啶啉, 以及用氯代噻唑甲基或四氢呋喃甲基取代氯代吡啶甲基仍能保持高活性。将其中的硝基亚甲基改变为硝基胍或氰基脒后, 发现这些化合物不但对光稳定, 而且具有高杀虫活性^[9,10]。

新烟碱类和烟碱类化合物的结构如图 1 所示。新烟碱类根据有无杂环而分为杂环类和非

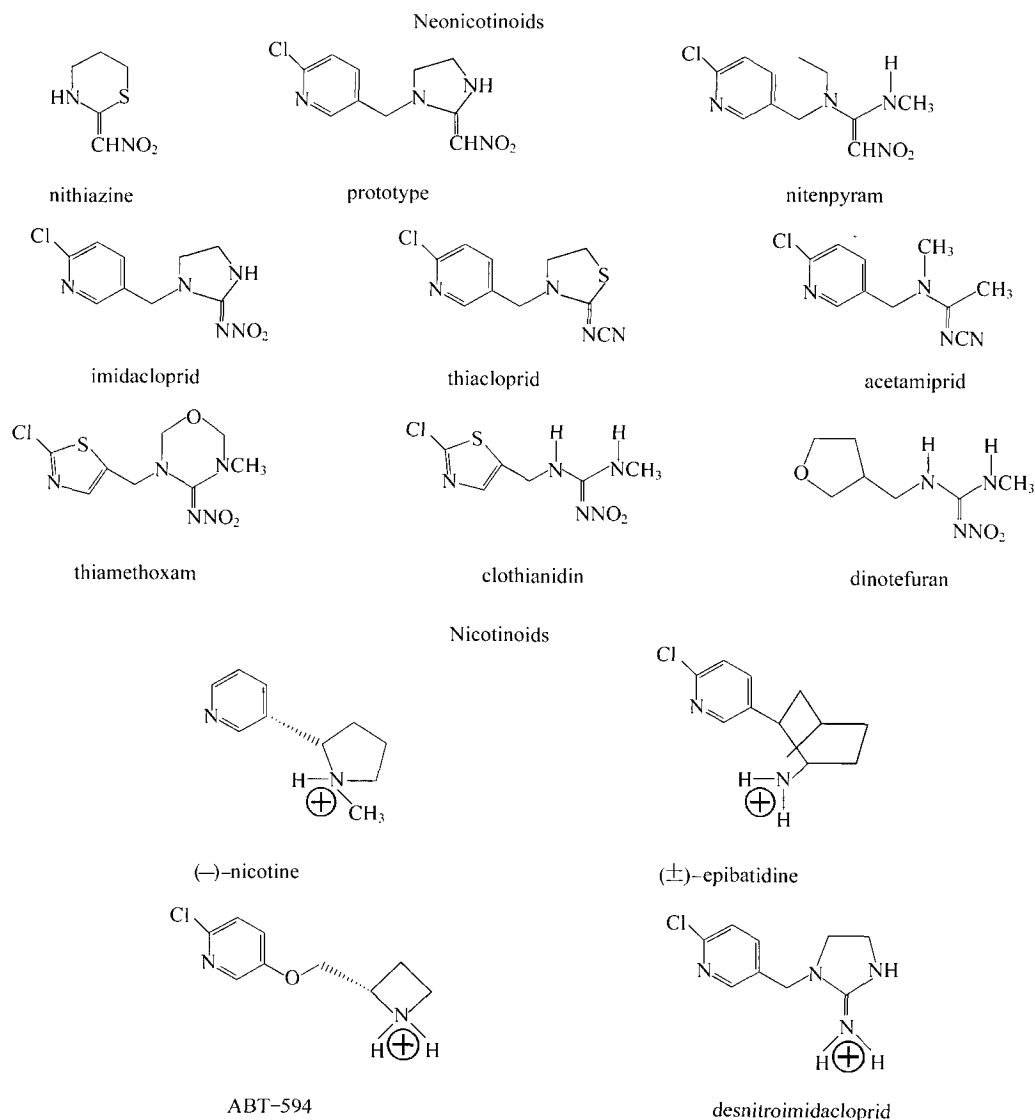


Fig. 1 Nine neonicotinoid insecticides and four nicotinoids

The neonicotinoids are nitromethylenes ($C=CHNO_2$), nitroguanidines ($C=NNO_2$), and cyanoamidines ($C=NCN$). Compounds with 6-chloro-3-pyridinylmethyl, 2-chloro-5-thiazolylmethyl, and 2-tetrahydrofuranmethyl moieties are referred to as chloropyridinyls (or chloronicotinyls), chlorothiazolyls (or thianicotinyls), and tetrahydrofuranmethyl, respectively. The nicotinoids are naturally occurring [(-)-nicotine and (-)-epibatidine] and synthetics (ABT-594 and desnitroimidacloprid)

环状类。杂环类有虫噻烷、吡虫啉 (imidacloprid)、噻虫啉 (thiacloprid) 和噻虫嗪 (thiamethoxam), 非环类有烯啶虫胺 (nitenpyram)、啉虫脒 (acetamiprid)、噻虫胺 (clothianidin) 和呋虫胺 (dinotefuran)。新烟碱类也可根据其结构特点分为三类: 硝基亚甲基类 (nitromethylenes) ($C=CHNO_2$)、硝基胍类 (nitroguanidines) ($C=NNO_2$) 和氰基脒类 (cyanoamidines) ($C=NCN$)。由于这些化合物具有 6-氯-3-吡啶甲基, 或 2-氯-5-噻唑甲基, 或 3-四氢呋喃甲基部分, 故又分别称氯代吡啶类 (chloropyridinyls) (或氯代烟碱类), 氯代噻唑类 (chlorothiazalyls) (或噻唑烟碱类) 和四氢呋喃类 (tetrahydrofurans)。烟碱类包括天然的 (一) 烟碱和 (±) - epibatidine, 以及合成的 ABT-594 和去硝基吡虫啉等。

根据 [3H] 吡虫啉与桃蚜 (*Myzus persicae*) 和扁豆蚜 (*Aphis craccivora*) 的 nAChR 结合以及各种新烟碱类化合物对其的抑制作用, 将新烟碱类分为竞争性抑制剂和非竞争性抑制剂两类。N-甲基类似物噻虫嗪、吡虫啉为非竞争性抑制剂, 而啉虫脒、烯啶虫胺、噻虫啉、噻虫胺、虫噻烷为竞争性抑制剂^[11]。

烟碱类的氮原子和新烟碱类的相应部位的 ^{15}N NMR 表明, 在两个基团相应氮原子化学移位 (shift) 是不同的。这意味着在新烟碱类中, 相当于烟碱类的氮上的非共享电子对受到相邻的强吸电效应的基团影响, 相应的氮原子部分或全部变成正电荷^[12]。

2 烟碱类和新烟碱类在昆虫和哺乳动物中的作用及其专一性

现以吡虫啉和烟碱分别作为新烟碱类和烟碱类的代表, 阐述它们在哺乳动物和昆虫中的选择性作用。在昆虫中, 吡虫啉因低疏水性 (水溶性仅为 0.61 g/L), 表皮穿透作用弱。但由于其 logP 值 (0.57) 远比烟碱 (0.93) 低, 易被植物吸收, 故可作为植物内吸剂, 主要通过刺吸而进入昆虫体内。这就是为什么新烟碱类对鳞翅目昆虫效果差而对半翅目昆虫效果好的原因所在。进入昆虫体内的吡虫啉, 在生理 pH 下, 不易被质子化。吡虫啉的胍部位质子化和去质子化的 pKa 值分别为 1.56 和 11.12, 这表明在生理 pH 状态仅 0.000 2% 的吡虫啉被质子化^[13]。这样吡虫啉容易转移入昆虫中枢神经系统 (central nervous system, CNS), 并能很好地与靶标部位 nAChR 的亚部位结合起作用。另一方面, 烟碱的 logP 值大, 水溶性可达无穷大^[14], 表皮穿透作用强, 内吸性差。烟碱的 pKa 值为 7.90, 因此进入昆虫体内后在生理 pH 下, 89% 的会被质子化, 于是不易转移入昆虫中枢神经系统, 从而限制了烟碱到达靶标部位, 故杀虫活性比吡虫啉差。

在哺乳动物中, nAChR 不像昆虫一样仅存在于 CNS, 而且还存在于外周神经系统 (peripheral nervous system, PNS), 并且还存在于血脑屏障 (blood brain barrier)。吡虫啉进入哺乳动物体内后, 与 PNS 和 CNS nAChR 的作用均很弱, 况且穿透血脑屏障的能力很差, 从而限制其到 CNS 的 nAChR, 故对哺乳动物表现出低毒。另一方面, 由于烟碱对表皮穿透作用强, 进入体内后在生理 pH 时易被质子化, 虽然其穿透血脑屏障的能力也较差, 但与 PNS 的 nAChR 亚部位的作用强, 故对哺乳动物产生高毒性^[12]。

现将新烟碱类和烟碱类化合物对昆虫和哺乳动物 $\alpha 4\beta 2$ nAChR 的专一性列于表 1。从表 1 可以看出, 烟碱类 4 个化合物的选择性比 (selectivity ratio) (脊椎动物 IC_{50} /昆虫 IC_{50}) 均很小, 而新烟碱类的 9 个化合物的选择性比均大大地大于烟碱类。在新烟碱类中的选择性

比依次为烯啶虫胺>噻虫胺>原型 (prototype) >吡虫啉>噻虫啉>呋虫胺>啉虫脒>噻虫嗪>虫噻烷。

Table 1 Specificity of neonicotinoids and nicotinoids for insect and vertebrate $\alpha 4 \beta 2$ nicotinic receptors^[4]

Compound	IC ₅₀ nM		Selectivity ratio
	Insect	Vertebrate $\alpha 4\beta 2$	
Neonicotinoids			
Acetamiprid	8.3	700	84
Clothianidin	2.2	3 500	1 591
(±) - Dinotefuran	900	>100 000	>111
Imidacloprid	4.6	2 600	565
Nitenpyram	14	49 000	3 500
Nithiazine	4 800	26 000	5.4
Prototype	0.24	210	875
Thiacloprid	2.7	860	319
Thiamethoxam	5 000	>100 00	>20
Nicotinoids			
Desnitroimidacloprid	1 530	8.2	0.005
Descyanothiacloprid	200	4.4	0.022
(—) - Nicotine	4 000	7.0	0.002
(±) - Epibatidine	430	0.04	0.001

3 新烟碱类与烟碱乙酰胆碱受体的结合部位和亚结合部位的专一性

nAChRs 是神经递质门控离子通道的一个家族。它在脊椎动物和无脊椎动物的后突触膜处的神经信号传递中起着重要作用。脊椎动物 nAChR 是由 5 个亚基组成的一个五聚体, 这 5 个亚基可由 10 个 α ($\alpha 1 - \alpha 10$)、4 个 β ($\beta 1 - \beta 4$) 和 δ 、 γ 以及 ϵ 亚基组合而成。由于这些亚基的组合不同, 可以形成多种功能的异源五聚体或同源五聚体, 从而产生不同的药理学特性。有关 nAChRs 的结构与功能, 作者已做过详述^[1], 在此不再赘述。虽然目前对昆虫 nAChR 的特性了解较少, 但也认为它们是五聚体, 并也显现出亚基的多样性。从黑腹果蝇 (*Drosophila melanogaster*) (7 个 α 和 3 个非 α 基因)^[15,16] 和冈比亚按蚊 (*Anopheles gambiae*) (9 个 α 和一个非 α 基因)^[17] 的基因组中已鉴定了 10 个亚基基因。此外还在桃蚜、蝗虫 (*Locusta migratoria* 和 *Schistocerca gregaria*)、烟草天蛾蛾 (*Manduca sexta*)^[1,18]、蜜蜂 (*Apis mellifera*)^[19,20]、褐稻虱 (*Nilaparvata lugens*)^[21] 和猫虱 (*Ctenocephalides felis*)^[22] 中克隆了不同的亚基基因。

新烟碱类对脊椎动物 PNS 的 nAChR 亚型 $\alpha 1 \gamma \alpha \delta \beta 1$ 或对有些神经元亚型 [$\alpha 3 \beta 2$ (或 $\beta 4$) $\alpha 5$ 、 $\alpha 4 \beta 2$ 和 $\alpha 7$] 的影响很小, 甚至无影响。新烟碱类结构的微小改变, 在脊椎动物 nAChRs 中会表现出不同的亚型选择性。具有高杀虫活性的硝基亚甲基类似物, 对昆虫 $\alpha 3 \beta 2 \beta 4 \alpha 5$ 或 $\alpha 7$ 亚型的亲和性比烟碱的亲和性高 (表 1)^[4]。由上可见, 在对杀虫剂安全性评

估时,不但要考虑整个 nAChR,还应考虑其亚型。

大多数 nAChR 是由 2 个 α 亚基和 3 个非 α 亚基组成的。在 *Xenopus* 卵母细胞中表达时, $\alpha 7$ 、 $\alpha 8$ 和 $\alpha 9$ 亚基形成单聚体。激动剂结合功能域由 α 亚基上的噻扑 (loop) A、B 和 C 连同非 α 亚基上的噻扑 I 和 F 一起构成或形成 α 亚基同聚体。因为新烟碱类都是激动剂,所以它们的结合部位与乙酰胆碱 (ACh) 共享一个结合部位^[23]。

$\alpha 4\beta 2$ 亚型由 2 个 $\alpha 4$ 和 3 个 β 亚基 (异源五聚体) 组成。 $\alpha 7$ 亚型是一个同源五聚体结构^[24]。激动剂结合部位位于亚基之间的界面区。不同的亚基组成可产生性质不同的结合位点。在所有亚型中,配体结合部位都由芳族氨基酸残基组成的一个保守核心^[25~28]。相邻的可变残基对整个亚基可产生其相应的药理学特性^[24]。因此,发现高选择性亚型的结合化合物是烟碱药物发展的一个重要方面。

新烟碱类在昆虫和脊椎动物之间的选择毒性主要由于其对昆虫和脊椎动物 nAChRs 的不同敏感性所致^[3,4]。例如,新烟碱同位素配体 [^3H] 吡虫啉 ([^3H] IMI) 对昆虫而言是一个极好的探针,但不是脊椎动物 $\alpha 7$ nAChR 的探针^[3,29]。 [^3H] Epibatidine ([^3H] EPI) 和 [^{125}I] -或 [^3H] α -银环蛇毒素 (α -bungarotoxin, α -BGT) 分别是脊椎动物 $\alpha 4\beta 2$ 和 $\alpha 7$ nAChR 的重要探针^[30,31]。在天然的昆虫 nAChRs 中,果蝇的 [^3H] IMI 结合部位是与 [^3H] α -BGT 的结合部位不同的^[32]。在有些昆虫中,如在美洲大蠊 (*Periplaneta americana*) 中已检测到专一性的 [^3H] EPI 结合,但在其他昆虫中,如家蝇还没被检测这种结合^[33,2]。

根据蛋白质生化和免疫研究^[34~37] 和 IMI 对分子杂交受体的敏感性^[38~40],果蝇 $\alpha 2$ (Da2) 和桃蚜 $\alpha 2$ (Mpa2) 是结合新烟碱类的主要组分。

Tomizawa 等^[41]研究了 [^3H] IMI、 [^3H] EPI 和 [^3H] α -BGT 在 Da2 或 Mpa2 与大鼠 $\beta 2$ (R $\beta 2$) 亚基共组装的杂交 nAChRs (Da2/R $\beta 2$ 和 Mpa2/R $\beta 2$) 中的结合部位,并与天然的昆虫和脊椎动物 $\alpha 4\beta 2$ nAChR 进行了比较, [^3H] IMI 和 [^3H] EPI 能与 Da2/R $\beta 2$ 和 Mpa2/R $\beta 2$ 杂交体结合,但 [^3H] α -BGT 并不与它们结合。在天然果蝇受体中, [^3H] EPI 有一个高亲和性的结合部位,它是独立于 [^3H] IMI 的,它与 [^3H] α -BGT 部位重叠,在 Mpa2/R $\beta 2$ 杂交体中, [^3H] IMI 和 [^3H] EPI 结合于同一部位,并具有类同的药理学特征。至于新烟碱类和烟碱类, Da2/R $\beta 2$ 和 Mpa2/R $\beta 2$ 受体所显示的药理学特征介于天然昆虫和脊椎动物 $\alpha 4\beta 2$ 受体的中间,故不宜用于毒理学预测 (predicting toxicology)。这些发现表明 α 和 β 亚基都可影响昆虫 nAChRs 的药理学特性。

激动剂配体都是作用于脊椎动物门控神经递质的离子通道,它们的特性是都带有一个阳离子。新烟碱类 N-未取代的亚胺类似物的亚胺阳离子 (如去硝基 IMI),或烟碱, epibatidine, 或 ACh 的铵类似物中的氮可与一个富 π -电子位点结合,这个位点由芳族残基组成,其中 α 亚基噻扑 B 中的色氨酸 (Trp) 是至关重要的。该阳离子通过范德瓦氏力与芳族残基的 π -电子 (δ^-) 作用^[24,26,42~44]。位于该基因序列 15 和/或 200 位的天冬氨酸作为 $\alpha 1$ 亚基噻扑 B 和/或噻扑 C 的阴离子残基起辅助作用^[45,46]。这些结构特点在蜗牛的 ACh-结合蛋白 (ACh binding protein, AChBP) 中也是保守的。蜗牛的 AChBP 与烟碱的复合物的晶体结构显示了以下分子特征:噻扑 B 中色氨酸的羰基氧通过一个氢键与烟碱的铵氮接触;亮氨酸的羰基和甲硫氨酸的酰氨基 (均来自整个噻扑 E) 通过一个起桥作用的水分子使氢与烟碱的吡啶氮结合^[47]。

新烟碱类以一种异常的阳离子- π 方式与 nAChR 作用^[48]。电负性药效基团对新烟碱类的选择性是至关重要的,它与昆虫 nAChR 中的一个阳离子位点(可能是赖氨酸、精氨酸或组氨酸)结合(图 2)^[14,3,32,48]。在 D α 2 细胞膜外的功能域中,赖氨酸和精氨酸是主要的,组氨酸是次要的,该功能域是新烟碱类结合的主要区域^[49,34,35,37]。虽然目前对相关残基的实际位置尚无直接证据,但通过新烟碱类配体标记的光亲和性实验^[50]配合计算机辅助的分子对接(docking)模拟^[43]可有助于确定新烟碱在结合功能域中的电负性一端(electronegative tip)的方向。禽 α 7 亚基中的一个突变(Q79K 或 R,谷氨酰胺突变为精氨酸或赖氨酸)可增加对 IMI 的电生理反应^[51]。这为新烟碱类电负性药效基团的作用提供了支持^[14,48]。

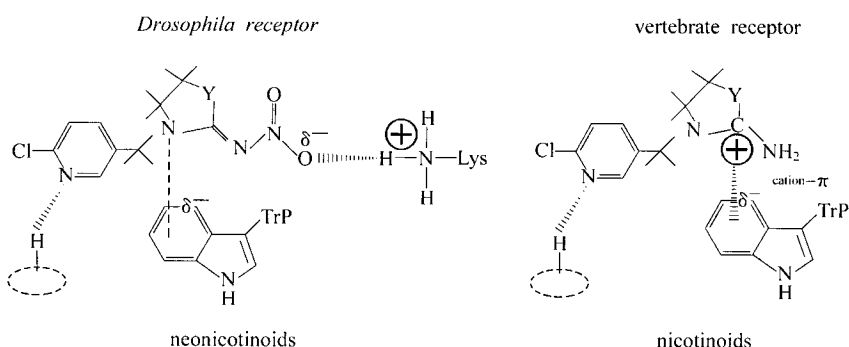


Fig. 2 Molecular models of binding subsites in the *Drosophila* or *Vertebrate* nAChR for electronegative (δ^-) neonicotinoids or cationic nicotinoids, respectively^[48]

现在用图 2 的模型阐述新烟碱类和烟碱类分别与昆虫和脊椎动物 nAChR 亚部位结合的专一性。在果蝇中,新烟碱分子的电负性氧或相应的末端,通过静电作用,与果蝇 nAChR 亚部位结合。该结合部位由阳离子氨基酸残基(如赖氨酸或精氨酸)组成。在脊椎动物中, N -未取代的亚胺($^+C-NH_2 \leftrightarrow C=^+NH_2$)作为一个质子接受体,在生理条件下其亚胺部分的氮或碳原子带正电,与烟碱和 epibatidine 的铵基氮一样,与一个专一的脊椎动物 nAChR 结合位点通过阳离子- π 互相作用。新烟碱分子中的吡啶氮具有 SP^2 性质,可以与芳族氨基酸残基的- π 电子互相作用($P-\pi$ 互相作用)。所以吡啶环上的氮原子也是一个重要因子^[14]。

4 结语

新烟碱类杀虫剂由于其分子特性和独特的作用方式,成为 30 年来最新颖的一类杀虫剂。它们在结构上不同于其他所有合成的植物杀虫剂,表现出有利的选择性,对哺乳动物、鸟和鱼低毒。该类杀虫剂作为植物内吸剂正在取代有机磷和氨基甲酸酯杀虫剂防治刺吸式害虫。烟碱和新烟碱类都是作为神经后突触 nAChR 的激动剂作用于神经系统。但两者的分子特性和作用方式是不同的。新烟碱类杀虫剂对昆虫与脊椎动物之间产生选择性的主要原因是,新烟碱类杀虫剂具有电负性,其中包括硝基亚胺基、亚硝基亚胺、三氟乙酰基等。带有这些药效基团的化合物可以选择性地与昆虫独特的 nAChR 亚型相互作用,而不与脊椎动物 α 4 β 2 nAChR 作用。这表明昆虫和脊椎动物中的激动剂结合部位在拓扑结构上存在趋异性。

另外,带有电负性药效基团的硝基或氰基平面与相连的杂环平面之间的共面性也是非常重要的。这一共面体系使得共轭性得到加强,从而使负电荷进一步流向电负性基团的末段,从而提高其与阳离子残基(可能是赖氨酸、精氨酸等)之间的互相作用。

目前,从报道的结果来看,以下几个问题尚待弄清:①吡虫啉对昆虫 nAChR 的结合部位究竟有几个?吡虫啉与扁豆蚜、桃蚜、蝗虫 nAChR 的饱和试验表明,吡虫啉存在 2 个结合部位^[52],与黑尾叶蝉 (*Nephotettix cincticeps*)^[53]的结果是一致的。但在双翅目、鳞翅目、蜚蠊、虱^[53]和粉虱^[54]中,仅有一个结合部位。②作为新烟碱类化合物,为什么同样具有高杀虫活性的噻虫嗪对 nAChR 的吡虫啉结合部位的结合较弱?nAChR 亚基是否存在不同的同工型 (isoforms)。这些研究可为设计更安全、更有效的杀虫剂提供新思路。

参考文献

- [1] Tang Zhenhua (唐振华), Bi Qian (毕强). *Molecular Behavior of Insecticide Action* (杀虫剂作用的分子行为)[M]. 2003, 37~422. Shanghai (上海): Far-east Publishing House (远东出版社), 2003
- [2] Nauen R, Ebbinghaus-Kintscher U, Elben A, et al. Acetylcholine receptors as sites for developing neonicotinoid insecticides [A in M]. In: Ishaaya I, editor. *Biochemical Sites Important Insecticide Action and Resistance*, 2001, 77~105. New Work. Springer Verlag
- [3] Tomizawa M, Casida JE. Selective toxicity of neonicotinoids attribution to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors [J]. *Ann Rev Entomol*, 2003, 48: 339~364
- [4] Tomizawa M, Casida JE. Neonicotinoid insecticides toxicology: mechanisms of selective action [J]. *Annu. Rev. Pharmacol Toxicol*, 2005, 45: 247~268
- [5] Tomizawa M, Yamamoto I. Structure-activity relation of nicotinoids and imidacloprid analogs [J]. *J Pestic Sci* 1993, 18: 91~98
- [6] Soloway SB, Henry AC, Kollmeyer WD, et al. Nitromethylene heterocycles as insecticides [A in M]. In *Pesticide and Venom Neurotoxicity*, ed. DL Shankland, RM Hollingworth, T Smyth Jr, 1978, 153~158. New York: Plenum
- [7] Soloway SB, Henry AC, Kollmeyer WD, et al. Nitromethylene insecticides [A in M]. In *Advances in Pesticide Science* [A in M]. ed. H Geissbuehler, vol. 2, 1979, 206~217. Oxford: Pergamon
- [8] Kollmeyer WD, Flattum RF, Foster JP, et al. Discovery of the nitromethylene heterocycle insecticides. [A in M]. In *Nicotinoid insecticides and the Nicotinic Acetylcholine Receptor*, ed. I Yamamoto, JE Casida, 1999, 71~89. Tokyo: Springer-Verlag
- [9] Kagabu S, Medej S. Stability comparison of imidacloprid and related compounds under simulated sunlight, hydrolysis conditions, and to oxygen [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1995, 59: 980~985
- [10] Kagabu S, Akagi T. Quantum chemical consideration of photostability of imidacloprid and related compounds [J]. *J Pestic Sci*, 1997, 22: 84~89
- [11] Kayser H, Lee C, Decock A, et al. Comparative analysis of neonicotinoid binding to insect membranes: I. A structure-activity study of the mode of [³H] imidacloprid displacement in *Myzus persicae* and *Aphis craccivora* [J]. *Pest Manag Sci*, 2004, 60: 945~958
- [12] Yamamoto I, Yabuta G, Tomizawa M, et al. Molecular mechanism for selective toxicity of nicotinoids and neonicotinoids [J]. *J Pestic Sci*, 1995, 20: 33~40
- [13] Meyer MD, Decker MW, Rueter LE et al. The identification of novel structural compound classes exhibiting high affinity for neuronal nicotinic acetylcholine receptors and analgesic efficacy in preclinical models