

合成蜂毒 PhTX 类杀虫剂杀虫活性的初步研究

刘克忠^{1,2}, 张永安^{2*}, 朱长进³, 王登元¹, 王玉珠², 曲良建²

(1 新疆农业大学农学院, 新疆 乌鲁木齐 830052 2 中国林业科学研究院森林生态环境与保护研究所, 国家林业局森林保护学重点实验室, 北京 100091 3 北京理工大学化工与环境学院, 北京 100081)

关键词: 蜂毒毒素; 人工合成; 生物活性; 茶尺蠖

中图分类号: S718.85 文献标识码: A

The Preliminary Study on Biological Activity of Synthetic Philanthoxin Analogs

LIU Ke-zhong^{1,2}, ZHANG Yong-an^{2*}, ZHU Chang-jin³, WANG Deng-yuan¹, WANG Yu-zhu², QU Liang-jian¹

(1 The College of Agronomy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, Xinjiang, China 2 Research Institute of Forest Ecology, Environment and Protection, CAF, Key Laboratory of Forestry Protection, State Forestry Administration,

Beijing 100091, China 3 School of Chemical Engineering and Environment, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081, China)

Abstract This paper reported the biological activities of five synthetic philanthoxin analogs. Trials under laboratory condition indicated a certain level of activity on poisoning and inhibiting emergence rate. The LC_{50} of compound 1 on *Ectropis obliqua* was $8.987 \times 10^3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. At the $8 \times 10^3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ dosage of compound 1, the adjustment rate of pupation and emergence of *E. obliqua* was 52.44% and 89.81% respectively. The compound 2 had a certain effect on the larval and pupal weight.

Key words philanthoxin; synthesis; biological activity; *Ectropis obliqua*

目前使用的神经毒剂杀虫剂, 通常以神经膜上的钠通道、乙酰胆碱酯酶或者神经递质受体作为靶标位点, 如拟除虫菊酯类、氨基甲酸酯类及烟碱类杀虫剂。但长期单一使用某一种杀虫剂, 昆虫往往会对其产生抗药性。对付害虫抗性的最棘手问题是因某个作用靶标部位对某种杀虫剂不敏感而产生抗性后, 对以前即使没有使用过的同类杀虫剂也会产生抗性, 即产生交互抗性 (cross resistance)。因此, 寻找具有不同杀虫机理的新农药是控制抗性害虫的一条重要途径。

Rathmayer^[1] 和 T. PEK^[2] 首次报道从一种蜂 *Philanthus triangulum* 的毒腺中分离出一种小分子的

毒素, 研究发现它的生物活性类似于对脊椎动物和无脊椎动物神经元神经递质受体的非竞争性拮抗剂。Spanjer 等^[3] 从这种蜂的毒腺中分馏出 3 种有效成分即 3 个单体化合物, 其中活性最强的是 δ -philanthoxin, 后来多被称为 philanthoxin-433 (PhTX-433, 见图 1)。这类化合物能够阻断沙漠蝗 (*Schistocerca gregaria* Forsk.) 腿部肌肉神经突触上由使君子型谷氨酸受体 (quisqualate-sensitive glutamate receptors) 门控的通道^[4,5]。研究表明蜂毒 PhTX-433 不仅是蝗虫腿部肌肉神经突触上的使君子型离子型谷氨酸受体的有效非竞争性拮抗剂, 而且对非洲爪蟾 (*Xenopus laevis* Daudin) 肌肉和美洲蜚

收稿日期: 2005-08-09

基金项目: 国家“十五”科技攻关“林木病虫害环境协调性农药及其航空喷洒技术研究”(2004BA509B12)

作者简介: 刘克忠 (1981-), 男, 安徽滁州人, 硕士研究生, E-mail: lzkz2004@163.com

* 通讯作者: 张永安, 研究员, 主要从事昆虫病原微生物及害虫的可持续控制研究, zhangyal@forestry.ac.cn

蠊 (*Periplaneta americana* Linnaeus) 神经中枢的 nAChRs 的电生理研究发现, PhTX-433 也是 nAChRs 的非竞争性通道拮抗剂^[6-11]。

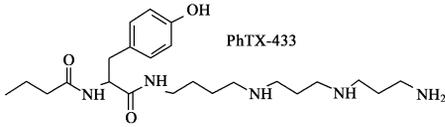


图 1 PhTX-433 的结构式

作者在分析 PhTX 时, 注意到它的芳香环的头部和线性多胺的尾部这一整体结构特征, 从而试图设计合成 PhTX 的系列类似物, 以评价各主要结构部位化学基团的变化对生物毒性的影响, 进而研究 PhTX 构效关系并为更高效的杀虫剂的设计合成提供依据。作为这一研究的阶段结果, 本文主要报道评价一组共 5 种合成化合物对昆虫的生物活性。

1 材料和方法

1.1 供试昆虫

试虫茶尺蠖 (*Ectropis obliqua* Prout) 由北京中林恩多威生物工程技术有限公司提供, 为室内人工饲料连续健康饲养 20 代以上的敏感品系。初孵幼虫接种后放入养虫杯中经群体饲养至 2 龄 (约 3 d) 待生测试使用。实验在温度 24.5 ± 1 °C、相对湿度 $65 \pm 5\%$ 、15 h 光照: 9 h 黑暗的养虫室内进行。

1.2 供试化合物

5 种化合物均用 95% 的分析纯乙醇溶液溶解, 根据实验要求配制成不同浓度的溶液。

1.2.1 毒力测定 (饲喂法) 选用合成的 5 种化合物, 以 95% 的乙醇溶液为溶剂, 配制成 5 个梯度浓度, 将药液均匀涂在饲料表面和杯的侧壁。待乙醇自然挥发干后, 接入生理条件一致的 2 龄幼虫, 平均质量 1.2 mg 左右。每处理用 30 头幼虫, 3 次重复, 同时设空白 (95% 的乙醇溶液) 对照。处理 6 d 后检查试虫的死亡情况。调查结果用 Abbott 公式求得校正死亡率, 用 Finney^[12] 机率分析法计算毒力回归方程和 LC_{50} 值。Abbott 校正公式:

$$\text{校正死亡率} = \frac{\text{处理死亡率} - \text{对照死亡率}}{100 - \text{对照死亡率}} \times 100$$

表 1 供试化合物

代号	结构
1	
2	
3	
4	
5	

1.2.2 生长发育抑制作用的测定 将茶尺蠖 2 龄幼虫经 1.3.1 的方法处理后, 存活下来的幼虫移至未经处理的饲料中饲养直至化蛹至成虫羽化。每天观察、记录茶尺蠖生长发育情况并称其质量。分别计算幼虫校正死亡率、校正化蛹率、校正羽化率。

2 结果与分析

2.1 毒杀效果

从 5 种化合物对茶尺蠖幼虫的毒杀效果来看, 化合物 1 的效果最好 (表 2)。从测定结果表明, 大多数化合物对茶尺蠖的毒杀效果一般, 在浓度 $16 \times 10^3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 化合物 1 引起幼虫的校正死亡率为 60.97%, 而其他化合物中对幼虫校正死亡率最高的化合物 5 也只有 33.33%。化合物 1 对茶尺蠖的致死中浓度 (LC_{50}) 为 $8.987 \times 10^3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (表 3)。

表 2 5种合成化合物对茶尺蠖 2龄幼虫的毒杀效果

浓度 / (mg· mL ⁻¹)	校正死亡率 %					CK
	化合物 1	化合物 2	化合物 3	化合物 4	化合物 5	
2	26.82	2.44	5.33	4.07	14.33	0.00
4	36.58	5.56	7.67	7.78	16.67	0.00
8	47.56	11.11	9.89	10.00	22.22	0.00
16	60.97	14.33	16.66	14.85	33.33	0.00
32	70.73	20.17	21.56	15.89	45.56	0.00

表 3 化合物 1对茶尺蠖毒力测定结果

化合物	毒力回归曲线 (LD ₅₀ -P line)	卡方值 χ ²	LC ₅₀ / (mg· L ⁻¹)
1	Y = 0.989 9x + 4.056	0.893	8.987 × 10 ³

2.2 对生长发育抑制作用的影响

浓度 8 mg· mL⁻¹的 5种化合物对茶尺蠖幼虫生长发育抑制影响的结果见表 4。对照的幼虫质量为 81.0 mg, 蛹质量为 92.4 mg。化合物 1、3、4、5对幼虫的质量及蛹质量没有太大影响, 而化合物 2则有一定的作用, 其处理后幼虫的质量为 50.0 mg, 蛹质量为 60.1 mg。化合物 1处理后幼虫的校正化蛹率为 52.44%, 校正羽化率为 89.81%。化合物 5处理后的校正化蛹率为 74.39%, 校正羽化率为 72.72%。其他化合物 2、3、4对幼虫校正化蛹率和校正羽化率的影响较低。

表 4 5种合成化合物 (8 mg· mL⁻¹)
对幼虫发育的影响

化合物	幼虫质量 (处理 6 d)	蛹质量 /mg	校正化蛹 率 %	校正羽化 率 %
1	63.7	85.0	52.44	89.81
2	50.0	60.1	85.37	91.97
3	80.5	92.1	87.81	90.26
4	77.5	91.5	87.81	86.56
5	80.1	92.5	74.39	72.72
(CK)	81.0	92.4	100.00	100.00

3 讨论

(1) 5种合成化合物对茶尺蠖幼虫都有一定的毒杀作用, 对其幼虫的化蛹和羽化也都有不同程度的影响。其中化合物 1对幼虫的毒杀效果最好, 化蛹率最低, 其次是化合物 5, 化合物 2、3、4的相对较差。合成的五种化合物对成虫的羽化效果与对照无显著差异。对茶尺蠖幼虫质量和蛹质量, 化合物 2的影响最大, 其它的无太大影响。

(2) 谷氨酸受体通道 (GluR) 属配体门控离子通道, 是昆虫神经肌肉接点最主要的靶标。作用于谷氨酸受体通道的杀虫剂, 与作用于钠通道或乙酰胆碱酯酶的杀虫剂不会产生交互抗性。因此, 设计与

合成作用于谷氨酸受体通道的杀虫剂是害虫抗性治理很好的方向。本实验的结果仅是人工模拟定向合成毒剂的初步结果, 将为进一步设计高强度化合物提供依据, 并呈现出进一步优化分子结构开发成为一种高效、低毒、较低成本新农药的良好前景。

参考文献:

- [1] Rithmayer W. Paralysis caused by the digger wasp *Philanthus triangulum* [J]. Nature (London), 1962: 196: 1148~1151
- [2] Piek T. The effect of the venom of the digger wasp *Philanthus triangulum* F. on the fast and slow excitatory and inhibitory system in the locust muscle [J]. Experientia, 1966: 12: 462~463
- [3] Spanjer W, May T E, Piek T, et al. Partial purification of components from the paralyzing venom of the digger wasp *Philanthus triangulum* F. and their action [J]. Comp Biochem Physiol, 1982, 71C: 149~157
- [4] May T E, Piek T. Neuromuscular block in locust skeletal muscle caused by the venom preparation made from the digger wasp *Philanthus triangulum* [J]. J Insect Physiol, 1979, 25: 685~691
- [5] Piek T. Delta philanthotoxin, a semi irreversible blocker of ion channels [J]. Comp Biochem Physiol, 1982, 72: 311~315
- [6] Anis N A, Sherby S, Goodnow R A, et al. Structure activity relationships of philanthotoxin analogs and nicotinic acetylcholine receptors [J]. J Pharmacol Exp Ther, 1990, 254: 764~773
- [7] Bruce M, Bukownik R, Ushewood P N R, et al. Structure activity relationships of analogues of the wasp toxin philanthotoxin: non-competitive antagonists of quisqualate receptors [J]. Toxicon, 1990, 28: 1333~1346
- [8] Choi S-K, Nakanishi K, Ushewood P N R. Labelling studies of photo-labile philanthotoxins with nicotinic acetylcholine receptors: mode of interaction between toxin and receptor [J]. Chem Biol, 1995, 2: 23~32
- [9] Nakanishi K, Goodnow R, Konno K, et al. Philanthotoxin-433 (PhITX-433), a non-competitive Glutamate Receptor Inhibitor [J]. Pure & Appl Chem, 1990, 62: 1223~1230
- [10] Choi S-K, Nakanishi K, Ushewood P N R. Synthesis and assay of hybrid analogs of arginine toxin-636 and philanthotoxin-433: Glutamate receptor antagonists [J]. Tetrahedron, 1993, 49: 5777~5890
- [11] Brackley P T H, Bell D R, Choi S-K, et al. Selective antagonism of native and cloned kainate and NMDA receptors by polyamine containing toxins [J]. J Pharmacol Exp Ther, 1993, 266: 1573~1580
- [12] Finney D J. Probit Analysis 3rd ed. [M]. London: Cambridge University Press, 1977