

• 专论与综述 •

新烟碱类杀虫剂选择作用的分子机理

唐振华^{1,2*}, 陶黎明³, 李忠¹

(1. 华东理工大学 药学院, 上海 200237; 2. 中国科学院 上海植物生理生态研究所, 上海 200032;
3. 上海市农药研究所, 上海 200032)

摘要: 新烟碱类是一类重要的新颖杀虫剂, 其发现是近 20 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) 的激动剂作用于昆虫的神经系统, 但由于作用方式不同, 新烟碱类杀虫剂对昆虫表现出选择性毒性。根据烟碱类和新烟碱类杀虫剂结构与活性的关系、分子特性以及它们与 nAChR 的结合部位和亚部位的选择性阐释了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; 烟碱乙酰胆碱受体 (nAChRs); 选择性毒性; 分子机理

中图分类号: S481.1 文献标识码: A 文章编号: 1008-7303(2006)04-0291-08

Molecular Mechanisms for Selective Action of Neonicotinoid Insecticides

TANG Zhen-hua^{1,2*}, TAO Lim ing³, LIZhong¹

(1. School of Pharmaceutical Science, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China;
2. Shanghai Institute of Plant Physiology and Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China;
3. Shanghai Pesticide Research Institute, Shanghai 200032, China)

Abstract The discovery of neonicotinoids as important novel insecticides represents a milestone in insecticide research over the past two decades. Both nicotino id and neonicotino id insecticides act on the insect central nervous system as agonists of the postsynaptic nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs) but in a different way, the neonicotino id insecticides exhibit high selective toxicity to insects. The molecular mechanisms for selective action of neonicotino id insecticides based on the structure-activity relationships, molecular feature of nicotino ids and neonicotino ids, and their binding site and subsite specificity were expounded.

Key words neonicotino ids; nicotino id; nAChRs; selective action; molecular mechanisms

目前人工合成的杀虫剂往往是通过天然产物进行结构修饰、改造而来, 从天然的除虫菊素到合成拟除虫菊酯就是一个很好的例证。烟碱本身是一种杀虫剂, 研究者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)-吡啶类的合

成, 但至今其活性未得到明显改善。这类化合物被统称为烟碱类 (nicotino ids)。1970 年壳牌发展公司发现新烟碱的先导化合物 2-(二溴硝甲基)-3-甲基吡啶对家蝇 *Musca domestica* 和桃蚜 *Myzus persica*^[1~3] 有中等活性, 后经结构优化获得了对玉米

收稿日期: 2006-04-07; 修回日期: 2006-08-07.

作者简介: * 唐振华 (1939-), 男, 通讯作者, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为杀虫剂分子毒理学. 联系电话: 021-54924264; E-mail: tangzh@sh163.net

基金项目: 国家重点基础研究发展规划 (973 计划) (2003CB114403); 国家自然科学基金项目 (320230070) .

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

螟 *Ostrinia nubilalis* 具有较高活性的 *nitroethylen* 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进行了重要改进,即引入一个氯代吡啶甲基基团,产生了一个对黑尾叶蝉 *Nephotettix cincticeps* 有很好防效的硝基亚甲基原型 (*nitromethylene prototype*),但仍未能解决其光不稳定性的问题。对其结构与活性作进一步研究后发现,用噻唑啉 (*thiazolidine*) 或氯代二嗪 (*oxadiazinane*) 或非环对应物取代吡啶啉 (*imidazolidine*),以替换氯代噻唑啉甲基或四氢呋喃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脲后,发现这些化合物不但具有光稳定性,而且具有较高的杀虫活性^[4-5]。目前称这类化合物为新烟碱类 (*neonicotinoids*)。

新烟碱类和烟碱类杀虫剂都是作为激动剂作用于神经后突触烟碱乙酰胆碱受体 (*nicotinic acetylcholine receptors nAChRs*),但这两类杀虫剂的选择性毒性差异很大: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,却对哺乳动物低毒。由于新烟碱类的作用靶标和作用方式与有机氯、有机磷和氨基甲酸酯以及拟除虫菊酯类杀虫剂不同,它们之间不存在靶标交互抗性^[6]。许多学者先后对新烟碱类的发展^[6-8]和选择性毒性^[9-11]及其电生理学、分子生物学和 *nAChR* 的模拟研究^[12]等作了综述。笔者试图从新烟碱类和烟碱类的分子结构、分子特性、作用方式及其专一性、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 烟碱类和新烟碱类杀虫剂分子结构与选择性

烟碱类和新烟碱类杀虫剂分子结构如图 1 所示。已有的研究表明,新烟碱类分子和 *nAChRs* 间电场的相互作用以及可能形成的氢键在这些化合物的选择性中起着重要作用。从图 1 可见,新烟碱类含有硝基亚甲基 (*nitromethylene*) ($C = CHNO_2$)、硝基胍 (*nitroguanidine*) ($C = NNO_2$) 和氰基脲 (*cyanoamide*) ($C = NCN$) 等药效基团,这些基团决定了其杀虫效果和选择性。从结构上分析,通过亚甲基连接药效基团的芳族部位不直接涉及新烟碱类的选择性,因为新烟碱类如吡虫啉和烟碱类的毒素 *epibatidine* (图 1) 分子内都含有同样的 6-氯-3-吡啶基团。

¹⁵N NMR 表明,烟碱类和新烟碱类中相应部位的氮原子化学位移 (δ) 是不同的,烟碱中氮原子的化学位移在 $-324.1 \sim -353.3$ 之间,而新烟碱类的在 $-288.7 \sim -293.2$ 之间。这意味着在新烟碱类中,相当于烟碱类的氮原子上的非共用电子对受到相邻的具有强吸电子效应基团的影响,使得相应的氮原子部分或全部带有正电荷,使其可与昆虫 *nAChR* 产生很强的作用,而与脊椎动物 *nAChR* 之间的作用与烟碱相比是很弱的。因此, Yamamoto 等^[13]认为咪唑环上的两个氮原子对选择毒性是很重要的。但最近 Zhang 等^[14]发现,将吡虫啉及其类似物咪唑环上的两个氮原子用碳原子逐个取代后并不影响其活性,这与 Yamamoto 等人的观点有所不同。

Kagabu 等^[15]从吡虫啉及其类似物的晶体结构入手,研究发现吡虫啉分子中咪唑环上的氮原子与硝基上的氧原子之间的距离为 5.80 nm ,由此认为,其作用位点在于咪唑环上的氮原子和相邻硝基上的其中一个氧原子,它们在与 *nAChR* 的相互作用中起着关键性的作用。而吡啶环部分则起到增加疏水性的辅助作用,可以被其他生物等排体替代。

Tamizawa 等^[16]认为吡虫啉的选择活性主要依赖于电荷的分布情况。他们通过一系列的实验证明,只有在吡虫啉及其类似物中的硝基或者氰基的负电荷与昆虫 *nAChR* 上带阳离子的亚型相互作用时才产生杀虫活性,认为真正的作用位点是硝基上的氧原子,因为该原子带有很强的负电荷,可以同昆虫 *nAChR* 的阳离子亚型产生强烈的作用。另外,吡啶环上的氮原子可与 *nAChR* 产生氢键作用,而咪唑环上的氮原子也起着一定的辅助作用。鉴于此,他们认为,新烟碱类杀虫剂在昆虫和哺乳动物之间产生选择活性的主要原因是其强电负性药效基团可以选择性地与昆虫独特的 *nAChR* 亚型相互作用,而不与脊椎动物的 $\alpha 4\beta 2$ *nAChR* 作用。这些电负性基团包括硝基亚胺基、亚硝基亚胺基、三氟乙酰基等。此外,带有强电负性药效基团的亚胺基平面与相连的杂环平面之间的共面性也非常重要,这一共面体系使得共轭性得到加强,使负电荷进一步流向强电负性基团的末端,从而提高其与阳离子亚型之间的相互作用。由于这种氮原子所带的正电荷无法与烟碱激动剂中氮原子所带的相比,因此不能将其解释为具有突出作用的药效结构。

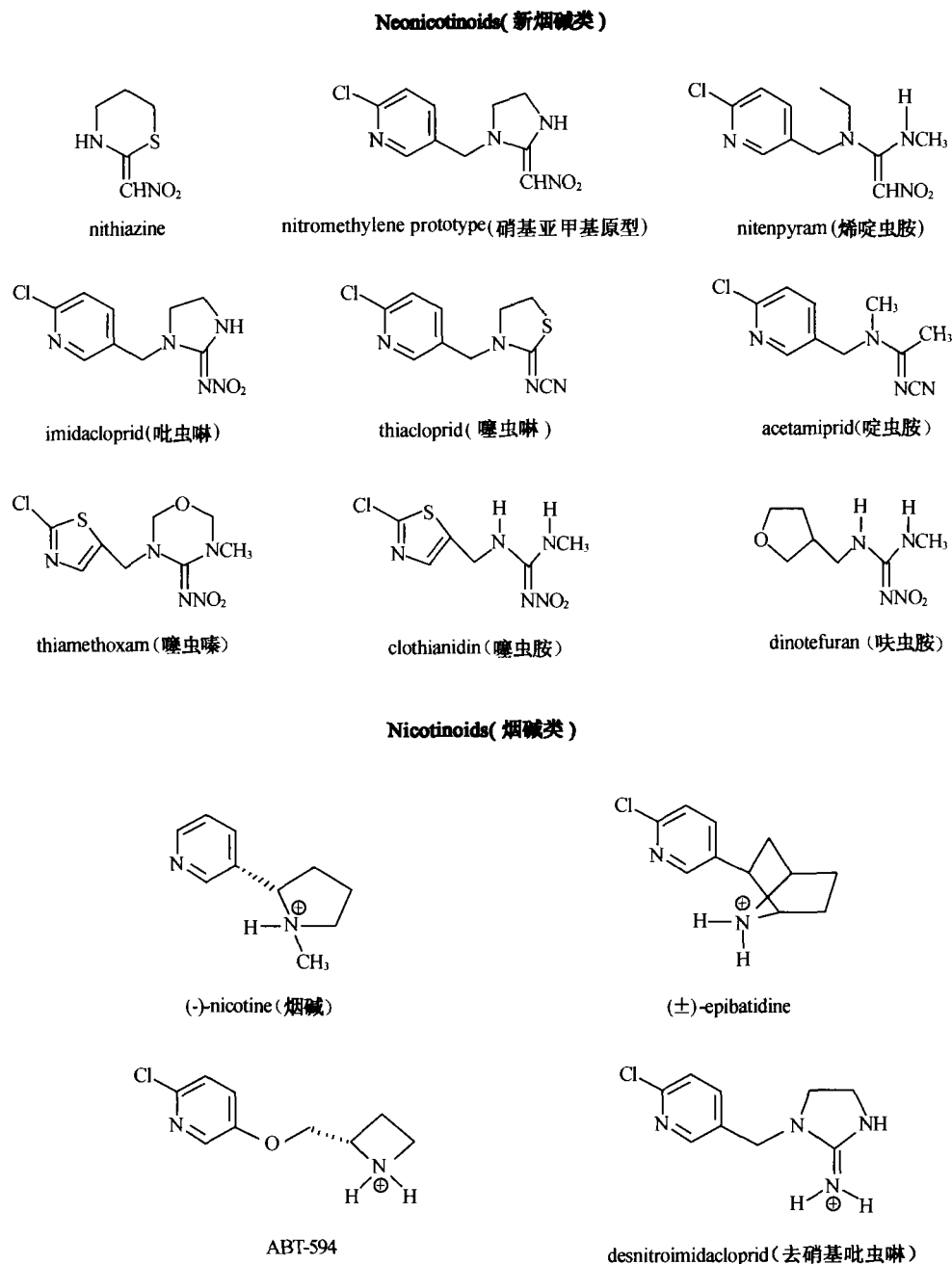


Fig. 1 Nine neonicotinoid insecticides and four nicotinoids

图 1 9种新烟碱类和 4种烟碱类杀虫剂的化学结构

2 新烟碱类与烟碱类对 nAChRs 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。脊椎动物的 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 ($\alpha 1 \sim \alpha 10$)、4 个 β ($\beta 1 \sim \beta 4$) 和 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^[6],在此不再赘述。虽然目前对昆虫 nAChR 的特性了解较少,但也普遍认为它们是五聚体,并且也显现出了亚基的多样性。从黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* (7 个 α 和 3 个非 α 基因)^[17-18] 和冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae* (9 个 α 和一个非 α 基因)^[19] 的基因组中已鉴定出了 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, 20]、蜜蜂 *Apis mellifera*^[21, 22]、褐稻虱 *Nilaparvata lugens*^[23] 和猫虱 *Ctenocephalides felis*^[24] 中克隆了不同的亚基因。

新烟碱类杀虫剂对脊椎动物外周神经系统 (peripheral nervous system, 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。但这类化合物结构的微小改变, 在脊椎动物 nAChRs 中就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 $\alpha 7$ 亚型的选择性比烟碱的高 (见表 1)^[11]。由此可见, 在对杀虫剂安全性进行评估时, 不但要考虑整个 nAChRs 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 亚基上的噻吩 (bop) A、B 和 C 连同非 α 亚基上的噻吩 I 和 F 一起构成或形成 α 亚基同聚体。因为新烟碱类杀虫剂都属于激动剂, 所以它们与乙酰胆碱 (ACh) 共享一个结合部位^[25]。

$\alpha 4\beta 2$ 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^[26]。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, 配体结合部位都是由芳族氨基酸残基组成的一个保守核心^[27~30], 相邻的可变残基对整个亚基可产生相应的药理学特性^[26]。因此, 发现与高选择性亚型结合的化合物是烟碱类药物发展的一个重要部分。

新烟碱类杀虫剂在昆虫和脊椎动物之间的选择毒性主要是由于其对昆虫和脊椎动物 nAChRs 的敏感性不同所致^[9 10]。例如, 新烟碱同位素配体 [^3H] 吡虫啉 ([^3H] MI) 对昆虫而言是一个极好的探针, 但它不是脊椎动物 $\alpha 7$ nAChR 的探针^[10 31]。 [^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^[32 33]。在天然的昆虫 nAChRs 中, 果蝇的 [^3H] MI 结合部位与 [^3H] α -BGT 的结合部位是不同的^[34]。在有些昆虫如美洲大蠊 *Periplaneta americana* 中已检测到专一性的 [^3H] EPI 结合, 但在其他昆虫如家蝇中尚未检测到这种结合^[35 36]。

根据蛋白质生化和免疫研究^[37~40] 以及 MI 对

分子杂交受体的敏感性^[41~43] 研究发现, 果蝇 $\alpha 2$ ($D\alpha 2$) 和桃蚜 $\alpha 2(Mp\alpha 2)$ 是与新烟碱类结合的主要部分。

Tamizawa 等^[11] 研究了 [^3H] MI [^3H] EPI 和 [^3H] α -BGT 在 $D\alpha 2$ 或 $Mp\alpha 2$ 上与大鼠 $\beta 2(R\beta 2)$ 亚基共组装的杂交 nAChRs ($D\alpha 2/R\beta 2$ 和 $Mp\alpha 2/R\beta 2$) 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] MI 和 [^3H] EPI 能与 $D\alpha 2/R\beta 2$ 和 $Mp\alpha 2/R\beta 2$ 杂交体结合, 但 [^3H] α -BGT 并不与它们结合。在天然的果蝇受体中, [^3H] EPI 有一个高亲和性的结合部位, 它是独立于 [^3H] MI 的, 与 [^3H] α -BGT 部位重叠, 在 $Mp\alpha 2/R\beta 2$ 杂交体中, [^3H] MI 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杀虫剂, 由于 $D\alpha 2/R\beta 2$ 和 $Mp\alpha 2/R\beta 2$ 受体所显示的药理学特征介于天然的昆虫和脊椎动物 $\alpha 4\beta 2$ 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, 其特性是都带有一个阳离子。新烟碱类杀虫剂 N-未取代的亚胺类似物的亚胺阳离子 (如去硝基 MI) 或烟碱、epibatidine 或 ACh 的胺类似物中的氮原子可与一个富 π -电子位点结合, 该位点由芳族残基组成, 其中 α 亚基噻吩 B 中的色氨酸 (Trp) 是至关重要的。该阳离子通过范德华力与芳族残基的 π -电子 (δ^-) 作用^[26 28 43~46]。位于该基因序列 15 和 / 或 200 位的天冬氨酸作为 $\alpha 1$ 亚基噻吩 B 和 / 或噻吩 C 的阴离子残基起辅助作用^[47, 48]。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 AChBP 与烟碱的复合物的晶体结构显示了以下分子特征: 噻吩 B 中色氨酸中的羰基氧原子通过一个氢键与烟碱的胺氮接触; 亮氨酸的羰基和甲硫氨酸的酰氨基氮原子 (均来自整个噻吩 E) 通过水分子 (桥连) 使氢与烟碱的吡啶氮结合^[49]。

新烟碱类杀虫剂以一种异常的阳离子- π 方式与 nAChR 作用^[50]。强电负性药效基团对于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)^[10 16 34 50]。在 $D\alpha 2$ 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, 该功能域是与新烟碱类药剂结合的主要区域^[37 38 40 51]。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^[52],配合计算机辅助的分子对接(docking)模拟^[44]可有助于确定新烟碱类在结合功能域中的强电负性一端(electronegative tip)的方向。离子

$\alpha 7$ 亚基中的一个突变(Q 79K 或 R, 谷氨酰胺突变为精氨酸或赖氨酸)可增加对MI的电生理反应^[53]。这些发现为新烟碱类强电负性药效基团的作用提供了支持^[16, 50]。

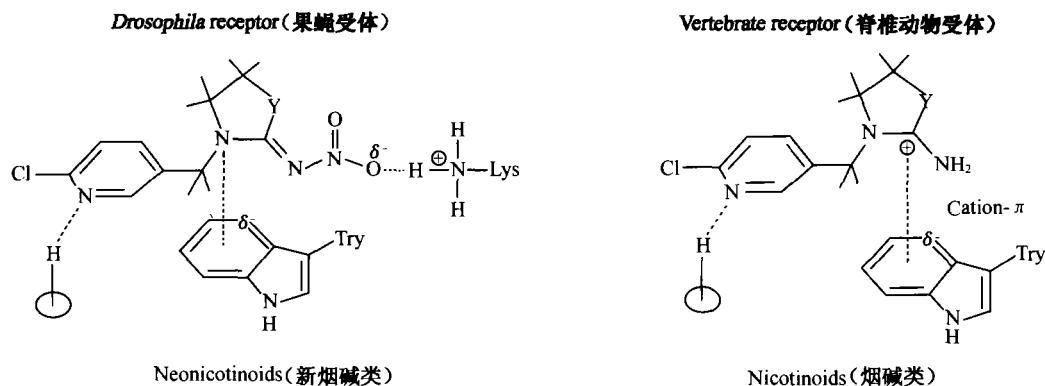


Fig. 2 Molecular models of binding subsites in the *Drosophila* or vertebrate nAChR for electronegative (δ^-) neonicotinoids or cationic nicotinoids respectively^[49]

图2 果蝇或脊椎动物 nAChR 分别与电负性(δ^-)新烟碱类或者阳离子烟碱类作用的亚结合部位分子模型

用图2的模型可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,新烟碱类分子的电负性氧原子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($^+C-NH_2 \leftrightarrow C=N^+H_2$)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荷,与烟碱和 epibatidine 的氨基氮原子一样,与一个专一的脊椎动物 nAChR 结合位点通过阳离子- π 相互作用。新烟碱分子中的吡啶氮原子具有 sp^2 性质,可与芳族氨基酸残基的 π 电子互相作用($p-\pi$ 相互作用)。所以吡啶环上的氮原子也是产生选择性的一个重要因子^[16]。

3 烟碱类和新烟碱类对昆虫和哺乳动物的作用方式及其专一性

分别以吡虫啉和烟碱作为新烟碱类和烟碱类杀虫剂的代表,阐述它们在哺乳动物和昆虫中的选择性作用。在昆虫中,吡虫啉因其低亲水性(水溶性仅为 0.61 g/L),表皮穿透作用弱,但由于其 $\lg P$ 值(0.57)远比烟碱(0.93)的低,易被植物吸收传导到植株的其他部位,故可作为植物内吸剂,主要通过昆虫刺吸而起作用。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 值下不易被质子化,其胍部位质子化和去质子化的 pK_a 值分别为 1.56 和 11.12,表明在生理 pH 值状态下仅有 0.000 2% 的吡虫啉被质子化^[53]。因此吡虫啉容易转移进入昆虫中枢神经系统(central nervous system, CNS),并能很好地与靶标部位 nAChR 的亚部位结合而起作用。而烟碱的 $\lg P$ 值大,水溶性好^[16],表皮穿透作用强,内吸性差,其 pK_a 值为 7.90,进入昆虫体内后,在生理 pH 值下有 89% 的烟碱会被质子化,因而不易转移进入昆虫中枢神经系统,从而限制了烟碱到达靶标部位,故其杀虫活性比吡虫啉差。

在哺乳动物中, nAChR 不像在昆虫中一样仅存在于 CNS 中,而且还存在于外周神经系统(PNS)中,此外哺乳动物还存在血脑屏障(blood brain barrier)。吡虫啉进入哺乳动物体内后,与 PNS 和 CNS 中 nAChR 的作用均很弱,并且穿透血脑屏障的能力也很差,从而限制了其作用到 CNS 的 nAChR,故对哺乳动物表现出低毒。相反,由于烟碱对表皮的穿透作用强,进入哺乳动物体内后在生理 pH 值时易被质子化,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,故对哺乳动物具有高毒性^[13]。

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。从中可以看出, 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 9 个化合物的选择性比均远远高于烟碱类, 依

次为烯啶虫胺 > 噻虫胺 > 硝基亚甲基原型 > 吡虫啉 > 噻虫啉 > 呋虫胺 > 啶虫脒 > 噻虫嗪 > 硝乙胺噻嗪。

Table 1 Specificity of neonicotinoids and nicotinoids for insect and vertebrate $\alpha 4\beta 2$ nicotinic receptors^[11]

表 1 新烟碱类和烟碱类对昆虫和脊椎动物 $\alpha 4\beta 2$ 烟碱受体的专一性

Compounds(化合物)	IC ₅₀ /(nmol/L)		Selectivity ratio (选择性比)
	Insect (昆虫)	Vertebrate $\alpha 4\beta 2$ (脊椎动物)	
Neonicotinoids(新烟碱类)			
Acetamiprid(啉虫脒)	8.3	700	84
Clothianidin(噻虫胺)	2.2	3 500	1 591
(±)-Dinotefuran(呋虫胺)	900	> 100 000	> 111
Imidacloprid(吡虫啉)	4.6	2 600	565
Nitenpyram(烯啶虫胺)	14	49 000	3 500
Nitrothiazine(硝乙胺噻嗪)	4 800	26 000	5.4
Nitromethylene prototype(硝基亚甲基原型)	0.24	210	875
Thiacloprid(噻虫啉)	2.7	860	319
Thiamethoxam(噻虫嗪)	5 000	> 10 000	> 20
Nicotinoids(烟碱类)			
Desnitroimidacloprid(去硝基吡虫啉)	1 530	8.2	0.005
(-)-Nicotine(烟碱)	4 000	7.0	0.002
(±)-Epibatidine	430	0.04	0.001

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已成为近 20 年来最新颖的一类杀虫剂, 因其结构不同于其他所有人工合成的杀虫剂而表现出有利的选择性, 对哺乳动物、鸟和鱼低毒。作为植物内吸剂, 新烟碱类正逐渐取代有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂, 用于防治刺吸式害虫。烟碱和新烟碱类杀虫剂都是作为神经后突触 nAChRs 的激动剂作用于神经系统, 但两者的分子特性和作用方式不同。新烟碱类在昆虫与脊椎动物之间产生选择性的主要原因是其具有强电负性药效基团, 包括硝基亚胺基、亚硝基亚胺基、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 $\alpha 4\beta 2$ 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, 带有强电负性药效基团的硝基或氟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, 使负电荷进一步流向强电负性基团的末端, 从而提高其与阳

离子残基 (可能是赖氨酸、精氨酸等) 之间的相互作用。

从目前报道的情况来看, 以下几个问题尚待进一步阐明: 吡虫啉与昆虫 nAChR 的结合部位究竟有几个? 吡虫啉与扁豆蚜 *Aphis craccivora*、桃蚜、蝗虫 nAChR 的饱和试验表明其存在两个结合部位^[54~56], 但在双翅目、鳞翅目、蜚蠊、虱和粉虱^[57] 中仅有一个结合部位。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有效的杀虫剂提供新思路。

参考文献:

[1] Solkay S B, Henry A C, Kolmeyer W D, et al. Nitromethylene heterocycles as insecticides[A]. Shankland D L, Hollingworth R M, Smyth Jr T. Pesticide and Venom Neurotoxicity[M]. New York: Plenum, 1978. 153- 158

[2] Solkay S B, Henry A C, Kolmeyer W D, et al. Nitromethylene insecticides[A]. Geissbuehler H. Advances in Pesticide Science [M]. Oxford: Pergamon, 1979. 2. 206- 217

[3] Kolmeyer W D, Flathum R F, Foster J P, et al. Discovery of the

- nitromethylene heterocycle insecticides [A]. Yamamoto I, Casida J E. Nicotinic Insecticides and the Nicotinic Acetylcholine Receptor [M]. Tokyo: Springer-Verlag, 1999. 71-89.
- [4] Kagabu S, Medeg S. Stability comparison of imidacloprid and related compounds under simulated sunlight hydrolysis conditions and to oxygen [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 1995, 59: 980-985.
- [5] Kagabu S, Akagi T. Quantum chemical consideration of photostability of imidacloprid and related compounds [J]. J Pestic Sci, 1997, 22: 84-89.
- [6] TANG Zhen-hua (唐振华), BI Qiang (毕强). Molecular Behavior of Insecticide Action (杀虫剂作用的分子行为) [M]. Shanghai (上海): Far-east Publishing House (远东出版社), 2003. 37-422.
- [7] Kagabu S. Chloronicotiny insecticides discovery, application and future perspective [J]. Rev Toxicol, 1997, 1: 75-129.
- [8] YIN Ping (殷平), BAI Ya-huo (柏亚罗). 新烟碱类杀虫剂的回顾与展望 [J]. World Pestic (世界农药), 2003, 25(4): 8-11.
- [9] WANG Jian-jun (王建军), HAN Zhao-jun (韩召军), WANG Yin-chang (王荫长). 新烟碱类杀虫剂毒理学研究 [J]. Acta Phytopharmacia sinica (植物保护学报), 2001, 28(2): 178-182.
- [10] Tomizawa M, Casida J E. Selective toxicity of neonicotinoids attribution to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors [J]. Annu Rev Entomol, 2003, 48: 339-364.
- [11] Tomizawa M, Casida J E. Neonicotinoid insecticides toxicology: mechanisms of selective action [J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2005, 45: 247-268.
- [12] Matsuda K, Shimomura M, Ihara M, et al. Neonicotinoids show selective and diverse actions on their nicotinic receptor targets: electrophysiology, molecular biology, and receptor modeling studies [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2005, 69: 1442-1452.
- [13] 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.
- [14] Zhang N, Tomizawa M, Casida J E. α -Nitroketone as an electrophile and nucleophile: synthesis of 3-substituted 2-nitromethylenetetrahydrofuran and -tetrahydrofuran as *Drosophila* nicotinic receptor probes [J]. J Agric Food Chem, 2004, 45: 276-281.
- [15] Kagabu S, Matsuno H. Chloronicotiny insecticides 8. Crystal and molecular structures of imidacloprid and analogous compounds [J]. J Agric Food Chem, 1997, 45: 276-281.
- [16] Tomizawa M, Lee D L, Casida J E. Neonicotinoid insecticides: molecular features conferring selectivity for insect versus mammalian nicotinic receptors [J]. Agric Food Chem, 2000, 48: 6016-6024.
- [17] Adams M D, Celniker S E, Holt R A, et al. The genome sequences of *Drosophila melanogaster* [J]. Science, 2000, 287(5461): 2185-2195.
- [18] Littleton J T, Ganetzky B. Ion channels and synaptic organization analysis of the *Drosophila* genome [J]. Neuron, 2000, 26: 35-43.
- [19] Jones A K, Gausso M, Sattelle D B. The nicotinic acetylcholine receptor gene family of the malaria mosquito, *Anopheles gambiae* [J]. Genomics, 2005, 85: 176-185.
- [20] Tomizawa M, Casida J E. Structure and diversity of insect nicotinic acetylcholine receptors [J]. Pest Manage Sci, 2001, 57: 914-922.
- [21] Thany S H, Crozatier M, Raymond-Delpech V. Aphis alpha 2, Aphis alpha 7-1 and Aphis alpha 7-2: three new neuronal nicotinic acetylcholine receptor alpha-subunits in the honeybee brain [J]. Gene, 2005, 344: 125-132.
- [22] Thany S H, Lenaers G, Crozatier M, et al. Identification and localization of the nicotinic acetylcholine receptor alpha 3 mRNA in brain of honeybee *Aphis mellifica* [J]. Insect Mol Biol, 2003, 12: 255-262.
- [23] Liu Z W, Williamson M S, Lansdell S J et al. Nicotinic acetylcholine receptor mutation conferring target-site resistance to imidacloprid in *Nikparvata lugens* (brown planthopper) [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102: 8420-8425.
- [24] Bass C, Lansdell S J, Millar N S, et al. Molecular characterization of nicotinic acetylcholine receptor subunits from the cat flea *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae) [J]. Insect Biochem Mol Biol, 2006, 36: 86-96.
- [25] Shimomura M. Molecular mechanism of selective toxicity of neonicotinoids [J]. J Pestic Sci, 2005, 30: 230-231.
- [26] Corringer J P, Le Novère N, Changeux J P. Nicotinic receptors at the amino acid level [J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2000, 40: 431-458.
- [27] Dougherty D A. Cation- π interactions in chemistry and biology: a new view of benzene, PH_3 and Trp [J]. Science, 1996, 271: 163-168.
- [28] Zhong W, Gallivan J P, Zhang Y, et al. From ab initio quantum mechanics to molecular neurobiology: a cation- π binding site in the nicotinic receptor [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95: 1208-1209.
- [29] Dougherty D A, Lester H A. Snails synapses and smokers [J]. Nature, 2001, 411: 252-255.
- [30] Zacharias N, Dougherty D A. Cation- π interactions in ligand recognition and catalysis [J]. Trends Pharmacol Sci, 2002, 23: 281-287.
- [31] Liu M Y, Casida J E. High affinity binding of [^3H] imidacloprid in the insect acetylcholine receptor [J]. Pestic Biochem Physiol, 1993, 46: 40-46.
- [32] Anaand R, Peng X, Ballega J J et al. Pharmacological characterization of α -bungarotoxin-selective acetylcholine receptors immunoprecipitated from chick retina: contrasting properties of $\alpha 7$ and $\alpha 8$ subunit-containing subtypes [J]. Mol Pharmacol, 1993, 44: 1046-1050.
- [33] Houghtling R A, Divita-Garcia M J, Kellar K J. Characterization of ($\pm$)-[^3H] epibatidine binding to nicotinic cholinergic receptors in rat and human brain [J]. Mol

- Pharmacol 1995, 48: 280-287.
- [34] Zhang N, Tomizawa M, Casida J E. Drosophila nicotinic receptors: evidence for imidacloprid insecticide and α -bungarotoxin binding to distinct sites[J]. Neurosci Lett, 2004, 271: 56-59.
- [35] Orr N, Shaffner A J, Watson G B. Pharmacological characterization of an epibatidine binding site in the nerve cord of *Periphaeta americana* [J]. Pestic Biochem Physiol, 1997, 58: 187-192.
- [36] Nauen R, Ebbinghaus-Kintscher U, Eben A, et al. Acetylcholine receptors as sites for developing neonicotinoid insecticides [A]. Ishaaya I. Biochemical Sites Important Insecticide Action and Resistance [M]. New York: Springer Verlag, 2001: 77-105.
- [37] Chamaon K, Smalla K-H, Thomas U, et al. Nicotinic acetylcholine receptors of *Drosophila*: three subunits encoded by genomically linked genes can co-assemble into the same receptor complex[J]. J Neurochem, 2002, 80: 149-157.
- [38] Tomizawa M, Casida J E. Azidoneotonicity photoaffinity labeling of insecticide-binding subunit of *Drosophila* nicotinic acetylcholine receptor[J]. Neurosci Lett, 1997, 237: 61-64.
- [39] Tomizawa M, Latli B, Casida J E. Novel neonicotinoid insecticide-agarose affinity column for *Drosophila* and *Musca* nicotinic acetylcholine receptors [J]. J Neurochem, 1996, 67: 1669-1676.
- [40] Tomizawa M, Wen Z, Chin H L, et al. Photoaffinity labeling of insect nicotinic acetylcholine receptors with a novel [^3H] azidoneotonicity[J]. J Neurochem, 2001, 78: 1359-1366.
- [41] Lansdell S J, Millar N S. The influence of nicotinic receptor subunit composition upon agonist α -bungarotoxin and insecticide (imidacloprid) binding affinity [J]. Neuropharmacology, 2000, 39: 671-679.
- [42] Huang Y, Williamson M S, Devonshire A L, et al. Molecular characterization and imidacloprid sensitivity of nicotinic acetylcholine receptor subunits from peach-potato aphid *Myzus persicae* [J]. J Neurochem, 1999, 73: 380-389.
- [43] Ishara M, Matsuda K, Otake K, et al. Diverse actions of neonicotinoids on chicken $\alpha 7$, $\alpha 4\beta 2$ and *Drosophila*-chicken $\text{SAD}\beta 2$ and $\text{ALSB}\beta 2$ hybrid nicotinic acetylcholine receptors expressed in *Xenopus laevis* oocytes[J]. Neuropharmacology, 2003, 45: 133-144.
- [44] Dougherty D A. Cation- π interactions in chemistry and biology: a new view of benzene, Phe, Tyr and Trp[J]. Science, 1996, 271: 163-168.
- [45] Le Novère N, Gräter T, Changeux J-P. Models of the extracellular domain of the nicotinic receptors and of agonist and Ca^{2+} -binding sites[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99: 3210-3215.
- [46] Schmitt J D, Sharples C G V, Cullwell W S. Molecular recognition in nicotinic acetylcholine receptors: the importance of (-)cation interaction[J]. J Med Chem, 1999, 42: 3066-3074.
- [47] O'Leary M E, White M M. Mutational analysis of ligand-induced activation of the Torpedo acetylcholine receptor[J]. J Biol Chem, 1992, 267: 360-365.
- [48] Sugiyama N, Boyd A E, Taylor P. Anionic residue in the α -subunit of the nicotinic acetylcholine receptor contributing to subunit assembly and ligand binding[J]. J Biol Chem, 1996, 271: 26575-26581.
- [49] Celie P H N, van Rossum-Fikkert S E, van Dijk W J et al. Nicotine and carbamylcholine binding to nicotinic acetylcholine receptors as studied in AChBP crystal structures[J]. Neuron, 2004, 41: 907-917.
- [50] Tomizawa M, Zhang N, Durkin K A, et al. The neonicotinoid electronegative pharmacophore plays the crucial role in the high affinity and selectivity for the *Drosophila* nicotinic receptor: an anomaly for the nicotinic cation- π interaction model[J]. Biochemistry, 2003, 42: 7819-7827.
- [51] Schulz R, Bertrand S, Chamaon K, et al. Neuronal nicotinic acetylcholine receptors from *Drosophila*: two different types of α -subunits coassemble within the same receptor complex[J]. J Neurochem, 2000, 74: 2537-2546.
- [52] Zhang N, Tomizawa M, Casida J E. Structure features of azidopyridinyl neonicotinoid probes conferring high affinity and selectivity for mammalian $\alpha 4\beta 2$ and *Drosophila* nicotinic receptors[J]. J Med Chem, 2002, 45: 2832-2840.
- [53] Shimomura M, Okuda H, Matsuda K, et al. Effects of mutations of a glutamine residue in loop D of the $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor on agonist profiles for neonicotinoid insecticides and related ligands[J]. Br J Pharmacol, 2002, 137: 162-169.
- [54] Meyer M D, Decker M W, Rueter L E, et al. The identification of novel structural compound classes exhibiting high affinity for neuronal nicotinic acetylcholine receptors and analgesic efficacy in preclinical models of pain[J]. Eur J Pharmacol, 2000, 393: 171-177.
- [55] Wiesner P, Kayser H. Characterization of nicotinic acetylcholine receptors from the insect *Aphis craccivora*, *Myzus persicae* and *Locusta migratoria* by radioligand binding assays: relation to thiomethoxan action[J]. J Biochem Mol Toxicol, 2000, 14: 221-230.
- [56] Lind R J, Cough M S, Reynolds S E, et al. [^3H] imidacloprid labels high- and low-affinity nicotinic acetylcholine receptor-like binding sites in the aphid *Myzus persicae* (Homiptera: Aphididae) [J]. Pestic Biochem Physiol, 1998, 62: 3-14.
- [57] Chao S L, Denchey T J, Casida J E. Whitefly (Homiptera: Aleyrodidae) binding site for imidacloprid and related insecticides: a putative nicotinic acetylcholine receptor[J]. J Econ Entomol, 1997, 90: 897-882.

(Ed. TANG J)