

◆ 综述与进展 ◆

生物农药乙基多杀菌素的研究进展

张 凯^{1,2}, 徐元媛¹, 高 尚¹, 李加荣^{3*}

(1. 石家庄学院, 石家庄 050035; 2. 石家庄市靶点药物研究与药效学评价重点实验室, 石家庄 050035; 3. 北京理工大学, 北京 100081)

摘要: 多杀菌素类化合物是一类新型高效的生物源杀虫剂, 对多种害虫具有显著的活性抑制作用。多杀霉素(spinosad)和乙基多杀菌素(spinetoram)为多杀菌素类化合物第1代和第2代商业化产品, 具有杀虫活性高、降解速度快、对环境友好以及对非靶标生物毒性低等特点。本文着重对乙基多杀菌素的理化性质、杀虫机制、应用、合成方法以及衍生化研究进行了阐述, 并对多杀菌素类化合物的研究进行了展望。

关键词: 乙基多杀菌素; 多杀霉素; 研究进展

中图分类号: TQ 453.6 文献标志码: A doi: 10.3969/j.issn.1671-5284.2024.02.006

Research progress of biological pesticide spinetoram

ZHANG Kai^{1,2}, XU Yuanyuan¹, GAO Shang¹, LI Jiarong^{3*}

(1. Shijiazhuang University, Shijiazhuang 050035, China; 2. Shijiazhuang Key Laboratory of Target Drug Research and Pharmacodynamic Evaluation, Shijiazhuang 050035, China; 3. Beijing Institute of Technology, Beijing 100081, China)

Abstract: Spinosyns was a new type of high-efficiency biological insecticide, had significant inhibitory effect against a variety of pests. Spinosad and spinetoram, as the first and second generation commercial products of spinosyns, had high insecticidal activity, fast degradation rate, and low toxicities to environment and non-target animals. The physical and chemical characteristics, insecticidal mechanism, application, synthesis and derivative research of spinetoram were discussed in this article. Prospects for the future research of spinosyns were also discussed.

Key words: spinetoram; spinosad; research progress

随着人们对环境保护和粮食安全问题的日益重视, 化学农药的过度使用以及农药残留问题愈发凸显。为了降低传统化学农药对环境造成的污染以及对人类健康的威胁, 研究人员不断地研究、创制新型农药, 因此, 生物农药逐渐走进人们的视野^[1]。近年来, 生物农药迅速发展, 已经成为虫害防治的重要手段。在众多生物农药中, 多杀菌素类化合物因其广谱高效的杀虫性能脱颖而出, 引起了各国研究人员的广泛关注。

1 多杀菌素类化合物概述

多杀菌素(spinosyns)又名刺糖菌素, 是由放线

菌刺糖多孢菌(*Saccharopolyspora spinosa*)发酵产生的次级代谢物, 能有效防治多种害虫, 如小菜蛾(*Plutella xylostella*)、甜菜夜蛾(*Spodoptera exigua* Hiibner)、卷叶蛾(*Clepsis semialbana*)、蓟马(*Thrips vulgatissimus* Haliday)、棉铃虫(*Helicoverpa armigera*)等^[2-5]。1982年, Boeck等^[6]首次从刺糖多孢菌NRRL-18395的天然发酵产物中分离得到了多杀菌素A、B、C、D、E、F、H、J和多杀菌素A拟糖苷配基。此后, 科研人员又发现了10余种天然多杀菌素类化合物, 分别命名为多杀菌素K、L、M、N、O、P、Q、R、S、T、U、V、W、Y^[7-11]。多杀菌素类化合物属于大环内酯类化合物(图1), 分子内包含一个由21个碳组成的独特的四

收稿日期: 2023-10-30

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No. 41471198); 石家庄学院博士科研启动基金(20BS006)

作者简介: 张凯(1990—), 男, 石家庄人, 博士, 讲师, 主要从事绿色农药分子设计及合成研究。E-mail: 409121023@qq.com

通信作者: 李加荣(1956—), 男, 北京人, 博士, 教授, 博导, 主要从事农业昆虫与害虫防治研究。E-mail: jrlgroup@126.com

环骨架(简称“大环内酯”),在大环内酯的9位、17位上分别连接着鼠李糖(rhamnose)和D-福乐糖胺(D-forosamine)^[12]。

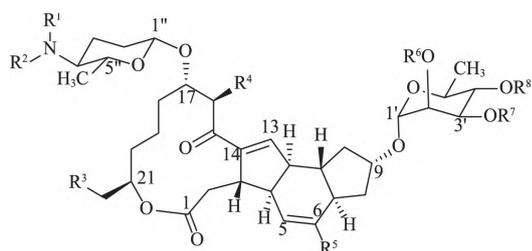


图 1 天然多杀菌素类化合物的结构图

自多杀菌素类化合物发现至今,美国陶氏益农公司(现科迪华)开发了2代多杀菌素商业化产品:多杀霉素(spinosad)和乙基多杀菌素(spinetoram)。两者均具有杀虫谱广、杀虫活性高、易降解、对非靶标生物毒性低、对人和哺乳动物安全以及不易产生抗性等优点,已广泛应用于植物虫害的防治。

2 乙基多杀菌素

研究人员通过对已发现的多杀菌素组分进行结构改造研究,并应用人工神经网络(Artificial Neural Networks, ANN)计算机程序对多杀菌素的构效关系进行推断,进而发现了乙基多杀菌素^[13]。2007年,乙基多杀菌素在新西兰首先获得登记,此后陶氏益农开始对其进行商业化推广,商品名为 Delegate WG (25%乙基多杀菌素WG)和 Radiant SC (11.7%乙基多杀菌素SC)^[14]。2012年,乙基多杀菌素在我国登记,商品名为艾绿士(60 g/L乙基多杀菌素SC),防治作物及对象主要为甘蓝小菜蛾、甜菜夜蛾,茄子、芒果、葡萄、西瓜蓟马,水稻稻纵卷叶螟、蓟马,番茄棉铃虫、潜叶蛾,杨梅树果蝇,豇豆美洲斑潜蝇等。

多杀霉素、乙基多杀菌素的结构式分别见图2和图3。

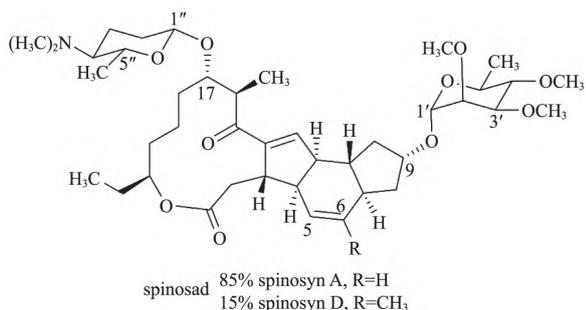


图 2 多杀霉素的组成及结构图

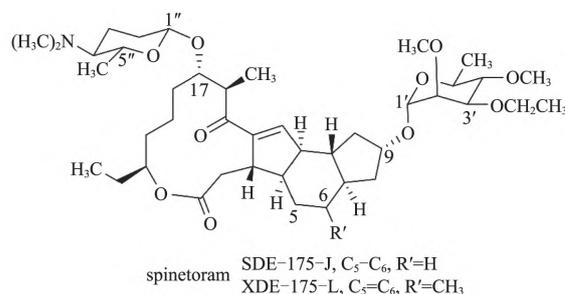


图 3 乙基多杀菌素的组成及结构图

由图2和图3可知:乙基多杀菌素结构与多杀霉素结构相似,包含一个独特的四环骨架;大环内酯的9位、17位分别连接3-乙氧基-2,4-二甲氧基鼠李糖和D-福乐糖胺,但鼠李糖基中3位的甲基醚转变为乙基醚,大环内酯的C5、C6位碳碳双键变为碳碳单键。这种结构的变化使其杀虫活性提高了10倍,杀虫谱进一步扩大,除了多杀霉素所能防治的害虫,对果树、坚果和棉花等经济作物害虫亦具有良好的防效。

2.1 乙基多杀菌素的理化性质

乙基多杀菌素主要是由乙基多杀菌素J (spinetoram-J, 75.5%)、乙基多杀菌素L (spinetoram-L, 20.7%)组成的混合物,两者的生物活性并无明显差异。其理化性质如表1所示。

表 1 乙基多杀菌素主要成分理化性质^[15]

项目	乙基多杀菌素J	乙基多杀菌素L
外观	白色粉末	白色至黄色晶体
熔点, °C	143.4	70.8
分解温度, °C	497.8	290.7
相对密度	1.495	1.181
水	0.010	0.032
甲醇		>250
丙酮		>25
乙酸乙酯		>250
1,2-二氯乙烷		>250
二甲苯		>250
n-辛醇		132
庚烷		61

2.2 乙基多杀菌素的作用机理

乙基多杀菌素独特的化学结构决定了其新颖独特的杀虫机理,通过刺激害虫的中枢神经系统而导致非功能性的肌肉收缩、颤抖衰竭,害虫因长时间的兴奋过度,导致神经肌肉疲劳,最终瘫痪死亡^[16-17]。与传统的有机磷和拟除虫菊酯类杀虫剂的

作用机理不同,乙基多杀菌素不作用于乙酰胆碱酯酶(AChE)的 Na^+ 通道,而是作用于烟碱乙酰胆碱受体(nAChR),释放乙酰胆碱(ACh)^[18-20];同时乙基多杀菌素还作用于 γ -氨基丁酸(GABA)受体,钝化GABA受体而使神经系统过度兴奋,进一步提高其杀虫活性^[21]。正是由于乙基多杀菌素独特的杀虫作用机理,使其不易与其他杀虫剂产生交互抗性。

2.3 乙基多杀菌素的降解途径及生物毒性

乙基多杀菌素可通过光降解和微生物降解等多种途径快速降解,最终降解为C、H、O、N等自然成分^[22]。因此,只要合理使用乙基多杀菌素,一般不会对环境造成危害。此外,基于选择性高,对非靶标生物无毒或低毒(见表2),对环境更安全,乙基多杀菌素于2008年获得美国“总统绿色化学品挑战奖”^[23]。

表2 乙基多杀菌素对非靶标生物的毒性

名称	基准受试物种	测试结果
乙基多杀菌素	水生生物	鲤鱼 $\text{LC}_{50}=3.9 \text{ mg/L}$
		大型溞 $\text{EC}_{50}>3.17 \text{ mg/L}$
		绿藻 $\text{E.C}_{50}=1.060 \text{ mg/L}$
	蜜蜂	东非蜂 $\text{LD}_{50}=24.8 \text{ ng/蜂}$
	鸟类	北美鹌 $\text{LD}_{50}>2 \text{ 250 mg/kg}$

2.4 乙基多杀菌素的应用

乙基多杀菌素作为多杀菌素类化合物的第2代商业化产品,其结构虽然与多杀菌素相似,但其杀

虫谱更广,活性更优,尤其对鳞翅目和缨翅目害虫(见表3)。乙基多杀菌素对苹果卷叶蛾的活性是多杀菌素的4.3倍,对烟芽夜蛾(*Heliothis assulta*)的活性是多杀菌素的6倍^[24]。

表3 乙基多杀菌素对鳞翅目和缨翅目部分昆虫的活性

昆虫类别	有害生物	作物	$\text{LC}_{50}/(\text{mg/kg})$
鳞翅目	小菜蛾3龄幼虫	甘蓝	0.010
	夜蛾3龄幼虫	甘蓝	1.170
	菜粉蝶中龄幼虫	甘蓝	0.020
	铃夜蛾3龄幼虫	甘蓝	0.080
	黑点夜蛾3龄幼虫	甘蓝	0.010
	褐带卷蛾中龄幼虫	茶树	0.940
	长卷蛾3龄幼虫	茶树	0.870
缨翅目	褐带卷蛾3龄幼虫	苹果树	0.110
	稻纵卷叶螟晚龄幼虫	水稻	0.060
	蓟马成虫	黄瓜	0.019
	非洲橘硬蓟马成虫	茶树	0.038

2.5 乙基多杀菌素的合成研究

目前,乙基多杀菌素是通过对多杀菌素J(spinosyn J)和多杀菌素L(spinosyn L)进行化学结构修饰得到,如图4所示^[25]。但该方法中原料spinosyn J和spinosyn L的发酵菌株由原创公司垄断,且发酵产率低、分离困难,导致乙基多杀菌素产品成本高,制约着其发展与应用。因此,研究乙基多杀菌素新的合成方法具有重要意义。

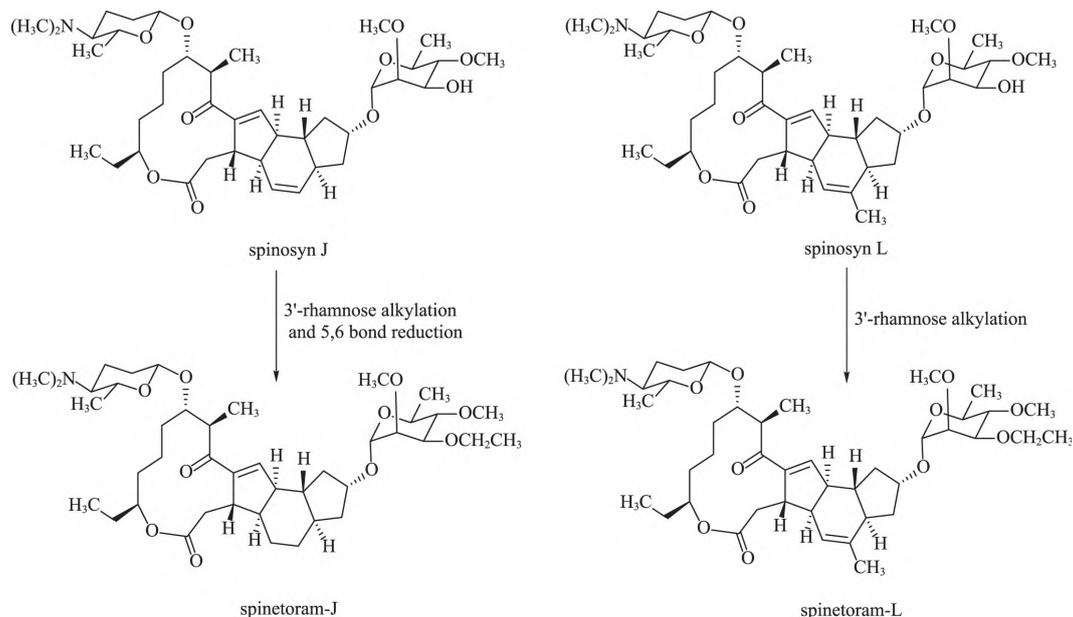


图4 乙基多杀菌素的传统合成方法

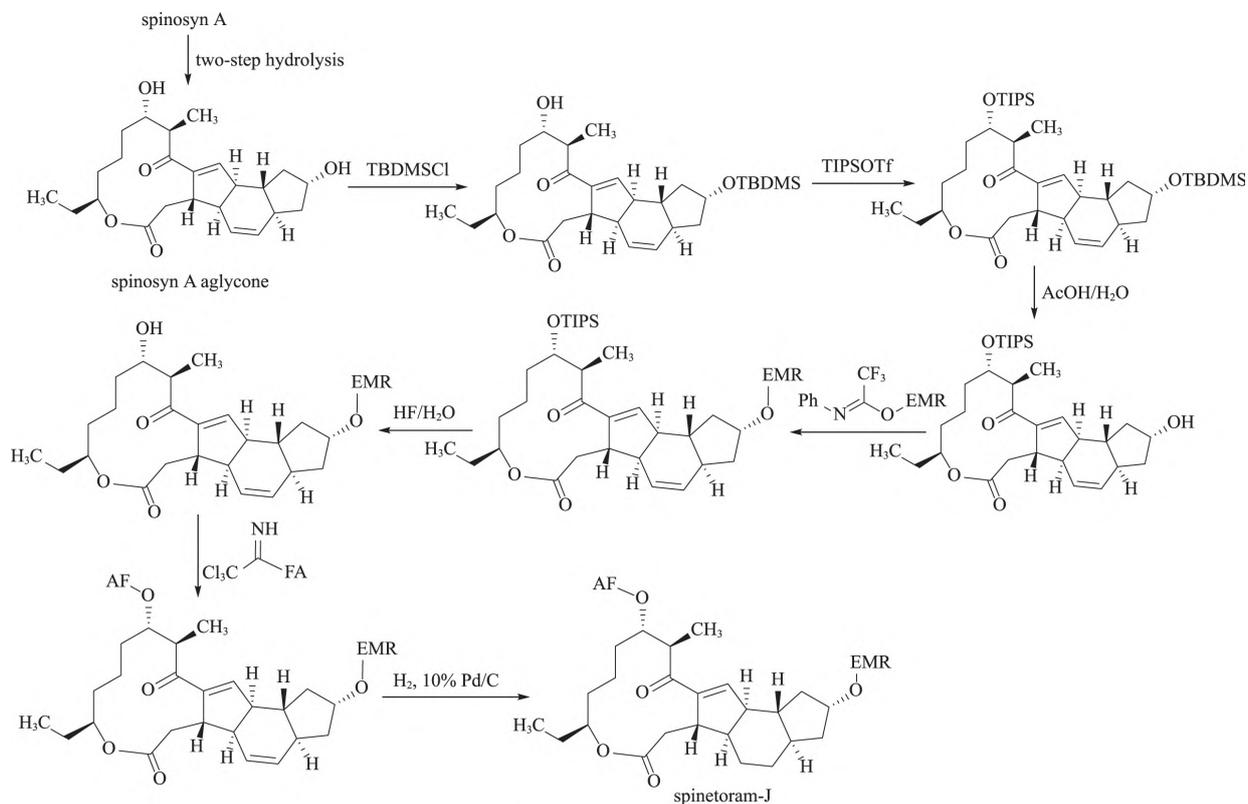
2017年,Zhang等^[26]首次提出以产量高、价格较低的spinosyn A为原料,通过水解得到大环内酯,然

后经过不同保护基的保护与脱保护作用,先后与自制的3-乙氧基-2,4-二甲氧基鼠李糖和福乐糖胺发生

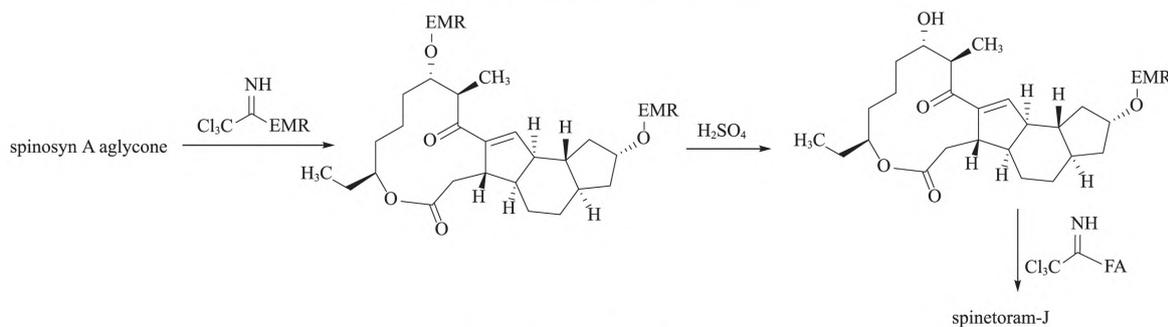
糖苷化反应,最后氢化还原得到乙基多杀菌素的主要成分 spinetoram-J。

此后,Zhang等在此基础上不断对合成路线进行改进优化,先后提出了基于自保护策略的合成

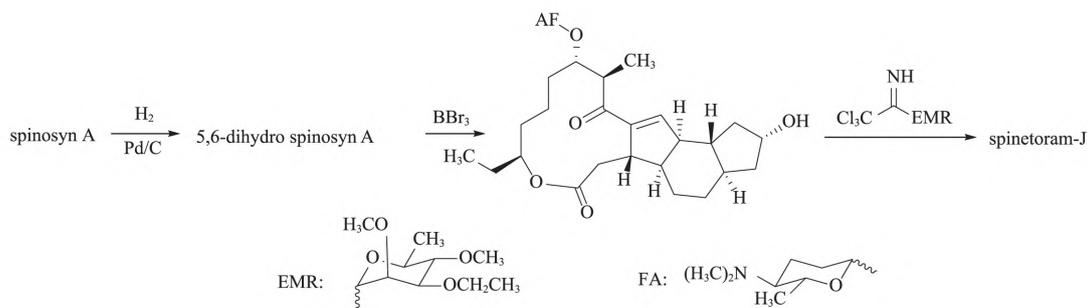
路线^[27]和基于选择性水解鼠李糖基的3步合成路线^[28],大大减少了乙基多杀菌素的合成步骤,为今后工业化生产提供了新的思路。乙基多杀菌素J的半合成路线见图5。



a 基于不同保护基策略的半合成路线



b 基于自保护策略的半合成路线



c 基于选择性水解鼠李糖基策略的半合成路线

图 5 乙基多杀菌素 J 的半合成路线

2.6 乙基多杀菌素的衍生化研究

近年来,多杀菌素类化合物衍生化研究主要关注多杀霉素的衍生化研究,而对于乙基多杀菌素的衍生化研究却少有报道。与多杀霉素相比,乙基多杀菌素更加高效,杀虫谱更广,因此,对乙基多杀菌素进行衍生化研究十分必要。

2018年,Zhang等^[27]在基于自保护策略的乙基多杀菌素J的半合成路线的基础上,对乙基多杀菌素进行了衍生化研究(图6),得到了一系列的衍生物,对其杀虫活性进行了测试,并对其构效关系进行了进一步研究。结果表明,取代基连接吸电子基团的乙基多杀菌素衍生物,可能具有更高效的杀虫活性。

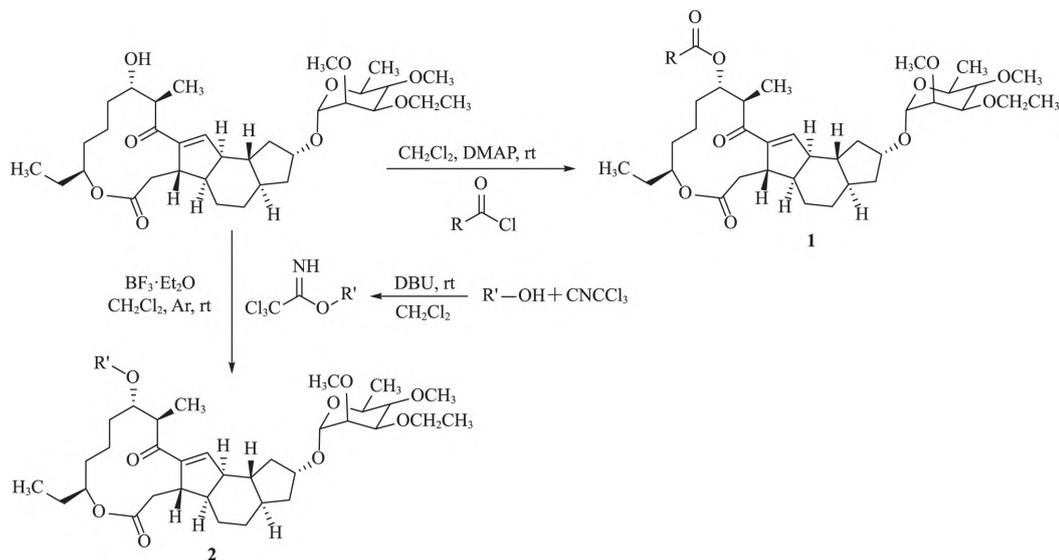


图6 乙基多杀菌素J的衍生化合成路线

3 结语

目前,我国对乙基多杀菌素的研究与国外相比,仍稍显薄弱,建立自主的多杀菌素类化合物的生产技术,特别是乙基多杀菌素的生产技术,对我国农药、农业的发展具有重要的意义。

化学合成的乙基多杀菌素J与市售的乙基多杀菌素的杀虫活性基本一致,但乙基多杀菌素J的半合成路线仍存在许多问题,如步骤多、产率低、操作较

繁琐等,目前难以实现工业化生产。但如果能找到一种方法,能够选择性地多杀菌素A中鼠李糖基的3'位甲基醚水解,高效地转化为多杀菌素J,进而合成乙基多杀菌素J(图7),那么乙基多杀菌素J的合成过程将大大简化,产率将大幅度提升,有望实现工业化生产。

因此,多杀菌素类化合物的选择性水解将成为今后研究的重点与难点,并为今后此类化合物的合成以及衍生化研究提供技术支持。

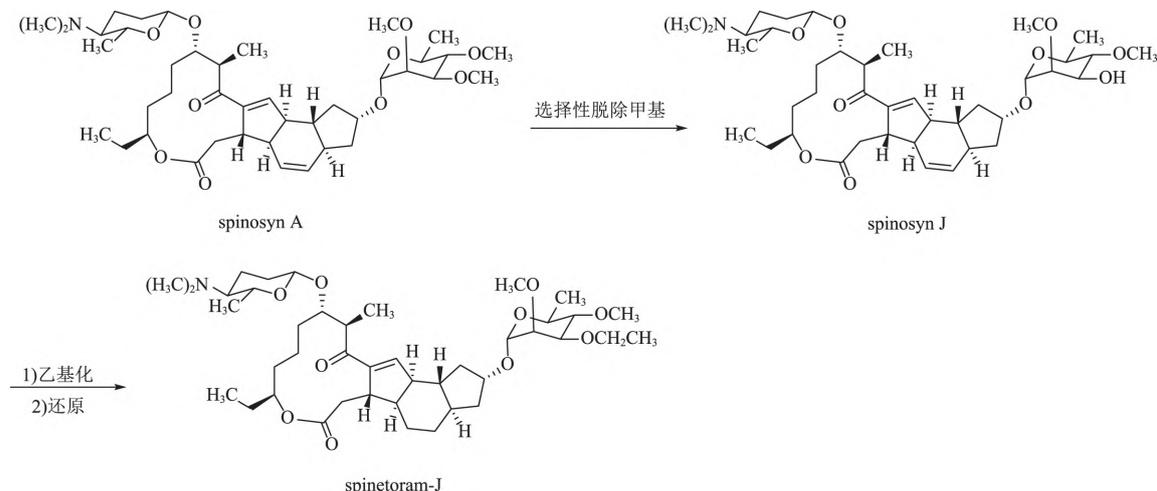


图7 乙基多杀菌素J的设想合成路线

乙基多杀菌素与多杀霉素的差别仅仅是大环内酯C5-C6位的键型以及鼠李糖3位的取代基不同,丁烯基多杀菌素和21-环丁基多杀菌素与多杀霉素的差别仅仅是大环内酯C21位的取代基不同,然而它们的杀虫活性却较杀霉素有很大的提升。由此可见,对多杀菌素类化合物进行结构修饰,研究新型衍生物的生物活性非常有意义。而目前,对于乙基多杀菌素的衍生化研究相对较少,特别是对乙基多杀菌素鼠李糖基团的结构改造未见文献报道。因此,今后的研究应加强对乙基多杀菌素的衍生化研究,以期获得性能优异的新型杀虫剂。

参考文献

- [1] 寿佳丽, 裘娟萍. 新型生物农药——丁烯基多杀菌素[J]. 农药 2011, 50(4): 239-243; 272.
- [2] MERTZ F P, YAO R C. *Saccharopolyspora spinosa* sp. nov. isolated from soil collected in a sugar mill rum still[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1990, 40(1): 34-39.
- [3] DAEUBLE J, SPARKS T C, JOHNSON P, et al. Modification of the butenyl-spinosyns utilizing cross-metathesis[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2009, 17(12): 4197-4205.
- [4] SHEEHAN L S, LILL R E, WILKINSON B, et al. Engineering of the spinosyn PKS: directing starter unit incorporation[J]. Journal of Natural Products, 2006, 69(12):1702-1710.
- [5] TIAN X L, YIN X H, LONG Y H, et al. Effect of low dose spinetoram on detoxification enzymes in *Plutella xylostella* [J]. Chinese Journal of Pest Science, 2016, 18: 589-595.
- [6] BOECK L D, CHIO H, EATON T E, et al. Macrolide compounds: EP, 0375316[P]. 1994-12-28.
- [7] BAKER P J. Process for isolating A83543 and its components: US, 5227295A[P]. 1993-07-13.
- [8] TURNER J R, HUBER M L B, BROUGHTON M C, et al. Process for the production of A83543 compounds with *saccharopolyspora spinosa*: US, 5591606[P]. 1997-01-07.
- [9] MYNDERSE J S, MABE J A, TURNER J R, et al. New A83543 compounds and process for production thereof: WO, 9420518[P]. 1994-09-15.
- [10] MYNDERSE J S, MABE J A, TURNER J R, et al. A83543 compounds and process for production thereof: US, 5670486[P]. 1997-09-23.
- [11] SPARKS T C, THOMPSON G D, KIRST H A, et al. Fermentation-derived insect control agents[M]//Hall F R, Menn J J. Biopesticides: use and delivery. New Jersey: Humana Press, 1999.
- [12] KIRST H A. The spinosyn family of insecticides: realizing the potential of natural products research[J]. Journal of Antibiotics, 2010, 63(3): 101-111.
- [13] SAL GADO V L. Studies on the mode of action of spinosad: symptoms and physiological correlates [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 1998, 60: 91-102.
- [14] LEGOCKI J, POLEC I, ZELECHOWSKI K. Contemporary trends in development of active substances possessing the pesticidal properties: spinosyn insecticides[J]. Pestycydy, 2010, 1(4): 59-71.
- [15] SPARKS T C, DRIPPS J E, WATSON G B, et al. Resistance and cross-resistance to the spinosyns—a review and analysis[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2012, 102(1): 1-10.
- [16] THOMPSON G D, MICHEL K H, YAO R C, et al. The discovery of *saccharopolyspora spinosa* and a new class of insect control products[J]. Downto Earth, 1997, 52(1): 1-5.
- [17] SALGADO V L, SHEETS J J, WATSON G B, et al. Studies on the mode of action of spinosad: the internal effective concentration and the concentration dependence of neural excitation[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 1998, 60(2): 103-110.
- [18] 封云涛, 徐宝云, 吴青君, 等. 杀虫剂分子靶标烟碱型乙酰胆碱受体研究进展[J]. 农药学报, 2009, 11(2): 149-158.
- [19] 徐志红, 蒋志胜. 生物杀虫剂多杀菌素的中毒症状和作用机理[J]. 农药科学与管理, 2004, 25(2): 25-28.
- [20] SALGADO V L, SPARKS T C. The spinosyns: chemistry biochemistry mode of action and resistance[J]. Comprehensive Molecular Insect Science, 2005, 23(23):137-173.
- [21] WATSON G B. Action of insecticidal on gaminobutyric acid responses from small-diameter cockroach neurons[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2001, 71: 20-26.
- [22] THOMPSON G D, SPARKS T C. Spinosad: a green natural product for insect control[M]. ACS: Symposium Series, 2002.
- [23] 柴洪新, 史大昕, 张奇, 等. 多杀菌素的研究进展[J]. 化工进展, 2011(S2): 239-243.
- [24] GENTZ M C, MURDOCH G, KING G F. Tandem use of selective insecticides and natural enemies for effective reduced-risk pest management[J]. Biological Control, 2010, 52(3): 208-215.
- [25] PODHOREZ D E, ROTH G A, MOLZAHN D C, et al. Selective reduction of spinosyn factors Et-J and Et-L to spinetoram: US, 7683161[P]. 2010-03-23.
- [26] ZHANG K, LIU S L, LIU A J, et al. A semisynthesis of 3'-O-ethyl-5,6-dihydrospinosyn J based on the spinosyn A aglycone[J]. Beilstein Journal of Organic Chemistry, 2017, 13(1): 2603.
- [27] ZHANG K, LI J R, LIU H L, et al. Semi-synthesis and insecticidal activity of spinetoram J and its *D*-forosamine replacement analogues[J]. Beilstein Journal of Organic Chemistry, 2018, 14(1): 2321-2330.
- [28] ZHANG K, LI J R, ALA M S. A novel semi-synthesis of spinetoram-J based on the selective hydrolysis of 5,6-dihydro spinosyn A[J]. Natural Product Research, 2018: 1-8.

(编辑:顾林玲)