

香豆素类化合物的农药活性及东茛菪内酯 杀螨作用机理研究进展

刘瑾林, 周红, 郭富友, 丁伟*

(西南大学植物保护学院, 重庆北碚 400715)

摘要: 香豆素类化合物是自然界广泛存在的一类具有苯并 α -吡喃酮结构的天然化合物, 具有抗癌、抗菌、抗炎和抗氧化等生理活性, 同时也具有良好的杀虫、杀菌等农用活性。近年来研究表明, 香豆素类化合物的杀螨活性更为突出, 而且具有独特的作用靶标, 具有开发成新型杀螨剂的潜力。本文综述了香豆素类化合物及其衍生物的杀虫、杀螨和抑菌活性, 重点介绍了具有杀螨活性的香豆素类化合物的结构修饰、构效关系以及东茛菪内酯等对朱砂叶螨 *Tetranychus cinnabarinus* 的作用机制, 明确其杀螨活性的主要作用靶标是新型的钙离子通道相关的 G 蛋白偶联神经肽受体 (TcGPCR)。这些研究进展为以香豆素类化合物为模板、以钙离子通道为靶标的新型植物性杀虫、杀螨剂的创制提供了重要基础。

关键词: 香豆素类化合物; 生物活性; 杀螨活性; 作用靶标; 构效关系; 作用机理

中图分类号: TQ450.1; TQ450.11 文献标志码: A

Research advances in agricultural activity of coumarin compounds and mechanism of scopoletin against *Tetranychus cinnabarinus*

LIU Jinlin, ZHOU Hong, GUO Fuyou, DING Wei*

(College of Plant Protection, Southwest University, Beibei 400715, Chongqing, China)

Abstract: Coumarins are a class of natural compounds with phenylhydrazine α -pyrone structure that are widely distributed in nature. They have exhibited a broad scope of medical (e.g., anticancer, antibacterial, antiinflammatory and antioxidant activities) and agricultural properties (e.g., insecticidal and antifungal activities). Recent studies have shown that coumarin compounds have the potential to be developed into novel acaricides because their prominent acaricidal activity and specific action target. Firstly, the advances on insecticidal, acaricidal, antibacterial activities of coumarin compounds and their derivatives have been reviewed. Then structural modification and structure-activity relationship study of coumarins and the mechanism of scopoletin against *Tetranychus cinnabarinus* have been summarized. We have identified that the main target is the calcium channel-associated G-protein coupled neuropeptide receptor (TcGPCR). These advances provide an important basis for the creation of new phytochemical insecticidal and acaricidal agents that use coumarin compounds as templates and calcium ion channels as targets.

收稿日期: 2019-10-09; 录用日期: 2019-10-30.

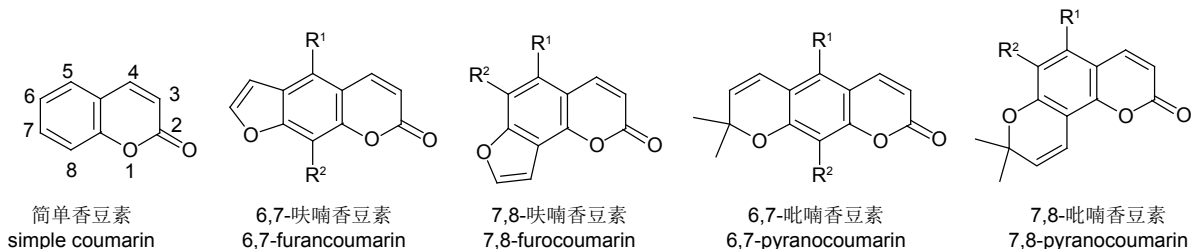
基金项目: 国家自然科学基金 (31572041; 31972288).

作者简介: 刘瑾林, 男, 硕士研究生, E-mail: 1065319722@qq.com; *丁伟, 通信作者 (Author for correspondence), 男, 教授, 主要从事天然产物农药研究, E-mail: dwing818@163.com

Keywords: coumarin compounds; biological activity; acaricidal activity; action target; structure-activity relationship; action mechanism

香豆素类化合物是一类具有苯并 α -吡喃酮母核的天然化合物的总称, 可看作是由顺式邻羟基桂皮酸脱水形成的内酯, 具有芳香气味。根据环

上取代基及其位置的不同, 常将香豆素类化合物分为简单香豆素、呋喃香豆素、吡喃香豆素和其他香豆素 (见图式 1)^[1]。



图式 1 香豆素化合物的骨架结构

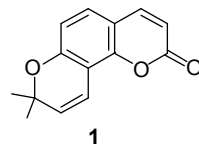
Scheme 1 The structural skeleton of coumarins

最早的香豆素类化合物是由 Vogel 于 1820 年从圭亚那的黄香草木犀 *Melilotus officinalis* 中分离出来^[2], 目前已从 800 多种植物中分离出超过 1 300 种天然的香豆素类化合物^[3]。作为一类植物次生代谢物质, 香豆素类化合物可以游离态或糖苷的形式广泛的存在于伞形科、芸香科、菊科、豆科、瑞香科以及茄科等高等植物中的根、茎、叶、花等部位^[4-8], 在动物和微生物中也有少量发现^[9-10]。香豆素类化合物在医学上使用广泛, 具有抗癌、抗菌、抗炎和抗氧化等活性^[11-12]。近年来, 笔者所在的研究团队对香豆素类化合物的杀螨活性、结构修饰、构效关系和杀螨作用机制进行了系统研究, 先后发现了甲氧基香豆素类化合物东莨菪内酯 (scopoletin)、滨蒿内酯 (scoparone) 等具有很好的杀螨活性 (国家发明专利: ZL2012105548719 和 ZL2015107773560), 而滨蒿内酯的杀螨活性显著高于东莨菪内酯 (72 h 的 LC_{50} 分别为 429.1 mg/L 和 122.2 mg/L)^[13]。系统研究表明, 东莨菪内酯对朱砂叶螨具有触杀、内吸和产卵抑制等多方面活性^[14-15], 且在室内长期胁迫下, 朱砂叶螨几乎无抗性发展^[16], 表明东莨菪内酯具有开发成绿色天然杀螨剂的基本条件。由此, 全国农药标准化技术委员会正式将东莨菪内酯的农药通用名称命名为“甲氧香螨酯”(农标字 2012 第 005 号)。本文结合香豆素类化合物的生物活性, 重点对香豆素类化合物及其衍生物的杀螨特性和毒理学研究进展进行综述, 以期利用香豆素这一天然活性化合物模板、创制出具有良好杀螨活性和特异作用机制的杀虫、杀螨剂提供参考。

1 香豆素类化合物的生物活性

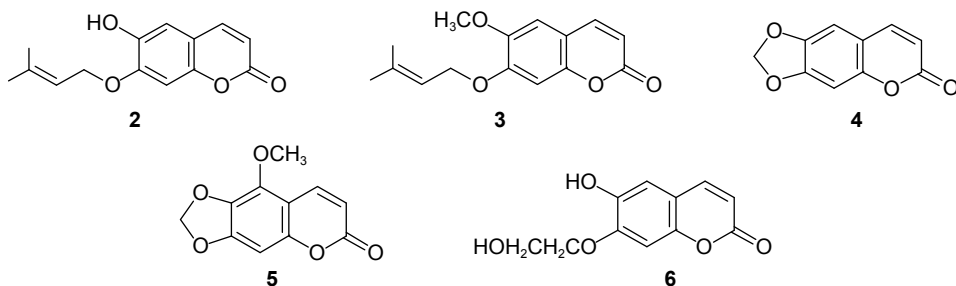
1.1 香豆素类化合物的杀虫活性

目前对香豆素的研究主要是对其医学活性的深入探讨上, 对其杀虫活性的研究报道并不多, 而且主要停留在从植物中提取的香豆素类化合物所表现的拒食、抑制生长和触杀等活性上。Mukandiwa 等^[17]从津巴布韦当地一种芸香科植物八角味黄皮 *Clausena anisata* 叶的丙酮-正己烷提取物中分离得到了 2',2'-二甲基吡喃香豆素 (1), 发现其对铜绿蝇 *Lucilia cuprina* 具有良好的拒食作用, 在 1 mg/L 的最低浓度下, 即可抑制 1 龄和 2 龄幼虫的取食。



Vera 等^[18]从阿根廷一种本土植物 *Pterocaulon polystachyum* 中分离出的 6-羟基-7-异戊二烯氧基香豆素 (2)、6-甲氧基-7-异戊烯基香豆素 (3)、6,7-亚甲二氧基香豆素 (4)、5-甲氧基-6,7-亚甲二氧基香豆素 (5) 和 6-甲氧基-7-(2-羟基乙氧基) 香豆素 (6) 等 5 种香豆素类化合物对草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 均具有十分优秀的拒食活性, 在饲料中添加 2 μ g/mg 的上述化合物即可达 100% 拒食作用, 且化合物 4 和 5 还表现出一定的生长抑制活性。

谢颖等^[19]合成的多种 6-酯基香豆素衍生物对棉蚜 *Aphis gossypii* Glover、豆蚜 *Aphis croccivora* Koch 和棉古毒蛾 *Orgyia postica* Walker 具有强烈的触杀作用, 而多种 6-醚基香豆素衍生物则对淡色库蚊 *Culex pipiens quinquefasciatus* 和豆蚜 *A.*



croccivora 没有明显的触杀活性, 说明香豆素类化合物骨架上的取代基对其活性影响巨大。Wang 等^[20]发现欧前胡内酯 (7)、异茴芹内酯 (8)、异欧前胡内酯 (9) 对淡色库蚊 *C. pipiens quinquefasciatus* 和埃及伊蚊 *Aedes aegyptii* 均具有强烈的触杀活性, 24 h 的 LC_{50} 值分别为 3.14 和 2.88 mg/L、5.89 和 6.82 mg/L、11.70 和 12.97 mg/L, 以上 3 种香豆素对这两种库蚊幼虫的倍硫磷抗性品系 (抗性比 $RR =$

390)、溴氰菊酯抗性品系 ($RR = 164$), 氟氯氰菊酯抗性品系 ($RR = 14$) 和对硫磷抗性品系 ($RR = 14$) 的毒力几乎相同, 说明这些香豆素的杀蚊作用机理与上述化学药剂不同。

此外, 许多植物诸如砂地柏、黄花蒿、臭檀吴萸、瑞香狼毒和臭节草中提取的香豆素以及多种天然香豆素类化合物 (10~29) 也具有多种杀虫活性^[20-25](表 1)。

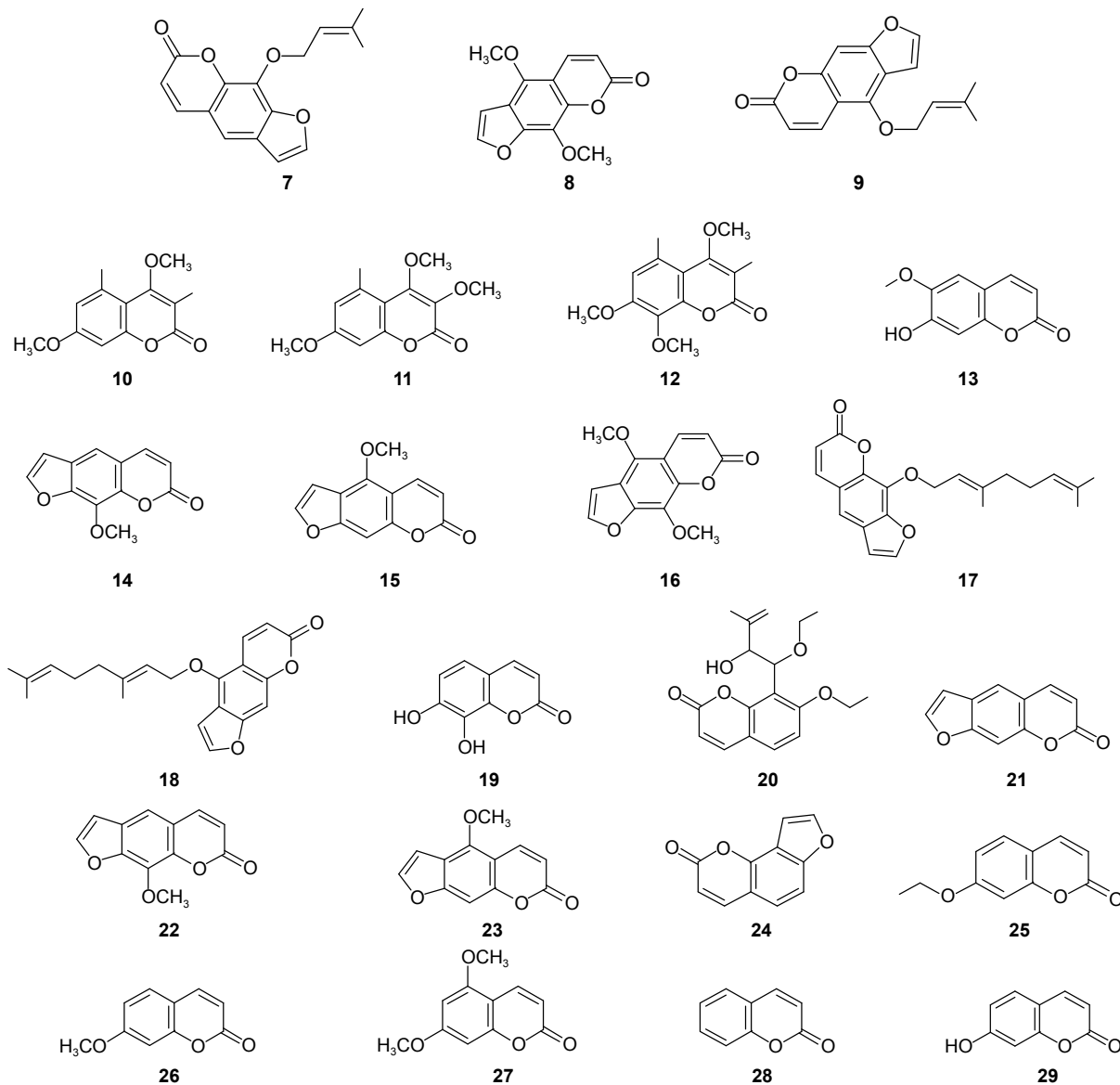


表 1 香豆素类化合物 (10~29) 的杀虫活性
Table 1 Insecticidal activity of coumarins (10-29)

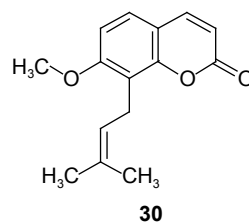
| 化合物 Compound | 作用对象 Target organisms | 作用方式 Mode of action | 活性评价* Activity evaluation* | 参考文献 Ref. |
|--|--|---|---|--------------|
| 圆柏香豆素 Coumasabin (10) | 东方粘虫 | | AFC ₅₀ = 50 mg/L, 550 mg/L ^a | |
| 3-甲氧基圆柏香豆素 3-Methoxycoumasabin (11) | <i>Mythimna separata</i> (Walker) | 拒食 Antifeeding | AFC ₅₀ = 670 mg/L, 3440 mg/L ^a | [21] |
| 8-甲氧基圆柏香豆素 8-Methoxycoumasabin (12) | <i>Pieris rapae</i> | | AFC ₅₀ = 740 mg/L, 3500 mg/L ^a | |
| 东莨菪内酯 Scopoletin (13) | 尘污灯蛾 <i>Spilarctia obliqua</i> | 拒食 Antifeeding 抑制生长 Growth inhibitory | FD ₅₀ = 0.097 μg/mg ^b GI ₅₀ = 0.021 μg/mg ^c | [22] |
| 8-甲氧基补骨脂素 8-Methoxypsoralen (14) | | | FI ₅₀ = 7.4 × 10 ⁻⁴ mol/L, 6.6 × 10 ⁻⁴ mol/L ^d | |
| 5-甲氧基补骨脂素 5-Methoxypsoralen (15) | 海灰翅夜蛾 <i>Spodoptera littoralis</i> | | FI ₅₀ = 7.1 × 10 ⁻⁵ mol/L, 5.2 × 10 ⁻⁴ mol/L ^d | |
| 5,8-二甲氧基补骨脂素 5,8-Dimethoxypsoralen (16) | 烟芽夜蛾 | 拒食 Antifeeding | FI ₅₀ = 6.4 × 10 ⁻⁴ mol/L, 6.6 × 10 ⁻⁴ mol/L ^d | [23] |
| 8-香叶草氧基补骨脂素 8-Geranyloxypsoralen (17) | <i>Heliothis virescens</i> | | FI ₅₀ = 8.0 × 10 ⁻⁴ mol/L ^d , ndr ^e | |
| 5-香叶草氧基补骨脂素 5-Geranyloxypsoralen (18) | | | FI ₅₀ = 4.4 × 10 ⁻⁴ mol/L, 6.1 × 10 ⁻⁴ mol/L ^d | |
| 瑞香素 Daphnetin (19) | 棉蚜 <i>Aphis gossypii</i> Glover 烟蚜 <i>Myzus nicotianae</i> Blackman 桔蚜 <i>Toxoptera citricida</i> | 拒食 Antifeeding 触杀 Contact toxicity | LD ₅₀ = 0.029 μg/mg ^f LD ₅₀ = 0.031 μg/mg ^f LD ₅₀ = 0.096 μg/mg ^f | [24] |
| 小叶九里香内酯 Murraxocin (20) | <i>Plecoptera reflexa</i> 铜扇舟蛾 <i>Clostera cupreata</i> 竹弯茎野螟 <i>Crypsiptya cocclesalis</i> | 触杀 Contact toxicity | 10 mg/mL 下可达80%死亡率 80% mortality at 10 mg/mL | [25] |
| 补骨脂素 Psoralen (21) | | | LC ₅₀ = 26.64 mg/L, 34.22 mg/L ^g | |
| 花椒毒素 Xanthotoxin (22) | | | LC ₅₀ = 39.35 mg/L, 45.11 mg/L ^g | |
| 香柑内酯 Bergapten (23) | | | LC ₅₀ = 72.42 mg/L, 73.49 mg/L ^g | |
| 白芷内酯 Angelicin (24) | 淡色库蚊 <i>Culex pipiens quinquefasciatus</i> | | LC ₅₀ = 22.84 mg/L, 26.40 mg/L ^g | |
| 7-乙氧基香豆素 7-Ethoxycoumarin (25) | 埃及伊蚊 <i>Aedes aegyptii</i> | 触杀 Contact toxicity | LC ₅₀ = 31.73 mg/L, 40.54 mg/L ^g | [20] |
| 7-甲氧基香豆素 Herniarin (26) | | | LC ₅₀ = 39.27 mg/L, 44.39 mg/L ^g | |
| 白柠檬素 Limettin (27) | | | LC ₅₀ = 57.03 mg/L, 60.50 mg/L ^g | |
| 香豆素 Coumarin (28) | | | LC ₅₀ = 73.95 mg/L, 76.35 mg/L ^g | |
| 伞形花内酯 Umbelliferone (29) | | | LC ₅₀ = 106.02 mg/L, 132.65 mg/L ^g | |

注: *并列数据表示 1 种化合物对多种害虫杀虫活性; ^a 拒食中浓度; ^b 半数取食威慑; ^c 半数生长抑制; ^d 半数取食指数; ^e 非线性剂量效应关系; ^f 致死中量; ^g 致死中浓度。

Note: *Parallel data indicates the insecticidal activity of one compound against multiple pests: ^a antifeedant concentration of 50%; ^b feeding deterrence of 50%; ^c growth inhibition of 50%; ^d feeding index of 50%; ^e no linear dose-dependent response; ^f Median lethal dose; ^g median lethal concentration.

研究表明, 蛇床子素 (30) 的乳油、粉剂对韭蛆 *Bradysia odoriphaga* 和玉米象 *Sitophilus zeamais* 表现出良好防效, 在中国登记的产品有 1% 蛇床子素水乳剂、1% 蛇床子素·8 000 IU/μL Bt 水悬乳剂和 0.4% 蛇床子素乳油, 用于防治菜青虫 *P. rapae* 和茶尺蠖 *Ectropis obliqua hypulina* Wehrli^[26-28]。香豆素类化合物所表现出高效、广

谱的杀虫活性使其具有开发成为新型杀虫剂的潜力。



1.2 香豆素类化合物的抑菌活性

香豆素类化合物具有广泛的抑菌活性。Chen 等^[29]发现, 香豆素 (**28**) 能通过破坏细菌细胞膜和阻碍生物膜的形成而抑制青枯雷尔氏菌 *Ralstonia solanacearum* 的生长; 于艳梅^[30] 同样发现, 在 100 $\mu\text{g/mL}$ 下, 香豆素对青枯雷尔氏菌 *R. solanacearum* 24 h 的抑制率达 96.40%。东茛菪内酯 (**13**) 对根霉病菌 *Rhizopus stolonifer*、焦腐病菌 *Lasiodiplodia theobromae*、腐皮镰刀菌 *Fusarium solani* 和尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum* 4 种真菌的菌丝生长具

有抑制作用^[31]; 在 4×10^{-6} mol/L 的下能够完全抑制橡胶树炭疽病菌 *Colletotrichum gloeosporioides* 和黄瓜褐斑病菌 *Corynespora cassiicola* 的孢子萌发和芽管生长^[32]; Yang 等^[33] 测定了 18 种香豆素类化合物对青枯雷尔氏菌 *R. solanacearum* 的抑制活性、其中活性最好的为瑞香素 (**19**), 在 100 $\mu\text{g/mL}$ 时抑制率达 97.4%。此外, 独活、无花果中含有的香豆素类化合物和简单香豆素蛇床子素及其类似物 (**31~33**) 也具有优秀的抑菌活性^[34-37](表 2)。

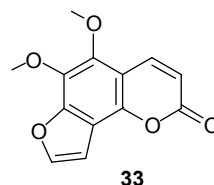
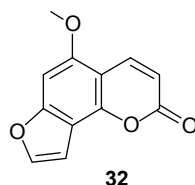
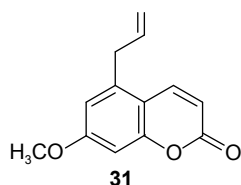


表 2 香豆素类化合物的抑菌活性

Table 2 Antibacterial activity of coumarins

| 化合物 Compound | 作用对象 Target organisms | 有效中浓度* EC ₅₀ *($\mu\text{g/mL}$) | 参考文献 Ref. |
|---|--|--|--------------|
| | 草坪纹枯病菌 <i>Rhizoctonia solani</i> | 21 | |
| | 芒果炭疽病菌 <i>Colletotrichum musae</i> | 24 | |
| | 苹果叶枯病菌 <i>Rhizoctonia solani</i> | 27 | |
| | 辣椒疫霉病菌 <i>Phytophthora capsici</i> | 40 | |
| | 辣椒炭疽(红)病菌 <i>Collectotrum gloeosporioides</i> | 41 | |
| | 番茄灰霉病菌 <i>Botrytis cinerea</i> Pers. | 42 | |
| 蛇床子素 Osthole (30) | 油菜菌核病菌 <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> | 43 | [34] |
| | 小麦赤霉病菌 <i>Fusarium graminearum</i> | 57 | |
| | 苹果轮纹病菌 <i>Macrophoma kawatsukai</i> | 62 | |
| | 烟草赤星病菌 <i>Alternaria alternata</i> | 428 | |
| | 西瓜枯萎病菌 <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>niveuma</i> | 40 | |
| | 棉花枯萎病菌 <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i> | 47 | |
| | 棉花黄萎病菌 <i>Verticillium dahlia</i> | 218 | |
| | 水稻稻瘟病菌 <i>Pyricularia grisea</i> | 453 | |
| 7-甲氧基香豆素 7-Methoxycoumarin (26) | 小麦赤霉病菌 <i>Fusarium graminearum</i> | 42, 30 | |
| | 油菜菌核病菌 <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> | 87, 77 | |
| 5-烯丙基-7-甲氧基香豆素 5-Allyl-7-methoxycoumarin (31) | 水稻纹枯病 <i>Thantephorus cucumis</i> | 44, 26 | [35] |
| | 棉花立枯病菌 <i>Rhizoctonia solani</i> | 46, 40 | |
| 补骨脂素 Psoralen (21) | 苹果腐烂病菌 <i>Valsa mali</i> Miyabe et Yamada | 70 | |
| | 小麦赤霉病菌 <i>Fusarium graminearum</i> | 230 | [36] |
| | 棉花枯萎病菌 <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i> | 120 | |
| 异佛手柑内酯 Isobergapten (32) | | 47 | |
| 茴芹内酯 Pimpinellin (33) | 柑桔炭疽菌 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | 42 | [37] |
| 异茴芹内酯 Isopimpinellin (8) | | 46 | |

注: 表中并列数据表示多种化合物对一种病原菌抑菌活性。

Note: Parallel data in the table indicates the antibacterial activity of various compounds against one pathogen.

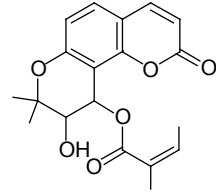
目前已有一些香豆素类化合物作为杀菌剂进行了农药登记。龚天波^[38] 报道了 10% 前胡香豆素

(**34**) 微乳剂 100 倍液和 200 倍液在大田中对水稻稻瘟病具有良好的防效, 施药 14 d 后防治效果分

别达 81.89% 和 81.34%。石志琦^[39]报道了 1% 蛇床子素水乳剂(已完成登记)对黄瓜白粉病具有较好的防治效果,在有效成分用量为 27.0 g/hm² 时,防治效果可达 74.79%~98.51%。

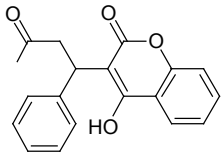
1.3 香豆素类化合物的其他生物活性

1.3.1 杀鼠活性 有研究表明,香豆素类化合物具有良好的杀鼠活性,其中一类羟基香豆素化合物(35~41)作为杀鼠剂已经成功商品化。自 1948 年起,双香豆素被应用于灭鼠,随后最早的抗凝血杀鼠剂华法林(35)被合成,且其毒力更大,在中国被称为“杀鼠灵”,化学名称为 3-(1-丙酮基苄基)-4-羟基香豆素。后续开发出的第 1 代杀鼠剂如

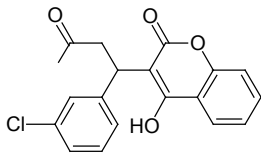


34

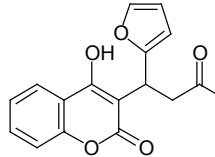
氯灭鼠灵(36)、克灭鼠等(37),第 2 代杀鼠剂如大隆(38)和溴敌隆(39)等均保留了羟基香豆素的基本结构^[40-42],该类化合物的主要作用机制为抑制维生素 K 的循环,阻碍凝血酶原的产生,通过产生抗凝血作用而达到杀死害鼠的目的^[43]。



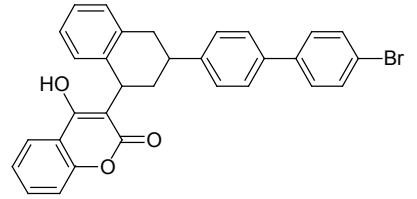
35



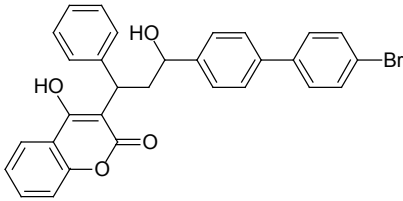
36



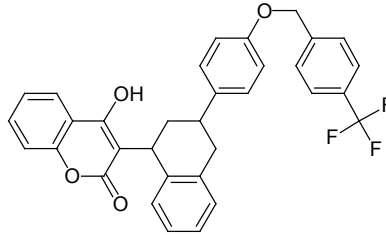
37



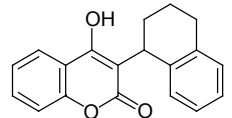
38



39



40

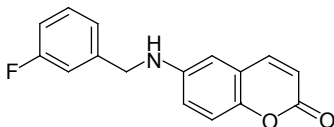


41

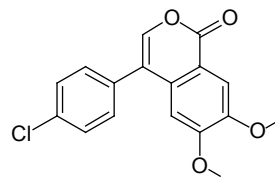
1.3.2 除草活性 香豆素类化合物作为一种次级代谢产物,在多种植物中具有植物毒性,特别是香豆素具有相对简单的化学结构,使其成为开发新型天然除草剂的优秀模板,目前也有一系列香豆素类衍生物被报道具有除草活性。Wu 等^[44]发现,从黄色甜苜蓿 *Melilotus officinalis* 中分离出的香豆素能显著抑制意大利黑麦草 *Lolium multiflorum* Lam.、普通结缕草 *Polygonum aviculare* 和红三叶草 *Trifolium pratense* 等植物的种子萌发和幼苗生长。张学良等^[45]设计合成了 10 个 *N*-取代氨基香豆素类化合物,大部分化合物具有一定的除草作用,其中活性最高的化合物(42)在 100 mg/L 下对反枝苋 *Amaranthus retroflexus* 种子的根、茎生长

具有极强的抑制作用,抑制率可达 99%,优于对照药剂乙草胺。

另有文献报道,异香豆素类化合物同样具有除草活性。董存涛等^[46]报道了一种异香豆素类衍生物 3-己基-4-(3-氯苯基)-6,7-二甲氧基异香豆素(43)对拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 和马唐 *Amaranthus retroflexus* 具有抑制作用,使用茎叶喷雾法,50 mg/L 下抑制率可达 90% 和 85%。目前的研究主要是关注具有除草活性的香豆素类化合物筛选、设计与合成,对其除草机理的研究并不深入。



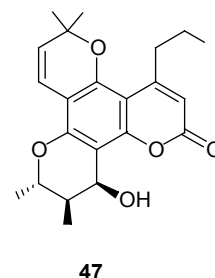
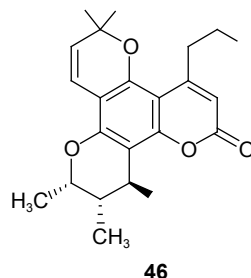
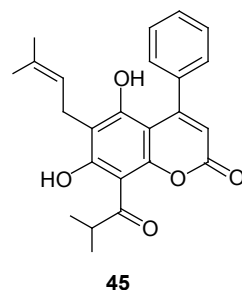
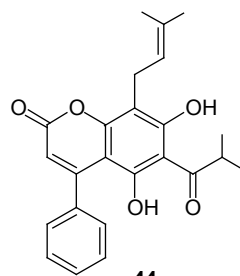
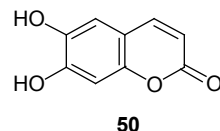
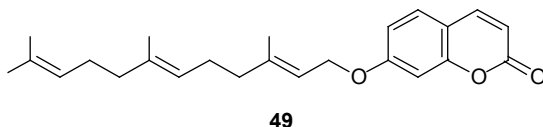
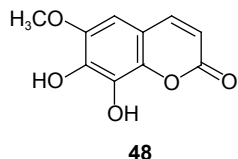
42



43

1.3.3 医用活性 香豆素类化合物在医药方面的研究已十分广泛。具有平面共振结构的香豆素环通常拥有较好的抗 HIV 活性, 比如: 从 *Marila pluricostata* 分离出的 2 种 4-苯基香豆素 (**44**~**45**) 能通过靶向 NF-KB 信号通路抑制 Jurkat T 细胞中 HIV-1 的复制^[47]; 毛胡桐 *Calophyllum lanigerum* 中的 2 种非对映异构四环类香豆素 calanolide A1 (**46**) 和 calanolide B2(**47**) 被发现为 HIV-1 的反转录抑制剂^[48]。

另有大量研究证明: 如 4-羟基香豆素、7-羟基香豆素等化合物对乳腺癌、肺癌、白血病和胃癌等具有一定的抗癌活性^[49-56]; 各种天然的香豆素类化合物如瑞香素 (**19**)、秦皮素 (**48**)、伞型花醚 (**49**) 和秦皮乙素 (**50**) 对侵染人体的一些病菌具有抑制作用^[57-60]。



目前有研究发现, 香豆素类化合物 C4 和 C7 位点是与抗炎活性相关的重要取代位点, 且电离活性和亲脂性是影响抗炎、抗氧化活性的物理化学参数^[61], 多种 C7 取代的香豆素类化合物表现出良好的抗炎活性^[62]。此外, 香豆素类化合物还具有抗结核^[63]、抗糖尿病^[64-65]、抗抑郁^[66-67] 等多种作用, 作为荧光探针在工业领域内的应用也十分广泛^[68-70]。

2 香豆素类化合物的杀螨活性

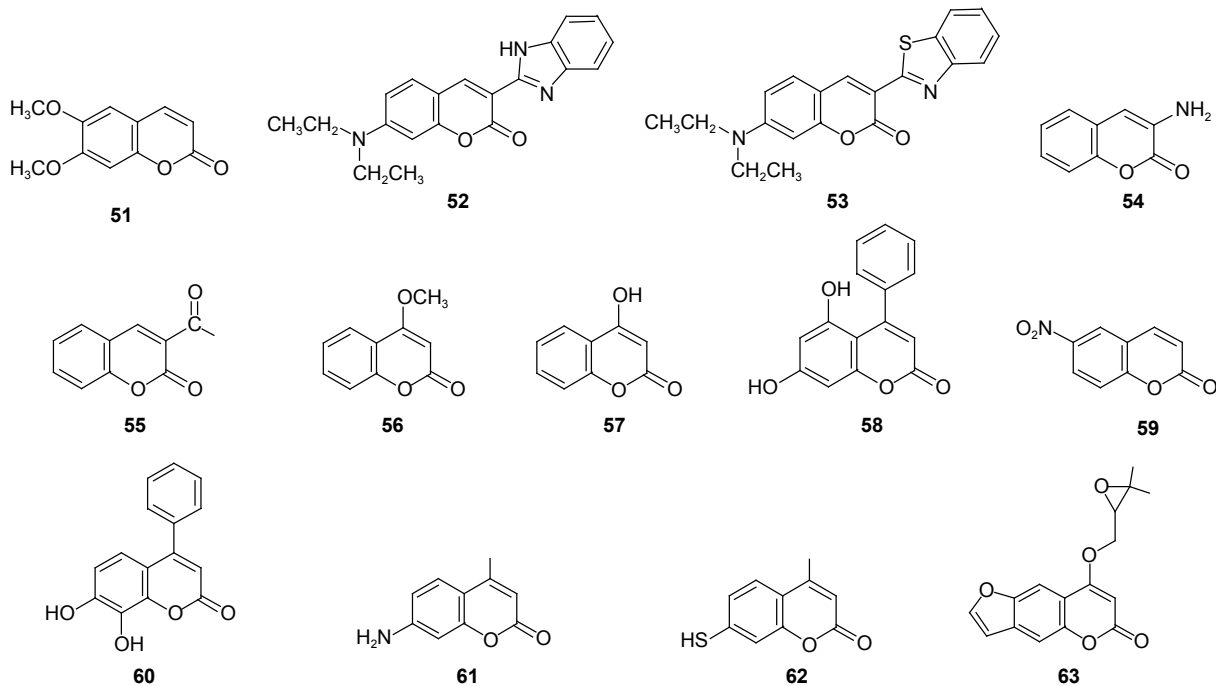
多种天然的香豆素类化合物对害螨具有较好的毒杀作用。李梦等^[71]发现, 香豆素 (**28**) 对朱砂叶螨 *Tetranychus cinnabarinus* 表现出一定的触杀活性, 采用玻片浸渍法测定香豆素对朱砂叶螨 48 h 的 LC_{50} 值为 1 814 mg/L, 且在 5 000、2 500 和 1 250 mg/L 下处理 12 h 和 24 h 后表现出良好的驱避活性。张永强^[72]发现, 黄花蒿叶的丙酮提取物对朱砂叶螨 *T. cinnabarinus*、柑橘全爪螨 *Panonychus citri* McGregor 和酢浆草岩螨 *Petrobia harti* 表现出强烈的触杀活性, 5 000 mg/L 下处理 48 h 后的校正死亡率分别为 100%、88.84% 和 82.52%。通过杀螨物质的活性追踪, 确定丙酮提取物中的活性成分为东茛菪内酯 (**13**), 且有研究表明, 东茛菪内酯对朱砂叶螨具有触杀、内吸和产卵抑制等多

方面活性, 但无明显的驱避活性^[13-15]。采用玻片浸渍法和叶碟浸渍法进行的毒力测定结果表明, 东茛菪内酯对朱砂叶螨 48 h 的 LC_{50} 值分别为 483 mg/L 和 297 mg/L, 24 h 内吸活性的 LC_{50} 值为 7 388 mg/L, 经不同浓度东茛菪内酯处理后 F_1 代雌成螨产卵量均有所下降, 其中以 180 mg/L 处理的效果最为明显, 产卵抑制率达 27.79%^[14, 16]。

章冰川等^[13]系统地比较了包括欧前胡素 (**7**)、花椒毒素 (**22**)、茵芋内酯 (**33**)、秦皮乙素 (**50**)、滨蒿内酯 (**51**) 在内的 25 种天然香豆素类化合物 (**7**、**8**、**13**、**19**、**21**、**22**、**25**、**28**、**29**、**33**、**48**、**50**~**63**) 对朱砂叶螨 *T. cinnabarinus* 的触杀活性 (表 3)。结果表明, 活性最好的为滨蒿内酯, 其处理 48 h 和 72 h 的 LC_{50} 值分别为 285 和 122 mg/L, 优于对照药剂螺螨酯 (588 和 206 mg/L), 极具进一步研究的价值。

张等宏等^[73]从瑞香狼毒中分离得到的伞形花内酯、东茛菪内酯、瑞香素、西瑞香素 (**64**) 和瑞香苷 (**65**) 对截形叶螨 *Tetranychus truncatus* Ehara 和二斑叶螨 *Tetranychus urticae* Koch 均具有一定的毒杀作用, 其中瑞香苷的触杀活性最好, 0.8 mmol/L 下 24 h 校正死亡率分别为 76.49% 和 72.24%。

此外, 多种人工合成的香豆素类衍生物同样具有良好的杀螨活性。周溯^[74]报道了 8 种设计合成

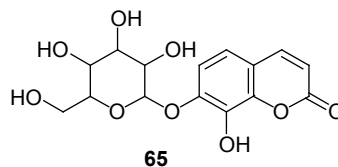
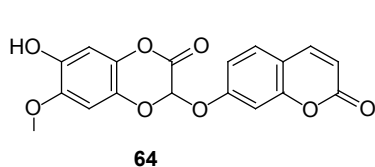
表3 天然香豆素类化合物对朱砂叶螨雌成螨的触杀活性^[13]Table 3 Contact activity against *T. cinnabarinus* of natural coumarin compounds

| 化合物 Compd. | 处理时间 Treatment time/h | 毒力回归方程 Toxicity regressive equation | LC ₅₀ ± SE (95%CL)/(mg/L) | 相关系数 <i>r</i> |
|---------------|--------------------------|--|---|------------------|
| 7 | 48 | $y = 4.808\ 8 + 1.176\ 9x$ | 1 454 ± 257 | 0.985 7 |
| | 72 | $y = 5.529\ 0 + 1.604\ 2x$ | 468 ± 41 | 0.958 7 |
| 8 | 48 | $y = 4.840\ 9 + 1.634\ 3x$ | 1 251 ± 155 | 0.997 2 |
| | 72 | $y = 5.315\ 5 + 1.668\ 3x$ | 647 ± 56 | 0.997 1 |
| 13 | 48 | $y = 4.892\ 7 + 1.134\ 5x$ | 1 243 ± 128 | 0.961 8 |
| | 72 | $y = 5.409\ 5 + 1.114\ 5x$ | 429 ± 39 | 0.927 9 |
| 19 | 48 | $y = 5.178\ 3 + 1.072\ 0x$ | 682 ± 88 | 0.983 8 |
| | 72 | $y = 6.035\ 5 + 1.375\ 8x$ | 527 ± 27 | 0.993 9 |
| 21 | 48 | $y = 4.237\ 2 + 1.123\ 3x$ | 4 776 ± 699 | 0.995 1 |
| | 72 | $y = 4.611\ 1 + 1.857\ 6x$ | 1 619 ± 82 | 0.998 8 |
| 22 | 48 | $y = 4.895\ 3 + 0.908\ 6x$ | 1 304 ± 267 | 0.994 7 |
| | 72 | $y = 5.647\ 7 + 1.188\ 6x$ | 285 ± 37 | 0.991 1 |
| 25 | 48 | $y = 4.171\ 2 + 1.068\ 6x$ | 5 965 ± 938 | 0.920 6 |
| | 72 | $y = 4.543\ 2 + 0.928\ 7x$ | 3 103 ± 550 | 0.916 5 |
| 28 | 48 | $y = 4.504\ 2 + 1.572\ 8x$ | 2 067 ± 355 | 0.924 3 |
| | 72 | $y = 5.365\ 7 + 1.404\ 9x$ | 549 ± 53 | 0.975 2 |
| 29 | 48 | $y = 4.563\ 0 + 0.854\ 9x$ | 3 245 ± 1166 | 0.955 0 |
| | 72 | $y = 5.491\ 7 + 1.110\ 3x$ | 661 ± 46 | 0.898 7 |
| 33 | 48 | $y = 4.877\ 1 + 1.155\ 3x$ | 1 277 ± 208 | 0.9612 |
| | 72 | $y = 5.791\ 2 + 1.472\ 4x$ | 290 ± 301 | 0.947 5 |
| 48 | 48 | $y = 4.882\ 7 + 1.056\ 4x$ | 1 291 ± 232 | 0.995 8 |
| | 72 | $y = 5.345\ 2 + 1.311\ 9x$ | 546 ± 56 | 0.987 2 |
| 50 | 48 | $y = 4.760\ 2 + 0.676\ 5x$ | 2 262 ± 793 | 0.852 3 |
| | 72 | $y = 5.938\ 1 + 1.505\ 6x$ | 238 ± 28 | 0.957 7 |
| 51 | 48 | $y = 5.807\ 2 + 1.489\ 8x$ | 285 ± 30 | 0.982 4 |
| | 72 | $y = 6.660\ 9 + 1.819\ 3x$ | 122 ± 19 | 0.972 7 |

续表 3

Table 3 (Continued)

| 化合物 Compd. | 处理时间 Treatment time/h | 毒力回归方程 Toxicity regressive equation | LC ₅₀ ± SE (95%CL)/(mg/L) | 相关系数 r |
|-------------------|--------------------------|--|---|-----------|
| 52 | 48 | $y = 5.448\ 1 + 1.144\ 1x$ | 406 ± 49 | 0.992 9 |
| | 72 | $y = 6.609\ 2 + 1.707\ 8x$ | 114 ± 20 | 0.983 5 |
| 53 | 48 | $y = 6.170\ 0 + 2.254\ 2x$ | 303 ± 23 | 0.993 3 |
| | 72 | $y = 6.980\ 9 + 1.967\ 3x$ | 984 ± 17 | 0.977 3 |
| 54 | 48 | $y = 5.673\ 2 + 2.104\ 9x$ | 479 ± 34 | 0.997 9 |
| | 72 | $y = 6.617\ 1 + 2.026\ 6x$ | 159 ± 20 | 0.989 8 |
| 55 | 48 | $y = 5.251\ 1 + 1.403\ 5x$ | 662 ± 70 | 0.967 0 |
| | 72 | $y = 6.375\ 6 + 1.414\ 9x$ | 107 ± 23 | 0.965 9 |
| 56 | 48 | $y = 5.418\ 5 + 1.044\ 5x$ | 398 ± 52 | 0.976 0 |
| | 72 | $y = 6.232\ 6 + 0.981\ 8x$ | 136 ± 21 | 0.984 3 |
| 57 | 48 | $y = 4.213\ 2 + 0.809\ 1x$ | 9 939 ± 169 | 0.928 3 |
| | 72 | $y = 4.399\ 3 + 0.909\ 1x$ | 4 579 ± 36 | 0.8973 |
| 58 | 48 | $y = 4.232\ 9 + 0.155\ 0x$ | 5 793 ± 260 | 0.993 0 |
| | 72 | $y = 4.835\ 3 + 0.839\ 1x$ | 1571 ± 140 | 0.954 6 |
| 59 | 48 | $y = 5.126\ 9 + 0.642\ 2x$ | 634 ± 131 | 0.843 5 |
| | 72 | $y = 6.274\ 5 + 1.939\ 4x$ | 220 ± 23 | 0.903 7 |
| 60 | 48 | $y = 4.873\ 6 + 0.868\ 6x$ | 1 398 ± 324 | 0.977 5 |
| | 72 | $y = 6.067\ 2 + 1.388\ 2x$ | 710 ± 27 | 0.997 5 |
| 61 | 48 | $y = 4.507\ 5 + 1.250\ 9x$ | 2 476 ± 583 | 0.990 3 |
| | 72 | $y = 5.3474 + 1.492\ 0x$ | 585 ± 55 | 0.988 5 |
| 62 | 48 | $y = 4.139\ 3 + 1.362\ 8x$ | 4 281 ± 905 | 0.990 6 |
| | 72 | $y = 4.873\ 5 + 1.300\ 6x$ | 1 251 ± 186 | 0.988 8 |
| 63 | 48 | $y = 4.876\ 9 + 0.849\ 8x$ | 1 396 ± 313 | 0.993 2 |
| | 72 | $y = 5.563\ 9 + 1.024\ 4x$ | 282 ± 42 | 0.996 1 |
| 螺螨酯 spirodiclofen | 48 | $y = 5.345\ 8 + 1.498\ 5x$ | 588 ± 55 | 0.985 5 |
| | 72 | $y = 6.032\ 9 + 1.503\ 2x$ | 206 ± 27 | 0.998 2 |



的 7-羟基-4-甲基香豆素衍生物 (66~73) 对兔痒螨 *Psoroptes communis cuniculi* 的触杀活性, 其中 3,6,8-三溴-7-羟基-4-甲基香豆素 (66) 活性最强, 500 mg/L 下 24 h 校正死亡率为 100%。Gleye 等^[75] 测定了 21 种香豆素类化合物对屋尘螨 *Dermatophagoides pteronyssinus* 的触杀活性, 24 h 的 EC₅₀ 值大多在 0.025~0.500 g/m² 之间。谢颖^[19] 报道了 40 种 6-酯基香豆素衍生物在 100 mg/L 下对朱砂叶螨的触杀活性, 其中有 4 种校正死亡率在 90% 以上。

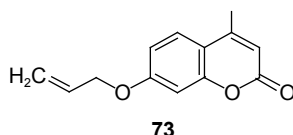
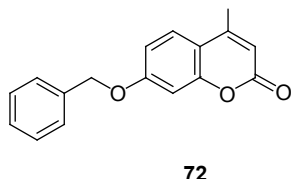
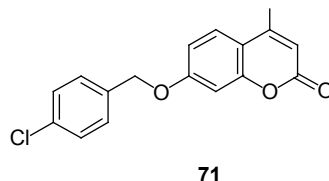
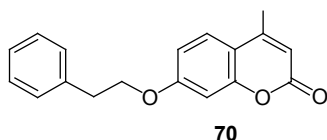
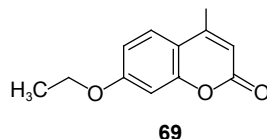
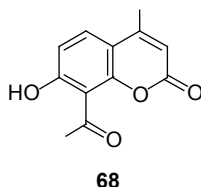
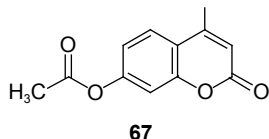
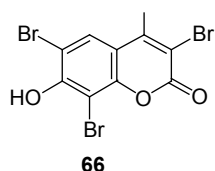
杨振国等对东茛菪内酯制剂的研发进行了尝试^[76], 167 mg/L 的 10% 东茛菪内酯·双脱甲氧基姜黄素悬浮剂 (最佳配比 7:6) 在防治朱砂叶螨的田间

试验中表现良好, 防效在施药后 7 d 和 15 d 分别达到 95.27% 和 94.82%, 与对照药剂 24% 螺螨酯悬浮剂和 73% 的炔螨特乳油防效无显著性差异, 且东茛菪内酯易降解^[77], 对环境友好, 无残留, 具有在田间推广使用的价值。

目前对天然香豆素杀螨作用的关注较少, 但从以往研究中有关香豆素类化合物表现出来的优良活性来看, 对更多的天然香豆素进行活性筛选具有十分重要的价值。

3 香豆素类化合物杀螨活性的构效关系

在新农药研发过程中, 大量的天然产物被作



为先导化合物, 通过结构修饰或改造而达到增效和实现产业化^[78-80]。如 20 世纪 70 年代, 以天然除虫菊素 I (pyrethrin I) 作为先导化合物成功研发的拟除虫菊酯类杀虫剂^[81]、以天然动物毒素沙蚕毒素 (nereistoxin) 作为先导化合物成功开发的拟沙蚕毒素杀虫剂^[82] 以及以天然昆虫保幼激素为先导化合物研发的具有更高活性的保幼激素类似物烯虫酯等^[83]。

目前, 部分天然香豆素类化合物具有活性高、可修饰位点多以及对环境友好等特点, 为了得到活性更好的化合物、克服天然香豆素类化合物水溶性较差的缺陷, 研究者希望通过对天然香豆素类化合物进行结构修饰和改造, 获得更具实际应用价值的候选化合物^[84-85]。

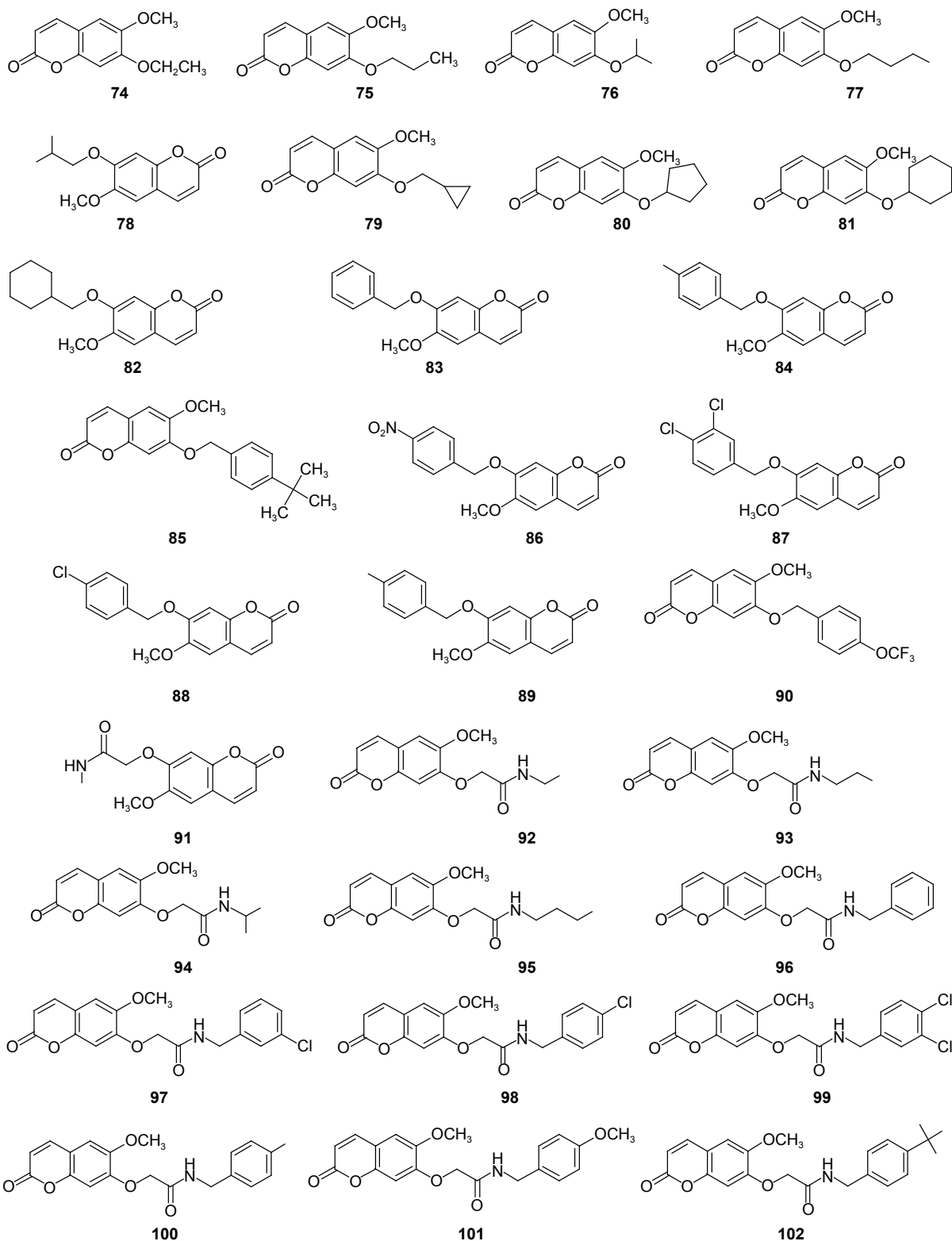
利用定量构效关系 (Quantitative structure-activity relationship, QSAR) 研究香豆素结构与杀螨活性之间的关系研究已取得进展。章冰川等^[13] 利用玻片浸渍法测定了 25 种香豆素类化合物对朱砂叶螨的触杀活性 (表 3), 并运用 Chem3D 软件计算了上述香豆素类化合物的 34 种物化参数, 通过 Pearson 相关分析后, 筛选出了 17 个参数作为描述子参与多元回归分析, 明确了扭转力、总能量、取向力和分子半径是影响香豆素化合物杀螨活性的关键因子, 并以此构建了一个可靠的 2D-QSAR 模型; 随后利用同源建模得到的 *TcPMCA1* 蛋白结构作为作用靶标与 30 种香豆素类化合物进行分子对接, 以此为基础建立了 CoMFA 和 CoMSIA2 个模型, 该结构预测模型研究结构表明, 香豆素类化合物骨架上 C3、C6 和 C7 是其杀螨作用的活性位点, 在 C3 上引入体积较大的官能团、正电性基

团、疏水性官能团以及氢键受体官能团, 在 C6 位点上引入体积较大的官能团和负电性基团, 在 C7 上引入体积较大的官能团、正电性基团疏水性基团等均能够提高杀螨活性。

赖婷等^[86] 基于以上研究进一步对东茛菪内酯进行结构改造, 设计合成了 30 种酚醚衍生物 (51、74-102), 利用玻片浸渍法测定了其对于朱砂叶螨 *T. cinnabarinus* 的杀螨活性 (表 4), 其中化合物 51 和 74 的杀螨活性最优, 48 h 的 LC₅₀ 值分别为 171 mg/L 和 185 mg/L, 毒力分别相当于先导化合物东茛菪内酯的 6.19 倍和 5.72 倍。此外, 赖婷等采用与章冰川等相似的方法, 分别建立了 30 个东茛菪内酯酚醚衍生物杀螨活性构效关系的 2D-QSAR 和 3D-QSAR 模型, 并预测在 C3、C4 和 C7 位点上引入体积较大的官能团、在 C6 位点引入负电性基团可以提高化合物的杀螨活性; 在 C3 和 C4 位点上接入疏水性官能团、在 C3、C4 和 C7 位点上接入氢键供体官能团能够有效提高化合物的活性^[86]。以上研究对后续具有更高杀螨活性的香豆素类化合物的设计合成具有指导意义。

4 香豆素类化合物东茛菪内酯杀螨作用机理

张永强^[72] 前期研究发现, 朱砂叶螨在接触 1 250 mg/L 东茛菪内酯后, 表现出几种典型的神经毒剂的中毒症状, 如兴奋和惊厥等, 表明东茛菪内酯可能是一种潜在的神经毒剂, 特异性地作用于多种神经系统靶标酶如乙酰胆碱酯酶 (AChE)、Na⁺-K⁺-ATPase、Ca²⁺-Mg²⁺-ATPase 和 Ca²⁺-ATPase^[87-88], 并能产生不同程度的抑制作用, 在



827 mg/L 处理质量浓度下, 螨体内乙酰胆碱 (ACh) 含量有明显增高, 这与东茛菪内酯能够抑制 AChE 相关, 且乙酰胆碱含量开始显著增加的时期与供试螨出现痉挛的时间相近。张永强等^[16] 通过室内抗药性筛选, 在 70% 的选择压力下筛选 18

代, 发现朱砂叶螨对东茛菪内酯的抗性系数基本没有变化, 这也暗示东茛菪内酯可能作用于多靶标位点。

进一步研究发现, 用 0.1 mmol/L 的东茛菪内酯处理朱砂叶螨过后, 其抑制 Ca^{2+} -ATPase 的活性

表 4 东莨菪内酯酚醚衍生物对朱砂叶螨雌成螨的触杀活性^[86]Table 4 Acaricide activity of scopoletin phenolic ether derivatives against *T. cinnabarinus*

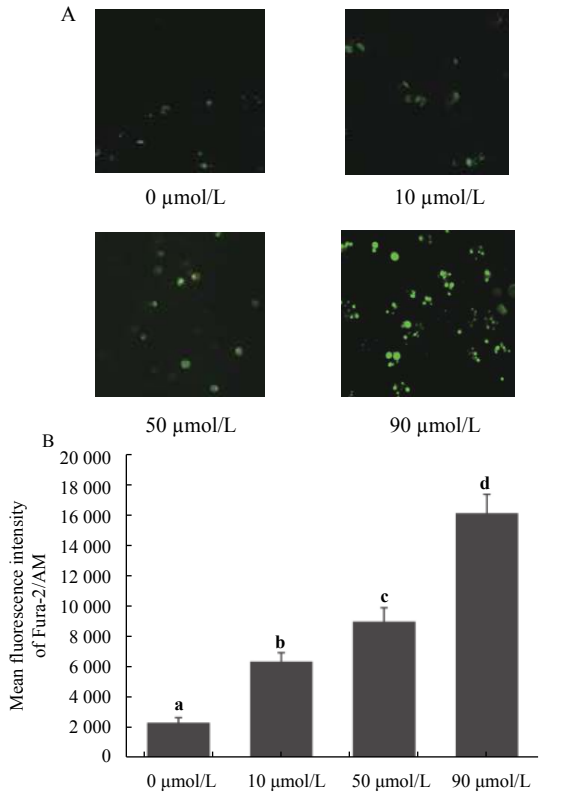
| 化合物 Compd. | 毒力回归方程 Toxicity regressive equation | LC ₅₀ (95%CL)/(mg/L) | χ^2 | <i>P</i> |
|------------------|--|------------------------------------|----------|----------|
| 51 | $y = 0.770 + 1.004x$ | 171 (102~239) | 1.678 | 0.642 |
| 74 | $y = 0.715 + 0.977x$ | 185 (105~264) | 4.958 | 0.175 |
| 75 | $y = 0.183 + 0.695x$ | 545 (363~842) | 2.125 | 0.547 |
| 76 | $y = 0.388 + 1.012x$ | 414 (308~541) | 1.187 | 0.756 |
| 77 | $y = 0.400 + 0.788x$ | 311 (175~459) | 4.875 | 0.181 |
| 78 | $y = 0.163 + 1.302x$ | 750 (587~986) | 1.633 | 0.652 |
| 79 | $y = 0.137 + 0.194x$ | 708 (505~1 064) | 1.929 | 0.587 |
| 80 | $y = -0.106 + 0.453x$ | 1 715 (856~18 039) | 0.114 | 0.990 |
| 81 | $y = 0.243 + 0.445x$ | 284 (63~539) | 4.509 | 0.211 |
| 82 | $y = -0.015 + 1.033x$ | 1 034 (755~1 595) | 2.495 | 0.476 |
| 83 | $y = 0.178 + 1.261x$ | 722 (559~961) | 3.133 | 0.372 |
| 84 | $y = 0.019 + 0.808x$ | 947 (660~1 598) | 3.418 | 0.332 |
| 85 | $y = 0.822 + 1.385x$ | 255 (185~325) | 3.475 | 0.324 |
| 86 | $y = 0.164 + 0.638x$ | 552 (358~887) | 1.929 | 0.587 |
| 87 | $y = 0.302 + 1.279x$ | 580 (449~754) | 2.889 | 0.409 |
| 88 | $y = 0.780 + 0.621x$ | 1 333 (792~4 015) | 0.497 | 0.919 |
| 89 | $y = 0.744 + 1.865x$ | 399 (269~568) | 5.571 | 0.134 |
| 90 | $y = -0.012 + 0.642x$ | 1 045 (643~2 567) | 0.567 | 0.904 |
| 91 | $y = 0.157 + 0.897x$ | 669 (476~996) | 0.780 | 0.854 |
| 92 | $y = 0.623 + 0.964x$ | 226 (133~318) | 0.643 | 0.887 |
| 93 | $y = 1.060 + 1.624x$ | 222 (169~276) | 3.764 | 0.288 |
| 94 | $y = 0.022 + 0.470x$ | 887 (431~6 279) | 2.416 | 0.491 |
| 95 | $y = 0.362 + 0.712x$ | 310 (160~474) | 1.689 | 0.639 |
| 96 | $y = 0.676 + 1.628x$ | 385 (314~467) | 2.428 | 0.297 |
| 97 | $y = 0.315 + 0.516x$ | 245 (64~436) | 2.280 | 0.516 |
| 98 | $y = 0.482 + 0.966x$ | 317 (222~421) | 2.642 | 0.450 |
| 99 | $y = 0.268 + 0.661x$ | 393 (229~619) | 1.208 | 0.598 |
| 100 | $y = 0.101 + 0.497x$ | 627 (365~1 257) | 1.330 | 0.722 |
| 101 | $y = 0.249 + 0.988x$ | 560 (404~783) | 0.062 | 0.996 |
| 102 | $y = -0.172 + 1.118x$ | 1 424 (1 053~2 353) | 3.129 | 0.209 |
| 东莨菪内酯 scopoletin | $y = -0.022 + 0.872x$ | 1 059 (726~1 896) | 0.416 | 0.937 |
| 炔螨特 propargite | $y = 0.790 + 1.660x$ | 334 (264~409) | 4.034 | 0.258 |

明显高于抑制 AChE, 与 CaCl_2 联合混用能显著提高其杀螨活性^[88], 表明 Ca^{2+} -ATPase 可能是东莨菪内酯的作用靶标之一, 处理后朱砂叶螨 Ca^{2+} -ATPase 的 4 条不同亚型的基因 (*TcPMCA1*、*TcPMCA2*、*TcSPMCA2*、*TcSERCA1*) 都有明显的上调, 其中对 *TcPMCA1* 和 *TcPMCA2* 上调幅度最大, 分别达到原来的 120 倍和 100 倍; 4 条基因相比较, *TcPMCA1* 对东莨菪内酯最敏感。通过蛋白质与小分子化合物的对接, 明确了东莨菪内酯与朱砂叶螨 Ca^{2+} -ATPase *TcPMCA1* 亚基的结合构象和结合位点, 进一步解释了东莨菪内酯对朱砂叶螨的杀螨作用机理之一: 即东莨菪内酯通过氢键作用与质膜 Ca^{2+} -ATPase PMCA1 亚基发生结合, 导致酶

空间构象发生变化, 活性功能丧失, 钙离子的跨膜运输受阻, 进而导致钙离子信号传递受阻, 最终致螨死亡^[89]。

此外, 周红等^[90]发现, 东莨菪内酯的杀螨机制涉及细胞内的钙超载事件, 破坏细胞内钙稳态, 在用 0.01-0.09 mmol/L 东莨菪内酯处理草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 细胞 (Sf9) 后, Sf9 胞内游离钙浓度随东莨菪内酯处理浓度升高而升高, 呈现明显的剂量依赖性 (图 1), 这些研究揭示了一个基本规律, 东莨菪内酯的杀螨机制可能为直接或间接调控钙离子通道活性。

为了进一步验证以上猜想, 应用数字基因表达谱测序, 筛选得到了朱砂叶螨响应东莨菪内酯



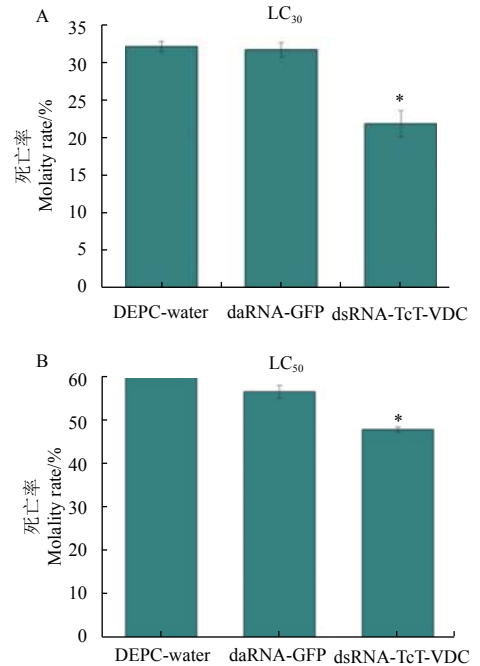
注: A: 绿色区域表示通过 Fura-2/AM 荧光染色检测的 Sf9 细胞内 Ca^{2+} 水平; B: Sf9 细胞中 Fura-2/AM 的平均荧光强度
Note: A: Green region indicates Ca^{2+} levels in Sf9 cells detected by Fura-2/AM fluorescence staining; B: The mean fluorescence intensity (MFI) of Fura-2/AM in Sf9 cells

图 1 东茛菪内酯诱导 Sf9 细胞内钙浓度增加^[90]

Fig. 1 Scopoletin induces an increase in intracellular calcium concentration in Sf9 cells^[90]

的 3 条钙离子通道相关基因: 鸟苷酸激酶 (*TcGUK*)、细胞凋亡蛋白 (*TcBAG*) 和 G 蛋白偶联神经肽受体 (*TcGPCR*), 东茛菪内酯处理过后上调 *TcGPCR* 的表达, 下调 *TcBAG* 和 *TcGUK* 表达, RNAi 干扰试验发现, 3 条钙通道相关基因均与东茛菪内酯的杀螨活性相关, 沉默 *TcGPCR* 后降低了朱砂叶螨对东茛菪内酯的敏感性, 沉默 *TcBAG* 和 *TcGUK* 后增强了朱砂叶螨对东茛菪内酯的敏感性, 说明东茛菪内酯能够通过调控上述 3 条基因的表达, 达到破坏螨体细胞内钙稳态的作用, 从而致螨死亡^[91]。为此, 他们构建了以 pcDNA3.1(+) 质粒为载体的朱砂叶螨 G 蛋白偶联神经肽受体 (*TcGPCR*) 中国仓鼠卵巢 (Chinese hamster ovary, CHO) 细胞表达系统, 通过钙离子流动测定技术, 发现东茛菪内酯能够强烈激活 *TcGPCR*^[91]。以上研究表明 *TcGPCR* 可能是东茛菪内酯作用靶标之一。此外, 该研究共评估了 22 种香豆素类化合物对 *TcGPCR* 的活性, 在 C-6、C-7 位点存在取代基能够增强香豆素类化合物对 *TcGPCR* 的激活活性, 其中

0.001 mmol/L 的伞形花内酯、3-(2-苯并噻唑基)-7-(二乙基氨基) 香豆素和滨蒿内酯表现出更好的激动活性, 分别为 112.20%, 90.19% 和 90.19%, 这暗示香豆素类化合物可能具有相同的分子靶标。进一步研究表明, 应用 RNAi 技术对朱砂叶螨 T 型电压门控钙离子通道进行沉默过后的朱砂叶螨对东茛菪内酯药剂敏感性降低 (图 2), 表明 T 型电压门控钙离子通道可能是东茛菪内酯影响朱砂叶螨体内钙稳态的靶标之一^[92]。



注: A、B 分别表示 T 型钙离子通道基因沉默过后朱砂叶螨对 LC₃₀ 和 LC₅₀ 东茛菪内酯处理的死亡率

Note: Mortality of *TcT-VDC*-silenced *Tetranychus cinnabarinus* to scopoletin at LC₃₀ (A) and LC₅₀ (B)

图 2 沉默 T 型电压门控钙离子通道基因降低朱砂叶螨对东茛菪内酯敏感性^[92]

Fig. 2 Silencing T-type voltage-gated calcium channel gene reduces the sensitivity of *Tetranychus cinnabarinus* to scopoletin^[92]

周红等还发现, 东茛菪内酯也可能作用于朱砂叶螨几丁质酶^[93]。其前期研究发现, 经 0.938 mg/mL 的东茛菪内酯处理后, 螨体出现体表皱缩, 大量失水等死亡症状, 东茛菪内酯能够在处理朱砂叶螨 24 h 后下调多条几丁质酶基因的表达, 利用 RNAi 技术干扰掉几丁质酶基因过后可显著提高害螨对药剂的敏感性, 表明几丁质酶基因也可能是东茛菪内酯的作用靶标之一。

5 结语与展望

天然产物是创制新型农药的重要资源, 因其

天然存在于自然界,一般对人类、非靶标生物以及环境安全,可作为新农药开发的先导化合物^[94]。通过建立可靠的定量构效关系模型,可对已有的天然香豆素进行活性筛选,并系统地指导具有更优秀杀螨活性的香豆素类化合物的设计合成。

许多天然产物具有新颖、独特的作用机理,也是发掘具有新颖作用靶标农药的重要资源。笔者前期研究发现,东茛菪内酯的杀螨作用机理可能是破坏朱砂叶螨体内钙稳态,其首要靶标为G蛋白偶联神经肽受体(*TcGPCR*),已成功构建的朱砂叶螨G蛋白偶联神经肽受体(*TcGPCR*)中国仓鼠卵巢(Chinese hamster ovary, CHO)细胞表达系统可作为一个高通量筛选平台,对通过构效关系指导合成的香豆素类化合物进行活性鉴定^[91]。此外,还需要明确香豆素、东茛菪内酯、滨蒿内酯对朱砂叶螨体内3条电压门控钙离子通道基因(voltage-gated calcium channel)*TcN-VDCC*、*TcL-VDCC*和*TcT-VDCC*的作用方式,构建基于pXOOM质粒的*TcL-VDCC*的真核表达质粒,以及采用爪蟾卵母细胞*Xenopus oocytes*异源表达系统、电生理技术进行分子靶标验证。

此外,为了进一步推动香豆素类化合物开发成为商品化的农药,还应从合适的溶剂、助剂研究着手,对剂型进行优化,为创制具有新颖作用机制的杀螨剂提供基础支撑,以快速推动我国拥有自主知识产权、绿色安全的植物源农药研制。

作者简介:



刘瑾林,男,2017年毕业于西南大学植物保护专业获学士学位,现为2017级西南大学农药学硕士研究生。



丁伟,男,教授,博士生导师。1997年毕业于西北农林科技大学,获农药学硕士学位;2001年毕业于西南农业大学,获农业昆虫与害虫防治博士学位;2008—2009年,美国奥本大学访问学者;现任西南大学农药研究所所长、重庆市植物保护学会副理事长、《农药学学报》编委和《植物医生》杂

志主编。长期从事天然产物农药、植物与有害生物互作及调控机制研究。获中华农业科技奖4次、中国产学研促进会科技进步奖二等奖1次。

参考文献 (References):

- [1] 宋萍萍. 五种类型天然香豆素化合物的活性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2016.
SONG, P P. Studies on the activities of five types of natural coumarins[D]. Nanjing China: Nanjing Agricultural University, 2016.
- [2] 孔令义. 香豆素化学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2008.
KONG L Y. Coumarins chemistry[M]. Beijing, China: Chemical industry publishing house, 2008.
- [3] HOULT J R S, PAYÁ M. Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins: Natural products with therapeutic potential[J]. *Gen Pharmacol-Vasc S*, 1996, 27(4): 713-722.
- [4] HUSSAIN M I, SYED Q A, KHATTAK M N K, et al. Natural product coumarins: biological and pharmacological perspectives[J]. *Biologia*, 2019, 74(7): 863-888.
- [5] LV H N, WANG S, ZENG K W, et al. Anti-inflammatory coumarin and benzocoumarin derivatives from *Murraya alata*[J]. *J Nat Prod*, 2015, 78(2): 279-285.
- [6] MAHIDOL C, KAWETRIPOB W, PRAWAT H, et al. Mamea coumarins from the flowers of *Mamea siamensis*[J]. *J Nat Prod*, 2002, 65(5): 757-760.
- [7] DASTAN D, SALEHI P, GHANATI F, et al. Phytotoxicity and cytotoxicity of disesquiterpene and sesquiterpene coumarins from *Ferula pseudalliacea*[J]. *Ind Crop Prod*, 2014, 55: 43-48.
- [8] GUILLET D, SÉRAPHIN D, RONDEAU D, et al. Cytotoxic coumarins from *Calophyllum dispar*[J]. *Phytochemistry*, 2001, 58(4): 571-575.
- [9] MURRAY R D. The naturally occurring coumarins[M]. Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe/Progress in the Chemistry of Organic Natural Products. Springer. 2002: 1-619.
- [10] YANG X L, HUANG L, LI H Y, et al. Two new compounds from the plant endophytic fungus *Pestalotiopsis versicolor*[J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2015, 17(4): 333-337.
- [11] SAIRAM K V, GURUPADAYYA B M, CHANDAN R S, et al. A review on chemical profile of coumarins and their therapeutic role in the treatment of cancer[J]. *Curr Drug Deliv*, 2016, 13(2): 186-201.
- [12] SRIKRISHNA D, GODUGU C, DUBEY P K. A review on pharmacological properties of coumarins[J]. *Mini-Rev Med Chem*, 2018, 18(2): 113-141.
- [13] 章冰川, 罗金香, 赖婷, 等. 香豆素类化合物对朱砂叶螨的触杀活性及定量构效关系研究[J]. *农药学学报*, 2016, 18(1): 37-48.
ZHANG B C, LUO J X, LAI T, et al. Study on acaricidal bioactivity and quantitative structure activity relationship of coumarin compounds against *Tetranychus cinnabarinus* Bois. (Acari: Tetranychidae)[J]. *Chin J Pestic Sci*, 2016, 18(1): 37-48.
- [14] 雍小菊, 张永强, 丁伟. 东茛菪内酯对朱砂叶螨的驱避和产卵抑制活性[J]. *应用昆虫学报*, 2012, 49(2): 422-427.
YONG X J, ZHANG Y Q, DING W. Repellent and oviposition deterrent properties of scopoletin to *Tetranychus cinnabarinus*[J]. *Chin J Appl Entomol*, 2012, 49(2): 422-427.
- [15] 梁为, 成军, 师光禄, 等. 东茛菪内酯的杀螨活性及其作用机理[C]/中国园艺学会2010年学术年会论文摘要集, F, 2010

- LIANG W, CHENG J, SHI G L, et al. Acaricidal activity and mechanism of action of scopoletin[C]//Abstract of the 2010 annual meeting of the Chinese Horticultural Society, F, 2010
- [16] 张永强, 丁伟, 王丁祯. 朱砂叶螨对天然杀螨活性物质东莨菪内酯的抗性评价[J]. *农药*, 2011, 50(3): 226-228.
- ZHANG Y Q, DING W, WANG D Z. The resistance evaluation of *Tetranychus cinnabarinus* against natural acaricidal compound scopoletin[J]. *Agrochemicals*, 2011, 50(3): 226-228.
- [17] MUKANDIWA L, AHMED A, ELOFF J N, et al. Isolation of seselin from *Clausena anisata* (Rutaceae) leaves and its effects on the feeding and development of *Lucilia cuprina* larvae may explain its use in ethnoveterinary medicine[J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 150(3): 886-891.
- [18] VERA N, POPICH S, LUNA L, et al. Toxicity and synergism in the feeding deterrence of some coumarins on *Spodoptera frugiperda* Smith (*Lepidoptera: Noctuidae*)[J]. *Chem Biodivers*, 2006, 3(1): 21-26.
- [19] 谢颖. 含酯基、醚基取代的香豆素衍生物的设计、合成和农用活性研究[D]. 海口: 海南大学, 2015.
- XIE Y. The design, synthesis and pesticidal activity of 6-esterified coumarins and 6-etherified coumarins[D]. Haikou: Hainan University, 2015.
- [20] WANG Z Q, KIM J R, WANG M, et al. Larvicidal activity of *Cnidium monnieri* fruit coumarins and structurally related compounds against insecticide-susceptible and insecticide-resistant *Culex pipiens pallens* and *Aedes aegypti*[J]. *Pest Manag Sci*, 2012, 68(7): 1041-1047.
- [21] 闫海燕. 砂地柏中具杀虫活性的二萜类及香豆素类化合物的分离[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2007.
- YAN H Y. Study on insecticidal activity of diterpenoids and coumarins from *sabina vulgaris ant*[D]. Yangling, China: Northwest A & F University, 2007
- [22] TRIPATHI A K, BHAKUNI R S, UPADHYAY S, et al. Insect feeding deterrent and growth inhibitory activities of scopoletin isolated from *Artemisia annua* against *Spilarctia obliqua* (Lepidoptera: Noctuidae)[J]. *Insect Sci*, 2011, 18(2): 189-194.
- [23] STEVENSON P C, SIMMONDS M S J, YULE M A, et al. Insect antifeedant furanocoumarins from *Tetradium daniellii*[J]. *Phytochemistry*, 2003, 63(1): 41-46.
- [24] 高平, 刘世贵, 侯太平, 等. 瑞香素对蚜虫生物活性的研究[J]. *植物保护学报*, 2001, 28(3): 265-268.
- GAO P, LIU S G, HOU T P, et al. Bioactivity of ruixiangsu to aphids (*Aphis gossypii* Glover, *Myzus nicotianae* Blackman, *Toxoptera citricwa* (Kirkaldy))[J]. *Acta Phytophylacica Sinica*, 2001, 28(3): 265-268.
- [25] RAJNIKANT S, NEGI D S, SHIU W K P, et al. Characterization of an insecticidal coumarin from *Boenninghausenia albiflora*[J]. *Phyther Res*, 2010, 20(7): 607-609.
- [26] YAN X, ZHAO G Y, HAN R C. Integrated management of chive gnats (*Bradysia odoriphaga* Yang & Zhang) in chives using entomopathogenic nematodes and low-toxicity insecticides[J]. *Insects*, 2019, 10(6): 161-176.
- [27] 夏长秀, 李绍勤, 蔡万伦, 等. 蛇床子素粉剂对玉米象成虫的杀虫活性及酶活性的影响[J]. *昆虫知识*, 2009, 46(5): 740-744.
- XIA C X, LI S Q, CAI W L, et al. Insecticidal activity of osthol powder and its effect on enzyme activity of *Sitophilus zeamais*[J]. *Chin Bull Entomol*, 2009, 46(5): 740-744.
- [28] 阴旗俊, 孙海峰. 蛇床子素的药理作用和作为生物农药的研究[J]. *中医药信息*, 2009, 26(2): 13-15.
- YIN Q J, SUN H F. Pharmacological effects and research of osthol as a biological pesticide[J]. *Inf Tradit Chin Med*, 2009, 26(2): 13-15.
- [29] CHEN J N, YU Y M, LI S L, et al. Resveratrol and coumarin: novel agricultural antibacterial agent against *Ralstonia solanacearum* in vitro and in vivo[J]. *Molecules*, 2016, 21(11): 1501-1518.
- [30] 于艳梅. 几种植物源化合物对青枯菌的抑制作用及机理研究[D]. 重庆: 西南大学, 2015.
- YU Y M. The antibacterial effects and mechanism of several botanical compounds against *Ralstonia solanacearum*[D]. Chongqing, China: Southwest University, 2015.
- [31] PETERSON J K, HARRISON H F, JACKSON D M, et al. Biological activities and contents of scopolin and scopoletin in sweetpotato clones[J]. *Hortscience*, 2003, 38(6): 1129-1133.
- [32] GARCIA D, SANIER C, MACHEIX J J, et al. Accumulation of scopoletin in *Hevea brasiliensis* infected by *Microcyclus ulei* (P. Henn.) V. ARX and evaluation of its fungitoxicity for three leaf pathogens of rubber tree[J]. *Physiol Mol Plant Pathol*, 1995, 47(4): 213-223.
- [33] YANG L, DING W, XU Y Q, et al. New insights into the antibacterial activity of hydroxycoumarins against *Ralstonia solanacearum*[J]. *Molecules*, 2016, 21(4): 468-480.
- [34] 林志琦, 沈寿国, 徐朗莱, 等. 蛇床子素对植物病原真菌抑制机制的初步研究[J]. *农药学报*, 2004, 6(4): 28-32.
- SHI Z Q, SHEN S G, XU L L, et al. Inhibition mechanism of osthol to plant fungus pathogens[J]. *Chin J Pestic Sci*, 2004, 6(4): 28-32.
- [35] 钱莹哲. 蛇床子素类似物的合成及生物活性研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2009.
- QIAN Y Z. Studies on synthesis and biological activities of osthol analogues[D]. Wuhan, China: Huazhong Agricultural University, 2009.
- [36] 胡丽丽, 李玉群, 金玉兰, 等. 无花果叶中抑菌活性成分—补骨脂素的研究[J]. *青岛农业大学学报(自然科学版)*, 2007, 24(4): 264-266.
- HU L L, LI Y Q, JIN Y L, et al. Studies on fungicidal constituents in *Ficus carica* L. leaves [J]. *J Qingdao Agric Univ (Nat Sci Ed)*, 2007, 24(4): 264-266.
- [37] 李敏敏, 胡军华, 贺磊, 等. 独活提取物抑制柑橘病原真菌活性成分的分离与鉴定[J]. *果树学报*, 2012, 29(5): 900-904.
- LI M M, HU J H, HE L, et al. Isolation and identification of active compound from *Radix Angelicae Biseratae* extracts against *Citrus fungus* pathogens[J]. *J Fruit Sci*, 2012, 29(5): 900-904.
- [38] 龚天波. 10%前胡香豆素微乳剂研制及防效研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2010.
- GONG T B. Research on formulation preparation and control effect of 10% *Radix Peucedani* coumarin ME[D]. Changsha, China: Hunan Agricultural University, 2010.
- [39] 林志琦. 蛇床子素作为杀菌剂的活性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2008.
- SHI Z Q. A study on antifungal activity of osthol[D]. Nanjing, China: Nanjing Agricultural University, 2008.
- [40] MURPHY M J. Rodenticides[J]. *Vet Clin N Am: Small Animal Pract*, 2002, 32(2): 469-484.
- [41] ESTHER A, ENDEPOL S, FREISE J, et al. Rodenticide resistance and consequences[J]. *Bundesgesundheitsbla*, 2014, 57(5): 519-523.
- [42] DUVALL M D, MURPHY M J, RAY A C, et al. Case studies on second-generation anticoagulant rodenticide toxicities in nontarget

- species[J]. *J VET Diagn Invest*, 1989, 1(1): 66-68.
- [43] BUCKLE A P, SMITH R H. Rodent Pests and their Control[M]. 2nd ed. Oxon Uk: Cabi Publishing, 2015: 1-422[2016-04-03].
- [44] WU C X, ZHAO G Q, LIU D L, et al. Discovery and weed inhibition effects of coumarin as the predominant allelochemical of yellow sweetclover (*Melilotus officinalis*)[J]. *Int J Agric Biol*, 2016, 18(1): 168-175.
- [45] 张学良, 魏艳, 韦能春, 等. 10种N-取代氨基香豆素的合成及生物活性[J]. *农药学报*, 2013, 15(1): 37-42.
ZHANG X L, WEI Y, WEI N C, et al. Synthesis and bioactivity of 10 N-substituted amino coumarins[J]. *Chin J Pestic Sci*, 2013, 15(1): 37-42.
- [46] 董春涛, 时佳妹, 高卫, 等. 异香豆素类衍生物的合成及除草活性[J]. *河北农业大学学报*, 2018, 41(5): 43-48.
DONG C T, SHI J M, GAO W, et al. Synthesis and herbicidal activities of isocoumarins derivative[J]. *J Hebei Agric Univ*, 2018, 41(5): 43-48.
- [47] CARPENTER C C J, COOPER D A, FISCHL M A, et al. Antiretroviral therapy in adults: updated recommendations of the international AIDS society-USA Panel[J]. *Jama*, 2000, 283(3): 381.
- [48] KASHMAN Y, GUSTAFSON K R, FULLER R W, et al. HIV inhibitory natural products. The calanolides, a novel HIV-inhibitory class of coumarin derivatives from the tropical rainforest tree, *Calophyllum lanigerum*[J]. *J Med Chem*, 1992, 35(15): 2735-2743.
- [49] VELASCO-VELÁZQUEZ M A, AGRAMONTE-HEVIA J, BARRERA D, et al. 4-Hydroxycoumarin disorganizes the actin cytoskeleton in B16-F10 melanoma cells but not in B82 fibroblasts, decreasing their adhesion to extracellular matrix proteins and motility[J]. *Cancer Lett*, 2003, 198(2): 179-186.
- [50] WEBER U S, STEFFEN B, SIEGERS C P. Antitumor-activities of coumarin, 7-hydroxy-coumarin and its glucuronide in several human tumor cell lines[J]. *Res Commun Mol Path*, 1998, 99(2): 193-206.
- [51] JIMÉNEZ-OROZCO F A, ROSALES A A R, VEGA-LÓPEZ A, et al. Differential effects of esculetin and daphnetin on in vitro cell proliferation and in vivo estrogenicity[J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 668(1-2): 35-41.
- [52] SCOTT K A, BARNES J, WHITEHEAD R C, et al. Inhibitors of NQO1: Identification of compounds more potent than dicoumarol without associated off-target effects[J]. *Biochem Pharmacol*, 2011, 81(3): 355-363.
- [53] KUSUMA B R, PETERSON L B, ZHAO H P, et al. Targeting the heat shock protein 90 dimer with dimeric inhibitors[J]. *J Med Chem*, 2011, 54(18): 6234-6253.
- [54] YANG J, LIU G Y, DAI F, et al. Synthesis and biological evaluation of hydroxylated 3-phenylcoumarins as antioxidants and antiproliferative agents[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, 21(21): 6420-6425.
- [55] MOHAREB R M, FLEITA D H, SAKKA O K. Novel synthesis of hydrazide-hydrazone derivatives and their utilization in the synthesis of coumarin, pyridine, thiazole and thiophene derivatives with antitumor activity[J]. *Molecules*, 2010, 16(1): 16-27.
- [56] KIM Y A, KONG C S, YEA S S, et al. Constituents of *Corydalis heterocarpa* and their anti-proliferative effects on human cancer cells[J]. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48(2): 722-728.
- [57] SHAKEEL-U-REHMAN, KHAN R, BHAT K A, et al. Isolation, characterisation and antibacterial activity studies of coumarins from *Rhododendron lepidotum* Wall. ex G. Don, Ericaceae[J]. *Rev Bras Farmacogn*, 2010, 20(6): 886-890.
- [58] 周磊. 秦皮素对大肠杆菌的抑菌作用机制[D]. 大连: 辽宁师范大学, 2013.
ZHOU L. Antibacterial activity and mechanism of fraxetin on *Escherichia coli*[D]. Dalian, China: Liaoning Normal University, 2013.
- [59] SHAHVERDI A R, IRAMSHAHI M, MIRJANI R, et al. Bioassay-guided isolation and identification of an antibacterial compound from *Ferula persica* var. *persica* roots[J]. *Daru*, 2005, 13(1): 17-19.
- [60] 孙艺方, 杜利利, 周乐, 等. 紫花地丁抗菌活性成分研究[J]. *中国中药杂志*, 2011, 34(19): 2666-2671.
SUN Y F, DU L L, ZHOU L, et al. Study on antibacterial active components of *Viola philippica*[J]. *China China J Chin Mater Med*, 2011, 34(19): 2666-2671.
- [61] GHATE M, MANOHAR D, KULKARNI V, et al. Synthesis of vanillin ethers from 4-(bromomethyl) coumarins as anti-inflammatory agents[J]. *Eur J Med Chem*, 2003, 38(3): 297-302.
- [62] KONTOGIORGIS C A, HADJIPAVLOU-LITINA D J. Synthesis and biological evaluation of novel coumarin derivatives with a 7-azomethine linkage[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2004, 14(3): 611-614.
- [63] CHIANG C C, CHENG M J, PENG C F, et al. A novel dimeric coumarin analog and antimycobacterial constituents from *Fatoua pilosa*[J]. *Chem Biodivers*, 2010, 7(7): 1728-1736.
- [64] NOIPHA K, THONGTHOOM T, SONGSIANG U, et al. Carbazoles and coumarins from *Clausena harmandiana* stimulate glucose uptake in L6 myotubes[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2010, 90(3): e67-e71.
- [65] KINI D, GHATE M. Synthesis and oral hypoglycemic activity of 3-[5'-methyl-2'-aryl-3'-(thiazol-2"-yl amino) thiazolidin-4'-one]coumarin derivatives[J]. *E - J Chem*, 2011, 8(1): 386-390.
- [66] PAHARI P, ROHR J. Total synthesis of psoralidin, an anticancer natural product[J]. *J Org Chem*, 2009, 74(7): 2750-2754.
- [67] SASHIDHARA K V, KUMAR A, CHATTERJEE M, et al. Discovery and synthesis of novel 3-phenylcoumarin derivatives as antidepressant agents[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, 21(7): 1937-1941.
- [68] BAROT K P, JAIN S V, KREMER L, et al. Recent advances and therapeutic journey of coumarins: current status and perspectives[J]. *Med Chem Res*, 2015, 24(7): 2771-2798.
- [69] PORTONOVO P, DING X B, LEONARD M S, et al. First total synthesis of a fluorescent didemnin[J]. *Tetrahedron*, 2000, 56(23): 3687-3690.
- [70] TAKECHI H, ODA Y, NISHIZONO N, et al. Fluorescent labeling reagents. Part 3. screening search for organic fluorophores: syntheses and fluorescence properties of 3-azoly-7-diethylaminocoumarin derivatives[J]. *Chem Pharm Bull*, 2000, 48(11): 1702-1710.
- [71] 李梦, 丁伟, 张永强, 等. 香豆素对朱砂叶螨的生物活性评价[C]//中国植物保护学会 2013 年学术年会论文集, F, 2013.
LI M, DING W, ZHANG Y Q, et al. Evaluation of the Bioactivity of Coumarin on *Tetranychus cinnabarinus*[C]// Proceedings of the 2013 annual meeting of the Chinese Society for Plant Protection, F, 2013.
- [72] 张永强. 黄花蒿杀螨物质活性追踪及杀螨作用机理研究[D]. 重庆: 西南大学, 2008.
ZHANG Y Q. Studies on acaricidal action mechanism and bio-guided isolation of bioactive substance from *Artemisia annua* L[D]. Chongqing: Southwest University, 2008.
- [73] 张, 等. 瑞香狼毒根中杀螨活性物质的分离鉴定[J]. *甘肃农业大学学报*, 2018, 53(1): 95-101.

- ZHANG D H, CHEN E, YANG S Y, et al. Isolation and identification of acaricidal compounds from roots of *Stellera chamaejasme*[J]. *J Gansu Agric Univ*, 2018, 53(1): 95-101.
- [74] 周渤. 7-羟基-4-甲基香豆素衍生物合成及杀螨活性研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2013.
- ZHOU L. Synthesis and acaricidal activity of 7-hydroxy-4-methylcoumarin derivatives[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2013.
- [75] GLEYE C, LEWIN G A, JULLIAN J C, et al. Acaricidal activity of tonka bean extracts. Synthesis and structure-activity relationships of bioactive derivatives[J]. *J Nat Prod*, 2003, 66(5): 690-692.
- [76] 杨振国. 东茛菪内酯与双脱甲氧基姜黄素的联合杀螨作用及其悬浮剂研制 [D]. 重庆: 西南大学, 2013.
- YANG Z G. Joint acaricidal action of scopoletin and bisdemethoxycurcumin and preparation of its suspension concentrate[D]. Chongqing: Southwest University, 2013.
- [77] 汤荔枝. 东茛菪内酯的光化学降解研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2015.
- TANG L Z. Studies on the photochemical degradation of scopoletin[D]. Chongqing: Southwest University, 2015.
- [78] 刘长令, 李正名. 以天然产物为先导化合物开发的农药品种 (I): 杀菌剂[J]. *农药*, 2003, 42(11): 1-4.
- LIU C L, LI Z M. Agrochemicals discovered and developed from natural leads(I): fungicides[J]. *Pesticides*, 2003, 42(11): 1-4.
- [79] 刘长令, 钟滨, 李正名. 以天然产物为先导化合物开发的农药品种 (II): 杀虫杀螨剂[J]. *农药*, 2003, 42(12): 1-8.
- LIU C L, ZHONG B, LI Z M. Agrochemicals discovered and developed from natural leads(II): insecticides and acaricide[J]. *Pesticides*, 2003, 42(12): 1-8.
- [80] 刘长令, 韩亮, 李正名. 以天然产物为先导化合物开发的农药品种 (3): 除草剂[J]. *农药*, 2004, 43(1): 1-4.
- LIU C L, HAN L, LI Z M. Agrochemicals discovered and developed from natural lead compounds: herbicides[J]. *Pesticides*, 2004, 43(1): 1-4.
- [81] 余慧群, 廖艳芳, 周海, 等. 拟除虫菊酯杀虫剂研究进展[J]. *企业科技与发展*, 2010(20): 46-49.
- YU H Q, LIAO Y F, ZHOU H, et al. The study progress of pyrethroid insecticides[J]. *Enterp Sci Technol Dev*, 2010(20): 46-49.
- [82] 于观平, 王刚, 王素华, 等. 沙蚕毒素类杀虫剂研究进展[J]. *农药学报*, 2011, 13(2): 103-109.
- YU G P, WANG G, WANG S H, et al. Progress of the research on the nereistoxin insecticides[J]. *Chin J Pestic Sci*, 2011, 13(2): 103-109.
- [83] 刘建涛, 赵利, 苏伟. 昆虫保幼激素及其类似物的应用研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2006, 34(11): 2446-2448.
- LIU J T, ZHAO L, SU W. Research progress in the juvenile hormone application and its analogs[J]. *J Anhui Agric Sci*, 2006, 34(11): 2446-2448.
- [84] ANAMIKA, UTREJA D, EK TA, et al. Advances in synthesis and potentially bioactive of coumarin derivatives[J]. *Curr Org Chem*, 2018, 22(26): 2509-2536.
- [85] ZHOU X, WANG X B, WANG T, et al. Design, synthesis, and acetylcholinesterase inhibitory activity of novel coumarin analogues[J]. *Bioorg Med Chem*, 2008, 16(17): 8011-8021.
- [86] 赖婷. 东茛菪内酯酚醚衍生物合成及其杀螨活性的构效关系[D]. 重庆: 西南大学, 2018.
- LAI T. Synthesis, acaricidal activities and QSAR of scopoletin phenol ether derivatives[D]. Chongqing: Southwest University, 2018.
- [87] 梁为, 白雪娜, 马兰青, 等. 东茛菪素对朱砂叶螨的毒力及杀螨机理初探[J]. *广东农业科学*, 2011, 38(8): 68-71.
- LIANG W, BAI X N, MA L Q, et al. Preliminary study on scopoletin toxicity to *Tetranychus cinnabarinus* and its acaricidal mechanism[J]. *Guangdong Agric Sci*, 2011, 38(8): 68-71.
- [88] 侯秋莉, 张永强, 李彩新, 等. 氯化钙与东茛菪内酯联用对朱砂叶螨的杀螨毒力及其Ca²⁺-ATP酶活性的影响[J]. *农药学报*, 2015, 17(4): 475-479.
- HOU Q L, ZHANG Y Q, LI C X, et al. Acaricidal toxicity of scopoletin combined with Ca²⁺ and its influence on Ca²⁺-ATPase activity in *Tetranychus cinnabarinus*(Boisduval)[J]. *Chin J Pestic Sci*, 2015, 17(4): 475-479.
- [89] 侯秋莉. 东茛菪内酯对朱砂叶螨Ca²⁺-ATP酶的抑制作用及靶标位点预测 [D]. 重庆: 西南大学, 2015.
- HOU Q L. Inhibitory effects of scopoletin on Ca²⁺-ATPase and the predicted target location in *Tetranychus cinnabarinus* (Acarina: Tetranychidae)[D]. Chongqing: Southwest University, 2015.
- [90] Zhou H, Zhang Y Q, Lai T, et al. Acaricidal Mechanism of Scopoletin Against *Tetranychus cinnabarinus*[J]. *Front Physiol*, 2019, 10: 10.
- [91] 周红. 东茛菪内酯对朱砂叶螨致毒作用的钙通道相关基因研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2018.
- ZHOU H. Study on calcium channel-related genes of carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus* under scopoletin stress[D]. Chongqing: Southwest University, 2018.
- [92] MA X F, ZHANG Y Y, ZHOU H, et al. Silencing T-type voltage-gated calcium channel gene reduces the sensitivity of *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) to scopoletin[J]. *Comp Biochem Phys C*, 2019: 108644-108644.
- [93] ZHOU H, ZHANG Y Q, LAI T, et al. Silencing chitinase genes increases susceptibility of *Tetranychus cinnabarinus* (boisduval) to scopoletin[J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 9579736.
- [94] 吴文君, 刘惠霞, 胡兆农, 等. 从天然产物到新农药创制: 杀虫植物苦皮藤研究进展[J]. *昆虫知识*, 2008, 45(6): 845-851.
- WU W J, LIU H X, HU Z N, et al. Advances in research of insecticidal plant *Celastrus angulatus*[J]. *Chin Bull Entomol*, 2008, 45(6): 845-851.

(责任编辑: 金淑惠)