

· 专论与综述 ·

doi: 10.16801/j.issn.1008-7303.2022.0028

杀菌剂氟苯醚酰胺的创制

曾令强[#], 罗睿童[#], 陈琼, 郝格非, 朱晓磊^{*}, 杨光富^{*}

(华中师范大学 化学学院 农药与化学生物学教育部重点实验室, 武汉 430079)

摘要: 琥珀酸脱氢酶 (succinate dehydrogenase, SDH) 是重要的杀菌剂靶标之一, 而很多植物病原菌对靶向 SDH 的杀菌剂已经产生了较为严重的抗药性, 因此新型靶向 SDH 的杀菌剂设计显得尤为重要。基于药效团连接碎片的虚拟筛选 (PFVS) 是一种独立于生物物理技术的高通量药物发现方法, 采用 PFVS 方法成功获得了靶向 SDH 的新型杀菌剂候选化合物—氟苯醚酰胺。本文主要从 PFVS 原理、先导化合物的发现、取代基的修饰以及杀菌活性研究等方面对氟苯醚酰胺的创制进行系统分析。氟苯醚酰胺创制的案例分析可为农药研究工作者提供新思路和新方法。

关键词: 药效团连接碎片的虚拟筛选; 琥珀酸脱氢酶; 氟苯醚酰胺; 杀菌剂

中图分类号: TP391; TQ450.1 文献标志码: A

Discovery of fungicide flubeneteram

ZENG Lingqiang[#], LUO Ruitong[#], CHEN Qiong, HAO Gefei, ZHU Xiaolei^{*}, YANG Guangfu^{*}

(Key Laboratory of Pesticide & Chemical Biology, Ministry of Education, College of Chemistry,
Central China Normal University, Wuhan 430079, China)

Abstract: Succinate dehydrogenase (SDH) is one of the important fungicide targets. However, many plant pathogens showed medium and even high resistance to commercial fungicides targeting upon SDH. So, it is very urgent to design new novel inhibitor for SDH. Pharmacophore-linked fragment virtual screening (PFVS) is a high-throughput drug discovery approach independent of biophysical screening techniques and flubeneteram, a novel fungicide candidate targeting SDH, was successfully obtained by PFVS. Here, the development process of the fungicide flubeneteram was analyzed in detail, including the principle of PFVS, the discovery of lead compounds, the modification of substituents and the fungicidal activity. The discovery process of flubeneteram would provide novel ideas and methods for pesticide researchers.

Keywords: pharmacophore-linked fragment virtual screening(PFVS); succinate dehydrogenase; flubeneteram; fungicide

收稿日期: 2021-11-08; 录用日期: 2022-01-05; 网络首发日期: 2022-03-24.

Received: November 8, 2021; Accepted: January 5, 2022; Published online: March 24, 2022.

URL: <https://doi.org/10.16801/j.issn.1008-7303.2022.0028>

<http://www.nyxxb.cn/cn/article/doi/10.16801/j.issn.1008-7303.2022.0028>

基金项目: 湖北省科技厅重点研发项目 (2020BBA052); 国家自然科学基金面上项目 (21977035, 21837001).

Funding: Supported by the Key Research and Development Program of Hubei Province (2020BBA052); the National Natural Science Foundation of China (21977035, 21837001).

[#]并列第一作者 (Equal contribution): 曾令强, zenglingqiang@mails.ccnu.edu.cn; 罗睿童, ruitong_luo@163.com. ^{*}通信作者 (Corresponding authors): 朱晓磊, xlzhu@mail.ccnu.edu.cn; 杨光富, gfyang@mail.ccnu.edu.cn.

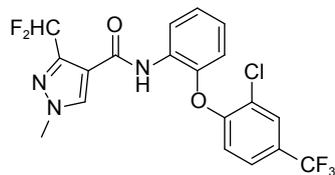
The authors declare that they have no competing interests.



琥珀酸脱氢酶 (succinate dehydrogenase, SDH) 又称为琥珀酸泛醌氧化还原酶 (succinate ubiquinone oxidoreductase, SQR), 其作为一类重要的杀菌剂靶标在农药研究领域扮演着十分重要的角色^[1-5]。琥珀酸脱氢酶抑制剂 (succinate dehydrogenase inhibitor, SDHI) 具有高效、广谱和环境友好等特点^[6]。自 20 世纪 60 年代第 1 个商品化 SDHI 萎锈灵 (carboxin) 上市以来, 历经 60 余年的发展, 目前已有 24 个 SDHI 商品化^[6-7]。然而, 根据杀菌剂抗性行动委员会 (Fungicides Resistance Action Committee, FRAC) 的统计数据显示, 已有 20 多种植物病原菌对 SDHI 类杀菌剂表现出抗性, 其中 16 种为田间报道的抗性^[8], 而且植物病原菌对现有商品化 SDHI 的抗性水平已达到中等甚至高水平抗性^[9-20]。另外, 市场上主流的 SDHI 多为吡唑联苯类, 该类化合物由于联苯片段的的存在使得其合成成本相对较高^[21], 且部分 SDHI 类杀菌剂对防治植物病害的活性不高, 如异丙噻菌胺 (isofetamid) 虽然对子囊菌等引起的病害具有优异的防治效果, 但是对半知菌以及卵菌活性不佳^[22]。因此, 发现合成成本较低且杀菌谱广的新型 SDHI 显得尤为重要。

华中师范大学杨光富课题组开发出了“药效团连接碎片虚拟筛选” (pharmacophore-linked fragment virtual screening, PFVS) 方法^[23], 随后基于此方法成功创制出了新型 SDHI 杀菌剂—氟苯醚酰胺 (flubeneteram), 试验代号: Y13149 (本文中化合物 11, 图式 1), 中国专利申请号 201310502473.7, 国际 PCT/CN2013/089220。生物活性测试结果表明, 氟苯醚酰胺对水稻纹枯病和黄瓜白粉病具有卓越的防治效果, 同时对小麦白粉病等病菌具有良好的抑制作用。目前该化合物已经转让给企业

进行产业化开发。基于此, 本文将从 PFVS 的角度出发, 对氟苯醚酰胺的创制过程予以介绍, 重点分析其创制过程中的研究思路, 以期给农药研究人员创制新农药以启发。



图式 1 氟苯醚酰胺 (试验代号: Y13149, 本文中化合物 11) 的化学结构式

Scheme 1 The chemical structure of flubeneteram (also named Y13149, compound 11)

1 药效团连接碎片虚拟筛选

PFVS (图 1) 是一种基于分子碎片的药物分子设计方法, 该方法克服了传统药物设计方法中必须依赖生物物理技术进行碎片筛选及需要大量高纯蛋白的不足, 成功实现了分子碎片的高通量虚拟筛选, 使得基于碎片的药物设计方法成为一种更通用的分子设计方法。基于抑制剂与靶标之间的作用机制, PFVS 方法的核心思想是在保留抑制剂关键药效团的前提下, 对其他部分进行片段合理替换从而生成一个全新的虚拟分子, 再结合 Amber 分子动力学进行能量优化, 并对最后构象进行结合自由能计算 (MM/PBSA), 挑选打分较高的化合物进行后续研究。该方法的优点是可以合理地、高效率地找到高活性化合物。基于该方法, 本课题组已经成功设计并合成了第 1 个活性达到皮摩尔级别的细胞色素 bc_1 复合物 Q_o 位点抑制剂, 该部分内容已有文献做了详细阐述^[23]。随后进一步把 PFVS 方法应用到 SDH 靶标中进行新

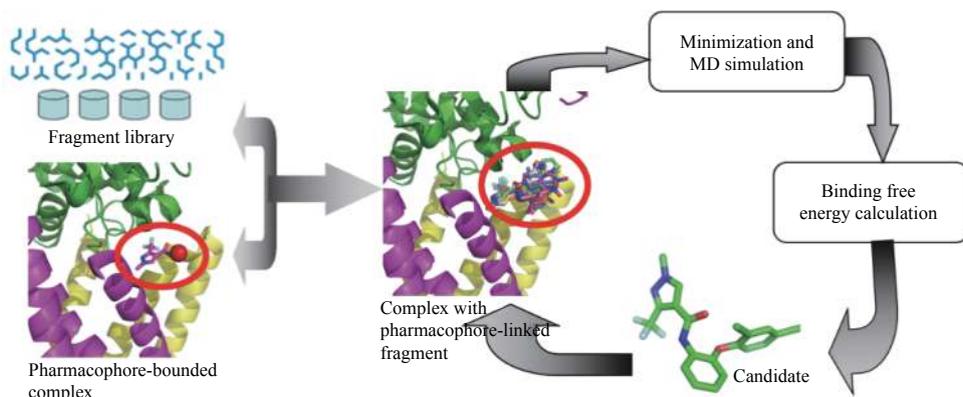


图 1 药效团连接碎片虚拟筛选工作流程^[23]

Fig. 1 Work flow of PFVS^[23]

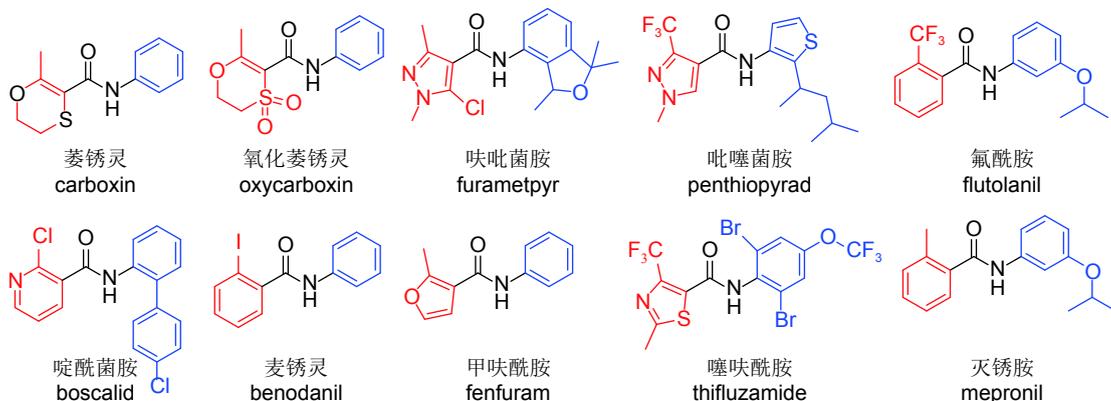
型抑制剂的设计, 最终获得高活性候选杀菌剂氟苯酰胺 (详见下文分析), 同时也进一步说明了 PFVS 方法的普适性较高。

2 氟苯酰胺的创制经纬

2.1 现有商品化 SDHI 作用机制研究

药物分子的作用机制是新型药物分子设计的

基石。为此, 我们选择 10 个商品化 SDHI (图式 2), 测试了它们对猪心来源的 SDH 酶水平的生物活性, 与此同时, 采用分子对接和结合自由能评价方法研究了其结合模式。结果如表 1 所示, ΔG_{exp} ($\Delta G = -RT \ln K_i$) 与 ΔG_{cal} 之间的相关性 r^2 达到 0.94, 表明结合模式的正确性。



图式 2 10 个商品化 SDHI 的化学结构式 (红色表示酸部分, 蓝色表示胺部分)^[24]

Scheme 2 The chemical structures of ten commercial SDHI (The acid and the amine parts were colored by red and blue, respectively)^[24]

表 1 10 个商品化 SDHI 与 SDH 的结合自由能 (kcal/mol)^[24]

Table 1 The binding free energies of ten SDHI with the Q-site of SDH (kcal/mol)^[24]

化合物 Compound	ΔE_{ele}	ΔE_{vdw}	ΔG_{np}	ΔG_{pol}	ΔH	$-T\Delta S$	ΔG_{cal}	ΔG_{exp}^a	K_i^b ($\mu\text{mol/L}$)
噻唑酰胺 thifluzamide	-10.62	-43.99	-4.76	31.02	-28.35	11.21	-17.14	-9.10	0.20
吡噻菌胺 penthiopyrad	-13.84	-41.91	-5.10	34.28	-26.57	13.54	-13.03	-7.35	3.90
羧锈灵 carboxin	-14.42	-35.65	-4.15	29.48	-24.74	12.16	-12.58	-7.25	4.59
啶酰菌胺 boscalid	-18.50	-39.68	-4.66	39.76	-23.08	11.02	-12.06	-6.84	9.20
麦锈灵 benodanil	-10.38	-34.43	-4.20	27.87	-21.14	10.13	-11.01	-6.63	13.17
氟酰胺 flutolanil	-9.75	-38.41	-4.68	32.28	-20.57	9.76	-10.81	-6.17	28.88
呋吡菌胺 furametpyr	-13.94	-37.16	-4.58	34.69	-20.99	10.43	-10.56	-6.16	29.27
灭锈胺 mepronil	-11.92	-36.64	-4.57	32.97	-20.16	9.59	-10.57	-6.11	31.81
氧化羧锈灵 oxycarboxin	-20.09	-38.22	-4.26	41.65	-20.93	10.48	-10.45	-5.56	81.02
甲呋酰胺 fenfuram	-15.03	-32.00	-3.90	29.13	-21.79	11.64	-10.15	-5.39	108.40

注: ^a $\Delta G_{\text{exp}} = -RT \ln K_i$; ^b使用琥珀酸-DCIP 体系测定。°1 kcal/mol = 4.184 kJ/mol。

Note: ^a $\Delta G_{\text{exp}} = -RT \ln K_i$; ^bDetermined with the succinate-DCIP system. °1 kcal/mol = 4.184 kJ/mol.

如图 2 所示, 该类化合物中酸部分结构嵌入活性腔中, 与 C_R46 形成阳离子- π 相互作用, 酰胺键的羰基氧原子与 B_W173 和 D_Y91 形成氢键, 其胺部分伸向活性腔口处, 与 C_W35、C_I43、C_I30 形成疏水相互作用。

2.2 二苯醚片段的发现

基于上述作用机制, 固定吡噻菌胺结构中

吡噻菌胺部分, 采用 PFVS 方法对其胺部分进行碎片筛选, 获得了 8 个打分靠前的 hit 苗头化合物 (图式 3)。生物活性测试结果显示, hit 4 在 10 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下对猪心 SCR (SDH 和复合物 III 的混合物) 的 IC_{50} 值为 19.79 $\mu\text{mol/L}$, 显示出进一步优化的价值。

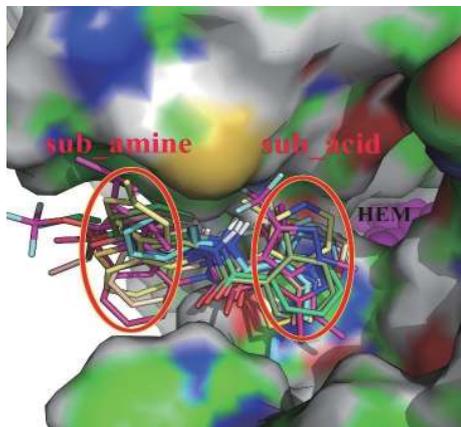


图 2 10 个商品化 SDHI 与 SDH 作用方式叠合显示图 (sub_amine 为胺部分, sub_acid 为酸部分, HEM 为血红素)^[24]

Fig. 2 The overlay of the binding model of ten SDHI with SDH (sub_amine means the amine part, sub_acid means the acid part and HEM stands for heme)^[24]

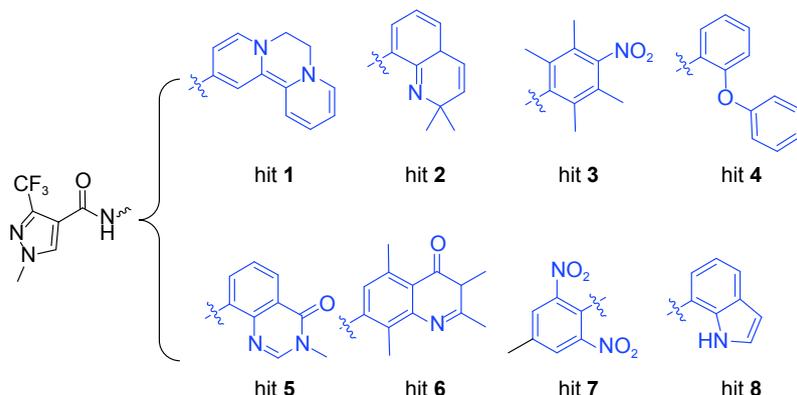
2.3 二苯醚片段上取代基的优化

分子模拟结果显示, 化合物 hit 4 与靶标的作用方式与商品化 SDHI 类似 (图 3A), 其羰基的氧原子与 D_Y91、B_W173 形成氢键相互作用。值得关注的是, 相对于已有商品化 SDHI 的胺部分化学结构 (图式 2), hit 4 中二苯醚片段的柔性较大, 末端苯环能够与 C_W35 形成 π - π 相互作用。因此拟通过对 hit 4 中末端苯环进行取代基衍生, 以期进一步提高该类化合物的生物活性。

如图 4 所示, 先对二苯醚末端苯环进行修饰获得末端苯环的优势取代基, 随后固定末端苯环的优势取代基对吡啶环进行修饰最终获得高活性化合物。化合物的构效关系研究结果^[26] (表 2) 表明: 当化合物末端苯环 2 号位上引入单取代基时, 其对猪心 SDH 的抑制率有着明显的提高, 如

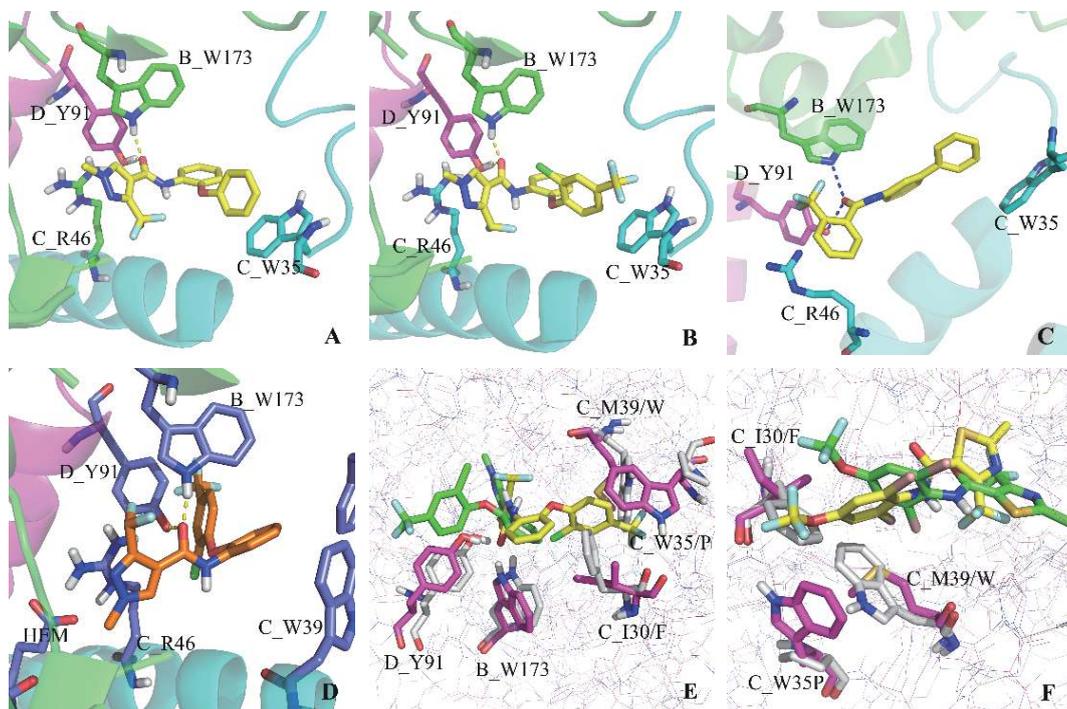
化合物 2 ($R^2 = 2\text{-Cl}$), 其 IC_{50} 值达到了 $1.98 \mu\text{mol/L}$, 比先导化合物 hit 4 提高了近 10 倍; 而 3 号位引入取代基则不利于 SDH 抑制活性的提高, 如化合物 3 ($R^2 = 3\text{-Cl}$, $IC_{50} = 36.9 \mu\text{mol/L}$); 4 号位的构效关系比较复杂, 如引入氟原子 ($R^2 = 4\text{-F}$, 4) 或者强吸电子基如氰基 ($R^2 = 4\text{-CN}$, 6) 时, 其 SDH 抑制活性急剧下降, 但是引入氯原子 ($R^2 = 4\text{-Cl}$, 5) 时, 其 IC_{50} 值达 $4.90 \mu\text{mol/L}$ 。当末端苯环引入双取代基时, 2、4 位的修饰对活性的贡献是最显著的, 如化合物 7 ($R^2 = 2,4\text{-Cl}_2$), 其对 SDH 的 IC_{50} 值为 $2.70 \mu\text{mol/L}$; 而化合物 8 ($R^2 = 2\text{-Cl-4-CF}_3$) 对 SDH 的 IC_{50} 值达 $0.28 \mu\text{mol/L}$, 是 hit 4 的 70 倍。

前期研究工作表明, 将吡啶环上的三氟甲基替换为二氟甲基有利于化合物活性的提高^[27]。因此, 在保留前期所得的优势取代基 ($R^2 = 2\text{-Cl-4-CF}_3$ 等) 的基础上, 进一步设计并合成了一系列二氟甲基取代的化合物, 并对其进行了生物活性评价, 结果 (表 2) 和预期一致, 即与相应的三氟甲基取代的化合物相比, 二氟甲基取代的系列化合物的活性都有了明显提高, 大部分化合物对猪心来源的 SDH 的抑制率要更优于三氟甲基取代的化合物。随后对其进行了活体杀菌活性评价, 结果 (表 3) 表明: 这一系列化合物对水稻纹枯病和黄瓜白粉病表现出了优异的防治效果, 其中化合物 11 在 12.5 mg/L 下对水稻纹枯病仍然保持了 95% 的防效, 对黄瓜白粉病有 67% 的防效, 优于对照药剂噻呋酰胺 (水稻纹枯病 61%, 黄瓜白粉病 0%), 具有进一步开发的价值^[26]。



图式 3 基于 PFVS 筛选得到的 8 个 hit 化合物 (蓝色表示 PFVS 确定的部分)^[25]

Scheme 3 Chemical structures of eight hit compounds identified by PFVS (The fragments determined by PFVS are shown in blue)^[25]

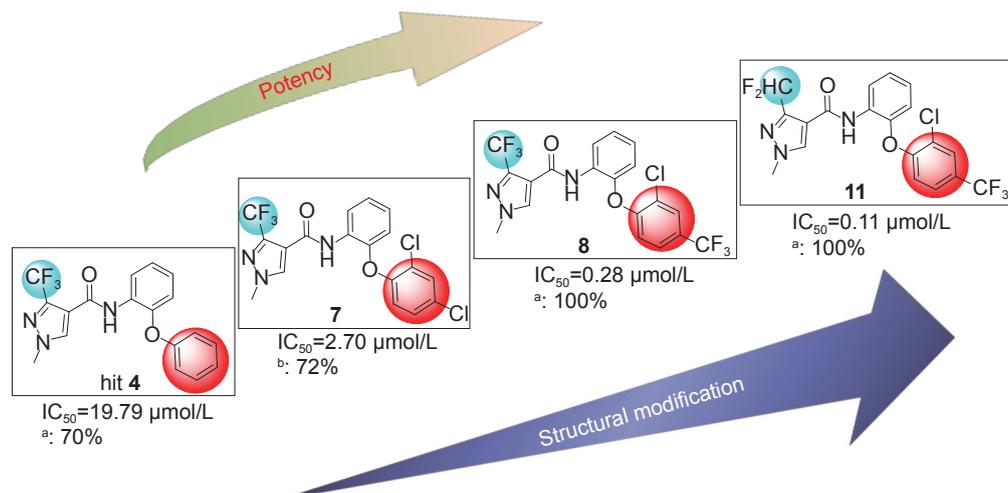


注: (A) hit 4 (黄色棍状显示) 与猪心 SDH 的结合方式; (B) 氟苯酰胺 (黄色棍状显示) 与猪心 SDH 的结合方式 (PDB ID: 3ABV); (C) 氟酰胺衍生物 (黄色棍状显示) 与猪心 SDH 结合方式 (PDB ID: 3ABV); (D) 氟苯酰胺 (橙色棍状显示) 与水稻纹枯病菌 SDH 的结合方式; (E) 氟苯酰胺与猪心 SDH (玫红色和黄色棍状显示) 和水稻纹枯病菌 SDH (灰色和绿色棍状显示) 结合方式显示叠合图; (F) 噻唑酰胺与猪心 SDH (玫红色和黄色棍状显示) 和水稻纹枯病菌 SDH (灰色和绿色棍状显示) 结合方式显示叠合图; 为了便于展示, C_M39/W 的含义为猪心中 SDH 为 C_M39, 而水稻纹枯病中 SDH 为 C_W39; 以此类推, C_W35/P 表示的是猪心中 SDH 为 C_W35, 而水稻纹枯病中 SDH 为 C_P35; C_I30/F 表示的是猪心中 SDH 为 C_I30, 而水稻纹枯病中 SDH 为 C_F30^[26]。

Note: (A) hit 4 (yellow stick) with porcine SDH. (B) flubeneteram (yellow stick) with porcine SDH. (C) flutolanil derivatives (yellow stick) with porcine SDH in crystal structure 3ABV. (D) flubeneteram (orange stick) with *Rhizoctonia solani* (*R. solani*) SDH. (E) Overlay of flubeneteram binding with porcine SDH (represented by magenta and yellow stick) and *R. solani* SDH (represented by gray and green stick). (F) Overlay of thifluzamide binding with porcine SDH (represented by magenta and yellow) and *R. solani* SDH (represented by gray and green sticks). C_M39/W, C_W35/P, and C_I30/F respectively indicate C_M39, C_W35, and C_I30 in porcine SDH and C_W39, C_P35, and C_F30 in *R. solani* SDH. For clarity, just some key residues are shown^[26]

图 3 结合模式显示图

Fig. 3 The binding modes

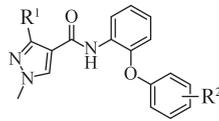


注: ^a 指 200 mg/L 下该化合物对水稻纹枯病的防治效果; ^b 指 200 mg/L 下该化合物对黄瓜白粉病的防治效果。

Note: ^aThe control efficacy of compound against rice sheath blight at a concentration of 200 mg/L. ^b The control efficacy of compound against cucumber powdery mildew at a concentration of 200 mg/L.

图 4 化合物设计思路

Fig. 4 Compound design strategy

表 2 化合物对猪心 SDH 的 IC₅₀ 值^[26]Table 2 IC₅₀ value of compound against porcine SDH^[26]

化合物 Compound	R ¹	R ²	IC ₅₀ 值 (猪心 SDH) IC ₅₀ value (porcine SDH)/(μmol/L)	化合物 Compound	R ¹	R ²	IC ₅₀ 值 (猪心 SDH) IC ₅₀ value (porcine SDH)/(μmol/L)
hit 4	CF ₃	H	19.79	7	CF ₃	2,4-Cl ₂	2.70
2	CF ₃	2-Cl	1.98	8	CF ₃	2-Cl-4-CF ₃	0.28
3	CF ₃	3-Cl	36.9	9	CHF ₂	2-Cl	1.13
4	CF ₃	4-F	>100	10	CHF ₂	2,4-Cl ₂	0.40
5	CF ₃	4-Cl	4.90	11	CHF ₂	2-Cl-4-CF ₃	0.11
6	CF ₃	4-CN	>100	吡噻菌胺 penthiopyrad			1.29

表 3 化合物 9~11 活体杀菌活性^[26]Table 3 Fungicidal activities of compounds 9-11 *in vivo*^[26]

化合物 Compound	质量浓度 Concentration/ (mg/L)	防治效果 Control efficacy/%		化合物 Compound	质量浓度 Concentration/ (mg/L)	防治效果 Control efficacy/%	
		水稻纹枯病 Rice sheath blight	黄瓜白粉病 Cucumber powdery mildew			水稻纹枯病 Rice sheath blight	黄瓜白粉病 Cucumber powdery mildew
9	100	100	100	11	100	100	100
	50	100	83		50	100	100
	25	80	41		25	99	94
	12.5	72	7		12.5	95	67
	6.25	75	0		6.25	70	0
10	100	100	—	噻呋酰胺 thiﬂuzamide	100	100	100
	50	98	—		50	100	63
	25	95	—		25	82	22
	12.5	82	—		12.5	61	0
	6.25	69	—		6.25	54	0

注：— 表示未测定。

Note: — Indicates untested.

3 田间药效试验和杀菌谱测试研究

为了进一步研究化合物 **11** 对水稻纹枯病的防治效果, 委托国家南方农药创制中心浙江基地分别在浙江绍兴市和宁波市两地对其进行水稻纹枯病的田间药效试验。结果如表 4 所示: 5% 的化合物 **11** 乳油对水稻纹枯病具有较好的防治效果^[26,28]。以浙江宁波为例, 按有效成分 75.0 g/hm² 处理, 两次施药, 第 1 次与第 2 次施药间隔期为 13 d。第 2 次施药后 7 d 和 21 d 防治效果分别达到了 69.6% 和 81.2%, 优于对照药剂 24% 的噻呋酰胺悬浮剂同剂量处理 (2 次施药后 7 d、21 d 防治效果分别为 48.4% 和 75.4%)。同时, 在水稻纹枯病

初发期施药 2 次, 化合物 **11** 的防效持效期能够维持 21 d 以上, 而对照药剂的防效比 5% 的化合物 **11** 乳油有所下降; 浙江绍兴的田间药效试验表明, 按有效成分 75.0 g/hm² 处理, 5% 的化合物 **11** 乳油的防效与对照药剂相当。表明化合物 **11** 具有良好的市场应用前景。

随后, 对化合物 **11** 又进行了杀菌谱测试, 如图 5 所示, 化合物 **11** 可以用于防治小麦上的众多病害, 如小麦白粉病、小麦条锈病、小麦叶锈病、小麦纹枯病、小麦赤霉病、小麦叶枯病等, 同时还可以用于防治其他农作物上病害, 如油菜菌核病、大豆锈病、花生白绢病、甜瓜白粉病、玉米锈病等。

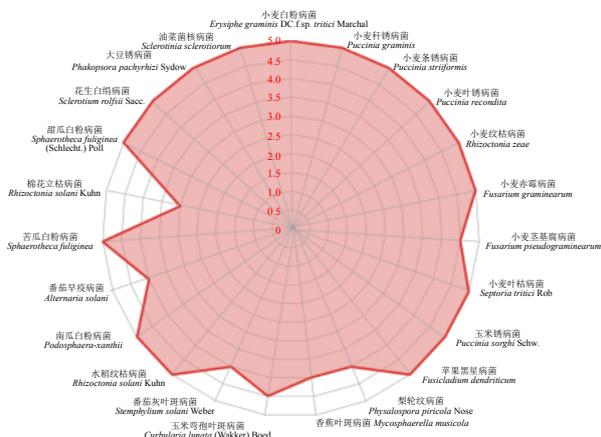
表 4 化合物 11 对水稻纹枯病的田间药效试验^[26,28]Table 4 Control efficacy of compound 11 against *R. solani* in field trials^[26,28]

药剂处理 Treatment	有效成分用量 Amount of active ingredient/(g/hm ²)	第 2 次施药后 7 d 7 days after the second spraying		第 2 次施药后 21 d 21 days after the second spraying	
		病情指数 Disease index	防治效果 Control efficacy/%	病情指数 Disease index	防治效果 Control efficacy/%
浙江宁波 Ningbo, Zhejiang	11 (5%, EC)	112.5	1.59	77.2	0.99
		75.0	2.12	69.6	1.62
		37.5	2.40	65.5	1.87
	噻呋酰胺 thiﬂuzamide (24%, SC)	75.0	3.59	48.4	2.12
	清水 Water	0	6.97	0	8.63
浙江绍兴 Shaoxing, Zhejiang	11 (5%, EC)	112.5	2.22	83.4	6.70
		75.0	2.78	78.8	9.00
		37.5	3.70	72.9	11.9
	噻呋酰胺 thiﬂuzamide (24%, SC)	75.0	2.63	80.8	8.52
	清水 Water	0	6.97	0.00	8.63

与此同时, 叶片传导试验表明, 化合物 11 还具有良好的向上和向上传导性。需要特别提出的是, 从其合成路线 (图式 4) 可以看出, 合成化合物 11 的关键中间体为二氟甲基取代的吡唑酰氯和二苯醚, 合成成本相对较低, 有望在今后农药市场中大放异彩。

4 化合物 11 的作用机制研究

生物活性测试结果表明, 化合物 11 对水稻纹枯病和黄瓜白粉病的防治效果优于对照药剂噻呋酰胺 (表 3 和表 4), 为了合理解释此现象, 我们首先采用同源建模和膜动力学方法获得水稻纹枯病菌 (致病菌为立枯丝核菌 *R. solani*) SDH 的稳定三维结构, 随后结合分子对接技术和结合自由计算方法研究了化合物 11 与不同物种来源的 SDH 作用机制的差异性。分子模拟结果显示, 针对不同

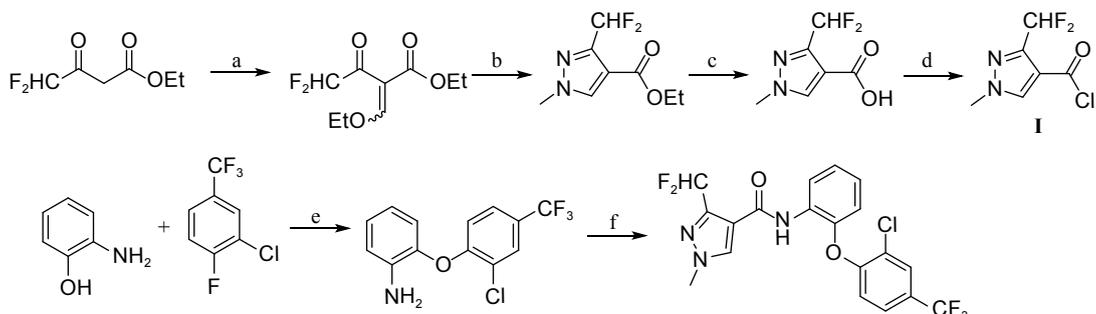


注: 图中 0~5 数字代表杀菌活性, 5: 很优秀; 4: 较好; 一般认为 4 以上具有商业价值, 3 以上具有应用价值。

Note: The number of 0-5 represents the activity of compound against the fungal. 5 indicates that the activity is very excellent against the fungal, 4 indicates that the activity is good. And in general, the compound with more than 4 has commercial value, and more than 3 has application value.

图 5 氟苯酰胺的作用谱

Fig. 5 The antifungal spectrum of flubeneteram

图式 4 化合物 11 合成路线^[26]Scheme 4 Synthetic route of compound 11^[26]

物种来源的 SDH，结合模式的相同点为：化合物 **11** 的羰基氧原子与 D_Y91 和 B_W173 形成氢键，与 C_R46 形成阳离子- π 作用 (图 3B 和图 3D)。值得关注的是，相对于对照药剂噻唑酰胺 (图 3F) 来说，化合物 **11** 结构中二苯醚片段的柔性较大，当与水稻纹枯病 SDH 结合时，其二苯醚片段翻转了近 180° ，从而和 D_Y91 形成 π - π 相互作用，使得其与靶标的作用力增强，提高其生物活性。

5 结语与展望

通过对 10 个商品化 SDHI 类杀菌剂的作用机制进行研究，确定了其结合模式，在此基础上利用 PFVS 方法进行虚拟筛选，得到了 8 个 hit 化合物。综合合成难易程度、可修饰性和对 SDH 抑制率的高低，优先选择了 hit **4** 苗头作为先导化合物进行优化。基于作用机制以及前期工作，对吡唑环和二苯醚末端苯环进行取代优化，得到了在酶水平和活体水平上均优于商品化对照药剂噻唑酰胺和吡唑菌胺的化合物 **11**。该创制过程进一步证明了 PFVS 的广谱性以及该方法在农药创制过程中具有广泛的应用前景。运用该方法，成功获得了具有自主知识产权的新型 SDHI 杀菌剂——氟苯醚酰胺。目前，关于氟苯醚酰胺的抗性风险评估和相关毒理学数据还不够完善，未来将继续补充试验数据以加速其商品化进程。最后，随着我国对新农药创制投入力度的加大，相信未来将有越来越多的具有自主知识产权的优秀产品在农药市场占据一席之地。

谨以此文庆贺中国农业大学农药学学科成立 70 周年。

Dedicated to the 70th Anniversary of Pesticide Science in China Agricultural University.

作者简介:



曾令强，男，2020 年毕业于西南大学植物保护学院，获农学学士学位。2020 年 9 月于华中师范大学继续攻读硕士学位，主要研究具有新颖结构的琥珀酸脱氢酶抑制剂的设计与合成及生物活性，目前已获得一些阶段性的成果，旨在创制农药新品种。



朱晓磊，女，2008 年毕业于华中师范大学化学学院，获理学博士学位。2016—2017 年赴美国哈佛大学化学与化学生物院访问学者。现任华中师范大学教授，博士生导师。长期从事药物分子设计工作，作为主要参与人创制出氟苯醚酰胺和苯醚唑酰胺两个候选杀菌剂，均实现成果转化，预计 2024 年前后取得登记上市。截至目前，先后主持承担包括 5 项国家自然科学基金在内的多项国家及省部级和企业委托科技项目。近五年以第一和通讯作者身份在 JAFIC 等国际农药学领域权威期刊发表 30 篇 SCI 论文，1 篇论文为高被引论文，获中国发明专利及欧美等发达国家专利授权 6 件。



杨光富，男，1997 年毕业于南开大学元素有机化学研究所，获理学博士学位。2004—2005 年赴美国肯塔基大学药学院高级访问学者，2012 年 8 月赴加拿大麦克马斯特大学高级访问学者。现任华中师范大学教授、校学术委员会副主任、农药与化学生物学教育部重点实验室主任。长期从事农药创制研究，在农药分子设计研究方面取得系统性研究成果，创制出全球第一个高粱地选择性除草剂啶草酮和进入登记程序的吡唑啉草酯、氟苯醚酰胺、苯醚唑酰胺等多个农药候选新品种。2009 年获国家杰出青年科学基金资助，2016 年入选“万人计划”科技创新领军人才。曾获教育部自然科学一等奖、湖北省自然科学一等奖、中国农药工业协会技术创新一等奖、侯德榜科技创新奖、药明康德生命科学研究奖、中国化学会农业化学贡献奖及三农金桥奖各 1 项。自 2020 年起连续入选 Elsevier“中国高被引学者”榜单。先后被授予全国模范教师、全国优秀科技工作者等荣誉称号。指导博士学位论文获全国百篇优秀博士学位论文奖 1 项和提名奖 2 项。

参考文献 (References):

- [1] HAGERHALL C. Succinate: quinone oxidoreductases. Variations on a conserved theme[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1997, 1320(2): 107-141.
- [2] MELIN F, HELLWIG P. Redox properties of the membrane proteins from the respiratory chain[J]. *Chem Rev*, 2020, 120(18): 10244-10297.
- [3] LANCASTER C R, KROGER A, AUER M, et al. Structure of fumarate reductase from *Wolinella succinogenes* at 2.2 Å resolution [J]. *Nature*, 1999, 402(6760): 377-385.
- [4] LANCASTER C R D. Succinate: quinone oxidoreductases: an overview[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2002, 1553(1-2): 1-6.
- [5] CECCHINI G. Function and structure of complex II of the respiratory

- chain[J]. *Annu Rev Biochem*, 2003, 72: 77-109.
- [6] LI S Q, LI X S, ZHANG H M, et al. The research progress in and perspective of potential fungicides: succinate dehydrogenase inhibitors[J]. *Bioorg Med Chem*, 2021, 50: 116476.
- [7] Fungal control agents by cross resistance pattern and mode of action 2021[EB/OL]. (2021). https://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-mode-of-action-poster/frac-moa-poster-2021.pdf?sfvrsn=a6f6499a_2.
- [8] 胡伟群. 病原真菌对琥珀酸脱氢酶抑制剂抗性研究进展[J]. *世界农药*, 2020, 42(12): 1-5.
HU W Q. Research progresses in resistance of plant pathogenic fungi to succinate dehydrogenase inhibitors[J]. *World Pestic*, 2020, 42(12): 1-5.
- [9] VIELBA-FERNÁNDEZ A, POLONIO Á, RUIZ-JIMÉNEZ L, et al. Fungicide resistance in powdery mildew fungi[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(9): 1431.
- [10] ZHU F D, SHI Y X, XIE X W, et al. Occurrence, distribution, and characteristics of boscalid-resistant *Corynespora cassiicola* in China[J]. *Plant Dis*, 2019, 103(1): 69-76.
- [11] OUTWATER C A, PROFFER T J, ROTHWELL N L, et al. Boscalid resistance in *Blumeriella jaapii*: distribution, effect on field efficacy, and molecular characterization[J]. *Plant Dis*, 2019, 103(6): 1112-1118.
- [12] CHERRAD S, CHARNAY A, HERNANDEZ C, et al. Emergence of boscalid-resistant strains of *Erysiphe necator* in French vineyards[J]. *Microbiol Res*, 2018, 216: 79-84.
- [13] SAMARAS A, HADJIPETROU C, KARAOGLANIDIS G. *Bacillus amyloliquefaciens* strain QST713 may contribute to the management of SDHI resistance in *Botrytis cinerea*[J]. *Pest Manag Sci*, 2021, 77(3): 1316-1327.
- [14] MELLO F E, MATHIONI S M, FANTIN L H, et al. Sensitivity assessment and SDHC-I86F mutation frequency of *Phakopsora pachyrhizi* populations to benzovindiflupyr and fluxapyroxad fungicides from 2015 to 2019 in Brazil[J]. *Pest Manag Sci*, 2021, 77(10): 4331-4339.
- [15] LIU S M, FU L Y, TAN H H, et al. Resistance to boscalid in *Botrytis cinerea* from greenhouse-grown tomato[J]. *Plant Dis*, 2021, 105(3): 628-635.
- [16] IMRAN M, ALI E F, HASSAN S, et al. Characterization and sensitivity of *Botrytis cinerea* to benzimidazole and succinate dehydrogenase inhibitors fungicides, and illustration of the resistance profile[J]. *Australas Plant Pathol*, 2021, 50(5): 589-601.
- [17] SANG H, LEE H B. Molecular mechanisms of succinate dehydrogenase inhibitor resistance in phytopathogenic fungi[J]. *Res Plant Dis*, 2020, 26(1): 1-7.
- [18] MIYAMOTO T, HAYASHI K, OKADA R, et al. Resistance to succinate dehydrogenase inhibitors in field isolates of *Podosphaera xanthii* on cucumber: monitoring, cross-resistance patterns and molecular characterization[J]. *Pestic Biochem Physiol*, 2020, 169: 104646.
- [19] SIEROTZKI H, SCALLIET G. A review of current knowledge of resistance aspects for the next-generation succinate dehydrogenase inhibitor fungicides[J]. *Phytopathology*, 2013, 103(9): 880-887.
- [20] AVENOT H F, MICHAÏLIDES T J. Progress in understanding molecular mechanisms and evolution of resistance to succinate dehydrogenase inhibiting (SDHI) fungicides in phytopathogenic fungi[J]. *Crop Prot*, 2010, 29(7): 643-651.
- [21] 刘承先. 3, 4, 5-三氟-2'-硝基联苯的工艺合成[J]. *化工进展*, 2015, 34(4): 1122-1125.
LIU C X. Synthesis of 3,4,5-trifluoro-2'-nitro-1,1'-biphenyl[J]. *Chem Ind Eng Prog*, 2015, 34(4): 1122-1125.
- [22] 张一宾. 琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂isofetamid的开发[J]. *世界农药*, 2014, 36(3): 30-32.
ZHANG Y B. Research and development of a SDHI fungicide: isofetamid[J]. *World Pestic*, 2014, 36(3): 30-32.
- [23] HAO G F, WANG F, LI H, et al. Computational discovery of picomolar Q_o site inhibitors of cytochrome bc_1 complex[J]. *J Am Chem Soc*, 2012, 134(27): 11168-11176.
- [24] ZHU X L, XIONG L, LI H, et al. Computational and experimental insight into the molecular mechanism of carboxamide inhibitors of succinate-ubiquinone oxidoreductase[J]. *ChemMedChem*, 2014, 9(7): 1512-1521.
- [25] XIONG L, ZHU X L, GAO H W, et al. Discovery of potent succinate-ubiquinone oxidoreductase inhibitors via pharmacophore-linked fragment virtual screening approach[J]. *J Agric Food Chem*, 2016, 64(24): 4830-4837.
- [26] XIONG L, LI H, JIANG L N, et al. Structure-based discovery of potential fungicides as succinate ubiquinone oxidoreductase inhibitors[J]. *J Agric Food Chem*, 2017, 65(5): 1021-1029.
- [27] XIONG L, ZHU X L, SHEN Y Q, et al. Discovery of *N*-benzoxazol-5-yl-pyrazole-4-carboxamides as nanomolar SQR inhibitors[J]. *Eur J Med Chem*, 2015, 95: 424-434.
- [28] 熊力. 新型琥珀酸脱氢酶抑制剂的设计、合成及生物活性研究[D]. 武汉: 华中师范大学, 2016.
XIONG L. Design, synthesis and biological activities of novel SDH inhibitors[D]. Wuhan: Central China Normal University, 2016.

(责任编辑: 金淑惠)