

· 研究论文 ·

doi: 10.16801/j.issn.1008-7303.2022.0103

# 新型 2-烷氧基取代苯甲酸香叶酯类蚜虫报警信息素类似物的设计、合成及生物活性

秦耀果<sup>#,1,2</sup>, 杨朝凯<sup>#,1</sup>, 张以涵<sup>2</sup>, 周雨蓓<sup>2</sup>, 潘世香<sup>1</sup>,  
刘彦<sup>1</sup>, 石卓<sup>1</sup>, 杨新玲<sup>\*,1</sup>

(1. 中国农业大学理学院 农药创新研究中心, 北京 100193; 2. 中国农业大学植物保护学院 昆虫学系, 北京 100193)

**摘要:** 为了发现结构新颖的蚜虫行为控制剂, 以课题组发现的高活性化合物 **3e** (2-羟基-3-甲氧基苯甲酸香叶酯) 为先导, 利用活性亚结构拼接的方法, 设计合成了 15 个未见文献报道的新型 2-烷氧基取代苯甲酸香叶酯类蚜虫报警信息素 (*E*)- $\beta$ -farnesene (E $\beta$ F) 衍生物, 其结构经过核磁共振氢谱 (<sup>1</sup>H NMR)、红外光谱 (IR) 和高分辨质谱 (HRMS) 的确证。蚜虫驱避活性测定结果表明, 部分目标化合物在 5  $\mu$ g 剂量下对豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* 表现出不同程度的驱避活性, 其中化合物 **6i** 活性最高, 驱避率达到 60.9%, 与先导化合物 **3e** 的活性没有显著性差异。靶标蛋白结合实验证明, 部分目标化合物与气味结合蛋白 ApisOBP9 具有较好的结合活性, 尤其是化合物 **6i** 与 ApisOBP9 的结合常数达到 (4.92 $\pm$ 0.18)  $\mu$ mol/L。进一步的分子对接结果表明, **6i** 与靶标 ApisOBP9 具有较好的结合作用力, 能很好地结合到靶标蛋白的活性位点, 其结合模式和先导化合物相似。本研究对后续化合物的结构优化具有重要参考价值。

**关键词:** 蚜虫行为控制剂; 蚜虫报警信息素; (*E*)- $\beta$ -farnesene 衍生物; 合成; 驱避活性; 气味结合蛋白; 蛋白结合活性

中图分类号: TQ453.4 文献标志码: A

## Design, synthesis, bioactivities of novel geranyl 2-alkoxy-substitutedbenzoate as aphid alarm pheromone derivatives

QIN Yaoguo<sup>#,1,2</sup>, YANG Zhaokai<sup>#,1</sup>, ZHANG Yihan<sup>2</sup>, ZHOU Yubei<sup>2</sup>, PAN Shixiang<sup>1</sup>,  
LIU Yan<sup>1</sup>, SHI Zhuo<sup>1</sup>, YANG Xinling<sup>\*,1</sup>

(1. Innovation Center of Pesticide Research, Department of Applied Chemistry, College of Science, China Agricultural University, Beijing 100193, China; 2. Department of Entomology, College of Plant Protection, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

**Abstract:** In order to discover aphid behavioral control agents with new structures, 15 novel geranyl 2-alkoxy-substitutedbenzoate aphid alarm pheromone (*E*)- $\beta$ -Farnesene (E $\beta$ F) derivatives were designed

收稿日期: 2022-08-24; 录用日期: 2022-09-08; 网络首发日期: 2022-09-17.

Received: August 24, 2022; Accepted: September 8, 2022; Published online: September 17, 2022.

URL: <https://doi.org/10.16801/j.issn.1008-7303.2022.0103>

<http://www.nyxxb.cn/article/doi/10.16801/j.issn.1008-7303.2022.0103>

基金项目: 国家自然科学基金 (31801739); 国家重点研发计划课题 (2017YFD0200504).

**Funding:** Supported by the National Natural Science Foundation of China (31801739); the National Key Research and Development Plan (2017YFD0200504).

<sup>#</sup>并列第一作者 (Equal contribution): 秦耀果, qinyg1018@163.com; 杨朝凯, yangzhaokai@cau.edu.cn. <sup>\*</sup>通信作者 (Corresponding author): 杨新玲, yangxl@cau.edu.cn.

The authors declare that they have no competing interests.

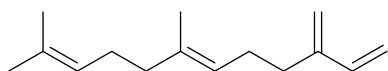


and synthesized by using the method of linking active substructures based on the lead compound **3e** (geranyl 2-hydroxy-3-methoxybenzoate). The structures of the target compounds were confirmed by  $^1\text{H}$  NMR, IR and HRMS. Preliminary bioassay results showed that some target compounds had varied repellent activity against the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* at the dosage of 5  $\mu\text{g}$ . Among them, the compound **6i** exhibited the highest repellent proportion of 60.9%, which was not significantly different from that of the lead **3e**. The target protein binding experiments showed that some target compounds had good binding activities with the odorant binding proteins of *ApisOBP9*. Particularly, compound **6i** displayed the best binding constant of  $(4.92\pm 0.18)$   $\mu\text{mol/L}$  with *ApisOBP9*. Further molecular docking study revealed that the representative compound **6i** had a good binding affinity to the *ApisOBP9*, wherein it had the similar binding mode with *ApisOBP9* like **3e**. This study provides important clues for the further structure optimization.

**Keywords:** aphid behavioral control agents; aphid alarm pheromone; (*E*)- $\beta$ -farnesene derivatives; synthesis; repellent activity; odorant binding protein; protein binding activity

蚜虫是一种广泛分布的农林害虫，具有一年多世代、繁殖迅速、种类众多以及易产生抗药性等特点，对农作物的危害十分严重<sup>[1-3]</sup>。作为刺吸式口器害虫，蚜虫主要通过直接刺吸韧皮部汁液、分泌蜜露诱发烟煤病和传播植物病毒 3 种方式为害农作物。目前蚜虫的防治主要依靠传统杀虫剂，但随着蚜虫抗药性的产生，杀虫剂的用量持续增加，不仅造成环境污染，而且部分杀虫剂对人畜、天敌、蜜蜂等非靶标生物也存在一定毒性，从而引起全世界的高度关注<sup>[4-6]</sup>，这严重限制了传统杀虫剂在蚜虫防治上的应用。因此，开发环境友好的新型蚜虫控制剂刻不容缓。以生态友好为前提，利用蚜虫自身分泌的具有行为调控功能的信息素已经成为蚜虫防治的重要策略<sup>[7]</sup>。

蚜虫在受到外界干扰时会从腹管分泌出油状液滴，这种液滴含有蚜虫报警信息素，其主要成分为 (*E*)- $\beta$ -farnesene (图式 1)，简称 E $\beta$ F<sup>[8-9]</sup>。E $\beta$ F 能对同种其他个体产生报警反应，使蚜虫逃离现场，停止侵害作物<sup>[10]</sup>。此外，E $\beta$ F 还具有调控有翅蚜比例、高剂量毒杀、杀虫剂增效作用<sup>[11-14]</sup>，以及吸引天敌等多重生物活性<sup>[15]</sup>。由于 E $\beta$ F 分子结构中存在不稳定的共轭双键，使其易挥发、易氧化，极大地限制了其在蚜虫防治中的实际应用。因此，研究人员对 E $\beta$ F 的结构进行了修饰和改造<sup>[16-26]</sup>，以期发现活性与稳定性兼备的 E $\beta$ F 类似物。



图式 1 (*E*)- $\beta$ -farnesene 的结构

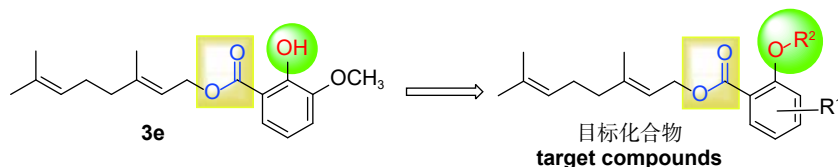
Scheme 1 The structure of (*E*)- $\beta$ -farnesene

本课题组在 E $\beta$ F 的结构改造和生物活性研究方面做了多年工作。前期通过引入吡啶环、吡啶环、噻唑环、三嗪环、水杨酸结构等基团，获得大量 E $\beta$ F 类似物，部分类似物不仅对蚜虫具有较好的驱避活性，而且稳定性比 E $\beta$ F 有很大提高<sup>[2,22-26]</sup>，尤其是引入水杨酸结构的 E $\beta$ F 类似物，还表现出强烈的与靶标气味结合蛋白 OBPs 结合的活性。例如，水杨酸酯类 E $\beta$ F 类似物 **3e** (2-羟基-3-甲氧基苯甲酸香叶酯)，不仅对桃蚜和豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* 显示出较高的驱避活性，而且有很好的稳定性，可与豌豆蚜气味结合蛋白 *ApisOBP3*、*ApisOBP7* 及 *ApisOBP9* 强烈结合，尤其是与 *ApisOBP9* 的结合最为明显<sup>[25]</sup>。有文献报道，含烷氧基的化合物具有杀虫、杀菌等生物活性<sup>[27-28]</sup>，为发现结构新颖、对蚜虫有效的新型 E $\beta$ F 类似物，本研究以 **3e** 为先导，用不同取代的烷氧基替换 **3e** 中邻位的羟基，设计合成了一系列含烷氧基的 E $\beta$ F 类似物 (图式 2 和图式 3)，并测试了目标化合物对蚜虫的驱避活性及其与靶标 *ApisOBP9* 蛋白的结合活性，最后利用分子对接技术研究了代表性化合物 **6i** 与 *ApisOBP9* 的结合模式，以其为进一步设计蚜虫行为控制剂提供理论基础。

## 1 实验部分

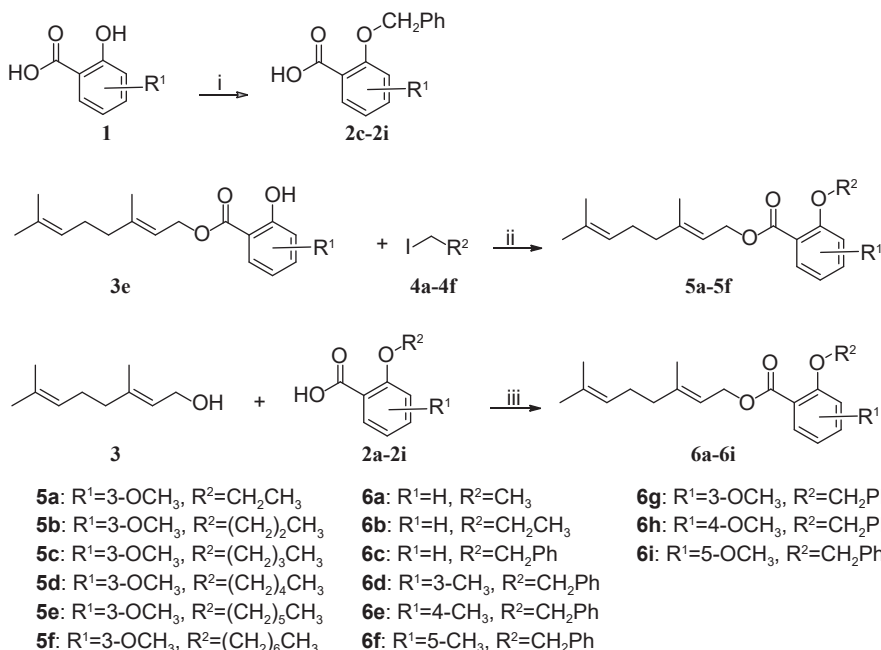
### 1.1 仪器与供试材料

Bruker DPX 300 或 Ascend 500 MHz 核磁共振仪 (以 DMSO-*d*<sub>6</sub> 或 CDCl<sub>3</sub> 为溶剂，TMS 为内标) (德国 Bruker 公司); FTICR-MS 7.0 质谱仪 (美国瓦里安公司); PerkinElmer Spectrum 100 傅立叶变



图式 2 目标化合物的设计策略

Scheme 2 Design strategy of the target compounds



(i) benzyl bromide, TABA, DCM, H<sub>2</sub>O, r.t., 5 h; NaOH, EtOH, reflux, 4 h; HCl, H<sub>2</sub>O, pH = 4.0; (ii) *t*-BuOK, THF, DMF, 0 °C for 30 mins and then r.t. for 4 h; (iii) DCC, DMAP, 0 °C for 30 mins; r.t., 8 h.

图式 3 目标化合物的合成路线

Scheme 3 Synthetic routes of the target compounds

换红外光谱仪(美国 PerkinElmer 公司); X-5 型数字显示显微熔点测试仪(北京富凯仪器有限公司); T 型行为嗅觉仪(即双向 T 型嗅觉仪,由玻璃制成,横臂长 20 cm,内径 1.5 cm,横臂中心处与一竖直管相通,竖直管起释放蚜虫及出气口作用,横臂内置滤纸片,方便蚜虫爬行。北京广达恒益科技有限公司); F-380 型荧光分光光度计(天津港东科技股份有限公司)。柱层析硅胶(200~300 目,筛孔径 75~48 μm)和薄层层析硅胶板,青岛海洋化工厂;先导化合物 **3e**(本课题组自制<sup>[25]</sup>);对照药剂 95% EβF(美国 Sigma-Aldrich 公司);中间体 2-甲氧基苯甲酸(**2a**)和 2-乙氧基苯甲酸(**2b**)(北京偶合科技有限公司);其余试剂均为市售化学纯或分析纯,除特别注明外,所用溶剂未经无水处理。豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* 由中国农业科学院植物保护研究所提供。

## 1.2 化合物的合成

### 1.2.1 2-苄氧基取代苯甲酸(**2c~2i**)的合成 中间

体 2-甲氧基苯甲酸(**2a**)和 2-乙氧基苯甲酸(**2b**)为购买所得。中间体 2-苄氧基取代苯甲酸(**2c~2i**)参考文献方法<sup>[29]</sup>合成。在 200 mL 三口瓶中,加入取代水杨酸(**1**, 100.0 mmol)、相转移催化剂四丁基溴化铵(TBAB) 3.2 g(10.0 mmol)、50 mL 二氯甲烷和 50 mL 水,冰浴下滴加溴化苄(300.0 mmol),在常温下反应 5 h。用二氯甲烷萃取,无水硫酸钠干燥,减压浓缩,硅胶柱层析分离(*V*(石油醚):*V*(乙酸乙酯)=10:1)除去多余的溴化苄。将分离后的产物投入 100 mL 三口瓶中,加入氢氧化钠 12.0 g(300.0 mmol)和 50 mL 乙醇,回流 4 h。减压脱溶,用水溶解所得白色固体,滴加 6 mol/L 的盐酸溶液至 pH = 4.0。过滤,滤饼用乙醇润洗,干燥得中间体 **2c~2i**。

1.2.2 目标化合物 **5a~5f** 的合成 参考文献方法<sup>[30]</sup>进行。0 °C 下,向 50 mL 三口瓶中加入先导化合物 **3e**(6.6 mmol)、叔丁醇钾(*t*-BuOK, 9.9 mmol)和 20 mL 无水四氢呋喃(THF),将中间体 **4**(33.0

mmol) 用 10 mL *N,N*-二甲基甲酰胺 (DMF) 溶解后滴加至上述反应液后反应 0.5 h, 随后在常温下反应 4 h。反应液用 1 mol/L 的盐酸调节 pH 至中性, 用饱和氯化钠萃取, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压脱溶, 硅胶柱层析 (*V*(石油醚):*V*(乙酸乙酯) = 80:1) 分离纯化, 得到目标化合物 **5a~5f**。

1.2.3 目标化合物 **6a~6i** 的合成 参考文献方法<sup>[25-26]</sup>进行。在 100 mL 三口瓶中, 加入香叶醇 (10.0 mmol)、2-烷氧基取代苯甲酸 (10.0 mmol)、二环己基碳二亚胺 (DCC) 2.3 g (11.0 mmol) 和 40 mL 无水 THF, 0 °C 下将 4-二甲氨基吡啶 (DMAP) 0.1 g (1.0 mmol) 用 10 mL 无水 THF 溶解后滴加至上述反应液反应 0.5 h, 然后常温下反应 8 h。用二氯甲烷萃取, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压脱溶, 硅胶柱层析 (*V*(石油醚):*V*(乙酸乙酯) = 100:1) 分离纯化, 得到目标化合物 **6a~6i**。

### 1.3 蚜虫驱避活性测试

采用 T 型行为嗅觉仪测定目标化合物对豌豆蚜 *A. pisum* 的驱避活性, 测定方法及剂量参照文献方法<sup>[22]</sup>进行。由释放口释放 20 头豌豆蚜无翅成蚜, 每臂经抽气泵通入经活性炭及蒸馏水的持续气流。嗅觉仪的两臂分别放置 5 μg 样品 (气味源) 和等体积的溶剂, 记录导入样品 15 min 时蚜虫在各臂的数目<sup>[31]</sup>。按 (1) 式计算驱避率 RP。

$$R_p/\% = [(C - T)/(C + T)] \times 100 \quad (1)$$

其中  $R_p$  为驱避率 (repellent proportion),  $C$  为对照组虫数,  $T$  为处理组虫数。

利用 SPSS 软件 (IBM 公司) 对化合物的驱避率进行单因素方差分析, 并在  $\alpha = 0.05$  的水平上使用 Tukey B 检验进行显著性差异分析。

### 1.4 ApisOBP 蛋白结合实验

参考文献方法<sup>[25-26]</sup>, 利用大肠杆菌原核表达系统表达出靶标蛋白 ApisOBP9, 并经过离子交换层析对重组蛋白纯化。蛋白竞争结合实验所用容器为 1 cm 宽的石英杯, 缝宽为 10 nm。设定激发光波长为 337 nm, 扫描的发射光波长范围为 390~500 nm。向荧光比色皿中加入 1 mL 浓度为 50 mmol/L 的 Tri-HCl 缓冲液 (pH=8.0), 使 ApisOBP9 的终浓度为 2 μmol/L, 选择 *N*-苯基-1-萘胺 (1-NPN) 为荧光探针, 陆续向比色皿中加入溶于甲醇的 1 mmol/L 荧光探针 1-NPN, 使加入的 1-NPN 浓度从 2 μmol/L 递增至 20 μmol/L, 每加入一次 1-NPN 就记录该浓度下的最大荧光强度值, 利用

Scatchard 方程计算 ApisOBP9 和 1-NPN 的结合常数。用荧光竞争的方法测试化合物与蛋白 ApisOBP9 的结合能力: 在荧光比色皿中加入 1 mL 50 mmol/L 的 Tri-HCl 缓冲液 (pH=8.0), 然后加入 ApisOBP9 和荧光探针 1-NPN, 终浓度均为 2 μmol/L, 记录最大荧光强度值。随后将溶于甲醇的 1 mmol/L 化合物逐次加入到荧光比色皿中, 使加入的化合物浓度从 2 μmol/L 递增至 20 μmol/L, 记录各梯度浓度下的最大荧光强度值。每次试验重复 3 次。根据 IC<sub>50</sub> 值 (ApisOBP/1-NPN 复合物的荧光强度值下降一半时配体的浓度), 按 (2) 式计算目标物和 ApisOBP9 的解离常数 ( $K_d$ )。

$$K_d = [IC_{50}] / (1 + [1-NPN]/K_{1-NPN}) \quad (2)$$

其中 [1-NPN] 为未结合的 1-NPN 的浓度,  $K_{1-NPN}$  为 ApisOBP/1-NPN 复合物的结合常数。

### 1.5 化合物与 ApisOBP9 的分子对接研究

由于 ApisOBP9 的氨基酸与 PDB 蛋白数据库中的蛋白晶体模板序列同源性都低于 30%, 为了获得更好的模型, 使用一种快速准确的蛋白质结构预测算法 (名称为 trRosetta, <https://yanglab.nankai.edu.cn/trRosetta>)<sup>[32]</sup> 对 ApisOBP 9 的结构进行建模, 最终的 3D 模型在在线结构分析和验证服务器上使用多种方法进行评估 (<http://services.mbi.ucla.edu/SAVES/>)。采用 Sybyl 7.3 软件包中的 Surflex Dock 算法进行配体和 ApisOBP9 之间的分子对接研究, 使用 AMBER MMFF94 力场和电荷对化合物进行构建和优化, 选择代表性化合物的低能构象作为初始对接构象。配体分子保留 30 个对接构象, 保留得分最低的构象以进一步探究配体与蛋白质的相互作用。

## 2 结果与分析

### 2.1 化合物合成

中间体 2-烷氧基取代苯甲酸 (**2c~2i**) 由取代-水杨酸与溴化苄发生亲核取代反应的产物经皂化反应得到。目标化合物 **5a~5f** 由先导化合物 **3e** 与碘代烷发生烷基化反应制得, **3e** 的合成参考文献方法<sup>[25]</sup>, 由香叶醇与 3-甲氧基水杨酸经亲核取代反应得到。目标化合物 **6a~6i** 则以香叶醇 (**3**) 为起始原料, 与相应的 2-烷氧基苯甲酸 (**2a~2i**) 发生亲核取代反应制得。目标化合物的结构表征数据如下。

2-乙基-3-甲氧基苯甲酸香叶酯 (**5a**): 无色液体, 产率 73.3%.  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ),  $\delta$ : 7.22 (dd,  $J = 7.4$ , 2.4 Hz, 1H, ArH), 7.16~7.10 (m, 2H, ArH), 5.41 (td,  $J = 7.1$ , 1.0 Hz, 1H, C=CH), 5.13~4.96 (m, 1H, C=CH), 4.75 (d,  $J = 7.1$  Hz, 2H, O=COCH<sub>2</sub>), 3.98 (q,  $J = 7.0$  Hz, 2H, ArOCH<sub>2</sub>), 3.81 (d,  $J = 7.4$  Hz, 3H, ArOCH<sub>3</sub>), 2.13~1.99 (m, 4H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.72 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.62 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.56 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.26 (t,  $J = 7.0$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>). IR (KBr),  $\nu/\text{cm}^{-1}$ : 2974, 2931, 1726, 1581, 1475, 1383, 1309, 1261, 1147, 1057. HRMS(ESI):  $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_4$  [M + Na]<sup>+</sup>, 测量值 355.1886, 计算值 355.1880.

2-丙基-3-甲氧基苯甲酸香叶酯 (**5b**): 无色液体, 产率 68.5%.  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ),  $\delta$ : 7.21 (dd,  $J = 7.5$ , 2.1 Hz, 1H, ArH), 7.16~7.09 (m, 2H, ArH), 5.40 (t,  $J = 6.9$  Hz, 1H, C=CH), 5.07 (t,  $J = 6.6$  Hz, 1H, C=CH), 4.75 (d,  $J = 7.1$  Hz, 2H, O=COCH<sub>2</sub>), 3.88 (t,  $J = 6.7$  Hz, 2H, ArOCH<sub>2</sub>), 3.81 (s, 3H, ArOCH<sub>3</sub>), 2.05 (dt,  $J = 21.0$ , 6.7 Hz, 4H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.71 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.68 (dd,  $J = 14.2$ , 7.1 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.62 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.56 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 0.94 (t,  $J = 7.4$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>). IR (KBr),  $\nu/\text{cm}^{-1}$ : 2964, 2933, 2881, 1726, 1670, 1581, 1473, 1382, 1309, 1261, 1147, 1058. HRMS(ESI):  $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_4$  [M + Na]<sup>+</sup>, 测量值 369.2032, 计算值 369.2036.

2-正丁基-3-甲氧基苯甲酸香叶酯 (**5c**): 无色液体, 产率 60.4%.  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ),  $\delta$ : 7.21 (dd,  $J = 7.6$ , 2.2 Hz, 1H, ArH), 7.16~7.08 (m, 2H, ArH), 5.40 (td,  $J = 7.1$ , 1.0 Hz, 1H, C=CH), 5.14~5.00 (m, 1H, C=CH), 4.74 (d,  $J = 7.1$  Hz, 2H, O=COCH<sub>2</sub>), 3.92 (t,  $J = 6.6$  Hz, 2H, ArOCH<sub>2</sub>), 3.80 (d,  $J = 4.1$  Hz, 3H, ArOCH<sub>3</sub>), 2.05 (tt,  $J = 13.7$ , 7.0 Hz, 4H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.71 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.67~1.60 (m, 5H, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>), 1.55 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.45~1.36 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 0.91 (t,  $J = 7.4$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>). IR (KBr),  $\nu/\text{cm}^{-1}$ : 2959, 2933, 1726, 1581, 1477, 1381, 1310, 1262, 1147, 1058. HRMS(ESI):  $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{O}_4$  [M + Na]<sup>+</sup>, 测量值 383.2184, 计算值 383.2193.

2-正戊基-3-甲氧基苯甲酸香叶酯 (**5d**): 无色液体, 产率 57.7%.  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ),  $\delta$ : 7.21 (dd,  $J = 7.5$ , 2.0 Hz, 1H, ArH), 7.15~7.08 (m, 2H, ArH), 5.40 (t,  $J = 7.0$  Hz, 1H, C=CH), 5.07 (t,  $J = 6.6$  Hz, 1H, C=CH), 4.74 (d,  $J = 7.1$  Hz, 2H, O=COCH<sub>2</sub>), 3.91 (t,  $J = 6.6$  Hz, 2H, ArOCH<sub>2</sub>), 3.81 (s, 3H, ArOCH<sub>3</sub>), 2.12~1.98 (m, 4H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.71 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.69~1.64 (m, 2H, CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>), 1.62 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.55 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.41~1.26 (m, 4H, CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>), 0.88 (t,  $J = 7.0$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>). IR (KBr),  $\nu/\text{cm}^{-1}$ : 2933, 1727, 1581, 1474, 1381, 1310, 1262, 1232, 1147, 1057. HRMS(ESI):  $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{O}_4$  [M + H]<sup>+</sup>, 测量值 375.2525, 计算值 375.2530.

2-正己基-3-甲氧基苯甲酸香叶酯 (**5e**): 浅黄色液体, 产率 53.2%.  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ),  $\delta$ : 7.30 (dd,  $J = 7.4$ , 1.8 Hz, 1H, ArH), 7.08~6.99 (m, 2H, ArH, ArH), 5.46 (t,  $J = 6.9$  Hz, 1H, C=CH), 5.09 (t,  $J = 6.6$  Hz, 1H, C=CH), 4.82 (d,

$J = 7.1$  Hz, 2H, O=COCH<sub>2</sub>), 4.00 (t,  $J = 6.9$  Hz, 2H, ArOCH<sub>2</sub>), 3.85 (s, 3H, ArOCH<sub>3</sub>), 2.16~2.03 (m, 4H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.79 (dd,  $J = 14.6$ , 7.3 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.75 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.68 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.60 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.49~1.39 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.33 (dd,  $J = 8.7$ , 5.4 Hz, 4H, CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>), 0.90 (t,  $J = 6.7$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>). IR (KBr),  $\nu/\text{cm}^{-1}$ : 2930, 2858, 1727, 1581, 1474, 1381, 1310, 1261, 1147, 1058. HRMS(ESI):  $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{O}_4$  [M + Na]<sup>+</sup>, 测量值 411.2501, 计算值 411.2506.

2-正庚基-3-甲氧基苯甲酸香叶酯 (**5f**): 浅黄色液体, 产率 42.4%.  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ),  $\delta$ : 7.21 (dd,  $J = 6.9$ , 2.9 Hz, 1H, ArH), 7.16~7.08 (m, 2H, ArH), 5.39 (dd,  $J = 7.1$ , 6.1 Hz, 1H, C=CH), 5.07 (dd,  $J = 9.5$ , 3.9 Hz, 1H, C=CH), 4.74 (d,  $J = 7.1$  Hz, 2H, O=COCH<sub>2</sub>), 3.90 (t,  $J = 6.6$  Hz, 2H, ArOCH<sub>2</sub>), 3.81 (s, 3H, ArOCH<sub>3</sub>), 2.12~2.00 (m, 4H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.71 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.68~1.61 (m, 5H, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>), 1.56 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.39~1.24 (m, 8H, CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>), 0.86 (t,  $J = 6.9$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>). IR (KBr),  $\nu/\text{cm}^{-1}$ : 2927, 2856, 1727, 1581, 1474, 1381, 1310, 1261, 1146, 1058. HRMS(ESI):  $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{O}_4$  [M + H]<sup>+</sup>, 测量值 403.2843, 计算值 403.2843.

2-甲氧基苯甲酸香叶酯 (**6a**): 浅黄色液体, 产率 67.0%.  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 7.77~7.80 (m, 1H, ArH), 7.42~7.48 (m, 1H, ArH), 6.94~6.99 (m, 2H, ArH), 5.44~5.49 (m, 1H, =CH), 5.08~5.12 (m, 1H, =CH), 4.82 (d, 2H,  $J = 7.06$  Hz, CH<sub>2</sub>), 3.90 (s, 3H, ArOCH<sub>3</sub>), 2.05~2.13 (m, 4H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.76 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.68 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.60 (s, 3H, CH<sub>3</sub>). IR (KBr),  $\nu/\text{cm}^{-1}$ : 2966, 2923, 2855, 1377, 1601, 1583, 1491, 1463, 1727, 1250. HRMS(ESI):  $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{O}_3$  [M + H]<sup>+</sup>, 测量值 289.17986, 计算值 289.17982.

2-乙氧基苯甲酸香叶酯 (**6b**): 浅黄色液体, 产率 78.0%.  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 7.75~7.78 (m, 1H, ArH), 7.39~7.44 (m, 1H, ArH), 6.93~6.97 (m, 2H, ArH), 5.45~5.50 (m, 1H, =CH), 5.08~5.10 (m, 1H, =CH), 4.82 (d, 2H,  $J = 7.02$  Hz, CH<sub>2</sub>), 4.11 (q, 2H, ArOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.03~2.17 (m, 4H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.76 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.68 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.60 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.45 (t, 3H,  $J = 6.18$  Hz, ArOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). IR (KBr),  $\nu/\text{cm}^{-1}$ : 2980, 2926, 1384, 1601, 1582, 1492, 1453, 1728, 1248. HRMS(ESI):  $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{O}_3\text{Na}$  [M + Na]<sup>+</sup>, 测量值 325.17740, 计算值 325.17742.

2-苄基苯甲酸香叶酯 (**6c**): 黄色液体, 产率 61.5%.  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 7.80~7.83 (m, 1H, ArH), 7.48~7.51 (m, 2H, ArH), 7.30~7.42 (m, 4H, ArH), 7.00 (t, 1H,  $J = 7.44$  Hz, ArH), 5.42~5.47 (m, 1H, =CH), 5.17 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.07~5.11 (m, 1H, =CH), 4.83 (d, 2H,  $J = 7.10$  Hz, CH<sub>2</sub>), 2.02~2.11 (m, 4H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.73 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.70 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.59 (s, 3H, CH<sub>3</sub>). IR (KBr),  $\nu/\text{cm}^{-1}$ : 2966, 2915, 1378, 1600, 1583, 1490, 1449, 3032, 1724, 1248. HRMS(ESI):  $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{O}_3$  [M - H]<sup>-</sup>, 测量值 363.19586, 计算值 363.19547.

2-苄基-3-甲基苯甲酸香叶酯 (**6d**): 黄色液体, 产率 41.7%。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ : 7.66~7.69 (m, 1H, ArH), 7.47~7.50 (m, 2H, ArH), 7.33~7.41 (m, 4H, ArH), 7.07 (t, 1H,  $J = 15.31$  Hz, ArH), 5.39~5.44 (m, 1H, =CH), 5.07~5.09 (m, 1H, =CH), 4.96 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.81 (d, 2H,  $J = 7.12$  Hz, CH<sub>2</sub>), 2.31 (s, 3H, ArCH<sub>3</sub>), 2.02~2.09 (m, 4H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.70 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.64 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.59 (s, 3H, CH<sub>3</sub>). IR (KBr),  $\nu/\text{cm}^{-1}$ : 2966, 2923, 1376, 1593, 1497, 1454, 3030, 1724, 1286. HRMS(ESI): C<sub>25</sub>H<sub>31</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>, 测量值 379.22632, 计算值 379.22677。

2-苄基-4-甲基苯甲酸香叶酯 (**6e**): 黄色液体, 产率 70.1%。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ : 7.75 (d, 1H,  $J = 7.77$  Hz, ArH), 7.24~7.52 (m, 5H, ArH), 6.78~6.82 (m, 2H, ArH), 5.41~5.47 (m, 1H, =CH), 5.15 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.07~5.11 (m, 1H, =CH), 4.82 (d, 2H,  $J = 7.02$  Hz, CH<sub>2</sub>), 2.35 (s, 3H, ArCH<sub>3</sub>), 2.02~2.11 (m, 4H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.73 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.67 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.59 (s, 3H, CH<sub>3</sub>). IR (KBr),  $\nu/\text{cm}^{-1}$ : 2966, 2924, 2856, 1384, 1623, 1579, 1504, 1452, 1672, 1250. HRMS(ESI): C<sub>25</sub>H<sub>31</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>, 测量值 379.22641, 计算值 379.22677。

2-苄基-5-甲基苯甲酸香叶酯 (**6f**): 黄色液体, 产率 44.4%。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ : 7.62 (d, 1H,  $J = 2.19$  Hz, ArH), 7.46~7.49 (m, 2H, ArH), 7.17~7.38 (m, 4H, ArH), 6.88 (d, 1H,  $J = 8.46$  Hz, ArH), 5.43~5.48 (m, 1H, =CH), 5.11 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.08~5.09 (m, 1H, =CH), 4.83 (d, 2H,  $J = 7.05$  Hz, CH<sub>2</sub>), 2.28 (s, 3H, ArCH<sub>3</sub>), 2.05~2.13 (m, 4H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.73 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.69 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.59 (s, 3H, CH<sub>3</sub>). IR (KBr),  $\nu/\text{cm}^{-1}$ : 2924, 1381, 1614, 1583, 1502, 1454, 1724, 1249. HRMS(ESI): C<sub>25</sub>H<sub>31</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>, 测量值 379.22681, 计算值 379.22677。

2-苄基-3-甲氧基苯甲酸香叶酯 (**6g**): 黄色液体, 产率 68.4%。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ : 7.52 (d, 2H,  $J = 7.03$  Hz, ArH), 7.27~7.38 (m, 4H, ArH), 7.02~7.11 (m, 2H, ArH),

5.37~5.42 (m, 1H, =CH), 5.08 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.04~5.05 (m, 1H, =CH), 4.78 (d, 2H,  $J = 7.05$  Hz, CH<sub>2</sub>), 3.85 (s, 3H, ArOCH<sub>3</sub>), 2.00~2.09 (m, 4H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.74 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.66 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.58 (s, 3H, CH<sub>3</sub>). IR (KBr),  $\nu/\text{cm}^{-1}$ : 2967, 2929, 1376, 1581, 1497, 1475, 1725, 1264. HRMS(ESI): C<sub>25</sub>H<sub>31</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup>, 测量值 395.22128, 计算值 395.22169。

2-苄基-4-甲氧基苯甲酸香叶酯 (**6h**): 黄色液体, 产率 40.8%。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ : 7.88 (d, 1H,  $J = 8.46$  Hz, ArH), 7.51 (d, 2H,  $J = 7.40$  Hz, CH<sub>2</sub>), 7.25~7.39 (m, 3H, ArH), 6.48~6.51 (m, 2H, ArH), 5.39~5.44 (m, 1H, =CH), 5.14 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.07~5.09 (m, 1H, =CH), 4.81 (d, 2H,  $J = 6.98$  Hz, CH<sub>2</sub>), 3.79 (s, 3H, ArOCH<sub>3</sub>), 2.02~2.11 (m, 4H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.70 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.67 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.59 (s, 3H, CH<sub>3</sub>). IR (KBr),  $\nu/\text{cm}^{-1}$ : 2925, 2855, 1381, 1608, 1577, 1504, 1442, 1719, 1249. HRMS(ESI): C<sub>25</sub>H<sub>29</sub>O<sub>4</sub> [M-H]<sup>-</sup>, 测量值 393.20639, 计算值 393.20604。

2-苄基-5-甲氧基苯甲酸香叶酯 (**6i**): 黄色液体, 产率 76.6%。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ : 7.47 (d, 2H,  $J = 7.08$  Hz, ArH), 7.24~7.38 (m, 4H, ArH), 6.91~6.99 (m, 2H, ArH), 5.42~5.47 (m, 1H, =CH), 5.09 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.06~5.07 (m, 1H, =CH), 4.83 (d, 2H,  $J = 7.05$  Hz, CH<sub>2</sub>), 3.77 (s, 3H, ArOCH<sub>3</sub>), 2.02~2.11 (m, 4H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.73 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.67 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.59 (s, 3H, CH<sub>3</sub>). IR (KBr),  $\nu/\text{cm}^{-1}$ : 2967, 2928, 1380, 1584, 1500, 1454, 1726, 1284. HRMS(ESI): C<sub>25</sub>H<sub>31</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup>, 测量值 395.22025, 计算值 395.22169。

## 2.2 驱避活性

以豌豆蚜为对象, 首先测试了无翅成蚜对溶剂正己烷的行为反应, 结果显示蚜虫不偏向行为嗅觉仪的任何一端 ( $\chi^2 = 0.12$ ,  $df = 1$ ,  $P = 0.729$ ); 然后测试了目标化合物的驱避活性。结果(表 1)表明: 在 5  $\mu\text{g}$  剂量下, 所有目标化合物对豌豆蚜均有驱避活性, 部分活性较明显, 例如化合物 **6c**、

表 1 目标化合物的豌豆蚜驱避活性

Table 1 The aphid repellent activity against *A. pisum*

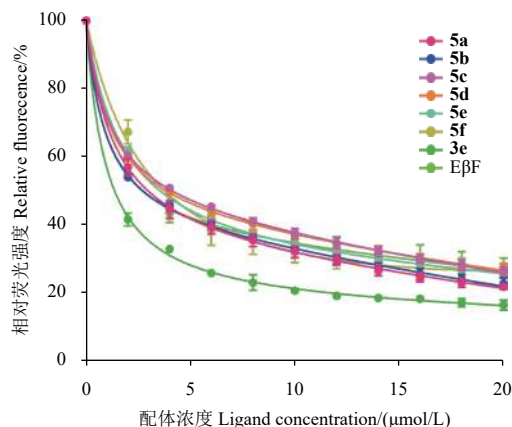
化合物 Compd.	取代基 R <sup>1</sup>	取代基 R <sup>2</sup>	驱避率* Repellent proportion %	化合物 Compd.	取代基 R <sup>1</sup>	取代基 R <sup>2</sup>	驱避率* Repellent proportion %
<b>5a</b>	3-OCH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	42.5 $\pm$ 9.3 de	<b>6d</b>	3-CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> Ph	42.9 $\pm$ 6.4 de
<b>5b</b>	3-OCH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	33.9 $\pm$ 4.7 e	<b>6e</b>	4-CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> Ph	57.4 $\pm$ 5.6 bc
<b>5c</b>	3-OCH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	20.1 $\pm$ 5.9 f	<b>6f</b>	5-CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> Ph	51.8 $\pm$ 6.6 cd
<b>5d</b>	3-OCH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> CH <sub>3</sub>	18.5 $\pm$ 3.0 f	<b>6g</b>	3-OCH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> Ph	38.2 $\pm$ 4.2 de
<b>5e</b>	3-OCH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> CH <sub>3</sub>	18.9 $\pm$ 3.7 f	<b>6h</b>	4-OCH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> Ph	51.3 $\pm$ 5.4 cd
<b>5f</b>	3-OCH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> CH <sub>3</sub>	21.2 $\pm$ 9.6 f	<b>6i</b>	5-OCH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> Ph	60.9 $\pm$ 3.5 bc
<b>6a</b>	H	CH <sub>3</sub>	36.5 $\pm$ 6.1 e	<b>3e</b>	3-OCH <sub>3</sub>	OH	66.5 $\pm$ 3.8 ab
<b>6b</b>	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	48.0 $\pm$ 1.8 cde	E $\beta$ F	—	—	75.7 $\pm$ 1.2 a
<b>6c</b>	H	CH <sub>2</sub> Ph	59.3 $\pm$ 1.2 bc	—	—	—	—

注: \*驱避率数值为平均值 $\pm$ 标准偏差。不同字母表示在  $\alpha = 0.05$  的水平上各处理间的差异显著。

Note: \*Repellent proportion values are mean  $\pm$  standard deviation. Different letters indicate significant differences at the level of  $\alpha = 0.05$ .

**6e**、**6f**、**6h** 和 **6i** 的驱避率达到 50% 以上; 化合物 **5c**~**5f** 的活性较低, 驱避率仅为 20% 左右。当苯环上的酚羟基被烷氧基或苄氧基取代后, 化合物的驱避活性都不及先导化合物 **3e** 和对照药剂  $E\beta F$ , 其中 **6i** 的活性最高, 驱避率达到 60.9%, 与先导 **3e** 的活性没有显著性差异。因此, 在水杨酸 2 位引入含醚基团对  $E\beta F$  类似物的驱避活性不利。以 **6i** 为先导化合物, 在水杨酸的 2 位仍保持羟基结构或引入酯基<sup>[25-26]</sup> 等与靶标位点有较好结合的基团, 设计合成其他结构的类似物, 有进一步研究的价值。

初步构效关系分析表明,  $R^1$  与  $R^2$  取代基均对化合物驱避活性有影响。当  $R^1$  为 3-甲氧基时, 不论  $R^2$  为苄基或烷基, 化合物的驱避活性均不明显, 尤其是  $R^2$  为  $C_4$ ~ $C_7$  直链烷基时的驱避活性仅为 20% 左右 (**5c**~**5f**); 当  $R^1$  为氢时,  $R^2$  为苄基比烷基对活性有利 (**6c** > **6a** 和 **6b**), 且  $R^2$  为乙基比甲基对活性有利 (**6b** > **6a**)。当  $R^2$  为甲基或乙基时, 不论  $R^1$  为氢或 3-甲氧基, 化合物的驱避活性均不理想。由此可见,  $R^2$  为苄基较烷基对驱避活性更有利。当  $R^2$  为苄基时,  $R^1$  基团为 4 位取代或 5 位取代对活性更有利, 如 **6e** 和 **6f** > **6d**, **6h** 和 **6i** > **6g**。



## 2.3 蛋白结合活性

蚜虫 OBP9 几乎只在触角中表达, 在不同蚜虫种类之间具有良好的保守性<sup>[3]</sup>, 在豌豆蚜、桃蚜、麦长管蚜中均有报道<sup>[25, 33-35]</sup>, 是识别气味小分子的关键靶标蛋白。本课题组前期研究发现, ApisOBP9 可与  $E\beta F$  及其大多数类似物强烈结合, 其结合能力甚至高于已报道的潜在靶标 ApisOBP3 和 ApisOBP7<sup>[25-26]</sup>。D'Onofrio 等研究发现, 豌豆蚜 ApisOBP9 还与长链的、尤其是与 16 个碳原子的醇类和醛类挥发物有好的结合<sup>[33]</sup>。麦长管蚜的 SaveOBP9 与大多数小麦挥发物具有广谱且较高的结合能力<sup>[34]</sup>。桃蚜的 MperOBP9 则与  $E\beta F$  及部分植物挥发物具有较高的结合活性<sup>[35]</sup>。

参考文献方法<sup>[25]</sup>, 表达纯化出模式蚜虫豌豆蚜的气味结合蛋白 ApisOBP9, 并研究其与目标化合物的结合特性。结果 (图 1, 图 2) 表明: 与驱避活性所得结果相似, 苯环上的酚羟基被烷氧基或苄氧基取代后的目标物仍与 ApisOBP9 表现出结合活性。部分化合物的蛋白结合活性较好, 例如化合物 **6b**、**6c**、**6e** 和 **6i**, 其中 **6i** 的蛋白结合活性最高, 但不及先导 **3e**; 而  $R^2$  为脂肪链的化合物 **5a**~**5f** 与 ApisOBP9 的结合活性较低。

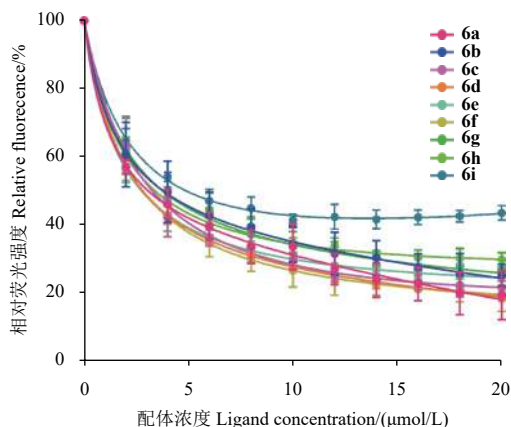


图 1 目标化合物与 ApisOBP9 的荧光竞争结合曲线

Fig. 1 Fluorescence competitive binding curves of the target compounds to ApisOBP9

初步构效关系分析表明, 取代基  $R^1$  与  $R^2$  的种类均对蛋白结合活性有影响。总体上,  $R^2$  为苄基比烷基对活性有利, 尤其是当  $R^2$  为  $C_2$ ~ $C_7$  直链烷基时, 化合物 (**5a**~**5f**) 的蛋白结合活性较低, 结合常数 (解离常数的倒数:  $1/K_d$ ) 仅为  $0.62 \mu\text{mol/L}$  及以下。当  $R^2$  为苄基时,  $R^1$  基团为 4 位取代或 5 位取代对活性更有利, 如 **6e** 和 **6f** > **6d**, **6h** 和 **6i** > **6g**。对比分析目标化合物的蚜虫驱避活性和

蛋白结合活性, 发现二者表现出一致性的趋势。例如, 目标化合物 **6i** 具有最高的蛋白结合活性, 也具有最好的驱避活性, 而  $R^2$  为直链烷基的化合物 (**5a**~**5f**) 则表现出较弱的蛋白结合活性, 它们的驱避活性也相对较低。

## 2.4 分子对接结果分析

选择代表性化合物 **6i**, 研究其与蛋白 ApisOBP9 的结合模式。分子对接结果显示, **6i** 与 **3e** 在蛋白

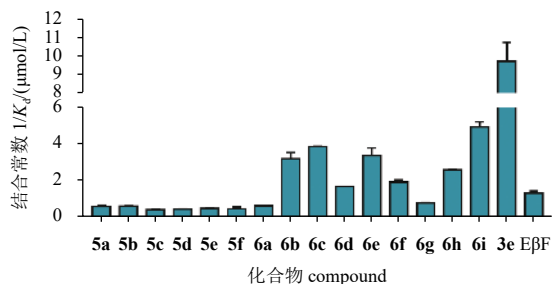


图2 目标化合物与 ApisOBP9 的结合活性

Fig. 2 Binding activity of the target compounds with ApisOBP9 from *A. pisum*

结合口袋中的方向一致，但也有所不同：**3e** 的芳香环区域靠近 Leu130 一侧，EβF 链靠近 Pro69 一侧<sup>[26]</sup>，而 **6i** 的双芳香环区域靠近 Arg126 一侧，EβF 链靠近 Cys97 一侧 (图 3)；此外，**6i** 的 EβF 链与氨基酸残基 Pro69、Pro71、Phe74、Tyr94、Cys97、Phe112、Ala116 和 Val127 形成疏水相互作用，而 **3e** 的 EβF 链则主要与 Met53、Met62、Pro69、Pro71、Phe74、Val93、Lys96、Ala113 和 Ala116 等氨基酸残基形成重要的疏水作用。这表明 **6i** 在与 ApisOBP9 的结合作用上，可能与 **3e** 分子有类似的作用机理。但对比 **3e** 与 **6i** 的结合构象图发现，**3e** 分子是舒展的线形分子，**6i** 分子则因为在 2 位引入了新的大位阻基团苄基，导致配体分子扭曲折叠起来。因此推测 **6i** 在 2-OH 位点引入苄基后，导致分子的空间位阻过大，与 ApisOBP9 的结合口袋不匹配，这可能是导致该化合物与 ApisOBP9 结合活性降低的原因。此外，新引入化合物 **6i** 的苄基基团可以与 Phe117 形成“T-π”相互作用，同时又与 Arg126 形成了“Cation-π”相互作用，增强了其与蛋白的结合活性。因此引入的苄基芳香环可能发挥了重要的极性相互作用。这也

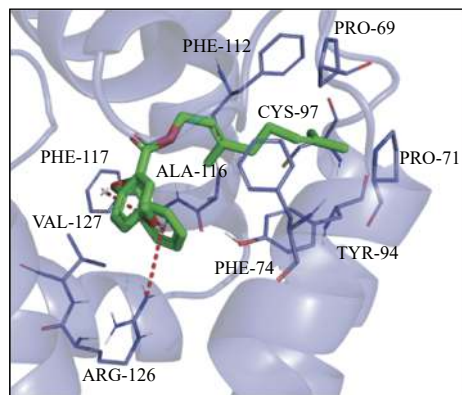


图3 目标化合物 **6i** 与豌豆蚜气味结合蛋白 ApisOBP9 的结合模式

Fig. 3 Binding mode of the compound **6i** with ApisOBP9

可能是含苄基类化合物结合活性高于脂肪链化合物的原因之一 (**6i** > **5a-5f**)。

### 3 结论

本研究以前期发现的水杨酸酯类 EβF 类似物 **3e** 为先导，以蚜虫气味结合蛋白为靶标，通过活性亚结构拼接设计并合成了一系列新型 2-烷氧基取代苯甲酸香叶酯类 EβF 类似物，其结构均经过 <sup>1</sup>H NMR、IR 和 HRMS 确证。活性测定结果表明，目标化合物对豌豆蚜无翅成蚜都有驱避活性，但均不及先导化合物 **3e**，其中 **6i** 的驱避活性最高，在 5 μg 剂量下达到 60.9%，与先导 **3e** 的活性没有显著性差异。靶标蛋白结合实验证明，部分目标化合物与气味结合蛋白 ApisOBP9 具有较好的结合活性，尤其是化合物 **6i** 与 ApisOBP9 的结合活性最优。进一步分子对接结果表明，**6i** 与 ApisOBP9 具有较好的疏水作用力，可以很好地结合到靶标气味结合蛋白的活性位点，其结合模式和先导相似。本研究结果表明，在先导化合物 **3e** 的水杨酸 2 位羟基结构上引入直链烷氧基或苄氧基后，化合物的蚜虫驱避活性和靶标蛋白结合活性均有不同程度的降低。因此，在水杨酸 2 位引入含醚基团对 EβF 类似物的驱避活性不利，建议水杨酸 2 位仍保持羟基结构或引入酯基等与靶标位点结合较好的基团。该研究结果为后续化合物的进一步设计和结构优化提供了重要参考价值。

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:



秦耀果，女，讲师。2011年6月在贵州大学植物保护专业获农学学士学位。2011.9—2017.6在中国农业大学农药学专业硕博连读，并获博士学位，期间（2014.10—2015.09）由国家留学基金委资助在英国 Rothamsted Research 进行博士联合培养，毕业后在中国农业科学院植物保护研究所从事博士后研究工作。2020年入职中国农业大学，研究方向为蚜虫及其天敌感知气味分子的作用机制。主持国家自然科学基金青年基金1项，主持博士后基金面上基金1项。



杨朝凯, 男, 博士研究生。2016年6月在山西农业大学植物保护专业获农学学士学位。2016年9月至今在中国农业大学理学院农药学专业硕博连读, 期间(2019年5月至8月)在学校研究生国际化培养提升项目资助下赴美国加州大学戴维斯分校进行合作研究, 主要从事基于植物挥发性物质的新型蚜虫行为控制剂的设计、合成和生物活性研究。



杨新玲, 教授, 博士生导师, 绿色农药分子设计与发现团队负责人。1995年于北京农业大学农药学专业获得理学博士学位。1995年至今在中国农业大学从事教学科研工作, 研究领域为新农药分子设计与合成、化学生物学, 主要研究方向包括靶标导向的新型昆虫生长调节剂的创制、以昆虫源或植物源活性物质为模型的新型害虫行为控制剂研究等, 先后主持或参加国家自然科学基金、国家科技支撑计划、973计划、农业部公益行业项目、国家重点研发计划等课题10余项。曾获IUPAC农药化学‘农药科学特殊贡献奖’, 现任北京农药学会副理事长兼秘书长, 中国农药工业协会知识产权专业委员会副主任委员, 中国化工学会农药专业委员会委员, 中国化学会农业化学专业委员会委员, 中国生化制药工业协会多肽分会专家委员会委员等。担任 *Pest Management Science* 等期刊编委, 现任《农药学报》常务编委。

## 参考文献 (References):

- [1] 曹良俊, 祝勇武. 蚜虫的危害及防治[J]. 浙江林业, 2009(6): 33.  
CAO L J, ZHU Y W. Harm and control of aphids[J]. Zhejiang For, 2009(6): 33.
- [2] 秦耀果, 杨朝凯, 凌云, 等. 蚜虫报警信息素(*E*- $\beta$ -farnesene)及其类似物的生物活性和作用机制研究进展[J]. 农药学报, 2019, 21(Z1): 643-659.  
QIN Y G, YANG Z K, LING Y, et al. Research progress on bioactivities and mechanism of aphid alarm pheromone(*E*- $\beta$ -farnesene and its analogues[J]. Chin J Pestic Sci, 2019, 21(Z1): 643-659.
- [3] 覃韧, 陈丹, 赵如娜, 等. 烟蚜茧蜂和菜蚜茧蜂寄生烟蚜时的种间竞争[J]. 山地农业生物学报, 2021, 40(5): 23-27.  
QIN R, CHEN D, ZHAO R N, et al. Interspecific competition of *Aphidius gifuensis* Ashmead and *Dicaeretiella rapae* (M'Intosh) on *Myzus persicae* (Sulzer)[J]. J Mt Agric Biol, 2021, 40(5): 23-27.
- [4] MITCHELL E A D, MULHAUSER B, MULOT M, et al. A worldwide survey of neonicotinoids in honey[J]. Science, 2017, 358(6359): 109-111.
- [5] WANG K, ZHANG M, HUANG Y N, et al. Characterisation of imidacloprid resistance in the bird cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi*, a serious pest on wheat crops[J]. Pest Manag Sci, 2018, 74(6): 1457-1465.
- [6] DENG X L, ZHAO P Y, ZHOU X M, et al. Excellent sustained-release efficacy of herbicide quinclorac with cationic covalent organic frameworks[J]. Chem Eng J, 2021, 405: 126979.
- [7] DEWHIRST S Y, PICKETT J A, HARDIE J. Aphid pheromones[J]. Vitam Horm, 2010, 83: 551-574.
- [8] BOWERS W S, NAULT L R, WEBB R E, et al. Aphid alarm pheromone: isolation, identification, synthesis[J]. Science, 1972, 177(4054): 1121-1122.
- [9] EDWARDS L J, SIDDALL J B, DUNHAM L L, et al. Trans- $\beta$ -farnesene, alarm pheromone of the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer)[J]. Nature, 1973, 241(5385): 126-127.
- [10] KISLOW C J, EDWARDS L J. Repellent odour in aphids[J]. Nature, 1972, 235(5333): 108-109.
- [11] KUNERT G, OTTO S, RÖSE U S R, et al. Alarm pheromone mediates production of winged dispersal morphs in aphids[J]. Ecol Lett, 2005, 8(6): 596-603.
- [12] VAN O A M, GUT J, HARREWIJN P, et al. Role of farnesene isomers and other terpenoids in the development of different morphs and forms of the aphids *Aphis fabae* and *Myzus persicae*[J]. Acta Phytopathol Entomol Hung, 1990, 25(1-4): 331-342.
- [13] CUI L L, DONG J, FRANCIS F, et al. *E*- $\beta$ -farnesene synergizes the influence of an insecticide to improve control of cabbage aphids in China[J]. Crop Prot, 2012, 35: 91-96.
- [14] 谷彦冰, 张永军, 谢微, 等. 蚜虫报警信息素对不同药剂防治桃蚜增效作用研究[J]. 农业与技术, 2018, 38(23): 28-31.  
GU Y B, ZHANG Y J, XIE W, et al. Study on synergistic effect of aphid warning pheromone on controlling *Myzus persicae* with different chemicals[J]. Agric Technol, 2018, 38(23): 28-31.
- [15] BEALE M H, BIRKETT M A, BRUCE T J A, et al. Aphid alarm pheromone produced by transgenic plants affects aphid and parasitoid behavior[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(27): 10509-10513.
- [16] DAWSON G W, GRIFFITHS D C, PICKETT J A, et al. Structure/activity studies on aphid alarm pheromone derivatives and their field use against transmission of barley yellow dwarf virus[J]. Pestic Sci, 1988, 22(1): 17-30.
- [17] NISHINO C, BOWERS W S, MOINTGOMERY M E, et al. Aphid alarm pheromone mimics: the nor-farnesenes[J]. Appl Entomol Zool, 1976, 11(4): 340-343.
- [18] 杨新玲, 黄文耀, 凌云, 等. [反]- $\beta$ -法尼烯类似物的设计、合成与生物活性研究[J]. 高等学校化学学报, 2004, 25(9): 1657-1661.  
YANG X L, HUANG W Y, LING Y, et al. Design, synthesis and biological activity of EBF analogues[J]. Chem J Chin Univ, 2004, 25(9): 1657-1661.
- [19] 康铁牛, 凌云, 芮昌辉, 等. 新型含氮五元杂环*E*- $\beta$ -法尼烯类似物的合成及生物活性研究[J]. 有机化学, 2008, 28(4): 617-621.  
KANG T N, LING Y, RUI C H, et al. Synthesis of *E*- $\beta$ -farnesene analogues containing five-membered azaheterocycles and their biological activity[J]. Chin J Org Chem, 2008, 28(4): 617-621.
- [20] 孙亮, 凌云, 王灿, 等. 含硝基胍 *E*- $\beta$ -法尼烯类似物的合成及生物活性研究[J]. 有机化学, 2011, 31(12): 2061-2066.  
SUN L, LING Y, WANG C, et al. Synthesis and biological activities of *E*- $\beta$ -farnesene analogues containing substituent nitroguanidine[J]. Chin J Org Chem, 2011, 31(12): 2061-2066.
- [21] SUN Y F, QIAO H L, LING Y, et al. New analogues of (*E*- $\beta$ -farnesene with insecticidal activity and binding affinity to aphid

- odorant-binding proteins[J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(6): 2456-2461.
- [22] 秦耀果, 曲焱焱, 张景朋, 等. 不同杂环取代 (*E*)- $\beta$ -Farnesene 类似物的合成及生物活性研究[J]. *有机化学*, 2015, 35(2): 455-461.  
QIN Y G, QU Y Y, ZHANG J P, et al. Synthesis and biological activity of different heterocyclic substituted (*E*)- $\beta$ -farnesene analogues[J]. *Chin J Org Chem*, 2015, 35(2): 455-461.
- [23] 张景朋, 秦耀果, 李欣璐, 等. 含亚胺基 (*E*)- $\beta$ -Farnesene 类似物的设计、合成及生物活性研究[J]. *有机化学*, 2017, 37(4): 987-995.  
ZHANG J P, QIN Y G, LI X L, et al. Design, synthesis and biological activity of (*E*)- $\beta$ -farnesene analogues containing imidogen[J]. *Chin J Org Chem*, 2017, 37(4): 987-995.
- [24] 张景朋, 杨朝凯, 秦耀果, 等. 含1,2,3-噻二唑环 (*E*)- $\beta$ -farnesene 类似物的设计、合成及生物活性研究[J]. *有机化学*, 2020, 40(9): 2971-2979.  
ZHANG J P, YANG Z K, QIN Y G, et al. Design, synthesis and biological activity of (*E*)- $\beta$ -farnesene analogues containing 1,2,3-thiadiazole[J]. *Chin J Org Chem*, 2020, 40(9): 2971-2979.
- [25] QIN Y G, YANG Z K, SONG D L, et al. Bioactivities of synthetic salicylate-substituted carboxyl (*E*)- $\beta$ -Farnesene derivatives as ecofriendly agrochemicals and their binding mechanism with potential targets in aphid olfactory system[J]. *Pest Manag Sci*, 2020, 76(7): 2465-2472.
- [26] QIN Y G, YANG Z K, ZHOU J J, et al. Effects of carboxyl and acylamino linkers in synthetic derivatives of aphid alarm pheromone (*E*)- $\beta$ -farnesene on repellent, binding and aphicidal activity[J]. *J Mol Struct*, 2022, 1268: 133658.
- [27] YANG D Y, WAN C, XIAO Y M, et al. Design, synthesis, and insecticidal activity of novel 1-alkoxy-2-nitroguanidines[J]. *Rsc Adv*, 2018, 8(4): 1838-1845.
- [28] PEI D, ZHANG F, LIU J, et al. Synthesis and fungicidal activities of 2,3-dimethyl-4-(1-acyloxy)alkoxy-6-tert-butyl-8-fluoroquinolines[J]. *J Heterocyclic Chem*, 2019, 56(4): 1383-1387.
- [29] BARAMOV T, SCHMID B, RYU H, et al. How many O-donor groups in enterobactin does it take to bind a metal cation?[J]. *Chemistry*, 2019, 25(28): 6955-6962.
- [30] BLANCO-ANIA D, MATEMAN J J, HÝLOVÁ A, et al. Hybrid-type strigolactone analogues derived from auxins[J]. *Pest Manag Sci*, 2019, 75(11): 3113-3121.
- [31] ZHAN R B, WANG B, GROSSI G, et al. Molecular basis of alarm pheromone detection in aphids[J]. *Curr Biol*, 2017, 27(1): 55-61.
- [32] YANG J Y, ANISHCHENKO I, PARK H, et al. Improved protein structure prediction using predicted interresidue orientations[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117(3): 1496-1503.
- [33] D'ONOFRIO C, KNOLL W, PELOSI P, et al. Aphid odorant-binding protein 9 is narrowly tuned to linear alcohols and aldehydes of sixteen carbon atoms[J]. *Insects*, 2021, 12(8): 741.
- [34] ULLAH R M K, QUERSHI S R, ADEEL M M, et al. An odorant binding protein (SaveOBP9) involved in chemoreception of the wheat aphid *Sitobion avenae*[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(21): 8331.
- [35] WANG Q, LIU J T, ZHANG Y J, et al. Coordinative mediation of the response to alarm pheromones by three odorant binding proteins in the green peach aphid *Myzus persicae*[J]. *Insect Biochem Mol Biol*, 2021, 130: 103528.

(责任编辑: 金淑惠)