

# 多炔类化合物对美洲大蠊的触杀活性及对乙酰胆碱酯酶和腺苷三磷酸酶活性的影响

万树青<sup>1</sup>, 徐汉虹<sup>1</sup>, 赵善欢<sup>1</sup>, 蒋志胜<sup>2</sup>, 尚稚珍<sup>2</sup>, 刘 准<sup>2</sup>

(1. 华南农业大学 农药与化学生物学教育部重点实验室, 广州 510642;

2. 南开大学元素有机化学研究所, 天津 300071)

**摘要:** 采用药膜法测定了人工合成的 11 个多炔类化合物对美洲大蠊 *Periplaneta americana* 初孵若虫的触杀活性。结果表明, 当化合物处理浓度为  $20 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  时, 致死率达 70% 以上的有: 化合物 2 (1-叔丁基-4-羟甲基-丁二炔) 化合物 9 (1-苯甲基-4-甲基-丁二炔) 和化合物 10 (O-炔丙基硫代磷酸二乙酯)。经毒力测定, 化合物 9 和化合物 10 的  $\text{LC}_{50}$  分别为  $3.91 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  和  $1.50 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 。化合物 2、化合物 7 (1-苯基-4-邻硝基苯基-丁二炔) 和化合物 10 对美洲大蠊乙酰胆碱酯酶 (AChE) 具有抑制活性, 抑制率分别为 12.00%、27.24% 和 62.22%。化合物 2 和化合物 10 对  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  具有抑制活性, 抑制率分别为 44.55% 和 31.44%。而化合物 5 (1-苯基-4-(3,4-亚甲二氧)苯基-丁二炔) 和化合物 6 (1-苯基-4-间硝基苯基-丁二炔) 对该酶具有激活活性, 激活率分别为 24.98% 和 20.99%。化合物 2、化合物 4 (1-苯基-4-对甲氧基苯基-丁二炔) 和化合物 7 对  $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$  具有抑制活性, 抑制率分别为 49.02%、38.53% 和 35.32%, 其他化合物对该酶具有激活活性, 其中激活活性最高的为化合物 5, 激活率达 81.12%。

**关键词:** 多炔类化合物; 美洲大蠊; 触杀活性;  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ ;  $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$

中图分类号: Q965.9 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2005)04-0526-05

## Contact toxicity of polyacetylenes to *Periplaneta americana* and their effects on AChE and ATPase

WAN Shu-Qing<sup>1</sup>, XU Han-Hong<sup>1</sup>, ZHAO Shan-Huan<sup>1</sup>, JIANG Zhi-Sheng<sup>2</sup>, SHANG Zhi-Zhen<sup>2</sup>, LIU Zhun<sup>2</sup> (1. Key Laboratory of Pesticide, Chemical Biology of Educational Ministry, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 2. Institute of Element-Organic Chemistry, Nankai University, Tianjin 300071, China)

**Abstract:** The contact toxicity of 11 synthetic polyacetylenes was tested to newly-hatched *Periplaneta americana* larvae with the method of drug film. The results showed these compounds, 1-*t*-butyl-4-hydroxymethyl-diacetylene, 1-benzyl-4-methyl-diacetylene and di-ethyl-2-propargyl-thiophosphate caused high mortality of over 70% to the larvae at  $20 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . The  $\text{LC}_{50}$  of 1-benzyl-4-methyl-diacetylene and di-ethyl-2-propargyl-thiophosphate was  $3.91 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  and  $1.50 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , respectively. The effect on AChE of the insect indicated that 1-*t*-butyl-4-hydroxymethyl-diacetylene, 1-phenyl-4-*o*-nitrophenyl-diacetylene and di-ethyl-2-propargyl-thiophosphate inhibited its activity, and the inhibition rate was 12.00%, 27.24% and 62.22%, respectively. To ATPase, 1-*t*-butyl-4-hydroxymethyl-diacetylene and di-ethyl-2-propargyl-thiophosphate inhibited the activity of  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ , and the inhibition rate was 44.55% and 31.44%, respectively; but 1-phenyl-4-(3,4-methylenedioxy)-phenyl-diacetylene and 1-phenyl-4-*m*-nitrophenyl-diacetylene enhanced the activity of the enzyme, and the activation rate was 24.98% and 20.61%; 1-*t*-butyl-4-hydroxymethyl-diacetylene, 1-phenyl-4-*p*-methoxyphenyl-diacetylene and 1-phenyl-4-*o*-nitrophenyl-diacetylene inhibited the activity of  $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ , and the inhibition rate was 49.02%, 38.53% and 35.32%, respectively; but other compounds enhanced activity of the enzyme, among them the highest activity was observed with 1-phenyl-4-(3,4-methylenedioxy)-phenyl-diacetylene, and the activation rate was 81.12%.

**Key words:** Polyacetylenes; *Periplaneta americana*; contact toxicity; AChE;  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ ;  $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$

基金项目: 国家自然科学基金项目(30170097) 广东省自然科学基金项目(010319); 南开大学元素有机化学国家重点实验室资助课题(1997)

作者简介: 万树青, 男, 1953年生, 湖北武汉人, 博士, 副教授, 从事昆虫毒理学研究, E-mail: wanshuqing1953@yahoo.com.cn

收稿日期 Received: 2004-06-17; 接受日期 Accepted: 2004-11-08

多炔类化合物(polyacetylene)是天然存在的具有生物活性的碳氢化合物,在高等植物中已发现 19 个科的植物能合成多炔类化合物(Downum, 1986),其中从菊科植物鬼针草 *Bidens pilosa* 中分离出的 7-苯基-2,4,6-庚三炔(phenylheptatriyne, PHT)对蚊、蝇和某些食草昆虫具有光活化杀虫作用和拒食、抑制生长发育作用(McLachlan, 1982)。徐汉虹等(1994)从猪毛蒿 *Artemisia scoparia* 中分离出具有光活化毒杀作用的多炔类化合物茵陈二炔,生测结果表明,从猪毛蒿中提取的精油对贮藏害虫具有忌避和繁殖抑制作用,而分离出的茵陈二炔对斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 具有光活化毒杀和生长发育抑制作用。万树青等(2000)以茵陈二炔为结构母体,人工合成了 11 个多炔类化合物,经生物活性测定表明,该系列化合物对蚊幼虫、红蜘蛛具有光活化毒杀作用,其中活性较高的为 1-苯基-4-(3,4-亚甲基二氧)苯基-丁二炔;并测得该系列化合物对亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis*、菜粉蝶 *Pieris rapae* 的幼虫具有拒食活性,

对二种成虫具有产卵忌避活性,经电生理检测,具活性的化合物的作用靶标为昆虫的味觉和嗅觉感受器(万树青等 2001, 2004)。本研究通过测定作者合成的多炔类化合物对美洲大蠊 *Periplaneta americana* 幼虫的触杀活性和对美洲大蠊乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE, EC3.1.1.7)和腺苷三磷酸酶(ATPase)活性的影响,为开发多炔类化合物在害虫防治中的应用提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试化合物和化学试剂

供试化合物均由南开大学元素有机化学研究所刘淮教授合成,纯度 > 95%(化合物结构与名称见表 1)。参照化合物为乌本苷和 ATP 二钠盐,均为 Serva 产品,华美生物工程公司进口分装。马拉硫磷,纯度 ≥ 85%,宁波农药厂提供。孔雀石绿等为天津南开化工厂产品。

表 1 供试化合物的编号、结构式、名称和熔点

Table 1 Number, structural formula, name and melting point of tested compounds

化合物编号 Compound no.	结构式 Structural formula	名称 Name	熔点 Melting point (°C)
1	$(\text{CH}_3)_3\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$	1,4-二叔丁基-丁二炔 1,4-di-t-butyl-diacetylene	129 ~ 130
2	$(\text{CH}_3)_3\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}_2\text{OH}$	1-叔丁基-4-羟甲基-丁二炔 1-t-butyl-4-hydroxymethyl-diacetylene	液体 Liquid
3	$\text{HOCH}_2-\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}_2\text{OH}$	1,4-二羟甲基-丁二炔 1,4-di-hydroxymethyl-diacetylene	112
4		1-苯基-4-对甲氧基苯基-丁二炔 1-phenyl-4-p-methoxyphenyl-diacetylene	94 ~ 95
5		1-苯基-4-(3,4-亚甲基二氧)苯基-丁二炔 1-phenyl-4-(3,4-methylenedioxy)phenyl-diacetylene	105 ~ 106
6		1-苯基-4-间硝基苯基-丁二炔 1-phenyl-4-m-nitrophenyl-diacetylene	147 ~ 148
7		1-苯基-4-邻硝基苯基-丁二炔 1-phenyl-4-o-nitrophenyl-diacetylene	152 ~ 153
8		1-苯基-4-苯甲酰氧甲基-丁二炔 1-phenyl-4-phenylformylloxymethyl-diacetylene	液体 Liquid
9		1-苯甲基-4-甲基-丁二炔 1-benzyl-4-methyl-diacetylene	液体 Liquid
10	$(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{P}(=\text{S})-\text{OCH}_2-\text{C}\equiv\text{CH}$	O-炔丙基-硫代磷酸二乙酯 di-ethyl-2-propargyl-thiophosphate	液体 Liquid
11	$\text{Br}-\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}_2\text{OH}$	3-溴-2-丙炔-醇-1 3-bromo-2-propyne-1-ol	液体 Liquid

## 1.2 药膜触杀活性测定

取直径 1.9 cm, 高 4.6 cm 小瓶, 用微量注射器吸取 25  $\mu\text{L}$  含有一定浓度供试化合物的丙酮溶液, 放入瓶底中部, 摇匀, 使之形成一薄层药膜, 待丙酮自然挥发后, 每瓶放 5 头初孵若虫, 每处理为 3 瓶, 每种浓度重复 3 次。空白对照为丙酮溶液, 随后放入恒温箱内(25  $\pm$  1 $^{\circ}\text{C}$ )。并用湿纱布盖瓶口, 使供试若虫在瓶底活动, 24 h 后检查各组若虫死亡情况。计算校正死亡率。

## 1.3 乙酰胆碱酯酶(AChE)离体活性测定

参考 Ellman (1961) 的方法, 根据徐建华(1995) 提出的乙酰胆碱酯酶最适反应条件: 酶源量为 35 ~ 45  $\mu\text{g}$  蛋白, 底物乙酰胆碱(ACh)浓度为 0.5 mmol/L, pH 7.6, 反应时间 15 min。

酶源制备: 取 4 头成虫, 剪取头部, 加入 5 mL pH 7.6 的 0.05 mol/L 磷酸缓冲液, 在匀浆器内匀浆 30 s, -4 $^{\circ}\text{C}$ , 10 000  $\times$  g 离心 15 min, 取上清液作为酶源。

离体活性测定: 称取供试化合物, 以少许(低于 1%) 丙酮溶解, 用 pH 7.6 的 0.05 mol/L 磷酸缓冲液稀释至 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 取 50  $\mu\text{L}$  溶液与 50  $\mu\text{L}$  酶源混合(蛋白含量为 35 ~ 45  $\mu\text{g}$ ), 在 37  $^{\circ}\text{C}$  预温 5 min。调零管与对照管分别以 50  $\mu\text{L}$  4  $\times$  10 $^{-5}$  mol/L 毒扁豆碱和 50  $\mu\text{L}$  缓冲液与酶预温。然后加入 100  $\mu\text{L}$  1.0 mmol/L ACh 在 37 $^{\circ}\text{C}$  振荡保温 15 min。再以 DTNB(显色剂 5, 5'-二硫代双-2-硝基苯甲酸)-乙醇-磷酸缓冲液 1.8 mL 终止酶反应并显色。在 722 型分光光度计上以 412 nm 波长测 OD 值, 计算酶抑制率。各处理重复 3 次。酶抑制率(%) = (空白管 OD 值 - 处理管 OD 值) / 空白管 OD 值  $\times$  100。

## 1.4 腺苷三磷酸酶(ATPase)离体活性测定

参考徐友涵和宁睦华(1985)及 Kadir 和 Knowles (1991) 的方法, 稍有改进。

磷(Pi)标准曲线的测定: 参考徐建华(1995)的方法, 取 1.2 cm  $\times$  10 cm 试管若干, 按表 2 加入 1 mmol/L 的磷酸液和缓冲液(由 10 mmol/L 咪唑, 1 mmol/L EDTA, 0.32 mol/L 蔗糖加蒸馏水配成), 混匀后, 从每管取出反应液 0.4 mL, 加入另一组空试管中, 用 2.0 mmol/L AMT 溶液(A 液与 B 液 1:3 混合搅拌 30 min, 滤纸过滤后, 加入 0.01% 体积的 1.5% Tween-20 配成。A 液: 4.2% 钼酸铵溶于 4 mol/L HCl 中; B 液: 0.05% 孔雀石绿水溶液)终止反应。1 min 后每管加入 0.4 mL 24% 柠檬酸钠混匀, 室温放置 30 min。然后在分光光度计上测定波长 660 nm 处的 OD 值, 每组重复 3 次, 取平均值。以 P( $\mu\text{mol}$ )为横

坐标, 以 OD<sub>660nm</sub> 为纵坐标, 绘 Pi 标准曲线并求出回归方程式。根据所测结果, 计算 OD 值与 Pi 含量的回归式为:  $y = 0.0345 + 0.0175x$  ( $r = 0.9980$ )。

酶源制备: 取美洲大蠊雄性成虫 2 头, 剪取头部, 加入 2 mL 缓冲液中匀浆, 然后于 4 $^{\circ}\text{C}$  3 000  $\times$  g 离心 10 min, 取上清液 13 000  $\times$  g 离心 30 min, 去上清液, 取沉淀物用 10 mL 缓冲液稀释后作为酶源。

表 2 各试管试剂含量

试管编号 Tube no.	试剂 Reagent (mL)	
	磷酸液 Liquid of phosphoric acid (1 mmol/L)	缓冲液 Buffer solution
0	0	1
1	0.085	0.015
2	0.170	0.830
3	0.255	0.745
4	0.340	0.660
5	0.425	0.575

## 1.5 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 离体活性测定

反应体系溶液: 30 mmol/L MES [2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid], 30 mmol/L Tris, 120 mmol/L NaCl, 20 mmol/L KCl, 5.0 mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 用蒸馏水配成。

测定步骤: 总反应体系为 1.0 mL, 其中酶源 0.2 mL(蛋白含量 7 ~ 12  $\mu\text{g}$ ), 1.0 mmol/L ATP。在抑制实验中, 取 0.1 mL 供试化合物(终浓度为 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )其余加入反应体系溶液。调零管不加酶源, 对照空白管不加乌本苷, 设 3 个重复, 30 $^{\circ}\text{C}$  保温 15 min。随后从每管中取出反应液 0.4 mL, 加入 2.0 mL AMT 溶液终止反应。1 min 后再加入 0.4 mL 2.4% 柠檬酸钠溶液, 室温放置 30 min 后, 在 722 型分光光度计上 660 nm 处测定 OD 值。酶活力是根据所测的 OD 值以 Pi 标准曲线或回归方程式计算 P 的生成量, 根据蛋白质含量转换成酶的比活力, 即以  $\mu\text{mol}/\text{L} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot 15 \text{ min}^{-1}$  表示。

## 1.6 Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATPase 离体活性测定

反应体系溶液: 除由 20 mmol/L KCl 配成 100 mmol/L KCl 和加入 0.1 mmol/L CaCl<sub>2</sub> 外, 其他配制同 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 离体活性测定方法。酶比活力表达方式与 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 相同。

测定步骤: 除反应体系在配制方面稍有改动外, 其他测定步骤与 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 离体活性测定方法相同。根据下列公式计算酶抑制率: 酶抑制率(%) = (对照比活力 - 处理比活力) / 对照比活力  $\times$  100。

## 2 结果与分析

### 2.1 对美洲大蠊初孵若虫的触杀活性

测定结果表明,化合物 9(1-苯甲基-4-甲基-丁二炔)和化合物 10(O-炔丙基-硫代磷酸二乙酯)以及参比化合物马拉硫磷在 20  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  时,对美洲大蠊初孵若虫具有显著的触杀活性,死亡率均达 100%。化合物 2(1-叔丁基-4-羟甲基-丁二炔)、化合物 7(1-苯基-4-邻硝基苯基-丁二炔)和化合物 11(3-溴-2-丙炔-醇-1)也表现一定的活性,死亡率分别为 72.33%、66.67%和 63.33%(表 3)。毒力测定表明,化合物 9、10 和马拉硫磷的  $\text{LC}_{50}$  分别为 3.91  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、1.50  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 和 0.62  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (表 4)。

表 3 多炔类化合物 20  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  对美洲大蠊初孵若虫的触杀活性

Table 3 Contact toxicity of polyacetylenes (20  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) to newly-hatched *Periplaneta americana* larvae

化合物编号 Compound no.	死亡率(%) Mortality	化合物编号 Compound no.	死亡率(%) Mortality
1	6.67 ± 0.25 b	8	0 a
2	72.33 ± 5.77 de	9	100.00 ± 0.00 e
3	12.22 ± 1.22 bc	10	100.00 ± 0.00 e
4	27.27 ± 2.45 c	11	63.33 ± 7.27 d
5	0 a	马拉硫磷	100.00 ± 0.00 e
6	0 a	Malathion	
7	66.67 ± 4.12 d		

注:表中数据均为平均值 ± 标准误(3次重复),数据后字母相同者表示经 DMRT 检测差异不显著( $P = 0.05$ )。

Notes: Data are mean ± SE of mortality (%) of three replications. Data with the same letter are not different statistically ( $P = 0.05$ ) (DMRT).

### 2.2 对美洲大蠊 AChE 离体抑制活性

测定 11 个化合物对美洲大蠊 AChE 离体抑制活性,发现化合物 10 对该酶具有显著的抑制作用,抑制率为 62.22%。化合物 2 和 7 也对该酶具有一定的抑制活性,抑制率分别为 12% 和 27.24%。其他化合物对美洲大蠊成虫 AChE 具有诱导激活活性(表 5)。分析活性生测结果,化合物 10 对美洲大蠊初孵若虫的高触杀活性与抑制 AChE 活性有关。

表 4 化合物 9、10 和马拉硫磷对美洲大蠊初孵若虫的触杀毒力

Table 4 Contact toxicity of compound 9, 10 and malathion to newly-hatched *Periplaneta americana* larvae

化合物编号 Compound no.	$y = a + bx$	$\text{LC}_{50}$ ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	$r$
9	$y = 3.6508 + 2.2775x$	3.9120	0.9833
10	$y = 4.6067 + 2.2412x$	1.4979	0.9994
马拉硫磷 Malathion	$y = 5.4242 + 1.9240x$	0.6189	0.9484

表 5 多炔类化合物对美洲大蠊 AChE 的离体抑制活性

Table 5 Inhibition of polyacetylenes to AChE of *Periplaneta americana*

化合物编号 Compound no.	$\text{OD}_{420\text{nm}}$ ( $\bar{x} \pm SD$ )	抑制率(%) Inhibition rate
1	0.325 ± 0.0035 b	-44.46
2	0.198 ± 0.0174 e	12.00
3	0.303 ± 0.0061 b	-34.67
4	0.306 ± 0.0184 b	-35.87
5	0.345 ± 0.0070 a	-54.67
6	0.308 ± 0.0015 b	-36.89
7	0.164 ± 0.0114 f	27.24
8	0.228 ± 0.0021 e	1.33
9	0.268 ± 0.0236 c	-19.11
10	0.085 ± 0.0040 g	62.22
11	0.228 ± 0.0021 d	-1.33
对照 CK	0.225 ± 0.0070 d	0.00

注:表中同列数据后具相同字母者,表示在 0.05 水平差异不显著(DMRT)。“-”表示具有促进活性。表 6 同。

Notes: Data with the same letter are not different statistically ( $P = 0.05$ ) (DMRT). Those in negative values represent promoting enzyme activity. The same for Table 6.

### 2.3 对美洲大蠊 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 的离体抑制活性

受试的多炔化合物对美洲大蠊  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  呈现复杂的作用形式,化合物 2、7、9、10、11 和乌本苷对该酶的活力具有一定的抑制作用,特别是化合物 2 抑制作用更为显著。它们的抑制率分别为 44.55%、20.99%、17.64%、31.44%、4.11% 和 20.21%。而化合物 5(1-苯基-4(3- $\beta$ -亚甲基二氧)苯基-丁二炔)和化合物 6(1-苯基-4-间硝基苯基-丁二炔)对该酶具有明显的诱导激活作用,激活活性率分别为 24.98% 和 20.61%(表 6)。受试的多炔化合物对美洲大蠊  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  的抑制与激活作用的生理作用有待研究。

### 2.4 对美洲大蠊 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ 的离体抑制活性

受试的多炔化合物对美洲大蠊  $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$  活力的影响与  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  一样,具有抑制与诱导激活两种方式。化合物 2、化合物 4(1-苯基-4-对甲氧基苯基-丁二炔)和化合物 7 对此酶具有一定的抑制作用,抑制率分别为 49.02%、38.53% 和 35.32%,而化合物 5 则显著地诱导激活此酶的活性,激活活性率为 81.12%(表 6)。

## 3 讨论

### 3.1 多炔类化合物对美洲大蠊幼虫的触杀作用与 AChE 活性的关系

触杀活性结果表明,化合物 2、7、9、10 和 11 在 20  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  浓度下,对美洲大蠊幼虫显示出一定的触杀活性,特别是化合物 9 和 10,死亡率均达到 100%。其他 3 个化合物的死亡率也在 60% 以上。测定多炔类化合物对 AChE 活性的影响,发现在 1.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  浓度下,化合物 10 具有显著的抑制活

表 6 多炔类化合物对美洲大蠊 ATPase 活力的影响

Table 6 Effect of polyacetylenes on two ATPases of *Periplaneta americana*

化合物编号 Compound no.	Na <sup>+</sup> -K <sup>+</sup> -ATPase			Ca <sup>2+</sup> -Mg <sup>2+</sup> -ATPase		
	OD <sub>660nm</sub> ( $\bar{x} \pm SD$ )	比活力 Specific activity ( $\mu\text{mol/L} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot 15\text{min}^{-1}$ )	抑制率(%) Inhibition rate	OD <sub>660nm</sub> ( $\bar{x} \pm SD$ )	比活力 Specific activity ( $\mu\text{mol/L} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot 15\text{min}^{-1}$ )	抑制率(%) Inhibition rate
1	1.5570 ± 0.0150 b**	243.11	2.31	0.5730 ± 0.0065 bc	85.81	-20.67*
2	0.8990 ± 0.0080 e	137.98	44.55	0.2623 ± 0.0075 i	36.25	49.02
3	1.5180 ± 0.0245 b	236.88	4.81	0.4863 ± 0.0175 f	72.04	-1.31
4	1.5760 ± 0.0135 b	246.21	1.06	0.3090 ± 0.0140 h	43.71	38.53
5	1.9820 ± 0.0030 a	311.01	-24.98	0.8420 ± 0.0225 a	128.87	-81.12
6	1.9140 ± 0.2800 a	300.14	-20.61	0.5390 ± 0.0055 de	80.46	-13.15
7	1.2660 ± 0.0026 d	196.60	20.99	0.3233 ± 0.054 h	45.99	35.32
8	0.6080 ± 0.0040 b	251.25	-0.96	0.5570 ± 0.032 cd	83.34	-17.19
9	1.3180 ± 0.0058 cd	204.95	17.64	0.4730 ± 0.0285 f	69.92	1.67
10	1.1030 ± 0.0025 bed	170.62	31.44	0.4681 ± 0.0110 f	71.19	-0.11
11	1.5290 ± 0.0065 bc	238.63	4.11	0.5880 ± 0.0035 b	88.29	-24.15
乌本苷 Ouabain	1.2690 ± 0.0055 cd	198.56	20.21	0.4326 ± 0.0235 g	63.46	7.65
对照 CK	1.5930 ± 0.009 b	248.85		0.4805 ± 0.0020 f	71.11	

性 酶活抑制率为 62.22% , 化合物 2 和 7 也显示出一定的抑制效应。表明化合物 10 高毒杀活性可能与强烈地抑制该虫 AChE 活性有关, 化合物 9 的高毒杀活性与 AChE 没有关系, 它的作用靶标不是 AChE。除化合物 2、7 和 10 外, 其他化合物都显示激活 AChE 活性, 这种激活机制有待进一步研究。

### 3.2 多炔类化合物对美洲大蠊幼虫的触杀作用与 ATPase 活性的关系

从多炔类化合物对美洲大蠊 ATPase 活性测定结果来看, 多数化合物表现出对 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 活抑制作用, 其中化合物 2、7、9、10 以及标准样品乌本苷具有显著的抑制效果, 抑制率在 20% 左右, 抑制效果与乌本苷相当。显然, Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 是它们的作用靶标之一。从表 2 和表 6 的结果可以看出, Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 被抑制的程度与触杀效果具有一定相关性。分析 Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATPase 的测定结果, 化合物 2、4、7 和标样乌本苷具有显著的抑制活性, 而化合物 2、4 和 7 抑制活性又显著高于乌本苷, 这种酶抑制效果与触杀作用仅有化合物 2 和 7 具有一定的相关。化合物 4 对 Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATPase 的抑制所产生的表征有待进一步观察。与 AChE 一样, 多炔类化合物对 ATPase 活性的影响除抑制作用外, 还表现出激活作用, 特别是化合物 5 对所测的两种 ATPase 表现出强烈的激活活性, 这种激活机制和由此产生的昆虫中毒症状也有待进一步研究。

### 参 考 文 献 (References)

Downum KR, 1986. Photoactivated biocides from higher plants. In: Maurice BG, Paul AH eds. Natural Resistance of Plants to Pests Role of Allelochemicals. ACS Symposium Series 296. Washington DC. 197 - 205.

Ellman GL, 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.*, 7: 88 - 95.

Kadir HA, Knowles CO, 1991. Inhibition of ATP dephosphorylation by acaricides with emphasis on the anti-ATPase activity of the carbodiimide metabolite of diafenthiuron. *J. Econ. Entomol.*, 84(3): 801 - 805.

McLachlan D, 1982. Antifeedant activity of the polyacetylene, phenylheptatriene (PHT) from the Asteraceae to *Euxoa messoria* (Lepidoptera: Noctuidae). *Experientia*, 38: 1061 - 1062.

Wan SQ, Xu HH, Jiang ZS, Zhao SH, Shang ZZ, Liu Z, 2001. The antifeeding activity and electrophysiological response of synthetic polyacetylenes against *Ostrinia furnacalis*. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 3(2): 48 - 55. [万树青, 徐汉虹, 蒋志胜, 赵善欢, 尚稚珍, 刘准, 2001. 炔类化合物对亚洲玉米螟拒食活性和电生理反应. *农药学报*, 3(2): 48 - 55]

Wan SQ, Xu HH, Zhao SH, Shang ZZ, Liu Z, 2000. Phototoxicity of synthetic polyacetylenes against mosquito larvae (*Culex quinquefasciatus*). *Acta Entomologica Sinica*, 43(3): 264 - 270. [万树青, 徐汉虹, 赵善欢, 尚稚珍, 刘准, 2000. 光活化多炔类化合物对蚊幼虫的毒力. *昆虫学报*, 43(3): 264 - 270]

Wan SQ, Xu HH, Zhao SH, Shang ZZ, Jiang ZS, Liu Z, 2004. Oviposition-repelling activity of synthetic polyacetylenes and electroantennogram responses in *Ostrinia furnacalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Acta Entomologica Sinica*, 47(3): 293 - 297. [万树青, 徐汉虹, 赵善欢, 尚稚珍, 蒋志胜, 刘准, 2004. 多炔类化合物对亚洲玉米螟产卵驱避作用及玉米螟的触角电位反应. *昆虫学报*, 47(3): 293 - 297]

Xu HH, Zhao SH, Zhou J, Ding JK, Yu XJ, 1994. The insecticidal constituent of essential oil from *Artemisia scoparia*. *Acta Entomologica Sinica*, 37(4): 411 - 416. [徐汉虹, 赵善欢, 周俊, 丁靖坤, 喻学俭, 1994. 猪毛蒿精油杀虫的有效成分. *昆虫学报*, 37(4): 411 - 416]

Xu JH, 1995. Study on the Activity of Antifeedant and Anti-Acetylcholinesterase Based on Action Target. PhD Dissertation of Nankai University. [徐建华, 1995. 以作用靶标探索昆虫拒食活性和抗胆碱酯酶活性的研究. 南开大学博士学位论文]

Xu YH, Ning MH, 1985. A simple and sensitive assay method of ATPase activity. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 13(4): 644 - 656. [徐友涵, 宁睦华, 1985. 一种简便、灵敏的 ATPase 活性测定方法. *生物化学与生物物理进展*, 13(4): 644 - 656]