

◆ 综述与进展 ◆

## 硫苷抗虫功能应用研究及其进展

朱永东<sup>1</sup>, 丁宝<sup>2</sup>, 邹献中<sup>3</sup>, 王甦宇<sup>1</sup>, 孙文锋<sup>1</sup>, 邓平<sup>1</sup>, 徐汉虹<sup>4\*</sup>, 钟进良<sup>1\*</sup>

(1. 梅州市农林科学院植物保护研究所, 广东梅州 514071; 2. 梅州市农林科学院, 广东梅州 514000; 3. 广东省农业科学院农业资源与环境研究所, 广州 510640; 4. 华南农业大学绿色农药全国重点实验室, 广州 510642)

**摘要:** 硫苷是十字花科蔬菜中一类重要的亲水性次生代谢产物, 作为防御产物存在于植物的整个生命周期。硫苷降解产物异硫氰酸酯提纯后产物的杀虫效果可以媲美商业杀虫剂。为了助力植物源杀虫剂的开发, 对硫苷发现、化学合成、抗虫研究及应用进展等进行综述。

**关键词:** 硫苷; 异硫氰酸酯; 化学合成; 抗虫; 应用; 研究进展

中图分类号: S 482.39 文献标志码: A doi: 10.3969/j.issn.1671-5284.2024.05.007

### Research and progress on the insect-resistance of glucosinolates

ZHU Yongdong<sup>1</sup>, DING Bao<sup>2</sup>, ZOU Xianzhong<sup>3</sup>, WANG Suyu<sup>1</sup>, SUN Wenfeng<sup>1</sup>, Deng Ping<sup>1</sup>, XU Hanhong<sup>4\*</sup>, ZHONG Jinliang<sup>1\*</sup>

(1. Institute of Plant Protection, Meizhou Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Guangdong Meizhou 514071, China; 2. Meizhou Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Guangdong Meizhou 514000, China; 3. Institute of Agricultural Resources and Environment, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China; 4. National Key Laboratory of Green Pesticides, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** Glucosinolates are important hydrophilic secondary metabolites of cruciferous vegetables, which exist throughout the life cycle of plants as defense products. The degradation products isothiocyanate of glucosinolates had good insecticidal effects, and could be compared with the effects of commercial insecticides. In order to facilitate the development of botanical insecticides, the discovery, chemical synthesis, anti-insect research and application of glucosinolates were reviewed in this paper.

**Key words:** glucosinolates; isothiocyanate; chemical synthesis; insect-resistance; application; research progress

产业振兴是乡村振兴的基础, 产业兴旺是解决农村一切问题的前提。蔬菜产业是其中一个重要的产业。发展绿色蔬菜产业, 建立竞争力强的绿色蔬菜产业体系, 是夯实乡村振兴的物质基础<sup>[1]</sup>。虫害防治对于蔬菜安全至关重要<sup>[2]</sup>。大部分害虫具有迁移能力, 一旦防治无效, 就会造成严重的危害。随着全球变暖, 害虫造成的损失会越来越大<sup>[3]</sup>。十字花科蔬菜营养价值高, 种类繁多, 在全球范围内广泛种植, 根据联合国粮食及农业组织(FAO)的统计, 其种植

面积正在逐年扩大<sup>[4]</sup>。目前已知的为害十字花科蔬菜的害虫有130多种, 为控制害虫的为害, 农民大量使用化学农药以保证产量<sup>[5]</sup>。由于长期不合理用药, 导致害虫对不同成分的杀虫剂产生了抗药性。因此, 亟待创制绿色农药, 发展农业新质生产力, 助力绿色农业高质量发展。

相比于传统杀虫剂, 植物源天然产物杀虫剂具有靶标特异性强、易降解、无残留、对环境友好等优点, 符合绿色农业发展要求, 是杀虫剂研发的重要

收稿日期: 2024-04-14

基金项目: 广东省农业科学院梅州分院建设(2024 共建 03)

作者简介: 朱永东(1994—), 男, 河南正阳人, 硕士研究生, 研究方向为农药合成。E-mail: 2038555645@qq.com

共同第一作者: 丁宝(1987—), 男, 安徽濉溪人, 硕士研究生, 研究方向为农艺推广。E-mail: 709574966@qq.com

通信作者: 徐汉虹(1961—), 男, 湖北仙桃人, 教授, 从事导向农药分子设计与合成研究。E-mail: hhxu@scau.edu.cn

共同通信作者: 钟进良(1972—), 男, 广东五华人, 高级农艺师, 研究方向为农艺推广。

领域之一<sup>[6]</sup>。天然产物因其来源广泛、结构多样和功能多元化,为农药创制提供了新机遇。天然产物不仅被用于已知农药靶标的确证或作用机制的研究,还为基于已知靶标的功能分子筛选提供了丰富的化合物库<sup>[7]</sup>。天然产物开发为新农药通常有4种途径:直接利用、结构修饰、作为先导化合物和合成天然产物等价体<sup>[8-9]</sup>。

硫代葡萄糖苷(glucosinolates, GSL)简称硫苷,主要存在于十字花科植物中,是一种具有天然生物活性的植物次生代谢物质。迄今,大约120种不同的GSL被分离鉴定,其中20种能在十字花科植物中检测出<sup>[10]</sup>。由于它对植物和人类都有很大的影响,该领域已经成为生物界的一个研究热点。油菜育种专家关注的重点是菜饼中的有害GSL,蔬菜育种专家更关注对人类有益的抗癌GSL,植物保护专家对GSL防御害虫的功能更感兴趣。

## 1 硫苷的基本概况

### 1.1 硫苷的发现和主要种类

硫苷是一种含氮、硫的次生代谢物质(如图1),易溶于水、乙醇、甲醇和丙酮<sup>[11-12]</sup>。硫苷及其降解产物可以促进植物的生长发育,提升营养保健功效,提高植物抗逆性,改善营养品质和风味形成等<sup>[9]</sup>。17世纪初,人们首次观察到芥子油中硫苷的独特性质,并于19世纪30年代早期,从芥菜种子中分离出烯丙基硫苷(sinigrin)和4-羟基苯基硫苷(sinalbin)。Gadamer在19世纪末提出了这些化合物的第1个一般结构<sup>[13-14]</sup>。他的结论是,侧链与“NCS”基团相连的是氮原子而不是碳原子。这种Gadamer结构在1956年之前一直被认为是正确的,但Gadamer结构在解释硫苷化合物的性质方面存在不足。现在正确的结构由Ettlinger在1956年提出,并设计了硫苷的第1个化学合成方法<sup>[15]</sup>。1970年,Marsh对硫苷晶体的X射线进行分析,发现所有硫苷的基本结构都相同<sup>[16]</sup>。硫苷由 $\beta$ -D-葡萄糖,磺酸脲和氨基酸的侧链R(包括烷

基、羟烷基、羟烯基、烯基、甲基亚磺酰基、甲基磺酰基、甲基硫代烷基、芳基烷基和吡啶基)组成,硫苷通常以钾盐或钠盐的形式存在<sup>[17]</sup>。根据氨基酸侧链R的不同,硫苷在结构上可分为芳香族硫苷、脂肪族硫苷和吡啶族硫苷<sup>[18-19]</sup>。目前,共有189种天然硫苷和化学合成硫苷及其降解产物结构报道,其中,含硫侧链硫苷50个,脂肪族及其醇、酮类硫苷41个,芳香族硫苷22个,烯醇类硫苷13个,吡啶族硫苷11个,苯甲酸酯类硫苷11个,多糖基和其他硫苷41个<sup>[20]</sup>。硫苷的含量及存在由基因来控制<sup>[21]</sup>。在硫苷生物合成的3个阶段中,相关的主要合成和调节基因已得到验证,分别由CYP79/CYP83、AOP、MAM等合成基因家族起决定作用<sup>[22]</sup>。硫苷生物合成受到MYB28和MYB34转录因子的积极调节<sup>[23-24]</sup>;同时,MAMI在侧链的伸长中起着至关重要的作用<sup>[25]</sup>。

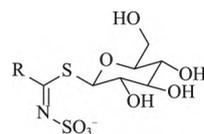


图1 GSL的基本结构

### 1.2 硫苷化学合成研究进展

通过提取和分离程序从十字花科蔬菜中分离出数量有限的纯硫苷,其过程繁琐且困难。相反,化学合成为大多数天然硫苷更广泛应用开辟了途径,为各种分析和生物应用提供了更多有用底物。20世纪50年代末期,分步合成硫代异羟肟受体的方法逐步建立<sup>[26]</sup>。该方法有力推动了硫苷的化学合成研究(如图2)。20世纪60年代初期,Benn<sup>[27]</sup>第1次设计了化学合成硫苷方法,为后期硫苷化合物的化学合成提供了借鉴(如图3)。1990年,Blanc-Muesse等<sup>[28]</sup>首次合成了一系列 $\alpha$ -硫苷,包括 $\alpha$ -4-甲氧基硫苷和2,3-二氯苯基- $\alpha$ -硫苷等化合物。2009年,Yamazoe等<sup>[29]</sup>首次全合成了4-甲硫基-3-丁烯基硫苷,它被发现具有独特的抗细胞氧化作用,激发了人们对它的强烈研究兴趣。

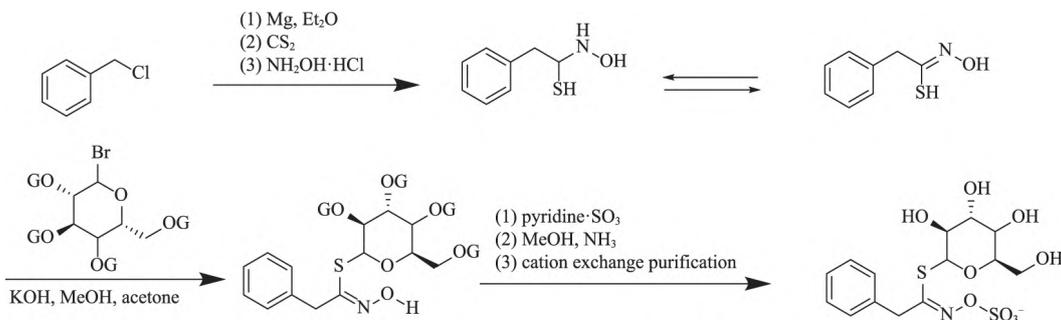


图2 合成的苯乙基GSL

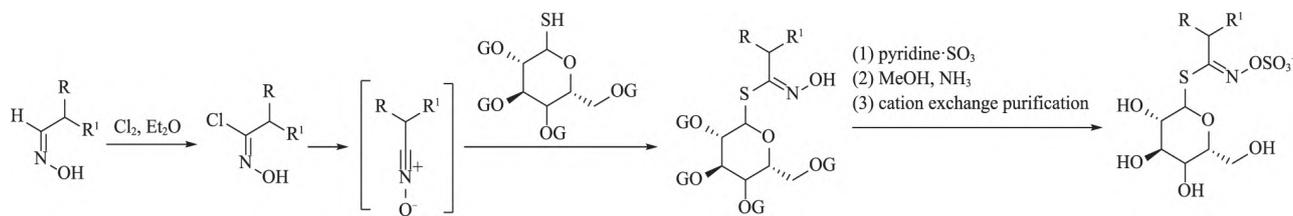


图 3 通过醛肟途径合成 GSL

2011年,Cobb等<sup>[30]</sup>开发出一种新颖简单的方法合成芥子油苷关键中间体(如图4)。由肟和2,3,4,6-四-O-乙酰基-1-硫代-β-D-吡喃葡萄糖合成β-硫代羟肟酸酯。

该方法采用廉价的三氯异氰尿酸与肟反应形成肟基氯,然后在碱性条件下直接与硫代吡喃葡萄糖反应。

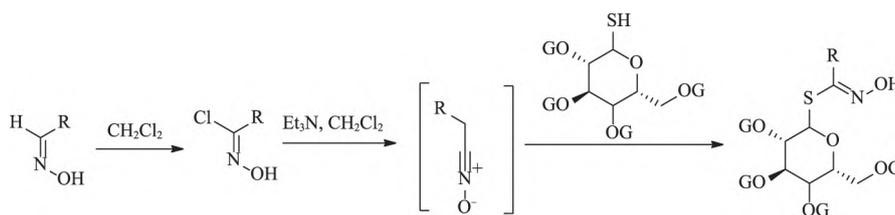


图 4 β-硫代羟肟酸酯的合成

芳香族硫苷是硫苷家族的重要成员,它们在生物活性和药用特性方面具有潜力。2013年,Vo等<sup>[31]</sup>成功合成了7种芳香族硫苷(如图5),收率较高,为46%~48%;同时,验证了硅胶快速色谱作为纯化硫苷替代方案的实用性,可快速得到产物。这个方法可用于硫苷和硫苷类似物的高效率生产,促进其生

化和医学研究。

2019年,Glindemann等<sup>[32]</sup>基于含叠氮化物的硫苷前体(GSL-N<sub>3</sub>)首次合成了荧光硫苷GSL-BODIPY(如图6)。通过点击化学法易于组装GSL-NOD3荧光GSL-BODIPY偶联物,其具有作为研究硫苷相关过程的荧光标记工具的潜力。

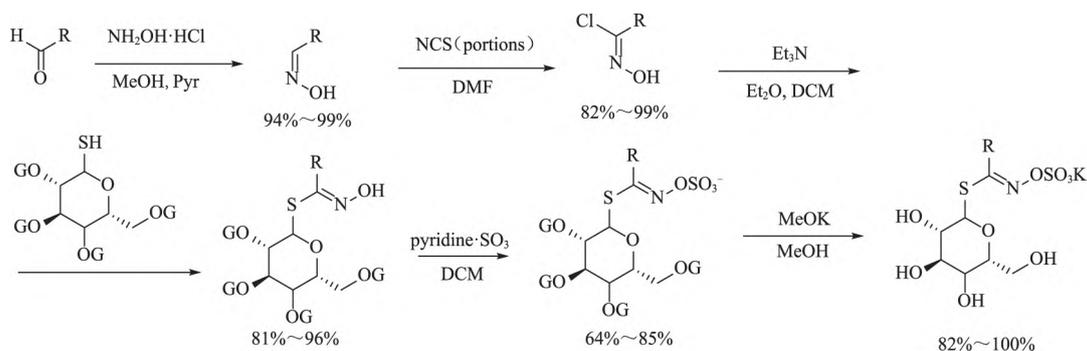


图 5 芳香族 GSL 的合成

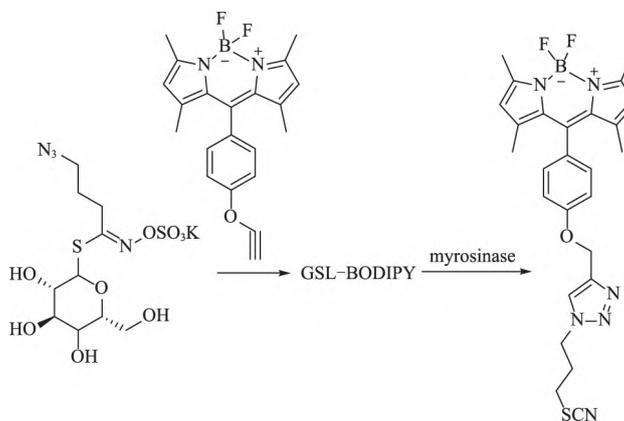


图 6 人工荧光 GSL 的首次合成

## 2 硫苷抗虫研究面临的困难与挑战

在环境要求越来越高的今天,化合物生物活性与环境的关系备受重视<sup>[33]</sup>。目前,天然硫苷尚未发现具有较好杀虫活性的化合物。主要原因有以下两方面。

### 2.1 昆虫解毒硫苷

不同昆虫解毒硫苷的途径不同。寡食性昆虫菜青虫(*Pieris rapae*)通过肠道中存在的腓特异蛋白对硫苷进行解毒。这种腓特异蛋白不具备水解硫苷的能力,但可以诱导硫苷产生特定的水解产物<sup>[34]</sup>。菜青虫摄入含硫苷的化合物后,在腓特异蛋白作用下,避免产生有毒异硫氰酸酯,定向产生无毒的腓类化合物。小菜蛾体内含有硫苷硫酸酯酶(GSS),能够使硫苷快速脱硫,使黑芥子酶无法识别底物硫苷,不产生有毒的异硫氰酸酯,使其可以顺利取食十字花科植物<sup>[35]</sup>。这也是它能够成为十字花科蔬菜主要害虫的原因之一。拟南芥饲喂广食性害虫,在它们的粪便中发现含有谷胱甘肽共轭衍生物。广食性的十字花科害虫摄入硫苷后虽然在黑芥子酶的作用下生成了有毒的异硫氰酸酯化合物,但是它们又将异硫氰酸酯与谷胱甘肽结合形成无毒的共轭物,以共轭化合物的形式随粪便排出体外<sup>[36]</sup>。

### 2.2 昆虫隔离硫苷

隔离植物化学防御物质是昆虫适应寄主植物的一种重要能力。这种能力已经在同翅目和膜翅目昆虫中经过多次进化<sup>[37]</sup>。为了完全隔离硫苷,昆虫必须拥有活跃的吸收机制,有能力避免硫苷分解。这种隔离,理论上由2种方法实现:一是避免硫苷和黑芥子酶相遇;另一种则是在黑芥子酶水解硫苷之前快速完整地吸收硫苷<sup>[38]</sup>。例如,刺吸式口器害虫桃蚜(*Myzus persicae*)通过保持韧皮部周围细胞的完整性,从而避免黑芥子酶与硫苷接触,保持其体内硫苷的完整性,从而避免水解产生有毒次生代谢产物<sup>[39]</sup>。此外,卷心菜斑色蚜(*Murgantia histrionica*)也能够隔离完整的硫苷,将其转移和储存在体内,甚至将植物硫苷作为自身的防御武器<sup>[40]</sup>。

## 3 天然硫苷抗虫应用研究

硫苷作为防御产物存在于植物的整个生命周期,植物在受到病虫害及各种环境胁迫时,通过不同防御机制进行防御,如茉莉酸、乙烯、水杨酸信号途径,促进硫苷的生成等<sup>[9]</sup>。昆虫取食后,植株受损部位硫苷的含量显著增加,甚至引起植株整体硫苷

水平的明显上升<sup>[41]</sup>。另外,硫苷也可以从植物的其他部位输送到食草动物取食或病原体感染部位<sup>[42]</sup>。但是,硫苷在生物学上是相对惰性的,硫苷存在于十字花科植物细胞的细胞质中,而芥子酶则存在于液泡中。当植物组织受到损伤时,硫苷会在芥子酶的作用下产生异硫氰酸酯、硫氰酸酯、腓类、咪唑烷和吲哚等大量的不同水解产物<sup>[20]</sup>。其中,硫苷的水解产物异硫氰酸酯对甘蓝蚜(*Brevicoryne brassicae*)、小菜蛾(*P. xylostella*)、棉铃虫(*Helicoverpa armigera*)等具有生物活性<sup>[43-45]</sup>。异硫氰酸酯提纯后制得的杀线虫剂效果可以媲美商业杀线虫剂<sup>[46]</sup>。硫苷-芥子酶是一种有效防御十字花科蔬菜害虫和病原体的系统<sup>[47]</sup>。硫苷及其降解产物通过减少昆虫总氧气的吸入和二氧化碳的呼出,抑制糖酵解-克雷布斯循环,改变昆虫的新陈代谢,导致昆虫生长缓慢甚至死亡<sup>[48]</sup>。氯虫苯甲酰胺和sinigrin混合物对4龄甜菜夜蛾(*Spodoptera exigua*)幼虫的毒力比单用氯虫苯甲酰胺处理的毒力高1.60倍,具有明显的增效作用<sup>[49]</sup>。龙葵和辣根提取物存在大量的硫苷,研究人员对2代昆虫进行测试发现,虽然其致死率较低,但对黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)产生长期影响,影响包括对黑腹果蝇的致死和亚致死效应,改变了成虫各个生长发育阶段的时间,造成了取食昆虫的畸形<sup>[50]</sup>。2018年,Agnihotri等<sup>[51]</sup>研究了硫苷分解物对棉铃虫生长发育的影响,对117个硫苷分子进行了测试。结果表明,食用含硫苷的植物后,昆虫的生长明显减慢20%~30%,生殖延迟10%~15%,繁殖力下降50%~80%,发育异常。另有研究发现,sinigrin被摄入后水解为异硫氰酸烯丙酯,能够引起昆虫发育迟缓和异常的现象。虽然同广食性昆虫相比,寡食性昆虫可以通过特有的解毒或者隔离等机制适应寄主植物含有的硫苷,但当硫苷含量超过一定数值时,也会对寡食性昆虫产生抑制作用<sup>[52]</sup>。2019年,Claros等<sup>[53]</sup>采用含硫苷的提取物和辣椒素对蚜虫(*Aphis cytisorum*)进行毒力试验。在实验室条件下,化合物的毒力随着浓度增加而增加,当蚜虫暴露于10%辣椒素、75%~100%硫苷或10%辣椒素、90%硫苷的混合物稀释液中,其死亡率为83%~99%;在田间喷洒5%辣椒素、50%硫苷或5%辣椒素、45%硫苷混合物,蚜虫死亡率为87%~97%。从实验室和田间试验中得到的结果是一致的,研究结果表明,基于辣椒素和硫苷混合物的生物杀虫剂可作为化学农药的有效替代品。2022年,王萌等<sup>[54]</sup>发现,高硫苷油菜晋黄芥对甘薯茎线虫病防治效果显著,能有效抑

制腐烂茎线虫对甘薯茎部和薯块的侵染,降低发病率和病情指数,同时促进了甘薯地上部和地下部的生长。

## 4 人工硫苷抗虫应用研究

### 4.1 合成导向农药

大部分的化学农药不具有选择性,它们在农业中的过量使用会造成土壤和地下水污染以及杂草、害虫、病原体抗性的产生,化学农药对农民的健康也存在潜在的有害影响<sup>[55]</sup>。目前,减少农药使用以减轻对健康和环境的不利影响是农业政策的重中之重,化学农药的合成也要具有针对性<sup>[56]</sup>。在云杉根部施用印楝素,其会在云杉顶部累积,受到这种现象启发,徐汉虹教授在2004年提出了导向农药的理念,即农药有效成分与导向载体偶联后能在植物体内向病虫害为害部位或为害伤口定向累积的农药制剂,旨在提高药剂在植物体内的内吸传导性,从而提高农药利用率<sup>[57]</sup>。经过多年的研究发展,目前,导向农药已取得了明显的进展,逐步形成了糖基导向农药、氨基酸导向农药和植物生长激素导向农药的研究方向。新农药的创制是具有重要意义的工作,以导向农药理念为指导,将商品化农药和硫苷基团结合从而人工合成导向农药。设计合成的一系列新硫苷化合物,将加快导向农药的研发进程。2023年,Wen等<sup>[58]</sup>基于百菌清合成了一种对硫代葡萄糖苷转运蛋白有效抑制的人工硫代葡萄糖苷(TCPG)。TCPG是一种未被描述的GSL摄取和韧皮部转运抑制剂,这为GSL转运蛋白GTR配体识别带来了新的见解,并提供了一种控制GSL水平的新策略。

### 4.2 合成GSS抑制剂

硫代葡萄糖苷-黑芥子酶系统是十字花科植物特有的双组分防御系统。为了避开硫代葡萄糖苷-黑芥子酶系统,小菜蛾可迅速通过肠道中的GSS将硫代葡萄糖苷脱硫为无害化合物。2022年,Li等<sup>[59]</sup>通过虚拟筛选、分子对接分析和体外酶抑制测定鉴定了一种有效的GSS抑制剂。GSS抑制剂会损害小菜蛾的解毒能力,导致有毒异硫氰酸酯在幼虫体内系统性积累,从而严重影响小菜蛾的摄食、生长、生存和繁殖。同时发现,GSS抑制剂是一种新型友好杀虫剂,可利用植物硫代葡萄糖苷-黑芥子酶系统控制小菜蛾,促进杀虫剂-植物化学防御组合策略的发展。2023年,Li等<sup>[60]</sup>进一步研究合成了8种含有金刚烷基的氨基磺酸盐衍生物作为新型GSS抑制剂。其中,Adam-20-S表现出最有效的GSS抑制活性,IC<sub>50</sub>

为9.04 mg/L。Adam-20-S对GSS的抑制会损害芥子油苷代谢,从而在小菜蛾体内产生毒力更强的异硫氰酸酯。因此,小菜蛾取食寄主植物时,其生长发育受到显著阻碍。他们的研究可能有助于促进将昆虫解毒酶抑制剂与植物化学防御相结合的综合害虫管理策略的制定。

## 5 结论与展望

推进绿色兴农、农药减量增效的必由之路之一是创制高效、低毒、环境友好型绿色农药。通过多年努力,我国已创制出多个绿色农药新品种,农药创制研究取得了长足的进步,但是具有全新分子骨架和全新作用机制的原创性新农药依旧十分匮乏,创制品种基本类属于“me-too”类创新<sup>[61]</sup>。基于低毒、环保的特性,天然源农药已成为新农药开发的一个重要方向,符合农药应用发展趋势。目前,已有研究证实,硫苷类化合物具备农药开发的良好潜力。在现有硫苷类化合物研究基础上,通过进一步探索,有望研发出一系列具有自主知识产权的新农药品种,以提升我国的农药创制能力。

### 参考文献

- [1] 杜骏骁,姚满昌,朱珠. 抗击肺炎疫情 发展绿色蔬菜[J]. 长江蔬菜, 2020(6): 10-11.
- [2] SAVARY S, WILLOQUET L, PETHYBRIDGE S J, et al. The global burden of pathogens and pests on major food crops[J]. Nat Ecol Evol, 2019, 3: 430-439.
- [3] DEUTSCH C A, TEWKSBURY J J, TIGCHELAAR M, et al. Increase in crop losses to insect pests in a warming climate[J]. Science, 2018, 361: 916-919.
- [4] LIU Z, WANG H, XIE J, et al. The roles of gluciferase glucosinolates in disease and pest resistance[J]. Plants, 2021, 10(6): 1097.
- [5] 黄超艳,黄小玲,张武鸣,等. 十字花科蔬菜农药减量技术应用效果分析[J]. 江西农业, 2017(21): 20-21.
- [6] 董小琦,康兆勇,刘胜男,等. 新型植物源天然产物杀虫剂研究进展[J]. 农药学报, 2023, 25(5): 969-989.
- [7] 房正奇,高栓虎,何海兵. 天然产物:农药新靶标与农药创制间的桥梁[J]. 华东师范大学学报(自然科学版), 2023(1): 21-30.
- [8] 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.
- [9] SPARKS T C, SPARKS J M, DUKE S O. Natural product-based crop protection compounds—origins and future prospects[J]. J Agric Food Chem, 2023, 71(5): 2259-2269.
- [10] 李鲜,陈昆松,张明方,等. 十字花科植物中硫代葡萄糖苷的研究进展[J]. 园艺学报, 2006, 33(3): 675-679.
- [11] ZANG Y, KIM H U, KIM J A, et al. Genome-wide identification of glucosinolate synthesis genes in *Brassica rapa*[J]. FEBS J, 2009,

- 276(13): 3559-3574.
- [12] BLAZEVIC I, MONTAUT S, BURCUL F, et al. Glucosinolate structural diversity, identification, chemical synthesis and metabolism in plants[J]. *Phytochemistry*, 2020, 169: 112100.
- [13] VAN E C H, TOOKEY H L. *Chemistry and biological effects of glucosinolates*[M]. New York: Academic Press, 1979.
- [14] FENWICK G R, HEANEY R K, MULLIN W J. Glucosinolates and their breakdown products in food and food plants[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 1983, 18(2): 123-201.
- [15] HANLEY A B, HEANEY R K, FENWICK G R. Improved isolation of glucobrassicin and other glucosinolates[J]. *J Sci Food Agr*, 1983, 34(8): 869-873.
- [16] 吴媛媛. 烯丙基硫苷提取检测体系及油菜高烯丙基硫苷细胞系建立的研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2009.
- [17] FAHEY J W, ZALCMANN A T, TALALAY P. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants[J]. *Phytochemistry*, 2001, 56(1): 45-51.
- [18] SONDERBY I E, GEU-FLORES F, HALKIER B A. Biosynthesis of glucosinolates-gene discovery and beyond[J]. *Trends Plant Sci*, 2010, 15: 283-290.
- [19] BEKAERT M, EDGER P P, HUDSON C M, et al. Metabolic and evolutionary costs of herbivory defense: systems biology of glucosinolate synthesis[J]. *New Phytol*, 2012, 196: 596-605.
- [20] 田艳, 邓放明, 卿志星, 等. 十字花科植物中硫代葡萄糖苷类物质的结构与功能研究进展[J]. *食品科学*, 2020, 41(1): 292-303.
- [21] BASSARD J E, HALKIER B A. How to prove the existence of metabolons?[J]. *Phytochem Rev*, 2018, 17(2): 211-227.
- [22] 郑建仙. *植物活性成分开发*[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005: 1-6.
- [23] CELENZA J L, QUIEL J A, SMOLEN G A, et al. The arabidopsis ATR1 *Myb* transcription factor controls indolic glucosinolate homeostasis[J]. *Plant Physiol*, 2005, 137: 253-262.
- [24] GIGOLASHVILI T, YATUSEVICH R, BERGER B, et al. The *R2R3-MYB* transcription factor *HAG1/MYB28* is a regulator of methionine-derived glucosinolate biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant J*, 2007, 51: 247-261.
- [25] WANG Y, PAN Y, LIU Z, et al. De novo transcriptome sequencing of radish (*Raphanus sativus* L.) and analysis of major genes involved in glucosinolate metabolism[J]. *BMC Genomics*, 2013, 14: 836.
- [26] ETTLINGER M G, LUNDEEN A J. First synthesis of a mustard oil glucoside; the enzymatic lossen rearrangement[J]. *J Am Chem Soc*, 1957, 79(7): 199-227.
- [27] BENN M H. A new mustard oil glucoside synthesis: the synthesis of glucotropaeolin[J]. *Can J Chem*, 1963, 41: 2836-2838.
- [28] BLANC-MUESSE M, DRIGUEZ H, JOSEPH B, et al. First synthesis of alpha glucosinolates[J]. *Tetrahedron Lett*, 1990, 31(27): 3867-3868.
- [29] YAMAZOE S, HASEGAWA K, SHIGEMORI H. First total synthesis of 4-methylthio-3-butenyl glucosinolate[J]. *Biosci Biotech Biochem*, 2009, 73(3): 785-787.
- [30] COBB S E, MORGAN K F, BOTTING N P. An improved procedure for the preparation of  $\beta$ -thiohydroximates for glucosinolate synthesis[J]. *Tetrahedron Lett*, 2011, 52(14): 1605-1607.
- [31] VO Q V, TRENERRY C, ROCHFORD S, et al. Synthesis and anti-inflammatory activity of aromatic glucosinolates[J]. *Bioorg Med Chem*, 2013, 21(19): 5945-5954.
- [32] GLINDEMANN C P, BACKENKÖHLER A, STRIEKER M, et al. Synthesis and biochemical evaluation of an artificial, fluorescent glucosinolate (GSL)[J]. *Chem Bio Chem*, 2019, 20(18): 2341-2345.
- [33] LICHTENSTEIN E P, MORGAN D G, MUELLER C H. Insecticides in nature, naturally occurring insecticides in cruciferous crops[J]. *Agric Food Chem*, 1964, 12(2): 158-161.
- [34] WITTSTOCK U, AGERBIRK N, STAUBER E J, et al. Successful herbivore attack due to metabolic diversion of a plant chemical defense[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(14): 4859-4864.
- [35] RATZKA A, VOGEL H, KLIEBENSTEIN D J, et al. Disarming the mustard oil bomb[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(17): 11223-11228.
- [36] SCHRAMM K, VASSAO D G, REICHELT M, et al. Metabolism of glucosinolate-derived isothiocyanates to glutathione conjugates in generalist lepidopteran herbivores[J]. *Insect Biochem Molec*, 2012, 42(3): 174-182.
- [37] BRIDGES M, JONES A M, BONES A M, et al. Spatial organization of the glucosinolate-myrosinase system in brassica specialist aphids is similar to that of the host plant[J]. *Proc Biol Sci*, 2002, 269(1): 187-191.
- [38] WINDE I, WITTSTOCK U. Insect herbivore counteradaptations to the plant glucosinolate-myrosinase system[J]. *Phytochemistry*, 2011, 72(13): 1566-1575.
- [39] KIM J H, LEE B W, SCHROEDER F C, et al. Identification of indole glucosinolate breakdown products with antifeedant effects on *Myzus persicae* (green peach aphid)[J]. *Plant J*, 2008, 54(6): 1015-1026.
- [40] ALIABADI A, ALAN J, RENWICK A, et al. Sequestration of glucosinolates by harlequin bug *Murgantia histrionica*[J]. *J Chem Ecol*, 2002, 28(9): 1749-1762.
- [41] 李阳. 硫苷介导的十字花科蔬菜抗虫性及芥菜和黑芥硫苷合成相关基因的研究[D]. 杭州: 浙江农林大学, 2019.
- [42] ELLERBROCK B, KIM J H, JANDER G. Contribution of glucosinolate transport to Arabidopsis defense responses[J]. *Plant Signal Behav*, 2007, 2: 282-283.
- [43] AHUJA I, OHLOFF J, BONES A M. Defence mechanisms of brassicaceae: implications for plant-insect interactions and potential for integrated pest management[J]. *Sustain Agr*, 2011, 30(2): 311-348.
- [44] WINDE I, WITTSTOCK U. Insect herbivore counteradaptations to the plant glucosinolate-myrosinase system[J]. *Phytochemistry*, 2011, 72(13): 1566-1575.
- [45] ALI J G, AGRAWAL A A. Specialist versus generalist insect herbivores and plant defense[J]. *Trends Plant Sci*, 2012, 17(5): 293-302.
- [46] LICHTENSTEIN E P, MORGAN D G, MUELLER C H.

(下转第 58 页)

( $\geq 20^{\circ}\text{C}$ ) ,亚硝酸异丙酯滴加的速率必然减慢 ,使得总的反应时间延长。同时 ,HPLC跟踪检测发现 ,温度过高 ,副产物增多 ,导致产品含量降低。因此 ,优选反应温度为 $5\sim 10^{\circ}\text{C}$  ,反应时间为4 h。

### 2.3 甲基化反应温度对产品收率和含量的影响

在优化的脲化反应工艺条件下 ,确定甲基化反应时间为2 h ,考察甲基化反应温度对产品收率和含量的影响 ,结果见图3。

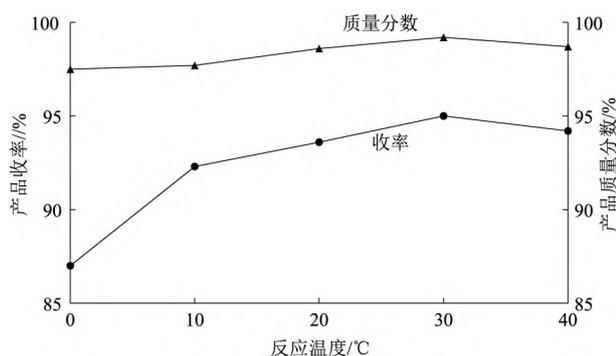


图3 甲基化反应温度对产品收率和含量的影响

从图3可以看出 :当反应温度较低时( $0^{\circ}\text{C}$ ) ,由于反应速率较慢 ,原料反应不充分 ,导致产品收率

和含量均较低 ;当反应温度较高时( $40^{\circ}\text{C}$ ) ,氯甲烷气体溢出较快 ,同时有副反应发生 ,影响产品的收率和含量。因此 ,甲基化反应温度优选 $25\sim 30^{\circ}\text{C}$ 。

### 3 结论

以1-氰乙酰基-3-乙基脲为原料 ,与亚硝酸异丙酯经脲化反应得到2-氰基-2-脲基-N-[(乙胺基)羰基]乙酰胺钠盐 ,脲化反应温度 $5\sim 10^{\circ}\text{C}$  ,反应时间4 h ;然后在催化剂存在下 ,与氯甲烷进行甲基化反应 ,得到目标产物霜脲氰 ,甲基化反应温度 $25\sim 30^{\circ}\text{C}$ 。在优化的工艺条件下 ,产品收率在95%以上 ,产品质量分数可达99%。与传统合成路线相比 ,改进后工艺路线的产品收率高 ,“三废”量少 ,操作流程简单 ,绿色环保安全 ,适合工业化应用。

#### 参考文献

- [1] 刘长令. 世界农药大全 杀菌剂卷[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006: 324-325.
- [2] 彭永冰, 刘风萍, 方仁慈, 等. 新杀菌剂霜脲氰的开发研究[J]. 农药, 1991, 30(4): 14-15.
- [3] 贺凯旋. 亚硝酸酯类促进的惰性化学键活化反应研究[D]. 江苏扬州: 扬州大学, 2019.

(编辑: 顾林玲)

(上接第 55 页)

Insecticides in nature, naturally occurring insecticides in cruciferous crops[J]. Agric Food Chem, 1964, 12(2): 158-161.

[47] ALAN J, RENWICK A. The cchemical world of crucivores: lures, treats and traps[J]. Entomol Exp Appl, 2002, 104: 35-42.

[48] 陈亚州, 阎秀峰. 芥子油苷在植物-生物环境关系中的作用[J]. 生态学报, 2007(6): 2584-2593.

[49] WANG X G, GAO X W, LIANG P, et al. Induction of cytochrome P450 activity by the interaction of chlorantraniliprole and sinigrin in the *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae)[J]. Environ Entomol, 2016, 45(2): 500-507.

[50] CHOWANSKI S, CHUDZINSKA E, LELARIO F, et al. Insecticidal properties of *Solanum nigrum* and *Azadirachta indica* extracts on reproduction and development of *Drosophila melanogaster* [J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2018, 162: 454-463.

[51] AGNIHOTRI A R, HULAGABALI C V, ADHAV A S, et al. Mechanistic insight in potential dual role of sinigrin against *Helicoverpa armigera*[J]. Phytochemistry, 2018, 145: 121-127.

[52] BERAN F, KOLLNER T G, GERSHENZON J, et al. Chemical convergence between plants and insects: biosynthetic origins and functions of common secondary metabolites[J]. New Phytol, 2019, 223(1): 52-67.

[53] CLAROS C J L, PINILLOS E O, TITO R, et al. Insecticidal properties of capsaicinoids and glucosinolates extracted from *Capsicum chinense* and *Tropaeolum tuberosum*[J]. Insects, 2019,

10(5): 132.

[54] 王萌, 解红娥, 王凌云, 等. 高硫苷油菜对甘薯茎线虫病的防治效果[J]. 江苏农业科学, 2022, 50(11): 119-123.

[55] SHAMMI M, SULTANA A, HASAN N, et al. Pesticide exposures towards health and environmental hazard in Bangladesh: a case study on farmers' perception[J]. J Saudi Soc Agric Sci, 2020, 19(2): 161-173.

[56] MOHRING N, BOZZOLA M, HIRSCH S, et al. Are pesticides risk decreasing? The relevance of pesticide indicator choice in empirical analysis[J]. Agr Econ-Blackwell, 2020, 51(3): 429-444.

[57] 徐汉虹, 张志祥, 程东美, 等. 导向农药[J]. 世界农药, 2004(5): 3-9.

[58] WEN Y J, JIANG X Y, LI D H, et al. Synthesis and characterization of an artificial glucosinolate bearing a chlorthalonil-based aglycon as a potent inhibitor of glucosinolate transporters[J]. Phytochem, 2023, 212: 113726.

[59] LI D H, WEN Y J, OU Z Y, et al. Inhibitor of glucosinolate sulfatases as a potential friendly insecticide to control *Plutella xylostella*[J]. J Agric Food Chem, 2022, 70: 13528-13537.

[60] LI D H, SEYED-OMAR Z, RAWAN M. et al. Synthesis and biological activity of sulfamate-adamantane derivatives as glucosinolate sulfatase inhibitors[J]. J Agric Food Chem, 2023, 71: 15476-15484.

[61] 袁治理, 叶文武, 侯毅平, 等. 我国绿色农药研究现状及发展建议[J]. 中国科学: 生命科学, 2023, 53: 1643-1662.

(编辑: 顾林玲)