[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int.Cl[7]
A01N 27/00
A01N 37/10
//(A01N37/10,43:08)

[12]发明专利说明书

[21] ZL 专利号 93102510.9

[45]授权公告日 2000 年 11 月 15 日

[11]授权公告号 CN 1058369C

[22]申请日 1993.2.6 [24]颁证日 2000.8.19
[21]申请号 93102510.9
[30]优先权
[32]1992.2.7 [33]JP [31]22203/1992
[32]1992.12.11[33]JP [31]331755/1992
[73]专利权人 株式会社共立
地址 日本东京
[72]发明人 菅隆幸
[56]参考文献

JP3052805	1991. 3. 7	A01N25/06
JP63104905	1988. 5.10	A01N65/00
JP63159302	1988. 7. 2	A01N65/00
JP63264510	1988.11. 1	A0W65/00

审查员 毕文倩

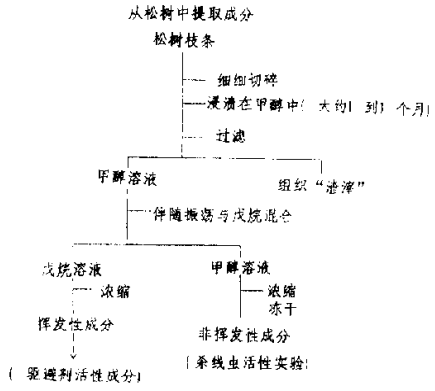
[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 马崇德

权利要求书 1 页 说明书 41 页 附图页数 3 页

[54]发明名称 对抗松木线虫的害物防治化学品

[57]摘要

公开的是(1)含有用有机溶剂从松树中的提取物的对抗松木线虫的害物防治 化学品,(2)含有 α－律草稀或 α－律草烯和 β－红没药烯混合物的对抗松 木线虫的驱避剂,(3)含有 α－蒎烯和白菖油萜的对抗松木线虫的驱避剂, (4)含有阿魏酸甲基酯,(＋)—松脂酚或它的混合物的对抗松木线虫的杀 线虫剂,和(5)含有羟基芪或它的盐的对抗松木线虫的高效的害物防治化学 品,羟基芪的制备是通过 Wittig－Horner 反应从磷酸苯甲基酯和甲氧基苯甲醛合成甲氧基芪,进行去甲基化化反应获得羟基芪,且如果需要通 过常规的方法制备它的盐。



ISSN1008-4274

权 利 要 求 书

1.对抗松木线虫的害物防治化学品，其中包含用有机溶剂从松树中的提取物，其中所述的松树选自美洲五叶松、美国长叶松、短叶松、火炬松、湿地松、刚松和马尾松。

2.根据权利要求 1 的害物防治化学品，其中所述松树选自美洲五叶松、美国长叶松和马尾松。

3.根据权利要求 1 的害物防治化学品，其中所述的有机溶剂选自醇、烃、氯化烃、乙酸酯和酮。

4.根据权利要求 1 的害物防治化学品，其中有机溶剂提取物包括α-蒎草烯或α-蒎草烯和β-红没药烯的混合物。

5.根据权利要求 1 的害物防治化学品，其中有机溶剂提取物包括α-蒎烯和白菖油萜的混合物。

6.根据权利要求 1 的害物防治化学品，其中有机溶剂提取物包括阿魏酸甲基酯，(+)-松脂酚或它们的混合物。

7.根据权利要求 1 的害物防治化学品，其中有机溶剂提取物包括羟基芪或它的盐。

说　明　书

对抗松木线虫的害物防治化学品

本发明涉及防治松木线虫（Bursaphelenchus xylophilus Mamiya和Kiyohara）的害物防治化学品，且特别涉及对抗松木线虫的驱避剂和杀线虫剂，它含有包含在松树如马尾松（Pinus massoniana Lamb），美洲五叶松（Pinus strobus L）和美国长叶松（Pinus palustris Mill）中的物质，对抗松木线虫的含有羟基芪的杀线虫剂，以及合成羟基芪的方法。

已经知道，松木线虫，食菌线虫，进入植物组织并繁殖而引起松树死亡。

松木线虫引起松树死亡的机理被认为如下述：

a）伴随松木线虫的侵染，在松树中会产生毒素（植物抗毒素）如苯甲酸（1），儿茶酚（2），二氢松柏醇（3），8－羟基香芹鞣酮（4）和10－羟基马鞭草烯酮；

b）线虫分泌纤维素酶；

c）线虫侵后，松树的管胞被α－蒎烯和β－蒎烯的非常态积累所堵塞，且

d）线虫侵染后，通过在松树内繁殖的霉菌分泌毒素。

松木线虫是通过有害的昆虫如松天牛（Monochamus alternatus Hope）传播到松树上的。

防止松树死亡松木线虫的现有技术主要包括（1）在松天牛从受

害树逃出带走线虫之前砍倒受害的树以消灭在受害树上的卵、蛹和成虫，这种作法直接造成松树的死亡，和（２）施用杀虫剂（喷洒和散布农药）以防止松天牛孵化后长大成熟并逃逸。这里采用的杀虫剂包括有机磷杀虫剂，西维因（１－萘基－Ｎ－甲苯氨基甲酸酯），稻丰散（二甲基二硫磷酰基苯基乙酸乙酯），二溴乙烷（１，２－二溴乙烷），倍硫磷（Ｏ，Ｏ－二甲基－Ｏ－［３－甲基－４－（硫代甲基）苯基］硫代磷酸酯和杀螟松（二甲基（３－甲基－４－硝基苯基）硫代磷酸酯）。

除了上述用于松天牛的杀虫剂外，在松树上直接消灭松木线虫的杀线虫剂包括盐酸左咪唑剂，其中含有盐酸左咪唑作为主要的杀虫剂成分（商品名："Century"，Mitsubishi Petrochemical Co. ＬＴＤ.，日本），mesulfenfos（商品名"Nemanon"，Nihon Bayer Agro Chem. K/K,日本）和噻吩乙烯嘧啶酒石酸盐（商品名："Greenguard"，Fizer Pharmaceutical INC，日本）。

消灭松天牛的现有技术中存在以下问题：

（１）需要大量的劳动力。

（２）由于每年松天牛孵化和逃逸的时间不同，很难决定施用杀虫剂的适当时机。

（３）杀虫剂的效果逐渐降低。

（４）在森林和田地，为了获得灭生的效果，每单位面积需要的剂量通常是用于农业上的１０倍。

（５）社会问题如在土壤中和水系统中残留杀虫剂，以及对生态系统的影响，如周围的动物和植物。

由于这些问题不能够获得足够的防治效果。

（6）以前合成的，用于在树木上直接消灭松木线虫的杀线虫剂是有效的，但是由于它们的毒性在安全上存在问题。

到目前为止完全不知道用有机溶剂提取松树的提取物，提取的化合物或羟基芪是控制松木线虫的有效的害物防治化学品。

作为消灭松木线虫深入研究的结果，本发明人发现马尾松，美洲五叶松和美国长叶松包含具有驱避活性和杀线虫活性的物质，以对抗松木线虫，这些物质在安全性方面不存在问题，且羟基芪具有抗松木线虫活性，如此完成了本发明。本发明的对抗松木线虫的害物防治化学品具有对付松木线虫的驱避、杀线虫作用和活性，因此包括后述两种药剂。

本发明提供了（1）用有机溶剂从松树中提取的，对抗松木线虫的病虫害防治化学品，（2）含α－蒈草烯或α－蒈草烯和β－红没药烯混合物的，对抗松木线虫的驱避剂，（3）包含α－蒎烯和白菖油萜混合物的，对抗松木线虫的驱避剂、（4）包含阿魏酸甲基酯，（－）－松脂酚或它的混合物的，对抗松木线虫的杀线虫剂，（5）包含羟基芪或它的盐的对抗松木线虫的杀线虫剂，和（6）制备羟基芪或它的盐的方法，其中包括采用Wittig－Horner反应，从磷酸苯甲酯和甲氧基苯甲醛合成甲氧基芪，进行去甲基化反应获得羟基芪，且如果需要通过常规方法制备它的盐。

图1表示从松树中提取活性成分工艺的流程图；

图2表示从美洲五叶松中提取抗松木线虫的具有杀线虫活性物质的工艺流程图；且

图3表示提取对抗松木线虫的，具有杀线虫活性的，并存在于美洲五叶松芯材中的物质的工艺流程图。

从松木中提取活性成分时采用的有机溶剂包括醇类，如甲醇、乙醇、丁醇；酯类如乙酸乙酯、乙酸甲酯；烃类如戊烷、己烷、庚烷；

卤代烃如氯仿、二氯甲烷；芳香烃如苯、甲苯；醚类如乙醚、甲醚、甲基乙基醚和酮类如丙酮、甲基乙基酮。

通过示于图1的方法，用有机溶剂从松木中提取活性成分。将松树枝细细切碎，并在室温到55℃下，浸渍在甲醇中大约1到3月，接着过滤。由此获得的甲醇溶液伴随振荡与戊烷混合，并从戊烷部分中分离甲醇层。浓缩甲醇溶液并冷冻干燥得到不挥发成分。所得的非挥发成分是具有木材味道的、粘稠的棕色块。另一方面，浓缩戊烷溶液获得挥发成分，挥发成分是棕色油且旋光度为 $[\alpha]_D^{25}$ −6.0°（C5.9，$CHCl_3$）。上述非挥发成分如下述进一步处理。

接着，对非挥发性成分，对抗松木线虫的杀线虫活性和被测松树对抗松木线虫的抗性示于表1。

根据下述的方法，对杀线虫活性进行测定：

1）大约300头繁殖的松木线虫培养在甘蓍灰霉僵腐病（Botorytis cinerea）菌落上，将其放到塑料培替氏皿上以计数（直径5.5cm）。

2）将样品溶于2%乙醇溶液，分别制备浓度为1，000ppm，100ppm和10ppm的供试溶液。

3）将4ml每种供试溶液倒入上述已放入线虫的培替氏皿中。作为对照的是2%乙醇溶液，其中未采用溶解的样品。

4）在10℃使供试溶液静置在黑暗中，并在立体显微镜下每24小时记录活动的线虫数，记录3天，由此确定存活率。对每种溶液，在相同条件下重复5次实验，且由此测定平均值，将它作为平均存活率。在这种情况下，在对照试验溶液中的线虫的平均存活率是99.5%，且每次它的标准误差是±3%。

5）用相对的死亡率表示杀线虫的活性。通过下述的公式确定相对的死亡率：

$$\text{相对死亡率}(\%) = 100 - \frac{\text{样品溶液中平均存活率}}{\text{对照溶液中平均存活率}} \times 100$$

对松木线虫的抗性，采用的是在Shinrin Byochu-jugai Bojo-gijutsu，321页（1981）（日本森林保护协会出版）中公开的数据。

表 1

松树（树枝）中含有的非挥发性成分的杀线虫活性和松树对松木线虫的抗性

松 树	相对死亡率（%）(1000ppm) 一天后	抗性等级
美洲五叶松	54.1	高 抗
美国长叶松	45.1	高 抗
短叶松	38.3	抗
火炬松	37.0	高 抗
马尾松	36.8	抗
湿地松(Pinus elliottii L.)	34.4	抗
刚松（Pinus rigida Mill）	27.2	抗
欧洲赤松	6.3	高敏感
日本赤松	0.0	敏感
日本黑松	0.0	高敏感

（示于表1的抗性数据引证于Shinrin Byochu-jugai Bojo-gijutsu，日本森林保护协会公开。）

从表1所示结果清楚地说明美洲五叶松、美国长叶松、马尾松、短叶松（Pinus echinata Mill.），火炬松（Pinus taeda L.）

和Pinus elliottii L 松树包含具有抗松木线虫的杀线虫活性物质。

因此，上述从美洲五叶松树皮和芯材获得的非挥发性成分，根据示于图 2 的方法进一步处理，得到四种馏分。对这些馏分，测定了抗木线虫的杀线虫活性。实验根据上述的方法进行。实验的结果在表 2 中给出。该结果揭示出，杀线虫包含在松树的芯材中。

进一步的，它们揭示出杀线虫包含在氯仿可溶馏分，乙酸乙酯可溶馏分和丁醇可溶馏分。

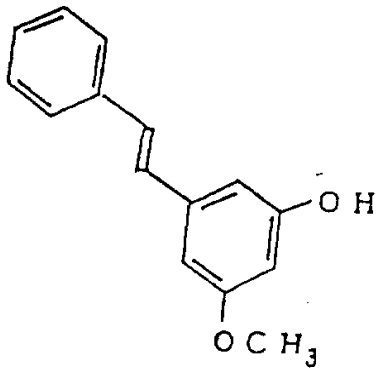
表 2

从美洲五叶松树皮和芯材获得的四种馏分的抗松木线虫的杀线虫活性

馏分	相对死亡率（%）（10000ppm）	
	树皮（1.3Kg）	芯材（11.2Kg）
乙酸乙酯可溶馏分	56.6（8.2g）	99.8（82.1g）
氯仿可溶馏分	0.0（28.5g）	100 （10.1g）
丁醇可溶馏分	62.1（24.1g）	94.5（17.3g）
水溶馏分	0.0（28.4g）	0.0（36.5g）

随后，根据示于图 3 的方法处理美洲五叶松的芯材，以获得乙酸乙酯可溶馏分和丁醇可溶馏分。此后，乙酸乙酯可溶馏分进行硅胶色谱得到两个活性馏分A－1和A－2。另一方面，丁醇可溶馏分进行凝胶过滤色谱，硅胶色谱和随后的高效液相制备色谱，由此获得通过

下式表示的赤松素单甲基醚：



赤松素单甲基醚

对根据下述方法从马尾松中获得的本发明的阿魏酸甲基酯，（＋）－松脂酚和赤松素单甲基醚，和对农药，“Century”（商品名：Mitsubishi Petrochemical Co., LTD.，日本），测定杀线虫活性。实验如上述进行。实验结果示于表3。

表　　3

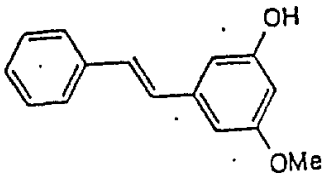
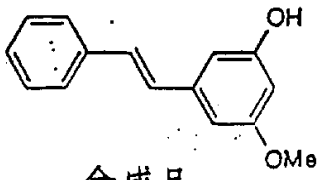
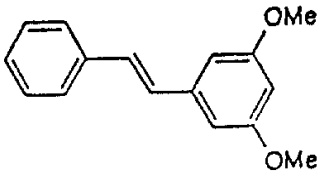
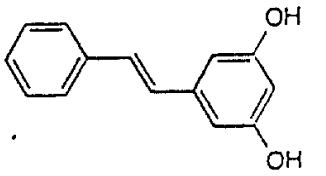
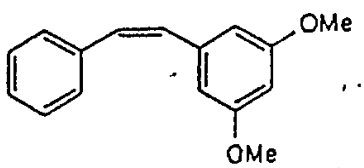
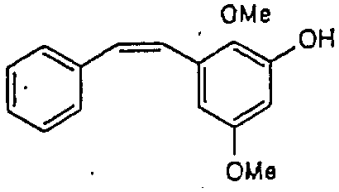
从美洲五叶松和马尾松中获得的物质具有的抗松木线虫的杀线虫活性

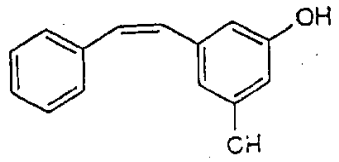
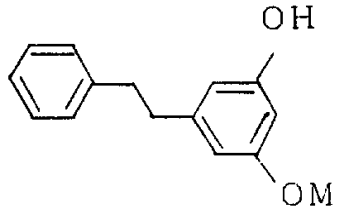
	浓　度 (ppm)	相对死亡率（%） 1天后	2天后	3天后
美洲五叶松				
A 1	100	43.8	49.1	
A 2	100	41.5	57.8	
马尾松				
阿魏酸甲基酯	100	20.6	45.5	82.7
（＋）－松脂酚	100	23.0	46.9	62.7
赤松素单甲基醚				
	10	100	100	
	5	32.7	35.5	
	4	26.6	28.6	
农药，				
“Century”	100	88.5	89.4	91.6
	10	41.9	51.7	54.1

赤松素单甲基醚和此外结构类似的它的衍生物的杀线虫活性在表4中给出。

表 4

相对死亡率（%）

	浓度 (ppm)	1天后	2天后
	10	100	100
	5	32.7	35.5
天然物			
	10	100	100
	5	86.9	87.8
合成品	4	48.0	49.0
	100	5.2	14.1
	50	1.2	3.5
	100	100	100
	50	67.5	68.8
	10	11.6	12.0
	100	56.3	56.3
	50	44.7	43.5
	50	100	100
	10	10.5	9.1
	5	5.6	4.4

	100	0	0.5
	100	100	100
	50	48.7	48.3

在防治松木线虫的害物防治化学品中，含有这些提取物，提取成分的含量为1到2%，且提取成分与其它已知载体结合使用。

本发明驱避剂成分之一的α－葎草烯，存在于马尾松的芯材中，且是通过用有机溶剂提取马尾松芯材而得到，有机溶剂如醇类、酯类、烃类、卤代烃类、芳香烃类、醚类和酮类。

由此获得的α－葎草烯具有的对抗松木线虫（第4阶段）的驱避活性在表5中给出。

测试驱避剂活性的方法将在下面叙述。

本发明的驱避剂包含数量为1到2%的与其它已知载体结合的α－葎草烯。

含α－葎草烯和β－红没药烯的组合物能提高驱避活性。尽管β－红没药烯的量不被限定，但它优选的量是α－葎草烯的大约30至50%。

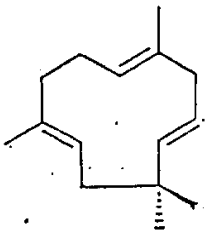
与α－葎草烯不同的，且具有对抗松木线虫驱避剂活性的萜烯烃类包括α－蒎烯、β－布藜烯和白菖油萜。

进一步的，通过例如下述的方法，获得显示出对抗松木线虫驱避

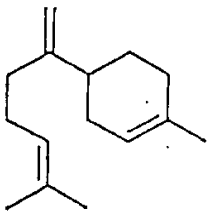
活性的萜烯烃的混合物。

根据示于图1的方法处理马尾松的芯材（13Kg），得到挥发性成分（14g）。将挥发性成分反复进行硅胶色谱分离，得到混合物I（1.1g）[α－葎草烯（60%）＋β－红没药烯（40%）]和混合物II（1.5g）[α－蒎烯（60%）＋白蒿油萜(40%)]，每种都是显示出对抗松木线虫驱避活性的两种萜烯烃的混合物。

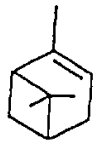
这些化合物通过下式表示：



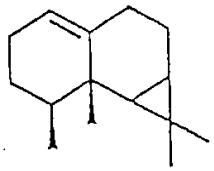
α－葎草烯



β－红没药烯



α－蒎烯



白蒿烯

如以下所示，测定这些萜烯烃对抗松木线虫的驱避活性。

将测定对抗松木线虫吸引活性的方法（T－试管法）[M. Ishikawa, Y. Shuto 和H. Watanabe, Agric. Biol. Chem., 50, 1863（1986）]部分地修改，经测定对抗松木线虫的驱避活性（表4和5）。

即，在Watanabe 方法中，使样品吸附到沸石上、并将空气吹至沸石的表面，由此扩散样品的蒸气。与之对比，在本发明中，样品事先溶于表面活性剂（0.1%Triton X-100）的水溶液中，并将通过活性碳过滤纯化的空气吹入溶液，由此扩散样品的蒸气。这使得进行长为18小时的活性实验成为可能（在这种情况下的Watanabe方法是3小时），由此可获得重复性更好的数据。通过从松天牛中分离获得传播松木线虫，松天牛在六月至八月间长翅并从松树上逃逸。松木线虫（所有阶段）的繁殖与在上述测定杀线虫活性中采用的方法相同。

实验的结果在表5和表6中给出。

表 5

α-葎草烯对松木线虫的驱避活性

	驱避指数	
	传播线虫	繁殖线虫
α-葎草烯	26.7±5.8	10.5±4.6

$$\text{驱避指数} = \frac{\text{对照方面的线虫数} - \text{样品方面的线虫数}}{\text{对照方面的线虫数} + \text{样品方面的线虫数}} \times 100\%$$

通过T－试管方法对驱避剂进行测定。

实验至少重复5次。

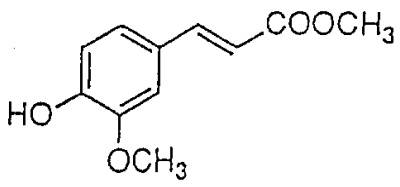
表　6

萜烯烃混合物对传播线虫的驱避活性

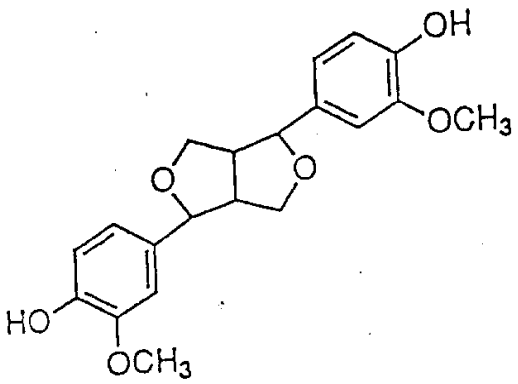
混　合　物	驱　避　活　性	
（A）α－蒎草烯（60%）	+47.1	±19.3
β－红没药烯（40%）		
（B）α－蒎烯（60%）	+44.5	±18.4
白菖油萜（40%）		

加入β－红没药烯到α－蒎草烯中显示出较强的驱避活性。

通过下式表示的阿魏酸甲基酯和（+）－松脂酚，具有对抗繁殖的松木线虫的杀线虫活性，且是从马尾松外皮中获得。



阿魏酸甲基酯



（＋）－松脂酚

通过处理马尾松皮获得这些化合物，这些化合物的分离和提取采用上述类似的方法，采用相同的有机溶剂。

阿魏酸甲基酯还可通过市售的阿魏酸与重氮甲烷的甲基化作用而制备。

对这些化合物，测定了对抗繁殖松木线虫的杀线虫活性。实验方法与上述相同。

实验结果在表 7 和表 8 中给出。

表　7

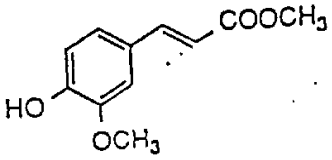
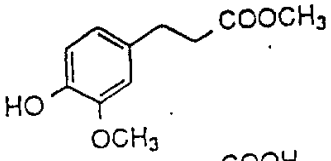
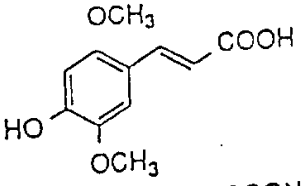
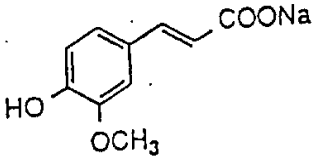
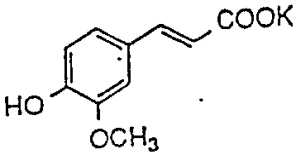
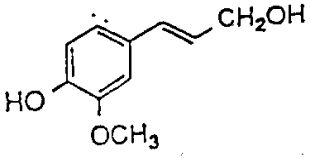
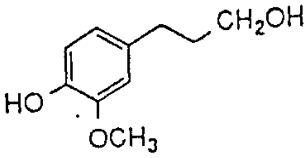
对抗繁殖的松木线虫的杀线虫活性

	相对死亡率（%）（100ppm）		
	一天后	二天后	三天后
阿魏酸甲基酯	20.6	45.5	82.7
（+）-松脂酚	23.0	46.9	62.7
农　药 “Century”	88.5	89.4	91.6

$$\text{相对死亡率（\%）} = 100 - \frac{\text{样品溶液中线虫的存活率}}{\text{对照溶液中线虫的存活率}} \times 100$$

表 8

阿魏酸甲基酯和其六个衍生物，对抗松木线虫的杀线虫活性

	相对死亡率（%）（100ppm）		
	1天后	2天后	3天后
	38.2	51.2	82.7
	35.4	50.5	61.0
	29.6	34.9	43.8
	12.3	14.2	6.3
	2.2	10.1	19.5
	8.2	18.0	23.2
	6.6	5.7	15.1

进一步的，测定了示于表9中的单羟基芪和其盐的对抗松木线虫和杀线虫活性。实验的结果示于表10。通过这些结果，本发明人发现单羟基芪类似于赤松素单甲基醚，具有比赤松素单甲基醚强的杀线虫活性。

以下述的方法进行此杀线虫活性实验。再次培养的纯Shimabara种的繁殖松木线虫，用于此杀线虫活性实验。

首先，线虫被放在培替代皿中以计数，并在立体显微镜下记录移动的线虫数。

然后，将每种实验溶液倒入培替氏皿，然后在10℃静置在黑暗中。实验用溶液的浓度为100ppm、50ppm、10ppm、5ppm、2ppm、1ppm和0.5ppm。

1天和2天后，再次记录移动的线虫数。

将不能移动的线虫认作死亡，最初存活的线虫数与其中死亡的线虫的比例，计算作为死亡率。

用对照溶液比较以确定线虫是否真的被样品杀死，对照采用1%乙醇溶液。

表 9

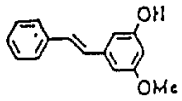
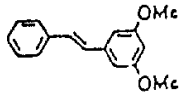
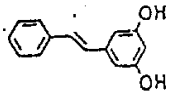
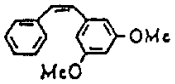
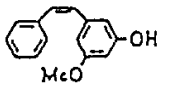
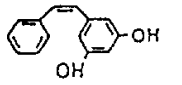
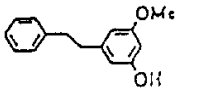
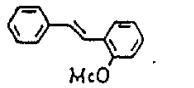
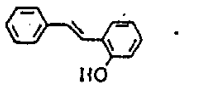
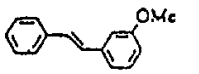
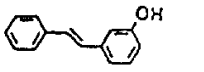
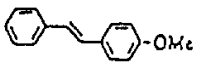
样品号	结构式	物质名称
1		赤松素单甲基醚
2		赤松素二甲基醚
3		赤松素
4		顺－3，5－二甲氧基芪
5		顺－3－羟基－5－甲氧基芪
6		顺－3，5－二羟基芪
7		7，7′－二氢－3－羟基－5－甲氧基芪
8		2－甲氧基芪
9		2－羟基芪
10		3－甲氧基芪
11		3－羟基芪
12		4－甲氧基芪

表9（续）

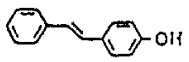
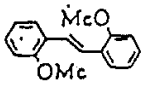
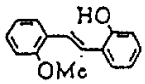
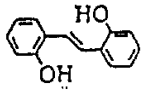
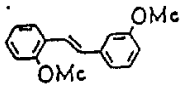
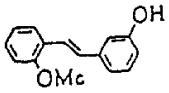
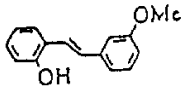
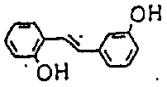
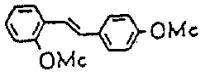
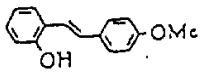
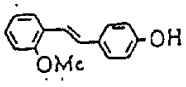
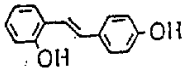
样品号	结构式	物质名称
13		4－羟基芪
14		2，2′－二甲氧基芪
15		2－羟基－2′－甲氧基芪
16		2，2′－二羟基芪
17		2，3′－二甲氧基芪
18		3－羟基－2′－甲氧基芪
19		2－羟基－3′－甲氧基芪
20		2，3′－二羟基芪
21		2，4－二甲氧基芪
22*		2－羟基－4′－甲氧基芪
23		4－羟基－2′－甲氧基芪
24		2，4′－二羟基芪

表9（续）

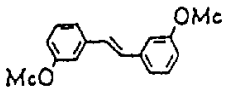
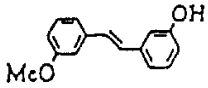
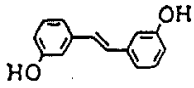
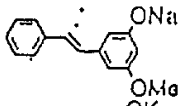
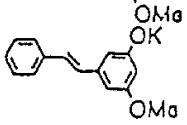
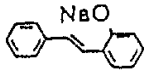
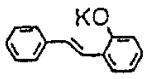
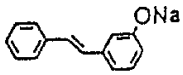
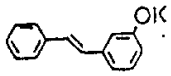
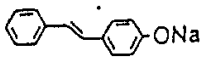
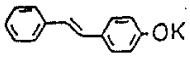
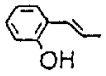
样品号	结构式	物质名称
25		3，3－二甲氧基芪
26		3－羟基－3′－甲氧基芪
27		3，3′－二羟基芪
28		赤松素单甲基醚钠盐
29		赤松素单甲基醚钾盐
30		2－羟基芪钠盐
31		2－羟基芪钾盐
32		3－羟基芪钠盐
33		3－羟基芪钾盐
34		4－羟基芪钠盐
35		4－羟基芪钾盐
36		2－丙烯基苯酚

表9（续）

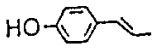
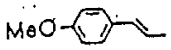
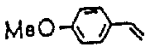
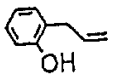
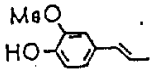
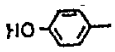
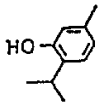
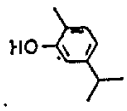
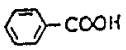
样品号	结构式	物质名称
37		4－丙烯基苯酚
38		4－丙烯基茴香醚
39		4－甲氧基苯乙烯
40		2－烯丙基苯酚
41		异丁子香酚
42		苯酚
43		O－甲酚
44		m－甲酚
45		P－甲酚
46		百里酚
47		香芹酚
48		苯甲酸

表10

线虫死亡率（%）（两天后）

样品号	100 (ppm)	50 (ppm)	10 (ppm)	5 (ppm)	2 (ppm)	1 (ppm)	0.5 (ppm)
1	100	100	100	88	11	-	-
2	14	4	-	-	-	-	-
3	100	69	12	-	-	-	-
4	56	44	-	-	-	-	-
5	100	100	9	4	-	-	-
6	1	-	-	-	-	-	-
7	100	48	-	-	-	-	-
8	0	-	-	-	-	-	-
9	100	100	100	99	80	61	0.5
10	98	99	-	-	-	-	-

表10（续）

线虫死亡率（%）（两天后）

样品号	100 (ppm)	50 (ppm)	10 (ppm)	5 (ppm)	2 (ppm)	1 (ppm)	0.5 (ppm)
11	100	100	100	100	97	9	-
12	30	-	-	-	-	-	-
13	100	100	92	95	83	44	34
14	20	-	-	-	-	-	-
15	100	100	13	-	-	-	-
16	100	100	0	-	-	-	-
17	41	-	-	-	-	-	-
18	-	-	42	19	17	-	-
19	100	100	100	64	2	-	-
20	100	100	98	-	-	-	-

表10（续）

线虫死亡率（%）（两天后）

样品号	100 (ppm)	50 (ppm)	10 (ppm)	5 (ppm)	2 (ppm)	1 (ppm)	0.5 (ppm)
21	19	-	-	-	-	-	-
22*	100	100	100	100	100	95	45
23	-	-	56	16	-	-	-
24	100	100	49	-	-	-	-
25	56	-	-	-	-	-	-
26	100	100	100	100	-	83	8
27	100	100	18	-	-	-	-

* 该样品在浓度为0.25 ppm时，表现的线虫 亡率为0.2%。

28	100	100	96	0	-	-	-
29	100	100	99	18	-	-	-

表10（续）

线虫死亡率（%）（两天后）

样品号	100 (ppm)	50 (ppm)	10 (ppm)	5 (ppm)	2 (ppm)	1 (ppm	0 5 (ppm)
30	100	100	100	100	71	-	-
31	100	100	100	100	48	-	-
32	100	100	100	100	61	-	-
33	100	100	100	100	52	-	-
34	100	100	100	100	44	-	-
35	100	100	100	100	60	-	-
36	94	1	-	-	-	-	-
37	99	6	-	-	-	-	-
38	63	0	-	-	-	-	-
39	1	-	-	-	-	-	-
40	3	-	-	-	-	-	-
41	0	-	-	-	-	-	-

表　10（续）

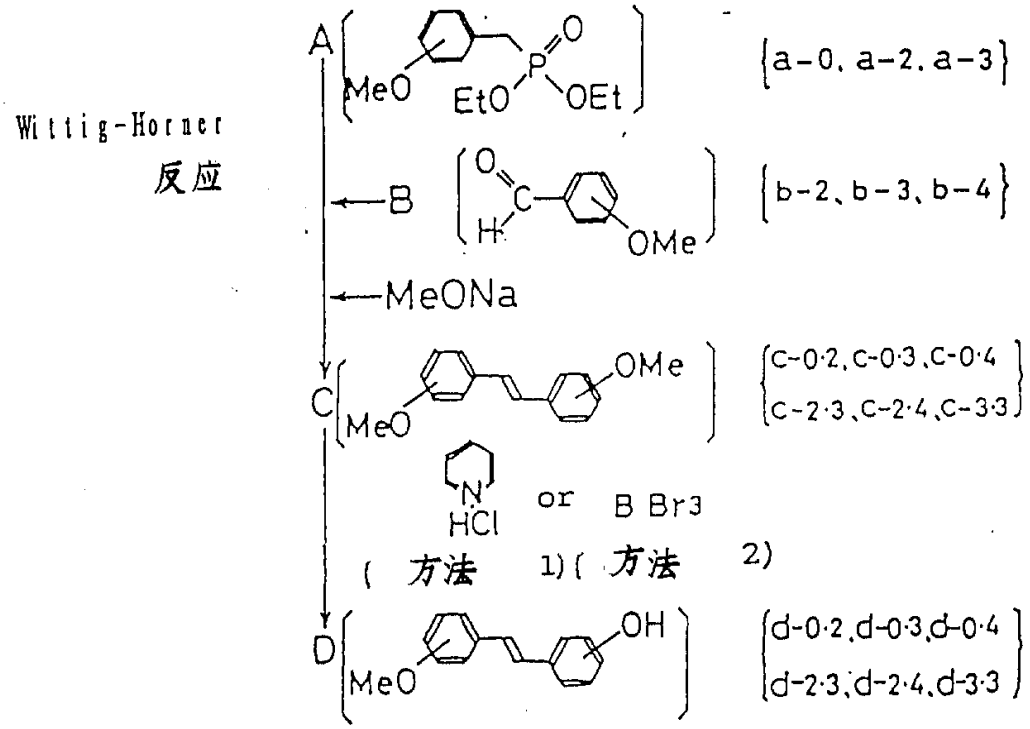
样品号	线虫死亡率（%）（2天后）						
	100 (ppm)	50 (ppm)	10 (ppm)	5 (ppm)	2 (ppm)	1 (ppm)	0.5 (ppm)
42	0	–	–	–	–	–	–
43	0	–	–	–	–	–	–
44	1	–	–	–	–	–	–
45	0	–	–	–	–	–	–
46	2	–	–	–	–	–	–
47	1	–	–	–	–	–	–
48	0	–	–	–	–	–	–

在这些化合物中，特别好的是3－羟基芪（样品号11），3－羟基芪钠盐（样品号32），3－羟基芪钾盐（样品号33），2－羟基芪（样品号9），2－羟基芪钠盐（样品号30），2－羟基芪钾盐（样品号31），4－羟基芪（样品号13），4－羟基芪钠盐（样品号34），4－羟基芪钾盐（样品号35），2－羟基－3′－甲氧基芪（样品号19），2－羟基－4′－甲氧基芪（样品号22）和3－羟基－3′－甲氧基芪（样品号26）。

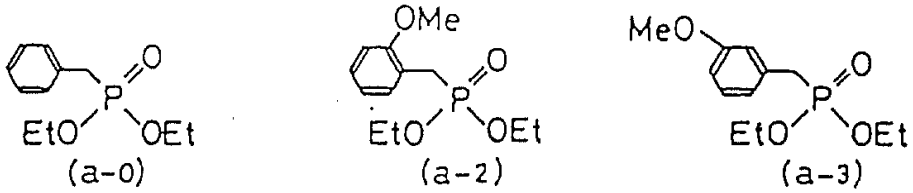
通过下述的方法合成羟基芪：

羟基芪的合成

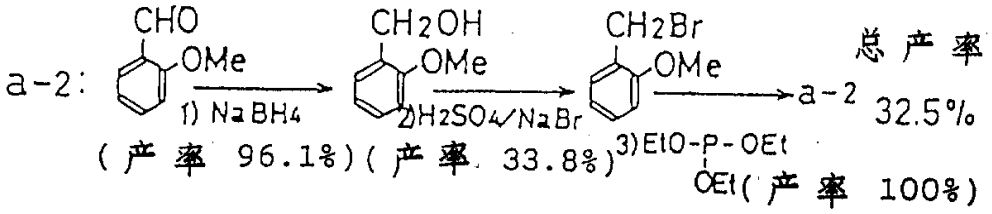
通过Wittig－Horner反应，从磷酸苯甲基酯（A）和甲氧基苯甲醛合成甲氧基芪（C），且然后，采用吡啶鎓氯化物或三溴硼进行去甲基化作用得到羟基芪（D）。

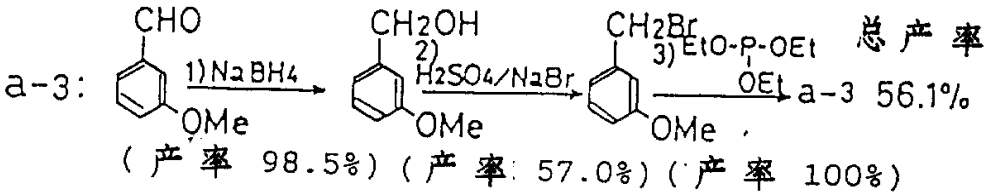


A：作为Wittig－Horner反应起始物的磷酸苯甲基酯化合物（A），可采用a－0、a－2和a－3

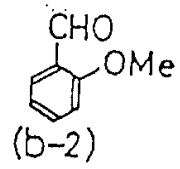


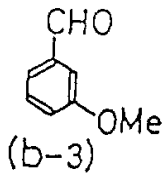
对这些化合物，如a－0，可采用市售产品，但a－2和a－3采用下述方法合成：

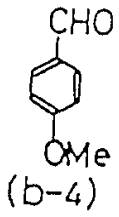




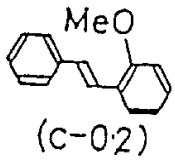
B：作为Wittig－Horner反应的另一个起始物甲氧基苯甲醛，采用b-2 、b-3 和b-4，所有这些都是市售的产品。



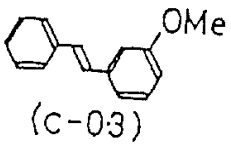




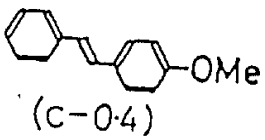
C：通过Wittig－Horner反应获得下述的甲氧基芪：



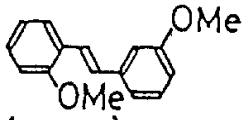
（样品号．8）



（样品号．10）

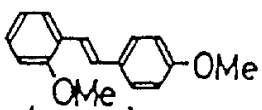


（样品号．12）



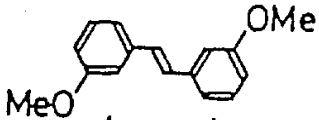
(c-2·3)

(样品号 · 17)



(c-2·4)

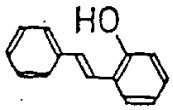
(样品号 · 21)



(c-3·3)

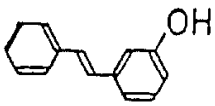
(样品号 · 25)

D：甲氧基芪（C）在去甲基化反应条件下，获得下述的羟基芪（D）：



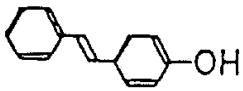
(d-0·2)

(样品号 · 9)



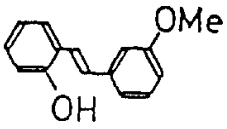
(d-0·3)

(样品号 11)



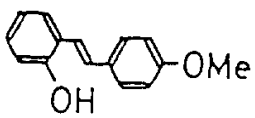
(d-0·4)

(样品号 13)



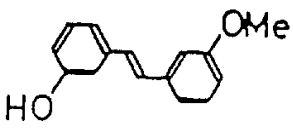
(d-2·3)

(样品号 · 19)



(d-2·4)

(样品号 · 22)



(d-3·3)

(样品号 · 26)

这些化合物显示出很强的杀线虫活性。

在去甲基化反应中，采用的路易斯酸，如在方法1或方法2中使用的酸吡啶镒氯化物或三溴化硼。

包含这些具有杀线虫活性化合物作为主要成分的杀线虫剂，含有这些活性成分的量大约为1到100%，并结合于其它已知载体等中。

对抗松木线虫驱避剂和杀线虫剂中包含的作为病虫害防治化学品的载体，可以根据它们应用的目的，采用液体载体或固体载体。

液体载体包括水、醇类、酮类、醚类、芳香烃类、酰胺和酯类。

固体载体包括已知的固体载体如矿物粉末类，氧化铝、硫黄粉和活性碳。

对于害物防治化学品的制剂，可采用注射剂和糊剂。这些制备物可含有乳化剂、悬浮剂、稳定剂、粘着剂、渗透剂和分散剂，如果需要，可以通过现有技术已知的方法制备。

用有机溶剂从松树中的提取物具有对抗松木线虫的活性。从松树中得到或合成的α－蒈草烯、α－蒈草烯和β－红没药烯的混合物，以及α－蒎烯和白菖油萜的混合物具有对抗松木线虫的驱避活性。进一步的，阿魏酸甲基酯，（＋）松脂酚和包括赤松素单甲基醚的羟基芪，具有对抗松木线虫的杀线虫活性。

以举例的方式提供了下述实施例，但它不构成对本发明的限制。

1．具有控制松木线虫活性的提取物的制备

1）从美洲五叶松枝条制备具有控制松木线虫活性物质

（1）将美洲五叶松枝条（570g）细细切碎，并在室温下浸渍在3升甲醇中3个月，接着过滤获得3升的甲醇溶液。然后，将0．6升的戊烷加入到甲醇溶液中，伴随振荡在分离漏斗中混合30分钟。然后，从3．1升甲醇溶液中分离出0．5升的戊烷。浓缩戊烷溶液得到5g挥发性成分。所得挥发性成分为棕色油，且具有旋光度$[\alpha]_D^{25}$为－6．0°（C5．9，$CHCl_3$）。另一方面，将除去戊烷溶液后的甲醇溶液浓缩并冻干得到非挥发性成分。此非挥发性成分是粘稠棕色块（图1）。

（2）将8g上述非挥发性成分溶于0．3升水中，且a）0．6升的乙酸乙酯加入到那里，接着伴随搅拌振荡在分离漏斗中混合，得到0．5升乙酸乙酯可溶馏分，从中获得0．746g的粘稠棕色

块。随后，b）除去提取的乙酸乙酯后，将0．6升氯仿加入到水层，接着伴随振荡进行类似混合30分钟，得到0．5升的氯仿－可溶馏分，从中获得0．036g粘稠棕色块。进一步的，c）将0．6升的丁醇加入到水层中，接着伴随振荡进行类似混合，得到0．5升丁醇可溶馏分，从中获得1．556g的粘稠棕色块（图2）。

2）从美洲五叶松芯材中的制备具有控制松木线虫活性物质。

将芯材（11．2g）细细切碎，并在室温下浸渍在30升甲醇3个月，接着过滤得到30升甲醇溶液。然后，处理所得溶液，处理方法与处理枝条相同（前述）（参见图2和3），得到乙酸乙酯可溶馏分（82．1g）和丁醇可溶馏分（17．3g）。

（1）乙酸乙酯可溶馏分（82．1g）进一步进行硅胶色谱，得到两个活性馏分A－1（3．5g）和A－2（25．8g）。

（2）丁醇可溶馏分(17.3 g) 进行凝胶过滤色谱，硅胶色谱，和随后的高效液相制备色谱。得到赤松素单甲基醚（20mg）。

2．具有对抗松木线虫驱避活性物质和具有对抗松木线虫活性物质的制备

（1）α－蒈草烯制备

对于α－蒈草烯，采用的市售产品（Tokyo Kasei Kogyo，日本，制备），含有α－蒈草烯和白菖油萜的活性萜烯烃的驱避剂混合物，是采用下述方法，从马尾松芯材制备的。

将马尾松芯材（13Kg）细细切碎并浸渍在甲醇中（50升）。过滤后，18升戊烷加入所得甲醇溶液（50升）中，接着伴随振荡混合获得戊烯溶液（16升）。浓缩此戊烷得到挥发性成分(14g)，所得挥发性成分进行硅胶色谱，得到两种混合物Ⅰ（1．1g）和Ⅱ

（1.5g），此混合物是两种呈现对抗松木线虫驱避活性的萜烯烃。

气相色谱和气相色谱质谱分析揭示混合物I 含有α－律草烯(60%)和β－红没药烯（40%），而混合物II含有α－蒎烯（60%）和白蒿油萜(40%) 。

（2）阿魏酸甲基酯的制备

通过市售的阿魏酸（Tokyo Kasei Kogyo Co.，LTD制造，日本）与叠氮甲烷或与盐酸（Fisher法）酸化的甲醇的甲基化作用，制备阿魏酸甲基酯。

阿魏酸甲基酯还可以从马尾松外皮中，与（+）－松脂酚一起分离出来。

（3）从马尾松外皮中制备阿魏酸甲基酯和（+）－松脂酚

将马尾松外皮（14Kg）细细切碎，并浸渍在甲醇（15升）中3个月。过滤后，处理所得甲醇溶液，处理方法与处理美洲五叶松（上述）（图2）相同，得到丁醇可溶馏分（29g）。然后，丁醇可溶馏分进行凝胶过滤色谱，硅胶色谱，和随后高效液相制备色谱，获得阿魏酸甲基酯（6mg）和（+）－松脂酚（3mg）。

3． 2－、3－和4－羟基芪（样品号9、11和13）的合成

（Wittig－Horner反应）

在氮气条件下，将5克（36.8mmol）的3－甲氧基苯甲醛（b－3）和10.1g（44.1mmol）和磷酸二乙基苯甲基酯（a－0）溶解于50ml无水N，N－二甲基甲酰胺。然后，在0℃冰浴冷却条件下，在溶液中加入含有28%的甲醇钠的8.9ml（45.9mmol）甲醇溶液。

在0℃搅拌所得混合物1小时，并进一步的在室温下搅拌过夜。

然后，将200ml水加入反应溶液，并用三份200ml的乙酸乙酯萃取液体混合物。含有3－甲氧基芪（C－0．3）的乙酸乙酯层，用二份50ml水洗涤，并用无水Na_2SO_4充分干燥，接着过滤并在减压下浓缩。将100ml甲醇－水（1：4V／V）加入到浓缩物上，使之溶解。当使溶液在冰箱中静置过夜后，获得7．0g（产率：90．8%），浅黄色结晶状的3－甲氧基芪（C－0．3）。

（去甲基化反应－方法1）

将16克（138．5mmol）的吡啶锄氯化物加入到6．9g（32．9mmol）的3－甲氧基芪（C－0．3）中，并使混合物在180℃下搅拌4小时。使之冷却后，将混合物在冰浴中冷却，并将2M HCl水溶液（大约100ml）加入到其中，反应溶液变成酸性。所得溶液用三份200ml乙醚萃取，将醚层用无水Na_2SO_4干燥，接着过滤。减压蒸馏除去溶剂后，获得含有3－羟基芪（d－0．3）（样品号11）的棕色油状产物。

此油状产物用柱色谱提纯[SiO_2：200g，己烷－乙酸乙酯（9：1V／V），并用己烷－乙酸乙酯进一步重结晶，由此得到4．9g（产率：76．9%）的3－羟基芪（样品号11），为白色针状结晶（熔点：117－118℃）。

以相同方法，从4－甲氧基苯甲醛和磷酸二乙基苯甲基酯合成4－甲氧基芪，并去甲基化得到白色针状结晶的4－羟基芪（样品号13）（熔点：185－186℃）。

2－羟基芪的合成是首先从2－甲氧基苯甲醛和磷酸二乙基苯甲基酯合成类似的2－甲氧基芪，然后从2－甲氧基芪根据下示的方法

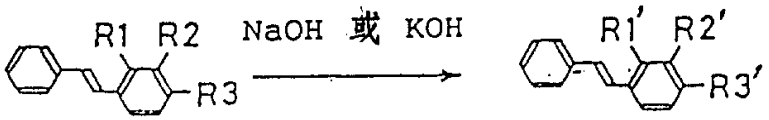
2进行去甲基化反应得到产物。

（去甲基化反应－方法2）

在氮气条件下，7.75g（36.9mmol）的2－甲氧基芪（C－2）溶解于无水二氯甲烷中，在－78℃（在干冰-丙酮浴上），将含有3.2g（12.9mmol）的三溴化硼的40ml二氯甲烷溶液加入到其中，接着在室温下搅拌过夜，反应溶液在冰浴中冷却，并将10%的KOH水溶液，一滴滴地加入到其中，以分解反应溶液中形成的硼复合物。此反应溶液移到分液漏斗，2M HCl加入其中直到水层变成酸性，所得溶液用三份200ml的氯仿萃取，氯仿层用50ml一份的水洗涤二次，并用无水Na_2SO_4充分干燥，接着过滤。减压蒸馏除去溶剂后，获得含有2－羟基芪（d－2）的棕色油状产物。用柱色谱[SiO_2：200g，己烷－乙酸乙酯（9：1V／V）]提纯此油状产物，并进一步的用己烷－乙酸乙酯重结晶，由此获得5.05g（产率：69.9%）的2－羟基芪（d－2）（样品号9），为白色针状结晶（熔点：138－139℃）。

2）羟基芪盐的制备

如上述合成2－、3－和4－羟基芪盐（样品号9、11和13），根据下述的反应式制备：



其中R_1、R_2、R_3、R_1'、R_2'和R_3'示于表11。

表　11

样品号	R1	R2	R3	样品号	R1′	R2′	R3′
11	H	OH	H	32	H	ONa	H
9	OH	H	H	30	ONa	H	H
13	H	H	OH	34	H	H	ONa
11	H	OH	H	33	H	OK	H
9	OH	H	H	31	OK	H	H
13	H	H	OH	35	H	H	OK

在少量（大约5ml）的乙醇中，溶解1.120g（5.71mmol），的3－羟基芪，并将59.9ml（5.71mmol）的0.095N NaOH水溶液（用0.1N的草酸溶液滴定）滴加入此溶液。所得溶液冻干后，获得灰白色粉末状的1.270g（产率：101.8%）的3－羟基芪钠盐（样品号32）。为什么产率超过等当量的原因，考虑是由于潮湿等因素。

类似地，分别从2－羟基芪和4－羟基芪获得2－羟基芪钠盐（样品号30）和4－羟基芪钠盐（样品号34）。

采用类似的方法，1.398g（7.13mmol）的4－羟基芪溶于少量（大约5ml）的乙醇中，并将64.2ml的0.111N KOH水溶液滴加到其中。由此，获得如浅黄色粉末状的1.688g的4－羟基芪钾盐（样品号35）。

类似地，分别从2－羟基芪和3－羟基芪获得如收湿的黄色粉末

状和白色粉末状的2-羟基芪钾盐(样品号31) 和3-羧基芪钾盐(样品号33) 。

3）2－羟基－4′－甲氧芪（样品号22）合成，等

（起始产物磷酸2－甲氧基苯甲基酯（a－2）的合成）

（1）将含有0.6g（16.0mmol）$NaBH_4$的5毫升甲醇溶液，滴加入含有2.0g（14.7mmol）的2－甲氧基苯甲醛的10ml甲醇溶液中，接着在室温下搅拌约1小时。反应的进行用薄层色谱证实后，将100ml的水倒入反应溶液分解过量的$NaBH_4$，接着用30ml乙醚提取三次。醚层用无水$NaSO_4$充分干燥，然后过滤。蒸馏除去溶剂后，获得1.95g（产率：96.1%）的2－甲氧基苯甲醇，为无色油状物。

（2）在20ml无水苯中，溶解1.75g（12.7mmol）的2－甲氧基苯甲醇，并将溶液在0℃（在冰浴上）搅拌大约20分钟。此时伴随在其间吹入HBr气体。

回流反应溶液大约2小时后，在减压条件下蒸馏除去苯。

用硅胶柱色谱[SiO_2：200g，己烷－乙酸乙酯（96：4）]分离产物，并从甲醇中重结晶，由此获得0.86g（产率：33.8%）的2－甲氧基苯甲基溴化物，为白色结晶。

（3）对450mg（2.2mmol）的2－甲氧基苯甲基溴化物，加入0.7ml（4.1×10^{-3} mol）的过量的亚磷酸三乙酯，且混合物在130℃搅拌大约1小时，直到观察到没有溴乙烷进一步放出。反应后，减压条件下蒸馏除去过量的亚磷酸三乙酯。获得磷酸2－甲氧基苯甲基酯（a－2）（630mg），为棕色油状剩余物，不需要提纯，将其用于随后的Wittig－Horner反应。假定此反应等当量的进行。

（Wittig－Horner反应）

在氮气条件下，将4ml无水N，N－二甲基甲酰胺，加入到放置于反应烧瓶中的630mg（2．2mmol）的磷酸2－甲氧基苯甲基酯（a－2）中，在冰浴中冷却到0℃，加入150mg（2．8mmol）的甲醇钠。。随后，将0．3ml（2．5mmol）的4－甲氧基苯甲醛滴加入其中。此混合物在0℃搅拌1小时，并在室温下进一步搅拌过夜。

将20毫升水加入到反应溶液中，接着用每次20ml的乙酸乙酯提取三次。用每次5ml的水洗涤乙酸乙酯层二次并用无水Na_2SO_4充分干燥，接着在减压条件下浓缩，由此获得1．3g的粗产物。当此粗产物用硅胶柱色谱［SiO_2：50g，己烷－乙酸乙酯（9：1）］纯化后，获得349mg（产率74．7%）的2，4′－二甲氧基芪（C－2．4，样品号21），为白色结晶。

（去甲基化反应）

对80mg（0．33mmol）的2，4′－二甲氧基芪，加入200mg（1．7mmol）的吡啶镒氯化物，并将混合物在170℃搅拌3小时。使其冷却后，将混合物在冰浴上冷却，并把2ml 2M HCl 水溶液加入其中。用三份20ml的乙醚提取所得混合物，并将醚层用无水Na_2SO_4充分干燥，接着过滤。减压下蒸馏除去溶剂，由此获得反应混合物，用硅胶柱色谱［SiO_2：50g，己烷－乙酸乙酯（9：1→8：2）］将混合物分离成二羟基和单烃基型。当单羟基型进一步用高效液相色谱［Wakopack Wakosil，己烷－乙酸乙酯（9：1）］离析后，获得5．13mg（产率：6．8%）的2－羟基－4′－甲氧基芪（d－2．4，样品号22），为无色

针状结晶（熔点：142－143℃）。

采用上述合成2－羟基－4′－甲氧基芪（样品号22）的相同方法，还合成了2－羟基－3′－甲氧基芪（样品号19）为浅黄色油状产物，以及3－羟基－3′－甲氧基芪（样品号26），为无色结晶粉末（熔点：78至79℃）。

含有这些具有杀线虫活性的化合物作为主要成分的杀线虫剂中包含大约1到10%的这些活性成分，并与其它已知的载体等结合。

作为包括用于松木线虫的驱避剂和杀线虫剂的害物防治化学品的载体，采用液体载体或固体载体取决于它们的使用目的。

液体载体包括水，醇类、酮类、醚类、芳香烃类、酸酰胺和酯类。固体载体包括已知的固体载体，如矿物粉末、氧化铝、硫粉和活性碳。

作为制剂，本害物防治化学品可用作注射剂和糊剂。这些制备物可含有乳化剂、悬浮剂、稳定剂、渗透剂和分散剂，如果需要，可采用现有技术中已知的方法制备。

实施例1

驱避剂

制备了与其它已知载体结合的，含有1到2% α－葎草烯的粉剂或液剂。

实施例2

杀线虫剂

将1到2%的阿魏酸甲基酯成分溶于有机溶剂中，并将溶液封闭在安瓿瓶中以制备注射剂，用它注射到松树的管胞。

实施例3

以1到2%的浓度将每种羟基芪溶解在有机溶剂中，并将溶液封

闭在安瓿瓶中，以制备注射剂用它注射到树的管胞中。

羟基芪作为害物防治化学品对松木线虫是非常有效的。

图 1

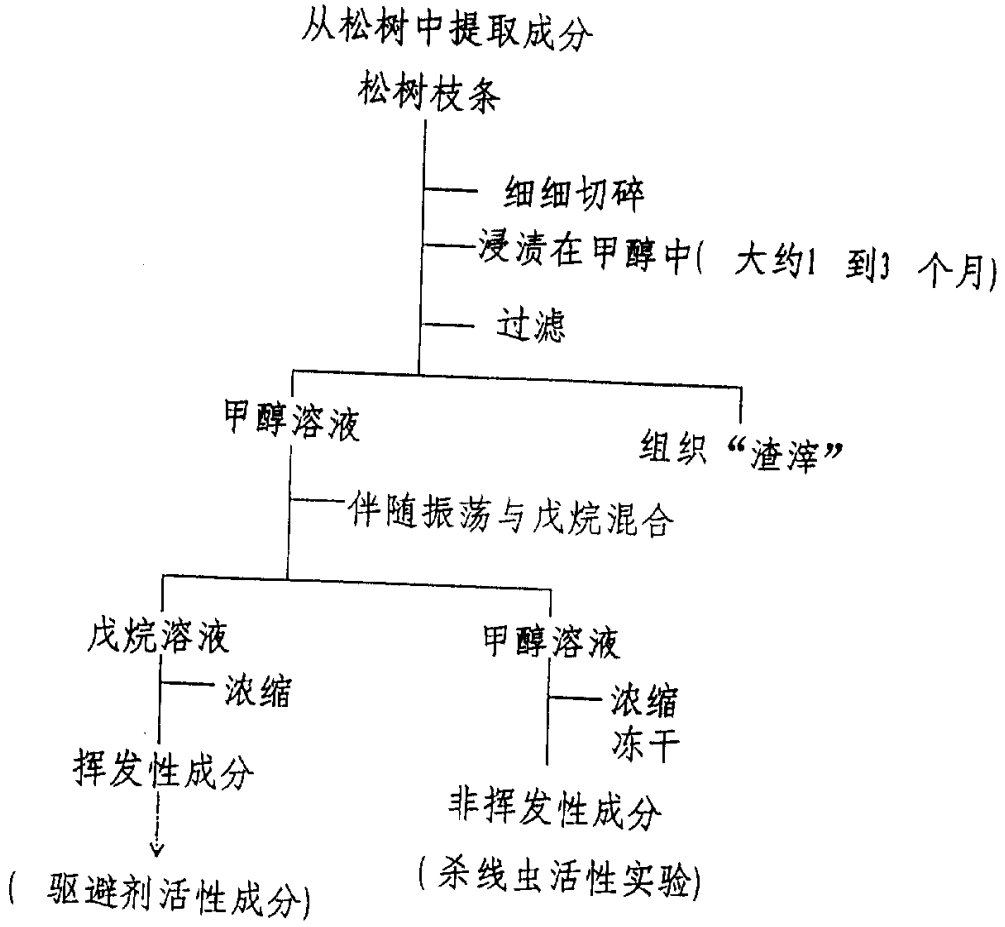

从松树中提取成分
松树枝条
细细切碎
浸渍在甲醇中(大约1 到3 个月)
过滤
甲醇溶液
组织“渣滓”
伴随振荡与戊烷混合
戊烷溶液
浓缩
挥发性成分
(驱避剂活性成分)
甲醇溶液
浓缩
冻干
非挥发性成分
(杀线虫活性实验)

图 2

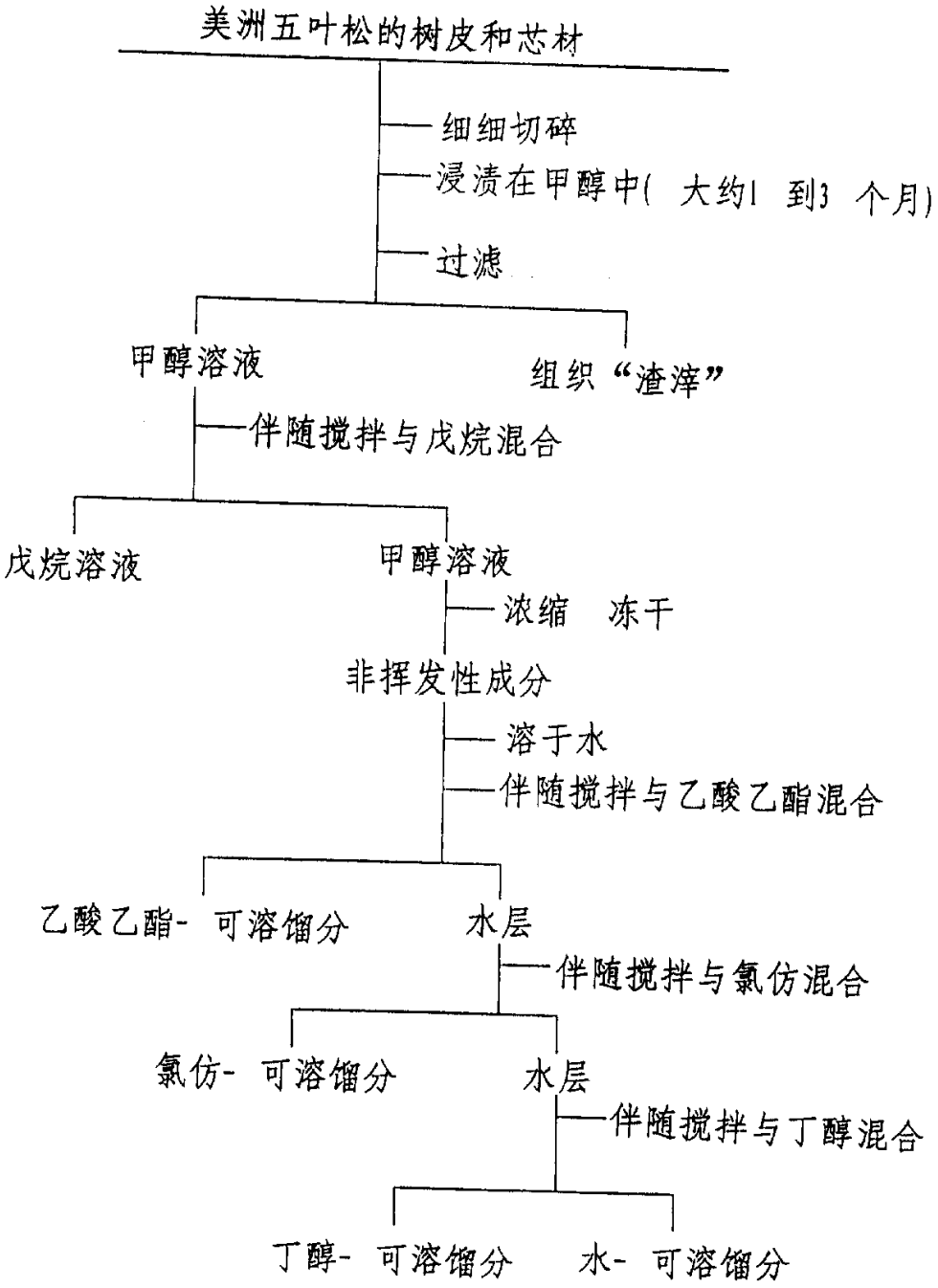
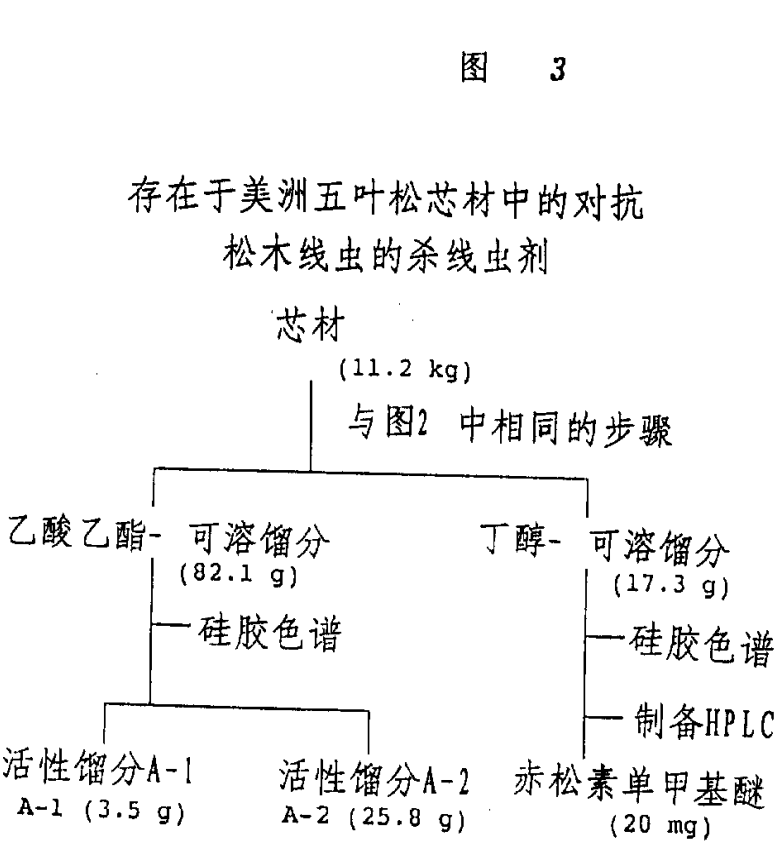

美洲五叶松的树皮和芯材
细细切碎
浸渍在甲醇中(大约1 到3 个月)
过滤
甲醇溶液
组织“渣滓”
伴随搅拌与戊烷混合
戊烷溶液
甲醇溶液
浓缩 冻干
非挥发性成分
溶于水
伴随搅拌与乙酸乙酯混合
乙酸乙酯- 可溶馏分
水层
伴随搅拌与氯仿混合
氯仿- 可溶馏分
水层
伴随搅拌与丁醇混合
丁醇- 可溶馏分
水- 可溶馏分

图 3


存在于美洲五叶松芯材中的对抗
松木线虫的杀线虫剂
芯材
(11.2 kg)
与图2 中相同的步骤
乙酸乙酯- 可溶馏分
(82.1 g)
丁醇- 可溶馏分
(17.3 g)
硅胶色谱
硅胶色谱
制备HPLC
活性馏分A-1
A-1 (3.5 g)
活性馏分A-2
A-2 (25.8 g)
赤松素单甲基醚
(20 mg)