

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁶

C07D309/30

A01N 43/16

[12] 发 明 专 利 说 明 书

[21] ZL 专利号 93102400.5

[45]授权公告日 1999 年 7 月 21 日

[11]授权公告号 CN 1044240C

[22]申请日 93.2.6 [24]颁证日 99.4.8

[21]申请号 93102400.5

[30]优先权

[32]92.2.7 [33]JP [31]22204/92

[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

EP285936A1 1988.10.12 C07D309/30

审查员 冯吾战

[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

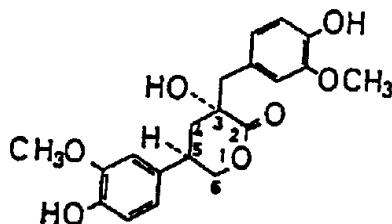
权利要求书 1 页 说明书 7 页 附图页数 2 页

[54]发明名称 四氢吡喃化合物及含有该化合物的抗松木
线虫的杀线虫剂

[57]摘要

一种具有下面结构式,对松木线虫具有杀线虫功效
的化合物。

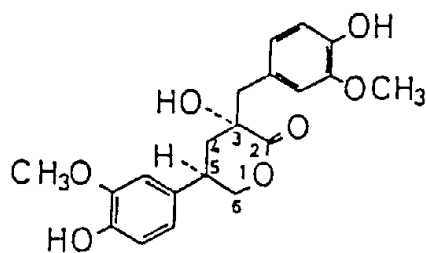
及一种含有该化 合物的杀线虫剂。



I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

权 利 要 求 书

1. 下列结构式表示的(3R, 5S)-3-羟基-3-(4-羟基-3-甲氧苄基)-5-(4-羟基-3-甲氧苄基)-3,4,5,6-四氢-2H-吡喃-2-酮化合物:



2. 一种含有权利要求 1 所述化合物的抗松木线虫的杀线虫剂。

四氢吡喃化合物及含该化合物的 抗松木线虫的杀线虫剂

本发明涉及一种从松树中提取的对松木线虫 (Bursaphelenchus xylaphilus Mamiya and Kiyohara) 具有杀线虫功效的 2-氧化四氢吡喃化合物及含有该化合物的抗松木线虫的杀线虫剂。

众所周知, 松木线虫, 食真菌的线虫, 进入松木组织并繁殖, 则会使松木死亡。

松木线虫引起松树死亡的机理可以认为如下:

a) 在松树感染上松木线虫时就产生毒素 (植物抗毒素), 例如苯甲酸 (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 (5),

b) 线虫分泌纤维素酶,

(c) 在感染上线虫之后, 松树的管胞被 α -蒎烯和 β -蒎烯非常态积累所堵塞,

(d) 在感染线虫之后, 通过在松树内繁殖的霉菌分泌毒素。

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

以前防止松树死于松木线虫的方法, 主要包括 (1) 在松天牛从受害树逃出带走线虫之前, 砍倒受害的树以消除存在于受害的松树的卵, 蛹和成虫, 这样做直接造成松树的死亡。(2) 施用杀虫剂 (喷洒和撒布) 的方法以防止松天牛孵化后吃食长成并逃逸。在这里, 使用的杀虫剂包括有机磷农药, 西维因 (1-萘基-N-氨基甲酸甲酯), 稻丰散 (二甲基-二硫代磷酸基苯基乙酸乙酯), 二溴乙烷 (1, 2-二溴

乙基), 倍硫磷 (O, O-二甲基-O-[3-甲基-4-(甲硫基) 苯基]硫代磷酸酯) 和杀螟松 (二甲基 (3-甲基-4-硝基苯) 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”, Mirsubish, Petrochemical Co.LTD, 日本), mestlfenfos 剂 (商品名: “Nemanon”, Nihon.Bayer Agrochem.k / k, 日本) 和噻烯氢嘧啶酒石酸盐 (商品名: “Greenguard”, Fizer Pharmacctrical 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) 杀虫剂的有效性近来已降低。

(4) 为了在森林和野外达到消灭线虫的效果, 每单位面积上所下的剂量为通常农业上所使用的 10 倍。

(5) 会遇到例如在土壤和水系统中残留杀虫剂, 对动物和植物生态系统的影响等社会问题。

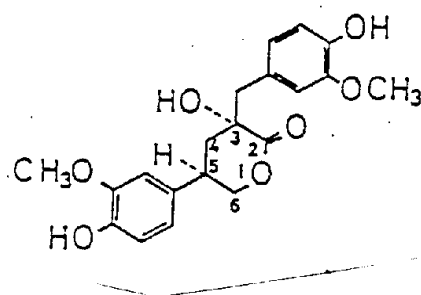
由于这些问题而不能获得满意的灭虫效果。

(6) 上述合成的杀线虫剂直接用于消灭在木材中的松木线虫是有效的, 但因为它们的毒性而产生安全问题。

相反, 全然不知由松树的有机溶剂提取物中分离出的本发明的一种新化合物作为抗松木线虫的杀线虫剂是有效的。

作为对消灭松木线虫的深入研究的结果, 本发明人实现了马尾松 (Pinus massoniana Lamb.) 含有一新化合物, 该化合物具有抗松木线虫杀线虫活性, 并且没有安全问题, 因而完成了本发明。

本发明提供了 (1) 一种具有下列结构式的新的化合物



及 (2) 一种含有 (1) 中所述的化合物用于防治松木线虫的杀线虫剂。

图 1 表示本发明新化合物的红外线吸收光谱, 和

图 2 表示本发明新化合物的紫外线吸收光谱。

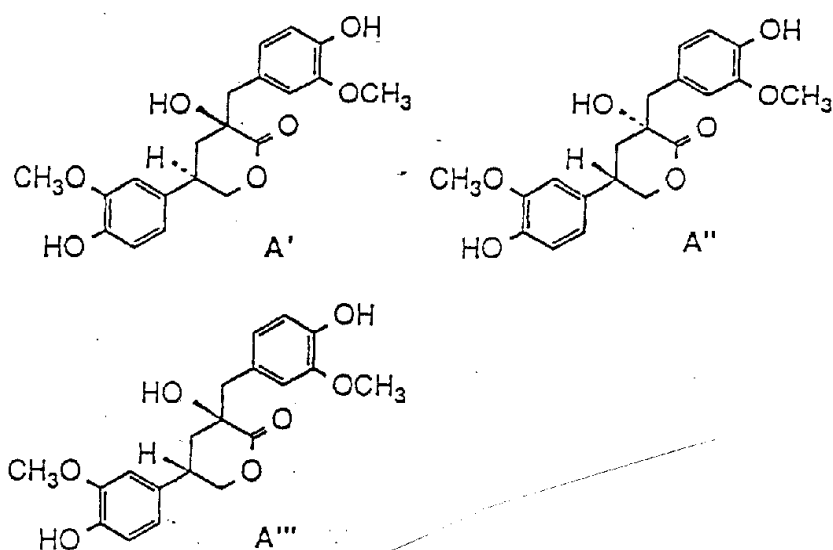
本发明的新化合物是以下面方法获得的。

将马尾松的芯木浸入到甲醇中, 接着过滤产生甲醇溶液, 将戊烷加到该生成溶液中, 混合并摇动。然后, 甲醇层从戊烷层中分离出来。对甲醇层进行减压蒸馏以除去溶剂。然后将剩余物溶解在水中。将乙酸乙酯加到所产生的水溶液中, 混合并摇动。然后, 水层从乙酸乙酯层中分离出来。将丁醇加到水层中, 混合并摇动以获得丁醇溶液, 对生成的丁醇溶液在减压下进行浓缩, 以获得可溶于丁醇的馏份。

于是, 所获得的可溶于丁醇的馏份注入凝胶过滤色谱, 硅胶色谱和随后的制备高性能液相色谱以分离一种新的化合物, 生成的化合物是黄色的和油状的, 旋光度 $[\alpha]_D^{25}$ 为 -3.87° (C0.062, 甲醇), 和分子量为 374.1320 (理论值: 374.1364)。该化合物通过红外线吸收光谱, 紫外线吸收光谱及核磁共振分析证实是[3R,5S)-3-羟基-3-(4-羟基 3-甲氧苄基)-5-(4-羟基 3-甲氧苄基)-3,4,5,6-四氢-2H-吡喃-2-酮]。并称作“*Massoniana lactone*”。

本发明的新化合物被认为有三种如下面所表示的立体异构体, 它

们也被认为具有抗松木线虫的杀线虫活性。



使用这种新化合物“*Massoniana lactone*”对抗繁殖松木线虫的杀线虫活性进行了试验，其结果示于表 1。

杀线虫活性试验按下面方法进行。

1) 大约 300 头繁殖的松木线虫（所有虫态）培养在甘薯灰霉僵腐病（*Botrytis 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 的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, 其中未溶解样品。

4) 在 10℃ 使供试溶液静置在黑暗中, 并在立体显微镜上每 24 小时记录活动的线虫数, 记录了 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, 在对照试验溶液中线虫的平均存活率为 99.5%, 且每次其标准误差是 $\pm 3\%$ 。

5) 杀线虫活性用相对死亡率来表示, 相对死亡率由下式决定:

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

表 1

抗繁殖的松木线虫的杀线虫活性

	相对死亡率(%)100ppm		
	一天后	两天后	三天后
新化合物“ <i>Massoniana lactone</i> ”	37.5	66.5	81.9
农用化学药品“ <i>Century</i> ”	88.5	89.4	91.6

由表 1 明显看出,本发明的新化合物“*Massoniana lactone*”具有抗松木线虫的杀线虫活性。

包含这种具杀线虫活性的新化合物“*Massoniana lactone*”作为主要成分的杀线虫剂, 含有与其它的已知载体等组合的这种活性成分的量大约为 1 到 10%。

用于松木线虫的杀线虫的载体, 使用液体或固体载体取决于他们使用的目的。

液体载体包括水, 醇类, 酮类, 醚类, 芳烃类, 酰胺和酯类。固体载体包括已知的载体如矿粉, 氧化铝, 硫磺粉和活性炭。

对于制剂, 杀线虫剂可以用作注射剂和施用剂, 这些制剂可以含

有乳化剂，悬浮剂，稳定剂，粘着剂，渗透剂和分散剂，如果需要可以用现有技术的已知方法来制备。

下面的例子是为了说明而给出的而不是对本发明的限制。

实施例

将马尾松的芯木（34 公斤）浸于甲醇中（约 30 升）3 个月，然后过滤以获得甲醇溶液（20 升），接着按每升甲醇溶液 400 毫升的量将戊烷加入该生成的甲醇溶液，在一分液漏斗中摇动 30 分钟以混合，然后甲醇层从戊烷层中分离出来，甲醇层在减压下蒸馏以除去溶剂，其残余物溶解于水（2 升）中。将乙酸乙酯（600 毫升）加入所生成的水溶液中，并在分液漏斗中摇动 30 分钟以混合。水层从乙酸乙酯层中分离出来，然后将丁醇（600 毫升）加入到水层中并摇动混合得出丁醇溶液，减压下浓缩丁醇溶液以得到溶于丁醇的馏份（24 克）。

将所得到的溶于丁醇馏份进行凝胶过滤色谱，硅胶色谱和随后的制备高效液相色谱以分离一种新化合物（2 毫克），生成的化合物具有下列特性：

黄色和油状： $[\alpha]_D^{25} - 3.87^\circ\text{C}$ (C0.062, 甲醇)

SIMS, m/z 397 ($M^+ + Na$)

高分辨 EIMS, 得出值: m/z 374.1320 (M^+)

期望值: 374.1364 ($C_{20}H_{22}O_7$)

CD; $\Delta\epsilon$ (234nm) = -1.20 (C0.0002449mol/l, 甲醇)

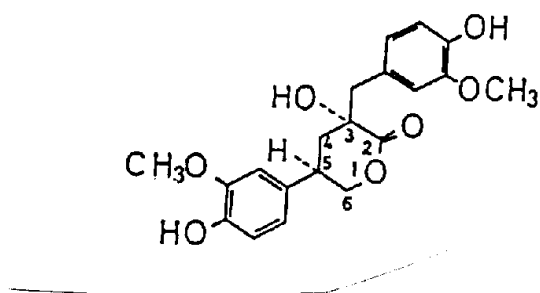
IR (KBr); 3400, 1920, 1760, 1695, 1600 cm^{-1}

UV (甲醇); 324 (ϵ 440), 282 (3, 170), 228 (7, 020) 210 (10, 050) nm

^1H NMR(500MHz, 丙酮 $-d_6$); δ 2.43(1H,m), 2.48(1H,dd,J=9.6 13.3Hz), 2.79(1H,dd,J=4.6,13.3Hz), 2.84(1H,d,J=13.7Hz), 3.12(1H,d,J=13.7Hz), 3.79(3H,S), 3.82(3H,S), 6.57(1H,dd,J=2.3,8.2Hz), 6.59(1H,d,J=2.3,8.2Hz), 6.66(1H,d,J=2.3Hz), 6.68(1H,d,J=2.3Hz), 6.69(1H,d,

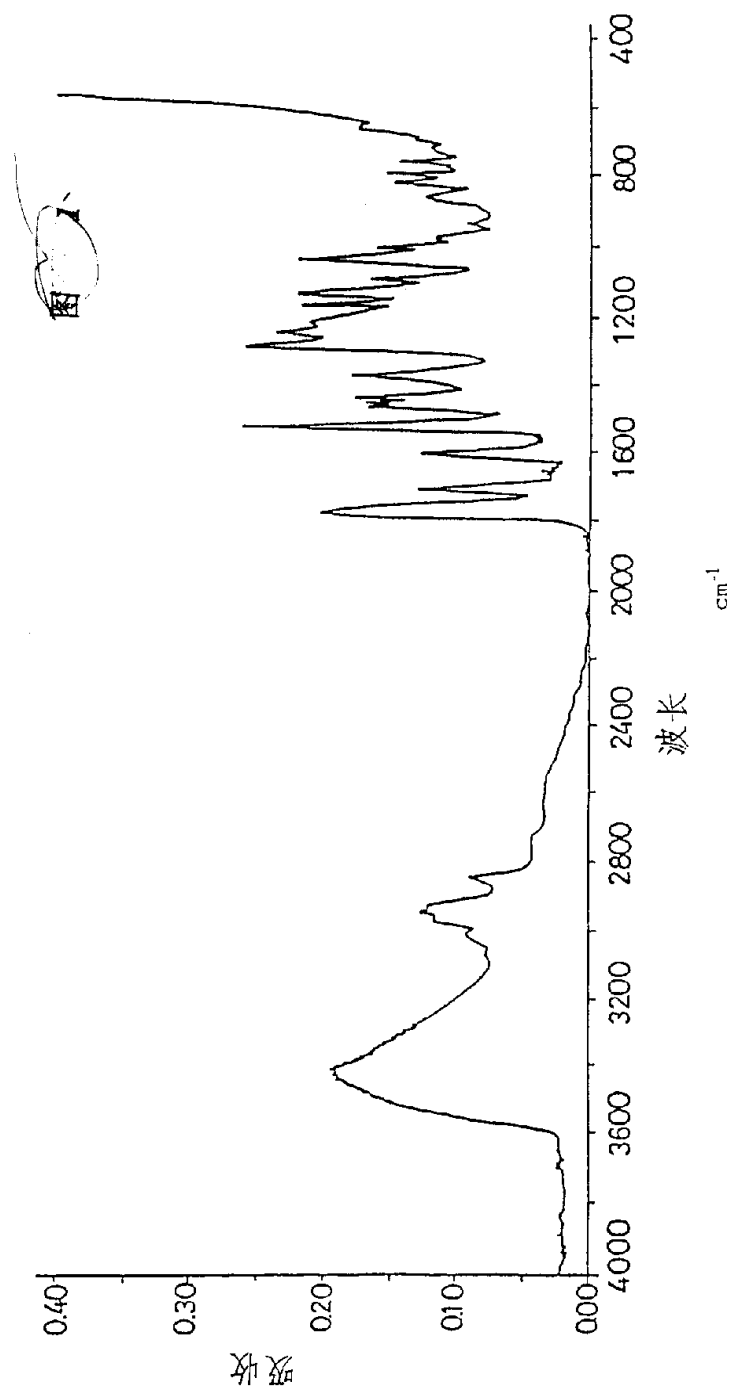
$J = 8.2\text{Hz}$), $6.70(1\text{H}, d, J = 8.2\text{Hz})^{13}\text{C}$ NMR(125MHz, 丙酮- d_6); δ 32.2(CH_2), 41.8(CH_2), 44.6(CH), 56.4($\text{CH}_3\text{-OX}_2$), 71.8($\text{CH}_2\text{-O}$), 77.4(C-O), 113.5(CH), 114.9(CH), 116.1(CH), 116.2(CH), 122.3(CH), 124.0(CH), 128.2(C), 131.9(C), 146.1(C), 146.7(C), 148.8(C), 149.0(C), 180.6(C=O)

该化合物在下面的结构式, 它是[3R,5S]-3-羟基-3-(4-羟基 3-甲氧苄基)-5-(4-羟基 3-甲氧苄基)-3, 4, 5, 6-四氢-2H-吡喃-2-酮), 命名为“*Massoniana lactone*”。



将约 1 至 10% 的所得新化合物“*Massoniana lactone*”溶解在 2% 乙醇的溶液封装在小玻璃瓶内, 以制备一种注射剂型, 用这种剂型液射到松树的管胞内。

说明书附图



132

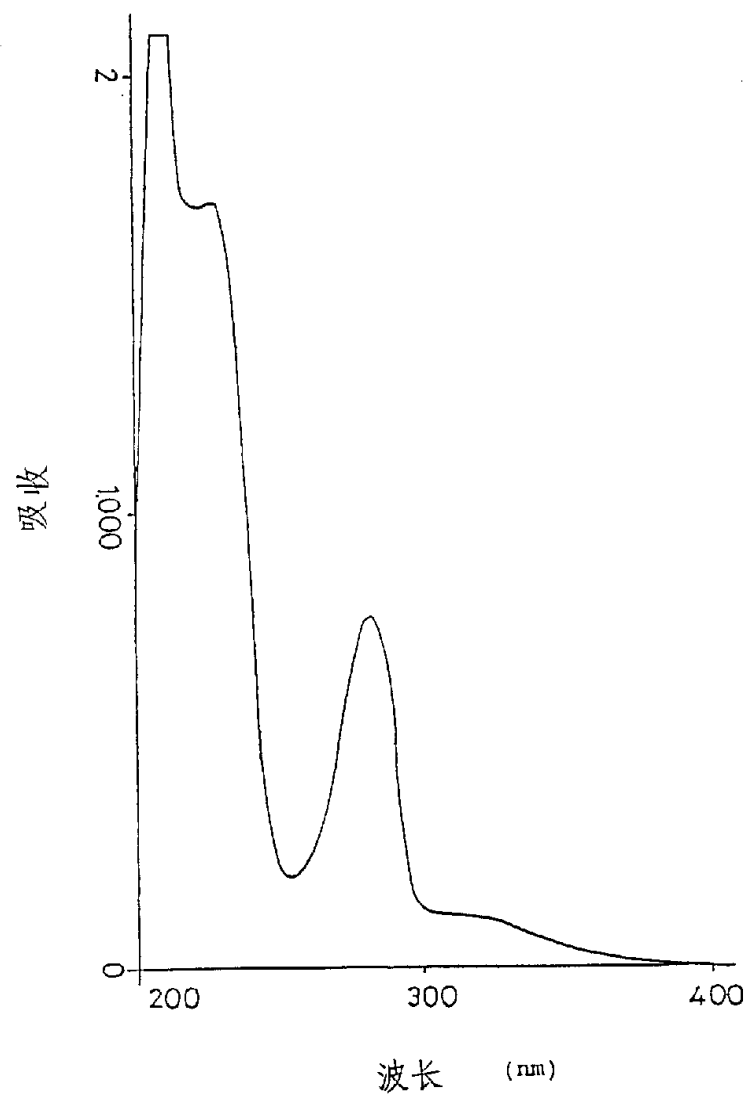


图 2