(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104855382 B
(45)授权公告日 2017.03.08

(21)申请号 201510254304.5

(22)申请日 2015.05.19

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 104855382 A

(43)申请公布日 2015.08.26

(73)专利权人 四川农业大学
地址 611130 四川省成都市温江区惠民路211号

(72)发明人 陈华保 张敏 杨春平 龚国淑

(74)专利代理机构 北京君智知识产权代理事务所(普通合伙) 11305
代理人 刘秀娟

(51)Int.Cl.
A01N 43/16(2006.01)
A01N 25/04(2006.01)
A01P 9/00(2006.01)

(56)对比文件

金继曙.各种皂苷的灭螺性质.《国外药学(植物药分册)》.1982,第8卷(第5期),第44-45页.

Biswanath Dinda et al..Naturally Occurring Triterpenoid Saponins.《CHEMISTRY & BIODIVERSITY》.2010,第7卷第2359,2387,2527,2565页.

曲正义等.齐墩果酸型皂苷药理活性研究.《中成药》.2012,第34卷(第6期),第1143-1147页.

曾明等.苦葛根中的新三萜成分.《药学学报》.2000,第35卷(第6期),第438-441页.

审查员 南艳

权利要求书1页 说明书7页

(54)发明名称

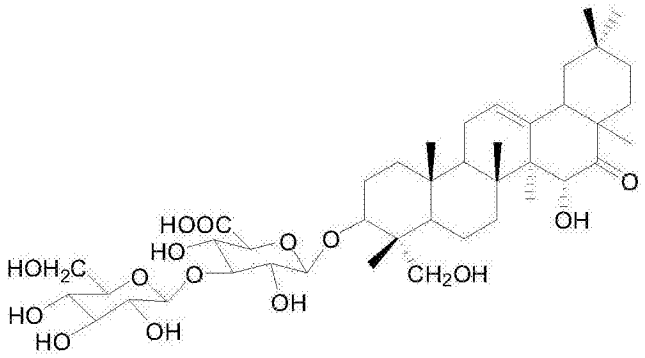
苦葛皂苷用于制备灭螺剂的用途

(57)摘要

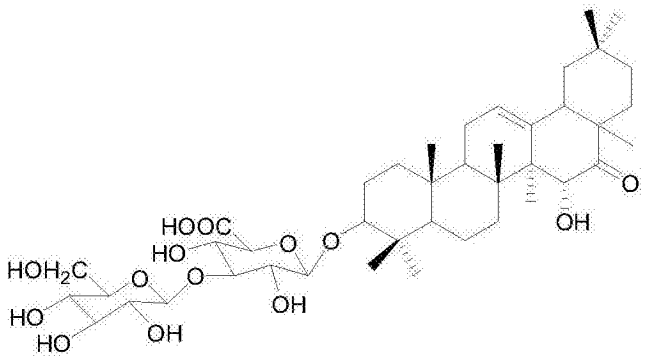
本发明涉及苦葛皂苷用于制备灭螺剂的用途，特别是用于灭杀福寿螺(Pomacea canaliculata)或钉螺(Oncomelania hupensis Gredler)。本发明的化合物来自于植物，毒性低，对环境友好。对福寿螺和钉螺等害螺具有明显的毒杀活性，杀灭率达到90%以上，农业应用中开发潜力巨大。同时，作为这两种活性成分的来源植物生命力强，资源丰富，有利于大规模生产应用。

CN 104855382 B

1.苦葛皂苷用于制备灭螺剂的应用，其特征在于，所述苦葛皂苷的化学结构式分别如下所示：



式（I）；或



式（Ⅱ）

所述式(I)或式(Ⅱ)化合物用于灭杀福寿螺(Pomacea canaliculata)或钉螺(Oncomelania hupensis Gredler)。

2.根据权利要求1的应用，其特征在于，将苦葛皂苷用于制备灭螺剂时，所述式(I)或式(Ⅱ)的苦葛皂苷占灭螺剂的5-90重量%，其余为农业上适宜的助剂。

3.根据权利要求2的应用，其特征在于，所述灭螺剂配制成悬浮剂。

4.根据权利要求3的应用，其特征在于，所述悬浮剂中，式(I)或式(Ⅱ)化合物10重量%、十二烷基苯磺酸钠6重量%、烷基酚聚氧乙烯醚8重量%、黄原胶1重量%、白炭黑20重量%、水补足100%。

苦葛皂苷用于制备灭螺剂的用途

技术领域

[0001] 本发明属于灭螺剂领域，具体涉及苦葛皂苷用于制备灭螺剂的用途。

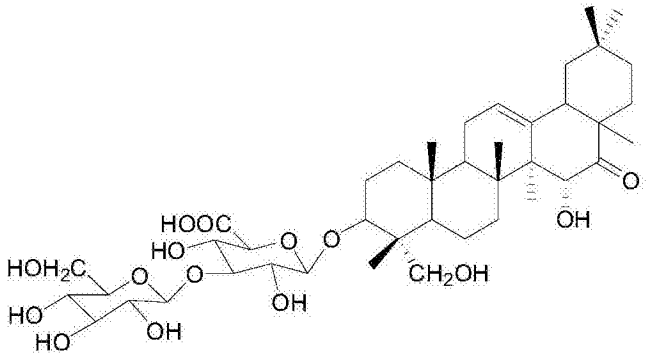
技术背景

[0002] 目前，已有大量文献证明，皂苷类化合物对福寿螺和钉螺等有害螺具有明显的毒杀作用。如油茶、盾叶薯蓣、商陆及夹竹桃等植物中含有大量皂苷，对螺活性高，实际开发潜力较大。其中，研究最为全面的为从油茶科植物中分离鉴定出的五环三萜皂苷类物质，其主要活性成分为(3β,16α)-28-氧代-D-吡喃(木)糖基-(1→3)-o-β-D-吡喃(木)糖基-(1→4)-o-6-脱氧-α-L-吡喃甘露糖基-(1→2-β-D-吡喃(木)糖-17-甲羟基-16,21,22-三羟基齐墩果-12-烯。该物质在2.5mg·L^{-1}浓度下，24h钉螺死亡率高达93.33%；现场浸杀试验结果表明，4%螺威粉剂在2.5mg·L^{-1}浓度下，24h钉螺死亡率达92.67%，与50%灭螺胺乙醇胺盐WP2.0mg·L^{-1}防治效果差异不显著，显示出卓越的杀螺潜力。目前该植物性杀螺剂已被我国正式登记，用于钉螺的防治。由此可以看出，利用植物产生的皂苷类化合物防治害螺具有广泛的前景。

[0003] Pedunsaponin A(化学名称为3-o-[β-D-吡喃葡萄糖基(1→3)-o-β-D-吡喃葡萄糖醛酸基]-15α-羟基齐墩果-12烯-16-酮)和Pedunsaponin C(化学名称为3-o-β-D-吡喃葡萄糖(1→3)-β-D-吡喃葡萄糖醛酸-3β,15α-羟基齐墩果-12烯-16-酮)为2种具体的苦葛皂苷，为已知化合物。目前，对这2个化合物的生物活性研究较少，仅局限于这2种化合物的分离与结构鉴定。如李娜从苦葛中分离鉴定出Pedunsaponin C；曾明从苦葛根中分离鉴定出Pedunsaponin A(Li N.,Min Z.D.,Wu H.M.New oleanene-type triterpene saponins from Pueraria Peduncularis.[J]Journal of Asian Natural Products Research,2002,4(4):253-257；曾明，易杨华，郑水庆，等.苦葛根中的新三萜成分[J].药学学报，2000,33(6):438-441)。现有技术中仅涉及苦葛用于灭螺的零星报道，然而并没有对苦葛的灭螺机理、灭螺组分、灭螺的具体实验数据进行任何报道，更没有进一步关于这2种具体的苦葛皂苷化合物灭螺活性的报道。

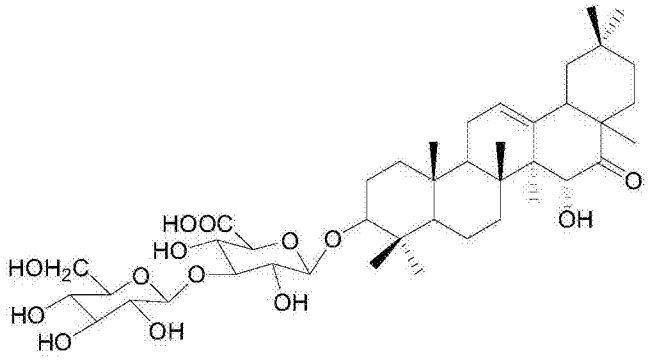
[0004] 所述Pedunsaponin A(式(I))结构式如下：

[0005]



式(I)

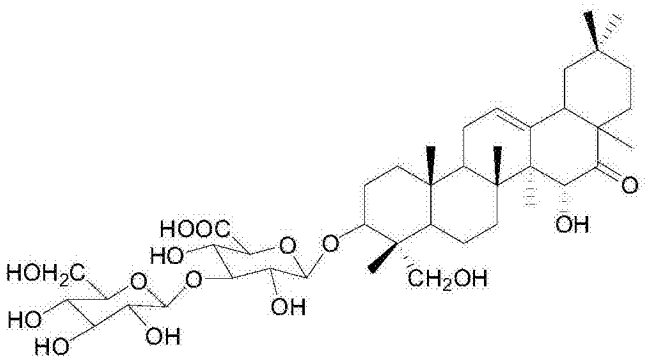
[0006] 所述Pedunsaponin C(式(Ⅱ))结构式如下：

[0007] 

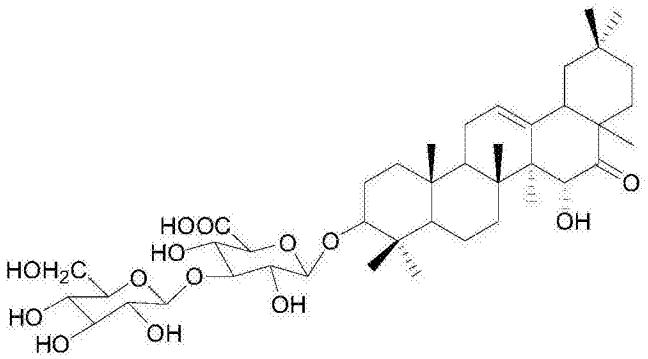
式（Ⅱ）

发明内容

[0008] 本发明的目的是提供苦葛皂苷用于制备灭螺剂的应用，其特征在于，所述苦葛皂苷的化学结构式分别如下所示：

[0009] 

式（Ⅰ）；或

[0010] 

式（Ⅱ）

[0011] 所述式(Ⅰ)或式(Ⅱ)化合物用于灭杀福寿螺(Pomacea canaliculata)或钉螺(Oncomelania hupensis Gredler)。

[0012] 进一步地，将苦葛皂苷用于制备灭螺剂时，所述式(Ⅰ)或式(Ⅱ)的苦葛皂苷占杀螺剂的5-90重量%，其余为农业上适宜的助剂。

[0013] 优选地，所述灭螺剂配制成悬浮剂。

[0014] 优选地，所述悬浮剂中，式(Ⅰ)或式(Ⅱ)化合物10重量%、十二烷基苯磺酸钠6重

量%、烷基酚聚氧乙烯醚8重量%、黄原胶1重量%、白炭黑20重量%、水补足100%。

[0015] 福寿螺通常集群栖息于池边浅水区，能离开水体短暂生活，可吸附在水生植物茎叶上取食。钉螺为水陆两栖的螺类，幼体喜欢生活在水中，成体多生活在水线以上潮湿地带的草丛中。因此将苦葛皂苷制备成悬浮剂，在施用时能够更快地、更准确地到达靶向目标，更好地起到杀灭作用。

[0016] 与现有技术相比，本发明具有下述优点：

[0017] 本发明的化合物来自于植物，毒性低，对环境友好。

[0018] 对福寿螺和钉螺等害螺具有明显的毒杀活性，杀灭率达到90%以上，农业应用中开发潜力巨大。

[0019] 作为这两种活性成分的来源植物生命力强，资源丰富，有利于大规模生产应用。

具体实施方式

[0020] 通过下述实施例有助于理解本发明，但并不限制本发明的内容。

[0021] 实施例一

[0022] 本发明Pedunsaponin A(即上述式(I)化合物)和Pedunsaponin C(即上述式II化合物)的杀螺活性

[0023] 1.供试靶标

[0024] 福寿螺(Pomacea canaliculata)：选用螺体外壳直径为15±2mm左右的福寿螺，由四川农业大学无公害农药研究实验室人工饲养获得。

[0025] 钉螺(Oncomelania hupensis Gredler)：选用7-8旋成螺，由四川农业大学无公害农药研究实验室人工饲养获得。

[0026] 2.试验药剂

[0027] Pedunsaponin A和Pedunsaponin C：从苦葛根粗提物中通过中压C18柱柱层析分离纯化得到。由四川农业大学无公害农药研究实验室提供。

[0028] 50%氯硝柳胺WP，市购。

[0029] 苦葛根水提物。将苦葛根粉碎，将粉碎物和去离子水按质量比为1:3的比例进行浸提，提取温度为40～70℃，提取时间为12～24h，共提取3次，浸提液浓缩干燥，的苦葛水提物。由四川农业大学无公害农药研究实验室制备、提供。

[0030] 3.试验方法

[0031] 采用浸杀法测定苦葛根提取物对福寿螺和钉螺的毒杀作用。

[0032] 将Pedunsaponin A和Pedunsaponin C分别配制成5个不同的浓度梯度，将配制成的稀释液分别倒入500ml的烧杯中，每烧杯倒入稀释液300ml。再将外壳直径为15±2mm的福寿螺及7-8旋钉螺放入烧杯中，每烧杯中放入螺20头，以氯硝柳胺和苦葛根水提物为药剂对照，以清水为空白对照，每个处理3次重复，放在温度为25℃，湿度为80%培养箱内，用纱布封口，以防螺逃出。处理后24h、48h和72h检查各浓度药液的死亡情况。建立毒力回归方程，并计算各处理对福寿螺和钉螺的LC_{50}值。

[0033] 4.试验结果

[0034] 由表1可知，Pedunsaponin A和Pedunsaponin C对福寿螺和钉螺均具有明显的毒杀作用。Pedunsaponin A在处理福寿螺后，其24h、48h和72h毒力分别高达40.0941μg/mL、

5.9532μg/mL和3.8928μg/mL;Pedunsaponin C在处理福寿螺后,其24h、48h和72h毒力分别为42.9826μg/mL、6.0479μg/mL和4.2515μg/mL;但苦葛根水提物的毒力仅为723.0034μg/mL、280.2784μg/mL和267.8989μg/mL;对照药剂氯硝柳胺对福寿螺的24h、48h和72h毒力分别为0.7251μg/mL、0.5145μg/mL和0.4198μg/mL。

[0035] Pedunsaponin A在处理钉螺后,其24h、48h和72h毒力分别高达8.6735μg/mL、0.8049μg/mL和0.6687μg/mL;Pedunsaponin C在处理钉螺后,其24h、48h和72h毒力分别为9.1704μg/mL、0.8739μg/mL和0.8288μg/mL;但苦葛根水提物的毒力仅为588.1544μg/mL、115.2999μg/mL和101.6794μg/mL;对照药剂氯硝柳胺对钉螺的24h、48h和72h毒力分别为0.1671μg/mL、0.1360μg/mL和0.0969μg/mL。

[0036] 从数据中可以看出,Pedunsaponin A和Pedunsaponin C处理福寿螺和钉螺48h和72h的毒力值显著高于处理24h的毒力值,表明Pedunsaponin A和Pedunsaponin C在处理48h后才能表现出显著的杀福寿螺和钉螺活性。同时,Pedunsaponin A和Pedunsaponin C对福寿螺和钉螺活性要显著高于苦葛根水提物。

[0037] 表1 2种苦葛皂苷对福寿螺和钉螺的毒杀作用

[0038]

害螺种类	药剂种类	处理时间(h)	毒力方程	相关系数(r)	LC_{50}(μg/mL)
福寿螺	Pedunsaponin A	24	Y=2.8228+1.3581X	0.9769	40.0941
		48	Y=4.9200+1.1828X	0.9900	5.9532
		72	Y=4.1805+1.3883X	0.9902	3.8928
	Pedunsaponin C	24	Y=2.7062+1.6333X	0.9878	42.9826
		48	Y=3.9234+1.3774X	0.9941	6.0479
		72	Y=3.9234+1.3774X	0.9797	4.2515
	苦葛根水提物	24	Y=1.5465+1.2468X	0.9934	588.5323
		48	Y=0.4203+1.9107X	0.9926	249.3690
		72	Y=1.8296+1.3454X	0.9756	227.2630
	氯硝柳胺	24	Y=5.2083+1.4923X	0.9568	0.7251
		48	Y=5.3124+1.0822X	0.9898	0.5145
		72	Y=5.4172+1.1068X	0.9938	0.4198
钉螺	Pedunsaponin A	24	Y=3.7435+1.3392X	0.9615	8.6735
		48	Y=5.1275+1.2505X	0.9804	0.8049
		72	Y=5.2922+1.6721X	0.9857	0.6687
	Pedunsaponin C	24	Y=3.6626+1.3897X	0.9972	9.1704
		48	Y=5.0944+1.6114X	0.9927	0.8739
		72	Y=5.1380+1.6918X	0.9883	0.8288
	苦葛根水提物	24	Y=1.5511+1.2453X	0.9820	588.1544
		48	Y=2.5257+1.2000X	0.9963	115.2999
		72	Y=1.3510+1.8179X	0.9896	101.6794
	氯硝柳胺	24	Y=5.6998+0.9006X	0.9707	0.1671
		48	Y=6.1825+1.3649X	0.9768	0.1360
		72	Y=5.2232+1.4114X	0.9924	0.0969

[0039] 实施例二10%Pedunsaponin A(即上述式(I)化合物)悬浮剂和10%Pedunsaponin C(即上述式II化合物)悬浮剂田间灭福寿螺试验

[0040] 1.供试药剂

[0041] 10%Pedunsaponin A悬浮剂和10%Pedunsaponin C悬浮剂。由四川农业大学无公害农药研究实验室制备、提供。

[0042] 50%氯硝柳胺WP。市购。

[0043] 30%苦葛根水提物水乳剂。由四川农业大学无公害农药研究实验室制备、提供。

[0044] 所述10%Pedunsaponin A悬浮剂组分如下:Pedunsaponin A 10重量%、十二烷基苯磺酸钠6重量%、烷基酚聚氧乙烯醚8重量%、黄原胶1重量%、白炭黑20重量%、水补足100%。

[0045] 所述10%Pedunsaponin C悬浮剂组分如下:Pedunsaponin C 10重量%、十二烷基苯磺酸钠6重量%、烷基酚聚氧乙烯醚8重量%、黄原胶1重量%、白炭黑20重量%、水补足100%。

[0046] 所述30%苦葛根水提物水乳剂组分如下:苦葛根水提物30重量%,烷基酚聚氧乙烯醚5重量%,水补足100%。

[0047] 2.供试作物

[0048] 水稻,品种为冈优606。

[0049] 3.防治对象

[0050] 福寿螺(Pomacea canaliculata)。

[0051] 4.试验方法

[0052] 试验地土壤类型为粘土,土壤肥力中等,小区栽培条件一致。小区面积5m^2,每小区移栽秧苗100丛,每丛5株,四周用泥土和塑料薄膜隔离,保持水体深度3-5cm。移栽后7d,每小区人工放养大小一致的福寿螺100头(螺壳直径约为25±2mm)。用10%Pedunsaponin A悬浮剂和10%Pedunsaponin C悬浮剂均按有效成分100g/hm^2、300kg/hm^2、500g/hm^2的使用剂量喷雾在水体中,药剂对照为30%苦葛根水提物水乳剂和50%氯硝柳胺WP,使用剂量为30%苦葛根水提物水乳剂有效成分10kg/hm^2,50%氯硝柳胺WP有效成分500g/hm^2;以喷施清水为空白对照;每处理4次重复。施药后1d、3d、7d和14d调查小区内的死螺数和活螺数,根据死螺数和活螺数计算防治效果,并进行差异显著性分析。

[0053] 5.试验结果与分析

[0054] 由表3可以看出,10%Pedunsaponin A悬浮剂和10%Pedunsaponin C悬浮剂在同等使用剂量下,对福寿螺的防治效果差异均不显著,说明2种药剂在防治福寿螺的效果上无明显差异。

[0055] 10%Pedunsaponin A悬浮剂和10%Pedunsaponin C悬浮剂在低剂量下,即有效成分量为100g/hm^2时,对福寿螺防治效果较差,与其它处理相比,差异显著。当10%Pedunsaponin A悬浮剂和10%Pedunsaponin C悬浮剂在有效成分量为300g/hm^2及以上时,对福寿螺有较好的防治效果,除药后第一天防治效果与对照药剂氯硝柳胺差异显著外,其余时间段的防治效果均与对照差异不显著。表明10%Pedunsaponin A悬浮剂和10%Pedunsaponin C悬浮剂在使用有效成分量高于300g/hm^2时,对福寿螺具有极强的毒杀作用,但作用相对缓慢,需经过一段时间后才能表现出明显的毒杀效果。

[0056] 同时可以看出,10%Pedunsaponin A悬浮剂和10%Pedunsaponin C悬浮剂在不同时间段的防治效果均显著高于30%苦葛根水提物水乳剂的防治效果,说明直接使用苦葛水

提物防治福寿螺效果不明显。

[0057] 表3 10%Pedunsaponin A悬浮剂和10%Pedunsaponin C悬浮剂对福寿螺的田间防治效果

[0058]

处理	防治效果（%）			
	1d	3d	7d	14d
10% Pedunsaponin A 悬浮剂（100g/hm^2）	53.33dC	78.67bB	82.49bB	86.57bB
10% Pedunsaponin A 悬浮剂（300g/hm^2）	67.54bcB	87.66aA	91.58aA	95.31aA
10% Pedunsaponin A 悬浮剂（500g/hm^2）	69.34bB	88.23aA	93.34aA	96.56aA
10% Pedunsaponin C 悬浮剂（100g/hm^2）	52.57dC	80.03bB	83.17bB	84.21bB
10% Pedunsaponin C 悬浮剂（300g/hm^2）	65.34cB	86.31aA	90.56aA	96.02aA
10% Pedunsaponin C 悬浮剂（500g/hm^2）	70.15bB	90.12aA	92.35aA	95.31aA
30%苦葛根水提物水乳剂（10kg/hm^2）	21.34eD	42.57cC	51.32cC	54.54cC
50%氯硝柳胺 WP（500g/hm^2）	79.43aA	91.58aA	93.66aA	96.78aA

[0059] 实施例三：10%Pedunsaponin A(即上述式(I)化合物)悬浮剂和10%PedunsaponinC(即上述式II化合物)悬浮剂田间灭钉螺试验

[0060] 1.供试药剂

[0061] 10%Pedunsaponin A(即上述式(I)化合物)悬浮剂和10%Pedunsaponin C(即上述式II化合物)悬浮剂。由四川农业大学无公害农药研究实验室制备、提供。

[0062] 50%氯硝柳胺WP。市购。

[0063] 30%苦葛根水提物水乳剂。由四川农业大学无公害农药研究实验室制备、提供。

[0064] 所述10%Pedunsaponin A悬浮剂组分如下：Pedunsaponin A 10重量%、十二烷基苯磺酸钠6重量%、烷基酚聚氧乙烯醚8重量%、黄原胶1重量%、白炭黑20重量%、水补足100%。

[0065] 所述10%Pedunsaponin C悬浮剂组分如下：Pedunsaponin C 10重量%、十二烷基苯磺酸钠6重量%、烷基酚聚氧乙烯醚8重量%、黄原胶1重量%、白炭黑20重量%、水补足100%。

[0066] 所述30%苦葛根水提物水乳剂组分如下：苦葛根水提物30重量%，烷基酚聚氧乙烯醚5重量%，水补足100%。

[0067] 2.防治对象

[0068] 钉螺(Oncomelania hupensis Gredler)。

[0069] 3.试验方法

[0070] 选取钉螺密度较大的小型沟渠，等距分割成段，每段水体体积约3～5m^3，施药前按常规清理环境，用10%Pedunsaponin A悬浮剂和10%Pedunsaponin C悬浮剂均按制剂量0.2g/m^3、0.4g/m^{3}和0.6g/m^{3}的试验剂量进行施药，对照药剂使用50%氯硝柳胺WP按制剂量0.5g/m^{3}和30%苦葛根水提物水乳剂10g/m^{3}的用量施用，以喷施清水为空白对照，试验共5个处理，每个处理4次重复。施药后1d、3d、5d和7d调查。调查方法为每小区随机筛取钉螺100

只，用敲击法鉴定钉螺死亡数和存活数，计算药剂防治效果，进行差异显著性分析。

[0071] 4.试验结果与分析

[0072] 由表4可以看出，10％Pedunsaponin A悬浮剂和10％Pedunsaponin C悬浮剂在同等使用剂量下，对钉螺的防治效果差异均不显著，说明2种药剂在防治福寿螺的效果上无明显差异。

[0073] 10％Pedunsaponin A悬浮剂和10％Pedunsaponin C悬浮剂在低剂量下，即制剂量为0.2g/m^{3}时，对福寿螺防治效果较差，与其它处理相比，差异显著。当10％Pedunsaponin A悬浮剂和10％Pedunsaponin C悬浮剂在制剂量为0.4g/m^{3}及以上时，对钉螺有较好的防治效果，大部分时间段的防治效果均与对照药剂氯硝柳胺差异不显著。表明10％Pedunsaponin A悬浮剂和10％Pedunsaponin C悬浮剂在使用制剂量高于0.4g/m^{3}时，对钉螺具有很好的防治效果，但作用相对缓慢，需经过一段时间后才能表现出明显的毒杀效果。

[0074] 同时可以看出，10％Pedunsaponin A悬浮剂和10％Pedunsaponin C悬浮剂在不同时间段的防治效果均显著高于30％苦葛根水提物水乳剂的防治效果，说明直接使用苦葛水提物防治钉螺效果差。

[0075] 表4 10％Pedunsaponin A悬浮剂和10％Pedunsaponin C悬浮剂对钉螺的田间防治效果

[0076]

处理	防治效果（%）			
	1d	3d	5d	7d
10% Pedunsaponin A 悬浮剂（0.2g/m^3）	50.34d	70.67cC	78.57cC	80.12bB
10% Pedunsaponin A 悬浮剂（0.4g/m^3）	67.32c	85.45bB	89.24bB	94.16aA
10% Pedunsaponin A 悬浮剂（0.6g/m^3）	71.78b	88.59abA	91.21abA	95.66aA
10% Pedunsaponin C 悬浮剂（0.2g/m^3）	51.23	72.36cC	76.12cC	78.89bB
10% Pedunsaponin C 悬浮剂（0.4g/m^3）	68.65bc	85.32bB	88.56bB	92.37aA
10% Pedunsaponin C 悬浮剂（0.6g/m^3）	70.23b	87.34abA	90.37bB	94.56aA
30%苦葛根水提物水乳剂（10g/m^3）	23.45e	39.26dD	41.58dD	48.79cC
50%氯硝柳胺 WP（0.5g/m^3）	81.98a	89.76aA	93.02aA	95.73aA

[0077] 本发明的苦葛皂苷用于制备灭螺剂的用途已经通过具体的实例进行了描述，本领域技术人员可借鉴本发明内容，适当改变原料、工艺条件等环节来实现相应的其它目的，其相关改变都没有脱离本发明的内容，所有类似的替换和改动对于本领域技术人员来说是显而易见的，都被视为包括在本发明的范围之内。