



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1424875 B

(45) 授权公告日 2012. 10. 03

(21) 申请号 01808249. 1

A01N 35/00 (2006. 01)

(22) 申请日 2001. 02. 16

A61K 31/44 (2006. 01)

(30) 优先权数据

A61K 31/47 (2006. 01)

09/506, 017 2000. 02. 17 US

A61K 31/35 (2006. 01)

60/237, 401 2000. 10. 04 US

A61K 31/21 (2006. 01)

A61K 31/12 (2006. 01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

(56) 对比文件

2002. 10. 17

WO 94/02125 A1, 1994. 02. 03, 全文.

(86) PCT申请的申请数据

US 3947594 A, 1976. 03. 30, 全文.

PCT/US2001/005117 2001. 02. 16

Fuzeillier et al.. Antifungal activity

(87) PCT申请的公布数据

of Cassia alata L. Ann. Pharm. Fr. 40

W001/60971 EN 2001. 08. 23

4. 1982, 40 (4), 357-363.

(73) 专利权人 加尼特有限公司

DRABER et al.. Structure-activity

地址 美国佐治亚州

relationships of quinone and

(72) 发明人 霍勒斯·卡特勒 斯蒂芬·卡特勒

acridonephotosystem II inhibitors. ACS Symp.

大卫·瑞特 罗杰·道森

Ser.. 1995, 摘要.

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

INOUE et al.. Inhibition of

11256

avian myeloblastosis virus reverse

代理人 楼仙英

transcriptase by heterocyclic

(51) Int. Cl.

quinones: structure-activity correlation.

A01N 43/90 (2006. 01)

Chem. Pharm. Bull. 39 4. 1991, 39 (4), 994-998.

A01N 43/42 (2006. 01)

审查员 刘建

A01N 43/16 (2006. 01)

A01N 37/00 (2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 13 页

(54) 发明名称

控制动物和水生植物生长的方法

(57) 摘要

通过将靶标种群暴露于有效量的杀水生生物化合物以控制靶标水生有害微生物种群的方法。所述的杀水生生物化合物选自醌类、蒽醌类、萘二酮类、奎宁、华法令、香豆素类、氨基酰胺、环己二烯-1,4-二酮、碘阿芬东、pirdone、玫棕酸钠、apirulosin 和百里醌。所述方法对以下应用特别有效: 处理在地理区域之间运输的船舶的压舱水或其他封闭的水体以控制包含在所述水体中的植物、有毒细菌和动物的迁徙。

1. 在感染有靶标水生有害微生物的水环境中控制所述靶标水生有害微生物种群的方法,其特征在于:向感染有靶标水生有害微生物的水中加入有效量的至少一种选自以下化合物的杀水生生物化合物:1,4- 萘二酮、2- 甲基 -5- 羟基 -1,4- 萘二酮和 2- 甲基 -1,4- 萘二酮,所述有效量是 100ppb 至低于 1 重量%,所述靶标水生有害微生物种群暴露于所述的杀水生生物化合物至少 1 小时,所述的靶标有害微生物种群包括选自以下的种群:斑贻贝、斑贻贝幼体、牡蛎幼体、桡足虫、Artemia salina、鱼卵、黑头呆鱼幼体、Isochrysis galbana、Neochloris。

2. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述的杀水生生物化合物是 2- 甲基 -5- 羟基 -1,4- 萘二酮。

3. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述的杀水生生物化合物是 2- 甲基 -1,4- 萘二酮。

4. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述的杀水生生物化合物的存在量是在 100ppb 至 500ppm 的范围内。

5. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述的杀水生生物化合物的存在量是在 500ppb 至 300ppm 的范围内。

6. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述的杀水生生物化合物的存在量是在 1ppm 至 200ppm 的范围内。

7. 如权利要求 1 所述的方法,其中将所述靶标水生有害微生物种群暴露于所述的杀水生生物化合物 1-96 小时。

8. 如权利要求 1 所述的方法,其中将所述靶标水生有害微生物种群暴露于所述的杀水生生物化合物 2-48 小时。

9. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述的靶标水生有害微生物种群是处在压舱水储水箱中。

控制动物和水生植物生长的方法

[0001] 本申请为待批美国专利申请 No. 09/506, 017 (申请日: 2000 年 2 月 17 日) 和美国临时专利申请 No. 60/237, 401 (申请日: 2000 年 10 月 4 日) 的部分继续申请。这些申请的内容在此引为参考。

发明领域

[0002] 本发明涉及用于控制水生的有害生物 (包括动物和植物) 的方法和组合物。更具体地, 本发明涉及用于控制、抑制和杀灭在靶标处理区内的水生和海洋有害植物、微生物和动物的方法和组合物。本发明特别可用于使含有软体动物、沟鞭藻、细菌和海藻的受处理水体 (开放的或封闭的) 的灭生。

[0003] 发明背景

[0004] 1988 年夏在北美格雷特湖发现欧亚斑贻贝 *Dreissena polymorpha* 是水生生物入侵史中最重要的事件之一。然而, 这并非非本土物种进入美国水域的第一个事件。更早的时候, 带刺水蚤 *Bythotrephes cederstroemi* 和梅花鲈 *Gymnocephalus cernuus* 由从欧洲港口来的压舱水进入了美国。很快就发现斑贻贝也是通过欧洲来的压舱水进入美国的。

[0005] 自 1988 年夏以来, 已有许多水生物种通过来自其他国家港口的压舱水进入美国。据估计, 通过压舱水和 / 或其他机理 (不限于渔场、洋流或近海水流) 已有数百种生物被引入美国。这样, 美国的近海水域和格雷特湖盆地的整体性已受到从别国引入水生物种速度日益增加的严重威胁。

[0006] 在 1880 年以前, 曾使用过各种控制船舶压舱的方法。事实上, 近海城镇的许多街道是用曾用于船舶压舱的石头铺的。然而, 在世纪之交前不久, 水用作压舱物很快取代了那些较老的稳定船舶的方法。自世纪之交以来, 非本土水生物种的入侵速度迅速提高, 主要就归因于船只运输。由于跨洋旅行增加, 无心地引入了威胁天然水路的非本土物种。结果就引入了能够在船舶压舱水、通海吸水箱中和船壳上经过跨洋旅行而存活的多种多样的生物。其中, 经船舶压舱水的传播是各种生物得以入侵美国水域的主要机理之一。

[0007] 船舶压舱水包括淡水或咸水, 泵入船中帮助控制它的机动性以及平衡、稳定性和浮力。用作压舱物的水可以在航行过程中的许多地点吸取, 包括出发地和目的地的港口。集装箱船在一次环球旅行中可有多达 12 次的货物 / 压舱水交换。在压舱水取水口附近的浮游生物或幼体都能被吸入并运输到下一个目的地港口。全世界每年约转运 100 亿吨压舱水。每只船依其大小和目的的不同可携带数百加仑 (约 2 公吨) 至 100, 000 公吨以上的压舱水。每小时约有 640 吨以上的压舱水抵达美国的近海水域。

[0008] 由于使用更大的船只来运输更多的物品进出美国, 在过去的 20 年中通过压舱水的入侵风险极大地增加了。估计全世界每天运输 3000-10, 000 个植物和动物物种。就那些被带进美国的物品而言, 注意下面这点是很有趣的: 含有动物、水果、蔬菜等等的物品必须由美国农业部检查, 以满足排除有潜在危害的非本土物种的要求。但有讽刺意味的是, 船只却可以排放已经被非本土物种污染的压舱水。正是通过这个机理, 数百个物种已被引入美国。

[0009] 美国鱼类和野生生物署最近估计,由于非本土物种的引入而造成的对北美经济的年支出已超过 1000 亿美元。虽然压舱水只占这些引入的小部分,但就造成的工业秩序混乱、清洗、产品损失和渔场和其他天然资源的损失而言,支出也在数百亿美元之巨。

[0010] 如上所述,在北美格雷特湖引入的最臭名昭著的物种之一是欧亚斑贻贝 *Dreissena polymorpha*,它已成为对休闲娱乐业和商业的内陆供水的主要威胁。不幸的是,它们的范围现在已从格雷特湖扩展到路易斯安那州,并对 1999 历年造成了估计超过 40 亿美元的经济损失。该物种是特别多产的,一个繁殖期的雌体每季能排出 40,000 个以上的受精卵,在孵化的时候每平方米可以看到超过 10 万个群落。而且,这些群落自己贴附在水下结构上,这些结构包括取水管(通过它很容易散播到别的环境中去)、船壳、废墟(如废弃的汽车轮胎、沉船和废弃的金属桶)。形成的群落往往达到 20 厘米的厚度。

[0011] 特别重要的是取水管被斑贻贝堵塞,这对于工业有破坏性的作用,特别是在发电厂的情况,对可靠的水流速度有特殊的要求。在被斑贻贝寄生以后,有些发电厂已有水流速下降 50% 的记录。此外,斑贻贝无论是活的还是死的还分泌物质,造成铁制的金属管的腐蚀。有关的问题也发生在供应饮用水的管道中,即使经过纯化处理,水还是有怪味。这不仅是由活的贻贝所释放的物质造成的,还特别是由那些死的和腐烂的贻贝造成的。后者最可能产生多胺,例如尸胺,它具有与蛋白质腐烂相关的特别令人作呕的气味,最常在腐烂的肉上闻到。

[0012] 其它对环境的有害影响是由斑贻贝的寄生直接和间接造成的。对浮游植物的影响是直接的。斑贻贝以浮游植物为食,而浮游植物又特别是湖泊和池塘鱼的食物来源,由于提高了水的澄清度,因此提高了其它水生草类的光合作用的效率。在某些水域中这已显现出对能量流和食物链的巨大影响。某些鱼类受到了威胁。例如,大眼狮鲈在混水中生长繁殖,环境学家一般相信,由斑贻贝的活动造成的水的澄清度的提高将会使有关工业消亡,目前的估计是每年 9 亿美元。由于在最近 20 年中通过压舱水引入的非可渔鱼种,诸如欧亚梅花鲈 (*Gymnocephalus cernuus*) 和刺鳍鱼 (*Proterorhinus marmoratus*) 的竞争的结果,格雷特湖本地的渔场已感受到巨大的、数十亿美元的收入降低。

[0013] 由于斑贻贝偏食的结果,它可能极大地改变藻类种群的物种组成,使得潜在有害的物种繁荣起来。一个例子是 *Microcystis*,这是一种没有营养价值且能分泌毒素的蓝绿藻,该毒素会造成人的肠胃问题。在伊利湖和邻近水道有过 *microcystis* 突然激增的记录。有毒的沟鞭藻(如 *Prorocentrum*, *Gymnodinium*, *Alexandrium*, *Gonyaulax*) 常在世界上的许多地方形成爆发,有时称为“赤潮”。除了在多种脊椎动物消费者(包括人类)中造成严重的(有时是致命的)疾病外,这些生物中的几种已对一些国家的贝类工业造成了毁灭性的影响。现在大家已经同意,压舱水的引入要对许多这种情形负责。

[0014] 关于霍乱弧菌 (*Vibrio cholera*) 引入美国墨西哥湾海岸的报告已追踪至该物种的进口与由南美洲进入墨西哥湾港口的压舱水中的浮游生物桡足虫(甲壳纲)媒介有关。而该菌又是以类似的途径由欧洲传到南美洲港口的。

[0015] 作为非本土物种引入美国的结果,并为了减少其它生物将来进入美国的可能性,1990 年美国国会通过了称作公法 101-646 的在“国家压舱水控制法案”之下的“非本土水生有害生物预防和控制法令”,该法令训令对控制水生有害生物引入美国进行研究。控制措施包括 UV 辐照、过滤、改变水的含盐度、机械搅拌、超声处理、臭氧化、热处理、电处理、去氧

和化学处理等可能的的方法以控制水生有害生物的引入。随着对水生有害生物污染的规模和代价的认识的提高,其它国家政府在最近的将来也很可能通过类似的立法。

[0016] 人们已提出许多方法和组合物来控制抑制各种海洋植物和动物的生长。特别是,已提出许多组合物用来处理已被斑贻贝寄生的水和各种表面。美国专利No. 5, 851, 408、5, 160, 047、5, 900, 157 和 5, 851, 408 公开了多种组合物的例子。

[0017] 这些已有的组合物和方法虽然有些是有效的,还不能完全地控制海洋植物和动物引入水道。因此,在工业上还继续存在对改进的水生有害生物(植物和动物)的控制方法的需求,主要的对象是能够悬浮在水中并容易由于取水、水流和潮汐而发生地理迁移的水生植物群和动物群和其他生物。

发明概要

[0018] 本发明涉及控制水生有害生物(植物、动物、细菌和其它微生物)的方法。本发明特别适用于软体动物、沟鞭藻、有毒细菌和藻类的种群控制和灭绝。本发明的一个方面涉及用于处理水以杀灭被处理水中的小型和微型水生有害生物(包括植物、动物、有毒细菌和微生物)的方法和组合物。

[0019] 本发明的一个目的是提供处理开放水面的指定区域、封闭区域或限流区域的水体的方法,该方法使用有效量的对靶标物种有毒的至少一种杀水生生物活性的化合物杀灭所述水面的水生有害微生物,包括植物、有毒细菌、悬浮的动物和沉积物中的其他生物机体。

[0020] 本发明的另一个目的是提供处理船舶中的压舱水,以控制软体动物、沟鞭藻、有毒细菌、藻类和其它微生物的转运的方法,该方法用有效量的杀水生生物的化合物处理压舱水使压舱水消毒。

[0021] 本发明的又一个目的是提供在水处理系统的取水管处理水以杀灭水中的植物、动物和微生物的方法。

[0022] 本发明的又一个目的是提供处理压舱水以杀灭其中的水生生物和控制其传播的方法。

[0023] 本发明的另一个目的是提供一种用有毒量的杀水生生物化合物(它容易分解为无毒的副产物)在开放水面的封闭空间或限定区域处理一定体积水的方法。

[0024] 本发明的另一个目的是提供抑制水生有害生物的传播的方法,这些生物包括斑贻贝成体、斑贻贝幼体、牡蛎幼体、藻类浮游植物(*Isochrysis galbana*, *Neochloris chlorella*),有毒的沟鞭藻(如 *Prorocentrum*),海水和淡水原生动物 和有毒细菌(包括生长培养物及其包囊形态),桡足虫类成体和幼体(*Vibrio cholera*, *Vibrio fischeri* 的媒介)和其它浮游的甲壳类,如 *Artemia salina*,鱼的幼体和卵,该方法用一定量的至少一种在此描述的杀水生生物化合物将水处理足够的时间,以杀灭靶标水生有害生物。

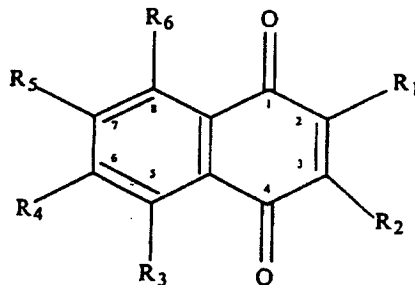
[0025] 本发明的再一个目的是提供用于处理压舱水和在其它封闭空间中的水的杀水生生物化合物,作为船漆的杀生物添加剂,以及作为施加在植物上的农药,用以控制蜗牛和蛞蝓。

[0026] 本发明的还有一个目的是提供处理工业和城市废水以杀灭或控制水生有害植物、动物和微生物传播的方法。

[0027] 本发明的这些和其它目的通过在此的叙述将会变得明显,通过使所述的靶标有害

微生物暴露于有效量的至少一种杀水生生物化合物来抑制其生长,较好是杀灭其种群的方法得以实现,所述的至少一种杀水生生物化合物选自:(1) 醌、(2) 蒽醌、(3) 奎宁、(4) 华法令、(5) 香豆素、(6) 氨苯酞胺、(7) 环己二烯-1,4-二酮、(8) 碘阿芬东、(9) pirdone、(10) 玫棕酸钠、(11) apirulosin、(12) 百里醌、(13) 萘二酮,它们具有以下的化学结构:

[0028]



[0029] 其中:

[0030] R_1 是氢、羟基或甲基;

[0031] R_2 是氢、甲基、硫酸氢钠、氯、丙酮基、3-甲基-2-丁烯基、羟基或2-氧丙基;

[0032] R_3 是氢、甲基、氯、甲氧基、或3-甲基-2-丁烯基;

[0033] R_4 是氢或甲氧基;

[0034] R_5 是氢、羟基或甲基;

[0035] R_6 是氢或羟基。

[0036] 本发明的杀水生生物化合物在极低浓度就能令人惊奇地有效控制水生有害生物种群。典型的靶标水生有害生物是那些通过周围水的移动(如水流、潮汐和取水口)迁徙的小生物和微生物。当本发明的杀水生生物剂能维持与靶标有害生物接触数小时至数天的时间,就能杀死这些有害生物种群。杀水生生物化合物然后通过紫外光、氧化、水解和其它自然机理的作用分解成无害的副产物,使处理过的水又能循环使用。

[0037] 发明详述

[0038] 本发明一般涉及寄生有靶标水生有害生物种群的水的处理方法,该方法包括用杀水生生物剂与其接触足够的时间,以减少被处理的水中的靶标种群至无害的水平,或杀灭被处理的水中的靶标种群。被处理的水可被局限在局部的开放水域中,封闭的空间中,或在限流的水道中。可按照本发明的方法处理的水体的例子包括船只压舱水储水池,从死水或活水水体取得的商业加工水,准备排放到蓄水池或水路中去的水,水池、取水口或取水管、排水口或排水管、热交换器、污水处理系统、食品和饮料加工厂、纸浆和造纸厂、发电厂进出口水管、冷却渠、水软化厂、污水废液、蒸发冷凝器、空气洗涤水、葡萄酒和食品加工水、酒厂巴氏消毒的水等冷的或其它形式的水。可以想象,如果水生有害生物种群已经使本来可以开放的水体的局部区域的休闲娱乐价值降低,本发明的杀水生生物剂也可用于处理该岸区或游泳区。

[0039] 在优选的实施方案中,由一种或多种杀水生生物化合物制成的杀水生生物剂被加到船只压舱水中,其浓度和与其接触的时间足以有效杀灭该压舱水中的靶标有害微生物。当排放到大面积水体中时,该浓度被稀释到足够低至无毒的水平,以避免或尽量减轻对本土的植物和动物物种的伤害。这样的处理方法应有助于防止有害的微生物在各个港口间进行有害的迁徙而无需耗费大量的金钱,对商业运输也无大的影响。

[0040] 用本领域中已知的标准配药装置和配药方法将本发明的杀水生生物化合物混合到水中。杀水生化合物可以单剂量配药或在一段时间内维持所需的浓度。较好的是,杀水生生物剂在涡流区或在搅动区引入,使杀水生生物化合物可以被混合到整个要处理的水中。杀水生化合物可间歇加入、连续加入或一次加入。

[0041] 靶标有害生物种群

[0042] 可用本发明方法控制、杀灭或变得无害的水生有害生物和种群一般地不是靠自己的能力在地理区域之间自由搬迁的,而是基本上随着它们周围的水的流动或升降而移动的。这样的微生物主要是在水流、潮汐、和取自一个港口又在另一个港口排放的压舱水的影响下移动的。成为按照本发明方法处理的水生有害微生物和种群包括细菌、病毒、原生生物、真菌、霉菌、水生有害植物、水生有害动物、寄生虫、病原体,以及这些生物的共栖生物。可用本发明方法处理的更具体的水生有害生物的名单包括但不限于以下的各类(在某些例子中可能有重叠):

[0043] 1) 全浮游生物:如浮游植物(硅藻、沟鞭藻、蓝绿藻、微小浮游生物、超微型浮游生物)和浮游动物(水母、栉水母、水螅类、多毛纲动物、轮虫、浮游腹足类、螺蛳、桡足类动物、等足目动物、糠虾类、磷虾、箭虫、和浮游被囊类动物)和鱼类。

[0044] 2) 阶段浮游生物:如浮游植物(海底植物的繁殖体)和浮游动物(海底无脊椎动物如海绵、海白头翁、珊瑚、软体动物、贻贝、蛤、牡蛎和扇贝的幼体)。

[0045] 3) 底栖生物:如小型软体动物。

[0046] 4) 偶然浮游生物:如扁形动物、多毛纲动物、昆虫幼体、螨和线虫。

[0047] 5) 深海生物:如水蛭、昆虫幼体和成体。

[0048] 6) 脱附的浮游生物群:如海草和沼泽植物。

[0049] 7) 鱼类和贝类的疾病、病原体和寄生虫

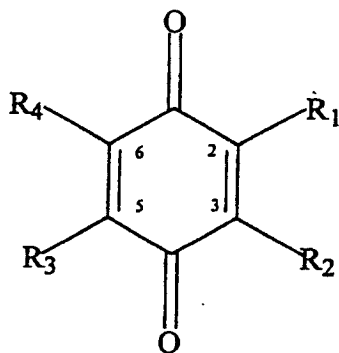
[0050] 8) *Bythotrephes cederstroemi* (刺水蚤、有尾刺水蚤)。

[0051] 9) 巨型无脊椎动物:如软体动物、甲壳类动物、海绵、环节动物、苔藓动物和被囊动物。可被有效地控制的软体动物的例子有贻贝(如斑贻贝)、蛤(包括亚洲蛤)、牡蛎和螺蛳。

[0052] 在进一步的实施方案中,可被处理的动物选自:细菌,如弧菌属(*V. cholera* 和 *V. Fischeri*);蓝细菌(蓝绿藻);原生动物,如 *Cryptosporium*;贾第虫属;纳氏虫属;藻类,如甲藻门(沟鞭藻)、裸甲藻属、*Alexandrium*, *Pfiesteria*, 膝沟藻属、薄甲藻属(包括被硬壳的形式);隐藻门;金藻门;海绵动物门(海绵);扁形动物门(扁形虫,如吸虫纲、多节绦虫亚纲、*turbellaria*);假体腔动物类(如轮虫纲、线虫纲);环节动物(如多毛纲环节动物、*oligochates*);软体动物(如腹足类动物 *polmonate* 螺);双壳类软体动物(例如巨蛎亚属牡蛎);贻贝属(蓝贻贝);饰贝属(如斑贻贝);甲壳动物;桡足虫的幼体和成体、硬骨鱼幼体。

[0053] 在本发明方法的第一实施方案中,向要处理的水中加入有效量的至少一种抑制海洋动植物生长的化合物。所述杀水生生物化合物选自醌、萘二酮、蒽醌及其混合物。所述醌具有以下结构:

[0054]



[0055] 其中 R_1 是氢、甲基、羟基或甲氧基；

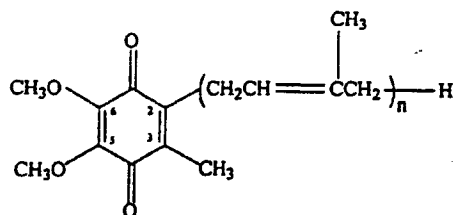
[0056] R_2 是氢、羟基、甲基、甲氧基或硝基；

[0057] R_3 是氢、羟基、甲基或甲氧基；

[0058] R_4 是氢、甲基、甲氧基、羟基或硝基。

[0059] 已发现能有效控制或抑制植物或动物在水中生长的醌的例子包括 1,4- 苯醌 (醌)、2,5- 二羟基 -3,6- 二硝基对苯醌 (硝冉酸)、2,6- 二甲氧基苯醌、3- 羟基 -2- 甲氧基 -5- 甲基对苯醌 (fumagatin)、2- 甲基苯醌 (甲苯醌)、四羟基对苯醌 (tetraquinone)、2,3- 二甲氧基 -5- 甲基 -1,4- 苯醌和它们的混合物。在进一步的实施方案中,醌可以是下式所示的泛醌：

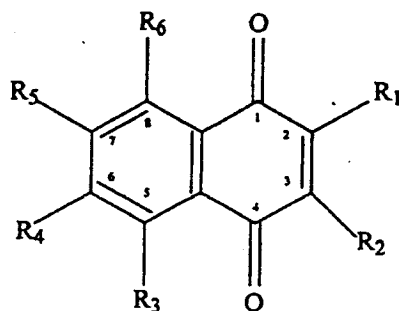
[0060]



[0061] 其中 n 是 1-12 的整数。特别优选的泛醌具有如上结构式,其中 $n = 10$ 。在进一步的实施方案中,泛醌具有如上结构式,其中 $n = 6-10$,且 n 为整数。

[0062] 在抑制海洋植物和动物的组合物是胡桃酮以外的萘二酮的实施方案中,这样的萘二酮具有以下的结构：

[0063]



[0064] 其中 R_1 是氢、羟基或甲基；

[0065] R_2 是氢、甲基、硫酸氢钠、氯、丙酮基、3- 甲基 -2- 丁烯基或 2- 氧丙基；

[0066] R_3 是氢、甲基、氯、甲氧基或 3- 甲基 -2- 丁烯基；

[0067] R_4 是氢或甲氧基；

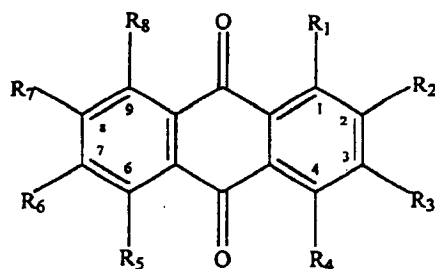
[0068] R_5 是氢、羟基或甲基；

[0069] R_6 是氢或羟基。

[0070] 萘二酮的例子包括 1,4-萘二酮、2-甲基-5-羟基-1,4-萘二酮(石炭蓉萘醌)、2-甲基-1,4-萘二酮(维生素 K_3)、2-甲基-2-焦亚硫酸钠-1,4-萘二酮、6,8-二羟基苯醌、2,7-二甲基-1,4-萘二酮(chimaphilia)、2,3-二氯-1,4-萘二酮(dichlorine)、3-丙酮基-5,8-二羟基-6-甲氧基-1,4-萘二酮(爪哇镰菌素)、2-羟基-3-(3-甲基-2-丁烯基)-1,4-萘二酮(黄钟花醌)、pirdone 和 2-羟基-3-甲基-1,4-萘二酮(结核菌萘醌)。

[0071] 蒽醌具有下式：

[0072]



[0073] 其中 R_1 是氢、羟基或氯；

[0074] R_2 是氢、甲基、氯、羟基、羰基或羧基；

[0075] R_3 是氢或甲基；

[0076] R_4 是氢；

[0077] R_5 是氢或羟基；

[0078] R_6 和 R_7 是氢；

[0079] R_8 是氢或羟基。

[0080] 适用于处理水以控制或抑制海洋植物和动物生长的蒽醌包括 9,10-蒽醌、1,2-二羟基蒽醌(茜素)、3-甲基-1,8-二羟基蒽醌、蒽醌-2-羧酸、1-氯蒽醌、2-甲基蒽醌和 1,5-二羟基蒽醌、2-氯蒽醌。

[0081] 其它可单独或互相合用或与上述醌、萘二酮和蒽醌合用、用于控制植物、动物和微生物生长的化合物包括 9,10-二氢-9-氧代蒽(蒽酮)、6'-甲氧基脱氧辛可宁-9-醇(奎宁)、4-羟基-3-(3-氧代-1-苯基丁基)-2H-1-苯并吡喃-2-酮(华法令)、2H-1-苯并吡喃-2-酮(香豆素)、7-羟基-4-甲基香豆素、4-羟基-6-甲基香豆素、2-[5-(4-氨基苯氧基)戊基]-1H-异吲哚 1,3-(2H)-二酮(氨苯酰胺)、玫棕酸钠、2-苯基-1,3-二氢茛二酮(phenindione)、2,5-二羟基-3-十一烷基-2,5-环己二烯、apirulosin 和百里醌。

[0082] 控制巨型无脊椎动物特别有效的化合物包括 2,3-甲氧基-5-甲基-1,4-苯醌、2-甲基-1,4-萘二酮、2-甲基-5-羟基-1,4-萘二酮、2-甲基-2-焦亚硫酸钠-1,4-萘二酮、3-甲基-1,8-二羟基蒽醌、2-甲基蒽醌、1,2-二羟基蒽醌、1,4-蒽二酮和它们的混合物。这些化合物对控制沟鞭藻的生长也有效。

[0083] 在本发明的一个实施方案中,通过施加有效量的选自 2,3-甲氧基-5-甲基-1,4-苯醌、2-甲基-1,4-萘二酮的化合物或其混合物处理软体动物、沟鞭藻、有毒细菌和藻类来抑制它们的生长。

[0084] 本发明的一个优选实施方案涉及通过使软体动物、沟鞭藻、有毒细菌和/或藻类暴露于有效量的醌、蒽醌、萘二酮或它们的混合物来杀灭或抑制软体动物、沟鞭藻、有毒细

菌和 / 或藻类生长的方法。通过将本发明杀水生生物化合物以有效量施加在水中,本方法对抑制有毒细菌和贻贝——特别是斑贻贝及其幼体及其它双壳类软体动物的生长是有效的。在一个优选的实施方案中,通过将斑贻贝暴露于毒性量的选自 2,3-甲氧基-5-甲基-1,4-苯醌、2-甲基-5-羟基-1,4-萘二酮、2-甲基-1,4-萘二酮、2-甲基-2-焦亚硫酸钠-1,4-萘二酮、3-甲基-1,8-二羟基蒽醌、2-甲基蒽醌的杀软体动物化合物或其混合物,处理贻贝(特别是斑贻贝及其幼体)以杀死或抑制其生长。

[0085] 在另一个实施方案中,将这些杀水生生物的化合物作为活性化合物添加到农业用的固体或液体饵料中以杀死或抑制蜗牛或蛞蝓的生长。该饵料可为本领域中已知的标准饵料。在另一个实施方案中,将杀水生生物化合物制成溶液或悬浮液以有效量直接施用在植物上来处理植物以控制蜗牛或蛞蝓的生长。

[0086] 杀水生生物量

[0087] 欲添加的杀水生生物成分的量部分取决于具体的化合物和要处理的植物和动物物种。在此,术语“有效量”或“杀水生生物的”指能够杀死靶标物种或使靶标物种种群变成惰性或者失去持久的活力。

[0088] 用于处理水杀死靶标植物或动物的本方法以低于 1 重量%的量将杀水生生物化合物引入水中。较好的是,杀水生生物化合物以约 100ppb-500ppm(百万分之几)的范围的量,更好以约 500ppb-300ppm 范围的量,最好以 500ppb-250ppm 范围的量加入。一般,用来处理压舱水的杀水生生物化合物的量在约 1ppm-200ppm 的范围。

[0089] 靶标有害生物种群应被暴露于选定浓度的杀水生生物剂一段足以杀死靶标种群的时间。对淡水及咸水而言,足够的暴露时间一般为至少 1 小时至不超过 96 小时(4 天)的范围。较好的暴露时间是约 2 小时至约 48 小时的范围。对于具体的杀水生生物化合物、水的种类、靶标种群、加入方法以及温度,可用常规的取样和试验来确定精确的浓度和暴露时间。

[0090] 涂料

[0091] 本发明的杀水生生物化合物也可被加入油漆和涂料中,其加入浓度应为足以提供种群控制但又不对涂料的性能产生不良影响。该油漆或涂料可涂布于例如船壳、取水管、船舱、锚和其他水下结构的表面上以防止植物和动物在该表面生长或附着。

[0092] 油漆或涂料组合物可以是含有各种聚合物或形成聚合物的组分的常规船漆。合适的组分的例子包括丙烯酸酯(如丙烯酸乙酯和丙烯酸丁酯)和甲基丙烯酸酯(如甲基丙烯酸甲酯和甲基丙烯酸乙酯)。其它合适的组分包括甲基丙烯酸 2-羟基乙酯和甲基丙烯酸二甲基氨基乙酯,它们可以和其它的乙烯基单体(如苯乙烯)共聚。油漆含有有效量的至少一种杀水生生物化合物以抑制植物和动物在漆过的基材上生长。在本发明的实施方案中,杀水生生物化合物的加入量应能提供在涂层表面上杀水生生物化合物有至少 500ppb 的浓度,较佳约 1ppm 至 50 重量%,更佳是 100-500ppm 以提供在涂层中杀水生生物化合物控制植物和动物的量。

实施例

[0093] 化合物的有效性和毒性水平用活跃的植物和动物物种评价。各种化合物以受控的速度和量加入水中。观察结果并记录于以下的表 1 中。

[0094] 按照以下的方案试验化合物对各种植物和动物的功效。

[0095] (a) 斑贻贝 (幼体和成体)

[0096] 将斑贻贝的种窝维持在天然井水中,将水的硬度水平调节至钙和镁的水平等于约 25 毫克 / 升的硬度。

[0097] 20℃,在固定前,使幼体保持自由游泳状态 30-40 天。使用该物种的早期幼体的生物试验方法是标准的牡蛎胚胎生物试验法的变种。在胚胎期、担轮幼体期和 D- 铰合期进行试验。

[0098] 本试验考察各种醌对生命史最早期阶段的毒性,即胚胎期至担轮幼体期 (2-17 小时);担轮幼体期 (2-17 小时);担轮幼体期至 D- 铰合期 (17-48 小时);和胚胎期至 D- 铰合期 (2-48 小时)。

[0099] 将从种窝 (维持在 10-12℃) 中取得的约 25 只成体清洗除去残渣,转移至盛有约 800 毫升培养水的 1500 毫升玻璃烧杯中。加入温水,使水温迅速升至 30-32℃。这样处理过的贻贝通常在 30 分钟内产卵。如果在此时间内未发生产卵,则加入由成熟的性腺制成的在培养水中的匀浆。

[0100] 成功的一次产卵为每只雌体产出大于 5 万只卵。为了检查是否成功受精,将受精卵转移至 Sedgewick-Rafter 池中,用双筒显微镜计数并作检查。可以看到受精卵活跃地分裂并在受精后 2-3 小时达到 8- 细胞阶段。大于 70% 的受精率就可认为是可靠的试验材料。

[0101] 试验用至少 500 个胚胎 / 幼体进行,各一式四份。使用 5 个试验浓度 (在 ppm 范围) 外加对照。对于胚胎试验,使用每毫升 10 个胚胎的密度;对于 D- 铰合幼体,使用每毫升 2 个幼体。试验为静态非更新的。进行 24 小时或更长时间的试验,每 24 小时给予食物 (培养的 *Neochloris*, 5×10^4 细胞 / 毫升)。

[0102] 在计数并调整密度后,早在受精后的 2 小时通过把已知数量的胚胎接种到试验培养基中开始胚胎试验。后几个阶段均保持在培养水中直至接种。用 Sedgewick-Rafter 池计数存活数,用 Abbott 公式调整对照死亡率。用 Probit 和 Dunnett 试验求得 LD_{50} 、观察到最低效应的浓度 (LOEC) 和未观察到效应的浓度 (NOEC) (Toxcalc 5.0)。

[0103] (b) 黑头呆鱼急性试验 (鱼试验)

[0104] 从试验室内培养得到的黑头呆鱼 (*Pimephales promelas*) 被用来进行此试验。将动物培养在天然井水中,硬度调节至大于 50ppm ($CaCO_3$) 当量。使鱼在 20 加仑产卵池 (含 PVC 管作为庇护所) 内产卵。将新孵出的幼体转移至保养池中待用,密度为 50-100 只 / 升。用无节鳃足虫 (卤虫属) 作为饲料。

[0105] 试验是静态更新的。试验时间为 48 小时和 96 小时。温度是 $20^\circ C \pm 1^\circ C$,光为通常的试验室照明。光强度是 $10-20E/m^2/秒$ (50-100ft-c)。照明时间为 16 小时亮 8 小时暗。试验容器 400 毫升。在第 48 小时更新试验液。试验生物龄为 1-14 天 (有 24 小时上下)。每个容器中有 10 个生物。各种醌的每一浓度 (ppm 范围) 一式三份。有 5 个试验浓度加上对照 (最初的确定范围的试验以对数系列进行)。所有的试验都在试验化合物溶解后的 5 小时内进行。动物在试验前以及在 48 小时更新试验溶液之前的 2 小时用无节卤虫 (*Artemia nauplii*) 喂食。氧气的水平维持在大于 4.0 毫克 / 升。天然井水调节到大于 50 毫克 / 升的硬度当量,用于稀释。

[0106] 试验的目的是确定 LC_{50} 、LOEC 和 NOEC。试验的可接受性阈值为对照组 90% 或更高的存活。数据用 Toxcalc 5.0 分析。

[0107] (c) 沟鞭藻 (*Prorocentrum minimum*) 试验

[0108] 在 Chesapeake 生物学实验室培养设备中将沟鞭藻 (*prorocentrum minimun*) 从室内贮备液培养生长为 1 升的培养物 (在用 f/2 营养培养基强化的 16ppt 盐度的灭菌过滤水中)。在试验前用 16ppt 盐度的过滤港湾水将该培养物稀释为 5 升。开始时的细胞密度约为 2×10^6 个细胞 / 毫升。

[0109] 在暴露处理后,使每个盛有 400 毫升沟鞭藻培养物的 600 毫升玻璃烧杯在连续的荧光灯照射下生长。每天定时取样进行细胞计数和显微镜观察,用丙酮提取叶绿素,并进行直接的体内叶绿素荧光测定。

[0110] 每个沟鞭藻培养处理物 100 毫升,一式三份,在轻微真空中用 25 毫米 GFF 滤纸过滤。将滤纸折褶,放在聚丙烯离心管中,准确加入 4ml HPLC 级丙酮,用 Virsonic 50 探头将样品进行约 2 分钟超声处理以破碎细胞,然后把它们放在冰箱中 4℃ 萃取过夜。离心 5 分钟后,将上清液转移到石英荧光计池中,用 Hitachi F4500 扫描荧光检测仪记录荧光。激发波长为 436 纳米,狭缝 10 纳米,发射波长为 660 纳米,狭缝为 10 纳米。光电倍增管在 700 伏操作。将标准的叶绿素 a 和 b (Sigma Chemicals) 溶解在 HPLC 级丙酮中,用于校正荧光光度计。每天进行一式三份的 3 点校正,将相对荧光强度转换为微克 / 升的单位。

[0111] 用 Hitachi F4500 进行的体内荧光测定包括将藻细胞悬浮并转移一部分至一次性聚碳酸酯比色杯中,记录 600–720 纳米的发射光谱 (将激发波长固定在 436 纳米,狭缝宽为 10 纳米)。

[0112] 用组合的双筒显微镜和血细胞计数器进行直接细胞计数,在 80 个方格中计数一式三份样品。

[0113] 酩毒性的终点包括细胞运动性、细胞分裂的抑制、叶绿素合成的抑制和叶绿体褪色。

[0114] (d) 小球藻试验

[0115] 按上述的程序进行其它浮游植物包括小球藻和 *Isochrysis galbana* 的试验。

[0116] (e) 扰足虫 (*Eurytemora affinis*) 试验

[0117] *Eurytemora affinis* 的培养物连续保持在 15 盐度海水中,8/16 小时亮 / 暗交替,每 48 小时用 *Isochrysis galbana* 喂食。用早龄期无节幼体 (慢性死亡率 / 产卵能力试验) 或成体 (急性 LC_{50} 试验) 进行毒性生物试验。

[0118] 按以下方法收集幼体。用 200mNitex 过滤器过滤培养物,使成体和早期阶段分开。让成体产卵 48–72 小时,以便得到用于试验的 1–3 期无节幼体。分批进行试验,每次处理 10 只幼体,一式三份。试验在 20℃ 连续进行 12 天 (如温度较高则天数较少)。终点为 F0 代的百分数 (以成体表示) 和 F1 代的总数 (以卵或无节幼体表示)。 LC_{50} 试验用成体桡足虫进行 24–48 小时,以死亡百分率为终点。所有的试验都以 15 盐度和 8 小时 / 16 小时亮 / 暗交替方案进行。

[0119] (f) 沟鞭藻孢囊 (*Glenodinium* sp.)

[0120] 从海底沉淀物收集沟鞭藻孢囊,用温和超声清洗清除残渣,然后暴露于 ppm 水平的各种酩。ppm 水平处理后用光学显微镜和表面荧光显微镜观察孢囊的氧化损伤和叶绿体

破裂。

[0121] 表 1

[0122]

实施例	IUPAC 命名	化学式	生物体	毒性数据
(1)	2-甲基-5-羟基-1,4-萘醌	$C_{11}H_8O_3$	<i>Isochrysis galbanan</i>	50 ppb 有毒性
			<i>Neochloris</i>	500 ppb 有毒性
			斑贻贝	200 ppb 有毒性
			<i>E.affinis</i>	5 ppm<10 分钟
			<i>Artemia salina</i>	5 ppm 有毒性
			鱼卵	1 ppm 杀死并抑制孵化
			黑头呆鱼幼体	1 ppm 有毒性
(2)	2-甲基-1,4-萘二酮 (维生素 K ₃)	$C_{11}H_8O_2$	<i>Isochrysis galbana</i>	500ppb 有毒性
			斑贻贝幼体	500ppm 有毒性
实施例	IUPAC 命名	化学式	生物体	毒性数据
			牡蛎幼体	1ppm
			<i>E. affinis Artemia salina</i>	5ppm<15 分钟 5ppm 有毒性

[0123]

			鱼卵	1ppm 杀死并抑制孵化
(3)	2-甲基-2-焦亚硫酸钠-1,4-萘二酮	$C_{11}H_{10}SO_5Na$	<i>Isochrysis galbana</i>	500 ppb 有毒性
			斑贻贝幼体	1 ppm 有毒性
			牡蛎幼体	500 ppb
			<i>E. affinis</i>	5 ppm < 15 分钟
			<i>Artemia salina</i>	5 ppm 有毒性
			鱼卵	1 ppm 杀死并抑制孵化
(4)	蒽酮	$C_{14}H_{10}O$	<i>Isochrysis galbana</i>	2 ppm 有毒性
(5)	1,2-二羟基蒽醌	$C_{14}H_8O_4$	<i>Isochrysis galbana</i>	1 ppm 有毒性
			<i>E. affinis</i>	1 ppm 有毒性
			<i>Artemia salina</i>	5 ppm 有毒性
(6)	3-甲基-1,8-二羟基蒽醌	$C_{15}H_{10}O_4$	<i>sochrysis galbana</i>	1 ppm 有毒性
			斑贻贝幼体	1 ppm 有毒性
(7)	蒽醌-2-羧酸	$C_{15}H_8O_4$	<i>Isochrysis galbana</i>	1 ppm 有毒性
			<i>E. affinis</i>	5 ppm < 5 小时
(8)	1-氯蒽醌	$C_{14}H_7O_2$	<i>Isochrysis galbana</i>	500 ppb 有毒性
			<i>Neochloris</i>	500 ppb 有毒性
			<i>E. affinis</i>	5 ppm < 5 小时
(9)	2-甲基蒽醌	$C_{15}H_{10}O_2$	<i>Isochrysis galbana</i>	500 ppb 有毒性
			<i>Neochloris</i>	1 ppm 有毒性
			斑贻贝幼体	200 ppm 有毒性
实施例	IUPAC 命名	化学式	生物体	毒性数据
			<i>E. affinis</i>	5 ppm < 45 分钟
			<i>Artemia salina</i>	5 ppm 有毒性

[0124]

(10)	1, 4-萘二酮	$C_{10}H_6O_2$	<i>Isochrysis</i>	1 ppm 有毒性
			<i>galbana</i>	
			牡蛎幼体	5 ppm 有毒性
(11)	蒽醌	$C_{14}H_8O_2$	<i>E. affinis</i>	5 ppm < 10 分钟
(12)	1,4-苯醌	$C_6H_4O_2$	<i>Isochrysis</i>	5 ppm < 4 小时
			<i>galbana</i>	
(13)	1,4-苯醌	$C_6H_4O_2$	500 ppb 有毒性	
			鱼卵	5 ppm 50% 死亡率, 1 ppm 控制孵化。
(13)	甲基-1,4-苯醌 (甲苯醌)	$C_7H_6O_2$	<i>Isochrysis</i>	500 ppb 有毒性
			<i>galbana</i>	
(14)	2,3-甲氧基-5-甲基-1,4-苯醌	$C_9H_{10}O_4$	<i>Isochrysis</i>	5 ppm 有毒性
			<i>galbana</i>	

[0125] 实施例 15

[0126] 香蕉蜗牛 (*Bulimulus alternata*) 由供应商处获得,用莴苣叶喂养直至生物试验开始。

[0127] 将 10 只蜗牛放置在加盖的升玻璃烧杯中,放养在约 50 平方厘米的莴苣叶上,该叶子已用 3 个浓度 (5、10 和 20 毫克 / 升) 的 2,3- 甲氧基 -5- 甲基 -1,4- 苯醌水溶液的细雾喷过。在喂给蜗牛之前,将处理过的叶子干燥。另将 10 只蜗牛放养在约 50 平方厘米的未经处理的莴苣叶上作为对照。将处理组和对照组维持在暗处,约 20℃。在第 24 小时和第 48 小时观察死亡率和进食活动状态。

[0128] 在所有的处理组中,相对对照组而言,蜗牛表现出明显的逃避倾向。处理组的几只蜗牛缩回壳内,限本无进食活动 (叶子完全完整)。其它的则爬上烧杯壁远离叶子。在 48 小时后再次观察到逃避行为。相反,对照组蜗牛在 24 小时后吃掉了 10% 以上的叶子表面,并且继续进食,在 48 小时后吃掉了约 20% 的叶子。

[0129] 虽然已选用了各种实施方案来说明本发明,本领域技术人员应理解,可对在此揭示的方法进行各种改变或修改而不会偏离所附权利要求中定义的本发明的精神和范围。