



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101917841 B

(45) 授权公告日 2014. 11. 12

(21) 申请号 200880024068. 6

(22) 申请日 2008. 07. 17

(30) 优先权数据

184729 2007. 07. 19 IL

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2010. 01. 11

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/IL2008/000995 2008. 07. 17

(87) PCT国际申请的公布数据

W02009/010981 EN 2009. 01. 22

(73) 专利权人 耶路撒冷希伯来大学伊森姆研究
发展公司

地址 以色列耶路撒冷

(72) 发明人 R·戈伦 E·戈德施米德特

J·里奥夫 A·阿佩尔鲍姆

M·赫伯曼 E·C·西斯勒

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公
司 72001

代理人 刘健 付磊

(51) Int. Cl.

A01N 3/00(2006. 01)

A01N 3/02(2006. 01)

A01N 37/06(2006. 01)

A23B 7/00(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 1450859 A, 2003. 10. 22, 说明书第 30 页
实施例 31 第 20-22 行.

CN 1463263 A, 2003. 12. 24, 权利要求 1-9.

CN 1505933 A, 2004. 06. 23, 权利要求 1-4.

CN 1450859 A, 2003. 10. 22, 说明书第 30 页
实施例 31 第 20-22 行.

V. Grichko. New Volatile and
Water-Soluble Ethylene Antagonists.
《Russian Journal of Plant Physiology》. 2006,
第 53 卷(第 4 期), 第 523 页第 2 栏倒数第 1-2
段, 第 524 页第 1 栏第 1 段, 表 1 XI 和 XII, 第 524 页
第 2 栏倒数第 1 行, 第 527 页第 1 栏第 1-2 行.

V. Grichko. New Volatile and
Water-Soluble Ethylene Antagonists.
《Russian Journal of Plant Physiology》. 2006,
第 53 卷(第 4 期), 第 523 页第 2 栏倒数第 1-2
段, 第 524 页第 1 栏第 1 段, 表 1 XI 和 XII, 第 524 页
第 2 栏倒数第 1 行, 第 527 页第 1 栏第 1-2 行.

V. Grichko. New Volatile and
Water-Soluble Ethylene Antagonists.
《Russian Journal of Plant Physiology》. 2006,
第 53 卷(第 4 期), 第 523 页第 2 栏倒数第 1-2
段, 第 524 页第 1 栏第 1 段, 表 1 XI 和 XII, 第 524 页
第 2 栏倒数第 1 行, 第 527 页第 1 栏第 1-2 行.

审查员 向春玲

权利要求书 2 页 说明书 12 页 附图 19 页

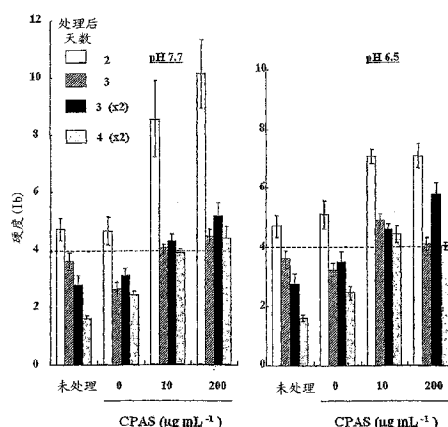
(54) 发明名称

使用 3-环丙-1-烯基-丙酸盐阻断植物中乙
烯反应的组合物及方法

(57) 摘要

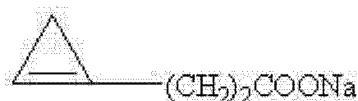
本发明公开了一种抑制乙烯在植物中反应
的方法, 包括将抑制乙烯反应有效量的 H1- 环丙
烯-1-丙酸盐 (CPAS) 施用到植物的至少一部分的
步骤。一种延长切花寿命的方法, 包括将延长寿命
有效量的 CPAS 的施用至切花, 以及制备 CPAS 的
方法, 包括步骤 (i) 制备 4-溴-4-戊烯酸或其衍
生物; (ii) 制备 1-环丙烯-1-丙酸; 和 (iii) 将
所述酸转化为其水溶性盐, 尤其是其钠盐。另外,

公开了用于植物中乙烯反应的新的一系列水溶性
CPAS 抑制剂。



1. 一种抑制植物内乙烯反应的方法,包括将抑制乙烯反应有效量的式(1)所定义的 3-(1-环丙烯基)丙酸的钠盐应用至植物的至少一部分:

式(1):



2. 根据权利要求1的方法,其中所述的 3-(1-环丙烯基)丙酸的钠盐是以粉末形式提供的。

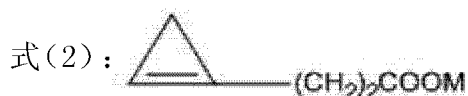
3. 根据权利要求1的方法,其中所述的 3-(1-环丙烯基)丙酸的钠盐是以粉末、气雾剂、悬浮液或乳液形式提供的。

4. 根据权利要求1的方法,其中所述的应用是通过下述这样进行的:将所述植物与水溶液相接触、将所述植物的至少一部分浸渍于水溶液、将水溶液喷雾至所述植物的至少一部分、将水溶液灌溉或滴灌至所述植物的至少一部分、或将水溶液涂抹至所述植物的至少一部分,所述水溶液包含所述的 3-(1-环丙烯基)丙酸的钠盐。

5. 根据权利要求1的方法,其中所述的乙烯反应选自下列:果实成熟、蔬菜成熟、花的衰老、或脱落。

6. 根据权利要求1的方法,其中所述植物的至少一部分选自收获的果实、收获的蔬菜、切开的果实或切花。

7. 一种抑制植物内乙烯反应的方法,包括将抑制乙烯反应有效量的式(2)所定义的 3-(1-环丙烯基)丙酸的盐应用至植物的至少一部分:



其中所述 3-(1-环丙烯基)丙酸的盐是水溶性盐,且 M 是选自下列的阳离子:锂、钠、钾、钙、或镁。

8. 根据权利要求1的方法,其另外包括将 3-(1-环丙烯基)丙酸的钠盐与有效量的表面活性剂混合的步骤,以获得具有表面活性的含有 3-(1-环丙烯基)丙酸的钠盐的水溶液。

9. 根据式(2)限定的 3-(1-环丙烯基)丙酸的水溶性盐,其可以用作植物内乙烯反应的抑制剂,



其中 M 是选自下列的阳离子:锂、钠、钾、钙、或镁。

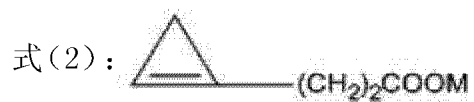
10. 根据权利要求9的 3-(1-环丙烯基)丙酸的水溶性盐,其中所述盐的阳离子选自锂、钠或钾。

11. 一种水溶液,其含有权利要求9或10中所限定的 3-(1-环丙烯基)丙酸的水溶性盐。

12. 根据权利要求9的 3-(1-环丙烯基)丙酸的水溶性盐,其中所述 3-(1-环丙烯基)丙酸的水溶性盐是作为表面活性的 3-(1-环丙烯基)丙酸的水溶性盐提供的。

13. 根据权利要求9的 3-(1-环丙烯基)丙酸的水溶性盐,其中所述 3-(1-环丙烯基)丙酸的水溶性盐是以粉末形式提供的。

14. 一种抑制植物内乙烯反应的方法,包括将抑制乙烯反应有效量的式(2)所定义的3-(1-环丙烯基)丙酸的盐应用至植物的至少一部分:



其中所述3-(1-环丙烯基)丙酸的盐是水溶性盐,且M选自锂或钾。

15. 根据权利要求1的方法,其中所述的乙烯反应的抑制是为了延长切花、切开的果实、收获的果实或收获的蔬菜的寿命。

使用 3- 环丙 -1- 烯基 - 丙酸盐阻断植物中乙烯反应的组合 物及方法

发明领域

[0001] 本发明一般涉及阻断乙烯在植物和植物器官或组织中反应的水溶性组合物和方
法,特别涉及通过给植物施用 3- 环丙基 -1- 烯基 - 丙酸钠(或其他抗衡离子带正电荷的抗衡
离子)盐(CPAS)来抑制植物中多种乙烯控制的植物生长,再生和生殖过程。本发明还涉
及 CPAS 的合成方法。

背景技术

[0002] 乙烯是天然植物生长调节剂,涉及多种发育过程,尤其是果实催熟,脱落(果实和
叶落),和衰老。乙烯的副作用对农业产量产生了损害。

[0003] 乙烯拮抗剂的施用被认为对农业很有益处,因为拮抗剂保护组织免收内源和外
源乙烯的损害。乙烯拮抗剂(EAs)通过阻断乙烯的受体部位在分子水平上抑制乙烯的作
用。因此,施用 EAs 可允许农作物收获季节的延长,延长水果,草药和叶菜的可存储性和
货架寿命,并延长切花的花瓶寿命。一些 EAs 的用途已经获得了专利保护:磷酸衍生物
(US3879188),硫代硫酸银盐(US5510315),有机卤素化合物(US5679617),2,5- 降冰片二烯
(US5834403),1- 甲基环丙烯(US619350,US6365549)。尽管阻断乙烯反应的方法在发展,但
仍有更安全和方便的水溶性阻断剂的需求。

[0004] 发明概述

[0005] 目前施用的最有前景烯拮抗剂,1- 甲基环丙烯(1-MCP),由于其不溶于水而受到
限制,因此仅在封闭容器中以挥发的形式施用。1- 甲基化环丙烯不能用于浸渍切花的负载
料或用于在野外喷雾。此外,商业上希望迎合对乙烯拮抗剂阻断乙烯受体不同的持续时间
上有更大的选择。经合成和筛选作为乙烯拮抗剂的效力推定十七种环丙烯为乙烯抑制剂。
为进一步合成新的水性和稳定的环丙烯衍生物(CPAS),所选择的最有前途的,被认为有效
的乙烯抑制剂-诱导农作物中相反地反应,像延迟香蕉皮绿色减少至少 12 天,和“Hass”鳄
梨变色至少 5 天,延长康乃馨和矮牵牛花切花的花瓶寿命至少 14 天,同样能延迟柑桔叶外
植体脱落至少 7 天。

[0006] 本发明公开了在植物中抑制乙烯反应的方法。根据本发明,进一步详细描述了对
植物施用抑制乙烯反应有效量的 CPAS 的方法。

[0007] 本发明另一方面是对植物施用乙烯受体阻断有效量的 CPAS 阻断植物中乙烯受体
的方法。

[0008] 本发明的另一方面是施用上述方法阻断植物中乙烯受体,其中所述方法额外包括
将 CPAS 与有效量的表面活性剂混合的步骤,获得具有表面活性的包含 CPAS 的水溶液。

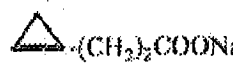
[0009] 本发明还公开了抑制植物中器官脱落的方法,包括对植物施用抑制脱落有效量的
CPAS。

[0010] 本发明还公开了延长切花寿命的方法,包括对切花施用延长寿命有效量的 CPAS。

[0011] 本发明还公开了抑制收获的果实成熟的方法,包括对收获的果实施用抑制有效量

的 CPAS。本发明还公开了抑制收获的蔬菜成熟的方法,包括对收获的蔬菜施用抑制有效量的 CPAS。本文所描述的方法可以多种合适的方式实施,例如用 CPAS 处理植物,无论是 (i) 水溶液,或气雾剂,或悬浮液,或乳液;(ii) 或将植物,切花,采摘的水果或蔬菜置于包含 CPAS 水溶液的空气中;或 (iii) 粉末,细小的粒子例如纳米粉末,颗粒物等等。上述以及其他合适的使用方法将在下文中详述。

[0012] 因此本发明的目的是公开抑制植物中乙烯反应的方法,包括对植物的至少一部分施用抑制乙烯反应有效量式 (1) 所定义的环丙基-1-烯基-丙酸钠盐 (CPAS):

 $\Delta-(CH_2)_2COONa$, 其中钠 (Na^+) 在下文中定义为任何合适的抗衡离子带正电荷的抗衡离子。

[0013] 施用步骤可通过接触所述化合物到包含所述化合物的水溶液来进行。根据本发明的 CPAS 是选自但不限于锂,钠,钾,铵,钙,镁,等等,和包含至少一个硫酸根或磷酸根分子的抗衡离子带正电荷的抗衡离子,或其组合的盐,以及尤其是钠盐。施用步骤可通过用所述溶液对所述植物的至少一部分浸渍,喷雾,灌溉或滴灌 (drop emitting),接触,和涂抹的一个或多个方法来进行。乙烯反应选自但不限于果实成熟,蔬菜成熟,花衰老,脱落,果实的收获,蔬菜的收获或前述的组合。

[0014] 本发明的另一个目的是公开延长收获果实寿命的方法,包括对收获果实施用延长寿命有效量的式 (1) 所定义的化合物。施用步骤可通过用所述溶液对所述植物的至少一部分浸渍,喷雾,灌溉或滴灌 (drop emitting),接触,和涂抹的一个或多个方法来进行。乙烯反应选自但不限于果实成熟,蔬菜成熟,花衰老,脱落,果实的收获,蔬菜的收获或前述的组合。

[0015] 本发明的另一个目的是公开延长切花寿命的方法,包括对切花施用延长寿命有效量的式 (1) 所定义的化合物。施用步骤可通过用所述溶液对所述植物的至少一部分接触,浸渍,喷雾,灌溉或滴灌 (drop emitting),和涂抹的一个或多个方法来进行。

[0016] 本发明的另一个目的是公开了用于植物中的乙烯反应的环丙基-1-烯基-丙酸钠盐 (CPAS) 抑制剂,其特征在于所述抑制剂具有式 (1)。CPAS 抑制剂可主要以液形式在环境条件下 (温度与压力),通过选自浸渍,涂抹,灌溉或滴灌,喷雾或前述的任意组合的商业可行的方法,适于在植物的至少一部分上施用。替换地或另外地,如前述所定义的 CPAS 溶解,分散或混合于水溶液中以获得有效量。

[0017] 本发明的另一个目的是公开了如前述所定义的 CPAS,其中 CPAS 提供于包含表面活性的 CPAS 水溶液。

[0018] 附图概述

[0019] 本发明现通过实施例,以及其中的附图更详细地描述:

[0020] 图 1 是经 CPAS 处理和未经处理的康乃馨花瓣照片;

[0021] 图 2 是经 CPAS 处理和未经处理的康乃馨切花照片;

[0022] 图 3 是经 CPAS 处理和未经处理的矮牵牛花切花照片;

[0023] 图 4 是经 CPAS 处理和未经处理的香蕉果实照片;

[0024] 图 5 显示了香蕉的硬度和颜色对 CPAS 和乙烯负荷以来性的图表;

[0025] 图 6 是经 CPAS 处理和未经处理的鳄梨果实照片;

- [0026] 图 7 显示 CPAS 延迟柑桔叶外植体脱落效果的图表；
- [0027] 图 8 呈现了用 CPAS 喷雾的番茄植物乙烯诱导的叶柄偏上性；
- [0028] 图 9 呈现了用 CPAS 喷雾的番茄植物乙烯诱导的叶柄偏上性；
- [0029] 图 10 呈现了切开的番茄植物负载 CPAS 的乙烯诱导叶柄偏上性的效果；
- [0030] 图 11 呈现了喷雾 CPAS 对桃果实的效果；
- [0031] 图 12 呈现了负载 CPAS 对康乃馨切花花序直径的效果；
- [0032] 图 13 呈现了负载 CPAS 对切除的花瓣延迟乙烯诱导衰老的效果,处理 14 天后；
- [0033] 图 14 呈现了负载 CPAS 继之以空气或乙烯处理对切除的花瓣的效果；
- [0034] 图 15 呈现了负载 CPAS 对延迟矮牵牛花乙烯诱导衰老的效果,处理 15 天后；
- [0035] 图 16 呈现了柑桔叶外植体的模型系统；(A) 负载：装载抑制剂的叶外植体于包含多种浓度的 CPAS 的自来水中 6 小时,通过将叶柄切剖面沉浸于处理液中；(B) 浸渍：叶外植体沉浸于包含多种浓度的 CPAS 加吐温-20 (0.025%) 的自来水中 30 秒；
- [0036] 图 17 呈现了 CPAS 对延迟柑桔叶外植体脱落的效果；
- [0037] 图 18 呈现了 CPAS 对的缓冲溶液延迟柑桔叶外植体脱落的效果；
- [0038] 图 19 呈现了用 CPAS 喷雾的番茄植物乙烯诱导的叶柄偏上性；用包含 0.025 到 0.1% L-77 表面活性剂+CPAS 的磷酸钾缓冲液 (pH7.8, 10mM) 喷雾预处理的 5 周大的温室植物；18 小时后,预处理植物暴露于乙烯 3 μ L-124 小时。
- [0039] 图 20 呈现了用 CPAS 喷雾的番茄植物乙烯诱导的叶柄偏上性；用包含 0.025 到 0.1% "Kinetic" 表面活性剂+CPAS 的磷酸钾缓冲液 (pH7.8, 10mM) 喷雾预处理的 5 周大的温室植物；18 小时后,预处理植物暴露于乙烯 3 μ L-124 小时。
- [0040] 图 21 呈现了用 CPAS 喷雾番茄植物对于乙烯诱导的叶柄偏上性的影响；
- [0041] 图 22 呈现了用 CPAS 负载番茄植物对于乙烯诱导的叶柄偏上性的影响；
- [0042] 图 23 呈现了用 CPAS 涂抹处理 5 天后的鳄梨 "Hass" cv. 延迟乙烯诱导成熟的效果；青熟 "Hass" cv. 果实经 CPAS 自来水溶液 (100 μ g mL⁻¹+0.1% "Kinetic" 表面活性剂) 柔和地涂抹果实皮的预处理 (B)。18 小时后,未处理的 (A) 和预处理的 (B) 暴露于乙烯 (250 μ L L⁻¹) 中 24 小时；
- [0043] 图 24 呈现了用 CPAS 涂抹处理 10 天后的香蕉延迟乙烯诱导成熟的效果；绿香蕉经自来水 CPAS 溶液 (+0.025% 吐温-20 表面活性剂) 柔和地涂抹果实皮的预处理。18 小时后,预处理的果实暴露于乙烯 (250 μ L L⁻¹) 中 24 小时。
- [0044] 图 25 呈现了用 CPAS 涂抹处理 10 天后的香蕉延迟乙烯诱导成熟的效果；绿香蕉经自来水 CPAS 溶液 (+0.025% 吐温-20 表面活性剂) 柔和地涂抹果实皮的预处理。18 小时后,预处理的果实暴露于乙烯 (250 μ L L⁻¹) 中 24 小时。
- [0045] 发明详述
- [0046] 可用于实施本发明的 CPAS 定义为式 I (钠在本文中作为抗衡离子带正电荷的抗衡离子提供)



[0048] 本文所述术语“植物”是普通的含义,包括草本和木质茎植物例如树木和灌木。通过本文所述的方法处理植物包括植物整体和其任意部分,例如作物,盆栽植物,切花 (茎和

花),收获的果实和蔬菜。用本发明所述的化合物和方法处理的植物,优选对植物无毒量的 CPAS 处理。

[0049] 下文涉及的术语“水溶液”指任何至少部分水溶性的溶液。尽管如前所述,CPAS 可以粉末形式提供,作为片剂,气雾剂,乳液,悬浮液,水混溶或水不混溶的溶液或以任何其他的农业方式提供。

[0050] 本发明能够用于对各种不同的乙烯反应进行改变。乙烯反应可源于外源或内源乙烯。乙烯反应包括,例如,花,果实和蔬菜的成熟和/或衰老,叶,花和果实的脱落,观赏植物如盆栽植物,切花,灌木,种子,和休眠秧苗寿命的缩短,对某些植物(例如豌豆)的生长的抑制,以及对其他植物(例如水稻)生长的刺激。本发明的 CPAS 可抑制另外的乙烯反应或乙烯型反应,包括但不限于,直接或间接生长素活性,抑制末端生长,控制顶端优势,增加分枝,增加或减少产品代谢物和副产品的新陈代谢和浓度,改变植物的生化组合物(例如增加叶相对于茎的面积),败育或抑制花和种子发育,倒伏现象,刺激种子萌芽和打破休眠,以及激素或偏上性效果。

[0051] 根据本发明实施方案的方法抑制蔬菜的成熟和/或衰老。本文所述的“蔬菜成熟”包括仍在植物结实中的蔬菜的成熟和已经从结实的植物收获的蔬菜的成熟。可经本发明的方法处理,以抑制成熟和/或衰老的蔬菜包括叶状青菜例如莴苣(例如 *Lactuca sativa*),菠菜(*Spinaca oleracea*),和卷心菜(*Brassica oleracea*),多种块根类,例如马铃薯(*Solanum tuberosum*)和胡萝卜(),鳞茎类,例如洋葱(*Allium sp.*),草本植物,例如罗勒属(*Ocimum basilicum*),皮萨草(*Origanum vulgare*),小茴香(*Anethum graveolens*),以及大豆(*Glycine max*),菜豆(*Phaseolus limensis*),豆类(*Lathyrus spp.*),谷类(*Zea mays*),椰菜(*Brassica oleracea italica*),花椰菜(*Brassica oleracea botrytis*),和芦笋(*Asparagus officinalis*)。

[0052] 根据本发明实施方案的方法抑制水果的成熟和/或衰老。本文所述的“水果成熟”包括仍在植物结实中的水果的成熟和已经从结实的植物收获的水果的成熟。可经本发明的方法处理,以抑制成熟和/或衰老的水果包括番茄(*Lycopersicon esculentum*),苹果(*Malus domestica*),香蕉(*Musa sapientum*),梨(*Pyrus communis*),番木瓜(*Carica papaya*),芒果(*Mangifera indica*),桃(*Prunus persica*),杏(*Prunus armeniaca*),油桃(*Prunus persica nectarina*),橙(*Citrus sp.*),柠檬(*Citrus limonia*),酸橙(*Citrus aurantifolia*),葡萄柚(*Citrus paradisi*),橘(*Citrus nobilis deliciosa*)以及其他商业栽培品种,杂交种和新发展的栽培品种,猕猴桃(*Actinidia chinensis*),菠萝(*Ananas comosus*),柿子(*Diospyros sp.*),鳄梨(*Persea americana*)以及其他商业栽培品种,杂交种和新发展的栽培品种。

[0053] 根据本发明实施方案的方法处理观赏植物抑制衰老和/或延长花的寿命和外观(例如延迟黄化和脱落)。包括盆栽观赏植物,和切花。可经本发明的方法处理的盆栽观赏植物和切花包括杜鹃花(*Rhododendron spp.*),八仙花(*Macrophylla hydrangea*), (Hibiscus rosasansensis),金鱼草(*Antirrhinum sp.*),猩猩木(*Euphorbia pulcherrima*),仙人掌科(例如 *Cactaceae schlumbergera truncata*),秋海棠(*Begonia sp.*),玫瑰(*Rosa spp.*),郁金香(*Tulipa sp.*),水仙花(*Narcissus spp.*),矮牵牛花(*Petunia hybrida*),康乃馨(*Dianthus caryophyllus*),百合(例如 *Lilium sp.*),唐菖蒲(*Gladiolus sp.*),

alstroemeria(*Alstroemeria brasiliensis*), 银莲花 (例如 *Anemone blanda*), 耬斗菜 (*Aquilegia* sp.), 五加科 (例如 *Aralia chinensis*), 紫苑 (例如 *Aster carolinianus*), 叶子花 (*Bougainvillea* sp.), 山茶 (*Camellia* sp.), 风铃草 (*Campanula* sp.), 鸡冠花 (*celosia* sp.), falsecypress(*Chamaecyparis* sp.), 菊 (*Chrysanthemum* sp.), 铁线莲 (*Clematis* sp.), 仙客来 (*Cyclamen* sp.), 鸢尾科 (例如 *Freesia refracta*), 和兰花的家族兰科以及其他商业栽培品种, 杂交种和新发展的栽培品种。

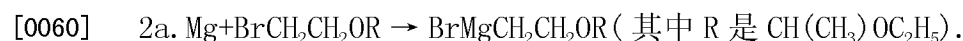
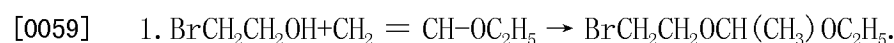
[0054] 根据本发明实施方案的方法处理植物抑制叶, 花和果实的脱落, 植物包括苹果, 梨, 樱桃 (*Prunus avium*), 山核桃 (*Carva illinoensis*), 葡萄 (*Vitis vinifera*), 橄榄 (例如 *Vitis vinifera* 和 *Olea europaea*), 咖啡 (*Coffea arabica*), snapbeans (*Phaseolus vulgaris*), 橙子 (*Citrus* sp.), 柠檬 (*Citrus limonia*), 酸橙 (*Citrus aurantifolia*), 葡萄柚 (*Citrus paradisi*), 橘 (*Citrus nobilis deliciosa*) 以及其他商业栽培品种, 杂交种和新发展的栽培品种, 和垂叶榕 (*Ficus benjamina*), 以及休眠的幼苗例如多种果树, 包括苹果, 观赏植物, 灌木, 和树苗。此外, 根据本发明实施方案的方法处理灌木以抑制叶的脱落, 灌木包括女贞 (*Ligustrum* sp.), photinea (*Photinia* sp.), 冬青 (*Ilex* sp.), 蕨类植物水龙骨科, 鹅掌柴属 (*Schefflera* sp.), aglaonema (*aglaonema* sp.), 构子属 (*Cotoneaster* sp.), 伏牛花 (*Berberis* sp.), 杨梅属 (*Myrica* sp.), 六道木属 (*Abelia* sp.), 刺槐 (*Acacia* sp.) 和 bromeliads 凤梨科, 以及其他商业栽培品种, 杂交种和新发展的栽培品种。

[0055] 出乎意料地, CPAS 被证明即使在低浓度应用时仍是乙烯作用于植物, 果实和蔬菜的抑制剂。其中, 该化合物在水中是可溶和稳定的, 使其能以多种方法将活性物质供给植物, 切开的果实, 切开的蔬菜, 切花。可将 CPAS 水溶液涂抹或浸在上述对象上或将该溶液喷雾, 加入表面活性剂可改善抑制剂的渗透。另外, 果实, 蔬菜和花的切开面可浸于 CPAS 溶液中一定的时间。

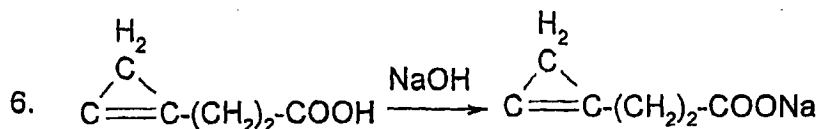
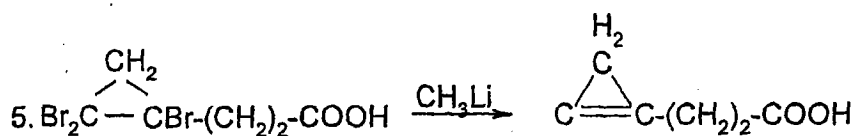
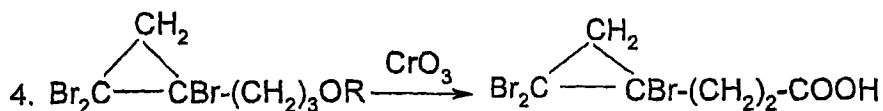
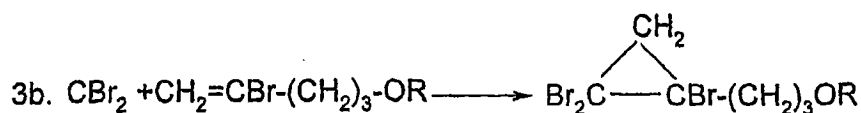
[0056] 水溶的 3-(1-环丙烯基)丙酸及其钠盐或其他带正电荷的(单价或二价)抗衡离子盐的合成描述如下。

[0057] 通过分析资料显示, 制备环丙烯化合物最简单和最可靠的方法是在锂有机化合物的作用下将 3 个溴原子从 1,2,2-环丙烷或其衍生物上消除。1,2,2-三溴环丙烷通过二溴环丙烷和 2-溴-1-烯炔或其衍生物反应制得。因此, 来自市售的试剂, 目标化合物的制备由三个主要步骤组成: 第一是制备 4-溴-4-戊烯酸或其衍生物; 第二步是制备 3-(1-环丙烯基)丙酸, 第三步是将所述酸转化为钠盐。其他的盐, 例如锂, 钠, 钾, 铵, 钙, 镁, 和包括例如至少一个硫酸根或磷酸根分子的带正电荷的抗衡离子, 盐是可能的。有机盐同样是可能的, 包括特别正电荷的含有烷基的化合物。

[0058] 根据本发明实施方案, 本文提供合成的总方案包括以下 6 步, 以非限制的方式举例, 用于合成水溶性钠 CPAS:



[0063]



[0064] 通过几个光谱方法证明最终产物的结构： ^1H , ^{13}C , ^{23}Na , NMR, MS, IR- 光谱。通过 HPLC 和 HPTLC 法测定纯度。已获得约 0.2g 的 3-(1- 环丙烯基) 丙酸, 其提纯方法正在发展。

[0065] 下述非限制性的实施例解释了本发明更多的细节。

[0066] 实施例 1

[0067] 为了确定水溶性 CPAS 对抗乙烯作用的最低有效浓度, 测试以成长但未成熟的果实实施: 绿香蕉; 绿鳄梨“Hass”水果; 和成长但未成熟的桃子。切花: 康乃馨; 康乃馨花瓣; 和矮牵牛花。番茄苗; 和柑桔叶外植体。上述列举的植物材料经 CPAS 溶液处理 ± 暴露于乙烯。用于上述植物材料的 CPAS 的最低表观浓度 ($\mu\text{g mL}^{-1}$) 和提供保护的时间 (天) 见表 1。

[0068] 表 1 CPAS 的最低表观浓度 ($250 \mu\text{g mL}^{-1}$) 和提供保护的时间 (天)。

	植物材料	参数	施用方式	乙烯处理	浓度	保护时间
					($\mu\text{g mL}^{-1}$)	(控制的天数)
[0069]	香蕉	外皮颜色	刷	+	200	6
	鳄梨	外皮颜色	负载	+	100	5
	桃	硬度	喷雾	-	10	4
	康乃馨花	花瓶寿命	负载	-	0.8	10
	康乃馨花瓣	衰老	负载	+	81	11
	矮牵牛花	花瓶寿命	负载	+	98	17
	番茄苗	偏上性	喷雾	+	160	*+++
	叶柄	偏上性	负载	+	9	*+++
	柑桔叶	脱落	负载	+	32	7
	脱落	脱落	浸渍	+	42	2

[0070] * 注释 :+ =微弱效果 ;++ =中等效果 ;+++ =强烈效果

[0071] 将每一种范例植物暴露于不同浓度的 CPAS 水溶液中 6-18 小时作为预处理然后暴露于不同浓度的乙烯 24 小时。在香蕉和鳄梨的例子中,将果皮用不同浓度的 CPAS 水溶液涂抹,以市售的吐温 20 表面活性剂 (0.025%) 作为乙烯预处理,记录在空气控制下直到颜色衰变所需的天数 (香蕉从绿色到黄色 - 表 1,图 4;和鳄梨从绿色到黑色 - 表 1,图 6),作为乙烯拮抗剂的效率的标准。在桃的例子中,使用表面活性剂 BAS70 (由德国 BASF 慷慨供应)。于培育后 2-4 天的控制状态下记录结果 (表 1,图 11)。当使用切花范例 (图 1-3),在乙烯处理前,应用 CPAS 水溶液 ± 表面活性剂负载到切花或分离的花瓣 18 小时于 CPAS 水溶中。通过视觉上花的枯萎,记录经水控制的所述测试植物材料衰老的延迟天数。用 CPAS 和市售的“Kinetic”有机硅氧烷表面活性剂混合喷雾番茄苗,于生长箱中 8-10hr 留作校准,在用 CPAS 溶液喷雾或负载 CPAS 前,通过切除树苗降低其茎切面 (表 1,图 10) 以对抗叶柄的乙烯诱导偏上性。在柑桔叶外植体的例子中,在薄片状的脱落区测试脱落。CPAS 于水溶液中加入市售的吐温 20TM 表面活性剂 (0.025%),通过将处理溶液直接负载到外植体近极面 17 小时的预处理,或通过将整个外植体浸渍于测试溶液中 30 到 60 秒。在所有的例子中,所有的植物体系测试 (表 1,图 7) 记录了显著的乙烯诱导反应的延迟作用。在进一步的实施例中,使用的 CPAS 水溶液的浓度在上述实验获得的结果的范围内。

[0072] 实施例 2

[0073] 下述实验用于进一步确定水溶性 CPAS 于水溶液中延迟分离的康乃馨花瓣乙烯诱导的衰老的能力。实验在生长箱中进行以确保最佳的环境条件 (灯光,温度和相对湿度)。通过将切面浸渍包含 $81 \mu\text{g mL}^{-1}$ 的 CPAS 水溶液 18hr 使康乃馨花瓣负载 CPAS。未经处理

的花瓣也就是说保持于水中。18hr 后将处理的花瓣转入水中。然后所有花瓣暴露于乙烯 ($5 \mu\text{l L}^{-1}$) 24hr。在最后处理中,在连续荧光下花瓣与其切面浸渍于水中保持 22°C 和 80% 相对湿度,以评定其衰老值。照片摄于第 6 天(图 1A 未处理,图 1B 经处理)。

[0074] 6 天后测得的 CPAS 在水溶液中的乙烯拮抗效果高度显著。在实验过程中未观察到中毒症状。

[0075] 实施例 3

[0076] 用包含 $8 \mu\text{g mL}^{-1}$ 的 CPAS 水溶液浸渍切面 18hr 处理康乃馨切花。未经处理的花保持于水中。在连续荧光下花于水中保持 22°C 和 80% 相对湿度的处理后,评定其花瓶寿命。照片摄于第 14 天。获得的结果显示,同未经处理的花比较(图 2A),在 CPAS 存在的水溶液中(图 2B),康乃馨切花的花瓶寿命增加。

[0077] 实施例 4

[0078] 用包含 $98 \mu\text{g mL}^{-1}$ 的 CPAS 水溶液浸渍切面 18hr 将水溶性 CPAS 负载到短茎矮牵牛花。未经处理的花保持于水中。经过 18hr 的负载后将处理过的花转至水中。然后将花暴露于乙烯 ($5 \mu\text{l L}^{-1}$) 24hr 以促进花的衰老。在最后处理中,在 22°C 和 80% 相对湿度,连续荧光下花与其切面浸渍于水中培养,以评定其花瓶寿命。照片摄于第 14 天(图 3A 未处理,图 3B 经处理)。

[0079] 矮牵牛花由于其乙烯灵敏度而众所周知,因此其经常作为模型系统用于研究乙烯反应。本实验的结果与之前的实验完全相同,为应用 CPAS 在水中以溶解形式作为乙烯拮抗剂的效率增加了更多的证据。

[0080] 实施例 5

[0081] 用水溶性 CPAS 的水溶液 ($200 \mu\text{g mL}^{-1}$) 涂抹处理香蕉。经过 18hr 后将所有处理和未处理的果实暴露于乙烯 ($300 \mu\text{l L}^{-1}$) 中促进成熟。所有的果实在通风并保持空气 22°C 和 92% 相对湿度下以评定其成熟度。照片摄于第 12 天(图 4A 未处理,图 4B 经处理)。

[0082] 另外,用 CPAS (0.6 到 $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$, 和市售的表面活性剂吐温 20 [0.025%]) 水溶液涂抹处理香蕉,18hr 后暴露于乙烯 ($300 \mu\text{g mL}^{-1}$) 24 小时以催熟果实。果实保持在 24°C 和 92% 相对湿度下。保持于空气中并仅用 CPAS 处理的果实作为比较。于第 7 天收集结果(图 5A)。

[0083] CPAS 水溶液 ($1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ 的) 在延迟果实硬度的减少上没有效果,意思是其没有延长果实的货架寿命。然而,人们发现其显著地延迟果实颜色的衰变(图 4)。图 5A 表现了香蕉硬度和颜色对 CPAS 和暴露于乙烯相关性的图表。正如所看到的,CPAS 于水溶液中分别对硬度和颜色具有双重的负效应和正效应。在 18 小时空气预处理然后暴露于乙烯 24 小时后果实硬度显著下降至低于 25N,完全适合食用。正好相反,颜色衰变的方式在那个时间点几乎完成。加入的 CPAS 以其总浓度几乎不能阻止果实硬度的下降,而其在较高浓度时能有效地阻止颜色的衰变。

[0084] 实施例 6

[0085] 用包含 $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ CPAS 的水溶液浸渍“Hass”鳄梨长花梗切面 30hr,将水溶性 CPAS 负载到“Hass”鳄梨。未经处理的果实与花梗浸于水中。经过 CPAS 处理后所有果实暴露于乙烯 ($250 \mu\text{l L}^{-1}$) 24hr。然后果实保持在 24°C 和 92% 相对湿度,以评定其成熟的参数(果皮变色和果肉的硬度)和花梗的脱落。照片摄于处理后第 5 天(图 6A 未处理,图 6B 经

处理)。

[0086] 接近成熟的鳄梨绿色转变为紫色-黑色。果实与长花梗浸于 CPAS 水溶液作为预处理然后用乙烯处理。虽然使用拮抗剂果皮颜色发展和花梗的脱落显著地延迟,记录了一点果实软化的延迟效果,可能由于所述化合物渗透入庞大的组织受到限制。

[0087] 因此,所获得的实验结果证实了 CPAS 是有效的乙烯拮抗剂。使用抑制乙烯反应有效量的 CPAS 能够延长农作物的收获季节,延长果实的可存储性和货架寿命以及切花的花瓶寿命,草药和叶用蔬菜大概也是同样。然而,CPAS 由于其在水中的溶解度,稳定性,和高效能,事实上是在多种条件下能用于抑制多种植物体系乙烯反应的唯一化合物。

[0088] 实施例 7

[0089] 在空气下研究将水溶性 CPAS 应用至柑桔叶外植体,对抗内源乙烯诱导的脱落,比较两种方法的应用:通过浸渍其叶柄切面至 CPAS 水溶液中 6 小时,或通过浸渍整个外植体 30 秒。在相同的处理溶液加入或减去表面活性剂。在该实验中选择吐温 20 (0.025%) 作为表面活性剂,但也可选择任何的非离子型表面活性剂。正如期望的,实验显示上述表面活性剂改善了渗透进植物的问题。然而,如果所述应用优选通过象切花的切面,就不需要在处理溶液中加入表面活性剂(图 7)。

[0090] 图 7 表现了一组三个图形,其中通过浸渍外植体叶柄切面于 CPAS 水溶液中 6 小时(A);浸渍于相同的处理液中 30 秒(B);和象 B 一样处理,但包括吐温-20 [0.025%](C)。

[0091] 实施例 8

[0092] 另一个用于测试水溶性 CPAS 效力的植物模型是 3 周大的番茄苗。这些苗对乙烯诱导的幼叶的偏上性效果非常敏感(见图 8)。如果 CPAS 具有活性它将对抗此效果。如此设计实验还将回答溶解的乙烯拮抗物能否通过喷雾供给。由于此原因,将表面活性剂加入到喷雾溶液,就像通常在田地里使用的化学物质例如植物生长调节剂。在脱落研究中(实施例 7),我们显示了当外植体浸渍在处理溶液中 CPAS 比宣称的更有效(图 7)。实验的设计包括用于对比的负载处理(图 9)。

[0093] 喷雾实验中(图 8)将番茄从温室(3 周大)移入生长箱校准(8-10 小时,22℃和 80%相对湿度,在连续荧光灯照射下)。然后,用包含 0.1% “Kinetic”作为表面活性剂,溶于磷酸盐缓冲液(pH7.8,10mM)的 0(A和B),80(C),160(D) $\mu\text{g mL}^{-1}$ 的 CPAS 喷雾。使用缓冲液有助于稳定 pH 指但并非必须。也可使用自来水。18 小时后,预处理的植物(B,C和D)暴露于 $1\mu\text{L L}^{-1}$ 的乙烯 24 小时。用相同的不含 CPAS 的处理溶液 ± 乙烯(A和B)喷雾植物,作为空气或乙烯对照。

[0094] 在第二个实验中,计算叶柄从分枝变化的程度(图 9),其表示了偏上性的反应。。实验条件如图 8 所述,除了用 CPAS 预处理后,番茄暴露于 $3\mu\text{L L}^{-1}$ 的乙烯 24 小时,最后的处理是将植物移至架子上评定每个叶柄的偏上度(树枝和叶柄之间的角度)。数值为平均数 ± 标准差($n = 9-12$)。

[0095] 将番茄(4 周大)从温室中移出,以研究将 CPAS 负载到切除的番茄植株(约 15 厘米长的茎)上乙烯诱导的叶柄偏上性的效果。现图 10 的对照呈现了 CPAS 负载到切除的番茄植株上乙烯诱导的叶柄偏上性的效果。所有其他的细节如实施例 8 所描述,除了最后的处理是将切割的植物与其切面浸入自来水,移至架子上评定每个叶柄的偏上度(树枝和叶柄之间的角度)。数值为平均数 ± 标准差($n = 9-12$)。每个切割的植物,在其基质上预

校准（如前所定义）并立即重新开始其切面在自来水中并将其置于 30ml 自来水中 8-10 小时，在光照和潮湿的条件下校准。然后，将树枝及其切面浸入 15ml 的硫酸盐缓冲液（pH7.8，10mM）包含 0 到 $81 \mu\text{g L}^{-1}$ 的 CPAS。在 18 小时的负载后，所有预处理的树枝转至自来水并暴露于乙烯（ $3 \mu\text{L L}^{-1}$ ）24 小时。所述的外植体负载同样的不包含 CPAS 的处理溶液作为空气或乙烯对照。

[0096] 上述三个实验证明了水溶性 CPAS 能被农业专门的工具喷雾使用，并且在表面活性剂存在下容易地通过植物器官的表皮穿透组织。

[0097] 实施例 9

[0098] 表面活性剂的使用还通过摘除长成的但并非成熟的桃子（图 11）。该实验还用来研究水溶性 CPAS 对抗内源乙烯的转跃期，和因此延长的果实货架寿命（延迟软化）的效果。选择桃子作为另外的乙烯敏感的成熟期的水果。在此实验中进一步研究了 CPAS 水溶液的渗透效率。

[0099] 将桃子收获并带入实验室，立即用不同浓度的 CPAS 溶液（磷酸钾缓冲液，20mM，0.1% 有机硅氧烷表面活性剂，德国 BASF 命名为 BAS90370S）喷雾，并保持在 22℃ 和 90% 湿度下 4 天。未经处理的果实作为对照。接下来的处理是：(a) 在初始时间喷雾并在两天后检查硬度；(b) 象 (a) 一样但在三天后检查硬度；(c) 象 (a) 一样，在第二天第二次喷雾以及 3 天后检查硬度；(d) 象 (c) 一样一天后第二次喷雾并在 4 天后检查硬度。用硬度计（chatillon，使用 8mm 直径的圆盘）记录硬度，除去 15mm 正方形的果皮以允许直接在果实的果肉上测量硬度。

[0100] 该实施例清楚地证明了 CPAS 通过果皮深入到果实组织以及延长成熟期果实的货架寿命的能力。

[0101] 因此，获得的实验结果证实了 CPAS 是有效的乙烯拮抗剂。应用抑制乙烯反应有效量的 CPAS 能够延长农作物的收获季节，延长果实的可存储性和货架寿命以及切花的花瓶寿命，乙烯的形态学效果例如叶柄，也可能是草药和叶用蔬菜的偏上性。最后有可能，基于上述实施例描述的，CPAS 事实上由于其在水中的溶解度，稳定性和在多种条件，多种植物体系下高效抑制乙烯反应，其可用农业专门工具喷雾使用或在水溶液中负载或浸渍处理。

[0102] 图 12 到 25 公开了当应用时，CPAS 作为乙烯拮抗剂非常有效，尤其，通过喷雾应用抑制剂时浸渍或负载均显示很有效。负载不需要在 CPAS 水溶液中加入表面活性剂。对桃子喷雾的 CPAS 水溶液包含表面活性剂，已证明应用所述的抑制剂能够延迟果实成熟的乙烯呼吸峰效果，以及由此延长果实存储寿命。

[0103] 发现 CPAS 的有效方法是以非限制的方式，以约 0.03 到约 $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ 。CPAS 的有效方法是溶于水溶液从例如 0.1 到 200 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)。

[0104] CPAS 的渗透 (A) 和纯化 (B)

[0105] (A) 如下证明的含或不含表面活性剂的 CPAS 水溶液在多种植物中的渗透：a. 香蕉（实施例 5）；b. 柑桔外植体的脱落（实施例 7）；番茄树苗叶柄的偏上性（实施例 8）；和 c. 桃子的硬度（实施例 9）。

[0106] 进一步发现使用不同的非离子型表面活性剂显著地改善了 CPAS 渗透进植物组织和对抗乙烯诱导效果。

[0107] 发现了表面活性剂的有效使用方法以非限制的方式在约 0.025% (w/w) 到约

0.1% (w/w)。

[0108] (B) 纯化—上述 CPAS 的合成途径以两种不同批次提供,约 90%的纯度,见下述的分析证明。

[0109] 分析证明

[0110]

产品商标名：	Agri-2
产品化学名：	3-(1-环丙烯基)丙酸,钠盐
批次名：	R-898(lab.Notebook 510, p. 79)
质量	8 个瓶 × 250mg/ 瓶
生产商	D-Pharm Ltd., 以色列
生产日期：	21. 05. 2008
测试名称	测试结果
外观：	白色粉末
鉴定： FT-IR NMR MS	光谱数据符合化合物结构 ¹ H-NMR 光谱数据符合化合物结构 MS (EMS) :m/z 110. 9 符合 C ₆ H ₇ O ₂ ⁻
色谱纯度 (HPLC)：	91. 16% (RT:13. 48 分钟)
钠含量：	98. 4% (电位滴定)
主要杂质	3. 89 % (RT:14. 73 分 钟), 2. 69(RT:14. 56 分钟)

[0111] 存储在 ca. -18°C, 紧闭, 仅在达到室温后打开。

[0112] 避免光照和受潮。

[0113] 在干冰的温度下允许运输。

[0114] 测试记录:实验室笔记本 526, 第 102 页;实验室笔记本 536, 第 18 页

[0115] 分析日期:6 月, 2008

[0116] 下次重测日期:6 月, 2009

[0117] 主管, Chemical & Analytical R&D :Dr Israel Shapiro

[0118] 签名: Shapiro 日期: 4. 06. 2008

[0119] 分析证明

[0120]

产品商标名：	Agri-2
产品化学名：	3-(1-环丙烯基)丙酸, 钠盐
批次名：	R-905(lab. Notebook 510, 72 页)
质量	22 个瓶 × 250mg/ 瓶, 1 个瓶 × 160mg
生产商	D-Pharm Ltd., 以色列
生产日期：	0. 1. 06. 08. 2008
测试名称	测试结果
外观：	白色粉末
鉴定： NMR MS	¹ H-NMR 光谱数据符合化合物结构 MS (EMS) : m/z 110. 9 符合 C ₆ H ₇ O ₂ ⁻
色谱纯度 (HPLC)：	89% (RT :13. 7 分钟)
钠含量：	93. 6% (电位滴定)
主要杂质	7. 1% (RT :14. 76 分钟)

[0121] 存储在 ca. -18°C, 紧闭, 仅在达到室温后打开。

[0122] 避免光照和受潮。

[0123] 在干冰的温度下允许运输。

[0124] 测试记录: 实验室笔记本 526, 第 113 页; 实验室笔记本 536, 第 29 页

[0125] 分析日期: 6 月, 2008

[0126] 下次重测日期: 6 月, 2009

[0127] 主管, Chemical & Analytical R&D : Dr Israel Shapiro

[0128] 签名: Shapiro 日期: 4. 06. 2008



11

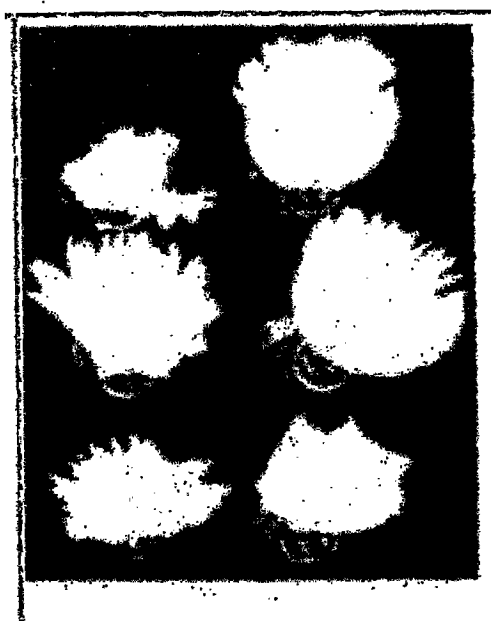


图 1



A



B

图 2

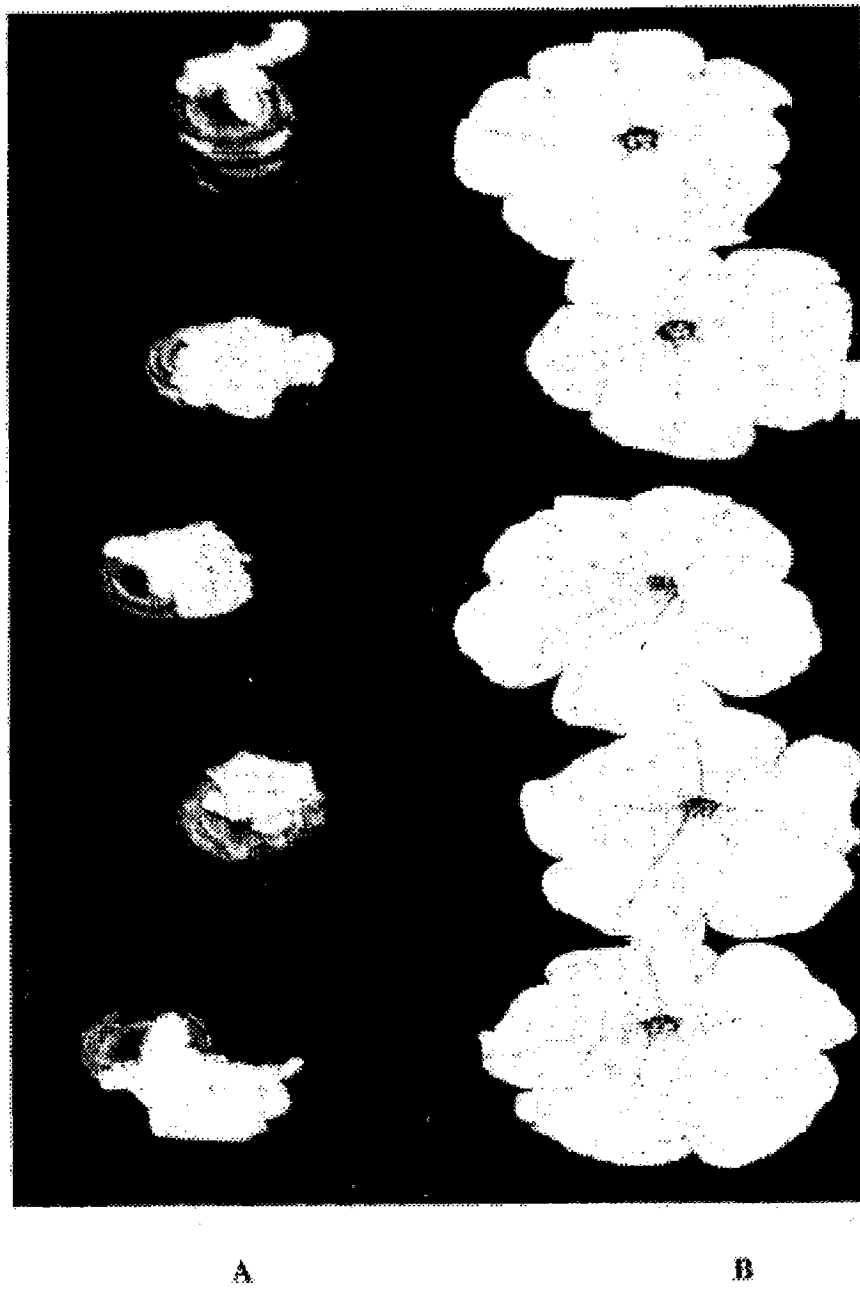


图 3

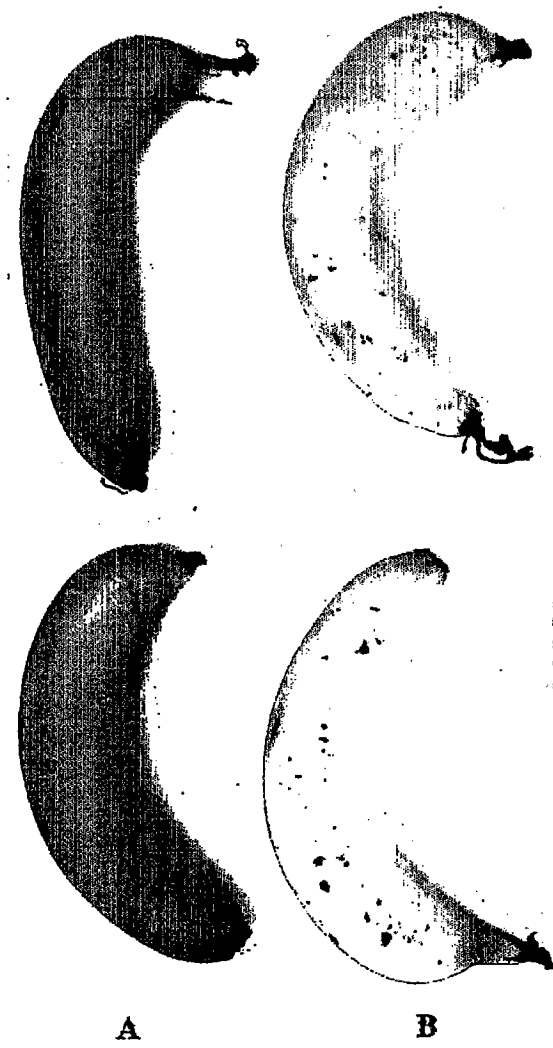


图 4

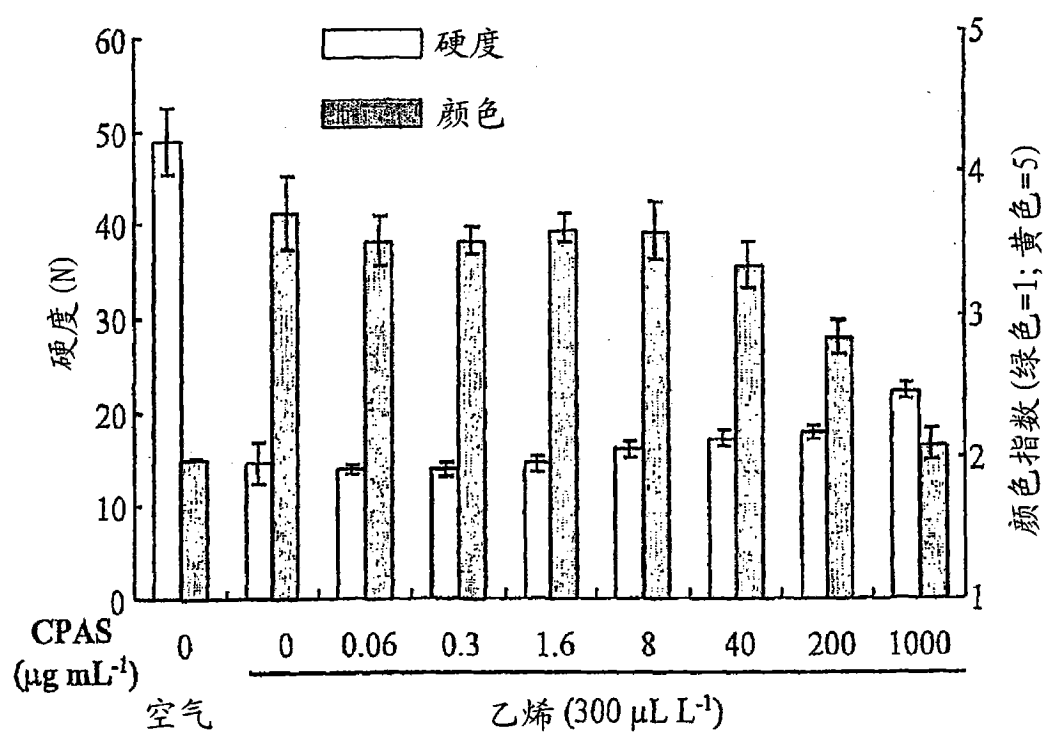


图 5

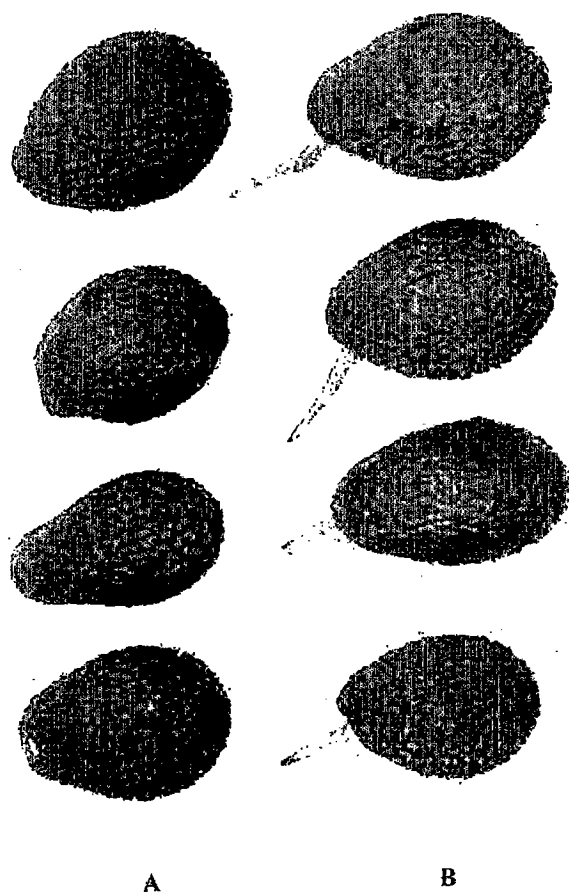


图 6

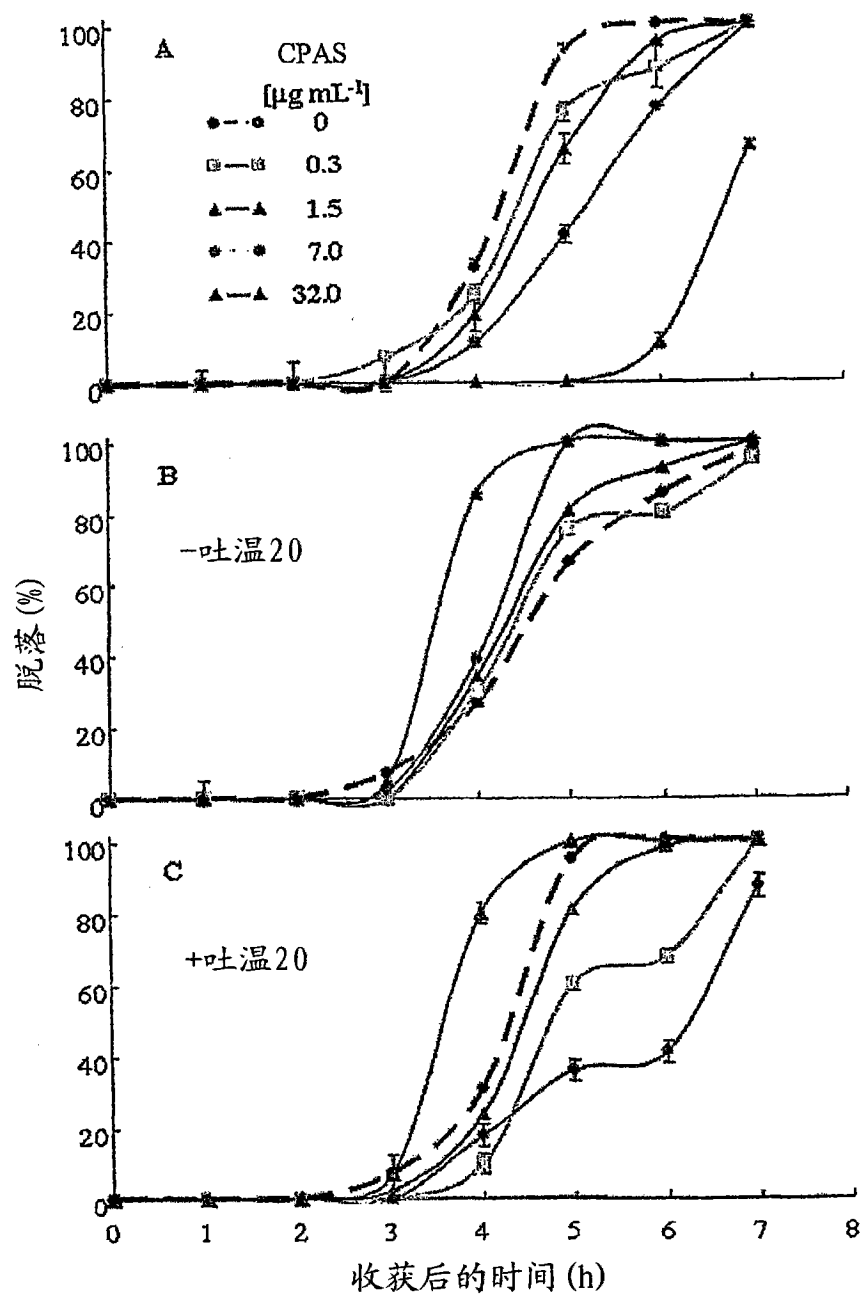


图 7



图 8

叶柄与树枝的角度

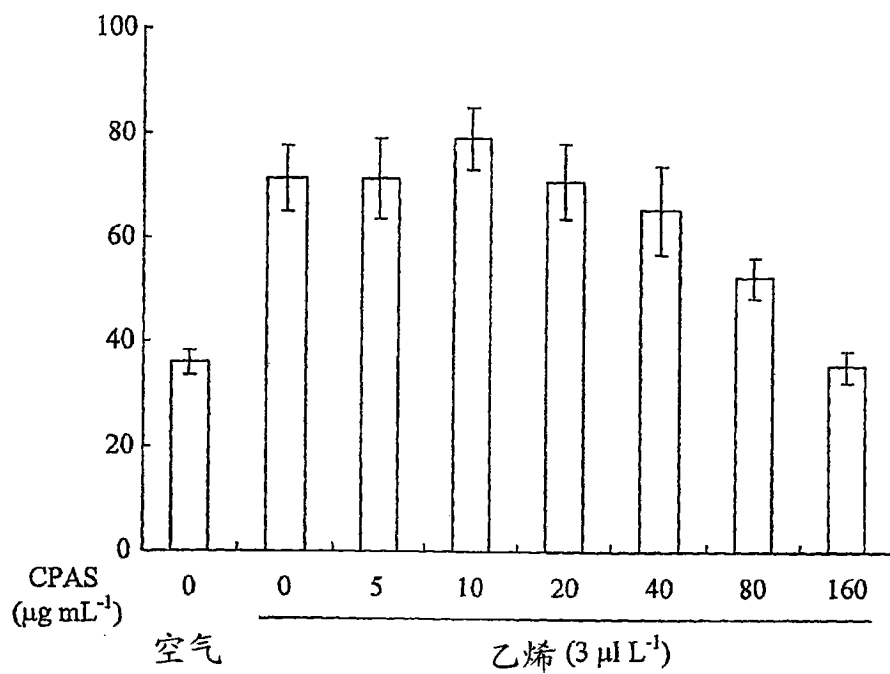


图 9

叶柄与树枝的角度

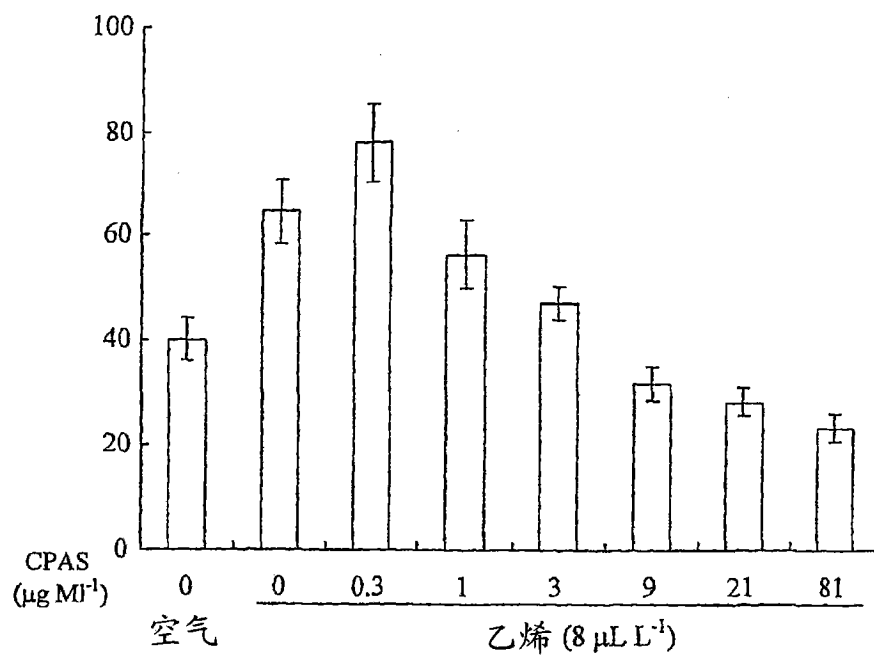


图 10

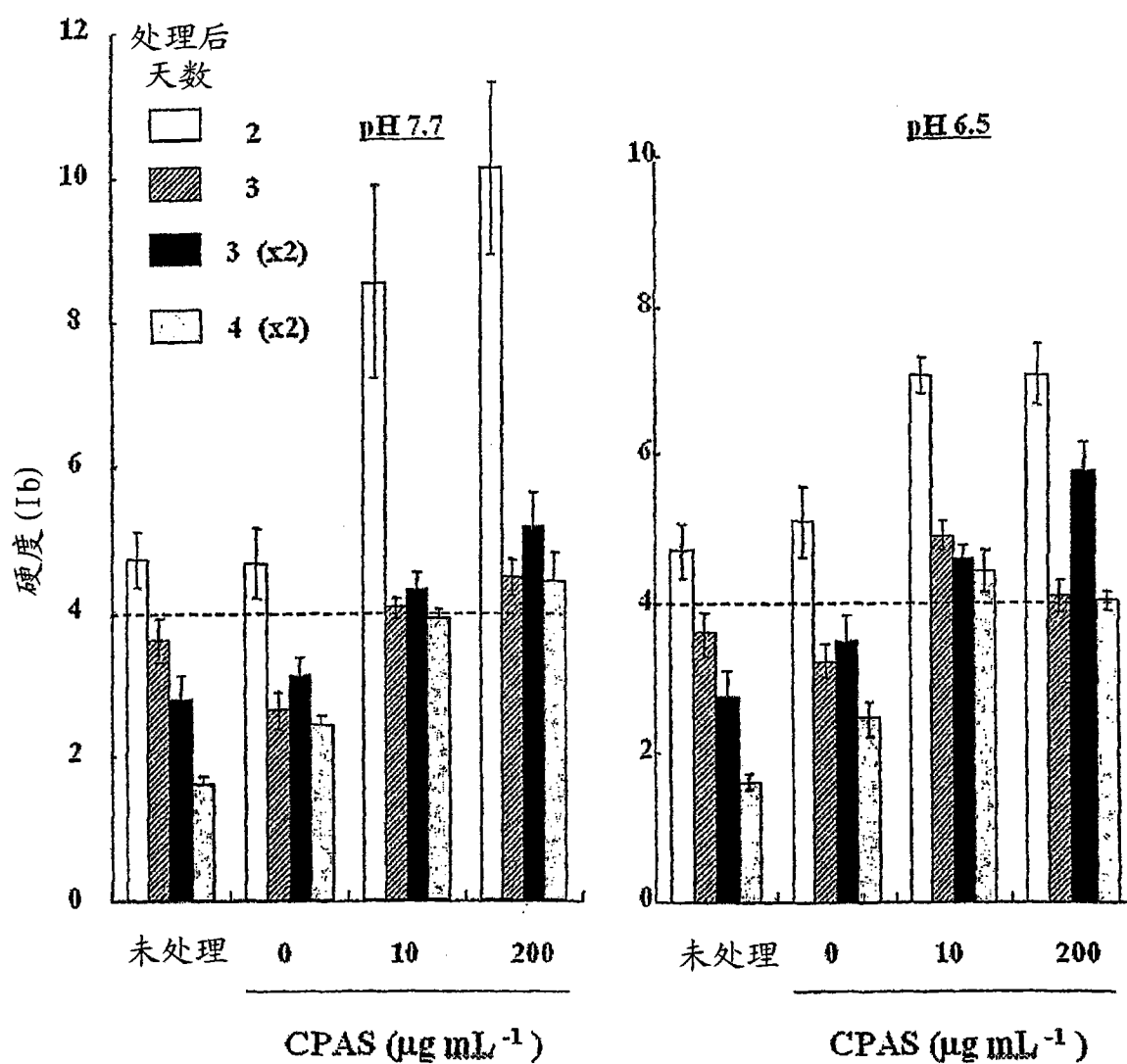


图 11

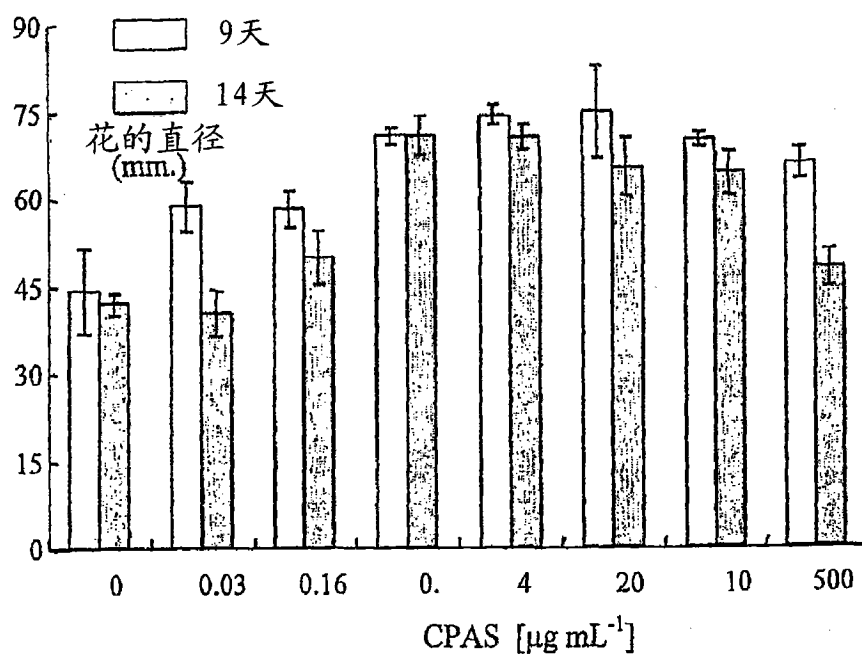


图 12

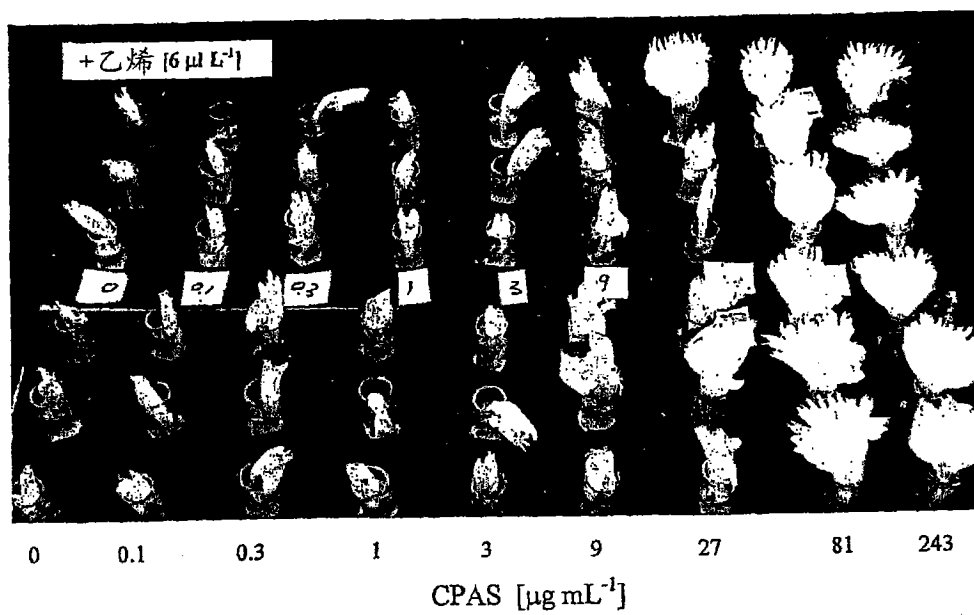


图 13

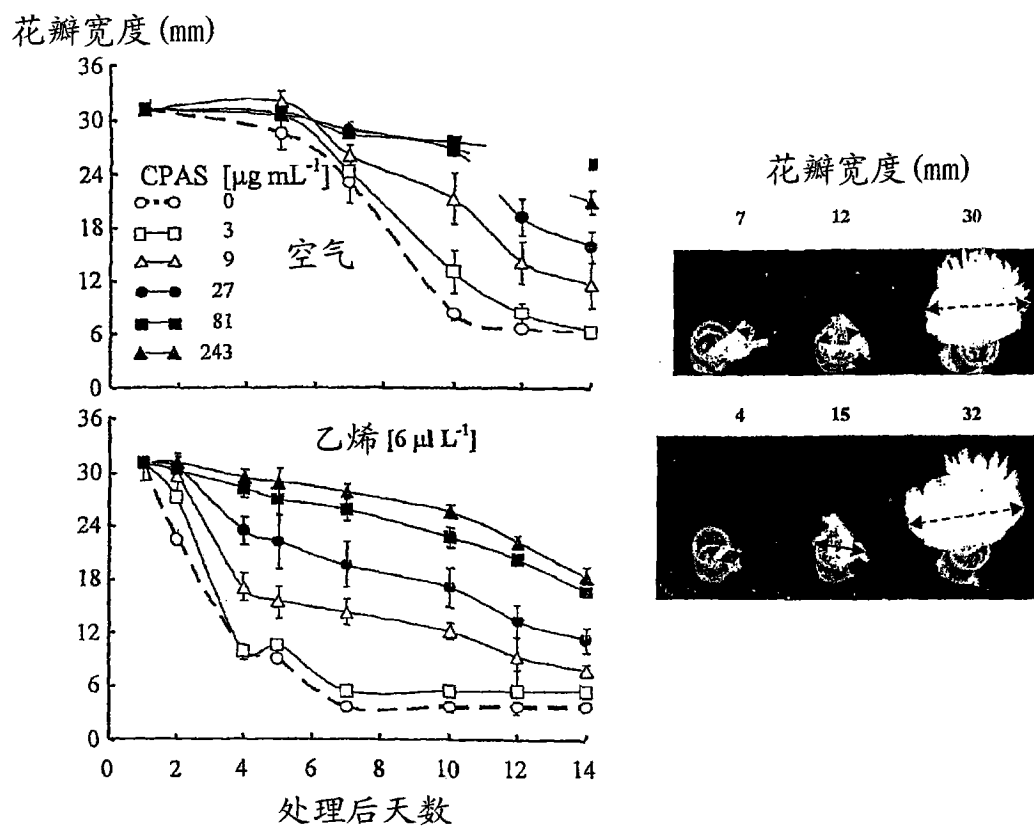


图 14

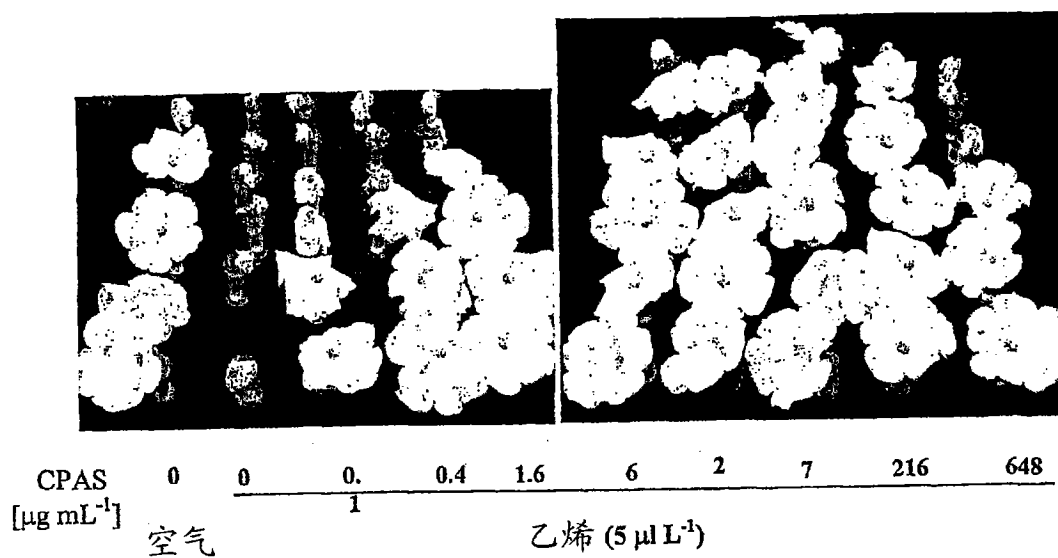


图 15

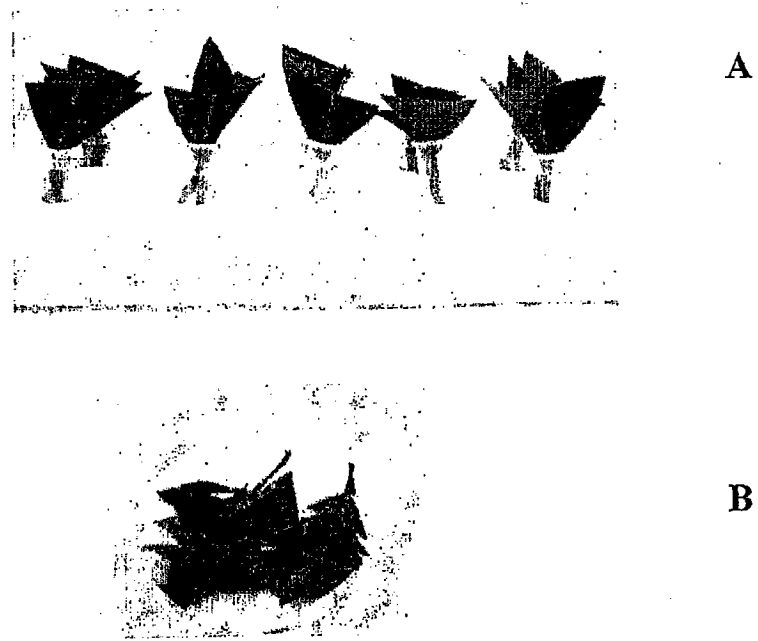


图 16

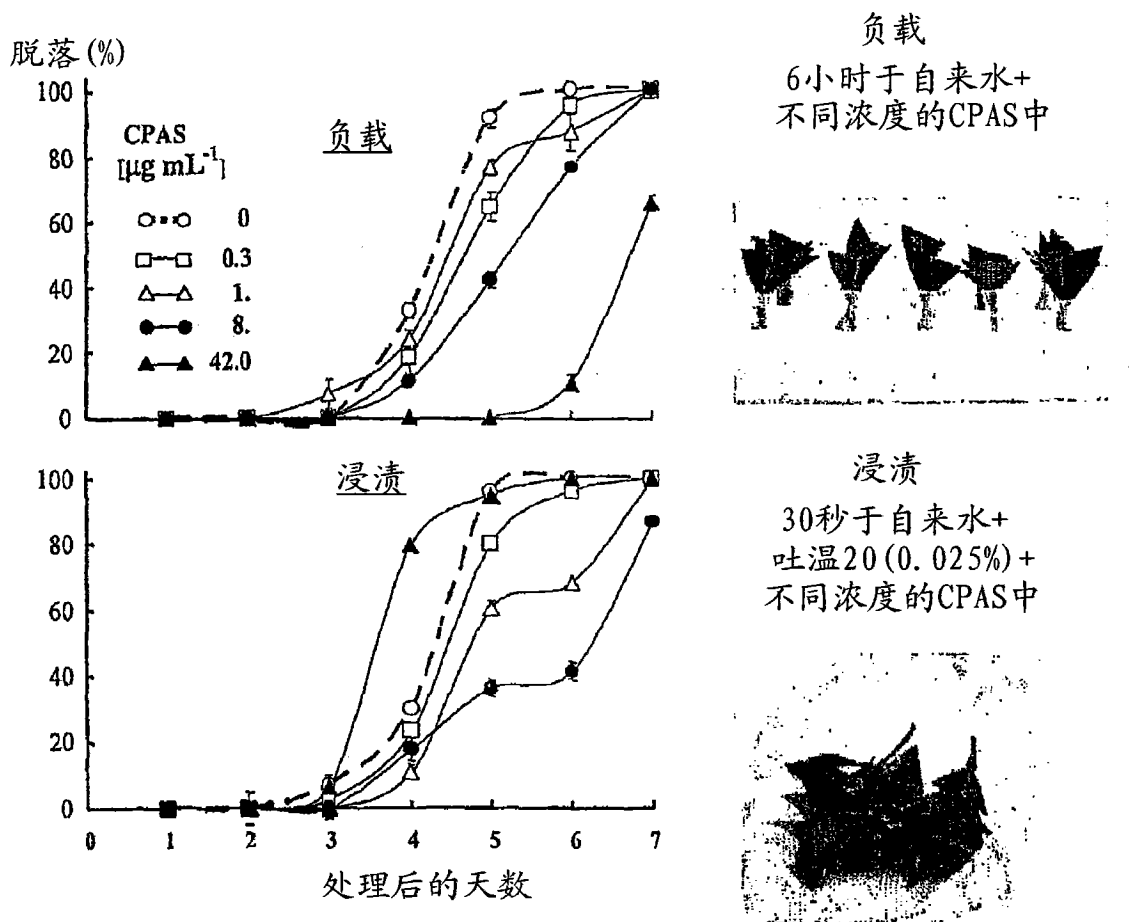
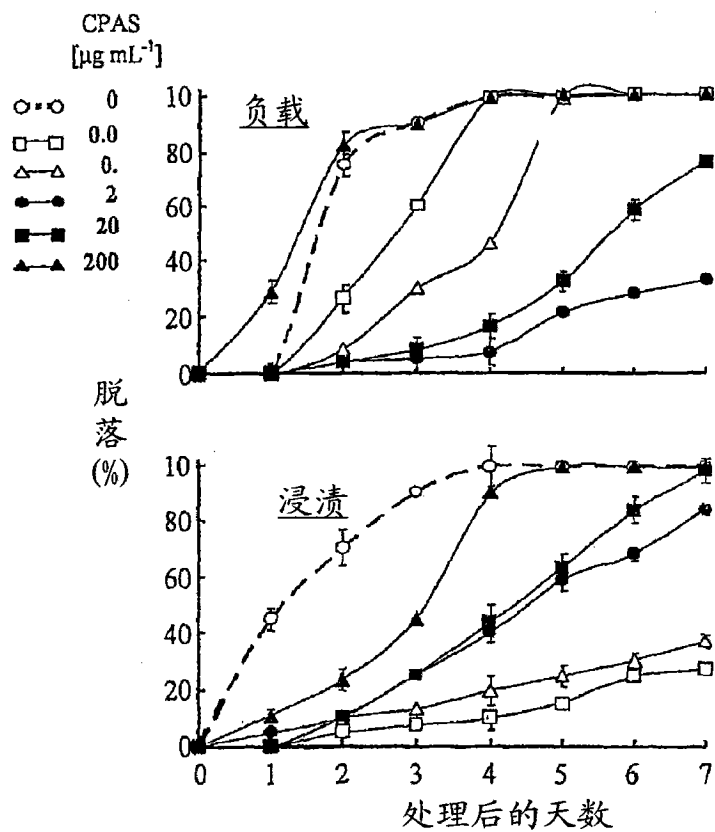
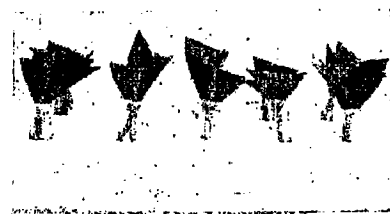


图 17



负载
6小时于磷酸钠缓冲液
(20mM, pH7.6)+
不同浓度的CPAS中



浸渍
30秒于磷酸钠缓冲液
(20mM, pH7.6)+
吐温-20 (0.025%)+
不同浓度的CPAS中



图 18

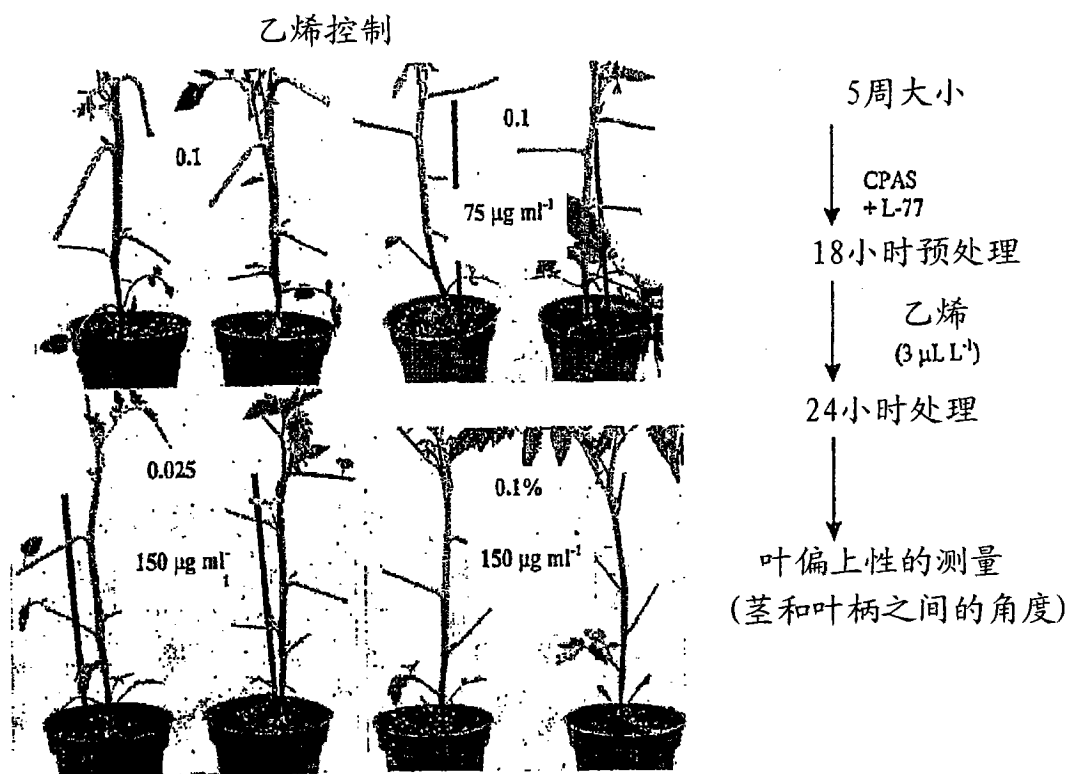


图 19

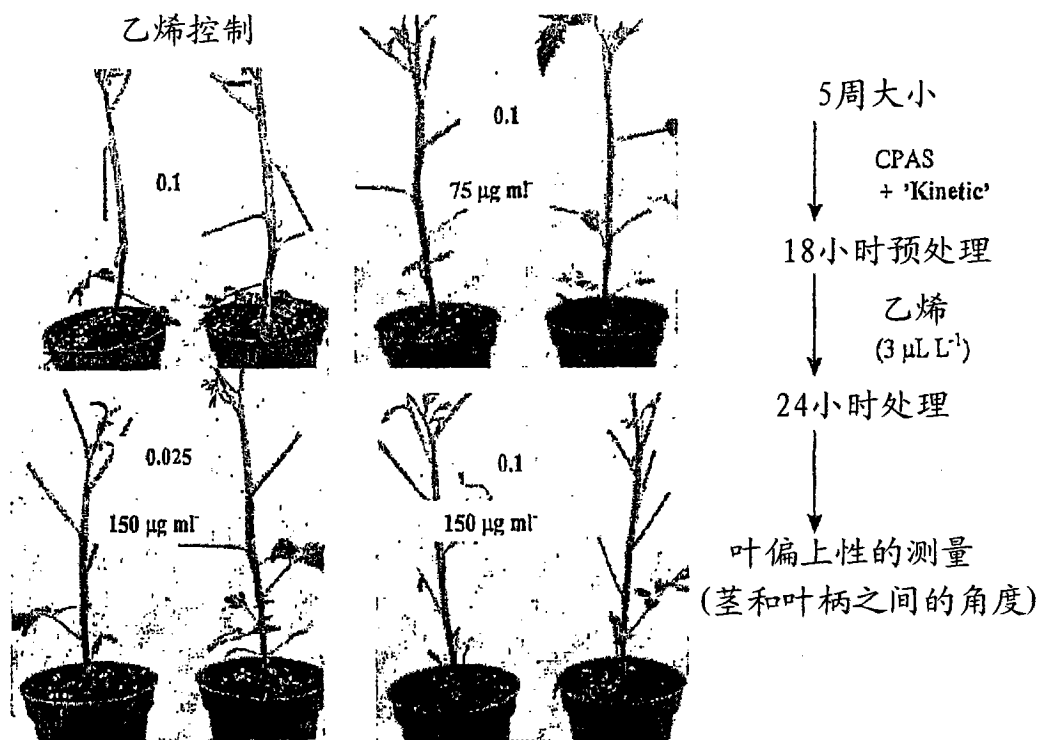
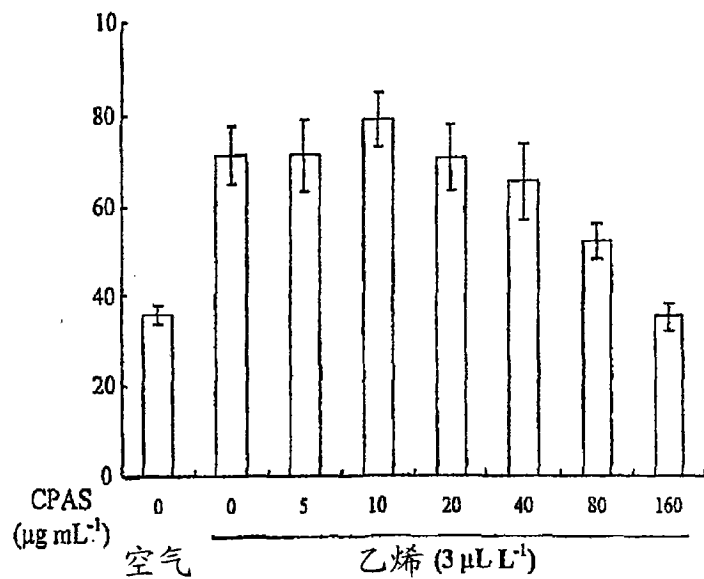


图 20

叶柄与树枝的角度



值是平均值 $\pm$ S.E. (n=9-12).

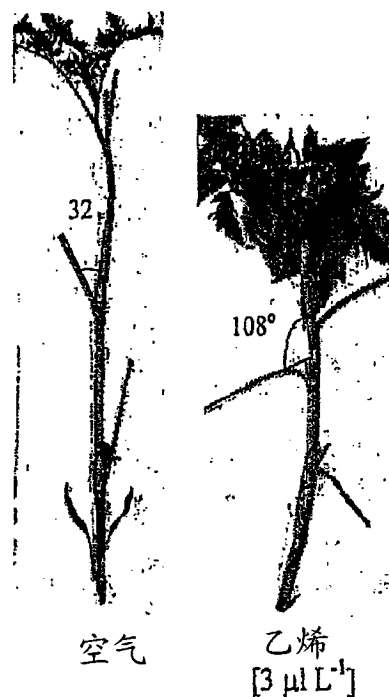
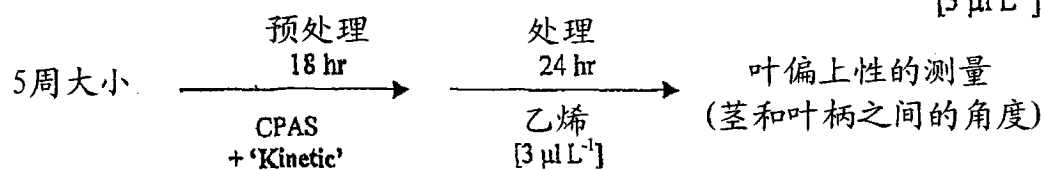


图 21

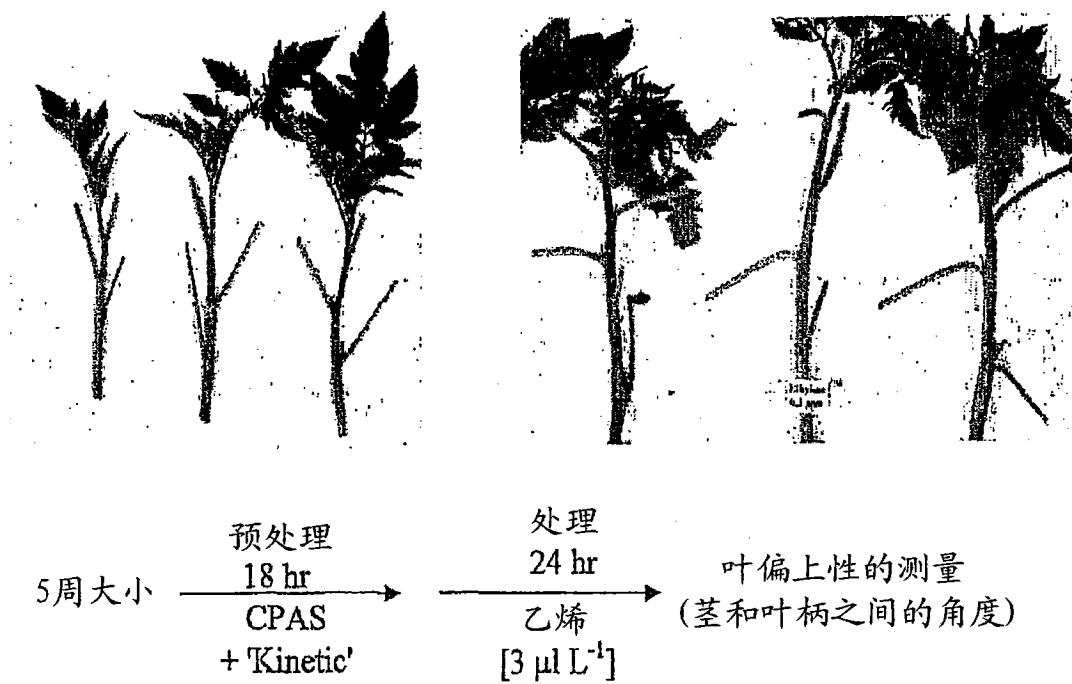


图 22

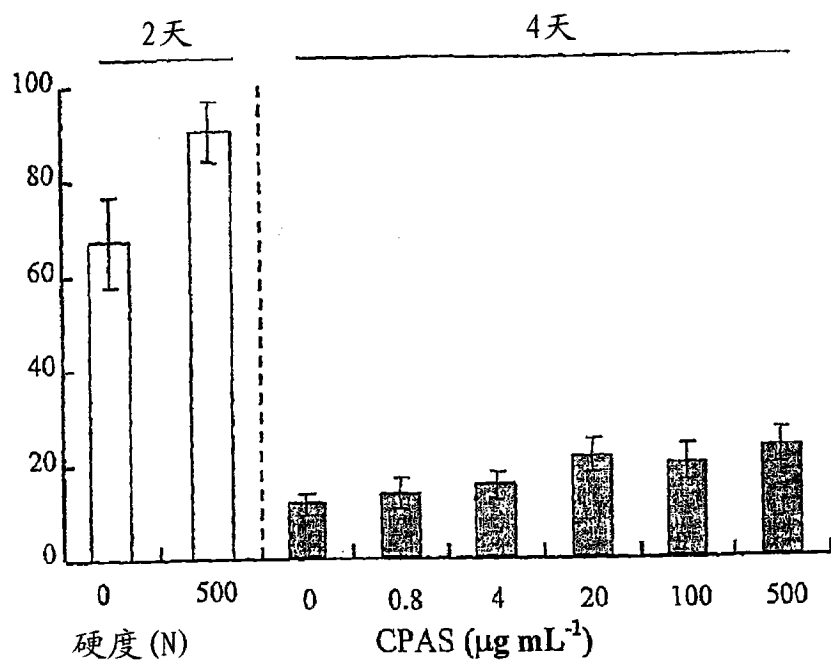


图 23

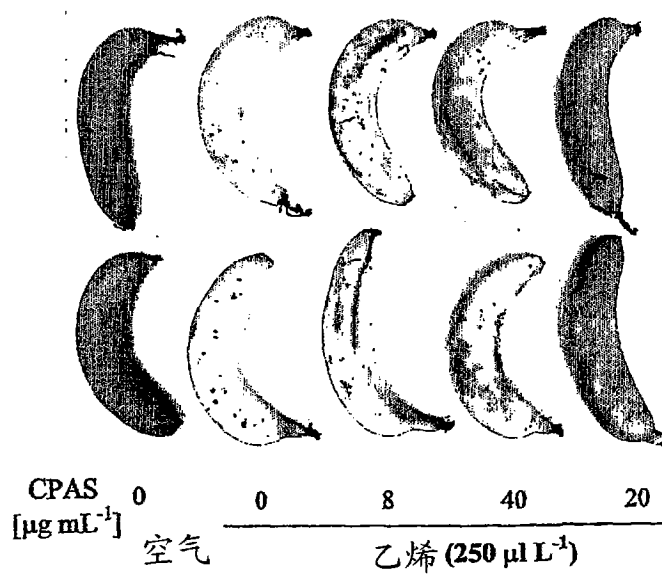


图 24

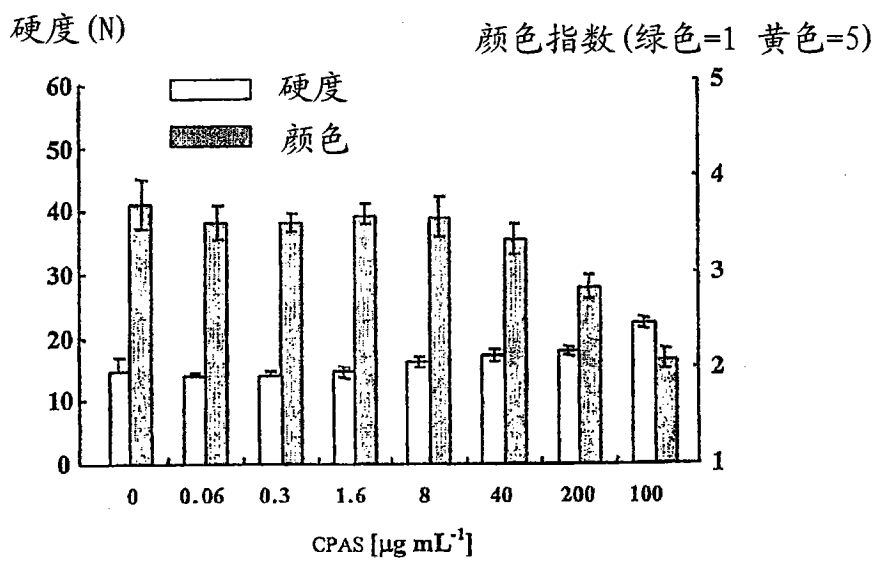


图 25