

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷
A01N 61/00
A01N 37/02
A01N 35/06
A01N 31/16
A01N 31/14
A01N 31/08
A01N 31/06



[12] 发 明 专 利 说 明 书

专利号 ZL 98805874. X

[45] 授权公告日 2005 年 10 月 26 日

[11] 授权公告号 CN 1224320C

[22] 申请日 1998.4.23 [21] 申请号 98805874. X
[30] 优先权
[32] 1997. 6. 6 [33] US [31] 08/870,560
[86] 国际申请 PCT/US1998/007939 1998.4.23
[87] 国际公布 WO1998/054971 英 1998.12.10
[85] 进入国家阶段日期 1999.12.6
[71] 专利权人 艾科斯迈特技术公司
地址 美国佐治亚州
[72] 发明人 史蒂文·M·贝塞特
迈伦·A·贝格勒
审查员 刘 建

[74] 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限责
任公司
代理人 丁业平
A01N 31/04
/(A01N31/16,43 : 16,31 : 04) (A01N31/04,
37 : 02,31 : 04)

权利要求书 2 页 说明书 23 页 附图 5 页

[54] 发明名称 无风险的害虫防治
[57] 摘要

一种农药和一种使用该农药的方法，该农药可杀死无脊椎动物特别是昆虫、蜘蛛和幼虫。该方法是制备一种由载体与农药组成的混合物，施用该混合物于昆虫、蜘蛛和幼虫和它们的栖息地。该农药是一种神经递质的影响因子，利用昆虫、蜘蛛和幼虫体内的章鱼胺受体部位。影响剂是一种具有六元碳环的化合物，碳环上含至少一个取代的氧化官能团。该影响剂是植物香精油的一种化学成分，是天然存在的。本发明的化合物在供试表面的沉积，可提供长达 30 天的持留毒性。公开了各种影响剂的载体。本发明化合物阻止昆虫、蜘蛛和幼虫的取食也延缓昆虫和蜘蛛的幼虫的生长。

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

1. 一种与昆虫和蜘蛛和/或其幼虫体内的章鱼胺受体部位的神经递质相互作用，从而杀死和/或影响昆虫和蜘蛛和/或其幼虫的取食习性和生长但并不类似地影响哺乳动物、鱼和家禽的方法，包括以下步骤：

选择出一种影响剂，该影响剂是基于其作为昆虫和蜘蛛和/或其幼虫体内的章鱼胺受体部位的神经递质的兴奋剂或拮抗剂的能力来选择的，该影响剂选自茴香脑、乙酸苄酯、苄基醇、香芹酚、肉桂醇、丁子香酚、苯基乙醇、长叶薄荷酮、 α -萜品醇和其混合物；

将由所述影响剂与载体组成的农药组合物施用于昆虫和蜘蛛、它们的幼虫和/或它们的栖息地；

其中所述影响剂在农药组合物中的含量为：0.1~90 重量%。

2. 权利要求 1 的方法，其中混合物选自肉桂醇、丁子香酚与 α -萜品醇；苄基醇、苯基乙醇、丁子香酚与 α -萜品醇；和乙酸苄酯、苄基醇、苯基乙醇、肉桂醇与 α -萜品醇。

3. 权利要求 2 的方法，其中由肉桂醇、丁子香酚和 α -萜品醇组成的混合物中各成分的重量百分比范围为肉桂醇 20%-35%、丁子香酚 10%-50%和 α -萜品醇 10%-50%。

4. 权利要求 1 的方法，还包括向混合物中加入一种具有愉快气味的物质。

5. 权利要求 1 的方法，其中载体是含至少一种乳化剂的水。

6. 权利要求 1 的方法，其中载体是一种可湿性粉。

7. 权利要求 1 的方法，其中载体是一种防水性粉。

8. 权利要求 1 的方法，其中载体是一种气溶胶。

9. 权利要求 1 的方法，其中载体是一种干粉。

5

10. 权利要求 1 的方法，其中混合物是乳剂的形式。

11. 权利要求 1 的方法，其中混合物包含油。

10

12. 权利要求 11 的方法，其中所述的油是 1,3,4,6,7,8-六氢-4,6,6,7,8,8-六甲基-环戊- γ -2-苯并吡喃，所述的影响剂是丁子香酚。

15

13. 权利要求 12 的方法，其中混合物包含按重量计为 30%-60% 的 1,3,4,6,7,8-六氢-4,6,6,7,8,8-六甲基-环戊- γ -2-苯并吡喃，和按重量计为 40%-70%的丁子香酚。

14. 权利要求 11 的方法，包括将 1mg 的混合物分散在 10cm² 的面积上。

20

15. 权利要求 1-14 项中任一项所述的方法，其中作为受体部位的兴奋剂或拮抗剂的作用是通过昆虫和蜘蛛和/或幼虫与影响剂的外部接触而产生的。

25

16. 权利要求 1-14 中任一项所述的方法，其中所述影响剂在农药组合物中的含量为 0.1-5 重量%。

无风险的害虫防治

5 发明背景

本发明涉及防治害虫的一种方法，更具体而言是一种农药制备和应用方法，该农药影响昆虫、蜘蛛和幼虫体内的章鱼胺受体部位。

10 关于农药活性许多化合物和混合物已被研究了多年，该研究以获得一种产品为目标，该产品对无脊椎动物如昆虫、蜘蛛和其幼虫具有选择性和对脊椎动物如哺乳动物、鱼、家禽和其他种类具有很小的毒性或无毒和在其他方面无残留和危害环境。申请者已知的和有足够农药活性、具有商业意义的大多数产品，也具有毒性或对不是产品靶标的哺乳动物、鱼、家禽或其他种类具有有害的影响。例如，有机磷化
15 合物和氨基甲酸酯类抑制昆虫以及所有动物种类的乙酰胆碱酯酶的活性。已知杀虫脒和相关的甲脒类作用于昆虫体内的章鱼胺受体，但由于对脊椎动物的潜在的心脏毒性和对动物的致癌性以及不同昆虫的各种影响而已从市场上退出。而且这些化合物对某些昆虫种类需要非常高的剂量。

20

据推测，脒类化合物影响到存在于昆虫体内对章鱼胺敏感的腺苷酸环化酶[Nathanson等, Mol. Pharmacol 20:68-75(1981)和 Nathanson, Mol. Pharmacol 28:254-268(1985)]。进行了另一个研究，即章鱼胺在昆虫神经系统内的吸收和代谢[Wierenga等, Neurochem 54, 479-489(1990)]。
25 这些研究是在模仿章鱼胺结构的含氮化合物指导下进行的。

30

杀虫剂如 3,6,8-三噁二环[3.2.1]辛烷类、二噻烷类、毒鼠硅、林丹、毒杀芬、环二烯类和木防己苦毒素作用于 GABA(γ -氨基丁酸)受体。然而，这些产品也影响哺乳动物、鸟、鱼和其他种类。

人们盼望出现一种其靶标只是昆虫、蜘蛛和它们的幼虫，而对其他种类不产生不需要的和有害影响的一种农药。

发明简述

5 本发明的一个初步目的提出了一种制备和使用一种农药的方法，该农药杀死无脊椎动物，特别是昆虫、蜘蛛和它们的幼虫并对其他种类包括哺乳动物、鱼和家禽无有害影响。

10 本发明的进一步的目的是提出一种制备和使用一种农药的方法，该农药通过昆虫、蜘蛛和它们的幼虫和其他无脊椎动物体内的章鱼胺受体部位而发挥其农药特性。

15 本发明的更进一步的目的提出一种制备和使用一种农药的方法，该农药将以相当低的浓度在比较长的时间如至少 24 小时内发挥药效。

20 按照本发明的教导，公开了一种杀死昆虫和蜘蛛和其幼虫的方法。其步骤包括制备一种载体与影响剂的混合物，该影响剂干扰昆虫、蜘蛛和它们的幼虫体内章鱼胺受体部位的神经递质，将混合物施用于昆虫、蜘蛛、幼虫和它们的栖息地。影响剂与昆虫、蜘蛛和它们的幼虫体内的章鱼胺受体部位反应，干扰无脊椎动物体内的神经传递而不影响哺乳动物、鱼和家禽。所述影响剂是具有六元碳环结构的化合物，碳环上含至少一个取代的氧化官能团。

25 进一步公开了一种杀死昆虫和蜘蛛及其幼虫的方法。制备一种肉桂醇、丁子香酚和 α -萜品烯的掺混物。将该掺混物与一种载体混合产生一种均匀的混合物。将此混合物施用于昆虫和蜘蛛和幼虫及它们的栖息地。该混合物与无脊椎动物体内的章鱼胺受体部位反应，干扰了无脊椎动物体内的神经传递而不影响哺乳动物、鱼和家禽。

30 另一方面，公开了一种包含影响剂的农药，该影响剂具有六元碳

5 环，碳环上具有至少一个取代的氧化官能团。该影响剂影响了无脊椎动物包括昆虫、蜘蛛和它们的幼虫体内的章鱼胺受体部位。影响剂充分地
与一种载体混合。将昆虫、蜘蛛和它们的幼虫暴露在影响剂下，破坏无脊椎动物体内的章鱼胺受体部位，干扰了无脊椎动物的神经传递，使暴露的无脊椎动物死亡。

10 更进一步公开了一种杀死昆虫、蜘蛛和幼虫的方法。一种混合物由源自植物香精油中的化合物与载体混合制备而成。该化合物具有章鱼胺受体部位抑制活性，并至少具有一个氧化官能团。将此混合物施用于昆虫、蜘蛛、幼虫和它们的栖息地。该化合物与昆虫、蜘蛛和幼虫体内的章鱼胺受体部位反应，干扰昆虫、蜘蛛和其幼虫体内的神经传递而不影响哺乳动物、鱼和家禽。

15 另一方面公开了一种防治昆虫、蜘蛛和它们的幼虫的方法。一种乳剂由影响剂制备而成，该影响剂阻断昆虫、蜘蛛和它们的幼虫体内的章鱼胺受体部位的神经传递。将所述混合物施用于昆虫、蜘蛛、幼虫和它们的栖息地。影响剂与昆虫、蜘蛛和幼虫体内的章鱼胺受体部位反应，阻止昆虫、蜘蛛和幼虫取食而不影响哺乳动物、鱼和家禽。

20 还在另一方面公开了一种防治昆虫、蜘蛛和幼虫的方法。将与一种载体混合的影响剂施用于昆虫和蜘蛛的栖息地。该影响剂延缓了幼虫的生长。它与昆虫和蜘蛛的幼虫体内的章鱼胺受体部位反应，干扰幼虫体内的神经传递而不影响哺乳动物、鱼和家禽。影响剂是一种天然存在的含至少六个碳原子的有机化合物。

25 此外，公开了一种杀死昆虫、蜘蛛和其幼虫的方法。一种混合物通过载体与一种天然存在的有机化合物混合制备而成，该化合物含至少六个碳原子。它具有章鱼胺受体部位抑制活性。将该混合物施用于昆虫和蜘蛛和其幼虫和它们的栖息地。此化合物与昆虫和蜘蛛和其幼虫体内的章鱼胺受体反应，干扰昆虫、蜘蛛和其幼虫体内的神经传递

30

而不影响哺乳动物、鱼和家禽。

本发明的这些和其他目的将通过阅读下列描述并与附图相结合而变得显而易见。

5

附图简述

图 1 是显示本发明 3-B 混合物对神经细胞的胞内 $[Ca^{2+}]$ 浓度的影响显示曲线。

10 图 2 是显示当本发明 3-B 混合物注射进活蟑螂胸部时，通过电刺激导致的蟑螂足肌肉收缩的显示图。

图 3 是显示当本发明 3-B 混合物施用于离体的蟑螂足时，通过电刺激导致的蟑螂足肌肉收缩的显示图。

图 4 是用丙酮作为对照而无 3-B 混合物的图 2 试验的显示图。

图 5 是用丙酮作为对照而无 3-B 混合物的图 3 试验的显示图。

15 图 6 是对蟑螂腹部神经施用 3-B 混合物和对照后从尾毛机械受体发出信号的系列显示图。

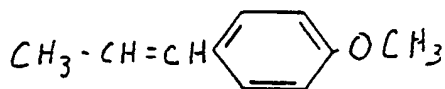
图 7 是用 3-B 混合物与对照比较的甘蓝叶片圆盘的取食危害显示图。

20 具体描述

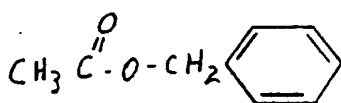
本发明的化合物和这些化合物的混合物对无脊椎动物昆虫、蜘蛛和它们的幼虫产生了生理活性。下面这些化合物是本发明化合物的代表，这类化合物含六元碳环结构，碳环上含至少一个取代的氧化官能团，但不应认为这些是全部的化合物，它们不受限制。

25

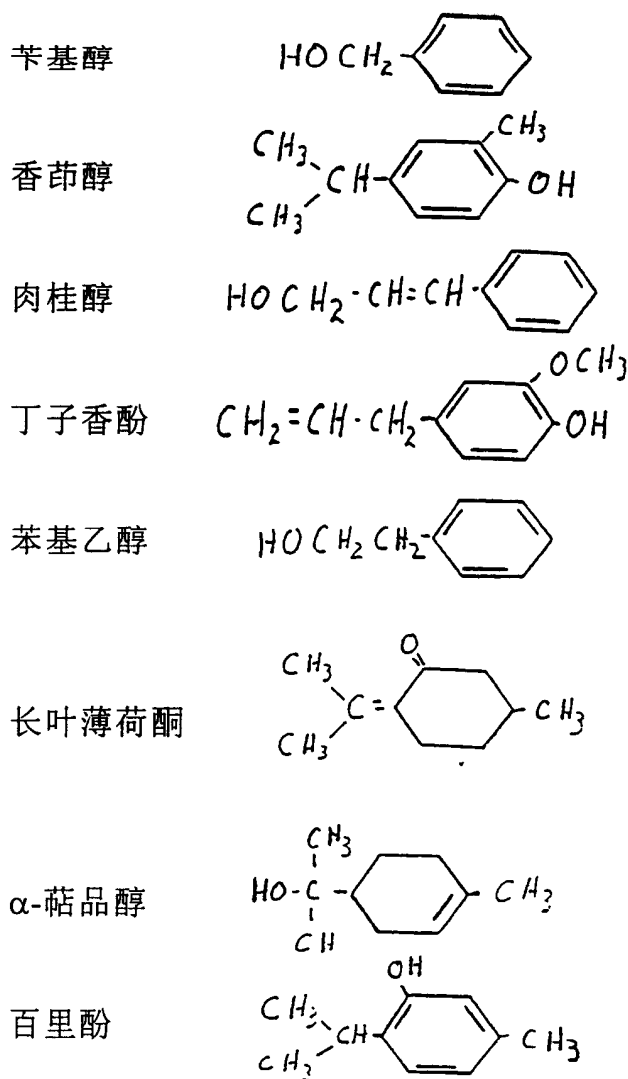
反式-茴香脑



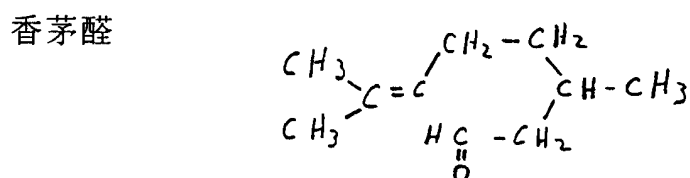
乙酸苄酯



30



以上所列出的物质均是植物香精油的成分。本发明化合物另外的植物香精油是香茅醛。



茴香脑、香芹酚、香茅醛、丁子香酚、D-长叶薄荷酮、α-萜品醇和百里酚都是单萜，每个化合物中含 10 个碳原子。

本发明并不限制这里所列的化合物。

本发明的所有化合物是自然界存在的有机化合物，不含有卤素。此外，本发明的几个化合物被美国环保局(EPA)认为对人类安全并免于登记。因而，这些化合物不需要 EPA 的预先批准或登记。某些化合物被加入现有技术杀虫剂中作为引诱剂和驱避剂。然而，没有报道这些化合物在本发明公开的浓度下具有农药活性的毒性。

本发明的所有化合物充当昆虫、蜘蛛和它们的幼虫体内的章鱼胺受体部位的兴奋剂或拮抗剂，因此，对受暴露的无脊椎动物产生生理影响。本发明的化合物被认为是影响剂。在降低的化合物浓度中或短暂时时间的暴露影响受暴露昆虫、蜘蛛和幼虫的取食习性。这一点对那些取食植物的无脊椎动物是重要的，因为无脊椎动物吸收了亚致死浓度的本发明化合物可降低对植物的危害。同样，暴露于本发明化合物下的存活的昆虫、蜘蛛或幼虫显示出生长迟缓。

将 α -萜品醇、丁子香酚、肉桂醇溶于丙酮，并命名为样品 3B。掺混物成分的重量百分比范围是 α -萜品醇 10%-50%、丁子香酚 10%-50%和肉桂醇 20%-35%。优选的掺混物是每个成分按重量计等量。将 3B 注射进雌和雄美洲大蠊腹部。中毒的明显征兆是在 2 μ l 丙酮中含有每只蟑螂 1mg 的剂量下观察到的。在较低剂量观察不到中毒症状。通过这种方法，在 30 分钟内 6 只中的 2 只死亡。在那些存活的个体中间，某些显示出活动困难。没有观察到机能亢奋，甚至在那些很快死亡的个体中。在某些情况下，处理昆虫 2 至 3 天后死亡三分之一(2/6)。

在 24 小时之前通过局部施药法处理的美洲大蠊无死亡。40%(4/10)的死亡率在处理 24 小时后观察到，这个结果随时间而异。72 小时后 100%死亡。对照昆虫只通过注射接受了 2 μ l 丙酮，显示出无病态效果(见表 1)。

表 1 3-B(1mg/昆虫)对美洲大蠊通过局部施药法
处理的时间过程的影响

<u>时间(小时)</u>	<u>死亡率(3B)</u>	<u>死亡率(对照)</u>
24	4/10	0
48	6/10	0
72	10/10	0

上述研究数据说明 3B 的作用依施用部位而定，即腹部注射与全身局部施药比较。

将 3B 施用于昆虫的不同部位。当给药于美洲大蠊胸腹部(后足的基部)时，3B 最大毒性为 125 μ g/昆虫。在那样情况下，中毒的明显征兆在 10 分钟内就可观察到。注射的致死剂量为 250-500 μ g/昆虫，昆虫在 30 分钟内死亡(见表 2)。

表 2 3-B 对美洲大蠊通过胸腹部的注射处理的时间过程和剂量反应

<u>时间 (小时)</u>	<u>死亡率</u>				
	<u>供试剂量</u>		<u>μg/昆虫</u>		
	<u>50</u>	<u>100</u>	<u>125</u>	<u>250</u>	<u>500</u>
0.5	0	2/10	6/10	10/10	10/10
1.0	2/10	3/10	7/10	-	-
1.5	5/10	7/10	9/10	-	-
2.0	5/10	9/10	10/10	-	-
3.0	6/10	9/10	-	-	-
5.0	8/10	10/10	-	-	-
24.0	10/10	-	-	-	-

* 用等体积的丙酮(溶剂)单独作为对照以同样的方法处理昆虫发现无死亡率。

在后者情况下，致死剂量的注射使后足出现麻痹，虽然没有观察

到明显的机能亢奋，但前足和中足快速运动。这种快速死亡现象在通过局部施药法处理德国小蠊时也可以观察到(3B 对德国小蠊的毒性比美洲大蠊更强)。在 125µg/昆虫时，80%(8/10)德国小蠊在 2 至 3 小时内被击倒，24 小时内死亡(剂量为 0.4µl 丙酮中每只昆虫含有 125µg 的 3B)。

以上数据支持给药部位的不同将改变毒性程度这一观察结果。为进行进一步的证实，将含有 1mg 3B 的 20ml 丙酮施用于小广口瓶，所有的表面都被覆盖。一个小时后丙酮完全挥发，将 5 只美洲大蠊引入每个广口瓶中。如同上述，对照广口瓶用 20ml 丙酮准确处理。所有的蟑螂在含有 3B 的广口瓶中 10 至 30 分钟内死亡。对照广口瓶无死亡。某些昆虫(3/5)在暴露后 1 至 3 分钟内出现极度兴奋。在 8 分钟时观察到后足麻痹。这些“走交叉”数据同以前的研究一致，即观察到当 3B 施用于胸腹部比施用于腹部时导致蟑螂更快死亡。毒物通过足(与身体不同，足上无角质层)穿透更快的事实支持 3B 渗透性/穿透性在它的毒性中起关键作用这样的观点(见表 3)。

表 3 3B 施用后 1 小时，3B(1mg/瓶)对暴露在
预处理表面的美洲大蠊随时间过程的影响*

<u>时间(分钟)</u>	<u>死亡率</u>
10	3/5
15	3/5
20	4/5
30	5/5

* 昆虫暴露在单独用丙酮处理的表面无死亡。

依据这些数据，爱同样处理的广口瓶常作为残留研究。在这个试验中，美洲大蠊从丙酮挥发完全的那一刻起在不同的时间放入处理和对照广口瓶中，即在 24、48、96、72 小时和 7 天时放入。有趣的是，暴露在处理广口瓶中的所有昆虫都死亡，甚至在 3B 施药后的第 7 天

放入也如此。然而，从 3B 开始施用于广口瓶算起，蟑螂死亡与时间长度成比例，需花费更长的时间。暴露在处理表面后任何情况下都可以观察到某些中毒征兆。另外，同样的试验用德国小蠊重复，可观察到更大的中毒效果和更快的效果。它显示出中毒效果随时间出现某些降低(见表 4)。

表 4 当 3B 施用于表面时，3-B(1mg/瓶)在表面处理后的不同时间对暴露于这些表面的美洲大蠊的影响

3B 施药后的时间流逝(天)	杀死 100%昆虫需要的时间(天)
----------------	-------------------

1	1
2	3
3	6
5	8
7*	10(6/10 死亡)

* 当 3-B 施药后 7 天暴露在预处理广口瓶中的 10 只蟑螂只有 6 只死亡。

在表 4 中显示的中毒效果可以通过混合不同性质的油而被增强。将丁子香酚，3-B 的成分之一，溶解于 galoxolide，后者是一种芳香油，赋予丁子香酚涉及挥发的更长持续的性质和对丁子香酚农药性质的氧化作用。含按重量计 30%-60%的 galoxolide 和 40%-70%丁子香酚的混合物是有效的。作为一个实例，丁子香酚和 galoxolide 等量混合，每 1mg 在 10ml 丙酮中中强烈搅拌 2 分钟，然后施用于(约 1mg 混合物/瓶被施加到大约 10 平方厘米的面积上)同上所述的小广口瓶中，将所有的表面覆盖。这个实例的数据(见表 5)显示出混合物的致死效果得到扩展和强化。

表 5

丁子香酚/galoxolide*施用后 的时间流逝(星期)	杀死 100%昆虫需要的 时间 (天)
1	1
2	1
3	1
4	1

* 1,3,4,6,7,8-六氢-4,6,6,7,8,8-六甲基-环戊- γ -2-苯并吡喃。

5 蟑螂腹部神经索在所有受研究的组织中显示出对章鱼胺的吸收为第二位高的[J. Neurochem 54 479-489(1990)]。本发明化合物在“走交叉”研究中的高效归因于在紧接近于后足的腹部神经索上的章鱼胺受体的高浓度。

10 由于使用 3B 产生的中毒征兆不能表示胆碱能的作用模式，所以考虑了其他主要的可能性如 GABA 受体、章鱼胺受体/生物胺结合、 $[Ca^{2+}]$ 或线粒体 RNA/呼吸毒剂：

15 1、GABA 受体-氯通道研究：这个作用部位是已知的一些杀虫剂的主要作用部位之一。当试验 3B 作用时，使用了 3H-EBOB($[^3H]$ 正丙基双环邻苯甲酸酯)和 35S-TBPS (双环磷酸酯)。使用配位体前者是基于发现了 EBOB 对昆虫体内的 GABA-受体惊厥剂的结合部位显示出高毒性和放射性配位体的高亲和力。它还显示出与七类杀虫剂完全相同或重叠的结合部位：3,6,8-三噁二环[3.2.1]辛烷类、二噻烷类、毒鼠硅、林丹、毒杀芬、环二烯类和木防己苦毒素。TBPS 已被昆虫体内缺乏的毒性关联和结合亲和力阻碍。在这个比较研究中两者均使用放射性配位体。从表 6 可见，在 3B 浓度范围从 $10\mu M$ 至 $10NM$ 时，3B 诱导了对 3H-EBOB 或 35S-TBPS 的结合亲和力无拮抗作用。只有在 $100BM$ 时可见显著的效果。然而，在这样高的浓度($100\mu M$)，作用部位的特异性是不同的。相反，单独使用七氯环氧化物和使用硫丹 I(60%)

20 和硫丹 II(40%)混合物作为正标准，甚至在 $10Nm$ 浓度下也具有非常高的

活性。这些数据表示这个测定系统用 3B 工作很不足，它作用的缺乏是由于难于达到 GABA 受体部位。抗环二烯类的伦敦品系显示出对 3B 的交差抗性的这一事实支持上述数据，并排除了 GABA 受体是 3B 作用的靶标或部位。

5

表 6 3B 对结合的 GBAB-受体的影响
每 200μg 突触膜蛋白质的 dpm(衰变次数/分钟)(X±SD)

供试浓度μM		³ H-EBOB	³⁵ S-TBPS
3-B			
10	0	2558±159	3361±297
	0.01	2069±98	2991±101
	0.10	2069±198	2939±111
	1.0	2088±76	2917±85
	10	2111±151	3001±173
15	100	2109±88	2985±203
硫丹混合物μM			
20	0	2558±159	3361±297
	0.01	1886±71	2477±162
	0.1	1009±83	1358±101
	1.0	350±35	552±43
	10	255±29	360±15
	100	241±18	285±11
七氯环氧化物μM			
25	0.001	2010±91	2470±188
	0.01	1583±77	2000±75
	0.10	1221±63	1699±109
	1.0	1142±85	1493±99
	10	591±41	685±66
无标记配位体μM			
30	0.001	499±34	533±25
	0.01	346±29	381±17
	0.10	206±15	211±19

对 照 值 (单 独 溶 剂) , 对 于 EBOB×TBPS 分 别 为 2558±159×3361±297。

2、章鱼胺受体/生物胺结合部位：生物胺通过昆虫的特异受体执行许多生理功能是已知的。章鱼胺受体是昆虫最具支配地位的生物胺受体。已知某些杀螨剂如杀虫脒作用于章鱼胺受体，引起症状的变化，包括行为改变。当 3B 与美洲大蠊的神经索匀浆直接培养，在 1μM 的剂量下，发现环腺苷磷酸(AMP)显著增加。化合物章鱼胺被用作阳性对照，在 1μM 下诱导 AMP 显著增加。章鱼胺是 3B 的主要作用部位的另一证据是在 3B 和章鱼胺共同处理下，3B 使章鱼胺诱导的 AMP 的增加消除。

为了证实 3B 是章鱼胺受体的毒剂，测定了两个重要的生物特征：30 秒的心脏跳动次数和环腺苷磷酸-依赖蛋白质激酶(PKA)的活性。在确认章鱼胺受体活性中，这两个生物特征被认为是特别重要的，因为显示蟑螂心脏具有高浓度的章鱼胺受体。当将 3B 以每只昆虫 200μg 的浓度施用于美洲大蠊活跃的胸部和全身，可见 30 秒的心脏跳动次数显著增加，并伴随着 AMP 的增加。如以前一样，更高浓度的 3B 导致心脏跳动次数的下降(见表 7)。

20

表 7 3B 对美洲大蠊 30 秒心脏跳动次数的影响

供试剂量， μg	处理前	处理后 30 分钟
对照	55±1.9	55±3.2
200	55±2.1	71±4.5
300	58±0.81	67±1.63
600	57±0.47	41±2.4
900	53±1.9	38±2.8
章鱼胺(20μ)	54±2.1	75±3.6
杀虫脒(20μ)(阳性对照)	51±1.4	69±2.5

此外，当 3B 与美洲大蠊头的突触体制剂一起培养时，发现 PKA 的活性显著增强，与上述结论(表 7)一致。

5

表 8 3-B(200μg/蟑螂)对美洲大蠊的细胞膜突触体中 PAK 活性的影响	
	dpm/1 nmol Kemptide/5min
	X±SD
对照	1753±57
3-B	4008±201

10

3、可能的[Ca²⁺]的作用：由于观察到在胸腹部用 3B 处理的蟑螂活动困难，因此推定在肌肉内 Ca²⁺浓度水平增加可能与后足的收缩有关。为了这个目的，使用哺乳动物的细胞系 PC12(老鼠的嗜铬性肾上腺细胞)。该细胞系模仿神经细胞是已知的，特别是模仿含有邻苯二酚胺的神经细胞，并被用作 Ca²⁺诱导突触前传感器释放现象的模型。如图 1 所示，当 3B 加入这些细胞达 100μM 时(在 A 中)，细胞内游离的 Ca²⁺含量无变化。PC12 细胞内 Ca²⁺浓度通过 Fura 2/AM(一种为游离的 Ca²⁺荧光探测渗透细胞)用光谱测量仪测定。thapsigargin 作为阳性对

15

照，甚至在 500Nm 时也明显地使 Ca²⁺增加(在 B 中)。同样，10μM 的离子霉素，一种 Ca²⁺-离子载体(在 C 中)导致了预期的 Ca²⁺进入的增加。这些结果显示 3B 没有能力调节任何类型哺乳动物细胞内的钙平衡。

20

本发明的化合物对鼠大脑组织细胞的影响如下，其中环磷酸腺苷的产生以 dpm/mg 蛋白质来测量

对照	5395±43
3-B	5411±391
萜品醇	5399±219
丁子香酚	5461±488
苯基乙醇	5499±415

然而，在哺乳动物的神经传递系统没有产生变化。这些数据证实那些香精油对哺乳动物缺少神经毒性。

5 4、线粒体 RNA/呼吸中毒：另一个可能的作用模式是线粒体 RNA 或呼吸中毒。观察到所有的线粒体 RNA 毒剂诱导一些作用点极度活跃。然而，当美洲大蠊用 3B 的局部施药法处理后，在使用的所有中毒浓度的任何阶段均没有观察到极度活跃或过度兴奋。另一方面，当美洲大蠊暴露在用 1mg 60%的 3B 溶液预先涂抹的广口瓶中，昆虫出现过度兴奋。这些数据提示进入模式是在这些香精油作用模式中的决定因素。该观察报告支持这样的观点，即 3B 是不把 Na⁺通道作为主要靶标攻击的一类毒剂。Kdr-抗性品系(变异的 Na⁺通道使它对 DDT 和除虫菊酯类不敏感)不显示对 3B 的交差抗性这一事实也支持这样的论断。

15

在上述情况下，除了对章鱼胺受体有拮抗作用外，杀虫剂已知的主要作用部位被发现对 3B 都不敏感，因此可以认为这一类化合物的作用模式是全新的。

20

应指出 3B 毒性随施用部位而变化，至少对于美洲大蠊是这种情况。像这样的观察结果表明 3B 可能没有内吸作用，如果一个部位产生高毒性，它的靶标可能位于非常于所施用的部位。鉴于在美洲大蠊胸部中心用药处理中观察到活动困难，它的原因是胸部神经中枢可能受到影响。当 3B(在 0.4μl 丙酮中含 250mg)注射进活蟑螂的胸部，它的后足收缩通过体外电刺激诱导，足肌肉对刺激的反应能力在一分钟内消失(见图 2)。将 3B 施用于离体的足时，并直接给予电刺激，没有发现 3B 的作用(见图 3)。这些数据认为 3B 的作用在神经系统而不在肌肉。对照试验用不含 3B 的丙酮(0.4μl)处理，显示无作用(见图 4、5)。这种可能性用第六腹部神经节做进一步的试验，研究利用空气气流产生的从尾毛机械受体发出的信号输送。为了这个目的，腹腔被打开，

25

30

暴露了整个腹部神经索。以每只昆虫 200 μ l 3B 的悬浮液盐水直接施用到整个腹部神经索。结果是剧烈的，施用后 5 分钟内，在 250-500 ppm 浓度时，产生了传输的完全阻断(见图 6)。甚至在 10ppm 时 3B 的阻断效果也出现，在 15 分钟内产生可见的效果。这些结果清楚地表明 3B 是非内吸神经阻断剂。

对蟑螂进行进一步的研究，确定本发明的其他化合物对昆虫心脏速率的影响。试验条件和以上的描述相同，施用 300 μ g 各个化合物于整个腹部神经索，每一组昆虫有 3 头。观察所有的心脏速率，每一个体计数被计录 3 次，即在化合物导入测前 9 个数据，在大约 300 μ g 化合物给药后 30 分钟测 9 个数据。这些心脏跳动试验的数据与前述的“走交叉”试验一致。下面化合物在给药后 30 分钟心脏速率上显示出可测量的变化，这些化合物是：萜品醇、丁子香酚、苯基乙醇、乙酸苄酯和苄基醇。

下面的混合物在心脏速率上也显示出可测量的变化，这些混合物是：萜品醇与丁子香酚，萜品醇与苯基乙醇，和丁子香酚与苯基乙醇。

个别化合物的毒性也通过局部施药于斜纹贪夜蛾(*Spodoptera litura*)(活虫体重 15-20mg)第四龄幼虫初期来确定，24 小时后进行测量(见表 9)。

表 9 本发明化合物的毒性

化合物	LD ₅₀ (μg/幼虫)	95%置信 范围	LD ₉₀ (μg/幼虫)	95%置信 范围
α-萜品醇	156.0	148.7-163.7	206.4	190.4-249.9
丁子香酚	157.7	149.9-165.8	213.0	194.8-263.3
肉桂醇	LD ₅₀ >250			
(+)-萜品烯-4-醇	130.4	121.8-139.5	205.8	180.2-283.8
(-)-萜品烯-4-醇	122.9	108.1-139.7	276.0	202.4-583.9
香芹酚	42.7	37.7-48.3	73.8	55.7-142.0
D-长叶薄荷酮	51.6	49.0-54.4	69.7	62.3-91.3
反式-茴香脑	65.5	61.7-69.6	98.8	88.4-129.1
百里酚	25.5	22.9-28.3	46.8	38.5-74.5
香茅醛	111.3	103.9-119.1	153.4	130.8-223.5

5 在测定 LD₅₀ 剂量中，应当指出所有用长叶薄荷酮处理的幼虫，甚至以最低的剂量处理的幼虫，几乎立刻就麻痹了。然而，在较低的剂量中，这些幼虫的许多或大多数能克服这个影响，但是，在高剂量下幼虫则屈服于这个影响。为了确定所观察到的亚致死毒性是否导致任何长期的影响，随后在 3 个最低剂量(每头幼虫 20、31 和 49μg)下监控受处理幼虫的生长，处理后 72 和 100 小时与对照(未处理幼虫)的生长进行比较(见表 10)。

10

表 10 暴露在本发明化合物中的幼虫生长

	对照	20μg/幼虫	31μg/幼虫	49μg/幼虫
死亡率(5)	0	0	2	52
活的幼虫重量-72 小时	148mg	109	81	52
活的幼虫重量-110 小时	363mg	289	248	163

结果表明最高剂量下存活的幼虫随后生长极大地减缓。更重要的是，这种效果也发生(这样值得注意)在两个最低剂量中，它们本身几

乎无死亡率。因此，甚至暴露在亚致死剂量中对幼虫也可能具有显著的效果。

用本发明的化合物可以制成干粉制剂。以下所列的实例是先前描述的 3B 混合物(肉桂醇、丁子香酚和 α -萜品醇)。然而，这些实例只是为说明目的，不限制活性化合物的范围。其他的混合物和个别化合物也可以使用。建议的混合物是：苯基乙醇、 α -萜品醇、丁子香酚与 α -萜品醇(3C)，和乙酸苄酯、 α -萜品醇、苯基乙醇、肉桂醇与 α -萜品醇(3D)。这里所列的混合物不受限制，只是典型的，本发明不限制这些混合物。

生产过程是将粉剂组分置于 500ml 的盘中，将使用的化合物(通常是液体)倒入粉末中。置于容器中的粉末和混合的化合物在电动转鼓机中干燥大约 30 分钟。将制备出的干燥粉剂约 1cc 置于在 9cm 皮氏培养皿中的 Whatman 1 号滤纸上。粉末用骆驼毛刷均匀铺开。所用的对照只含有粉末组分不含本发明的化合物。

下列组合物的制备(表 12a-12c)

表 12a

重量%	数量	组分
40	20 克	硅藻土
20	10 克	碳酸钙
20	10 克	碳酸氢钠
10	5 克	Hi-Sil 233
10	5 克	有效成分*

表 12b

重量%	数量	组分
40	20 克	硅藻土
23	11.5 克	碳酸钙
20	10 克	碳酸氢钠
10	5 克	Hi-Sil 233
7	3.5 克	有效成分*

表 12c

重量%	数量	组分
40	20 克	硅藻土
25	12.5 克	碳酸钙
20	10 克	碳酸氢钠
10	5 克	Hi-Sil 233
5	2.5 克	有效成分*

* 有效成分为本发明化合物的混合物。

5

10

供试混合物置于装有 10 头普通火蚁并已盖上盖的皮氏培养皿中试验。进行不定期的观察来确定发生不可逆击倒(KD)的时间(KT)。昆虫被认为 KD 是当它们的后背朝下，或至少在 2 分钟内后背可能被转过来，但本身不能站立的。KT₅₀ 和 KT₉₀(分别被击倒 50%和 90%的时间)是通过在收集数据期间累计的击倒数计算的。10%混合物(表 12a)KT₅₀ 为 5 分钟 50 秒，KT₉₀ 为 6 分钟 40 秒。7%混合物(表 12b)KT₅₀ 是 3 分钟 40 秒，KT₉₀ 是 4 分钟 40 秒。5%混合物(表 12c)KT₅₀ 为 2 分钟 33 秒，KT₉₀ 为 3 分钟 45 秒。

15

上述数据是实例，清楚表明有效成分按重量计浓度从 5%-10%的化合物的混合物的有效性。这些是典型实例，但不受限制。浓度低至按重量计 0.1%也显示出某些个别化合物和化合物的各个混合物是有效的。也可使用非常高浓度的制剂。

20

作为高浓度的一个实例，以下为一种乳油制剂：

成分	用途	重量%
3B	有效成分	90.0
十二烷基苯基磺酸钠	乳化剂	6.6
C ₁₂₋₁₅ 的 Pareth-3 磺酸钠	乳化剂	2.0
脱水山梨糖醇一油酸酯 POE20	乳化剂	1.4

另一个乳油是：

成分	用途	重量%
3B	有效成分	90.0
蓖麻油(40 摩尔 EO)	乳化剂	10.0

5 上述乳油用高达 50 至 70 份水对 1 份乳油进行稀释，提供有效的含水介质。虽然这些实例为 3B 和 3C 混合物，制剂不受这样的限制，乳油也可以从本发明的个别化合物或个别化合物的混合物的任何组合来制备。

10 3B 混合物的乳油用自来水稀释，在甘蓝和豆类上分别喷雾防治斜纹贪夜蛾和二斑叶螨(*Tetranychus urticae*)来评价药效。所有的数值基于最少 4 个剂量，5 个重复，每重复 10 头斜纹贪夜蛾或 30 头成螨和/或后若螨。报告的数值代表水与制剂的比率(即稀释比) (如 46.8 的 LD₅₀ 意味着水与乳油的比率为 46.8:1)。在 24 小时评价死亡率(见表 13)。

15

表 13 3B 混合物的可乳化混合物的死亡率

3 天龄的斜纹贪夜蛾	LD ₅₀ (95%置信限.)=46.8(44.0-49.8)
	LD ₉₀ (95%置信限.)=30.6(27.2-40.7)
5 天龄的斜纹贪夜蛾	LD ₅₀ (95%置信限.)=53.0(49.6-56.7)
	LD ₉₀ (95%置信限.)=33.7(29.7-45.6)
二斑叶螨	LD ₅₀ (95%置信限.)=82.3(76.5-88.5)
	LD ₉₀ (95%置信限.)=55.9(49.3-75.5)

20

稀释的 3B 乳油制剂对斜纹贪夜蛾两种龄期均显示出良好的药效，甚至显示出比叶螨还好的药效。5 天龄期的斜纹贪夜蛾同小菜蛾幼虫的老熟幼虫(最后一龄)一样大，小菜蛾是一种潜在的靶标。重要的是，也观察到亚致死浓度明显地阻止取食和因而减少危害作物。

5 在稀释比率为 50:1、60:1 和 70:1 时，幼虫死亡率分别只有 64%、42% 和 12%。然而，存活幼虫只有最小的取食危害。如图 7 所示，甘蓝植物叶片的圆盘用 3B 乳油稀释至 50:1、60:1 和 70:1 处理，在 24 小时后的被消耗面积(ac) 小于 5%-30%，而对照(无 3-B)的被消耗面积大于 80%。另一个高浓度的实例是可湿性粉剂，具有以下的配方：

10

<u>成分</u>	<u>用途</u>	<u>重量%</u>
3B	有效成分	50.0
硅石(含水的、无定形的)	吸收剂	41.5
烷基萘磺酸钠	分散剂	3.0
二辛基磺基琥珀酸钠	润湿剂	0.5
<u>十二烷基苯基磺酸钠</u>	<u>乳化剂</u>	<u>5.0</u>

1 份粉剂与高达 30-50 份的水混合得到一种有效的农药。该实例是 3B 混合物，但不受限制，可以用任何本发明个别化合物或个别化合物的混合物的任何组合来制备。

15

防水粉剂可用任何本发明个别化合物或任何本发明个别化合物的混合物来制备。下面制剂是典型的，其混合物 3C 是按重量计等量的苜基醇、苜基乙醇和苜品醇：

<u>成分</u>	<u>用途</u>	<u>重量%</u>
3C	有效成分	5.0
硅藻土	松散剂	75.0
憎水性硅石	吸收剂	20.0

20

下面制剂代表两种准备用于喷雾的混合物 3B 和 3C 的典型，也可用于本发明的其他混合物和个别化合物：

<u>成分</u>	<u>用途</u>	<u>重量%</u>
3B	<u>有效成分</u>	5.0
蓖麻油(40 摩尔 EO)	<u>乳化剂</u>	2.7
脱水山梨糖醇一油酸酯 POE20	<u>乳化剂</u>	0.6
异丙基氨基烷基苯磺酸酯	<u>乳化剂</u>	1.7
水	<u>稀释剂</u>	90.0

<u>成分</u>	<u>用途</u>	<u>重量%</u>
3C	<u>有效成分</u>	5.0
蓖麻油(40 摩尔 EO)	<u>乳化剂</u>	2.7
脱水山梨糖醇一油酸酯 POE20	<u>乳化剂</u>	0.6
异丙基氨基烷基苯磺酸酯	<u>乳化剂</u>	1.7
水	<u>稀释剂</u>	90.0

5

本发明的个别化合物和混合物也可用作气雾剂喷雾。此处虽然不受限制，但下面的制剂是典型的：

<u>成分</u>	<u>用途</u>	<u>重量%</u>
3C	<u>有效成分</u>	5.0
丙醇	<u>增溶剂</u>	1.5
二氧化碳	<u>推进剂</u>	3.5
异烷烃	<u>溶剂</u>	90.0

10

杀虫香波具有下面的组成，其有效成分是本发明的个别化合物和化合物的混合物：

<u>成分</u>	<u>重量%</u>
有效成分	0.5-10.0
硬水螯合剂	0.5-3.0
乳化剂	1.0-5.0
增稠剂	0.5-5.0
泡沫稳定剂	0.5-2.0
洗涤剂	5.0-20.0
缓冲剂	0.1-2.0(达所需的 pH 值)
染料/着色剂	0.01
防腐剂	0.01-1.0
去离子水	加至 100%

胶状制剂制备如下：

	<u>蓝色</u>
3.00%	有效成分
15.00%	乙醇
0.42%	聚羧乙烯 934
0.42-10%	氢氧化钠水溶液
81.16%	水

5

	<u>黄色</u>
3.00%	有效成分
30.00%	乙醇
0.42%	聚羧乙烯 934
0.42-10%	氢氧化钠水溶液
66.16%	水

有效成分是本发明个别化合物或其混合物。

干燥粉剂制剂由碱土金属碳酸盐如碳酸钙、碱金属的碳酸氢盐如碳酸氢钠、有效成分、吸收材料如硅藻土和松散剂如 HiSil 233 组成。

5 混合物的相对浓度优选的是大约 20%-30%碱土金属碳酸盐、15%-25%碱金属的碳酸氢盐、0.1%-5%有效成分、30%-50%吸收材料和 5%-15%松散剂(均按重量计)。

有效成分是本发明个别化合物或其混合物。

10 在上述列举的所有实例中，它可以加上痕量(小于 2%)的物质以得到一种愉快气味，这样做不但出于审美的原因，而且可以用于确定处理过的建筑物区域。愉快气味的植物可以是香草、樟树，消费者可接受的有花或有其他气味的植物。愉快气味不限制这里给出的实例。

15 显然，在不脱离本发明的基本精髓的前提下可进行许多改进。因此，本领域的技术人员应当理解附加的权利要求范畴，除了这里明确描述以外，发明可以被实行。

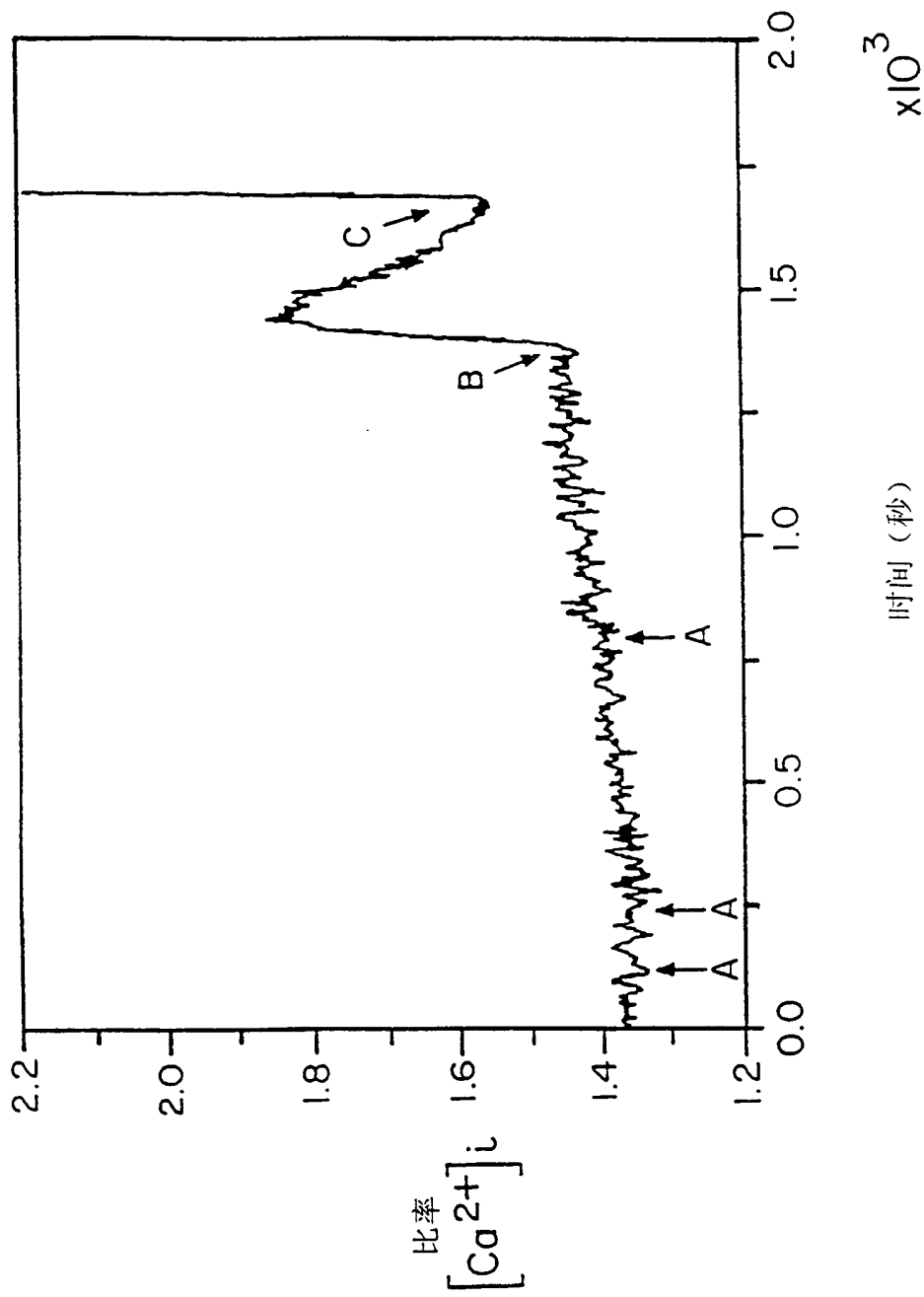


图 1

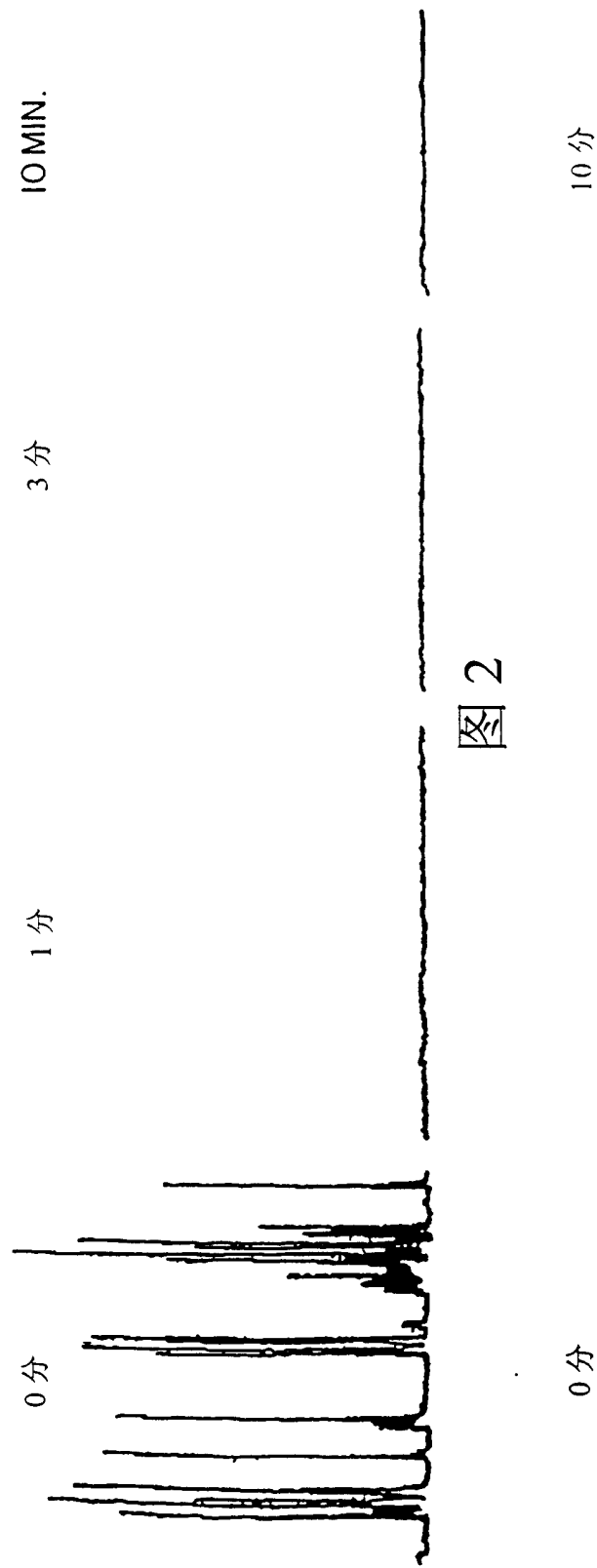


图 2



图 3

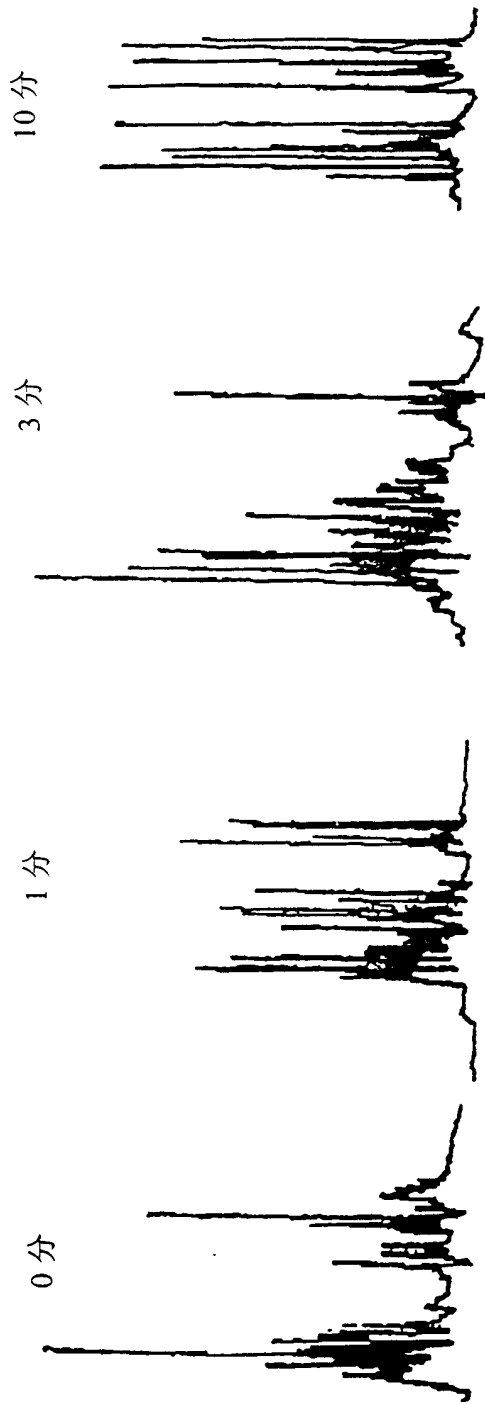


图 4



图 5

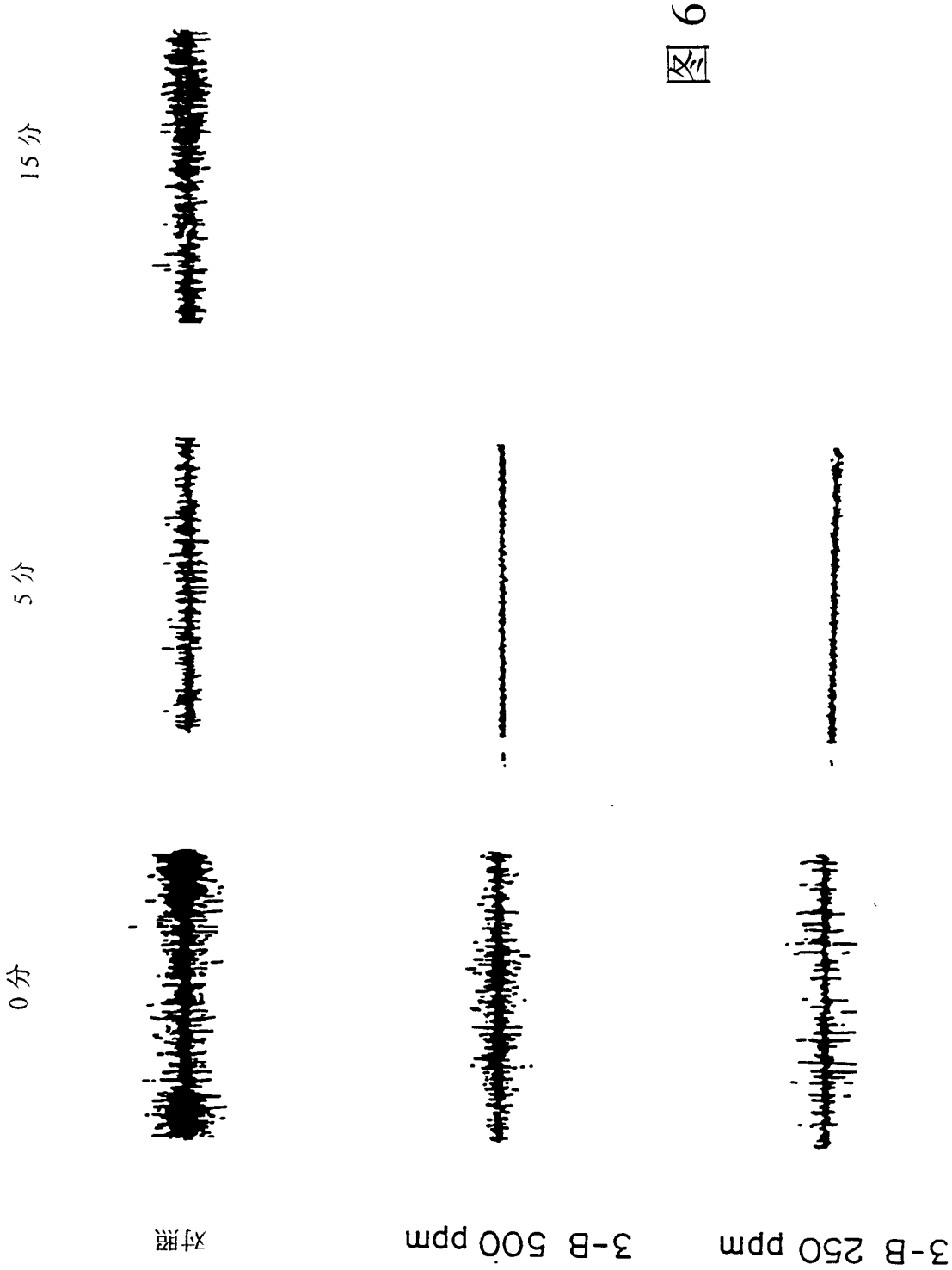


图 6

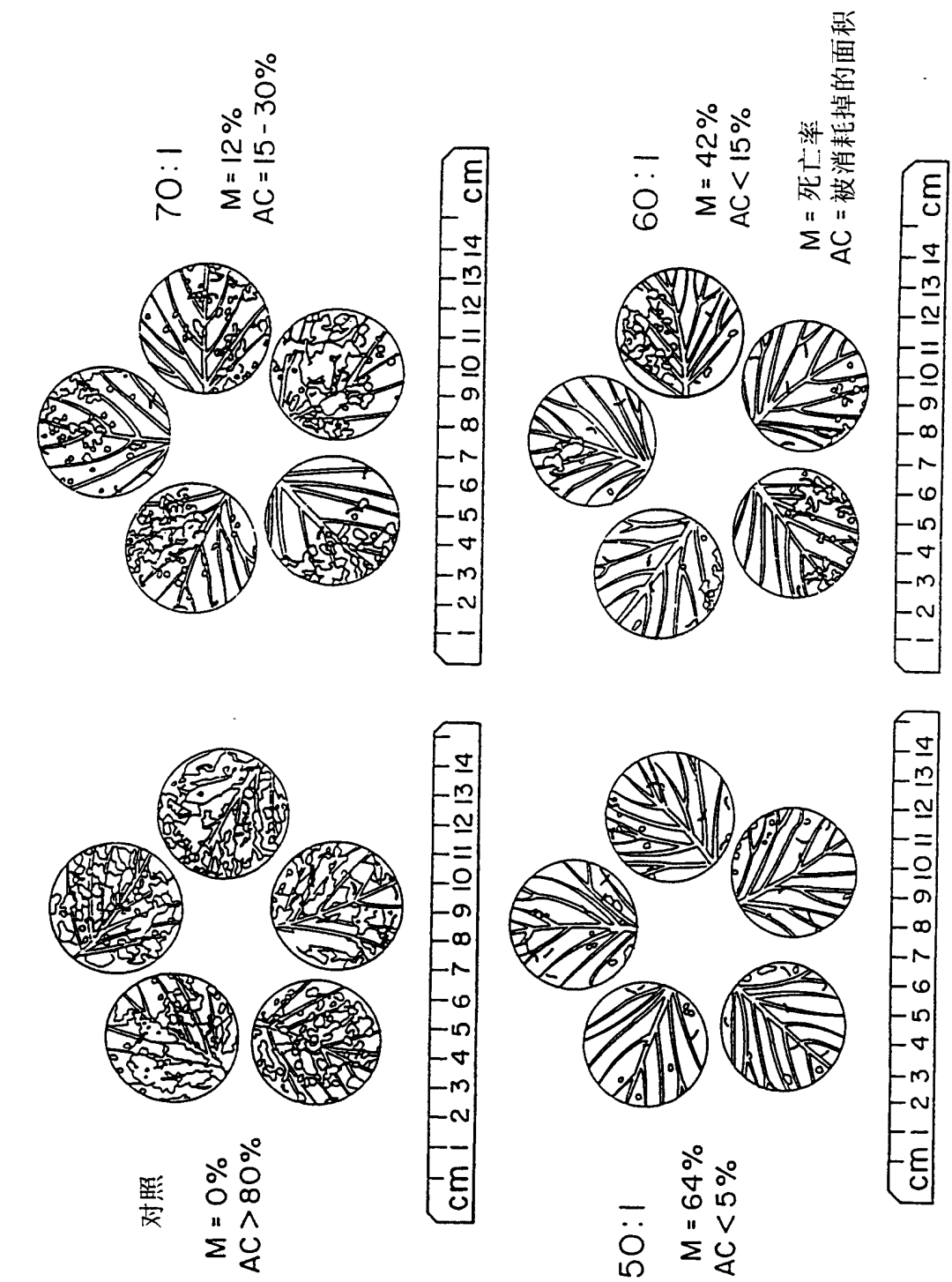


图 7