



УКРАЇНА

(19) UA (11) 32256 (13) A

(51) 7 C07C211/00, A01N33/02

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту**(54) N,N-ДИМЕТИЛ-N-МЕНТИЛОКСИКАРБОНІЛМЕТИЛ-N-(4-ХЛОРБЕНЗОЇЛОКСІЕТИЛ) АМОНІЮ ХЛОРИД, ЩО МАЄ БАКТЕРИЦИДНУ АКТИВНІСТЬ**

(21) 99010512

(22) 29.01.1999

(24) 15.12.2000

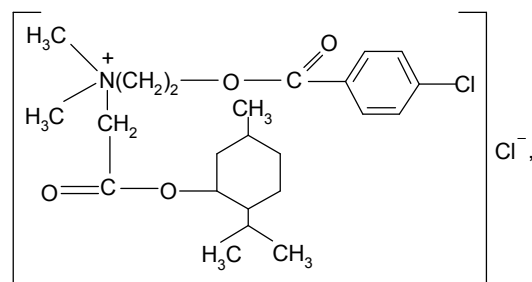
(33) UA

(46) 15.12.2000, Бюл. № 7, 2000 р.

(72) Геваза Юрій Іванович, Махновський Микола Кирилович, Вакуленко Ганна Касянівна, Голуб Віталій Опанасович, Лозинський Мирон Онуфрійович

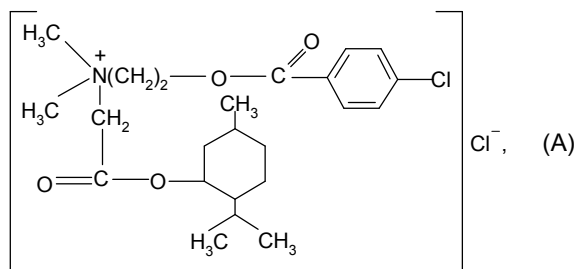
(73) ІНСТИТУТ ОРГАНІЧНОЇ ХІМІЇ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ

(57) N,N-Диметил-N-ментилоксікарбонілметил-N-(4-хлорбензоїлоксіетил) амонію хлорид формули



що має бактерицидну активність.

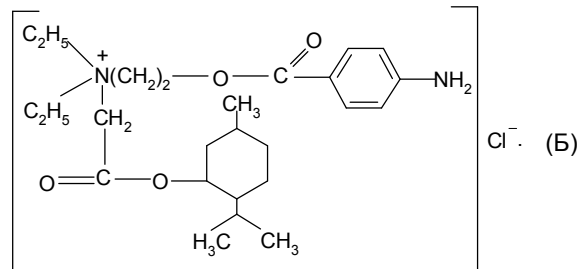
Винахід відноситься до галузі органічної хімії, стосовно синтезу нової хімічної сполуки N,N-диметил-N-ментилоксікарбонілметил-N-(4-хлорбензоїлоксіетил)амонію хлориду (А),



що має бактерицидну активність. Виявлена активність припускає його використання як препарату для захисту рослин від ураження фітопатогенними бактеріями.

Структура сполуки (А) в літературі не описана.

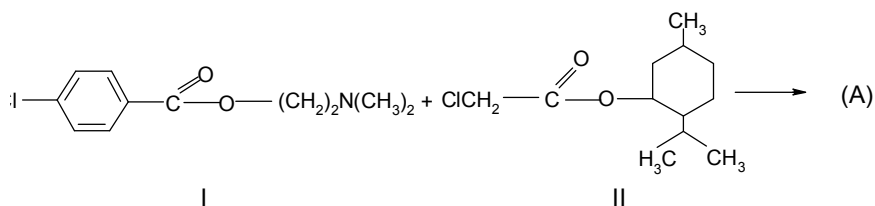
Найбільш близькими за будовою до запропонованої сполуки є моночетвертинні амонійні солі, одержані в результаті кватернізації третинних амінів ментиловим ефіром монохлороцтової кислоти [1], наприклад, N,N-диетил-N-ментилоксікарбонілметил-N-(4-амінобензоїлоксіетил) амонію хлорид (Б)



Ця сполука має слабку антимікробну дію проти золотистого стафілококу (250 мкг/мл). Антибактеріальна активність його по відношенню до збудників бактеріозів рослин не вивчена. В зв'язку з цим аналогом за дією був обраний тетраметилтіурамдисульфід (ТМТД), який застосовується як протравник насіння і посадкового матеріалу багатьох сільськогосподарських культур проти комплексу хвороб.

Завданням винаходу є пошук нових сполук в ряді моночетвертинних амонійних солей, що мають підвищену активність по відношенню до фітопатогенних бактерій.

Поставлене завдання досягається синтезом сполуки (А), яку одержують взаємодією N,N-диметиламіноетил-4-хлорбензоата (I) з ментиловим ефіром монохлороцтової кислоти (II)



Цю сполуку досліджували на антибактеріальну активність по відношенню до збудників бактеріозів рослин, фітопатогенним бактеріям, таким як: *Xanthomonas campestris* pv *malvacearum* 8838, *Xanthomonas campestris* pv *campestris* 8003b, *Xanthomonas campestris* 8159, *Xanthomonas campestris* 8171, *Corinebacterium michiganense* 13a, *Pseudomonas syringae* pv *syringae* 8511, *Pseudomonas syringae* pv *syringae* 8566, *Pseudomonas syringae* pv *atrofaciens* 8525, *Pseudomonas syringae* pv *phaseolicola* 8981, *Pseudomonas syringae* pv *Lachrymans* 7595, *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* 7200, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* 8982, *Agrobacterium tumefaciens* 8628.

В результаті проведених досліджень встановлено, що препарат (A) виявляє антимікробну дію в різних концентраціях (від 2 до 100 мкг/мл) в залежності від роду бактерій (див. табл. 1). Найбільш чутливі до препарату бактерії рядів *Xanthomonas* та *Corynebacterium*. Бактеріостатична дія препарату складала 2 мкг/мл. На бактерії родів *Pseudomonas* та *Agrobacterium* препарат діяв в концентрації 40-100 мкг/мл, в той час як ТМТД згубно діяв на бактерії роду *Erwinia* в концентрації 1000 мкг/мл.

Таким чином, новий синтезований препарат може знайти застосування в сільському господарстві для боротьби з бактеріозами рослин.

Винахід ілюструється такими прикладами.

Приклад 1. N,N-Диметиламіноетил-4-хлорбензоат (I). В реактор, обладнаний мішалкою, термометром, зворотним холодильником та крапельною воронкою вміщують 0,1 г/моля хлорангідриду п-хлорбензойної кислоти в 100 мл сухого бензолу. При перемішуванні з крапельної воронки додають протягом 30 хв 0,1 г/моля N,N-диметиламіноетанолу. Реакційну суміш витримують при 70°C протягом 3 годин.

Утворену хлористоводневу сіль N,N-диметиламіноетил-4-хлорбензоату нейтралізують 0,1 г/моля NaOH в 150 мл етилового спирту. Утворений осад NaCl відфільтровують, спирт випаровують, а залишок переганяють у вакуумі. Вихід 10,5 г (92%). Ткип. 170-172°C/0,9 мм рт. ст., n_D^{20} 1,4980. ІЧ-

спектр, cm^{-1} : C=O 1745; $-\text{CH}_2\text{N}$ 1450.

Знайдено, %: C 58,00; H 6,20; N 6,10; Cl 15,50. $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_2\text{NCl}$. Вирахувано, %: C 58,02; H 6,19; N 6,15; Cl 15,57.

Приклад 2. N,N-Диметил-N-ментилоксікарбонілметил-N-(4-хлорбензоїлоксіетил)амонію хлорид (A). В реактор, обладнаний термометром і зворотним холодильником, вміщують 0,1 г/моля ментилового ефіру монохлороцтової кислоти (II), 0,1 г/моля N,N-диметиламіноетил-4-хлорбензоату (I) та 500 мл ацетону. Реакційну суміш кип'ятять 24 год. Утворений осад відфільтровують, висушують і кристалізують з абсолютного етилового спирту. Вихід 39,5 г (86%), Тпл. 182-184°C. ІЧ-

спектр, cm^{-1} : C=O 1735; $-\text{CH}_2\text{N}$ 1435. Знайдено, %: C 59,45; H 7,35; N 3,00; Cl 15,10. $\text{C}_{23}\text{H}_{35}\text{O}_4\text{NCl}_2$. Вирахувано, %: C 59,99; H 7,60; N 3,04; Cl 15,40.

Приклад 3. Гостру токсичність сполуки (A) вивчали на безпородних білих мишах масою 18-20 г при внутрішньом'язовому введенні. LD₅₀ N,N-диметил-N-ментилоксікарбонілметил-N-(4-хлорбензоїлоксіетил)амонію хлориду при одноразовому введенні внутрішньом'язово становить 500 мг/кг.

Приклад 4. Вивчення антибактеріальної активності N,N-диметил-N-ментилоксікарбонілметил-N-(4-хлорбензоїлоксіетил)амонію хлориду проводили по відношенню до колекційних фітопатогенних тест-культур методом серійних розведень в рідкому поживному середовищі Готтінгера [2]. Бактеріальну суспензію готували з одноклонової агарової культури збудника в стерильній водопровідній воді у відповідності з оптичним стандартом мутності, що відповідає 500 млн. клітин в 1 мл. В кожную пробірку, яка містила відповідну концентрацію препарату, вносили по 0,1 мл одержаної суспензії, що складало 25 млн. клітин. Оскільки в кожную пробірку вміщували 2,5 мл поживного середовища, то на 1 мл її припадало 10 клітин досліджуваної культури.

Після внесення суспензії бактерій пробірки струшували і витримували в термостаті при 27°C протягом 20 год. Після цього за мутністю середовища візуально визначали бактеріостатичну дію препарату. За мінімальну бактеріостатичну концентрацію приймали концентрацію речовини, яка вміщується в останній пробірці без видимого росту.

Одночасно для визначення бактерицидної дії робили висіви на чашки Петрі з картопляним агаром з тих пробірок, в яких не було видимого росту бактерій. При відсутності росту через 48 год інкубації в чашці Петрі помічали бактерицидну дію в досліджуваному розведенні.

Приклад 5. Фітотоксичність N,N-диметил-N-ментилоксікарбонілметил-N-(4-хлорбензоїлоксіетил)амонію хлориду вивчали на насінні капусти сорту "Амагер" в лабораторних умовах. Досліди повторювали 5 разів, використовуючи концентрації 1%, 0,1%, 0,05%, 0,03%, 0,01% та експозицію 30 хв. Насіння старанно перемішували і відміряли таку їх кількість, щоб вистачило на всі повторності досліду, потім насипали в чисту склянку і заливали розчином препарату визначеної концентрації. Склянку закривали ватним тампоном і витримували 30 хв. Після цього розчин зливали, насіння висипали на стерильний фільтрувальний папір, просушували при кімнатній температурі протягом 20 годин. Просушене насіння розкладали в чашки Петрі, на дні яких був покладений стерильний фільтрувальний папір, залитий стерильною водою. Насіння просушували протягом 5 діб в термостаті при температурі 27°C в темряві, після чого чашки

виставляли на світло і залишали відкритими до кінця досліду.

Облік енергії проростання та схожості насіння провадили на 2-гу та 7-му добу. Паралельно враховували ураженість насіння та паростків бактеріальними, грибними та іншими хворобами. В кінці досліду паростки зважували. Контролем слугувало насіння, замочене в стерильній водопровідній воді, сухе та оброблене ТМТД. Про вплив препарату на насіння робили висновки за всіма показниками протягом всього досліду (див. табл. 2).

Дані табл. 2 свідчать про те, що препарат проявляє бактерицидні та стимулюючі ріст властивості при концентрації 0,01%, оскільки в порівнянні з контролем схожість насіння вища, вага паростків більша, а ураженість бактеріями та грибами після обробки препаратом зменшилась. При концентрації 1% препарат пригнічує проростання та ріст на-

сіння капусти. Не оптимальними виявилися також концентрації препарату 0,1%, 0,05% та 0,03%.

ТМТД, з активністю якого порівнюється активність синтезованого препарату, має такі недоліки: йому притаманні кумулятивні властивості, а у великих дозах проявляє канцерогенну, мутагенну та тератогенну дію (на мишах). LD₅₀ для ТМТД складає 400 мг/кг [3].

Джерела інформації:

1. Удовицкая В.В., Лопушанский А.И., Палий Г.К., Бурденюк И.П. // Хим. фарм. ж., № 1, 1970, С. 17-20.
2. Методы исследования возбудителей бактериальных болезней растений / Бельтюкова К.И., Матышевская М.С., Куликовская М.Д., Сидоренко С.С. – Киев: Наукова думка, 1968. - С. 273-275.
3. Справочник по пестицидам / Под ред. А.В. Павлова. – Киев: Урожай, 1986. - С. 150-152.

Таблиця 1

Антибактеріальна активність N,N-диметил-N-ментилоксікарбонілметил-N-(4-хлорбензоїлоксіетил) амонію хлориду по відношенню до фітопатогенних бактерій (в мкг/мл)

N п/п	Штами	Вражувані рослини	Препарат А		ТМТД	
			БС	БЦ	БС	БЦ
1	<i>Xanthomonas campestris</i> pv <i>malvacearum</i> 8838	бавовник	2	4	4	20
2	<i>Xanthomonas campestris</i> pv <i>campestris</i> 8003	капуста	2	4	4	20
3	<i>Xanthomonas campestris</i> 8159	капуста	2	2	4	20
4	<i>Xanthomonas campestris</i> 8171	капуста	2	2	4	20
5	<i>Corinebacterium michiganense</i> 13a	томати	2	4	40	40
6	<i>Pseudomonas syringae</i> pv <i>syringae</i> 8511	плодові	40	40	100	200
7	<i>Pseudomonas syringae</i> pv <i>syringae</i> 8566	плодові	40	40	40	100
8	<i>Pseudomonas syringae</i> pv <i>atropfaciens</i> 8525	зернові	40	40	40	100
9	<i>Pseudomonas syringae</i> pv <i>phaseolicola</i> 8981	бобові	10	10	40	200
10	<i>Pseudomonas syringae</i> pv <i>Lachrymans</i> 7595	огірки	40	100	1000	1000
11	<i>Erwinia carotomora</i> subsp <i>atroseptica</i> 7200	картопля	40	100	1000	1000
12	<i>Erwinia carotovora</i> subsp <i>carotovora</i> 8982	багато рослин	10	20	40	200
13	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 8628	виноград	20	40	40	40

Примітка: БС - бактериостатична дія;
БЦ - бактерицидна дія

Таблиця 2

Дія N,N-диметил-N-ментилоксікарбонілметил-N-(4-хлорбензоїлоксіетил) амонію хлориду на насіння і паростки капусти (лабораторний дослід)

N п/п	Варіанти досліду	Пророщі наступного дня після постановки досліду, %	Схожість на 7-му добу, %	Уражені бактеріями і грибами, %	Вага паростків на 7 добу
1	Сухе насіння	28,6	76,6	6,2	2,4
2	Насіння, замочене в стерильній водопровідній воді	34	75,4	7,6	29,2

N п/п	Варіанти досліду	Пророщі наступного дня після постановки дослі- ду, %	Схожість на 7- му добу, %	Уражені бакте- ріями і грибами, %	Вага паростків на 7 добу
3	ТМТД, 0,4%	40	71,4	0,5	4,8
4	Препарат А, 1%	10	61,4	-	1,4
5	0,1%	40	73,4	1,2	3,7
6	0,05%	31,4	58,0	1,0	3,4
7	0,03%	24,6	62,0	-	4,1
8	0,01	48,0	81,4	0,7	5,4

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)
Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26
(044) 295-81-42, 295-61-97

Підписано до друку _____ 2002 р. Формат 60x84 1/8.
Обсяг _____ обл.-вид. арк. Тираж 35 прим. Зам. _____

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180.
(044) 268-25-22
