

Invenția se referă la chimie și agricultură, și în special la aplicarea unui compus heterociclic, derivat al 1,2,4-triazolului, în calitate de remediu fungicid contra *Alternaria alternata* și *Fusarium aquaeductuum*.

Putregaiul de rădăcină (piciorușul negru) la culturile agricole este una din cele mai răspândite și severe maladii, și are manifestări specifice fazelor ontogenetice ale plantei. De exemplu la grâu, putregaiul de rădăcină se exteriorizează prin putrezirea seminței și gemulei, rădăcinițelor primare și secundare, coleoptilului, nodului de înfrățire, bazei tulpinii, ofilirea în faza de plantulă, obturarea vaselor conducătoare cu micelii și pătulirea grânelor, depigmentarea tulpinii și spicului, spice goale cu palete aspre, semințe șiștăvite sau cu embrion negru la plantele mature (Tunali B. et al. Root and crown rot fungi associated with spring, facultative, and winter wheat in Turkey. Plant Disease, 2008, vol. 92 (9), p. 1299-1306; Xu X. et al. Relationship between the fungal complex causing Fusarium head blight of wheat and environmental conditions. Phytopathology, 2008, vol. 98, p. 69-78).

La culturile cerealiere, putregaiul de rădăcină este produs de un ansamblu vast de ciuperci ubicuare răspândite în sol, cu patogenitate facultativă sau obligatorie, care fac parte din mai multe genuri: *Fusarium*, *Helminthosporium* (*Bipolaris/Drechslera*), *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, dintre care specia *A. alternata* face parte dintre patogenii cu frecvență înaltă, atingând în anii favorabili creșterii și dezvoltării frecvența de 35,9% din complexul fungic implicat în dezvoltarea maladiei la grâul comun de toamnă (Controlul genetic al caracterelor de rezistență și productivitate la grâul comun. Coord. Lupașcu G. Chișinău: Tipografia AȘM, 2015, 176 p.).

Unul din impedimentele de bază pentru combaterea maladiei constă în lipsa preparatelor eficiente, dependența activității lor de condițiile de mediu, înalta adaptabilitate a agenților cauzali ai maladiei la remediile nou create, toxicitatea pronunțată a acestora pentru plantă și mediul ambiant. În legătură cu cele menționate, identificarea noilor compuși cu activitate antifungică prezintă un mare interes practic în sistemul de protecție a plantelor.

Este cunoscut compusul (Z)-4,4-dimetil-1-(2,4-diclorfenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)pent-1-en-3-ona care a fost propus în calitate de regulator al creșterii plantelor și de agent fungicid pentru unele specii de fungi fitopatogeni, așa ca: *Helminthosporium gramineum*, *Penicillium italicum*, *Venturia inaequalis*, *Valsa mali*, *Mycosphaerella melonis*, *Diaporthe citri*, *Verticillium albo-atrum*, *Septoria tritici*, *Cercospora beticola*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Alternaria kikuchiana* [1].

Dezavantajul acestui compus este că el nu-și manifestă proprietățile fungicide și pentru așa severi fungi fitopatogeni ca: *Alternaria alternata* și *Fusarium aquaeductuum*.

Mai este cunoscut compusul (E)-1-(2,4-diclorfenil)-4,4-dimetil-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)pent-1-en-3-ol, cel mai apropiat după activitatea fungică, utilizat comercial pe scară largă ca preparat Diniconazol. Acest preparat manifestă un spectru larg de acțiune antimicrobiană pentru infecțiile stabilite în semințe. La tratarea semințelor cu diniconazol, acesta este ulterior transportat în partea aeriană a plantei și la etapele timpurii de dezvoltare o apără de infectarea aerogenă cu făinare și diverși alți fitopatogeni [2].

Avantajele lui constau în aceea că este un fungicid activ, aprobat pentru utilizare împotriva bolilor grâului de primăvară și de iarnă (tăciunele prăfos, mălura, muceizarea semințelor, putregaiul de rădăcină provocat de ciupercile *Fusarium* și *Helminthosporium*), orzului de primăvară și de iarnă (putregaiul de rădăcină, muceizarea semințelor).

Dezavantajele constau în aceea că el nu-și manifestă activitatea antifungică la un nivel suficient de înalt.

Problema pe care o soluționează invenția constă în extinderea gamei de preparate din clasa 1,2,4-triazolilor cu activitate fungitoxică care ar putea fi utilizate cu succes în agricultură pentru combaterea putregaiului de rădăcină provocat de fungii *Alternaria alternata* și *Fusarium aquaeductuum*.

Esența invenției constă în aceea că în calitate de remediu contra ciupercilor fitopatogene din speciile *Alternaria alternata* și *Fusarium aquaeductuum* – unii din agenții cauzali ai putregaiului de rădăcină se propune (Z)-4,4-dimetil-1-(2,4-diclorfenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)pent-1-en-3-ona. Concentrațiile active variază în diapazonul 0,0025...0,1% în dependență de specia de fung testată.

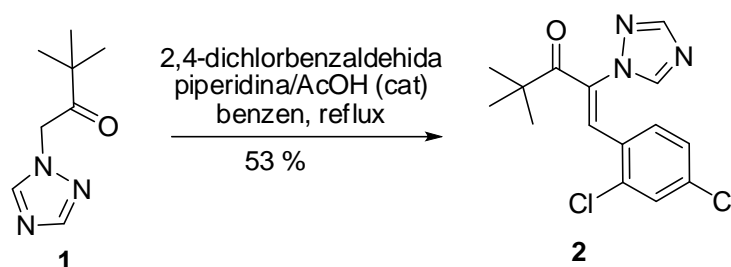
Avantajele invenției constau în aceea că compusul (Z)-4,4-dimetil-1-(2,4-diclorfenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)pent-1-en-3-ona contribuie la sporirea activității fungitoxice pentru unii din agenții cauzali ai putregaiului de rădăcină – *A. alternata* și *F. aquaeductuum* în raport cu soluția cea mai apropiată.

Rezultatul tehnic constă în sporirea activității fungitoxice a compusului din invenție în raport cu soluția cea mai apropiată cu 10...25% pentru fungul *A. alternata* și 18...33% pentru *F. aquaeductuum*.

Exemplu de realizare a invenției

Deși compusul este cunoscut din stadiul tehnicii, el a fost obținut printr-un procedeu modificat, care prevede interacțiunea cetonei, obținută conform MD4505 C1, cu 2,4-diclorbenzaldehida în benzen în prezența piperidinei și acidului acetic (cantități catalitice).

Procedeu efectuat în condițiile menționate este stereospecific și conduce la formarea substanței de interes α,β -nesaturate **2**. Procedeu decurge conform ecuației:



La soluția alcătuită din 1,67 g (0,01 mol) triazolil-cetona - 3,3-dimetil-1-(1H-1,2,4-triazol-1-il)butan-2-ona **1** și 1,66 g (0,011 mol) 2,4-diclorbenzaldehyda în 300 ml benzen se adaugă piperidină (0,05 mol/%) / acid acetic (0,17 mol/%). Amestecul se fierbe timp de 5 ore (controlat periodic cu ajutorul CSS) cu distilarea azeotropă a apei formate, folosind aparatul Dean-Stark, apoi soluția de benzen se răcește până la temperatura camerei, rămășițele de catalizator se extrag cu apă, apoi soluția benzenică a produsului final se usucă cu Na₂SO₄. Solventul se distilează, iar reziduu se recrystalizează din etanol.

Randamentul reacției este de 53% (1,72 g), P.t.= 117-120°C.

Structura compusului **2** este confirmată pe baza analizei elementelor și datelor spectrale:

C₁₅H₁₅Cl₂N₃O

Masa exactă: 323,06

Calculat,(%): C 59,99; H 5,37; N 18,66, C 55,57; H 4,66; N 12,96.

Stabilit,(%): C 59,83; H 5,22; N 18,62.

IR (v/cm⁻¹): 3118, 2970, 2297, 1636, 1630, 1505, 1473, 1384, 1138, 1104, 1005, 934, 848, 834, 771, 673.

Spectrul RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ, ppm, J/Hz): 8,07 (s, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,62 (s, 1H), 7,45 (1H, d, J = 1,9), 7,04 (1H, dd, J = 8.4, 1,9), 6,47 (1H, d, J = 8,4), 1,28 (s, 9H).

Spectrul RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ, ppm): 201,90, 152,8, 144,9, 136,8, 135,7, 134,3, 130,8, 129,97, 129,87, 128,9, 127,7, 44,23, 27,6.

Obținerea unui singur izomer – Z este confirmată prin metoda RMN.

Izolarea fungilor *A. alternata* și *F. aquaeductuum* – agenții cauzali al putregaiului de rădăcină la grâu s-a efectuat în condiții aseptice pe mediu PDA (Potato Dextrose Agar) (Методы экспериментальной микологии. Киев: Наукова думка, 1982, p. 550). Acest mediu este unul din cele mai optime medii pentru izolarea, cultivarea și cercetarea caracterelor morfologo-culturale ale patogenilor menționați. Au fost utilizate fragmente mici de țesut cu semne de putrefacție de la baza tulpinii de grâu. Fragmentele au fost aseptizate în soluție de hipoclorură de var de 2% timp de 1-2 min, după care s-au clătit de 2-3 ori în apă distilată, presate între 2 foițe de hârtie de filtru și plasate pe mediu în preajma flăcării de gaz.

Identificarea patogenilor s-a efectuat în baza caracteristicilor macro- și microscopice conform determinatoarelor (Билай В.И. Фузариин. Киев: Наукова думка, 1977, p. 422; Barnett H.L., Hunter B.B. Illustrated Genera of Imperfect Fungi, Fourth Edition. APS Press, 1998, 218 pp.)

Compușii din invenție și soluția cea mai apropiată au fost suplimentați la mediul nutritiv PDA în concentrațiile 0,01 (1); 0,005 (2); 0,0025 (3); 0,00125% (4) care s-a aseptizat prin autoclavare la presiunea de 0,5 atm timp de 30 min. Mediul aseptizat, fierbinte s-a turnat în cutii Petri, câte 10 ml în fiecare. După solidificarea mediului, fungii au fost însămânțați – câte un disc de PDA cu miceliul fungului, cu diametrul de 4 mm în centrul cutiei Petri. Cutiile cu fungii însămânțați, au fost menținute în termostat la temperatura de 24°C. Înregistrarea diametrului coloniilor (câte 2 diametre perpendiculare, media cărora a servit ca indice biometric) s-a efectuat din ziua 3-4 de la însămânțare, în dependență de viteza de creștere a fungilor. Experiențele s-au efectuat în 5 repetiții. Datele au fost prelucrate statistic în pachetul de soft STATISTICA 7.

Tabelul 1

Acțiunea inhibitorie a compusului din invenție și din cadrul soluției celei mai apropiate asupra fungului fitopatogen *A. alternata* în ziua 7 de cultivare

Compuși	Diametrul coloniei, mm		
	0,01%	0,005%	0,0025%
Martor absolut	58,6±0,9	58,6±0,9	58,6±0,9
Invenția (Z)-4,4-dimetil-1-(2,4-diclorfenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)pent-1-en-3-ona (1% - concentrația inițială a compusului în solvent DMSO)	28,0±2,0*	33,8±1,7*	38,3±1,0*
Soluția cea mai apropiată (E)-1-(2,4-diclorfenil)-4,4-dimetil-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)pent-1-en-3-ol (Diniconazol) (1% - concentrația inițială a compusului în solvent sol. C ₂ H ₅ OH)	42,6±0,6*	39,7±0,6*	47,1±1,0*

*- deosebire veridică de martor, p <0,05.

Conform rezultatelor prezentate, se atestă sporirea activității fungitoxice a compusului din invenție în raport cu cel din cadrul soluției celei mai apropiate asupra *A. alternata* cu 10...25% în intervalul de concentrații 0,0025...0,01%.

Tabelul 2

Acțiunea inhibitorie a compusului din invenție și din cadrul soluției celei mai apropiate asupra fungului fitopatogen *F. aquaeductuum* în ziua 14 de cultivare

Compuși	Diametrul coloniei, mm		
	0,01%	0,005%	0,0025%
Martor	56,4 ± 1,8	56,4 ± 1,8	56,4 ± 1,8
Invenția (Z)-4,4-dimetil-1-(2,4-diclorfenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)pent-1-en-3-ona (1% - concentrația inițială a compusului în solvent DMSO)	33,3 ± 1,9*	36,5 ± 0,6*	39,1 ± 0,9*
Soluția cea mai apropiată (E)-1-(2,4-diclorfenil)-4,4-dimetil-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)pent-1-en-3-ol (Diniconazol) (1% - concentrația inițială a compusului în solvent sol. C ₂ H ₅ OH)	43,7 ± 0,9*	55,0 ± 0,7*	52,6 ± 2,0*

*- deosebire veridică de martor, p < 0,05.

Conform rezultatelor prezentate, se atestă sporirea activității fungitoxice a compusului din invenție în raport cu cel din cadrul soluției celei mai apropiate asupra *F. aquaeductuum* cu 18,44 ...32,8% în intervalul de concentrații 0,01...0,0025%.