

(19) Országkód:

HU



**MAGYAR
KÖZTÁRSASÁG
ORSZÁGOS
TALÁLMÁNYI
HIVATAL**

SZABADALMI LEÍRÁS

(11) Lajstromszám:

203 791 B

(21) A bejelentés száma: 4357/88
(22) A bejelentés napja: 1988.08.15.
(30) Elsőbbségi adatok:
P 37 27 243 1987.08.15. DE

(51) Int. Cl.⁵

C 12 P 41/00
C 12 P 9/00
A 01 N 57/20
C 07 F 9/53

(40) A közzététel napja: 1989.10.30.
(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi
Közlönyben: 1991.09.30. SZKV 91/09

(72) Feltalálók:

dr. Wullbrandt, Dieter, Hofheim/Taunus (DE)
dr. Keller, Reinhold, Bad Soden/Taunus (DE)
dr. Schlingmann, Merten, Königstein/Taunus (DE)
dr. Holla, Wolfgang, Hofheim/Taunus (DE)
dr. Schneider, Manfred, Wuppertal (DE)

(73) Szabadalmaz:

Hoechst Ag., Frankfurt/Main (DE)

(54) **Optikailag aktív foszfortartalmú ecetsavszármazékokat tartalmazó
herbicide és növekedésszabályozó készítmény és enzimatikus eljárás ilyen
vegyületek előállítására**

(57) KIVONAT

A találmány tárgya eljárás (I') általános képletű (+)-
-dialkil-foszfinoil-hidroxi-ecetsav-származékok és só-
ik előállítására – a képletben

R¹ jelentése 1–4 szénatomos alkilcsoport és

R² jelentése 1–4 szénatomos alkilcsoport –

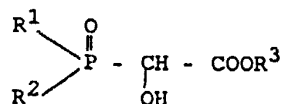
oly módon, hogy egy (I) általános képletű racém
vegyületet – a képletben

R¹ és R² jelentése a fenti és

R³ jelentése 1–14 szénatomos alkilcsoport –

hidrolázokkal vizes vagy vizes-szerves oldószeres
közegben hasítanak és savformában nyert (I') általá-
nos képletű vegyületet kívánt esetben sóvá alakítják.

A találmány vonatkozik továbbá az (I') általános
képletű optikai izomert tartalmazó herbicide és növeke-
désszabályozó készítményre is.



I

A találmány optikailag aktív, foszfortartalmú ecetsavszármazékokat tartalmazó herbicid és növekedésszabályozó készítményekre és az optikailag aktív, foszfortartalmú ecetsavszármazékoknak a megfelelő racém vegyület enzimatis hasításával végzett előállítására vonatkozik.

A 0 106 114 és 0 196 026 számú európai szabadalmi leírásokban racém, foszfortartalmú ecetsavszármazékokat ismertetnek, amelyek kiváló herbicid és növekedésszabályozó hatással rendelkeznek. Mint az más optikailag aktív vegyületek esetében is ismert, az izomerek közül ezek esetében is az egyik enantiomer leírt hatása erősebb. Ezért fontos, hogy ezt a vegyületet a racém keverékből el lehessen választani, ez az elválasztás azonban az ismert módszerekkel, így például a diasztereomer sóképzéssel vagy kristályosítással igen nehéz.

Whitesides racém proteinogén aminosavak észterázokkal és/vagy lipázokkal végzett hasítását írja le [Whitesides G. M., Wong C. H., Angew. Chemie 97, (1985), 616].

Felismertük, hogy a racém, foszfortartalmú ecetsavszármazékokat elválaszthatjuk – optikai izomerjeikre bonthatjuk – hidrolázokkal, így például lipázokkal és észterázokkal való kezeléssel. Ez azért is meglepő, mert ezen vegyületek a természetben nem fordulnak elő és az alkalmazott enzimek szubsztrátspecifitása alapján nem volt várható, hogy az ilyen típusú vegyületek hasítása is segítségükkel elvégezhető.

A fentiek alapján találmányunk tárgya eljárás (I') általános képletű (+)-dialkil-foszfinoil-hidroxi-ecetsavszármazékok és sóik előállítására – a képletben

R¹ jelentése 1–4 szénatomos alkilcsoport és

R² jelentése 1–4 szénatomos alkilcsoport –

oly módon, hogy egy (I) általános képletű racém vegyületet – a képletben

R¹ és R² jelentése a fenti és

R³ jelentése 1–14 szénatomos alkilcsoport –

hidrolázokkal vizes vagy vizes-szerves oldószeres közegben hasítunk és a savformában nyert (I') általános képletű vegyületet kívánt sóvá alakítjuk.

A találmány szerinti eljárással nyert optikailag aktív vegyületek herbicid és növekedésszabályozó hatással rendelkeznek, így a találmány az ilyen vegyületeket hatóanyagként tartalmazó herbicid és növekedésszabályozó készítményekre is vonatkozik.

Az (I) általános képletű vegyületek és a megfelelő savak előállítását a 0 106 114 és 0 196 026 számú európai szabadalmi leírások ismertetik. A savak ismert eljárások szerint a megfelelő észterekké alakíthatók. Az enzimatis eljárásnál előnyösek azok az (I) általános képletű vegyületek, amelyek képletében R¹ és R² jelentése egymástól függetlenül 1–4 szénatomos alkilcsoport, különösen előnyösen 1–2 szénatomos alkilcsoport és R³ jelentése 1–14 szénatomos, alkilcsoport.

Hidroláz enzimeként előnyösen lipázokat vagy észterázokat alkalmazunk, előnyösen *Candida cylindracea*, *Mucor miehei*, *Chromobacterium viscosum* mikroorganizmusokból származó lipázokat vagy sertéspankreatázból vagy sertésmájából származó észterázokat vagy

lipázokat alkalmazunk. A reakciót különösen előnyösen sertésmáj-észterázal és *Candida cylindracea*-val végezzük. Az enzimeket külön vagy együttesen is adagolhatjuk a reakciókeverékhez.

A találmány szerinti eljárásnál a hidrolázokat alkalmazhatjuk szabad, vízdoldható vagy vízdoldhatatlan, ismert módon hordozóhoz kötött formában (például 2 732 301 számú NSZK-beli nyilvánosságra hozatali irat) vizes vagy vizes-szerves oldószeres közegben. A szubsztrátum koncentrációja széles határok között változhat, értéke előnyösen 5–70 t%, különösen 20–50 t%, különösen előnyösen 25–40 t%. Az alsóbb koncentrációértékeknél a reakció általában lassabban megy végbe. Szerves oldószerként – amellyel általában a szubsztrátum oldhatóságát fokozzuk – általában vízzel elegyedő oldószert alkalmazunk, amelyek az enzimaktivitást érzékelhető módon nem csökkentik. Előnyösen alkoholokat, így például metanolt vagy etanolt, ketonokat, így például acetont vagy metil-etil-ketont, tetrahidrofuránt, dimetil-formamidot vagy dimetil-szulfoxidot alkalmazunk. Az oldószerkoncentrációt úgy választjuk meg, hogy az az enzimaktivitást érzékelhető módon ne befolyásolja, általában 5–15 t% közötti értéken dolgozunk. A reakcióhőmérséklet általában 10 és 40, előnyösen 15 és 35 °C közötti érték, a reakcióidő a szubsztráttól és azt enzimkoncentrációtól függően 1–48 óra. Megfelelő enzimaktivitás mutatható ki 5–9, előnyösen 6–8 közötti pH-értéken. A reakciót végezhetjük puffer jelenlétében vagy puffer nélkül is. Ha az enzimet immobilizált formában alkalmazzuk, az eljárás lehet szakaszos vagy folyamatos.

A találmány szerinti eljárásnál végtermékként (+)-dialkil-foszfinoil-hidroxi-ecetsavat vagy annak sóját nyerjük, a kiváló (-)-dialkil-foszfinoil-hidroxi-ecetsav-észtert rögtön racemizálhatjuk és a kapott (±)-észtert a reakciókeverékbe visszavezetve ismételt hasíthatjuk. Ez azt jelenti, hogy a (±)-észter kvantitatíve (+)-sav sójává alakítható.

A találmány szerinti eljárásnál különösen előnyösen dimetil-foszfinoil-2-hidroxi-ecetsav-észtert alkalmazunk és a kiváló (+)-enantiomer optikai tisztasága 85–97%.

A találmány szerinti eljárásnál kapott termék herbicid és növekedésszabályozó hatása kétszerese a megfelelő racém vegyületének. Az alkalmazási terület és a készítmények formálási módja azonos a 0 106 114 és 0 196 026 számú európai szabadalmi leírásokban ismertetettekkel. Különösen előnyösen alkalmazhatók a mezőgazdaság területén gyomirtásra.

A következő példákkal a találmány szerinti eljárást közelebbről illusztráljuk. A megadott %-értékek tömeg%-ot jelentenek.

1. példa

4,98 g (30 mmól) (±)-dimetil-foszfinoil-hidroxi-ecetsav-metil-észterhez 25 ml 0,1 mólos nátrium-foszfát-puffert (pH=7) adunk és 25 °C hőmérsékleten termosztáljuk. A reakciót 5 mg sertésmáj-észteráz adagolásával indítjuk és a pH értékét 1 n nátrium-hidroxid adagolásával konstans értéken tartjuk. 140 órás reak-

cióidő után (kb 88%-os átalakulás) a reakcióoldatot celliten leszűrjük, metanollal mossuk, az oldószert vákuumban 40 °C hőmérsékleten eltávolítjuk, a visszamaradó anyagot metanolban felvesszük, a szilárd anyagot leszűrjük és a (+)-dimetil-foszfinoil-hidroxi-ecetsav-nátrium-sót hidegen kikristályosítjuk.

Kitermelés: 3,9 g (+)-dimetil-foszfinoil-hidroxi-ecetsav-só, optikai forgatóképesség: $[\alpha]_D^{25} +14,2^\circ$ ($c=1,005$, metanolban).

2. példa

Az első példában leírtak szerint járunk el, kiindulási anyagként 2,36 g (10 mmól) ($\pm$)-hexil-észtert – 25 ml 0,1 mólos nátrium-foszfát-pufferben oldva – és 5 mg sertésmáj-észterázt alkalmazva. 150 óra reakció után (50,5 %-os átalakulás) – a reakcióhőmérséklet 25 °C volt – a reakciót megszakítjuk.

Kitermelés: 0,51 g (+)-dimetil-foszfinoil-hidroxi-ecetsav-Na-só, (58%), forgatóképesség: $[\alpha]_D^{25} +18,6^\circ$ ($c=1,059$, metanolban).

3. példa

Az első példában leírtak szerint járunk el, kiindulási vegyületként 8,77 (30 mmól) ($\pm$)-decil-észtert – 25 ml 0,1 mólos nátrium-foszfát-pufferben oldva (pH=7) – és 5 mg sertésmáj-észterázt alkalmazva. A reakciót 19 órán át végezzük, átalakulás 77%-os.

Kitermelés: 3,86 g (+)-dimetil-foszfinoil-hidroxi-ecetsav-Na-só (95% az átalakult termékre vonatkoztatva), forgatóképesség: $[\alpha]_D^{25} +20,4^\circ$ ($c=1,0746$, metanolban), enantiomertisztaság: 86%.

4. példa

Az 1. példában leírtak szerint járunk el, kiindulási anyagként 12 g (41 mmól) ($\pm$)-decil-észtert – 25 ml 1 mólos kálium-foszfátban oldva – és 10 mg sertésmáj-észterázt alkalmazva. A reakcióidő 19 óra, az átalakulás kvantitatív.

Kitermelés: 5,84 g (+)-dimetil-foszfinoil-hidroxi-ecetsav-K-só (75%, metanolból való átkristályosítás után), forgatóképesség: $[\alpha]_D^{25} -24,1^\circ$ ($c=1,0043$, metanolban), enantiomertisztaság: 97%.

Az enantiomertisztaságot optikailag tiszta 1-fenil-etil-aminnal végzett diasztereomer sóképzés után protonrezonancia spektroszkópiával határozzuk meg.

Hatástani példa

Az (I) általános képletű vegyületek herbicidhatása ismert (l. 106 114 sz. európai szabadalmi leírás) és ismert az is, hogy ezek a vegyületek pl. az imidazolin típusú herbicidekhez hasonlóan az acetolaktát vagy 2-aceto-2-hidroxi-butirát szintézisére kifejtett gátló hatásuk révén hatnak mint herbicidek [l. La Rossa, R. A. és Falco, S. C. Trends Biotechnol. 2, (1984), 360–361]. A találmány szerinti eljárással nyert enantiomerek hatásának kimutatására E. coli és D. carota törzsekből kinyert 2-aceto-2-hidroxi-butirátot (AHB) és 2-acetolaktátot (AL) alkalmaztunk és a gátló hatásra vonatkozó eredményeket a következő 1. táblázatban foglaljuk össze. Racém vegyületként ($\pm$)-dimetil-foszfinoil-hidroxi-ecetsavat alkalmaztunk.

1. táblázat

Enzimforrás Szubsztrátum	D. carota		E. coli	
	AHB IC ₅₀	AL IC ₅₀	AHB IC ₅₀	AL IC ₅₀
Racém vegyület	19,4 μ mól	8,2 μ mól	14,9 μ mól	8,0 μ mól
2. pl. szerinti vegyület			8,3 μ mól	3,6 μ mól
4. pl. szerinti vegyület	8,0 μ mól	2,7 μ mól		

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás (I') általános képletű (+)-dialkil-foszfinoil-hidroxi-ecetsav-származékok és sóik előállítására – a képletben

R¹ jelentése 1–4 szénatomos alkilcsoport és

R² jelentése 1–4 szénatomos alkilcsoport –

azzal jellemezve, hogy egy (I) általános képletű racém vegyületet – a képletben

R¹ és R² jelentése a fenti és

R³ jelentése 1–14 szénatomos alkilcsoport –

hidrolázokkal vizes vagy vizes-szerves oldószerek közegben hasítunk és a savformában nyert (I') általános képletű vegyületet kívánt esetben sóvá alakítjuk.

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy hidroláz enzimeként sertésmáj-észterázt alkalmazunk.

3. Az 1. vagy 2. igénypontok szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az (I) általános képletű vegyületeket 5–70 t% koncentrációban alkalmazzuk.

4. A 3. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az (I) általános képletű vegyületet 20–50 t% koncentrációban alkalmazzuk.

5. Az 1–4. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy 10–40 °C között reakcióhőmérsékletet alkalmazunk.

6. Az 5. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy 15–35 °C közötti reakcióhőmérsékletet alkalmazunk.

7. Az 1–6. igénypontok bármelyike szerinti eljárás (III) általános képletű (+)-dimetil-foszfinoil-hidroxi-ecetsav előállítására, *azzal jellemezve*, hogy kiindulási anyagként (II) általános képletű ($\pm$)-dimetil-foszfinoil-hidroxi-ecetsav-észtert – a képletben R^3 jelentése az 1. igénypont szerinti – alkalmazunk.

8. Herbicid és növekedésszabályzó készítmény, *azzal jellemezve*, hogy hatóanyagként 0,1–95 t% mennyiségben valamely 1. igénypont szerinti eljárással előállított vegyületet tartalmaz a szokásos hordozó és/vagy egyéb adalékanyagokkal elkeverve.

