



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **127265** (13) **C2**

(51) МПК (2023.01)

**A01N 47/40** (2006.01)

**A01N 47/46** (2006.01)

**A61K 31/26** (2006.01)

A61P 3/00

**C07C 317/02** (2006.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ  
ДЕРЖАВНА ОРГАНІЗАЦІЯ  
"УКРАЇНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ  
ОФІС ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ ТА ІННОВАЦІЙ"

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

<p>(21) Номер заявки: <b>a 2020 08135</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>09.07.2019</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: <b>29.06.2023</b></p> <p>(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>18182433.5</b></p> <p>(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>09.07.2018</b></p> <p>(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: <b>EP</b></p> <p>(41) Публікація відомостей про заявку: <b>30.06.2021, Бюл.№ 26</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: <b>28.06.2023, Бюл.№ 26</b></p> <p>(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: <b>PCT/EP2019/068336, 09.07.2019</b></p>	<p>(72) Винахідник(и): <b>Дубей Ольга (CH), Фармер Едвард (CH), Наврат Крістіана (CH), Гіндро Катя (CH), Шні Сільвен (CH), Дубей Сільвен (CH)</b></p> <p>(73) Володілець (володільці): <b>ЮНІВЕРСИТЕ ДЕ ЛОЗАН, Rue du Bugnon 21, 1011 Lausanne, Switzerland (CH)</b></p> <p>(74) Представник: <b>Шпаківич Тетяна Іванівна, реєстр. №240</b></p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: JP H11 246319 A1, 14.09.1999 K. GILLIVER: "The Inhibitory Action of Antibiotics on Plant Pathogenic Bacteria and Fungi", ANNALS OF BOTANY., vol. 10, no. 3, 1 July 1946 (1946-07-01), pages 271 – 282 T Sotelo ET AL: "In Vitro Activity of Glucosinolates and Their Degradation Products against Brassica-Pathogenic Bacteria and Fungi", Applied and Environmental Microbiology, 1 January 2015 (2015-01-01), pages 432 – 440 L DROBNICA ET AL: "Antifungal Activity of Isothiocyanates and Related Compounds I. Naturally Occurring Isothiocyanates and Their Analogues", APPLIED MICROBIOLOGY, vol. 15, no. 4, July 1967 (1967-07), pages 701 – 709 DE 17 93 450 A1, 08.07.1971</p>
--	--

## (54) ФУНГІЦИДИ ДЛЯ ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА КОНТРОЛЮ ГРИБКОВИХ ПАТОГЕНІВ

### (57) Реферат:

Даний винахід належить до галузі біологічних фунгіцидів з широким спектром антигрибкової активності, одержуваних з рослинних екстрактів порядку Капустоцвіті або молекул, що мають аналогічну хімічну структуру. Зокрема, автори несподівано запропонували нове застосування комбінації сульфоніл- та сульфінілвмісних аліфатичних глюкозинолатів, їх побічних продуктів та синтетичних аналогів як ефективних антигрибкових сполук з широким спектром дії.

UA 127265 C2



## ГАЛУЗЬ ТЕХНІКИ

Даний винахід стосується галузі біологічних фунгіцидів з широким спектром антигрибкової активності, одержуваних з рослинних екстрактів порядку Капустоцвіті, або молекул, що мають аналогічну хімічну структуру. Зокрема, автори несподівано запропонували нове застосування комбінації сульфоніл- та сульфініл-вмісних аліфатичних глюкозинолатів, їх побічних продуктів та синтетичних аналогів у якості ефективних антигрибкових сполук з широким спектром дії.

## РІВЕНЬ ТЕХНІКИ

Популяція людей збільшується щороку та до 2030 року досягне близько 8,6 мільярдів. Для підтримки високих рівнів виробництва їжі фермери змушені застосовувати зовнішню обробку, таку як: 1) хімічні пестициди, які мають високу ефективність, прийнятну вартість, але роблять негативний вплив на навколишнє середовище та здоров'я людей; 2) біологічні пестициди, які не мають шкідливого впливу на навколишнє середовище, але демонструють низьку ефективність (менше 60 % у порівнянні з існуючим хімічним пестицидом) та мають високу вартість. Це робить біологічні пестициди неприйнятними для багатьох країн та відкриває можливості для розробки та виходу на ринок нових органічних засобів для обробки, які мають високу ефективність та прийнятну вартість та нешкідливі для навколишнього середовища.

У останні десятиліття були розроблені деякі біологічні підходи для запобігання *B. cinerea* у польових умовах, наприклад, застосування *Bacillus subtilis* та *Trichoderma harzanium*, але вони мало застосовуються фермерами через їх низьку ефективність.

У сільському господарстві Західної Європи широко вживаними фунгіцидами для біопередження є мідь та сірка. Ці фунгіциди є дорогими для застосування через необхідність повторного застосування після кожного осадження. Крім того, високі концентрації металів у ґрунті негативно впливають на навколишнє середовище.

Отже, існує необхідність у забезпеченні альтернативного способу, більш прийняттого для навколишнього середовища, а також високоефективної профілактичної обробки проти грибкових патогенів.

Грибкові патогени рослин є одним із агрономічних впливів, які щорічно призводять до великих втрат їжі. Ефективність грибкових патогенів обумовлена їх легким розсіюванням у природі, швидким прикріпленням до поверхні хазяїна та швидким утворенням зародкової трубки, що сприяє проникненню у рослини. З іншого боку, рослини виробили декілька захисних механізмів проти грибкових патогенів, наприклад, некротрофів: а) запобігання проникнення патогену; б) підвищені рівні активних форм кисню; в) індукція захисних гормонів, таких як жасмонат, етилен, саліцилова та абсцизова кислоти. Крім того, деякі рослини синтезують фунгітоксичні сполуки, які запобігають розвитку грибів на поверхні рослин та зупиняють розвиток захворювання. Ідентифікація рослинних сполук з сильною антигрибковою активністю може призвести до розробки нових біологічних фунгіцидів, потенційно здатних замінити існуючі у даний час хімічні обробки.

Порядок Капустоцвіті (*Brassicales*) складається з економічно важливих рослин, які широко розповсюджені та використовуються як джерело їжі. Було показано, що ця група рослин містить унікальний набір вторинних метаболітів – глюкозинолатів. У останні десятиліття було показано, що глюкозинолати мають протиракові, протизапальні та інсектицидні властивості.

Наприклад, у JPH11139949 A (OGAWA KORYO CO LTD) описане одержання антибактеріального-антигрибкового агента без сильного подразнюючого запаху, з високим порогом, низькою леткістю та що має прекрасну антибактеріальну-антигрибкову активність, шляхом компаундування певної сполуки [омега]-алкєнілізотіоціанату або певної сполуки [омега]-алкілтіоалкілізотіоціанату. Сполука [омега]-алкєнілізотіоціанату, що має формулу:  $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2)_m\text{NCS}$  [(m)=2-10] (наприклад, 3-бутєнілізотіоціанат), або сполука [омега]-алкілтіоалкілізотіоціанату, що має формулу:  $\text{RS}(\text{CH}_2)_n\text{NCS}$  [(n)=1-10; R являє собою  $\text{C}_{1-4}$  алкіл] (наприклад, метилтіометилізотіоціанат), компаундували з їжею у кількості 0,01 – 100 м.ч., переважно 1 – 50 м.ч., або з агентом для гігієни порожнини рота у концентрації приблизно 0,01 – 100 м.ч.

Аналогічно, у JPH11246319 A (OGAWA KORYO CO LTD) описане одержання антимікробного та антигрибкового агента, який може значно ослабити подразнюючий запах та може застосовуватися з різними видами напоїв та їжі, завдяки застосуванню певного [омега]-алкілсульфінілалкілізотіоціанату у якості активного інгредієнту. Зазначений антибактеріальний та антигрибковий агент містить [омега]-алкілсульфінілалкілізотіоціанат, представлений формулою:  $\text{R-S(O)-(CH}_2)_n\text{-NCS}$  (n дорівнює 1-10; R являє собою 1-4C алкіл). У одному з варіантів реалізації цей ізотіоціанат являє собою 3-метилсульфінілпропілізотіоціанат, 6-метилсульфінілпропілізотіоціанат або подібні сполуки. Сполука формули I, де n складає  $\leq 7$ , входить у ароматичні компоненти хрїну, але вміст її низький. Сполуку зазначеної формули

отримують шляхом окислення пероксидом [омега]-метилтіоалкілізотіоціанату формули:  $\text{CH}_3\text{S}(\text{CH}_2)_n\text{NCS}$ .

У JP2000086414 A (KINJIRUSHI WASABI KK) описане одержання антимікробного агента, що містить ароматичний компонент хрину у якості активного інгредієнту, що особливо показує спектр антибактеріальної активності у широкому діапазоні від грибів до бактерій, та проявляє сильну бактеріостатичну та антибактеріальну дію навіть при надзвичайно малому вмісті ароматичного компоненту. Агент містить, у якості активного інгредієнту, ароматичний компонент хрину *n*-метилсульфоніалкілізотіоціанат та один або більше ароматичних компонентів хрину, вибраних з групи, що складається з *n*-метилтіоалкілізотіоціанату, *n*-метилсульфініалкілізотіоціанату та алілізотіоціанату. Агент містить, у якості активного інгредієнту, одночасно ароматичні компоненти хрину *n*-метилтіоалкілізотіоціанат та *n*-метилсульфініалкілізотіоціанат.

К. GILLIVER "The Inhibitory Action of Antibiotics on Plant Pathogenic Bacteria and Fungi", ("Інгібуюча дія антибіотиків на патогенні для рослин бактерії та гриби") ANNALS OF BOTANY., том 10, № 3, 1 липня 1946 (1946-07-01), стор. 271-282, XP55512767, GB ISSN: 0305-7364, DOI: 10.1093/oxfordjournals.aob.a083136; повідомляє про приклад антагонізму між мікроорганізмами ґрунту та патогенами рослин, які були вивчені за довгі роки; та у деяких випадках були розроблені біологічні методи контролю над захворюваннями. Певні антибіотичні речовини були виділені з культуральних фільтратів грибів, бактерій та актиноміцетів, та деякі з них показали антагоністичну дію відносно організмів, що викликають захворювання рослин. Зокрема, було відкрито антигрибкову дію хейроліну.

У роботі T Sotelo et al. "In vitro activity of glucosinolates and their degradation products against Brassica-Pathogenic bacteria and fungi" ("Активність *in vitro* глюкозинолатів та продуктів їх розпаду у відношенні патогенних для рослин роду Brassica бактерій та грибів"), Applied and Environmental Microbiology, 1 січня 2015 р. (2015-01-01), стор. 432-440, XP55512754, DOI: 10.1128/AEM.03142-14, ціль роботи полягала у оцінці біоцидної дії 17 глюкозинолатів (ГЗЛ) та продуктів гідролізу глюкозинолатів (ПГГ), та метанольних екстрактів листя різних збагачених ГЗЛ культур роду Капуста на пригнічення росту *in vitro* двох бактеріальних (*Xanthomonas campestris* pv. *Campestris* та *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola*) та двох грибових (*Alternaria brassicae* та *Sclerotinia sclerotiorum*) патогенів рослин роду Капуста. ГЗЛ, ПГГ та метанольні екстракти листя інгібували розвиток досліджених патогенів у порівнянні з контролем, та ефект був дозозалежним. Зокрема, у даному документі описана протигрибкова дія сулорафану.

У роботі L DROBNICA et al. "Antifungal activity of Isothiocyanates and related compounds" ("Антигрибкова дія ізотіоціанатів та споріднених сполук"), APPLIED MICROBIOLOGY, том 15, № 4, 1967, стор. 701-709, представлені результати дослідження антигрибкової дії похідних ізотіоціанатів біфенілу (група "А"), стильбену ("В"), азобензолу та бензолазонафталіну ("С"), нафталіну ("D") та інших поліконденсованих ароматичних вуглеводнів ("Е"). З усіх 48 досліджених сполук антигрибкова активність спостерігалась тільки серед сполук груп А та D. Похідні груп В, С та Е мали надзвичайно низьку розчинність у воді та дуже великі молекули; у результаті вони, можливо, не могли проникати у спори або міцелії грибів. Було висунуте припущення, що група NCS не виявила свою активність. Зокрема, у цьому документі описано антигрибкову дію глюкохейроліну, глюкоерізоліну та глюкобертероїну.

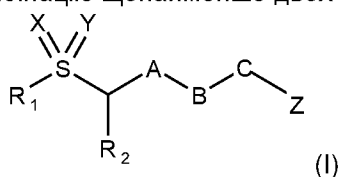
DE 17 93 450 A1 (PHILIPS NV) відноситься до фунгіцидних композицій, що містять певні тіоціанати, тобто сульфініл- або сульфонілметиленроданіди, та до способів одержання та захисту рослин від зараження пліснявою.

Однак зберігається потреба у забезпеченні молекул, які є нешкідливими для навколишнього середовища, але демонструють більш сильну фунгітоксичну дію та діє на більш широкий ряд грибових патогенів.

#### КОРОТКИЙ ОПИС ВИНАХОДУ

У даному винаході автори ідентифікували комбінацію сульфоніл- та сульфініл-вмісних аліфатичних глюкозинолатів, що демонструють сильну фунгітоксичну дію на широкий ряд грибових патогенів. Цю комбінацію продуктів можна застосовувати у якості нової лінії біологічних фунгіцидів.

Однією із задач даного винаходу є забезпечення застосування композиції, що містить комбінацію щонайменше двох сполук, вибраних зі сполук загальної формули I:



де:

Z являє собою нітрил (-CN), тiocіанат (-SCN) або ізотіоціанат (-N=C=S);

X, Y являють собою, незалежно один від іншого, неподілену пару або O, за умови, що щонайменше один з двох X або Y являє собою O;

5 R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> являють собою, незалежно один від іншого, H, насичений лінійний, циклічний або розгалужений (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкіл;

A, C являють собою, незалежно один від іншого, ковалентний зв'язок, насичений або ненасичений лінійний, циклічний, спіроциклічний, біциклічний, поліциклічний або розгалужений (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)алкіл, C<sub>6</sub>-арил;

10 B являє собою ковалентний зв'язок, насичений або ненасичений лінійний, циклічний, спіроциклічний, біциклічний, поліциклічний або розгалужений (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)алкіл, C<sub>6</sub>-арил;

за умови, що щонайменше один з A, B або C відрізняється від ковалентного зв'язку, та характеризується тим, що щонайменше дві сполуки у комбінації містять:

1) щонайменше одну групу Z, яка являє собою ізотіоціанат, та/або,

15 2) щонайменше два різні ступені окиснення атому сірки, та/або,

3) щонайменше різну довжину вуглецевого ланцюгу фрагменту -A-B-C-,

для попередження або лікування грибкових патогенів у рослин.

20 Іншою задачею даного винаходу є забезпечення композиції, що містить комбінацію сполуки відповідно до даного винаходу, для застосування у способі попередження або лікування мікозів у людини або тварин.

Іншою задачею даного винаходу є забезпечення фунгіцидної композиції, що містить комбінацію сполуки відповідно до даного винаходу.

Цей винахід також відноситься до їжі, напою або агенту для гігієни порожнини рота, що містить вищезазначений антигрибковий агент, а саме фунгіцидну композицію.

25 Інші задачі та переваги даного винаходу будуть зрозумілі фахівцям у даній галузі техніки при розгляді подальшого докладного опису, наведеного з посиланнями на такі ілюстративні креслення, та Формули винаходу, що додається.

#### КОРОТКИЙ ОПИС КРЕСЛЕНЬ

30 Фігура 1: представляє новий ідентифікований вторинний метаболіт на поверхні котиледонів fad2-3. (A) Характеризація 7-метилсульфонілгептилглюкозинолату. Спостерігали іон (M-H)<sup>-</sup> з m/z 494,0823, що відповідає молекулярній формулі C<sub>15</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>11</sub>S<sub>3</sub> (розрахункова маса 494,0824, похибка 0,1 мДа). Також був присутній іон основного фрагменту з m/z 96,9599, типовий для сульфатного фрагменту. Не повідомлялось про відомі сполуки з молекулярною формулою C<sub>15</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>11</sub>S<sub>3</sub>, але отримані дані дають вагомі підстави вважати, що цей метаболіт являє собою 7-метилсульфонілгептилглюкозинолат, новий глюкозинолат, що являє собою 15-вуглецевий 35 аналог 8-метилсульфонілоктилглюкозинолату (C<sub>16</sub>H<sub>31</sub>NO<sub>11</sub>S<sub>3</sub>). (B) Ідентифікація нового глюкозинолату, що вибірково присутній на поверхні котиледонів та першого справжнього листка ДТ та fad2-3. Відносно велика кількість 7-метилсульфонілгептилглюкозинолату спостерігалася у ізопропанольних змивах з поверхні 7-денних котиледонів та 14-денного листя. Величини похибок представляють середні значення по чотирьом біологічним повторам (± CO), кожен з пулу у≈980 сходів. Статистичну значимість у попарному порівнянні оцінювали за критерієм Стьюдента, де \*\* p≥0,01; \*\*\* p≤0,001. (C). Хімічна структура 7-метилсульфонілгептилглюкозинолату. (D) Структура 7-метилсульфонілгептилізотіоціанату.

#### ДОКЛАДНИЙ ОПИС ВИНАХОДУ

45 Хоча способи та матеріали, аналогічні або еквівалентні описаним у цьому документі, можна застосовувати при практичній реалізації або тестуванні даного винаходу, відповідні способи та матеріали описані нижче. Усі публікації, заявки на патенти, патенти та інші наведені посилання включені у всій повноті за допомогою посилань. Обговорювані публікації та заявки представлені виключно для їх розкриття раніше дати подання цієї заявки. Ніщо не повинно розглядатися як припущення, що даний винахід не надає право на протиставлення

50 Джерела інформації: з більш раннім пріоритетом такої публікації у відповідності з попереднім винаходом. Крім того, матеріали, способи та приклади є тільки ілюстративними та не призначені служити обмеженням.

У разі конфлікту перевагу матиме даний опис, включаючи визначення.

55 Якщо не вказано інше, всі застосовувані технічні та наукові терміни мають ті ж значення, які зазвичай розуміє фахівець у тій області техніки, до якої належить даний винахід. У цьому описі такі визначення наведені з метою полегшення розуміння винаходу.

Термін "містить" у цілому застосовують у сенсі включення, тобто у ньому допускається присутність однієї або більше ознак або компонентів.

60 У описі та Формулі винаходу форми однини включають вказівку на множину, якщо контекст

явно не вказує інше.

Присутність у деяких випадках розширюючих слів та виразів, таких як "один або більше", "щонайменше", "але не обмежуючись" та подібних виразів не повинно означати, що більш вузький випадок передбачається або потрібен у тих випадках, коли подібні розширюючі вирази

5

можуть бути відсутніми.  
Терміни "суб'єкт" або "пацієнт" добре відомі у даній галузі техніки та використовуються як взаємозамінні для позначення ссавця, включаючи собаку, кішку, щура, мишу, мавпу, корову, коня, козу, вівцю, свиню, верблюда та найбільш переважно людину. У деяких варіантах реалізації суб'єкт являє собою суб'єкта, що потребує лікування, або суб'єкта із захворюванням або розладом. Однак у інших варіантах реалізації суб'єкт може являти собою нормального суб'єкта. Термін не означає конкретний вік або стать. Тобто зазначений термін охоплює

10

дорослих та новонароджених суб'єктів, чоловічої або жіночої статі.  
Термін "ефективна кількість" відноситься до кількості, необхідної для досягнення фізіологічної дії. Фізіологічна дія може досягатися шляхом застосування однієї дози або шляхом повторного застосування доз. Введені дози можуть, звичайно, варіюватися в залежності від відомих факторів, таких як фізіологічні характеристики конкретної композиції; вік, стан здоров'я та маса суб'єкта; природа та ступінь вираженості симптомів; вид супутнього лікування; частота лікування; та бажана дія, та можуть бути встановлені фахівцем у даній галузі техніки.

15

"Гриб" являє собою еукаріот, який переварює їжу зовні та всмоктує поживні речовини прямо через стінки клітин. Більшість грибів розмножуються спорами та мають тіло (талом), що складається з мікроскопічних трубчастих клітин, які називаються гіфами. Гриби є гетеротрофними та, подібно тваринам, отримують вуглець та енергію з інших організмів. Деякі гриби отримують поживні речовини з живого хазяїна (рослини чи тварини) та називаються біотрофами; інші отримують поживні речовини з мертвих рослин або тварин та називаються сапротрофами (сапрофіти, сапроби). Деякі гриби заражають живого хазяїна, але вбивають клітини хазяїна для отримання поживних речовин; вони називаються некротрофами.

20

25

"Патогенні гриби", що також називаються "грибковими патогенами", являють собою гриби, що викликають хвороби рослин, людей та інших організмів. Приблизно 300 видів грибів відомі як патогени людини. Вивчення грибкових патогенів людини називають "медичною мікологією". Хоча гриби являються собою еукаріоти, багато з патогенних грибів є мікроорганізмами. Дослідження грибів та інших мікроорганізмів, патогенних для рослин, називають патологією рослин.

30

Існують тисячі видів патогенних для рослин грибів, які у сумі відповідальні за 70 % відомих хвороб рослин. Патогенні для рослин гриби є паразитами, але не всі паразитуєчі на рослинах гриби є патогенними. Паразитуєчі на рослинах гриби отримують поживні речовини з живої рослини-хазяїна, але рослина-хазяїн не обов'язково розвиває будь-які симптоми. Патогенні для рослин гриби є паразитами та викликають захворювання, що характеризується симптомами.

35

"Фунгіциди" являються собою біоцидні хімічні сполуки або біологічні організми, що застосовуються для знищення паразитичних грибів або їх спор (позначаються у цьому описі як фунгітоксичні). Фунгістатичні сполуки інгібують ріст грибів. Гриби можуть викликати серйозні пошкодження сільськогосподарських культур, що призводить до критичних втрат у врожаї, якості та вигоді. Фунгіциди застосовують як у сільському господарстві, так і у медицині для боротьби з грибковими інфекціями тварин або людини. Хімічні речовини, що застосовуються для контролю над ооміцетами, які не є грибами, також відомі як фунгіциди, оскільки ооміцети використовують для зараження рослин ті ж механізми, що і гриби. Фунгіциди можуть бути контактними, трансламінарними або системними. Контактні фунгіциди не всмоктуються у тканини рослини та захищають рослину тільки у місці нанесення спрею. Трансламінарні фунгіциди перерозподіляються з верхньої обприсканої поверхні листа на нижню, необприскану. Системні фунгіциди всмоктуються та розподіляються по судинах ксилеми. Деякі фунгіциди поширюються по всіх частинах рослини. Деякі є місцево-системними, а деякі рухаються знизу

40

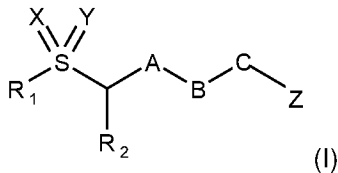
45

50

вгору.  
"Фунгістатики" являють собою антигрибкові агенти, які інгібують ріст гриба (не вбиваючи гриб). Термін фунгістатик може використовуватися і як іменник, і як прикметник. Фунгістатики знаходять застосування у сільському господарстві, харчовій промисловості, лакофарбовій промисловості та медицині.

55

Застосування композиції, що містить комбінацію щонайменше двох сполук, вибраних зі сполук загальної формули I:



де:

Z являє собою нітрил (-CN), тіоціанат (-SCN) або ізотіоціанат (-N=C=S);

X, Y являють собою, незалежно один від іншого, неподілену пару або O, за умови, що щонайменше один з двох X або Y являє собою O;

R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> являють собою, незалежно один від іншого, H, насичений лінійний, циклічний або розгалужений (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкіл;

A, C являють собою, незалежно один від іншого, ковалентний зв'язок, насичений або ненасичений лінійний, циклічний, спіроциклічний, біциклічний, поліциклічний або розгалужений (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)алкіл, C<sub>6</sub>-арил;

B являє собою ковалентний зв'язок, насичений або ненасичений лінійний, циклічний, спіроциклічний, біциклічний, поліциклічний або розгалужений (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)алкіл, C<sub>6</sub>-арил;

за умови, що щонайменше один з A, B або C відрізняється від ковалентного зв'язку, та характеризується тим, що щонайменше дві сполуки у комбінації містять:

- 1) щонайменше одну групу Z, яка являє собою ізотіоціанат, та/або,
- 2) щонайменше два різні ступені окиснення атому сірки, та/або,
- 3) щонайменше різну довжину вуглецевого ланцюгу фрагменту -A-B-C-, для попередження або лікування грибкових патогенів у рослин.

Переважно, ароматичні кільця можуть бути заміщеними у положеннях орто, мета та пара; циклоалкільні кільця можуть бути заміщеними у різних положеннях, та у цис- або транс-орієнтації по відношенню до кільця;

та аліфатичні та ароматичні кільця можуть бути заміщеними групами H, галоген або OMe.

Звичайні стани окислення або "ступені окислення" сірки варіюються від -2 до +6. Якщо сірка не окислена та не відновлена, вона має 6 валентних електронів. Безсумнівно, у сульфатах, SO<sub>2</sub><sup>-4</sup>, та сульфітах, SO<sub>2</sub><sup>-3</sup>, атом сірки має формальні стани окислення VI+ та IV+; у сульфідах -II.

Вважають, що у комбінації або суміші щонайменше двох сполук важлива довжина вуглецевого ланцюгу фрагменту -A-B-C-. Комбінація може включати один короткий та один довгий ланцюг, наприклад, один, який містить максимум 6 лінійних атомів вуглецю, та інший, який містить мінімум 7 лінійних атомів вуглецю. Однак у деяких випадках комбінація може містити щонайменше дві сполуки з вуглецевими ланцюгами фрагменту -A-B-C- однакової довжини.

Композиція у відповідності з даним винаходом, щоб бути ефективною для попередження або лікування грибкових патогенів рослин, повинна задовольняти щонайменше одному із зазначених вище критеріїв відповідно до пунктів 1) – 3). Комбінації або суміші щонайменше двох сполук, вибраних зі сполук загальної формули I, що задовольняють критеріям 1) – 3), показали неочікувану синергетичну дію у порівнянні з окремими компонентами, випробуваними окремо.

Звичайно вважають, що "синергія" спостерігається, коли комбінована дія двох або більше агентів більше, ніж сума їх індивідуальних дій. Іншими словами, говорять, що синергія спостерігається, коли комбінована дія двох або більше агентів більше, ніж можна було б припустити, виходячи з характеристик агентів при застосуванні окремо.

Зокрема, композиція у відповідності з даним винаходом являє собою суміш щонайменше однієї сполуки, у якій Z являє собою нітрил, та однієї сполуки, у якій Z являє собою ізотіоціанат.

Альтернативно, суміш відповідає щонайменше одній сполуці, у якій Z являє собою ізотіоціанат, та одній сполуці, у якій Z являє собою ізотіоціанат.

Альтернативно, суміш відповідає щонайменше одній сполуці, у якій Z являє собою ізотіоціанат, та одній сполуці, у якій Z являє собою тіоціанат.

Альтернативно, суміш відповідає щонайменше одній сполуці, у якій Z являє собою тіоціанат, та одній сполуці, у якій Z являє собою ізотіоціанат.

Альтернативно, суміш відповідає щонайменше одній сполуці, у якій X являє собою неподілену пару та Y являє собою кисень, та щонайменше одній сполуці, у якій X та Y являють собою кисень.

Альтернативно, суміш відповідає тому, що X та Y являють собою кисень.

Альтернативно, суміш відповідає щонайменше одній сполуці, у якій X являє собою неподілену пару та Y являє собою кисень.

Альтернативно, суміш у відповідності з даним винаходом містить щонайменше дві сполуки,

вибрані з однією і тією ж формулою A/B/C, де B являє собою ковалентний зв'язок та A та C являють собою незалежно один від іншого насичений або ненасичений лінійний, циклічний, спіроциклічний, біциклічний, поліциклічний або розгалужений (C1-C8)алкіл.

5 Переважно, суміш у відповідності з даним винаходом містить щонайменше дві сполуки, вибрані з різними формулами A/B/C, де B являє собою ковалентний зв'язок та A та C являють собою незалежно один від іншого насичений або ненасичений лінійний, циклічний, спіроциклічний, біциклічний, поліциклічний або розгалужений (C1-C8)алкіл.

10 Термін "неподілена пара" відноситься до пари валентних електронів, що не поділені з іншим атомом, іноді її називають незв'язаною парою. Неподілені пари знаходяться у самій зовнішній електронній оболонці атомів. Їх можна ідентифікувати з використанням структури Льюїса. Отже, електронні пари вважаються неподіленими парами, коли два електрони спарені та не використовуються в утворенні хімічних зв'язків. Таким чином, число електронів у неподілених парах плюс число електронів, що утворюють зв'язки, дорівнює загальній кількості валентних електронів навколо атому. Одну неподілену пару можна знайти у атомах групи азоту, таких як азот у аміаку, дві неподілені пари можна знайти у атомах групи халькогенів, таких як кисень у воді, а галогени можуть нести три неподілені пари, як у хлориді водню.

15 "Ковалентний зв'язок", що також називається молекулярним зв'язком, являє собою хімічний зв'язок, що включає поділ електронних пар між атомами. Такі електронні пари відомі як розділені пари або зв'язуючі пари, та стабільна рівновага сил тяжіння та відштовхування між атомами, які поділяють електрони, відоме як ковалентне зв'язування.

20 "Ізотіоціанат" являє собою хімічну групу  $-N=C=S$ , утворену заміною кисню у ізоціанатній групі на сірку. Багато з природних ізотіоціанатів з рослин утворюються шляхом ферментативного перетворення метаболітів, що називаються глюкозинолатами. Ці природні ізотіоціанати, такі як алілізотіоціанат, також відомі як гірчичні масла.  
25 [https://en.wikipedia.org/wiki/Mustard\\_oil](https://en.wikipedia.org/wiki/Mustard_oil) Синтетичний ізотіоціанат, фенілізотіоціанат, застосовують для секвенування амінокислот у розщепленні за Едманом.

Термін "алкіл" відноситься до насичених та ненасичених аліфатичних груп, включаючи лінійні алкільні групи та розгалужені алкільні групи, необов'язково, заміщені одним або більше галогенами. У деяких варіантах реалізації лінійний або розгалужений алкіл містить близько 30 або менше атомів вуглецю у основному ланцюгу (наприклад, C<sub>1</sub>-C<sub>30</sub> для лінійного, C<sub>3</sub>-C<sub>30</sub> для розгалуженого), та альтернативно, близько 20 або менше, наприклад, від 1 до 6 атомів вуглецю (визначають як нижчий алкіл). Переважно, алкіли у відповідності з даним винаходом містять від одного до тридцяти, більш переважно, від одного до двадцяти, ще більш переважно, від одного до дванадцяти, більш переважно, від одного до восьми, більш переважно, від одного до шести, та найбільш переважно, від одного до чотирьох атомів вуглецю, та є лінійними або розгалуженими. Термін "C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкіл" представляє лінійний або розгалужений алкільний ланцюг, що містить від одного до шести атомів вуглецю. Приклади C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкільних груп включають метил, етил, н-пропіл, ізопропіл, бутил, ізобутил, втор-бутил, трет-бутил, пентил, неопентил, гексил, ізогексил та подібні групи. Переважно алкіл являє собою нижчий алкіл, такий як н-бутил, втор-бутил, ізобутил, трет-бутил, н-пропіл або ізопропіл, етил або метил.

40 Термін "нижчий" у нижчому алкілі, нижчому алкоксилі, нижчому алкенілі та нижчому алкінілі відноситься до ланцюгу, що містить до 6 атомів вуглецю, з'єднаних лінійним або розгалуженим чином.

Термін "циклоалкіл" представляє насичене або частково насичене моно- або полікарбоциклічне кільце, яке переважно містить 5 – 14 атомів вуглецю у кільці. Приклади циклоалкілів включають моноциклічні кільця, які містять 3 – 7, переважно 3 – 6, атомів вуглецю, такі як циклопропіл, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептил та подібні сполуки. Прикладом циклоалкілу є C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub> циклоалкіл, який являє собою насичену вуглеводневу кільцеву структуру, що містить від п'яти до семи атомів вуглецю.

50 Термін "алкоксил" представляє -O-алкіл. Прикладом алкоксилу є C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкоксил, який являє собою лінійний або розгалужений алкільний ланцюг, що містить від одного до шести атомів вуглецю, приєднаний до атому кисню. Приклади C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкоксигруп включають метоксил, етоксил, пропоксил, ізопропоксил, бутоксил, втор-бутоксил, трет-бутоксил, пентоксил, гексоксил та подібні групи. C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкоксил включає у своє визначення C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкоксил.

55 Термін "арил" відноситься до карбоциклічного або гетероциклічного ароматичного 5 – 14-членного моноциклічного або поліциклічного кільця. Приклади арилів включають феніл, нафтил, антрил, фенантрин, тієніл, піроліл, імідазоліл, піразоліл, фурил, ізотіазоліл, фуразаніл, ізоксазоліл, тіазоліл, піридил, піразиніл, піримідиніл, піридазиніл, триазиніл, бензо[b]тієніл, нафто[2,3-b]тіантриніл, ізобензофураніл, хроменіл, ксантеніл, феноксантеніл, індолізініл, ізоіндоліл, індоліл, індазоліл, пуриніл, ізохіноліл, хіноліл, фталазиніл, нафтиридиніл,

хіноксиалініл, хінзолініл, бензотіазоліл, бензімідазоліл, тетрагідрохінолініл, циннолініл, птеридиніл, карбазоліл, бета-карболініл, фенантридиніл, акридиніл, перимідиніл, фенантролініл, феназиніл, ізотіазоліл, фенотіазиніл та феноксазиніл.

5 Термін "галоген" представляє хлор, фтор, бром або йод. Термін "гало" представляє хлоро, фторо, бромо або йодо.

Термін "карбоцикл" представляє ароматичне або насичене, або частково насичене 5 – 14-членне моноциклічне або поліциклічне кільце, таке як 5 – 7-членне моноциклічне або 7 – 10-членне біциклічне кільце, причому усі атоми у кільці являють собою атоми вуглецю.

10 Термін "поліциклічний" відноситься до поліциклічної кільцевої системи, у якій щонайменше два кільця з'єднані між собою. "Поліциклічний" відноситься до будь-якої кільцевої системи, яка може мати будь-який ступінь насиченості, бути ароматичною або аліфатичною, та, необов'язково, містити гетероатом. Системи можна далі класифікувати за числом кілець (наприклад, 2 = біциклічна, 3 = трициклічна, 4 = тетрациклічна і т.д.) та за способом з'єднання кілець між собою.

15 (1) Заміщені кільцеві системи: Ці кільцеві системи не мають загальних атомів. У цих поліциклічних системах менше кільце може вважатися замісником при більшому кільці. Тільки у якості прикладу, біфеніл являє собою заміщену поліциклічну кільцеву систему.

20 (2) Спіроциклічні системи: Спіроциклічні системи розділяють єдиний загальний атом. Тому кільця з'єднані у одній "точці". З'єднуючий атом також називають спіроатомом, частіше всього четвертинний вуглець ("спіровуглець"). Наприклад, спіросполука, що складається з циклогексанового кільця та циклопентанового кільця, називають спіро[4.5]декан.

25 (3) Конденсовані кільцеві системи: Конденсовані кільцеві системи поділяють два загальні атоми на одному загальному зв'язку, тобто кільця поділяють одну сторону. Приклади конденсованих поліциклічних систем включають, без обмеження, нафталін, бензофуран, індол, бензотіофен, хінолін та антрацен.

(4) Місткові кільцеві системи: Місткові кільцеві системи поділяють більше двох загальних атомів, тобто місткові кільцеві системи містять кільця, які взаємоперекриваються. Наприклад, адамантан, амантадин, біпериден, мемантин, метенамін, римантадин та норборнан являють собою місткові кільцеві системи.

30 Термін "сульфоніл" представляє  $-SO_2-L_5$ , де  $L_5$  переважно являє собою алкіл, арил, циклоалкіл, гетероцикл або аміногрупу. Алкіл, арил, циклоалкіл та гетероцикл можуть, необов'язково, бути заміщеними. Прикладом сульфону є  $C_1-C_4$  алкілсульфоніл, який являє собою лінійний або розгалужений алкільний ланцюг, що містить від одного до чотирьох атомів вуглецю, приєднаний до сульфонільного фрагменту. Приклади  $C_1-C_4$  алкілсульфонільних груп включають метилсульфоніл, етилсульфоніл, пропілсульфоніл, ізопропілсульфоніл, бутилсульфоніл, втор-бутилсульфоніл, трет-бутилсульфоніл та подібні групи.

40 Як зазначено вище, багато груп є необов'язково заміщеними. Приклади замісників для алкілу та арилу включають меркапто, простий тіоефір, нітро ( $NO_2$ ), аміно, арилоксил, галоген, гідроксил, алкоксил та ацил, а також арил, циклоалкіл та насичені та частково ненасичені гетероцикли. Приклади замісників для гетероциклу та циклоалкілу включають перераховані вище для алкілу та арилу, а також арил та алкіл.

45 Приклади заміщених арилів включають фенільне або нафтильне кільце, заміщене одним або більшою кількістю замісників, переважно від одного до трьох замісників, незалежно вибраних з галогену, гідрокси, морфоліно( $C_1-C_4$ )алкоксикарбонілу, піридил( $C_1-C_4$ )алкоксикарбонілу, галоген( $C_1-C_4$ )алкілу,  $C_1-C_4$  алкілу,  $C_1-C_4$  алкоксилу, карбокси,  $C_1-C_4$  алкоксикарбонілу, карбамоїлу,  $N-(C_1-C_4)$ алкілкарбамоїлу, аміно,  $C_1-C_4$  алкіламіно, ди( $C_1-C_4$ )алкіламіно або групи формули  $-(CH_2)_a-R_{<7>}$ , де  $a$  дорівнює 1, 2, 3 або 4, та  $R_{<7>}$  являє собою гідрокси,  $C_1-C_4$  алкокси, карбокси,  $C_1-C_4$  алкоксикарбоніл, аміно, карбамоїл,  $C_1-C_4$  алкіламіно або ди( $C_1-C_4$ )алкіламіно.

50 Інший заміщений алкіл являє собою галоген( $C_1-C_4$ )алкіл, який являє собою лінійний або розгалужений алкільний ланцюг, що містить від одного до чотирьох атомів вуглецю, до якого приєднані 1 – 3 галогени. Приклади галоген( $C_1-C_4$ )алкільних груп включають хлорметил, 2-бромметил, 1-хлорізопропіл, 3-фторпропіл, 2,3-дибромбутил, 3-хлорізобутил, йод-трет-бутил, трифторметил та подібні групи.

55 Інший заміщений алкіл являє собою гідрокси( $C_1-C_4$ )алкіл, який являє собою лінійний або розгалужений алкільний ланцюг, що містить від одного до чотирьох атомів вуглецю, до якого приєднана гідроксигрупа. Приклади гідрокси( $C_1-C_4$ )алкільних груп включають гідроксиметил, 2-гідроксиетил, 3-гідроксипропіл, 2-гідроксиізопропіл, 4-гідроксибутил та подібні групи.

60 Інший заміщений алкіл являє собою  $C_1-C_4$  алкілтіо( $C_1-C_4$ )алкіл, який являє собою лінійну або розгалужену  $C_1-C_4$  алкільну групу, до якої приєднана  $C_1-C_4$  алкілтіогрупа. Приклади  $C_1-C_4$

алкілтіо(C1-C4)алкільних груп включають метилтіометил, етилтіометил, пропілтіопропіл, втор-бутилтіометил та подібні групи.

Циклоалкіл може, необов'язково, бути заміщеним 1, 2 або 3 замісниками, незалежно  
5  
вибраними з галогену, галоген(C1-C4)алкілу, C1-C4 алкілу, C1-C4 алкокси, карбокси, C1-C4  
алкоксикарбонілу, карбамоїлу, N-(C1-C4)алкілкарбамоїлу, аміно, C1-C4 алкіламіно, ди(C1-  
C4)алкіламіно або групи, що має структуру  $-(CH_2)_a-R<7>$ , де а дорівнює 1, 2, 3 або 4, та  $R<7>$   
являє собою гідрокси, C1-C4 алкокси, карбокси, C1-C4 алкоксикарбоніл, аміно, карбамоїл, C1-  
C4 алкіламіно або ди(C1-C4)алкіламіно. Приклади заміщених циклоалкільних груп включають 3-  
метилциклопентил, 4-етоксициклогексил, 5-карбоксичилогептил, 6-хлорциклогексил або  
10 подібні групи.

Подвійні зв'язки у принципі можуть мати E- або Z-конфігурацію. Отже, сполуки у  
відповідності з даним винаходом можуть існувати у вигляді ізомерних сумішей або окремих  
ізомерів. Якщо не зазначено, мають на увазі обидві ізомерні форми. Якщо сполука у  
відповідності з даним винаходом містить один хіральний центр, сполука може бути  
15 представлена у вигляді окремого ізомеру (R або S) або у вигляді суміші ізомерів, наприклад,  
рацемічної суміші. Якщо сполука у відповідності з даним винаходом містить більше одного  
хірального центру, сполука може бути представлена у вигляді енантімерно чистого  
діастереомеру або у вигляді суміші діастереомерів.

У конкретному варіанті реалізації даного винаходу запропоноване застосування композиції,  
20 що містить комбінацію щонайменше двох ізотіоціанатних сполук, переважно зазначені  
щонайменше дві ізотіоціанатні сполуки мають щонайменше два різні ступені окислення атому  
сірки та/або щонайменше різну довжину вуглецевого ланцюгу фрагменту -A-B-C-, що переважно  
знаходиться у інтервалі від C<sub>3</sub> до C<sub>9</sub>.

Переважно, у відповідності з даним винаходом запропоноване застосування композиції, що  
25 містить комбінацію щонайменше двох сполук, вибраних зі сполук загальної формули I (як  
визначено вище):

де:

Z являє собою ізотіоціанат (-N=C=S);

X, Y являють собою, незалежно один від іншого, O;

30 R1, R2 являють собою, незалежно один від іншого, H, насичений лінійний або циклічний (C<sub>1</sub>-  
C<sub>6</sub>)алкіл;

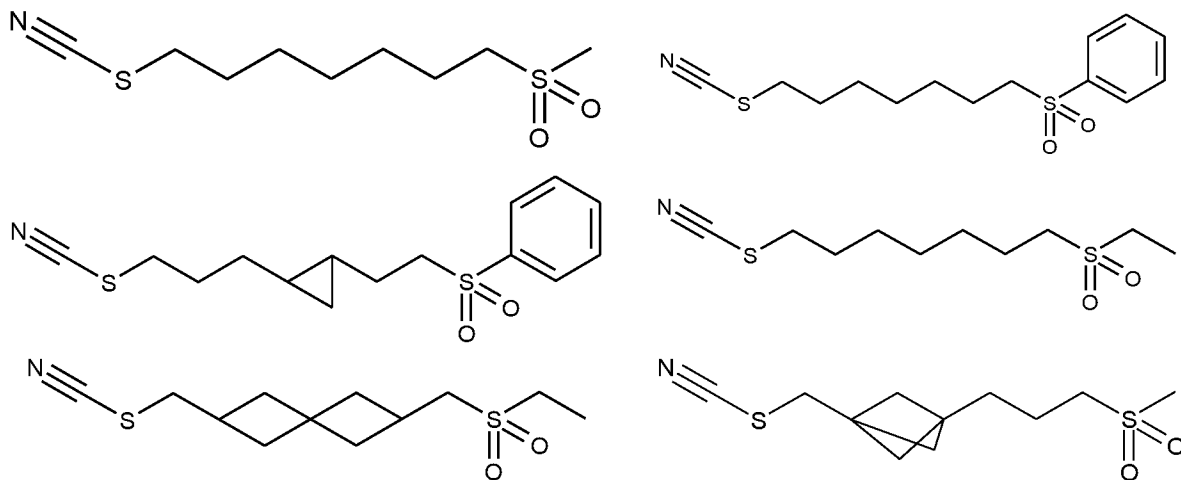
A, C являють собою, незалежно один від іншого, ковалентний зв'язок, насичений або  
ненасичений лінійний або циклічний (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкіл, за умови, що щонайменше один з A або C  
відрізняється від ковалентного зв'язку;

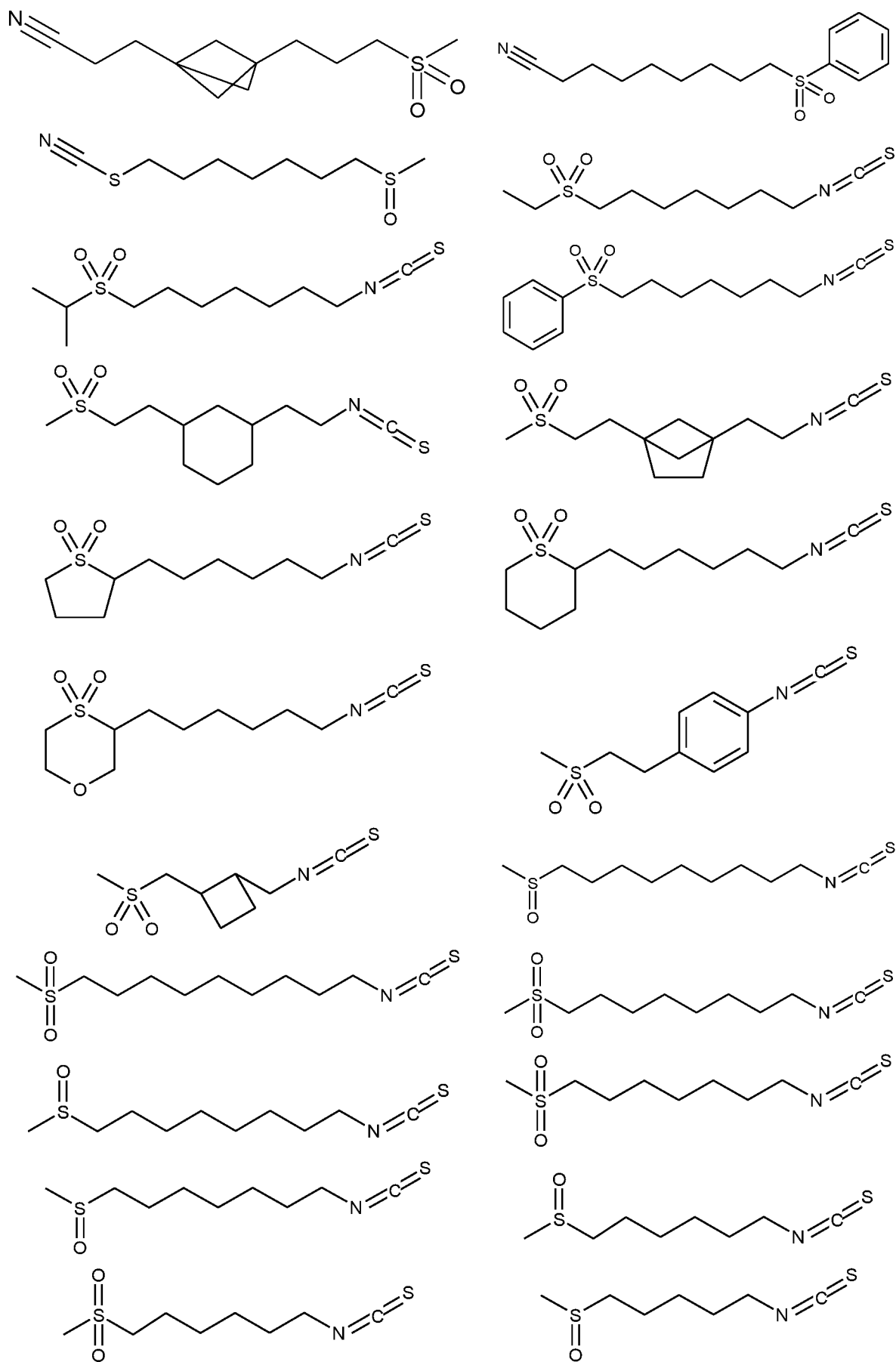
35 B являє собою ковалентний зв'язок;

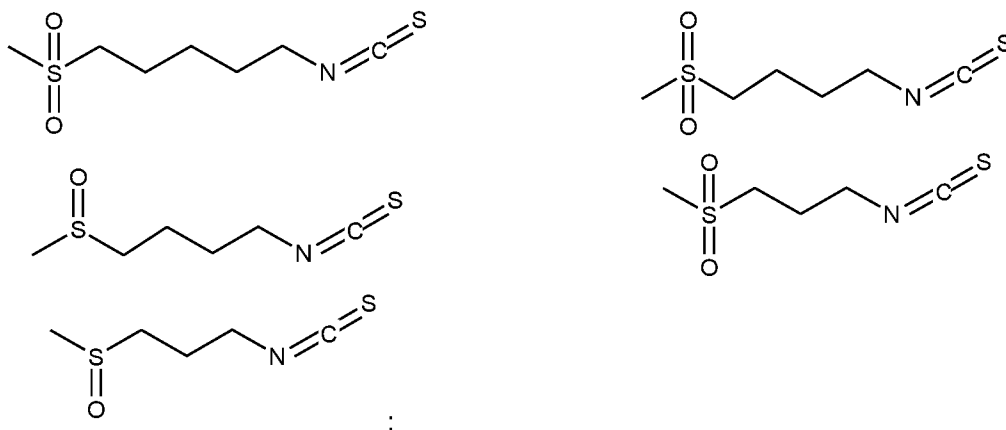
та де довжина вуглецевого ланцюгу фрагменту -A-B-C- становить від C<sub>3</sub> до C<sub>9</sub>;

для попередження або лікування грибкових патогенів рослин.

Більш переважно, у відповідності з даним винаходом запропоноване застосування  
40 композиції, що містить комбінацію щонайменше двох сполук, вибраних з переліку, що включає:







де щонайменше дві сполуки у комбінації містять:

- 1) щонайменше одну групу Z, яка являє собою ізотіоціанат, та/або
  - 2) щонайменше два різні ступені окислення атому сірки, та/або
  - 3) щонайменше різну довжину вуглецевого ланцюгу фрагменту -A-B-C-,
- та де довжина вуглецевого ланцюгу фрагменту -A-B-C- становить від C<sub>3</sub> до C<sub>9</sub>;

для попередження або лікування грибкових патогенів рослин.

Переважно, щонайменше дві сполуки у комбінації для попередження або лікування грибкових патогенів рослин вибрані з групи, що складається з таких як: 8MSOH/8MSO<sub>2</sub>H; 8ASOH/8ASO<sub>2</sub>H; 8ESOH/8ESO<sub>2</sub>H; 8CSOH/3MSO<sub>2</sub>H; 8CSOH/7MSOH; 8CSOH/3MSOH; 8MSO<sub>2</sub>H/6MSOH; 8MSOH/3MSO<sub>2</sub>H; 8MSOH/7MSOH; 8MSOH/6MSOH; 8CSOH/8MSOH; 8CSOH/3MSO<sub>2</sub>H; 8MSOH/9MSO<sub>2</sub>H; 8CSOH/7MSOH; 8ESOH/7MSOH; 8ESOH/3MSOH; 8MSO<sub>2</sub>H/7MSOH; 8MSO<sub>2</sub>H/9MSOH; 8MSO<sub>2</sub>H/6MSOH; 8CSOH/7MSOH; 8MSO<sub>2</sub>H/3MSOH; 8MSO<sub>2</sub>H/8MSO<sub>2</sub>H або 8MSO<sub>2</sub>H/3MSO<sub>2</sub>H.

Ще більш переважно, щонайменше дві сполуки у комбінації для попередження або лікування грибкових патогенів рослин являють собою суміш 7-метилсульфонілгептилізотіоціанату та (E)-1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-окт-2-ену або суміш 8-метилсульфонілоктилізотіоціанату та 8-метилсульфінілоктилізотіоціанату.

Ідентифіковані сполуки у відповідності з даним винаходом забезпечують декілька переваг, вони проявляють фунгітоксичну та/або фунгістатичну дію по відношенню до грибкових патогенів навколишнього середовища, рослин, сховищ та медичних грибкових патогенів.

При цьому ідентифіковані сполуки у відповідності з даним винаходом не проявляють фітотоксичності, є стабільними відносно впливу світла та легко можуть бути нанесені на рослини.

Композиція, що застосовується у відповідності з даним винаходом, показала продовження терміну зберігання мінімум на один тиждень для фруктів, овочів та зрізаних квітів, інфікованих грибковими патогенами у складських приміщеннях. Застосовувані сполуки (тобто суміш) показали відсутність токсичності для комах та людини. Композиція у відповідності з даним винаходом легко застосовна з особливим впливом на дозрівання швидкозривних харчових продуктів та не вимагає додаткових витрат на устаткування. Композиція у відповідності з даним винаходом може зацікавити компанії, що займаються зберіганням (тобто зниження витрат на упаковку), лісовою промисловістю, садівників та фермерів.

Таким чином, композиція у відповідності з даним винаходом застосовна у якості фунгітоксичного та/або фунгістатичного агенту для рослин. Композиція у відповідності з даним винаходом, застосовна у якості фунгіциду, показала високу ефективність при обробці різних рослин або сімейств рослин (хазяїв). Насправді, композицію у відповідності з даним винаходом можна застосовувати для обробки понад 1400 видів агрономічно важливих культур або рослин, включаючи порядки Пасльоноцвіті, Трояндові, Виноградоцвіті, Злакоцвіті і т.д.

Композицію у відповідності з даним винаходом можна застосовувати на будь-якій частині рослини протягом будь-якої частини її життєвого циклу, включаючи, але не обмежуючись, насіння, проростки, клітини рослин, рослини або квіти.

У відповідності з даним винаходом можна обробляти всі рослини та частини рослин. Під "рослиною" розуміють усі рослини та популяції рослин, такі як бажані та небажані дикі рослини, культивари та сорти рослин (захищені або незахищені правами на сорт рослин або правами рослинотів). Культивари та сорти рослин можуть являти собою рослини, отримані традиційними способами розмноження та виведення, які можуть доповнюватися або

супроводжуватися одним або більше біотехнологічними способами, таким як застосування подвійних гаплоїдів, злиття протопластів, випадковий та спрямований мутагенез, молекулярні або генетичні маркери, або способами біоінженерії та генної інженерії. Під частинами розуміють усі надземні та підземні частини та органи рослин, такі як пагінець, листок, квітка та корінь, у якості прикладів можна привести листя, голки, стебла, гілки, квіти, плодові тіла, плоди та насіння, а також корені, бульбоцибулини та кореневища. Культури та вегетативний та генеративний матеріал для розмноження, наприклад, живці, бульбоцибулини, кореневища, вуса та насіння, також відносяться до частин рослин.

Серед рослин, які можна захищати за допомогою композиції у відповідності з даним винаходом, можна відзначити головні польові культури, такі як кукурудза, соя, бавовник, олійні культури роду Капуста, такі як рапс (наприклад, канола), ріпа, гірчиця та капуста абіссинська, рис, пшениця, цукрові буряки, цукрова тростина, овес, жито, ячмінь, просо, тритікале, льон, виноград та різні фрукти та овочі різних ботанічних таксонів, таких як різні види Розових (наприклад, зерняткові фрукти, такі як яблука та груші, а також кісточкові фрукти, такі як абрикоси, вишні, мигдаль та персики, такі як полуниця), Смородинових, Горіхових, Березових, Сумахових, Букових, Тутових, Маслинових, Актинідеєвих, Лаврових, Бананових (наприклад, бананові дерева та посадки), Маренових (наприклад, кава), Чайних, Стеркулієвих, Рутових (наприклад, лимони, апельсини та грейпфрут), Пасльонових (наприклад, томати, картопля, перець, баклажан), Лілійних, Складноцвітих (наприклад, салат-латук, артишок та цикорій - включаючи кореневий цикорій, ендивій або звичайний цикорій), Зонтичних (наприклад, морква, петрушка, стеблова селера та коренева селера), Гарбузових (наприклад, огірок - включаючи корнішон, кабачок, кавун, гарбузи та дині), Цибулевих (наприклад, цибуля ріпчаста та цибуля-порей), Хрестоцвітих (наприклад, білокачанна капуста, червонокачанна капуста, броколі, цвітна капуста, брюссельська капуста, пак-чой, кольрабі, редис, хрін, крес-салат, китайська капуста), Бобових (наприклад, арахіс, горох та боби - такі як кучерява квасоля та кормові боби), Маревих (наприклад, мангольд, листовий буряк, шпинат, буряк), Мальвових (наприклад, окра), Спаржевих (наприклад, спаржа), садові та лісові культури, декоративні рослини та квіти, включаючи зрізані квіти, трави, включаючи поля для гольфу, газон, а також генетично модифіковані гомологи зазначених культур.

Наприклад, композицію у відповідності з даним винаходом можна застосовувати для контролю розповсюджених грибкових захворювань, таких як справжня борошниста роса, іржа, несправжня борошниста роса та антракноз, польових культур, плодівих дерев та овочів.

Крім того, композицію у відповідності з даним винаходом можна застосовувати для лікування стійких захворювань, головним чином для контролю справжньої борошнистої роси пшениці, пірикуляріозу рису, головні рису, справжньої борошнистої роси дині, справжньої борошнистої роси томатів, іржі яблук, антракнозу кавуна та справжньої борошнистої роси квітів. Крім того, композиція показала дуже хорошу контролюючу дію проти несправжньої борошнистої роси огірка, несправжньої борошнистої роси винограду, парші, сибірської виразки та плямистого опадання листя.

У конкретному варіанті реалізації даного винаходу композицію у відповідності з даним винаходом застосовують для лікування або попередження захворювань дерев, викликаних грибковими патогенами, наприклад, панамської хвороби бананів, попелястого верхівкового всихання.

Крім того, композицію у відповідності з даним винаходом можна застосовувати прямо на полі на культурах рослин, але також *in vitro*, наприклад, для введення у рослинні культури.

Неочікувано, композиція у відповідності з даним винаходом, яку застосовують у якості фунгіциду, показала вкрай високу активність проти щонайменше 43 грибкових патогенів (див. список нижче), з 4 різних типів, 8 різних класів та 14 різних порядків:

Вид	Тип	Клас	Порядок
<i>Rhizoctonia solani</i>	Базидіоміцети	Агарикоміцети	Кантарелові
<i>Thamnidium elegans</i>	Зигоміцети	Зигоміцети	Мукорові
<i>Phytophthora cactorum</i>	Ооміцети	Ооміцети	Пероноспоріві
<i>Phytophthora syringae</i>	Ооміцети	Ооміцети	Пероноспоріві
<i>Phytophthora infestans</i>	Ооміцети	Ооміцети	Пероноспоріві
<i>Phytophthora agathidicida strain 18407</i>	Ооміцети	Ооміцети	Пероноспоріві
<i>Phythium sp.</i>	Ооміцети	Ооміцети	Пероноспоріві
<i>Plasmopara viticola</i>	Ооміцети	Ооміцети	Пероноспоріві
<i>Aspergillus versicolor</i>	Аскоміцети	Еуроціоміцети	Еуроциєві
<i>Aspergillus pseudoglaucus</i>	Аскоміцети	Еуроціоміцети	Еуроциєві

Вид	Тип	Клас	Порядок
<i>Aspergillus</i> sp.	Аскоміцети	Еуроціоміцети	Еуроциєві
<i>Penicillium vulpinum</i>	Аскоміцети	Еуроціоміцети	Еуроциєві
<i>Penicillium wortmannii</i>	Аскоміцети	Еуроціоміцети	Еуроциєві
<i>Trichophyton rubrum</i>	Аскоміцети	Еуроціоміцети	Онїгенові
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	Аскоміцети	Дотидеоміцети	Ботріосферіальні
<i>Guignardia bidwellii</i>	Аскоміцети	Дотидеоміцети	Ботріосферіальні
<i>Alternaria radicina</i>	Аскоміцети	Дотидеоміцети	Плеоспорові
<i>Phoma exigua</i>	Аскоміцети	Дотидеоміцети	Плеоспорові
<i>Phoma betae</i>	Аскоміцети	Дотидеоміцети	Плеоспорові
<i>Helminthosporium solani</i>	Аскоміцети	Дотидеоміцети	Плеоспорові
<i>Cladosporium langeronii</i>	Аскоміцети	Дотидеоміцети	Капнодіальні
<i>Cladosporium haloterans</i>	Аскоміцети	Дотидеоміцети	Капнодіальні
<i>Cladosporium</i> sp.	Аскоміцети	Дотидеоміцети	Капнодіальні
<i>Fusarium verticillioides</i>	Аскоміцети	Сордаріоміцети	Гіпокрейні
<i>Fusarium gramineum</i>	Аскоміцети	Сордаріоміцети	Гіпокрейні
<i>Fusarium equiseti</i>	Аскоміцети	Сордаріоміцети	Гіпокрейні
<i>Fusarium culmorum</i>	Аскоміцети	Сордаріоміцети	Гіпокрейні
<i>Fusarium avenaceum</i>	Аскоміцети	Сордаріоміцети	Гіпокрейні
<i>Acremonium</i> sp.	Аскоміцети	Сордаріоміцети	Гіпокрейні
<i>Pyricularia oryzae</i>	Аскоміцети	Сордаріоміцети	Магнапортові
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	Аскоміцети	Сордаріоміцети	Мікроаскові
<i>Scopulariopsis fusca</i>	Аскоміцети	Сордаріоміцети	Мікроаскові
<i>Colletotrichum acutatum</i>	Аскоміцети	Сордаріоміцети	Гломерелові
<i>Colletotrichum coccodes</i>	Аскоміцети	Сордаріоміцети	Гломерелові
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Аскоміцети	Сордаріоміцети	Гломерелові
<i>Plectosphaerella cucumerina</i>	Аскоміцети	Сордаріоміцети	Гломерелові
<i>Monilinia laxa</i>	Аскоміцети	Леоціоміцети	Гелоцієві
<i>Botrytis cinerea</i>	Аскоміцети	Леоціоміцети	Гелоцієві
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Аскоміцети	Леоціоміцети	Гелоцієві
<i>Gloeosporium album</i>	Аскоміцети	Леоціоміцети	Гелоцієві
<i>Hymenoscypus fraxineus</i>	Аскоміцети	Леоціоміцети	Гелоцієві
<i>Geotrichum candidum</i>	Аскоміцети	Сахароміцети	Сахароміцетові
<i>Pichia fermentans</i>	Аскоміцети	Сахароміцети	Сахароміцетові

Зокрема, композиція у відповідності з даним винаходом показала ефективність проти 5 грибкових патогенів рослин, вибраних з типів, що включають Базидіоміцети, Зигоміцети, Ооміцети або Аскоміцети.

Наприклад, композиція у відповідності з даним винаходом показала особливу ефективність по відношенню до грибкових патогенів рослин: *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum graminicola*, *Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Verticillium dahlia*, *Mycosphereella graminicola* та *Sphacelotheca reliana*.

10 У іншому варіанті реалізації композицію у відповідності з даним винаходом (відповідно до загальної формули I, як визначено вище) можна застосовувати у якості антимікотичного засобу у їжі або напої. Даний винахід також відноситься до їжі, напою та агенту гігієни порожнини рота, що містить вищезазначений антигрибковий агент.

15 Зокрема, антигрибковий або антимікотичний агент у відповідності з даним винаходом можна вводити у харчові продукти або напої для запобігання псування їжі грибком або зараження патогенами.

20 У конкретному варіанті реалізації композицію у відповідності з даним винаходом можуть вигідно застосовувати продавці продуктів харчування для продовження строку зберігання фруктів та овочів завдяки запобігання розвитку грибкових патогенів рослин. Наприклад, композиції у відповідності з даним винаходом можуть продовжувати строк зберігання овочів, ягід, фруктів або зрізаних квітів щонайменше на один тиждень.

Переважно, кількість, що вводиться, знаходиться у діапазоні від 0,01 до 100 м.ч. від маси їжі, більш переважно, від 1 до 50 м.ч.

25 Приклади їжі та напоїв, з якими можна змішувати антигрибковий агент у відповідності з даним винаходом, включають рибні продукти, рибні сосиски, шинку, сосиски та шинку з м'яса

риби, продукти з сурімі, висушені продукти з риби та молюсків, копчені продукти, солону рибу, креветки, напівтверді морепродукти, такі як маринована ікра тріски та подібні продукти; продукти з м'яса свійської худоби, такі як шинка, сосиски, бекон та рубані м'ясні продукти; готову їжу, таку як салати, гамбургери, пельмені, варені боби, китайська капуста, огірки, мариновані овочі, такі як кімча, солодка картопля, японський омлет та коріння лотоса з розмарином; рідкі заправки, такі як солодкий соус та суп; приправи, такі як м'ясо та соєвий соус; локшина, така як сира або варена пшенична локшина, удон, макарони, різні напої, такі як фруктові соки, газовані напої, чай, молочні напої, напої молочнокислого бродіння, кава, какао, соєве молоко та подібні напої; фрукти та овочі, сухе молоко, сквашене молоко, масло, сир, морозиво, молочні продукти, такі як вершки, карамель, цукерки, жувальна гумка, джеми, маргарин та подібні продукти.

У переважному варіанті реалізації антимікотична композиція у відповідності з даним винаходом містить комбінацію щонайменше двох сполук, вибраних з групи, що складається з 8MSOH/8MSOON; 8ASOH/8ASOON; 8ESOH/8ESOON; 8CSOH/3MSOON; 8CSOH/7MSOH; 8CSOH/3MSOH; 8MSOON/6MSOH; 8MSOH/3MSOON; 8MSOH/7MSOH; 8MSOH/6MSOH; 8CSOH/8MSOH; 8CSOH/3MSOON; 8MSOH/9MSOON; 8CSOH/7MSOH; 8ESOH/7MSOH; 8ESOH/3MSOH; 8MSOON/7MSOH; 8MSOON/9MSOH; 8MSOON/6MSOH; 8CSOH/7MSOH; 8MSOON/3MSOH; 8MSOON/8MSOON або 8MSOON/3MSOON.

Ще більш переважно, антимікотична композиція у відповідності з даним винаходом містить щонайменше дві сполуки у комбінації, які являють собою суміш 7-метилсульфонілгептилізотіоціанату та (Е)-1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-окт-2-ену або суміш 8-метилсульфонілоктилізотіоціанату та 8-метилсульфінілоктилізотіоціанату.

У іншому варіанті реалізації композицію у відповідності з даним винаходом (відповідно до загальної формули I, як визначено вище) можна застосовувати у якості дезінфікуючого засобу для гігієни порожнини рота або у санітарних виробках.

Переважно, вироби для гігієни порожнини рота вибрано із засобу для чищення зубів, льодянику, рідкого або порошкоподібного ополіскувача для порожнини рота, розчину для нанесення покриття, агенту для попередження галітозу та жувальної гумки.

Дозована форма агента для гігієни порожнини рота, з яким змішують антимікотичний агент у відповідності з даним винаходом, може бути будь-якою з наступних: рідкий препарат, твердий препарат та напівтвердий агент, та може являти собою засіб для чищення зубів, льодяник, рідкий або порошкоподібний ополіскувач для порожнини рота, розчин для нанесення покриття, агент для попередження галітозу, жувальну гумку та подібні засоби.

Крім того, дезінфікуючий засіб у відповідності з даним винаходом можна застосовувати у різних продуктах, так званий антигрибкових товарах (товарах), таких як кухонне приладдя, такі як обробні дошки, пристосування для миття, такі як зубні щітки, канцтовари, такі як друкарські інструменти, гумки та папір для нотаток, одяг, такий як білизна, предмети автомобільного інтер'єру, такі як ручки та сидіння, домашні пристосування, такі як друкарські машинки та холодильники, матеріали для декору інтер'єру, такі як мати татамі та шпалери. Тобто антимікотичний агент замішують у сировину на стадії виробництва вищевказаного начиння та перемішують, або при додаванні допоміжної речовини, такої як поверхнево-активна речовина, за необхідності, з розчинником, наносять на поверхню продукту шляхом нанесення або розпилюють у вигляді спрею. Рідкий склад або склад спрею можна аналогічним чином наносити на санітарні відсіки, сидіння туалету, дезінфікуючі засоби для ванних та агенти проти цвілі. Крім того, їх можна застосовувати у якості санітарних виробів, таких як дезінфікуючий очищувач або вологі серветки, шляхом просочення агентом у вигляді рідкого складу вбираючої вологу поверхні, такої як папір або тканина.

У переважному варіанті реалізації дезінфікуюча композиція у відповідності з даним винаходом містить комбінацію щонайменше двох сполук, вибраних з групи, що складається з: 8MSOH/8MSOON; 8ASOH/8ASOON; 8ESOH/8ESOON; 8CSOH/3MSOON; 8CSOH/7MSOH; 8CSOH/3MSOH; 8MSOON/6MSOH; 8MSOH/3MSOON; 8MSOH/7MSOH; 8MSOH/6MSOH; 8CSOH/8MSOH; 8CSOH/3MSOON; 8MSOH/9MSOON; 8CSOH/7MSOH; 8ESOH/7MSOH; 8ESOH/3MSOH; 8MSOON/7MSOH; 8MSOON/9MSOH; 8MSOON/6MSOH; 8CSOH/7MSOH; 8MSOON/3MSOH; 8MSOON/8MSOON або 8MSOON/3MSOON.

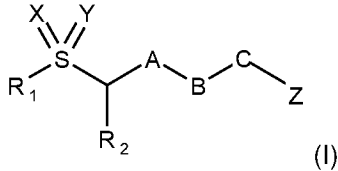
Ще більш переважно, дезінфікуюча композиція у відповідності з даним винаходом містить щонайменше дві сполуки у комбінації, які являють собою суміш 7-метилсульфонілгептилу та (Е)-1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-окт-2 або суміш 8-метилсульфонілоктилізотіоціанату та 8-метилсульфінілоктилізотіоціанату.

Вигідно, що композицію у відповідності з даним винаходом можна також застосовувати для лікування або попередження мікробної інфекції, вибраної з переліку, що складається з бактеріальної, грибової, дріжджової та/або вірусної інфекції.

Відповідно до одного з варіантів реалізації даного винаходу, бактеріальна інфекція включає грампозитивну або грамнегативну інфекцію.

Зокрема, бактеріальна або дріжджова інфекція являє собою інфекцію *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *S. aureus*, *S. epidermis*, *Klebsiellae pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *B. subtilis*, *E. aerogenes*, *C. freundii*, *Staphylococcus spp*, *Streptococcus spp*, *Enterococcus spp*, *Proteus spp*, *Candida spp*, *Apophysomyces spp*, *Aspergillus*, *Mucor spp.*, *Porphyomonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythensis* або *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Іншою метою даного винаходу є забезпечення композиції, що містить комбінацію щонайменше двох сполук, вибраних зі сполук загальної формули I:



де:

Z являє собою нітрил (-CN), тiocіанат (-SCN) або ізотiocіанат (-N=C=S);

X, Y являють собою, незалежно один від іншого, неподілену пару або O, за умови, що щонайменше один з двох X або Y являє собою O;

R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> являють собою, незалежно один від іншого, H, насичений лінійний, циклічний або розгалужений (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкіл;

A, C являють собою, незалежно один від іншого, ковалентний зв'язок, насичений або ненасичений лінійний, циклічний, спіроциклічний, біциклічний, поліциклічний або розгалужений (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)алкіл, C<sub>6</sub>-арил;

B являє собою ковалентний зв'язок, насичений або ненасичений лінійний, циклічний, спіроциклічний, біциклічний, поліциклічний або розгалужений (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)алкіл, C<sub>6</sub>-арил;

за умови, що щонайменше один з A, B або C відрізняється від ковалентного зв'язку,

та характеризується тим, що щонайменше дві сполуки у комбінації містять:

1) щонайменше одну групу Z, яка являє собою ізотiocіанат, та/або,

2) щонайменше два різні ступені окиснення атому сірки, та/або,

3) щонайменше різну довжину вуглецевого ланцюгу фрагменту -A-B-C-,

для застосування у способі попередження або лікування мікозів у людини або тварини.

Переважаюча композиція являє собою фармацевтичну композицію.

Фармацевтичну композицію у відповідності з даним винаходом можна застосовувати для приготування лікарського засобу, що підходить для терапевтичного або профілактичного лікування грибкових захворювань людини або тварин, таких як, наприклад, мікози, хітридієві інфекції (Bd; Bs), дерматози, трихофітні захворювання та кандидози, або захворювання, викликані *Aspergillus spp.*, наприклад, *Aspergillus fumigatus*.

У одному з варіантів реалізації даного винаходу мікоз викликаний інфекціями *Candida albicans* або *Trichophyton rubrum*.

Зокрема, антигрибковий агент у відповідності з даним винаходом має прекрасну антимікробну дію у відношенні *Candida albicans*, який вважається одним з дріжджів, що викликають стоматит, пов'язаний з використанням зубних протезів, тому при його змішуванні з агентом для гігієни порожнини рота традиційним способом легко можна попереджати та лікувати інфекцію, що викликається *Candida*.

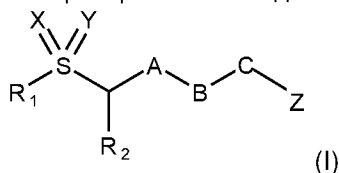
Крім того, антигрибковий агент у відповідності з даним винаходом можна застосовувати у комбінації з іншими антимікробними агентами, такими як алкоголь, інгредієнти прянощів, такі як шавлія та розмарин, органічні кислоти, такі як лимонна кислота, молочна кислота, оцтова кислота та подібні сполуки.

У переважному варіанті реалізації антигрибковий агент у відповідності з даним винаходом для попередження або лікування мікозу у людини або тварини містить щонайменше дві сполуки, вибрані з групи, що складається з: 8MSOH/8MSOOH; 8ASOH/8ASOOH; 8ESOH/8ESOOH; 8CSOH/3MSOOH; 8CSOH/7MSOH; 8CSOH/3MSOH; 8MSOOH/6MSOH; 8MSOH/3MSOOH; 8MSOH/7MSOH; 8MSOH/6MSOH; 8CSOH/8MSOH; 8CSOH/3MSOOH; 8MSOH/9MSOOH; 8CSOH/7MSOH; 8ESOH/7MSOH; 8ESOH/3MSOH; 8MSOOH/7MSOH; 8MSOOH/9MSOH; 8MSOOH/6MSOH; 8CSOH/7MSOH; 8MSOOH/3MSOH; 8MSOOH/8MSOON або 8MSOOH/3MSOON.

Більш переважно, щонайменше дві сполуки у комбінації для застосування у способі попередження або лікування мікозу у людини або тварини являють собою суміш 7-метилсульфонілгептилізотiocіанату та (E)-1-ізотiocіанато-8-(метилсульфініл)-окт-2-ену або

суміш 8-метилсульфонілоктилізотіоціанату та 8-метилсульфінілоктилізотіоціанату.

Іншою метою даного винаходу є забезпечення фунгіцидної композиції, що містить комбінацію щонайменше двох сполук, вибраних зі сполук загальної формули I:



5

де:

Z являє собою нітрил (-CN), тіоціанат (-SCN) або ізотіоціанат (-N=C=S);

X, Y являють собою, незалежно один від іншого, неподілену пару або O, за умови, що щонайменше один з двох X або Y являє собою O;

10 R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> являють собою, незалежно один від іншого, H, насичений лінійний, циклічний або розгалужений (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкіл;

A, C являють собою, незалежно один від іншого, ковалентний зв'язок, насичений або ненасичений лінійний, циклічний, спіроциклічний, біциклічний, поліциклічний або розгалужений (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)алкіл, C<sub>6</sub>-арил;

15 B являє собою ковалентний зв'язок, насичений або ненасичений лінійний, циклічний, спіроциклічний, біциклічний, поліциклічний або розгалужений (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)алкіл, C<sub>6</sub>-арил;

за умови, що щонайменше один з A, B або C відрізняється від ковалентного зв'язку, та характеризується тим, що щонайменше дві сполуки у комбінації містять:

1) щонайменше одну групу Z, яка являє собою ізотіоціанат, та/або,

2) щонайменше два різні ступені окиснення атому сірки, та/або,

20 3) щонайменше різну довжину вуглецевого ланцюгу фрагменту -A-B-C-.

Переважно, фунгіцидна композиція містить комбінацію щонайменше двох сполук, вибраних зі сполук загальної формули I, де:

Z являє собою ізотіоціанат (-N=C=S);

X, Y являють собою, незалежно один від іншого, O;

25 R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> являють собою, незалежно один від іншого, H, насичений лінійний або циклічний (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкіл;

A, C являють собою, незалежно один від іншого, ковалентний зв'язок, насичений або ненасичений лінійний або циклічний (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)алкіл, за умови, що щонайменше один з A або C відрізняється від ковалентного зв'язку;

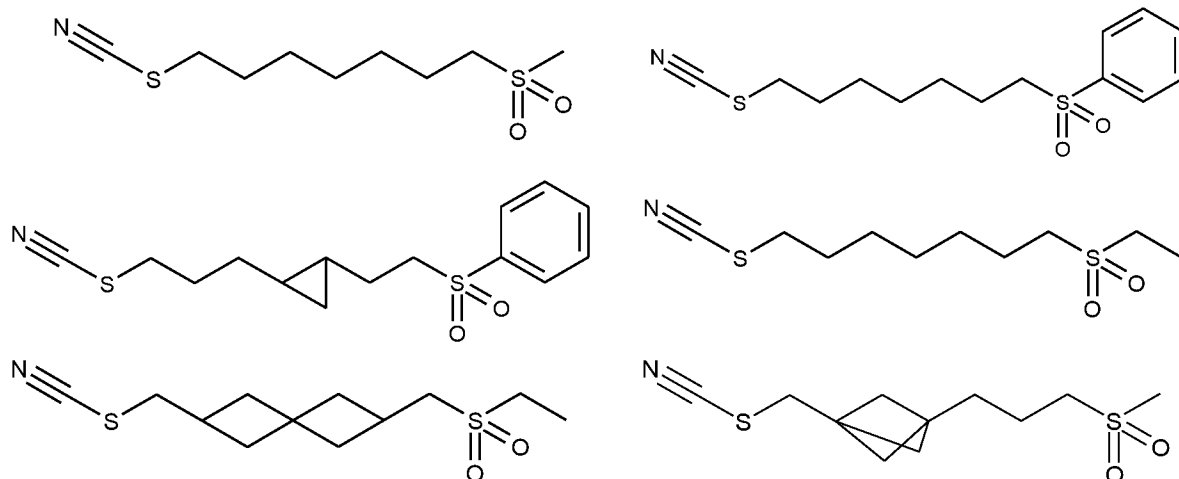
30 B являє собою ковалентний зв'язок;

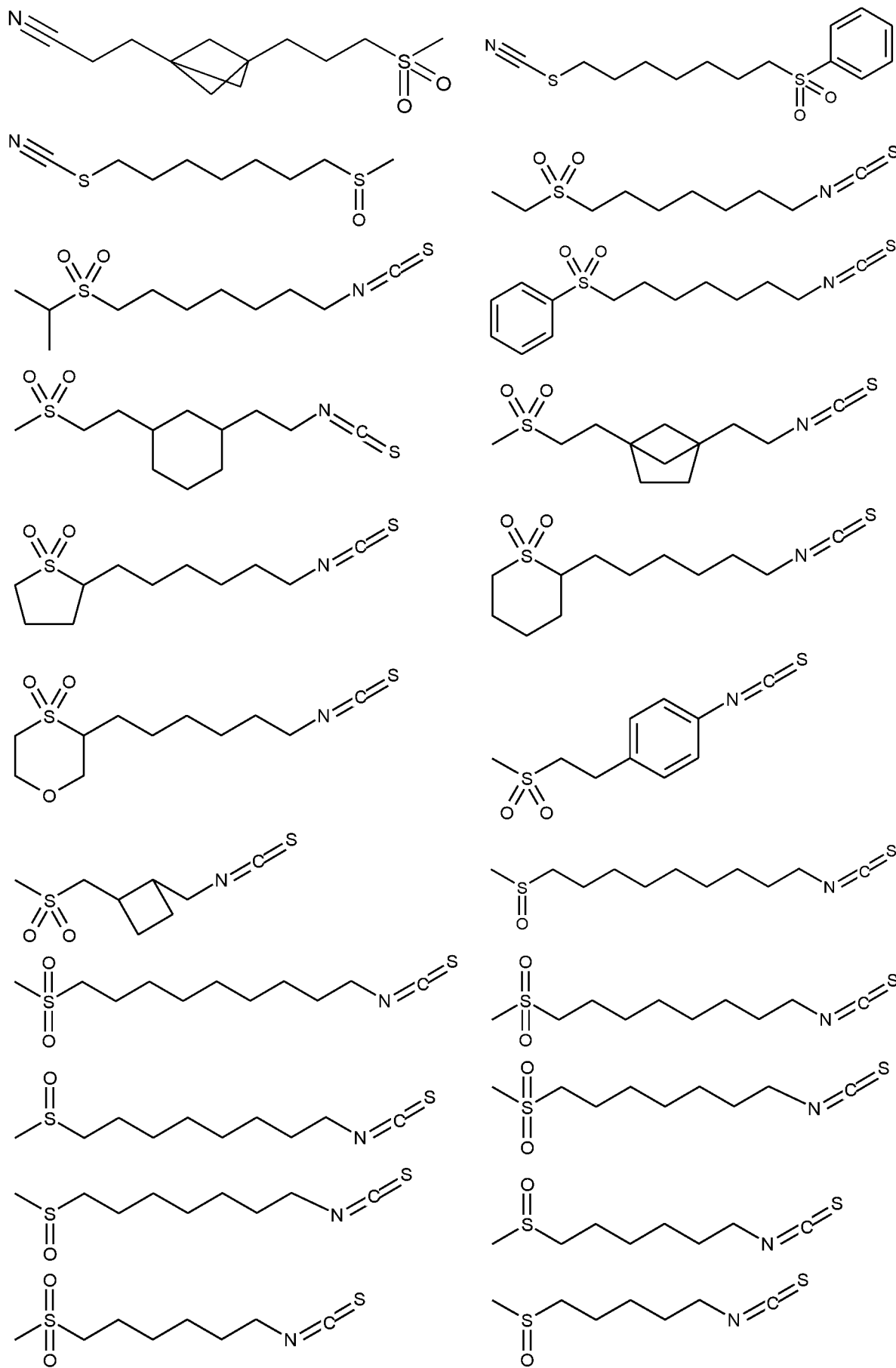
та де довжина вуглецевого ланцюгу фрагменту -A-B-C- становить від C<sub>3</sub> до C<sub>9</sub>.

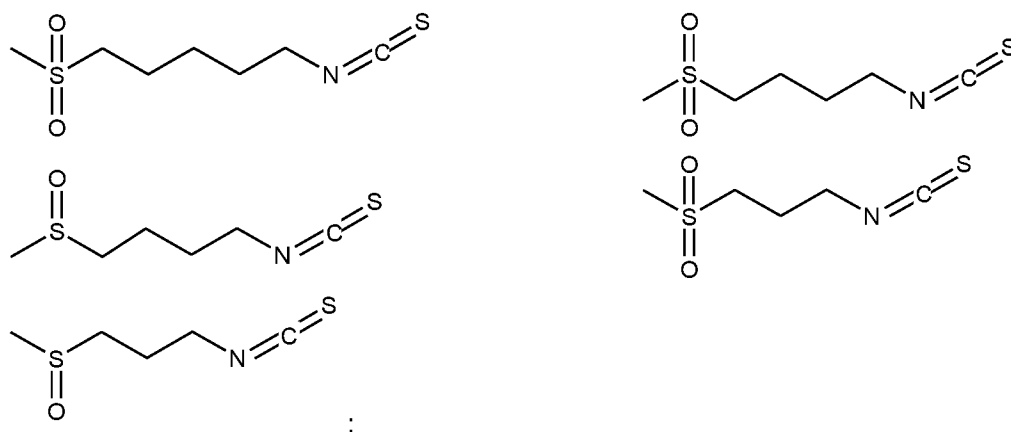
У конкретному варіанті реалізації фунгіцидна композиція у відповідності з даним винаходом містить комбінацію щонайменше двох ізотіоціанатних сполук, переважно зазначені щонайменше дві ізотіоціанатні сполуки мають щонайменше два різні ступені окиснення атому сірки та/або щонайменше різну довжину вуглецевого ланцюгу фрагменту -A-B-C-, що переважно становить від C<sub>3</sub> до C<sub>9</sub>.

35

Більш переважно, фунгіцидна композиція у відповідності з даним винаходом містить комбінацію щонайменше двох сполук, вибраних з переліку, що включає:







де щонайменше дві сполуки у комбінації містять:

- 1) щонайменше одну групу Z, яка являє собою ізотіоціанат, та/або
  - 2) щонайменше два різні ступені окиснення атому сірки, та/або
  - 3) щонайменше різну довжину вуглецевого ланцюгу фрагменту -A-B-C-,
- та де довжина вуглецевого ланцюгу фрагменту -A-B-C- становить від C<sub>3</sub> до C<sub>9</sub>.

Переважно, щонайменше дві сполуки у комбінації фунгіцидної композиції у відповідності з даним винаходом вибрані з групи, яка складається з таких як: 8MSOH/8MSOON; 8ASOH/8ASOON; 8ESOH/8ESOON; 8CSOH/3MSOON; 8CSOH/7MSOH; 8CSOH/3MSOH; 8MSOON/6MSOH; 8MSOH/3MSOON; 8MSOH/7MSOH; 8MSOH/6MSOH; 8CSOH/8MSOH; 8CSOH/3MSOON; 8MSOH/9MSOON; 8CSOH/7MSOH; 8ESOH/7MSOH; 8ESOH/3MSOH; 8MSOON/7MSOH; 8MSOON/9MSOH; 8MSOON/6MSOH; 8CSOH/7MSOH; 8MSOON/3MSOH; 8MSOON/8MSOON або 8MSOON/3MSOON.

Ще більш переважно, щонайменше дві сполуки у комбінації фунгіцидної композиції являють собою суміш 7-метилсульфонілгептилізотіоціанату та (E)-1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-окт-2-ену або суміш 8-метилсульфонілоктилізотіоціанату та 8-метилсульфінілоктилізотіоціанату.

Зокрема, фунгіцидна композиція у відповідності з даним винаходом показала ефективність проти грибкових патогенів рослин, вибраних з типів, що включають Базидіоміцети, Зигоміцети, Ооміцети або Аскоміцети.

Наприклад, фунгіцидна композиція у відповідності з даним винаходом показала особливу ефективність по відношенню до грибкових патогенів рослин: *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum graminicola*, *Fusarium oxysporum*, *Sclerotiana sclerotiorum*, *Verticillium dahlia*, *Mycospherella graminicola* та *Sphacelotheca reliana*.

У одному з варіантів даного винаходу фунгіцидну композицію у відповідності з даним винаходом застосовують у комбінації з прийнятними носіями або розріджувачами, наприклад, у спреї.

Фунгіцидна композиція у відповідності з даним винаходом часто буде являти собою концентровані склади, які можна розбавляти водою або іншою рідиною для застосування. У деяких варіантах реалізації фунгіцидна композиція також може бути складена у вигляді частинок або гранульованих складів, які розпорошують або наносять без додаткової обробки.

Переважно, носії або розріджувачі для застосування у даному винаході є фітологічно прийнятними.

У цьому описі термін "фітологічно прийнятний" склад відноситься до композицій, розріджувачів, наповнювачів та/або носіїв, які у цілому підходять для застосування на будь-якій частині рослини протягом будь-якої частини її життєвого циклу, включаючи, але не обмежуючись, насіння, проростки, клітини рослин, рослини або квіти. Склади можна готувати згідно з методиками, способами та формулами, звичайними у галузі сільського господарства. Слідуючи ідеям даного винаходу, фахівець у галузі сільського господарства та/або хімії легко зможе приготувати бажані композиції. Найчастіше фунгіцидну композицію у відповідності з даним винаходом можна складати таким чином, щоб зберігати та/або застосовувати у вигляді водних або неводних суспензій або емульсій, приготованих у чистому вигляді або з концентрованих складів композицій. Водорозчинні, суспендуємі або емульгуємі у воді склади також можна перетворити або скласти у вигляді твердих речовин (наприклад, порошоків, що змочуються), які можна потім розбавляти з утворенням готового складу. У деяких складах фунгіцидні композиції у відповідності з даним винаходом можна також забезпечувати у середовищі для вирощування, наприклад, у середовищі для вирощування *in vitro* рослин або

інших типів клітин, у лабораторному середовищі для вирощування рослин, у ґрунті, або для розпилення на насіння, проростки, коріння, стебла, черешки, листя, квіти або всю рослину.

Ці фітологічно прийнятні склади отримують за відомим способом, наприклад, шляхом змішування фунгіцидної композиції у відповідності з даним винаходом з наповнювачами, тобто рідкими розчинниками, зрідженими газами під тиском та/або твердими носіями, необов'язково, з використанням поверхнево-активних речовин, тобто емульгаторів та/або диспергаторів та/або піноутворювачів. Якщо у якості наповнювача застосовують воду, також можливо, наприклад, застосовувати органічні розчинники у якості допоміжних розчинників. По суті, підходящі рідкі розчинники включають: ароматичні сполуки, такі як ксилол, толуол або алкілнафталіни, хлоровані ароматичні або хлоровані аліфатичні вуглеводні, такі як хлорбензоли, хлоретилени або метилхлорид, аліфатичні вуглеводні, такі як циклогексан або парафіни, наприклад, нафтові фракції, спирти, такі як бутанол або гліколь, або їх прості та складні ефіри, кетони, такі як ацетон, метилетилкетон, метилізобутилкетон або циклогексанон, сильнополярні розчинники, такі як диметилформамід та диметилсульфоксид, а також воду. Зріджені газоподібні наповнювачі або носії розуміють як рідини, які газоподібні при кімнатній температурі та атмосферному тиску, наприклад, пропеленти для аерозолів, такі як бутан, пропан, азот та вуглекислий газ. Відповідними твердими носіями є: наприклад, подрібнені природні мінерали, такі як каоліни, глини, тальк, крейда, кварц, аттапульгіт, монтморилоніт або діатомітова земля, та подрібнені синтетичні мінерали, такі як тонкодисперсні діоксид кремнію, оксид алюмінію та силікати. Підходящими твердими носіями для гранул є: наприклад, подрібнені та фракціоновані природні мінерали, такі як кальцит, мармур, пемза, сепіоліт та доломіт, або синтетичні гранули неорганічних та органічних порошоків, таких як тирса, оболонка кокосового горіха, кукурудзяні качани та черешки тютюну. Підходящими емульгаторами та/або піноутворювачами є: наприклад, неіонні та аніонні емульгатори, такі як складні ефіри поліоксиетилену та жирних кислот, прості ефіри поліоксиетилену та жирних спиртів, наприклад, алкіларилполігліколеві прості ефіри, алкілсульфонати, алкілсульфати, арилсульфонати, а також гідролізати білків. Підходящими диспергаторами є: наприклад, лігнін-сульфітні стічні води або метилцелюлоза.

Фунгіцидну композицію у відповідності з даним винаходом можна застосовувати у різних формах, таких як аерозольний диспенсер, суспензія у капсулах, концентрат для холодного аерозольного зрошення, розпорозований порошок, емульгуємий концентрат, емульсія типу масло-у-воді, капсульовані гранули, дрібні гранули, сипучий концентрат для обробки насіння, газ (під тиском), газовиділяючий продукт, гранули, концентрат для гарячого аерозольного зрошення, макрогранули, мікрогранули, диспергуємий у маслі порошок, змішуваний з маслом сипучий концентрат, змішувана з маслом рідина, паста, паличка для рослин, порошок для сухої обробки насіння, покрите пестицидом насіння, розчинний концентрат, розчинний порошок, розчин для обробки насіння, концентрат суспензії (сипучий концентрат), рідина наднизького об'єму (ULV), суспензія наднизького об'єму (ULV), диспергуємі у воді гранули або таблетки, диспергуємий у воді порошок для суспензійної обробки, водорозчинні гранули або таблетки, водорозчинний порошок для обробки насіння та змочуваний порошок. Такі композиції включають не тільки композиції, готові до нанесення на оброблювану рослину або насіння за допомогою відповідного пристрою, такого як розпилюючий або обпорошуючий пристрій, але також концентровані комерційні композиції, які необхідно розбавляти перед нанесенням на культуру.

У переважному варіанті реалізації даного винаходу композицію можна спеціально наносити на фрукти та овочі у сховищах за допомогою ультразвукового аерозольного розпилювача. Ультразвуковий аерозольний розпилювач являє собою пристрій, що використовує ультразвукові хвилі для розбивання води на невеликі крапельки (<10 мкм) та розпилення їх у повітря у вигляді щільного холодного туману (тобто не отриманого при кипінні води). Приклади ультразвукових аерозольних розпилювачів та систем описані, у числі іншого, у наступних патентах США: патент США № 4042016; патент США № 4058253; патент США № 4 118 945; патент США № 4 564 375; патент США № 4 667 465; патент США № 4 702 074; патент США № 4 731 990; патент США № 4 731 998; патент США № 4 773 846; патент США № 5 454 518; патент США № 6 854 661. Звичайно ультразвуковий аерозольний розпилювач включає: у цілому циліндричний корпус, що має аксіальний канал з виходом на передній поверхні корпусу; підвід газу та підвід рідини, приєднані до каналу; щонайменше частина передньої поверхні має криволінійний опуклий контур, передня поверхня має плоску центральну кільцеподібну ділянку, що оточує вихід каналу; та резонатор, віддалений та розташований навпроти виходу каналу. Такі пристрої широко застосовують для контролю рівня вологості у теплицях, для доставки поживних речовин до рослини у аеропонних культурах або для створення оптимальних рівнів вологості у будинках.

Автори показали, що цю методику можна застосовувати для нанесення продуктів, які

застосовуються для продовження свіжості фруктів та овочів у сховищах, наприклад, природних фунгіцидів. Ця методика дозволяє ефективно обробляти фрукти та овочі, недоступні для обробок, що наносяться шляхом розпилення або іншого нанесення, через упаковки (тобто на них важко безпосередньо розпорошувати, оскільки фрукти та овочі зберігаються, наприклад, у контейнері, або оскільки розпорошення може пошкодити фрукти та овочі).

Цікаво, що автори провели випробування на ефективність на фруктах та овочах у сховищі об'ємом 30 м<sup>3</sup> з використанням промислових ультразвукових зволожувачів MHS15 (<http://www.mainlandmart.com/humidify.html>), що генерують 15 кг туману на годину, що складається з крапельок розміром між 1-10 мкм, у середньому 5 мікрон. Композицію у відповідності з даним винаходом, представлену у вигляді порошку, додавали у контейнер для води у аерозольному розпилювачі у дозуванні 400-600 мкм, в залежності від випробовуваного виду рослин. Порошок розчиняли у воді та наносили на фрукти у формі холодної пари. Автори підтвердили рівний розподіл продукту по всіх оброблених культурах та легкий доступ до недосяжних раніше частин упаковки.

Фунгіцидну композицію у відповідності з даним винаходом також можна змішувати з одним або більше інсектицидами, пестицидами, атрактантами, стерилізаторами, бактерицидами, акарицидами, нематодцидами, іншими фунгіцидами, регуляторами росту, гербіцидами, добривами, антидотами, хімічними сигнальними речовинами, агентами пригнічення запаху або іншими сполуками з біологічною активністю. Отримані суміші зазвичай мають розширений спектр дії. Особливо вигідні суміші з іншими фунгіцидними сполуками.

Фунгіцидна композиція у відповідності з даним винаходом, яка містить суміш з бактерицидною сполукою, також може бути особливо вигідною. Приклади підходящих бактерицидних компонентів суміші можуть бути вибрані з наступних: бронопол, дихлорофен, нітрапирин, диметилдитіокарбамат нікелю, касугаміцин, октилінон, фуранкарбонова кислота, окситетрациклін, пробеназон, стрептоміцин, теклофталам, сульфат міді та інші препарати міді.

Доза фунгіцидної композиції, яку звичайно наносять при обробці у відповідності з даним винаходом, звичайно та вигідно складає від 10 до 800 г/га, переважно від 50 до 300 г/га для застосувань при обробці на полях. Доза фунгіцидної композиції, яку наносять, звичайно та вигідно складає від 2 до 200 г на 100 кг насіння, переважно від 3 до 150 г на 100 кг насіння, у випадку обробки насіння.

Зрозуміло, що зазначені дози наведені як ілюстративні приклади способу обробки у відповідності з даним винаходом. Фахівець у даній галузі техніки зрозуміє, як пристосувати застосовувані дози, особливо у відповідності з природою оброблюваної рослини або культури.

Глюкозинолати являють собою сірко- та азот-вмісні вторинні метаболіти, що відносяться до порядку Каперсоцвіті, який включає агрономічно важливе сімейство Капустяних. Було описано приблизно 200 глюкозинолатів. Усі їх можна підрозділити на три основні групи, виходячи з їх амінокислотних попередників: аліфатичні, індолні та ароматичні глюкозинолати. Роль цих метаболітів у рослинах зрозуміла не до кінця, однак, було показано, що вони залучені у захисні відповіді проти травоядних, деяких грибових (Schreiner and Koide, 1993) та бактеріальних патогенів (Dufour et al., 2015). Глюкозинолати не активні у інтактній формі, але при ушкодженні тканин під час, наприклад, нападу травоядного, вони руйнуються під дією ферменту мірозінази з утворенням трьох основних біоактивних сполук: нітрילів, тиоціанатів та ізотиоціанатів. Було показано, що усі три активні сполуки токсичні для великої групи патогенів рослин (Lambrix et al., 2001). У цьому дослідженні автори неочікувано відкрили нову роль аліфатичних глюкозинолатів, конкретніше, метилсульфонільних та метилсульфінільних лінійних алкільних сполук (CH<sub>3</sub>S(O)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>), у токсичності до грибових патогенів.

Для цієї мети автори відібрали мутантів *Arabidopsis thaliana* зі зміною у композиції кутикули та провели випробування на фунгітоксичність з використанням *Botrytis cinerea* - другого за агрономічною важливістю грибового патогену, для якого на даний момент відсутня ефективна органічна обробка. Як показали результати, такі мутанти показали сильну стійкість до *B. cinerea*: з мутаціями десатурази жирних кислот (*fad2*; *fad3-2* *fad7-2* *fad8*), цитохромів P450, що належать до сімейства CYP77/захисні на гребнях кутикули (*cup77 dcr*), ацилтрансферази гліцерин-3-фосфату/проникна кутикула 1 (*gpat6 pec1*) та з подвійним нокаутом ацилтрансферази гліцерин-3-фосфату (*gpat4 gpat8*). Усі відібрані мутанти показали сильну стійкість до *B. cinerea* або тільки на стадії котиледону (мутанти *fad*), або на обох стадіях - проростків та дорослих (подвійні мутанти *cup77 dcr*; *gpat6 pec1*; *gpat4 gpat8*). Для розуміння, що призводить до стійкості даних рослин до грибків, використовували різні підходи, наприклад, молекулярну біологію, мікроскопію та біохімію. Випробування на відомі у даний час механізми, залучені у стійкість до *B. cinerea*, тобто гормональні зміни, більш високі концентрації АФК та модифікація поверхні, не може повністю пояснити стійкість до *B. cinerea*. Це привело авторів до застосування підходу

поверхневого метаболізму для ідентифікації потенційних антигрибкових сполук на поверхні рослини. За допомогою даної методики автори змогли ідентифікувати 2 сполуки, досить рясні на поверхні при різних мутаціях кутикули: 7-метилсульфонілгептілглюкозинолат (на котиледонах мутантів *fad2*), наскільки відомо авторам, який раніше не ідентифікований на рослинах арабідопсису, та 8-метилсульфонілоктилглюкозинолат (на котиледонах мутантів *fad3-2 fad7-2 fad8* та листях мутантів *grat6 rec1*). Ретельний розгляд загальної структури першої з ідентифікованих сполук привів авторів до ідентифікації 2 основних груп аліфатичних глюкозинолатів та їх сумішей, сильно залучених у стійкість до грибків.

Спеціаліст у даній галузі зрозуміє, що описаний винахід може мати варіанти та модифікації, крім конкретно описаних. Слід розуміти, що винахід включає всі такі варіанти та модифікації, що не виходять за межі суті або істотно важливих характеристик винаходу. Винахід також включає всі стадії, ознаки, композиції та сполуки, зазначені або згадані у цьому описі, окремо або разом, та будь-які та всі комбінації будь-яких двох або більше із зазначених стадій або ознак. Даний опис вважається в усіх аспектах ілюстративним, а не обмежувальним, обсяг даного винаходу визначається формулою винаходу, що додається, та всі зміни, зроблені всередині значень та діапазонів еквівалентності, вважаються такими, що входять у зазначений обсяг.

Вищеприведений опис буде більш зрозумілим з посиланнями на наступні приклади. Такі приклади являють собою приклади способів практичної реалізації даного винаходу та не повинні обмежувати обсяг винаходу.

#### Приклади

##### Матеріали і методи

*Arabidopsis thaliana* зразок Columbia-0 (Col-0) застосовували у якості рослини дикого типу (ДТ). Наступні алелі на фоні Col-0 були отримані з центру біологічних ресурсів арабідопсису (*Arabidopsis Biological Resource Centre (ABRC)*): *fad2-1* (CS8041), *fad2-3* (SK18137), *fad2-1 fad6* та *fad2-3 fad6* були отримані шляхом схрещування окремих мутантів у даній роботі. Подвійний мутант *grat4 grat8* був люб'язно наданий Frédéric Beisson, насіння *fad3-2 fad7-2 fad8* були отримані від John Browse, подвійні мутанти *sup77 dcr* та *grat6 rec1* були люб'язно надані Dr. Christiane Nawrath. Перед посадкою насіння стратифікували впродовж 2 днів при 40 °C та потім вирощували при 21 °C при освітленні 100 мкЕм<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup> з фотоперіодами в залежності від застосування (експерименти з проростками: 14 год. світла, 10 год. темноти (довгий день); на ґрунті для пророщення насіння: 24 год. світла, безперервний день).

Проростки для експериментів вирощували на твердому середовищі Мурасиге-Скуга половинної концентрації (0,5\*MS, 2,15 г/л, pH 5,7; Duchefa Biochemie, Haarlem, The Netherlands), доповненому 0,5 г/л гідрату МЕС (Sigma, Buchs, Switzerland) та 0,7 % рослинного агару (Sigma, Buchs, Switzerland). Після стратифікації насіння поміщали на нейлонову сітку (розмір комірок 200 мкм; номер продукту AH03444, Lanz-Anliker AG, Rohrbach, Switzerland) для забезпечення твердої опори для рівномірного проростання та росту насіння. Якщо не зазначено інше, усі хімічні речовини були отримані від Sigma-Aldrich.

##### Грибковий біологічний тест *in vivo* з *B. cinerea*

У даній роботі використовували два штами *B. cinerea*: BMM та B05.10, надані Dr. Christiane Nawrath та Prof. Michael Hahn, відповідно. Гриб вирощували на картопляно-декстрозному агарі (КДА) впродовж 10 днів. Конидії відфільтровували та розбавляли до 5\*10<sup>5</sup> спор/мкл у картопляно-декстрозному бульйоні (КДБ) із співвідношенням 1/2. 2 мкл отриманої суспензії наносили на 7-денні котиледони арабідопсису, вирощені у чашках Петрі. Інфіковані проростки інкубували впродовж 48 годин в умовах довгого дня.

##### Грибковий біологічний тест *in vitro*.

Метилсульфоніл- та метилсульфініл- нітрил та тіоціанати отримували від SpiroChem (Basel, Switzerland), метилсульфоніл та метилсульфініл- ізотіоціанати – від SpiroChem та LKT LABS (Minnesota, United States of America). Усі отримані сполуки розчиняли у диметилсульфоксиді (ДМСО). Штами грибів, використовувані у грибковому біологічному тесті *in vitro*, були отримані з мікотеки Agroscope ([www.mycoscope.bcis.ch](http://www.mycoscope.bcis.ch)).

Чисті культури різних видів грибкових патогенів рослин інокулювали у середовище КДА, доповнене побічними продуктами аліфатичних глюкозинолатів, попередньо розчиненими у різних концентраціях (наприклад, 10, 100, 250, 400, 550, 700, 850, 1100, 1400 мкм) у КДБ, та поміщене у 24-лункові планшети (VWR International, Dietikon, Switzerland). Контрольні зразки обробляли аналогічно одним ДМСО. 2 мм агарову пробку (Dufour et al. 2015) з раніше вирощеними грибковими культурами поміщали у кожну лунку, для кожної концентрації виконували 3 біологічні повтори. Планшети інкубували впродовж одного тижня у фітотроні (80 % відносна вологість, постійна температура 23 °C, при циклах, що чергуються, 16 год. день та 8 год. ніч). Ріст міцеліїв вимірювали через 7 днів за допомогою ImageJ (<http://imagej.net/Welcome>),

EC<sub>50</sub> оцінювали, як описано у Schnee et al., 2013.

#### Аналізи метаболоміки

Для проведення даного експерименту використовували ультрависокоєфективну рідинну хроматографію – квадрупольну часопротітну мас-спектрометрію (УЕРХ/КЧП-МС) на ультрависокоєфективному рідинному хроматографі Acquity (УЕРХ) та квадрупольному часопротітному мас-спектрометрі Synapt G2 (КЧП; Waters). УЕРХ Acquity був оснащений етиленово-містковою гібридною (ВЕН) колонкою C18 (50 × 2,1 мм, 1,7 мкм; Waters) з витратою 400 мкл/хвил. з підтримуваною температурою 25 °С. Використовували градієнтне елюювання з рухомою фазою А 0,05 % мурашиної кислоти у воді та рухомою фазою В 0,05 % мурашиної кислоти у ацетонітрилі: 0,0 – 7,0 хвил. 2 – 100 % В, 7,0 – 9,0 хвил. 100 % В, 9,0 – 11,0 хвил. 2 % В. Обсяг вводу проби складав 2,5 мкл. КЧП працював у режимі негативного електророзпилення з використанням режиму MS<sup>E</sup> (одночасна реєстрація всього спектру та всіх фрагментів іонів). Параметри мас-спектрометру були наступні: діапазон мас 85 – 1200 Да, час сканування 0,2 с, температура джерела 120 °С, капілярна напруга -2,0 кВ, конусна напруга -25 В, конус екстракції -4,5 В, потік та температура газу десольватації 800 л/год. та 400 °С, відповідно, потік газу через конус 20 л/год., енергія зіткнень 4 еВ (функція низькоенергетичної реєстрації) та 10 – 35 еВ (функція високоенергетичної реєстрації), газ для зіткнень (аргон) 7 × 10<sup>-3</sup> мбар. Розчин 400 нг/мл синтетичного пептиду лейцин-енкефалін у суміші вода:ацетонітрил:мурашина кислота (50:50:0,1) подавали у мас-спектрометр безперервно у якості внутрішнього стандарту для забезпечення точних вимірювань мас. Дані реєстрували за допомогою Masslynx v.4.1 (Waters). Детектування маркерів здійснювали за допомогою Markerlynx XS (Waters) із наступними параметрами: початковий та кінцевий час утримання 0,0 та 9,0 хвил., діапазон мас 85 – 1200 Да, вікно мас 0,02 Да, вікно часу утримання 0,06 хвил., поріг інтенсивності 500 подій, автоматичний розрахунок ширини піку та шуму нульової лінії між піками, застосована функція усунення ізотопів. Дані центрували по середньому та масштабували по Парето перед застосуванням аналізу основних компонентів. Маркери, як цікавлять, орієнтовно ідентифікували на основі визначення їх молекулярної формули та фрагментів, отриманих при індукованій зіткненнями дисоціації.

#### Приклад 1:

7-метилсульфонілгептилглюкозинолат ідентифікували на поверхні мутанта десатурази жирних кислот 2 (fad2-3) *Arabidopsis thaliana*, що показав сильну стійкість до некротрофного грибового патогену *Botrytis cinerea* на стадії котиледону (Фіг. 1). Підтвердження антигрибової дії 7-метилсульфонілгептилізотіоціанату (7MSOОН, єдиний комерційно доступний побічний продукт 7-метилсульфоніл-гептилглюкозинолату) по відношенню до *B. cinerea* та інших грибових патогенів проводили *in vitro* шляхом прямого нанесення ізотіоціанату на картопляно-декстрозний агар у різних дозуваннях. Отримані результати не виявили фунгітоксичної зазначеної сполуки по відношенню до *Botrytis cinerea* у діапазоні доз від 10 до 1500 мкМ. Більш високі дози не застосовували через можливу токсичну дію даної сполуки. Однак дані біологічного тесту на інших грибових патогенах дозволили визначити, що 7-метилсульфонілгептилізотіоціанат є фунгітоксичним для деяких видів грибів, показаних у таблиці 1.

Таблиця 1

Антигрибові властивості 7-метилсульфонілгептилізотіоціанату, виявлені у тесті на антигрибову дію *in vitro*

#	Види грибів	Організм хазяїна	ED <sub>50</sub> (мкМ)
1	<i>Septoria tritici</i>	Пшениця	350
2	<i>Colletotrichum dematium</i>	Різні види рослин	650
3	<i>Serpula lacrymans</i>	Деревина	150
4	<i>Hemenoscyphus fraxineus</i>	Ясень	770

Висновок: 7-метилсульфонілгептилізотіоціанат показав вузький спектр фунгітоксичної дії на декілька грибових патогенів рослин та виявився неактивним для широкого ряду грибових патогенів рослин, таких як *Botrytis cinerea* (сіра пліснява) або *Fusarium oxysporum*. Однак автори неочікувано виявили, що комбінація побічних продуктів глюкозинолатів приводить до сильної фунгітоксичної дії на широкий ряд агрономічно важливих грибових патогенів (43 види, список видів див. у таблиці на стор. 25 – 26).

#### Приклад 2:

Дослідження інших природних побічних продуктів глюкозинолатів та їх комбінацій привело авторів до ідентифікації сумішей сполук з високою антигрибковою ефективністю. Автори застосовували ефективну дозу, що робить кількісну дію на 95 % популяції (ED<sub>95</sub>) у максимальній концентрації 1500 мкМ для дослідження фунгітоксичної дії досліджуваних сполук. Автори

5  
10  
15

вибрали два найбільш широко розповсюджені грибові патогени для проведення випробування на токсичність: *Botrytis cinerea* (патоген 1400 видів рослин) та *Fusarium oxysporum* (патоген широкого ряду видів рослин, наприклад, томатів, бананів). Вибір таких грибових патогенів був викликаний відсутністю якої-небудь ефективної органічної обробки (менше 60 % ефективності) на ринку, що створює необхідність у ідентифікації нових ефективних продуктів, які фермери

10  
15

можуть застосовувати без ризику для свого здоров'я та для навколишнього середовища. Спочатку автори випробовували окремі молекули 8-метилсульфонілоктил- (8MSOON) та 8-метилсульфінілоктил- (8MSOH) ізотіоціанатів, які не показали фунгітоксичної дії на *Botrytis cinerea* та *Fusarium oxysporum*. Однак при об'єднанні 8-метилсульфонілоктил- (8MSOON) та 8-метилсульфінілоктил- (8MSOH) ізотіоціанатів вони стали високотоксичними для *B. cinerea* (1400 мкМ) та *F. oxysporum* (923,64 мкМ).

15  
20

Неочікувано, випробування на токсичність 8-метилсульфонілоктилнітрилу (8MSOON) та 8-метилсульфонілоктилізотіоціанату (8MSOON) показали різну дію на два види грибів. Комбінація нітрилу та ізотіоціанатів була токсична для *B. cinerea* у дозуванні 850 мкМ (нижче, ніж комбінація двох ізотіоціанатів). Однак, ця комбінація робила помірну дію на розвиток *F. oxysporum*. Для цього грибового патогену фунгітоксична дія була отримана для комбінації 8MSOON+8MSOH, з EC<sub>95</sub> 923,64 мкМ.

20  
25

Комбінація трьох молекул (ізотіоціанатів та нітрילів) не привела до збільшення фунгітоксичної дії зазначених молекул та виявилася на тому ж рівні, що і для однієї сполуки, з найбільш ефективною комбінацією з 2 молекул. Результати для окремих молекул та їх комбінацій представлені у таблиці 2.

Таблиця 2

Фунгітоксична дія різних побічних продуктів глюкозинолату (комбінації та окремі молекули) на *Botrytis cinerea* та *Fusarium oxysporum*.

ED <sub>95</sub>	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>F. oxysporum</i>
8MSOH	<1500	<1500
8MSOON	<1500	<1500
8MSOON	<1500	<1500
8MSOH+8MSOON	<1500	<1500
8MSOON+8MSOON	850	<1500
8MSOON+8MSOH	1400	923,64
8MSOON+8MSOON+8MSOH	850	1125,08

Висновок: побічні продукти метилсульфоніл- та метилсульфінілглюкозинолатів, застосовувані окремо, не показали фунгітоксичної дії на найбільш розповсюджені грибові патогени рослин у випробуваних концентраціях. Однак комбінації метилсульфонілізотіоціанатів з метилсульфонілнітрилами, -тіоціанатами або метилсульфінілізотіоціанатами може привести до фунгітоксичної дії.

30

Приклад 3:

Перевірка інших аліфатичних ізотіоціанатів привела авторів до випробування комбінацій 6-метилсульфонілгексилізотіоціанатів (6MSOON) з: 6-метилсульфінілгексил (6MSOH), 4-метилсульфінілбутил (4MSOH), 8-метилсульфінілоктил (8MSOH) та 8-метилсульфонілоктил (8MSOON) ізотіоціанатами на їх фунгітоксичну дію на *Fusarium gramineum* (патоген ячменю та пшениці) та *Phytophthora sacorum* (патоген 200 видів рослин).

35

Автори виявили, що створення комбінації зі слабоактивними сполуками може неочікувано привести до підвищеної фунгітоксичної дії на велику кількість грибових патогенів. Наприклад, як 6MSOON, так і 6MSOH не є фунгістатичними для *Fusarium gramineum* у дозуванні 1500 мкМ. Однак при застосуванні у суміші (комбінація 6MSOON та 6MSOH) вони стають сильно фунгітоксичними з ефективним дозуванням 116,8 мкМ, що робить кількісну дію на 50 % популяції (ED<sub>50</sub>). Аналогічні ефекти спостерігались для інших комбінацій для обох видів грибів.

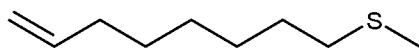
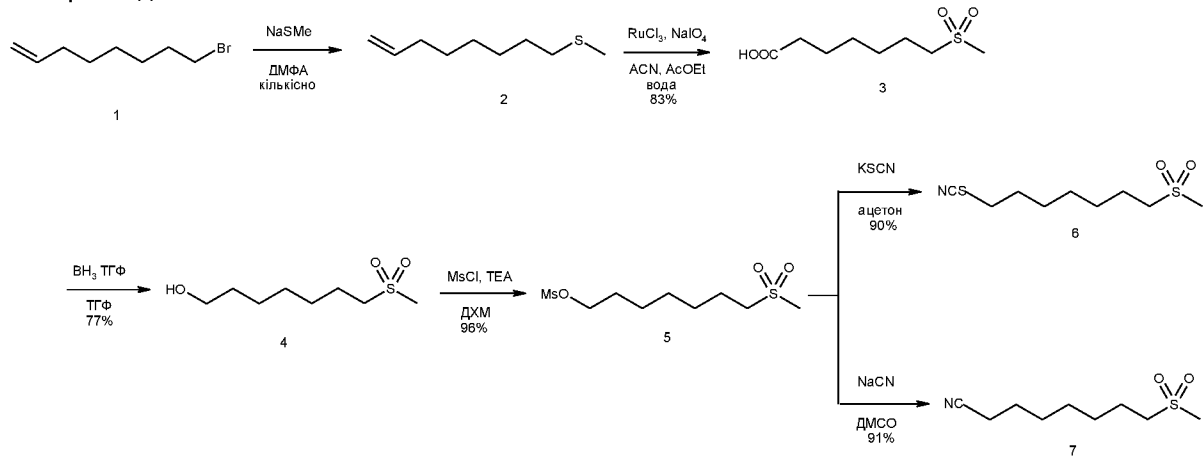
40  
45

Фунгітоксична дія ізотіоціанатів у різних комбінаціях на *P. cactorum* та *F. gramineum*.

ED <sub>50</sub>	<i>P. cactorum</i>	<i>F. gramineum</i>
6MSOOH	<1500	<1500
6MSOH	667,27	<1500
4MSOH	<1500	628,38
8MSOOH	628,38	463,882
6MSOOH+6MSOH	207,17	116,84
6MSOOH+4MSOH	10	10
6MSOOH+8MSOOH	192,9	144,27

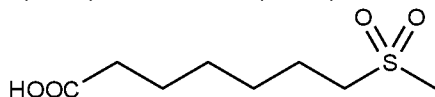
Висновок: комбінація метилсульфоніл- та метилсульфінілізотіоціанатів з різною довжиною вуглецевих ланцюгів показала сильні фунгітоксичні властивості проти широкого ряду грибкових патогенів. Результати привели до розробки нових натуральних органічних продуктів, які можна застосовувати у сільському господарстві, наприклад, для попередження зараження патогенами. Розробка нових комбінацій продуктів особливо корисна для зниження застосування хімічних пестицидів, а також їх дозувань. Крім того, завдяки високій ефективності ці нові комбінації дуже корисні для сприяння розвитку біофермерства.

Приклад 4: Хімічний синтез



Метил-(окт-7-ен-1-іл)-сульфан (2). До суспензії гіометоксиду натрію (3,23 г, 46,0 ммоль) у диметилформаміді (85 мл) додавали розчин 8-бромокт-1-ену (8 г, 41,9 ммоль) у диметилформаміді (195 мл) при 0 °С та перемішували реакційну суміш при кімнатній температурі впродовж 14 год. Розбавляли реакційну суміш насиченим розчином хлориду амонію, а потім екстрагували ефіром (3 рази), висушували об'єднані органічні шари над сульфатом натрію, фільтрували та концентрували при зниженому тиску, отримуючи метил-(окт-7-ен-1-іл)-сульфан (7 г, 44 ммоль), який використовували на наступній стадії без додаткового очищення.

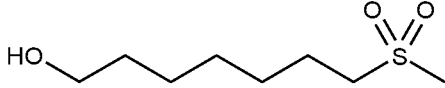
<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, Хлороформ-d) δ 1,26 – 1,45 (м, 6H), 1,50 – 1,67 (м, 2H), 2,00 – 2,08 (м, 2H), 2,09 (с, 3H), 2,44 – 2,54 (м, 2H), 4,84 – 5,06 (м, 2H), 5,68 – 5,90 (м, 1H).



7-(метилсульфоніл)-гептанова кислота (3). До льодяного розчину метил-(окт-7-ен-1-іл)-сульфану (2) у ацетонітрилі (139 мл) та етилацетаті (139 мл) додавали тригідрат трихлориду рутенію (197 мг, 0,834 ммоль), а потім воду (139 мл), та перемішували отриману суміш за допомогою механічної мішалки. До цього розчину при перемішуванні додавали періодат натрію (71,3 г, 334 ммоль) частинами впродовж 10 хвил. (обережно, можливий вибух). Після закінчення додавання суміш перемішували впродовж ночі при кімнатній температурі. Розділяли шари та промивали органічний шар насич. NaHCO<sub>3</sub>, поки промивні розчини не покажуть лужного рН. Усі

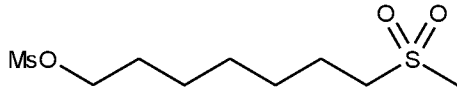
зібрані водні шари промивали етилацетатом, а потім підкисляли з використанням 6N HCl, з наступною екстракцією етилацетатом (3 рази). Об'єднані органічні шари висушували над сульфатом натрію, фільтрували та концентрували при зниженому тиску, отримуючи 7-(метилсульфоніл)-гептанову кислоту (3) (7,25 г, 34,8 ммоль) з виходом 83 %. Аналітичний зразок готували шляхом розтирання чорного продукту з ефіром, фільтрування та висушування на повітрі, а решту матеріалу використовували на наступній стадії без додаткового очищення.

$^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц, хлороформ-d)  $\delta$  1,34 – 1,56 (м, 4H), 1,66 (м, 2H), 1,79 – 1,93 (м, 2H), 2,37 (т, J=7,3 Гц, 2H), 2,90 (с, 3H), 2,95 – 3,07 (м, 2H).



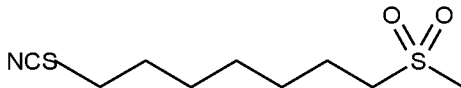
7-(метилсульфоніл)-гептан-1-ол (4). До розчину 7-(метилсульфоніл)-гептанової кислоти (3) (1 г, 4,80 ммоль) у тетрагідрофурані (60 мл) додавали розчин 1 М у ТГФ комплексу борану з тетрагідрофураном (14,40 мл, 14,40 ммоль) краплями при 0 °С у інертній атмосфері, та перемішували реакційну суміш при кімнатній температурі впродовж 3 год. Реакційну суміш заливали насиченим розчином хлориду амонію, потім розділяли шари та екстрагували водний шар етилацетатом (3 рази). Об'єднані органічні шари висушували над безводним сульфатом натрію, фільтрували та концентрували при зниженому тиску. Чорновий продукт очищали за допомогою ФХ (Biotage, KP Sil-25g, ДХМ, етилацетат, 0 – 100 %), отримуючи 7-(метилсульфоніл)-гептан-1-ол (4) (0,72 г, 3,71 ммоль, вихід 77 %) у вигляді білої твердої речовини.

$^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц, хлороформ-d)  $\delta$  1,35 – 1,51 (м, 6H), 1,57 (м, 2H), 1,86 (м, 2H), 2,90 (с, 3H), 2,96 – 3,07 (м, 2H), 3,65 (тд, J=6,5, 1,0 Гц, 2H).



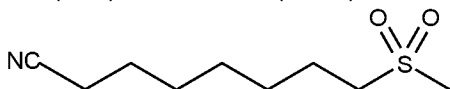
7-(метилсульфоніл)-гептилметансульфонат (5). До розчину 7-(метилсульфоніл)-гептан-1-олу (4) (0,7 г, 3,60 ммоль) у дихлорметані (36,0 мл) додавали триетиламін (1,023 мл, 7,21 ммоль) та охолоджували суміш до 0 °С. До цієї суміші додавали метансульфонілхлорид (0,349 мл, 4,50 ммоль), а потім перемішували реакційну суміш при кімнатній температурі впродовж 14 год. Промивали реакційну суміш 1 М розчином HCl та екстрагували водний шар ДХМ. Об'єднані органічні шари висушували над сульфатом натрію, фільтрували та концентрували при зниженому тиску. Отриманий чорновий продукт очищали за допомогою ФХ (Biotage, KP Sil-25g, ДХМ – етилацетат, 0 – 40 %), отримуючи 7-(метилсульфоніл)-гептилметансульфонат (5) (940 мг, 3,45 ммоль, вихід 96 %) у вигляді білої твердої речовини.

$^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц, хлороформ-d)  $\delta$  1,34 – 1,53 (м, 6H), 1,68 – 1,94 (м, 4H), 2,90 (с, 3H), 2,96 – 3,06 (м, 5H), 4,18 – 4,27 (м, 2H).



1-(метилсульфоніл)-7-тіоціанатогептан (6). До розчину 7-(метилсульфоніл)-гептилметансульфонату (5) (0,2 г, 0,734 ммоль) у ацетоні (5 мл) додавали тіоціанат калію (0,714 г, 7,34 ммоль) та перемішували отриману суміш при 60 °С у запечатаній пробірці впродовж 18 год. Потім охолоджену суміш фільтрували через пористий скляний фільтр та отриманий залишок декілька разів промивали ефіром. Об'єднані фільтрати випарювали досуха, а потім очищували за допомогою ФХ (Biotage, KP Sil-25g, ДХМ, етилацетат 0 – 40 %), отримуючи 1-(метилсульфоніл)-7-тіоціанатогептан (6) (156 мг, 0,663 ммоль, вихід 90 %) у вигляді безбарвного масла.

$^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц, хлороформ-d)  $\delta$  1,35 – 1,55 (м, 6H), 1,84 (м, 4H), 2,91 (с, 3H), 2,94 (т, J=7,2 Гц, 2H), 2,98 – 3,05 (м, 2H).

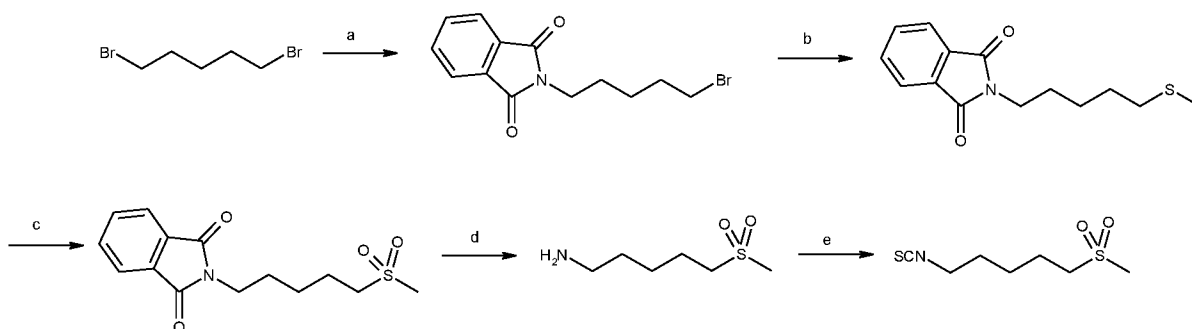


8-(метилсульфоніл)-октаннітрил (7). До розчину 7-(метилсульфоніл)-гептилметансульфонату (5) (0,2 г, 0,734 ммоль) у диметилсульфоксиді (5 мл) додавали ціанід натрію (0,180 г, 3,67 ммоль) та перемішували суміш при 60 °С у запечатаній пробірці впродовж 18 год. Охолоджену реакційну суміш розбавляли етилацетатом та промивали насиченим розчином хлориду амонію. Об'єднані органічні шари висушували над сульфатом натрію, фільтрували та концентрували при зниженому тиску. Отриманий чорновий продукт очищували

за допомогою ФХ (Biotage, КР Sil-25g, ДХМ, етилацетат, 0 – 40 %), отримуючи 8-(метилсульфоніл)-октаннітрил (7) (0,136 г, 0,669 ммоль, вихід 91 %) у вигляді безбарвного масла.

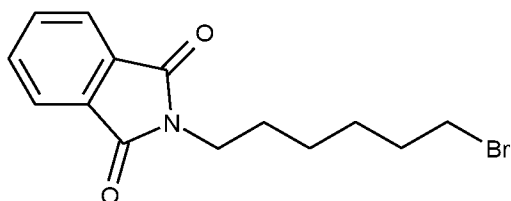
<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, хлороформ-d) δ 1,33 – 1,55 (м, 6H), 1,60 – 1,74 (м, 2H), 1,79 – 1,94 (м, 2H), 2,35 (тд, J=7,0, 0,6 Гц, 2H), 2,90 (с, 3H), 2,96 – 3,05 (м, 2H).

5 Синтез 5MSOОН



Умови: а. фталімід, хлорид N-бензил-N,N-діетилетанамінію, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, ацетон, 24 °С, 2 дні; 38 %;  
 б. NaSMe, ДМФА, 0-КТ °С, 16 год.; кількісний вихід;  
 с. мХГБА, ДХМ, 0 °С, 14 год. кількісний вихід;  
 д. NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O, MeOH, 24 °С, 16 год.; 92 %;  
 е. тіофосген, NaOH, CHCl<sub>3</sub>, 0 °С, 2 год., 59%

### 2-(5-бромпентил)-ізоіндолін-1,3-діон (SVB-18-025)



10

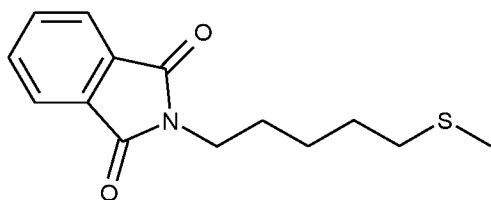
До розчину фталімиду (3 г, 20,39 ммоль) у ацетоні (102 мл) додавали хлорид N-бензил-N, N-діетилетанамінію (0,511 г, 2,243 ммоль), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (8,45 г, 61,2 ммоль) та 1,5-дибромпентан (14,07 г, 61,2 ммоль) та перемішували реакційну суміш при КТ впродовж 14 год. Реакційну суміш упарювали досуха та отриманий залишок ресуспендували у воді, екстрагували ДХМ (3 рази), висушували об'єднані органічні шари над сульфатом натрію, фільтрували та концентрували при зниженому тиску, отримуючи чорновий продукт. Його очищали за допомогою ФХ (SiO<sub>2</sub>, гексан, етилацетат, 0 – 40 %), отримуючи 2-(5-бромпентил)-ізоіндолін-1,3-діон (2,3 г, 7,77 ммоль, вихід 38,1 %) у вигляді безбарвного масла.

15

<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, хлороформ-d) δ 7,89 – 7,80 (м, 2H), 7,77 – 7,66 (м, 2H), 3,75 – 3,63 (м, 2H), 3,44 – 3,31 (м, 2H), 1,99 – 1,84 (м, 2H), 1,79 – 1,63 (м, 2H), 1,60 – 1,42 (м, 2H).

20

### 2-(5-(метилтіо)-пентил)-ізоіндолін-1,3-діон (SVB-18-033)



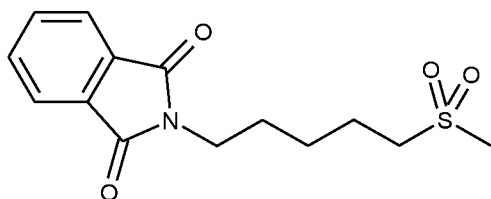
25

До суспензії NaSMe (0,833 г, 11,89 ммоль) у ДМФА (21,83 мл) додавали розчин 2-(5-бромпентил)-ізоіндолін-1,3-діону (3,2 г, 10,80 ммоль) у ДМФА (50,2 мл) при 0 °С та перемішували реакційну суміш при КТ впродовж 14 год. Розбавляли реакційну суміш розчином NH<sub>4</sub>Cl, а потім екстрагували ефіром (3 рази), об'єднані органічні шари висушували над сульфатом натрію, фільтрували та концентрували при зниженому тиску, отримуючи чорновий продукт. Його використовували на наступній стадії без додаткового очищення.

30

<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, хлороформ-d) δ 7,90 – 7,80 (м, 2H), 7,78 – 7,66 (м, 2H), 3,74 – 3,63 (м, 2H), 2,54 – 2,42 (м, 2H), 2,08 (с, 3H), 1,80 – 1,57 (м, 5H), 1,52 – 1,37 (м, 2H).

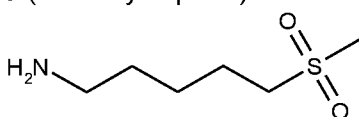
### 2-(5-(метилсульфоніл)-пентил)-ізоіндолін-1,3-діон (SVB-18-038)



До розчину 2-(5-(метилтіо)-пентил)-ізоіндолін-1,3-діону (2,8 г, 10,63 ммоль) у ДХМ (53,2 мл) при 0 °С додавали частинами м-ХПБА (6,55 г, 26,6 ммоль) та перемішували реакційну суміш при КТ впродовж 14 год. До реакційної суміші додавали 100 мл розбавленого 1:1 насиченого розчину NaHCO<sub>3</sub> та 10 % розчин тіосульфату натрію, та перемішували впродовж 1 год., розділяли шари та екстрагували водний шар ДХМ (3 рази), об'єднані органічні шари висушували над сульфатом натрію, фільтрували та концентрували, отримуючи 2-(5-(метилсульфоніл)-пентил)-ізоіндолін-1,3-діон (3,1 г, 10,50 ммоль, вихід 99 %) у вигляді білої твердої речовини.

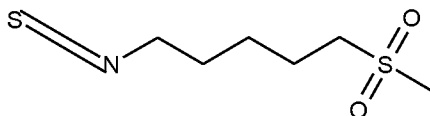
<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, хлороформ-d) δ 7,89 – 7,82 (м, 2H), 7,77 – 7,68 (м, 2H), 3,71 (т, J=7,0 Гц, 2H), 3,07 – 2,95 (м, 3H), 2,93 – 2,87 (м, 4H), 1,99 – 1,86 (м, 2H), 1,82 – 1,67 (м, 2H), 1,61 – 1,43 (м, 2H).

5-(метилсульфоніл)-пентан-1-амін (SVB-18-042)



До розчину 2-(5-(метилсульфоніл)-пентил)-ізоіндолін-1,3-діону (3,1 г, 10,50 ммоль) у метанолі (52,5 мл) при КТ додавали гідрат гідазину (1,020 мл, 20,99 ммоль) та перемішували реакційну суміш при КТ впродовж 2 год. Реакційну суміш концентрували у вакуумі, потім отриманий залишок суспендували у 1 М розчині КОН, екстрагували етилацетатом (3 рази), об'єднані органічні шари висушували над сульфатом натрію, фільтрували та концентрували при зниженому тиску, отримуючи 5-(метилсульфоніл)-пентан-1-амін (1,6 г, 9,68 ммоль, вихід 92 %) у вигляді білої твердої речовини. Отриманий матеріал був достатньо чистим для використання у наступній реакції.

1-ізотіоціанато-5-(метилсульфоніл)-пентан (SVB-18-048)



До розчину 5-(метилсульфоніл)-пентан-1-аміну (0,25 г, 1,513 ммоль) у хлороформі (7,56 мл) при 0 °С додавали тіофосген (0,150 мл, 1,967 ммоль) з наступним додаванням 5 % водного розчину NaOH, та перемішували отриману суміш при 0 °С впродовж 2 год. реакційну суміш розбавляли водою, потім розділяли шари та екстрагували водний шар ДХМ (3 рази). Об'єднані органічні екстракти висушували над сульфатом натрію, фільтрували та концентрували при зниженому тиску, отримуючи чорновий продукт. Його очищали за допомогою ФХ (SiO<sub>2</sub>, гексан, етилацетат, 0 – 40 %), отримуючи 1-ізотіоціанато-5-(метилсульфоніл)-пентан (0,185 г, 0,892 ммоль, вихід 59,0 %).

<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, хлороформ-d) δ 3,56 (т, J=6,3 Гц, 2H), 3,10 – 3,00 (м, 2H), 2,93 (д, J=0,7 Гц, 3H), 1,98 – 1,86 (м, 2H), 1,83 – 1,70 (м, 2H), 1,68 – 1,53 (м, 2H).

Приклад 5:

Вивчення природних комбінацій ізотіоціанатів з різними довжинами вуглецевих ланцюгів та сульфінільними або сульфонільними групами привело авторів до ідентифікації високоефективних антигрибкових сумішей сполук. Автори використовували ефективну дозу, яка виробляє кількісну дію на 95 % популяції (ED95), у максимальній концентрації 1500 мкМ для вивчення фунгітоксичної дії аналізованих сполук. Автори вибрали другий за поширеністю з грибкових патогенів для проведення випробування на токсичність - *Botrytis cinerea* (патоген 1400 видів рослин) через його всесвітню поширеність та недостатню кількість ефективних органічних продуктів для боротьби з цим грибковим патогеном.

Спочатку автори вибрали 4 сполуки, які показали фунгітоксичність для широкого ряду грибкових патогенів, наприклад, *Phytophthora infestans*, *Fusarium gramineum*: 5-метилсульфонілпентил- (5MSOON), 5-метилсульфінілпентил- (5MSOH), 8-метилсульфонілоктил- (8MSOON) та 8-метилсульфінілоктил- (8MSOH) ізотіоціанати. Однак жодна з цих сполук окремо не проявила фунгітоксичної дії на *Botrytis cinerea*. Для покращення властивостей проти *Botrytis* автори створили комбінації сполук 5MSOON, 5MSOH, 8MSOON та

8MSOH. Неочікувано лише дві комбінації проявили антигрибкові властивості: перша, 8MSOOH з 8MSOH (ED<sub>95</sub> 1400 мкМ) та друга, 8MSOH з 5MSOOH, що стала високотоксичною для *B. cinerea* у дозуванні 550 мкМ. Результати для окремих молекул та їх комбінацій представлені у таблиці 4.

5

Таблиця 4

Фунгітоксична дія різних ізотіоціанатів (комбінацій та окремих молекул) на *Botrytis cinerea*.

ED <sub>95</sub>	<i>Botrytis cinerea</i>
5MSOOH	<1500
5MSOH	<1500
8MSOOH	<1500
8MSOH	<1500
5MSOOH+5MSOH	<1500
8MSOOH+8MSOH	1400
8MSOOH+5MSOH	<1500
8MSOOH+5MSOOH	<1500
8MSOH+5MSOOH	550
8MSOH+5MSOH	<1500

Висновок: побічні продукти глюкозинолатів, такі як метилсульфоніл- та метилсульфінілізотіоціанати, що застосовують окремо, не показали сильної фунгітоксичної дії на найбільш широко розповсюджений грибовий патоген рослин – *Botrytis cinerea* у випробуваних концентраціях. Однак при комбінуванні сполук, які мають різні довжини вуглецевих ланцюгів та містять сульфінільні або сульфонільні групи, привело до сильної фунгітоксичної дії у низьких дозуваннях, таким чином, посилюючи фунгітоксичну дію у порівнянні з комбінаціями молекул з однаковими довжинами вуглецевих ланцюгів та відмінностями тільки у функціональних групах (тобто сульфінільна та сульфонільна групи).

10

15

Приклад 6:

Дослідження фунгітоксичних властивостей окремих та алифатичних ізотіоціанатів у комбінації привело авторів до поглибленого вивчення дій 8-метилсульфонілоктил- (8MSOOH) та 8-метилсульфінілоктил- (8MSOH) ізотіоціанатів. Автори провели дослідження фунгітоксичності з використанням: *Fusarium gramineum* (патоген ячменю та пшениці), *Phytophthora infestans* (патоген пасльонових) та *Guignardia bidwellii* (патоген винограду).

20

Автори виміряли фунгітоксичну дію, викликану окремими і молекулами 8MSOOH і 8MSOH у комбінації на 50 % популяції грибів (ED<sub>50</sub>). Результати тесту включені у Таблицю 5.

Таблиця 5

Фунгітоксична дія ізотіоціанатів у різних комбінаціях на *P. infestans*, *F. gramineum* та *G. bidwellii*.

ED <sub>50</sub>	<i>P. infestans</i>	<i>F. gramineum</i>	<i>G. bidwellii</i>
8MSOH	26,36	292,03	30,38
8MSOOH	350	22,18	463,88
8MSOOH+8MSOH	10	61,73	40,2

25

Висновок: Комбінація молекул з однаковими довжинами вуглецевих ланцюгів метилсульфоніл- та метилсульфінілізотіоціанатів не посилює фунгітоксичні властивості проти *F. gramineum* та *G. bidwellii*, але виявилася ефективною проти *P. infestans*.

Приклад 7:

Фунгітоксичні дії ізотіоціанатів у комбінації на три некротрофні види грибів

30

Автори перевірили фунгітоксичну дію ізотіоціанатів у комбінації на три некротрофні види грибів, тобто *Alternaria radicina* (клас: Дотидеоміцети; порядок: Плеоспорові; хазяїн: морква), *Fusarium gramineum* (клас: Сордаріоміцети; порядок: Гіпокрейні; хазяїн: злаки) та *Plectosphaerella cucumerina* (клас: Сордаріоміцети; порядок: Гломерелові; хазяїн: томат та гарбузові). Всього було випробувано 133 комбінації на трьох видах грибів.

35

Ізотіоціанати були отримані від SpiroChem (Basel, Switzerland) та LKT LABS (Minnesota, United States of America). Усі отримані сполуки розчиняли у диметилсульфоксиді (ДМСО). Штами грибів, використовувані для грибового біологічного тесту *in vitro*, були отримані з

мікотеки Agroscope (www.mycoscope.bcis.ch).

Фунгітоксичну дію випробовували у 48-лункових планшетах для культури тканин. Докладніше, грибкові патогени рослин інокулювали на КДА, доповнений ізотіоціанатами, попередньо розчиненими у різних концентраціях (10, 150, 250, 375, 500, 700, 850 мкМ) у КДБ. 2  
5 мм агарову пробку (Dufour et al. 2015) з раніше вирощеними грибковими культурами поміщали у кожну лунку, для кожної концентрації використовували 3 біологічні повтори. Планшети інкубували впродовж одного тижня у фітотроні (80 % відносна вологість, постійна температура 23 °С, при циклах, що чергуються, 16 год. день та 8 годин ніч). Ріст міцеліїв вимірювали через 7 днів за допомогою ImageJ (<http://imagej.net/Welcome>), ED<sub>50</sub> оцінювали, як описано у Schnee et al., 2013. Синергетичну фунгітоксичну дію оцінювали, як описано у роботі Chou (2006), та використовували програмне забезпечення CompuSyn ([www.combosyn.com](http://www.combosyn.com)) для визначення показника адитивності (ПА) для комбінацій двох молекул та присутності синергізму (ПА<1). Результати, отримані для найкращих комбінацій для кожного виду грибів, приведені у таблицях 6, 7 та 8. Показані ED<sub>50</sub> (у мкМ) для двох молекул окремо, для комбінації молекул (завжди менше), та найменший показник адитивності для щонайменше однієї даної концентрації у діапазоні від 10 до 850 мкМ. Усі ПА, показані у таблиці нижче, були менше 0,26, що вказує на те, що молекули у комбінації мають сильний синергізм та ефективні проти випробуваних видів грибів.

Додатковими молекулами, випробуваними у цих комбінаціях, є: 1-(ізотіоціанатометил)-3-(4-(метилсульфініл)-бутил)-бензол (8ASOH), 1-(ізотіоціанатометил)-3-(4-(метилсульфоніл)-бутил)-бензол (8ASOOH), (E)-1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-окт-2-ен (8CSOH), 1-(етилсульфініл)-8-ізотіоціанатооктан (8ESOH), 1-(етилсульфоніл)-ізотіоціанатооктан (8ESOOH), 1-ізотіоціанато-3-(метилсульфініл)-пропан (3MSOH), 1-ізотіоціанато-3-(метилсульфоніл)-пропан (3MSOOH), 1-ізотіоціанато-9-(метилсульфініл)-нонан (9MSOH) та 1-ізотіоціанато-9-(метилсульфоніл)-нонан (9MSOOH).

Таблиця 6

Найкращі комбінації молекул проти *Alternaria Radicina* (молекули, для яких вказано EC<sub>50</sub>, що дорівнює 850, не мали фунгітоксичної дії у зазначеному діапазоні).

Комбінація	EC <sub>50</sub> молекули 1	EC <sub>50</sub> молекули 2	EC <sub>50</sub> комбінації	ПА комбінації
8ASOH/8ASOOH	723,3	850	156,08	0,02872
8CSOH/8ESOH	704,24	472,4	390	0,08735
8CSOH/8ESOOH	472,4	850	474,46	0,115
8CSOH/3MSOOH	704,24	468,89	479,2	0,02991
8CSOH/7MSOH	704,24	536,96	534,04	0,08249
8CSOH/3MSOH	704,24	786,17	625,78	0,25268

Таблиця 7

Найкращі комбінації молекул проти *Fusarium gramineum* (молекули, для яких зазначено EC<sub>50</sub>, що дорівнює 850, не мали фунгітоксичної дії у зазначеному діапазоні).

Комбінація	EC <sub>50</sub> молекули 1	EC <sub>50</sub> молекули 2	EC <sub>50</sub> комбінації	ПА комбінації
8MSOH/3MSOOH	316,78	386,88	252,41	0,24857
8MSOH/7MSOH	316,78	586,15	258,16	0,16426
8MSOH/9MSOH	316,78	552,9	263,27	0,15388
8MSOH/6MSOH	316,78	850	266,17	0,25732
8CSOH/8MSOH	850	316,78	274,62	0,13763
8CSOH/3MSOOH	850	386,88	282,16	0,10929
8MSOH/9MSOOH	316,78	850	283,52	0,13736
8CSOH/3MSOH	850	525,24	383,96	0,04368
8CSOH/7MSOH	850	586,15	389,42	0,03555
8ESOH/7MSOH	533,3	586,15	414,39	0,12419
8ESOH/3MSOH	533,3	525,24	455,21	0,15703
8MSOOH/7MSOH	850	586,15	540,78	0,06049

Таблиця 8

Найкращі комбінації молекул проти *Plectosphaerella cucumerina* (молекули, для яких вказано EC<sub>50</sub>, що дорівнює 850, не мали фунгітоксичної дії у зазначеному діапазоні).

Комбінація	EC <sub>50</sub> молекули 1	EC <sub>50</sub> молекули 2	EC <sub>50</sub> комбінації	ПА комбінації
8CSOH/7MSOH	272,83	337,32	145,68	0,18832
8MSOON/3MSOH	850	626,83	483,44	0,09631
8MSOON/3MSOON	850	536,05	521,17	0,03061

Приклад 8:

5 In vivo грибовий біологічний тест з *Plasmopara viticola* (клас: Ооміцети; порядок: Пероноспорів; біотрофний патоген виноградної лози).

1-ізотіоціанато-8-(метилсульфоніл)-октан та 1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-октан були отримані від SpiroChem (Basel, Switzerland). Сполуки розчиняли у диметилсульфоксиді (ДМСО).

10 Листові диски збирали з 4-го та 5-го листків *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon, попередньо промитих водою. Для кожної концентрації (0, 100, 250, 500, 750 та 1000 мкМ) 10 сухих листових дисків поміщали у чашки Петрі на вологий фільтрувальний папір. Листові диски обприскували різними концентраціями активних молекул та висушували під стерильним ковпаком. Після висушування їх обприскували розчином *Plasmopara viticola* (10<sup>5</sup> спор/мл), закривали чашки Петрі та інкубували у темноті. Через 1 год. чашки Петрі випадковим чином поміщали на полицю з нормальними умовами день/ніч. Відсоток інфекції розраховували через 7 днів, як описано у роботі Schnee et al. (2013).

15 *Plasmopara viticola*

Таблиця 9

Фунгітоксична активність ізотіоціанатів у комбінації проти *Plasmopara viticola*.

Комбінація	EC <sub>50</sub>
8MSOH/8MSOON	94,2

20 Випробувана комбінація показала високу ефективність проти цього біотрофного грибового патогену (EC<sub>50</sub>: 94,2).

Приклад 9:

*Tricophyton rubrum* (клас: Еуроціоміцети; порядок: Онігенові; патоген шкіри та нігтів людини)

1-ізотіоціанато-8-(метилсульфоніл)-октан та 1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-октан були отримані від SpiroChem (Basel, Switzerland). Сполуки розчиняли у диметилсульфоксиді (ДМСО).

25 Фунгітоксичну дію випробовували у 48-лункових планшетах для культури тканин. *Tricophyton rubrum* інокулювали у КДА, доповнений ізотіоціанатами, попередньо розчиненими у різних концентраціях (10, 150, 250, 375, 500, 700, 850 мкМ) у КДБ. 2 мм агарові пробки (Dufour et al. 2015) з раніше вирощеними грибовими культурами поміщали у кожну лунку, для кожної концентрації використовували 3 біологічні повтори. Планшети інкубували впродовж одного тижня у фітотроні (80 % відносній вологості, постійна температура 23 °C, при циклах, що чергуються, 16 год. день та 8 год. ніч). Ріст міцеліїв вимірювали через 7 днів за допомогою ImageJ (<http://imagej.net/Welcome>), EC<sub>50</sub> оцінювали, як описано у роботі Schnee et al., 2013.

30 *Tricophyton rubrum*

Таблиця 10

Фунгітоксична дія ізотіоціанатів у комбінації проти *Tricophyton rubrum*

Комбінація	EC <sub>50</sub>
8MSOH/8MSOON	275,2

35

Випробувана комбінація показала високу ефективність проти грибового патогену людини (EC<sub>50</sub>: 275,2).

Приклад 10:

*Thamnidium elegans* (клас Зигоміцети; порядок Мукорові; м'ясо, що зберігається)

1-ізотіоціанато-8-(метилсульфоніл)-октан та 1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-октан були отримані від SpiroChem (Basel, Switzerland). Сполуки розчиняли у диметилсульфоксиді (ДМСО).

Фунгітоксичну дію випробовували у 48-лункових планшетах для культури тканин. *Thamnidium elegans* інокулювали у КДА, доповнений ізотіоціанатами, попередньо розчиненими у різних концентраціях (10, 150, 250, 375, 500, 700, 850 мкМ) у КДБ. 2 мм агарові пробки (Dufour et al. 2015) з раніше вирощеними грибковими культурами поміщали у кожен лунку, для кожної концентрації використовували 3 біологічні повтори. Планшети інкубували впродовж одного тижня у фітотроні (80 % відносній вологості, постійна температура 23 °С, при циклах, що чергуються, 16 год. день та 8 год. ніч). Ріст міцеліїв вимірювали через 7 днів за допомогою ImageJ (<http://imagej.net/Welcome>), EC<sub>50</sub> оцінювали, як описано у роботі Schnee et al., 2013.

Таблиця 11

Фунгітоксична дія ізотіоціанатів у комбінації проти *Thamnidium elegans*.

Комбінація	EC <sub>50</sub>
8MSOH/8MSOON	395,0

Випробувана комбінація показала ефективність проти цього виду грибів, що розвиваються на м'ясі, що зберігається (EC<sub>50</sub>: 395).

15

Список молекул, використаних у прикладах

Скорочене позначення молекули	Назва за ІЮПАК
7MSOH	1-ізотіоціанато-7-(метилсульфініл)-гептан
8MSOON	1-ізотіоціанато-8-(метилсульфоніл)-октан
8MSOH	1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-октан
8MSOON	8-(метилсульфоніл)-октилнітрил
6MSOH	1-ізотіоціанато-6-(метилсульфініл)-гексан
4MSOH	1-ізотіоціанато-4-(метилсульфініл)-бутан
6MSOON	1-ізотіоціанато-6-(метилсульфоніл)-гексан
5MSOON	1-ізотіоціанато-5-(метилсульфоніл)-пентан
5MSOH	1-ізотіоціанато-5-(метилсульфініл)-пентан
8ASOH	1-(ізотіоціанатометил)-3-(4-(метилсульфініл)-бутил)-бензол
8ASOON	1-(ізотіоціанатометил)-3-(4-(метилсульфоніл)-бутил)-бензол
8CSOH	(E)-1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-окт-2-ен
8ESOH	1-(етилсульфініл)-8-ізотіоціанатооктан
8ESOON	1-(етилсульфоніл)-8-ізотіоціанатооктан
3MSOON	1-ізотіоціанато-3-(метилсульфоніл)-пропан
3MSOH	1-ізотіоціанато-3-(метилсульфініл)-пропан
9MSOH	1-ізотіоціанато-9-(метилсульфініл)-нонан
9MSOON	1-ізотіоціанато-9-(метилсульфоніл)-нонан

#### ДЖЕРЕЛА ІНФОРМАЦІЇ:

- Schreiner RP, Koide RT. 1993a. Antifungal compounds from the roots of mycotrophic and non-mycotrophic plant species. *New Phytol.* 123:99-105.
- Dufour V, Stahl M, Baysse C. 2015. The antibacterial properties of isothiocyanates. *Microbiol.* 161(Pt 2):229-43.
- Lambrix V, Reichelt M, Mitchell-Olds T, Kliebenstein DJ, Gershenzon J. 2001. The Arabidopsis epithiospecifier protein promotes the hydrolysis of glucosinolates to nitriles and influences *Trichoplusia ni* herbivory. *Plant Cell.* 13(12):2793-807.
- Schnee S, Queiroz EF, Voinesco F, Marcourt L, Dubuis P-H, Wolfender J-L, Gindro K. 2013. *Vitis vinifera* canes, a new source of antifungal compounds against *Plasmopora viticola*, *Erysiphe necator*, and *Botrytis cinerea*. *J. Agric. Food Chem.* 61(23):5459-67.
- Chou TC. 2006. Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation of synergism and antagonism in drug combination studies. *Pharmacol Rev* 58:621-681, 2006.

30

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Застосування композиції, що містить комбінацію щонайменше двох сполук, вибраних з групи, що складається з таких як:
  - 5 1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-октан/1-ізотіоціанато-8-(метилсульфоніл)-октан;  
1-(ізотіоціанатометил)-3-(4-(метилсульфініл)бутил)бензол/1-(ізотіоціанатометил)-3-(4-(метилсульфоніл)бутил)бензол;  
(Е)-1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-окт-2-ен/1-ізотіоціанато-3-(метилсульфоніл)-пропан;  
(Е)-1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-окт-2-ен/1-ізотіоціанато-7-(метилсульфініл)-гептан;
  - 10 (Е)-1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-окт-2-ен/1-ізотіоціанато-3-(метилсульфініл)-пропан;  
1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-октан/1-ізотіоціанато-3-(метилсульфоніл)-пропан;  
1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-октан/1-ізотіоціанато-7-(метилсульфініл)-гептан;  
1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-октан/1-ізотіоціанато-6-(метилсульфініл)-гексан;  
(Е)-1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-окт-2-ен/1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-октан;
  - 15 1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-октан/1-ізотіоціанато-9-(метилсульфоніл)-нонан;  
1-(етилсульфініл)-8-ізотіоціанатооктан/1-ізотіоціанато-7-(метилсульфініл)-гептан;  
1-(етилсульфініл)-8-ізотіоціанатооктан/1-ізотіоціанато-3-(метилсульфініл)-пропан;  
1-ізотіоціанато-8-(метилсульфоніл)-октан/1-ізотіоціанато-7-(метилсульфініл)-гептан;  
1-ізотіоціанато-8-(метилсульфоніл)-октан/1-ізотіоціанато-9-(метилсульфініл)-нонан;
  - 20 1-ізотіоціанато-8-(метилсульфоніл)-октан/1-ізотіоціанато-3-(метилсульфініл)-пропан;  
або  
1-ізотіоціанато-8-(метилсульфоніл)-октан/1-ізотіоціанато-3-(метилсульфоніл)-пропан,  
для попередження або лікування грибкових патогенів у рослин.
2. Застосування композиції за п. 1, у якому зазначена комбінація щонайменше двох сполук являє собою суміш 1-ізотіоціанато-7-(метилсульфініл)-гептану та (Е)-1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-окт-2-ену або суміш 1-ізотіоціанато-8-(метилсульфоніл)-октану та 1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-октану.
3. Застосування композиції за п. 1 або 2, у якому зазначена композиція є фунгітоксичною та/або фунгістатичною для рослин.
- 30 4. Застосування композиції за будь-яким з пп. 1-3 для культур рослин у полі або для практичної реалізації їх *in vitro*.
5. Застосування композиції, що містить комбінацію двох сполук, що складається з 1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-октану/1-ізотіоціанато-8-(метилсульфоніл)-октану як антимікотичного засобу в їжі або напої.
- 35 6. Дезінфікуюча композиція для гігієни порожнини рота або санітарних виробів, що містить комбінацію з двох сполук, що складається з 1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-октану/1-ізотіоціанато-8-(метилсульфоніл)-октану.
7. Дезінфікуюча композиція за п. 6, у якій вироби для гігієни порожнини рота вибрані з засобу для чищення зубів, льодяника, рідкого або порошкоподібного ополіскувача для порожнини рота, розчину для покриття, агента для попередження галітозу, жувальної гумки.
- 40 8. Композиція, що містить комбінацію з двох сполук, що складається з 1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-октану/1-ізотіоціанато-8-(метилсульфоніл)-октану для застосування у способі попередження або лікування мікозу у людини або тварини.
9. Композиція для застосування за п. 8, у якій мікоз викликаний інфекціями *Candida albicans* або *Trichophyton rubrum*.
- 45 10. Фунгіцидна композиція, що містить комбінацію щонайменше двох сполук, вибраних з групи, що складається з таких як:
  - 1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-октан/1-ізотіоціанато-8-(метилсульфоніл)-октан;  
1-(ізотіоціанатометил)-3-(4-(метилсульфініл)бутил)бензол/1-(ізотіоціанатометил)-3-(4-
  - 50 (метилсульфоніл)бутил)бензол;  
(Е)-1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-окт-2-ен/1-ізотіоціанато-3-(метилсульфоніл)-пропан;  
(Е)-1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-окт-2-ен/1-ізотіоціанато-7-(метилсульфініл)-гептан;  
(Е)-1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-окт-2-ен/1-ізотіоціанато-3-(метилсульфініл)-пропан;  
1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-октан/1-ізотіоціанато-3-(метилсульфоніл)-пропан;
  - 55 1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-октан/1-ізотіоціанато-7-(метилсульфініл)-гептан;  
1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-октан/1-ізотіоціанато-6-(метилсульфініл)-гексан;  
(Е)-1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-окт-2-ен/1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-октан;  
1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-октан/1-ізотіоціанато-9-(метилсульфоніл)-нонан;  
1-(етилсульфініл)-8-ізотіоціанатооктан/1-ізотіоціанато-7-(метилсульфініл)-гептан;
  - 60 1-(етилсульфініл)-8-ізотіоціанатооктан/1-ізотіоціанато-3-(метилсульфініл)-пропан;

- 1-ізотіоціанато-8-(метилсульфоніл)-октан/1-ізотіоціанато-7-(метилсульфініл)-гептан;  
 1-ізотіоціанато-8-(метилсульфоніл)-октан/1-ізотіоціанато-9-(метилсульфініл)-нонан;  
 1-ізотіоціанато-8-(метилсульфоніл)-октан/1-ізотіоціанато-3-(метилсульфініл)-пропан;  
 або
- 5 1-ізотіоціанато-8-(метилсульфоніл)-октан/1-ізотіоціанато-3-(метилсульфоніл)-пропан.
11. Фунгіцидна композиція за п. 10, що складається з 1-ізотіоціанато-8-(метилсульфініл)-октану/1-ізотіоціанато-8-(метилсульфоніл)-октану.
12. Фунгіцидна композиція за будь-яким з пп. 10-11 у комбінації з прийнятними носіями або розріджувачами.
- 10 13. Фунгіцидна композиція за будь-яким з пп. 10-12, де зазначена фунгіцидна композиція активна проти грибкових патогенів рослин, вибраних з типів, що включають базидіоміцети, зигоміцети, ооміцети або аскоміцети.

