



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVEDČENIU

(22) Prihlásené 17 04 79
(21) (PV 2571-79)

(40) Zverejnené 15 09 80
(45) Vydané 01 05 83

209201
(11) (B1)

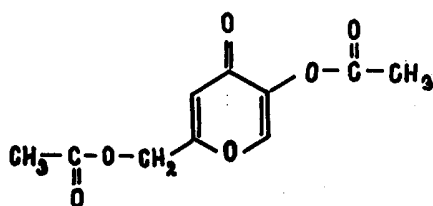
(51) Int. Cl.³
A 01 N 43/16

(75)
Autor vynálezu

BRTKO JÚLIUS ing., DOBIAS JOSEF ing., CSc. a
NEMEC PAVEL člen korešpondent, BRATISLAVA

(54) Insekticidný prostriedok a jeho semisyntetický spôsob výroby

Vynález sa týka insekticidného prostriedku na ochranu poľnohospodárskych a ovocinárskych kultúr voči škodcom širokého spektra, ktorý obsahuje ako účinnú látku [5-acetyloxy-2-acetyloxymetyl-pyron-(4)] vzorca:

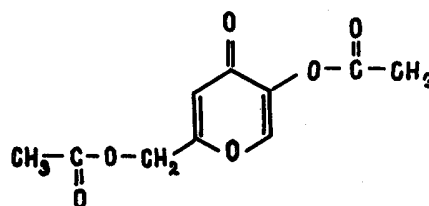


a jeho semisyntetického spôsobu výroby.

Boj so škodlivými druhmi hmyzu je v dnešnej dobe jednou z najvážnejších úloh svetového poľnohospodárstva. Stúpajúci počet obyvateľstva, neustále sa zvyšujúce nároky na kvantitu produkovaných potravín na jednej strane, toxicita, malá špecifickosť, nebezpečie znečisťovania biosféry reziduami syntetických chlórovaných insekticidov typu DDT, organofosforových zlúčenín, ich kumulatívny a tým i toxický účinok vo vyšších organizmoch, ďalej vzrastajúca rezistencia hmyzu voči týmto látkam, na druhej strane, aktualizujú hľadanie nových spôsobov ochrany poľnohospodárskych

rastlinných kultúr pred hmyzími škodcami. Alarmujúce zjavy univerzálneho rozšírenia chlórovaných preparátov v telách organizmov, v dôsledku postupnej kontaminácie potravinového reťazca, posúvajú do popredia spôsob ochrany rastlín, s novými, pre človeka netoxickými a v biosfére Zeme rozkladajúcimi sa preparátmi. Potvrdzuje to i doteraz urobený výskum s bakteriálnymi a hubovými toxínmi v praxi. Dnes sú podrobne popísané prírodné protihmyzové látky typu aflatoxínov a destruxínov. Známy je toxín producenta *Bacillus thuringiensis*, ktorý produkuje endotoxín – kryštalické útvary, tzv. parasporálne telieska s obsahom veľmi jedovatého toxínu bielkovinového charakteru. Zaujímavé sa ukázali byť rôzne lecitinázy, proteázy a iné enzýmy.

Uvedené nevýhody odstraňuje insekticidný prostriedok, ktorý ako účinnú látku obsahuje [5-acetyloxy-2-acetyloxymetyl-pyron-(4)] vzorca:



209201

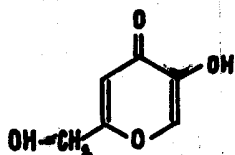
Podľa vynálezu sa insekticidný prostriedok vyrobí semisyntetickým spôsobom, ktorého podstata spočíva v tom, že stacionárnou alebo submerznou kultiváciou *Penicilium* sp. pri teplote 27 °C na Czapek-Doxovom tekutom médiu a následnou extrakciou výhodne acetónom a ďalšou purifikáciou s metanolom a rekryštalizáciou pri pH 1,8 sa pripraví [5-hydroxy-2-hydroxy-metylpyron-(4)], ktorý sa ďalej acetyluje s anhydridom kyseliny octovej v bezvodnom prostredí pyridínu. Nezareagovaný [5-hydroxy-2-hydroxymetylpyron-(4)] sa acetyláciou oddelí od balastných látok a po zahusťení sa vráti do reakčného cyklu.

Následujúce príklady uvádzajú spôsob výroby insekticidného prostriedku podľa vynálezu a charakterizujú a konfrontujú jeho vlastnosti.

Príklad 1

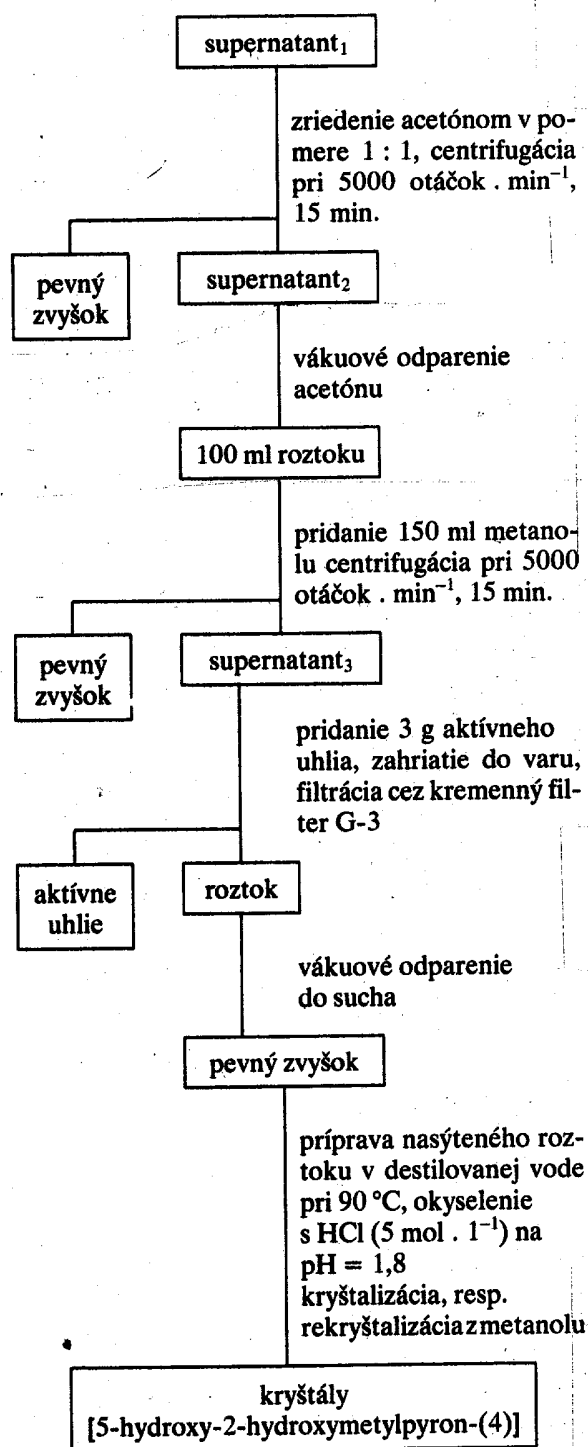
a)

[5-hydroxy-2-hydroxymetylpyron-(4)] – Fermentálny spôsob prípravy



Penicillium sp. (zb. č. 29, Zbierka mikroorganizmov oddelenia biológie nízkomolekulárnych látok, Ústavu molekulárnej biológie SAV, Bratislava) sa kultivovalo stacionárne pri teplote 27 °C, 14 dní v 2000 ml Rouxových fľašiach na 200 ml Czapek-Doxovho tekutého média, alebo submerzným spôsobom v laboratórnych tančikoch o obsahu 14 l na vyššie uvedenej pôde, 5 dní pri teplote 27 °C, pri otáčkach miešadla 150 . min⁻¹ a prevzdušňovaní 10 litrov za minútu. Mycélium, spolu s fermentačnou tekutinou v množstve 2800 ml sa zhomogenizovalo v mixéri, 2 min., zmes sa centrifugovala pri 3000 otáčok . min⁻¹, 10 min.

Ďalšie kroky izolácie [5-hydroxy-2-hydroxymetylpyron-(4)] podľa vynálezu uvádza nasledovná schéma:

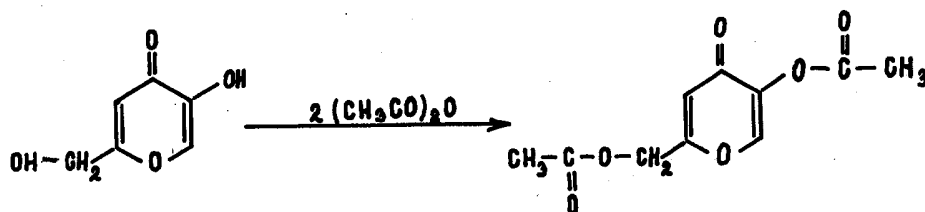


Ako identifikačné reakcie sa použili okrem kvalitatívnych analytických reakcií s FeCl₃, resp. s Fehlingovými roztokmi, stanovenie bodu topenia, záznam spektra zlúčeniny v ultrafialovej a infračervenej oblasti. Porovnanie získaných údajov, spolu so záznamom spektra v infračervenej a v ultrafialovej oblasti, s literárnymi údajmi boli zhodné (bod topenia: 152 °C, absorpcia v UV oblasti spektra:

217,269 nm). Sumárny vzorec (C₆H₆O₄) a molekulová hmotnosť (142,11) boli stanovené vysoko-rozlišovacou hmotnostnou spektrometriou.

b)

Druhá etapa výroby podľa vynálezu je acetylácia s anhydridom kyseliny octovej v bezvodnom prostredí pyridínu podľa reakcie:



V 100 ml Erlenmayerovej banke opatrenej miešadlom a ochladenej na 0 °C sa zmiešalo 2,7 g [5-hydroxy-2-hydroxymetylpyron-(4)] s 5,9 g anhydridu kyseliny octovej a 20,3 g pyridínu. Reakčná zmes sa miešala 4 hod. pri 0 °C. Vylúčená biela kryštalická látka [5-acetyloxy-2-acetyloxymetylpyron-(4)] sa po prefiltrovaní a vysušení prekryštalizovala z metanolu, resp. premyla od stôp pyridínu niekoľkokrát éterom ochladeným na 4 °C.

Z pôvodnej reakčnej zmesi sa po vákuovom odparení príp. vyžráža nezreagovaný [5-hydroxy-2-hydroxymetylpyron-(4)], čím sa oddelí od prípadných balastných látok, tento je schopný opäť byť recirkulovaný do reaktora pre ďalšiu acetyláciu.

Dôkazmi o identite syntetizovaného chemického individua boli bod topenia, záznam spektra v ultrafialovej a infračervenej oblasti. (bod topenia: 102–103 °C, absorpcia v UV oblasti spektra: 212,255 nm). Sumárny vzorec (C₁₀H₁₀O₆) a molekulová hmotnosť (226,18) boli stanovené vysoko-rozlišovacou hmotnostnou spektrometriou.

Insekticídne účinné chemické individuum [5-acetyloxy-2-acetyloxymetylpyron-(4)] je dobre rozpustný v etanole, butanole, zahriatom na 50 °C, je možné látku, pripravenú podľa vynálezu, upraviť na roztoky, emulzie, atď. Nie je nevyhnutné kombinovať preparát s inými pesticídne účinnými látkami.

Príklad 2

Insekticídna účinnosť [5-acetyloxy-2-acetyloxymetylpyron-(4)] sa zisťovala pri použití modelového organizmu z rady poľnohospodárskych a ovocinárskych škodcov, siatice ozimnej (*Scotia segetum* Den. et Schiff).

Roztoky uvedenej zlúčeniny v etanole sa pripravili v odstupňovaných koncentráciách a pridali do kultivačnej pôdy pre pestovanie lariet *Scotia segetum* Den. et Schiff. V súbore 20 Petriho misiek, pre každú koncentráciu sa pridala 1 larva *Scotia segetum* Den. et Schiff, tesne po vyliahnutí sa z vajíčka, a v priebehu 60 dní sa sledovala za optimálnych kultivačných podmienok ontogenéza uvedeného druhu hmyzu. Z percenta uhynutých jedincov, vzhľadom ku kontrolnej skupine sa na logaritmicko-pravdepodobnostnej sieti stanovila hodnota ED₅₀. Hodnota ED₅₀ vypočítaná z rovnice regresnej priamky je uvedená v tabuľke 1.

Tabuľka 1

Zlúčenina	ED ₅₀ (ug · g ⁻¹ kultivačnej pôdy)
[5-acetyloxy-2-acetyloxymetylpyron-(4)]	895

Príklad 3

Pre posúdenie toxicity zlúčeniny [5-acetyloxy-2-acetyloxymetylpyron-(4)] podľa vynálezu proti škodcom poľnohospodárskych a ovocinárskych kultúr, na vyššie organizmy, použila sa metóda na stanovenie akútnej toxicity. Ako modelový organizmus sa použili myši kmeňa H, samce o váhe 20–25 g.

Roztoky uvedenej zlúčeniny sa pripravili v šiestich odstupňovaných koncentráciách a aplikovali sa intraperitoneálne 10 zvieratám v každej skupine. Za 24 hodín sa zistila mortalita zvierat, z percenta ktorej, vzhľadom ku kontrolnej skupine, sa na logaritmicko-pravdepodobnej sieti vypočítala hodnota LD₅₀. Hodnota LD₅₀, vypočítaná z regresnej priamky je uvedená v tabuľke 2.

Tabuľka 2

Zlúčenina	Forma aplikácie	LD ₅₀ (mg · kg ⁻¹)
[5-acetyloxy-2-acetyloxymetylpyron-(4)]	i. p.	1650,0
parathion (štandarda)	per os	10,5

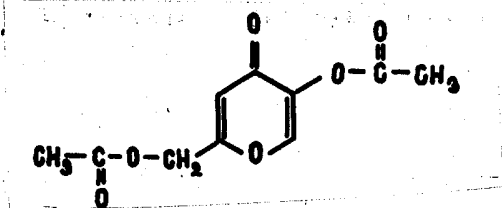
Insekticídny prostriedok, podľa vynálezu má výhodnú formu aplikácie, udržiava v prostredí biologickú aktivitu v relatívne malých koncentráciách, nie je toxický pre vyššie živočíchy, nejaví kumulatívny účinok chlórovaných organických uhľovodíkov, má schopnosť rozložiť sa na jednoduché netoxické produkty, ktoré sú schopné sa zaradiť do kolobehu biogénnych prvkov v prírode.

Semisyntetická výroba insekticídneho prostriedku pozostáva z nenáročnej fermentačnej technológie s prístupnou formou izolácie medziproduktu a jednoduchšej organickej syntézy produktu, a tak predurčuje i jeho nízku cenu.

Možnosť využitia je hlavne v takých oblastiach, kde sa predpokladá zvýšené koncentrovanie sa hmyzu, napr. pri zariadeniach živočíšnej výroby, v poľnohospodárskych závodoch, v poľnohospodárstve i v ovocinárstve.

PREDMET VYNÁLEZU

1. Insekticídny prostriedok vyznačujúci sa tým, že ako účinnú látku obsahuje [5-acetyloxy-2-acetyloxymetylpyron-(4)] vzorca:



2. Semisyntetický spôsob výroby insekticidného prostriedku podľa bodu 1, vyznačujúci sa tým, že *Penicilium* sp. sa stacionárne alebo submerzne

kultivuje pri teplote 27 °C na Czapek-Doxovom tekutom médiu, supernatant sa extrahuje s výhodou acetónom a ďalej purifikuje s metanolom, a po úprave pH na 1,8 sa rekryštalizuje a pripravený [5-hydroxy-2-hydroxymetylpyron-(4)] sa acetyluje s anhydridom kyseliny octovej v bezvodom prostredí pyridínu.

3. Spôsob výroby podľa bodu 1 a 2 vyznačujúci sa tým, že nezreagovaný [5-hydroxy-2-hydroxymetylpyron-(4)] sa acetyláciou oddelí od balastných látok a po zahutnení sa vráti do reakčného cyklu.