

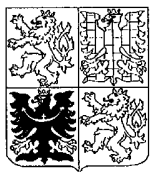
PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

1999 - 2156

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **16.06.1999**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **17.01.2001**
(Věstník č. 1/2001)

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

A 01 N 31/02

(71) Přihlašovatel:

ÚSTAV ORGANICKÉ CHEMIE A BIOCHEMIE AV
ČR, Praha, CZ;

(72) Původce:

Svatoš Aleš, Praha, CZ;
Kalinová Blanka, Praha, CZ;
Hoskovec Michal, Praha, CZ;
Kindl Jiří, Praha, CZ;
Hrdý Ivan, Praha, CZ;

(74) Zástupce:

Kancelář Akademie věd ČR
Patentové a licenční služby, Tř. Politických vězňů 7,
Praha 1, 11000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Tetradeka-8,10-dienaly a jejich použití jako
specifických sexuálních atraktantů klíněnek**

(57) Anotace:

Izomerně čisté tetradeka-8,10-dienaly a jejich použití jako sexuálních atraktantů klíněnek z čeledi Gracillariidae (Lepidoptera, Insecta), jmenovitě (E8, Z10)-tetradeka-8,10-dienalu jako sexuálního atraktantu klíněnky jírovcové. Způsob přípravy této sloučeniny spočívá v tom, že se (E)-9-(tert-butoxy)-1-jodnon-1-en nechá reagovat s 1-pentinem v přítomnosti aminu, Pd(0) katalyzátoru a měďné sole za vzniku (E)-14-(tert-butoxy)tetradec-6-en-4-inu. Enin se zredukuje na (4Z,6E)-14-(tert-butoxy)tetradeka-4,6-dien, poté se v kyselém prostředí odstraní chránící skupina a vzniklý (8E, 10Z)-tetradeka-8,10-dien-1-ol se následně zoxiduje na (E8, Z10)-tetradeka-8,10-dienal. Tato sloučenina se přímo, v roztoku, ve směsi s jinými látkami nebo ve formě svých feromonových derivátů nanese na vhodný nosič a použije v různých druzích lapáků vybavených lepovými dny pro kontrolní odchvy samců klíněnky nebo v zařízeních pro masové odchvy samců.

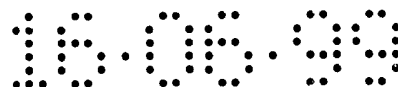
Název patentu**TETRADEKA-8,10-DIENALY A JEJICH POUŽITÍ JAKO SPECIFICKÝCH SEXUÁLNÍCH ATRAKTANTŮ KLÍNĚNEK**Oblast techniky

Vynález se týká tetradeka-8,10-dienalů a jejich použití jako sexuálních atraktantů motýlů z čeledi Gracillariidae, přičemž jsou tyto atraktanty součástí přípravků či zařízení k omezení jejich populací.

Současný stav techniky

Klíněnka je nový hmyzí škůdce zavlečený do České republiky okolo roku 1993. Tento drobný motýlek je významným škůdcem především na jírovci maďalu (*Aesculus hippocastanum* L.), kde larvy během svého vývoje vyžirají listový parenchym a tvoří podkopěnky (miny). Při větším napadení, často již v průběhu druhé generace (červenec), požer způsobí odumření listů a jejich opadání. Dochází k oslabení stromů a při víceletém silném napadení listové hmoty může dojít k jejich odumírání. Ještě závažnější je situace, kdy klíněnka jírovcová přejde i na jiné dřeviny, jak naznačuje v poslední době napadení javorů. V místech, kde se klíněnka vyskytuje po dobu deseti a více let nebylo v současnosti dosaženo vyšší míry její parazitace než je 30 % (například parazitoidy z nadčeledi Chalcidoidea), což je nedostačující pro její účinnou regulaci. Jedinou dosud navrženou a dostupnou metodou ochrany je shrabávání a ničení napadeného listí [Skuhřavý V. *Anzeiger für Schädlingskunde Pflanzenschutz Umweltschutz* **71**, 82-84 (1998)] a postřiky jírovců inhibitory tvorby chitinu (např. diflubenzuron).

Chemická komunikace slouží v přírodě k zajištění řady behaviorálních a fyziologických funkcí. Například chemická komunikace pomocí látek nazvaných sexuální feromony slouží jedincům stejného druhu k nalezení partnerů pro kopulaci. Tyto látky lze chemicky charakterizovat a připravit je synteticky v laboratoři. Doposud bylo určeno a připraveno více než 400 sexuálních feromonů [Arn, H., Toth, M. 1998: List of Sex Pheromones of Lepidoptera and Related Attractants. In Arn H., Tóth M. & Priesner E. (eds): *The Pherolist*. Internetová databáze (www-pherolist.slu.se)]. V současnosti neexistuje žádný způsob ochrany jírovců s využitím sexuálních feromonů. U jiných druhů motýlů (obaleči, můry, zavíječi atd.) se tyto metody velmi často a s úspěchem používají a to jednak k monitorování výskytů [Ridgeway, R.L., Silverstein, R.M. a May, N.I (Ed.) 1990: *Behavior-*

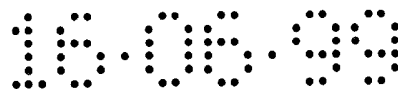


Modifying Chemicals for Insect Managament. Marcel Dekker, Inc. New York, 761 pp.], nebo k desorientaci (confusion) samců, kterým je vyšší koncentrací atraktantu ztížena a nebo zcela zamezena možnost nalézt samici k páření (Ridgeway et al. 1990). Vedle těchto jednosložkových technik existuje několik vhodných kombinací, kde se využije atraktivitu látek pro samce a pak se v malém prostoru v okolí jejího zdroje umístí toxické látky, insekticidy (attract and kill) (Hofer, D. a Brassel, J., „Attract and kill“ to control *Cydia pomonella* and *Pectiophora gossypiella* *IOBC/WPRS Bull.* 1992/XV/5: 36-39), virové preparáty (PV 1680-95), spory entomofágních hub (PV 1680-95) a nebo látky ovlivňující vývoj hmyzu (IGR, např. juvenoidy a jejich syntetická analoga) (PV 1680-95). Tyto látky a preparáty jsou toxické jak pro nalákané a kontaminované samce, ale i pro samice s kterými se samci případně spáří a z těchto kontaminovaných samic se dostanou do nakladených vajíček.

Podstata vynálezu

Dosavadní postupy ochrany jírovců proti napadání klíněnkou jírovcovou jsou nedostačující, ekologicky nevhodné (použití insekticidů ve městech a v parcích) a příliš drahé. Tyto nevýhody odstraňuje předmětný vynález, založený na využití a ovlivnění chemické komunikace mezi samicí a samcem klíněnky jírovcové pomocí syntetických feromonů, atraktantů, a to za účelem nalákat a odchytit samce a nebo je desorientovat za účelem přerušení reprodukčního cyklu klíněnek. Tímto způsobem je páření výrazně narušeno a je snížena jeho frekvence, což vede k omezení populace tohoto škůdce. K těmto účelům se v předmětném vynálezu používá dříve nepopsané sloučeniny: (E8,Z10)-tetradeka-8,10-dienalu. Jiné dva geometrické izomery tetradeka-8,10-dienalu jsou popsány jako atraktanty jiných motýlů [(E8,E10)-tetradeka-8,10-dienalu pro *Acrocercops* sp.: Ando, T., Koike, M., Uchigamu, M., Kuroko, H. *Agric. Biol. Chem.* **51**, 2691 (1987) a (Z8,Z10)-tetradeka-8,10-dienalu pro *Phyllonorycter* sp.: Reed, D.W. Chrisholm, M.D. *J. Chem. Ecol.* **11**, 1645 (1985)], nicméně nikdy nebylo prokázáno, že tyto izomery jsou skutečně sexuálními feromony specifickými pro dané druhy.

Předmětné látky jsou připravitelné např. z lehce dostupných alkenyl jodidů [např. Svatoš A., Šaman, D. *Coll. Czech. Chem. Commun.* **62**, 1457-1467(1997)] obsahujících vhodnou chránicí skupinu (např. Greene, T.W.: *Protective groups in organic synthesis*, Wiley 1981). Jodid se ponechá reagovat v přítomnosti vhodné báze (aminu) a oxidačního činidla, většinou měďné sole za katalýzy Pd(0) v inertním plynu s 1-alkinem za vzniku eninů [např. Descoins, C., Lethere, M., Linstrumelle, G., Michelot, D. Ratovelomanana V. *Syn. Commun.*



14, 761 (1984)]. Enin lze stereospecificky redukovat na dien například borany a následnou hydrogenolýzou vzniklých alkenylboranů [např. Brown, H.C., Mandal, A.K., Kulkarni, S.U. *J. Org. Chem.* **42**, 1392 (1977)]. Chránicí skupinu lze odstranit několika způsoby (např. Greene, T.W.: *Protective groups in organic synthesis*, Wiley 1981), ale je nutné použít co nejmírnějších podmínek k zamezení případné izomerizaci konjugovaného dienu. Připravený alkohol se převede na aldehyd reakcí s oxidačními činidly, jako vhodné se jeví použít pyridinium chlorochromát a pyridinium dichromát v aprotickém rozpouštědle [Corey, E.J., Suggs, J.W. *Tetrahedron Lett.* **31**, 2647 (1975)]. Získaná látka se vyčistí sloupcovou chromatografií např. na silikagelovém sloupci. Vzhledem k povaze látek je nutné meziprodukty a finální produkt uchovávat v inertní atmosféře při nízké teplotě (-20 °C). Postup je přes několik stupňů výhodný, poskytuje velmi vysokou stereoizomerní čistotu produktů a vysoké výtěžky, nevyžaduje zvlášť vysokou kvalifikaci, ani nesnadno dostupná činidla či složité výrobní zařízení.

Biologická aktivita této látky byla prokázána ve větrném tunelu a v polních pokusech. Přitom je látka vzorce **VI** použita k výrobě odporníků, které se použijí v monitorovacích a odchytových zařízeních, viz např. autorské osvědčení č. 257503 ČSR z 20.2.1990 (PV 419-85), a v pastech umožňujících kontaminaci hmyzu hubícími agens, viz. Přihlášku vynálezu č. PV 1680-95. Dále je možné látku vzorce **VI** využít v komerčně dostupných zařízeních k hubení hmyzu, jako jsou např. vysokonapěťové hubicí lampy a jiná zařízení k usmrcování hmyzu. Výhoda spočívá ve zvýšení četnosti samců klíněnek v okolí smrtících mechanismů čímž dochází k výraznému zvýšení jejich účinnosti.

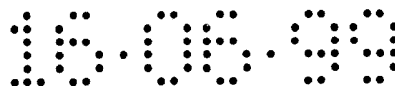
Předmět vynálezu je dále doložen uvedenými příklady přípravy a použití, aniž by se tím jakkoli omezoval.

Příklady provedení

Příklad 1

(*E*)-14-(*tert*-butoxy)tetradec-6-en-4-in [VIII]

Do suspence *tetrakis*(trifenylfosfin)palladia 600 mg [0.5 mmol] v 25 ml čerstvě destilovaného bezvodého a odplyněného benzenu ve 100 ml trojhrdlé zábrusové baňce (vysušené v peci, několikrát evakuované a napuštěné argonem) opatřené septem, magnetickým míchadlem a balónkem s argonem se přidá 3.24 g [10 mmol] (*E*)-9-(*tert*-butoxy)-1-jodnon-1-enu [VII]. Směs se míchá 60 min při laboratorní teplotě, poté se přidá 1-pentin (1.66 ml; 15 mmol) v 10



ml [100 mmol] odplyněného *n*-butylaminu a následně jodid měďný (370 mg; 2 mmol). Poté se reakční směs míchá při laboratorní teplotě pod Ar-atmosférou. Po 2 hod se reakce přeruší, reakční směs se zředí 150 ml etheru a rozloží se vlitím do nasyceného roztoku chloridu amonného (100 ml). Organická fáze se oddělí a promyje směsí nasyceného roztoku chloridu amonného a 30% vodného amoniaku (1:1; 3 × 100 ml), solankou (2 × 100 ml), vodou (2 × 100 ml) a vysuší se síranem hořečnatým. Rozpouštědla se odpaří na rotační vakuové odparce a odparek (žlutý olej, 2.9 g) se přečistí pomocí preparativní středotlaké kapalinové chromatografie (stacionární fáze např. *Merck Kieselgel 60*; mobilní fáze: gradient 0.5 -1.5% ethyl acetátu v hexanu). Získá se 2.33 g (88 %) látky **VIII** o GC čistotě 97%.

Příklad 2

(4*Z*,6*E*)-14-(*tert*-butoxy)tetradeka-4,6-dien [IX]

V 250 ml trojhrdlé zábrusové baňce opatřené septem, přikapevačkou a balónkem s argonem se do 0.974 ml [9.74 mmol] 10M-ního roztoku komplexu boran-dimethylsulfid rozpuštěného v 80 ml bezvodého tetrahydrofuranu přikape (pod atmosférou argonu a chlazení ledovou lázní na 0°C) během 3 min roztok 1.59 g [19.38 mmol] cyklohexenu v 10 ml bezvodého tetrahydrofuranu. Směs se poté míchá 2 hod při laboratorní teplotě, poté se ochladí znovu na 0°C a přikape se do ní během 5 min 2.33 g [8.81 mmol] (*E*)-14-(*tert*-butoxy)-tetradec-6-en-4-inu [6] v 10 ml bezvodého tetrahydrofuranu. Reakční směs se míchá 4 hod při laboratorní teplotě. Přikape se 10 ml kyseliny octové, směs se míchá 16 hod, poté se přikape 40 ml 20% roztoku hydroxidu sodného a opatrně 10 ml 30% vodného peroxidu vodíku. Po 30 min míchání se směs zředí 200 ml destilované vody a extrahuje se 4 × 100 ml hexanu. Organické podíly se spojí a vysuší uhlíčitánem draselným. Rozpouštědla se odpaří na rotační vakuové odparce a získaný nažloutlý olej (3.8 g) se přečistí kapalinovou chromatografií (stacionární fáze např. *Merck Kiesegel 60*; mobilní fáze: hexan). Získá se 1.61 g (69 %) látky **IX** o GC čistotě 97.8%.

Příklad 3

(8*E*,10*Z*)-tetradeka-8,10-dien-1-ol

Směs 1.07 g [4.00 mmol] (4*Z*,6*E*)-14-(*tert*-butoxy)tetradeka-4,6-dienu [IX], 250 mg bezvodého chloridu železitého a 2 ml acetanhydridu v 30 ml suchého diethyletheru se 20 hod míchá v 50 ml zábrusové baňce za laboratorní teploty a nepřístupu světla. Potom se reakční směs míchá 2 hod s 20 ml nasyceného roztoku dihydrogenfosforečnanu draselného, organická

fáze se oddělí, přefiltruje na fritě s křemelinou a vysuší se síranem hořečnatým. Rozpouštědla se odpaří na rotační vakuové odparce. Odparek, 1.03 g červené olejovité kapaliny, se rozpustí v roztoku, připraveného z 1.0 g hydroxidu sodného, 7 ml destilované vody a 17 ml methanolu a míchá se za laboratorní teploty po dobu 10 hod. Poté se směs zředí 100 ml destilované vody a extrahuje se 4 × 30 ml směsi diethylether - hexan (1:1). Organické podíly se spojí a vysuší se síranem hořečnatým. Produkt se vyčistí preparativní středotlakou kapalinovou chromatografií (stacionární fáze např. *Merck Kiesegel 60*; mobilní fáze: 10% ethylacetátu v hexanu). Získá se 673 mg (80%) (8*E*,10*Z*)-tetradeka-8,10-dien-1-olu, vzorce **X** o GC čistotě 98%.

Příklad 4

(8*E*,10*Z*)-tetradeka-8,10-dienal [VI]

V 20 ml zábrusové baňce se do míchané směsi 650 mg [3 mmol] chlorchromanu pyridinia a 20 mg bezvodého octanu sodného v 5 ml bezvodého dichlormethanu přidá 300 mg [1.43 mmol] látky vzorce **X**. Reakce se ukončí po 60 min míchání, reakční směs se vlije do 20 ml diethyletheru a filtruje přes fritu s vrstvami neutrálního oxidu hlinitého - aktivního uhlí - křemeliny. Surový produkt se vyčistí preparativní středotlakou kapalinovou chromatografií (stacionární fáze např. *Merck Kiesegel*; mobilní fáze: benzen - hexan (1:1)). Získá se 206 mg (69%) (8*E*,10*Z*)-tetradeka-8,10-dienalu o GC čistotě 99%.

Příklad 5

Feromonový odparník

Látka vzorce **VI** se rozpustí v hexanu nebo v benzenu na výslednou koncentraci 10 miligramů/litr a aplikuje se na gumové septum (např. Thomas Scientific, USA) v dávce 10 mikrolitrů tohoto roztoku (tj. 100 ng). Ropouštědlo se odpaří a takto připravený feromonový odparník se uzavře do skleněné lahvičky a uchovává se při -20 °C.

Příklad 6

Použití látky vzorce VI v polním testu

Do Delta lapáku (např. 25 × 10 cm), se umístí feromonový odparník (příklad 5) a lepové dno potřené vrstvou lepu Tanglefoot a celé zařízení se zavěsí ca 2.5-3 m nad úroveň terénu v blízkosti jírovce maďalu a jiných stromů. Lapáky se periodicky kontrolují a stanovuje se počet motýlů zachycených na lepovém dnu. Výsledky uvádí Tabulka 1.

Tabulka 1. Odchyt samců klíněky jírovcové v lapácích podle příkladu 4

Návnada	odchycených samců/den
kontrola	0
3 samičky klíněky jírovcové	65
látka vzorce VI	50

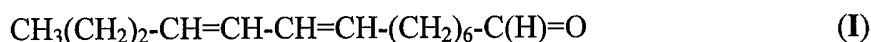
Průmyslová využitelnost

Předmětná látka a její použití naskýtá celou řadu možností průmyslového využití. Nyní jsou ve střední Evropě klíněnkou jírovcovou zasaženy desetitisíce jírovců a dochází k výrazným estetickým a ekonomickým škodám. Předmětná látka a zařízení, které látku využívají (k lákání samců klíněky za účelem odhadu napadení jírovců, k jejich vychytávání, kontaminaci, desorientacím či k přímému zabíjení) umožní potlačit kalamitní výskyt klíněky a přihlašovatel zamýšlí tento postup ochrany jírovců použít nejen na území České republiky, ale v celé Evropě. Vysoká účinnost předmětné látky dále umožní její ekonomické použití např. k desorientačním pokusům v množstvích řádově menších než se v současnosti používá u jiných škůdců např. u obaleče jabloňového (*Cydia pomonella*). Rovněž skutečnost, že se jedná o přírodní látku umožní její aplikaci bez výrazných dopadů na životní prostředí a nevyžaduje zdlouhavé a nákladné povolovací řízení, faktory, které v porovnání s předmětnou látkou diskvalifikují klasické insekticidy.

15.05.99

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

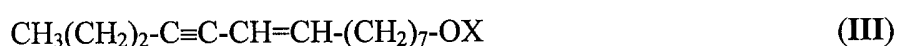
1. Izomerně čisté tetradeka-8,10-dienaly obecného vzorce I



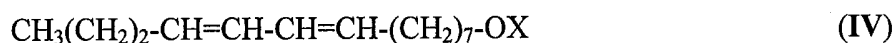
přípravitelné způsobem **vyznačujícím se tím**, že se látka obecného vzorce II



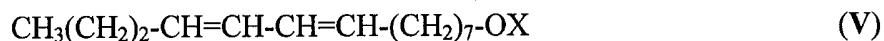
kde X je chránicí skupina, s výhodou alkyl, trialkylsilyl, tetrahydropyranyl se nechá reagovat s 1-pentinem v přítomnosti aminu, Pd(0) katalyzátoru a měďné sole za vzniku eninu obecného vzorce III, kde X má stejný význam jako ve vzorci II,



který se katalytickou hydrogenací, redukcí alkalickým kovem v kapalném čpavky a nebo redukcí borany, allany a stanany převede na látku obecného vzorce IV, kde X má stejný význam jako ve vzorci II,

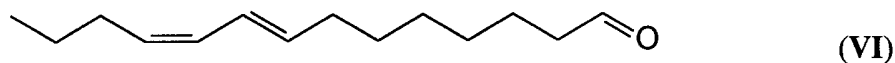


a posléze působením kyselého prostředí, s výhodou kombinací reakcí ve směsi etheru/acetanhydridu/chloridu železitého a s hydroxidem draselným se při teplotě 20-50 °C získá dienol obecného vzorce V, kde X má stejný význam jako ve vzorci II,

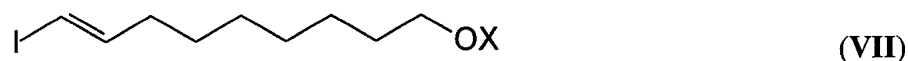


který se konečně převede reakcí s oxidačními činidly, s výhodou chromovými komplexy ve vhodném rozpouštědle, s výhodou v dichlormethanu, na aldehyd obecného vzorce I.

2. Sloučeninu (*E*8,*Z*10)-tetradeka-8,10-dienal vzorce VI podle nároku 1.

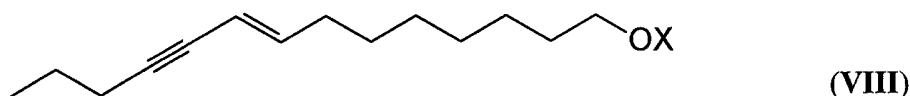


3. Způsob přípravy látky vzorce VI podle nároku 2 **vyznačující se tím**, že se jodderivát vzorce VII

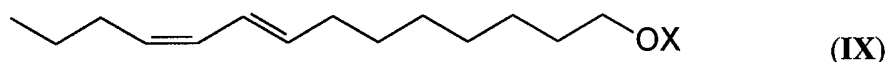


kde X je chránicí skupina (např. *tert*-butyl, 1-tetrahydropyranyl) v prostředí inertního plynu (s výhodou dusíku, argonu) nechá reagovat s 2-5 násobným přebytkem 1-pentinu v přítomnosti aminu (s výhodou piperidinu, 1-butylaminu), v množství 1-5 ekvivalentů, Pd(0) katalyzátoru (s výhodou terakstrifenylfosfinium palladia), v množství 0,5-20 mol % a měďné sole (s výhodou jodidu měďného), v množství 1-3 ekvivalentů v organickém aprotickém

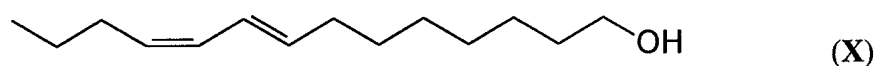
rozpouštědla, s výhodou v benzenu, toluenu, tetrahydrofuranu, při teplotním rozmezí 10-100 °C po dobu 0,1 - 20 hod a vzniklá látka vzorce **VIII**, kde X má stejný význam jako ve vzorci **VII**,



se uvede do reakce s dialkylboranem (s výhodou dicyklohexylboranem), v množství 1-3 ekvivalentů po dobu 0,1 - 5 hod a rozloží kyselinou (s výhodou kyselinou octovou nebo propionovou) v množství 1-10 ekvivalentů a to po dobu 1-40 hod za teploty 10-80 °C a vzniklý chráněný dienol vzorce **IX**, kde X má stejný význam jako ve vzorci **VII**,



se zpracuje působením kyselého prostředí, s výhodou kombinací reakcí ve směsi etheru/acetanhydridu/chloridu železitého při teplotě 10-40 °C po dobu 1-50 hod a s 1-3 ekvivalenty hydroxidu draselného rozpuštěným ve vodném methanolu při teplotě 20-50 °C a vzniklá látka vzorce **X**



se konečně uvede do reakce s oxidačními činidly, s výhodou pyridinium chlorchromátem nebo pyridinium dichromátem v aprotickém rozpouštědla, s výhodou v benzenu, chloroformu, dichlormethanu v teplotním rozmezí 10-50 °C po dobu 0,1-20 hod a vzniklá látka vzorce **VI** se čistí chromatografií, s výhodou na sloupci silikagelu a produkt se uchovává v prostředí inertního plynu, s výhodou v argonu, dusíku, v teplotním rozmezí 0 až -78 °C jak přímo nebo ve formě svých roztoků, s výhodou v hexanu, benzenu.

4. Použití látek obecného vzorce **I** podle nároku 1 jako sexuálních atraktantů klíněnek z čeledi Gracillariidae (Lepidoptera).

5. Použití látky vzorce **VI** podle nároku 2 jako specifického sexuálního atraktantu klíněnky jírovcové (*Cameraria ohridella* Deschka and Dimić 1985, Lepidoptera: Gracillariidae).

6. Způsob použití látek obecného vzorce **I** podle nároku 4 **spočívající v tom**, že připravené látky obecného vzorce **I** jsou součástí zařízení k monitorování četnosti výskytu, masovému vylahčování a hubení, desorientaci a ke kontaminaci samců motýlů z čeledi Gracillariidae hubícími agens.

7. Způsob použití látky vzorce **VI** podle nároku 5 **spočívající v tom**, že je součástí zařízení k monitorování četnosti výskytu, masovému vychytávání, hubení, desorientaci a ke kontaminaci samců klíněnky jírovcové hubícími agens.

8. Zařízení podle nároků 6 a 7, **vyznačující se tím**, že jejich součástí je feromonový odparník.

9. Odparník podle nároku 8 **vyznačující se tím**, že se látky obecného vzorce **I** nebo látka vzorce **VI** přímo, v roztoku, ve směsi s antioxidanty a/nebo stabilizátory, nebo ve formě proferomonových derivátů nanasou na vhodný nosič, jako jsou např. přírodní a syntetická guma, syntetické polymery, celulóza, sklo nebo kovové folie.

10. Zařízení ke kontaminaci samců podle nároků 6 a 7 **vyznačující se tím**, že zařízení obsahují insekticidy, spory entomopathogenních hub nebo jiný patogen, a nebo látky ovlivňující vývoj hmyzu (IGR - „Insect Growth Regulators“, např. juvenoidy) v nichž se přilákání samci kontaminují uvedenými látkami s následkem uhynutí a nebo roznáší uvedené agens do populace motýlů při kontaktu, např. při páření.