

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5388861号
(P5388861)

(45) 発行日 平成26年1月15日 (2014. 1. 15)

(24) 登録日 平成25年10月18日 (2013. 10. 18)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 C 229/36 (2006. 01)

C O 7 C 229/36 C S P

C O 7 C 227/16 (2006. 01)

C O 7 C 227/16

C O 7 C 251/16 (2006. 01)

C O 7 C 251/16

C O 7 D 213/38 (2006. 01)

C O 7 D 213/38

C O 7 D 207/335 (2006. 01)

C O 7 D 207/335

請求項の数 16 (全 20 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2009-542075 (P2009-542075)
 (86) (22) 出願日 平成19年12月20日 (2007. 12. 20)
 (65) 公表番号 特表2010-513409 (P2010-513409A)
 (43) 公表日 平成22年4月30日 (2010. 4. 30)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2007/064370
 (87) 国際公開番号 W02008/077897
 (87) 国際公開日 平成20年7月3日 (2008. 7. 3)
 審査請求日 平成22年11月9日 (2010. 11. 9)
 (31) 優先権主張番号 06127041.9
 (32) 優先日 平成18年12月22日 (2006. 12. 22)
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)

(73) 特許権者 509175838
 トレードコープ, エセ. ア.
 スペイン国 エー28027 マドリッド
 , 2ア プランタ, 498, セ/.
 アルカラ
 (74) 代理人 100109726
 弁理士 園田 吉隆
 (74) 代理人 100101199
 弁理士 小林 義教
 (72) 発明者 シエラ, ミゲル ア.
 スペイン国 エー28040 マドリッド
 , ファクルタド デ キミカ, デパル
 タメント デ キミカ オルガニカ, ユ
 ニベルシダド コンブルテンセ

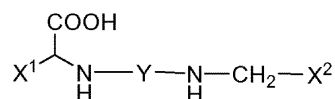
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 鉄クロロシスの治療のための新規生成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

次の式 (I) :



(I)

[上式中 ;

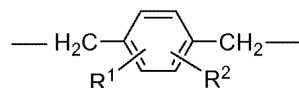
X¹ は、アルファ位にヒドロキシ基を有する C₆ 又は C₁₀ 芳香 (族) 環であり、場合によってはホスホ、スルホ、ハロ、カルボキシ、アセトキシ、C₁-C₄ アルコキシ、直鎖状又は分枝状 C₁-C₄ アルキルからなる群から独立して選択される 4 までの置換基により置換されていてもよく ;

X² は、アルファ位にヒドロキシ基を有する C₆ 又は C₁₀ 芳香 (族) 環、又は N、O 及び S からなる群から選択されるヘテロ原子をアルファ位に有し、場合によってはその構造中に他の N、O 又は S 原子を含んでいてもよい、0-3 の二重結合を有する 5 又は 6 員の複素環であり、該芳香 (族) 環又は複素環は、場合によってはホスホ、スルホ、ハロ、カルボキシ、アセトキシ、C₁-C₄ アルコキシ、直鎖状又は分枝状 C₁-C₄ アルキルからなる群から独立して選択される 4 までの置換基で置換されていてもよく ;

10

20

Y は、 $(CH_2)_n$ 又は次の式：



のキシリレン基であり；

n は、2、3 及び 4 から選択される整数であり；

R^1 、 R^2 は、H、直鎖状又は分枝状 $C_1 - C_4$ アルキル、 C_6 又は C_{10} アリールからなる群から独立して選択される] の化合物。

10

【請求項 2】

X^2 が 2-ヒドロキシフェニル、2-ヒドロキシ-ナフチル、2-フリル、2-チエニル、2-ピロリル、2-ピリジル、4-ピリジミジニル、2-ピラジニルで、場合によってはホスホ、スルホ、ハロゲン、 $C_1 - C_4$ アルコキシ、カルボキシ、アセトキシ、直鎖状又は分枝状 $C_1 - C_4$ アルキルからなる群から独立して選択される 2 又は 1 の置換基で置換されていてもよいものからなる群から選択される請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

X^1 が 2-ヒドロキシフェニル又は 2-ヒドロキシナフチルで、場合によってはメチル又はメトキシからなる群から独立して選択される 1 又は 2 の置換基で置換されていてもよいものである請求項 2 に記載の化合物。

20

【請求項 4】

X^1 が 2-ヒドロキシフェニルである請求項 3 に記載の化合物。

【請求項 5】

Y が $(CH_2)_n$ である請求項 1 から 4 の何れか一項に記載の化合物。

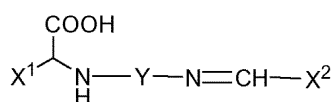
【請求項 6】

n が 2 である請求項 5 に記載の化合物。

【請求項 7】

請求項 1 から 6 の何れか一項に記載の式 (I) の化合物を調製する方法であって、式 (I)：

30



(II)

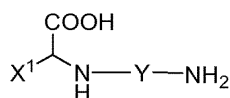
[上式中、 X^1 、 X^2 及び Y は上で定義した通りである]

の化合物を、還元剤の存在下、適切な溶媒系中で還元する工程を含む方法。

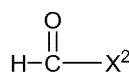
【請求項 8】

式 (III) の化合物を式 (IV) の化合物

40



(III)



(IV)

[上式中、 X^1 、 X^2 及び Y は上述したものである]

と、適切な溶媒系中で反応させることにより、式 (II) の前記化合物を調製する工程を予め更に含む請求項 7 に記載の方法。

50

【請求項 9】

多価金属用の錯化剤としての、請求項 1 から 6 の何れか一項に記載の式 (I) の化合物の使用。

【請求項 10】

一又は複数の多価金属との、請求項 1 から 6 の何れか一項に記載の式 (I) の化合物のキレート。

【請求項 11】

前記多価金属が、鉄、ニッケル、亜鉛、マンガン、イッテルビウム、ガドリニウム、コバルト、銅、パラジウム、白金及び金からなる群から選択される少なくとも一の多価金属である請求項 10 に記載のキレート。

10

【請求項 12】

前記多価金属が鉄である請求項 11 に記載のキレート。

【請求項 13】

請求項 1 から 6 の何れか一項に記載の式 (I) の化合物又はその多価金属キレートを含有する農薬組成物。

【請求項 14】

エチレンジアミン四酢酸 (EDTA)、ジエチレントリアミン五酢酸 (DTPA)、N, N'-エチレン-ビス(2-ヒドロキシフェニル)グリシン(o, o-EDDHA)、及び N, N'-エチレン-(2-ヒドロキシフェニル)-グリシニル-(4-ヒドロキシフェニル)グリシン(o, p-EDDHA) からなる群から選択されるキレート剤をさらに含有する請求項 13 に記載の農薬組成物。

20

【請求項 15】

請求項 1 から 6 の何れか一項に記載の化合物又はその多価金属キレートの鉄欠乏に関連した植物病を治療するための組成物を調製するための使用。

【請求項 16】

前記植物病が鉄クロロシスである請求項 15 に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

この発明は、新規な非対称エチレンジアミノヒドロキシフェニル酢酸誘導体に関する。これら生成物は鉄クロロシスの治療に有用である。

30

【背景技術】

【0002】

鉄クロロシスは、葉緑素量が低下し、通常は緑の植物組織を黄変又は白変させる栄養性植物病である。それは、多くの作物の成長に影響を及ぼして収穫率低下を引き起こす農業において広く知られた問題である。

【0003】

元々は鉄塩の形態の、吸収可能な形態で鉄を植物に供給することにより、この鉄欠乏を矯正する試みが長期間にわたってなされている。鉄塩は、葉の浸透により、ある程度作用するが、土壌処理に使用される場合は、実質的に効果はない。鉄の浸透がクロロシスのコントロールに最も効果的であるのは、根を通過させる場合である。この関係で、単純な鉄塩は、キレート又は配位体として知られている単一有機分子の幾つかの点に鉄原子が結合してなる水溶性錯体である鉄キレートに置き換えられている。エチレンジアミン四酢酸 (EDTA) 又はジエチレントリアミン五酢酸 (DTPA) 又は N, N'-エチレン-ビス-(ヒドロキシフェニル)グリシン類 (EDDHA) との鉄の錯体のような六座体として知られているこれら生成物の幾つかは、クロロシスに対して成功裏に使用されている。

40

【0004】

N, N'-エチレン-ビス(2-ヒドロキシフェニル)グリシン(o, o-EDDHA)は、金属を錯化するための最も好ましい化合物の一つとしてしばしば記載されており、鉄に対する錯化親和性が特に強いため、植物栄養素又は肥料としての使用に最も適している。o, o-

50

E D D H Aの鉄キレートは6つの配位数を示し、植物栄養素又は植物肥料として農業目的、更には作物におけるクロロシスの治療のために幅広く使用されている。

【0005】

N, N'-エチレン-(2-ヒドロキシフェニル)-グリシニル-(4-ヒドロキシフェニル)グリシン(o, p- E D D H A)もまた従来から知られている。o, o- E D D H Aとは異なり、o, p- E D D H A異性体では、ヒドロキシ基の一つがベンゼン環のパラ位に存在している。このため、o, p- E D D H Aの鉄キレートは5つの配位数を示し、鉄に対するその錯化親和性はo, o- E D D H Aよりも弱い。この化合物は、o, o- E D D H Aの製造プロセスによって生じる所望されない副産物としばしば見なされている。

【0006】

Gomez-Gallegoら(Chem.Eur.J. 2005, 11, 5997-6005を参照)は、鉄キレートレダクターゼによるF e (I I I)- o, o- E D D H Aキレートの還元を説明するためのモデルを提案している。それによれば、前記キレートの還元は8面体の閉形式の錯体では生じないが、o, o- E D D H Aの6つのキレート点はF e (I I I)に配位しているが、六配位においては、酸性p Hの根圏で開環種が形成される。前記報告のスキーム5に示されているように、オルト位にあるヒドロキシ基の一つはF e (I I I)と配位せず、よって水分子が埋まるであろう空位の配位部位が生じる。ヒドロキシ基の一つがパラ位に位置する錯体F e (I I I)- o, p- E D D H Aは既に必要とされる開環形態であり、酵素により直接還元することができる。

【0007】

国際公開第2005/095305号には、(o, o- E D D H A)及び(o, p- E D D H A)の双方を含む異性体混合物が開示されており、農業作物の栄養素、及びかかる植物のクロロシスの治療剤としての、(o, p- E D D H A)対(o, o- E D D H A)のモル比は0.8 : 1より高い。

【発明の概要】

【0008】

鉄欠乏関連植物病(例えば鉄クロロシス)を治療するのに現在使用されている商業的に入手可能なキレート剤、例えばE D D H Aをベースにしたもの、及びその既知の誘導体の特性は、完全には満足できるものではない。例えば、o, o- E D D H Aをベースにした現在のクロロシス治療は、植物において遅延化効果が示されることが知見されている。国際公開第2005/095305号には、上述したo, o- E D D H Aとo, p- E D D H Aの異性体混合物を使用することにより、この問題を解決することが提案されている。しかしながら、o, p- E D D H A / F e ³⁺ は、o, o- E D D H A / F e ³⁺ よりも安定性が低いことが示されている。(Yuntaら Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51, 5391-5399)よって、土壌中でかなり反応性がある。

【0009】

鉄クロロシスの治療に有用な化合物に望まれている特性は、Lucena, J.J. Iron Fertilizers in Correcting Iron Deficiencies in Plants. 第5章, In Iron Nutrition in Plants and Rhizospheric Microorganism 2006, pp 103-127, Springer-Verlag Academic Publishersに記載されている。

【0010】

本発明により解決される課題は、鉄欠乏関連植物病の治療に有用な代替生成物を提供することである。これらの生成物は、現在知られている治療に関して、改善された特性を有する。

【0011】

解決手段は、本発明者が、E D D H Aのカルボキシル基の一つを除去し、ヒドロキシフェニル基を維持又は調節することにより、多価金属、特に鉄に対するキレート親和性が維持されると同時に、幾つかの他の特性、特にそれを鉄クロロシスの治療に有用なものにするものが改善されることを確認したことに基づく。更なる記載については、本明細書の実施例1-7を参照されたい。

10

20

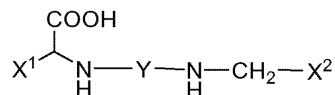
30

40

50

【0012】

従って、本発明の第一の態様は、式(I)：

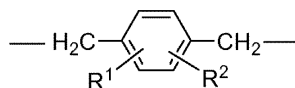


[上式中；

X^1 は、アルファ位にヒドロキシ基を有する C_6 又は C_{10} 芳香族系であり、場合によってはホスホ、スルホ、ハロ、カルボキシ、アセトキシ、 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アルコキシ又は直鎖状もしくは分枝状 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アルキルからなる群から独立して選択される4までの置換基により置換されていてもよく；

X^2 は、アルファ位にヒドロキシ基を有する C_6 又は C_{10} 芳香族系、又はN、O及びSからなる群から選択されるヘテロ原子をアルファ位に有し、場合によってはその構造中に他のN、O又はS原子を含んでいてもよく、0-3の二重結合を有する5又は6員の複素環であり、該芳香族系又は複素環系は、場合によってはホスホ、スルホ、ハロ、カルボキシ、アセトキシ、 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アルコキシ、直鎖状又は分枝状の $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アルキルからなる群から独立して選択される4までの置換基で置換されていてもよく；

Yは、 $(\text{CH}_2)_n$ 又は次の式：



のキシリレン基であり；

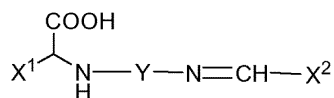
nは、2、3及び4から選択される整数であり；

R^1 、 R^2 は、H、直鎖状又は分枝状 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アルキル、 C_6 又は C_{10} アリールからなる群から独立して選択される]

の化合物に関する。

【0013】

第二の態様では、本発明は、本発明の第一の態様とその対応する実施態様に記載された式(I)の化合物を調製する方法に関し、該方法は、式(II)：



[上式中、 X^1 、 X^2 及びYは上で定義された通りである]

の化合物を、還元剤の存在下、適切な溶媒系中で還元する工程を含む。

【0014】

第三の態様では、本発明は、本発明の第一の態様とその対応する実施態様に記載された式(I)の化合物の、多価金属のための錯化剤としての使用に関する。

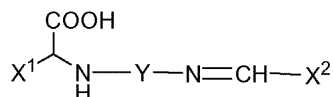
第四の態様では、本発明は、本発明の第一の態様とその対応する実施態様に記載された式(I)の化合物の一又は複数の多価金属とのキレートに関する。

第五の態様では、本発明は、本発明の第一の態様とその対応する実施態様に記載された式(I)の化合物、又はその多価金属キレートを含む農薬組成物に関する。

第六の態様では、本発明は、本発明の第一の態様とその対応する実施態様に記載された式(I)の化合物、又はその多価金属キレートの、植物の病気に関連した鉄欠乏症を治療する組成物を調製するための使用に関する。

【0015】

第七の態様では、本発明は、固形形態の式(II)：



10

[上式中、 X^1 、 X^2 及びYは上で定義した通りである]
の中間体に関する。

第八の態様では、本発明は、本発明の第七の態様とその対応する実施態様に記載された式(II)の中間体の、本発明の第一の態様とその対応する実施態様に記載された式(I)の化合物の調製における使用に関する。

【0016】

理論に縛られることを望むものではないが、Chem. Eur. J. 2005, 11, 5997に報告されているように、鉄クロロシスを軽減するFe(III)-o,o-EDDHAの効果は、空位の配位部位が生じていることを必要とする。この事実により、フェノール基の一つが金属を配位できない化合物o,p-EDDHAの高い有効性が説明される。有利には、本発明に記載の新規化合物は、金属と配位可能な基を5つのみ有している。この点がそれらの活性に必須であるはずである。

20

【0017】

更に、従来から知られており、鉄欠乏関連植物病の治療に使用されるEDHAの殆どの誘導体は、EDDHAの異性体であるo,p-EDDHAを除き、対称化合物である。これに対して、式(I)の全ての化合物は、EDDHAの2つのカルボキシル基の一方を欠いているために、非対称化合物である。よって、EDDHA誘導体を調製する既知の方法を、本発明の化合物に直接応用することはできない。このため、本発明者は式(I)の化合物を調製するための新規合成方法の開発を強いられた。

30

【0018】

明細書及び特許請求の範囲を通じて、「含有」なる用語と該用語の変形語、例えば「含む」は、他の技術的特徴、添加剤、成分又は工程を排除することを意図したものではない。優先権が主張されている出願の内容、並びに基礎出願と本出願の要約書の内容は、参照としてここに援用される。

本発明の更なる目的、利点及び特徴は、本明細書を読むと当業者には明らかになるであろうし、あるいは本発明を実施することにより知得されうる。以下の実施例は、例証のために提供されるものであり、本発明を限定することを意図したものではない。

40

【図面の簡単な説明】

【0019】

【図1】試験化合物及びコントロールのそれぞれで処理した土壌で成長した植物に対する処理日数に対して表された第4レベルのSPADインデックスを示す。

【図2】3回のサンプリング時での、試験化合物とコントロールを用いた、土壌実験における芽の乾燥重量(グラムで表す)を示す。

【図3】3回のサンプリング時の、試験化合物とコントロールを用いて処理された植物の葉における鉄濃度を示す。

【発明を実施するための形態】

【0020】

50

(定義)

直鎖状又は分枝状 C_1-C_4 アルキルとは、ここでは、4までの炭素原子を有する直鎖状又は分枝状アルキル基を意味する。よって、例えばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル及びtert-ブチルが含まれる。

C_1-C_4 アルコキシとは、ここでは酸素を介して結合した上述のアルキル基を意味し、具体例には、メトキシ、エトキシ、イソプロポキシ、tert-ブトキシ等が含まれる。

この発明において、ハロなる用語は、F、Cl、Br、I、好ましくはClを意味する。

C_6 又は C_{10} 芳香族系又は C_6 又は C_{10} アリール基には、フェニル及びナフチルが含まれる。

10

【0021】

(特定の実施態様の詳細な説明)

上で定義した通り、式(I)の化合物における X^2 は、アルファ位にヒドロキシ基を有する C_6 又は C_{10} 芳香族系、又はN、O及びSからなる群から選択されるヘテロ原子をアルファ位に有し、場合によってはその構造中に他のN、O又はS原子を含んでいてもよく、0-3の二重結合を有する5又は6員の複素環であり、該芳香族系又は複素環系は、場合によってはホスホ、スルホ、ハロ、カルボキシ、アセトキシ、 C_1-C_4 アルコキシ、直鎖状又は分枝状 C_1-C_4 アルキルからなる群から独立して選択される4までの置換基で置換されていてもよい。ここで意味する複素環には、非芳香族複素環(例えば、2-アゼチジニル、2-ピロリジニル、2-ピペリジニル)及び芳香族複素環の双方が含まれる。好ましくは、前記複素環はヘテロ芳香環である。

20

【0022】

式(I)の好ましい化合物は X^2 が2-ヒドロキシフェニル、2-ヒドロキシ-ナフチル、2-フリル、2-チエニル、2-ピロリル、2-ピリジニル、4-ピリジミジニル、2-ピラジニルからなる群から選択され、場合によってはホスホ、スルホ、ハロゲン、 C_1-C_4 アルコキシ、カルボキシ、アセトキシ、直鎖状又は分枝状 C_1-C_4 アルキルからなる群から独立して選択される2又は1の置換基で置換されていてもよいものである。好ましい任意的置換基には、メチル、フェニル、ホスホ、スルホ、カルボキシ、アセチルが含まれる。

【0023】

30

式(I)のより好ましい化合物は、 X^1 が2-ヒドロキシフェニル又は2-ヒドロキシナフチルで、場合によってはメチル又はメトキシからなる群から独立して選択される2又は1の置換基で置換されていてもよいものである。更に好ましくは、 X^1 が2-ヒドロキシフェニルであるものである。

【0024】

式(I)の化合物において、好ましくはYは $(CH_2)_n$ であり、より好ましくは、nは2である。Yが上述したようなキシリレン基である場合、好ましくは R^1 及び R^2 の双方がHである。

好ましい実施態様では、式(I)の化合物は、Yが $(CH_2)_n$ であり、より好ましくはnが2であり、 X^1 が2-ヒドロキシフェニルであり、 X^2 が2-ヒドロキシフェニル、2-ヒドロキシナフチル、2-フリル、2-チエニル、2-ピロリル、2-ピリジニル、4-ピリジミジニル、2-ピラジニルで、場合によっては C_1-C_4 アルキル、 C_1-C_4 アルコキシ、カルボキシ、スルホ、アセトキシからなる群から独立して選択される2又は1の置換基で置換されていてもよいものからなる群から選択される。

40

【0025】

最も好ましい化合物は：

2-(2-((2-ヒドロキシベンジル)アミノ)エチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシフェニル)酢酸、

2-(2-((2-ヒドロキシ-1-ナフチル)メチルアミノ)エチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシフェニル)酢酸、

50

2-(2-((ピリジン-2-イル)メチルアミノ)エチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシフェニル)酢酸、

2-(2-((1H-ピロール-2-イル)メチルアミノ)エチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシフェニル)酢酸、

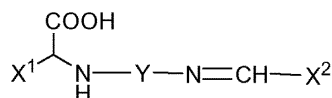
からなる群から選択される。

【0026】

限定されるものではないが、好ましい方法には、以下に記載のものが含まれる。反応は、使用される試薬及び材料に適しており、実施される変換に適した溶媒中で実施される。有機合成の専門家には、分子中に存在する官能基が提案された変換と一致していなければならないことが分かるであろう。このことは、幾つかの場合では、本発明の所望される化合物を得るために、合成工程の順番をかえ、又は他よりはむしろ特定の一方法を選択する必要がある場合がある。更に、以下に記載する手順の幾つかにおいては、本発明の化合物又は中間体に存在する試薬官能基を保護することが望ましいか又は必要である場合がある。様々な保護基とそれらを導入し除去する手順は、Greene及びWuts(Protective Groups in Organic Synthesis, Wiley及びSons, 1999)に記載されている。ここに引用された全ての文献は、出典明示によりここに援用される。

【0027】

上述の式(I)の化合物は、次の式(II)：



[上式中、 X^1 、 X^2 及びYは上で定義した通りである]

の化合物を、還元剤の存在下、適切な溶媒系中で還元する工程を含む方法により調製することができる。

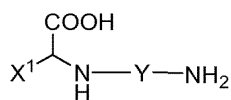
反応は、様々な溶媒系で実施されうる。適切な溶媒系には、 C_1 - C_4 アルコール類、例えばメタノール及びエタノール、酢酸、水、及びそれらの混合物が含まれる。好ましくは、反応はメタノール中で実施される。

適切な還元剤は、水素化物及び金属触媒を伴う水素である。好ましくは、還元剤は水素化ホウ素、例えばシアノ水素化ホウ素ナトリウム、トリアセトキシ水素化ホウ素ナトリウム、水素化ホウ素ナトリウムからなる群から選択される。より良い結果は、使用される還元剤が水素化ホウ素ナトリウム又はPd水素化である場合に得られる。

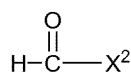
反応は、好ましくは 15°C ~ 40°C の範囲の温度で実施される。より良い結果は、 18°C ~ 25°C で実施された場合に得られる。

【0028】

好ましい実施態様では、本発明の第二の態様に係る式(I)の化合物の調製方法は、式(III)の化合物を式(IV)の化合物と、適切な溶媒系で反応させることにより、前記式(III)の化合物を調製する工程を予め更に含む：



(III)



(IV)

[上式中、 X^1 、 X^2 及びYは上で定義された通りである]。

式(III)の化合物と式(IV)の化合物との反応は、種々の溶媒系で実施されうる。適切な溶媒系には、 C_1 - C_4 アルコール類、例えばメタノール及びエタノール；水；ニト

10

20

30

40

50

リル類、例えばアセトニトリル；ケトン類、例えば2-ブタノン；及びそれらの混合物が含まれる。反応は、メタノール、エタノール、水又はそれらの混合物において実施されるのが好ましい。

好ましい実施態様では、式(I I I)の化合物と式(I V)の化合物との間の反応と、続いて得られた式(I I)の化合物を還元して式(I)の化合物を調製する反応は、ワンポット反応として実施される。

【0029】

本方法を実施するための最も適切な条件は、当業者により考慮されるパラメータ、例えば出発物質、温度等により変化する。このような反応条件は、当業者であれば、常套的な試験により、またこの文献に含まれる実施例の教示により、容易に決定することができる。

10

【0030】

式(I I I)の化合物は文献に記載されており、及び／又は従来技術(例えば、米国特許第5679704号、独国特許出願公開第3329028A1号、及び国際公開第2006045852A1号)において知られているものと類似した方法により、商業的に入手可能な製品から調製することができる。

上述の式(I)の化合物は、多価金属用の錯体形成剤として使用されうる。好ましくは、前記多価金属は、鉄、ニッケル、亜鉛、マンガン、イッテルビウム、ガドリニウム、コバルト及び銅からなる群から選択される少なくとも一の多価金属である。より好ましくは、前記金属は鉄である。

20

上述の式(I)の化合物は、一又は複数の多価金属とキレートを形成する場合がある。好ましくは、前記多価金属は、鉄、ニッケル、亜鉛、マンガン、イッテルビウム、ガドリニウム、コバルト、銅、パラジウム、白金及び金からなる群から選択される少なくとも一の多価金属である。このような鉄キレートは、例えばアルカリ又はアルカリ土類金属、特にナトリウム、カリウム、カルシウム又はマグネシウム、中でもナトリウムを更に含むうる。

【0031】

本発明のキレートは、唯一の活性成分として、又は植物栄養素又は植物用肥料等、他の農業用活性成分と組合せて、農業的に許容可能な組成物中の活性成分として使用することができる。よって、本発明の農業組成物は、上述した式(I)の化合物又はその金属キレートを含む。前記組成物は、農業的に許容可能な担体を更に含有していてもよい。組成物は、土壌に注入することにより、溶液又は懸濁液の形態で好ましくは適用される。

30

他の農業的に許容可能な活性成分は、付加的な肥料、微量栄養素供与体、又は植物の成長及び発育に影響を与える他の調製物、又は植物の保護用生成物、例えば選択的除草剤又は殺虫剤、消毒剤、殺菌剤、殺線虫剤、軟体動物駆除剤、又は所望するならば、このような調製物の幾つかの混合物でありうる。

【0032】

また農業的に許容可能な活性成分には、他のキレート剤も含まれる。前記キレート剤には、エチレンジアミン四酢酸(EDTA)、ジエチレントリアミン五酢酸(DTPA)、o, o'-EDDHA、及びo, p'-EDDHAが含まれる。一実施態様では、本発明の農業組成物はo, o'-EDDHAをまた含む。

40

農業的に許容可能な担体は、天然又は再生鉱物、溶媒、分散剤、湿潤剤、粘着付与剤、増粘剤、又はバインダーでありうる。このような担体及び添加剤は、例えば国際公開第95/30651号に記載されている。

【0033】

本発明の式(I)の化合物は、鉄欠乏関連植物病の治療に有用である。好ましくは、前記植物病は鉄クロロシスである。

式(I I)の好ましい中間体は、X¹が2-ヒドロキシフェニルであるものである。

【実施例】

【0034】

50

実施例 1 : 2-(2-((2-ヒドロキシベンジル)アミノ)エチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシフェニル)酢酸

工程 1. 式 I I の中間体($X^1 = 2$ -ヒドロキシフェニル、 $Y = (CH_2)_2$ 、 $X^2 = 2$ -ヒドロキシベンジル)

pH 7. 3 の 2-(2-アミノエチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシフェニル)酢酸塩酸塩の水溶液に、エタノール中の等モル量のサリチルアルデヒドを添加した。室温で 1 時間攪拌した後、表題のシッフ塩基を濾過し、80%の収率で固形物として得た。

^1H -NMR(300 MHz、DMSO- d_6 、2. 5, ppm): $\delta = 8. 54$ (s, 1H, CH=N)、7. 48(d, 1H, $J = 7. 5$ Hz, Ar)、7. 34(t, 1H, $J = 7. 62$ Hz, Ar)、7. 30(d, 1H, $J = 7. 32$ Hz, Ar)、7. 18(m, 1H, Ar)、6. 92-6. 70(m, 4H, Ar)、4. 62(s, 1H, CH)、3. 83(m, 4H, CH_2)、3. 15(m, 1H, CH_2)、3. 02(m, 1H, CH_2)。 10

【0035】

工程 2. 2-(2-((2-ヒドロキシベンジル)アミノ)エチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシフェニル)酢酸

工程 1 で得られたシッフ塩基を、室温で MeOH(10%の Pd/C)において水素化し、褐色の固形物として表題の生成物を得た(80%)。

^1H -NMR(500 MHz、 D_2O 、4. 8(HDO)、ppm): $\delta = 7. 20$ -7(m, 4H, Ar)、6. 79-6. 66(m, 4H, Ar)、4. 36(s, CH)、3. 87(s, 2H, CH_2)、2. 84-2. 69(m, 4H, CH_2)。 20

【0036】

実施例 2 : 2-(2-((2-ヒドロキシ-1-ナフチル)メチルアミノ)エチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシフェニル)酢酸

工程 1. 式 I I の中間体($X^1 = 2$ -ヒドロキシフェニル、 $Y = (CH_2)_2$ 、 $X^2 = 2$ -ヒドロキシ-1-ナフチル)

等モル量の 2-(2-アミノエチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシフェニル)酢酸塩酸塩及び 1-ホルミル- β -ナフトールから出発する以外は、実施例 1 に従い、70%の収率で黄色の固形物として表題のシッフ塩基を得た。

^1H -NMR(300 MHz、DMSO、2. 5, ppm): $\delta = 9. 11$ (s, 1H, CH-N)、8. 055(d, 1H, $J = 8. 35$ Hz, Ar)、7. 72(d, 1H, $J = 9. 44$ Hz, Ar)、7. 63(d, 1H, $J = 7. 10$ Hz, Ar)、7. 42(d, 2H, $J = 7. 07$ Hz, Ar)、7. 25(d, 1H, $J = 9. 44$ Hz, Ar)、7. 17(d, 2H, $J = 7. 11$ Hz, Ar)、6. 75-6. 67(m, 2H, Ar)、4. 43(s, 1H)、3. 86-3. 78(m, 2H, CH_2)、3. 2-3. 02(m, 1H, CH_2)、2. 92-2. 8(m, 1H, CH_2)。 30

【0037】

工程 2. 2-(2-((2-ヒドロキシ-1-ナフチル)メチルアミノ)エチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシフェニル)酢酸

MeOH中の等モル量の工程 1 で得られたシッフ塩基、 $NaBH_3CN$ 、及び触媒量の Zn_2Cl の混合物を、室温で 3 時間攪拌した。蒸発により溶媒を除去し、褐色の固形物として表題生成物を得た(収率 85%)。 40

^1H -NMR(500 MHz、 D_2O 、4. 8(HDO)、ppm): $\delta = 7. 7$ -7. 55(m, 3H, Ar)、7. 45-7. 37(m, 1H, Ar)、7. 3-7. 15(m, 2H, Ar)、7. 06(d, 1H, $J = 5. 67$ Hz, Ar)、6. 95(d, 1H, $J = 9. 17$ Hz, Ar)、6. 8-7. 2(m, 2H, Ar)、5. 02(s, 1H)、4. 23(s, 2H)、3. 22-3. 073(m, 4H)。 50

【0038】

実施例 3 : 2-(2-((ピリジン-2-イル)メチルアミノ)エチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシフェニル)酢酸

工程 1. 式 I I の中間体($X^1 = 2$ -ヒドロキシフェニル、 $Y = (CH_2)_2$ 、 $X^2 =$ ピリジ 50

ン-2-イル)

等モル量の2-(2-アミノエチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシフェニル)酢酸塩酸塩及びpH7の2-ピリジンカルボキシアリドから出発する以外は、実施例1の手順に従った。室温で20時間後、溶媒を除去し、90%の収率で黄色固形物として、表題のシッフ塩基を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO, 2.5, ppm): δ = 8.63(b s, 1H, J = 4.77 Hz, CH=N)、8.5-8.1(m, 1H, Ar)、8.0-7.84(m, 2H, Ar)、7.46(t, 1H, Ar J = 6.58 Hz)、7.21-7.1(m, 1H, Ar)、7.05-6.95(m, 1H, Ar)、6.88-6.73(m, 2H, Ar)、4.59(s, 1H, CH)、3.9(m, 2H, CH₂)、3.1-3.0(m, 2H, CH₂)。

10

【0039】

工程2. 2-(2-((ピリジン-2-イル)メチルアミノ)エチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシフェニル)酢酸

MeOH中の等モル量の工程1で得られたシッフ塩基とNaBH₄との混合物を、室温で20時間攪拌した。蒸発により溶媒を除去し、白色固形物として表題の生成物を得た(収率95%)。

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, D₂O, 4.8(HDO) ppm): δ = 8.4-8.36(m, 1H, Ar)、7.82(td, 1H, J_1 = 7.65 Hz, J_2 = 1.38 Hz, Ar)、7.77-7.72(m, 2H, Ar)、7.36-7.25(m, 2H, Ar)、7.2-7.0(m, 1H, Ar)、6.74-6.65(m, 1H, Ar)、4.38(s, CH)、3.76(s, 2H, CH₂)、2.78-2.6(m, 4H, CH₂)。

20

【0040】

実施例4: 2-(2-((1H-ピロール-2-イル)メチルアミノ)エチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシフェニル)酢酸

工程1. 式IIの中間体(X^1 = 2-ヒドロキシフェニル、 Y = (CH₂)₂、 X^2 = 1H-ピロール-2-イル)

等モル量の2-(2-アミノエチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシフェニル)酢酸塩酸塩及びピロール-2-カルボキシアリドから出発する以外は、実施例1の手順に従い、室温で20時間攪拌した後、90%の収率でオレンジ色の固形物として、表題のシッフ塩基を得た。

30

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO, 2.5, ppm): δ = 8.09(s, 1H, CH=N)、7.35-7.20(m, 1H, Ar)、7.0-6.95(m, 1H, Ar)、6.87(s, 1H, Ar)、6.75-6.65(m, 1H, Ar)、6.5-6.4(m, 1H, Ar)、6.3-6.2(m, 1H, Ar)、6.115-6.05(m, 1H, Ar)、4.11(s, 1H, CH)、3.65-3.5(m, 2H, CH₂)、2.9-2.6(m, 2H, CH₂)。

【0041】

工程2. 2-(2-((1H-ピロール-2-イル)メチルアミノ)エチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシフェニル)酢酸

40

MeOH中の、等モル量の工程1で得られたシッフ塩基とNaBH₄との混合物を、室温で20時間攪拌した。蒸発により溶媒を除去し、オレンジ色の固形物として表題の生成物を得た(収率94%)。

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, D₂O, 4.8(HDO), ppm): δ = 7.2-7.1(m, 2H, Ar)、6.80-6.69(m, 3H, Ar)、6.15-6.25(m, 2H, Ar)、4.44(s, 1H)、3.70(s, 2H, CH₂)、2.85-2.6(m, 4H, CH₂)。

【0042】

実施例5: 2-(2-((イミダゾール-4(5)-イル)メチルアミノ)エチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシフェニル)酢酸

50

工程 1. 式 I I の中間体 ($X^1 = 2$ -ヒドロキシフェニル、 $Y = (CH_2)_2$ 、 $X^2 =$ イミダゾール-4(5)-イル)

pH 7. 2 の 2-(2-アミノエチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシフェニル)酢酸塩酸塩の水溶液に、メタノール中の等モル量の 4(5)-ホルミルイミダゾールを添加した。室温で 24 時間攪拌した後、表題のシッフ塩基を濾過し、定量的収率で固形物として得た。

^1H -NMR (300 MHz、 CD_3OD 、3.31 ppm) : $\delta = 8.21$ (broad s, 1H, CH=N)、7.76 (s, 1H, CH=N)、7.49 (s, 1H, CH=N)、7.23 (dt, 1H, $J_1 = 7.56$ Hz, $J_2 = 1.35$ Hz, Ar)、7.10 (td, 1H, $J_1 = 1.38$ Hz, $J_2 = 7.56$ Hz, Ar)、6.77 (m, 2H, Ar)、5.74 (1H, NH)、4.44 (s, 1H, CH)、3.72-3.70 (m, 2H, CH_2)、3.08-3.0 (m, 1H, CH_2)、2.95-2.34 (m, 1H, CH_2)。

10

【0043】

工程 2. 2-(2-((イミダゾール-4(5)-イル)メチルアミノ)エチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシフェニル)酢酸

工程 1 で得られたシッフ塩基を、室温で MeOH (10% の Pd/C) 中で水素化し、固形物として表題の生成物を得た (35%)。

^1H -NMR (500 MHz、 D_2O 、4.8 (HDO) ppm) : $\delta = 7.55$ (s, 1H, C=N)、7.06-7.03 (m, 2H, Ar)、6.88 (s, 1H, C=N)、6.68-6.64 (m, 2H, Ar)、4.33 (s, 1H, CH)、3.59 (s, 2H, CH_2)、2.76-2.56 (m, 4H, CH_2)。

20

【0044】

実施例 6 : 2-(2-((1H-イミダゾール-2-イル)メチルアミノ)エチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシフェニル)酢酸

工程 1. 式 I I の中間体 ($X^1 = 2$ -ヒドロキシフェニル、 $Y = (CH_2)_2$ 、 $X^2 = 1H$ -イミダゾール-2-イル)

pH 7. 2 の 2-(2-アミノエチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシフェニル)酢酸塩酸塩の水溶液に、メタノール中の等モル量の 2-ホルミルイミダゾールを添加した。室温で 24 時間攪拌した後、表題のシッフ塩基を濾過し、定量的収率で固形物として得た。

^1H -RMN (500 MHz、 CD_3OD 、3.31 ppm) $\delta = 8.24$ (broad s, 1H, CH=N)、7.18 (s, 2H, CH=N)、7.10-6.97 (m, 2H, Ar)、6.79-6.73 (m, 2H, Ar)、5.72 (broad s, 1H, NH)、4.36 (s, 1H, CH)、3.79-3.75 (m, 2H, CH_2)、3.03-2.94 (m, 1H, CH_2)、2.89-2.84 (m, 1H, CH_2)。

30

【0045】

工程 2. 2-(2-((1H-イミダゾール-2-イル)メチルアミノ)エチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシフェニル)酢酸

工程 1 で得られたシッフ塩基を、室温で MeOH (10% の Pd/C) において水素化し、固形物として表題生成物を得た (34%)。

^1H -RMN (500 MHz、 D_2O 、4.8 (HDO) ppm) $\delta = 7.55$ (s, 1H, C=N)、7.06-7.03 (m, 2H, Ar)、6.88 (s, 1H, C=N)、6.68-6.64 (m, 2H, Ar)、4.33 (s, 1H, CH)、3.59 (s, 2H, CH_2)、2.76-2.56 (m, 4H, CH_2)。

40

【0046】

実施例 7 : 2-(2-((ピペリジン-2-イル)メチルアミノ)エチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシフェニル)酢酸

工程 1. 式 I I の中間体 ($X^1 = 2$ -ヒドロキシフェニル、 $Y = (CH_2)_2$ 、 $X^2 =$ ピペリジン-2-イル)

pH 7. 2 の 2-(2-アミノエチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシフェニル)酢酸塩酸塩の水溶液に、メタノール中の等モル量の 2-ホルミル-N-tert-ブトキシカルボニル-ピペリ

50

ジンを添加した。室温で24時間攪拌した後、表題のシッフ塩基を濾過し、定量的収率で固形物として得た。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz、DMSO- d_6 、2.5, ppm): δ = 7.57(s, 1H, C=N)、7.28-7.26(m, 2H, Ar)、7.0-6.96(m, 2H, Ar)、4.5(s, 1H, CH)、4.14-4.05(m, 1H, CH)、3.3-2.80(m, 6H, CH_2)、1.49-1.36(m, 6H, CH_2)、1.36(s, 9H, CH_3)。

【0047】

工程2. 2-(2-((ピペリジン-2-イル)メチルアミノ)エチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシフェニル)酢酸

工程1で得られたシッフ塩基を、室温でMeOH(10%のPd/C)において水素化し、ついで室温で24時間、10mLのジオキサン中の1mLの10% H_2SO_4 を用いて、tert-ブトキシカルボニル(BOC)基を除去し、固形物として表題生成物を得た(60%)。

$^1\text{H-RMN}$ (500 MHz、 D_2O 、4.8(HDO) ppm): δ = 7.21-7.16(m, 2H, Ar)、6.72-6.67(m, 2H, Ar)、4.35(s, 1H, CH)、3.56-3.51(m, 1H, CH)、3.1-2.52(m, 8H, CH_2)、1.49-1.45(m, 2H, CH_2)、1.13-1.03(m, 4H, CH_2)。

【0048】

実施例8: 2-(2-((ピロリジン-2-イル)メチルアミノ)エチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシフェニル)酢酸

工程1. 式IIの中間体(X^1 = 2-ヒドロキシフェニル、 Y = (CH_2) $_2$ 、 X^2 = ピロリジン-2-イル)

pH 7.2の2-(2-アミノエチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシフェニル)酢酸塩酸塩の水溶液に、メタノール中の等モル量の2-ホルミル-N-tert-ブトキシカルボニル-ピロリジンを添加した。室温で24時間攪拌した後、表題のシッフ塩基を濾過し、定量的収率で固形物として得た。

$^1\text{H-RMN}$ (500 MHz、DMSO- d_6 、2.5, ppm): δ = 7.57(broad s, 1H, C=N)、7.27(d, 1H, J = 7.35 Hz, Ar)、7.01-6.91(m, 1H, Ar)、6.66-6.59(m, 2H, Ar)、4.6(m, 1H, CH)、3.92(s, 1H, CH)、2.71-2.6(m, 1H, CH_2)、2.59-2.45(m, 1H, CH_2)、1.99-1.75(m, 4H, CH_2)、1.38-1.37(m, 2H, CH_2)、1.37(s, 9H, CH_3)。

【0049】

工程2. 2-(2-((ピロリジン-2-イル)メチルアミノ)エチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシフェニル)酢酸

工程1で得られたシッフ塩基を、室温でMeOH(10%のPd/C)において水素化し、ついで室温で24時間、10mLのジオキサン中の1mLの10% H_2SO_4 を用いて、BOC基を除去し、固形物として表題生成物を得た(50%)。

$^1\text{H-RMN}$ (500 MHz、 D_2O 、4.8(HDO) ppm): δ = 7.31-7.26(m, 2H, Ar)、6.91-6.87(m, 2H, Ar)、5.1(s, 1H, CH)、3.9-3.83(m, 1H, CH)、3.44-3.20(m, 8H, CH_2)、1.96-1.65(m, 4H, CH_2)。

【0050】

実施例9: 2-(2-((2-ヒドロキシベンジル)アミノ)エチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシ-4-メチルフェニル)酢酸

工程1. 式IIの中間体(X^1 = 2-ヒドロキシ-4-メチルフェニル、 Y = (CH_2) $_2$ 、 X^2 = 2-ヒドロキシベンジル)

pH 7.2の2-(2-アミノエチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシ-4-メチルフェニル)酢酸塩酸塩の水溶液に、エタノール中の等モル量のサリチルアルデヒドを添加した。室温で1時間攪拌した後、表題のシッフ塩基を濾過し、65%の収率で黄色の固形物として得た

。
¹H-NMR(300MHz、DMSO-d₆、2.5, ppm): δ=8.54(s, 1H, CH=N)、7.45(d, 1H, J=7.78Hz, Ar)、7.33(td, 1H, J₁=1.63Hz, J₂=8.2Hz, Ar)、7.08(d, 1H, J=7.7Hz, Ar)、6.9(t, 2H, J=7.27Hz, Ar)、6.61-6.58(m, 2H, Ar)、4.56(s, 1H, CH)、3.85-3.81(m, 2H, CH₂)、3.17-3.09(m, 1H, CH₂)、3.09-2.95(m, 1H, CH₂)、2.18(s, 3H, CH₃)。

【0051】

工程2. 2-(2-((2-ヒドロキシベンジル)アミノ)エチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシ-4-メチルフェニル)酢酸

10

工程1で得られた Schiff 塩基を、室温で MeOH(10%の Pd/C)において水素化し、褐色の固形物として表題生成物を得た(75%)。

¹H-NMR(500MHz、D₂O、4.8(HDO)、ppm): δ=7.22-7.1(m, 3H, Ar)、6.72-6.64(m, 4H, Ar)、4.37(s, 1H, CH)、3.92(s, 2H, CH₂)、2.59-2.81(m, 4H, CH₂)、2.23(s, 3H, CH₃)。

【0052】

実施例10: 2-(2-((2-ヒドロキシベンジル)アミノ)エチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシ-5-メチルフェニル)酢酸

20

工程1. 式IIの中間体(X¹=2-ヒドロキシ-5-メチルフェニル、Y=(CH₂)₂、X²=2-ヒドロキシベンジル)

pH7.2の2-(2-アミノエチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシ-5-メチルフェニル)酢酸塩酸塩の水溶液に、エタノール中の等モル量のサリチルアルデヒドを添加した。室温で1時間攪拌した後、表題の Schiff 塩基を濾過し、52%の収率で黄色の固形物として得た。

。
¹H-NMR(300MHz、DMSO-d₆、2.5, ppm): δ=8.55(s, 1H, C=N)、7.45(d, 1H, J=7.6Hz, Ar)、7.32(t, 1H, J=8.81Hz, Ar)、7.02(s, 1H, Ar)、6.90(t, 3H, J=7.56Hz, Ar)、6.68(d, 1H, J=8.13, Ar)、4.52(s, 1H, CH)、3.85-3.80(m, 2H, CH₂)、3.2-3.12(m, 1H, CH₂)、3.01-2.94(s, 1H, CH₂)、2.17(s, 3H, CH₃)。

30

【0053】

工程2. 2-(2-((2-ヒドロキシベンジル)アミノ)エチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシ-5-メチルフェニル)酢酸

工程1で得られた Schiff 塩基を、室温で MeOH(10%の Pd/C)において水素化し、褐色の固形物として表題生成物を得た(70%)。

¹H-NMR(500MHz、D₂O、4.8(HDO)、ppm): δ=7.18(t, 1H, J=6.14Hz, Ar)、7.2-7.15(m, 2H, Ar)、6.92-6.89(s, 1H, Ar)、6.89-6.68(m, 3H, Ar)、5.15(s, 1H, CH)、4.16(s, 2H, CH₂)、3.36-3.19(m, 4H, CH₂)、2.19(s, 3H, CH₃)。

40

【0054】

実施例11: 鉄キレート調製の調製

本発明の鉄キレートを調製するために使用される一般手順は以下の通りである:

NaOH中の式(I)の配位子溶液(1:3の配位子:NaOHモル比)に、等モル量の FeCl₃・6H₂Oの水溶液を添加した。添加中、NaOH又はHClを添加することにより、溶液のpHを6.0-8.0に維持し、最終的にpH7に調節すべきである。使用前に、最終溶液を0.45μmのセルロース膜を通して濾過した。

【0055】

50

実施例 12：キレート剤の滴定純度の測定 光度滴定

キレート剤溶液を、必要量の NaOH 溶液中に所定量のキレート剤を溶解させることにより調製した。ついで、MES 生理的緩衝液[2-(N-モルホリノ)エタンスルホン酸]を添加することにより pH を 6 に調節し、滴定中、NaOH 溶液を添加して、この pH を維持した。NaCl を用い、イオン強度を 0.1 M で固定し、上部雰囲気を CO₂ を含有しない N₂ とした。試験溶液を、ガスの注入及び排出用管が固定された気密キャップ、一体化された pH ガラス電極、光学検出器、及び 2 つのピストンビュレット、溶液の表面下に広がるチップ、及び磁気攪拌機を具備する温度制御ジャケット付き反応槽(すなわち、100 ml 又は 150 ml の容量)に入れた。光学滴定は、原子吸光分光法により予め標準化された Fe(III) 標準溶液を、480 nm での吸光度が変化しなくなるまでキレート剤に添加することからなる。滴定の終点は、2 つの線形セグメントの交点について、平滑化二次導関数法を使用して評価することができる。

【0056】

電位差滴定

また、キレート剤の純度は、上と同じ条件で、Cu²⁺ イオン選択電極を用い、電位差滴定により測定することができる。選択 Cu(II) 電極及び基準電極を使用し、Cu(II) 溶液を用いてキレート剤溶液を滴定し、Cu²⁺ フリーのカチオンを、選択電極を使用して測定する。電位差滴定の終点は、グラン等式法により、又は一次導関数法を使用し決定することができる。予め、滴定溶液として使用される Cu(II) 溶液を、EDTA-Na₂ 溶液を用いて標準化し、選択電極スローブを、滴定溶液として Cu(II) を用い、pH = 6 に固定された NaCl 溶液を滴定することにより決定する。

【0057】

実施例 13：農薬活性の決定

水栽培の大豆に Fe を供給する Fe キレートの効果

大豆の種(グリシン max L. cv. Stine 0480)を、暗所で 2 日間、1 M の CaSO₄ で湿らされた紙上、30 °C 及び 60 % RH で発芽させた。その後、苗を 6 日間、1/5 希釈された EDTA 緩衝栄養溶液(主要栄養素(mM)-1.0 の Ca(NO₃)₂、0.9 の KNO₃、0.3 の MgSO₄、0.1 の KH₂PO₄；陽イオン微量栄養素(μM)-5.0 の EDTA/Fe³⁺、2.5 の MnSO₄、1.0 の CuSO₄、10 の ZnSO₄、1.0 の CoSO₄、1.0 の NiCl₂、115.5 の Na₂EDTA；陰イオン微量栄養素(μM)-35 の NaCl、10 の H₃BO₃、0.05 の Na₂MoO₄；0.1 mM の HEPES)が充填された 10 L の容器に配した(容器当たり 50 の苗)。7 日目、Fe クロロシスを誘発させるために、空気を含んだそのまの濃度の EDTA 緩衝栄養溶液を含有するが Fe³⁺-キレートを含有しない 12 L のポリプロピレンバケツに、苗を移した。これらの条件下、Fe 欠乏が明らかな兆候が観察されるまで植物を成長させ(7 日間)、ついで、光暴露を回避するために、黒のプラスチックで覆われた 2 L の鉢に植物を配した(鉢当たり 6 つの植物)。種々の Fe キレートの効果及び用量を、Fe 源と比較した。処理に使用されたキレートは、o,o-EDDHA/Fe³⁺、o,p-EDDHA/Fe³⁺、EDTA/Fe³⁺ 及び実施例 1/Fe³⁺ である。最後の一つは実施例 1 の化合物：2-(2-((2-ヒドロキシベンジル)アミノ)エチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシフェニル)酢酸(DCHA)の Fe キレートである。種苗期間は主要栄養素及び陰イオン微量栄養素を含有する栄養溶液、続いて陽イオン微量栄養素の組成：(μM)1.0 の MnSO₄、0.5 の CuSO₄、0.5 の ZnSO₄、0.1 の NiCl₂ 及び 0.1 の CoSO₄。また、1 g · L⁻¹ の CaCO₃ を栄養溶液に添加し、pH 7.5 に緩衝させ、石灰質の土壌の状態を模倣した。この栄養溶液中、蛍光灯とナトリウム灯を具備する成長チャンバーにおいて、日中は 16 時間/30 °C、湿度 50 %、夜間は 8 時間/25 °C、湿度 70 % のレジメにて 21 日間、植物を成長させた。2 日毎に水を添加し、7 日毎に栄養溶液を新しくした。完全にランダムな設計において、処理を 4 回繰り返した。7、14 及び 21 日後に、植物を収穫した。

【0058】

実験中、葉緑素計(Minolta SPAD-502)を用いたSPAD読み取りを、2日毎に、全ての葉の段階で実施した(段階当たり、平均2又は3回の読み取り)。最も若い、完全に開いた葉について測定された値(2日目に第2段階、10日目に第3段階、20日目に第4段階)だけを、ここに提供する(表1)。

表1. 測定したSPADインデックスに対するFeキレート処理の効果

処理	SPAD		
	処理後の時間(日)		
	2 (第2段階)	10(第3段階)	20 (第4段階)
T0 コントロール(Fe非含有)	5.0 d	3.4 d	-
T1 5 μ M 実施例1/Fe ³⁺	8.4 abc	32.8 a	34.8 a
T2 10 μ M 実施例 1/Fe ³⁺	8.8 ab	35.7 a	35.0 a
T3 5 μ M o,o-EDDHA/Fe ³⁺	6.2 cd	26.7 b	30.2 a
T4 10 μ M o,o-EDDHA/Fe ³⁺	9.1 ab	31.6 ab	32.4 a
T5 5 μ M o,p-EDDHA/Fe ³⁺	8.1 abc	30.9 ab	32.2 a
T6 10 μ M o,p-EDDHA/Fe ³⁺	10.4 a	33.1 a	32.9 a
T7 5 μ M EDTA/Fe ³⁺	6.8 bcd	6.9 d	11.4 c
T8 10 μ M EDTA/Fe ³⁺	8.1 abc	16.6 c	19.9 b

縦列の異なる文字はダンカン検定による処理間の有意差($\alpha=0.05$)を示す。

【0059】

処理適用後の、葉緑素及び植物の回復度を、SPADインデックスにより評価した。表1はこのパラメーターの経時変化を示す。処理適用の2日後、10 μ Mのo,p-EDDHA/Fe³⁺で処理された植物は、最も高いSPADインデックスを示したが、5 μ Mのo,o-EDDHA/Fe³⁺、5 μ MのEDTA/Fe³⁺及び-Feによる処理とは、有意差を示した。10日後、5 μ M及び10 μ Mの実施例1/Fe³⁺及び10 μ Mのo,p-EDDHA/Fe³⁺で処理された植物は、5 μ Mのo,o-EDDHA/Fe³⁺、5 μ M及び10 μ MのEDTA/Fe³⁺及び-Feによる処理に対して、再びかなり緑になった。実験の終わり(処理適用の20日後)、用量にかかわらず、実施例1、o,o-EDDHA及びo,p-EDDHA Feキレート(T1、T2、T3、T4、T5及びT6)で処理された植物は、完全に緑になり、5 μ M及び10 μ Mの用量のEDTA/Fe³⁺及び-Feによる処理に関して、有意のSPADインデックス値を示す。

【0060】

適用された低用量及び観察された傾向を考慮し、我々は、実施例1で得られた生成物が、o,p-EDDHAと同程度であるが、o,o-EDDHAより高く、鉄クロロシスを直すために素早く作用すると結論付けることができる。

【0061】

根と芽を分離し、トゥイーン80(Merck)とHCl溶液で洗浄し、新鮮及び乾燥(オープン乾燥手順後)重量を測定した。サンプルを粉碎し、マッフル炉(480°C)において乾燥消化させた後、灰をHClに溶解させた。Fe、Mn、Cu及びZnを原子吸光分光法により分析した。

【0062】

表2には、低Fe適用での処理について、各サンプリング時における植物中のFe含有量を提供する。新規化合物である実施例1/Fe³⁺により、他の処理、特に3回目のサンプリング時でのo,p-EDDHAよりも、この実験条件ではかなり多量の鉄を、更に素早く提供することができる。しかしながら、多量のFe(10μM、表3)が使用される場合、EDTA/Fe³⁺を用いた処理に関してしか、有意な差異はない。実施例1/Fe³⁺は、鉄クロロシスの矯正に対して、他のキレートよりも低濃度で使用できると結論付けられる。

表2. 低用量のキレートで処理した植物中のFe含有量(植物当たりのFe μg)
Fe含有量(植物当たりのFe μg)

	1回目の サンプリング 処理7日後	2回目の サンプリング 処理14日後	3回目の サンプリング 処理21日後
コントロール(Fe非含有)	20.3 c	10.0 c	11.2 c
5 μM 実施例1/Fe ³⁺	57.4 a	152 a	268 a
5 μM o,o-EDDHA/Fe ³⁺	26.0 bc	83.6 b	202 b
5 μM o,p-EDDHA/Fe ³⁺	43.0 ab	128 a	223 b
5 μM EDTA/Fe ³⁺	14.2 c	19.6 c	22.6 c

縦列の異なる文字はダンカン検定による処理間の有意差(α=0.05)を示す

表3. 高用量のキレートで処理した植物中のFe含有量 (植物当たりのFe μg)

Fe 含有量 (植物当たりの Fe μg)	1回目の サンプリング 処理7日後	2回目の サンプリング 処理14日後	3回目の サンプリング 処理21日後
コントロール(Fe非含有)	20.3 b	10.0 b	11.2 b
10 μM 実施例1/Fe ³⁺	69.3 a	136 a	235 a
10 μM o,o-EDDHA/Fe ³⁺	61.4 a	129 a	254 a
10 μM o,p-EDDHA/Fe ³⁺	77.8 a	129 a	259 a
10 μM EDTA/Fe ³⁺	27.7 b	32.6 b	47.6 b

縦列の異なる文字はダンカン検定による処理間の有意差(α=0.05)を示す

【0063】

土壌状態における大豆植物にFeを供給するFeキレートの効果

大豆の種(グリシンmax L. cv. Stine 0480)を、暗所で2日間、1MのCaSO₄で湿らされた紙上、30℃及び60%RHで発芽させた。その後、苗を4日間、1/5希釈さ

れたEDTA緩衝栄養溶液(主要栄養素(mM)-1.0の $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 、0.9の KNO_3 、0.3の MgSO_4 、0.1の KH_2PO_4 ；陽イオン微量栄養素(μM)-5.0のEDTA/ Fe^{3+} 、2.5の MnSO_4 、1.0の CuSO_4 、10の ZnSO_4 、1.0の CoSO_4 、1.0の NiCl_2 、115.5の Na_2EDTA ；陰イオン微量栄養素(μM)-35の NaCl 、10の H_3BO_3 、0.05の Na_2MoO_4 ；0.1mMのHEPES)が充填された10Lの容器に配した(容器当たり50の苗)。Feクロロシスを誘発させるために、鉄を含有しない栄養溶液をさらに2日間使用し、ついで、植物を、700gの石灰質の土壌($380\text{mg} \cdot \text{Kg}^{-1}$ の炭酸カルシウム、 $89\text{g} \cdot \text{Kg}^{-1}$ の活性 CaCO_3 、pH 7.70)及び300gの石灰砂を収容し、光暴露を回避するために黒のプラスチックで覆われた1Lの鉢に植物を移植した(鉢当たり3つの植物)。種々のFeキレートの効果、Fe源： $\text{o,o-EDDHA}/\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{o,p-EDDHA}/\text{Fe}^{3+}$ 、EDTA/ Fe^{3+} 及び実施例1/ Fe^{3+} と比較した。最後の一つは実施例1の化合物：2-(2-((2-ヒドロキシベンジル)アミノ)エチルアミノ)-2-(2-ヒドロキシフェニル)酢酸のFeキレートである。この土壌状態で、蛍光灯とナトリウム灯を具備する成長チャンバーにおいて、日中は16時間/30℃、湿度50%、夜間は8時間/25℃、湿度70%のレジメにて21日間、植物を成長させた。完全にランダムな設計において、処理を5回繰り返した。2、7及び21日後に、単一の植物を収穫した。

【0064】

実験中、葉緑素計(Minolta SPAD-502)を用いたSPAD読み取りを、2日毎に、全ての葉の段階で実施した(段階当たり、平均2又は3回の読み取り)。測定値(2日目に第2段階、12日目に第3段階、22日目に第4及び5段階)を、ここに提供する(表4)。

表4. 土壌実験で測定したSPADインデックスに対するFeキレート処理の効果

処理	SPAD			
	処理後の時間(日)			
	2 (第2段階)	12 (第3段階)	22 (第4段階)	22 (第5段階)
コントロール (-Fe)	19.1	12.6	9.0	-
$\text{o,o-EDDHA}/\text{Fe}^{3+}$	22.4	42.1	34.1	28.8
$\text{o,p-EDDHA}/\text{Fe}^{3+}$	25.8	41.2	33.0	21.0
実施例1/ Fe^{3+}	23.9	41.0	34.1	26.6

縦列の異なる文字はダンカン検定による処理間の有意差($\alpha=0.05$)を示す

【0065】

図1に示すように、全てのキレート処理で、コントロールよりも高いSPADインデックスが提供される。この及び視覚症状は、これらのキレートを使用するクロロシスからの回復が完全であることを示している。処理適用の2日後、 $\text{o,p-EDDHA}/\text{Fe}^{3+}$ 及び実施例1/ Fe^{3+} で処理された植物は、これらの化合物が素早く作用するため、良好に回復しており、 $\text{o,o-EDDHA}/\text{Fe}^{3+}$ を用いた処理後、その一つは最も高い値を付与したが、実施例1/ Fe^{3+} と類似していた。

【0066】

各サンプリング時に芽を分離し、トゥイーン80(Merck)とHCl溶液で洗浄し、新鮮及び乾燥(オープン乾燥手順後)重量を測定した。サンプルを粉碎し、マッフル炉(480℃)において乾燥消化させた後、灰をHClに溶解させた。Fe、Mn、Cu及びZnを

原子吸光分光法により分析した。

【0067】

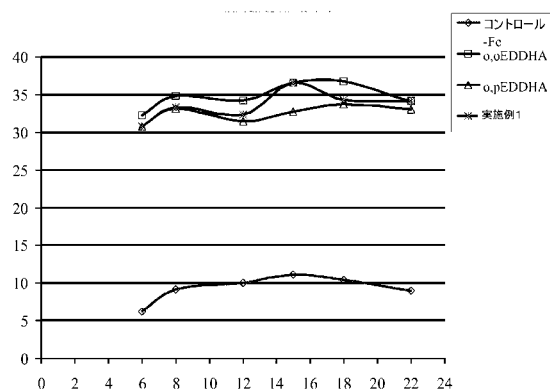
図2には、芽から得られた乾燥重量を提供する。再び、実施例1／ Fe^{3+} は、効果的な Fe クロロシス矯正剤であることが明らかになった。また図3には、3回目のサンプリング時についての葉における鉄濃度が示されている。3回の鉄キレートにより、コントロールに対して、 Fe 濃度がかなり増加している。

【0068】

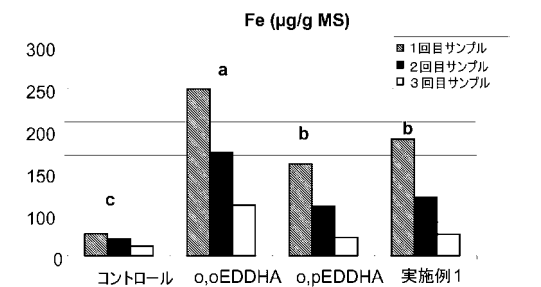
この実験から、1回の処理適用のみで、我々は、実施例1で得られた生成物が、高度に石灰質状態での鉄クロロシスを解決するのに十分であると結論付けることができる。その効能は素早い作用メカニズムに関連している。

10

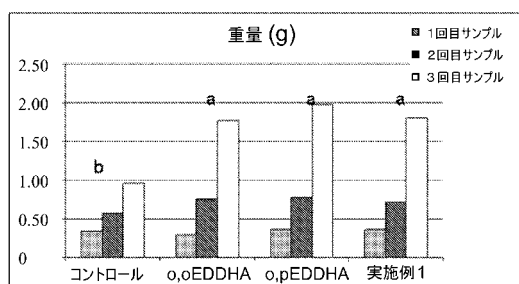
【図1】



【図3】



【図2】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
<i>C 0 7 D 233/64</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>C 0 7 D 233/64</i>	<i>1 0 5</i>
<i>C 0 7 D 211/26</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>C 0 7 D 211/26</i>	
<i>C 0 7 D 207/09</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>C 0 7 D 207/09</i>	
<i>C 0 5 D 9/02</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>C 0 5 D 9/02</i>	
<i>C 0 7 F 15/02</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>C 0 7 F 15/02</i>	
<i>C 0 7 B 61/00</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>C 0 7 B 61/00</i>	<i>3 0 0</i>

- (72)発明者 ゴメスーガレゴ, マル
 スペイン国 エー２８０４０ マドリッド, ファクultaド デ キミカ, デパルタメント デ
 キミカ オルガニカ, ユニベルシダド コンプルテンセ
- (72)発明者 エスクデロ, ローサ
 スペイン国 エー２８０４０ マドリッド, ファクultaド デ キミカ, デパルタメント デ
 キミカ オルガニカ, ユニベルシダド コンプルテンセ
- (72)発明者 ルセナ, フアン ホタ.
 スペイン国 エー２８０４９ マドリッド, C V I I, ファクultaド デ シエンシアス,
 デパルタメント デ キミカ アグリコラ, ユニベルシダド アウトノマ
- (72)発明者 ガルシアーマルコ, ソニア
 スペイン国 エー２８０４９ マドリッド, C V I I, ファクultaド デ シエンシアス,
 デパルタメント デ キミカ アグリコラ, ユニベルシダド アウトノマ

審査官 小久保 敦規

- (56)参考文献 特開２００２－０１１４７４ (JP, A)
 国際公開第２００４／０５０５８３ (WO, A1)
 国際公開第２００５／０９５３０５ (WO, A1)
 米国特許第０３９０３１１９ (US, A)
 Zeitschrift fuer Naturforschung B: Chemical Sciences, Vol.49, No.8, p.1089-1100 (1994)
 .
 European Journal of Agronomy, Vol.22, No.2, p.119-130 (2005).

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
 C 0 7 C 2 2 9 / 3 6
 C A p l u s / R E G I S T R Y (STN)
 M A R P A T (STN)