

Invenția se referă la chimie și agricultură, și în special la aplicarea unui compus heterociclic, derivat al 1,2,4-triazolului în calitate de remediu fungicid contra fungilor *Alternaria alternata* și *Fusarium aquaeductuum*.

Putregaiul de rădăcină (piciorușul negru) la culturile agricole este una din cele mai răspândite și severe maladii, și are manifestări specifice fazelor ontogenetice ale plantei. De exemplu la grâu, putregaiul de rădăcină se exteriorizează prin putrezirea seminței și gemulei, rădăcinițelor primare și secundare, coleoptilului, nodului de înfrățire, bazei tulpinii, ofilirea în faza de plantulă, obturarea vaselor conducătoare cu miceliu și pătulirea grânelor, depigmentarea tulpinii și spicului, spice goale cu palete aspre, semințe sistăvite sau cu embrion negru la plantele mature (Tunali B. et al. Root and crown rot fungi associated with spring, facultative, and winter wheat in Turkey. Plant Disease, 2008, vol. 92, nr 9, p. 1299-1306; Xu X. et al. Relationship between the fungal complex causing *Fusarium* head blight of wheat and environmental conditions. Phytopathology, 2008, vol. 98, p. 69-78).

La culturile cerealiere, putregaiul de rădăcină este produs de un ansamblu vast de ciuperci ubicuitar răspândite în sol, cu patogenitate facultativă sau obligatorie, care fac parte din mai multe genuri: *Fusarium*, *Helminthosporium* (*Bipolaris/Drechslera*), *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, dintre care specia *Alternaria alternata* face parte dintre patogenii cu frecvență înaltă, atingând în anii favorabili creșterii și dezvoltării frecvența de 35,9% din complexul fungic implicat în dezvoltarea maladiei la grâul comun de toamnă (Controlul genetic al caracterelor de rezistență și productivitate la grâul comun. Coord. Lupășcu G. Chișinău: Tipografia AȘM, 2015, 176 p.).

Unul din impedimentele de bază pentru combaterea maladiei constă în lipsa preparatelor eficiente, dependența activității lor de condițiile de mediu, înalta adaptabilitate a agenților cauzali ai maladiei la remediile nou create, toxicitatea pronunțată a acestora pentru plantă și mediul ambiant. În legătură cu cele menționate, identificarea noilor compuși cu activitate antifungică prezintă un mare interes practic în sistemul de protecție a plantelor.

Este cunoscut compusul din clasa ariliden-triazolilor (E)-1-(2,4-diclorfenil)-4,4-dimetil-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)pent-1-en-3-ol (Diniconazol) care manifestă un spectru larg de acțiune antimicrobiană pentru infecțiile stabilite în semințe. La tratarea semințelor cu preparat, acesta este ulterior transportat în partea aeriană a plantei și la etapele timpurii de dezvoltare o apără de infectarea aerogenă cu făinare și diverși alți fitopatogeni [1].

Avantajele lui constau în aceea că este un fungicid activ, aprobat pentru utilizare împotriva bolilor grâului de primăvară și de iarnă (taciunile prăfos, mălura, mucețirea semințelor, putregaiul de rădăcină provocat de ciupercile *Fusarium* și *Helminthosporium*), orzului de primăvară și de iarnă (putregaiul de rădăcină, mucețirea semințelor).

Dezavantajele constau în aceea că el nu-și manifestă activitatea antifungică la un nivel suficient de înalt.

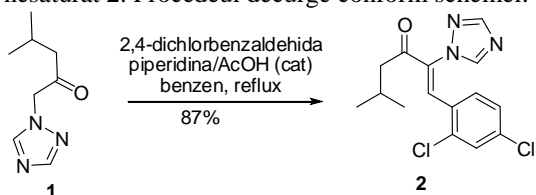
Problema rezolvată de invenție constă în extinderea gamei de preparate din clasa 1,2,4-triazolilor substituiți cu arilidene cu activitate fungitoxică care ar putea fi utilizate cu succes în agricultură pentru combaterea putregaiului de rădăcină provocat de fungii *Alternaria alternata* și *Fusarium aquaeductuum*.

Esența invenției constă în aceea că în calitate de compus activ contra ciupercilor fitopatogene din speciile *Alternaria alternata* și *Fusarium aquaeductuum* – unii dintre agenții cauzali ai putregaiului de rădăcină se propune (Z)-1-(2,4-diclorfenil)-5-metil-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)hex-1-en-3-ona **2**. Concentrațiile active variază în diapazonul 0,0025...0,01%.

Avantajele invenției constau în aceea că compusulul (Z)-1-(2,4-diclorfenil)-5-metil-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)hex-1-en-3-ona contribuie la sporirea activității fungitoxice pentru unii dintre agenții cauzali ai putregaiului de radacină – *Alternaria alternata* și *Fusarium aquaeductuum* în raport cu soluția cea mai apropiată.

De asemenea, compusul din invenție are un preț de cost redus față de cel din cadrul soluției celei mai apropiate, deoarece sinteza lui se desfășoară într-o etapă față de 3 etape caracteristic celui din cadrul celei mai apropiate soluții și constă în utilizarea cetonei 4-metil-1-(1H-1,2,4-triazol-1-il)pentan-2-ona, obținută conform metodei cunoscute (Stingaci E., Zveaghinteva M., Pogrebnoi S., Lupascu L., Valica V., Uncu L., Smetanscaia A., Drumea M., Petrou A., Ciric A., Glamoclija J., Sokovic M., Kravtsov V., Geronikaki A., Macaev F. New vinyl-1,2,4-triazole derivatives as antimicrobial agents: Synthesis, biological evaluation and molecular docking studies. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2020, 30(17), 127368). Procedul de sinteză prevede interacțiunea cetonei sus-menționate cu 2,4-diclorbenzaldehida în benzen în prezența piperidinei și acidului acetic (cantități catalitice), care conduce la formarea unui singur izomer geometric - (Z)-1-(2,4-diclorfenil)-5-metil-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)hex-1-en-3-ona, cu temperatura de topire de 92...93°C.

Procedul efectuat în condițiile sus-indicate este stereospecific și conduce la formarea compusului necesar α,β -nesaturat **2**. Procedul decurge conform schemei:



Rezultatul tehnic constă în sporirea activității fungitoxice a compusului din invenție în raport cu soluția cea mai apropiată cu 8,5...30,4% pentru fungul *Alternaria alternata*, și cu 9,8...23,9% pentru *Fusarium aquaeductuum* în intervalul de concentrații 0,0025...0,01% în ultimele zile de cultivare a fungilor.

Exemplu de realizare a invenției:

La soluția alcătuită din 1,67 g (0,01 mol) triazolil-cetonă - 4-metil-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)pentan-2-ona **1** și 1,66 g (0,011 mol) 2,4-diclorbenzaldehydă în 300 mL benzen se adaugă piperidină (0,05 mol/%) / acid acetic (0,17 mol/%). Amestecul se fierbe timp de 5 ore (controlat periodic cu ajutorul CSS) cu distilarea azeotropă a apei formate, folosind aparatul Dean-Stark, apoi soluția de benzen se răcește până la temperatura camerei, rămășițele de catalizator se extrag cu apă, apoi soluția benzenică a produsului final se usucă cu Na₂SO₄ (anh.). Solventul se distilează, iar reziduul se recrystalizează din benzen.

Randamentul reacției este de 87% (2,81 g), P.t.= 92...93°C.

Structura compusului **2** este confirmată pe baza analizei elementelor și datelor spectrale: C₁₅H₁₅Cl₂N₃O, M= 323,06
Calculat,(%): C 59,99; H 5,37; N 18,66. C 55,57; H 4,66; N 12,96.

Stabilit,(%): C 59,83; H 5,22; N 18,62.

IR (v,cm⁻¹): 3095,2; 2962; 2936,5; 1682,5; 1634,6; 1584,6; 1551,9; 1503,6; 1466,3; 1425,6; 1381,9; 1368,6; 1326,6; 1295,9; 1269,5; 1206; 1167; 1137,2; 1104,7; 1048,1; 1003,2; 955,4; 926,8; 864,3; 830,4; 773,1; 748,7; 706,8; 667,5.

Spectrul RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ, ppm, J/Hz): 0,94 (3H, s, CH₃), 0,96 (3H, s, CH₃), 2,16-2,27 (1H, m, CH), 2,50 (2H, d, CH₂, J=6,8), 6,41 (1H, s, CH, J=8,5), 7,00-7,03 (1H, dd, CH, J=2,1; 8,5), 7,44 (1H, d, CH, J=2,1), 7,97 (2H, d, CH, J=2), 8,12 (1H, s, CH).

Spectrul RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ, ppm): 22,60, 24,86, 46,83, 127,72, 128,46, 129,97, 130,10, 132,90, 134,83, 136,20, 137,31, 145,05, 152,96, 194,88

Obținerea unui singur izomer Z a fost confirmată prin metoda RMN.

Izolarea fungilor *A. alternata* și *F. aquaeductuum* – agenți cauzali ai putregaiului de rădăcină la grâu s-a efectuat în condiții aseptice pe mediu PDA (Potato Dextrose Agar) (Методы экспериментальной микологии. Киев: Наукова думка, 1982, 550 p.). Acest mediu este unul din cele mai optime medii pentru izolarea, cultivarea și cercetarea caracterelor morfologo-culturale ale patogenilor menționați. Au fost utilizate fragmente mici de țesut cu semne de putrefacție de la baza tulpinii de grâu. Fragmentele au fost aseptizate în soluție de hipoclorură de var de 2% timp de 1...2 min, după care s-au clătit de 2...3 ori în apă distilată, presat între 2 foițe de hârtie de filtru și plasat pe mediu în preajma flăcării de gaz.

Identificarea patogenilor s-a efectuat în baza caracteristicilor macro- și microscopice conform determinatoarelor (Билай В.И. Фузариин. Киев: Наукова думка, 1977, p. 422 și Barnett H.L., Hunter B.B. Illustrated Genera of Imperfect Fungi, Fourth Edition. APS Press, 1998, 218 p.).

Compusul din invenție și soluția cea mai apropiată au fost suplimentați la mediul nutritiv PDA în concentrațiile 0,01 (1); 0,005 (2); 0,0025 (3) care s-a aseptizat prin autoclavare la presiunea de 0,5 atm timp de 30 min. Mediul aseptizat, fierbinte s-a turnat în cutii Petri, câte 10 mL în fiecare. După solidificarea mediului, fungii au fost însămânțați – câte un disc de PDA cu miceliul fungului, cu diametrul de 4 mm în centrul cutiei Petri. Cutiile cu fungii însămânțați, au fost menținute în termostat la temperatura de 24°C. Înregistrarea diametrului coloniilor (câte 2 diametre perpendiculare, media cărora a servit ca indice biometric) s-a efectuat din zilele 3 sau 4 de la însămânțare, în dependență de viteza de creștere a fungilor. Experiențele s-au efectuat în 5 repetiții. Datele au fost prelucrate statistic în pachetul de soft STATISTICA 7.

Tabelul 1.

Acțiunea inhibitorie a compusului din invenție și din cadrul soluției celei mai apropiate asupra fungului fitopatogen *A. alternata* în ziua 7 de cultivare

Compușii testați	Diametrul coloniei, mm		
	0,01%	0,005%	0,0025%
Martorul absolut	58,6±0,9	58,6±0,9	58,6±0,9
Invenția (Z)-1-(2,4-diclorfenil)-5-metil-2-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-il)hex-1-en-3-ona (concentrația inițială a compusului în DMSO -1%)	24,8±1,4*	33,9±0,7*	42,1±1,2*
Soluția cea mai apropiată: (E)-1-(2,4-diclorfenil)-4,4-dimetil-2-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-il)pent-1-en-3-ol (concentrația inițială în C ₂ H ₅ OH - 1%)	42,6±0,6*	39,7±0,6*	47,1±1,0*

*- deosebire veridică de martor, p <0,05.

Conform rezultatelor prezentate, se atestă sporirea activității fungitoxice a compusului din invenție în raport cu cel din cadrul soluției celei mai apropiate asupra *A. alternata* cu 8,5...30,4 % în intervalul de concentrații 0,0025...0,01%, respectiv.

Tabelul 2.

Acțiunea inhibitorie a compusului din invenție și din cadrul soluției celei mai apropiate asupra fungului fitopatogen *F. aquaeductuum* în ziua 14 de cultivare

Compușii testați	Diametrul coloniei, mm		
	0,01%	0,005%	0,0025%
Martor absolut	56,4±1,8	56,4±1,8	56,4±1,8
Invenția (Z)-1-(2,4-diclorfenil)-5-metil-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)hex-1-en-3-ona (concentrația inițială a compusului în DMSO -1%)	30,2±0,4*	41,4±0,5*	47,1±0,9*
Soluția cea mai apropiată (E)-1-(2,4-diclorfenil)-4,4-dimetil-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)pent-1-en-3-ol (concentrația inițială în C ₂ H ₅ OH - 1%)	43,7±0,9*	55,0±0,7	52,6±2,0

*- deosebire veridică de martor, p <0,05.

Conform rezultatelor prezentate, se atestă sporirea activității fungitoxice a compusului din invenție în raport cu cel din cadrul soluției celei mai apropiate asupra *F. aquaeductuum* cu 9,8...23,9% în intervalul de concentrații 0,0025...0,01%, respectiv.