



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101316509 B

(45) 授权公告日 2011. 11. 09

(21) 申请号 200680044384. 0

(22) 申请日 2006. 10. 10

(30) 优先权数据

MI2005A001957 2005. 10. 17 IT

MI2005A002460 2005. 12. 22 IT

(85) PCT申请进入国家阶段日

2008. 05. 27

(86) PCT申请的申请数据

PCT/EP2006/009813 2006. 10. 10

(87) PCT申请的公布数据

WO2007/045386 EN 2007. 04. 26

(73) 专利权人 伊萨罗里斯卡公司

地址 意大利米兰

(72) 发明人 L·菲里皮尼 M·古斯莫罗利

S·莫米尔 G·瓦利亚 L·米兰纳

M·G·库鲁奇 F·阿庞纳

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 张敏

(51) Int. Cl.

C07C 233/89 (2006. 01)

C07C 229/12 (2006. 01)

A01N 33/08 (2006. 01)

A01N 37/18 (2006. 01)

A01P 3/00 (2006. 01)

(56) 对比文件

EP 1136062 A1, 2001. 09. 26, 权利要求 1, 说明书第 0013 段.

WO 2004083354 A1, 2004. 09. 30, 权利要求 1, 6, 10.

US 5972840 A, 1999. 10. 26, 说明书第 2 栏第 20-52 行.

CN 1229637 A, 1999. 09. 29, 说明书第 1 页第 9-23 行, 第 2 页第 12 行至第 4 页第 4 行, 实施例 1-12.

US 6338855 B1, 2002. 01. 15, 权利要求 1、15, 说明书第 12 栏第 44 行至第 13 栏第 56 行.

DD 278053 A1, 1990. 04. 25, 权利要求 1-3, 说明书第 2 页, 实施例 1-5.

DD 278054 A1, 1990. 04. 25, 权利要求 1-9, 说明书第 2 页, 实施例 1-5.

US 2005/0130842 A1, 2005. 06. 16, 权利要求 1, 6, 10, 表 1.

CHRISTINE R. Brine. Antimicrobial evaluation of N-alkyl betaines and N-alkyl-N,N-dimethylamine oxides with variations in chain length..《Antimicrobial agents and chemotherapy》. 2000, 第 44 卷 (第 9 期), 2514-2517.

审查员 王莉敏

权利要求书 1 页 说明书 19 页 附图 1 页

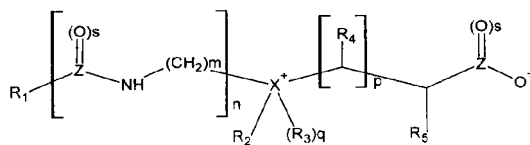
(54) 发明名称

化合物及其相应的控制植物病原体的用途

(57) 摘要

具有通式 (I) 的甜菜碱型的两性离子结构的两性化合物及其控制植物病原体真菌或细菌和 / 或缓和生物压力和非生物压力的用途。

CN 101316509 B



1. 组合物,其特征在於所述组合物选自:
  - 甘氨酸甜菜碱和  $K_2HPO_3$  ;
  - 甘氨酸甜菜碱和  $KH_2PO_3$  ;
  - 甘氨酸甜菜碱和三乙膦酸铝 ;
  - 椰油酰胺丙基甜菜碱和  $K_2HPO_3$  ;
  - 椰油酰胺丙基甜菜碱和  $KH_2PO_3$  ;
  - 椰油酰胺丙基甜菜碱和三乙膦酸铝 ;
  - 椰油酰胺丙基甜菜碱和氟醚唑 ;
  - 椰油酰胺丙基甜菜碱和氟醚唑 R 异构体 ;
  - 椰油酰胺丙基甜菜碱和 IR5885 ;
  - 椰油酰胺丙基甜菜碱和 R 异构体 IR5885 ;
  - 椰油酰胺丙基甜菜碱、IR5885 和  $K_2HPO_3-KH_2PO_3$  ;
  - 椰油酰胺丙基甜菜碱、IR5885 和三乙膦酸铝 ;
  - 甘氨酸甜菜碱、IR5885 和三乙膦酸铝 ;
  - 椰油酰胺丙基甜菜碱、R 异构体 IR5885 和三乙膦酸铝 ;
  - 甘氨酸甜菜碱、R 异构体 IR5885 和三乙膦酸铝 ;
  - 椰油酰胺丙基甜菜碱、R 异构体 IR5885 和  $K_2HPO_3-KH_2PO_3$  ;
  - 甘氨酸甜菜碱、 $K_2HPO_3-KH_2PO_3$  和 IR5885 ;
  - 甘氨酸甜菜碱、 $K_2HPO_3-KH_2PO_3$  和 R 异构体 IR5885。
2. 根据权利要求 1 所述的组合物,其中活性成分的浓度范围为 1%至 90%。
3. 根据权利要求 1 至 2 任一项所述的组合物控制病原体真菌和细菌和 / 或缓和生物压力和生物压力的用途。
4. 根据权利要求 1 至 2 任一项所述的组合物刺激由非生物压力和生物压力引起的植物天然防御系统以及诱导植物本身抗病性的用途。
5. 根据权利要求 3 或 4 的用途,其中在植物的各个部分,在叶、茎、枝和根,或者播种前种子本身,或者植物生长地进行所述组合物的施用。

## 化合物及其相应的控制植物病原体的用途

[0001] 本发明涉及化合物及其相应的控制植物病原体的用途。

[0002] 两性表面活性剂,例如烷基甜菜碱、烷基酰胺烷基甜菜碱、羟基磺酸基甜菜碱,是因其发泡(foaming)、粘性(viscosizing)、抗静电、软化特性而众所周知的化合物,并且由于它们与其它表面活性剂优秀的亲和力和固有的对皮肤和眼睛低刺激能力,其被广泛地用于清洁剂和化妆品。

[0003] 还已知上述两性表面活性剂能够被用作农用药物配方中的组分,例如 WO-A-97/47196 和 EP-B-0597488 中和许多其它的专利中所描述的那样。

[0004] 而且 EP-A2-1542023 要求保护两性表面活性剂作为已经上市的农用药物的“生物活性剂”的用途,在适当的农业应用中。特别是,其与一种除草化合物例如草甘膦混合改善了其生物活性。应该指出,“生物活性剂”的效果在增强植物组织或病原体表面内部的农用化学活性成分(除草剂、杀真菌剂、杀虫剂、杀螨剂……)的可吸收性,或者增强用于所关心的生物体的农用化学活性成分的有效性方面发挥了作用。

[0005] 因此,EP-A2-1542023 中描述的组合物允许减少由此加入的活性成分的应用浓度。

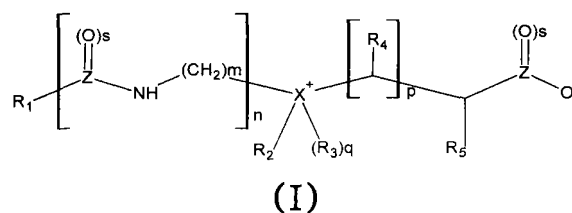
[0006] 在 EP-A2-1542023 中,根据制剂组分的合理的作用(logical role),两性表面活性剂仅仅作为有效组分的载体与其简单混合。清楚地排除了上述表面活性剂的生物活性。

[0007] 而且,在农业领域,已知当给果树施用甘氨酸甜菜碱(glycinebetaine)时,其有助于控制非生物的和营养生长压力(nutritional growth stress)、减少果皮的不完整性 and 成熟时果皮破裂(break)的趋势,如 EP-A-0806897 中所描述的,作为一种渗透调节剂起作用。

[0008] 申请人现已令人吃惊地发现各种各样的两性化合物,它们在农业领域作为杀真菌和杀细菌产品具有令人惊讶的活性并且它们还使植物获得对于植物病原真菌和细菌的延长的保护作用。

[0009] 因此,本发明的目的是提供一种两性化合物,其特征在于它具有通式(I)的甜菜碱(betainic)型的两性离子结构:

[0010]



[0011] 其中:

[0012]  $-R_1$  表示任选取代的直链或者支链的  $C_1-C_{26}$  烷基;任选取代的直链或支链  $C_1-C_{26}$  卤代烷基;任选取代的直链或者支链的  $C_1-C_{26}$  烷氧基;任选取代的直链或者支链的  $C_1-C_{26}$  烷硫基;任选取代的直链或者支链的  $C_2-C_{26}$  烯基;任选取代的直链或者支链的  $C_2-C_{26}$  炔基;任选取稠合的  $C_3-C_{30}$  环烷基或者任选取代的甾类稠合  $C_{17}$  环烷基;任选取稠合和任选取代的  $C_3-C_{30}$  环烷氧基;任选取代的杂环基;任选取代的芳基;任选取代的杂芳基;任选取代的直链或环状

$C_6-C_{12}$  糖类基团 ;  $C_1-C_{26}$  烷基胺基或  $n$  不为 0 时任选取代的  $C_2-C_{26}$  二烷基胺基 ;

[0013]  $-R_2$  和  $R_3$ , 相同或不同, 表示任选取代的  $C_1-C_3$  烷基 ;

[0014]  $-R_4$  和  $R_5$ , 相同或不同, 表示氢原子, 或者任选取代的直链或者支链的  $C_1-C_6$  烷基 ; 任选取代的直链或者支链  $C_2-C_6$  烯基 ; 任选取代的  $C_3-C_6$  环烷基 ; 羟基 ; 任选取代的芳基 ; 任选取代的杂芳基 ; 任选取代的杂环基 ;

[0015]  $R_4$  和  $R_5$  可以独立的与  $R_2$  基团一起成环 ;

[0016]  $-X$  表示氮原子或者硫原子 ;

[0017]  $-Z$  表示碳原子或者硫原子 ;

[0018]  $-m$  表示 1 至 5 范围的数 ;

[0019]  $-n$  和  $p$  表示 0 至 3 范围的数 ;

[0020]  $-X =$  硫时  $q$  为 0 或者  $X =$  氮时  $q$  为 1 ;

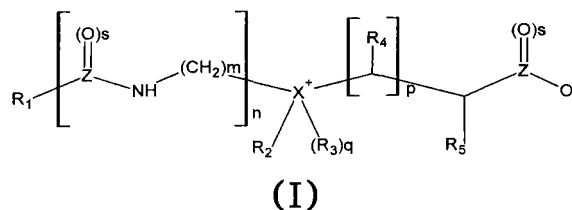
[0021]  $-Z =$  碳时  $s$  为 1 或者  $Z =$  硫时  $s$  为 2。

[0022] 申请人还发现通式 (I) 化合物, 除了具有直接的杀真菌作用和杀细菌作用之外, 还能够刺激植物的天然防御系统并且诱导植物本身的抗病性 ; 这些控制疾病以及缓和非生物压力 ( 温度、盐度、干旱, 等等 ) 和生物压力的方法, 将变得越来越受关注, 因为这种方法基于通过这些化合物的使用而增强已经存在于植物中的天然防御过程。

[0023] 申请人还令人惊讶地发现, 这些通式 (I) 化合物还代表在转基因的植物品种中通过增强原始天然防御来控制植物病原体的最佳形式。

[0024] 因此, 本发明的另一个目的是具有通式 (I) 的甜菜碱型的两性离子结构的两性化合物的控制植物病原体真菌或细菌和 / 或缓和非生物压力和生物压力的用途 ;

[0025]



[0026] 其中 :

[0027]  $-R_1$  表示任选取代的直链或者支链的  $C_1-C_{26}$  烷基 ; 任选取代的直链或支链  $C_1-C_{26}$  卤代烷基 ; 任选取代的直链或者支链的  $C_1-C_{26}$  烷氧基 ; 任选取代的直链或者支链的  $C_1-C_{26}$  烷硫基 ; 任选取代的直链或者支链的  $C_2-C_{26}$  烯基 ; 任选取代的直链或者支链的  $C_2-C_{26}$  炔基 ; 任选取代的直链或者支链的  $C_2-C_{26}$  炔基 ; 任选取代的直链或者支链的  $C_3-C_{30}$  环烷基 ; 任选取代的甾类稠合  $C_{17}$  环烷基 ; 任选取代的直链或环状  $C_6-C_{12}$  糖类基团 ;  $C_1-C_{26}$  烷基胺基或  $n$  不为 0 时任选取代的  $C_2-C_{26}$  二烷基胺基 ;

[0028]  $-R_2$  和  $R_3$ , 相同或不同, 表示任选取代的  $C_1-C_3$  烷基 ;

[0029]  $-R_4$  和  $R_5$ , 相同或不同, 表示氢原子, 或者任选取代的直链或者支链的  $C_1-C_6$  烷基 ; 任选取代的直链或者支链  $C_2-C_6$  烯基 ; 任选取代的  $C_3-C_6$  环烷基 ; 羟基 ; 任选取代的芳基 ; 任选取代的杂芳基 ; 任选取代的杂环基 ;

[0030]  $R_4$  和  $R_5$  可以独立的与  $R_2$  基团一起成环 ;

[0031]  $-X$  表示氮原子或者硫原子 ;

- [0032] -Z 表示碳原子或者硫原子；
- [0033] -m 表示 1 至 5 范围的数；
- [0034] -n 和 p 表示 0 至 3 范围的数；
- [0035] -X = 硫时 q 为 0 或者 X = 氮时 q 为 1；
- [0036] -Z = 碳时 s 为 1 或者 Z = 硫时 s 为 2。
- [0037] 而且,本发明的目的涉及具有通式 (I) 甜菜碱型两性离子的结构的两性化合物刺激植物对于非生物压力和生物压力的天然防御系统和诱导植物本身的抗病性的用途。
- [0038] 特别是,通式 (I) 化合物控制植物病原体真菌的用途为治疗性的和/或预防性的。
- [0039] 而且,所述控制植物病原体的用途对于转基因的蔬菜品种也是有效的。
- [0040] 本发明进一步的还涉及所述通式 (I) 化合物控制还在非生命底物上的真菌病害的用途,所述非生命底物例如塑料材料、金属、纺织纤维、玻璃、木材、纸、泡沫材料、砖等等。可以通过本领域熟知的方法将所述化合物应用到底物的表面,例如喷雾、涂抹、浸泡、浸渍等等,应用剂量取决于材料的种类和底物经受的状况。
- [0041]  $C_1-C_{26}$  烷基指的是直链或支链  $C_1-C_{26}$  烷基,任选被一个或多个相同或不同的取代基取代。
- [0042] 该基团的例子是:甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、辛基、十二烷基、十八烷基、二十烷基、二十六烷基。
- [0043]  $C_1-C_{26}$  卤代烷基指的是直链或支链烷基,被一个或多个相同或不同的卤素原子所取代。
- [0044] 该基团的例子是:氟甲基、二氟甲基、三氟甲基、三氯甲基、2,2,2-三氟乙基、2,2,2-三氯乙基、2,2,3,3-四氟丙基、2,2,3,3,3-五氟丙基、全氟辛基、全氟十二烷基。
- [0045]  $C_1-C_{26}$  烷氧基指的是  $C_1-C_{26}$  烷氧基,其中脂肪族部分为如前面所定义的  $C_1-C_{26}$  烷基。
- [0046] 该基团的例子是:甲氧基、乙氧基、异丙氧基、环丙基甲氧基、十二烷氧基。
- [0047]  $C_1-C_{26}$  硫代烷基指的是  $C_1-C_{26}$  硫代烷基,其中脂肪族部分为如前面所定义的  $C_1-C_{26}$  烷基。
- [0048] 该基团的例子为硫代甲基、硫代乙基、硫代十二烷基、硫代辛基。
- [0049]  $C_2-C_{26}$  烯基指的是直链或支链  $C_2-C_{26}$  烯基,任选被一个或多个相同或不同的取代基所取代。
- [0050] 该基团的例子是:乙烯基、丙烯基、丁烯基、1-癸烯基、8-十七碳烯基、8,11,14-十七碳三烯基 (heptadecatrienyl)、8,11-十七碳二烯基 (heptadecadienyl)。
- [0051]  $C_2-C_{26}$  炔基指的是直链或支链  $C_2-C_{26}$  炔基,任选被一个或多个相同或不同的取代基所取代。
- [0052] 该基团的例子是:乙炔基、炔丙基、1-十二碳炔基 (dodecynyl)、1-十八碳炔基。
- [0053] 任选稠合的  $C_3-C_{30}$  环烷基指的是含有 3-30 个环碳原子的环烷基,任选被一个或多个相同或不同的取代基所取代。
- [0054] 该基团的例子是:环丙基、2,2-二氯环丙基、环丁基、环戊基、环己基、十氢化萘、松香基。
- [0055] 甾类稠合  $C_{17}$  环烷基指的是含有 17 个碳原子的甾类基团,任选被一个或多个相同

或不同的取代基取代。

[0056] 该基团的例子是：胆甾烷基、或鹅脱氧胆甾烷基、或熊去氧胆甾烷基、或脱氧胆甾烷基、或碘脱氧胆甾烷基 (iodeoxycholanyl)、或石胆甾烷基 (lithocholanyl)。

[0057]  $C_3$ - $C_{30}$  环烷氧基指的是脂肪族部分为如上定义的  $C_3$ - $C_{30}$  环烷基的  $C_3$ - $C_{30}$  烷氧基。

[0058] 该基团的例子是：环戊氧基、环己氧基、胆甾烯基。

[0059]  $C_1$ - $C_{26}$  烷基胺或  $C_2$ - $C_{26}$  二烷基胺基团指的是脂肪族部分分别为如上定义的  $C_1$ - $C_{26}$  或两个  $C_1$ - $C_{13}$  烷基的烷基胺或二烷基胺基团。

[0060] 该基团的例子是：甲胺、二甲胺、乙胺、异丙胺、二丁胺、二辛胺、十六烷基胺、十二烷基胺。

[0061] 芳基指的是任选被一个或多个相同或不同基团取代的碳环芳香基。

[0062] 该基团的例子是：苯基、萘基、菲基。

[0063] 杂芳基指的是五元或六元杂环芳基、以及苯并稠合的该杂环芳基或者该杂环芳基构成的杂二环芳基，其含有 1 至 4 个选自氮、氧、硫的杂原子，任选被一个或多个相同或不同的基团所取代。

[0064] 杂芳基的例子是：吡啶、嘧啶、哒嗪、吡嗪、三嗪、四嗪、喹啉、喹喔啉、喹唑啉、咪唑、噻吩、吡咯、噁唑、噻唑、异噁唑、异噻唑、噁二唑、噻二唑、吡唑、咪唑、三唑、四唑、吡啶、苯并咪唑、苯并噻吩、苯并噁唑、苯并噻唑、苯并噁二唑、苯并噻二唑、苯并吡唑、苯并咪唑、苯并三唑、三唑并吡啶、三唑并嘧啶、噻唑并三唑、香豆素。

[0065] 杂环基指的是具有 3 至 12 个环原子的饱和或不饱和环，含有至少一个选自氮、氧、硫的杂原子，任选与另一个芳香环或非芳香环稠合。

[0066] 杂环的例子是：吡咯烷、哌啶、二氢吡啶、哌嗪、2,6-二酮哌嗪、氮杂环丁-2-酮、吗啉、噻嗪、二氢吡啶。

[0067] 直链或环状  $C_6$ - $C_{12}$  糖类基团指的是开放或闭合形式的糖基团。

[0068] 该基团的例子是：葡萄糖基、吡喃葡萄糖基、 $\beta$ -D-呋喃果糖基- $\alpha$ -D-吡喃葡萄糖基、4-O- $\beta$ -D-吡喃半乳糖基-D-葡萄糖基。

[0069] 任选取代的意指，在本专利的各个部分，一个或多个、相同或不同的选自下列基团的取代基：卤素原子； $C_1$ - $C_6$  烷基、 $C_1$ - $C_6$  烷氧基和  $C_1$ - $C_6$  烷硫基，它们反过来又任选被卤素原子取代； $C_1$ - $C_6$  烷羰基和  $C_1$ - $C_6$  烷氧羰基，任选被卤化；氨基羰基、 $C_1$ - $C_6$  烷基氨基羰基、 $C_2$ - $C_{12}$  二烷基氨基羰基，任选被卤化；羧基；任选被卤化的  $C_1$ - $C_6$  烷基羰氧基；氰基；硝基；甲酰基；羟基；氨基；任选取代的芳基和杂芳基。

[0070] 由于其活性而引起注意的通式 (I) 化合物的例子是：

[0071] • 月桂基甜菜碱 (laurylbetaine)；

[0072] • 硬脂基甜菜碱 (stearylbetaine)；

[0073] • 辛基 / 癸基酰胺丙基甜菜碱 (capryl/capricamidopropylbetaine)；

[0074] • 鲸蜡基甜菜碱 (cetylbetaine)；

[0075] • 月桂基羟基二甲基磺基甜菜碱 (laurylhydroxysultaine)；

[0076] • 月桂基 / 鲸蜡基甜菜碱 (lauryl/cetyl betaine)；

[0077] • 月桂基酰胺丙基甜菜碱 (laurylamidopropylbetaine)

[0078] • 椰油酰胺丙基甜菜碱 (cocamidopropylbetaine)；

- [0079] • 椰油酰胺丙基羟基磺基甜菜碱 (cocamidopropylhydroxysultaine) ;
- [0080] • 胆固醇羰基酰胺丙基甜菜碱 (cholesterylcarbonylamidopropylbetaine) ;
- [0081] • 胆甾烷酰胺丙基甜菜碱 (cholanylamidopropylbetaine) ;
- [0082] • 鹅去氧胆甾烷酰胺丙基甜菜碱 (chenodeoxycholanylamidopropylbetaine) ;
- [0083] • 去氧胆甾烷酰胺丙基甜菜碱 (deoxycholanylamidopropylbetaine) ;
- [0084] • 石胆甾烷酰胺丙基甜菜碱 (lithocholanylamidopropylbetaine) ;
- [0085] • 环己氧基羰基酰胺丙基甜菜碱 (cyclohexyloxycarbonylamidopropylbetaine) ;
- [0086] • 葡糖基酰胺丙基甜菜碱 (gluconylamidopropylbetaine) ;
- [0087] • N, N- 二月桂基氨基丙基甜菜碱 (N, N-dilaurylaminopropylbetaine)
- [0088] • N- 十六烷基脲基丙基甜菜碱 (N-hexadecylureidopropylbetaine) ;
- [0089] • 椰油酰胺丙基甲基乙酰硫代甜菜碱 (cocamidopropylmethylacetothetine) ;
- [0090] • 月桂酰胺丙基甲基乙酰硫代甜菜碱 (laurylamidopropylmethylacetothetine) ;
- [0091] • 鲸蜡基甲基乙酰硫代甜菜碱 (cetylmethylacetothetine) ;
- [0092] • N, N- 二辛基脲基丙基甜菜碱 (N, N-dioctylureidopropylbetaine) ;
- [0093] • 月桂基酰胺乙基甜菜碱 (laurylamidoethylbetaine) ;
- [0094] • 月桂基酰胺丙基 [L] 缬氨酸甜菜碱 (laurylamidopropyl[L]valinebetaine) ;
- [0095] • 月桂基酰胺丙基 [L] 脯氨酸甜菜碱 (laurylamidopropyl[L]prolinebetaine) ;
- [0096] • 月桂基酰胺丙基 [L] 丙氨酸甜菜碱 (laurylamidopropyl[L]alaninebetaine) ;
- [0097] • 月桂基酰胺丙基 [L] 苯基甘氨酸甜菜碱 (laurylamidopropyl[L]phenylglycinebetaine) ;
- [0098] • 月桂基酰胺丙基 -β- 苯基丙氨酸甜菜碱 (laurylamidopropyl-β-phenylalaninebetaine) ;
- [0099] • 月桂基酰胺丙基 -β-4- 氯苯基丙氨酸甜菜碱 (laurylamidopropyl-β-4-chlorophenylalaninebetaine) ;
- [0100] • 月桂基酰胺丙基 -β- 丙氨酸甜菜碱 (laurylamidopropyl-β-alaninebetaine) ;
- [0101] • 椰油酰胺丙基 [L] 缬氨酸甜菜碱 (cocamidopropyl[L]valinebetaine) ;
- [0102] • 椰油酰胺丙基 [L] 脯氨酸甜菜碱 (cocamidopropyl[L]prolinebetaine) ;
- [0103] • 椰油酰胺丙基 [L] 丙氨酸甜菜碱 (cocamidopropyl[L]alaninebetaine) ;
- [0104] • 椰油酰胺丙基 [L] 苯基甘氨酸甜菜碱 (cocamidopropyl[L]phenylglycinebetaine) ;
- [0105] • 椰油酰胺丙基 -β- 苯基丙氨酸甜菜碱 (cocamidopropyl-β-phenylalaninebetaine) ;
- [0106] • 椰油酰胺丙基 -β-4- 氯苯基丙氨酸甜菜碱 (cocamidopropyl-β-4-chlorophenylalaninebetaine) ;
- [0107] • 椰油酰胺丙基 -β- 丙氨酸甜菜碱 (cocamidopropyl-β-alaninebetaine) ;
- [0108] • 十氢-2-萘氧基羰基酰胺丙基甜菜碱 (decahydro-2-naphthoxycarbonylamidopropylbetaine) ;

[0109] • 3,5-二叔丁基苯酰胺丙基甜菜碱 (3,5-di-*t*-butylphenylamidopropylbetaine) ;

[0110] • 3,5-二叔丁基苯氧基羰基酰胺丙基甜菜碱 (3,5-di-*t*-butylphenoxy-carbonylamidopropylbetaine) ;

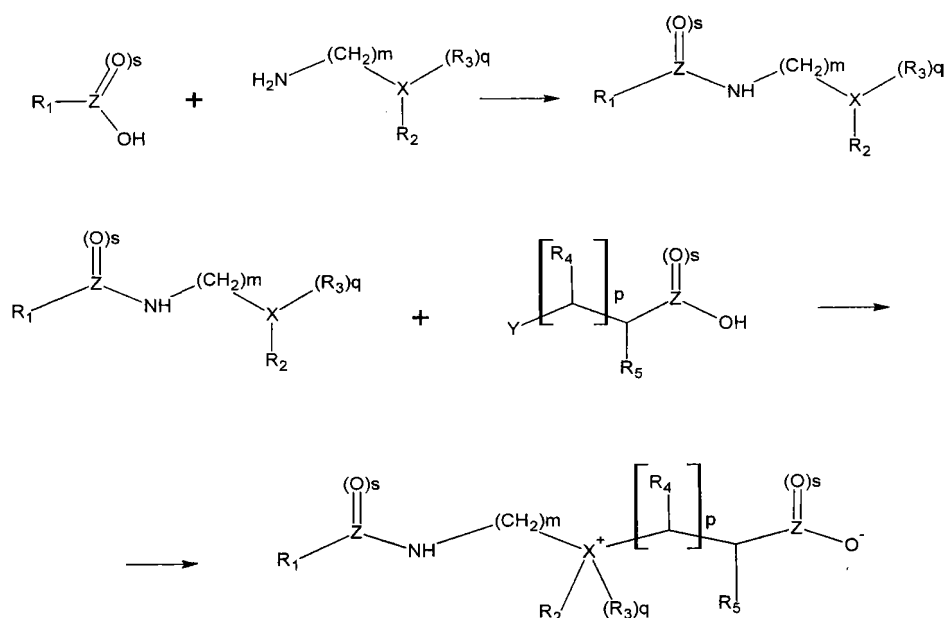
[0111] •  $\alpha$ -D-吡喃葡萄糖基- $\beta$ -D-呋喃果糖基氧基羰基酰胺丙基甜菜碱 ( $\alpha$ -D-glucopyranosyl- $\beta$ -D-fructofuranosyloxycarbonylamido-propylbetaine) ;

[0112] • 三甲基羟基丁酰甜菜碱 (肉毒碱) (carnitine)。

[0113] 当  $R_1$  具有除  $C_1$ - $C_{26}$  烷氧基、或者  $C_1$ - $C_{26}$  烷硫基、或者  $C_3$ - $C_{30}$  环烷氧基、或者  $C_1$ - $C_{26}$  烷基胺基、或者  $C_2$ - $C_{26}$  二烷基氨基外的上述定义时,可以根据反应流程 A 容易地获得  $n$  不为 0 的通式 (I) 化合物,并且可以根据反应流程 B 容易地获得  $n = 0$  的通式 (I) 化合物。

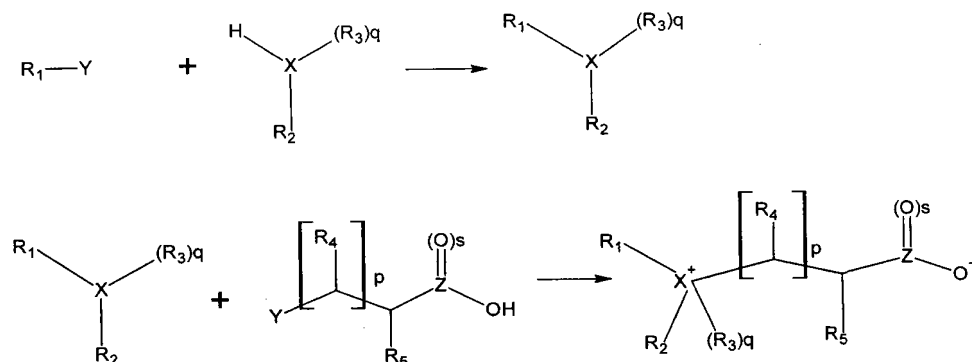
[0114] 反应流程 A

[0115]



[0116] 反应流程 B

[0117]



[0118] 其中,  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$ 、 $X$ 、 $Z$ 、 $m$ 、 $p$ 、 $q$  和  $s$  如上所定义,  $Y$  表示离去基团例如氯原子、溴原子、 $RSO_3^-$  基团,其中  $R$  表示任选取代的  $C_1$ - $C_6$  烷基或者  $C_1$ - $C_6$  卤代烷基或者苯基。

[0119] 通式 (I) 化合物,根据反应流程 A,可以根据本领域熟知的方法,例如



Comprehensive Organic Transformations 1989, R. C. Larock, 任选在碱的存在下在有机溶剂或水溶液中, 对于  $X = \text{氮}$ , 通过缩合适当的  $N', N'$ -二烷基氨基-N-烷基胺, 或者, 对于  $X = \text{硫}$ , 通过缩合  $\omega$ -烷硫基烷基胺与具有适当的  $R_1$  残基的羧酸和缩合剂来获得, 从而形成相应的酰胺。

[0120] 由此获得的中间体接着通过与具有离去基团 Y 的适当的有机酸的碱金属例如钠或者钾的盐反应进行烷基化, 所述反应通过控制的加入强碱溶液, 在水中或有机溶剂中进行, 反应温度为室温至  $100^\circ\text{C}$ , 保持 pH 值在大约 7.5。

[0121] 通式 (I) 化合物, 根据反应流程 B, 可以根据本领域熟知的方法, 例如, Comprehensive Organic Transformations 1989, R. C. Larock, 在碱的存在下在有机溶剂或水溶液中, 对于  $X = \text{氮}$ , 通过适当的  $N', N'$ -二烷基氨基-N-烷基胺的烷基化, 对于  $X = \text{硫}$ , 可以通过适当的  $\omega$ -烷硫基烷基胺与具有离去基团 Y 的理想的  $R_1$  残基的烷基化来获得, 从而获得相应的叔胺。

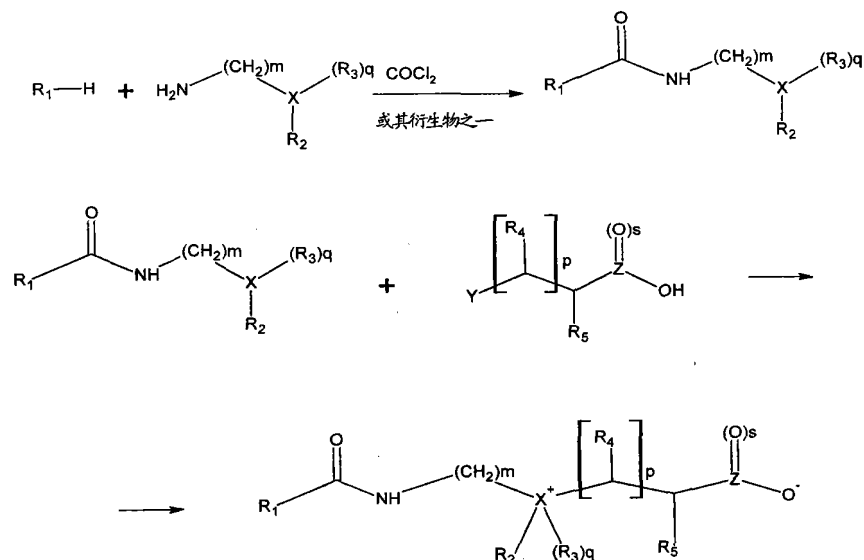
[0122] 由此获得的中间体接着通过与具有离去基团 Y 的适当的有机酸的碱金属例如钠或者钾的盐反应进行烷基化, 所述反应通过控制的加入强碱溶液, 在水中或有机溶剂中进行, 反应温度为室温至  $100^\circ\text{C}$ , 保持 pH 值在大约 7.5。

[0123] 当  $R_1$  表示  $C_1$ - $C_{26}$  烷氧基、或  $C_1$ - $C_{26}$  烷硫基、或  $C_3$ - $C_{30}$  环烷氧基、或  $C_1$ - $C_{26}$  烷基基、或  $C_2$ - $C_{26}$  二烷基胺基时, 可以根据反应流程 C 容易地获得 n 不为 0 的通式 (I) 化合物:

[0124]

反应流程 C

[0125]



[0126] 其中  $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, X, Z, m, p, q$  和  $s$  具有如上所述的定义, Y 表示离去基团例如氯原子、溴原子、 $\text{RSO}_3^-$  基团, 其中 R 表示任选取代的  $C_1$ - $C_6$  烷基或者  $C_1$ - $C_6$  卤代烷基或者苯基。

[0127] 通式 (I) 化合物, 根据反应流程 C, 根据本领域熟知的方法, 例如, Comprehensive Organic Transformations 1989, R. C. Larock, 在光气或其功能替代物例如双光气、三光气、1,1'-羰二咪唑之一存在下, 在有机溶剂或水中, 对于  $X = \text{氮}$ , 可以通过适当的  $N', N'$ -二烷基氨基-N-烷基胺或者, 对于  $X = \text{硫}$ , 可以通过适当的  $\omega$ -烷硫基烷基胺与具有醇、

或者硫醇或者氨基官能团 (aminic function) 的期望的  $R_1$  残基的烷基化反应来获得,  $R_1$  分别表示  $C_1-C_{26}$  烷氧基、或  $C_3-C_{30}$  环烷氧基、或  $C_1-C_{26}$  烷硫基、或  $C_1-C_{26}$  烷基胺基、或  $C_2-C_{26}$  二烷基氨基, 从而获得相应的氨基甲酸酯、硫代氨基甲酸酯或脲。

[0128] 由此获得的中间体接着通过与具有离去基团 Y 的适当的有机酸的碱金属例如钠或者钾的盐反应进行烷基化, 所述反应通过控制的加入强碱溶液, 在水中或有机溶剂中进行, 反应温度为室温至  $100^\circ\text{C}$ , 保持 pH 值在大约 7.5。

[0129] 该反应可以在室温至反应混合物的沸点的温度范围下, 任选在无机碱或有机碱存在下, 在水中或者惰性有机溶剂中便利地进行。

[0130] 优选的实现反应的溶剂的例子是醚 (乙醚、异丙醚、四氢呋喃、二噁烷、二甲氧基乙烷等等); 酯 (乙酸乙酯等等); 氯化烃 (二氯甲烷、二氯乙烷、氯仿、四氯化碳等等); 芳香烃 (苯、甲苯、二甲苯等等); 脂肪烃 (己烷、庚烷、环己烷等等); 偶极非质子溶剂 (N, N-二甲基甲酰胺、二甲亚砷、环丁砷等等)。

[0131] 优选的无机碱的例子是: 碱金属或碱土金属 (钠、钾、钙等等) 的氢氧化物、碳酸盐。

[0132] 优选的有机碱的例子是: 吡啶、二甲基氨基吡啶、脂肪胺 (三乙胺等等)、环胺 (吗啉、哌啶等等)。

[0133] 如果取代基  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$  含有光学或几何异构中心, 通式 (I) 化合物可以以全部可能的结构的异构形式存在。

[0134] 因此本发明的范围还包括通式 (I) 化合物作为任何比例的异构混合物的用途, 以及还包括单一异构体的形式在农业领域中控制植物病原真菌的用途。

[0135] 当来自天然提取物时, 通式 (I) 化合物还可以以它们的同系物的混合物存在, 因此本发明的范围还包括通式 (I) 化合物作为任何比例的它们的同系物混合物在农业领域控制植物病原体真菌和细菌的用途。

[0136] 通式 (I) 化合物还可以以通过与任何数量的水分子配位的水合形式存在, 或者以从水溶液中获得的水合形式存在, 并且直接用于农业目的。

[0137] 通式 (I) 化合物还可以包含并且可能地在其结构内部与其它金属阳离子例如钠、钙、钾配位, 其数量可以随用于合成通式 (I) 化合物的制备方法不同而改变。

[0138] 因此本发明的范围还包括包含所述盐的所述式 (I) 化合物溶液在农业领域控制植物病原真菌和细菌的用途。

[0139] 通式 (I) 化合物能够控制众多真菌和细菌植物病原体, 还具有对其它杀真菌剂的降低的敏感性。

[0140] 通式 (I) 化合物有效作用的植物病原体真菌和细菌的例子是:

[0141] - 禾谷类上的长蠕孢 (*Helminthosporium* spp);

[0142] - 禾谷类上的白粉菌 (*Erysiphe* spp);

[0143] - 禾谷类上的柄锈菌 (*Puccinia* spp.);

[0144] - 葡萄上的葡生单轴霉 (*Plasmopara viticola*);

[0145] - 蔬菜上的腐霉菌 (*Pythium* spp);

[0146] - 蔬菜上的疫霉菌 (*Phytophthora* spp.);

[0147] - 禾谷类上的喙孢菌 (*Rhynchosporium*);

- [0148] - 禾谷类上的壳针孢菌 (*Septoria* spp.) ;
- [0149] - 葫芦科植物 (例如黄瓜) 上的棕丝单囊壳 (*Sphaerotheca fuliginea*) ;
- [0150] - 苹果树上的白叉丝单囊壳 (*Podospaera leucotricha*) ;
- [0151] - 水稻上的稻梨孢菌 (*Pyricularia oryzae*) ;
- [0152] - 葡萄上的葡萄钩丝壳 (*Uncinula necator*) ;
- [0153] - 果树上的黑星菌 (*Venturia* spp.) ;
- [0154] - 葡萄和蔬菜上的灰葡萄孢菌 (*Botrytis cinerea*) ;
- [0155] - 禾谷类上的镰孢菌 (*Fusarium* spp.) ;
- [0156] - 果树和蔬菜上的链格孢菌 (*Alternaria* spp.) ;
- [0157] - 甜菜上的尾孢菌 (*Cercospora* spp.) ;
- [0158] - 黄单孢杆菌 (*Xantomonas*) ;
- [0159] - 芽孢杆菌 (*Bacillus* spp.)
- [0160] 通式 (I) 化合物能够发挥治疗和预防性能两种杀真菌作用, 并且具有较低的植物毒性或没有植物毒性。
- [0161] 因此本发明进一步的目的涉及通过使用具有通式 (I) 的甜菜碱型两性离子的结构的两性化合物控制农作物植物病原真菌和细菌的方法, 其中所述两性化合物具有直接杀真菌和细菌活性, 并且涉及通过使用具有通式 (I) 的甜菜碱型两性离子的结构的两性化合物刺激来自非生物压力 (温度、盐度、干旱等等) 和生物压力的植物天然防御系统和诱导植物本身抗病性的方法。
- [0162] 用于获得预期效果的化合物的量可以随各种各样的因素而变化, 所述因素例如使用的化合物、保护的农作物、病原体的类型、侵染程度 (the degree of infection)、气候条件、使用方法和采用的剂型。
- [0163] 通常每公顷 10g 至 5kg 的化合物剂量即可提供充分的控制。
- [0164] 对于农业上的实际应用, 采用包含一或多种具有通式 (I) 的甜菜碱型两性离子结构的两性化合物的杀真菌组合物常常是有用的。
- [0165] 这些组合物可以在植物的各个部分, 例如叶、茎、枝和根, 或者播种前种子本身, 或者植物生长地施用。
- [0166] 组合物能够以干粉、可湿性粉剂、乳油、微乳剂、糊剂、颗粒剂、溶液、悬浮液等等形式使用; 组合物类型的选择将取决于特定的用途。
- [0167] 按照已知的方法制备组合物, 例如通过使用溶剂介质和 / 或固体稀释剂稀释或者溶解活性物质, 可能在表面活性剂存在下进行。
- [0168] 可以使用的固体稀释剂或者载体是, 例如: 二氧化硅、高岭土、斑脱土、滑石粉、硅藻土、白云石、碳酸钙、氧化镁、石膏、粘土、人造硅酸盐、绿坡缕石、海泡石。
- [0169] 可以使用的液体稀释剂, 除水之外, 是, 例如: 芳族有机溶剂 (二甲苯或者烷基苯混合物、氯苯等等), 石蜡 (油的馏分), 醇 (甲醇、丙醇、丁醇、辛醇、甘油等等), 酯 (乙酸乙酯, 乙酸异丁酯等等), 酮 (环己酮、丙酮、苯乙酮、异佛尔酮、乙戊酮等等), 酰胺 (N, N- 二甲基甲酰胺、N- 甲基吡咯烷酮等)。
- [0170] 可以使用的表面活性剂是钠、钙、三乙胺或者三乙醇胺的盐, 烷基磺酸盐, 烷基芳基磺酸盐, 聚乙氧基化烷基酚, 山梨糖醇聚乙氧基化酯, 木质素磺酸盐, 等等。

[0171] 组合物还可以包含用于特别目的的特定添加剂,例如胶粘剂如阿拉伯树胶、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚丙烯酸酯等等。

[0172] 还已发现,在农业实践中,当与众多其它杀真菌活性成分联合使用时通式 (I) 化合物的杀真菌作用特别有效,从而形成用于抵抗抗药性策略的优良的手段,进一步允许降低使用剂量并刺激植物的天然防御。

[0173] 更准确地说,通过混合通式 (I) 化合物和已知的能够刺激植物的自然防御的其它化合物已经观察到高度的协同增效,所述其它化合物例如水杨酸、乙酰水杨酸、乙酰水杨酸的铜 (II) 盐  $ASA_2Cu$ 、2,6-二氯异烟酸 (INA)、苯并 [1,2,3] 噻二唑 -7- 硫代羧酸 1'-S- 甲酯 (BTH)、糖精,从而以一种有效且安全的方式增强和调整生物活性。

[0174] 特别是,已经注意到当与通式 (I) 化合物混合时下列化合物增强的生物活性:

[0175] • 亚磷酸、其衍生物、其盐及其混合物,例如,  $K_2HPO_3$ 、 $KH_2PO_3$ 、 $Na_2HPO_3$ 、 $NaH_2PO_3$ 、 $(NH_4)_2HPO_3$ 、 $NH_4H_2PO_3$ 、三乙膦酸铝;

[0176] • 苯霜灵 (其外消旋形式或者作为旋光活性的 R 异构体);

[0177] • 杀真菌二肽 IR5885 (其外消旋形式或者作为旋光活性的 R 异构体);

[0178] • 氟醚唑 (其外消旋形式或者作为旋光活性的 R 异构体);

[0179] • 抗性诱导剂例如:水杨酸、其衍生物和铜盐,乙酰水杨酸、其衍生物和铜盐,例如乙酰水杨酸铜 (II) 盐  $ASA_2Cu$ 、水杨酸铜 (II) 盐  $SA_2Cu$ 、水杨酸铜 (II) 盐  $SACu$ 、2,6-二氯异烟酸 (INA)、苯并 [1,2,3] 噻二唑 -7- 硫代羧酸 1'-S- 甲酯 (BTH)、糖精;

[0180] 铜盐例如:氢氧化铜、王铜、铜钙氯氧化物 (cuprocalciumoxychloride)、碱式硫酸铜;

[0181] • 异丙菌胺;

[0182] • 苯噻菌胺;

[0183] • 氰霜唑。

[0184] 所述杀真菌化合物是市售化合物或者几乎已经商业化的。

[0185] 可以很容易地在技术文献中发现对其的描述,例如“杀虫剂手册 (The Pesticide Manual)”,2000, XII 版, British Crop Council Ed., 在 [www.Agrowreports.Com](http://www.Agrowreports.Com)。

[0186] IR5885, 具有杀真菌活性的二肽,指的是专利申请 EP 1028125 中要求保护的化合物中的一个。

[0187] 因此,本发明的目的涉及含有至少一种通式 (I) 两性化合物和一个或多个下述杀真菌化合物的所述组合物的用途:

[0188] • 亚磷酸、其衍生物、其盐及其混合物,例如,  $K_2HPO_3$ 、 $KH_2PO_3$ 、 $Na_2HPO_3$ 、 $NaH_2PO_3$ 、 $(NH_4)_2HPO_3$ 、 $NH_4H_2PO_3$ 、三乙膦酸铝;

[0189] • 苯霜灵 (其外消旋形式或者作为旋光活性的 R 异构体);

[0190] • 杀真菌二肽 IR5885 (其外消旋形式或者作为旋光活性的 R 异构体);

[0191] • 氟醚唑 (其外消旋形式或者作为旋光活性的 R 异构体);

[0192] • 抗性诱导剂例如:水杨酸、其衍生物和铜盐,乙酰水杨酸、其衍生物和铜盐,例如乙酰水杨酸铜 (II) 盐  $ASA_2Cu$ 、水杨酸铜 (II) 盐  $SA_2Cu$ 、水杨酸铜 (II) 盐  $SACu$ 、2,6-二氯异烟酸 (INA)、苯并 [1,2,3] 噻二唑 -7- 硫代羧酸 1'-S- 甲酯 (BTH)、糖精;

[0193] • 铜盐例如:氢氧化铜、王铜、铜钙氯氧化物 (cuprocalciumoxychloride)、碱式硫

酸铜；

[0194] • 异丙菌胺；

[0195] • 苯噻菌胺；

[0196] • 氰霜唑；

[0197] 与通过简单混合两种活性成分获得的混合物相比其具有令人惊讶的更高的生物活性。

[0198] 根据本发明优选的组合物选自：

[0199] - 甘氨酸甜菜碱 (glycinebetaine) 和  $K_2HPO_3$ ；

[0200] - 甘氨酸甜菜碱 (glycinebetaine) 和  $KH_2PO_3$ ；

[0201] - 甘氨酸甜菜碱和三乙磷酸铝；

[0202] - 椰油酰胺丙基甜菜碱和  $K_2HPO_3$ ；

[0203] - 椰油酰胺丙基甜菜碱和  $KH_2PO_3$ ；

[0204] - 椰油酰胺丙基甜菜碱和三乙磷酸铝；

[0205] - 椰油酰胺丙基甜菜碱和氟醚唑；

[0206] - 椰油酰胺丙基甜菜碱和氟醚唑 R 异构体；

[0207] - 椰油酰胺丙基甜菜碱和 IR5885；

[0208] - 椰油酰胺丙基甜菜碱和异丙菌胺；

[0209] - 椰油酰胺丙基甜菜碱和苯噻菌胺；

[0210] - 椰油酰胺丙基甜菜碱和氰霜唑；

[0211] - 椰油酰胺丙基甜菜碱和 R 异构体 IR5885；

[0212] - 椰油酰胺丙基甜菜碱、IR5885 和  $K_2HPO_3-KH_2PO_3$ ；

[0213] - 椰油酰胺丙基甜菜碱、IR5885 和三乙磷酸铝；

[0214] - 甘氨酸甜菜碱、IR5885 和三乙磷酸铝；

[0215] - 椰油酰胺丙基甜菜碱、R 异构体 IR5885 和三乙磷酸铝；

[0216] - 甘氨酸甜菜碱、R 异构体 IR5885 和三乙磷酸铝；

[0217] - 椰油酰胺丙基甜菜碱、R 异构体 IR5885 和  $K_2HPO_3-KH_2PO_3$ ；

[0218] - 甘氨酸甜菜碱 (glycinebetaine)、 $K_2HPO_3-KH_2PO_3$  和 IR5885；

[0219] - 甘氨酸甜菜碱 (glycinebetaine)、 $K_2HPO_3-KH_2PO_3$  和异丙菌胺；

[0220] - 甘氨酸甜菜碱 (glycinebetaine)、 $K_2HPO_3-KH_2PO_3$  和苯噻菌胺；

[0221] - 甘氨酸甜菜碱 (glycinebetaine)、 $K_2HPO_3-KH_2PO_3$  和氰霜唑；

[0222] - 甘氨酸甜菜碱 (glycinebetaine)、 $K_2HPO_3-KH_2PO_3$  和 R 异构体 IR5885；

[0223] - 椰油酰胺丙基甜菜碱和  $ASA_2Cu$ ；

[0224] - 椰油酰胺丙基甜菜碱和  $SA_2Cu$ ；

[0225] - 椰油酰胺丙基甜菜碱和  $SACu$ ；

[0226] - 肉毒碱和  $K_2HPO_3$ ；

[0227] - 肉毒碱和  $KH_2PO_3$ ；

[0228] - 肉毒碱和  $K_2HPO_3-KH_2PO_3$  和 IR5885。

[0229] 上述组合物的活性成分的浓度可以在宽范围内变化，该范围取决于活性化合物、它们指定的用途、环境条件和采用的制剂的类型。

[0230] 活性成分的浓度范围通常为 1% 至 90%，优选 5 至 50%。

[0231] 下述实施例用于例举来更好地理解发明，并不用于限制本发明。

[0232] 实施例 1

[0233] 月桂基酰胺丙基 -N, N- 二甲基胺的制备

[0234] 在 10g 月桂酰氯的 50ml 二氯甲烷和 4.74ml 三乙胺溶液中加入 4.67g 3- 二甲基氨基 -1- 丙胺。混合物在室温下搅拌过夜。萃取所获得的产物，水洗，用  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥，干燥后，获得 12g 期望的化合物（收率 93%）。

[0235] 元素分析 [% 实验值（理论值）] = C 71.2(71.6) ; H 12.5(12.6) ; N 9.5(9.8)。

[0236] 实施例 2

[0237] 二十烷基二甲基胺的制备

[0238] 在 10g 二十烷基溴的水溶液中加入 10.5ml 二甲胺的 40% 水溶液。混合物在室温下搅拌过夜。萃取所获得的产物，水洗，用  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥，干燥后，获得 8.1g 期望的化合物（收率 90%）。

[0239] 元素分析 [% 实验值（理论值）] = C 80.9(81.1) ; H 14.3(14.7) ; N 4.5(4.3)。

[0240] 实施例 3

[0241] 胆固醇酰胺丙基二甲胺的制备

[0242] 在 15g 氯甲酸胆固醇酯的 70ml 二氯甲烷和 3.49ml 三乙胺溶液中加入 3.41g 3- 二甲基氨基 -1- 丙胺。混合物在室温下搅拌过夜。萃取所获得的产物，水洗，用  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥，干燥后，获得 15.8g 期望的化合物（收率 92%）。

[0243] 元素分析 [% 实验值（理论值）] = C 77.0(76.8) ; H 11.9(11.2) ; N 5.1(5.4)。

[0244] 实施例 4

[0245] 月桂基酰胺丙基甜菜碱（化合物 7）的制备

[0246] 在反应器中加入溶于 32ml 水的 12g 月桂基酰胺丙基 -N, N- 二甲胺和 4.9g 单氯乙酸钠。反应混合物缓慢加热到 98°C 并通过连续加入 50% 重量的氢氧化钠溶液保持大约 7.5 的 pH 值。大约 5 小时后，起始物完全耗尽，获得的溶液可直接使用。

[0247] 用与上述实施例类似的方法制备下列化合物：

[0248] 表 1

[0249]

标号	化合物
1	月桂基甜菜碱
2	硬脂基甜菜碱
3	辛基 / 癸基酰胺丙基甜菜碱
4	鲸蜡基甜菜碱
5	月桂基羟基二甲基磺基甜菜碱
6	月桂基 / 鲸蜡基甜菜碱

7	月桂基酰胺丙基甜菜碱
8	椰油酰胺丙基甜菜碱
9	椰油酰胺丙基羟基磺基甜菜碱
10	胆甾醇羰基酰胺丙基甜菜碱
11	胆甾烷酰胺丙基甜菜碱
12	鹅去氧胆甾烷酰胺丙基甜菜碱
13	去氧胆甾烷酰胺丙基甜菜碱
14	石胆甾烷酰胺丙基甜菜碱
15	环己氧基羰基酰胺丙基甜菜碱
16	葡糖基酰胺丙基甜菜碱
17	N,N-二月桂基氨基丙基甜菜碱
18	N-十六烷基脲基丙基甜菜碱
19	椰油酰胺丙基甲基乙酰硫代甜菜碱
20	月桂酰胺丙基甲基乙酰硫代甜菜碱
21	鲸蜡基甲基乙酰硫代甜菜碱
22	N,N-二辛基脲基丙基甜菜碱
23	月桂基酰胺乙基甜菜碱
24	月桂基酰胺丙基 [L] 缬氨酸甜菜碱
25	月桂基酰胺丙基 [L] 脯氨酸甜菜碱
26	月桂基酰胺丙基 [L] 丙氨酸甜菜碱
27	月桂基酰胺丙基 [L] 苯基甘氨酸甜菜碱
28	月桂基酰胺丙基 - $\beta$ - 苯基丙氨酸甜菜碱
29	月桂基酰胺丙基 - $\beta$ - 4- 氯苯基丙氨酸甜菜碱
30	月桂基酰胺丙基 - $\beta$ - 丙氨酸甜菜碱

31	椰油酰胺丙基 [L] 缬氨酸甜菜碱
32	椰油酰胺丙基 [L] 脯氨酸甜菜碱
33	椰油酰胺丙基 [L] 丙氨酸甜菜碱
34	椰油酰胺丙基 [L] 苯基甘氨酸甜菜碱
35	椰油酰胺丙基 - $\beta$ - 苯基丙氨酸甜菜碱
36	椰油酰胺丙基 - $\beta$ - 4- 氯苯基丙氨酸甜菜碱
37	椰油酰胺丙基 - $\beta$ - 丙氨酸甜菜碱
38	十氢 -2- 萘氧基羰基酰胺丙基甜菜碱
39	3,5- 二叔丁基苯酰胺丙基甜菜碱
40	3,5- 二叔丁基苯氧基羰基酰胺丙基甜菜碱
41	$\alpha$ -D- 吡喃葡萄糖基 - $\beta$ -D- 呋喃果糖基氧基羰基酰胺丙基甜菜碱

[0250]

[0251] 实施例 5[0252] 确定对抗藤本植物霜霉病 (葡生单轴霉 *Plasmopara viticola*) 的杀真菌活性[0253] 使用化合物 1、2 和 3 通过对叶片两面喷雾处理在花瓶 (vases) 中设定环境下 ( $20 \pm 1^\circ\text{C}$ , 70% 相对湿度) 生长的葡萄叶片 (Dolcetto 品种), 所述化合物分散在按体积 20% 丙酮中的丙酮水 (hydroacetone) 溶液中。[0254] 在设定环境中保持 24 小时之后, 使用葡生单轴霉的分生孢子水悬浮液 (每  $\text{cm}^3$  20,000 个分生孢子) 对植物叶片两面进行喷雾。[0255] 将植物保持在  $21^\circ\text{C}$ , 湿度饱和的环境中, 度过真菌潜伏期。

[0256] 在此阶段的末期 (7 天), 按照从 0 (完全被侵染的植物) 至 100 (健康植物) 的评价百分比等级评定杀真菌活性。

[0257] 表 2

[0258] 具有通式 (I) 的化合物对葡生单轴霉的 7 天预防活性

[0259]

化合物编号	250ppm 活性	125ppm 活性
5	99	85
7	100	95
8	100	98



9	100	95
10	95	90
11	94	90
24	99	88
25	100	95
26	95	90
28	99	90
29	95	90
30	90	85
31	98	85
32	95	88
33	96	85
34	97	88
35	95	89
36	94	85
37	98	86

[0260] 表 3

[0261] 具有通式 (I) 的化合物与其它杀真菌剂的混合物对葡生单轴霉的

[0262] 7 天预防活性

[0263]

混合物	活性 (剂量 ppm)	活性 (剂量 ppm)	活性 (剂量 ppm)
甘氨酸甜菜碱	30 (30ppm)		
$K_2HPO_3-KH_2PO_3$		40 (500ppm) *	
甘氨酸甜菜碱 + $K_2HPO_3-KH_2PO_3$			90 (30+500ppm)

三乙磷酸铝		50 (500ppm) *	
甘氨酸甜菜碱 + 三乙磷酸铝			90 (30+500ppm)
氟醚唑	20 (30ppm)		
化合物 Nr. 8		30 (30ppm)	
化合物 Nr. 8+ K <sub>2</sub> HPO <sub>3</sub> -KH <sub>2</sub> PO <sub>3</sub>			95 (30+500ppm)
化合物 Nr. 8+ 三乙磷酸铝			95 (30+500ppm)
氟醚唑 + 化合物 Nr. 8			95 (30+30ppm)
IR5885	41 (0.45ppm)		
IR5885+ 化合物 Nr. 8			100 (0.45+30ppm)
IR5885	15 (0.22ppm)		
IR5885+ 化合物 Nr. 8+K <sub>2</sub> HPO <sub>3</sub> -KH <sub>2</sub> PO <sub>3</sub>			100 (0.22+30+500ppm)
IR5885+ 化合物 Nr. 8+ 三乙磷酸铝			100 (0.22+30+500ppm)

[0264]

[0265] \* 当 ppm 剂量涉及亚磷酸钾时,用等当量亚磷酸表示。

[0266] 实施例 6

[0267] 确定对抗小麦白粉病 (禾白粉菌 *Erysiphe graminis*) 的杀真菌活性

[0268] 使用化合物 1、2 和 3 通过对叶片两面喷雾处理在花瓶 (vases) 中设定环境下 (20±1°C, 70%相对湿度) 生长的小麦叶片 (Gemini 品种), 所述化合物分散在按体积 20% 丙酮中的丙酮水 (hydroacetone) 溶液中。

[0269] 在设定环境中保持 24 小时之后, 使用禾白粉菌的分生孢子水悬浮液 (每 cm<sup>3</sup> 200,000 个分生孢子) 对植物叶片两面进行喷雾。

[0270] 将植物保持在 18 至 24°C 范围, 湿度饱和的环境中, 度过真菌潜伏期。

[0271] 在此阶段的末期 (12 天), 按照从 0 (完全被侵染的植物) 至 100 (健康植物) 的评价百分比等级评定杀真菌活性。

[0272] 表 4

[0273] 具有通式 (I) 的化合物与其它杀真菌剂的混合物对禾白粉菌的 5

[0274] 天预防活性

[0275]

混合物	活性 (剂量 ppm)	活性 (剂量 ppm)	活性 (剂量 ppm)
氟醚唑	48(1.8ppm)		
化合物 Nr. 8		20(500ppm)	
氟醚唑 + 化合物 Nr. 8			97(1.8+500ppm)
IR5885	20(500ppm)		
IR5885+ 化合物 Nr. 8			93(500+500ppm)

[0276] 实施例 7

[0277] 确定对抗小麦锈病 ( 隐匿柄锈菌 *Puccinia recondita* ) 的杀真菌活性

[0278] 使用化合物 1、2 和 3 通过对叶片两面喷雾处理在花瓶 (vases) 中设定环境下 (20±1°C, 70%相对湿度) 生长的小麦叶片 (Gemini 品种), 所述化合物分散在按体积 20% 丙酮中的丙酮水 (hydroacetone) 溶液中。

[0279] 在设定环境中保持 24 小时之后, 使用隐匿柄锈菌的分生孢子水悬浮液 (每 cm<sup>3</sup>200,000 个分生孢子) 对植物叶片两面进行喷雾。

[0280] 将植物保持在 18 至 24°C 范围, 湿度饱和的环境中, 度过真菌潜伏期。

[0281] 在此阶段的末期 (14 天), 按照从 0 (完全被侵染的植物) 至 100 (健康植物) 的评价百分比等级评定杀真菌活性。

[0282] 表 5

[0283] 具有通式 (I) 的化合物与其它杀真菌剂的混合物对隐匿锈菌的 5

[0284] 天预防活性

[0285]

混合物	活性 (剂量 ppm)	活性 (剂量 ppm)	活性 (剂量 ppm)
氟醚唑	58(30ppm)		
化合物 Nr. 8		29(125ppm)	
氟醚唑 + 化合物 Nr. 8			92(30+125ppm)
IR5885	15(500ppm)		
IR5885+ 化合物 Nr. 8			81(500+125ppm)

[0286] 实施例 8

[0287] 确定具有通式 (I) 的化合物以及它们与其它杀真菌剂的混合物的基因反应。

[0288] 使用具有通式 (I) 的化合物以及它们与其它杀真菌剂的混合物处理四星期大的拟南芥 (*arabidopsis thaliana*) 幼苗, 并且在处理 24 小时后收集叶片。

[0289] 使用“Genelute 哺乳动物总 RNA 试剂盒” (Genelute mammaliantotal RNA kit) (Sigma) 按照规程指示从 0.05g 新鲜组织中提取总 RNA。使用 Fermentas 生命科学 (Life Sciences) 商业化的“RevertAid™M-MuLV 反转录酶 (Reverse Transcriptase)”按照下列规程合成 cDNA :2 μ g 总 RNA 与 0.5 μ g 的 oligo(dT)<sub>18</sub> 混合。

[0290] 然后加入去离子水 (不含核酸酶) 使反应体积达到 11 μ l, 随后将反应物在 70°C 温育 5 分钟, 然后在冰中冷却。

[0291] 然后在混合物中加入下列试剂 :

[0292] 4 μ l 的 5× 反应缓冲液, 10mM 的 dNTP 混合物, 20 单位的核糖核酸酶抑制剂。

[0293] 将反应物在 37°C 温育 5 分钟, 随后在混合物中加入 200 单位的 RevertAid™ M-MuLV 反转录酶, 并且将反应物在 42°C 温育 60 分钟。

[0294] 然后通过 70°C 温育 10 分钟钝化酶来终止反应。

[0295] PCR 分析

[0296] 使用核糖体 RNA 18S 的引物 /competimers 混合物以 9 : 1 的比例作为内标 (internal standard) 作用于 cDNA 以进行定量 PCR 分析。

[0297] 用于 PCR 反应的引物序列在下面列出 :

[0298] -PR1 fw :5' GTAGCTCTTG TAGGTGCTCT 3'

[0299] -PR1 rev :5' CATCCTGCATATGATGCTCC 3'

[0300] 在 25 μ l 具有下列组分的反应体系中进行 PCR 反应 :

[0301] CDNA :0.5 μ l

[0302] 10× 反应缓冲液 :2.5 μ l

[0303] 50mM MgCl<sub>2</sub> = 0.75 μ l

[0304] 2.5mM dNTPs :0.5 μ l

[0305] 5 μ M 18S 引物 :Competimer 混合物 (9 : 1 比例) :0.5 μ l

[0306] 12.5 μ M 基因特异正向引物 (primer forward) :0.5 μ l

[0307] 12.5 μ M 基因特异反向引物 (primer reverse) :0.5 μ l

[0308] Euroclone Taq (5u/μ l) :0.25 μ l

[0309] 在 94°C 变性 2 分钟后, 将下列扩增程序进行 35 个循环 :

[0310] 94°C :30sec

[0311] 退火温度 PR1 :48°C :30sec

[0312] 72°C :1min

[0313] 随后在 72°C 进行额外循环 10 分钟。

[0314] 在图 1 中, 其中

[0315] A) ASA<sub>2</sub>Cu 12.5ppm

[0316] B) 甘氨酸甜菜碱 800ppm

[0317] C) 甘氨酸甜菜碱 1600ppm

[0318] D) 化合物 Nr. 8 800ppm

[0319] E) 化合物 Nr. 8 1600ppm

[0320] F) ASA<sub>2</sub>Cu 12.5ppm+ 化合物 Nr. 8 800ppm

[0321] G) 空白对照

[0322] 与空白对照和甘氨酸甜菜碱的比较分别显示了单独的化合物 Nr. 8 及其与乙酰水杨酸铜 (II) 盐 (ASA<sub>2</sub>Cu) 混合物的特殊基因反应。

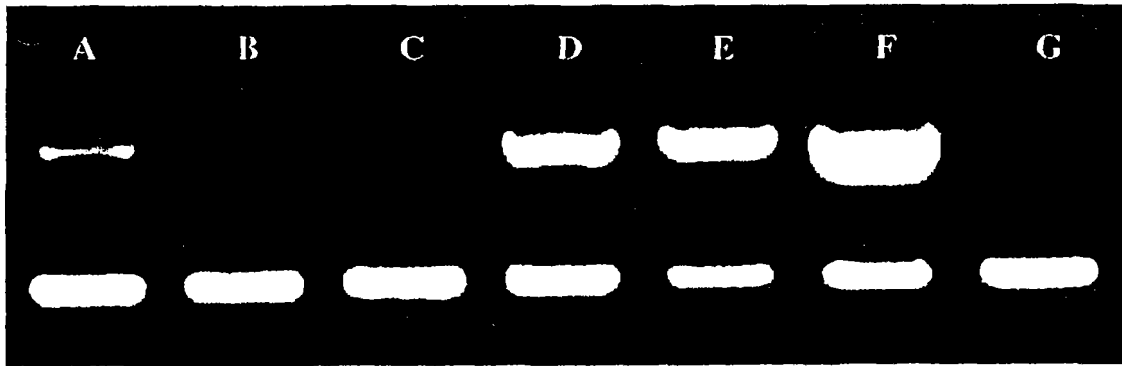


图 1