
Octrooiraad



⑩ A **Terinzagelegging** ⑪ **8007043**

Nederland

⑲ NL

- ⑤4 **Werkwijze voor het bereiden van preparaten met hormonale werking en van de actieve bestanddelen daarvan.**
- ⑤1 Int.Cl³: C07F 9/38, A01N 25/22, A01N 57/20, C08K 5/53, C08L 5/16.
- ⑦1 Aanvrager: Chinoin Gyógyszer- és Vegyészeti Termékek Gyára RT te Boedapest.
- ⑦2 Uitvinder(s): - -
- ⑦4 Gem.: Ir. C.M.R. Davidson c.s.
Octrooibureau Vriesendorp & Gaade
Dr. Kuiperstraat 6
2514 BB 's-Gravenhage.

-
- ②1 Aanvraag Nr. 8007043.
- ②2 Ingediend 24 december 1980.
- ③2 Voorrang vanaf 28 december 1979.
- ③3 Land van voorrang: Hongarije (HU).
- ③1 Nummer van de voorrangsaanvraag: CI -2000 .
- ⑥2 - -

-
- ④3 Ter inzage gelegd 16 juli 1981.

De aan dit blad gehechte stukken zijn een afdruk van de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekening(en).

Werkwijzen voor het bereiden van preparaten met hormonale werking en van de actieve bestanddelen daarvan.

De uitvinding heeft betrekking op werkwijzen voor het bereiden van preparaten met hormonale werking, van de actieve bestanddelen daarvan en voor het regelen van de groei van planten.

5 De preparaten die de groei van planten regelen bevatten als actief bestanddeel een insluitingscomplex van α -, β - en/of γ -dextrine gevormd met chloorethylfosfonzuur.

Etheen behoort tot de groep natuurlijke planthormonen. In een concentratie van 0,02- 1 ppm is etheen
10 in staat de groei van stengels te remmen, een ontbladerend effect uit te oefenen en het rijp worden van vruchten enz. te versnellen [OSBORNE, J. Plant Growth Regulators, S.C.I. Monograph no. 31 blz. 236, (1968)]7.

Het gebruik van gasvormig etheen gaat echter
15 gepaard met een aantal technische moeilijkheden en daarom wordt dit niet in de praktijk toegepast. Het bereiden van het complex van etheen en α -cyclodextrine is beschreven door CRAMER en HENGLEIN in 1957 [Chem. Ber. 90, 2572 (1957)]7.

Een complex van 0,7 mol etheen per mol
20 α -cyclodextrine is bekend (KOKAI no. 75 58226); volgens deze octrooiaanvraag leidt het gebruik van dit complex tot een bekorting van de rijpingsperiode van tomaten van ongeveer 4 dagen. Aangezien het complex ongeveer 0,7 mol etheen per mol cyclodextrine bevat en het percentage etheen van dit
25 complex slechts 2 % bedraagt, is de bereiding van dit complex slechts van theoretische betekenis en kan in deze vorm niet in de praktijk worden toegepast.

In de praktijk worden dergelijke verbindingen toegepast, waaruit door ontleding etheen op het oppervlak
35 van de planten of in het inwendige van de cellen wordt ontwikkeld. 2-chloorethylfosfonzuur is een dergelijke verbinding

8007043

die op grote schaal wordt gebruikt.

5 Bij ontleding met water worden waterstofchloride, zwavelzuur en gasvormig etheen ontwikkeld. Deze ontleding treedt slechts op bij een pH hoger dan 3,5. De in de handel verkrijgbare produkten zijn mengsels die verschillende bij-
produkten en water bevatten. Het meestal gebruikte preparaat is een oplossing in water die ongeveer 40 % 2-chloorethylfosfon-
zuur bevat.

10 Door sproeien op planten versterkt 2-chloor-ethylfosfonzuur in een geschikte verdunning de intensiteit van de ademhaling en de aktiviteit van chlorofylase en verlaagt aldus het chlorofielgehalte van de bladeren en oefent een ont-
bladerende werking uit.

15 De pH-waarde van de in de handel verkrijgbare geconcentreerde produkten van 2-chloorethylfosfonzuur zal ongeveer 2 zijn, teneinde het ontleden van de verbinding tegen te gaan. Deze lage pH-waarde verdient geen aanbeveling vanuit het standpunt van de toepassing (corrosie), terwijl ze evenmin
20 gunstig is omdat 2-chloorethylfosfonzuur dat de planten binnendringt niet alleen de gewenste plaatselijke werking uitoefent, doch door absorptie ten gevolge van de systemische werking ook de werkzaamheid het volgende jaar zal uitoefenen, waardoor de knoppen zullen worden beschadigd.

25 De uitvinding is gebaseerd op de vondst dat 2-chloorethylfosfonzuur kristallijne insluitingscomplexen met cyclodextrinen vormt, die zonder enige beperkingen in poeder-
vorm kunnen worden opgeslagen en even voor het sproeien moeten worden opgelost. De insluitingscomplexen volgens de uitvinding kunnen eveneens als verstuijfbare poeders worden toegepast. In
30 dat geval leidt het kristallijne complex tot een verlengde werking.

Het 2-chloorethylfosfonzuurgehalte van de insluitingscomplexen volgens de uitvinding liggen tussen 10 en 30 %.

35 2-chloorethylfosfonzuur zal hierna in deze

8007043

beschrijving worden aangeduid met "Ethrel".

De ethrel-cyclodextrinecomplexen volgens de uitvinding verschillen niet alleen door hun hogere etheen-gehalte van de tot nu toe bekende etheen-cyclodextrinecomplexen.

5 Het fundamentele verschil berust op het feit dat de ethrel-cyclodextrinecomplexen hun werking op een biologische wijze uitoefenen, waardoor het complex, bij aanbrengen op het oppervlak van levende planten, in de weefsels en organen van de plant zal binnendringen en zich zal verspreiden en gasvormig

10 etheen, dat in feite de groei-regulerende, hormonale werking uitoefent, bij de pH van de cellen wordt ontwikkeld. Het bekende etheen-cyclodextrinecomplex stimuleert het rijpworden van verzamelde, onrijpe tomaten en planten doordat etheen tijdens de ontleding in een gesloten gebied wordt vrijgemaakt.

15 Deze etheenvorming verloopt uitermate snel, waardoor zeer hoge plaatselijke etheenconcentraties en grote verliezen zullen optreden. Aan de andere kant wordt etheen uit de ethrel-cyclodextrinecomplexen volgens de uitvinding in tenminste twee stappen vrijgemaakt (ten eerste uit het ethrel-cyclodextrine-

20 complex het ethrel en daarna etheen uit ethrel). Deze laatste stap verzekert een vertraging en dus een langdurig etheeneffect, hetgeen voor een biologische responsreactie van belang is. Het toepassingsveld van de ethrel-cyclodextrinecomplexen is niet beperkt tot het stimuleren van de rijping tijdens het opslaan

25 (de vorming van een afgesloten opslagruimte met een hoog etheen-gehalte), doch kan door een geschikte keuze van de wijze en tijdsperiode van de toepassing en het te behandelen object voor verschillende doeleinden worden toegepast (bijvoorbeeld het regelen van het volledige bloesem-bloem- en gewasvormende

30 mechanisme van de levende, groeiende planten).

Een aspect van de uitvinding is dus gericht op een werkwijze voor het bereiden van een insluitingscomplex van 2-chloorethylfosfonzuur en cyclodextrine. Dit aspect omvat de reactie van 2-chloorethylfosfonzuur met α -, β - en/of γ -cyclodextrine en/of een mengsel van één of een aantal van deze

35

8007043

cyclodextrinen gevormd met een lineair dextrine en/of ten dele ontleed zetmeel.

5 Geschikt kan men een oplossing van 2-chloorethylfosfonzuur in water of een mengsel van water en een met water mengbaar organisch oplosmiddel toevoegen aan cyclodextrinen of een mengsel van cyclodextrinen en lineaire cyclodextrinen of een waterige oplossing daarvan. Als oplosmiddel worden bij voorkeur lage alcoholen en ketonen toegepast.

Voorbeeld I:

10 Werkwijze voor het bereiden van een complex van α -cyclodextrine en 2-chloor-ethylfosfonzuur.

 Men bereidde een 50 % oplossing van α -cyclodextrine in gedestilleerd water onder verwarming ($70-80^{\circ}\text{C}$). Hieraan voegde men onder krachtig roeren een 40 %'s oplossing
15 van chloorethylfosfonzuur (Rol-Fruct, een Chinoine produkt) met een gelijk volume toe. Daarna koelde men de aldus verkregen oplossing, onder verder roeren, met ijskoud water af en liet dit reaktiemengsel een nacht in een koelkast staan. Vervolgens
filtreerde men de neergeslagen kleine kristallen af en droogde
20 ze gedurende twee dagen in een vacuumexsicator boven kaliumhydroxyde. Het aldus verkregen droge produkt heeft een zwakke groenachtige tint en kan gemakkelijk worden gepoederd. In poedervorm is het wit en bestaat uit kleine poederachtige kristallen. Opbrengst: 104 % (ten opzichte van de toegepaste
25 hoeveelheid α -cyclodextrine). Het produkt is het complex van α -cyclodextrine en chloorethylfosfonzuur.

 Het gehalte aan vrije chloorionen: 0 %
(volgens Volhard).

 Het gehalte aan gebonden chloor: 7,03 %
30 (na 1 uur koken met een 1 N oplossing van kaliumhydroxyde, volgens Volhard).

$7,03 \% \text{ Cl} \longrightarrow 5,55 \% \text{ etheen} \longrightarrow 28,6 \%$

$2\text{-chloorethylfosfonzuur} \longrightarrow 2,7 \text{ mol/mol } \alpha\text{-cyclodextrine}$

 Op basis van het etheengehalte:

35 De hoeveelheid ontwikkeld, gasvormig etheen werd bepaald met behulp van reaktie-kinetische metingen met

8007043

behulp van een Warburg apparaat. Het gemiddelde resultaat van de herhaalde meting was: 745 μ l etheen per 20 mg complex. 745 μ l etheen/20 mg complex $\rightarrow$ 4,6 % etheen.

Dit komt overeen met 23 % opgenomen 2-chloor-ethylfosfonzuur (2 mol per mol). Rekening houdende met een opneming van 2 mol 2-chloorethylfosfonzuur per mol α -cyclodextrine, bedraagt de verkregen opbrengst 80,2 %, berekend voor de theoretische waarde.

Het röntgenstralendiffraktiepoederdiagram van α -cyclodextrine verschilt aanzienlijk van dat van het complex van α -cyclodextrine en 2-chloorethylfosfonzuur. Het diagram van α -cyclodextrine vertoont scherpe reflectiepieken bij de waarden van $2\theta^\circ = 11,7, 12,3, 13,5, 14,3, 21,8$, terwijl het diagram van het complex van α -cyclodextrine en 2-chloorethylfosfonzuur slechts een krachtig reflectiemaximum bij 20° vertoont.

Rekening houdende met de hoeveelheid etheen die in een Warburg-inrichting als functie van de tijd wordt ontwikkeld, kan de reaktiesnelheidsconstante van de eerste orde die kenmerkend is voor de ontledingssnelheid van 2-chloorethylfosfonzuur worden berekend. Dit is toegelicht in tabel A. Tabel B laat zien dat in een homogene waterige oplossing cyclodextrine de vorming van etheen op beduidende wijze versnelt.

Tabel A

t ($^\circ\text{C}$)	pH	k (minuut $^{-1}$)
27	6,64	$9,2 \times 10^{-5}$
	8,04	$36,8 \times 10^{-5}$
	11	$138,2 \times 10^{-5}$
37	6,64	$3,3 \times 10^{-4}$
	8,04	$13,8 \times 10^{-4}$
	11	$57,8 \times 10^{-4}$
47	6,64	$1,4 \times 10^{-3}$
	8,04	$6,0 \times 10^{-3}$
	11	$24,4 \times 10^{-3}$

8007043

Tabel B

t (°C)	pH	α -CD-CEPA k (minuut ⁻¹)	CEPA k' minuut ⁻¹	k/k'	
5	27	6,64	9,2 x 10 ⁻⁵	7,6 x 10 ⁻⁵	1,21
		8,04	36,8 x 10 ⁻⁵	26,9 x 10 ⁻⁵	1,36
		11	138,2 x 10 ⁻⁵	86,0 x 10 ⁻⁵	1,60

CEPA = 2-chloorethylfosfonzuur

Voorbeeld II:

10 Bereiding van een complex van β -cyclodextrine en 2-chloorethylfosfonzuur.

Men bereidde uit β -cyclodextrine een 30 %'s oplossing in gedestilleerd water onder verwarming (80-90°C). Daarna voegde men onder krachtig roeren aan de nog warme
 15 oplossing een 40 %'s oplossing van 2-chloorethylfosfonzuur (Rol-Fruct, een Chinoïne produkt) in een gelijk volume toe. Vervolgens koelde men de aldus verkregen oplossing onder voortdurend roeren met een ijskoud waterbad af en liet haar een nacht in een koelinrichting staan. Hierdoor ging de oplossing
 20 over in een dikke suspensie van kristallen. Men filtreerde het neergeslagen complex onder koelen af, waste met koude moederloogen droogde in een vacuumexsicator boven kaliumhydroxyde. Het drogen vereiste 2 tot 3 dagen en kan door fijnmaken worden versneld. Aldus verkreeg men een groenachtig
 25 produkt, dat gemakkelijk kan worden verpoederd. In poedervorm is het produkt in de vorm van kleine kristallen aanwezig. Opbrengst: 60-70 %, berekend op het toegepaste β -cyclodextrine.

Het 2-chloorethylfosfonzuurgehalte van het aldus verkregen β -cyclodextrine-2-chloorethylfosfonzuurcomplex
 30 werd bepaald door meting van het chloridegehalte volgens Volhard, terwijl de hoeveelheid etheen gevormd door ontleding van het complex werd bepaald volgens Warburg. De oplossing van het complex in water bevat volgens Volhard geen chlorideionen. Het gehalte aan gebonden chloor van het 2-chloorethylfosfonzuur werd volgens Volhard bepaald door 15 min. koken
 35 met een 1 N kaliumhydroxydeoplossing:

8007043

3 % chloor $\longrightarrow$ 2,4 % etheen $\longrightarrow$ 12 % 2-chloorethyl-
fosfonzuur $\longrightarrow$ 1,15 mol 2-chloorethylfosfonzuur per mol
 β -cyclodextrine. De hoeveelheid door ontleding gevormd etheen
komt dus overeen met een opneming van 1,2 mol 2-chloorethyl-
fosfonzuur per mol β -cyclodextrine.

Voorbeeld III:

Bereiding van complex van γ -cyclodextrine en
2-chloorethylfosfonzuur.

Men voegde aan een 30 %'s warme (70-80°C)
oplossing van γ -cyclodextrine in water, onder roeren en op
overeenkomstige wijze als beschreven in de voorgaande voor-
beelden, een 40 %'s oplossing van 2-chloorethylfosfonzuur
(Rol-Fruct, een Chinoine produkt) van gelijk volume toe.
Men koelde de aldus verkregen heldere oplossing in ijskoud water
af, waarna men haar een nacht in een koelkast liet staan. Ver-
volgens filtreerde men het neergeslagen produkt af en droogde
het gedurende 2 dagen in een vacuumexsicator. Het droge produkt
heeft een groenachtige tint en bestaat in gepoederde vorm uit
witte, poedervormige kristallen. Opbrengst: 65 %, ten opzichte
van toegevoegd γ -cyclodextrine. Het produkt is een complex van
 γ -cyclodextrine en 2-chloorethylfosfonzuur.

Van 2-chloorethylfosfonzuur:

het gehalte aan vrij chloor volgens Volhard: 0 %.

het gehalte aan gebonden chloor volgens Volhard,

na 1 uur koken met kaliumhydroxyde:

5,3 Cl $\longrightarrow$ 4,3 % etheen $\longrightarrow$ 21,2 %

2-chloorethylfosfonzuur $\longrightarrow$ opgenomen: 2,4 mol/mol.

Voorbeeld IV

Men bereidde op een bekende wijze een ruw
cyclodextrine conversiemengsel uit zetmeel, onder toepassing
van een cyclodextrine transglucosilase enzym verkregen door
kweken van Bacillus macerans.

Het aldus verkregen ruwe conversiemengsel bevat
ongeveer 40-80 % ten dele ontleed zetmeel, lineaire dextrinen,
38-42 % β -cyclodextrine, 2-10 % α -cyclodextrine en 4-10 %

8007043

γ -cyclodextrine. De gemiddelde samenstelling van het mengsel is zodanig dat behalve 6 delen β -cyclodextrine 2 delen α -cyclodextrine en 2 delen γ -cyclodextrine worden gevormd.

Het 2-chloorethylfosfonzuurcomplex werd eveneens
5 bereid uit het aldus verkregen ruwe conversiemengsel door
uit dit mengsel bij 50°C een 30 %'s oplossing in water te
bereiden en daaraan een 40 %'s oplossing van 2-chloorethylfosfon-
zuur in water toe te voegen. De hoeveelheid van het aldus toe-
gevoegde 2-chloorethylfosfonzuur komt overeen met 20-30 %,
10 berekend op het totale cyclodextrinegehalte. Men liet dit
mengsel een nacht in een koelkast staan en werkte het op op de
wijze als beschreven in de voorgaande voorbeelden. Het complex
van 2-chloorethylfosfonzuur dat met de verschillende cyclo-
dextrinen was gevormd slaat met een deel van de lineaire dextri-
15 nen neer. Het 2-chloorethylfosfonzuurgehalte van het produkt
bedroeg 18 %.

Voorbeeld V

Men verwijderde het gedeeltelijk ontlede zetmeel
en de lineaire dextrinen die tijdens het bereiden van β -cyclo-
20 dextrine waren gevormd door neerslaan. Het verkregen residu
werd uitgekristalliseerd, waarbij de moederloog van het eerste
kristallisatiebad α -, β - en γ -cyclodextrinen in ongeveer gelijke
hoeveelheden bevatte. Dit produkt werd tot nu toe als afval-
materiaal beschouwd. Volgens de uitvinding kan dit produkt
25 echter worden toegepast voor het bereiden van een insluitings-
complex van 2-chloorethylfosfonzuur en cyclodextrine.

Men dampte de moederloog die bij de eerste
kristallisatie van β -cyclodextrine werd verkregen onder ver-
minderde druk in tot een gehalte aan vaste stoffen van 20 %.
30 Daarna voegde men aan 100 l van de geconcentreerde moederloog
15 l van een 2-chloorethylfosfonzuuroplossing (gehalte aan
droge stoffen bedroeg 40 gew.%) toe. Vervolgens koelde men het
mengsel onder roeren af en liet het een nacht staan. Daarna
filtreerde men het neergeslagen produkt af en droogde het.
35 Aldus verkreeg men 21 kg van een wit, poederachtig produkt,

8007043

dat een 2-chloorethylfosfonzuurgehalte van 20,2 % had.

Voorbeeld VI:

5 Het versnellen van het rijpworden van rode peper
met behulp van een complex van ethrel en cyclo-
dextrine

Het complex van ethrel en cyclodextrine kan met
succes worden toegepast voor het versnellen van het rijpworden
van rode peper ten gevolge van een langzame en langdurige
ontwikkeling van etheen. Toepassing van het complex verzekert
10 een evenwicht van de economische en biologische waarde van het
produkt tijdens het rijpworden. Wordt echter etheen voor het
versnellen van het rijpworden toegepast, dan komen de biologische
eigenschappen (kleur, kiemend vermogen) vaak in bepaalde mate
te kort. Dit ongewenste neveneffect kan worden verminderd door
15 toepassing van het nieuwe complex volgens de uitvinding,
hetgeen gepaard gaat met een toegenomen versnelling van het
rijpworden.

		kleur (pigment) gehalte %
20	3 l/ha ethrel	86
	3 l/ha van een ethrel-cyclodextrine complex	120

Een verder voordeel is dat het toepassen van de
ethrel-cyclodextrinecomplexen volgens de uitvinding een besparing
25 van het actieve bestanddeel geeft. Bovendien leidt de direkte
gunstige werking van cyclodextrine tot een toeneming van de
hoeveelheid gewassen.

Voorbeeld VII:

30 Regeling van het ontkiemen van beklede selderij-
zaden met een complex van ethrel en cyclodextrine.

Het complex kan bij voorkeur worden toegepast,
alleen of tezamen met andere regulatoren voor de plantengroei,
voor het bevorderen van de ontkieming en het toenemen van het
percentage kiemvorming van beklede selderijzaden met een geringe
35 ontkiemingskracht en eveneens voor de vorming van een gelijk-

8007043

matige plantenstand. Selderijzaden worden in een gebruikelijke dragee-pan bekleed door ze te mengen met ongeveer 0,5 % van een ethrel-cyclodextrinecomplex volgens de uitvinding. De aldus beklede zaden kunnen onder geschikte omstandigheden een aantal maanden worden opgeslagen, zonder dat later een vermindering van de etheenontwikkeling zal optreden. Een verder voordeel van het toepassen van het complex voor het bekleden van zaden is dat, ^{het} in tegenstelling tot de toepassing van ethrel bij lage pH-waarden, niet de inrichting corrodeert.

Het is uit de stand der techniek (T.H. Thomas - N. L. Biddington - D. Palevich: Improving the performance of pelleted celery seeds with growth regulator treatments, Acta Hort. Tech. Commun, ISHS., den Haag, 1978, 83:235 - 243) bekend dat het ontkiemen van selderij-zaden kan worden versneld door een gecombineerde behandeling met verschillende groei-hormonen. Deze methoden, die het gebruikelijke drenken met gibberelinezuur en ethrel gedurende 48 uren, drogen en vervolgens bekleden in een dragee-pan met zich mee te brengen, zijn lastig en tijdrovend.

Aan de andere kant maakt het gebruik van een complex volgens de uitvinding (toevoeging van het complex aan een bekledingsmateriaal, bekleden van de zaden en vervolgens ontkiemen van de beklede zaden in een oplossing van gibberelinezuur) de werkwijze veel eenvoudiger.

Voorbeeld VIII a)

Men liet selderij-zaden bekleed met een complex van Ethrel en cyclodextrine in het donker en bij 25°C ontkiemen in een 100 ppm. oplossing van gibberelinezuur in water in een Petri-schaal. Het ontkiemende vermogen en het percentage ontkieming die werden verkregen zijn opgenomen in de volgende tabel

8007043

		aantal dagen		
		8	12	20
5	onbeklede selderijzaden	-	-	-
	onbeklede selderijzaden + gibberelinezuur	60	60	60
	normale selderijdragee	-	-	-
	normale selderijdragee + gibberelinezuur	-	-	-
10	selderijdragee bekleed met een complex van ethrel en cyclodextrine	-	-	-
	selderijdragee bekleed met een complex van ethrel en cyclodextrine en behandeld met gibberelinezuur	10	20	20

Voorbeeld VIIIf)

Men droogde selderijzaden bekleed met een complex van ethrel en cyclodextrine bij 100°C in een vacuümdroogoven, waardoor de dragee 50 % van zijn gebruikelijke watergehalte verloor. De aldus behandelde dragees ontkiemen, bij 25°C en in het donker, in een petri-schaal in een 100 ppm oplossing van gibberelinezuur in water. Aldus kan het percentage ontkieming en het ontkiemende vermogen worden verbeterd.

		aantal dagen		
		8	12	20
25	ethrel-cyclodextrinedragee, zonder drogen + gibberelinezuur	10	20	20
	ethrel-cyclodextrinedragee, bij 100°C gedroogd + gibberelinezuur	10	40	40

De volgende biologische proeven werden uitgevoerd voor het bepalen van het effect van etheen uit een complex van 2-chloorethylfosfonzuur en cyclodextrine (hierna verder aangeduid als complex):

1) de endogene vorming van etheen in de plantenweefsels werd gemeten volgens de methode van Aanvraagster Tétényi, Bot. Közl. 62:2, 89-94, 1977). Men liet zaden van *Pisum sativum* L. cv (Rajna dwarf), die met waterstofperoxyde waren gedesinfekteerd, gedurende 48 uren in het donker bij

8007043

27°C ontkiemen. Voor de proef isoleerde men hypocotyden zonder zaadlobben en plaatste 10 ervan in een flesje dat een natte strook filtreerpapier en de te onderzoeken plant bevatte. Men sloot de flesjes tweemaal met rubberen dopjes en injecteerde
5 monsters van 1 ml van het gasvormige¹etheen dat in deze gesloten ruimte binnen 24 uren was gevormd rechtstreeks in een gaschromatograaf.

De metingen werden uitgevoerd in een gaschromatograaf van het Jeol 810 type uitgerust met een vlam -
10 ionisatiedetector. Men maakte gebruik van de volgende parameters: Afmeting van de kolom: diameter: 3 mm, hoogte 3 m, glas, kolom gevuld met: 10 % DEGS, Chrom W, 60/80 mesh, temperatuur: 50°C in de kolom, 130°C in het injectieblok; 100°C in de detector. Dragergas: stikstof, snelheid: 20 ml/min. Het gasvormige
15 etheen dat in de plant was ontwikkeld werd geïdentificeerd en gemeten met behulp van een etheenstandaard verkregen met een fles met behulp waarvan een ijkcurve was gemaakt.

Voor de proef gebruikte men monsters die volgens drie verschillende methoden waren voorbehandeld: De controle-
20 kiemen werden rechtstreeks, zonder enige behandeling, in de schalen gebracht (a). Andere kiemen werden in kristallen van het complex gewenteld en tezamen met het eraan gehechte materiaal in de schalen gebracht (B). Monsters van het derde type werden gevormd door de kristallen van het complex gehecht
25 aan het vochtige filtreerpapier (C).

Alleen het gasmonster genomen van de luchtruimte van de kiemen behandeld met het complexpoeder gaven een etheen-
piek (38-40 C₂H₄/10 kiemen, 24 uur). Hieruit blijkt dat uit het complex doorgedrongen in de levende weefsels, in vaste of
30 opgeloste vorm of als oplossing van het vrijgemaakte 2-chloor-ethylfosfonzuur en in de weefsels onder fysiologische omstandigheden bij een bepaalde pH-waarde etheen wordt gevormd.

2) Eén van de meest kenmerkende effecten die etheen op planten uitoefent is het afvallen van de bladeren. Hiertoe
35 werd de volgende proef uitgevoerd:

8007043

Phaseolus vulgaris L. cv. "Juliska" bonenplanten werden in een Phytobox onder standaard omstandigheden (Flar Floralux Fx fluorescent lamp, 4000 lux, fotoperiode 12 uren) gekweekt in bakjes van kunststof van 10 x 10 cm (drie planten in een bakje). Daarna werden de planten afgesneden, waarna de bladeren van het onderste gebladerte die zich op de wortels bevinden met het complex werden bestoven. Aldus bevat het oppervlak van de bladeren evenveel actief bestanddeel als er aan gehecht is. Als controle werden planten met bladeren van het onderste gebladerte gedompeld in water (niet-behandeld) of in een 2-CEPA-oplossing toegepast. Vervolgens werden de planten in de Phytobox gehouden. Na 36 uren waren alleen van de planten behandeld met het complex voor 100 % de bladeren afgevallen. De bladeren van de controleplanten waren niet afgevallen.

Uit deze gegevens blijkt dat het complex op één of andere wijze in het oppervlak van de bladeren doordringt en zichzelf in andere delen van de plant (bladstengel) uitspreidt, waarna het in de weefsels bij de pH van de cellen vrijgekomen etheen het afvallen van de bladeren veroorzaakt.

Bij de controleproef uitgevoerd met een plant gedompeld in een oplossing van 2-CEPA trad geen afvallen van bladeren op. Hieruit blijkt dat het bestuiven met een complex volgens de uitvinding tot een krachtiger effect van etheen leidt dan dat verkregen wanneer de bladeren in de oplossing worden gedompeld. (Er wordt op gewezen dat de concentratie van 10^{-2} van de toegepaste 2-CEPA-oplossing de hoogste concentratie is waarbij de weefsels van de bladeren niet worden beschadigd).

8007043

C o n c l u s i e s

1. Werkwijze voor het bereiden van een insluitings-complex, met het kenmerk, dat men een complex van 2-chloor-ethylfosfonzuur en α -, β - en/of γ -cyclodextrine bereidt.
- 5 2. Werkwijze volgens conclusie 1, met het kenmerk, dat men een complex van 2-chloorethylfosfonzuur en α -cyclodextrine dat 20-30 gew.% 2-chloorethylfosfonzuur bevat bereidt.
3. Werkwijze volgens conclusie 1, met het kenmerk, dat men een complex van 2-chloorethylfosfonzuur en β -cyclodextrine
10 dat 10-15 % 2-chloorethylfosfonzuur bevat bereidt.
4. Werkwijze volgens conclusie 1, met het kenmerk, dat men een complex van 2-chloorethylfosfonzuur en γ -cyclodextrine dat 20-30 gew.% 2-chloorethylfosfonzuur bevat, bereidt.
5. Werkwijze volgens een der voorgaande
15 conclusies, met het kenmerk, dat men een kristallijn insluitings-complex van 2-chloorethylfosfonzuur bereidt door 2-chloorethylfosfonzuur te laten reageren met α -, β - en/of γ -cyclodextrine of een mengsel van één of meer van deze cyclodextrinen en lineaire dextrinen en/of ten dele ontleed zetmeel.
- 20 6. Werkwijze volgens conclusie 5, met het kenmerk, dat men een oplossing van 2-chloorethylfosfonzuur in water toevoegt aan één of een aantal van de hiervoor genoemde cyclodextrinen of een mengsel van één of een aantal cyclodextrinen en lineaire dextrinen of een oplossing ervan in water.
- 25 7. Werkwijze volgens conclusie 5, met het kenmerk, dat men een oplossing van 2-chloorethylfosfonzuur in een mengsel van water en een organisch oplosmiddel dat met water mengbaar is aan één of een aantal van de genoemde cyclodextrinen of een mengsel van deze cyclodextrinen en lineaire dextrinen of een
30 oplossing ervan in water toevoegt.
8. Werkwijze volgens conclusie 7, met het kenmerk, dat men als oplosmiddel een lage alcohol en/of een keton gebruikt.
9. Werkwijze voor het bereiden van een preparaat
35 voor het regelen van de plantengroei, met het kenmerk, dat men

8007043

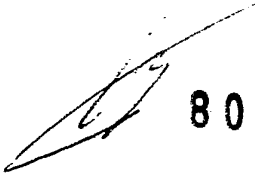
één of een aantal insluitingscomplexen volgens één der voorgaande conclusies in een voor een dergelijke toepassing geschikte toedieningsvorm brengt.

5 10. Werkwijze volgens conclusie 9, met het kenmerk, dat men als actief bestanddeel een insluitingscomplex van α -, β - en/of γ -cyclodextrine en 2-chloorethylfosfonzuur dat 10-30 gew.% 2-chloorethylfosfonzuur en water als verdunningsmiddel bevat toepast.

10 11. Werkwijze voor het regelen van de plantengroei, met het kenmerk, dat men hiervoor een preparaat volgens conclusie 9 of 10 toepast.

12. Werkwijzen als beschreven in de beschrijving en/of voorbeelden.

15 13. Gevormde preparaten, verkregen onder toepassing van een werkwijze volgens conclusie 9, 10 en 12.

 8007043