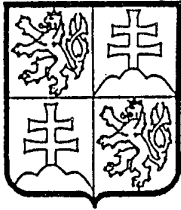


ČESKÁ A SLOVENSKÁ
FEDERATIVNÍ
REPUBLIKA
(19)

PATENTOVÝ SPIS 276 062



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

(21) Číslo přihlášky : 3477-90.I

(22) Přihlášeno : 13 07 90

(30) Prioritní data :

(40) Zveřejněno : 15 01 92

(47) Uděleno : 22 01 92

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku : 18 03 92

(13) Druh dokumentu : B6

(51) Int. Cl.⁵ :
A 01 N 47/20

(73) Majitel patentu : UNIVERZITA KOMENSKÉHO, BRATISLAVA

(72) Původce vynálezu : KRÁLOVA KATARÍNA RNDr. CSc.,
ŠERŠEŇ FRANTIŠEK ing. CSc.,
ČIŽMÁRIK JOZEF prof. RNDr. CSc., BRATISLAVA

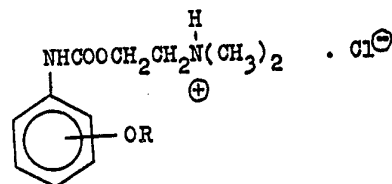
(54) Název vynálezu : Algicidny prostriedok typu dimethylaminoesterov
substituovaných kyselín alkoxyfenylkarbámových

(57) Anotace :
Algicidny prostriedok, ktorý ako účinnú
látku obsahuje zlúčeninu obecného
vzorca I

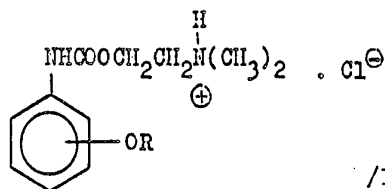
kde OR znamená alkoxy s 1 až 10 atómami
uhlíka v orto-, meta- alebo para-polohe
benzénového jadra.

Príprava týchto novosyntetizovaných
zlúčenín je popísaná v práci autorov:
Čižmárik J., Mitošinková M., Borovanský
A., Švec P.: *Pharmazie* 33, 509 /1978/.

Zlúčeniny pôsobia algicidne pri
koncentráciách $4,5 \cdot 10^{-6}$ mol.dm⁻³ a vyšších
/t.j. pri koncentráciách 1,6 mg.dm⁻³
a vyšších/.



Vynález sa týka algicídneho prostriedku, ktorý ako účinnú látku obsahuje zlúčeninu obecného vzorca I



kde OR znamená alkoxy s 1 až 10 atómami uhlíka v orto-, meta- alebo para- polohe benzénového jadra.

Údaje vzťahujúce sa na prípravu novosyntetizovaných zlúčenín podľa obecného vzorca I sú obsiahnuté v prácach autorov: Čižmárik J., Borovanský A., Švec P.: Acta Fac. Pharm. Univ. Comenianae, 29,53/1976/ a Čižmárik J., Mitošinková M., Borovanský A., Švec P.: Pharmazie 32, 509/1978/. Tieto zlúčeniny vykazujú lokálne anestetickú účinnosť.

Pri ďalšom štúdiu biologickej účinnosti zlúčenín obecného vzorca I sme zistili, že tieto výrazne inhibujú rast a syntézu chlorofylu rias.

Inhibičná účinnosť zlúčenín obecného vzorca I na riasy sa testovala stacionárnou kultiváciou synchronnej kultúry rias *Chlorella vulgaris*. Hodnotil sa nárast buniek rias, ako aj obsah syntetizovaného chlorofylu. Podrobný popis metódy hodnotenia je uvedený v príklade 1. Miera antialgálnej účinnosti zlúčenín obecného vzorca I je vyjadrená údajmi v tab. 1. Inhibičný vplyv na riasy sa sledoval u nasledujúcich zlúčenín obecného vzorca I:

- I. N-[2-(2-metoxifynylkarbamoyloxy)-etyl]-dimetylamóniumchlorid
- III. N-[2-(4-metoxifynylkarbamoyloxy)-etyl]-dimetylamóniumchlorid
- IV. N-[2-(2-etoxifynylkarbamoyloxy)-etyl]-dimetylamóniumchlorid
- V. N-[2-(3-etoxifynylkarbamoyloxy)-etyl]-dimetylamóniumchlorid
- VI. N-[2-(4-etoxifynylkarbamoyloxy)-etyl]-dimetylamóniumchlorid
- VII. N-[2-(2-propoxifynylkarbamoyloxy)-etyl]-dimetylamóniumchlorid
- VIII. N-[2-(3-propoxifynylkarbamoyloxy)-etyl]-dimetylamóniumchlorid
- IX. N-[2-(4-propoxifynylkarbamoyloxy)-etyl]-dimetylamóniumchlorid
- X. N-[2-(2-butoxifynylkarbamoyloxy)-etyl]-dimetylamóniumchlorid
- XI. N-[2-(3-butoxifynylkarbamoyloxy)-etyl]-dimetylamóniumchlorid
- XII. N-[2-(4-butoxifynylkarbamoyloxy)-etyl]-dimetylamóniumchlorid
- XIII. N-[2-(2-pentyloxyfenylkarbamoyloxy)-etyl]-dimetylamóniumchlorid
- XIV. N-[2-(3-pentyloxyfenylkarbamoyloxy)-etyl]-dimetylamóniumchlorid
- XV. N-[2-(4-pentyloxyfenylkarbamoyloxy)-etyl]-dimetylamóniumchlorid
- XVI. N-[2-(2-hexyloxyfenylkarbamoyloxy)-etyl]-dimetylamóniumchlorid
- XVII. N-[2-(3-hexyloxyfenylkarbamoyloxy)-etyl]-dimetylamóniumchlorid
- XVIII. N-[2-(4-hexyloxyfenylkarbamoyloxy)-etyl]-dimetylamóniumchlorid
- XIX. N-[2-(2-heptyloxyfenylkarbamoyloxy)-etyl]-dimetylamóniumchlorid
- XX. N-[2-(3-heptyloxyfenylkarbamoyloxy)-etyl]-dimetylamóniumchlorid
- XXI. N-[2-(4-heptyloxyfenylkarbamoyloxy)-etyl]-dimetylamóniumchlorid
- XXII. N-[2-(2-oktyloxyfenylkarbamoyloxy)-etyl]-dimetylamóniumchlorid
- XXIV. N-[2-(4-oktyloxyfenylkarbamoyloxy)-etyl]-dimetylamóniumchlorid
- XXV. N-[2-(2-nonyloxyfenylkarbamoyloxy)-etyl]-dimetylamóniumchlorid
- XXVI. N-[2-(3-nonyloxyfenylkarbamoyloxy)-etyl]-dimetylamóniumchlorid

- XXVIII. N-[2-(2-decyloxyfenyلكarbamoyloxy)-etyl]-dimetylamóniumchlorid
 XXIX. N-[2-(3-decyloxyfenyلكarbamoyloxy)-etyl]-dimetylamóniumchlorid
 XXX. N-[2-(4-decyloxyfenyلكarbamoyloxy)-etyl]-dimetylamóniumchlorid

Tabuľka 1

Inhibičná účinnosť látok obecného vzorca I na riasy *Chlorella vulgaris*

Látka	IC ₅₀ syntézy chlorofylu	MIC syntézy chlorofylu	IC ₅₀ rastu rias	10 ⁻⁶ mól.dm ⁻³
I	158,5	500,0	100,0	
III	90,8	363,0	281,8	
IV	112,2	275,4	190,5	
V	75,9	166,0	91,8	
VI	46,8	151,4	53,1	
VII	83,2	302,0	156,6	
VIII	31,6	75,9	45,7	
IX	22,9	50,0	29,5	
X	75,9	109,6	55,0	
XI	23,4	50,0	55,0	
XII	11,0	25,1	12,0	
XIII	27,5	57,5	32,7	
XIV	11,0	25,0	12,5	
XV	9,5	25,0	13,2	
XVI	13,8	46,7	24,0	
XVII	5,8	9,1	6,6	
XVIII	5,6	12,6	7,2	
XIX	6,3	7,6	7,1	
XX	2,1	4,5	2,5	
XXI	4,0	5,0	4,5	
XXII	5,9	7,6	4,4	
XXIV	5,5	11,7	5,6	
XXV	5,8	7,6	6,3	
XXVI	5,9	6,3	6,3	
XXVIII	5,3	6,3	6,3	
XXIX	4,5	33,1	10,2	
XXX	4,1	72,4	4,4	

IC₅₀ značí koncentráciu študovanej látky, pri ktorej dochádza k 50%nej inhibícii hodnotneného parametra rias vzhľadom na kontrolné vzorky

MIC značí minimálnu koncentráciu študovanej látky, pri ktorej dochádza k úplnej inhibícii hodnotneného parametra rias.

Nasledujúci príklad bližšie osvetľuje inhibičnú účinnosť zlučenín podľa vynálezu na zelené riasy.

Príklad 1

Účinnok zlúčenín podľa vynálezu na rast rias *Chlorella vulgaris* a obsah syntetizovaného chlorofylu

Riasy *Chlorella vulgaris* sa pestovali stacionárnou kultiváciou pri teplote 25 ± 1 °C, pri svetelnom režime 16 hodín svetlo - 8 hodín tma, v kultivačnom médiu podľa Šetlíka /Šetlík I.: Annual Report of Algolog Lab. for 1967, 71-140, Třeboň, 1968/. K živnému médiu sa pridával roztok študovanej zlúčeniny v destilovanej vode takej koncentrácie, aby sa získala séria kultivačných baniek s odstupňovanou koncentráciou látky a odstrupňovaným biologickým účinkom. Banky sa inokulovali presným objemom homogénnej suspenzie rias. Po 7-dennej kultivácii sa objem kultivačného média doplnil destilovanou vodou na pôvodný objem /vyrovnanie odparu vody/ a v suspendii buniek sa merala absorbančia pri 660 nm /úmerná množstvu buniek rias/ a obsah chlorofylu po jeho extrakcii dimetylformamidom z odcentrifugovaných buniek rias. Celkový obsah chlorofylu rias v kultivačnom médiu sa vyhodnotil podľa rovnice: $\text{Chl} / \mu\text{g} \cdot \text{dm}^{-3} / = 17,9 A_{647} + A_{664,5} \cdot 8,08$, kde A je absorbančia vzorky pri 647, resp. 664,5 nm v 1 cm kvete /Inskip W.P., Bloom P.R.: Plant Physiol. 77/2/, 483-5, 1985/.

Získané hodnoty týchto parametrov sa porovnávali s hodnotami parametrov kontrolných vzoriek /vyhodnotené ako % kontroly/. Na základe týchto hodnôt sa extrapoláciou vyčíslili koncentrácie študovaných zlúčenín, pri ktorých sa dosiahla 50%ná inhibícia /IC₅₀/ a v prípade hodnôt chlorofylu aj úplná inhibícia /MIC/. Z hodnôt absorbancie sa MIC nevyhodnocovala, nakoľko touto metódou sa stanovujú tiež odfarbené mŕtve bunky rias, a teda aj pri úplnej inhibícii sa namerajú určité hodnoty absorbancie.

Napríklad v prípade testovania účinku zlúčeniny XIV sa k 12 ml kultivačného média s inokulom rias pridalo 0,12 ml vodného roztoku zlúčeniny XIV nasledovných koncentrácií: $2,5 \cdot 10^{-3}$, $1,25 \cdot 10^{-3}$, $9,0 \cdot 10^{-4}$ a $7,5 \cdot 10^{-4}$ mól.dm⁻³. Skutočné koncentrácie zlúčeniny XIV v kultivačnom médiu a príslušné hodnoty inhibície rastu rias a syntézy chlorofylu, vyjadrené v % kontrolných vzoriek sú uvedené v tab. 2.

Hodnoty koncentrácie študovanej zlúčeniny, pri ktorej dochádza k 50%nej, resp. úplnej inhibícii študovaného parametra rias sa zisťuje extrapoláciou zo závislosti vyššie uvedených hodnôt % zistenej inhibície sledovaného parametra od logaritmu aplikovanej koncentrácie študovanej zlúčeniny.

Tabuľka 2

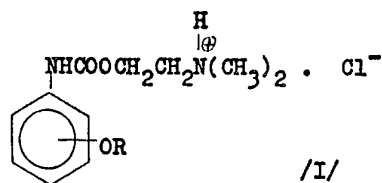
Inhibícia rastu rias a syntézy chlorofylu v prítomnosti zlúčeniny XIV

Konc. zlúč.XIV 10 ⁻⁶ mól.dm ⁻³	% kontroly $\pm \sigma$	
	Chlorofyl	Absorbančia
25,0	0	21,6 \pm 1,2
12,5	43,6 \pm 2,5	50,1 \pm 2,7
9,0	77,2 \pm 4,8	86,1 \pm 2,5
7,5	80,6 \pm 0,7	91,5 \pm 4,3

σ - smerodajná odchýlka

P A T E N T O V É N Á R O K Y

Algicídny prostriedok, vyznačený tým, že ako účinnú látku obsahuje zlúčeninu obecného vzorca I



kde OR znamená alkoxy s 1 až 10 atómami uhlíka v orto-, meta- alebo para- polohe benzénového jadra.