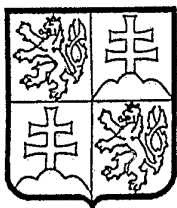


ČESKÁ A SLOVENSKÁ
FEDERATIVNÍ
REPUBLIKA
(19)



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

PATENTOVÝ SPIS 276 523

(11) Číslo dokumentu :

(21) Číslo přihlášky : 863-90. Y

(22) Přihlášeno : 23 02 90

(30) Prioritní data :

(40) Zveřejněno : 18 03 92

(47) Uděleno : 24 04 92

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku : 17 06 92

(13) Druh dokumentu : B6

(51) Int. Cl.⁵ :

C 07 D 407/06
C 07 D 417/14 //
C 07 D 417/14
C 07 D 307:58
C 07 D 307:36
C 07 D 277:66)
A 01 N 43/08

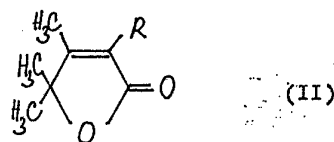
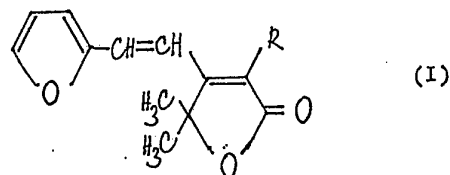
(73) Majitel patentu : UNIVERZITA KOMENSKÉHO, BRATISLAVA

(72) Původce vynálezu : MELIKJAN GAGIK SURENOVIČ doc. CSc., JEREVAN (SU),
SEKERKA VLADIMÍR prof. RNDr. DrSc.,
SUTORIS VIKTOR prof. RNDr. CSc., BRATISLAVA (CS),
AVETYSJAN AJDA AVETISOVNA prof. DrSc.,
ACHNAZARJAN ANNA ALEXANDROVNA, JEREVAN (SU)

(54) Název vynálezu : Deriváty delta 3-butenolidu
a způsob ich přípravy

(57) Anotace :

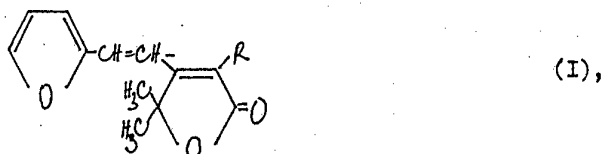
Riešenie sa týka nových látok Δ^3 -butenolidu všeobecného vzorca I, kde R znamená kyano skupinu alebo 2-benzotiazolyl. Látky všeobecného vzorca I sa pripravujú tak, že na Δ^3 -butenolid obecného vzorca II sa pôsobí furaldehydom v mólovom pomere Δ^3 -butenolid : 2-furaldehyd 1,0 : 1,1 až 1,15 za prítomnosti hydroxidov alkalickej kovov v absolútnom metanole pri teplote varu reakčnej sústavy počas 0,5 až 1 hodiny. Uvedené látky sú účinné ako regulátory rastu a induktoory morfogénnej transformácie rastlín.



Deriváty Δ^3 -butenolidu a spôsob ich prípravy

Oblasť techniky

Vynález sa týka derivátov Δ^3 -butenolidu všeobecného vzorca I



kde R znamená kyano skupinu alebo 2-benzotiazolyl a spôsob ich prípravy.

Podľa dostupných literárnych prameňov látky podľa vynálezu nie sú doteraz známe.

Podrobnejší literárny prieskum bol urobený v prácach Perjessy, A., Avetysyan, A. A., Akuzaryan, A. A., Melikyan, G. S.: Collect. Czech. Chem. Commun., Vol. 54, 1666 až 1674, 1989; Avetysyan, A. A., Melikyan, G. S., Sogomonian, S. A.: Biologičeskij žurnal Armenii, 9 až 10, 956, 1989; Avetysyan, A. A., Galstyan, A. V., Melikyan, G. S., Sogomonyan, S. A.: Biologičeskij žurnal Armenii, 11, 1006 až 1009, 1989.

Tieto práce poukazujú na rastovostimulačnú aktivitu derivátov nenasýtených funkčných skupín laktátov pri predsejbovom ošetrovaní semien cibule, paradajok a mrkvy.

Podstata vynálezu

Podstata spôsobu prípravy látok podľa vynálezu spočíva v tom, že na Δ^3 -butenolid obecného vzorca II



kde R znamená to isté ako vo vzorci I sa pôsobí 2-furaldehydom v mólovom pomere Δ^3 -butenolid : 2-furaldehyd 1,0 : 1,1 až 1,15 za prítomnosti hydroxidov alkalických kovov v absolútnom metanole pri teplote varu reakčnej sústavy počas 0,5 až 1 h.

Látky podľa vynálezu spôsobujú analogické rastové a morfológické efekty ako fytohormonálne látky IAA (kyselina 3-indolylactová) a 2,4-D (kyselina 2,4-dichlórfenylactová) v podmienkach in vivo aj in vitro.

Preukazná stimulácia elongačného rastu buniek nastala pri koncentráciách 10^{-4} až 10^{-11} mol.l⁻¹ u derivátu 3-kyano-4[2(2-furylvinyl)]-5,5-dimetyl- Δ^3 -butenolidu a pri koncentrácii 10^{-4} mol.l⁻¹ u 3-(2-benzotiazolyl)-4[2(2-furylvinyl)]-5,5-dimetyl- Δ^3 -butenolidu.

Dediferenciačnými procesmi dochádza ku kalogenéze pri koncentráciách 10^{-5} mol.l⁻¹ a k organogenéze pri koncentráciách 10^{-9} až 10^{-11} mol.l⁻¹.

Stupeň účinnosti predmetných látok závisí od použitej koncentrácie a od charakteru substituentov viazaných na jadro.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Príklad 1

K roztoku 0,05 g NaOH v 10 ml absolútneho metanolu sa pridá 1,51 g ($0,01$ mol.l⁻¹) 3-kyano-4,5,5-trimetyl- Δ^3 -butenolidu a 1,1 g ($0,011$ mol.l⁻¹) 2-furaldehydu. Reakčná zmes sa varí 1 h. Zrazenina sa odfiltruje a prekryštalizuje z etanolu. Získa sa 1,86 g (81,2 %) produktu 3-kyano-4[2(2-furylvinyl)]-5,5-dimetyl- Δ^3 -butenolidu s teplotou topenia 196 °C.

Dokázané %: C 68,35 H 5,01 N 5,99 C₁₃H₁₁H₁O₃

Vypočítané %: C 68,11 H 4,84 N 6,12

Molekulová hmotnosť 229,24

IČ spektra (CHCl₃) 1763,5 2239 1617

Obdobným spôsobom sa pripravil aj 3-(2-benzotiazolyl)-4[2(2-furylvinyl)]-5,5-dimetyl- Δ^3 -butenolid s výťažkom 75,7 %.

t. t. 201 až 202 °C

Molekulová hmotnosť 337,42

Dokázané %: C 67,48 H 4,28 N 3,85 S 9,71

Vypočítané %: C 67,63 H 4,49 N 4,15 S 9,50

IČ spektrum (CHCl₃) 1580 1590 1605 1730

Príklad 2

V sérii pokusov k testovaniu derivátov Δ^3 -butenolidu bol použitý biotest s izolovanými segmentami kliečoptíl pšenice letnej (*Triticum aestivum* L.) voľne plávajúcich v roztokoch skúmaných látok s 2% sacharózou. Predĺženie kliečoptíl v určitom rozmedzí bolo priamo úmerné koncentrácii látky.

Zrno pšenice napučalo v destilovanej vode 3 h pri teplote miestnosti a klíčilo v tme pri teplote 25 °C. Po vyklíčení z cca 20 až 25 mm dlhej kliečoptily bol vyseknutý 3 mm dlhý segment 2 mm pod vrcholom pomocou krájača segmentov pri červenom osvetlení. Kliečoptilové segmenty po 10 kusov boli umiestnené v skúmavkách v destilovanej vode 2 h, potom boli preložené do testovacích roztokov s 2% sacharózou. Aby sa predišlo zakriveniu segmentov, inkubácia prebiehala na trepačke v tme pri teplote 25 °C. Po 24 h bolo zmerané predĺženie kliečoptíl pomocou zväčšovacieho fotografického prístroja. Rozdiely v dĺžke kliečoptíl boli vyjadrené v % ku kontrole a preukaznosť bola stanovená t-testom. Roztoky boli zriedené v koncentračnej stupnici 10⁻⁵, 10⁻⁷, 10⁻⁹, 10⁻¹¹ mol.l⁻¹. Ako kontrola bol použitý 2% roztok sacharózy.

Výsledky dokumentuje priložená tabuľka č. 1.

Príklad 3

V sérii pokusov v podmienkach in vitro kalogenéza a organogenéza bola indukovaná na explantátoch klíčencov viky siatej jarnej (*Vicia sativa* L., ev. Fatima). Selektované semená približne rovnakej veľkosti a farby osemenia, boli sterilizované v 70% etanole 15 min. Na zvýšenie sterility bola použitá metóda jednorazovej ionizácie pomocou iónového generátora pri využití záporného korónového výboja (Sekerka 1984).

Sterilné semená boli vysadené v aseptickom prostredí (sterilný box Fatran LF) na pevné agarové médium (OXOID No-4 0,8 %). Semená klíčili v Petriho miskách 48 h, v tme pri 25 °C $\pm$ 1 °C. K indukcii morfogenézy a kalogenézy boli zo sterilných klíčencov izolované explantáty, ktoré boli vysadené na povrch 0,6% kultivačného média (Bacto-agar OXOID No-1) saturovaného anorganickými a organickými komponentami podľa Murashige a Skooga (1982) s prídavkami rastových regulátorov - testovaných derivátov Δ^3 -butenolidu. Kontrolné médiá obsahovali fytohormonálne látky IAA a 2,4-D.

V každom variante pokusu bolo nasadených celkom po 3násobnom opakovaní 75 exemplárov. Explantáty boli pestované v súboroch po 5 kusov v Petriho miskách pri 25 °C $\pm$ 1 °C v tme. Stupeň kalogenézy a morfogénnej účinnosti bol porovnávaný s účinnosťou IAA a 2,4-D a bol vyhodnotený na 21 deň kultivácie.

Výsledky dokumentuje priložená tabuľka č. 2.

Tabuľka č. 1

Elongačný rast koleoptíl pšenice letnej (*Triticum aestivum* L.)

mol.l ⁻¹	1		2	
	mm $\pm$ s $\bar{x}$	%	mm $\pm$ s $\bar{x}$	%
K	4,49 $\pm$ 0,094	100	5,09 $\pm$ 0,199	100
10 ⁻¹¹	5,11 $\pm$ 0,204	113,80	4,84 $\pm$ 0,099	95,08
10 ⁻⁹	4,98 $\pm$ 0,145	110,91	5,29 $\pm$ 0,200	103,92
10 ⁻⁷	4,71 $\pm$ 0,128	104,89	4,88 $\pm$ 0,098	95,87
10 ⁻⁵	4,91 $\pm$ 0,141	109,35	4,97 $\pm$ 0,147	97,64
10 ⁻⁴	5,72 $\pm$ 0,245	127,59	5,49 $\pm$ 0,215	107,85

2,4-D - max. elongačný rast 51,09 % pri koncentrácii 1.10⁻⁵ mol.l⁻¹IAA - max. elongačný rast 100,33 % pri koncentrácii 1.10⁻⁵ mol.l⁻¹1. 3-kyano-4[2(2-furylviny)]-5,5-dimetyl- Δ^3 -butenolid2. 3-(2-benzotiazolyl)-4[2(2-furylviny)]-5,5-dimetyl- Δ^3 -butenolid

Tabuľka č. 2

Kalogenéna a morfológénna účinnosť skúmaných derivátov

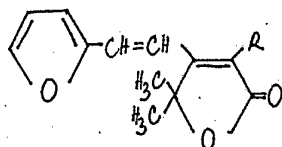
Látka	Kalogenéza	Organogenéza	Predlžovací rast	Toxicita
Kontrola	-	18,49	43,12	-
1	48,12	19,04	32,84	-
2	5,40	11,15	78,94	4,51

1. 3-kyano-4[2(2-furylviny)]-5,5-dimetyl- Δ^3 -butenolid2. 3-(2-benzotiazolyl)-4[2(2-furylviny)]-5,5-dimetyl- Δ^3 -butenolid

Priemyslová využiteľnosť

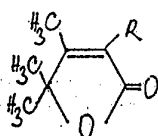
Zistené vlastnosti látok podľa vynálezu zvyrazňujú ich význam ako potenciálnych rastových a morfológenných regulátorov rastlinného organizmu a rastlinných buniek za účelom biotechnologických manipulácií.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Deriváty Δ^3 -butenolidu všeobecného vzorca I

(I),

kde R znamená kyano skupinu alebo 2-benzotiazolyl.

2. Spôsob prípravy látok všeobecného vzorca I podľa bodu 1, vyznačujúci sa tým, že na Δ^3 -butenolid obecného vzorca II

(II),

kde R znamená to isté ako v bode 1, sa pôsobí 2-furaldehydom v mólovom pomere Δ^3 -butenolid : 2-furaldehyd 1,0 : 1,1 až 1,15 za prítomnosti hydroxidov alkalických kovov v absolútnom metanole pri teplote varu reakčnej sústavy počas 0,5 až 1 hodiny.