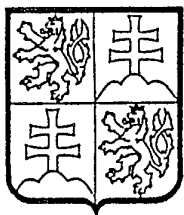


ČESKÁ A SLOVENSKÁ
FEDERATIVNÍ
REPUBLIKA
(19)



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

PATENTOVÝ SPIS 276 060

(21) Číslo přihlášky : 3475-90.E

(22) Přihlášeno : 13 07 90

(30) Prioritní data :

(13) Druh dokumentu : B6

(51) Int. Cl.⁵ :
A 01 N 47/20
A 01 N 43/40

(40) Zveřejněno : 15 01 92

(47) Uděleno : 22 01 92

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku : 18 03 92

(73) Majitel patentu : UNIVERZITA KOMENSKÉHO, BRATISLAVA

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

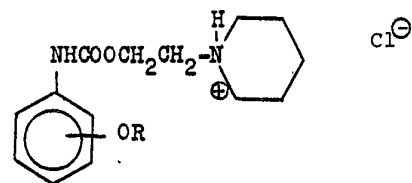
(54) Název vynálezu : Algicidny prostriedok na báze piperidínostylesterov
substituovaných kyselín alkoxyfenylkarbámových

(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.

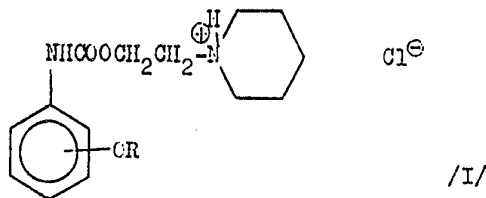
Syntéza týchto zlúčenín je predmetom ús.
autorského osvedčenia č. 169379 autorov:
Borovanský A., Čižmárik J., Beneš L.,
Lukáš A., Švec P. /1977/.

Zlúčeniny pôsobia algicidne pri
koncentráciách 7,9.10⁻⁶ mol.dm⁻³
a vyšších, t.j. pri koncentráciách
3,2 mg.dm⁻³ a vyšších/.



(I)

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.

Syntéza zlúčenín obecného vzorca I je predmetom čs. autorského osvedčenia č. 168379 autorov: Borovanský A., Čižmárik J., Beneš L., Lukáš A., Švec P. /1977/. Tieto zlúčeniny vykazujú lokálne anestetickú účinnosť /Čižmárik J., Borovanský A., Švec P.: Acta Fac. Pharm. Univ. Comenianae XXIX, 53, 1976/.

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

- XXVII. N-[2-(4-nonyloxyfenylkarbamoyloxy)-etyl]-piperidíniumchlorid
 XXVIII. N-[2-(2-decyloxyfenylkarbamoyloxy)-etyl]-piperidíniumchlorid
 XXIX. N-[2-(3-decyloxyfenylkarbamoyloxy)-etyl]-piperidíniumchlorid
 XXX. N-[2-(4-decyloxyfenylkarbamoyloxy)-etyl]-piperidíniumchlorid

Tabulka 1

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

Látka č.	IC ₅₀ syntézy chlorofylu	MIC syntézy chlorofylu	IC ₅₀ rastu rias	10 ⁻⁶ mól.dm ⁻³
I	24,5	316,0	107,2	
II	30,2	87,1	50,0	
III	21,9	57,5	32,3	
IV	20,9	100,0	42,7	
V	22,9	55,0	35,5	
VI	22,9	40,7	33,5	
VII	24,0	79,4	33,9	
VIII	10,7	39,8	15,1	
IX	11,2	20,0	14,1	
X	30,9	83,1	28,8	
XI	11,5	14,8	13,8	
XII	8,9	12,6	9,4	
XIV	5,9	11,0	7,9	
XV	9,5	13,8	10,7	
XVI	9,5	14,1	12,9	
XVII	5,8	10,8	8,3	
XVIII	5,2	8,1	5,8	
XIX	8,3	10,7	8,9	
XX	6,9	9,1	9,5	
XXII	3,5	13,2	10,2	
XXIII	6,8	11,5	10,7	
XXIV	1,8	7,9	4,4	
XXV	22,9	346,0	22,4	
XXVI	19,4	61,7	25,7	
XXVII	7,1	11,2	7,8	
XXVIII	407,0	1000	1000	
XXIX	51,3	126,0	83,2	
XXX	33,9	138	38,0	

IC₅₀ značí koncentráciu študovanej látky, pri ktorej dochádza k 50%nej inhibícii hodnoteného parametru rias vzhľadom na kontrolné vzorky.

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

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

Príklad 1

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

Riasy *Chlorella vulgaris* sa pestovali stacionárnou kultiváciou pri teplote $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 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 odstupňovaným 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 suspenzii buniek sa merala absorbancia 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: $\text{Chl/mg.dm}^{-3} = 17,9 A_{647} + 8,08 A_{664,5}$, kde A je absorbancia vzorky pri 647, resp. 664,5 nm v 1 cm kvete /Inskoop 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 / IC_{50} / 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 XIX sa k 12 ml kultivačného média s inokulom rias pridalo 0,12 ml vodného roztoku zlúčeniny XIX následovných koncentrácií: $2,0 \cdot 10^{-3}$, $1,0 \cdot 10^{-3}$, $8,0 \cdot 10^{-4}$, $5,0 \cdot 10^{-4}$ a $2,0 \cdot 10^{-4}$ mól.dm^{-3} . Skutočné koncentrácie zlúčeniny XIX 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 zisťujú extrapoláciou zo závislosti vyššie uvedených hodnôt % zistenej inhibície sledovaného parametra od logaritmu aplikovanej koncentrácie študovanej zlúčeniny.

Tabuľka 2

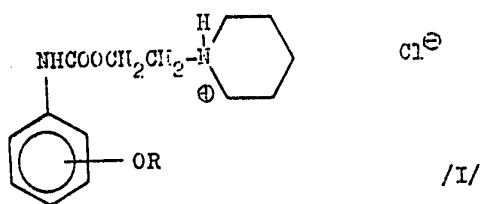
Inhibícia rastu rias a syntézy chlorofylu v prítomnosti zlúčeniny XIX

Konc. zlúč. XIX 10^{-6} mól.dm $^{-3}$	% kontroly $\pm \sigma$	
	Chlorofyl	Absorbancia
20	0	17,9 $\pm$ 0,9
10	17,6 $\pm$ 4,9	35,1 $\pm$ 4,6
8	58,7 $\pm$ 4,2	66,2 $\pm$ 4,5
5	102,2 $\pm$ 1,6	108,6 $\pm$ 1,2
2	104,0 $\pm$ 8,2	108,7 $\pm$ 1,3

 σ - smerodajná odchýlka

PATENTOVÉ NÁROKY

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.