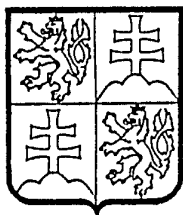


ČESKÁ A SLOVENSKÁ
FEDERATIVNÍ
REPUBLIKA
(19)



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

PATENTOVÝ SPIS 276 061

(21) Číslo přihlášky : 3476-90.G

(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

A 01 N 43/36

(73) Majitel patentu : UNIVERZITA KOMENSKÉHO, BRATISLAVA

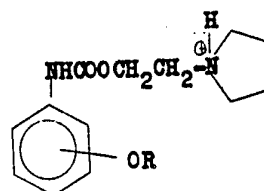
(72) Původce vynálezu : KRÁLOVÁ KATARÍNA RNDr. CSc.,
ŠERŠEN FRANTIŠEK ing. CSc.,
ČIŽMÁRIK JOZEF prof. RNDr. CSc., BRATISLAVA

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

(57) Anotace :
Algicidny prostriedok, ktorý ako účinnú
látku obsahuje zlúčeninu obecného vzorca I
kde OR znamená alkoxy s 1 až 7 atómami
uhlíka v orto-, meta- alebo para- polohe
benzénového jadra.

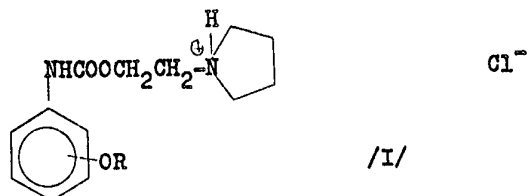
Princípy prípravy týchto novosyntetizovaných zlúčenín sú popísané v práci
autorov: Čižmárik J., Borovanský A.,
Švec P.: Acta Fac. Pharm. Univ. Comeniane,
XXIX, 53, 1976.

Zlúčeniny pôsobia algicídne pri
koncentráciách $1,45 \cdot 10^{-3}$ mol.dm⁻³ /t.j.
5,4 mg.dm⁻³ / a vyšších.



Cl⁻

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



kde OR znamená alkoxy s 1 až 7 atómami uhlíka v orto-, meta- alebo para- polohe benzénového jadra.

Princípy prípravy týchto novosyntetizovaných zlúčenín sú popísané v práci autorov 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]-pyrolidíniumchlorid
- II. N-[2-(3-metoxifynylkarbamoyloxy)-etyl]-pyrolidíniumchlorid
- III. N-[2-(4-metoxifynylkarbamoyloxy)-etyl]-pyrolidíniumchlorid
- IV. N-[2-(2-etoxifynylkarbamoyloxy)-etyl]-pyrolidíniumchlorid
- V. N-[2-(3-etoxifynylkarbamoyloxy)-etyl]-pyrolidíniumchlorid
- VI. N-[2-(4-etoxifynylkarbamoyloxy)-etyl]-pyrolidíniumchlorid
- VII. N-[2-(3-propoxifynylkarbamoyloxy)-etyl]-pyrolidíniumchlorid
- VIII. N-[2-(4-propoxifynylkarbamoyloxy)-etyl]-pyrolidíniumchlorid
- IX. N-[2-(2-butoxifynylkarbamoyloxy)-etyl]-pyrolidíniumchlorid
- X. N-[2-(3-butoxifynylkarbamoyloxy)-etyl]-pyrolidíniumchlorid
- XI. N-[2-(4-butoxifynylkarbamoyloxy)-etyl]-pyrolidíniumchlorid
- XII. N-[2-(2-pentyloxyfenylkarbamoyloxy)-etyl]-pyrolidíniumchlorid
- XIII. N-[2-(4-hexyloxyfenylkarbamoyloxy)-etyl]-pyrolidíniumchlorid
- XIV. N-[2-(2-heptyloxyfenylkarbamoyloxy)-etyl]-pyrolidíniumchlorid
- XV. N-[2-(4-heptyloxyfenylkarbamoyloxy)-etyl]-pyrolidíniumchlorid

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	49,0	234,0	91,6
II	26,9	200,0	44,6
III	15,1	57,5	21,4
IV	61,7	25,1	83,2
V	25,7	61,7	34,7
VI	22,9	50,0	29,5
VII	11,5	26,3	17,8
VIII	9,3	25,1	13,8
IX	26,9	51,3	34,7
X	13,8	25,1	27,5
XI	9,1	25,1	10,0
XII	18,6	28,2	23,4
XIII	9,3	14,5	10,0
XIV	8,7	18,2	10,0
XV	10,0	17,4	11,2

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

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

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

Príklad 1

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

Riasy *Chlorella vulgaris* sa pestovala 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 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 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:

$$\text{Chl/mg.dm}^{-3} = 17,9 A_{647} + 8,08 A_{664,5}$$

kde A je absorbančia vzorky pri 647, resp. 664,5 nm v 1 cm kvete /Inskeep 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 I sa k 12 ml kultivačného média s inokulom rias pridalo 0,12 ml vodného roztoku zlúčeniny I nasledovných koncentrácií: $2,5 \cdot 10^{-2}$, $1,0 \cdot 10^{-2}$, $5 \cdot 10^{-3}$, $2,5 \cdot 10^{-3}$ a $1 \cdot 10^{-3}$ mól.dm⁻³. Skutočné koncentrácie zlúčeniny I 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

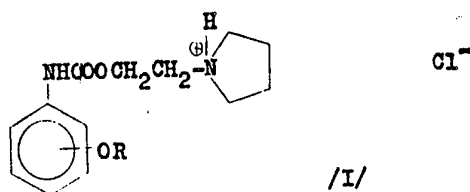
Inhibícia rastu rias a syntézy chlorofylu v prítomnosti zlúčeniny I

Konc. zlúč. I 10 ⁻⁶ mól.dm ⁻³	% kontroly $\pm \sigma$	
	Chlorofyl	Absorbancia
250	0	22,5 $\pm$ 0,9
100	29,7 $\pm$ 2,3	47,9 $\pm$ 3,1
50	47,6 $\pm$ 3,3	67,6 $\pm$ 2,8
25	73,7 $\pm$ 4,6	83,4 $\pm$ 6,2
10	92,1 $\pm$ 5,5	97,2 $\pm$ 4,1

σ - smerodatná odchýlka

PATENTOVÉ NÁROKY

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



kde OR znamená alkoxy s 1 až 7 atómami uhlíka v orto-, meta- alebo para- polohe benzénového jadra.