

RZECZPOSPOLITA  
POLSKA



Urząd Patentowy  
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL**

(11) **239074**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **430248**

(22) Data zgłoszenia: **16.06.2019**

(51) Int.Cl.

**A01N 25/02 (2006.01)**

**A01N 43/38 (2006.01)**

**A01N 59/00 (2006.01)**

**A01N 61/00 (2006.01)**

**A01P 21/00 (2006.01)**

(54) **Kompozycja poprawiająca penetrację substancji biologicznie aktywnych  
przez powierzchnie organów roślinnych**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

**28.12.2020 BUP 27/20**

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

**02.11.2021 WUP 31/21**

(73) Uprawniony z patentu:

**UNIWERSYTET ŚLĄSKI W KATOWICACH,  
Katowice, PL**

**UNIWERSYTET KAROLA W PRADZE, Praga, CZ**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**MACIEJ KAPKOWSKI, Przyrów, PL**

**MICHAŁ LUDYNIA, Częstochowa, PL**

**JAROSŁAW POLAŃSKI, Katowice, PL**

**MARZENA DZIDA, Czechowice-Dziedzice, PL**

**MAŁGORZATA RUDNICKA, Piekary Śląskie, PL**

**KATARZYNA BALIN, Siemianowice Śląskie, PL**

**MARTIN DOLEŽAL, Hradec Králové, CZ**

**PETR KASTNER, Hradec Králové, CZ**

**PL 239074 B1**

## Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest kompozycja poprawiająca penetrację substancji biologicznie aktywnych przez powierzchnie organów roślinnych.

Idea stosowania substancji wykazujących działanie pomocnicze jako środków zwiększających przenikanie przez błony biologiczne oraz wzmacniających działanie innych substancji biologicznie aktywnych jest znana już od lat 50. XX wieku. Znaczący wzrost i intensyfikacja badań w tym zakresie nastąpił w latach 80. XX wieku. Penetrant powinien dobrze rozpuszczać substancje biologicznie aktywne, przenikać przez błony biologiczne oraz być nieszkodliwy i szybko ulegać metabolizmowi. Zastosowanie penetranta jest ograniczone poprzez strukturę substancji aktywnej, której masa nie powinna przekraczać 500 g/mol, log P (lipofilowość) powinien mieścić się pomiędzy wartością 1 do 3, a temperatura topnienia nie powinna przekraczać 200°C. Obecnie znanych jest ponad 350 substancji chemicznych wzmacniających penetrację (ang. chemical penetration enhancers – CPE) przez błony biologiczne. Sklasyfikowane zostały różne grupy penetrantów z uwagi na ich strukturę chemiczną: sulfotlenki i ich pochodne, alkohole i poliole, amidy acykliczne i cykliczne, kwasy tłuszczowe i ich estry, aminy, aminokwasy i ich pochodne, terpeny, cyklodekstryny, tenzydy oraz inne związki organiczne [J. Jampilek, K. Brychtova, *Med Res Rev.* 32 (2012) 907–947].

Jedną z grup substancji charakteryzujących się działaniem penetrującym tkanki są związki o strukturze wiodącej dioksolanu (preferowane 1,3-dioaksoacyklopentany) i dioksanu (preferowane 1,3-dioaksoacykloheksany) z różnymi łańcuchami bocznymi. Przykładowo najbardziej znanym penetrantem z tej grupy jest SEPA (2-N-nonylo-1,3-dioaksoan) reprezentujący klasę związków zawierających różne podstawniki dla struktury wiodącej 1,3-dioaksoanu, gdzie podstawnik R stanowi grupy alkilowe C<sub>4</sub>–C<sub>18</sub> szczególnie preferowane C<sub>6</sub>–C<sub>12</sub>. Zakres aplikacji tych grup związków obejmuje zwiększenie wchłaniania środków terapeutycznych przez skórę ludzi i zwierząt. Jako nośnik kompozycji substancji farmaceutycznych i penetrantów zastrzeżono hydrożele o charakterze hydrofilowym lub hydrofobowym. Substancjami czynnymi opisanymi w przykładach były progesteron, indometacyna i kofeina [C.M. Samour, S. Daskalakis, *Percutaneous absorption enhancers, compositions containing same and method of use*, US4861764A, 1989]. Wysoki stopień bezpieczeństwa stosowania tych związków związany jest z niską toksycznością na Ośrodkowy Układ Nerwowy (OUN), łagodnym metabolizmem, łatwym wydalaniem oraz brakiem innych niepożądanych aktywności farmakologicznych. Te właściwości bezpieczeństwa są powodem sklasyfikowania go jako „miękkiego wzmacniacza” (ang. soft enhancer) [K.A. Walters, *Dermatological and Transdermal Formulations*, Marcel Dekker, inc. 2002, New York].

Przykładowym zastosowaniem tego typu penetrantów jest metoda leczenia zamkniętych zaskórników zakażonych *Propionibacterium acnes* poprzez podawanie kompozycji zawierającej pałeczki kwasu mlekowego otrzymywane w procesie fermentacji żyta, dialkiloizosorbidu, fosfolipidy i etoksylowanego estru kwasu tłuszczowego sorbitanu. W kompozycji obok innych penetrantów wymieniono między innymi SEPA (2-N-nonylo-1,3-dioaksoan) oraz ustalono zawartość substancji wzmacniających i/lub penetrujących w kompozycji w ilościach od 0,01–10,0% wag. Rozwiązanie dotyczy ponadto sposobu wytwarzania kompozycji, aplikatora typu roll-on zawierającego kompozycję i zastosowania kompozycji w leczeniu infekcji zamkniętych zaskórników [E.E. Brand-Garnys, *Formulation and treatment for acne*, US20170143776A1, 2017].

W innym patencie ujawniono również zastosowanie pochodnych 1,3-dioaksoanów jako środków stanowiących penetranty i substancje wzmacniające działanie substancji czynnych. Wynalazek dotyczy przezskórnego systemu terapeutycznego do stosowania na skórę i/lub błonę śluzową składającego się z co najmniej jednej substancji czynnej w postaci stałej dyspersji w połączeniu z co najmniej jednym środkiem destrukuryzującym i/lub nadającym strukturę we wspólnej matrycy. W zgłoszeniu opisano sposób przygotowywania laminatu z co najmniej jedną substancją farmaceutycznie czynną lub jej farmaceutycznie dopuszczalną solą i środkami zwiększającymi penetrację oraz sposób aplikacji wytworzonego laminatu. Środek wzmacniający penetrację posiada strukturę wiodącą 1,3-dioaksoanu, gdzie poszczególne podstawniki R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> stanowią identyczne bądź różne grupy rodników alkilowych C<sub>1</sub>–C<sub>6</sub>, natomiast podstawnik R<sub>3</sub> stanowi rodniki hydroksyalkilowe C<sub>1</sub>–C<sub>6</sub>. Rozwiązanie opisuje liczne formułacje podłoży nośnikowych dla substancji farmaceutycznych stanowiących hormony (testosteron lub estradiol) w kompozycji z dodatkiem penetrantów w ilości nie mniejszej niż 10% wag. i nie większej niż 90% wag. [M. Dittgen, S. Fricke, C. Völkel, K. Ahrens, H. Gerecke, K. Köpke, *Transdermal compositions with enhanced skin penetration properties*, US6238284B1, 2001].

W kolejnym z patentów ujawniono rozwiązanie obejmujące zastosowanie hydrofilowych penetrantów aplikowanych na płytkę paznokci z substancjami czynnymi z rodziny alliloamin poprawiającymi działanie środków przeciwgrzybiczych. Substancjami czynnymi podanymi w przykładach były chlorowodoroki terbinafiny lub naftifiny w połączeniu z co najmniej jednym z hydrofilowych środków penetrujących wybranych w szczególności spośród: glikoli, monoeterów glikolu, dieterów glikolu, dimetylosulfotlenku, kaprolaktamu, dimetyloizosorbidu, izopropylidenoglicerolu, dimetyloimidazolidynonu, mleczanu etylu, polioksyetylenowanych glicerydów C<sub>8</sub>–C<sub>10</sub>, glikolu polietylenowego (PEG-20), dimetyloacetamidu oraz wodno-alkoholowego rozpuszczalnika, z którym penetrant i substancja czynna jest co najmniej częściowo mieszalna. Kompozycję leczniczą podaje się miejscowo na płytkę paznokci w postaci lotionu lub żelu, w której stężenie substancji leczniczej wynosi 2–30%, natomiast zawartość wyżej wymienionych penetrantów wynosi 1–60% wag. dla glikoli lub 10–90% wag dla alkanoli C<sub>2</sub>–C<sub>8</sub> w stosunku do całkowitej masy preparatu [J.P. Laugier, M.F. Rude, P. Touzan, F. Rigenbach, Use of hydrophilic penetration agents in dermatological compositions for the treatment of onychomycoses, and corresponding compositions, US5814305A, 1998].

W kolejnym rozwiązaniu ujawniono zastosowanie cyklicznych acetalu lub ketali w celu poprawy przenikania środków farmaceutycznych do komórek i narządów. Jako grupę penetrantów w kompozycji z antybiotykami (fluorochinolony) i środkami przeciw pasożytniczymi (pochodne benzimidazolu) wskazano dwa spośród 4, 5 lub 6 członowych 1,3-dioksolanów w stosunku 9 : 1 o podstawnikach zawierających rodnik alkilowy, alkenylowy lub alkinyłowy, który ma 2 do 30 atomów węgla i/lub jest podstawiony jednym lub większą liczbą atomów halogenu. Opisaną kompozycję podaje się na farmaceutycznie dopuszczalnym nośniku. Jako drogi podania wskazano drogę dojelitową (doustnie, donosowo, doodbytniczo) lub pozajelitową (dożylnie, dootrzewnowo, podskórną i domięśniowo) [A. Harder, I. Heep, S. Herrmann, J.L. Grunkemeyer, J. Kalbe, H. Mehlhorn, J. Schmidt, G. Schmahl, Penetration of active substances into cells and organs, US7652071B2, 2010].

Znane jest również rozwiązanie dedykowane do leczenia grzybic paznokci, bazujące na zastosowaniu jako penetrantów mieszanin 1,3-dioksolanów o różnych strukturach i różnych kombinacjach ilościowych. W kompozycji substancje czynne stanowiły grzybobójczo skuteczne ilości wymienione z następujących grup leków: polieny, alliloaminy, imidazole, triazole, cyklopiroks, kwas undecylenowy i amorolfinę. W zastrzeżeniach zdefiniowano budowę środków wzmacniających penetrację w kompozycji, gdzie podstawniki w strukturze wiodącej 5 lub 6 członowych pierścieni podstawionych 1,3-dioksolanów i/lub 1,3-dioksanów stanowią hydrokarbylowe grupy węglowodorowe C<sub>7</sub>–C<sub>14</sub>. Kompozycja po nałożeniu na płytkę paznokci i po odparowaniu lotnego rozpuszczalnika zapewnia twardą, przezroczystą, wodoodporną błonę, z której środek przeciwgrzybiczy staje się dostępny i stopniowo uwalniany przy leczeniu lub zapobieganiu zakażeniom grzybiczym. Ponadto w kompozycji znajduje się również steroidowy środek przeciwzapalny zawierający co najmniej jeden spośród wymienionych leków: hydrokortyzonon, triamcynolon, betametazon, klobestol lub ich sole. Jako plastyfikator w kompozycji zastosowano jeden związek z grupy obejmującej glikole, estry glikoli, estry ftalanowe, estry cytrynianowe, glikole polietylenowe, glikol dipropylenowy i glikole polipropylenowe. Środek wzmagający penetrację stanowi związek wybrany z grupy obejmującej 2-N-nonylo-1,3-dioksolan, dekanal dietyloacetal i dekanal dimetyloacetal dodawany do kompozycji w ilości 0,5–35% wag. Ponadto kompozycja zawiera inne substancje pomocnicze niezbędne do przygotowania postaci leku o założonych właściwościach [C. M. Samour, S. F. Krauser, Antifungal nail lacquer and method using same, US6224887B1, 2001].

Znane jest również rozwiązanie obejmujące miejscowe stosowanie ibuprofenu w postaci kremów i emulsji z dodatkiem niewielkich ilości bądź bez obecności konwencjonalnych emulgatorów typu O/W. Poprawę transportu przezskórnego soli ibuprofenu w omawianej kompozycji osiąga się poprzez zastosowanie związku zwiększającego penetrację skóry, takiego jak 2-N-nonylo-1,3-dioksolan lub dekanal dimetyloacetal, jako oleistej fazy emulsji. W rozwiązaniu uszczegółowiono grupy penetrantów wzmacniających przenikanie ibuprofenu stanowiące głównie podstawione 1,3-dioksolany, 1,3-dioksany lub acetale posiadające łańcuch węglowodorowy C<sub>7</sub>–C<sub>14</sub>, i/lub ketony makrocykliczne i laktony, bądź ich pochodne, i/lub N-alkilolaktamy i N-alkiloazacykloheptany, i/lub estry kwasów tłuszczowych. Zawartość uprzednio wymienionych penetrantów oddzielnie lub w kompozycji określono w emulsji lub kremie w zakresie 5–10% wag. Pozostałe środki obecne w preparacie stanowiły substancje pomocnicze, na przykład emulgujące, konserwujące i zapachowe [S.F. Krauser, Ibuprofen salt emulsifiers and cream formulations containing same, US20050032900A1, 2005].

Opisano również rozwiązanie obejmujące zastosowanie środków wzmacniających penetrację skóry, stanowiących jeden lub więcej długołańcuchowych estrów (podstawniki alkilowe C<sub>8</sub>–C<sub>18</sub>): paraaminobenzoesanu, dimetyloparaaminobenzoesanu, cynamonianu, metoksycynamonianu i salicylanu. Środek penetrujący w kompozycji stanowił od 10 do 10 000% wag. w stosunku do masy substancji czynnej lub jej proleku. Substancja biologicznie aktywna w kompozycji według tego rozwiązania może być: steroidem, pochodną hormonu, niesteroidowym lekiem przeciwzapalnym, opioidowym lekiem przeciwbólowym, lekiem przeciwwymiotnym, antyestrogenem, inhibitorem aromatazy, inhibitorem 5 $\alpha$ -reduktazy, lekiem przeciwłękowym, prostaglandyną, lekiem przeciwwirusowym, czynnikiem przeciwmigrenowym, lekiem hipotensyjnym, związkami przeciwmalarycznymi, lekiem rozszerzającym oskrzela, lekiem przeciwdepresyjnym, lekiem przeciw chorobie Alzheimerera, lekiem neuroleptycznym i przeciwpsychotycznym, lekiem przeciw chorobie Parkinsona, lekiem przeciwandrogenowym lub anorektycznym. Kompozycję stanowiącą substancję fizjologicznie czynną lub jej prolek, środek zwiększający przenikanie przez skórę stanowią pojedynczą fazę, którą podaje się w postaci aerozolu lub sprayu bezpośrednio na skórę lub błony śluzowe [B.L. Reed, T.M. Morgan, B.C. Finnin, Dermal penetration enhancers and drug delivery systems involving same, US6818226B2, 2004].

Znane jest również rozwiązanie obejmujące kompozycję farmaceutyczną w postaci żelu lub roztworu do przezskórnego lub przezśluzówkowego podawania co najmniej jednej substancji czynnej. Przezskórny promotor absorpcji stanowi co najmniej jeden kwas tłuszczowy, co najmniej jeden nośnik alkoholowy, a także co najmniej jeden stabilizator niezbędny do stabilizowania kwasu tłuszczowego. Zawartość substancji czynnej w kompozycji określono w zakresie 0,01–5% wag. w odniesieniu do 100 g kompozycji farmaceutycznej. W kompozycji farmaceutycznej zawartość kwasu tłuszczowego zastrzeżono w granicach od 0,1–20% wag. w stosunku do 100 g kompozycji. Stosowanymi kwasami tłuszczowymi mogą być: kwas kapronowy, kwas laurynowy, kwas mirystynowy, kwas palmitynowy, kwas stearynowy, kwas oleinowy, kwas palmitynowy, kwas linolowy i/lub kwas linolenowy. Stabilizatory stanowią bufony o pH 4–10 i/lub estry wspomnianych kwasów tłuszczowych. Opisane kompozycje dodatkowo zawierają w składzie współrozpuszczalnik, to jest glicerol, glikol propylenowy i glikol polietylenowy oraz ich mieszaniny [B. Taravella, V. Masini-Eteve, Pharmaceutical composition for transdermal or transmucous administration, US20040175416A1, 2004].

Kolejne rozwiązanie obejmuje zastosowanie haloacetamidu (środka chwastobójczego) do antagonyzowania herbicydu, w obecności antidotalnie skutecznej ilości związków o różnorodnych strukturach jako środków zabezpieczających odpowiednich do kontrolowania chwastów w uprawach roślin, w szczególności kukurydzy. Określono również zakres stosowania dawek związków mieszczących się w przedziale 0,001–10 kg/ha lub 0,005–0,5 kg/ha w zależności od struktury stosowanego związku [J. Glock, M. Hudetz, Selective herbicidal composition, US20030224937A1, 2003]. Podobne rozwiązanie obejmuje zastosowanie selektywnej kompozycji herbicydowej do zwalczania chwastów w roślinach uprawnych. Kompozycja zawiera w składzie oprócz obojętnych nośników i adiuwantów, jako składnik czynny mieszaninę substancji czynnej N-fenylosulfonylo-N'-triazynylomocznika z różnorodnymi podstawnikami do antagonyzowania herbicydu, antidotalnie skuteczną ilością środka zabezpieczającego stanowiącego pochodną chinoliny z różnorodnymi podstawnikami [J. Glock, M. Hudetz, E. Kerber, Selective safened herbicidal composition, US5618774A, 1997].

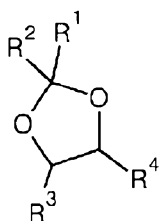
Opisano również kompozycję herbicydów posiadających właściwości regulujące wzrost roślin. W jednym z rozwiązań ujawniono różne pochodne fenylosulfonylomocznika ze specyficznymi rodnikami w pierścieniu fenylovym, które można stosować korzystnie jako herbicydy i regulatory wzrostu roślin. Struktura opisanych związków oraz mechanizm synergistycznego oddziaływania z powszechnie dostępnymi środkami ochrony roślin jest jednak inny niż objęte niniejszym zgłoszeniem patentowym kompozycje pochodnych 1,3-dioksolanów z wybranymi substancjami indukującymi i/lub hamującymi wzrost roślin i/lub solami nieorganicznymi [K. Lorenz, L. Willms, K. Bauer, H. Bieringer, Phenylsulfonylureas, Processes for their-preparation, and their use as herbicides and plant growth regulators, US5648315A, 1997].

Opisano również kompozycję zawierającą co najmniej jeden składnik grzybobójczy z grupy triazoli (cyprokonazol, epoksykonazol, metkonazol, propikonazol, tebukonazol) nośnik i/lub środek powierzchniowo czynny oraz co najmniej jedną azolopirymidynę podstawioną niezależnie od siebie grupą: alkilową C<sub>1</sub>–C<sub>6</sub>, alkilenową C<sub>3</sub>–C<sub>8</sub>, alkenylową C<sub>3</sub>–C<sub>6</sub>, fluorowcoalkilową C<sub>1</sub>–C<sub>6</sub>, atomy fluorowców i/lub atom wodoru. Rozwiązanie umożliwia sposób kontrolowania wzrostu fitopatogennych grzybów poprzez synergistyczne zastosowanie co najmniej jednej azolopirymidyny i środka grzybobójczego [H. Van Tuyt Cotter, L. May, G. Reichert, E. Sieverding, Fungicidal mixtures, US6518275B1, 2003].

Podsumowując przegląd dotychczasowego stanu techniki, w większości znanych rozwiązań nie ujawniono, aby niskocząsteczkowe cykliczne acetale (masy molowe poniżej 300 g/mol) posiadały szczególnie dobre własności poprawiające penetrację do wnętrza organów roślinnych, lecz jedynie opisano, że kompozycje wielkocząsteczkowych związków (masy molowe powyżej 500 g/mol) z dodatkiem substancji czynnych oraz kilku substancji pomocniczych (emulgatory, konserwanty, przeciwutleniacze, stabilizatory) posiadają korzystne działanie w zakresie penetracji skóry. Ponadto większość rozwiązań obejmowała zastosowanie penetrantów w postaci maści, lakierów, żeli lub kremów stosowanych miejscowo. W przywoływanych rozwiązaniach efekt penetracji tkanek zwierzęcych może stanowić również efekt addytywnej synergii oddziaływania penetrantów, substancji czynnych i substancji pomocniczych.

Celem twórców niniejszego wynalazku było opracowanie kompozycji rozpuszczalnych w wodzie, łatwo biodegradowalnych i nietoksycznych, stosowanych bezpośrednio na organy nadziemne roślin, zawierające substancje biologicznie aktywne, bez konieczności stosowania dodatkowych substancji pomocniczych w celu wzmocnienia bądź inhibicji wzrostu i rozwoju roślin.

Istotę wynalazku stanowi kompozycja poprawiająca penetrację substancji biologicznie aktywnych przez powierzchnie organów roślinnych charakteryzująca się tym, że stanowi – przygotowaną w roztworze wodnym lub buforze stabilizującym wartość pH w zakresie od 3 do 12 – mieszaninę co najmniej jednego niskocząsteczkowego 1,3-dioksolanu o wzorze ogólnym 1:



**Wzór 1**

w którym poszczególne podstawniki R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> oznaczają niezależnie od siebie atom wodoru (-H) lub grupę hydroksylową (-OH) lub grupę hydroksymetylową (-CH<sub>2</sub>OH) lub grupę alkilową (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>), z co najmniej jednym związkiem wybranym spośród:

- substancja indukująca wzrost roślin, lub
- sól nieorganiczna, lub
- niesteroidowy lek przeciwzapalny (NLPZ),

przy czym stężenie zawartości 1,3-dioksolanu wynosi od 0,00001 do 9,5% wag. w stosunku do całkowitej masy kompozycji, korzystnie  $\leq 1,0\%$  wag.

Korzystnie, substancję indukującą wzrost roślin stanowi naturalna auksyna wybrana spośród soli: kwasu indolilo-3-octowego, kwasu indolilo-3-masłowego, kwasu fenyllooctowego, indoliloacetonitrylu lub kwasu 3-indolilopirogronowego.

Korzystnie, substancję indukującą wzrost roślin stanowi syntetyczny regulator wzrostu o właściwościach zbliżonych do auksyn, wybrany spośród: kwas naftylo-1-octowy, kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy, kwas 2,4,5-trichlorofenoksyoctowy, kwas 2-metoksy-3,6-dichlorobenzoesowy lub kwas 4-amino-3,5,6-trichloropikolinowy.

Korzystnie, stężenie substancji indukującej wzrost roślin wynosi  $10^{-10}$ - $10$  mol/L w stosunku do całkowitej masy kompozycji, najkorzystniej  $10^{-4}$  mol/L.

Korzystnie, sól nieorganiczną stanowi azotan(V) lub azotan(III), lub węglan(V), lub siarczan(IV), lub siarczan(VI), lub fosforan(III), lub fosforan(V), lub chlorek(I) następujących pierwiastków: Na, Ca, K, Mg, Mo, B, Fe, Mn, Zn, Cu.

Korzystnie, stężenie soli nieorganicznej wynosi  $10^{-10}$ - $10$  mol/L, w stosunku do całkowitej masy kompozycji, najkorzystniej  $8,3 \cdot 10^{-2}$  mol/L.

Korzystnie, niesteroidowy lek przeciwzapalny stanowi pochodna kwasu propionowego, zwłaszcza naproksen lub ibuprofen, w postaci soli sodowej.

Korzystnie, niesteroidowy lek przeciwzapalny stanowi pochodna kwasu octowego, zwłaszcza diklofenak, w postaci soli sodowej.

Korzystnie, stężenie niesteroidowego leku przeciwzapalnego wynosi  $10^{-10}$ - $10$  mol/L, w stosunku do całkowitej masy kompozycji, najkorzystniej  $10^{-2}$  mol/L.

Korzystnie, bufor stabilizujący wartość pH w zakresie od 3 do 12 stanowi bufor: boranowy lub fosforanowy, lub amonowy, lub węglanowy, lub octanowy, lub cytrynianowy, lub mleczanowy, lub mrówczanowy, lub bursztynianowy, lub malonowy, lub maleinianowy, lub bis-tris, lub ADA, lub ACES, lub MOPSO, lub MOPS, lub PIPES, lub BES, lub TES, lub HEPES, lub DIPSO, lub TAPSO, lub TEA, lub POPSO, lub HEPPSO, lub TRIS, lub TAPS, lub AMPD, lub PBS, lub CHES, lub CAPSO, lub AMP, lub CAPS, lub CABS.

Idea rozwiązania polega na zastosowaniu niższych niż standardowo stężeń wyżej wymienionych grup substancji biologicznie aktywnych. Efektem końcowym stosowania kompozycji według wynalazku jest zwiększenie przenikania do organów roślinnych wielkocząsteczkowych substancji organicznych oraz soli nieorganicznych, w konsekwencji prowadzące do wzmocnienia ich działania i ograniczenia konieczności nadmiernego ich stosowania. Rozwiązanie wpisuje się w proekologiczny trend obejmujący redukcję stosowania związków chemicznych stanowiących promotory lub inhibitory wzrostu roślin oraz nawozów sztucznych, przyczyniając się do ograniczenia ich ilości w środowisku naturalnym.

Mankamentem rozwiązań znanych z dotychczasowego stanu techniki, w tym przytoczonych powyżej, jest długi czas biotransformacji i możliwość akumulacji substancji wzmacniających penetrację w tkankach. W przeciwieństwie do tego, stosowane w rozwiązaniu według niniejszego wynalazku niskocząsteczkowe cykliczne acetale ulegają szybkiej dekompozycji i wbudowaniu w szlaki metaboliczne roślin. Ostatnia cecha jest szczególnie korzystna w odniesieniu do komórek roślinnych, które dostają dodatkową porcję prostych związków organicznych przyspieszających ich wzrost i rozwój. Kolejną zaletą wynalazku – w opozycji do ujawnionych rozwiązań – jest mniejsza lipofilowość i większe powinowactwo niskocząsteczkowych cyklicznych acetali do błon biologicznych w odniesieniu do struktur o długich łańcuchach węglowodorowych. Konsekwencją tego stanu jest zwiększenie penetracji niskocząsteczkowych 1,3-dioksolanów do organów roślinnych. Ponadto niskocząsteczkowe 1,3-dioksolany mogą być stosowane w mniejszych stężeniach jako roztwory rzeczywiste, co ułatwia ich aplikację na powierzchnię zewnętrznych organów roślin w postaci aerozoli. W przeciwieństwie do opublikowanych rozwiązań wielkocząsteczkowe 1,3-dioksolany, na przykład SEPA wymagają zastosowania emulgatorów. Ponadto w żadnym ze znanych dotychczas rozwiązań nie opisano stosowania penetrantów w kompozycjach w wodzie bez substancji pomocniczych.

W patencie [A. Harder, I. Heep, S. Herrmann, J.L. Grunkemeyer, J. Kalbe, H. Mehlhorn, J. Schmidt, G. Schmahl, Penetration of active substances into cells and organs, US7652071B2, 2010] stosowano mieszaninę 5- i 6-członowych 1,3-dioksolanów, natomiast ich stężenia w kompozycji z substancjami czynnymi i pomocniczymi wynosiły powyżej 10% wag. W proponowanym rozwiązaniu według niniejszego wynalazku stosuje się korzystnie 1% wag. stężenie od 1 do 6 wyłącznie pięcioczłonowych cyklicznych acetali. Według autorów wynalazku stosowanie stężeń cyklicznych acetali w wodzie o koncentracji powyżej 9,5% wag. jest nieuzasadnione ekonomicznie. Ponadto zgłaszane kompozycje sporządza się instant przed aplikacją na powierzchnię nadziemnych organów roślinnych z bazy zawierającej wodę z korzystną zawartością wybranych cyklicznych acetali, następnie dodając jedną lub kilka substancji biologicznie aktywnych. W rozwiązaniu według niniejszego wynalazku nie zachodzi zatem konieczność stosowania substancji konserwujących ani pomocniczych, co upraszcza użytkowanie kompozycji. Należy również zauważyć, że nieoczywistym wydaje się fakt zastosowania i przewidzenia efektu działania kompozycji niskocząsteczkowych 1,3-dioksolanów jako penetrantów wzmacniających lub osłabiających działanie substancji biologicznie aktywnych indukujących wzrost lub inhibicję roślin, pomimo opisanego związków o strukturze wiodącej 1,3-dioksolanu w literaturze.

Rozwiązanie według wynalazku zostało bliżej przedstawione na poniższych przykładach oraz na rysunku, na którym fig. 1 stanowi wykres przedstawiający pomiar długości pędów kukurydzy w siódmym dniu po oprysku (wyniki zaprezentowano jako stosunek procentowy długości pędów spryskanych kompozycją od nr 2 do 8 do długości pędów roślin spryskanych mieszaniną kontrolną), a fig. 2 – wykres przedstawiający pomiar świeżej masy pędów kukurydzy w siódmym dniu po oprysku (wyniki zaprezentowano jako stosunek procentowy masy pędów spryskanych kompozycją od nr 2 do 8 do masy pędów roślin spryskanych mieszaniną kontrolną). Ponadto zalety rozwiązania według wynalazku można lepiej zrozumieć po analizie załączonych tabel z wynikami badań, przy czym w tabeli 1 przedstawiono pomiar długości części nadziemnej wraz z analizą statystyczną, analizą wariancji i testem post hoc – testem NIR (różnice istotne statystycznie oznaczono innymi literami; średnie długości podano w cm); w tabeli 2 – pomiar świeżej masy części nadziemnej wraz z analizą statystyczną, analizą wariancji i testem post hoc – testem NIR (różnice istotne statystycznie oznaczono innymi literami; średnią masę podano w gramach); w tabeli 3 – pomiar suchej masy części nadziemnej wraz z analizą statystyczną, analizą

wariancji i testem post hoc – testem NIR (różnice istotne statystycznie oznaczono innymi literami; średnią masę podano w gramach); w tabeli 4 – pomiar stężenia  $H_2O_2$  części nadziemnej wraz z analizą statystyczną, analizą wariancji i testem post hoc – testem NIR (zwiększona zawartość  $H_2O_2$  świadczy między innymi o przyspieszonym metabolizmie; pomiary wykonano spektrofotometrycznie, stężenie  $H_2O_2$  wyznaczono w oparciu o krzywą kalibracyjną; różnice statystycznie istotne oznaczono innymi literami; średnie stężenie  $H_2O_2$  podano w  $\mu\text{mol/g}$  świeżej masy; w tabeli 5 – pomiary długości, świeżej i suchej masy części nadziemnych i korzeni oraz stężenia nadtlenu wodoru i fluorescencji chlorofilu, a w liściach (procentowe zestawienie wybranych parametrów fizjologicznych kukurydzy kompozycji nr 3 w odniesieniu do prób kontrolnych nr 1 i 2 oraz kompozycji nr 6 w odniesieniu do prób kontrolnych nr 4 i 5); w tabeli 6 – procentowe zestawienie wybranych parametrów fizjologicznych kukurydzy opryskanej kompozycją nr 6 w odniesieniu do kukurydzy poddanej działaniu kompozycji nr 3 oraz prób kontrolnych 4 i 5; w tabeli 7 – koncentrację atomową pierwiastków oraz stosunek koncentracji atomowej do koncentracji atomowej azotu dla próbek znaczonej izotopowo (1i–4i) oraz próbek kontrolnych (1–4) określony techniką XPS; w tabeli 8 – koncentrację wagową pierwiastków oraz stosunek koncentracji wagowej do koncentracji wagowej azotu dla próbek znaczonej izotopowo (1i–4i) oraz próbek kontrolnych (1–4) określony techniką XPS; w tabeli 9 – porównanie masy roślin traktowanych kompozycjami z izotopami (1i–4i) oraz prób kontrolnych bez izotopów (1–4).

#### **Przykład 1.**

**Kompozycja soli potasowej auksyny IAA (indolilo-3-octan potasu) o stężeniu  $10^{-4}$  mol/L rozpuszczonej w buforze (PBS) z dodatkiem 1% obj. 2,2-dimetylo-1,3-dioksolanu (DMD).**

Roztwory stanowiące próby kontrolne:

- 1 – bufor PBS (1000 mL PBS: 8 g NaCl, 0,2 g KCl, 2,45 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ , 0,2 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , pH = 7,3),
- 2 – bufor PBS z  $10^{-4}$  mol/L soli potasowej IAA (indolilo-3-octan potasu),
- 3 – bufor PBS z 1% obj. 2,2-dimetylo-1,3-dioksolan – DMD,

Skład kompozycji według wynalazku:

- 4 – bufor PBS z  $10^{-4}$  mol/L soli potasowej IAA (indolilo-3-octan potasu) oraz 1% obj. 2,2-dimetylo-1,3-dioksolan – DMD.

Eksperymenty przeprowadzono na siewkach kukurydzy (*Zea mays* L. cv. Cosmo 230). Ziarniaki kukurydzy po dwugodzinnym moczeniu w letniej wodzie wodociągowej wysiano do kuwet wyłożonych zwilżoną ligniną i umieszczono na cztery doby w ciemności w cieplarkach utrzymujących temperaturę  $27^\circ\text{C}$ . Czterodniowe siewki przeniesiono do szklarni i umieszczono po 8 sztuk w pojemnikach o objętości 2,4 L zawierających pożywkę Hoaglanda (Taiz and Zeiger, 2010). Po trzech dniach wzrostu w szklarni w warunkach dnia długiego (16 h) i temperaturze  $22^\circ\text{C}$  siedmiodniowe siewki opryskano po raz pierwszy. Każdorazowo do opryskania 12 pojemników zawierających po 8 roślin stosowano 5 mL kompozycji 4 lub roztworów 1–3 stanowiących próby kontrolne. Następnie w pierwszym, czwartym i siódmym dniu po oprysku pobierano rośliny, dla których wykonywano pomiary długości, świeżej i suchej masy części nadziemnych. Wartości średnie wraz z analizą statystyczną zamieszczono w tabelach 1–4.

Zastosowanie kompozycji nr 4 (PBS + IAA + DMD) wpływa pozytywnie na wzrost długości części nadziemnych kukurydzy, wynik jest widoczny po 7 dniach od oprysku. Długość części nadziemnej wynosi średnio 23,14 cm i w porównaniu do próby kontrolnej nr 1 (PBS) jest większa o około 20% (Tabela 1 poz. 1–4). Pomiar świeżej masy nie wykazał istnienia różnic istotnych statystycznie pomiędzy wszystkimi próbami, choć widać, że kompozycja nr 4 zwiększa masę części nadziemnych kukurydzy o więcej niż 15% z wartości 0,58 przy próbie kontrolnej do 0,69 g (Tabela 2 poz. 1–4). Zastosowanie kompozycji nr 4 (PBS + IAA + DMD) wpływa pozytywnie na zwiększenie suchej masy części nadziemnych siewek kukurydzy, wynik jest widoczny po 7 dniach od oprysku. Uzyskana wartość suchej masy części nadziemnej roślin opryskanych kompozycją nr 4 wynosi średnio 0,069 g i w porównaniu z próbą kontrolną (PBS) jej przyrost jest większy o 71% (Tabela 3 poz. 1–4). Zastosowanie kompozycji nr 4 (PBS + IAA + DMD) wpływa pozytywnie na przyspieszenie (zwiększenie) metabolizmu badanych roślin. Różnice istotne statystycznie widoczne są już po 24 godzinach od oprysku. Przyspieszony metabolizm utrzymuje się przez cały czas eksperymentu. W siódmym dniu od oprysku przyspieszenie metabolizmu jest bliskie 68% w stosunku do próby kontrolnej. Warto również podkreślić, że dodatek 1% obj. 2,2-dimetylo-1,3-dioksolanu (DMD) w początkowym okresie wpływa na zmniejszenie ilości wytwarzanego  $H_2O_2$ , natomiast po 7 dniach od oprysku następuje wzrost wytwarzania nadtlenu wodoru do poziomów zbliżonych do używanych w wyniku stosowania kompozycji nr 4 (Tabela 4 poz. 1–4).

**Przykład 2.**

**Kompozycja soli potasowej auksyny IAA (indolilo-3-octan potasu) o stężeniu  $10^{-4}$  mol/L rozpuszczonej w buforze (PBS) z dodatkiem 1% obj. 2,2,4-trimetylo-1,3-dioksolanu (TMD).**

Roztwory stanowiące próby kontrolne:

**5** – bufor PBS (1000 mL PBS: 8 g NaCl, 0,2 g KCl, 2,45 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ , 0,2 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , pH = 7,3),

**6** – bufor PBS z  $10^{-4}$  mol/L soli potasowej IAA (indolilo-3-octan potasu),

**7** – bufor PBS z 1% obj. 2,2,4-trimetylo-1,3-dioksolan – TMD,

Skład kompozycji według wynalazku:

**8** – bufor PBS z  $10^{-4}$  mol/L soli potasowej IAA (indolilo-3-octan potasu) oraz 1% obj. 2,2,4-trimetylo-1,3-dioksolanu – TMD.

Eksperymenty przeprowadzono na siewkach kukurydzy (*Zea mays* L. cv. Cosmo 230). Ziarniki kukurydzy po dwugodzinnym moczeniu w letniej wodzie wodociągowej wysiano do kuwet wyłożonych zwilżoną ligniną i umieszczono na cztery doby w ciemności w cieplarkach utrzymujących temperaturę  $27^\circ\text{C}$ . Czterodniowe siewki przeniesiono do szklarni i umieszczono po 8 sztuk w pojemnikach o objętości 2,4 L zawierających pożywkę Hoaglanda (Taiz and Zeiger, 2010). Po trzech dniach wzrostu w szklarni w warunkach dnia długiego (16 h) i temperaturze  $22^\circ\text{C}$  siedmiodniowe siewki opryskano po raz pierwszy. Każdorazowo do opryskania 12 pojemników zawierających po 8 roślin stosowano 5 mL kompozycji **8** lub roztworów **5–7** stanowiących próby kontrolne. Następnie w pierwszym, czwartym i siódmym dniu po oprysku pobierano rośliny, dla których wykonywano pomiary długości, świeżej i suchej masy części nadziemnych. Wartości średnie wraz z analizą statystyczną zamieszczono w tabelach 1–4.

Długość części nadziemnej nie zmieniła się w sposób statystycznie istotny przy stosowaniu kompozycji nr 8 w stosunku do próby kontrolnej nr 5. Zaobserwowano słaby efekt hamujący wzrost wynoszący około 3% w stosunku do próby kontrolnej nr 5 (PBS) (Tabela 1 poz. 5–8). Pomiar świeżej masy nie wykazał istnienia różnic statystycznie istotnych pomiędzy próbami nr 5–8. Przykładowo roztwór nr 5 zmniejsza masę części nadziemnych kukurydzy o około 5% z wartości 0,56 g dla siewek roślin kontrolnych do 0,53 g dla siewek poddanych działaniu kompozycji nr 8 (Tabela 2 poz. 5–8). Zastosowane mieszaniny nie wpływają w sposób statystycznie istotny na zmiany świeżej masy organów nadziemnych siewek kukurydzy. Zaobserwowano słabe zahamowanie wzrostu w przypadku kompozycji nr 8 wynoszący około 4% w stosunku do próby kontrolnej nr 5. Oprysk kompozycją nr 8 ma negatywny wpływ na przyrosty suchej masy liści kukurydzy, zaobserwowano spadek suchej masy o 16% w odniesieniu do próby kontrolnej nr 5 (Tabela 3 poz. 5–8). Zastosowanie kompozycji nr 8 (PBS + IAA + TMD) wywołuje największe wahania stężenia  $\text{H}_2\text{O}_2$ . W czwartym dniu po oprysku następuje zmniejszenie stężenia  $\text{H}_2\text{O}_2$ , obniżając metabolizm i powodując słabe zahamowanie wzrostu roślin. Po 7 dniach od oprysku metabolizm jest wyższy od próby kontrolnej nr 5 o 15%, co mogłoby się przełożyć na późniejsze zwiększenie wzrostu siewek kukurydzy opryskiwanych tą kompozycją (Tabela 4 poz. 5–8).

**Przykład 3.**

**Kompozycja soli potasowej auksyny IAA (indolilo-3-octan potasu) o stężeniu  $10^{-4}$  mol/L rozpuszczonej w buforze (PBS) z dodatkiem 1% obj. (2,2-dimetylo-1,3-dioksolan-4-yl)metanol – DDM.**

Roztwory stanowiące próby kontrolne:

**9** – bufor PBS (1000 mL PBS: 8 g NaCl, 0,2 g KCl, 2,45 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ , 0,2 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , pH = 7,3),

**10** – bufor PBS z  $10^{-4}$  mol/L soli potasowej IAA (indolilo-3-octan potasu),

**11** – bufor PBS z 1%obj. (2,2-dimetylo-1,3-dioksolan-4-yl)metanol – DDM,

Skład kompozycji według wynalazku:

**12** – bufor PBS z  $10^{-4}$  mol/L soli potasowej IAA (indolilo-3-octan potasu) oraz 1% obj. (2,2-dimetylo-1,3-dioksolan-4-yl)metanol – DDM.

Eksperymenty przeprowadzono na siewkach kukurydzy (*Zea mays* L. cv. Cosmo 230). Ziarniki kukurydzy po dwugodzinnym moczeniu w letniej wodzie wodociągowej wysiano do kuwet wyłożonych zwilżoną ligniną i umieszczono na cztery doby w ciemności w cieplarkach utrzymujących temperaturę  $27^\circ\text{C}$ . Czterodniowe siewki przeniesiono do szklarni i umieszczono po 8 sztuk w pojemnikach o objętości 2,4 L zawierających pożywkę Hoaglanda (Taiz and Zeiger, 2010). Po trzech dniach wzrostu w szklarni w warunkach dnia długiego (16 h) i temperaturze  $22^\circ\text{C}$  siedmiodniowe siewki opryskano po raz pierwszy. Każdorazowo do opryskania 12 pojemników zawierających po 8 roślin stosowano 5 mL kompozycji **12** lub roztworów **9–11** stanowiących próby kontrolne. Następnie w pierwszym, czwartym i siódmym dniu po oprysku pobierano rośliny, dla których wykonywano pomiary długości świeżej i suchej masy części nadziemnych. Wartości średnie wraz z analizą statystyczną zamieszczono w tabelach 1–4.

Zastosowanie kompozycji nr 12 (PBS + IAA + DDM) wpływa pozytywnie na wzrost długości części nadziemnych kukurydzy, widoczny efekt obserwowano w pierwszym dniu od oprysku. Od czwartego dnia wzrost siewek kukurydzy opryskanych kompozycją nr 12 jest większy od prób kontrolnych nr 9–11. Długość części nadziemnej wynosi średnio 20,39 cm i w porównaniu do próby kontrolnej nr 9 jest większa o ponad 6% (Tabela 1 poz. 9–12). Oprysk wyżej wymienionymi mieszaninami nie wpływa w sposób statystycznie istotny na zmiany świeżej masy ważonych organów (Tabela 2 poz. 9–12) oraz na zmiany suchej masy ważonych organów (Tabela 3 poz. 9–12). Zastosowanie kompozycji nr 12 w sposób statystycznie istotny zwiększa metabolizm, co zaobserwowano od pierwszego do czwartego dnia po oprysku. Efektem jest zwiększenie długości nadziemnych organów siewek kukurydzy odpowiednio w czwartym i siódmym dniu badania. W siódmym dniu po oprysku metabolizm roślin potraktowanych kompozycją nr 12 wraca do poziomu roślin kontrolnych, co świadczy o wyczerpaniu związków czynnych zawartych w kompozycji nr 12 (Tabela 4 poz. 9–12).

#### **Przykład 4.**

**Kompozycja sztucznej auksyny 2,4-D (kwas-dichlorofenoksyoctowy) o stężeniu  $10^{-6}$  mol/L rozpuszczonej w wodnym roztworze o stężeniu 1% obj. 2,2-dimetylo-1,3-dioksolanu (DMD); trimetylo-1,3-dioksolanu (TMD); (2,2-dimetylo-1,3-dioksolan-4-yl)metanolu (DDM) w stosunku molowym odpowiednio 1 : 1 : 1 – (DMD : TMD : DDM = 1 : 1 : 1).**

Roztwory stanowiące próby kontrolne:

- 1 – woda destylowana,
- 2 – woda destylowana z  $10^{-6}$  mol/L 2,4-D (kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy),

Skład kompozycji według wynalazku:

- 3 – woda destylowana z  $10^{-6}$  mol/L 2,4-D (kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy) oraz wodny roztwór o stężeniu 1% obj.: 2,2-dimetylo-1,3-dioksolanu (DMD); 2,2,4-trimetylo-1,3-dioksolanu (TMD); (2,2-dimetylo-1,3-dioksolan-4-yl)metanolu (DDM) w stosunku molowym odpowiednio 1 : 1 : 1 – (DMD : TMD : DDM = 1 : 1 : 1).

Eksperymenty przeprowadzono na siewkach kukurydzy (*Zea mays* L. cv. Cosmo 230). Ziarniaki kukurydzy po dwugodzinnym moczeniu w letniej wodzie wodociągowej wysiano do kuwet wyłożonych zwilżoną ligniną i umieszczano na cztery doby w ciemności w cieplarkach utrzymujących temperaturę 27°C. Czterodniowe siewki przenoszono do szklarni i umieszczano po 8 sztuk w pojemnikach o objętości 2,4 L zawierających pożywkę Hoaglanda (Taiz and Zeiger, 2010). Po trzech dniach wzrostu w szklarni w warunkach dnia długiego (16 h) i temperaturze 22°C siewki opryskano po raz pierwszy kompozycją nr 3 lub roztworami kontrolnymi 1, 2. Przyjęto, że 1 ml roztworu użytego do oprysku wystarczało na jednorazowy oprysk dwóch pudełek zawierających po 8 roślin. Opryski przeprowadzono trzykrotnie: pierwszy raz gdy siewki miały 7 dni, następnie 10 dni, kolejno 13 dni. Po trzech opryskach 14-dniowe siewki zebrano i poddano analizie wybrane parametry fizjologiczne. Wartości średnie wraz z analizą statystyczną zamieszczono w tabeli 5.

Tylko trzy spośród wszystkich badanych parametrów wykazywały statystycznie istotne różnice pomiędzy kompozycją nr 3 a próbami kontrolnymi nr 1 i 2. Różnice zaobserwowano w oznaczeniu suchej masy organów nadziemnych (wzrost o 12,7% w odniesieniu do próby kontrolnej nr 1 oraz wzrost o 30% w odniesieniu do próby kontrolnej nr 2) oraz w oznaczeniu suchej masy korzeni (wzrost o 34% w odniesieniu do próby kontrolnej nr 2 i wzrost o ponad 50% w odniesieniu do próby kontrolnej nr 1). Wzrost organów siewek jest większy pomimo aktywności metabolicznej, określonej poprzez oznaczenie stężenia nadtlenku wodoru, mniejszej niż w przypadku roślin z próby kontrolnej nr 1. Zaobserwowano także wzrost następujących parametrów roślin poddanych działaniu kompozycji nr 3 w odniesieniu do roślin z próby kontrolnej nr 1:

- o 9,5% dłuższe części nadziemne,
- o 11% większa masa organów nadziemnych,
- o 5% większą wartość fluorescencji zerowej chlorofilu a roślin zaadaptowanych do ciemności,
- o 12,7% większą masę korzeni.

#### **Przykład 5.**

**Kompozycja sztucznej auksyny 2,4-D (kwas-dichlorofenoksyoctowy) o stężeniu  $10^{-6}$  mol/L rozpuszczonej w wodnym roztworze o stężeniu 1% obj. 2,2-dimetylo-1,3-dioksolanu – (DMD).**

Roztwory stanowiące próby kontrolne:

- 4 – woda destylowana,
- 5 – woda destylowana z  $10^{-6}$  mol/L 2,4-D (kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy),

Skład kompozycji według wynalazku:

**6** – woda destylowana z  $10^{-6}$  mol/L 2,4-D (kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy) oraz wodny roztwór o stężeniu 1%obj.: 2,2-dimetylo-1,3-dioksolanu – (DMD).

Eksperymenty przeprowadzono na siewkach kukurydzy (*Zea mays* L. cv. Cosmo 230). Ziarniaki kukurydzy po dwugodzinnym moczeniu w letniej wodzie wodociągowej wysiano do kuwet wyłożonych zwilżoną ligniną i umieszczano na cztery doby w ciemności w cieplarkach utrzymujących temperaturę 27°C. Czterodniowe siewki przenoszono do szklarni i umieszczano po 8 sztuk w pojemnikach o objętości 2,4 L zawierających pożywkę Hoaglanda (Taiz and Zeiger, 2010). Po trzech dniach wzrostu w szklarni w warunkach dnia długiego (16 h) i temperaturze 22°C siewki opryskano po raz pierwszy kompozycją nr **6** lub roztworami kontrolnymi **4**, **5**. Przyjęto, że 1 ml roztworu użytego do oprysku wystarczało na jednorazowy oprysk 2 pudełek zawierających po 8 roślin. Opryski przeprowadzono trzykrotnie: pierwszy raz gdy siewki miały 7 dni, następnie 10 dni, kolejno 13 dni. Po trzech opryskach 14-dniowe siewki zebrano i poddano analizie wybrane parametry fizjologiczne. Wartości średnie wraz z analizą statystyczną zamieszczono w tabeli 5.

Kompozycja nr 6 jest jedną z najlepszych w zestawieniu z próbami kontrolnymi nr 4 i 5. Stymuluje większość oznaczanych parametrów. Procentowy wzrost wybranych parametrów fizjologicznych kukurydzy dla kompozycji nr 6 w stosunku do prób kontrolnych nr 3, 4 i 5 zestawiono w tabeli 6. Kompozycja nr 6 zwiększa w sposób istotny statystycznie następujące parametry fizjologiczne roślin w stosunku do próby kontrolnej nr 4:

- długość organów nadziemnych o 11,7%,
- sucha masa organów nadziemnych o 3,2%,
- długość korzeni o 33,2%,
- świeża masa korzeni o 25,5%,
- sucha masa korzeni o 24,0%.

Zwiększeniu ulegają, ale już w sposób nieistotny statystycznie świeża masa organów nadziemnych o 2,0% oraz fluorescencja maksymalna chlorofilu a roślin zaadaptowanych do ciemności o około 20% (tabela 5 i 6). Wymienione powyżej parametry wzrastają pomimo, że metabolizm roślin, wyrażony przez stężenie  $H_2O_2$ , jest mniejszy o około 7% niż w roślinach opryskiwanych kompozycją nr 4 (tabela 5).

Porównując kompozycję nr 3 przedstawioną w przykładzie 4, z kompozycją nr 6 (tabela 6) można zauważyć, że kompozycja nr 6 wpływa na poprawę niektórych badanych parametrów. Mianowicie kompozycja nr 6 stymuluje zwiększenie następujących parametrów w stosunku do kompozycji nr 3 (tabela 6):

- długość organów nadziemnych o 2,0%,
- fluorescencję maksymalną chlorofilu a roślin zaadaptowanych do ciemności o około 20,0%,
- długość korzeni o 26,5%,
- świeżą masę korzeni o 10,1%.

Ponadto kompozycja nr 6 powoduje zmniejszenie następujących parametrów w odniesieniu do kompozycji nr 3 (tabela 6):

- świeża masa organów nadziemnych spadek o 8,1%,
- sucha masa organów nadziemnych spadek o 9,3%,
- sucha masa korzeni spadek o 3,2%.

Podsumowując kompozycja nr 6 sprzyja poprawie parametrów związanych z przyrostem roślin na długość, natomiast kompozycja nr 3 stymuluje przyrost masy organów zwłaszcza organów nadziemnych (tabela 6).

#### **Przykład 6.**

**Kompozycje 1% obj. roztworów 1,3-dioksolanów i rozpuszczonych w nich soli znaczących izotopowo  $^{13}C$  i  $^{15}N$  ( $Na_2CO_3 : NaNO_3 = 1 : 1$  molowo) o stężeniu  $8,3 \cdot 10^{-2}$  mol/L.**

Roztwory stanowiące próby kontrolne:

- 1** – roztwór wodny soli znaczących izotopowo  $^{12}C$  i  $^{14}N$  ( $Na_2CO_3 : NaNO_3 = 1 : 1$  molowo,  $C_m = 0,083$  mol/L) z dodatkiem 1% obj. roztworu (DMD : TMD = 1 : 1 molowo),
- 2** – roztwór wodny soli znaczących izotopowo  $^{12}C$  i  $^{14}N$  ( $Na_2CO_3 : NaNO_3 = 1 : 1$  molowo,  $C_m = 0,083$  mol/L) z dodatkiem 1% obj. roztworu (DDM : TMD = 1 : 1 molowo),
- 3** – roztwór wodny soli znaczących izotopowo  $^{12}C$  i  $^{14}N$  ( $Na_2CO_3 : NaNO_3 = 1 : 1$  molowo,  $C_m = 0,083$  mol/L) z dodatkiem 1% obj. roztworu (DDM : TMD : DMD = 1 : 1 : 1 molowo),
- 4** – roztwór wodny soli znaczących izotopowo  $^{12}C$  i  $^{14}N$  ( $Na_2CO_3 : NaNO_3 = 1 : 1$  molowo,  $C_m = 0,083$  mol/L) w wodzie.

Skład badanych kompozycji według wynalazku:

- 1i** – roztwór wodny soli znaczonej izotopowo  $^{13}\text{C}$  i  $^{15}\text{N}$  ( $\text{Na}_2\text{CO}_3 : \text{NaNO}_3 = 1 : 1$  molowo,  $C_m = 0,083$  mol/L) z dodatkiem 1% obj. roztworu (DMD : TMD = 1 : 1 molowo),
- 2i** – roztwór wodny soli znaczonej izotopowo  $^{13}\text{C}$  i  $^{15}\text{N}$  ( $\text{Na}_2\text{CO}_3 : \text{NaNO}_3 = 1 : 1$  molowo,  $C_m = 0,083$  mol/L) z dodatkiem 1% obj. roztworu (DDM : TMD = 1 : 1 molowo),
- 3i** – roztwór wodny soli znaczonej izotopowo  $^{13}\text{C}$  i  $^{15}\text{N}$  ( $\text{Na}_2\text{CO}_3 : \text{NaNO}_3 = 1 : 1$  molowo,  $C_m = 0,083$  mol/L) z dodatkiem 1% obj. roztworu (DDM : TMD : DMD = 1 : 1 : 1 molowo),
- 4i** – roztwór wodny soli znaczonej izotopowo  $^{13}\text{C}$  i  $^{15}\text{N}$  ( $\text{Na}_2\text{CO}_3 : \text{NaNO}_3 = 1 : 1$  molowo,  $C_m = 0,083$  mol/L) w wodzie.

Eksperymenty przeprowadzono na siewkach kukurydzy (*Zea mays* L. cv. Cosmo 230). Ziarniaki kukurydzy po dwugodzinnym moczeniu w letniej wodzie wodociągowej wysiano do kuwet wyłożonych zwilżoną ligniną i umieszczano na cztery doby w ciemności w cieplarkach utrzymujących temperaturę 27°C. Czterodniowe siewki przenoszono do szklarni i umieszczano po 8 sztuk w pojemnikach o objętości 2,4 L zawierających pożywkę Hoaglanda (Taiz and Zeiger, 2010). Po trzech dniach wzrostu w szklarni w warunkach dnia długiego (16 h) i temperaturze 22°C na liście siewek наносzono za pomocą pędzelka roztwory kontrolne lub kompozycje. Nanoszenie badanej substancji na powierzchnię liści odbywało się w sumie trzykrotnie: pierwszy raz gdy siewki miały 7 dni, następnie 10 dni, kolejne w 13 dniu. W 14 dniu uprawy rośliny zebrano i analizowano.

Po zakończeniu eksperymentu do dalszych badań odważono po 1,000 g świeżych liści kukurydzy zebranych z próbek **1–4** (kontrolne) oraz **1i–4i** (znaczone izotopowo). Odważoną masę liści roztarto w moździerzu na papkę, przeniesiono ilościowo do aparatu Soxhleta w 200 mL 99% metanolu (Avantor). Ekstrahowano przez około 2,5 godziny do zakończenia trzech pełnych cykli. Następnie zawartość kolby z ekstraktem odparowano do sucha, a pozostałość zebrano w postaci suchego zielonego proszku. Zawartość izotopów  $^{12}\text{C}$  i  $^{13}\text{C}$  oraz  $^{14}\text{N}$  i  $^{15}\text{N}$  oznaczono z wykorzystaniem spektrometru fotoelektronów wzbudzanych promieniowaniem rentgenowskim (X-Ray Photoemission Spectroscopy – XPS) PHI5700 firmy Physical Electronics. Każdą z próbek **1–4** oraz **1i–4i** naniesiono na monokrystaliczny krzem, powierzchnię próbek wygładzono wykorzystując szkiełko laboratoryjne i umieszczono w komorze próżniowej, badania realizowane były w warunkach ultrawysokiej próżni  $\sim 2 \cdot 10^{-9}$  mbar. Do badań wykorzystano monochromatyczną wiązkę promieniowania rentgenowskiego o energii 1486 eV (wykorzystano lampę rentgenowską z aluminiową anodą oraz monochromator). Na skutek oddziaływania promieniowania rentgenowskiego z badaną próbką nastąpiła emisja fotoelektronów z powierzchni badanego preparatu. Analizie poddawana była energia kinetyczna wyemitowanego z danej powłoki elektronowej fotoelektronu, a pośrednio energia wiązania. Na podstawie znajomości energii wiązania dokonano identyfikacji pierwiastków wchodzących w skład badanej próbki oraz obliczeń koncentracji atomowej i wagowej poszczególnych pierwiastków wchodzących w skład próbek (C, N, O, Na, Si, P, S, Cl). Wyniki badań zebrano w tabelach 7 i 8. Ilość azotu utrzymuje się na stosunkowo niskim, ale względnie stałym poziomie. Pozostałe pierwiastki występują w niewielkich ilościach, bliskich limitu detekcji pierwiastków techniką XPS, za wyjątkiem krzemu, którego udział procentowy jest stosunkowo duży, w tym przypadku występuje podejrzenie, że krzem pojawił się na powierzchni próbki w trakcie przygotowania próbek do pomiaru (użyto szkiełek laboratoryjnych do wygładzenia powierzchni badanych materiałów). Zaobserwowano spadek koncentracji atomowej azotu w stosunku do koncentracji atomowej węgla dla próbki nr **1** w odniesieniu do próbki nr **1i**. Dla próbek nr **2–4** w odniesieniu do analogicznych prób nr **2i–4i** obserwowano zjawisko odwrotne polegające na zmniejszeniu koncentracji atomowej azotu w stosunku do koncentracji atomowej węgla. Największą różnicę koncentracji atomowej CIs/NIs uchwyciono pomiędzy próbkami nr **4** oraz **4i**. Wyniki badań koncentracji atomowej pierwiastków zebrano w Tabeli 7. Zestawienie tych samych wyników w przeliczeniu na koncentrację atomową poszczególnych pierwiastków zebrano w tabeli 8. Dla próbek **1i** oraz **3i** zaobserwowano wzrost koncentracji wagowej atomów węgla oraz azotu w stosunku do prób kontrolnych nr **1** oraz **3**. Przykładowo stosunek wagowy węgla w próbkach **1** oraz **1i** wynosi odpowiednio 68,18 : 71,77, natomiast azotu 1,44 : 1,58. Odwrotną sytuację obserwowano dla próbek nr **2** oraz **2i** jak również **4** oraz **4i**. Przykładowo stosunek węgla w próbkach **4** oraz **4i** wynosi odpowiednio 67,07 : 64,46, natomiast azotu 1,45 : 1,14. Konkludując kompozycja nr **1i** soli znaczonej izotopowo  $^{13}\text{C}$  i  $^{15}\text{N}$  ( $\text{Na}_2\text{CO}_3 : \text{NaNO}_3 = 1 : 1$  molowo,  $C_m = 0,083$  mol/L) z dodatkiem 1% obj. roztworu (DMD : TMD = 1 : 1 molowo) powoduje zwiększenie wchłaniania przez roślinę izotopów  $^{13}\text{C}$  o ok. 5,0% oraz  $^{15}\text{N}$  o około 8,8%. Porównując kompozycję nr **1i**, z próbą kontrolną **4** oraz kompozycją nr **4i** stanowiącą roztwór wodny soli znaczonej izotopowo  $^{13}\text{C}$  i  $^{15}\text{N}$  ( $\text{Na}_2\text{CO}_3 : \text{NaNO}_3 = 1 : 1$  molowo,  $C_m = 0,083$  mol/L) w wodzie, wchłanianie izotopów  $^{13}\text{C}$  i  $^{15}\text{N}$  przez siewki kukurydzy jest obniżone odpowiednio o około 3,9%

oraz o około 21,4%. Reasumując kompozycje oznaczone nr **1i** oraz **3i** sprzyjały przyswajaniu przez roślinę atomów pierwiastków  $^{13}\text{C}$  i  $^{15}\text{N}$  z soli znaczonej izotopowo w odniesieniu do analogicznych prób kontrolnych z solami pierwiastków  $^{12}\text{C}$  i  $^{14}\text{N}$ . Ponadto na podstawie mas roślin traktowanych roztworami **1–4** oraz **1i–4i** odciętych przy koleoptylu można jednoznacznie dowieść efektu wzmocnienia lub osłabienia wzrostu dla poszczególnych kompozycji (Tabela 9). Najlepiej penetrujące mieszaniny **1i** oraz **2i** spowodowały zwiększony transport izotopów do organów roślinnych, które nie są przyswajane przez rośliny i nie mogą zostać wbudowane w ich struktury. Efektem jest niedobór tych pierwiastków i słabszy wzrost w stosunku do roślin opryskiwanych solami zawierającymi pierwiastki  $^{12}\text{C}$  i  $^{14}\text{N}$ .

#### **Przykład 7.**

**Kompozycja 1% obj. roztworu (DMD : TMD = 1 : 1 molowo) oraz soli sodowej naproksenu o stężeniu  $10^{-2}$  mol/L jako inhibitora wzrostu roślin.**

Skład kompozycji według wynalazku:

**1** – roztwór soli sodowej naproksenu z dodatkiem 1% obj. DMD : TMD = 1 : 1 molowo,

Roztwory stanowiące próby kontrolne:

**2** – roztwór soli sodowej naproksenu w wodzie,

**3** – woda.

Eksperymenty przeprowadzono na siewkach kukurydzy (*Zea mays* L. cv. Cosmo 230). Ziarniaki kukurydzy po dwugodzinnym moczeniu w letniej wodzie wodociągowej wysiano do kuwet wyłożonych zwilżoną ligniną i umieszczono na cztery doby w ciemności w cieplarkach utrzymujących temperaturę  $27^{\circ}\text{C}$ . Czterodniowe siewki przeniesiono do szklarni i umieszczano po 8 sztuk w pojemnikach o objętości 2,4 L zawierających pożywkę Hoaglanda (Taiz and Zeiger, 2010). Po trzech dniach wzrostu szklarni w warunkach dnia długiego (16 h) i temperaturze  $22^{\circ}\text{C}$  na liście siewek наносono za pomocą pędzelka badaną kompozycję nr 1 oraz w celach porównawczych roztwory kontrolne nr 2, 3.

Nanoszenie badanych substancji na powierzchnie liści odbywało się trzykrotnie: pierwszy raz gdy siewki miały 7 dni, następnie 10 dni, kolejne po 13 dniach. W 14 dniu uprawy rośliny zebrano i analizowano. Do dalszych badań odważono po 0,4577 g świeżych liści kukurydzy zebranych z próbek nr 1 lub 2. Odważoną masę liści roztarto w moździerzu na papkę, przeniesiono ilościowo do aparatu Soxhleta w 200 mL 99% metanolu (Avantor). Ekstrahowano przez około 2,5 godziny do zakończenia trzech pełnych cykli. Stężenia soli sodowej naproksenu w roztworach przed naniesieniem na liście i po ekstrakcji oznaczono chromatograficznie (HPLC), w warunkach zbliżonych dla pokrewnej substancji opisanej w Farmakopei Europejskiej wersja 9.0. Kolumna pakowana RP: Symmetry C18,  $5\ \mu\text{m}$ ,  $4,6 \times 150\ \text{mm}$  (Waters). Temperatura:  $50^{\circ}\text{C}$ . Eluent: 42 objętości acetonitrylu i 58 objętości diwodorofosforanu potasu o stężeniu 1,36 g/L o pH = 2,0 ustalonym za pomocą kwasu fosforowego. Przepływ: 1 ml/min. Detektor: spektrofotometr przy długości fali 230 nm. Nastrzyk badanych roztworów: 5  $\mu\text{l}$  dla każdej z próbek roztworów stosowanych na liście, 20  $\mu\text{l}$  dla każdego z ekstraktów z liści kukurydzy.

Niżej zaprezentowano otrzymane wyniki dla roztworów wyjściowych stosowanych do aplikacji na liście kukurydzy oraz po ekstrakcji 14-dniowych siewek. Stężenie soli sodowej naproksenu oznaczone wobec wzorca 0,1 mg/mL stosowanych na liście kukurydzy w roztworach nr 1 i 2 wynosiło:

**1** –  $0,0629 \pm 0,0008\ \text{mg/mL}$  – roztwór soli sodowej naproksenu w wodzie z zawartością 1% obj.

DMD : TMD = 1 : 1 molowo,

**2** –  $0,1472 \pm 0,0003\ \text{mg/L}$  – roztwór naproksenu w wodzie (próba kontrolna)

Stężenie soli sodowej naproksenu w liściach po ekstrakcji w aparacie Soxhleta w próbkach **1e** i **2e** odczytano z krzywej kalibracyjnej dla wzorców soli sodowej naproksenu o stężeniach odpowiednio 5, 10 i 1000 ng/mL wynosiło:

**1e** –  $27,19791 \pm 0,45712\ \text{ng/mL}$ ,

**2e** –  $17,47815 \pm 0,846142\ \text{ng/mL}$ .

Zważono masy 8 części nadziemnych roślin powyżej koleoptyla bezpośrednio po zebraniu:

**1m** – 0,4854 g,

**2m** – 0,5439 g,

**3m** – 0,7148 g.

Reasumując, efekt zahamowania wzrostu siewek kukurydzy jest szczególnie widoczny w przypadku aplikacji na powierzchnię liści kompozycji nr 1 o stężeniu soli sodowej naproksenu mniejszej niż w roztworze nr 2 (próba kontrolna), gdzie stężenie soli sodowej naproksenu jest ponad dwukrotnie większe ( $0,0629\ \text{mg/L}$  vs.  $0,1472\ \text{mg/L}$ ). Obecność cyklicznych acetalii zwłaszcza TMD – 2,2,4-trimetylo-1,3-dioksolan oraz DMD – 2,2-dimetylo-1,3-dioksolan w ilości do 1% obj. sprzyja wzmocnieniu przenikania przez błony biologiczne naproksenu sodu, którego koncentracja w liściach (**1e**) jest wyższa niż dla próby

kontrolnej z wodą i solą sodową naproksenu (**2e**). Efekt inhibicji można obserwować mierząc masy całych roślin po zakończeniu eksperymentu. Próbka nr **3m**, gdzie na liście kukurydzy aplikowano wyłącznie wodę, ma najwyższą masę podczas, gdy siewki kukurydzy oznaczone nr **1m** i **2m** są wyraźnie mniejsze.

#### **Przykład 8.**

**Kompozycja soli potasowej auksyny IAA (indolilo-3-octan potasu) o stężeniu  $10^{-4}$  mol/L rozpuszczonej w buforze (PBS) z dodatkiem 0,1–12,0% obj. 2,2-dimetylo-1,3-dioksolanu (DMD).**

Roztwór stanowiący próbę kontrolną:

**1** – bufor PBS (1000 mL PBS: 8 g NaCl, 0,2 g KCl, 2,45 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ , 0,2 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , pH = 7,3) z  $10^{-4}$  mol/L soli potasowej IAA (indolilo-3-octan potasu),

Składy kompozycji według wynalazku:

**2** – bufor PBS z  $10^{-4}$  mol/L soli potasowej IAA (indolilo-3-octan potasu) oraz 0,1% obj. 2,2-dimetylo-1,3-dioksolan – DMD.

**3** – bufor PBS z  $10^{-4}$  mol/L soli potasowej IAA (indolilo-3-octan potasu) oraz 0,5% obj. 2,2-dimetylo-1,3-dioksolan – DMD.

**4** – bufor PBS z  $10^{-4}$  mol/L soli potasowej IAA (indolilo-3-octan potasu) oraz 1,0% obj. 2,2-dimetylo-1,3-dioksolan – DMD.

**5** – bufor PBS z  $10^{-4}$  mol/L soli potasowej IAA (indolilo-3-octan potasu) oraz 3,0% obj. 2,2-dimetylo-1,3-dioksolan – DMD.

**6** – bufor PBS z  $10^{-4}$  mol/L soli potasowej IAA (indolilo-3-octan potasu) oraz 6,0% obj. 2,2-dimetylo-1,3-dioksolan – DMD.

**7** – bufor PBS z  $10^{-4}$  mol/L soli potasowej IAA (indolilo-3-octan potasu) oraz 9,0% obj. 2,2-dimetylo-1,3-dioksolan – DMD.

**8** – bufor PBS z  $10^{-4}$  mol/L soli potasowej IAA (indolilo-3-octan potasu) oraz 12,0% obj. 2,2-dimetylo-1,3-dioksolan – DMD.

Eksperymenty przeprowadzono na siewkach kukurydzy (*Zea mays* L. cv. Cosmo 230). Ziarniaki kukurydzy po dwugodzinnym moczeniu w letniej wodzie wodociągowej wysiano do kuwet wyłożonych zwilżoną ligniną i umieszczono na cztery doby w ciemności w cieplarkach utrzymujących temperaturę 27°C. Czterodniowe siewki przeniesiono do szklarni i umieszczono po 8 sztuk w pojemnikach o objętości 2,4 L zawierających pożywkę Hoaglanda (Taiz and Zeiger, 2010). Po trzech dniach wzrostu w szklarni w warunkach dnia długiego (16 h) i temperaturze 22°C siedmiodniowe siewki opryskano roztworem kontrolnym (**1**) oraz kompozycjami (**2–8**). Do opryskania jednego pojemnika zawierającego 8 roślin stosowano po 5 mL roztworu. Następnie tydzień po oprysku pobierano rośliny, dla których wykonywano pomiary świeżej masy oraz długości części nadziemnych. Wyniki zaprezentowano w postaci wykresów liniowych (Wykres – fig. 1, Wykres – fig. 2). Wykres na fig. 1 przedstawia pomiar długości pędów kukurydzy w siódmym dniu po oprysku. Wyniki zaprezentowano jako stosunek procentowy długości pędów spryskanych kompozycją od 2 do 8 do długości pędów roślin spryskanych mieszaniną kontrolną. Wykres na fig. 2 przedstawia pomiar świeżej masy pędów kukurydzy w siódmym dniu po oprysku. Wyniki zaprezentowano jako stosunek procentowy masy pędów spryskanych kompozycją od 2 do 8 do masy pędów roślin spryskanych mieszaniną kontrolną.

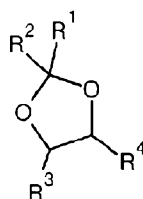
Porównano różne stężenia DMD w badanych kompozycjach (od 0,1 do 12,0% obj.) stwierdzając, że przy stężeniu od 1,0 do 6,0% obj. 1,3-dioksolanu w kompozycjach nr 4, 5 i 6, obserwowano stymulację wzrostu długości pędów kukurydzy w stosunku do próby kontrolnej (Wykres – fig. 1). Wzrost długości pędów dla kompozycji nr 4, 5 i 6 wynosi odpowiednio: 5,6%; 9%; 0,8% w odniesieniu do próby kontrolnej nr 1. Najszybszy wzrost obserwowano dla kompozycji nr 5, zawierającej 3,0% obj. DMD. W przypadku pomiarów świeżej masy pędów przyrost masy obserwowano dla kompozycji od 2 do 7 (Wykres – fig. 2). Największą stymulację przyrostu świeżej masy organów nadziemnych zaobserwowano, podobnie jak w przypadku pomiarów długości tychże organów dla kompozycji nr 5, o zawartości 3,0% obj. DMD. Z przeprowadzonych eksperymentów wynika, że stymulujące działanie DMD w kompozycjach 2–8 zawiera się w przedziale od 0,1 do ponad 9,0% obj.

Kompozycje według wynalazku mogą znaleźć zastosowanie w poprawie penetracji substancji biologicznie aktywnych przez nadziemne organy roślin. Pod pojęciem substancji biologicznie aktywnych rozumie się w szczególności: naturalne hormony roślinne (auksyny), syntetyczne regulatory wzrostu o właściwościach zbliżonych do naturalnych hormonów wzrostu (2,4-D), sole nieorganiczne (nawozy sztuczne), środki ochrony roślin (pestycydy), inhibitory lub promotory wzrostu roślin (niesteroidowe leki przeciwzapalne). Efekt poprawy penetracji poprzez zastosowanie kompozycji według wynalazku wpływa korzystnie na możliwość ograniczania lub przyspieszania szybkości wzrostu roślin. Ponadto

kompozycje według wynalazku pozwalają na znaczną poprawę transportu przez nadziemne organy roślin, co umożliwia ograniczenie nadmiernego stosowania nawozów sztucznych i pestycydów, redukując ich szkodliwe oddziaływanie na środowisko naturalne. Głównym obszarem zastosowania wynalazku jest hodowla i uprawa roślin.

### Zastrzeżenia patentowe

1. Kompozycja poprawiająca penetrację substancji biologicznie aktywnych przez powierzchnie organów roślinnych **znamienna tym**, że stanowi – przygotowaną w roztworze wodnym lub buforze stabilizującym wartość pH w zakresie od 3 do 12 – mieszaninę co najmniej jednego niskocząsteczkowego 1,3-dioksolanu o wzorze ogólnym 1:



Wzór 1

w którym poszczególne podstawniki R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> oznaczają niezależnie od siebie atom wodoru (-H) lub grupę hydroksylową (-OH) lub grupę hydroksymetylową (-CH<sub>2</sub>OH) lub grupę alkilową (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>), z co najmniej jednym związkiem wybranym spośród:

- substancja indukująca wzrost roślin, lub
- sól nieorganiczna, lub
- niesteroidowy lek przeciwzapalny (NLPZ),

przy czym stężenie zawartości 1,3-dioksolanu wynosi od 0,00001 do 9,5% wag. w stosunku do całkowitej masy kompozycji, korzystnie  $\leq 1,0\%$  wag.

2. Kompozycja według zastrz. 1, **znamienna tym**, że substancję indukującą wzrost roślin stanowi naturalna auksyna wybrana spośród soli: kwasu indolilo-3-octowego, kwasu indolilo-3-masłowego, kwasu fenilooctowego, indoliloacetonitrylu lub kwasu 3-indolilopirogronowego.
3. Kompozycja według zastrz. 1, **znamienna tym**, że substancję indukującą wzrost roślin stanowi syntetyczny regulator wzrostu o właściwościach zbliżonych do auksyn, wybrany spośród: kwas naftylo-1-octowy, kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy, kwas 2,4,5-trichlorofenoksyoctowy, kwas 2-metoksy-3,6-dichlorobenzoesowy lub kwas 4-amino-3,5,6-trichloropikolinowy.
4. Kompozycja według zastrz. od 1 do 3, **znamienna tym**, że stężenie substancji indukującej wzrost roślin wynosi  $10^{-10}$ -10 mol/L w stosunku do całkowitej masy kompozycji, korzystnie  $10^{-4}$  mol/L.
5. Kompozycja według zastrz. 1, **znamienna tym**, że sól nieorganiczną stanowi azotan(V) lub azotan(III) lub węglan(V) lub siarczan(IV) lub siarczan(VI) lub fosforan(III) lub fosforan(V) lub chlorek(I) następujących pierwiastków: Na, Ca, K, Mg, Mo, B, Fe, Mn, Zn, Cu.
6. Kompozycja według zastrz. 1 lub 5, **znamienna tym**, że stężenie soli nieorganicznej wynosi  $10^{-10}$ -10 mol/L w stosunku do całkowitej masy kompozycji, korzystnie  $8,3 \cdot 10^{-2}$  mol/L.
7. Kompozycja według zastrz. 1, **znamienna tym**, że niesteroidowy lek przeciwzapalny stanowi pochodna kwasu propionowego, zwłaszcza naproksen lub ibuprofen, w postaci soli sodowej.
8. Kompozycja według zastrz. 1, **znamienna tym**, że niesteroidowy lek przeciwzapalny stanowi pochodna kwasu octowego, zwłaszcza diklofenak, w postaci soli sodowej.
9. Kompozycja według zastrz. 1 lub 7, lub 8, **znamienna tym**, że stężenie niesteroidowego leku przeciwzapalnego wynosi  $10^{-10}$ -10 mol/L w stosunku do całkowitej masy kompozycji, korzystnie  $10^{-2}$  mol/L.
10. Kompozycja według zastrz. 1, **znamienna tym**, że bufor stabilizujący wartość pH w zakresie od 3 do 12 stanowi bufor: boranowy lub fosforanowy, lub amonowy, lub węglanowy, lub octanowy, lub cytrynianowy, lub mleczanowy, lub mrówczanowy, lub bursztynianowy, lub malonowy, lub maleinianowy, lub bis-tris, lub ADA, lub ACES, lub MOPSO, lub MOPS, lub PIPES, lub BES, lub TES, lub HEPES, lub DIPSO, lub TAPSO, lub TEA, lub POPSO, lub HEPPSO, lub TRIS, lub TAPS, lub AMPD, lub PBS, lub CHES, lub CAPSO, lub AMP, lub CAPS, lub CABS.

## Rysunki

Tabela 1.

Lp.	Czas po oprysku / wariant eksperymentu	Pomiar długości części nadziemnych (mezokotyl + liście)		
		24 h	96 h	168 h
1	PBS	9,89 (a)	13,53 (a)	19,19 (a)
2	PBS + IAA	9,33 (a)	12,19 (a)	19,86 (a)
3	PBS + DMD	9,48 (a)	11,50 (a)	20,76 (a)
4	PBS + IAA + DMD	10,00 (a)	13,20 (a)	23,14 (b)
5	PBS	9,89 (a)	13,53 (a)	19,19 (a)
6	PBS + IAA	9,33 (a)	12,19 (a)	19,86 (a)
7	PBS + TMD	9,64 (a)	13,19 (a)	16,77 (a)
8	PBS + IAA + TMD	9,91 (a)	13,26 (a)	18,63 (a)
9	PBS	9,89 (a)	13,53 (a)	19,19 (a)
10	PBS + IAA	9,33 (a)	12,19 (a)	19,86 (a)
11	PBS + DDM	9,01 (a)	12,50 (a)	17,49 (a)
12	PBS + IAA + DDM	10,40 (a)	16,29 (b)	20,39 (b)

Tabela 2.

Lp.	Czas po oprysku / wariant eksperymentu	Pomiar świeżej masy części nadziemnych (mezokotyl + liście)		
		24 h	96 h	168 h
1	PBS	0,26 (a)	0,39 (a)	0,58 (a)
2	PBS + IAA	0,24 (a)	0,36 (a)	0,52 (a)
3	PBS + DMD	0,23 (a)	0,40 (a)	0,64 (a)
4	PBS + IAA + DMD	0,22 (a)	0,33 (a)	0,69 (a)
5	PBS	0,26 (a)	0,40 (a)	0,56 (a)
6	PBS + IAA	0,24 (a)	0,36 (a)	0,52 (a)
7	PBS + TMD	0,29 (a)	0,34 (a)	0,44 (a)
8	PBS + IAA + TMD	0,28 (a)	0,34 (a)	0,53 (a)
9	PBS	0,26 (a)	0,40 (a)	0,58 (a)
10	PBS + IAA	0,24 (a)	0,36 (a)	0,52 (a)
11	PBS + DDM	0,27 (a)	0,35 (a)	0,53 (a)
12	PBS + IAA + DDM	0,31 (a)	0,45 (a)	0,56 (a)

Tabela 3.

Lp.	Czas po oprysku / wariant eksperymentu	Pomiar suchej masy części nadziemnych (mezokotyl + liście)		
		24 h	96 h	168 h
1	PBS	0,021 (a)	0,030 (a)	0,049 (a)
2	PBS + IAA	0,020 (a)	0,028 (a)	0,045 (a)
3	PBS + DMD	0,020 (a)	0,027 (a)	0,049 (a)
4	PBS + IAA + DMD	0,018 (a)	0,027 (a)	0,069 (a)
5	PBS	0,021 (a)	0,031 (a)	0,049 (a)
6	PBS + IAA	0,020 (a)	0,028 (a)	0,045 (a)
7	PBS + TMD	0,023 (a)	0,030 (a)	0,041 (a)
8	PBS + IAA + TMD	0,020 (a)	0,027 (a)	0,047 (a)
9	PBS	0,021 (a)	0,031 (a)	0,049 (a)
10	PBS + IAA	0,020 (a)	0,028 (a)	0,045 (a)
11	PBS + DDM	0,018 (a)	0,029 (a)	0,046 (a)
12	PBS + IAA + DDM	0,025 (a)	0,039 (a)	0,048 (a)

Tabela 4.

Lp.	Czas po oprysku / wariant eksperymentu	Stężenie H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> w nadziemnych częściach siewek (mezokotyl + liście)		
		24 h	96 h	168 h
1	PBS	6,31 (a)	6,38 (b)	6,47 (a)
2	PBS + IAA	6,32 (a)	6,27 (b)	8,02 (b)
3	PBS + DMD	5,82 (a)	5,75 (a)	9,31 (c)
4	PBS + IAA + DMD	7,08 (b)	7,06 (c)	9,46 (c)
5	PBS	6,31 (a)	6,38 (b)	6,47 (a)
6	PBS + IAA	6,32 (a)	6,27 (b)	8,02 (b)
7	PBS + TMD	6,60 (a)	5,76 (a i b)	5,89 (a)
8	PBS + IAA + TMD	6,05 (a)	4,84 (a)	7,47 (b)
9	PBS	6,31 (a)	6,38 (a)	6,47 (a)
10	PBS + IAA	6,32 (a)	6,28 (a)	8,02 (c)
11	PBS + DDM	7,43 (b)	7,15 (b)	7,11 (b)
12	PBS + IAA + DDM	6,90 (b)	7,31 (b)	6,10 (a)

Tabela 5.

Lp.	Wariant eksperymentu / oznaczany parametr	Nr kompozycji / próby kontrolnej					
		1	2	3	4	5	6
1	długość organów nadziemnych [cm]	20,88 (a)	19,20 (a)	22,87 (a)	20,88 (a)	19,20 (a)	23,32 (b)
2	świeża masa organów nadziemnych [g]	0,99 (a)	0,88 (a)	1,10 (a)	0,99 (a)	0,88 (a)	1,01 (a)
3	sucha masa organów nadziemnych [g]	0,094 (a)	0,072 (a)	0,106 (b)	0,094 (a)	0,072 (a)	0,097 (b)
4	stężenie H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> [μmol/g świeżej masy]	14,61 (b)	8,32 (a)	10,37 (a)	14,61 (b)	8,32 (a)	12,63 (a)
5	F <sub>0</sub> fluorescencja zerowa chlorofilu a	2,91 (a)	2,55 (a)	3,06 (a)	2,91 (a)	2,55 (a)	2,69 (a)
6	F <sub>M</sub> fluorescencja maksymalna chlorofilu a	0,50 (a)	0,59 (a)	0,48 (a)	0,50 (a)	0,59 (a)	0,60 (a)
7	długość korzeni [cm]	14,75 (a)	15,07 (a)	14,45 (a)	14,75 (a)	15,07 (a)	19,65 (b)
8	świeża masa korzeni [g]	0,55 (a)	0,46 (a)	0,62 (a)	0,55 (a)	0,46 (a)	0,69 (b)
9	sucha masa korzeni [g]	0,025 (a)	0,021 (a)	0,032 (b)	0,025 (a)	0,021 (a)	0,031 (b)

Tabela 6.

Lp.	Parametr	Wzrost kukurydzy opryskanej kompozycją nr 6 w stosunku do		
		Kompozycji 3	Próby kontrolnej 4	Próby kontrolnej 5
1	długość organów nadziemnych [cm]	1,9 %	11,7 %	21,5 %
2	świeża masa organów nadziemnych [g]	-8,1 %	2,0 %	14,8 %
3	sucha masa organów nadziemnych [g]	-9,3 %	3,2 %	34,7 %
4	F <sub>M</sub> fluorescencja maksymalna chlorofilu a	20,0 %	20,0 %	1,7 %
5	długość korzeni [cm]	26,5 %	33,2 %	30,4 %
6	świeża masa korzeni [g]	10,1 %	25,5 %	50,0 %
7	sucha masa korzeni [g]	-3,2 %	24,0 %	47,6 %

Tabela 7.

Koncentracja atomowa [%at.]								
Próbka	C1s	N1s	O1s	Na1s	Si2p	P2p	S2p	Cl2p
1	75,73	1,37	19,84	0,24	2,07	0,39	0,11	0,24
1i	78,08	1,47	18,87	0,25	0,70	0,28	0,07	0,28
2	81,28	1,37	13,96	0,35	2,28	0,44	0,06	0,26
2i	78,93	1,28	17,17	0,15	1,77	0,46	0,14	0,11
3	75,77	1,45	17,26	0,19	4,28	0,36	0,52	0,17
3i	78,02	1,45	17,25	0,22	2,31	0,48	0,17	0,1
4	75,39	1,4	19,02	0,29	2,89	0,47	0,21	0,32
4i	74,65	1,13	16,84	0,09	6,68	0,3	0,21	0,09
Koncentracja atomowa danego pierwiastka / koncentracja atomowa azotu								
Próbka	C1s /N1s	N1s /N1s	O1s /N1s	Na1s /N1s	Si2p /N1s	P2p /N1s	S2p /N1s	Cl2p /N1s
1	55,28	1,00	14,48	0,18	1,51	0,28	0,08	0,18
1i	53,12	1,00	12,84	0,17	0,48	0,19	0,05	0,19
2	59,33	1,00	10,19	0,26	1,66	0,32	0,04	0,19
2i	61,66	1,00	13,41	0,12	1,38	0,36	0,11	0,09
3	52,26	1,00	11,90	0,13	2,95	0,25	0,36	0,12
3i	53,81	1,00	11,90	0,15	1,59	0,33	0,12	0,07
4	53,85	1,00	13,59	0,21	2,06	0,34	0,15	0,23
4i	66,06	1,00	14,90	0,08	5,91	0,27	0,19	0,08

Tabela 8.

Koncentracja wagowa [%wag.]								
Próbka	C1s	N1s	O1s	Na1s	Si2p	P2p	S2p	Cl2p
1	68,18	1,44	23,8	0,41	4,36	0,91	0,27	0,64
1i	71,77	1,58	23,11	0,44	1,5	0,67	0,17	0,77
2	74,19	1,46	16,98	0,61	4,88	1,03	0,15	0,71
2i	72,03	1,36	20,88	0,26	3,78	1,08	0,34	0,28
3	66,67	1,49	20,22	0,32	8,81	0,83	1,23	0,44
3i	70,61	1,53	20,79	0,38	4,9	1,12	0,41	0,27
4	67,07	1,45	22,54	0,49	6,02	1,08	0,51	0,83
4i	64,46	1,14	19,37	0,15	13,49	0,68	0,48	0,23
Stosunek koncentracji wagowych danego pierwiastka do koncentracji azotu								
Próbka	C1s /N1s	N1s /N1s	O1s /N1s	Na1s /N1s	Si2p /N1s	P2p /N1s	S2p /N1s	Cl2p /N1s
1	47,35	1,00	16,53	0,28	3,03	0,63	0,19	0,44
1i	45,42	1,00	14,63	0,28	0,95	0,42	0,11	0,49
2	50,82	1,00	11,63	0,42	3,34	0,71	0,10	0,49
2i	52,96	1,00	15,35	0,19	2,78	0,79	0,25	0,21
3	44,74	1,00	13,57	0,21	5,91	0,56	0,83	0,30
3i	46,15	1,00	13,59	0,25	3,20	0,73	0,27	0,18
4	46,26	1,00	15,54	0,34	4,15	0,74	0,35	0,57
4i	56,54	1,00	16,99	0,13	11,83	0,60	0,42	0,20

Tabela 9

Masa liści pochodzących z 6 roślin [g]				przyrost masy roślin z izotopami [%]
bez izotopów		z izotopami		
1	3,2365	1i	2,8704	-12,75
2	2,9764	2i	2,5345	-17,44
3	2,7523	3i	3,2119	14,31
4	2,8926	4i	3,4913	17,15

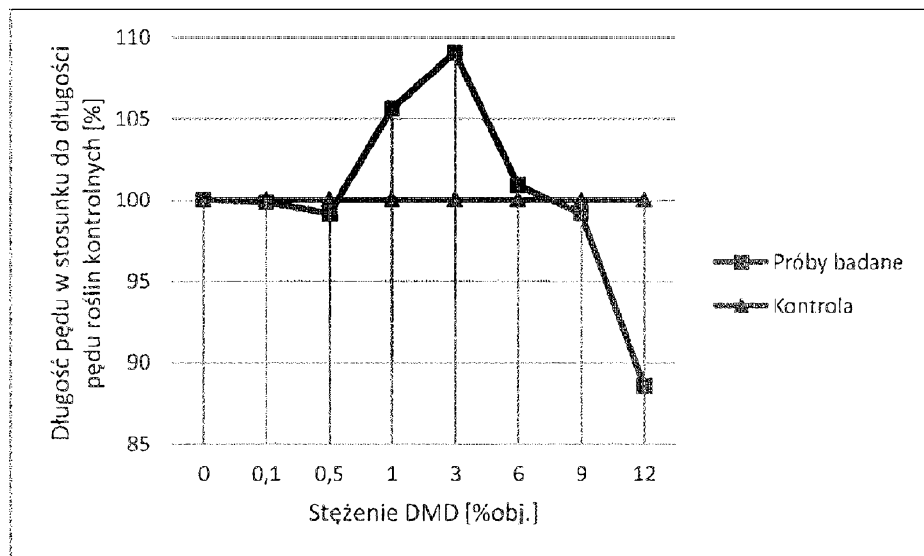


Fig. 1

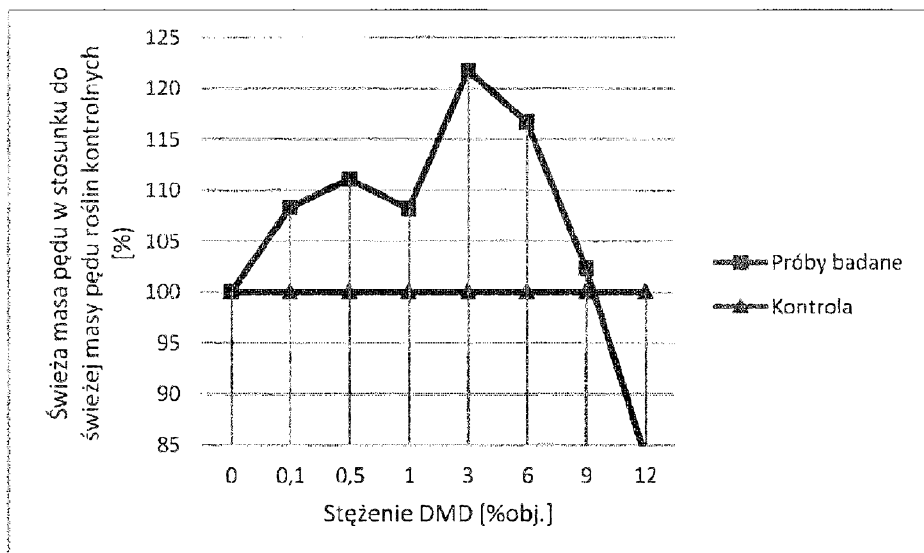


Fig. 2