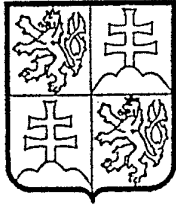


ČESKÁ A SLOVENSKÁ
FEDERATIVNÍ
REPUBLIKA
(19)



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

PATENTOVÝ SPIS 276 186

(21) Číslo přihlášky : 2340-90.C

(22) Přihlášeno : 14 05 90

(30) Prioritní data :

(40) Zveřejněno : 15 04 92

(47) Uděleno : 21 02 92

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku : 15 04 92

(13) Druh dokumentu : B6

(51) Int. Cl.⁵ :

A 01 N 47/20

A 01 N 43/40

(73) Majitel patentu : UNIVERZITA KOMENSKÉHO, BRATISLAVA

(72) Původce vynálezu : KRÁLOVÁ KATARÍNA RNDr. CSc.,
ŠERŠEŇ FRANTIŠEK ing. CSc.,
GREGÁŇ FRIDRICH RNDr. CSc., BRATISLAVA

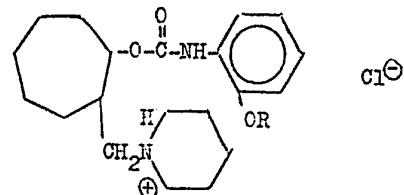
(54) Název vynálezu : Algicidny prostriedok na báze
1-/2-/alkoxykarbaniloyloxycykloheptyl/
/metyl/piperidíniumchloridov

(57) Anotace :

Algicidny prostriedok, ktorý ako účinnú látku obsahuje zlúčeninu obecného vzorca I, kde R je priamy alkyl s 1 až 4 atómami uhlíka.

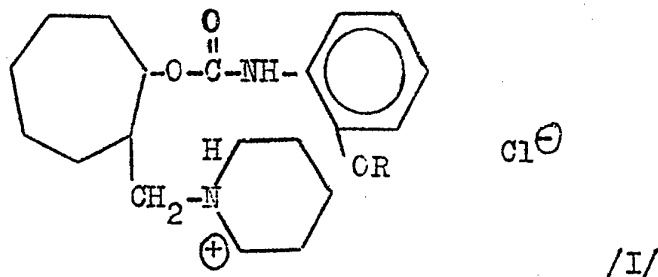
Syntéza zlúčenín podľa obecného vzorca I je predmetom čs. autorského osvedčenia č. 269023 autorov: Gregáň F., Tumová I., Šiška J. (1989).

Zlúčeniny podľa vynálezu pôsobia algicidne pri koncentráciách $1,74 \cdot 10^{-5}$ mol.dm⁻³ a vyšších (tj. 7,4 mg.dm⁻³ a vyšších). Zlúčeniny možno využiť samostatne alebo v zmesi s inými látkami ako účinnú zložku antialgálnych prípravkov.



(I)

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



kde R je priamy alkyl s 1 až 4 atómami uhlíka.

Syntéza zlúčenin obecného vzorca I je predmetom čs. autorského osvedčenia č. 269023 autorov: Gregáň F., Tumová I., Šiška J. (1989). Tieto zlúčeniny vykazujú lokálne anestetickú účinnosť.

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

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

Inhibičný vplyv na riasy sa sledoval u nasledujúcich zlúčenín obecného vzorca I:

1. 1- [2-(metoxykarbaniloyloxycykloheptyl)metyl] piperidíniumchlorid
2. 1- [2-(etoxykarbaniloyloxycykloheptyl)metyl] piperidíniumchlorid
3. 1- [2-(propoxykarbaniloyloxycykloheptyl)metyl]piperidíniumchlorid
4. 1- [2-(butoxykarbaniloyloxycykloheptyl)metyl] piperidíniumchlorid

TABUĽKA 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
1.	26,0	39,8	28,8	
2.	13,2	27,5	16,5	
3.	10,5	17,4	13,8	
4.	9,3	25,0	16,6	

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

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

Riasy *Chlorella vulgaris* sa pestovali stacionárnou kultiváciou pri teplote 25 ± 1 °C, pri svetelnom režime 16 hodín svetlo / 8 hodín tma, v kultivačnom médiu podľa Šetlíka (Šetlík I.: Annual Report of Algolog Lab. for 1967, 71 až 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: $\text{Chl} / \text{mg} \cdot \text{dm}^{-3} = 17,9 A_{647} + 8,08 A_{664,5}$, kde A je absorbancia vzorky pri 647, resp. 664,5 nm v 1 cm kyvete (Inskeep W. P., Bloom P. R.: Plant Physiol. 77/2/, 483 až 485, 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 1-[2-(etoxykarbaniloyloxycykloheptyl)metyl] piperidíniumchloridu (látka č. 2) sa k 12 ml kultivačného média s inokulom rias pridalo 0,12 ml vodného roztoku látky č. 2 nasledovných koncentrácií: $5 \cdot 10^{-3}$, $2,5 \cdot 10^{-3}$, $1 \cdot 10^{-3}$, $5 \cdot 10^{-4}$ a $1 \cdot 10^{-4}$ mól.dm⁻³. Skutočné koncentrácie zlúčeniny č. 2 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 ktorých dochádza k 50 %nej, resp. úplnej inhibícii študovaného parametra rias sa zisťuje extrapoláciou zo závislosti vyššie uvedených hodnôt % zistenej inhibície sledovaného parametra od logaritmu aplikovanej koncentrácie študovanej zlúčeniny.

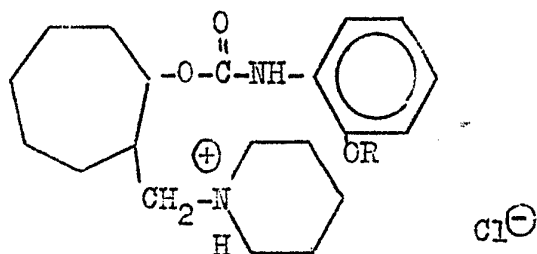
TABUĽKA 2

Inhibícia rastu rias a syntézy chlorofylu v prítomnosti 1-[2-(etoxykarbaniloyl-oxycykloheptyl)metyl] piperidíniumchloridu

Konc. zluč. 10^{-6} mól.dm ⁻³	% kontroly \pm σ	
	Chlorofyl	Absorbancia
50	0	$12,3 \pm 1,5$
25	$4,8 \pm 0,1$	$16,6 \pm 1,0$
10	$42,3 \pm 1,8$	$66,3 \pm 4,0$
5	$68,3 \pm 0,9$	$85,1 \pm 2,3$
1	$74,5 \pm 2,8$	$96,1 \pm 0,9$

P A T E N T O V É N Á R O K Y

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



kde R je priamy alkyl s 1 až 4 atómami uhlíka.