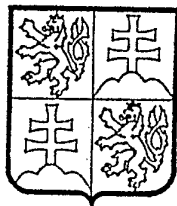


ČESKÁ A SLOVENSKÁ
FEDERATIVNÍ
REPUBLIKA
(19)



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

PATENTOVÝ SPIS 276 185

(11) Číslo dokumentu :

(21) Číslo přihlášky : 2339-90.R

(22) Přihlášeno : 14 05 90

(30) Prioritní data :

(13) Druh dokumentu : B6

(51) Int. Cl.⁵ :

A 01 N 47/20

(40) Zveřejněno : 15 04 92

(47) Uděleno : 21 02 92

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku : 15 04 92

(73) Majitel patentu : UNIVERZITA KOMENSKÉHO, BRATISLAVA

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

(54) Název vynálezu : Algicidny prostriedok na báze
/1-(2-alkoxykarbaniloyloxy)cyklohexylmetyl/
dimetylamóniumchloridov

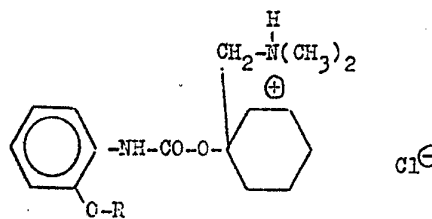
(57) Anotace :

Algicidny prostriedok, ktorý ako účinnú látku obsahuje zlúčeninu obecného vzorca I, kde R je priamy alkyl s 1 až 5 atómami uhlíka.

Syntéza zlúčenín podľa obecného vzorca I je predmetom čs. autorského osvedčenia č. 253447 autorov: Gregaň F., Ďurinda J., Tumová I., Borovanský A. (1982).

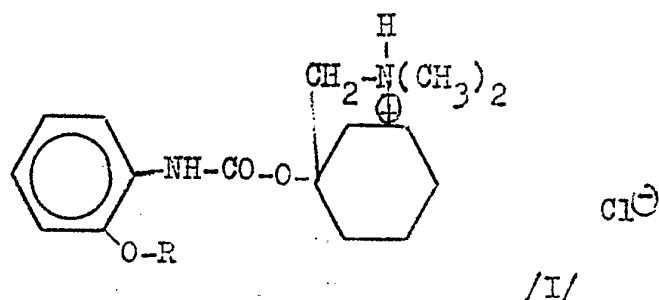
Zlúčeniny podľa vynálezu pôsobia algicídne pri koncentráciách $1,0 \cdot 10^{-5}$ mól.dm⁻³ a vyšších (tj. 3,9 mg.dm⁻³ a vyšších).

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 5 atómami uhlíka.

Syntéza zlúčenín obecného vzorca I je predmetom čs. autorského osvedčenia č. 253447 autorov: Gregaň F., Ďurinda J., Tumová I., Borovanský A. (1982). Tieto zlúčeniny vykazujú lokálne anestetický účinok (Gregaň F., Ďurinda J., Tumová I., Borovanský A.: Českoslov. farm. XXXVI, 448, 1987).

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

Inhibičná účinnosť zlúčenín všeobecného 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:

- I. [1-(2-metoxykarbaniloyloxy)cyklohexylmetyl] dimetylamóniumchlorid
- II. [1-(2-etoxykarbaniloyloxy)cyklohexylmetyl] dimetylamóniumchlorid
- III. [1-(2-propoxykarbaniloyloxy)cyklohexylmetyl] dimetylamóniumchlorid
- IV. [1-(2-butoxykarbaniloyloxy)cyklohexylmetyl] dimetylamóniumchlorid
- V. [1-(2-pentyloxykarbaniloyloxy)cyklohexylmetyl] dimetylamóniumchlorid

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 mol.dm ⁻³
I.	50,7	107,0	74,1	
II.	42,6	107,0	61,7	
III.	22,0	60,0	35,1	
IV.	6,2	10,0	11,4	
V.	209,0	661,0	490,0	

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.

Následujúci 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 kvete (Inskeep W. P., Bloom P. B.: 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 [1-(2-butoxykarbaniloyloxy)cyklohexylmetyl] dimetylamóniumchloridu (látko č. IV) sa k 12 ml kultivačného média s inokulom rias pridalo 0,12 ml vodného roztoku látky č. IV nasledovných koncentrácií: $5 \cdot 10^{-3}$, $1 \cdot 10^{-3}$, $7,5 \cdot 10^{-4}$, $5 \cdot 10^{-4}$ a $1 \cdot 10^{-4}$ mól.dm⁻³. Skutočné koncentrácie zlúčeniny č. IV 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.

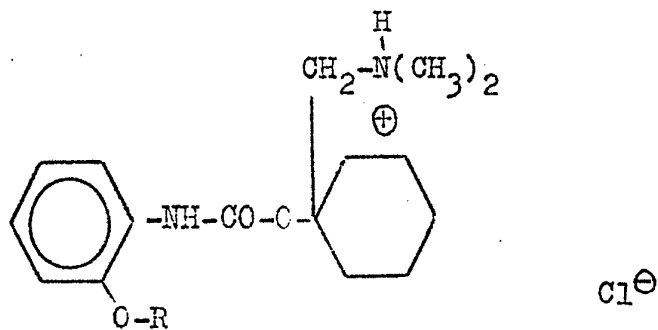
TABUĽKA 2

Inhibícia rastu rias a syntézy chlorofylu v prítomnosti [1-(2-butoxykarbaniloyloxy)cyklohexylmetyl] dimetylamóniumchloridu (látko č. IV)

Konc. látky č. IV 10^{-6} mól.dm ⁻³	% kontroly ± 6	
	chlorofyl	Absorbancia
50	0	$15,3 \pm 0,7$
10	0	$12,5 \pm 0,1$
7,5	$6,0 \pm 0,6$	$37,2 \pm 1,9$
5,0	$67,5 \pm 7,0$	$82,4 \pm 1,9$
1,0	$82,8 \pm 0$	$90,5 \pm 3,4$

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 5 atómami uhlíka.