

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

⑫ OPIS PATENTOWY ⑰ PL ⑪ 189237

⑬ B1

⑳ Numer zgłoszenia: 325444

⑵ IntCl⁷
A01N 43/54

㉑ Data zgłoszenia: 18.03.1998

⑸④

Środek o działaniu przeciwbakteryjnym

BZYTELNI
OGÓLNA

⑷③ Zgłoszenie ogłoszono:
27.09.1999 BUP 20/99

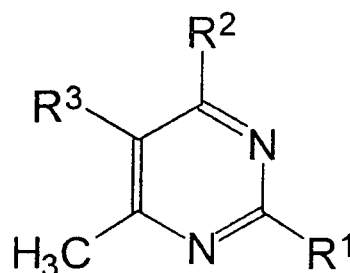
⑷⑤ O udzieleniu patentu ogłoszono:
29.07.2005 WUP 07/05

⑷③ Uprawniony z patentu:
Politechnika Śląska, Gliwice, PL
Instytut Przemysłu Organicznego,
Warszawa, PL

⑷② Twórcy wynalazku:
Wojciech Zieliński, Gliwice, PL
Monika Mazik, Ptakowice, PL
Anna Klimach, Pszczyna, PL
Aleksandra Szybińska, Warszawa, PL
Zofia Zimińska, Warszawa, PL

⑷④ Pełnomocnik:
Ziółkowska Urszula, Politechnika Śląska,
Dział Badań Naukowych i Transferu
Technologii

⑷⑦ Środek o działaniu przeciwbakteryjnym, zawierający znane środki pomocnicze, **znamienny tym**, że jako substancję czynną zawiera nowy związek o wzorze ogólnym przedstawionym na rysunku, w którym R¹ stanowią grupy alkilowe, aminowe, lub dialkiloaminowe, R² oznaczają grupy aminową lub dialkiloaminową, R³ może oznaczać wodór, grupę alkilową lub fenyłową ewentualnie podstawioną atomami chlorowca, grupami nitrową, metoksyłową lub alkilową w różnych pozycjach pierścienia.



PL 189237 B1

Środek o działaniu przeciwbakteryjnym

Zastrzeżenie patentowe

Środek o działaniu przeciwbakteryjnym, zawierający znane środki pomocnicze, **znamienny tym**, że jako substancję czynną zawiera nowy związek o wzorze ogólnym przedstawionym na rysunku, w którym R^1 stanowią grupy alkilowe, aminowe, lub dialkiloaminowe, R^2 oznaczają grupy aminową lub dialkiloaminową, R^3 może oznaczać wodór, grupę alkilową lub fenyłową ewentualnie podstawioną atomami chlorowca, grupami nitrową, metoksyłową lub alkilową w różnych pozycjach pierścienia.

* * *

Przedmiotem wynalazku jest środek o działaniu przeciwbakteryjnym zawierający jako substancję aktywną nowy związek o wzorze ogólnym przedstawionym na rysunku.

Nowe związki objęte wzorem ogólnym, będące substancją aktywną środka według wynalazku stanowią grupę pochodnych pirymidyny nieopisanych pod względem ich aktywności biologicznej i ich właściwości chemicznych.

Związki objęte wzorem przedstawionym na rysunku, w którym R^1 stanowią grupy alkilowe, aminowe, lub dialkiloaminowe, R^2 oznaczają grupy aminową lub dialkiloaminową, R^3 może oznaczać wodór, grupę alkilową lub fenyłową ewentualnie podstawioną atomami chlorowca, grupami nitrową, metoksyłową lub alkilową w różnych pozycjach pierścienia, otrzymuje się z ketonów alifatycznych lub ketonów β -fenylo- α , β -nienasyconych, które poddaje się reakcji z cyjanamidem lub dialkilocyjanamidem bezpośrednio lub po przeprowadzeniu ich w oksymy wobec tlenochlorku fosforu lub pięciochlorku fosforu.

Właściwości szeregu otrzymywanych pochodnych zestawiono w tabeli 1. Związki według wynalazku badano na działanie przeciwbakteryjne na następujących bakteriach testowych *Erwina amylovora*, *Erwina carotovora subsp atroseptica*, *Pseudomonas lachrymas*, *Pseudomonas syringae*, *Pseudomonas phaseolicola* według metody rozcieńczeniowej na podłożu stałym, polegające na dodawaniu do pożywki agarowej związków w określonych ilościach (100, 50, 20, 10, 5 i 1 ppm), a następnie na wykonaniu posiewu odpowiednimi szczepami bakterii. Po okresie inkubacji 48 godzin przeprowadza się obserwację badań. Aktywność przeciwbakteryjną wyraża się w formie minimalnego stężenia hamującego (MIC) rozwój bakterii. Ocenę działania przeciwbakteryjnego określono według skali; stężenie hamujące wzrost szczepu ppm:

>100	- brak działania
>20	- działanie słabe
20	- działanie średnie
10	- działanie dobre
5 oraz < 5	- działanie bardzo dobre

Wyniki działania związków ujęto w tabeli 2.

Związki o numerach 8 i 12 wykazały dobre działanie przeciwbakteryjne, a związki o numerach 3, 10, 15 działały na patogeny bakteryjne w stopniu średnim, lecz wykazały szerokie spektrum działania.

Do badań mikropoletkowych wytypowano związki o numerach 8 i 12.

Aktywność przeciwbakteryjną wybranych związków badano w próbach mikropoletkowych na ogórkach i fasoli. W przypadku ogórka porównywano z działaniem Bronopolu (bakteriocyd). Wyniki prób mikropoletkowych zestawiono w tabelach 3 i 4

Przeprowadzone badania na ogórkach i fasoli z zastosowaniem wytypowanych związków wykazały, że w odpowiednich stężeniach 250 i 400 ppm w podobny sposób ograniczały rozwój kanciastej plamistości na siewkach ogórka, jak bakteriocyd Bronopol. Testowane na

fasoli w stężeniu 200 ppm charakteryzowały się dobrą aktywnością przeciwbakteryjną. Związki według wynalazku objęte wzorem przedstawionym na rysunku należą do nowej grupy środków przeciwbakteryjnych i w związku z tym mogą być efektywnie stosowane do ochrony nasion narażonych na infekcje bakteryjne nawet w tych przypadkach gdy po stosowaniu innych, znanych grup chemicznych, poszczególne siewy bakteryjne uodporniły się na nie.

Ponizej podane przykłady ilustrują sposób otrzymywania oraz stosowania środków według wynalazku.

Przykład 1.

Do roztworu 4-(2-chlorofenilo)-3-metylo-3-buten-2-onu (0,02 mola) w 20 ml etanolu, dodano chlorowoderek hydroksyloaminy (0,03 mola) oraz wodorotlenek sodu (0,02 mola) i utrzymywano w temperaturze wrzenia przez godzinę. Mieszaninę poreakcyjną wylano do dużej ilości wody, wydzielony oksym odsączono, suszono i krystalizowano z etanolu. Otrzymano produkt o t.t.=121 -123°C z wydajnością 95%. Roztwór oksymu (0,01 mola) w 50 ml bezwodnego toluenu wkraplano do zawiesiny pięciochloru fosforu (0,011 mola) w 20 ml bezwodnego toluenu mieszając i chłodząc. Po wdropleniu mieszano jeszcze przez 15 min. i następnie oddzielono lotne związki na wyparce rotacyjnej, nie przekraczając temperatury 20°C. Pozostałość rozpuszczono w bezwodnym toluenie (30 ml), dodano N,N-dimetylocyjanamid (0,02 mola) i mieszaninę pozostawiono na 2 godziny w temperaturze pokojowej, a następnie ogrzewano pod chłodnicą zwrotną przez 15 minut. Po ochłodzeniu dodano wolno metanolowy roztwór wodorotlenku sodu (0,025 mola w 15 ml metanolu). Rozpuszczalniki oddzielono pod próżnią i do pozostałości dodano bezwodnego toluenu. Mieszaninę ogrzewano pod chłodnicą zwrotną przez 3 godziny. Po ochłodzeniu mieszaninę reakcyjną zakwaszono 20% roztworem kwasu solnego i oczyszczano na drodze destylacji z parą wodną. Kwaśną pozostałość filtrowano, przesącz alkalizowano stężonym roztworem wodorotlenku sodu i ekstrahowano eterem. Po oddzieleniu eteru surowy związek 8 krystalizowano z heksanu otrzymując produkt o t.t = 50-51°C z wydajnością 68%.

Przykład 2.

Zwalczanie kanciastej plamistości siewek ogórka wywołanej bakteriami *Pseudomonas lachrymans*

Nasiona ogórka zakażono zawiesiną bakterii *P. lachrymans* z 48 godzinnej hodowli. Po wysuszeniu, zakażone nasiona zaprawiono związkiem według wynalazku, część nasion zaprawiono Bronopolem, a część pozostawiono bez działania środka ochronnego. Następnie zaprawione i niezaprawione nasiona wysiewano do doniczek. Doświadczenia inkubowano w komorze wilgotnej w temperaturze od około 20°C do około 30°C. Obserwacje porażenia siewek przeprowadzono w momencie pojawienia się choroby w odstępach dwudniowych, aż do wytworzenia się pierwszego liścia właściwego. Aktywność bakteriobójczą związków według wynalazku określał procent chorych siewek.

Wyniki działania związków według wynalazku przedstawiono w tabeli 3.

Przykład 3.

Zwalczanie bakteriozy obwódkowej fasoli na liściach fasoli *Pseudomonas phaseolicola*

Badania przeprowadzono na nasionach naturalnie porażonych przez *P. phaseolicola*. Nasiona zaprawiano związkami według wynalazku, a część pozostawiono bez środka ochronnego. Następnie zaprawione i niezaprawione nasiona wysiewano do doniczek. Doświadczenie inkubowano w komorze wilgotnej w temperaturze od około 20°C do około 30°C do momentu pojawienia się plam bakteryjnych na liściach. Po tym okresie oceniano skuteczność przeciwbakteryjną stosowanych związków.

Wyniki działania związków według wynalazku ujęto w tabeli 4.

Tabela 1
Właściwości fizykochemiczne związków objętych wzorem ogólnym przedstawionym na rysunku

Lp.	R ¹	R ²	R ³	t.t°C t.w°C/torr	Wzór cząsteczkowy	MS m/e M ⁺
1	CH ₃	NH ₂	C ₆ H ₅	202-203	C ₁₂ H ₁₃ N ₃	199
2	CH ₃	NH ₂	o-NO ₂ -C ₆ H ₄	65-68	C ₁₂ H ₁₂ N ₄ O ₂	244
3	CH ₃	NH ₂	m-Cl-C ₆ H ₄	187-189	C ₁₂ H ₁₂ ClN ₃	233
4	CH ₃	NH ₂	m-NO ₂ -C ₆ H ₄	203-205	C ₁₂ H ₁₂ N ₄ O ₂	244
5	CH ₃	NH ₂	p-Br-C ₆ H ₄	189-190	C ₁₂ H ₁₂ BrN ₃	278
6	CH ₃	NH ₂	p-Cl-C ₆ H ₄	200-201	C ₁₂ H ₁₂ ClN ₃	233
7	CH ₃	N(CH ₃) ₂	C ₆ H ₅	152-4/2,5	C ₁₄ H ₁₇ N ₃	227
8	CH ₃	N(CH ₃) ₂	o-Cl-C ₆ H ₄	50-51	C ₁₄ H ₁₆ ClN ₃	261
9	CH ₃	N(CH ₃) ₂	o-CH ₃ -C ₆ H ₄	160-1/5	C ₁₅ H ₁₉ N ₃	241
10	CH ₃	N(CH ₃) ₂	o-CH ₃ O-C ₆ H ₄	45-46	C ₁₅ H ₁₉ N ₃ O	257
11	CH ₃	N(CH ₃) ₂	o-O ₂ N-C ₆ H ₄	120-121	C ₁₄ H ₁₆ N ₄ O ₂	272
12	CH ₃	N(CH ₃) ₂	m-Cl-C ₆ H ₄	68-69	C ₁₄ H ₁₆ ClN ₃	261
13	CH ₃	N(CH ₃) ₂	m-CH ₃ -C ₆ H ₄	160-2/2,5	C ₁₅ H ₁₉ N ₃	241
14	CH ₃	N(CH ₃) ₂	m-O ₂ N-C ₆ H ₄	139-140	C ₁₄ H ₁₆ N ₄ O ₂	272
15	CH ₃	N(CH ₃) ₂	p-Br-C ₆ H ₄	118-120	C ₁₄ H ₁₆ BrN ₃	305
16	CH ₃	N(CH ₃) ₂	p-Cl-C ₆ H ₄	135-136	C ₁₄ H ₁₆ ClN ₃	261
17	CH ₃	N(CH ₃) ₂	p-CH ₃ -C ₆ H ₄	74-76	C ₁₅ H ₁₉ N ₃	241
18	NH ₂	NH ₂	H	152-3/2,5	C ₅ H ₈ N ₄	114
19	N(CH ₃) ₂	N(CH ₃) ₂	H	131-2/5	C ₉ H ₁₆ N ₄	180
20	N(CH ₃) ₂	N(CH ₃) ₂	CH ₃	134-5/5	C ₁₀ H ₁₈ N ₄	194

Tabela 2
Ocena aktywności przeciwbakteryjnej badanych związków

Lp.	Minimalne stężenie hamujące (MIC) w ppm				
	Erwinia amylovora	Erwinia arotovora	Pseudomonas lachrymans	Pseudomonas syringae	Pseudomonas phaseolicola
1	2	3	4	5	6
1	>100	>100	>100	>100	>100
2	>100	>100	>100	>100	>100
3	20	100	100	100	50
4	50	>100	>100	>100	>100
5	-----	-----	-----	-----	-----
6	>100	50	>100	>100	50

c.d. tabeli 2

1	2	3	4	5	6
7	>100	100	>100	100	100
8	20	10	50	50	20
9			>100	>100	
10	20	50	>100	100	50
11	>100	>100	>100	>100	>100
12	10	10	20	50	20
13	-----	----	>100	>100	-----
14	>100	>100	>100	>100	>100
15	50	20	100	100	50
16	100	50	100	100	100
17	50	50	50	100	50
18	>100	100	>100	>100	>100
19	>100	>100	>100	>100	>100
20	>100	>100	>100	>100	>100

T a b e l a 3

Efektywność działania środka według wynalazku w ograniczeniu kanciastej plamistości
(*Pseudomonas lachrymans*) na siewkach ogórka

Nr związku	Substancja czynna	Stężenie substancji czynnej w ppm	Porażenie siewek ogórka [%]	Skuteczność przeciwbakteryjna [%]
8	4-dimetyloamino-2,6-dimetylo-5-(o-chlorofenylo)pirymidyna	500	10,8	62,0
8	4-dimetyloamino-2,6-dimetylo-5-(o-chlorofenylo)pirymidyna	250	7,5	73,6
12	4-dimetyloamino-2,6-dimetylo-5-(m-chlorofenylo)pirymidyna	400	8,3	70,8
12	4-dimetyloamino-2,6-dimetylo-5-(m-chlorofenylo)pirymidyna	200	13,3	53,2
Bronopol	2-bromo-2-nitropropan-1,3-diol	200	8,5	70,1
Próba kontrolna			28,4	0,0

Tabela 4
 Efektywność działania środka wg wynalazku w ograniczeniu bakteriozy obwódkowej
 (*Pseudomonas phaseolicola*) na liściach fasoli

Nr związku	Substancja czynna	Stężenie substancji czynnej w ppm	Porażenie liści fasoli [%]	Skuteczność przeciwbakteryjna [%]
8	4-dimetyloamino-2,6-dimetylo-5-(o-chlorofenyl)pirymidyna	200	2,4	82,3
8	4-dimetyloamino-2,6-dimetylo-5-(o-chlorofenyl)pirymidyna	100	2,8	79,4
12	4-dimetyloamino-2,6-dimetylo-5-(m-chlorofenyl)pirymidyna	200	2,8	79,4
12	4-dimetyloamino-2,6-dimetylo-5-(m-chlorofenyl)pirymidyna	100	3,9	71,3
Próba kontrolna			13,6	

