NORGE

(12) **PATENT**

(19) NO (11) **302392** (13) B1

(51) Int Cl[6] A 01 N 35/06

Patentstyret

(21) Søknadsnr	924018	(86) Int. inng. dag og søknadsnummer	19.03.91, PCT/US91/01734
(22) Inng. dag	16.10.92	(85) Videreføringsdag	16.10.92
(24) Løpedag	19.03.91	(30) Prioritet	18.04.90, US, 510763
(41) Alm. tilgj.	09.12.92		07.02.91, US, 652406
(45) Meddelt dato	02.03.98		

(73) Patenthaver E.I. Du Pont de Nemours and Co, 1007 Market Street, Wilmington, DE 19898, US
(72) Oppfinner Albert Gordon Anderson, Wilmington, DE, US
Frederick Beiswanger Cooling III, Hockessin, DE, US
James Martin Odom, Avondale, PA, US
Paul James Weimer, Madison, WI, US
(74) Fullmektig Tandbergs Patentkontor AS, 0306 Oslo

(54) Benevnelse **Anvendelse av antrakinoner for inhibering av sulfidproduksjon fra sulfatreduserende bakterier**

(56) Anførte publikasjoner Ingen

(57) Sammendrag

Prosess for inhibering av sulfid-produksjon fra sulfatreduserende bakterier, omfattende at bestemte antrakinoner bringes i kontakt med mediet inneholdende de sulfat-reduserende bakterier. En automatisert screeningtest for en slik inhibering er også beskrevet.

Oppfinnelsens område

Foreliggende oppfinnelse angår det nye funn at mange antrakinoner eller de tilsvarende antrakinol- eller tetrahydroantrakinonderivater derav, inhiberer sulfidproduksjon fra sulfatreduserende bakterier og er således potensielt anvendelige kjemikalier for behandling av industrielle situasjoner hvor biologisk sulfiddannelse er et problem. Eksempler inkluderer forebyggelse av forsuring av oljebrønner med hydrogensulfid eller kontaminering av overflateanlegg som rørledninger og lagringstanker med hydrogensulfid. Den relative spesifisitet av antrakinonene, antrakinolene eller tetrahydroantrakinonene overfor prosessen respiratorisk sulfatreduksjon utvider anvendeligheten av disse inhibitorer til situasjoner hvor kun sulfatreduserende bakterier bør inhiberes, men ikke andre bakterietyper, som f.eks. i kloakkbehandling hvor bakteriell fordøyelse er ønskelig, men hvor sulfiddannelse ikke er ønskelig, eller ved anvendelse av biomasse for dannelse av brenselgasser hvor hydrogensulfid er en uønsket forurensning, eller på landbruksområdet hvor sulfiddannelse og derav følgende jordalkalitet kan være et problem ved dyrking av ris.

I det etterfølgende defineres betegnelsen "antrakinon (antrakinoner)" som anvendt i foreliggende søknad, til å inkludere antrakinonforbindelser, de tilsvarende antrakinolderivater, de tilsvarende tetrahydroantrakinonforbindelser, de tilsvarende oktahydroantrakinonforbindelser og de reduserte derivater derav.

Antrakinonene representerer en ny håndtering av problemet med hydrogensulfidforurensning i kraft av deres forholdsvis godartede miljøinnvirkning, noe som skyldes antrakinonenes relativt spesifikke toksisitet overfor respiratorisk sulfiddannelse. Som en konsekvens kan disse forbindelser være anvendelige ved håndtering av situasjoner som er uforenelige med anvendelse av bredspektrede biocider.

Oppfinnelsens bakgrunn

En nylig redegjørelse av Widdel (1986) i Anaerobic Bacteria in Habitats Other Than Man, s. 157-184, Red. Barnes og Mead, Blackwell Scientific Publications, inkluderer som

sulfatreduserende bakterier, slektene: Desulfovibrio, Desulfotomaculum, Desulfobacter, Desulfobulbus, Desulfococcus, Desulfonema, Desulfosarcina og Thermodesulfobacterium. Betydelige inter- og selv intra-slektsmessige forskjeller foreligger med hensyn til morfologier, økologiske nisjer og metabolsk kapasitet. Alle respiratoriske sulfatreduserende bakterier er imidlertid fullstendig anaerobe bakterier som forgiftes av oksygen. Overvekten av isolater er eubakterielle og klassifisert som Desulfovibrio, selv om ekstremt termofile sulfatreduserende archaebakterier er isolert fra undersjøiske vulkaner (Stetter et al., 1987, science 236:822-825). Betegnelsen sulfatreduserende bakterier omfatter således et bredt spektrum av organismer gjennom både eubakterielle og archaebakterielle grener av bakteriefylogenese.

Den metabolske kapasitet av slekten Desulfovibrio avspeiler området for tilgjengelige nisjer. Anvendelse av sulfat som en elektronmottaker og et respiratorisk substrat, er den karakteristiske og dominerende energidannelsesmåte. Nitrat, elementært svovel, fumarat og andre svoveloksysyrer, når tilstedeværende, kan imidlertid også gi en lignende kapasitet hos noen få arter. Disse bakterier er spesialister tilpasset til å anvende de metabolske sluttprodukter fra primærnedbrytende bakterier som elektron- og karbonkilder, som beskrevet av Odom et al., 1981, i Trends in the Biology of Fermentations for Fuels and Chemicals, Red. Hollaender, Rabson, Rogers, Pietro, Valentine og Wolfe, Plenum Publishing, og Odom et al., 1984, Ann. Rev. Microbiol. 38:551-592. Organiske syrer som melkesyre, maursyre og pyrodruesyre, alkoholer som etanol, og molekylært hydrogen, er de foretrukne elektronkilder for sulfatreduksjon. Acetat som er det metabolske sluttprodukt fra Desulfovibrio, kan anvendes av Desulfobacter som en elektrondonor med karbondioksid som det eneste sluttprodukt (Stetter et al., 1987, science 236:822-825). De sulfatreduserende bakterier kan således bevirke total mineralisering av organisk materiale fra nivået alkoholer og syrer til karbondioksid.

De sulfatreduserende bakterier spiller en spesiell rolle ved dannelse av metan som opptrer ved kloakkbehandling og i ferskvannsmyrer. I disse situasjoner, hvor sulfatkonsen-

trasjoner er meget lave, går de sulfatreduserende bakterier inn i et symbiotisk forhold med metanproduserende bakterier (metanogene bakterier) hvori de sulfatreduserende bakterier faktisk kun produserer hydrogen fra organiske syrer og alkoholer dersom hydrogenet kontinuerlig forbrukes av de metanogene bakterier. Denne viktige prosess betegnet interarts-hydrogenoverføring, er et vitalt ledd i matvarenedbrytningskjeden fra komplekse polymerer til metan (Odom et al., 1981, i Trends in the Biology of Fermentations for Fuels and Chemicals, Red. Hollaender, Rabson, Rogers, Pietro, Valentine og Wolfe, Plenum Publishing). Det mest intensivt undersøkte aspekt har vært hydrogenmetabolisme pga. dens naturlige slektskap med metan(brennstoff)-dannelse fra biomasse. Implikasjonen av mikrobielt hydrogenopptak ved fenomenet anaerob korrosjon av stål i overensstemmelse med teorien med katodisk depolarisering, har likeledes stimulert forskning av hydrogenmetabolismen av sulfatreduserende bakterier, så vel som andre mikrobetyper (Von Wolzogen Kuhr et al., 1934, Water 18:147-165, Odom et al., 1984, Ann. Rev. Microbiol. 38:551-592, Pankhania et al., 1986, J. Gen. Microbiol. 132:3357-3365 og Ringas et al., 1987, Corrosion Engineering 44 #6:386-396).

Det foreligger for tiden tilnærmet 130 forskjellige industrielle biocidprodukter registrert hos U.S. Environmental Protection Agency som produseres av over 100 forskjellige selskaper i USA alene. De viktigste biocider er halogenerte forbindelser som utgjør 35 % av totalsalget, mens kvaternære detergenter og fenolforbindelser representerer 22 % av totalsalget. Organometalliske forbindelser, uorganiske forbindelser, aldehyder, anilider og organiske svovelforbindelser utgjør resten av totalsalget. Ingen av de kjente kommersielle kjemikalier er spesifikke overfor sulfatreduserende bakterier, men mange har demonstrert effektivitet mot sulfatreduserende bakterier. I det etterfølgende diskuteres noen av de vanligst anvendte inhibitorer av sulfatreduserende bakterier.

Organiske svovel- eller svovelnitrogenforbindelser inneholder noen av de mer effektive industrielle biocider mot sulfatreduserende bakterier. De isotiazolininneholdende forbindelser (produsert av Rohm & Haas, Inc., under navnet "Kathon") er effektive mot, men ikke spesifikke overfor,

sulfatreduserende bakterier ved 12 ppm (Oil and Gas Journal, 8. mars 1982, s. 253). De tiocyanatinneholdende forbindelser er effektive i området 5-30 ppm (dvs. "Cytox"). 2,2-dibrom-3-nitrilopropionamid (DBNPA) produseres av Nalco, Inc. og hevdes å være spesielt effektiv mot sulfatreduserende bakterier ved 3-12 ppm. Denne forbindelse er også et effektivt overflateaktivt middel og korrosjonsinhibitor. Nylig har Nalco, Inc. introdusert et biocid for anvendelse i oljefelt som hevdes å være effektivt mot sulfatreduserende bakterier. Produktet er vesentlig metronidazol som er et farmasøytisk middel opprinnelig anvendt til behandling av trichosomale infeksjoner. Forbindelsen er ikke spesifikk overfor sulfatreduserende bakterier, men hevdes å være generelt effektiv mot anaerobe bakterier.

Syrer og aldehyder er også effektive inhibitorer av sulfatreduserende bakterier. Glutaraldehyd anvendes i bred utstrekning i flomsituasjoner i konsentrasjoner fra 100 til 2.000 ppm. Den eneste produsent i USA er Union Carbide, Inc. med sin egen registrerte formulering "Ucarcide". "Ucarcide" hevdes å beskytte oljefelt mot aerobe og anaerobe mikroorganismer, inkludert sulfatreduserende bakterier i flomsituasjoner, i injeksjonsvann og i borings- og pakningsfluider. Formaldehyd som er vesentlig billigere anvendes også i lignende konsentrasjoner. Disse to forbindelser omfatter sammen de viktigste biocider anvendt i oljefelter. Akrolein, en ytterst toksisk forbindelse, er også effektiv mot sulfatreduserende bakterier og anbefales anvendt ved konsentrasjoner i området 1 til 15 ppm.

Kvaternære aminer er en uensartet gruppe av forbindelser inneholdende et kvaternært nitrogenatom med langkjedede alkyl- eller aromatiske substituenter. På oljefelt kan disse forbindelser virke både som korrosjonsinhibitorer og bakteriostatiske midler. På dette anvendelsesområde anvendes forbindelsene i området 5-100 ppm. Ved lave konsentrasjoner kan disse forbindelser være bakteriostatiske i stedet for bakteriocide. De kvaternære aminer er vanligvis mindre farlige enn mange oljefeltsbiocider, men de må ofte anvendes i forbindelse med mer toksiske biocider for å forhøye deres effektivitet.

Halogenerte forbindelser slik som klorheksidin (et biguanid), ("Hibitane" fra ICI, Inc.), er en alminnelig anvendt, kommersiell, antimikrobiell forbindelse og er kjent for å være effektiv mot et stort antall sulfatreduserende bakterier ved konsentrasjoner fra 1-10 ppm (Davies et al., 1954, Brit. J. Pharmacol. 9:192). Denne forbindelse eller dens derivater er generelt effektive mot de fleste bakterietyper og er derfor ikke-spesifikke. Biguanider som klorheksidin, synes å virke ved og nedbryte cellemembranen, noe som forårsaker frigivelse av cytoplasmatisk innhold. Det foreligger ingen tilgjengelige data vedrørende noen industriell anvendelse av dette kjemikalie for å behandle sulfatreduserende bakterier.

Uorganiske forbindelser, slik som flytende klor, hypokloritter, klordioksid og klorisocyanurater, er sterke oksidasjonsmidler, finnes ofte som de aktive bestanddeler i blekemidler og har vist effektivitet i oljefeltsituasjoner mot sulfatreduserende bakterier.

Klassiske inhibitorer av sulfatreduksjon, slik som molybdat-, selenat- og fluorfosfat-anioner er analoger av sulfat og har vist å interferere med det primære enzymatiske trinn i aktiveringen av sulfat, dvs. adenosin-5'-trifosfat-(ATP)-sulfurylasereaksjonen. Her dannes et ustabilt fosfor-analogt anhydrid i stedet for fosforsulfatbindingen. Konsekvensen av dette er at bakterien til slutt uttømmer sin energireserve av ATP via reaksjon med disse analoger og dør (Taylor et al., 1979, Current Microbiol. 3:101-103 og Wilson et al., 1958, J. Biol. Chem. 233:975-981). Sulfatanaloger er anvendt for å inhibere sulfatreduksjon ved konsentrasjoner fra 5-20 mM (dvs. 1.000-4.000 ppm molybdat). Disse nivåer er upraktiske fra et anvendelsesstandpunkt, men forbindelsene har funnet anvendelse som forskningsverktøy (Postgate, 1952, J. Gen. Microbiol. 6:128-142 og Saleh et al., 1964, J. Appl. Bact. 27#2:281-293). Sulfatanalogene inhiberer dessuten sulfatassimilering som foregår i alle bakterier og planter, så vel som sulfatrespirasjon, og de er således ikke virkelig spesifikke for sulfatreduserende bakterier.

Antibakteriell aktivitet forbundet med antrakinoner ble først oppdaget i planteekstrakter fra slekten Cassia. (Patel et al., 1957, Indian J. Pharmacol. 19:70-73). Etter-

følgende undersøkelser avslørte at den aktive bestanddel av bladekstrakter fra Cassia sp. var Rhein eller 4,5-dihydroksy-antrakinon-2-karboksylsyre (Anchel, 1949, J. Biol. Chem. 177:169-177). Det har senere vist seg at mange antrakinoner har antibakterielle egenskaper, men det er likeledes klart at disse forbindelser ikke inhiberer alle bakterietyper. I én undersøkelse av F. Kavanaugh viste det seg at grampositive organismer, slik som Bacillus sp. eller Staphylococcus, er sensitive overfor antrakinoner, mens gramnegative arter, slik som E. coli eller Pseudomonas sp., er ganske usensitive (Kavanaugh 1947 J. Bacteriol. 54:761-767). Selv blant de gram-positive bakterier er imidlertid antibakterielle effekter sporadiske og uforutsigelige. En annen undersøkelse viste f.eks. at 1,4,6,8-tetrahydroksyantrakinon inhiberte 4 arter av Bacillus, én stamme av Nocardia, én stamme (av fire testede) av Streptomyces og én stamme av den gramnegative Proteus. Forbindelsen påvirket ikke noen arter av E. coli, Pseudomonas, Salmonella eller Sarcina (Anke et al., 1980, Arch. Microbiol. 126:223-230 og Anke et al., 1980, Arch Microbiol., 126:231-236). En undersøkelse av Bakola-Christianopoulou et al., 1986, Eur. J. Med. Chem.-Chim. Ther. 21#5:385-390, hvor metall-chelatene av antrakinonene ble undersøkt, viste at 1,8-dihydroksyantrakinon var inaktivt overfor B. aureus, B. subtilis, B. stearothermophilus og S. aureus. I den samme undersøkelse var 1,2-dihydroksyantrakinon og 1-amino-4-hydroksyantrakinon enten inaktive overfor disse stammer eller de fordret konsentrasjoner høyere enn 100 til 1.000 ppm for å gi inhibering. Disse forskere konkluderte også med at metall-chelatene var mer aktive enn de frie ikke-kompleksdannede for-bindelser og at forbindelsene viste den høyeste aktivitet mot den grampositive Bacillus sp. Disse resultater er typiske for de publiserte undersøkelser over den antibakterielle aktivitet av antrakinoner.

Sveitsisk patent nr. 614.466, Mycogel Laboratories Inc., Brooklyn, New York, med tittel Agent for Inhibiting the Growth of Bacteria in Culture Media and Use of the Agent, beskriver anvendelsen av forbindelser avledet fra parakinon eller deres hemikinon- eller glykosidderivater som midler for anvendelse i dyrkningsmedier for å dyrke sopp og gjær. Det

logiske resultat fra disse undersøkelser var at disse forbindelser inhiberer bakterievekst, men ikke veksten av eukaryote celler, slik som muggsopp og gjær. Foretrukne antrakinonderivater ifølge dette patent inkluderer de substituert med metyl-, hydroksymetyl-, karboksyl-, aldehyd- og karboksyetylgrupper. Haran et al., 1981, Isr. J. Med. Sci. 17#6:485-496, viste at visse diaminoantrakinonderivater oppviste toksisitet overfor grampositive kokker og at gramnegative bakterier var heller usensitive.

Virkningsmåten for antrakinoner på bakteriemetabolisme er ikke klargjort og kan være mangfoldig. Det er åpenbart at den inhibitoriske effekt kun observeres med bakterier og ikke med vev fra planter, sopp eller pattedyr, og således er forbindelsene forholdsvis ikke-toksiske overfor høyere livsformer. Det er kjent at mange antrakinoner forstyrrer bakteriell DNA-metabolisme, antakeligvis ved setet for DNA-kontrollert RNA-polymerase (Anke et al., 1980, Arch Microbiol., 126:231-236). Antrakinoninneholdende forbindelser er også vist å inhibere mitokondriell ADP-transport (Boos et al., 1981, FEBS Lett. 127:40-44). Det er også kjent at reduserte antrakinoner kan reagere kjemisk med oksygen under dannelse av det ytterst toksiske superoksidradikal, og dette er vanligvis meget toksisk overfor bakterier (Shcherbanovskii et al., 1975, Rastit. Resur. 11#3:445-454).

Den gjengse oppfatning fra den eksisterende litteratur er at antrakinoner ikke er generelt antimikrobiske. Organismene som er sensitive overfor antrakinoner har vært grampositive bakterier, spesielt Bacillus sp. Antrakinonene oppviser en rekke ubeslektede og uforutsagte biologiske effekter, som kort oppført ovenfor. Antrakinoners inhibering av sulfidproduksjon er ikke rapportert i litteraturen og synes å være et annet eksempel på en uforutsagt og ubeslektet biologisk effekt, spesielt tatt i betraktning at de sulfatreduserende bakterier er gramnegative organismer.

Sulfidforurensning er et voksende industrielt og miljømessig anliggende for hvilket det ikke eksisterer noen virkelig effektiv eller adekvat behandling som er miljømessig fornuftig. De kjemiske behandlinger som er tilgjengelige har flere mangler. Mange av disse kjemikalier er ytterst reaktive

med korte, effektive levetider som antimikrobemidler, og det fordres derfor høye konsentrasjoner. Pga. deres naturlige toksisitet kan disse forbindelser dessuten utgjøre en helsefare for personellet som anvender dem. Det eksisterer således et behov for bedre metoder til å kontrollere sulfidforurensning.

Én viktig og nøkkelforskjell mellom eksisterende kjemikalier og forbindelsene anvendt ved foreliggende oppfinnelse er den forholdsvis ureaktive natur av et antall antrakinoner som en gruppe. 1,8-dihydroksyantrakinon (én av de mest potente forbindelser anvendt ved foreliggende oppfinnelse) har således vært omsatt kommersielt som et avføringsmiddel (se Physicians' Desk Reference, s. 574 for "Modane" og s. 575 for "Modane Plus"). Mange antrakinoner, inkludert derivater av 1,8-dihydroksyantrakinon, er naturlig forekommende i et antall planter, slik som rabarbra (Rheum officinale). Anvendelse av planteekstrakter inkluderer senna i "Senakot" Tablett og "Senokot-S" (se Physician's Desk Reference, s. 1596-1597) og casenthranol i "Dialose Plus" (se Physicians' Desk Reference, s. 1979).

Den spesifikke inhibitoriske aktivitet av forbindelsene anvendt ved foreliggende oppfinnelse og deres mangel på toksisitet overfor mange andre organismer, åpner fullstendig for nye muligheter for anvendelse i forskjellige avfallsbehandlingssituasjoner hvor konvensjonelle biocider ikke kan anvendes. Lukten forbundet med sulfidforurensning ved kloakkbehandling utgjør f.eks. både en helsefare og et estetisk problem for mange samfunn. Fra et økonomisk standpunkt skades nærmere bestemt betongrør av den aerobe oksidasjon av sulfid til svovelsyre. Dette er spesielt et problem for byer som Miami eller Los Angeles hvor avstandene involvert i kloakkoverføring ved omgivelsestemperaturer betyr lange oppholdstider, høy metabolsk aktivitet og kolossal ødeleggelse av betongkonstruksjoner. Den nåværende metode ifølge "teknikkens stand" for å løse dette problem er å utfelle sulfid fra oppløsning ved anvendelse av store mengder jern(II)klorid. Dette avhjelper luktproblemet, men fjerner ikke sulfid som et substrat for syreproduserende bakterier (Jameel 1988 Journal WPCF 61#2:230 og Dezham et al., Journal WPCF 60#4:514). Fore-

liggende oppfinnelse er spesielt fordelaktig for denne type anvendelse.

Sammendrag av oppfinnelsen

Foreliggende oppfinnelse angår anvendelse av antrakinoner for inhibering av sulfidproduksjon fra sulfatreduserende bakterier, omfattende at bestemte antrakinonforbindelser bringes i kontakt med mediet inneholdende de sulfatreduserende bakterier.

Kort beskrivelse av figurene

Figur 1 er en skjematisk fremstilling av en automatisert analysator anvendt for å screene antrakinoner med hensyn til inhibering av sulfidproduksjon.

Figur 2 er en kurve fra en automatisert analysator anvendt for å screene antrakinoner med hensyn til inhibering av sulfidproduksjon.

Detaljert beskrivelse av oppfinnelsen

Formålet for foreliggende oppfinnelse er anvendelse av antrakinoner for inhibering av sulfidproduksjon fra sulfatreduserende bakterier, omfattende at bestemte antrakinoner bringes i kontakt med mediet som inneholder de sulfatreduserende bakterier. Betegnelsen "antrakinon (antrakinoner)" som anvendt heri er som tidligere definert under oppfinnelsens område.

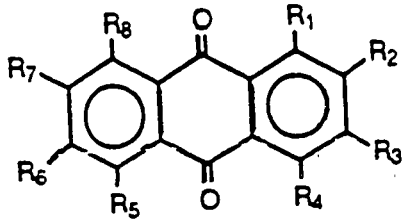
Mange antrakinoner er kommersielt tilgjengelige. Fremstilling av antrakinolderivater fra antrakinoner er kjent for fagfolk. 1,8-dihydroksy-9-antranol kan f.eks. fremstilles ved reduksjon av 1,8-dihydroksyantrakinon ved anvendelse av hydrogen og en nikkelkatalysator, K. Zahn and H. Koch, Chemische Berichte, 17B, 172 (1938), eller ved anvendelse av fosforsyrling og hydrogenjodid. 1,2,10-antracentriol kan fremstilles ved reduksjon av 1,2-dihydroksyantrakinon ved anvendelse av ammoniumhydroksid og sink, H. Roemer, Chemische Berichte, 14, 1259 (1881), C. Grabe and C. Thode, Liebig's Annalen der Chemie, 349, 207 (1906). Disse og lignende reduksjoner er oppsummert i Das Anthracen und die Anthrachinone, H. Houben, Georg Thieme pub., 1929, Leipzig, s. 193-195. Reduk-

sjonsmetoder for fremstilling av hydroantrakinoner finnes i Das Anthracen und die Anthrachinone, H. Houben, Georg Thieme, pub., 1929, Leipzig, s. 183-186. Fremstillingen av tetrahydroantrakinoner og forskjellige reduserte derivater er f.eks. beskrevet i US-patenter 1.967.862 publisert 24. juli 1934 og 4.642.393, publisert 10. februar 1987; Diels and Alder, Ber., 62, 2337 (1929); Carothers et al., J. Amer. Chem. Soc., 54, 4071 (1932) og Euler et al., Ber., 53B, 822 (1920).

Aktiviteten av forskjellige antrakinoner ved inhibering av sulfidproduksjon fra sulfatreduserende bakterier, kan forutsis basert på analyse av de tilstedeværende substituenter. Totalt 147 forskjellige aktive antrakinoner ble navngitt i overensstemmelse med reglene funnet i 7. Collective Index av Chemical Abstracts. Ved å følge denne konvensjon resulterte en multippel, lineær regresjonsanalyse av aktivitetsdataene i frembringelse av formel (I)

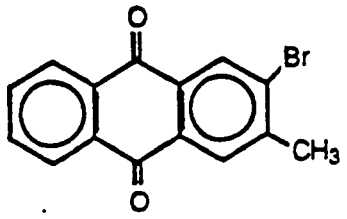
$$\text{Aktivitet} = 28{,}1 + \Sigma\ (\text{koeff.}) \qquad (I)$$

hvori aktivitet refererer til den prosentvise reduksjon av H_2S-produksjon, 28,1 er en konstant og Σ (koeff.) refererer til summen av koeffisientverdiene. Koeffisientverdier er gitt i koeffisienttabellen, tabell C, for hver individuell koeffisient R_1 til R_8, tilstedeværende i antrakinonene representert ved struktur (A) eller de tilsvarende derivater derav.



(A)

Som et eksempel kan aktiviteten av antrakinonet, substituert som vist nedenfor, forutsis til 26,4 ut fra formelen. Den observerte verdi er 26,0.



Antrakinoner med substituenter med positive verdier i koeffisienttabellen øker aktiviteten, mens antrakinoner med substituenter med negative verdier reduserer aktiviteten. Antrakinoner med substituenter hvis koeffisienter gir positiv aktivitet i formel (I), er aktive, og antrakinoner med en aktivitet høyere enn minst 21 i formelen, er mest aktive og foretrukne. Antrakinoner med substituenter hvis koeffisienter gir en negativ aktivitet i formel (I), er ikke aktive. Forbindelsene kan inneholde noen substituenter med negative koeffisienter og likevel bibeholde total aktivitet. Disse negative substituenter kan tjene andre formål, slik som økning av oppløselighet.

Det bør bemerkes at standardregresjonsavviket for formelen er 20,7; verdiene beregnet fra formelen er derfor ± 20,7.

Tabell C

Substituent navn		Koeffisient	Substituent navn		Koeffisient
1	Cl	5,3	28	O5	-5,6
2	C2	7,0	29	O6	-7,8
3	C3	-9,2	30	O7	-1,5
4	C4	-16,3	31	O8	4,7
5	C6	-6,9	32	OR1	-23,1
6	C7	-42,6	33	OR2	-7,4
7	Karb2	35,0	34	OR3	3,1
8	Karb3	-53,0	35	OR4	29,1
9	N1amin	-0,2	36	OR5	31,0
10	N1amid	-19,4	37	OR6	78,4
11	N1aryl	-5,4	38	S1	-4,8
12	N2amin	-7,0	39	S2	-3,7
13	N2amid	-7,7	40	S3	4,8
14	N2aryl	1,8	41	S5	-5,2
15	N4amin	-19,6	42	S6	-11,0
16	N4amid	-24,0	43	S7	-15,4
17	N4aryl	-14,0	44	Cl1	25,0
18	N5amin	4,4	45	Cl2	25,8
19	N5amid	6,0	46	Cl3	-1,9
20	N5aryl	8,4	47	Cl4	-12,6
21	N6amin	-1,0	48	Cl5	18,9
22	N6aryl	-20,5	49	Cl6	-4,9
23	N6amin	-4,6	50	Cl8	-12,7
24	O1	12,1	51	Br1	-8,4
25	O2	6,0	52	Br2	7,5
26	O3	-13,0	53	Br4	-14,5
27	O4	-9,6	54	Br5	3,1

Antall datapunkter = 147

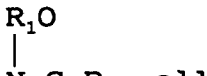
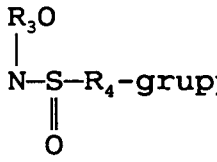
Standard regresjonsavvik = 20,7

Forkortelsene for substituentene er som følger:

"C" refererer til enhver alkyl- eller arylgruppe bundet til antrakinonringen ved en kovalent karbon-karbon-binding med unntak av karboksylsyregrupper.

"Karb" refererer til enhver karboksylsyregruppe, CO_2H, bundet til antrakinonringen.

"N-amin" refererer til enhver aminogruppe, NR_1R_2, hvor R_1 og R_2 kan være H eller alkyl; "N-amin" refererer også til NO_2, diazonium eller NO-grupper, fordi under de tilstedeværende reduksjonsbetingelser forventes disse og reduseres til amingrupper.

"N-amid" refererer til  eller -grupper,

hvor R_1, R_2, R_3 og R_4 kan være H, alkylgrupper eller arylringer.

"N-aryl" refererer til arylamingrupper, slik som fenylamino, eller en heterosyklisk aromatisk ring bundet til antrakinonringen ved karbon-nitrogen-karbonbindinger.

"O" refererer til hydroksylgruppen.

"OR" refererer til alkyl- eller aryletere.

"S" refererer til SO_3H-gruppen.

"Cl" og "Br" refererer til klor- og bromgruppene.

Nummeret ved siden av hver substituent refererer til posisjonen på antrakinonringen som substituenten er bundet til.

Antrakinoner anvendt ifølge foreliggende oppfinnelse for inhibering av sulfidproduksjon fra sulfatproduserende bakterier, inkluderer de følgende:

N-[1-(9,10-dihydro-9,10-diokso)antracenyl]-N'-(1-metyletyl)imidodikarbonimid-diamid-hydroklorid

CA Reg. nr.: Ingen

Kilde: E. I. du Pont de Nemours and Company

1-aminoantrakinon (97 %)

CA Reg. nr.: 82-45-1

Kilde: Aldrich Chemical Co., Inc.
940 West Saint Paul Avenue
Milwaukee, WI 53233

2-aminoantrakinon

CA Reg. nr.: 117-79-3

Kilde: Aldrich

1-amino-4-hydroksyantrakinon

CA Reg. nr.: 116-85-8

Kilde: Kodak Laboratory Chemicals
Building 70
Eastman Kodak Co.
343 State Street
Rochester, NY 14650

1,2-diaminoantrakinon

CA Reg. nr.: 1758-68-5

Kilde: Aldrich

2,6-dihydroksyantrakinon; antraflavinsyre

CA Reg. nr.: 84-60-6

Kilde: Aldrich

Antrakinon-2-karboksylsyre (98 %)

CA Reg. nr.: 117-78-2

Kilde: Aldrich

1,5-dihydroksyantrakinon; antrarufin (92 %)

CA Reg. nr.: 117-12-4

Kilde: Pfaltz og Bauer, Inc.
Avdeling Aceto Chemical Co., Inc.
172 East Aurora Street
Waterbury, CT 06708

1,2-dihydroksyantrakinon; alizarin

CA Reg. nr.: 72-48-0

Kilde: Aldrich

2,2'-[(9,10-dihydro-9,10-diokso-1,5-antracendiyl)-diimino]bis[5-metylbenzensulfonsyre], di-Na-salt; alizarin-fiolett 3R

CA Reg. nr.: 6408-63-5

Kilde: Aldrich

1,2,5,8-tetrahydroksyantrakinon; kinalizarin

CA Reg. nr.: 81-61-8

Kilde: Aldrich

4-amino-9,10-dihydro-1,3-dihydroksy-9,10-diokso-2-antracensulfonsyre, mononatriumsalt; kjerneekte rødt
CA Reg. nr.: 6409-77-4
Kilde: Aldrich

1,8-dihydroksyantrakinon; dantron
CA Reg. nr.: 117-10-2
Kilde: Aldrich

2,2'-[(9,10-dihydro-9,10-diokso-1,4-antracendiyl)-diimino]bis[5-metylbenzensulfonsyre],di-Na-salt; syregrønt 25
CA Reg. nr.: 4403-90-1
Kilde: Aldrich

1-amino-2,4-bromantrakinon
CA Reg. nr.: 81-49-2
Kilde: Pfaltz & Bauer

5-klor-1-antrakinonylamin
CA Reg. nr.: 117-11-3
Kilde: Pfaltz & Bauer

2-etylantrakinon (97+%)
CA Reg. nr.: 84-51-5
Kilde: Aldrich

1-hydroksyantrakinon (97 %)
CA Reg. nr.: 129-43-1
Kilde: Aldrich

2-(hydroksymetyl)antrakinon (97 %)
CA Reg. nr.: 17241-59-7
Kilde: Aldrich

1-amino-4-metoksyantrakinon
CA Reg. nr.: 116-83-6
Kilde: Aldrich

1-amino-6,7-diklorantrakinon
CA Reg. nr.: 5355-88-4
Kilde: Aldrich

Benz[a]antracen-7,12-dion (97 %)
CA Reg. nr.: 2498-66-0
Kilde: Aldrich

1,8-dihydroksy-3-metylantrakinon; krysofansyre
CA Reg. nr.: 481-74-3
Kilde: Aldrich

10-[(3-amino-2,3,6-trideoksy-alfa-L-lyksohekso-pyranosyl)oksy]-7,8,9,10-tetrahydro-6,8,11-trihydroksy-8-(hydroksyacetyl)-1-metoksy-5,12-naftacendion-hydroklorid; adriamycin-hydroklorid

CA Reg. nr.: 23214-92-8

Kilde: Aldrich

9,10-dihydro-4,5-dihydroksy-9,10-diokso-2-antracen-karboksylsyre; rhein

CA Reg. nr.: 478-43-3

Kilde: Aldrich

(8S-cis)-8-acetyl-10[(3-amino-2,3,6-trideoksy-alfa-L-lykso-heksopyranosyl)oksy]-7,8,9,10-tetrahydro-6,8,11-tri-hydroksy-1-metoksy-5,12-naftacendion-hydroklorid; daunomycin-hydroklorid

CA Reg. nr.: 20830-81-3

Kilde: Sigma Chemical Co., Inc.
P.O. Box 14508
Saint Louis, MO 63178

1,2,4-trihydroksyantrakinon; purpurin

CA Reg. nr.: 81-54-9

Kilde: Aldrich

1-aminoantrakinon-diazoniumsalt

CA Reg. nr.: 16048-40-1

Kilde: K & K Laboratories
Division of ICN Biomedicals, Inc.
4911 Commerce Parkway
Cleveland, OH 44128

2,2'-dimetyl-[1,1'-biantracen]-9,9',10,10'-tetron; 2,2'-dimetyl-1,1'-biantrakinon

CA Reg. nr.: 81-26-5

Kilde: Aldrich

3-(D-apio-beta-D-furanosyloksy)-1,8-dihydroksy-6-metyl-9,10-antracendion; frangulin B

CA Reg. nr.: 14101-04-3

Kilde: Pfaltz & Bauer

2-klorantrakinon 99 %

CA Reg. nr.: 131-09-9

Kilde: Aldrich

1,5-diklorantrakinon (96 %)

CA Reg. nr.: 82-46-2
Kilde: Aldrich
1,4,5,8-tetraklorantrakinon
CA Reg. nr.: 81-58-3
Kilde: K & K
1-klorantrakinon
CA Reg. nr.: 82-44-0
Kilde: Aldrich
1,8-diklorantrakinon (97 %)
CA Reg. nr.: 82-43-9
Kilde: Aldrich
2-brom-3-metylantrakinon
CA Reg. nr.: 84-44-6
Kilde: Pfaltz & Bauer
2-(2,2,2-trimetylpropionamido)antrakinon
CA Reg. nr.: Ingen
Kilde: Aldrich
2,6-bis[2-(dimetylamino)etoksy]-9,10-antracendion; tiloronanalog R11,043DA
CA Reg. nr.: 66686-31-5
Kilde: Sigma
2-metyl-1-nitroantrakinon
CA Reg. nr.: 129-15-7
Kilde: Lancaster Synthesis Ltd.
P.O. Box 1000
Windham, NH 03087
1-amino-9,10-dihydro-9,10-diokso-2-antracensulfonsyre; 1-aminoantrakinon-2-sulfonsyre
CA Reg. nr.: 83-62-5
Kilde: Aldrich
9,10-dihydro-5-nitro-9,10-diokso-1-antracensulfonsyre; 5-nitroantrakinon-1-sulfonsyre
CA Reg. nr.: 82-50-8
Kilde: Aldrich
3-klor-9,10-dihydro-9,10-diokso-2-antracenkarboksylsyre; 2-klorantrakinon-3-karboksylsyre
CA Reg. nr.: 84-32-2
Kilde: Pfaltz & Bauer
Antrakinon

CA Reg. nr.: 84-65-1
Kilde: Aldrich

1,8-dihydroksy-3-(hydroksymetyl)-antrakinon; aloe-emodin

CA Reg. nr.: 481-72-1
Kilde: Apin Chemicals, Ltd.
Unit 1
Milton Trading Estate
Near Abingdon
Oxon OX14 4RS
United Kingdom

7,16-diklor-6,15-dihydro-5,9,14,18-antrazintetron; 7,16-diklorindantron

CA Reg. nr.: 130-20-1
Kilde: K & K

1,2,3,4,5,8-heksahydroksyantrakinon; alizarin-cyanin

CA Reg. nr.: Ingen
Kilde: K & K

2,4,5,7-tetrabrom-1,8-dihydroksy-9,10-antracendion; 2,4,5,7-tetrabromkrysazin

CA Reg. nr.: 17139-66-1
Kilde: K & K

1,2,7-trihydroksyantrakinon; antrapurpurin

CA Reg. nr.: 602-65-3
Kilde: Pfaltz & Bauer

1,4,5-trihydroksy-2-metyl-9,10-antracendion; islandicin

CA Reg. nr.: 476-56-2
Kilde: Apin

1,4,5,7-tetrahydroksy-2-metyl-9,10-antracendion; catenarin

CA Reg. nr.: 476-46-0
Kilde: Apin

1,8-dihydroksy-3-metoksy-6-metyl-9,10-antracendion; physcion

CA Reg. nr.: 521-61-9
Kilde: Apin

1,4,5,8-tetrahydroksy-2-metyl-9,10-antracendion; cynodontin
CA Reg. nr.: 476-43-7
Kilde: Apin

1,5,8-trihydroksy-3-metyl-9,10-antracendion; helmintosporin
CA Reg. nr.: 518-80-9
Kilde: Apin

1-hydroksy-2-[(6-O-ß-D-xylopyranosyl-ß-D-glukopyranosyl)oksy]-9,10-antracendion; ruberythrinsyre
CA Reg. nr.: 152-84-1
Kilde: Apin

2-fenoksykinizarin-3,4'-disulfonsyre, di-K-salt
CA Reg. nr.: Ingen
Kilde: K & K

(+,-)-1-acetoksy-8-hydroksy-1,4,4a,9a-tetrahydroantrakinon
CA Reg. nr.: 73794-49-7
Kilde: Aldrich

1-amino-4-[[4-[(dimetylamino)metyl]fenyl]amino]-9,10-antracendion; basisk blått 47
CA Reg. nr.: 12217-43-5
Kilde: Aldrich

1,5-bis(2-karboksyanilino)-9,10-antracendion; akridylsyre
CA Reg. nr.: 81-78-7
Kilde: Sandoz Chemicals
4000 Monroe Road
Charlotte, NC 28205

1,8-dihydroksy-9-antranol; 1,8-dihydroksyantranol
CA Reg. nr.: 480-22-8
Kilde: Aldrich

1,2,10-antracentriol; antrarobin
CA Reg. nr.: 577-33-3
Kilde: Aldrich

1-amino-4-brom-2-metylantrankinon (99 %)
CA Reg. nr.: 81-50-5
Kilde: Aldrich

1,4-diaminoantrakinon (97 %)
CA Reg. nr.: 128-95-0
Kilde: Aldrich

2,6-diaminoantrakinon
CA Reg. nr.: 131-14-6
Kilde: Aldrich

1-amino-4[4-[[4-klor-6[[2,3 eller 4-sulfofenyl]-amino]-1,3,5-triazin-2-yl]amino]-3-sulfofenyl]amino]-9,10-dihydro-9,10-diokso-2-antracensulfonsyre; reaktivt blått 2; procionblått HB(S); cibacronblått 3G-A; basilenblått E-3G
CA Reg. nr.: 12236-82-7
Kilde: Aldrich

Antrakinon-1,5-disulfonsyre, di-Na-salthydrat (95 %)
CA Reg. nr.: 853-35-0
Kilde: Aldrich

Antrakinon-2,6-disulfonsyre, di-Na-salt
CA Reg. nr.: 84-50-4
Kilde: Aldrich

Antrakinon-2-sulfonsyre, natriumsaltmonohydrat
CA Reg. nr.: 131-08-8
Kilde: Aldrich

1,2-bis[(4-sulfofenyl)amino]-4-hydroksyantrakinon; alizarin-blåsvart B
CA Reg. nr.: 1324-21-6
Kilde: Aldrich

3-aminometylalizarin-N,N-dieddiksyre
CA Reg. nr.: 3952-78-1
Kilde: Pfaltz & Bauer

1-amino-4-[[3-(etenylsulfonyl)fenyl]-9,10-dihydro-9,10-diokso]-2-antracensulfonsyre, mononatriumsalt; syreblått 215
CA Reg. nr.: 14541-90-3
Kilde: Aldrich

1-(metylamino)antrakinon (98 %)
CA Reg. nr.: 82-38-2
Kilde: Aldrich

2,2'-[(9,10-dihydro-5,8-dihydroksy-9,10-diokso-1,4-antracendiyl)diimino]bis[5-metylbenzensulfonsyre], di-Na-salt; syregrønt 41

CA Reg. nr.: 4430-16-4
Kilde: Aldrich
2,2'-[(9,10-dihydro-9,10-diokso-1,4-antracendiyl)-diimino]bis[5-butylbenzensulfonsyre]; syregrønt 27
CA Reg. nr.: 6408-57-7
Kilde: Aldrich
1,1'-iminobis[4-amino]9,10-antracendion, sulfonert; syresvart 48
CA Reg. nr.: 1328-24-1
Kilde: Aldrich
1-amino-9,10-dihydro-9,10-diokso-4-(fenylamino)-2-antracensulfonsyre, Na-salt; syreblått 25
CA Reg. nr.: 6408-78-2
Kilde: Aldrich
4-[[4-(acetylamino)fenyl]amino]-1-amino-9,10-dihydro-9,10-diokso-2-antracensulfonsyre, Na-salt; syreblått 40
CA Reg. nr.: 6424-85-7
Kilde: Aldrich
1-amino-9,10-dihydro-9,10-diokso-4-[[3[[2-(sulfo-oksy)etyl]-sulfonyl]fenyl]amino]-2-antracensulfonsyre, dinatriumsalt; remazol briljant-blått R;
CA Reg. nr.: 2580-78-1
Kilde: Aldrich
1-amino-4[[3-[4,6-diklor-1,3,5-triazin-2-yl)amino]-4-sulfofenyl]amino]-9,10-dihydro-9,10-diokso-2-antracensulfonsyre; reaktivt blått 4
CA Reg. nr.: 13324-20-4
Kilde: Aldrich
1-(9,10-dihydro-9,10-diokso-1-antracenyl-1,2-hydrazindisulfonsyre, di-Na-salt; (1-antrakinonyl)-1,2-hydrazindisulfonsyre, di-Na-salt
CA Reg. nr.: 54345-83-4
Kilde: K & K
9,10-dihydro-5,6-dihydroksy-9,10-diokso-1-antracen-sulfonsyre; alizarin-5-sulfonsyre
CA Reg. nr.: 6373-42-8

Kilde: Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd.
c/o CTC Organics
792 Windsor Street
P.O. Box 6933
Atlanta, GA 30315

N-(4-klor-9,10-dihydro-9,10-diokso-1-antracenyl)-benzamid; 1-benzamido-4-klorantrakinon
CA Reg. nr.: 81-45-8
Kilde: Aldrich

1-amino-4-brom-9,10-dihydro-9,10-diokso-2-antracensulfonsyre, Na-salt; 1-amino-4-bromantrakinon-2-sulfonsyre, Na-salt
CA Reg. nr.: 6258-06-6
Kilde: Aldrich

1-amino-9,10-dihydro-4[[(4-metylfenyl)sulfonyl]-amino]-9,10-diokso-2-antracensulfonsyre, Na-salt; 1-amino-4-(p-toluensulfonamido)antrakinon-2-sulfonsyre, Na-salt
CA Reg. nr.: 64981-00-6
Kilde: Aldrich

9,10-dihydro-9,10-diokso-2,3-antracendikarboksylsyre
CA Reg. nr.: 27485-15-0
Kilde: Aldrich

1,1'-iminobis(4-nitro-9,10-antracendion)
CA Reg. nr.: 128-88-1
Kilde: Pfaltz & Bauer

1-amino-4-klor-2-metylantrakinon
CA Reg. nr.: 3225-97-6
Kilde: Aldrich

2,3-dimetyl-1,4-dihydroksyantrakinon; 2,3-dimetyl-kinizarin
CA Reg. nr.: 25060-18-8
Kilde: Aldrich

6-metyl-1,3,8-trihydroksyantrakinon; emodin (99 %)
CA Reg. nr.: 518-82-1
Kilde: Aldrich

1,4-bis(metylamino)-antrakinon
CA Reg. nr.: 2475-44-7
Kilde: Aldrich

N-(4-amino-9,10-dihydro-3-metoksy-9,10-diokso-1-antracenyl)-4-metylbenzensulfonamid; N-(4-amino-3-metoksy-antrakinon-1-yl)-p-toluensulfonamid; 1-amino-2-metoksy-4-(p-tolylsufonamido)antrakinon

CA Reg. nr.: 81-68-5

Kilde: Aldrich

[1,1'-biantracen]-9,9'10,10'-tetron; 1,1'-biantrakinon

CA Reg. nr.: 914-20-5

Kilde: Columbia Organic Chemical Co., Inc.
P.O. Box 1045
Camden, SC 29020

6,7-diklor-1,4-dihydroksyantrakinon (97 %)

CA Reg. nr.: 1225-15-6

Kilde: Aldrich

2-[[9,10-dihydro-4-(metylamino)-9,10-diokso-1-antracenyl]amino]-5-metyl-benzensulfonsyre, mononatriumsalt; alizarinastrol B-CF

CA Reg. nr.: 6408-51-1

Kilde: Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd.

2,8-difenyl-antra[2,1-d:6,5-d']bistiazol-6,12-dion; indantrengult GCN

CA Reg. nr.: 129-09-9

Kilde: Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd.

2-metoksy-3-metyl-9,10-antracendion

CA Reg. nr.: 17241-42-8

Kilde: Aldrich

1,4-bis[(1-metyletyl)amino]-9,10-antracendion; 1,4-di(isopropylamino)antrakinon

CA Reg. nr.: 14233-37-5

Kilde: K & K

1,4-bis[(2,4,6-trietylfenyl)amino]-9,10-antracendion; 1,4-bis(2,4,6-trietylanilino)antrakinon

CA Reg. nr.: 116-74-5

Kilde: K & K

1-(2-hydroksyetyl)amino-4-metylaminoantrakinon; dispers-blått 3

CA Reg. nr.: 2475-46-9

Kilde: Aldrich

1,4-bis[(4-metylfenyl)amino]9,10-antracendion; "Solvent-grønt 3"
CA Reg. nr.: 128-80-3
Kilde: Aldrich

2-amino-3-hydroksyantrakinon
CA Reg. nr.: 117-77-1
Kilde: Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd.

1-(bromtio)antrakinon
CA Reg. nr.: Ingen
Kilde: Aldrich

1,8-bis(fenylmetoksy)-9,10-antracendion; 1,8-dibenzyloksyantrakinon
CA Reg. nr.: 69595-66-0
Kilde: Aldrich

1-amino-2-(2-aminoetyltio)-4-hydroksyantrakinon
CA Reg. nr.: Ingen
Kilde: Aldrich

1,4-bis(pentylamino)-9,10-antracendion; oljeblått N
CA Reg. nr.: 2646-15-3
Kilde: Aldrich

1-amino-2-brom-4-hydroksyantrakinon
CA Reg. nr.: 116-82-5
Kilde: Aldrich

2-propionamidoantrakinon
CA Reg. nr.: Ingen
Kilde: Aldrich

1,4-diamino-2,3-bis(2-fenoksyetoksy)antrakinon
CA Reg. nr.: 41313-11-5
Kilde: Aldrich

N-(5-klor-9,10-dihydro-9,10-diokso-1-antracenyl)-benzamid; 1-benzamido-5-klorantrakinon
CA Reg. nr.: 117-05-5
Kilde: Aldrich

Antrakinon-1-arsonsyre
CA Reg. nr.: Ingen
Kilde: K & K

N,N'-[iminobis(9,10-dihydro-9,10-diokso-4,1-antracendiyl)]-bisbenzamid; 4,4'-dibenzamido-1,1'-diantrimid
CA Reg. nr.: 128-79-0

Kilde: Aldrich

1,4,5,8-tetraaminoantrakinon; dispers-blått 1

CA Reg. nr.: 2475-45-8

Kilde: Aldrich

2-metylantrakinon

CA Reg. nr.: 84-54-8

Kilde: Aldrich

9,10-dihydro-9,10-diokso-2,7-antracendisulfonsyre, di-Na-salt; antrakinon-2,7-disulfonsyre, di-Na-salt

CA Reg. nr.: 853-67-8

Kilde: K & K

1,2,3-trihydroksyantrakinon; antragallol

CA Reg. nr.: 602-64-2

Kilde: K & K

Karmin (Aluminium-lakkrødt)

CA Reg. nr.: 1390-65-4

Kilde: Fisher Scientific Co., Inc.
711 Forbes Avenue
Pittsburg, PA 15219

9,10-dihydro-1,4-dihydroksy-9,10-diokso-2-antracensulfonsyre

CA Reg. nr.: 145-48-2

Kilde: Pfaltz & Bauer

2-amino-3-klorantrakinon

CA Reg. nr.: 84-46-8

Kilde: Kodak

1-antrakinonsulfonsyre, Na-salt

CA Reg. nr.: 128-56-3

Kilde: Kodak

2-tert.-butylantrakinon (98 %)

CA Reg. nr.: 84-47-9

Kilde: Aldrich

1,4-dihdyroksyantrakinon

CA Reg. nr.: 82-64-1

Kilde: Lancaster

1,5-diamino-4,8-dihydroksyantrakinon

CA Reg. nr.: 145-49-3

Kilde: Lancaster

1-hydroksy-4-[(4-metylfenyl)amino]-9,10-antracendion; 1-hydroksy-4-(p-toluidino)-antrakinon
CA Reg. nr.: 81-48-1
Kilde: Sigma

1,4-dimetylantrakinon (95 %)
CA Reg. nr.: 1519-36-4
Kilde: Pfaltz & Bauer

1,1'-iminobis-9,10-antracendion; diantrimid
CA Reg. nr.: 82-22-4
Kilde: Pfaltz & Bauer

2-(syklopropylkarboksamido)antrakinon
CA Reg. nr.: Ingen
Kilde: Aldrich

1-amino-2-metylantrakinon; dispers-orange 11
CA Reg. nr.: 82-28-0
Kilde: Sigma

2-[(9,10-dihydro-4-hydroksy-9,10-diokso-1-antracenyl)amino]-5-metyl-benzensulfonsyre, Na-salt; "Solway purpur R"
CA Reg. nr.: 4430-18-6
Kilde: K & K

2,2'-[(9,10-dihydro-5,8-dihydroksy-9,10-diokso-1,4-antracendiyl)diimino]bis[5-metyl]benzensulfonsyre; alizarin-viridin
CA Reg. nr.: 4430-16-4
Kilde: K & K

1,4-bis(etylamino)-9,10-antracendion; sudan-blått
CA Reg. nr.: 6994-46-3
Kilde: K & K

1,4-diamino-5-nitroantrakinon
CA Reg. nr.: 82-33-7
Kilde: K & K

N-benzyl-9,10-dihydro-9,10-diokso-2-antracen-sulfonamid
CA Reg. nr.: Ingen
Kilde: Aldrich

2-bromantrakinon
CA Reg. nr.: 572-83-8
Kilde: E. I. du Pont de Nemours and Company

1-fluorantrakinon
CA Reg. nr.: 569-06-2
Kilde: E. I. du Pont de Nemours and Company

1-cyanoantrakinon
CA Reg. nr.: 38366-32-4
Kilde: E. I. du Pont de Nemours and Company

2-trifluormetylantrakinon
CA Reg. nr.: 362-21-0
Kilde: E. I. du Pont de Nemours and Company

Alle de ovennevnte forbindelser med unntak av N-[1-(9,10-dihydro-9,10-diokso)antracenyl]-N'-(1-metyletyl)imidodikarbonimid-diamid-hydroklorid er kommersielt tilgjengelige. N-[1-(9,10-dihydro-9,10-diokso)antracenyl]-N'-(1-metyletyl)-imidodikarbonimid-diamid-hydroklorid er imidlertid en ny forbindelse og ble syntetisert som følger: En treliters rundbunnet kolbe ble tilsatt 18,2 g (3,09 mol) isopropylamin. Etter avkjøling av kolben til -70°C i et bad av tørris og aceton, ble det tilsatt 304,5 g konsentrert (37 %) saltsyre (3,09 mol). Blandingen ble oppvarmet til romtemperatur og vann ble fjernet med en rotasjonsfordamper ved aspiratortrykk. Til den tørre rest ble det tilsatt 275,3 g (3,09 mol) natriumdicyanamid og 760 ml 1-butanol. Blandingen ble oppvarmet under tilbakeløpskoking i 3 t og deretter ble butanolen fjernet med en rotasjonsfordamper ved aspiratortrykk. Til resten i kolben ble det tilsatt 1.800 ml 1,4-dioksan. Det ble dannet et litt klebrig bunnfall som ble filtrert og rekrystallisert fra fire liter 1,4-dioksan for å gi 379 g N-cyano-N'-isopropylguanidin i form av et kopresipitat med noe NaCl, 1,4-dioksan og isopropylamin.

Beregning for $C_5H_{10}N_4(NaCl)0,1(C_4H_8O_2)0,1(C_3H_9N)0,15$
Beregnet: C 46,94, H 8,18, N 38,83, Cl 2,37
Funnet: C 46,85, H 8,27, N 38,42, Cl 2,44

Til 5,02 g 1-aminoantrakinon (0,0225 mol) ble det tilsatt 2,22 g (0,0225 mol) konsentrert (37 %) saltsyre. Blandingen ble tørket ved 95°C i en rotasjonsfordamper for å gi et frittflytende pulver. Deretter ble 20 ml 1-butanol og 4,26 g N-cyano-N'-isopropylguanidin, fremstilt som angitt ovenfor, tilsatt til kolben og blandingen ble tilbakeløpskokt

i én time. Blandingen ble deretter avkjølt til romtemperatur (tilnærmet 22°C). Reaksjonen ble bedømt til å være fullstendig pga. fravær av en infrarød cyanogruppestrekkfrekvens ved 2.180 cm^{-1}. Produktet ble utfelt ved tilsetning av 100 ml dietyleter og lufttørket for å gi 5,86 g N-[1-(9,10-dihydro-9,10-diokso)antracenyl]-N'-(1-metyletyl)imidodikarbonimid-diamid-hydroklorid med karakteristisk infrarød absorpsjon ved 1.640, 1.601, 1.540 og 1.285 cm^{-1}.

De foretrukne antrakinoner som inhibitorer av sulfid-produksjon fra sulfatreduserende bakterier, er: 1,8-di-hydroksyantrakinon, 1-klorantrakinon, 2-klorantrakinon og 3-klor-2-antrakinonkarboksylsyre. Dersom sulfatreduserende bakterier vokser ved respirasjon av sulfat (hvilken er dyrkingsmåten fra hvilken bakteriene erholder mest energi eller vekst), vil inhibering av sulfidproduksjon føre til opp-hør av bakterievekst. Opphør av bakterievekst under disse betingelser fører ikke nødvendigvis til celledød og utelukker ikke at bakteriene anvender andre energiproduserende reaksjonsveier som ikke involverer sulfat som elektron-akseptor, som tidligere akseptert.

Et antall forskjellige sulfatreduserende bakterier, så vel som flere andre organismer, er egnede for anvendelse ved foreliggende oppfinnelse og ble anvendt i eksperimentene beskrevet i foreliggende patentsøknad. De ble alle dyrket i mediene BTZ-3, BTZ-3 supplert med andre kjemikalier, eller BTZ-4. Disse medier vil beskrives i det etterfølgende. Organismene anvendt i eksperimentene ble erholdt fra de nedenfor angitte kilder, men de er tilgjengelige fra American Type Culture Collection, 12301 Parklawn Drive, Rockville, MD 20852. For anvendelse i de etterfølgende eksperimenter ble Desulfovibrio desulfuricans G100A isolert ved E. I. du Pont de Nemours and Company, Wilmington, DE; D. desulfuricans API ble erholdt fra American Petroleum Institute; D. salexigens, D. vulgaris, D. desulfuricans 27774 og D. desulfuricans Norway ble erholdt fra laboratoriet til Dr. H. D. Peck Jr. University of Georgia, Athens GA 30601 og ble dyrket i BTZ-3-medium supplert med sterilt natriumlaktat (60 mM) og natriumsulfat (30 mM). Stammene D. salexigens og D. desulfuricans Norway ble dyrket i BTZ-3-medium ytterligere supplert med natriumklorid

til en sluttkonsentrasjon på 0,4 M. BTZ-3-medium ble anvendt for å dyrke Escherichia coli og T. denitrificans, men mediet ble deretter supplert forskjellig for hver organisme til å inneholde 5 mM glukose for E. coli og 25 mM natriumtiosulfat og 10 mM natriumnitrat for T. denitrificans. Vekstbetingelser for alle de ovennevnte organismer var strengt anaerobe i en nitrogenatmosfære. Når reduksjonsmidler ble tilsatt til mediet ble det anvendt en reduksjonsmiddelblanding med følgende sammensetning:

Natriumsulfid-9-hydrat	50 mM
Cystein-hydroklorid	50 mM
i 0,1 N natriumhydroksid	

Det kan foreligge et problem ved utlevering av en kjent mengde av et antrakinon til et vandig system, fordi disse forbindelser ikke er lett oppløselige i vann. Det kan derfor fordres oppløsningsmiddelsystemer for nøyaktig å utlevere konsentrerte mengder inhibitor. Egnede oppløsningsmidler for anvendelse heri omfatter vannblandbare oppløsningsmidler. Eksempler på slike oppløsningsmidler inkluderer, men er ikke begrenset til, vann, detergentemulsjoner i vann, etanol, aceton, metanol, dimetylsulfoksid, dimetylformamid eller tetrahydrofuran. Pga. forbindelsenes uoppløselighet i vann, kan man ikke være sikker på at sluttkonsentrasjonen av en forbindelse på en lineær måte er overensstemmende med den tilsatte mengde i det organiske oppløsningsmiddel. Vannoppløseligheten av f.eks. 1,8-dihydroksyantrakinon er 2-3 ppm, men det er vist at tilsetninger av større mengder av forbindelsen har ytterligere inhibitorisk effekt og derfor er det ofte nødvendig og fordelaktig at inhibitoren tilsettes i en større mengde enn dens teoretiske oppløselighet.

I de foreliggende eksperimenter ble antrakinonet som skulle testes, typisk oppløst til en konsentrasjon på 300 ppm i etanol:vann (80:20, 20 mM natriumfosfatbuffer pH 7). Dette ble gjort for å utlevere forbindelsen til en voksende bakteriesuspensjon i BTZ-3-medium. Selv om dette er det foretrukne oppløsningsmiddel, har andre oppløsningsmidler, slik som aceton, metanol-vann (80:20), dimetylformamid og tetrahydrofuran, vist seg å være like virkningsfulle. pH i etanol-

vannsystemet kan være fra 5 til 12 uten noen påviselig pH-effekt. Det foreligger ingen grunn til å mistenke at forbindelsen må utleveres i etanol-vannbufferen eller i aceton eller i et hvilket som helst spesielt organisk oppløsningsmiddel. Avhengig av det spesielle system eller det spesielle antrakinon kan den faste forbindelse faktisk tilsettes direkte til systemet.

Eksperimenter har påvist at forbindelsene er effektive ved en sluttkonsentrasjon på minst 0,1 ppm. Når et inhibitorisk antrakinon tilsettes til en voksende kultur av Desulfovibrio sp., opphører vekst og sulfiddannelse umiddelbart ved antrakinonkonsentrasjoner på 3 ppm. Dette opphør varer typisk i flere dager, hvoretter veksten fortsetter. Denne effekt er vist med flere forskjellige arter av Desulfovibrio i ren kultur. Det er også funnet at kulturens redokspotensial påvirker antrakinonets virkningsfullhet. Forbindelser er mest effektive når de tilsettes til en kultur i tidlig eksponensiell vekst hvor noe sulfid allerede er dannet, og således forårsaker at mediet er mer redusert enn uinokulert medium. Forbindelser har imidlertid noe inhiberende effekt når de tilsettes til oksidert medium som deretter inokuleres. Det er vist at anvendelse av et reduksjonsmiddel kan forhøye inhiberingseffekten selv når inhibitoren tilsettes samtidig med inokulatet. Et foretrukket reduksjonsmiddel er natriumsulfid ved konsentrasjoner mellom tilnærmet 2 og 4 mM i mediet. Dette aspekt tyder på at forbindelsene er mest effektive under anaerobe, reduserte betingelser, noe som f.eks. vil foreligge i en anaerob septiktank for kloakkbehandling, eller i et annet henseende kan forbindelsene tenkes å bli aktivert av sluttproduktet fra sulfatreduksjonen som er sulfid.

Inhibitorer av bakteriers sulfidproduksjon kan også screenes automatisk. Selv om enhver sulfidproduserende bakterie kan anvendes, ble det i de beskrevne eksperimenter anvendt et isolat av Desulfvibrio desulfuricans (stamme G100A) fra et oljefelt. Isoleringen av og de fysiologiske karakteristika for denne stamme, er tidligere beskrevet av Weimer et al., 1988, Appl. Environ. Microbiol. 54:386-396. Fremgangsmåten omfatter: a) en kultur av sulfatreduserende

bakterier opprettholdes i eksponensiell vekstfase ved kjemostatdyrking av organismene; b) en oppløsning av forbindelsen som skal testes, bringes i en automatisk analysator i kontakt med en aliquot av kulturen fra trinn a); c) et substrat tilsettes til forbindelsen og kulturen for å initiere sulfidproduksjon; d) kulturen, forbindelsen og substratblandingen inkuberes for å tillate sulfidproduksjon; og e) mengden av produsert sulfid måles.

Systemet er vist skjematisk i fig. 1. De aktuelle inhibitorer utleveres fra en automatisk prøvetaker (1) til bakteriekulturstrømmen (2) (bakteriekulturen var nydyrket og overført fra kjemostaten til en 158 ml serumampulle og overstrømmet med argon eller nitrogen i tilnærmet 1 time for å redusere bakgrunnsnivået av sulfid til under 0,2 mM). Umiddelbart innføres små bobler av nitrogengass (3) i bakteriekultur/inhibitorstrømmen for å danne atskilte væskesegmenter. Etter gjennomstrømming av en ti-vendingers blandespiral (4) (påkrevd tid er tilnærmet 1,6 min), innføres substratoppløsning (5) [10 mM Na-laktat, 5 mM Na_2SO_4 og fra 0,1 % til 0,2 % sluttkonsentrasjon av en 30 % stamoppløsning av "Brij 35" (v/v) (varemerke fra Atlas Chemical Industries, Inc. og tilgjengelig fra Fisher Scientific Co., Fairlawn, NJ 07410)] i hvert væskesegment. Segmentene strømmer gjennom systemets nedstrøms rør (6) i tilnærmet 18 min, ved hvilket punkt en liten mengde 0,03 N svovelsyre (7) tilsettes for å redusere pH til tilnærmet 4,5. Ved denne pH opphører sulfatreduksjon og mer enn 99 % av sulfidanionene (S^{--} og HS^-) er omdannet til H_2S uten at bakteriecellene er lysert. H_2S diffunderer gjennom en gasspermeabel silikonmembran (8) og opptas av en meget fortynnet oppløsning av "Brij 35"-overflateaktivt middel (9), som medvirker ved opprettholdelse av integriteten av de individuelle væskesegmenter. Sulfidet omsettes deretter med N,N-dimetyl-p-fenylendiaminsulfat eller dihydroklorid (DPD,10) og jern(III)-klorid (11) for å danne metylenblått, hvis konsentrasjon bestemmes ved hjelp av den spektrofotometriske gjennomstrømmingscelle (12) ved slutten av reaksjonssystemet.

Bokstavene A-D på fig. 1 angir gjennomstrømningshastigheter for polyvinylkloridpumperør og de tilsvarende mansjettfarger som følger: A = orange/grønn 0,10 ml/min; B =

orange/hvit 0,23 ml/min; C = svart/svart 0,32 ml/min; D = rød/rød 0,8 ml/min. Et slikt rørsystem er tilgjengelig fra Technicon Instruments Corp., Tarrytown, N.Y., som "Flow Rated Pump Tube", fra Precision Technology, Inc., 375 Oaktree Rd., Palisades, N.Y., 10964, som "Acculab Flow Rated Pump Tubes" og fra Elkay Products via Fisher Scientific Co., Fairlawn, N.J., 07410 som "AccuRated pump tubing". Kultur-, inhibitor- og substratoppløsninger tilsettes typisk i ekvivalente volumer. Typisk anvendte reagenskonsentrasjoner er som følger: substrat = 1,12 g natriumlaktat + 0,71 g Na_2SO_4/L; DPD = N,N-dimetyl-p-fenylendiamin-sulfat eller -dihydroklorid ved 1,19 g/L i 1,14 N HCl; $FeCl_3$ = 3,1 g/L i 1,14 N HCl; overflateaktivt middel = 1,0 ml/L av 30 % "Brij 35". Bokstaven T representerer antall vendinger av glassblandespiralene. Alle anvendte deler var standarddeler for "Technicon" "AutoAnalyzer II", tilgjengelige fra "Technicon" Instruments Corporation, 511 Benedict Avenue, Tarrytown, NY 10591. Lignende utstyr som tilveiebringer ekvivalente resultater, kan også anvendes.

For å opprettholde anaerobe betingelser for bakteriene og for å forhindre oksidasjon av sulfidet som dannes under inkubasjonen, oppbevares hele apparaturen inne i en tettsittende, anaerob pose (Coy Manufacturing Co., Ann Arbor, Michigan). Oversprøyting av kulturbeholderen må imidlertid unngås fordi dette reduserer bakgrunnsnivået for sulfid i kulturen og således forårsaker forskyvninger i basislinjen.

Nettomengden av produsert sulfid bestemmes ved å subtrahere bakgrunnsmengden sulfid produsert ved å kombinere friskt kulturfiltrat med laktat/sulfat og vann (i stedet for inhibitoroppløsningen), fra mengden sulfid produsert ved å kombinere kultur, laktat/sulfat og vann. Kulturfiltratet erholdes ved å filtrere den oversprøytede kjemostatprøve, beskrevet ovenfor, gjennom et 0,2 µm filter; denne filtrering utføres i den tettsittende pose for å forhindre oksidasjon av sulfidet. For å tilveiebringe en basislinjemåleverdi for sulfidproduksjon av ikke-inhiberte kulturer, innsettes en beholder med N_2-oversprøytet vann mellom hver inhibitor-testbeholder i den automatiske prøvetaker. Sulfidproduksjonen som resulterer fra denne kombinasjon av vann, kultur og

laktat/sulfat, representerer mengden av sulfid produsert av den ikke-inhiberte kultur. En typisk kurve for en testserie fra en "AutoAnalyzer" er vist i fig. 2. A angir 0,45 mM natriumsulfidstandarden pluss laktat/sulfat pluss vann. B er kulturfiltratet pluss laktat/sulfat pluss vann. C er cellesuspensjonen pluss laktat/sulfat pluss vann. Tallene 1-12 angir forskjellige testforbindelser pluss cellesuspensjon med substrat. Punktene angitt med en prikk ovenfor hver nedoverrettet topp, representerer nivået av sulfid i ikke-inhiberte kulturer. Bemerk at innsettelsen av en vannampulle mellom hver inhibitorprøve tilveiebringer en passende markør for bestemmelse av inhiberingsgraden erholdt for hver forbindelse. Inhiberingsgraden av sulfat beregnes som følger:

$$\% \text{ inhibering} = 1 - \frac{\text{netto mM sulfid i nærvær av inhibitor}}{\text{netto mM sulfid i fravær av inhibitor}} \times 100$$

Fordi den automatiserte analysebestemmelse er basert på måling av sulfidproduksjon, vil testforbindelser som reagerer med sulfid (enten ved oksidasjon, kompleksdannelse eller utfelling), gi en for lav nettomengde av dannet sulfid og således gi en for høy inhiberingsgrad. Påvisningen av en slik reaktivitet kan vanligvis oppnås ved hjelp av denne analysebestemmelsesmetode dersom den anvendte cellesuspensjon har et moderat bakgrunnsnivå av sulfid; reaktive forbindelser vil ofte gi en sulfidtopp under toppen erholdt fra selve filtratet (fig. 2, topp 9), spesielt hvis inhibitorprøven testes ved en forholdsvis høy konsentrasjon. Det er imidlertid essensielt at alle forbindelser som synes å forårsake en netto reduksjon i sulfiddannelse, testes på nytt for deres reaktivitet med sulfid i fravær av aktive celler. Dette oppnås enklest ved å anvende en automatisert analysator til å kombinere testforbindelse, laktat/sulfat og (i stedet for en bakteriesuspensjon) en standardoppløsning (f.eks. 0,5 mM) natriumsulfid. Reaksjonen med sulfid påvises som en reduksjon i dannelsen av metylenblått som påvises ved hjelp av spektrofotometeret.

Under normale driftsbetingelser innstilles instrumentets registreringskurve slik at fullt utslag enten tilsvarer 0,5 eller 1,0 mM sulfid. En stabil kurve tillater på-

visning av endringer i sulfidproduksjon på 5 til 10 µM (0,01 x absorpsjon ved fullt utslag). Den relative sensitivitet kan ytterligere forhøyes ved å øke den totale mengde dannet sulfid (f.eks. ved å forlenge reaksjonsveien).

Screeningtesten er blitt anvendt for å teste mange forskjellige forbindelser for deres evne til å inhibere bakteriell sulfidproduksjon. Det er også blitt anvendt til å evaluere lovende inhibitorer med hensyn til konsentrasjonseffekter og bibeholdelse eller tap av inhibitorisk aktivitet etter utsettelse for miljømessige belastninger (f.eks. ekstreme temperaturer eller saltinnhold). Metodens høye grad av automatisering tillater ubemannet drift og maksimaliserer prøvegjennomstrømming (spesielt dersom det anvendes et 144-prøvers automatisert prøvetakerbrett), mens den høye grad av reproduserbarhet som tilveiebringes ved anvendelse av kjemostatdyrkede celler, bibeholdes. Metoden har vært effektiv ved hurtig å identifisere forbindelser som inhiberer sulfidproduksjon fra sulfatreduserende bakterier. Den forhøyede reproduserbarhet av analysebestemmelsesmetoden som et resultat av anvendelse av kjemostatdyrkede bakterier, overensstemmer med rapporten ifølge Lagarde et al., 1976, Corrosion, Traitments, Protection, Finition 15: 275-280, som screenet inhibitorer ved å bestemme endringer i bakteriecelletetthet og sulfidproduksjon etter direkte tilsetning av testforbindelser til kjemostater inneholdende sulfatreduserende bakterier. Selv om denne metode tilveiebrakte reproduserbare data, er den ikke praktisk for screening av et stort antall forbindelser pga. det begrensede antall kjemostater som kan opprettholdes samtidig og på grunn av den lange tid som fordres for å re-etablere biologiske og kjemiske likevektsbetingelser etter tilsetning av inhibitor.

De følgende eksempler viser resultatene fra screeningprosessen (dvs. inhibering av sulfidproduksjon) og andre aspekter ved antrakinoners inhibering av sulfidproduksjon.

Eksempel 1

Screening av antrakinoner med hensyn til inhibering av sulfidproduksjon fra Desulfovibrio desulfuricans G100A

En kultur av Desulfovibrio desulfuricans G100A ble

opprettholdt i eksponensiell vekstfase ved kjemostatdyrking av organismen. Organismen ble opprettholdt i en enkelttrinns kjemostat (arbeidsvolum = 1 liter) kontinuerlig tilført BTZ-4-medium som er BTZ-3-medium modifisert til å inneholde 40 mM natriumlaktat som vekstbegrensende næringsmiddel, og en redusert (til 0,05 mM) mengde toverdig jern. Mediet betegnet BTZ-3 bestod av den følgende mineralbasis:

Ammoniumsulfat	5,3 g
Kaliumdihydrogenfosfat	0,68 g
(eller dikaliumhydrogenfosfat	0,087 g)
Magnesiumsulfatheptahydrat	0,2 g
Kalsiumkloriddihydrat	0,1 g
Mineraloppløsning 10X	1,0 ml
Jernsulfatheptahydrat	0,0042 g
Deionisert vann til et sluttvolum på 1 liter	

Sammensetning av 10X mineraloppløsning:

Nitrilotrieddiksyre	12,8 g
Kopper(II)klorid·$2H_2O$	0,254 g
Mangankloride·$4H_2O$	1,0 g
Koboltklorid·$6H_2O$	3,115 g
Sinkklorid	1,0 g
Borsyre	0,1 g
Natriummolybdat·$2H_2O$	0,1 g
Nikkelklorid·$6H_2O$	1,84 g
Deionisert vann til 1.000 ml	
pH til 7,0	

Kjemostaten ble operert ved omgivelsestemperatur (19 til 24°C), pH 7,9-8,2 og en fortynningshastighet på 0,035 pr. time. Bakteriekonsentrasjoner (som bestemt ved direkte telling i et Petroff-Hauser-tellingskammer og et fasekontrast-mikroskop) lå konsekvent mellom 7 og 9 x 10^8 celler pr. ml. Ved den automatiserte screening i dette eksempel ble det anvendt en "Technicon" "AutoAnalyzer II", både som en inkubator for å utsette kjemostatdyrkede bakterier for forskjellige inhibitorer i nærvær av bakterievekstsubstrater (laktat og sulfat) og som en analysator for mengden av dannet H_2S som en konse-

kvens av inkubasjonen. Hver av forbindelsene ble således testet med bakterier fra den samme stamme ved tilnærmet den samme bakteriecelletetthet (dvs. 7-9 x 10^8 celler/ml) og i den samme vekstfase (eksponensiell). Forbindelsene ble fremstilt som 300 ppm-oppløsninger i etanol:vandig fosfatbuffer (80:20, 20 mM fosfat, pH 7). Etter oppløsning av forbindelsen i denne løsning ble oppløsningen fortynnet 10 ganger og en aliquot ble plassert i "AutoAnalyzer". Tilsetning av aliquoten av forbindelse i bakteriesuspensjonen førte til ytterligere 3 gangers fortynning og forbindelsene ble således i virkeligheten presentert for cellene i en konsentrasjon på 10 ppm (teoretisk) under tilstedeværelse av 2,7 % etanol og 0,7 mM fosfat. Kontrollprøver med kun oppløsningsmiddel (minus testforbindelse) ble utført for hver testet forbindelse. En ytterligere anvendt kontrollprøve var klorheksidin, et sterktvirkende ikke-spesifikt baktericid som også inhiberer sulfidproduksjon. Inhibering med denne forbindelse var en indikator for analysebestemmelsens samlede reproduserbarhet og resultater ble uttrykt både som total prosentvis inhibering av sulfidproduksjon og inhibering relativt til klorheksidininhibering.

I "AutoAnalyzer" ble forbindelsene blandet med bakteriesuspensjonen og inkubert i tilnærmet 1,6 min, ved hvilket tidspunkt substratene for sulfidproduksjon ble tilsatt (10 mM natriumlaktat og 5 mM natriumsulfat). Denne blanding ble deretter inkubert i ytterligere 18 min for å tillate dannelse av sulfid. Reaksjonen ble stanset ved å fordampe det dannede sulfid med en liten mengde svovelsyre, etterfulgt av måling av det dannede sulfid som beskrevet i detalj ovenfor. De resulterende data er oppsummert i tabell I.

I tabell I indikerer angivelsen "<10 ppm" at forbindelsen ikke var fullstendig oppløselig ved visuell undersøkelse av prøveampullene ved en konsentrasjon på 30 ppm i 8 % EtOH før 3-gangersfortynningen i analysatoren. Angivelsen "<<10 ppm" indikerer at det forelå meget liten oppløselighet ved visuell undersøkelse av prøveampullene ved en konsentrasjon på 30 ppm i 8 % EtOH før 3-gangersfortynningen i analysatoren.

Tabell I

Forbindelse:	N-[1-(9,10-dihydro-9,10-diokso)antracenyl]-N'-(1-metyletyl)imidodikarbonimid-diamid-hydroklorid
% inhib.	83,1 % (10 µM-3 % EtOH)
Forbindelse:	1-aminoantrakinon (97 %)
% inhib.	28,4 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH
Forbindelse:	2-aminoantrakinon
% inhib.	30,4 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH
Forbindelse:	1-amino-4-hydroksyantrakinon
% inhib.	54,3 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH
Forbindelse:	1,2-diaminoantrakinon
% inhib.	28,9 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH
Forbindelse:	2,6-dihydroksyantrakinon; antraflavinsyre
% inhib.	28,2 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH
Forbindelse:	Antrakinon-2-karboksylsyre (98 %)
% inhib.	22,6 % @ <10 ppm
Forbindelse:	1,5-dihydroksyantrakinon; antrarufin (92 %)
% inhib.	31,0 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH
Forbindelse:	1,2-dihydroksyantrakinon; alizarin
% inhib.	68,9 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH
Forbindelse:	2,2'-[(9,10-dihydro-9,10-diokso-1,5-antracendiyl)diimino]bis[5-metylbenzensulfonsyre], di-Na-salt; alizarinfiolett 3R
% inhib.	30,9 % @ 10 ppm
Forbindelse:	1,2,5,8-tetrahydroksyantrakinon; kinalizarin
% inhib.	80 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 4-amino-9,10-dihydro-1,3-dihydroksy-9,10-diokso-2-antracensulfonsyre, mononatriumsalt; kjerne-ekte rødt
% inhib. 20,4 % @ 10 ppm

Forbindelse: 1,8-dihydroksyantrakinon; dantron
% inhib. 82,2 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 2,2'-[(9,10-dihydro-9,10-diokso-1,4-antracen-diyl)diimino]bis[5-metylbenzensulfonsyre],di-Na-salt; syregrønt 25
% inhib. 38,8 % @ 10 ppm

Forbindelse: 1-amino-2,4-dibromantrakinon
% inhib. 44,6 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 5-klor-1-aminoantrakinon
% inhib. 57,1 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 2-etylantrakinon (97+%)
% inhib. 57,1 % @ tilnærmet 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1-hydroksyantrakinon (97 %)
% inhib. 59,3 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 2-(hydroksymetyl)antrakinon (97 %)
% inhib. 87 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1-amino-4-metoksyantrakinon
% inhib. 57,1 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1-amino-6,7-diklorantrakinon
% inhib. 22,9 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: Benz[a]antracen-7,12-dion (97 %)
% inhib. 52,9 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,8-dihydroksy-3-metylantrakinon; krysofansyre
% inhib. 27,9 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 10-[(3-amino-2,3,6-trideoksy-alfa-L-lyksohekso-pyranosyl)oksy]-7,8,9,10-tetrahydro-6,8,11-trihydroksy-8-(hydroksyacetyl)-1-metoksy-5,12-naftacendion-hydroklorid; adriamycin-hydroklorid

% inhib. 55,7 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 9,10-dihydro-4,5-dihydroksy-9,10-diokso-2-antracenkarboksylsyre; rhein

% inhib. 48,6 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: (8S-cis)-8-acetyl-10[(3-amino-2,3,6-trideoksy-alfa-L-lykso-heksopyranosyl)oksy]-7,8,9,10-tetrahydro-6,8,11-trihydroksy-1-metoksy-5,12-naftacendion-hydroklorid; daunomycin-hydroklorid

% inhib. 62,9 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,2,4-trihydroksyantrakinon; purpurin

% inhib. 55,7 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1-aminoantrakinon-diazoniumsalt

% inhib. 20,8 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 2,2'-dimetyl-[1,1'-biantracen]-9,9',10,10'-tetron; 2,2'-dimetyl-1,1'-biantrakinon

% inhib. 59,7 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 3-(D-apio-beta-D-furanosyloksy)-1,8-dihydroksy-6-metyl-9,10-antracendion; frangulin B

% inhib. 57,1 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 2-klorantrakinon (99 %)

% inhib. 98,7 % @ <<10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,5-diklorantrakinon (96 %)

% inhib. 100 % @ <<10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,4,5,8-tetraklorantrakinon

% inhib. 50,6 % @ <<10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1-klorantrakinon
% inhib. 20,8 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,8-diklorantrakinon (97 %)
% inhib. 3,9 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 2-brom-3-metylantrakinon
% inhib. 26,0 % @ <<10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 2-(2,2,2-trimetylpropionamido)antrakinon
% inhib. 48,1 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 2,6-bis[2-(dimetylamino)etoksy]-9,10-antracendion; tiloronanalog R11,043DA
% inhib. 98,7 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 2-metyl-1-nitroantrakinon
% inhib. 50 % @ <<10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1-amino-9,10-dihydro-9,10-diokso-2-antracensulfonsyre; 1-aminoantrakinon-2-sulfonsyre
% inhib. 37,5 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 9,10-dihydro-5-nitro-9,10-diokso-1-antracensulfonsyre; 5-nitroantrakinon-1-sulfonsyre
% inhib. 66 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 3-klor-9,10-dihydro-9,10-diokso-2-antracenkarboksylsyre; 2-klorantrakinon-3-karboksylsyre
% inhib. 100 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 50/50-blanding av antrarufin og dantron
CA Reg. nr.: ingen
% inhib. 62,5 % @ 5 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: Antrakinon
% inhib. 37,5 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,8-dihydroksy-3-(hydroksymetyl)-antrakinon; aloeemodin

% inhib. 43,8 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 7,16-diklor-6,15-dihydro-5,9,14,18-antrazintetron; 7,16-diklorindantron

% inhib. 43,8 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,2,3,4,5,8-heksahydroksyantrakinon; alizarincyanin

% inhib. 40,6 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 2,4,5,7-tetrabrom-1,8-dihydroksy-9,10-antracendion; 2,4,5,7-tetrabromkrysazin

% inhib. 40,6 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,2,7-trihydroksyantrakinon; antrapurpurin

% inhib. 37,5 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,4,5-trihydroksy-2-metyl-9,10-antracendion; islandicin

% inhib. 50 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,4,5,7-tetrahydroksy-2-metyl-9,10-antracendion; catenarin

% inhib. 37,5 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,8-dihydroksy-3-metoksy-6-metyl-9,10-antracendion; physcion

% inhib. 34,4 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,4,5,8-tetrahydroksy-2-metyl-9,10-antracendion; cynodontin

% inhib. 34,4 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,5,8-trihydroksy-3-metyl-9,10-antracendion; helmintosporin

% inhib. 31,3 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1-hydroksy-2-[(6-O-ß-D-xylopyranosyl-ß-D-glukopyranosyl)oksy]-9,10-antracendion; ruberythrinsyre
% inhib. 29,7 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 2-fenoksykinizarin-3,4'-disulfonsyre, di-K-salt
% inhib. 28,1 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: (+,-)-1-acetoksy-8-hydroksy-1,4,4a,9a-tetrahydroantrakinon
% inhib. 28,1 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1-amino-4-[[4-[(dimetylamino)metyl]fenyl]amino]-9,10-antracendion; basisk blått 47
% inhib. 37,2 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,5-bis(2-karboksyanilino)-9,10-antracendion; akridylsyre
% inhib. 33,5 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,8-dihydroksy-9-antranol; 1,8-dihydroksyantranol
% inhib. 88,3 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,2,10-antracentriol; antrarobin
% inhib. 44,4 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1-amino-4-brom-2-metylantrankinon (99 %)
% inhib. 8 % @ <10 ppm

Forbindelse: 1,4-diaminoantrakinon (97 %)
% inhib. 27,5 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 2,6-diaminoantrakinon
% inhib. 27,2 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1-amino-4[4-[[4-klor-6[[2,3 eller 4-sulfofenyl]amino]-1,3,5-triazin-2-yl]amino]-3-sulfofenyl]amino]-9,10-dihydro-9,10-diokso-2-

antracensulfonsyre; procionblått HB(S); reaktivt blått 2; cibacronblått 3G-A; basilen-blått E-3G

% inhib. 17,5 % @ 10 ppm

Forbindelse: Antrakinon-1,5-disulfonsyre, di-Na-salthydrat (95 %)

% inhib. 17,5 % @ 10 ppm

Forbindelse: Antrakinon-2,6-disulfonsyre, di-Na-salt

% inhib. 9,8 % @ 10 ppm

Forbindelse: Antrakinon-2-sulfonsyre, natriumsaltmonohydrat

% inhib. 17 % @ 10 ppm

Forbindelse: 1,2-bis[(4-sulfofenyl)amino]-4-hydroksy-antrakinon; alizarin-blåsvart B

% inhib. 17,5 % @ 10 ppm

Forbindelse: (3,4-dihydroksy-2-antrakinonyl)-metylimino-dieddiksyre; 3-aminometylalizarin-N,N-dieddiksyre; alizarinkompleksondihydrat

% inhib. 14,3 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1-amino-4-[[3-(etenylsulfonyl)fenyl]-9,10-dihydro-9,10-diokso]-2-antracensulfonsyre, mononatriumsalt; syreblått 215

% inhib. 19,7 % @ 10 ppm

Forbindelse: 1-(metylamino)antrakinon (98 %)

% inhib. 19,1 % @ <10 ppm

Forbindelse: 2,2'-[(9,10-dihydro-5,8-dihydroksy-9,10-diokso-1,4-antracendiyl)diimino]bis[5-metylbenzen-sulfonsyre], di-Na-salt; syregrønt 41

% inhib. 17,8 % @ 10 ppm

Forbindelse: 2,2'-[(9,10-dihydro-9,10-diokso-1,4-antracen-diyl)diimino]bis[5-butylbenzensulfonsyre]; syregrønt 27

% inhib. 16,5 % @ 10 ppm

Forbindelse: 1,1'-iminobis[4-amino]9,10-antracendion, sulfonert; syresvart 48
% inhib. 13,8 % @ 10 ppm

Forbindelse: 1-amino-9,10-dihydro-9,10-diokso-4-(fenylamino)-2-antracensulfonsyre, Na-salt; syreblått 25
% inhib. 26 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 4-[[4-(acetylamino)fenyl]amino]-1-amino-9,10-dihydro-9,10-diokso-2-antracensulfonsyre, Na-salt; syreblått 40
% inhib. 12,5 % @ 10 ppm

Forbindelse: 1-amino-9,10-dihydro-9,10-diokso-4-[[3[[2-(sulfoksy)etyl]sulfonyl]fenyl]amino]-2-antracensulfonsyre, dinatriumsalt; remazol briljantblått R;
% inhib. 12,4 % @ 10 ppm

Forbindelse: 1-amino-4[[3-[4,6-diklor-1,3,5-triazin-2-yl)-amino]-4-sulfofenyl]amino]-9,10-dihydro-9,10-diokso-2-antracensulfonsyre; reaktivt blått 4
% inhib. 7,3 % @ 10 ppm

Forbindelse: 1-(9,10-dihydro-9,10-diokso-1-antracenyl-1,2-hydrazindisulfonsyre, di-Na-salt; (1-antrakinonyl)-1,2-hydrazindisulfonsyre, di-Na-salt
% inhib. 10 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 9,10-dihydro-5,6-dihydroksy-9,10-diokso-1-antracensulfonsyre; alizarin-5-sulfonsyre
% inhib. 7,1 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: N-(4-klor-9,10-dihydro-9,10-diokso-1-antracenyl)benzamid; 1-benzamido-4-klorantrakinon
% inhib. 8,6 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1-amino-4-brom-9,10-dihydro-9,10-diokso-2-antracensulfonsyre, Na-salt; 1-amino-4-brom-antrakinon-2-sulfonsyre, Na-salt
% inhib. 4,3 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1-amino-9,10-dihydro-4[[(4-metylfenyl)-sulfonyl]amino]-9,10-diokso-2-antracen-sulfonsyre, Na-salt; 1-amino-4-(p-toluen-sulfonamido)antrakinon-2-sulfonsyre, Na-salt
% inhib. 3,9 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 9,10-dihydro-9,10-diokso-2,3-antracendi-karboksylsyre
% inhib. 10 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,1'-iminobis(4-nitro-9,10-antracendion)
% inhib. 5,7 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1-amino-4-klor-2-metylantrakinon
% inhib. 5,2 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 2,3-dimetyl-1,4-dihydroksyantrakinon; 2,3-dimetylkinizarin
% inhib. 5,7 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 6-metyl-1,3,8-trihydroksyantrakinon; emodin 99 %
% inhib. 2,6 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,4-bis(metylamino)-antrakinon
% inhib. 8,6 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: N-(4-amino-9,10-dihydro-3-metoksy-9,10-diokso-1-antracenyl)-4-metylbenzensulfonamid; N-(4-amino-3-metoksyantrakinon-1-yl)-p-toluensulfonamid; 1-amino-2-metoksy-4-(p-tolylsufonamido)antrakinon
% inhib. 4,3 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: [1,1'-biantracen]-9,9'10,10'-tetron; 1,1'-biantrakinon
% inhib. 12,9 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 6,7-diklor-1,4-dihydroksyantrakinon 97 %
% inhib. 5,7 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 2-[[9,10-dihydro-4-(metylamino)-9,10-diokso-1-antracenyl]amino]-5-metyl-benzensulfonsyre, mononatriumsalt; alizarinastrol B-CF
% inhib. 2,6 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 2,8-difenyl-antra[2,1-d:6,5-d']bistiazol-6,12-dion; indantrengult GCN
% inhib. 15,6 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 2-metoksy-3-metyl-9,10-antracendion
% inhib. 5,0 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,4-bis[(1-metyletyl)amino]-9,10-antracendion; 1,4-di(isopropylamino)antrakinon
% inhib. 5,0 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,4-bis[(2,4,6-trietylfenyl)amino]-9,10-antracendion; 1,4-bis(2,4,6-trietylanilino)-antrakinon
% inhib. 4,3 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1-(2-hydroksyetyl)amino-4-metylaminoantrakinon; dispersblått 3
% inhib. 6,4 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,4-bis[(4-metylfenyl)amino]9,10-antracendion; "Solvent-grønt 3"
% inhib. 4,3 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 2-amino-3-hydroksyantrakinon
% inhib. 11,4 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1-(bromtio)antrakinon
% inhib. 6,5 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,8-bis(fenylmetoksy)-9,10-antracendion; 1,8-dibenzyloksyantrakinon
% inhib. 4,5 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1-amino-2-(2-aminoetyltio)-4-hydroksyantrakinon
% inhib. 24,7 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,4-bis(pentylamino)-9,10-antracendion; oljeblått N
% inhib. 3,6 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1-amino-2-brom-4-hydroksyantrakinon
% inhib. 6,5 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 2-propionamidoantrakinon
% inhib. 10,4 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,4-diamino-2,3-bis(2-fenoksyetoksy)antrakinon
% inhib. 7,8 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: N-(5-klor-9,10-dihydro-9,10-diokso-1-antracenyl)benzamid; 1-benzamido-5-klorantrakinon
% inhib. 10,4 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: Antrakinon-1-arsonsyre
% inhib. 18,2 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: N,N'-[iminobis(9,10-dihydro-9,10-diokso-4,1-antracendiyl)]bisbenzamid; 4,4'-dibenzamido-1,1'-diantrimid
% inhib. 5,2 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,4,5,8-tetraaminoantrakinon; dispersblått 1
% inhib. 3,9 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 2-metylantrakinon
% inhib. 10,4 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 9,10-dihydro-9,10-diokso-2,7-antracendisulfonsyre, di-Na-salt; antrakinon-2,7-disulfonsyre, di-Na-salt
% inhib. 9,1 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,2,3-trihydroksyantrakinon; antragallol
% inhib. 2,6 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: Karmin (Aluminium-lakkrødt)
% inhib. 7,8 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 9,10-dihydro-1,4-dihydroksy-9,10-diokso-2-antracensulfonsyre
% inhib. 7,8 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 2-amino-3-klorantrakinon
% inhib. 3,9 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1-antrakinonsulfonsyre, Na-salt
% inhib. 3,9 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 2-tert.-butylantrakinon (98 %)
% inhib. 5,2 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,4-dihdyroksyantrakinon
% inhib. 5,2 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,5-diamino-4,8-dihydroksyantrakinon
% inhib. 2,6 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1-hydroksy-4-[(4-metylfenyl)amino]-9,10-antracendion; 1-hydroksy-4-(p-toluidino)-antrakinon
% inhib. 3,9 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,4-dimetylantrakinon (95 %)
% inhib. 5,2 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,1'-iminobis-9,10-antracendion; diantrimid
% inhib. 2,6 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 2-(syklopropylkarboksamido)antrakinon
% inhib. 2,6 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1-amino-2-metylantrakinon; dispers-orange 11
% inhib. 5,2 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 2-[(9,10-dihydro-4-hydroksy-9,10-diokso-1-antracenyl)amino]-5-metyl-benzensulfonsyre, Na-salt; "Solway purpur R"
% inhib. 9,1 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 2,2'-[(9,10-dihydro-5,8-dihydroksy-9,10-diokso-1,4-antracendiyl)diimino]bis[5-metyl]benzensulfonsyre; alizarinviridin
% inhib. 2,6 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,4-bis(etylamino)-9,10-antracendion; sudanblått
% inhib. 1,3 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: 1,4-diamino-5-nitroantrakinon
% inhib. 2,7-3 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Forbindelse: N-benzyl-9,10-dihydro-9,10-diokso-2-antracensulfonamid
% inhib. 3,9 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH

Eksempel 2

Antraktnoner som ikke inhiberer sulfidproduksjon

Forbindelsene oppført i tabell II ble testet for inhibering av sulfidproduksjon som i eksempel 1 og ble funnet ikke å være effektive inhibitorer. Angivelsen "<10 ppm" er som tidligere definert i eksempel 1.

Tabell II

Forbindelse:	3,4-dihydroksy-9,10-diokso-2-antracensulfonsyre; alizarinrødt S-monohydrat
CA Reg. nr.:	130-22-3
% inhib.	0 @ 10 ppm
Kilde:	Aldrich
Forbindelse:	4-[[4-(acetylmetylamino)fenyl]amino]-1-amino-9,10-dihydro-9,10-diokso-2-antracensulfonsyre, Na-salt; syreblått 41
CA Reg. nr.:	2666-17-3
% inhib.	0 @ 10 ppm
Kilde:	Aldrich
Forbindelse:	4,8-diamino-9,10-dihydro-1,5-dihydroksy-9,10-diokso-2,6-antracendisulfonsyre, di-Na-salt; syreblått 45
CA Reg. nr.:	2861-02-1
% inhib.	0 @ 10 ppm
Kilde:	Aldrich
Forbindelse:	3,3'-[(9,10-dihydro-9,10-diokso-1,4-antracendiyl)adiimino]bis[2,4,6-trimetylbenzensulfonsyre], di-Na-salt; syreblått 80
CA Reg. nr.:	4474-24-2
% inhib.	0 @ 10 ppm
Kilde:	Aldrich
Forbindelse:	7-ß-D-glukopyranosyl-9,10-dihydro-3,5,6,8-tetrahydroksy-1-metyl-9,10-diokso-2-antracenkarboksylsyre; karminsyre
CA Reg. nr.:	1260-17-9
% inhib.	0 @ <10 ppm
Kilde:	Aldrich
Forbindelse:	1-amino-4[[3-[[4-klor-6-[(3-sulfofenyl)amino]-1,3,5-triazin-2-yl]amino]-4-sulfofenyl]amino]-9,10-dihydro-9,10-diokso-2-antracensulfonsyre;

reaktivt blått 5
CA Reg. nr.: 16823-51-1
% inhib. 0 @ 10 ppm
Kilde: Sigma

Forbindelse: N-(4-amino-9,10-dihydro-9,10-diokso-1-antracenyl)benzamid; 1-amino-4-benzamido-antrakinon
CA Reg. nr.: 81-46-9
% inhib. 0 @ <10 ppm i 2,7 % EtOH
Kilde: Aldrich

Forbindelse: 1-amino-4-(metylamino)antrakinon
CA Reg. nr.: 1220-94-6
% inhib. 0 @ <10 ppm i 2,7 % EtOH
Kilde: Pfaltz & Bauer

Forbindelse: 5-hydroksy-1,4-bis[(4-metylfenyl)amino]-9,10-antracendion; sudangrønt
CA Reg. nr.: 4392-68-1
% inhib. 0 @ <10 ppm i 2,7 % EtOH
Kilde: Pfaltz & Bauer

Forbindelse: 1-brom-4-(metylamino)antrakinon
CA Reg. nr.: 128-93-8
% inhib. 0 @ <10 ppm i 2,7 % EtOH
Kilde: Kodak

Forbindelse: 1,4-diamino-2-metoksyantrakinon; dispersrødt 11
CA Reg. nr.: 2872-48-2
% inhib. 0 @ <10 ppm i 2,7 % EtOH
Kilde: Sigma

Forbindelse: Indantrensvart (suspensjon eller væske); C. I. Vat grønt 9
CA Reg. nr.: 6369-65-9
% inhib. -6,5 % @ <10 ppm/8 % EtOH
Kilde: Pfaltz & Bauer

Forbindelse: N,N'-(9,10-dihydro-9,10-diokso-1,5-antracendiyl)bisbenzamid; 1,5-dibenzamidoantrakinon
CA Reg. nr.: 82-18-8
% inhib. 0 @ <10 ppm i 2,7 % EtOH
Kilde: K & K

Forbindelse: alizarinblåsvart BC
CA Reg. nr.: ingen
% inhib. 1,9 % @ <10 ppm i 2,7 % EtOH
Kilde: K & K

Forbindelse: 9,10-dihydro-3,4,6-trihydroksy-9,10-diokso-2-antracensulfonsyre; alizarinrubinol
CA Reg. nr.: 83631-51-0
% inhib. 0 @ <10 ppm i 2,7 % EtOH
Kilde: K & K

Forbindelse: 9,10-dihydro-1,3,4,5,7,8-heksahydroksy-9,10-diokso-2,6-antracendisulfonsyre; surt alizarinblått BB
CA Reg. nr.: 83631-52-1
% inhib. 0 @ <10 ppm i 2,7 % EtOH
Kilde: K & K

Forbindelse: N,N'-[iminobis(9,10-dihydro-9,10-diokso-5,1-antracendiyl)]bisbenzamid; 4,5'-dibenzamido-1,1'-diantrimid
CA Reg. nr.: 129-28-2
% inhib. 0 @ <10 ppm i 2,7 % EtOH
Kilde: Aldrich

Forbindelse: 1,4,4a,9a-tetrahydroantrakinon
CA Reg. nr.: 56136-14-2
% inhib. 0-7 % @ 10 ppm i 2,7 % EtOH
Kilde: Aldrich

Eksempel 3

Inhibering av sulfiddannelse med 1-aminoantrakinon

Disse bestemmelser ble utført i "AutoAnalyzer" som

beskrevet i eksempel 1. De resulterende data er vist i tabell III.

Tabell III

Forbindelse	% inhibering av sulfiddannelse
Klorheksidin	88,7
1-aminoantrakinon-biguanid	83
1-aminoantrakinon	72

Dataene viser at 1-aminoantrakinon-biguanid som var avledet fra et klorheksidinderivat og 1-aminoantrakinon, så vel som 1-aminoantrakinon i seg selv, inhiberte sulfiddannelse fra Desulfovibrio desulfuricans G100A.

Eksempel 4

Effekt av 1,8-dihydroksyantrakinon på vekst av D. desulfuricans G100A

Fire 10 ml dyrkningsrør med BTZ-3-medium som definert i eksempel 1, supplert med natriumlaktat (40 mM) og natriumsulfat (30 mM) og 0,5 ml reduksjonsmiddel, ble inokulert med 100 µl av en fullt utvokst suspensjon av D. desulfuricans G100A. Kulturen ble tillatt å vokse og den optiske tetthet ved 660 nm ble kontrollert inntil cellene gikk inn i den eksponensielle vekstfase (tilnærmet 12-15 t, O.D. 660 = 0,1-0,2). Ved dette tidspunkt ble det til ett av rørene tilsatt 100 µl av en 300 ppm-oppløsning av hhv. 1,8-dihydroksyantrakinon, 1-klorantrakinon eller 3-klor-2-antrakinonkarboksylsyre. Oppløsningsmidlet etanol:vann (80:20) (100 µl) ble tilsatt til det fjerde rør for å representere en ikke-inhibert kontrollprøve. Den resulterende vekst etter tilsetningen av de foretrukne inhibitorer sammenlignet med den ubehandlede kontrollprøve, er vist i tabell IV.

Tabell IV

Tilsetning til bakteriekulturen*

Vekst i timer	Oppløsnings-middel	1,8-di-hydroksy-antrakinon	1-klor-antrakinon	3-klor-2-antrakinon-karboksylsyre
0	0,01	0,01	0,01	0,01
10	0,07	0,12	0,11	0,10
12#	0,11	0,20	0,12	0,16
14	0,14	0,19	0,12	0,21
18	0,25	0,16	0,27	0,36
20	0,31	0,16	0,32	0,38
24	0,65	0,16	0,32	0,36
29	1,0	0,18	0,30	0,37
34	1,2	0,18	0,32	0,37
62	1,2	0,30	0,26	0,34
92	1,2	0,28	0,23	0,25

* optisk tetthet avlest ved 660 nm

\# 3 ppm inhibitor tilsatt etter 12 t

Dette eksempel viser tydelig at tilsetningen av hver av de tre forbindelsene til en sluttkonsentrasjon på 3 ppm forårsaker praktisk talt fullstendig opphør av vekst av D. desulfuricans G100A i minst 80 t.

Eksempler 5-10

Effekt av 1,8-dihydroksyantrakinon på forskjellige arter av sulfatreduserende bakterier

Forskjellige arter av sulfatreduserende bakterier ble dyrket som beskrevet i eksempel 1 og deretter ble 250 µl av den dyrkede suspensjon inokulert med BTZ-3-medium inneholdende reduksjonsmiddel (1,0 ml/10 ml kultur) og 3 ppm 1,8-dihydroksyantrakinon. Veksten ble avlest som optisk tetthet ved 660 nm i 40 t. De resulterende data er vist i tabell V.

Tabell V

Eksempel	Desulfovibrio sp.	Optisk tetthet ved @ 660 nm	
		-AQ*	+AQ**
5	D. multispirans	>1,5	0,28
6	D. desulfuricans G100A	>1,5	0,20
7	D. desulfuricans Norway	0,30	0,09
8	D. salexigens	>1,5	0,06
9	D. desulfuricans 27774	0,45	0,08
10	D. vulgaris	0,20	0,05

* uten 1,8-dihydroksyantrakinon

** med 1,8-dihydroksyantrakinon

Eksempel 11

Effekt av 1,8-dihydroksyantrakinon på Thiobacillus denitrificans

Thiobacillus denitrificans ble dyrket på BTZ-3-medium som definert i eksempel 1 (supplert med reduksjonsmiddel), og med 30 mM natriumnitrat pluss 30 mM natriumtiosulfat. Kulturene var anaerobe under en nitrogenatmosfære. Vekstbetingelsene lå således så nært opp til betingelsene for de sulfatreduserende bakterier som mulig. 1,8-dihydroksyantrakinon ble tilsatt til kulturene ved det angitte tidspunkt og veksten ble kontrollert ved å observere den optiske tetthet ved 660 nm. Resultatene er vist nedenfor i tabell VI.

Tabell VI

Vekst i timer	Optisk tetthet# kontroll	Optisk tetthet# +3 ppm 1,8-dihydroksyantrakinon
0	0,02	0,02
12	0,06	0,06
15	0,08	0,08
19*	0,09	0,09
34	0,22	0,22
36	0,29	0,25
38	0,32	0,27
43	0,40	0,32
55	1,5	1,5

* Tidspunkt for tilsetning av 3 ppm antrakinon

Optisk tetthet @ 660 nm

Inhibitoren hadde ingen signifikant effekt på veksten av T. denitrificans. Denne organisme ble valgt fordi dens hovedmetabolisme involverer svovelforbindelser, noe som også er tilfelle med sulfatreduserende bakterier. Thiobacilli utfører imidlertid oksidasjon av sulfid snarere enn reduksjon av sulfat, dvs. den omvendte reaksjon i forhold til de sulfat-reduserende bakterier.

Eksempel 12

Effekt av 1,8-dihydroksyantrakinon på Escherichia coli

En annen ikke-sulfatreduserende organisme, Escherichia coli stamme MC106, ble dyrket under aerobe betingelser på BTZ-3 med 30 mM natriumsuccinat som den eneste karbon- og elektronkilde med oksygen som elektronakseptor, eller under anaerobe betingelser med hydrogen (80 % som elektrondonor) og karbondioksid (20 %) som gassfase og natriumfumarat (30 mM) som elektronakseptor. Begge medier inneholdt 0,2 % gjærekstrakt. De resulterende data er vist i tabell VII.

Tabell VII

Aerob vekst med succinat

	Optisk tetthet @ 660 nm	
Timer	Kontroll	+5 ppm AQ*
0	0,01	0,01
5,5	0,17	0,24
6,5	0,37	0,39
7,5	0,38	0,40
24	1,50	1,50

Anaerob vekst under hydrogen/karbondioksid

Timer	Kontroll	+5 ppm AQ*
0	0,0	0,01
3,5	0,30	0,29
4,5	0,45	0,62
5,5	0,61	0,79
6,0	0,75	0,87

* 1,8-dihydroksyantrakinon

Aerob vekst med succinat refererer til vekst på succinat som en karbon- og elektronkilde og oksygen som en elektronakseptor. Anaerob vekst under hydrogen/karbondioksid refererer til vekst med hydrogen som en elektrondonor og fumarat som en elektronakseptor. Forbruk av hydrogen ble observert i disse kulturer, noe som indikerer at hydrogen i realiteten ble anvendt som en elektrondonor.

Dataene viser at 1,8-dihydroksyantrakinon praktisk talt ikke gir noen inhibering av den aerobe eller anaerobe vekst av E. coli.

Eksempel 13

Effekt av 1,8-dihydroksyantrakinon på D. desulfuricans

D. desulfuricans stamme G100A ble dyrket ved anvendelse av pyruvatfermentering i fravær av sulfat. De resulterende data er vist i tabell VIII.

Tabell VIII

Vekst i timer	Optisk tetthet# kontroll	Optisk tetthet# +3 ppm antrakinon
0	0,11	0,1
2	0,12	0,12
3,5	0,14	0,14
6,5*	0,15	0,16
8,5	0,18	0,16
10,7	0,19	0,17
25	0,26	0,22
32	0,37	0,34
45	0,46	0,45

* Tidspunkt for tilsetning av 3 ppm 1,8-dihydroksyantrakinon

Optisk tetthet @ 660 nm

Antrakinonet påvirket ikke fermentativ vekst av D. desulfuricans G100A. Dette viser at de inhibitoriske virkninger av antrakinoner er spesifikke for sulfatreduksjon. Pyruvatfermentering involverer ikke de samme enzymsystemer som anvendes i reaksjonsveien for sulfatreduksjon.

Eksempel 14

Effekt av 1,8-dihydroksyantrakinon på sulfidproduksjon fra råstoffanrikninger fra forskjellige naturlig forekommende omgivelser

Alle prøver ble dyrket på standard BTZ-3-medium (som definert i eksempel 1) under hydrogen (80 %) karbondioksid (20 %) med 10 mM acetat og 0,1 % gjærekstrakt. Slamprøver ble inokulert med dette medium og tillatt å vokse i 24 t for å anrike sulfatreduserende bakterier. En 1 ml aliquot av denne anrikelse ble overført til friskt medium og det utviklede sulfid ble målt i løpet av en tredagers periode. Sulfid ble bestemt som beskrevet av Siegal, Anal. Biochem. 11:126-132, 1965, inkorporert heri ved referanse. De resulterende data er vist i tabell IX.

Tabell IX

Prøvekilde	µmol sulfid/dag	µmol sulfid/dag*
VS-A	49,0	-1,0
VS-AN	12,0	-4,0
VS-AN2	116,0	0,0
VF-A	24,0	-2,0
VF-A2	64,0	-11,0
VF-AN	67,0	2,8
WCC-A1	411,0	67,0
WCC-A2	388,0	49,0
WCC-AN1	345,0	80,0
WCC-AN2	288,0	37,0
WADS	106,7	71,0
SM-Lewes	6,4	4,5

VS = Valley Stream State Park, Long Island, NY
VF = Valley Garden Park, DE
WCC = White Clay Creek Preserve, PA
WADS = Wilmington anaerobe digestor, DE
SM-Lewes = Lewes saltsump, DE
A = aerobe prøver
AN = anaerobe prøver
* Kulturer inneholder 5 ppm 1,8-dihydroksyantrakinon

Dataene viser at de fleste av anrikningene fra naturlige kilder ble inhibert av 1,8-dihydroksyantrakinon. Kulturene avledet fra Wilmington anaerobe digestor eller Lewes saltsump ble minst påvirket, mens sedimentene fra ferskvanns-dammene oppviste den høyeste inhibering.

Eksempel 15

Effekt av antrakinoner på respirasjonshastigheten for D. desulfuricans 27774

Respirasjonshastigheten (hastigheten for utnyttelse av hydrogengass) for D. desulfuricans 27774 ble målt med

sulfat som elektronakseptor og hydrogen som den eneste elektrondonor, i nærvær av hver av de tre antrakinoner. Formålet var å vise at respirasjon, en energiproduserende cellulær reaksjonsvei, er sensitiv overfor antrakinonene når sulfat er den anvendte elektronakseptor. Reaksjonsblandingene hadde den følgende sammensetning og reaksjonene ble utført i en Gilson-respirometerkolbe ved anvendelse av standard-manometriske teknikker.

200 µl bakteriesuspensjon (40 mg/ml bakterieprotein)
100 µl 1 M fosfatbuffer, pH 7
250 µl 100 mM elektronakseptor
antrakinon:
20 µl 300 ppm løsningsmiddel (0,6 ppm sluttkons.)
10 µl 300 ppm (3 ppm)
20 µl 300 ppm (6 ppm)
DI-vann til 1,0 ml

Bakterier, vann, buffer og inhibitor ble inkubert i 30 min under en 100 % hydrogenatmosfære og deretter ble elektronakseptoren tilsatt til hovedbeholderen og reaksjonen ble startet. Gassopptak ble målt under en tidsperiode på 240 min og gassopptakshastigheter ble bestemt. Resultatene er oppsummert nedenfor i tabell X som prosent av hydrogengass-opptakshastighetene i forhold til de tilsvarende hastigheter fra blandinger inkubert uten innhold av antrakinon.

Tabell X

Konsentrasjon (ppm)	Gassopptak (som prosent av kontroll)		
	1-klor-antrakinon	1,8-dihydroksy-antrakinon	3-klor-2-antrakinon-karboksylsyre
0	100	100	100
0,6	74	66	79
1,5	50	45	55
3	38	30	41

Dette Eksperiment viser at ved 3 ppm ga de tre antrakinoninhibitorer 59-70 % inhibering av respirasjonshastighetene i forhold til kontrollprøvene. Dette understøtter resultatene ifølge eksempel 4 som viser at 3 ppm inhiberer bakterievekst, og det demonstrerer videre at sulfatreduksjonsprosessen blir direkte påvirket.

Eksempler 16-19

Effekt av antrakinoner på respirasjonshastigheter for D. desulfuricans 27774

De følgende eksperimenter viser effekten av 1,8-dihydroksyantrakinon på hastigheten av bakteriers hydrogenutnyttelse i nærvær av forskjellige elektronakseptorer. Den anvendte metode var identisk med metoden ifølge eksempel 10, og resultatene er oppsummert i tabeller XI, XII, XIII og XIV.

Eksempel 16

Tabell XI

Sulfitt som elektronakseptor (sulfat ikke til stede) med og uten 3 ppm antrakinon

Minutter	Hydrogen, µl	
	Kontroll	+3 ppm 1,8-dihydroksy-antrakinon
0	0	0
6	7	7
16	26	25
26	45	43
59	139	141
71	179	183

Eksempel 17

Tabell XII

Fumarat som elektronakseptor (sulfat ikke til stede)
med og uten 3 ppm antrakinon

Minutter	Hydrogen, µl	
	Kontroll	+3 ppm 1,8-dihydroksy-antrakinon
0	0	0
10	9	8
25	23	25
40	47	48
55	70	74
70	95	101

Eksempel 18

Tabell XIII

Tiosulfat som elektronakseptor (sulfat ikke til stede)
med og uten 3 ppm antrakinon

Minutter	Hydrogen, µl	
	Kontroll	+6 ppm 1,8-dihydroksy-antrakinon
0	0	0
11	38	33
21	90	73
31	144	118
41	204	176

Eksempel 19

Tabell XIV

Sulfat som elektronakseptor med og uten 3 ppm antrakinon

Minutter	Hydrogen, µl	
	Kontroll	+3 ppm 1,8-dihydroksy-antrakinon
0	0	0
10	15	3
25	44	14
40	76	21
55	107	28
70	152	38
85	208	45
100	266	56
115	336	74

Eksempler 11-14 viser at reaksjonsveien for sulfatreduksjon blir spesifikt påvirket. Alternative elektronakseptorer (dvs. sulfitt, tiosulfat og fumarat, eksempler 16-18) viser tilsvarende respirasjonshastigheter med og uten antrakinon, og således oppviser antrakinonene spesifisitet overfor sulfatreduksjon.

Eksempel 20

Effekt av reduserte antrakinoner på vekst av G100A og BTZ-3 +30 mM natriumlaktat +30 mM natriumsulfat

Tre antrakinoner, 1,8-dihydroksy-, 1-klor- og 3-klor-2-karboksyantrakinon, ble fremstilt i form av 1 ml 1.000 ppm-oppløsninger i aceton for de første to forbindelser eller vann for den tredje forbindelse. Disse oppløsninger ble deretter behandlet med 1 mg av det sterke reduksjonsmiddel, natriumditionitt. 50 µl av hver oppløsning (for en sluttkonsentrasjon i kulturen på 5 ppm) ble anvendt umiddelbart for å behandle voksende kulturer av D. desulfuricans G100A i BTZ-3-medium som definert i eksempel 1. Forbindelsene ble tilsatt til 10 ml-kulturene etter 15 timers vekst.

Tabell XV

Timer	Optisk tetthet ved @ 660 nm			
	1,8-diOH-	1-klor-	3-klor-2-COOH-	kontroll
0	0,02	0,02	0,02	0,02
2	0,02	0,02	0,02	0,02
12	0,10	0,08	0,07	0,08
15	0,2	0,15	0,1	0,18
17	0,24	0,20	0,15	0,26
20	0,23	0,21	0,17	0,37
25	0,22	0,22	0,17	0,50
30	0,23	0,22	0,16	0,98
45	0,25	0,24	0,22	1,50

Dataene viser at 5 ppm av enhver av de tre foretrukne antrakinoner vil inhibere veksten av D. desulfuricans G100A, selv når de på forhånd reduseres med ditionitt til de reduserte former.

Eksempel 21

Analysebestemmelse av sulfidinhibering med antrakinoner ved anvendelse av hvilende celler av D. gigas

Eksperimenter i dette eksempel ble utført ved anvendelse av hvilende celler av Desulfovibrio gigas i stedet for voksende celler, noe som var tilfellet med autoanalysatorsystemet som anvendte Desulfovibrio desulfuricans G100A-stammen. Årsaken til dette var at D. gigas-stammen bibeholdt respiratorisk aktivitet under hvilende celletilstander, mens dette ikke var tilfellet med stammen D. desulfuricans G100A. Eksperimentet undersøkte således en forskjellig organisme, et forskjellig testsystem og en forskjellige fysiologisk tilstand, med hensyn til antrakinoninhibering av sulfidproduksjon fra Desulfovibrio sp. Aktive forbindelser, som bestemt ved hjelp av autoanalysatoren, ble evaluert i sammenligning med fire ytterligere forbindelser som ikke ble evaluert i autoanalysatoren. Dataene bekreftet de inhibitoriske egenskaper

for 1,8-dihydroksyantrakinon og 1-klorantrakinon, og demonstrerte den inhibitoriske effekt for fire nye forbindelser som ikke var screenet med autoanalysatormetoden: 2-bromantrakinon (CA Reg. nr. 572-83-8), 1-fluorantrakinon (CA Reg. nr. 569-06-2), 1-cyanoantrakinon (CA Reg. nr. 38366-32-4) og 2-trifluormetylantrakinon (CA Reg. nr. 362-21-0).

500 ml kulturer av Desulfovibrio gigas ble dyrket på standard BTZ-3-medium, som tidligere beskrevet i eksempel 1, med 30 mM natriumlaktat, 30 mM natriumsulfat og 30 mM natriumfumarat. Kulturen ble høstet etter 24 timers vekst ved 31°C, ved sentrifugering ved 8.000 rpm i en GSA Sorvall-rotor i 20 min. Cellepelleten ble resuspendert i 30 ml inkubasjonsanalyseblanding med følgende sammensetning: 50 mM HEPES-buffer pH 7, 2,5 mM natriumlaktat, 2,5 mM natriumsulfat. Denne suspensjonen ble på nytt sentrifugert ved 10.000 rpm i en Sorvall SS-34-rotor i 5 min. Den dannede cellepellet ble resuspendert i 5 ml inkubasjonsanalysebuffer. Celletettheter lå generelt nær opp til 10^{10} celler/ml.

Prøvene ble analysert for produksjon i nærvær av antrakinoner. 200 µl av cellesuspensjonen ble tilsatt til 1,2 ml inkubasjonsanalyseblanding i et 5 ml testrør. Røret ble gasset med hydrogengass i 20 min og deretter ble antrakinonene tilsatt i form av etanoliske oppløsninger, rørene ble deretter på nytt gasset med hydrogen i 5 min. Reaksjonsblandingene ble deretter inkubert i 3 t ved 31°C. Reaksjonene ble stanset ved tilsetning av 200 µl 1 N natriumhydroksid. Etter 20 min ble de alkaliske blandinger sentrifugert i en bordmikrosentrifuge i 4 min ved 14.000 rpm for å fjerne celler og cellebruddstykker. Supernatanten ble deretter analysert for sulfid ved anvendelse av jern(III)klorid-DPD-reagenssystemet som beskrevet av Siegel et al., Anal. Biochem., 11:126-132, 1965, inkorporert heri ved referanse. Resultatene er oppsummert i tabell XVI.

Tabell XVI

PPM	% sulfidproduksjon					
	1,8-diOH-	2-Br	1-Cl	1-Fl	1-CN	2 TriF Me
0	100	100	100	100	100	100
0,1	101	99	81	105	118	99
0,5	51	33	26	23	20	17
2	4	0,6	1,6	0,9	6,7	1,7
5	2,3	0,6	1,3	0,9	6,8	1,5

Halogenderivatene så vel som cyano- og hydroksyforbindelsene, oppviste inhibitoriske egenskaper med 50 % eller høyere inhibering av sulfidproduksjon i området 0,1-0,5 ppm.

P a t e n t k r a v

1. Anvendelse av antrakinoner for inhibering av sulfidproduksjon fra sulfatreduserende bakterier, hvori mediet inneholdende de sulfatreduserende bakterier bringes i kontakt med én eller flere av de følgende antrakinonforbindelser:

N-[1-(9,10-dihydro-9,10-diokso)antracenyl]-N'-(1-metyletyl)imidodikarbonimid-diamid-hydroklorid

1-aminoantrakinon

2-aminoantrakinon

1-amino-4-hydroksyantrakinon

1,2-diaminoantrakinon

2,6-dihydroksyantrakinon; antraflavinsyre

Antrakinon-2-karboksylsyre

1,5-dihydroksyantrakinon; antrarufin

1,2-dihydroksyantrakinon; alizarin

2,2'-[(9,10-dihydro-9,10-diokso-1,5-antracendiyl)-diimino]bis[5-metylbenzensulfonsyre], di-Na-salt; alizarin-fiolett 3R

1,2,5,8-tetrahydroksyantrakinon; kinalizarin

4-amino-9,10-dihydro-1,3-dihydroksy-9,10-diokso-2-antracensulfonsyre, mononatriumsalt; kjerneekte rødt

1,8-dihydroksyantrakinon; dantron

2,2'-[(9,10-dihydro-9,10-diokso-1,4-antracendiyl)-diimino]bis[5-metylbenzensulfonsyre],di-Na-salt; syregrønt 25

1-amino-2,4-dibromantrakinon

5-klor-1-antrakinonylamin

2-etylantrakinon

1-hydroksyantrakinon

2-(hydroksymetyl)antrakinon

1-amino-4-metoksyantrakinon

1-amino-6,7-diklorantrakinon

Benz[a]antracen-7,12-dion

1,8-dihydroksy-3-metylantrakinon; krysofansyre

10-[(3-amino-2,3,6-trideoksy-alfa-L-lyksoheksopyranosyl)oksy]-7,8,9,10-tetrahydro-6,8,11-trihydroksy-8-(hydroksyacetyl)-1-metoksy-5,12-naftacendion-hydroklorid; adriamycin-hydroklorid

9,10-dihydro-4,5-dihydroksy-9,10-diokso-2-antracenkarboksylsyre; rhein

(8S-cis)-8-acetyl-10[(3-amino-2,3,6-trideoksy-alfa-L-lykso-heksopyranosyl)oksy]-7,8,9,10-tetrahydro-6,8,11-trihydroksy-1-metoksy-5,12-naftacendion-hydroklorid; daunomycin-hydroklorid

1,2,4-trihydroksyantrakinon; purpurin

1-aminoantrakinon-diazoniumsalt

2,2'-dimetyl-[1,1'-biantracen]-9,9',10,10'-tetron; 2,2'-dimetyl-1,1'-biantrakinon

3-(D-apio-beta-D-furanosyloksy)-1,8-dihydroksy-6-metyl-9,10-antracendion; frangulin B

2-klorantrakinon

1,5-diklorantrakinon

1,4,5,8-tetraklorantrakinon

1-klorantrakinon

1,8-diklorantrakinon

2-brom-3-metylantrakinon

2-(2,2,2-trimetylpropionamido)antrakinon

2,6-bis[2-(dimetylamino)etoksy]-9,10-antracendion; tiloronanalog R11,043DA

2-metyl-1-nitroantrakinon

1-amino-9,10-dihydro-9,10-diokso-2-antracensulfonsyre; 1-aminoantrakinon-2-sulfonsyre

9,10-dihydro-5-nitro-9,10-diokso-1-antracensulfonsyre; 5-nitroantrakinon-1-sulfonsyre

3-klor-9,10-dihydro-9,10-diokso-2-antracenkarboksylsyre; 2-klorantrakinon-3-karboksylsyre

50/50-blanding av antrarufin og dantron

Antrakinon

1,8-dihydroksy-3-(hydroksymetyl)-antrakinon; aloe-emodin

7,16-diklor-6,15-dihydro-5,9,14,18-antrazintetron; 7,16-diklorindantron

1,2,3,4,5,8-heksahydroksyantrakinon; alizarin-cyanin

2,4,5,7-tetrabrom-1,8-dihydroksy-9,10-antracendion; 2,4,5,7-tetrabromkrysazin

1,2,7-trihydroksyantrakinon; antrapurpurin

1,4,5-trihydroksy-2-metyl-9,10-antracendion; islandicin

1,4,5,7-tetrahydroksy-2-metyl-9,10-antracendion; catenarin

1,8-dihydroksy-3-metoksy-6-metyl-9,10-antracendion; physcion

1,4,5,8-tetrahydroksy-2-metyl-9,10-antracendion; cynodontin

1,5,8-trihydroksy-3-metyl-9,10-antracendion; helmintosporin

1-hydroksy-2-[(6-O-ß-D-xylopyranosyl-ß-D-glukopyranosyl)oksy]-9,10-antracendion; ruberythrinsyre

2-fenoksykinizarin-3,4'-disulfonsyre, di-K-salt

(+,-)-1-acetoksy-8-hydroksy-1,4,4a,9a-tetrahydroantrakinon

1-amino-4-[[4-[(dimetylamino)metyl]fenyl]amino]-9,10-antracendion; basisk blått 47

1,5-bis(2-karboksyanilino)-9,10-antracendion; akridylsyre

1,8-dihydroksy-9-antranol; 1,8-dihydroksyantranol

1,2,10-antracentriol; antrarobin

1-amino-4-brom-2-metylantrankinon

1,4-diaminoantrakinon

2,6-diaminoantrakinon

1-amino-4[4-[[4-klor-6[[2,3 eller 4-sulfofenyl]-amino]-1,3,5-triazin-2-yl]amino]-3-sulfofenyl]amino]-9,10-dihydro-9,10-diokso-2-antracensulfonsyre; reaktivt blått 2; procionblått HB(S); cibacronblått 3G-A; basilenblått E-3G

Antrakinon-1,5-disulfonsyre, di-Na-salthydrat (95 %)

Antrakinon-2,6-disulfonsyre, di-Na-salt

Antrakinon-2-sulfonsyre, natriumsaltmonohydrat

1,2-bis[(4-sulfofenyl)amino]-4-hydroksyantrakinon; alizarin-blåsvart B

3-aminometylalizarin-N,N-dieddiksyre

2-amino-4-[[3-(etenylsulfonyl)fenyl]-9,10-dihydro-9,10-diokso]-2-antracensulfonsyre, mononatriumsalt; syreblått 215

1-(metylamino)antrakinon

2,2'-[(9,10-dihydro-5,8-dihydroksy-9,10-diokso-1,4-antracendiyl)diimino]bis[5-metylbenzensulfonsyre], di-Na-salt; syregrønt 41

2,2'-[(9,10-dihydro-9,10-diokso-1,4-antracendiyl)-diimino]bis[5-butylbenzensulfonsyre]; syregrønt 27

1,1'-iminobis[4-amino]9,10-antracendion, sulfonert; syresvart 48

1-amino-9,10-dihydro-9,10-diokso-4-(fenylamino)-2-antracensulfonsyre, Na-salt; syreblått 25

4-[[4-(acetylamino)fenyl]amino]-1-amino-9,10-dihydro-9,10-diokso-2-antracensulfonsyre, Na-salt; syreblått 40

1-amino-9,10-dihydro-9,10-diokso-4-[[3[[2-(sulfoksy)-etyl]-sulfonyl]fenyl]amino]-2-antracensulfonsyre, dinatrium-salt; remazol briljant-blått R;

1-amino-4[[3-[4,6-diklor-1,3,5-triazin-2-yl)amino]-4-sulfofenyl]amino]-9,10-dihydro-9,10-diokso-2-antracen-sulfonsyre; reaktivt blått 4

1-(9,10-dihydro-9,10-diokso-1-antracenyl-1,2-hydrazindisulfonsyre, di-Na-salt; (1-antrakinonyl)-1,2-hydrazindisulfonsyre, di-Na-salt

9,10-dihydro-5,6-dihydroksy-9,10-diokso-1-antracensulfonsyre; alizarin-5-sulfonsyre

N-(4-klor-9,10-dihydro-9,10-diokso-1-antracenyl)-benzamid; 1-benzamido-4-klorantrakinon

1-amino-4-brom-9,10-dihydro-9,10-diokso-2-antracensulfonsyre, Na-salt; 1-amino-4-bromantrakinon-2-sulfonsyre, Na-salt

1-amino-9,10-dihydro-4[[(4-metylfenyl)sulfonyl]-amino]-9,10-diokso-2-antracensulfonsyre, Na-salt; 1-amino-4-(p-toluensulfonamido)antrakinon-2-sulfonsyre, Na-salt

9,10-dihydro-9,10-diokso-2,3-antracendikarboksylsyre

1,1'-iminobis(4-nitro-9,10-antracendion)

1-amino-4-klor-2-metylantrakinon

2,3-dimetyl-1,4-dihydroksyantrakinon; 2,3-dimetyl-kinizarin

6-metyl-1,3,8-trihydroksyantrakinon; emodin

1,4-bis(metylamino)-antrakinon

N-(4-amino-9,10-dihydro-3-metoksy-9,10-diokso-1-antracenyl)-4-metylbenzensulfonamid; N-(4-amino-3-metoksy-antrakinon-1-yl)-p-toluensulfonamid; 1-amino-2-metoksy-4-(p-tolylsufonamido)antrakinon

[1,1'-biantracen]-9,9'10,10'-tetron; 1,1'-biantrakinon

6,7-diklor-1,4-dihydroksyantrakinon

2-[[9,10-dihydro-4-(metylamino)-9,10-diokso-1-antracenyl]amino]-5-metyl-benzensulfonsyre, mononatriumsalt; alizarinastrol B-CF

2,8-difenyl-antra[2,1-d:6,5-d']bistiazol-6,12-dion; indantrengult GCN

2-metoksy-3-metyl-9,10-antracendion

1,4-bis[(1-metyletyl)amino]-9,10-antracendion; 1,4-di(isopropylamino)antrakinon

1,4-bis[(2,4,6-trietylfenyl)amino]-9,10-antracendion; 1,4-bis(2,4,6-trietylanilino)antrakinon

1-(2-hydroksyetyl)amino-4-metylaminoantrakinon; dispers-blått 3

1,4-bis[(4-metylfenyl)amino]9,10-antracendion; "Solvent-grønt 3"

2-amino-3-hydroksyantrakinon

1-(bromtio)antrakinon

1,8-bis(fenylmetoksy)-9,10-antracendion; 1,8-dibenzyloksyantrakinon

1-amino-2-(2-aminoetyltio)-4-hydroksyantrakinon

1,4-bis(pentylamino)-9,10-antracendion; oljeblått N

1-amino-2-brom-4-hydroksyantrakinon

2-propionamidoantrakinon

1,4-diamino-2,3-bis(2-fenoksyetoksy)antrakinon

N-(5-klor-9,10-dihydro-9,10-diokso-1-antracenyl)-benzamid; 1-benzamido-5-klorantrakinon

Antrakinon-1-arsonsyre

N,N'-[iminobis(9,10-dihydro-9,10-diokso-4,1-antracendiyl)]-bisbenzamid; 4,4'-dibenzamido-1,1'-diantrimid

1,4,5,8-tetraaminoantrakinon; dispers-blått 1

2-metylantrakinon

9,10-dihydro-9,10-diokso-2,7-antracendisulfonsyre, di-Na-salt; antrakinon-2,7-disulfonsyre, di-Na-salt

1,2,3-trihydroksyantrakinon; antragallol

Karmin (Aluminium-lakkrødt)

9,10-dihydro-1,4-dihydroksy-9,10-diokso-2-antracensulfonsyre

2-amino-3-klorantrakinon

1-antrakinonsulfonsyre, Na-salt

2-tert.-butylantrakinon

1,4-dihydroksyantrakinon

1,5-diamino-4,8-dihydroksyantrakinon

1-hydroksy-4-[(4-metylfenyl)amino]-9,10-antracendion; 1-hydroksy-4-(p-toluidino)-antrakinon

1,4-dimetylantrakinon

1,1'-iminobis-9,10-antracendion; diantrimid

2-(syklopropylkarboksamido)antrakinon

1-amino-2-metylantrakinon; dispers-orange 11

2-[(9,10-dihydro-4-hydroksy-9,10-diokso-1-antracenyl)amino]-5-metyl-benzensulfonsyre, Na-salt; "Solway purpur R"

2,2'-[(9,10-dihydro-5,8-dihydroksy-9,10-diokso-1,4-antracendiyl)diimino]bis[5-metyl]benzensulfonsyre; alizarin-viridin

1,4-bis(etylamino)-9,10-antracendion; sudan-blått

1,4-diamino-5-nitroantrakinon

N-benzyl-9,10-dihydro-9,10-diokso-2-antracen-sulfonamid

2-bromantrakinon

1-fluorantrakinon

1-cyanoantrakinon

2-trifluormetylantrakinon

2. Anvendelse ifølge krav 1 for inhibering av sulfid-produksjon fra sulfatreduserende bakterier.

3. Anvendelse ifølge krav 2, hvori forbindelsen er 1,8-dihydroksyantrakinon.

4. Anvendelse ifølge krav 2, hvori forbindelsen er 1-klorantrakinon eller 2-klorantrakinon.

5. Anvendelse ifølge krav 2, hvori forbindelsen er 3-klor-2-antrakinon-karboksylsyre.

6. Anvendelse ifølge krav 2, hvori forbindelsen er 2-bromantrakinon.

7. Fremgangsmåte ifølge krav 2, hvori forbindelsen er 1-fluorantrakinon.

8. Anvendelse ifølge krav 2, hvori forbindelsen er 1-cyanoantrakinon.

9. Anvendelse ifølge krav 2, hvori forbindelsen er 2-metyl-trifluorantrakinon.

10. Anvendelse ifølge krav 1, hvori den sulfatreduserende bakterie omfatter én eller flere av Desulfovibrio desulfuricans, D. salexigens, D. vulgaris, D. multispirans

eller D. gigas.

11. Anvendelse ifølge krav 1, hvori forbindelsen oppløses eller suspenderes i et oppløsningsmiddel før den bringes i kontakt med mediet.

12. Anvendelse ifølge krav 11, hvori oppløsningsmidlet omfatter én eller flere av vann, etanol, aceton, metanol, dimetylsulfoksid, dimetylformamid eller tetrahydrofuran eller andre vannblandbare oppløsningsmidler.

13. Anvendelse ifølge krav 1, hvori forbindelsen bringes i kontakt med mediet i en konsentrasjon på minst 0,1 ppm.

14. Anvendelse ifølge krav 1, hvori et reduksjonsmiddel tilsettes til mediet inneholdende de sulfatreduserende bakterier.

15. Anvendelse ifølge krav 14, hvori reduksjonsmidlet er natriumsulfid og er til stede i mediet i en konsentrasjon fra tilnærmet 2 til 4 mM.

16. Anvendelse av antrakinoner ifølge krav 1, for avfallsbehandling.

17. Anvendelse av antrakinoner ifølge krav 1, for å redusere veksten av sulfatreduserende bakterier.

1/2

FIG. 1

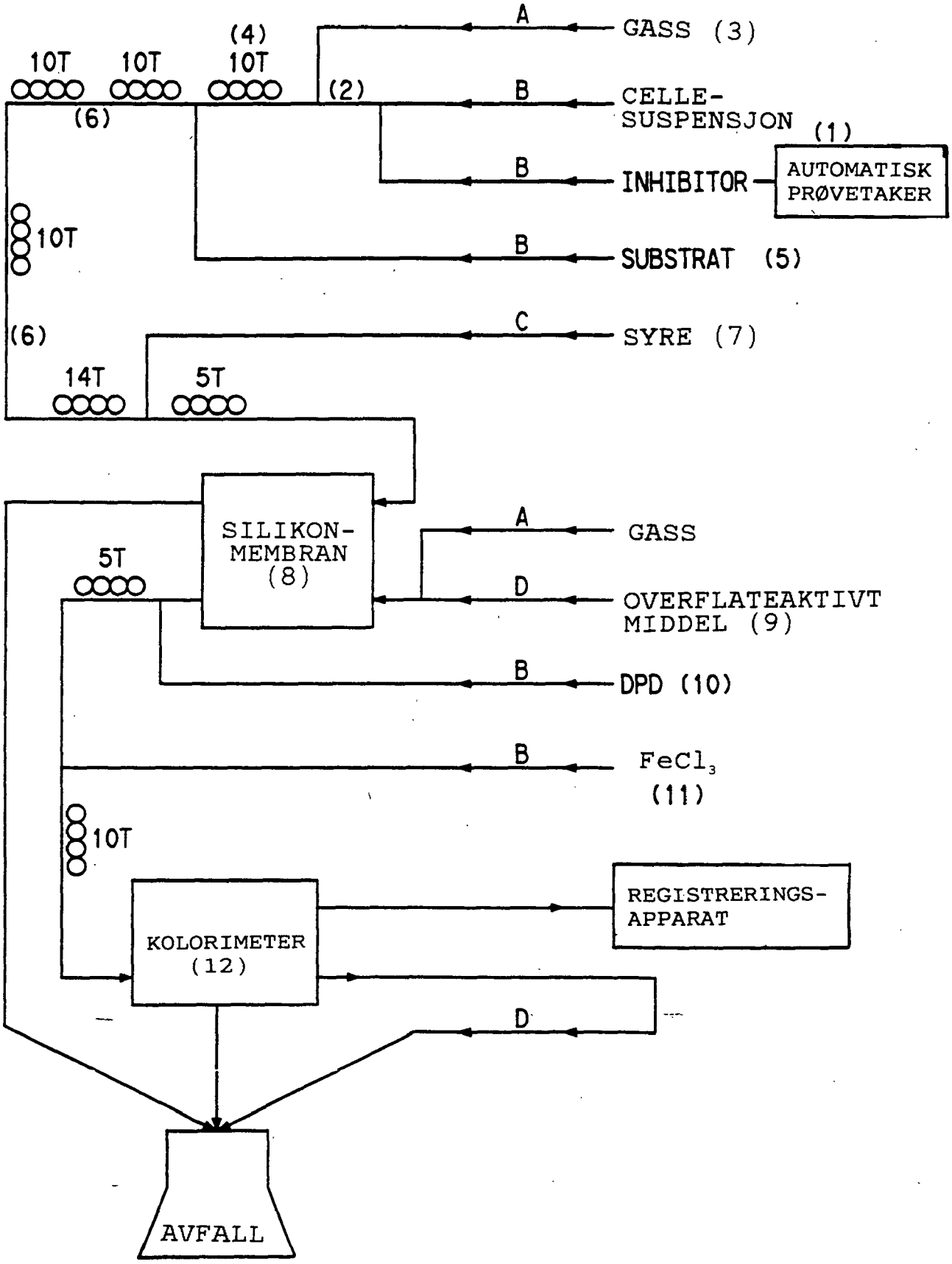

A
GASS (3)
(4)
10T
10T
10T
(2)
B
CELLE-
SUSPENSJON
(1)
(6)
B
INHIBITOR
AUTOMATISK
PRØVETAKER
10T
B
SUBSTRAT (5)
C
(6)
SYRE (7)
14T
5T
SILIKON-
MEMBRAN
(8)
A
GASS
5T
D
OVERFLATEAKTIVT
MIDDEL (9)
B
DPD (10)
B
FeCl3
(11)
10T
REGISTRERINGS-
APPARAT
KOLORIMETER
(12)
D
AVFALL

FIG.2

