(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
5. Juli 2001 (05.07.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/47932 A2

(51) Internationale Patentklassifikation[7]: C07D 487/22, A01N 43/90 // (C07D 487/22, 257:00, 209:00, 209:00, 209:00, 209:00)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE00/04609

(22) Internationales Anmeldedatum:
22. Dezember 2000 (22.12.2000)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
199 62 505.0 23. Dezember 1999 (23.12.1999) DE

(71) Anmelder und
(72) Erfinder: **SCHAFFER, Moshe** [DE/DE]; Haseneystrasse 24, 81377 München (DE). **JORI, Giulio** [IT/IT]; Via Cavalieri, 18, I-35100 Padova (IT). **HOLTZ, Alexander** [DE/DE]; Hirtenweg 17, 82031 Grünwald (DE).

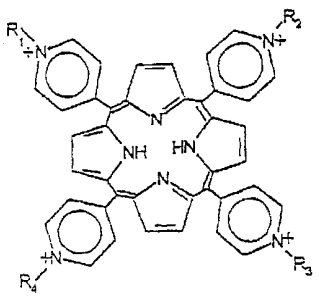
(74) Anwalt: **VOSSIUS & PARTNER**; Siebertstr. 4, 81675 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten *(national)*: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: MICROBICIDAL EFFECT OF PORPHYRINES IN DARKNESS

(54) Bezeichnung: MIKROBIZIDE WIRKUNG VON PORPHYRINEN IM DUNKELN



(I)

(57) Abstract: The invention relates to compounds of formula (I).

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft Verbindungen der Formel (I).

$R_1 = R_2 = R_3 = -CH_3$	$R_4 = -CH_3$	T_4MPyP
	$-CH_2(CH_2)_4CH_3$	mono-C6
	$-CH_2(CH_2)_8CH_3$	mono-C10
	$-CH_2(CH_2)_{12}CH_3$	mono-C14
	$-CH_2(CH_2)_{16}CH_3$	mono-C18
	$-CH_2(CH_2)_{20}CH_3$	mono-C22
	$-CH_2-C_6H_5$	mono-benzy
$R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = -CH_2(CH_2)_4CH_3$		tetra-C6

WO 01/47932 A2

(84) **Bestimmungsstaaten** *(regional)*: ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— *Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.*

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

Mikrobizide Wirkung von Porphyrinen im Dunkeln

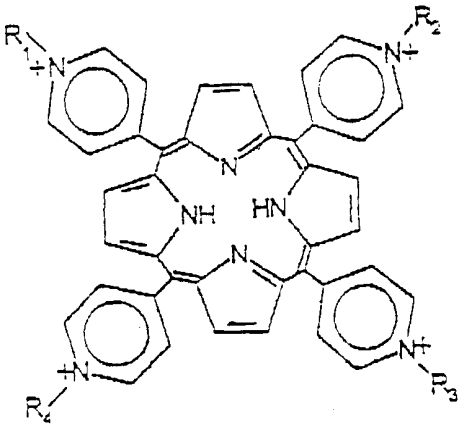
Die vorliegende Erfindung betrifft Porphyrinderivate, welche eine mikrobizide Wirkung aufweisen.

Porphyrine sind Photosensibilisatoren, welche elektromagnetische Strahlung, vorzugsweise sichtbares Licht, absorbieren und dadurch die Bildung von Radikalen und/oder Singulett-Sauerstoff aus Triplett-Sauerstoff katalysieren. Durch diesen Radikalmechanismus werden lebende Zellen teilweise oder ganz zerstört, und somit wird eine Möglichkeit zur Bekämpfung von schädlichen Lebewesen eröffnet. So offenbart z.B. EP-A-0 390 743 Porphyrine und Phthalocyanine als Insektizide und Akarizide. US-A-4,648,992 offenbart wasserlösliche Phthalocyaninverbindungen, die als Bleichmittel oder auch zur Desinfektion von Schwimmbädern Verwendung finden können. DE-A-196 06 082 betrifft ein Schädlingsbekämpfungsmittel, das einen Photosensibilisator der Tetrapyrrol- und/oder Tetraazapyrrolreihe enthält. In DE-A-196 06 081 werden ähnliche Tetrapyrrol-Photosensibilisatoren zum Bekämpfen von Bakterien in Wasser eingesetzt.

Allen vorstehenden Anwendungen ist jedoch gemeinsam, daß die Photosensibilisatoren nur unter Einwirkung von elektromagnetischer Strahlung/Licht wirksam sind.

Es wurde nun überraschend gefunden, daß bestimmte Porphyrinderivate auch ohne Einfluß von elektromagnetischer Strahlung eine mikrobizide Wirkung zeigen.

Erfindungsgemäß werden somit Verbindungen der folgenden allgemeinen Formel (I) bereitgestellt:



(I)

wobei R_1, R_2, R_3 und R_4 jeweils unabhängig voneinander gegebenenfalls substituierte Alkyl- oder Aralkylreste sind. Vorzugsweise ist der Alkylrest ein C_1-C_{30}-Alkylrest. Besonders bevorzugt sind kurze Alkylreste mit einer Kettenlänge bis zu 4 oder längere Reste mit 6 bis 22 C-Atomen. Ein bevorzugter Aralkylrest ist die Benzylgruppe. In einer bevorzugten Ausführungsform sind alle Reste R_1 bis R_4 kurzkettige Alkylreste mit 1 bis 4 C-Atomen, insbesondere Methylgruppen. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform stellen drei der Reste R_1 bis R_4 kurzkettige Alkylreste mit 1 bis 4 C-Atomen, insbesondere Methylgruppen, dar und der vierte Rest ist ein längerer, linearer Alkylrest mit mindestens 6 C-Atomen, wobei eine Kettenlänge von mindestens 10 C-Atomen stärker bevorzugt ist. Ebenfalls bevorzugt sind Verbindungen, in denen R_1, R_2 und R_3 jeweils eine Methylgruppe und R_4 ein C_6-C_{22}-Alkylrest oder eine Benzylgruppe sind oder eine Verbindung, in der alle Reste R_1 bis R_4 Hexylgruppen darstellen. Die mikrobizide Wirksamkeit wird durch das Einführen einer oder mehrerer längerer Alkylketten erhöht. Die beanspruchten Verbindungen können als Mikrobizide, insbesondere Bakterizide, eingesetzt werden.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können in analoger Weise zu bereits bekannten Porphyrinderivaten hergestellt werden.

Die Wirksamkeit der erfindungsgemäßen Verbindungen wird in den nachstehenden Beispielen illustriert. Die Definitionen der verwendeten Porphyrinderivate sind aus Fig. 1 zu entnehmen.

Dazu wurden Porphyrine unterschiedlicher chemischer Struktur (siehe Zeichnung) im Dunkeln mit *E. coli* und *S. aureus* Zellen inkubiert. Die Porphyrine wurden wäßrigen Suspensionen mit einem Gehalt an bakteriellen Zellen von 10^8 pro ml zugegeben und bei Raumtemperatur 5 Minuten im Dunkeln gelagert. Schließlich wurde die Menge des an die Zellen gebundenen Porphyrins in Abhängigkeit der Anzahl an Waschschritten (das Waschen wurde mittels physiologischer Lösungen durchgeführt) durch chemische Extraktion gefolgt von spektrophotofluorimetrischer Bestimmung gemessen.

Die Überlebensrate der bakteriellen Zellen nach der Inkubation mit den verschiedenen Porphyrinen wurde bestimmt durch Verdünnen von 0,3 ml der Suspension mit 2,7 ml des Nährmediums und Aufzeichnen der optische Dichte bei 650 nm in Abhängigkeit von der Zeit. Die Suspensionen wurden bei 37°C

gehalten. Die prozentuale Wachstumshemmung wurde mit Bezug auf eine Suspension von Vergleichszellen berechnet, die mit dem gleichen Verfahren behandelt, jedoch nicht dem Porphyrin zugesetzt worden war.

Tabelle 1

Gewinnung von Porphyrin aus *E. coli* Zellen, die 5 Minuten im Dunkeln mit 1 μM Porphyrin inkubiert und verschiedenen Waschschritten unterzogen wurden

Porphyrin	Gewinnung (nmol/mg Protein)			% gebunden nach 3 x Waschen
	kein Waschen	1 x Waschen	3x Waschen	
T_4MPyP	0,44 ± 0,04	0,19 ± 0,04	0,05 ± 0,01	11,4
mono-C6	1,58 ± 0,28	1,01 ± 0,12	0,39 ± 0,12	24,7
mono-C10	3,66 ± 0,071	2,78 ± 0,53	1,48 ± 0,38	40,4
mono-C14	5,38 ± 0,06	3,06 ± 0,25	2,28 ± 0,04	42,4
mono-C18	4,20 ± 0,16	4,08 ± 0,62	2,54 ± 0,38	60,5
mono-C22	5,12 ± 0,46	2,60 ± 0,04	3,04 ± 0,34	59,4
mono-Benzyl	2,52 ± 0,13	1,67 ± 0,06	0,71 ± 0,08	28,2
tetra-C6	1,65 ± 0,17	1,39 ± 0,23	0,94 ± 0,24	57,0

Tabelle 2

Gewinnung von Porphyrin aus *S. aureus* Zellen, die 5 Minuten im Dunkeln mit 1 μM Porphyrin inkubiert und verschiedenen Waschschritten unterzogen wurden

Porphyrin	Gewinnung (nmol/mg Protein)			% gebunden nach 3 x Waschen
	kein Waschen	1 x Waschen	3x Waschen	
T_4MPyP	0,68 ± 0,05	0,10 ± 0,01	0,11 ± 0,01	16,2
mono-C6	3,04 ± 0,05	2,05 ± 0,11	1,02 ± 0,12	33,6
mono-C10	7,13 ± 0,25	5,70 ± 0,54	4,09 ± 0,13	57,4
mono-C14	6,56 ± 0,40	5,53 ± 0,74	4,32 ± 0,13	65,9
mono-C22	6,39 ± 0,40	5,65 ± 0,13	4,95 ± 0,30	77,5

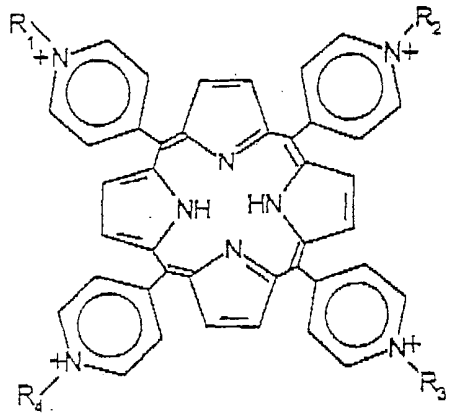
Tabelle 3

Auswirkung der 5-minütigen Inkubation im Dunkeln von *E. coli* und *S. aureus* Zellen mit den verschiedenen Porphyrinen auf die Überlebensrate der bakteriellen Zellen

Porphyrin	Konzentration (μM)	Wachtumshemmung (%)	
		E. coli	*S. aureus*
T_4MPyP	1	0,6	3,1
	10	3,1	7,8
mono-C6	1	0,5	5,1
	10	14,6	8,8
Mono-C10	1	4,6	27,8
	10	10,7	50
Mono-C14	1	46,1	69,1
	10	100	92,4
Mono-C18	1	2,7	39,8
	10	85,7	96,6
Mono-C22	1	19,1	39,9
	10	16,8	70,1
Mono-Benzyl	1	0,1	1,6
	10	13	25

Patentansprüche

1. Verbindung der folgenden allgemeinen Formel:



(I)

wobei R_1, R_2, R_3 und R_4 jeweils unabhängig voneinander gegebenenfalls substituierte Alkyl- oder Aralkylreste sind.

2. Verbindung nach Anspruch 1, wobei R_1, R_2, R_3 und R_4 alle Methylgruppen sind.

3. Verbindung nach Anspruch 1, wobei R_1, R_2, R_3 und R_4 jeweils Hexylgruppen sind.

4. Verbindung nach Anspruch 1, wobei R_1, R_2 und R_3 jeweils eine Methylgruppe ist und R_4 ein geradkettiger C_6-, C_{10}-, C_{14}-, C_{18}-, C_{22}-Alkylrest oder eine Benzylgruppe ist.

5. Verwendung der Verbindung nach Anspruch 1 als Mikrobizid.

6. Verwendung nach Anspruch 5, wobei diese im wesentlichen in Abwesenheit von sichtbarem und UV-Licht (im Dunkeln) erfolgt.

7. Verwendung nach Anspruch 5, wobei diese abwechselnd im Dunkeln wie in Anspruch 6 beschrieben und unter Einwirkung von sichtbarem und UV-Licht erfolgt.

8. Verwendung nach Anspruch 7, wobei die Wellenlänge von sichtbarem und UV-Licht im Bereich von 350 bis 900 nm liegt.