

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL**

(11) **232214**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **409637**

(22) Data zgłoszenia: **29.09.2014**

(51) Int.Cl.

C07D 249/08 (2006.01)

C07D 213/04 (2006.01)

C07D 401/12 (2006.01)

A61K 31/4196 (2006.01)

A61K 31/44 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

A61P 31/10 (2006.01)

(54) **Hemiaminale, sposób ich otrzymywania, kompozycja i środek farmaceutyczny zawierający te związki oraz ich zastosowanie**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

11.04.2016 BUP 08/16

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

31.05.2019 WUP 05/19

(73) Uprawniony z patentu:

**PORT POLSKI OŚRODEK ROZWOJU
TECHNOLOGII SPÓŁKA Z OGRANICZONĄ
ODPOWIEDZIALNOŚCIĄ, Wrocław, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**LESZEK CIUNIK, Wrocław, PL
KRZYSZTOF DRABENT, Wrocław, PL
ANNA KWIECIEŃ, Wrocław, PL
BOGUMIŁA SZPONAR, Wrocław, PL**

PL 232214 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku są nowe związki chemiczne będące produktami syntezy 3- i 4-pirydyno-karboksyaldehydu z pochodnymi triazolu, sposób ich otrzymywania, środek farmaceutyczny zawierający nowe związki oraz ich zastosowanie.

Triazole są przedstawicielami heterocyklicznych, pięciocłonowych, aromatycznych związków chemicznych zawierających trzy atomy azotu. Ich korzystne właściwości znalazły liczne zastosowania medyczne. Pochodne triazoli są stosowane jako inhibitory enzymów bakteryjnych wspomagających antybiotyki, np. inhibitor β -laktamaz, leki hamujące rozwój nowotworów estrogenozależnych, leki hamujące syntezę ergosterolu, leki hamujące replikację RNA i DNA niektórych wirusów, leki psychotropowe (jako triazolowe pochodne benzo-1,4-diazepiny) i wiele innych.

Przeciwbakteryjne działanie pochodnych triazoli znane jest z publikacji zgłoszeń patentowych US 2005/0113347 czy US 2006/0270628. W patentach US nr 4,251,512, nr 4,147,791, nr 4,038,406 i nr 4,048,318 ujawniono związki i kompozycje przeciwgrzybiczne o synergistycznym działaniu zawierające pochodne triazolu. Podobnie w publikacji zgłoszenia międzynarodowego WO 2006/109933 przedstawiono zastosowanie w terapii związków na bazie triazoli, ich soli i kompozycji farmaceutycznych o aktywności przeciwgrzybiczej. W publikacji WO03/065807 omówiono zastosowanie alkoksylowanych amin do wzmacniania aktywności preparatów grzybobójczych zawierających grzybobójcze triazole.

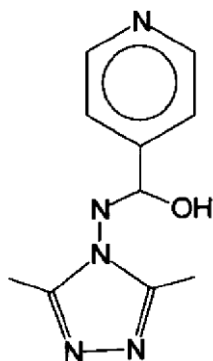
W patencie PL214249 ujawniono korzystne medycznie, antybakteryjne i antygrzybiczne działanie hemiaminali otrzymanych na bazie 4-amino-4H-1,2,4-triazolu. Badania wykazały różnice aktywności bakteryjnej i antygrzybiczej w zależności od rodzaju podstawników przy pierścieniu fenylovym. W szczególności ujawniono związki wykazujące po rozpuszczeniu w roztworze wodnym wobec DMSO aktywność bójczą wobec szczepów *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* oraz *Candida albicans*. Niemniej jednak związki 2nbald, 3nbald, 4nbald oraz 2,4dnbald działają selektywnie wyłącznie na wybrane szczepy, a hamowanie przez nich wzrostu grzybów ma miejsce po rozpuszczeniu w roztworze wodnym z dodatkiem DMSO. Ujawnione w dokumencie PL214249 związki są zmienne konformacyjnie, co osłabia ich trwałość.

Tak więc, w świetle znanego stanu techniki istnieje nadal potrzeba dostarczenia udoskonalonych związków wykazujących szerokie spektrum działania, jednocześnie wobec licznych szczepów bakteryjnych jak i grzybiczych, przy ich minimalnym stężeniu, zapewniając stworzenie skutecznego leku wobec infekcji wywołanych przez te mikroorganizmy.

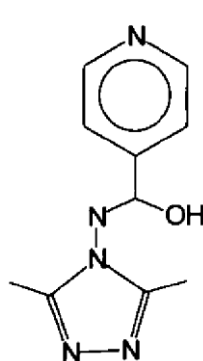
Potrzebą zidentyfikowaną w stanie techniki jest również dostarczenie związków o zwiększonej trwałości przy zachowaniu ich efektywnej aktywności bójczej.

Celem wynalazku jest zatem dostarczenie aktywnych biologicznie i jednocześnie trwałych substancji stosowanych w medycynie. Cel ten zrealizowano w niniejszym wynalazku.

Przedmiotem wynalazku są związki [(3,5-dimetylo-4H-1,2,4-triazol-4-yl)amino](pirydyno-3-yl)metanol opisany wzorem 1 oraz [(3,5-dimetylo-4H-1,2,4-triazol-4-yl)amino](pirydyno-4-yl)metanol opisany wzorem 2:



Wzór 1



Wzór 2

Przedmiotem wynalazku jest również sposób otrzymywania hemiaminali jak określono powyżej wzorami 1 i 2, w którym pochodne pirydynokarboksyaldehydu poddaje się reakcji z 4-amino-3,4-dimetylo-4H-1,2,4-triazolem, w równomolowych ilościach obu substancji rozpuszczonych w rozpuszczalniku, a następnie przeprowadza się wyodrębnienie otrzymanych związków.

Korzystnie, mieszanina reakcyjna pozbawiona jest kwasu.

Korzystnie, rozpuszczalnikiem zastosowanym w reakcji otrzymywania nowych pochodnych triazolu jest rozpuszczalnik organiczny wybrany z grupy obejmującej metanol, etanol, acetonitryl, propanol, izopropanol, DMF, DMSO, butanol, aceton, fenol, eter dietylowy, chloroform, n-heksan i cykloheksan.

Bardziej korzystnie rozpuszczalnikiem jest eter dietylowy, chloroform, n-heksan i cykloheksan, zwłaszcza n-heksan.

Kolejnym przedmiotem wynalazku jest kompozycja farmaceutyczna zawierająca związek o wzorze 1 lub 2, lub jego sól, oraz dopuszczalny farmaceutycznie nośnik lub zaróbkę.

Przedmiotem wynalazku jest również środek farmaceutyczny zawierający rzeczoną kompozycję farmaceutyczną wytwarzany w postaci maści, żelu, tabletki, kapsułki, proszku, granulek, zawiesiny lub czopków.

Korzystnie, środek farmaceutyczny w postaci stałej posiada trwałość chemiczną wynoszącą minimum 6 miesięcy w warunkach pokojowych (temperatura, ciśnienie, wilgotność).

Kolejnym przedmiotem wynalazku jest hemiaminal jak określono powyżej wzorami 1 i 2 lub jego dopuszczalna farmaceutycznie sól do stosowania jako lek.

Kolejnym przedmiotem wynalazku jest hemiaminal jak określono wzorami 1 i 2 lub jego dopuszczalna farmaceutycznie sól do zastosowania w zapobieganiu i/lub leczeniu infekcji wywołanych bakteriami i grzybami.

Korzystnie, infekcje wywołane są *Candida albicans* lub *E. coli* lub *Staphylococcus aureus*.

Przedmiotem wynalazku jest również hemiaminal o wzorze 2 do zastosowania w zapobieganiu i/lub leczeniu infekcji wywołanych *E. coli*.

Nowe pochodne są związkami powstałymi w wyniku reakcji 4-amino-3,5-dimetylo-4H-1,2,4-triazolu z pochodnymi pirydynokarboksyaldehydu. Należą one do grupy hemiaminali, które są znane jako bardzo nietrwałe i trudne do wydzielenia związku przejściowego w syntezie zasad Schiffa. Korzystnie charakteryzują się tym, że posiadają dwa centra chiralne oraz specyficznie dobrane podstawniki. Dzięki swoim właściwościom znajdują zastosowanie jako substancje aktywne leków zapobiegających i stosowanych w leczeniu infekcji wywołanych obecnością bakterii i grzybów.

Nieoczekiwanie okazało się, że zastosowanie do reakcji 3- i 4-pirydynokarboksyaldehydu wpływa na ich trwałość przy zachowaniu aktywności biologicznej związków względem grzybów oraz eliminowaniu mikroorganizmów.

Nowe związki według wynalazku znajdują zastosowanie do wytwarzania leku przeznaczonego do zapobiegania lub leczenia infekcji wywołanych grzybami i bakteriami.

Trwałość hemiaminali w roztworze określano na podstawie porównania sukcesywnie powtarzanych widm NMR.

Fig. 1 Trwałość hemiaminali w roztworze DMSO:

- ● – [(3,5-dimetylo-4H-1,2,4-triazol-4-yl)amino](pirydyno-3-yl)metanol (wzór 1),
- ■ – [(3,5-dimetylo-4H-1,2,4-triazol-4-yl)amino](pirydyno-4-yl)metanol (wzór 2),
- ▲ – (2,4-dinitrofenylo)[(4H-1,2,4-triazol-4-yl)amino]metanol (PL 214249).

Na osi poziomej zaznaczono czas, na pionowej – procentową zawartość hemiaminali w roztworze względem stężenia wyjściowego.

Fig. 2 Trwałość hemiaminali w roztworze DMSO:

- ● – [(3,5-dimetylo-4H-1,2,4-triazol-4-yl)amino](pirydyno-3-yl)metanol (wzór 1),
- ■ – [(3,5-dimetylo-4H-1,2,4-triazol-4-yl)amino](pirydyno-4-yl)metanol (wzór 2).

Na osi poziomej zaznaczono czas, na pionowej – procentową zawartość hemiaminali w roztworze względem stężenia wyjściowego.

Fig. 3 Trwałość hemiaminalu (2,4-dinitrofenylo)[(4H-1,2,4-triazol-4-yl)amino]metanol (PL 214249).

Na osi poziomej zaznaczono czas, na pionowej – procentową zawartość hemiaminali w roztworze względem stężenia wyjściowego.

P r z y k ł a d 1. Chiralne związki triazoli.

W wyniku reakcji pochodnych benzaldehidów (3- i 4-pirydynokarboksyaldehydu) z 4-amino-3,5-dimetylo-4H-1,2,4-triazolem powstają nowe związki z centrami chiralnymi na atomie węgla oraz atomie azotu łączącymi oba pierścienie.

Przykład 2. Synteza chiralnych pochodnych triazolu.

2.1. Ogólne zasady syntezy.

Przebieg reakcji syntezy hemiaminali polega na nukleofilowej addycji aminy do grupy karbonylowej aldehydu. Obecność kwasu w mieszaninie reakcyjnej katalizuje oderwanie cząsteczki wody, w wyniku czego końcowym produktem stają się niepożądane iminy lub przy jego dużym nadmiarze – zahamowanie reakcji poprzez zablokowanie grupy aminowej. Korzystnym warunkom reakcji sprzyja nieobecność kwasu w mieszaninie reakcyjnej, odpowiedni dobór właściwości donorowo-akceptorowych podstawników w pierścieniu fenylovym oraz specyficzne właściwości reszty aminowej. Ta ostatnia została potwierdzona przebiegiem syntezy pochodnych aldehydu benzoesowego i aniliny, prowadząc jedynie do otrzymania zasady Schiffa. Istotne znaczenie dla przebiegu i wydajności reakcji syntezy hemiaminali ma właściwy dobór rozpuszczalnika. Syntezy prowadzone są w rozpuszczalnikach organicznych, tj. w metanolu, etanolu, acetonitrylu, propanolu, izopropanolu, DMF, DMSO, butanolu, acetonie, fenolu, eterze dietylowym, chloroformie, n-heksanie lub cykloheksanie.

Reagenty ogrzewano i mieszano pod chłodnicą zwrotną w etanolu przez 2 godziny. Po ochłodzeniu do temperatury pokojowej klarowny, bezbarwny roztwór wstawiono do lodówki na noc. Następnie, usunięto rozpuszczalnik na wyparce próżniowej pod zmniejszonym ciśnieniem. Po zagęszczeniu wytrącił się w całej objętości biały, drobnokrystaliczny osad. Po całkowitym usunięciu rozpuszczalnika otrzymany osad zawieszono w niewielkiej ilości zimnego etanolu, odsączono na lejku, przemyto dwukrotnie zimnym etanolem i suszono na powietrzu.

2.2. Synteza wybranych pochodnych.

Synteza [(3,5-dimetylo-4H-1,2,4-triazol-4-yl)amino](pirydino-3-yl)metanol (wzór 1).

Do roztworu 3,5-dimetylo-4H-1,2,4-triazolu (0,47 ml, 0,5 mM) rozpuszczonego na gorąco w 10 ml etanolu wkroplono roztwór 3-pirydynokarboksyaldehydu (0,56 g, 0,5 mM) w 1 ml etanolu. Tak otrzymany klarowny, bezbarwny roztwór ogrzewano pod chłodnicą zwrotną przez 2 godziny. Po ochłodzeniu do temperatury pokojowej klarowny, bezbarwny roztwór wstawiono do lodówki na noc. Następnie, usunięto rozpuszczalnik na wyparce próżniowej pod zmniejszonym ciśnieniem. Po zagęszczeniu do około 2 ml wytrącił się w całej objętości biały, drobnokrystaliczny osad. Po całkowitym usunięciu rozpuszczalnika otrzymany osad zawieszono w niewielkiej ilości zimnego etanolu, odsączono na lejku G3, przemyto dwukrotnie zimnym etanolem i suszono na powietrzu. Wydajność 0,915 g (84,4%).

Synteza [(3,5-dimetylo-4H-1,2,4-triazol-4-yl)amino](pirydino-4-yl)metanol (wzór 2).

Do roztworu 3,5-dimetylo-4H-1,2,4-triazolu (0,47 ml, 0,5 mM) rozpuszczonego na gorąco w 10 ml etanolu wkroplono roztwór 4-pirydynokarboksyaldehydu (0,56 g, 0,5 mM) w 1 ml etanolu. Tak otrzymany klarowny, słomkowy roztwór ogrzewano pod chłodnicą zwrotną przez 2 godziny. Po ochłodzeniu do temperatury pokojowej klarowny, słomkowy roztwór wstawiono do lodówki na noc. Następnie, usunięto rozpuszczalnik na wyparce próżniowej pod zmniejszonym ciśnieniem. Po zagęszczeniu do około 2 ml wytrącił się w całej objętości biały, drobnokrystaliczny osad. Po całkowitym usunięciu rozpuszczalnika otrzymany osad zawieszono w niewielkiej ilości zimnego etanolu, odsączono na lejku G3, przemyto dwukrotnie zimnym etanolem i suszono na powietrzu. Wydajność 0,887 g (81,4%).

2.3. Spektroskopia NMR.

Widma ^1H NMR w celu scharakteryzowania zsyntezowanych związków wykonano za pomocą następujących spektrometrów: Spektrometr Bruker Avance III 600 MHz, Spektrometr Bruker Avance 500 MHz i Spektrometr 300 MHz AMX Bruker NMR. Badania wykonano w pracowni Magnetycznego Rezonansu Jądrowego Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego. Zastosowanym rozpuszczalnikiem był DMSO- d_6 . Sygnały na widmie NMR zostały skalibrowane na sygnał rozpuszczalnika – w widmie ^1H NMR – 2,51 ppm, a w widmach ^{13}C NMR 39,91 ppm.

2.4. Spektroskopia w podczerwieni.

Badania IR wykonano za pomocą spektrometru Bruker 66/s FTIR (Bruker IFS66) w Laboratorium spektroskopii w podczerwieni Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego. Pomiary wykonano w KBr. Widma mierzono w zakr. 4000–400 cm^{-1} .

2.5. Analiza elementarna.

Analizy wykonano na analizatorze elementarnym Vario EL III CHNS firmy Elementar na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego.

2.6. Identyfikacja związków.

[(3,5-dimetylo-4H-1,2,4-triazol-4-yl)amino](pirydino-3-yl)metanol (wzór 1).

Analiza elementarna związku o wzorze $C_{10}H_{13}N_5O$:

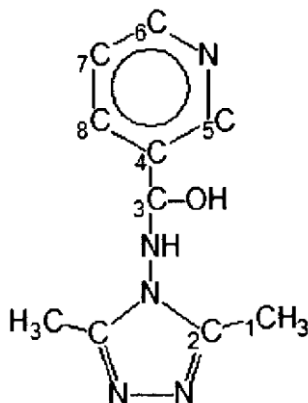
	%C	%H	%N
obliczona	54.78	5.98	31.94
wyznaczona	54.80	6.12	32.18

1H NMR

(DMSO, 295K, ppm, 500 MHz)

2,34 (s, 2CH₃); 5,47 (t, J = 6,29 Hz, CH); 6,625 (d, J = 5,91 Hz, OH); 7,131 (d, J = 6,87 Hz, NH); 7,45 (m, CHpy); 7,93 (m CHpy); 8,574 (m, CHpy); 8,86 (d, J = 2,10 Hz, CH)

^{13}C NMR



(DMSO, 295K, ppm, 125,76 MHz)

C1 – 10,25; C2 – 151,07; C3 – 82,20; C4 – 139,17; C5 – 148,15; C6 – 149,37; C7 – 123,29; C8 – 134,17

IR

(Bruker IFS66, nujol, cm⁻¹): 3202s, 3125s, 3069s, 2741m, 2885vw, 1596m, 1582m, 1570s, 1542m, 1525m, 1511m, 1425vs, 1353w, 1336m, 1300w, 1252w, 1205w, 1127vw, 1086m, 1065vs, 1051m, 1030m, 980w, 955m, 894m, 831w, 784m, 766m, 746w, 707s, 675w, 651w, 622w, 613w, 596w, 513vw, 490w, 410w

[(3,5-dimetylo-4H-1,2,4-triazol-4-yl)amino](pirydyno-4-yl)metanol (wzór 2).

Analiza elementarna związku o wzorze $C_{10}H_{13}N_5O$:

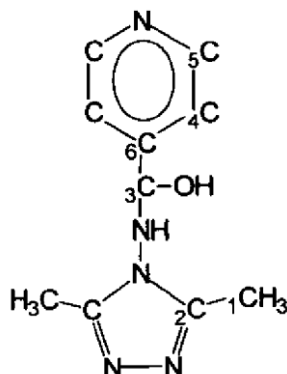
	%C	%H	%N
obliczona	54.78	5.98	31.94
wyznaczona	54.79	6.06	32.51

1H NMR

(DMSO, 295K, ppm, 500 MHz)

2,34 (s, 2CH₃); 5,47 (t, J = 6,68 Hz, CH); 6,695 (d, J = 5,72 Hz, OH); 7,145 (d, J = 7,44 Hz, NH); 7,562 (d, J = 4,67, 2CHapy); 8,626 (d, J = 6,10 Hz, 2CHbpy)

^{13}C NMR



(DMSO, 295K, ppm, 125,76 MHz)

C1 – 10,74; C2 – 151,54; C3 – 83,17; C4 – 122,30; C5 – 150,07; C6 – 148,99

IR

(Bruker 1FS66, nujol, cm⁻¹): 3191s, 3125s, 3061s, 2724m, 1941vw, 1609m, 1573s, 1541m, 1512m, 1415vs, 1339m, 1320w, 1289w, 1245w, 1232w, 1216w, 1197m, 1105s, 1-61vs, 1031m, 997m, 977w, 903s, 848w, 803s, 779m, 764m, 671m, 637m, 611w, 582m, 523vw, 503w, 406w

P r z y k ł a d 3. Właściwości biologiczne nowych związków.

Oznaczano aktywność bakteriobójczą dwóch nowosyntezowanych związków pochodnych pirydynokarboksyaldehydu i triazoli.

Przeprowadzono test hamowania strefy wzrostu czystych kultur bakterii i grzybów za pomocą związków o wzorach 1 i 2 w postaci stałej.

Badane związki

Badano chiralne pochodne pirydynokarboksyaldehydu i triazoli – związku o wzorze 1 i wzorze 2. Każdy związek był badany w trzech powtórzeniach.

Szczepy bakteryjne

W badaniach wykorzystane zostały szczepy bakteryjne z Polskiej Kolekcji Mikroorganizmów (PCM) przy Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu: *Staphylococcus aureus* PCM 2602, *Candida albicans* PCM 2566, *Pseudomonas aeruginosa* PCM 2058, *Escherichia coli* PCM 2057.

Podłoże do hodowli bakterii

Wszystkie drobnoustroje hodowano na standardowym bulionie odżywczym (Difco).

Hodowla bakterii

Bakterie przechowywane na skosie agarowym (inoculum – pasaż 3), każdorazowo przesiewano na podłoże płynne i hodowano przez 24 godz. w temp 37°C. Prowadzono pomiar gęstości optycznej zawiesiny bakterii przy długości fali 550 nm. W celu ujednolicenia pomiaru zawiesinę (w razie potrzeby) rozcieńczano do wartości absorbancji 0,5.

Metody

Test aktywności przeciwbakteryjnej/przedwgrzybiczej preparatu w formie stałej.

W wyniku sprasowania badanych związków w prasie hydraulicznej (10% substancji w wypełniaczu – skrobi) otrzymano krążki o średnicy 5 mm (suchych) i wadze 100 mg. Materiał umieszczano na płytkach agarowych z uprzednio wysianą w postaci murawy czystą kulturą bakteryjną i poddano inkubacji w temp. 37°C przez 24 godziny. Obserwowano strefy zahamowania wzrostu bakterii na płycie agarowej w sąsiedztwie krążka.

Właściwości biologiczne otrzymanych związków.

Aktywność bójcza

Działanie hamujące wzrost bakterii związków określano za pomocą pomiaru promienia [mm] strefy zahamowania wzrostu bakterii lub grzybów po 24 godzinach w warunkach inkubacji.

T a b e l a 1

Zestawienie wielkości stref zahamowanego wzrostu [mm] bakterii i grzybów

	Wzór 1	Wzór 2
<i>Candida albicans</i>	6	7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	5
<i>E. coli</i>	3	11

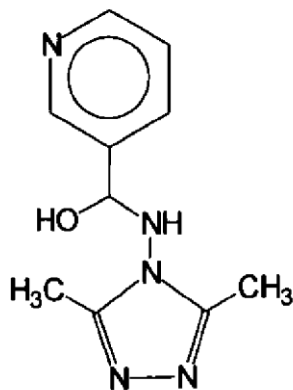
Aktywność bakteriobójcza/grzybobójcza badanych związków

Zaobserwowano hamowanie strefy wzrostu niektórych badanych bakterii. Najskuteczniejsze działanie wykazuje związek o wzorze 2 w stosunku do *E. coli* wszystkich badanych drobnoustrojów. Wynik świadczy również o znacznym potencjale grzybobójczym w stosunku do *Candida albicans* oraz bakteriobójczym względem *Staphylococcus aureus* obu związków.

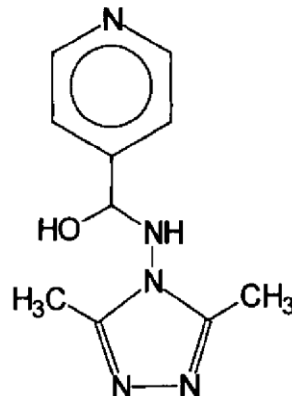
Nowe związki wykazują działanie bakterio- i grzybobójcze, znajdując potencjalne zastosowanie jako skuteczne antybiotyki o szerokim spektrum działania.

Zastrzeżenia patentowe

1. Hemiaminal wybrany z grupy obejmującej [(3,5-dimetylo-4H-1,2,4-triazol-4-yl)amino](pirydyno-3-yl)metanol (wzór 1) oraz [(3,5-dimetylo-4H-1,2,4-triazol-4-yl)amino](pirydyno-4-yl)metanol (wzór 2).



WZÓR 1



WZÓR 2

2. Sposób otrzymywania hemiaminalu jak określono w zastrz. 1, **znamienny tym**, że pochodne pirydynokarboksyaldehydu poddaje się reakcji z 4-amino-3,4-dimetylo-4H-1,2,4-triazolem, w równomolowych ilościach obu substancji rozpuszczonych w rozpuszczalniku, a następnie przeprowadza się wyodrębnienie otrzymanych związków.
3. Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że mieszanina reakcyjna pozbawiona jest kwasu.
4. Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że rozpuszczalnikiem zastosowanym w reakcji otrzymywania nowych pochodnych triazolu jest rozpuszczalnik organiczny wybrany z grupy obejmującej metanol, etanol, acetonitryl, propanol, izopropanol, DMF, DMSO, butanol, aceton, fenol, eter dietylowy, chloroform, n-heksan i cykloheksan.
5. Sposób według zastrz. 4, **znamienny tym**, że rozpuszczalnikiem jest eter dietylowy, chloroform, n-heksan i cykloheksan.
6. Kompozycja farmaceutyczna zawierająca związek jak określono w zastrz. 1 lub jego sól oraz dopuszczalną farmaceutycznie zaróbkę lub nośnik.
7. Środek farmaceutyczny zawierający kompozycję jak określono w zastrz. 6, **znamienny tym**, że występuje w postaci maści, żelu, tabletki, kapsułki, proszku, granulek, zawiesiny lub czopków.
8. Hemiaminal jak określono w zastrz. 1 lub jego dopuszczalna farmaceutycznie sól do stosowania jako lek.
9. Hemiaminal według zastrz. 8 do wytwarzania leku do leczenia infekcji wywołanych bakteriami i grzybami.
10. Hemiaminal do wytwarzania leku do leczenia infekcji wywołanych bakteriami i grzybami według zastrz. 9, **znamienny tym**, że infekcje wywoływane są *Candida albicans*, *E. coli* lub *Staphylococcus aureus*.

Rysunki

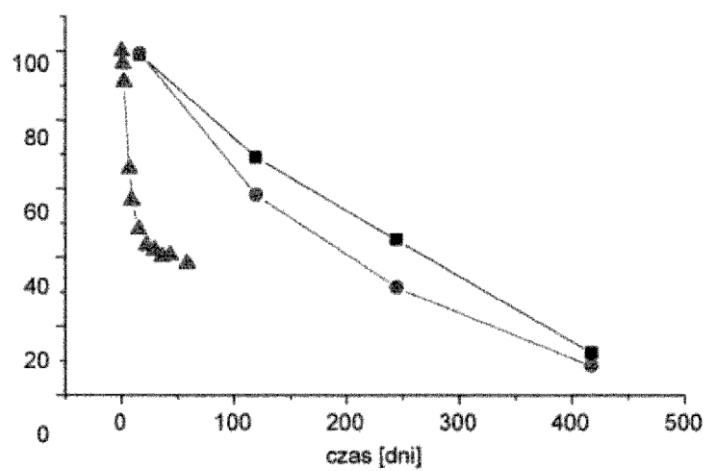


Fig. 1

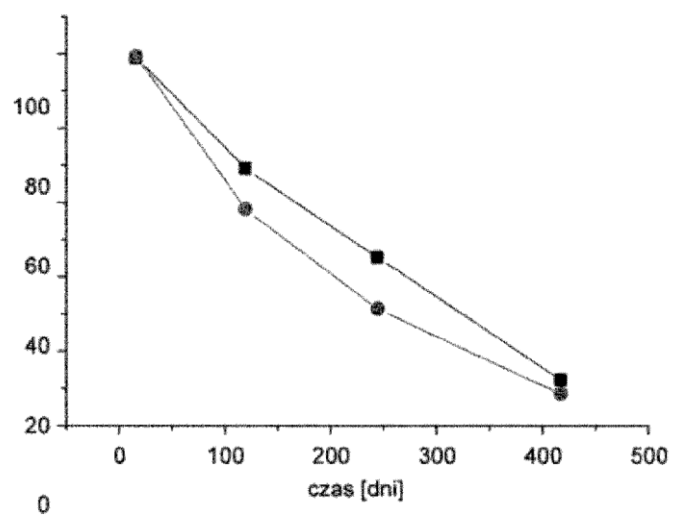


Fig. 2

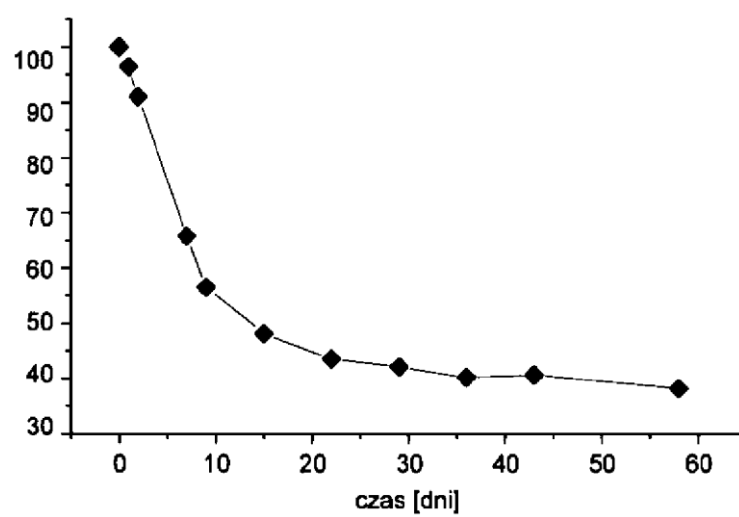


Fig. 3

