

422825

P.- 56.317AR.1
ES/CF/HCH/X119

MEMORIA DESCRIPTIVA

Int. Cl.: C07D

para solicitar PATENTE DE INVENCION por 20 años

a nombre de THE WELLCOME FOUNDATION LIMITED

entidad británica

establecida en 183-193 Euston Road, Londres N.W.1.,
Inglaterra

por: "UN METODO DE PREPARAR DERIVADOS DE PTERIDINA"

(Clase Internacional C07d)

17-2-74

- 1 -

BAD ORIGINAL

422825

L4



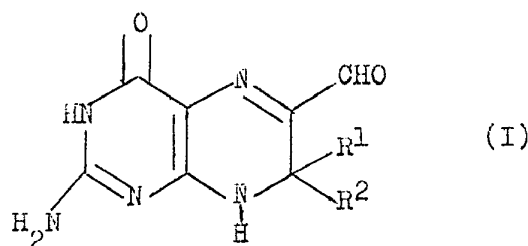
El presente invento se refiere a derivados de pteridina, a su síntesis química y a formulaciones farmacéuticas que los contienen. La Memoria descriptiva también describe composiciones y formulaciones farmacéuticas que comprenden estas pteridinas en combinaciones que son útiles en el tratamiento de infecciones microbianas.

Ya se ha establecido que los compuestos 2-amino-4-hidroxi-6-hidroximetil-7,7-dimetil-7,8-dihidropteridina y 2-amino-4-hidroxi-6-metil-7,7-dimetil-7,8-dihidropteridina o sus tautómeros o sus sales farmacéuticamente aceptables, tienen actividad bacteriostática, siendo particularmente eficaces contra Cl. perfringens y Derm. dermatonomus, tal como se describe en las Memorias descriptivas de la patente británica nº 1303171 y la solicitud de patente española nº 393.486 (patente belga nº 770.577).

Se ha encontrado ahora que las nuevas pteridinas de acuerdo con la siguiente fórmula (I) o sus tautómeros o sus sales farmacéuticamente aceptables, que son análogas a las pteridinas descritas en las Memorias descriptivas de la solicitud de patente británica pendiente nº 35814/72, y 35816/72, y en la solicitud de patente española nº 417415, son también útiles como antagonistas del metabolismo microbiano. En la fórmula (I)

25

422025



5

R¹ y R² son iguales o diferentes y cada uno es un grupo alcoholo inferior o R¹ y R², junto con el átomo de carbono de la estructura del anillo de pteridina, forman un sistema de anillo espirocicloalcohílico que tiene 4 a 6 átomos de carbono fuera de la estructura del anillo de pteridina.

Tal como se emplea la presente Memoria y a través de toda ella, la expresión "grupo alcoholo inferior" se refiere a un grupo alcoholo de cadena recta o ramificada que tiene de 1 a 4 átomos de carbono.

Los compuestos de fórmula (I) en donde R¹ y R² son iguales y son ambos grupos alcoholos inferiores, tales como grupos metilos y particularmente grupos etilos son grupos especialmente preferidos. Así, se han descubierto los compuestos 2-amino-4-hidroxi-7,7-dimetil-7,8-dihidropteridin-6-carboxaldehido y su análogo 7,7-dietílico que son particularmente útiles en el tratamiento de infecciones microbianas.



De acuerdo con el presente invento, por consiguiente, se crean en un aspecto los nuevos compuestos de la fórmula (I) y sus sales.

5 Los compuestos anteriores y sus sales inhiben una de las enzimas implicadas en la biosíntesis del ácido dihidrofólico, llamada hidroximetildihidropteridina-
10 pirofosfokinasa, que es esencial para el desarrollo de los microorganismos, por ejemplo las bacterias. Dichos compuestos pueden ser empleados por consiguiente en investigaciones farmacológicas in vitro para establecer mediante ensayos de diagnóstico y clínicos, por ejemplo, las propiedades de las bacterias. Cuando se emplean como bacteriostáticos dichos compuestos pueden encontrarse
15 presentes en una concentración de 50 a 500, en particular 110 a 180 mg de base/ml de la solución en la cual se desarrolla el organismo en ausencia de un compuesto. Un empleo adicional de los compuestos, cuando se encuentran en solución, es en el tratamiento de heridas, por ejemplo después de operaciones quirúrgicas, para impedir el desarrollo de bacterias. Además los compuestos de fórmula (I),
20 y sus sales manifiestan una toxicidad inesperadamente baja en mamíferos o aves, por ejemplo aves de corral, que los hace particularmente adecuados para la aplicación contra las infecciones microbianas en tales huéspedes, bajo
25 las circunstancias que se describen a continuación.



Los cofactores de tetrahidrofolato son metabo-
litos esenciales en todas las células para la biosínte-
sis de purinas, ácido timidílico, serina y otros diver-
sos compuestos biológicamente importantes. La mayoría de
5 estos cofactores son aductos de un carbono del ácido te-
trahidrofólico. La fuente última de éstos para los anima-
les superiores y el hombre está constituida por los ali-
mentos, que contienen folatos preformados usualmente en
forma de vitaminas.

10 En los microorganismos, los cofactores se sin-
tetizan a partir de compuestos químicos más sencillos.
Generalmente el procedimiento de biosíntesis proporciona
primero "dihidropteridina" (Pt), es decir el éster piro-
fosfato de 2-amino-4-hidroxi-6-hidroximetil-7,8-dihidrop-
15 teridina (HMPT), a partir de su HMPT precursor inmediato
en presencia de la enzima hidroximetildihidropteridina-pi-
rofosfokinasa (HMPPS). La Pt se condensa luego con ácido
p-aminobenzoico (pAB) en presencia de la enzima dihidrop-
terato-sintetasa para formar ácido dihidropterico
20 (DPtA). Este compuesto intermedio se condensa después con
glutamato para formar ácido dihidrofólico (DFA o "folato")
que luego se reduce enzimáticamente para proporcionar el
tetrahidrofolato esencial en, por ejemplo, las bacterias
y otros microorganismos.

25 La formación del "folato" a partir de los blo-

422825



ques integrantes básicos, es decir la pteridina, el pAB, y el glutamato, y la conversión adicional de éste en tetrahidrofolato se sabe que es inhibida en dos modos diferentes. Por ejemplo las sulfonamidas desplazan al pAB, en el esquema de reacción anterior. Debido a su mucha semejanza estructural con el pAB, las sulfonamidas u otros "competidores" similares entran en la biosíntesis e impiden la formación de DATA y de DFA, y son por consiguiente antimetabolitos para el metabolito pAB. También se sabe que los compuestos que son "inhibidores" de la enzima ácido dihidrofólico-reductasa bloquean la etapa de síntesis que conduce al tetrahidrofolato. Un número considerable de derivados de pirimidina muestran propiedades antimicrobianas sustanciales sobre la base de tal bloqueo.

Se ha establecido más tarde que tales inhibidores pueden actuar de modo sinérgico con las sulfonamidas, es decir puede existir un bloqueo doble secuencial y una potenciación mutua potente de los efectos antibacterianos de los dos materiales. El margen de acción antimicrobiana ejercido por tales combinaciones es considerablemente más amplio que el esperado de la actividad de cualquier fármaco, y los organismos que son solamente sensibles de modo marginal a los agentes individuales llegan a ser muy sensibles en las combinaciones.

También se ha sugerido hipotéticamente que los

422825



antimetabolitos para la Pt podrían inhibir la biosíntesis del DPTA (y DFA) (cf. Hitchings and Burchall Advances in Enzymology 27, 417-468 (1965), pero los compuestos en cuanto han sido ensayados para tal fin han sido
5 desesperanzadores, siendo o inactivos o demasiados tóxicos o ambas cosas a la vez (cf. los compuestos descritos en las patentes británicas nº 981.506 y 987.916).

Se ha establecido que, para fines antimicrobianos, es un requisito previo para un antagonismo efectivo
10 del Pt que el compuesto debe ser un inhibidor de la HMPPS sin actuar también como antimetabolito para la hidropteridina que sirve como cofactor para la hidroxilación de la fenilalanina y tirosina, precursoras de las catecolaminas, tales como la norepinefrina, que tienen importantes acciones como reguladoras de los sistemas cardiovasculares. Tal efecto antimetabólico podría conducir a una
15 toxicidad prohibitiva para especies de mamíferos o aves, que normalmente son los huéspedes infectados con los microbios.

Se ha encontrado que los compuestos de la fórmula (I) y sus sales cumplen totalmente los requisitos
20 anteriores, es decir, la inhibición de la HMPPS combinada con baja toxicidad para las especies de huéspedes, como se demuestra por ejemplo en pollos y ratas. Estos compuestos
25 no solamente inhiben el desarrollo de microorganismos por



422325

sí mismo, sino también para una extensión limitada con ciertas bacterias, tales como Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Streptococcus faecalis, Escherichia coli, Salmonella typhi, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Pasteurella multocida entre otras, sino que también se han encontrado que actúan con un efecto sinérgico más notable cuando se combinan con un competidor del ácido p-aminobenzoico, es decir sulfonamidas y compuestos similares, o con inhibidores selectivos de la dihidrofólico-reductasa, es decir pirimidinas y compuestos afines, o con una combinación de ambos tipos de agentes antimicrobianos. Este efecto potenciador de los compuestos de la fórmula (I) forma parte del objeto de la solicitud de patente británica cognada pendiente nº 5187/73 presentada el 1 de Febrero de 1973.

En tal solicitud se describe y reivindica una composición para ensayar o tratar sistemas microbianos o infecciones que comprenden una cantidad potenciadora eficaz de un compuesto de la fórmula (I) en combinación con una cantidad eficaz de un competidor o inhibidor, o ambos, tal como se define en la presente Memoria descriptiva.

Las infecciones microbianas contra las que son eficaces estas combinaciones son infecciones protozoarias o bacterianas causadas por los microorganismos que sinte-

422825



tizan al menos una parte sustancial de sus necesidades de cofactor tetrahidrofolato. Más específicamente estos microorganismos infectantes son los que absorben adecuadamente las combinaciones farmacéuticas descritas en la presente Memoria descriptiva y además son aquellos en los cuales estas combinaciones tienen efecto sinérgico en la interferencia con las síntesis de novo de los cofactores de tetrahidrofolato requeridos. Por ejemplo, las composiciones descritas se han encontrado útiles en el tratamiento de infecciones causadas por Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa y Pasteurella multocida.

Se ha encontrado específicamente que, cuando los compuestos de fórmula (I) se combinan con una cantidad del competidor y/o el inhibidor que ordinariamente no es suficiente para ser eficaz como agente antimicrobiano por sí misma, la combinación de un compuesto de la fórmula (I) con esta cantidad normalmente ineficaz del competidor y/o el inhibidor proporciona una composición que actúa en su totalidad como agente antimicrobiano eficaz. Esto es especialmente notable cuando la cantidad del compuesto de fórmula (I) es tan baja que sustancialmente carece de efecto microbiano al nivel particular, pero en la combinación la potenciación es marcada y en algunos casos muy marcada. Así empleando una cantidad potenciadora eficaz de un compuesto de la fórmula (I) junto con el

422825



competidor y/o el inhibidor, es posible ahora reducir significativamente la cantidad de competidor y/o inhibidor requerida para inhibir el desarrollo de estas bacterias.

5 De acuerdo con lo anterior, por consiguiente, la expresión "una cantidad eficaz" empleada junto con los términos "inhibidor" de la dihidrofólico-reductasa y "com
petidor" del ácido p-aminobenzoico significa: (a) una can
10 tidad de "inhibidor" o "competidor" que es eficaz en cier
to grado como agente antimicrobiano por si misma pero que
se potencia por el empleo de un compuesto de la fórmula
(I) o (b) una cantidad de "inhibidor" o "competidor" que
es ineficaz como agente antimicrobiano pero que cuando se
15 combina con un compuesto de la fórmula (I) proporciona
una composición que es un agente antimicrobiano eficaz.
Una "cantidad potenciadora eficaz" significa una cantidad
del compuesto de fórmula (I) que aumenta la actividad de
un inhibidor y/o un competidor de modo que proporciona
una efectividad mejorada o adecuada para la combinación
20 en conjunto.

Debe ponerse énfasis en que la inhibición de los
procesos biosintéticos por tales medios puede ser denomi-
nada antagonismo competitivo en los tres casos, y puede
haber potenciación entre los tres tipos de agentes. Los
25 términos "inhibidor", "competidor" y "potenciación" para

422825



un compuesto de la fórmula (I) son arbitrarios y deben servir solamente como nombres convenientes para el tipo apropiado de componentes en los productos de combinación descritos y reivindicados en la Memoria descriptiva de la solicitud cognada anteriormente mencionada.

La actividad de inhibición frente a la HMPPS de un compuesto seleccionado de la fórmula (I), puede ser ensayada por ejemplo vigilando la transferencia del fosfato terminal del adenosintrifosfato ATP- γ -P³² para la "dihidropteridina". Se ha encontrado que las concentraciones requeridas para una inhibición del 50% de la formación de Pt (CI₅₀) en tales ensayos están bien correlacionadas y dentro del margen de error obtenido por otros ensayos pertinentes a este respecto, que miden la inhibición de cualquiera de las dos enzimas implicadas en la formación de la HMPt y el DPTA. Por ejemplo, tal inhibición puede ser fácil y sencillamente efectuada incubando un extracto de E. coli con pAB-7-C¹⁴, ATP, Mg y "dihidropteridina". La formación del dihidropteroato-C¹⁴ puede demostrarse cuantitativamente, después de separar el sustrato de pAB que no ha reaccionado, por ejemplo por cromatografía. Se ha encontrado que los compuestos que poseen en tales ensayos un valor de la CI₅₀ de aproximadamente 100 μ M o menos, usualmente por debajo de 50 μ M, representan compuestos que ejercen un efecto potenciador útil, con tal de que su to-

422825



xicidad en los vertebrados apropiados sea aceptable. Preferiblemente el valor es $25 \mu\text{M}$ o menos, tal como en el margen de entre 2 a $12 \mu\text{M}$, generalmente es deseable un valor inferior a $7 \mu\text{M}$.

5 Como se ha explicado anteriormente, para el fin descrito es esencial que el compuesto de fórmula (I) no tenga una toxicidad prohibitiva para los sistemas cardiovasculares de los huéspedes de las aves o mamíferos. Aunque la toxicidad baja es por consiguiente un requisito
10 esencial, un índice terapéutico incorpora tanto los valores de actividad como de toxicidad pertinentes para la presente descripción y debe emplearse con ventaja para la selección de los compuestos potenciadores de fórmula (I).

15 El índice terapéutico se define como la relación de dosis máxima tolerada a dosis mínima eficaz y en la mayoría de los casos es preferiblemente mayor de 10, adecuadamente al menos 5 y en circunstancias excepcionales al menos aproximadamente 3 para los seres humanos, pero posiblemente tan baja como 2 para animales.

20 Aunque la técnica es poseedora de muchos compuestos que son competidores con ácidos del ácido para-amino benzoico y son antimicrobianos, los compuestos de azufre que se describen, como agentes antimicrobianos desde la parte superior de la página 994 a la página 1007 del "Merck
25 Index", 8ª edición, 1968 se presentan solamente a modo de

2025



ejemplo.

De los compuestos conocidos que son competidores se prefieren para el fin descrito los compuestos de sulfonamidas siguientes, o sus sales farmacéuticamente
5 aceptables.

Sulfanilamida, sulfadiazina, sulfametisazol, sulfametizol, sulfapiridina, sulfatiazol, sulfamerazina, sulfametazina, sulfisoxazol, sulfadoxina, sulfasomidina, sulfacloropiridazina, 2-(p-aminobenceno)-sulfonamido-3-
10 metoxipirazina (Kelfizina), α -amino-p-toluensulfonamida, 5-sulfanilamido-2,4-dimetil-pirimidina, 4-(N'-acetil-sulfanilamido)-5,6-dimetoxi-pirimidina, 3-sulfanilamido-4,5-dimetil-isoxazol, 4-sulfanilamido-5-metoxi-6-deciloxi-pi-
rimidina, sulfamonometoxina, 4-p-(8-hidroxiquinilil-4-
15 azo)-fenil-sulfanilamido-5,6-dimetoxi-pirimidina, sulfadi- metoxina, sulfametoxazol, sulfaquinoxalina, y p-(2-metil-8-hidroxi-quinilil-(5)-azo)fenil-sulfanilamido-5,6-dime-
toxi-pirimidina. Ejemplos de tipo no sulfonamida de compe-
20 tidores son el ácido p-amino-salicílico (PAS) y la p,p'- diaminodifenilsulfona.

Similarmente, aunque se conocen muchos compues-
tos que pueden inhibir la dihidrofólico-reductasa y actuar
como agentes antimicrobianos, los compuestos descritos en
las siguientes patentes se presentan a modo de ejemplo de
25 compuestos adecuados para empleo para el fin descrito.



Patentes de Estados Unidos Nº 2.658.897;

2.767.183; 3.021.332; 2.937.284; 3.322.765; 2.909.522;
2.624.732; 2.579.259; 2.945.859; 2.576.939; 2.926.166;
2.697.710; 2.749.345; y 2.749.344.

5 Sin embargo, se prefieren los inhibidores si-
guientes (o sus sales farmacéuticamente aceptables) para
las combinaciones descritas:

2,4-diamino-6-etil-5-p-clorofenilpirimidina
(pirimetamina), 2,4-diamino-5-(3',4',5'-trimetoxibencil)-
10 pirimidina (trimetoprim), 2,4-diamino-5-(3',4'-dimetoxi
bencil)pirimidina (diaveridina), 2,4-diamino-5-(2'-isopro-
pil-4'-clorofenoxi)pirimidina, 2,4-diamino-5-metil-6-sec-
butilpirido-(2,3-d)pirimidina, 2,4-diamino-5-metil-6-ben-
cilpirido-(2,3-d)pirimidina, 2,4-diamino-6-bencilpirido-
15 (2,3-d)-pirimidina, 2,4-diamino-5,6-trimetilenquinazolina,
2,4-diamino-5,6-tetrametilenquinazolina, 2,4-diamino-5-
(2',4',5'-trimetoxibencil)pirimidina, 2,4-diamino-5-(2'-
etil-4',5'-dimetoxibencil)pirimidina, 2,4-diamino-5-(2'-
metil-4',5'-dimetoxibencil)pirimidina.

20 Sin embargo, las combinaciones más preferidas
incluyen las que combinan un compuesto de la fórmula (I),
especialmente aquellas en donde R^1 y R^2 son iguales y
son ambos grupos metilo o etilo, con sulfadiazina, sulfa-
metoxazol, sulfadoxina o sulfaquinoxalina en calidad de
25 competidores, o con trimetoprim, diaveridina o pirimeta-



422825

mina en calidad de inhibidores. En vista de las posibles ventajas sinérgicas de emplear ciertos competidores e inhibidores en combinación contra enfermedades particulares, y el efecto potenciador de los compuestos de la fórmula

5 (I) sobre ambos tipos de compuestos antibacterianos, se ha preferido formular combinaciones triples, que comprenden un compuesto de fórmula (I) con uno de los competidores preferidos anteriormente mencionados, y uno de tales inhibidores. Por ejemplo, las combinaciones de sulfadiazina/

10 trimetoprim, sulfametoxazol/trimetoprim, sulfadoxina/trime-
toprim, o sulfaquinoxalina/diaveridina, cada una junto con un compuesto de la fórmula (I), da una efectividad mejora-
da cuando se comparan con los componentes solos o con pa-
res de ellos.

15 Los compuestos de la fórmula (I), bien solo o junto con el competidor y/o el inhibidor pueden encontrarse presentes en asociación con un vehículo en formulaciones farmacéuticas adecuadas para administración parenteral, tópica, rectal u oral. Las formulaciones para administra-

20 ción oral o rectal se presentan ventajosamente en unidades individuales, tales como tabletas, cápsulas, sellos, ampollas o supositorios, conteniendo cada una de ellas una can-
tidad predeterminada de cada compuesto, pero pueden tam-
bién presentarse como polvo, gránulos, solución o suspen-
sión en un líquido acuoso o no acuoso, o como un unguento

25



422325

o pasta para administración tópica. Para empleo parente-
ral, las formulaciones que incorporan un vehículo líqui-
do acuoso o no acuoso, deben ser estériles y presentarse
en recipientes cerrados herméticamente. Las formulaciones
5 pueden prepararse por cualquiera de los métodos conocidos
y pueden incluir uno o más de los siguientes ingredientes
accesorios:

Diluyentes, solutos para hacer las soluciones
isotónicas con la sangre, agentes amortiguadores del pH,
10 agentes de sabor, agentes de fijación; dispersantes, agen-
tes tensioactivos, agentes espesadores, lubricantes y ma-
teriales de recubrimiento, conservadores, bacteriostáti-
cos, antioxidantes, bases para supositorios y ungüentos,
y cualesquiera otros excipientes aceptables.

En otro aspecto del presente invento se propor-
ciona por consiguiente una formulación farmacéutica que
comprende un compuesto de la fórmula (I), en combinación
con un vehículo farmacéuticamente aceptable. Todavía en
otro aspecto el presente invento proporciona un método pa-
15 ra fabricar una formulación farmacéutica mezclando el com-
puesto de fórmula (I), con un vehículo por técnicas cono-
cidas. La Memoria descriptiva de la solicitud de patente
británica cognada antes mencionada describe y reivindica
20 además una formulación farmacéutica que comprende una com-
posición, tal como se ha definido en lo que antecede, jun-

422933



to con un vehículo y su método de preparación, mezclando la composición con el vehículo por técnicas conocidas.

Las formulaciones que contienen el compuesto de fórmula (I) en asociación con un competidor o un inhi
5 bidor pueden también presentarse en forma de un estuche, que comprende unidades separadamente envasadas o dosificaciones de estos componentes con instrucciones para empleo en una forma combinada. Las instrucciones también pueden especificar la manera de administración e indica
10 ciones para las que es adecuada la fórmula.

Los compuestos de la fórmula (I), ya sea para empleo solos o en asociación con un competidor y/o un in
hibidor, y también los competidores y/o inhibidores, pue
den presentarse en forma de sus sales farmacéuticamente
15 aceptables de un ácido mineral u orgánico, por ejemplo ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido acético, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido lác-
tico, ácido maleico o ácido salicílico, o especialmente para el competidor de sulfonamida, de una base tal como
20 hidróxido sódico, hidróxido potásico, hidróxido de tetrametil-amonio o amoníaco.

Las relaciones en las que se utilizan los compuestos terapéuticamente activos de fórmula (I) en las composiciones descritas en esta Memoria Descriptiva, pue
25 den variar entre amplios límites. Dependiendo de la natu-



raleza y circunstancia del empleo, las composiciones pueden contener el compuesto de fórmula (I) con el competidor y/o el inhibidor en proporciones y dosificaciones apropiadas. Por ejemplo, en casos de empleos in vivo es
5 frecuentemente deseable mantener una cierta proporción de los componentes en el suero sanguíneo o en los fluidos de los tejidos, preferiblemente durante un período prolongado. Dependiendo de las diversas velocidades de absorción, descarga o descomposición de los componentes, las
10 cantidades y proporciones iniciales de los ingredientes de la formulación pueden ser diferentes de las pretendidas en los tejidos in vivo. Las formulaciones y dosificaciones recomendadas para el tratamiento general de la enfermedad de un ser humano o animal particular pueden ajustarse
15 se de acuerdo con los requisitos particulares de los afectados por la enfermedad, las actividades conocidas del componente competidor o inhibidor contra el organismo causante, la vida media y la toxicidad de los componentes in vivo, y otros requisitos prácticos.

20 Por ejemplo la composición o formulación farmacéutica puede contener desde aproximadamente 1 a 30 partes en peso, preferiblemente 5 a 15 partes en peso del compuesto de fórmula (I), o una cantidad equivalente de una de sus sales, y 1 a 30 partes, preferiblemente 5 a 15 partes,
25 de un competidor, o una cantidad equivalente de una



de sus sales, y/o una parte de inhibidor, o una cantidad equivalente de una de sus sales.

Las dosis variarán dependiendo del organismo infectante pero bajo circunstancias ordinarias puede ad
5 ministrarse diariamente en varias dosis hasta aproximada-
mente 60 mg/kg de compuesto de fórmula (I), y competidor,
y hasta aproximadamente 7,5 mg/kg de inhibidor, en combi-
nación. La composición o formulación farmacéutica puede
administrarse a seres humanos en formas de dosificación
10 unitarias que contengan hasta 750 mg del compuesto de fórmu-
la (I) y hasta 750 mg del competidor, y/o hasta 25 mg
del inhibidor. Preferiblemente, para dosis de adultos la
cantidad de compuestos de fórmula (I) debe ser aproximada-
mente 200 mg, la del competidor aproximadamente 200 mg
15 y/o la del inhibidor aproximadamente 25 mg.

La formulación farmacéutica que comprende el compuesto de fórmula (I) en combinación con el competidor y/o el inhibidor, también es utilizable en solución para
20 irrigar heridas, por ejemplo después de operaciones qui-
rúrgicas, de modo que se impida el desarrollo de bacterias.
Por ejemplo puede emplearse una solución antibacteriana
que tenga la siguiente concentración preferida de compo-
nentes:

1-30 mg/ml del compuesto de fórmula (I), 1-30
25 mg/ml del competidor y/o 0,03-1 mg/ml del inhibidor, en

422825



4 MAR 1974

un disolvente farmacéuticamente aceptable, adecuado para empleo externo.

5 El efecto potenciador de los compuestos de fórmula (I), puede demostrarse y utilizarse in vitro de un modo relativamente fácil para fines de investigación y prácticos. Tales posibilidades incluyen la diagnosis y la identificación de las floras bacterianas de los individuos y la selección consiguiente de los programas del tratamiento clínico.

10 Las diversas combinaciones pueden incorporarse en discos porosos (tales como discos de papel de filtro) o en un nutriente de agar u otros medios para el desarrollo bacteriano para determinar la susceptibilidad. Aquellos artículos que incorporan el compuesto de fórmula (I) con un competidor y/o un compuesto inhibidor pueden distribuirse o venderse a los médicos, hospitales y clínicas para los fines anteriores. Un disco de ensayo típico puede impregnarse con una solución que contiene 5 a 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de competidor de ácido para-aminobenzoico, 0,5 a 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de inhibidor de la dihidrofólico-reductasa, y aproximadamente 10 a 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de un compuesto de la fórmula (I) en un medio que comprende una mezcla de una infusión acuosa y digerido de papaina de músculo de caballo.

25 Además, tales ensayos farmacológicos implican competidores o inhibidores potenciados pueden también ser



422825

14 MAR 1974

5 útiles para la caracterización de bacterias de acuerdo con su sensibilidad y su resistencia particular, por ejemplo a un competidor cuando se emplea solo, y tales investigaciones que implican una amplia variedad de formulaciones tal como se describe en la presente Memoria descriptiva también forman la base de determinación de las composiciones de formulaciones seleccionadas para los fines de tratamiento general. La toxicidad de los compuestos de fórmula (I), es considerablemente más baja que
10 la de los competidores o inhibidores, comúnmente utilizados, lo cual puede facilitar al médico o veterinario mantener o aumentar la efectividad de la actividad antibacteriana de la formulación, con un aumento concomitante de la relación terapéutica o una disminución en la toxicidad o efectos secundarios del medicamento.
15

Además de lo anterior, se ha encontrado que los compuestos de la fórmula (I) potencian la actividad de los competidores y/o inhibidores antes mencionados contra infecciones con microorganismos en animales domésticos, e
20 incluyendo las aves de corral, por ejemplo frente a Pasteurella multocida, pero especialmente contra la coccidiosis que es una enfermedad protozoaria. Tales formulaciones triples que comprenden un compuesto de fórmula (I) junto con un compuesto tal como sulfaquinoxalina, y un inhibidor tal como diaveridina son eficaces en concentra-
25

422825



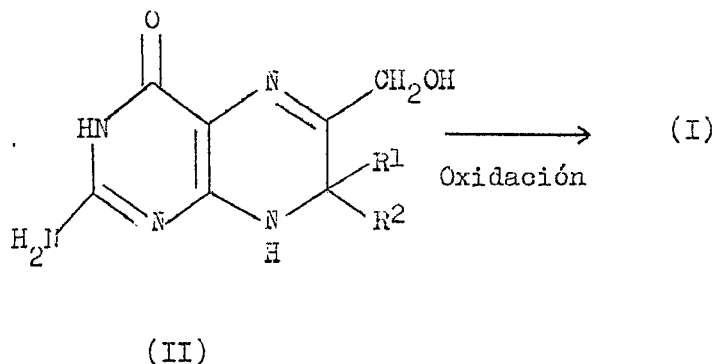
5 ciones inferiores a la de los componentes de competidor o inhibidor solos y poseen una actividad mejorada, siendo eficaces contra diversas especies de Eimeria, que causan esta enfermedad en las aves de corral. Se ha encontrado que el 2-amino-4-hidroxi-7,7-dimetil-7,8-dihidropteridina-6-carboxaldehido era particularmente eficaz en tales composiciones, incluso a concentraciones tan bajas como 20 partes por millón (ppm.).

10 Los compuestos de fórmula (I), pueden prepararse por ejemplo, por oxidación selectiva de el derivado 6-hidroxi-alcohólico correspondiente de fórmula (II), siendo satisfactoria dicha oxidación incluso en condiciones suaves. La oxidación puede efectuarse, por ejemplo, en un medio ácido, tal como ácido clorhídrico acuoso, 15 ácido fórmico, o ácido sulfuroso, con un agente oxidante, tal como aire, oxígeno, o yodo, ventajosamente en presencia de un anti-oxidante, tal como dióxido de azufre o ácido ascórbico, para reaccionar con el peróxido de hidrógeno formado que descompondría el aldehido tan pronto 20 como se formara, reduciendo así el rendimiento potencial del producto.

25



5

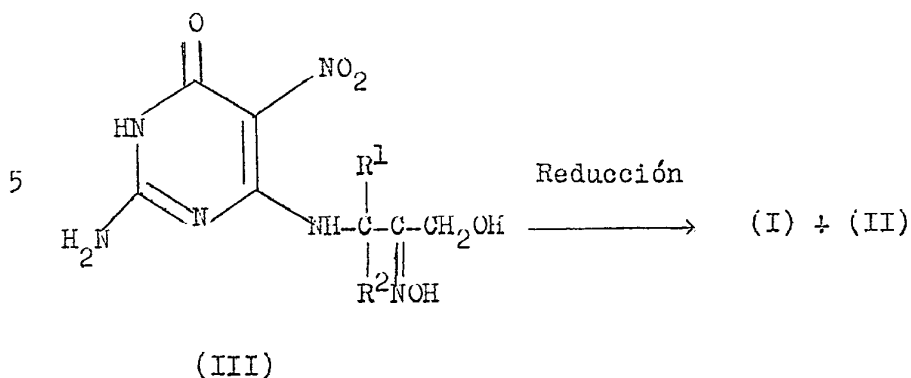


Los compuestos deseados de la fórmula (I) pueden también formarse durante la etapa final de la preparación de los compuestos correspondientes de fórmula (II), por ejemplo como subproductos en la ciclización reductora de la cetoxima de la pirimidina correspondiente de fórmula (III) por una ligera modificación del método descrito en la Memoria descriptiva de la solicitud de patente española pendiente nº 393.486, en donde se añade una cantidad controlada de agente reductor, por ejemplo ditionito sódico, para limitar el potencial reductor de la mezcla de reacción. El derivado de aldehído puede separarse luego del compuesto de fórmula (II) por métodos de intercambio iónico.

25



422025



10 Los compuestos de la fórmula (II) pueden prepararse siguiendo los métodos descritos en las Memorias descriptivas de la patente británica nº 130171 y las solicitudes españolas pendientes Nº 393.486 y 417.415.

15 De acuerdo con el presente invento en aspectos adicionales también se crean:

1.- Los métodos descritos en la presente Memoria descriptiva para preparar cualquiera de los compuestos de la fórmula (I), que comprenden la oxidación del compuesto correspondiente de fórmula (II).

20 2.- Los métodos descritos en la presente Memoria descriptiva para preparar cualquiera de los compuestos de fórmula (I), que comprenden la ciclización reductora controlada del compuesto correspondiente de fórmula (III) y la separación del compuesto correspondiente de
25 fórmula (II).



3.- Compuestos de fórmula (I), siempre y cuando se hayan preparado por un método tal como se ha definido en (1) ó (2).

5 4.- Una formulación farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable, siempre y cuando se haya preparado por el método descrito en la presente Memoria descriptiva.

10 Los siguientes ejemplos ilustran el invento pero no se intenta en modo alguno que limiten el alcance del invento. Las temperaturas se expresan en °C.

Ejemplo 1

2-amino-4-hidroxi-7,7-dimetil-7,8-dihidropteridina-6-carboxaldehído. (I) (R¹ = R² = Me)

15 Una suspensión de 2-amino-4-hidroxi-6-hidroxi-metil-7,7-dimetil-7,8-dihidropteridina (II) (R¹ = R² = Me) (0,449 g) en ácido clorhídrico 2M (5 ml) se agitó en aire durante una noche a temperatura ambiente. La mezcla de color rojo oscuro se colocó sobre una resina de intercambio iónico (Amberlite CG-50, forma H⁺) y el producto
20 amarillo se eluyó con agua, siendo la fracción ácida inicial desechada. El eluato fué concentrado hasta un pequeño volumen a vacío, y el precipitado se recogió por filtración, para dar el compuesto del epígrafe bruto en
25 forma de cristales amarillos que se oscurecían por enci

422825



ma de 240°C. (Rendimiento 0,13g.) El producto se purificó después disolviéndolo en agua/metanol y concentrando la solución lentamente hasta que se separaron cristales, éstos oscurecieron cuando se calentaron por encima de
5 260°C.

Ejemplo 2

2-amino-4-hidroxi-7,7-dimetil-7,8-dihidropteridin-6-carboxaldehído. (I) ($R^1 = R^2 = \text{Me}$)

Una mezcla 1:2 de oxígeno y dióxido de azufre
10 se hizo pasar a través de una suspensión agitada del 2-amino-4-hidroxi-6-hidroximetil-7,7-dimetil-7,8-dihidropteridina (II) ($R^1 = R^2 = \text{Me}$) (1,0 g) en ácido sulfuroso acuoso saturado (20 ml) durante 7 horas y cuarto a la temperatura ambiente. La suspensión resultante de sólido
15 casi incoloro se mantuvo luego a 0°C durante una noche, se trató con dióxido de azufre durante 5 minutos, y se filtró, lavando el sólido en el filtro con ácido sulfuroso acuoso enfriado con hielo, para dar un aducto de aldehído/ácido sulfuroso escasamente soluble. La concentración de las aguas madres a vacío hasta aproximadamente
20 10 ml, seguido por saturación con dióxido de azufre y conservación a 0°C, durante varios días, proporcionó más aducto (57 mg). Para aislar el aldehído fué calentada una suspensión el aducto combinado en agua (20 ml) en un
25 baño a 70°C, y tratada con una corriente de nitrógeno

422625

14 MAR



5 hasta que después de aproximadamente 20 minutos se hubo completado el desprendimiento de dióxido de azufre; la suspensión resultante fué luego enfriada a 0°C y filtrada para dar el compuesto del epígrafe (puro). (Rendimiento 0,748 g).

Ejemplo 3

2-amino-4-hidroxi-7,7-dietil-7,8-dihidropteridin-6-carboxaldehído (I) (R¹ = R² = Et)

10 Se añadió ditionito sódico en porciones a una solución caliente de la oxima de 2-amino-4-(1',1'-dietil-3'-hidroxiacetoni)-amino-6-hidroxi-5-nitro-pirimidina (III) (R¹ = R² = Et) (450 mg) en hidróxido de sodio 0,1 M hasta que el color cambió de rojo a amarillo pálido. Para aislar el producto la solución se evaporó y el producto se extrajo con etanol y se separó el material inorgánico por filtración. La extracción se repitió y los extractos combinados fueron evaporados hasta sequedad a vacío. El residuo se disolvió en la cantidad mínima de agua y se colocó sobre una resina de intercambio iónico (Amberlite CG-50, forma H⁺). La elución con agua dió dos bandas fluorescentes principales. La evaporación de una solución que contenía la primera banda dió el compuesto del epígrafe en forma de polvo de color naranja brillante. La segunda banda dió el derivado 6-hidroximetílico correspondiente de la fórmula (II) (R¹ = R² = Et) en

15

20

25

422825



forma de un polvo amarillo brillante; p. de f. $> 300^{\circ}\text{C}$
(con descomposición). Este derivado se oxidó luego has-
ta el 6-carboxaldehido tal como se ha descrito en el
Ejemplo I.

5 Ejemplo 4

2-amino-4-hidroxi-7,7-dietil-7,8-dihidropteridin-6-car-
boxaldehido. (I) ($R^1 = R^2 = \text{Et}$)

Una suspensión agitada de 2-amino-4-hidroxi-6-
hidroximetil-7,7-dietil-7,8-dihidropteridina (II)
10 ($R^1 = R^2 = \text{Et}$) (1,1 g) en ácido sulfuroso acuoso saturado
(20 ml) se trató con oxígeno y dióxido de azufre tal co-
mo se describe en el Ejemplo 2. El aducto combinado, ob-
tenido como residuo sólido después de la filtración y
concentración de las aguas madres a vacío, se puso en
15 suspensión en agua (20 ml) calentada a 70°C y se trató
con una corriente de nitrógeno tal como se ha descrito
en el Ejemplo 2. La suspensión se enfrió a 0°C y se fil-
tró dando el compuesto del epígrafe (puro).

Ejemplo 5

20 2-amino-4-hidroxi-7,7-di-n-propil-7,8-dihidropteridin-6-
carboxaldehido. (I) ($R^1 = R^2 = \underline{n} - \text{Pr}$)

Se siguió el método del Ejemplo 2, empleando,
sin embargo, como material de partida 2-amino-4-hidroxi-
6-hidroximetil-7,7-di-n-propil-7,8-dihidropteridina (II)
25 ($R^1 = R^2 = \underline{n} - \text{Pr}$) (1,3 g) que se puso en suspensión en ácido

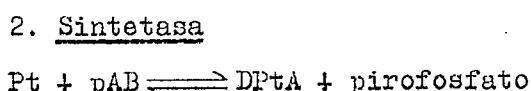
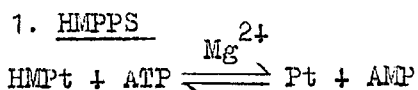


422625

sulfuroso acuoso saturado (25 ml). Luego se aisló el compuesto del epígrafe en una forma pura a partir del aducto de aldehído/ácido sulfuroso tal como se ha descrito en el Ejemplo 2.

5 Ejemplo 6

Los antagonistas de pteridina potenciales de la fórmula (I) pueden ser ensayados investigando el efecto inhibitor que imponen sobre las enzimas responsables de la biosíntesis del ácido dihidropterico (DPtA), principalmente la hidroximetil-dihidropteridina-pirofosfokinasa (HMPPS), y la dihidropterato-sintetasa, denominada en lo que sigue "sintetasa". En las siguientes ecuaciones de reacción los compuestos se denominan por sus formas abreviadas definidas en la página nº 5 de esta memoria descriptiva.



20 (a) Se desarrolló un ensayo para la HMPPS en el cual la transferencia del fosfato terminal del ATP - γ - p^{32} a la Pt pudo ser vigilada y correlacionada con la cantidad de inhibición de la HMPPS por el compuesto sometido a ensayo.

25 El compuesto de fórmula I que es objeto del en



42780E

sayo se incorporó a diversas formulaciones que comprendían metabolitos y enzimas contenidos en tubos de ensayo, tal como se indica en la TABLA I.

Los componentes de la mezcla eran los siguientes:

5

tes:

I) 2-amino-4-hidroxi-6-hidroxi-metil-7,8-dihidropteridina (HMPT) en una concentración de 800 μ M, es decir micromolar; II) una fuente de HMPPS, obtenida a partir de un extracto de E. coli y separada de la "sintetasa" sobre Sephadex G-100 (Marca Comercial Registrada) de acuerdo con el método de Richey y Brown en J.Biol.Chem.244, 1582-1592 (1969)

10

III- 3mM ATP - γ -P³²

IV - ATP 0,10M neutralizado (no marcado radiactivamente)

15

V .- MgCl₂.6H₂O 0,02M

VI.- MgCl₂.6H₂O 0,1M

VII.- Fuente de HMPPS y "sintetasa".

VIII.- El compuesto de ensayo en una concentración de 0,93 x 10⁻³ M

20

IX.- pAB-C¹⁴ 0,4mM

Tal como se muestra en la TABLA I, los tubos 1 a 9, contenían todos fuentes de HMPPS, ATP marcado radiactivamente y MgCl₂. 6H₂O 0,02M, los tubos 2 a 9 contenían además HMPT y los tubos 4 a 9 contenían además el compuesto de ensayo. Los tubos testigos 10 a 12, incluían una

25

422825



fuelle tanto de HMPPS como de sintetasa, ATP no marcado radiactivamente, $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 0,1M y pAB no marcado radioactivamente.

5 Los tubos 1 a 9, que contenían las cantidades de los componentes citados en la Tabla, fueron llenados hasta 200 μ l con agua destilada, incubados durante 60 minutos a 37°C y luego se enfriaron bruscamente en hielo. Se añadieron a la solución de dextrosa (200 μ l que contenían 72,1 mg/ml.) y hexokinasa (5 μ l que contenían 10 2000 unidades/ml), y luego la solución fué dejada reposar a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se añadió a cada tubo "Darco-G-60" (Marca Comercial Registrada) (10 mg) y los contenidos se mezclaron periódicamente durante 10 minutos. Se separó carbón a través de un filtro 15 "Millipore AP 250 2200" (Marca Comercial Registrada) y el filtro se lavó con tres porciones de 10 ml de agua fría. El carbón y el filtro fueron sometidos posteriormente a un recuento radioactivo.

20 El recuento radioactivo de los contenidos de los tubos 2 y 3 fué tomado como el recuento máximo, puesto que estos tubos no contenían el compuesto de ensayo y por tanto dieron un 0% de inhibición enzimática. El porcentaje de inhibición producido por los contenidos de los restantes tubos podía calcularse luego por su recuento 25 radioactivo relativo con respecto al máximo, tal como

422025



se ha determinado anteriormente.

Los contenidos de los tubos 10 a 12, fueron analizados cromatográficamente tal como se describe en la parte (b), y empleados como testigos, los tubos 10 y 11, que no contenían compuesto de ensayo (y por consiguiente daban 0% de inhibición) se les atribuyó el valor de 100%. El porcentaje de inhibición exhibido por los contenidos de los tubos en la parte (b) del experimento podría calcularse luego con relación a éste, comparando los cromatogramas respectivos.

(b) La actividad del compuesto de ensayo de la fórmula (I) contra la "sintetasa", se determinó vigilando la formación de dihidropteroato- C^{14} como sigue.

Se preparó una tanda de Pt a partir de ATP neutralizado (50 μ l, 0,1M), $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ (50 μ l, 0,1M), ditiotreitól, (100 μ l, 0,1M), tampón tris (100 μ l, 0,4M, pH 8,3), HMPt (25 μ l, 876 μ M) y 170 μ l de una solución que contiene HMPPS. La mezcla se incubó durante 60 minutos a 37°C, se enfrió brevemente, en hielo y luego se añadieron dextrosa (100 μ l que contenían 72,1 mg/ml) y hexokinasa (20 μ l, que contenían 2000 unidades/ml) a temperatura ambiente a la solución, que fué dejada en reposo a esta temperatura durante 15 minutos.

Una solución de $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ (10 μ l, 0,1M), PAB- C^{14} (10 μ l, 0,4 mM), ditiotreitól (20 μ l, 0,1M) y



422825

tampón tris (20 μ l, 0,4M, pH 8,3) fué preparada en cada uno de los cinco tubos de ensayo y luego se añadieron a cada tubo 80 μ l, del contenido de la tanda, junto con sintetasa y/o el compuesto de ensayo de la fórmula (I) tal como se indica en la TABLA 2. La solución se llevó
5 luego hasta 200 μ l, con agua destilada.

Se prepararon dos tubos de ensayos testigos, conteniendo cada uno (10 μ l, 0,1M), $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ (10 μ l, 0,1M), ditiotreititol (20 μ l, 0,1M), tampón tris (20 μ l, 0,4M, pH 8,3), pAB-C¹⁴ (10 μ l, 0,4 mM), y 20 μ l de una
10 solución que contenía HMPPS y "sintetasa" de actividad conocida. El compuesto de ensayo fué añadido al segundo de estos dos tubos hasta una concentración final de 10^{-5} M y ambos tubos fueron completados con agua destilada
15 hasta 200 μ l.

Los siete tubos fueron luego incubados durante 30 minutos a 37°C, enfriados en hielo y luego estos tubos junto con los tubos testigos 10 a 12 de la parte (a) fueron analizados cromatográficamente como sigue.

20 100 μ l de los contenidos de cada uno de los tubos fué aplicado como mancha sobre papel cromatográfico Whatman n° 3MM (2x20 cm) en el "origen", y el desarrollo descendente se efectuó en un tampón Sørensen de fosfatos de potasio y sodio (0,1M, pH 7,0) en 10 a 15 centímetros.
25 De las posiciones relativas de las manchas obtenidas de



4-11-75

Ejemplo 8

Formulación para tabletas

"Pirematimina" (Pirimetamina) B.P. 15 mg
Compuesto de fórmula (I) ($R^1=R^2=Me$) (puro) 150 mg
5 que fué luego preparada para formar una tableta
como en el Ejemplo 7.

Ejemplo 9

Formulación para tabletas

Sulfanilamida B.P.C. 150 mg
10 Compuesto de fórmula (I) ($R^1=R^2=Et$) (puro) 175 mg
que luego fué preparada para formar una tableta
como en el Ejemplo 7.

Ejemplo 10

Formulación para cápsulas

15 Trimetoprim (puro) 20 mg
Compuesto de fórmula (I) ($R^1=R^2=Et$) (puro) 100 mg

Preparación:

20 Los compuestos en forma granular fueron mezcla-
dos junto con lactosa, almidón de maiz y estearato de mag-
nesio. El polvo fué llenado en una cápsula de gelatina de
dos piezas de envoltente dura, empleando una máquina de
cápsulas.

Ejemplo 11

Solución para irrigación

25 Compuesto de la fórmula (I) ($R^1=R^2=Et$) (puro) 1 mg/ml

422825



Trimetoprim (puro)	0,2 mg/ml
Disolvente	agua

Ejemplo 12

Solución para irrigación

5	Compuesto de la fórmula (I) (R ¹ =R ² =Me)(puro)	2 mg/ml
	α- amino-p-toluensulfonamida (pura)	2 mg/ml

Ejemplo 13

Solución

	Compuesto de fórmula (I) (R ¹ =R ² =Et)(puro)	1,5 mg/ml
10	Diaveridina B Vet C.	0,5 mg/ml
	Kelfizina	1,0 mg/ml
	Disolvente	agua

Ejemplo 14

Formulación para tabletas

15	Compuesto de fórmula (I) (R ¹ =R ² =Et)(puro)	500 mg
	Celulosa microcristalina	100 mg
	Almidón	40 mg
	Estearato de magnesio	10 mg
	Metilhidroxietilcelulosa	<u>3 mg</u>
20		<u>653 mg</u>

La pteridina (I), la celulosa microcristalina y el almidón fueron granulados con una solución de metilhidroxietilcelulosa en alcohol etílico acuoso al 50%. El estearato de magnesio se añadió a los gránulos secos, y luego se comprimió el conjunto.

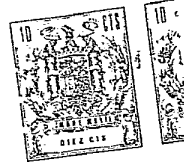


TABLA I

Tubo Nº	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII Concentración Final	IX	X % Inhibi- ción.
1	-	100µl	15µl	-	10µl	-	-	-	-	-
2	5µl	"	"	-	"	-	-	-	-	-
3	"	"	"	-	"	-	-	-	-	-
4	"	"	"	-	"	-	-	$2,5 \times 10^{-6} M$	-	44
5	"	"	"	-	"	-	-	"	-	33
6	"	"	"	-	"	-	-	$1 \times 10^{-5} M$	-	87
7	"	"	"	-	"	-	-	"	-	55
8	"	"	"	-	"	-	-	$0,93 \times 10^{-4} M$	-	98
9	"	"	"	-	"	-	-	"	-	95
Testigos										
10	-	-	-	10µl	-	10µl	20µl	-	10µl	-
11	5µl	-	-	"	-	"	"	-	"	-
12	"	-	-	"	-	"	"	$1 \times 10^{-5} M$	"	79

TABLA I

Tubo Nº	I	II	III	IV	V	VI	VII	Com fin:
1	-	100µl	15µl	-	10µl	-	-	
2	5µl	"	"	-	"	-	-	
3	"	"	"	-	"	-	-	
4	"	"	"	-	"	-	-	2
5	"	"	"	-	"	-	-	
6	"	"	"	-	"	-	-	
7	"	"	"	-	"	-	-	
8	"	"	"	-	"	-	-	0,9
9	"	"	"	-	"	-	-	
Testigos								
10	-	-	-	10µl	-	10µl	20µl	
11	5µl	-	-	"	-	"	"	
12	"	-	-	"	-	"	"]



I

	VI	VII	VIII Concentración final	IX	X % Inhibi- ción.
11	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-
	-	-	$2,5 \times 10^{-6} \underline{\underline{M}}$	-	44
	-	-	"	-	33
	-	-	$1 \times 10^{-5} \underline{\underline{M}}$	-	87
	-	-	"	-	55
	-	-	$0,93 \times 10^{-4} \underline{\underline{M}}$	-	98
	-	-	"	-	95
	10 μ l	20 μ l	-	10 μ l	-
	"	"	-	"	-
	"	"	$1 \times 10^{-5} \underline{\underline{M}}$	"	79

422825

14 MAR.



La presente solicitud que corresponde a la presentada en Gran Bretaña, el 1 de Febrero de 1973, bajo el Nº 5186/73, se acoge a los beneficios del artículo 51 del vigente Estatuto sobre Propiedad Industrial.

5

REIVINDICACIONES

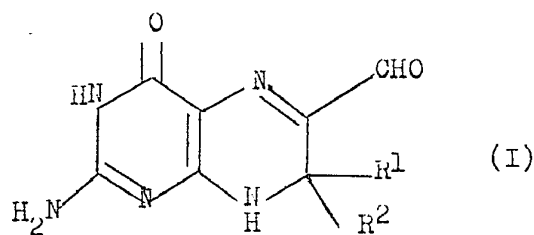
10

Los puntos de invención propia y nueva que se presentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de Invención en España, por VEINTE años, son los que se recogen en las reivindicaciones siguientes:

15

1ª.- Un método de preparar derivados de pteridina de fórmula (I) o una de sus formas tautómeras o una de sus sales.

20

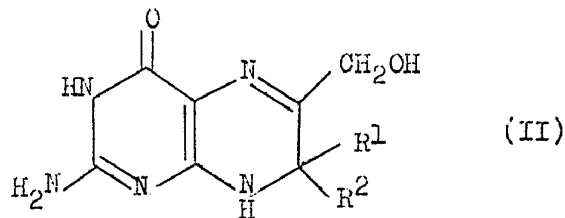


25

17-2-74



en donde R^1 y R^2 son iguales o diferentes y cada uno es un grupo alcoholo inferior o R^1 y R^2 , junto con el átomo de carbono en la estructura del anillo de pteridina, forma un sistema de anillo espirocicloalcohólico que tiene 4 a 6 átomos de carbono fuera de la estructura del anillo de pteridina, caracterizado por oxidación selectiva de un compuesto de fórmula (II),



15 en donde R^1 y R^2 son tal como se ha definido anteriormente.

20 2ª.- Un método de acuerdo con la reivindicación 1ª, caracterizado porque la oxidación con un agente oxidante se efectúa en un medio ácido.

3ª.- Un método de acuerdo con la reivindicación 2ª, caracterizado porque el agente oxidante es aire, oxígeno o yodo.

25 4ª.- Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2ª y 3ª, caracterizado porque el ácido





es ácido clorhídrico acuoso, ácido fórmico o ácido sulfuroso.

5 5ª.- Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque la oxidación se efectúa en presencia de un antioxidante.

6ª.- Un método de acuerdo con la reivindicación 5ª, caracterizado porque el anti-oxidante es dióxido de azufre o ácido ascórbico.

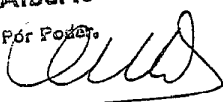
10 7ª.- Un método de preparar derivados de pteridina.

Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede, representado en los dibujos que se acompañan y para los fines que se han especificado.

15 Esta Memoria consta de cuarenta y una hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 21 MAR. 1975

P.A.

Alberto de Euzkadi
Por Poder.


13-3-75
VGD.

- 41 -

