

19

OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 153 089**

51 Int. Cl.⁷: C07C 279/14

C11D 1/50

A01N 47/44

A61K 31/155

12

TRADUCCION DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **96901808.4**

86 Fecha de presentación : **08.02.1996**

87 Número de publicación de la solicitud: **0 769 491**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **23.04.1997**

54 Título: **Tensioactivos cationicos geminales del tipo N alfa N omega bis (N alfa-acil-arginina) alfa omega diamino alquil diclorhidratos como agentes antimicrobianos.**

30 Prioridad: **09.02.1995 ES 9500265**

45 Fecha de la publicación de la mención BOPI:
16.02.2001

45 Fecha de la publicación del folleto de patente:
16.02.2001

73 Titular/es: **CONSEJO SUPERIOR
INVESTIGACIONES CIENTIFICAS (CSIC)
Serrano, 117
28006 Madrid, ES**

72 Inventor/es:
**Infante Martínez-Pardo, M^a Rosa y
Pérez Muñoz, Lourdes**

74 Agente: **Ungría López, Javier**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (artº 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCION

Tensioactivos catiónicos geminales del tipo N alfa N omega bis (N alfa-acil-arginina) alfa omega diamino alquil diclorhidratos como agentes antimicrobianos

Como es sabido, los compuestos tensioactivos son moléculas orgánicas que contienen dos grupos funcionales con características opuestas. Un compuesto tensioactivo convencional contiene un grupo absorbente (soluble en agua) y un grupo hidrófobo (insoluble en agua) los dos en una misma molécula. Esta estructura se conoce como anfifílica.

Aunque puede considerarse que actualmente la industria cuenta con los compuestos tensioactivos adecuados, las demandas ecológicas de hoy día exigen la investigación y desarrollo de nuevas alternativas que protejan y mejoren el medio ambiente y la calidad de vida.

Se han realizado numerosas modificaciones estructurales para mejorar la biocompatibilidad de estos compuestos ya sea partiendo de materia prima natural tal como aminoácidos y/o azúcares o aumentando la interacción hidrófoba de estos compuestos en un intento de potenciar su actividad superficial y por lo tanto su eficacia.

Entre las numerosas modificaciones estructurales descritas en la bibliografía, las que han llamado la atención de los autores de la invención son las siguientes: aquellas que dan lugar a compuestos tensioactivos dímeros o geminales, que se caracterizan por contener en la misma molécula dos o más cadenas hidrófobas junto con varios grupos iónicos. De estas estructuras está descrito que refuerzan las interacciones hidrófobas intra o intermoleculares, con el consiguiente resultado de dar diferentes compuestos tensioactivos muy eficaces y en algunos casos con excelentes propiedades de solubilidad en agua.

Estos materiales han demostrado tener propiedades fisico-químicas imprevisibles [es decir CMCs (concentraciones micelares críticas) muy bajas y una gran eficacia absorbente sobre el compuesto tensioactivo], lo cual contribuye como consecuencia a hacer óptimos los aspectos medioambientales de los compuestos tensioactivos.

Entre los compuestos tensioactivos geminales iónicos deben destacarse las sales amónicas cuaternarias bicatiónicas, conocidas también como bis-QUATS, por sus excelentes propiedades antimicrobianas especialmente frente a bacterias Gram-negativas, cuando se comparan con los mono-QUATS clásicos. Sin embargo, al ser sales de amonio cuaternario, se sabe que son resistentes a la biodegradación y por eso se cuestiona su aceptabilidad ecológica.

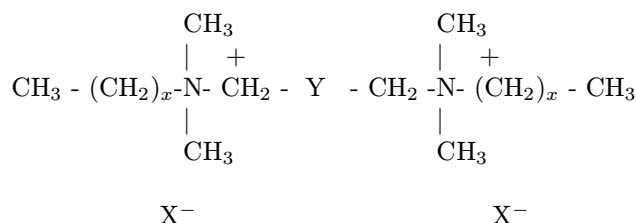
La presente invención trata de solucionar este aspecto por dimerización de compuestos tensioactivos catiónicos ecológicamente aceptables tales como los derivados monocatenarios de la N^α-acil-arginina. La nueva estructura presentará la doble ventaja de ser eficaz en cuanto a propiedades superficiales (debido a la estructura geminal) y ser biodegradable (al ser un derivado de un aminoácido).

Antecedentes de la invención

Aunque la bibliografía incluye una gran variedad de descripciones de compuestos tensioactivos antimicrobianos con estructuras geminales bicatiónicas, los compuestos objeto de la presente invención constituyen una novedad y no hay una descripción similar a ellos en la bibliografía. La novedad de la presente invención es el resultado de la combinación de una misma molécula con dos radicales de N^α-acil-arginina formando una estructura geminal mimética de los bis-QUATS.

El equipo de los autores ha llevado a cabo la síntesis y desarrollo de los derivados monocatenarios de la N^α-acil-arginina, tras largos años de estudio, lo que ha dado lugar a un gran número de resultados y publicaciones (Patente española 512.643, M.R. Infante, J. Molinero y P. Erra, *JAOCs*, Vol. 69, No. 7, 1992; J. Molinero, M.R. Juliá, P. Erra, M. Robert y M.R. Infante, *JAOCs*, Vol. 65 No. 6 1988; C. Solans, M.A. Pés; N. Azemar y M.R. Infante, *Progr. Colloid Polym Sci* 81, pags. 144-150, 1990).

Por otra parte, desde los 50 son conocidas numerosas estructuras bifuncionales del tipo bis-QUATS (a) C. A. Bunton, L. Robinson, J. Schaak y M.F. Stam, *J. Org. Chem.*, 1971, 36, 2346; (b) R. Zana, M. Benraou y R. Rueff, *Langmuir*, 1991, 7, 1072; (c) F. Dvinski, L. Lacko y Timam *J. Colloid Interface Sci.*, 1991, 143.336; (d) R. Zana e Y. Talmon, *Nature*, 1993, 362.228; (f) H.C. Parreira, E.R. Lukenbach y M.K. Lindemann, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1979, 56, 1015) que podría representarse esquemáticamente por la fórmula siguiente:



donde:

x = 0 - 17

Y = (CH₂)_n, NCH₃, O, S

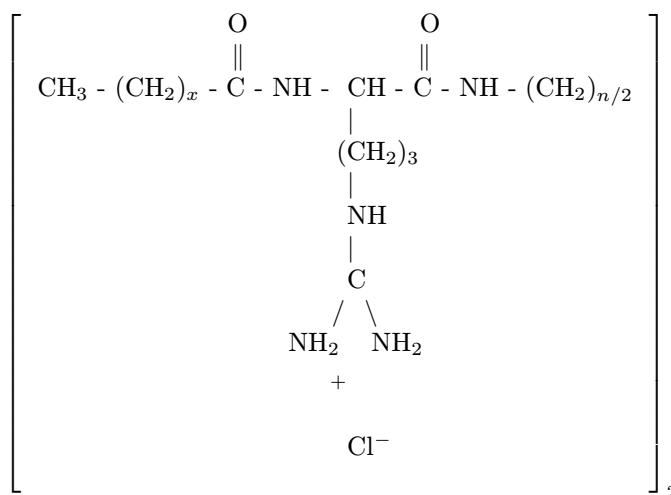
X = Br, Cl, ...

Estos compuestos contienen, por molécula, dos cadenas hidrófobas, dos grupos amonio cuaternario y una cadena espaciadora, Y, de naturaleza alquílica o tipo éter.

El creciente interés de estos compuestos tensioactivos bifuncionales es una consecuencia de sus propiedades físico-químicas inusuales (alta eficacia absorbente, un rico polimorfismo básico y una gran capacidad de auto-adición) que dan lugar a interesantes aplicaciones de los mismos en investigaciones biológicas, (a) J. H. Fuhrhop y U. Uman, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1984, 106, 4643; (b) C. Tanford, "El efecto hidrófobo", Wiley, N.Y., 1980; (c) M. Lissel, D. Feldman, M. Nir y M. Rabinovitz, *Tetrahedron Lett.*, 1989, 30, 1683). En la patente ESP-9200443 y en WO-A-9316991 se han descrito nuevos compuestos tensioactivos bis-QUATS, caracterizados por tener en las cadenas espaciadoras un puente disulfuro, para su aplicación principalmente sobre sustratos queratínicos. Estos bis-QUATS comprenden sin embargo grupos de amonio cuaternario que presentan problemas respecto a su biodegradabilidad.

Descripción de la invención

La presente invención se refiere en particular a una nueva familia de compuestos tensioactivos dímeros derivados de arginina de naturaleza catiónica, cuya fórmula estructural está representada por la siguiente fórmula general:



donde x = 8 - 14; n = 2 - 8

Estos compuestos agrupan juntos simultáneamente en la misma molécula dos radicales de N^α-acil-arginina unidos a través de una cadena espaciadora alquílica. Han sido diseñados de manera que la longitud de la cadena espaciadora contribuye a reforzar las interacciones hidrófobas inter o intramoleculares, dando lugar en consecuencia a un comportamiento diferente en las propiedades de absorción y la agregación molecular, y además, al ser catiónicos, a diferente comportamiento antimicrobiano.

En cuanto a su estructura son compuestos simétricos y contienen en la misma molécula dos cadenas de hidrocarburo saturado o no saturado de 6 a 20 átomos de carbono como parte hidrófoba, unidas a varios radicales del aminoácido arginina, los cuales están entrelazados a través de una cadena espaciadora del tipo alquildiamino. El radical de N^α-acil arginina actúa tanto como fuente de la parte hidrófoba como del grupo catiónico. Cada uno de los grupos funcionales que constituye la molécula (ácido graso, amino ácido, alquildiamina) se entrelaza a través de uniones amida que aseguran la estabilidad de la molécula dentro de un intervalo de pH 3 - 9 al mismo tiempo que la molécula es más biodegradable en comparación con los bis-QUATS ya conocidos. Los productos de hidrólisis que es de esperar que sean ácido graso, arginina y una diamina, no es ninguno de ellos peligroso ni desde el punto de vista biológico ni desde el punto de vista ecológico.

La síntesis de estos compuestos tiene lugar en cuatro fases:

- a) Formación de nitroarginina, utilizando como aminoácido de partida aminoácido L-arg, D-arg o DL-arg y como protector del grupo guanidina de la arginina el grupo nitro.
- b) Formación de N^α-acil-nitroarginina partiendo de la nitroarginina y ácido graso, utilizando cloruros de ácido graso lineal de 8 a 18 átomos de carbono como acilantes de la nitroarginina en un medio hidroalcohólico.
- c) Formación de N^α,N^ω, bis(N^α-acil-nitroarginina)_{α,ω}-diaminoalquilamida partiendo de N^α-acil-nitroarginina y diaminoalquilo, empleando agentes de condensación tales como BOP (hexafluorofosfato de benzotriazo-N-oxitris-dimetilamino-fosfonio) o DCCD (diciclohexilcarbodiimida);
- d) Formación de diclorhidrato N^α, N^ω, (N^α-acil-arginina)_{α, ω}-diaminoalquilamida mediante una hidrogenación catalítica en Pd/C (paladio/carbono) y metanol-ácido fórmico en una proporción comprendida entre 30-50% de ácido fórmico, de N^α,N^ω,bis(N^α-acil-nitroarginina) _{α,ω}-diaminoalquilo.

La presente invención se refiere a nuevos compuestos tensioactivos geminales bicatiónicos derivados del aminoácido arginina específicamente diseñados para actuar como agentes superficialmente activos y en consecuencia como poderosos agentes antimicrobianos. Las variaciones de la actividad serán función de la longitud de la cadena grasa, así como de la longitud de la cadena espaciadora.

La invención se refiere a moléculas con las características estructurales que siguen:

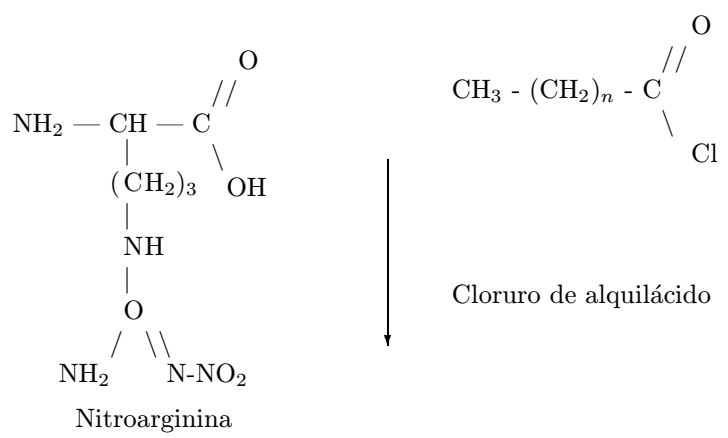
Poseen en una misma molécula dos cadenas hidrocarbonadas grasas, dos grupos catiónicos del tipo guanidina proporcionados por los dos radicales laterales del aminoácido arginina y una cadena espaciadora de tipo alquílico de diferente longitud. Estas moléculas, al ser geminales, presentarán fuerte sinergia en su interacción hidrófoba, al ser catiónicas tendrán una sustantividad específica para los microorganismos actuando como agentes antimicrobianos eficaces, y al ser derivados de la N^α-acil-arginina serán compuestos biodegradables y compatibles con el medio ambiente.

Los compuestos han sido preparados con un 99% de pureza utilizando para ello un camino de síntesis sistemáticamente confrontado partiendo de la materia prima y sin intermediarios competitivamente costosos.

La preparación de los productos finales tiene lugar en cuatro fases tal como se indica en el diagrama general 1

ES 2 153 089 T3

5



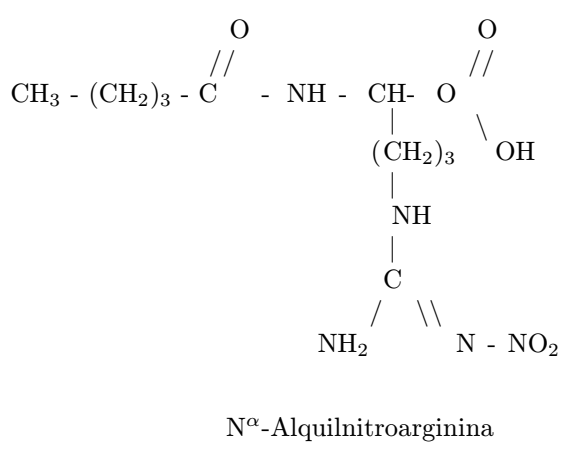
10

15

20

25

30



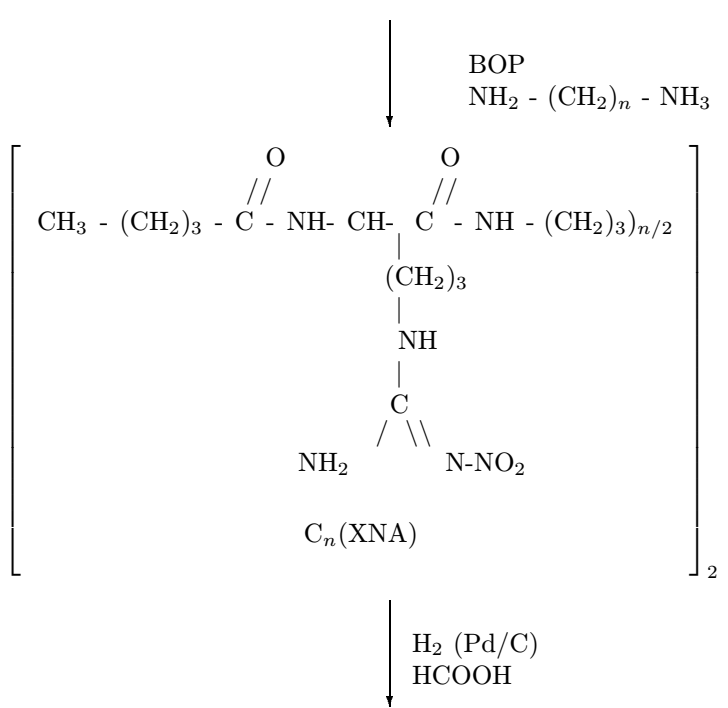
35

40

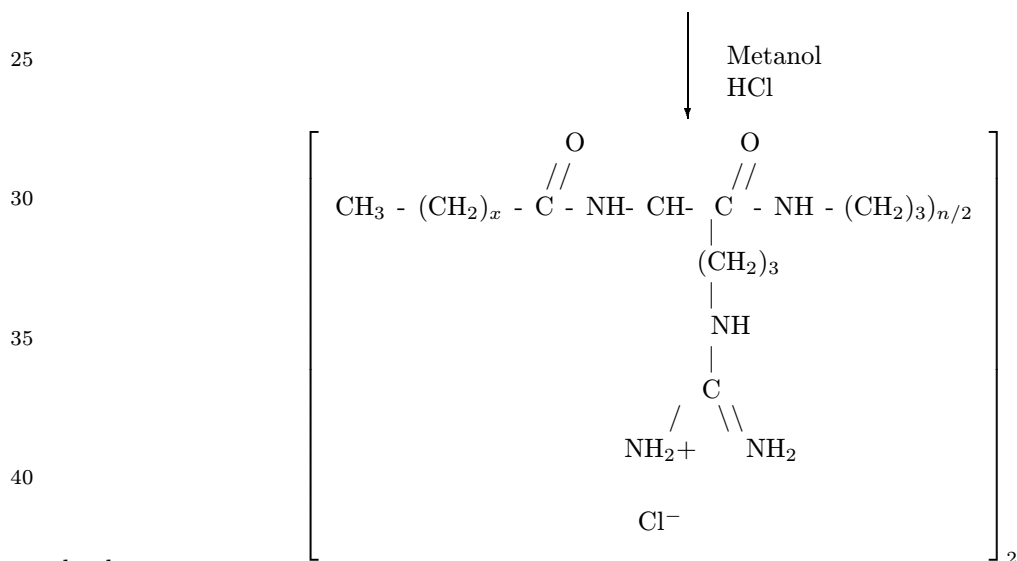
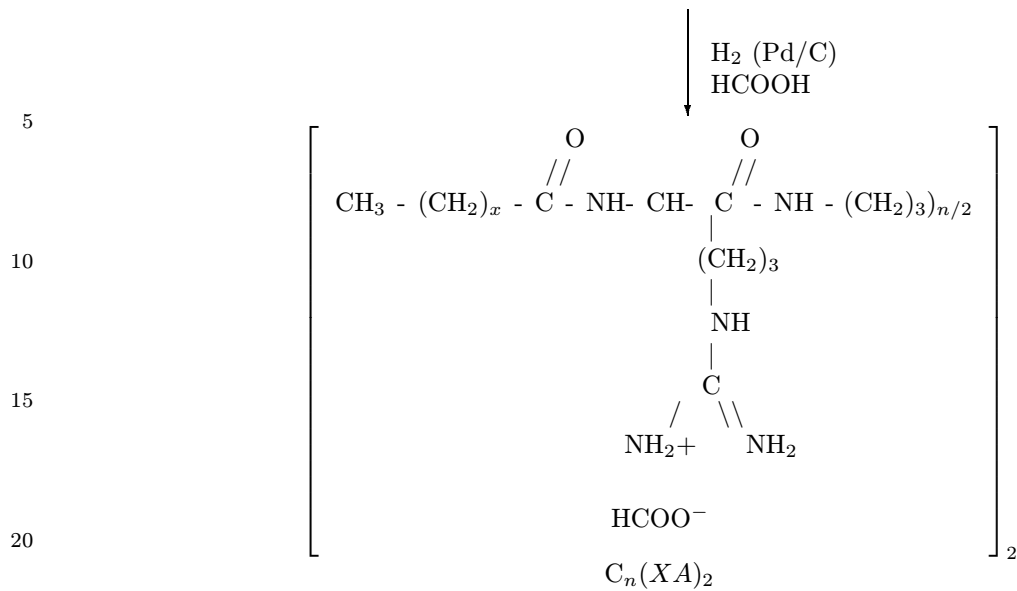
45

50

55



60



donde

45 $x = 8 - 14$

$n = 2 - 8$

50 La preparación de la N α -acil-nitroarginina tiene lugar durante las dos primeras etapas por medio de procedimientos ya conocidos. El compuesto formado por la condensación simultánea de la diamina alquímica con dos moléculas de la N α -acil-nitroarginina es nuevo, aunque tiene lugar utilizando el agente de condensación clásico BOP.

55 La obtención de los productos finales se logra durante la última etapa por hidrogenación catalítica en Pd/C y ácido fórmico.

Todas estas reacciones tienen lugar a baja temperatura y empleando disolventes tales como H₂O, EtOH, Cl₂CH y ácido fórmico/MeOH.

60 En estas condiciones, los productos se aíslan sin dificultad, manteniéndose estables a través del todo el proceso.

ES 2 153 089 T3

La purificación de los productos intermedios y finales se lleva a cabo por extracciones líquido/líquido, líquido/sólido, cristalización y cromatografía HPLC preparativa.

Los compuestos sintetizados son compuestos tensioactivos catiónicos antimicrobianos de elevada pureza, solubles en agua y estables en un medio acuoso a valores del pH comprendidos entre 3 y 9 y a temperaturas de hasta 70°C. Su aspecto es el de sólidos blancos muy higroscópicos.

Con respecto a sus correspondientes monómeros (Patente No. 12.643), los compuestos de la presente invención muestran una gran eficacia para ser absorbidos en superficies acuosas, gran facilidad para formar micelas y presentan una mejora sustancial en la actividad antimicrobiana especialmente frente a bacterias Gram positivas.

Los compuestos se preparan, tal como se ha indicado previamente, en cuatro etapas:

- a) Se lleva a cabo la siguiente reacción: se disuelve hidrocloreto de L-arginina en ácido sulfúrico concentrado, en la proporción de 50 % en volumen, eliminando al aire el ácido clorhídrico formado; a esta solución se añade una cantidad de nitrato de amonio pulverizado y se deja reaccionar al menos 15 minutos a temperatura ambiente, eliminando después el gas que se ha formado, se vierte la mezcla sobre hielo triturado y se enfría a 0°C; la solución se lleva a un pH 6,8 por la adición de amonio concentrado y se mantiene a una temperatura de 0°C hasta la precipitación total del producto, aproximadamente 48 horas; el precipitado así formado se filtra y cristaliza con agua caliente.
- b) Se prepara una solución en un intervalo de 0,10-0,30 moles de nitroarginina y NaOH en una solución acuosa de 20 a 30 % de acetona; a continuación se añade lentamente una cantidad equimolecular de cloruro de ácido graso manteniendo el pH entre 11 y 13 por medio de la adición de NaOH. La mezcla se mantiene agitando durante varias horas y se añade ClH hasta pH ácido, apareciendo un precipitado blanco que se filtra, se lava con agua y éter y por último se deja cristalizar en etanol-éter.
- c) Se prepara una solución 0,30-0,50 M de N α -acil-nitroarginina y un exceso de base orgánica amina terciaria (trietilamina o N-metilmorfolina) en cloroformo o en dimetilformamida. A esta mezcla se añade el agente de condensación BOP a una concentración comprendida entre 0,30-0,50 M y y la alquildiamina a una concentración entre 0,15 y 0,25 M. La mezcla de reacción se mantiene agitando entre 15 y 30 horas a una temperatura comprendida entre 10 y 25°C, añadiendo éter a continuación, con lo que aparece un precipitado que se lava varias veces con éter.
- d) Se lleva a cabo una desprotección del grupo nitro para obtener los dímeros de N α -acil-arginina por hidrogenación catalítica en un medio que contiene Pd/C y metanol-ácido fórmico en una proporción que comprende entre 30 - 50 % de ácido fórmico a una presión de al menos 50,6 barías (50 atmósferas), a temperatura ambiente y un tiempo máximo de 24 horas.

Ejemplo

Síntesis de N α , N ω ,bis(N α -decanoilarginina) α,ω -diaminobutilamida [C₄(KA)₂]

Se disuelven cantidades equimoleculares de nitroarginina (0,0685 moles) y NaOH en 290 ml de una solución acuosa de acetona, 34 % (v/v). A continuación se añade el mismo número de moles de cloruro de decanoilo (0,0685), gota a gota y muy lentamente, controlando que el pH se mantenga entre 11 y 13 por medio de la adición de NaOH. Se mantiene la mezcla de reacción en agitación durante dos horas, añadiendo, después de transcurrido este tiempo, HCl hasta pH igual a 1, en que aparece un precipitado blanco. Este sólido se filtra y se lava con agua hasta pH neutro, lavando a continuación con éter y dejando cristalizar en etanol-éter, obteniéndose la N α -decanoilnitro-arginina pura.

A continuación se disuelven 0,021 moles de N α -decanoilnitroarginina en 50 ml de cloroformo y 0,050 moles de trietilamina. A esta solución se añaden 0,010 moles de butildiamina y 0,021 moles de BOP (hexafluorofosfato de benzotriazol-N-oxo-tris(dimetilamino)fosfonio. La mezcla de reacción así obtenida se mantiene bajo agitación durante 24 horas a temperatura ambiente. Al día siguiente se añade éter a esta mezcla y aparece un precipitado amarillo y viscoso, éste se filtra y el residuo se disuelve en metanol, dejando reposar 24 horas a una temperatura de 4°C. Después de transcurrido este tiempo en metanol, se obtiene un residuo sólido que se filtra al aire y se lava varias veces con éter en un aparato Soxhlet.

Dependiendo de la pureza deseada, la mezcla así obtenida se disuelve en ácido fórmico y se purifica por medio de cristalizaciones sucesivas en MeOH o por aplicación de la técnica cromatográfica de HPLC

preparativa.

Una vez puro, se somete el producto, $C_4(KA)_2$, a hidrogenación catalítica con Pd/C en medio ácido fórmico y a una presión de 41,3 barías (600 psi) durante 24 horas. La mezcla resultante así obtenida se filtra, se elimina el disolvente, se disuelve en agua y se liofiliza. El sólido obtenido se deja cristalizar en MeOH(HCl)/éter, obteniéndose así el $C_4(KA)_2$ diclorohidratado.

Características del producto $C_4(KA)_2$

10 Peso molecular: 746

CCF (SiO₂ Butanol/Acético/Agua 4,2:6:2,5) Rf: 0,64

15 IR (KBr): 3300 cm⁻¹ (NH); 2923 (CH₂): 1638, 1621 cm⁻¹ (CO-N amida I), 1546 cm⁻¹ (N-C=O, amida II)

RMN-¹H (200 MHz, δ) 0,84 ppm (t, 6H, 2 CH₃); 1,2 - 1,7 ppm (m, 40H CH₂); 2,1 ppm (t, 4H, 2CH₂); 1,3 ppm (m, 8H, 4CH₂-NH); 4,2 ppm (m, 2H, 2CH); 7,5-8,5 ppm (m, 14H, 6NH, 4NH₂)

20 RMN-¹³C (50 MHz, δ); 13,93 ppm (CH₃); 22-40 ppm (CH₂); 51,90 ppm (CH); 157,42 ppm (C, grupo guanidino); 171,523 ppm (1 HN-C=O, amida) 172,28 ppm (1 HN-C=O, amida)

Las propiedades principales de la actividad superficial en solución acuosa a 25°C que definen el interés práctico de un compuesto tensioactivo, que son la tensión superficial a la concentración micelar crítica (γ) y la concentración micelar crítica (CMC), se determinaron según métodos convencionales. Asimismo, la actividad antimicrobiana se ha evaluado basándose en los valores de la concentración inhibidora mínima (MIC) expresada en μg/ml siguiendo las metodologías más comunes. La Tabla 1 indica los valores de λ, CMC y MIC para dos dímeros de la misma serie homóloga: $C_4(KA)_2$ (x = 8, n = 4) y $C_4(LA)_2$ (x = 10, n = 4). Con el propósito de hacer la comparación, en esta misma tabla, se indican los mismos valores para los compuestos monocatenarios KAM y LAM respectivamente.

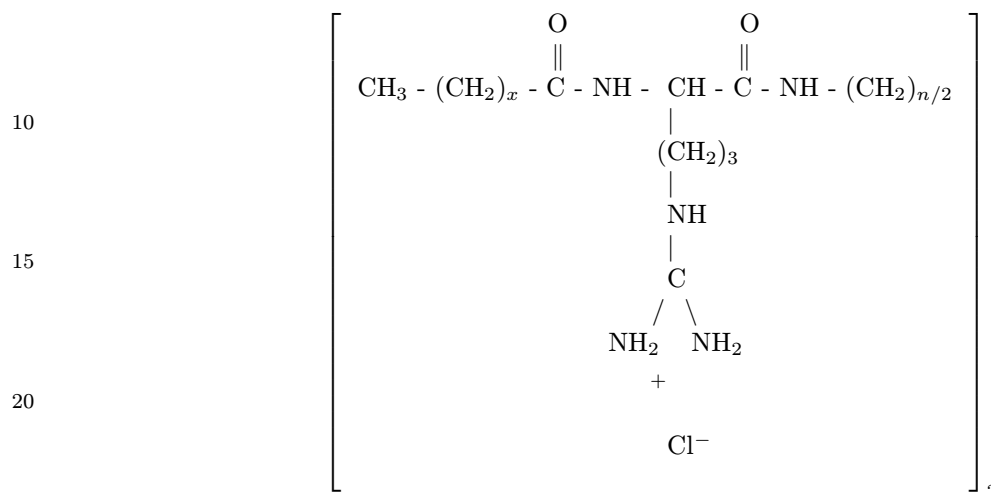
TABLA 1

Propiedades físico-químicas y antimicrobianas de $C_4(KA)_2$, $C_4(LA)_2$, KAM y LAM									
Comp.	T...mN /cm (25°)	CMC mM (25°)	MIC (μg/ml)						
			1	2	3	4	5	6	7
$C_4(KA)_2$	25	$7,8 \times 10^{-6}$	64	32	16	8	8	8	8
$C_4(LA)_2$	25	$4,0 \times 10^{-6}$	>128			32	32	16	16
KAM	30,2	$14,1 \times 10^{-3}$	>128			>128			
LAM	30,0	$3,7 \times 10^{-3}$	64	>128	32	>128	64	64	>128
1. Alcaligenes faecalis ATTC 8750 2. Bordetella bronchiseptica ATCC 3. Streptococcus faecalis ATCC 10541 4. Bacillus subtilis ATCC 6633 5. Staphylococcus aureus ATCC 25178 6. Staphylococcus epidermis ATCC 155-1 7. Micrococcus luteus ATCC 9341									

60

REIVINDICACIONES

1. Compuestos tensioactivos geminales catiónicos del tipo diclorhidrato de N^{α},N^{ω} ,bis(N^{α} -acil-arginina) α, ω -diaminoalquilo como agentes antimicrobianos con elevada actividad superficial **carac-**
 5 **terizados** por la fórmula general:



25 donde $x = 8 - 14$; $n = 2 - 8$

2. Un procedimiento para obtener compuestos tensioactivos catiónicos que tienen la fórmula general según la reivindicación 1, **caracterizado** por las siguientes etapas:

- 30 a) Formación de nitroarginina, utilizando como aminoácido de partida L-arg, D-arg o DL-arg y, como protector del grupo guanidina de la arginina, el grupo nitro
- 35 b) Formación de N^{α} -acil-nitroarginina partiendo de la nitroarginina y ácido graso, utilizando cloruros de ácido graso lineal, de 10 a 18 átomos de carbono como acilantes de la nitroarginina en un medio hidroalcohólico
- 40 c) Formación de N^{α}, N^{ω} , bis(N^{α} -acil-arginina) α, ω -diaminoalquilamida partiendo de N^{α} -acil-nitroarginina y diaminoalquilo, empleando agentes de condensación tales como hexafluorofosfato de benzotriazo-N-oxitris-dimetilamino-fosfonio (BOP) o dicitlohexilcarbodiimida (DCCD)
- d) Formación de diclorhidrato de N^{α},N^{ω} ,bis(N^{α} -acil-arginina) α,ω -diaminoalquilamida mediante una hidrogenación catalítica en Pd/C y metanol-ácido fórmico en una proporción comprendida entre 30-50% de N^{α},N^{ω} ,bis(N^{α} -acil-nitroarginina) α,ω diaminoalquilo.

3. Un procedimiento según la reivindicación 2 **caracterizado** porque para la etapa a) se lleva a cabo la siguiente reacción: disolución de hidrocloreuro de L-arginina en ácido sulfúrico concentrado, con una proporción del 50% (peso, volumen), eliminando al espacio el ácido clorhídrico formado, después de lo cual se añade una cantidad de nitrato de amonio pulverizado a esta solución y se deja reaccionar al menos durante 15 minutos a temperatura ambiente y, después de eliminar el gas formado, se vierte la mezcla sobre hielo triturado y se deja enfriar a 0°, y la solución se lleva a un pH de 6,8 por adición de amoníaco concentrado y se mantiene a la temperatura de 0°C hasta total precipitación del producto, aproximadamente 48 horas; después de lo cual el precipitado así formado se filtra y se deja cristalizar en agua caliente.

4. Un procedimiento según la reivindicación 2, **caracterizado** porque para la etapa (b), se prepara una solución en el intervalo 0,10-0,30 M de nitroarginina y NaOH en una solución acuosa de 20 a 30% de acetona; a continuación se añade lentamente una cantidad equimolecular de cloruro de ácido graso, manteniendo el pH entre 11 y 13 por medio de la adición de NaOH, después de lo cual la mezcla se mantiene con agitación durante varias horas y se añade HCl hasta que se alcanza un pH ácido con lo que aparece un precipitado blanco, que se filtra, se lava con agua y éter y, por último, se deja cristalizar en etanol-éter.

5. Un procedimiento según la reivindicación 2 **caracterizado** porque en la etapa (c) se prepara una solución 0,30-0,50 M de N^{α} -acilnitroarginina y exceso de base orgánica amina terciaria seleccionada entre

trietilamina y N-metil morfolina en cloroformo o dimetilformamida, añadiéndose el agente condensante BOP a la mezcla en una concentración comprendida entre 0,30-0,50 M y la alquildiamina en una concentración comprendida entre 0,15 y 0,25 M, manteniéndose la mezcla de reacción con agitación entre 15 y 30 horas a una temperatura de 10 a 25°C, añadiéndose éter a continuación con lo que aparece un precipitado que se lava varias veces con éter.

6. Un procedimiento según la reivindicación 2 **caracterizado** porque en la etapa (d) se lleva a cabo la desprotección del grupo nitro para llegar a los dímeros de N^α-acil-arginina por una hidrogenación catalítica en un medio que contiene Pd/C y ácido fórmico-metanol en una proporción comprendida entre 30 y 50 % de ácido fórmico a una presión de al menos 50,6 barías, temperatura ambiente y en un tiempo máximo de 24 horas.

7. Los compuestos tensioactivos según la reivindicación 1, **caracterizados** por su actividad antimicrobiana frente a agentes tales como Alcaligenes faecalis, Bordetella bronchiseptica, Streptococcus faecalis, Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermis y Micrococcus luteus.

20

25

30

35

40

45

50

NOTA INFORMATIVA: Conforme a la reserva del art. 167.2 del Convenio de Patentes Europeas (CPE) y a la Disposición Transitoria del RD 2424/1986, de 10 de octubre, relativo a la aplicación del Convenio de Patente Europea, las patentes europeas que designen a España y solicitadas antes del 7-10-1992, no producirán ningún efecto en España en la medida en que confieran protección a productos químicos y farmacéuticos como tales.

Esta información no prejuzga que la patente esté o no incluida en la mencionada reserva.
