

OLARTEMoure

OLARTE MOURE & ASOCIADOS LTDA.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 07-076575- -00003-0000

Fecha: 2012-01-26 16:38:02 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 523 RESPUESTA Folios: 12

Señores

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E. _____ S. _____ D. _____

Re: Expediente No. 07-076.575

Solicitud de patente de invención titulada: "SALES DE VALNEMULINA A PARTIR DE ACIDOS ORGÁNICOS QUE CONTIENEN DE 1 A 10 ÁTOMOS DE CARBONO"

Solicitante: NOVARTIS A.G.

Nuestra Ref.: P2007/000106

RESPUESTA AL OFICIO No. 17089, NOTIFICADO POR FIJACIÓN EN LISTA No. 406

DE FECHA 28 DE OCTUBRE DE 2011

(PRIMER EXAMEN DE FONDO)

CARLOS R. OLARTE, mayor de edad y vecino de Bogotá, identificado tal como aparece al pie de mi firma, en mi carácter de apoderado de la sociedad solicitante, me permito manifestar lo siguiente ante el auto emanado por ese Despacho, dentro del plazo legal previsto en el artículo 45 de la Decisión 486, en los siguientes términos:

1. En primer lugar, con el ánimo de brindar mayor claridad a la materia reivindicada, me permito presentar un Capítulo Reivindicatorio Modificado, que reemplaza en su totalidad el Capítulo Reivindicatorio presentado al momento de radicar la presente solicitud.

Así las cosas, el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto contiene las siguientes modificaciones:

- se eliminan las Reivindicaciones originales 2, 8 a 17;
- se modifica la Reivindicación 1, de manera que ahora corresponde a la fusión de la materia reclamada en las Reivindicaciones originales 1, 3 y 7;

Carrera 5 No. 34 - 03 Bogotá D.C., Colombia.

Tel: + 57 (1) 601-7700 Fax: + 57 (1) 601-7799 e-mail: office@olartemoure.com
www.olartemoure.com

- se reenumeran las Reivindicaciones originales 4, 5 y 6 como nuevas Reivindicaciones 2, 3 y 4;
- se reenumeran las Reivindicaciones originales 18 a 20 como nuevas Reivindicaciones 5 a 7, que además ahora se redactan como reivindicaciones de producto.

Valga anotar que las modificaciones efectuadas al Capítulo Reivindicatorio cumplen a cabalidad con lo estipulado en el Artículo 34 de la Decisión 486, ya que éstas de ninguna manera implican una ampliación de la protección correspondiente a la divulgación contenida en la solicitud inicial.

2. a- El Examinador señala que las Reivindicaciones 17, 18 y 20 reclaman materia no patentable.

b- Considero superada la anterior objeción dado que en el nuevo Capítulo Reivindicatorio Modificado no se reclama materia no patentable.

3. a- El Examinador indica que las reivindicaciones son excesivamente amplias porque reclaman cualquier tipo de sal de valnemulina, mientras que en el Capítulo Descriptivo únicamente describe sales de tartrato y fumarato. Adicionalmente, señala el Examinador que las expresiones “ácidos orgánicos” y “aproximadamente” carecen de concisión y no limitan el alcance de la materia reclamada.

b- Llamo respetuosamente la atención del Examinador sobre el Capítulo Reivindicatorio Modificado, donde la Reivindicación 1 ahora especifica los ácidos orgánicos señalados (según la Reivindicación original 3), y de la cual se la eliminado el término aproximadamente.

4. a- El Examinador señala que el título no corresponde con el objeto de la solicitud.

b- En relación con el título de la invención, con el fin de facilitar el trámite de la presente invención, me permito modificar el mismo como sigue:

**“SALES DE VALNEMULINA A PARTIR DE ACIDOS ORGÁNICOS QUE
CONTIENEN DE 1 A 10 ÁTOMOS DE CARBONO”**

5. a- Respecto a la Reivindicación 7, el Examinador argumenta que en el Capítulo Descriptivo no se observa evidencia que describa las formas cristalinas reclamadas, ni datos que permitan establecer las estructuras cristalinas.

b- En relación con la mención de formas cristalinas en la Reivindicación original 7 (que ahora hace parte de la nueva Reivindicación 1), respetuosamente me permito indicar que difiero de la posición del Examinador, en tanto que las formas cristalinas indican claramente y de manera directa, que las moléculas de la invención, en estado sólido, pueden presentarse en una configuración cristalina determinada. Es decir, en el concepto inventivo desarrollado se contemplan modalidades en las que las moléculas de interés pueden encontrarse en su forma cristalina, lo que es entendible fácilmente por cualquier persona medianamente versada en la materia.

Por lo tanto, me permito subrayar que el inventor está en su derecho de reclamar protección para la totalidad de un concepto inventivo desarrollado, que en el presente caso también cubre cualquier forma física de las sales de la invención, siempre y cuando éstas guarden unidad de invención a lo largo de la solicitud. En conclusión, cualquier persona medianamente versada en la materia claramente entendería el alcance de este lenguaje y por lo tanto no hay ninguna ambigüedad en las reivindicaciones de la presente solicitud.

6. a- El Examinador argumenta que la patente ES8606262 (D1) y el artículo Berge et al¹ (D2), afectan el nivel inventivo de la presente invención.

El Examinador señala que D1 revela valnemulina y la posibilidad para obtener sales de la misma. El Examinador menciona que la única diferencia entre la presente invención y D1 es que no se mencionan de manera específica la sal fumárica o D-tartárica preparadas en la presente invención.

De otra parte, D2 revela la lista de sales aprobadas por la FDA (sales farmacéuticamente aceptables), y también explica los principios químicos y farmacéuticos para seleccionar y producir sales adecuadas, de conformidad con las propiedades buscadas.

El Examinador concluye que la posibilidad de producir sales con el fin de mejorar la estabilidad de los compuestos es claramente sugerida en D2. De acuerdo con lo anterior, cualquier persona

¹ Stephen M. Berge, Lyle D. Bighley, Donald C. Monkhouse. Pharmaceutical salts. Journal of Pharmaceutical Sciences. Volumen 66, Número 1, páginas 1–19, Enero 1977.

medianamente versada en la materia, siguiendo las enseñanzas de D2, habría podido producir diferentes sales del compuesto de interés de D1, esperando producir formas alternativas con propiedades mejoradas.

Adicionalmente, el Examinador señala que los resultados ilustrados en la Tabla 1 del Capítulo Descriptivo no pueden ser extrapolados a sales diferentes que las de tartrato y fumarato.

El Examinador también señala que el proceso de la Reivindicación 8, que comprende una reacción ácido-base, es totalmente conocida a partir de los principios revelados en D2; además, la posibilidad de producir sales del compuesto de interés es claramente sugerida en D1.

b- En primer lugar, respecto al arte previo citado, me permito señalar que D1 revela un grupo genérico de pleuromutilinas, incluyendo la valnemulina. D1 adicionalmente revela que dichas pleuromutilinas se pueden utilizar en forma de base libre o en forma de sales de adición de un ácido fisiológicamente aceptable y aún de sales cuaternarias. Las sales de adición de preferencia son los clorhidratos. Sin embargo, D1 no revela específicamente ninguna sal de valnemulina. Adicionalmente, la enseñanza directa de D1 es que en el caso de desear utilizar una pleuromutilina (como la valnemulina) en forma de sal de adición, debe seleccionarse un clorhidrato, el cual es una sal de adición de un ácido inorgánico. Finalmente, D1 no contiene mención alguna sobre sales cristalinas.

Ahora bien, la presente solicitud de patente aborda problemas de las formulaciones de valnemulina que no son siquiera mencionados, y menos aún solucionados, en D1. Particularmente, se ha visto que es difícil obtener valnemulina pura y composiciones farmacéuticas de valnemulina estables, principalmente debido a que la valnemulina no se ha podido obtener en una forma cristalina adecuada. Me permito adjuntar al presente memorial el documento US5,545,654 (con fecha de publicación anterior a la fecha de prioridad aquí reivindicada y propiedad del mismo solicitante que D1), en donde claramente se especifica que las pleuromutilinas, como la valnemulina a la fecha no se habían podido obtener en su forma cristalina (Columna 1, líneas 37-42). Con el objetivo de obtener valnemulina pura dicha patente propone suministrar nuevos profármacos de pleuromutilina de la fórmula II, que tienen un grupo N-heterociclilo en vez de un grupo amino libre, los cuales se han encontrado adecuados para cristalizar; después de la purificación de los profármacos cristalinos, dicho heterociclo debe ser removido. En consecuencia, la clara enseñanza de US5,545,654 es que las pleuromutilinas no cristalizan, sino más bien que tienen que ser convertidas previamente en un derivado de

pleuromutilina N-protégido, y después de la purificación deben ser convertidas nuevamente en pleuromutilinas puras.

La presente invención ha encontrado sorprendentemente que es posible preparar derivados de valnemulina por formación de sales de las mismas con un ácido orgánico. Esta ruta ofrece una vía conveniente para la purificación de valnemulina y la formación de formulaciones estables de la misma.

La presente solicitud además demuestra el aumento de la estabilidad respecto al clorhidrato conocido (ver página 7, líneas 18 a 25 y página 8, líneas 1 a 13), evidenciando el esfuerzo realizado para estabilizar la valnemulina (y aun otros representantes de la clase de pleuromutilinas), de tal manera que soportaran las temperaturas y presiones elevadas durante la producción de gránulos, sin pérdida de la sustancia activa y con una estabilidad práctica a largo plazo.

En cuanto al documento D2 citado por el Examinador, éste se refiere a sales farmacéuticas adecuadas y comúnmente usadas en la industria farmacéutica. Sin embargo, ni D1 ni D2, e incluso la patente US5,545,654, sugieren la posibilidad de producir las sales específicas de los compuestos de fórmula I de la presente invención. De hecho, ni D1 ni D2 incluyen enseñanzas o aún sugerencias de que las sales reclamadas podrían existir.

De acuerdo con lo anterior, y teniendo en cuenta las disposiciones del Tribunal Andino de Justicia, que establece que resultados y mejoras sorprendentes constituyen indicios de no obviedad, y que el Manual Andino de Patentes indica que las propiedades ventajosas constituyen indicios aceptables de nivel inventivo y que las invenciones en el campo de la química deben considerarse como inventivas cuando los compuestos tienen una estructura inesperada (no predecible por una persona medianamente versada en la materia) con efectos sorprendentes o mejorados, también impredecibles a partir del arte previo², en la presente invención, las formas cristalinas reclamadas gozan de nivel inventivo frente al arte previo citado por el Examinador.

Adicionalmente, el análisis del nivel inventivo no puede basarse en si la invención era posible, pues claramente es posible, ya que las sales reclamadas de hecho existen. Aplicar un estándar de "posibilidad" en la evaluación de patentes, haría que ninguna invención fuera susceptible de

² Manual Andino de Patentes. (2004). Sección 10.8.1. (disponible en <http://www.comunidadandina.org/public/patentes.pdf>).

OLARTEMOURE

OLARTE MOURE & ASOCIADOS LTDA.

patentarse, haciendo inviable el sistema. Del mismo modo, el análisis de patentabilidad no puede implicar la cuestión de si las técnicas de investigación aplicadas son comunes u obvias, sino más bien si las sales específicamente reclamadas podrían haber sido evidentemente derivadas del arte previo (sin necesidad de investigación adicional alguna). En el mejor de los casos, una persona medianamente versada en la materia lo que encontraría sería una invitación para intentar y usar herramientas conocidas para investigar la existencia de las sales potenciales que pueden mostrar propiedades mejoradas.

Finalmente, el Examinador señala que seleccionar sales farmacéuticamente aceptables es obvio ya que cualquier persona medianamente versada en la materia comúnmente tiene conocimiento de las reacciones ácido-base y la formación de sales. Respetuosamente me permito señalar que el tipo de conclusiones anticipadas presentadas por el Examinador, en retrospectiva o “hindsight”, como se les conoce en la doctrina y jurisprudencia internacional, están proscritas incluso por el Manual Andino de Patentes, conforme al cual “...la búsqueda de anterioridades se efectúa a posteriori, tomando como punto de partida la misma invención,...el examinador debe realizar el esfuerzo intelectual de colocarse en la situación que ha tenido que afrontar el técnico con conocimientos medios en la materia en un momento en que la invención no era conocida, es decir antes de la invención” (mi subrayado).

7. Por todo lo anterior, considero que las objeciones presentadas por el Examinador en su examen de fondo han sido resueltas y por consiguiente solicito respetuosamente que el Despacho tenga por cumplidos los requisitos de patentabilidad y se proceda con la concesión de la patente.

Atentamente,



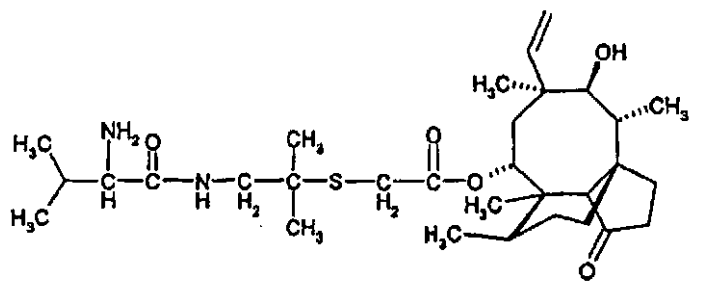
CARLOS R. OLARTE
C.C. No. 79.782.747 de Bogotá
T.P. 74.295

Anexos:

- Documento de la patente US 5,545,654 (D3)
- Capítulo Reivindicatorio Modificado

CAPÍTULO REIVINDICATORIO MODIFICADO (Primer Examen de Fondo)

1. Una sal que consiste en valnemulina de la fórmula I:



y un ácido orgánico seleccionado a partir del grupo que consiste en ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido ascórbico, ácido glicólico, ácido láctico, ácido pirúvico, ácido mandélico, ácido oxálico, ácido malónico, ácido succínico, ácido aspártico, ácido glutámico, ácido glutárico, ácido adípico, ácido pimélico, ácido subérico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido ftálico, ácido isoftálico, ácido tereftálico, ácido málico, ácido tartárico, y ácido cítrico, caracterizados en que dicha sal está presente en forma cristalina.

2. Una sal de acuerdo con la Reivindicación 1, caracterizadas porque el ácido orgánico se seleccionan a partir del grupo que consiste en ácidos mono- y di-carboxílicos puros en enantiómeros.
3. Una sal de acuerdo con la Reivindicación 1, caracterizadas porque el ácido orgánico se seleccionan a partir del grupo que consiste en ácido D-tartárico y ácido fumárico.
4. Una sal de acuerdo con la Reivindicación 1, caracterizadas porque el ácido orgánico es ácido D-tartárico.
5. Un aditivo de alimento para animales, que comprende una sal de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4.
6. Gránulos de alimento para animales, caracterizados porque contienen una cantidad activa de al menos una sal de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4.
7. Un aditivo de agua para beber, que comprende una sal de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4.



US005545654A

United States Patent [19]
Macher

[11] **Patent Number:** **5,545,654**
 [45] **Date of Patent:** **Aug. 13, 1996**

[54] PLEUROMUTILIN DERIVATIVES

[75] Inventor: **Ingolf Macher**, Wörgl, Austria
 [73] Assignee: **Biochemie Gesellschaft m.b.H.**, Tyrol, Austria
 [21] Appl. No.: **178,317**
 [22] PCT Filed: **Apr. 29, 1993**
 [86] PCT No.: **PCT/EP93/01033**
 § 371 Date: **Jan. 3, 1994**
 § 102(e) Date: **Jan. 3, 1994**
 [87] PCT Pub. No.: **WO93/22288**
 PCT Pub. Date: **Nov. 11, 1993**

[30] Foreign Application Priority Data

May 4, 1992 [AT] Austria 897/92
 [51] Int. Cl.⁶ **C07D 233/32; A61K 31/415**
 [52] U.S. Cl. **514/392; 514/506; 548/324.1; 562/499**
 [58] Field of Search **548/324.1; 514/392; 514/506; 562/499**

[56] References Cited

U.S. PATENT DOCUMENTS

4,675,330 6/1987 Berner et al. 514/365

FOREIGN PATENT DOCUMENTS

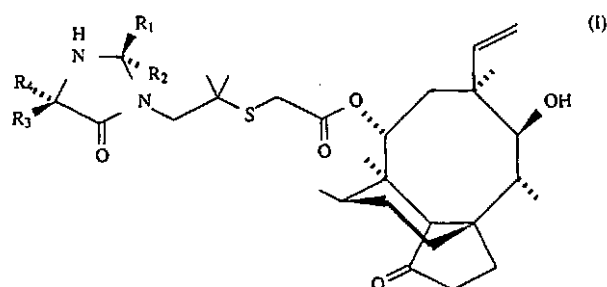
13768 8/1980 European Pat. Off. .
 153277 9/1985 European Pat. Off. .
 421364 4/1991 European Pat. Off. .

OTHER PUBLICATIONS

Fitzi, et al, *Tetrahedron* vol. 44, No. 17 pp. 5277-5292, (1988).
 Kealy, et al, *J. Organic Chemistry*, vol. 26, No. 4, pp. 1097-1101 Apr., 1961.
 Fitzi, et al, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, vol. 25, No. 4, 1986, pp. 345-346.
 Smitsman, et al, *J. Medicinal Chemistry*, vol. 19, No. 1, (1976), pp. 161-163.

Primary Examiner—Jacqueline Haley
 Attorney, Agent, or Firm—Robert S. Honor; Melvyn M. Kassenoff; Thomas O. McGovern

[57] ABSTRACT



A compound of formula (I), in which each of R₁ and R₂ is independently hydrogen, alkyl or, together with the carbon atom to which it is bonded, a cycloalkyl; and each of R₃ and R₄ is independently hydrogen, alkyl or substituted alkyl. The compounds are useful intermediates and prodrugs.

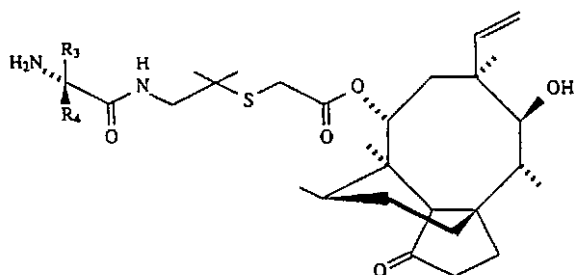
14 Claims, No Drawings

PLEUROMUTILIN DERIVATIVES

This application is a National Stage Application of PCT/EP93/01033, filed Apr. 29, 1993, published as WO 93/22288, Nov. 11, 1993.

This invention concerns pleuromutilin derivatives that are useful as stable propleuromutilin antibacterial agents and that are useful in the production of pleuromutilin antibacterial agents.

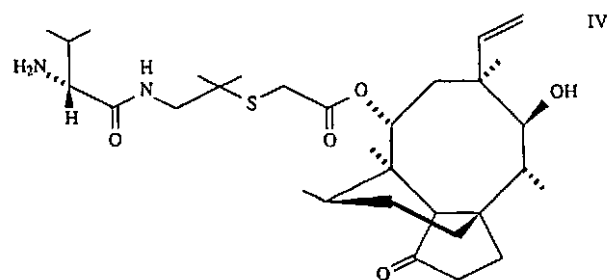
Pleuromutilin compounds of the formula II



in which each of R_3 and R_4 is independently hydrogen, alkyl or substituted alkyl, are disclosed in European patent application EP 0 153 277. These compounds have useful biological properties; especially chemotherapeutic properties. For example the compounds of the formula II inhibit the growth of bacteria, Mycoplasmas and Chlamydia and have antiparasitic properties (particularly against coccidia) and growth promoting activity. Hence these compounds can be used as medicaments and animal feeds.

However the compounds of the formula II could not previously be obtained in highly purified form since they are not available in crystalline form. As disclosed in EP 0 153 277, they could only be purified using chromatographic techniques.

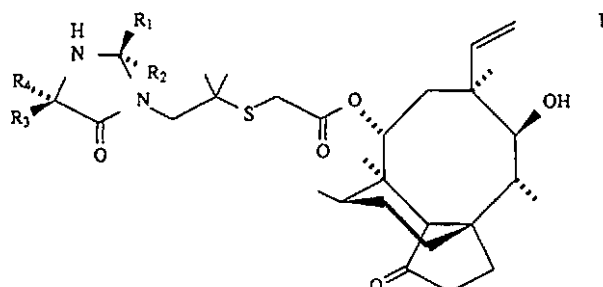
Austrian Patent 392 272 discloses methods for the extraction and purification of compounds of the formula IV



using specific solvents but analogous compounds with similar separation coefficients are not separated off and highly pure forms cannot be obtained.

Therefore there is a need for a route for preparing compounds of formula II that enables the compounds to be obtained in highly purified form (for example in crystalline form). There is also a need for stable compounds which may be used as pro-drugs for the compound of formula II.

Accordingly, in one aspect this invention provides compounds of the formula I

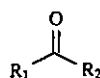


in which each of R_1 and R_2 is independently hydrogen, alkyl or, together with the carbon atom to which it is bonded, a cycloalkyl group; and each of R_3 and R_4 is independently hydrogen, alkyl or substituted alkyl. The compounds of the formula I are easily isolated in crystal form and hence are easily purified. Therefore the compounds of the formula I are useful intermediates in the production of compounds of the formula II in that they enable the preparation and isolation of highly purified forms of the compounds of formula II.

Preferably each R_1 and R_2 is independently H or C_1 to C_6 alkyl, or forms, together with the carbon atom to which it is bonded, a cycloalkyl ring of up to 6 carbon atoms (for example a 5 membered ring). R_1 and R_2 are both preferably methyl.

Preferably each R_3 and R_4 is independently H or C_1 to C_6 alkyl.

The invention also provides a process for the production of the compounds of the formula I comprising reacting a compound of formula II as defined above with a carbonyl compound of the formula III



in which R_3 and R_4 are as defined above, and isolating the compound of the formula I in free base or acid addition salt form. The compound of formula I may be obtained in crystalline form.

The reaction may be carried out in a suitable solvent such as a lower alcohol (for example methanol, ethanol or isopropanol) or mixtures thereof.

The carbonyl compound of the formula III is preferably acetone, butan-2-one or cyclopentanone.

The invention also provides a method of producing compounds of the formula II as defined above in highly purified form (for example above 95% pure) comprising heating a compound of the formula I in the presence of an acid or a solvent, or both, and isolating the compound of the formula II in free base or acid addition salt form. Therefore, to produce compounds of the formula II in pure form, these compounds may be produced as conventionally produced to provide them in impure form. They may then be reacted with a carbonyl group of formula III as described above to provide the compounds of the formula I which may be readily purified since they are obtainable in crystalline form. The compounds of the formula I may then be converted to compounds of the formula II as described above.

Preferably the acid is a weak solution of hydrochloric acid or is a mixture of a solvent and a weak solution of hydrochloric acid.

The invention also provides the use of a compound of formula I as defined above in the preparation of compounds of the formula II in highly purified form.

The invention also provides a compound of the formula II in highly purified form (for example at least 95% and more preferably at least 98% pure).

The compounds of the formula I are extremely useful intermediates that enable the preparation of compounds of the formula II in highly purified form. However the compounds of the formula I are also useful as stable pro-drug forms of the compounds of the formula II because, at physiological pH's, they are released more slowly and in lower local concentrations. Also, they have lower basicity than the compounds of formula II and hence have better shelf-life.

Therefore the invention also provides a pharmaceutical composition comprising a compound of the formula I, as defined above, and a pharmaceutically acceptable carrier. Preferably the composition is in a form suitable for parenteral administration; for example as an injectable solution. Since the compounds of the formula I are hydrolysed slowly under physiological conditions and are released slowly, the pharmaceutical compositions act as retard forms of compositions that contain compounds of the formula II.

The compounds of the formula I may also be used as a stable form of the compounds of formula II in animal feeds. The imidazolidine moiety of the compounds of formula I is more stable against enzymatic hydrolysis than the corresponding moiety of the compounds of formula II. Hence feeds which contain the compounds of formula I are more resistant to decomposition caused by enzymes commonly found in animal feeds.

In use the effective dosage will vary depending upon the particular compound employed, the mode of administration, and the treatment desired. However satisfactory results as anti-bacteria is and anti-anaerobics can be obtained when the compounds are administered at a daily dosages similar to those described for compounds of the formula II in EP 0 153 277. If the compound is administered internally, the dosage form may contain the compound of formula I in admixture with a solid or liquid carrier or diluent.

For the prophylaxis of microorganism infections and for growth promotion in domestic animals, the dosage will vary depending upon the size and age of the animal and the effect desired. For example, for prophylactic treatment relatively low doses may be administered over a long time. Preferred doses in drinking water and foodstuffs are similar to those described for compounds of the formula II in EP 0 153 277. For pigs, it is preferred to administer the compound in foodstuffs. In this form, the compounds of the formula I are useful in the prophylactic treatment of swine dysentery.

Examples of the invention are now described, by way of example only. All temperatures are given in degrees centigrade.

Example 1 14-O-[[1-(2,2-Dimethyl-5(R)-isopropyl-imidazolidin-4-on-3-yl)-2-methyl-propan-2-yl]thioacetyl]mutilin

100 g of 14-O-[[1-(D)-2-amino-3-methylbutyrylamino]-2-methylpropan-2-yl-thioacetyl]mutilin hydrochloride are dissolved in 1000 ml water. 1000 ml tert.butylmethylether are added and the pH is adjusted to about 9 by the addition of 10N sodium hydroxide. The phases are then separated and the organic phase is washed twice with about 200 ml water. The tert.butylmethylether is distilled off and the residue is dissolved in ethanol. The ethanol is evaporated off and the residue collected. The residue is dissolved in 750 ml ethanol and 250 ml acetone and the mixture refluxed for 5 hours. Thereafter the mixture is left at room temperature for about

40 hours before being subjected to evaporation at 30° C. and under weak vacuum (about 120 m bar). About 650 ml of the ethanol/acetone solvent is evaporated off. The remaining crystal suspension is cooled with ice and stirred for an hour. The crystals are filtered, washed with cold ethanol and dried in a vacuum drier. The filtrate obtained from the filtration step is evaporated and the residue dissolved in 75 ml ethanol and 25 ml acetone. The mixture is left to stand for 48 hours at room temperature and the precipitate, in the form of crystals, then filtered off. The crystals are then washed with cold ethanol and dried in a vacuum drier. The dried crystals melt at a temperature of about 174° to 177° C.

Example 2 14-O-[[1-(2,2-Dimethyl-5(R)-isopropyl-imidazolidin-4-on-3-yl)-2-methyl-propan-2-yl]thioacetyl]mutilin

100 g of 14-O-[[1-(D)-2-amino-3-methylbutyrylamino]-2-methylpropan-2-yl-thioacetyl]mutilin hydrochloride are dissolved in 1000 ml water. 1000 ml tert.butylmethylether are added and the pH is adjusted to about 9 to 10 by the addition of 10N sodium hydroxide. The phases are then separated and the organic phase is washed twice with about 200 ml water. The tert.butylmethylether is distilled off and the residue is dissolved in 200 ml acetone. The acetone is evaporated off and the residue collected. The residue is dissolved in 1000 ml acetone, 50 g of a 0.3 nm molecular sieve (obtained from Merck) is added and the mixture is refluxed for 27 hours. Thereafter the mixture is left at room temperature overnight. 3 g of activated charcoal is then added, the mixture is stirred for 5 minutes and is then filtered. The filtrate is evaporated at normal pressures to a volume of about 200 ml. Seeding crystals are then added to the clear solution and the solution stirred for an hour at room temperature and 2 hours in an ice bath. The precipitation is filtered off, washed with tert.butylmethylether and dried in a vacuum drier. The dried crystals melt at a temperature of about 174° to 177° C.

Example 3 14-O-[[1-(2,2-Dimethyl-5(R)-isopropyl-imidazolidin-4-on-3-yl)-2-methyl-propan-2-yl]thioacetyl]mutilin

150 g of 14-O-[[1-(D)-2-amino-3-methylbutyrylamino]-2-methylpropan-2-yl-thioacetyl]mutilin hydrochloride are dissolved in 1500 ml water and the mixture stirred. 800 ml tert.butylmethylether are added and the pH is adjusted to about 9 by the addition of 10N sodium hydroxide. The phases are then separated and the organic phase is washed twice with about 500 ml water. 650 ml the tert.butylmethylether is evaporated off under normal pressure at temperature of 60°. The residue is dissolved in 186 ml acetone and 564 ml methanol and the mixture refluxed for 5 hours. Thereafter the mixture is left at room temperature for about 67 hours before being subjected to evaporation at 30° C. under vacuum. 450 ml isopropanol is added and the mixture stirred at room temperature for about 4 hours. The crystal suspension is cooled to about 0° and left over night. The crystals are filtered, washed with isopropanol and tert.butylmethylether, and dried in a vacuum drier. The dried crystals melt at a temperature of about 174° to 177° C.

Example 4 14-O-[[1-(2,2-Dimethyl-5(R)-isopropyl-imidazolidin-4-on-3-yl)-2-methyl-propan-2-yl]thioacetyl]mutilin

The procedure set out in example 3 is followed except that the evaporation residue is dissolved in 480 ml methanol and 120 ml tert.butylmethylether instead of isopropanol. The

dried crystals obtained melt at a temperature of about 174° to 177° C.

Example 5 14-O-[[1-(2,2-Dimethyl-5(R)-isopropyl-imidazolidin-4-on-3-yl)-2-methyl-propan-2-yl]thioacetyl]mutilin

1 g of 14-O-[[1-(L)-2-amino-3-methylbutyrylamino]-2-methylpropan-2-yl]thioacetyl]mutilin hydrochloride is dissolved in 10 ml water. 10 ml tert.butylmethylether are added and the pH is adjusted to about 9 to 10 by the addition of 10N sodium hydroxide to provide the compound in free base form. The phases are then separated and the organic phase is washed twice with water. The tert.butylmethylether is distilled off and the residue is dissolved in acetone. The acetone is evaporated off and the residue collected. The residue is dissolved in 10 ml acetone, 1 g of a 0.3 nm molecular sieve is added and the mixture is refluxed for 48 hours. Thereafter the mixture is filtered. The filtrate is evaporated in a rotary evaporator and the residue collected. The residue is dissolved in 2 ml acetone and seeding crystals are then added. After 2 hours at room temperature, the precipitation is filtered off, washed with tert.butylmethylether and dried in a vacuum drier. The dried crystals melt at a temperature of about 170° to 173° C.

Example 6

14-O-[[1-(2-ethyl-5(R)-isopropyl-2-methyl-imidazolidin-4-on-3-yl)-propan-2-yl]thioacetyl]mutilin

A procedure analogous to that set out in example 2 is followed except that the evaporation residue is dissolved in methanol and, instead of acetone, 2-butanone is used. The dried crystals melt at a temperature of about 156° to 158° C.

Example 7

14-O-[[1-(5(R)-isopropyl-2,2-tetramethylene-imidazolidin-4-on-3-yl)-2-methyl-propan-2-yl]thioacetyl]mutilin

A procedure analogous to that set out in example 6 is followed except that, instead of 2-butanone, cyclopentanone is used. The dried crystals melt at a temperature of about 130° to 132° C.

Example 8

14-O-[[1-(D)-2-amino-3-methylbutyrylamino]-2-methylpropan-2-yl]thioacetyl]mutilin hydrochloride

20 g of 14-O-[[1-(2,2-Dimethyl-5(R)-isopropyl-imidazolidin-4-on-3-yl)-2-methyl-propan-2-yl]thioacetyl]mutilin is dissolved in 80 ml water and 2.9 ml of 37% hydrochloric acid are added. The mixture is warmed to 90° for an hour. The clear solution is lyophilized or spray dried to provide the title compound in pure form (98% purity).

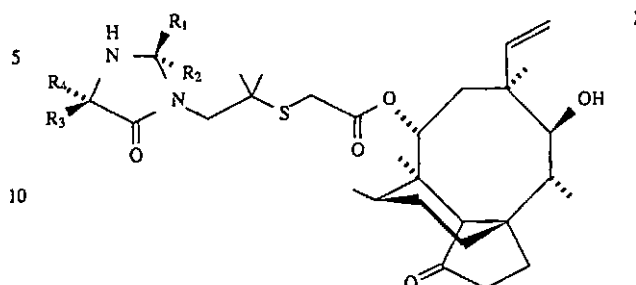
Example 9

14O-[[1-(D)-2-amino-3-methylbutyrylamino]-2-methylpropan-2-yl]thioacetyl]mutilin hydrochloride

10 g of 14-O-[[1-(2,2-Dimethyl-5(R)-isopropyl-imidazolidin-4-on-3-yl)-2-methyl-propan-2-yl]thioacetyl]mutilin is dissolved in 100 ml methanol and 9.3 ml of 2N hydrochloric acid are added. The mixture is refluxed for about 1.5 hours and then dried in a rotary evaporator. The residue is dissolved in 50 ml water and the solution is lyophilized to provide the title compound in pure form (98% purity).

I claim:

1. A compound of formula I



in which R₁ and R₂ are each independently hydrogen or (C₁₋₆)alkyl, or together with the carbon atom to which they are attached form a cycloalkyl ring of up to 6 carbon atoms; and

R₃ and R₄ are each independently hydrogen or (C₁₋₆) alkyl.

2. A compound according to claim 1 in which R₁ and R₂ are methyl.

3. A compound according to claim 1 which is 14-O-[[1-(2,2-dimethyl-5(R)-isopropyl-imidazolidin-4-on-3-yl)-2-methylpropan-2-yl]thioacetyl]mutilin.

4. A compound of the formula I according to claim 1 in crystalline form.

5. A compound according to claim 1 which is 14O-[[1-(2-ethyl-5(R)-isopropyl-2-methyl-imidazolidin-4-on-3-yl)-2-methylpropan-2-yl]thioacetyl]mutilin.

6. A compound according to claim 1 which is 14-O-[[1-(5(R)-isopropyl-2,2-tetramethylene-imidazolidin-4-on-3-yl)-2-methylpropan-2-yl]thioacetyl]mutilin.

7. A pharmaceutical composition comprising an amount of a compound according to claim 1 effective for treating a microorganism infection and a pharmaceutically acceptable carrier therefor.

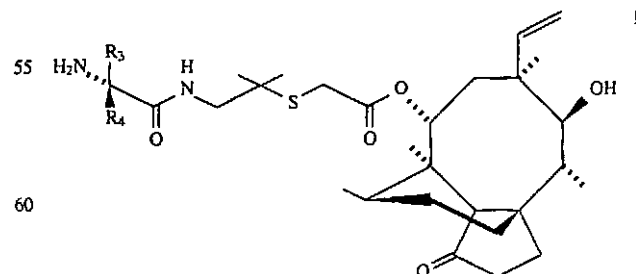
8. A pharmaceutical composition according to claim 7 in the form of an injectable solution for parenteral administration.

9. A pharmaceutical composition according to claim 7 in the form of an animal feed.

10. A method of treating a microorganism infection in a subject in need of said treatment, which comprises administering to the subject an amount of a compound according to claim 1 effective for the treatment of a microorganism infection.

11. A method according to claim 10 in which the microorganism infection is swine dysentery.

12. A process for preparing a compound of formula II

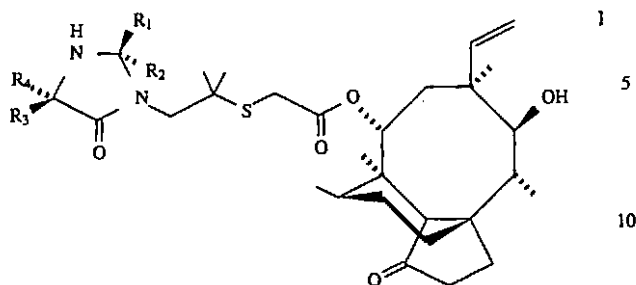


in which R₃ and R₄ are each independently hydrogen or (C₁₋₆)alkyl, and having a purity of at least 95%, which comprises the steps of

5,545,654

7

a) heating a compound of formula I

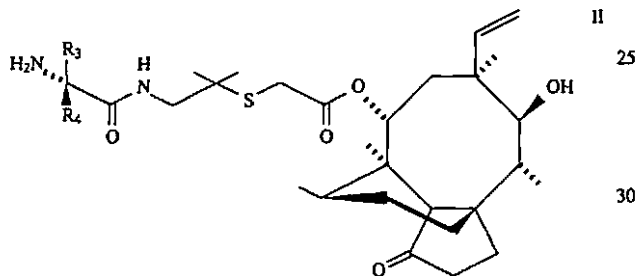


where R₁ and R₂ are each independently hydrogen or (C₁₋₆)alkyl, or together with the carbon atom to which they are attached form a cycloalkyl ring of up to 6 carbon atoms, and

R₃ and R₄ are as defined above, in the presence of an acid or an inert solvent or both; and

b) isolating the compound of formula II in free base or acid addition salt form.

13. A process for preparing a compound of formula II



in which R₃ and R₄ are each independently hydrogen or (C₁₋₆)alkyl, and having a purity of at least 95%, which comprises the steps of

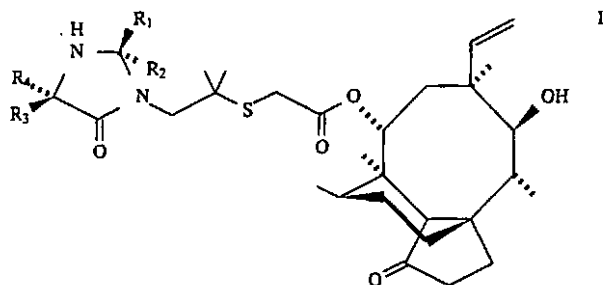
8

a) reacting a compound of formula II in impure form with a compound of formula III



where R₁ and R₂ are each independently hydrogen or (C₁₋₆)alkyl, or together with the carbon atom to which they are attached form a cycloalkyl ring of up to 6 carbon atoms,

in an inert solvent to obtain a compound formula I



b) isolating the compound of formula I in pure free base or acid addition salt form;

c) heating the compound of formula I in the presence of an acid or an inert solvent or both; and

d) isolating the compound of formula II in free base or acid addition salt form.

14. A process according to claim 13 which is carried out in a solvent selected from methanol, ethanol and isopropanol, and mixtures thereof.

* * * * *