

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0017013-5 A2**

(22) Data de Depósito: 30/11/2000
(43) Data da Publicação: 13/07/2010
(RPI 2062)



(51) Int.Cl.:
C07H 17/00
A61K 31/70
A61P 31/04
A61P 33/02

(54) Título: **COMPOSIÇÃO DE ANTIBIÓTICO AZALÍDEO, MÉTODO PARA OBTENÇÃO E USO DA MESMA**

(30) Prioridade Unionista: 27/01/2000 US 60/178,481

(73) Titular(es): Pfizer Products INC.

(72) Inventor(es): Wayne Alan Boettner

(74) Procurador(es): Dannemann, Siemsen, Bigler & Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT IB0001824 de 30/11/2000

(87) Publicação Internacional: WO 01/55158 de 02/08/2001

(57) Resumo: COMPOSIÇÃO DE ANTIBIÓTICO AZALÍDEO, METODO PARA OBTENÇÃO E USO DA MESMA. São descritas composições anti bióticas compreendendo uma mistura de equilíbrio de isômeros azalídeos, água e um ou mais ácidos, e métodos para a preparação de tais composições. As composições antibiáti- cas podem ser vantajosamente estabilizadas por adição de um ou mais co- solventes miscíveis em água. Em uma modalidade preferida, o um ou mais co-solventes é propilenoglicol



PI0017013-5

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "COMPOSIÇÕES DE ANTIBIÓTICO AZALÍDEO".

Bases da Invenção

Esta invenção refere-se a composições farmacêuticas compreendendo uma mistura de equilíbrio de isômeros de um composto antibiótico azalídeo e a métodos para a sua preparação. Esta invenção refere-se ainda a formas estabilizadas das composições supramencionadas e a métodos de as estabilizar. Esta invenção refere-se ainda a métodos para o tratamento de um mamífero compreendendo a administração a um mamífero necessitado de tal tratamento de uma composição farmacêutica da invenção.

Têm sido divulgados agentes antibióticos macrólidos ativos contra uma vasta variedade de infecções bacterianas e protozoárias em mamíferos, peixe e aves (ver, por exemplo, as Publicações de Patentes Internacionais WO 98/56802 e WO 99/12552). Estes compostos têm geralmente um anel de lactona macrocíclico de 12 a 22 átomos de carbono a qual estão ligadas uma ou mais porções de açúcar. Os antibióticos macrólidos atuam na subunidade ribossomal 50S para inibirem a síntese de proteínas em microorganismos. Exemplos de antibióticos macrólidos incluem lincomicina, azitromicina, que é um derivado da eritromicina A, e outros compostos azalídeos.

O desenvolvimento de composições farmacêuticas contendo compostos azalídeos como ingrediente ativo tem apresentado desafios significativos. Alguns azalídeos são capazes de isomerizarem em solução. Conseqüentemente, a produção de uma composição antibiótica reproduzível compreendendo um só isômero ou uma razão fixa de isômeros tem sido difícil. Em segundo lugar, uma composição contendo uma quantidade fixa de um isômero azalídeo particular pode variar ao longo do tempo. Em terceiro lugar, o anel de lactona e os açúcares de azalídeos são facilmente hidrolizados mesmo em ambientes de pH moderadamente ácido ou básico, diminuindo a potência e a durabilidade de armazenamento de uma composição antibiótica.

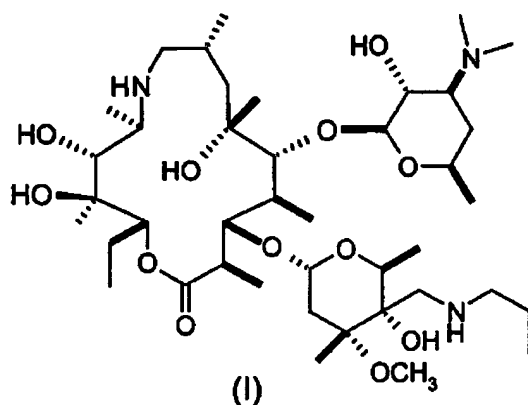
Conseqüentemente, é um objetivo da presente invenção propor-

cionar composições antibióticas, e métodos para as preparar, que ultrapassem as desvantagens anteriormente mencionadas.

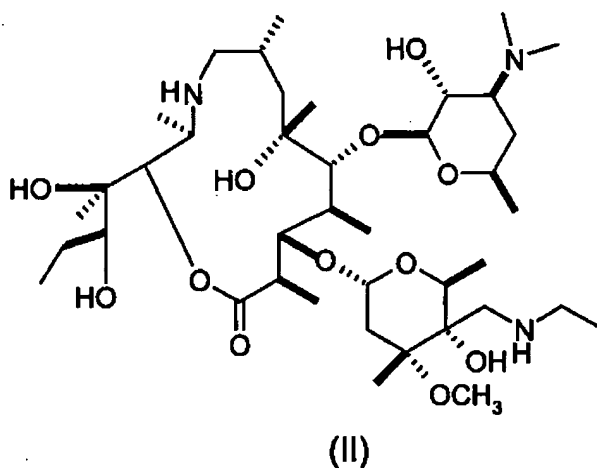
A citação de qualquer referência não deve aqui ser interpretada como indicador de que tal referência é técnica prévia à presente invenção.

5 Sumário da Invenção

Em uma primeira modalidade, a presente invenção refere-se a uma composição compreendendo: (a) o composto de fórmula I



e o composto de fórmula II:



em uma razão de cerca de $90\% \pm 4\%$ até cerca de $10\% \pm 4\%$, respectivamente; (b) água; e (c) um ou mais ácidos presentes em uma concentração total desde cerca de 0,2 mmol até cerca de 1,0 mmol por mL de composição.

A presente invenção refere-se a um método para obtenção de uma composição compreendendo: (a) o composto de fórmula I e o composto de fórmula II em uma razão de cerca de $90\% \pm 4\%$ até cerca de $10\% \pm 4\%$, respectivamente; (b) água; e (c) um ou mais ácidos presentes em uma con-

centração total desde cerca de 0,2 mmol até cerca de 1,0 mmol por mL de composição, compreendendo a etapa de aquecimento até uma temperatura de cerca de 50°C até cerca de 90°C de uma mistura compreendendo: (a) o composto de fórmula (I), (b) água, e (c) um ou mais ácidos em uma quantidade total variando desde cerca de 0,2 mmol até cerca de 1,0 mmol por mL da mistura. Em uma modalidade preferida, o pH da mistura varia desde cerca de 5,0 até cerca de 8,0, e mais preferencialmente, desde cerca de 5,0 até cerca de 6,0.

A presente invenção refere-se a um método para o tratamento de uma infecção bacteriana ou protozoária em um mamífero, compreendendo a administração a um mamífero necessitado de tal tratamento de uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma composição compreendendo: (a) o composto de fórmula I e o composto de fórmula II em uma razão de cerca de $90\% \pm 4\%$ até cerca de $10\% \pm 4\%$, respectivamente; (b) água; e (c) um ou mais ácidos presentes em uma concentração total desde cerca de 0,2 mmol até cerca de 1,0 mmol por mL de composição. Em uma modalidade preferida, o pH da mistura varia desde cerca de 5,0 até cerca de 8,0, e mais preferencialmente, desde cerca de 5,0 até cerca de 6,0. Em uma outra modalidade preferida, a infecção bacteriana ou protozoária é selecionada do grupo constituído por doença respiratória bovina, doença respiratória suína, pneumonia, coccidiose, anaplasiose e queratinite infecciosa.

A presente invenção refere-se a uma composição compreendendo: (a) uma mistura compreendendo: (i) o composto de fórmula (I) e o composto de fórmula (II) em uma razão de cerca de $90\% \pm 4\%$ até cerca de $10\% \pm 4\%$, respectivamente; (ii) água; e (iii) um ou mais ácidos presentes em uma concentração total desde cerca de 0,2 mmol até cerca de 1,0 mmol por mL da mistura; e (b) um ou mais co-solventes miscíveis em água presentes em uma quantidade total de desde cerca de 250 até cerca de 750 mg por mL de composição.

A presente invenção refere-se a um método para obtenção de uma composição compreendendo: (a) uma mistura compreendendo: (i) o composto de fórmula (I) e o composto de fórmula (II) em uma razão de cerca

de 90% $\pm$ 4% até cerca de 10% $\pm$ 4%, respectivamente; (ii) água; e (iii) um ou mais ácidos presentes em uma concentração total desde cerca de 0,2 mmol até cerca de 1,0 mmol por mL da mistura; e (b) um ou mais co-solventes miscíveis em água presentes em uma quantidade total de desde
5 cerca de 250 até cerca de 750 mg por mL de composição, compreendendo a etapa de adição à mistura de um ou mais co-solventes miscíveis em água em uma quantidade total de desde cerca de 250 até cerca de 750 mg por mL de composição.

A presente invenção refere-se também a um método para obtenção de uma composição compreendendo (a) uma primeira mistura compreendendo: (i) o composto de fórmula (I) e o composto de fórmula (II) em uma razão de cerca de 90% $\pm$ 4% até cerca de 10% $\pm$ 4%, respectivamente; (ii) água; e (iii) um ou mais ácidos presentes em uma concentração total desde cerca de 0,2 mmol até cerca de 1,0 mmol por mL da mistura; e (b) um
10 ou mais co-solventes miscíveis em água presentes em uma quantidade total de desde cerca de 250 até cerca de 750 mg por mL de composição, compreendendo a etapa de aquecimento até uma temperatura de cerca de 50°C até cerca de 90°C de uma mistura compreendendo o composto de fórmula (I), água e um ou mais ácidos em uma quantidade variando desde cerca de
15 0,2 mmol até cerca de 1,0 mmol por mL da mistura, em que um ou mais co-solventes miscíveis em água são adicionados antes, durante ou após a etapa de aquecimento, em uma quantidade desde cerca de 250 até cerca de 750 mg por mL de composição.

A presente invenção refere-se a um método para preservação da integridade estrutural do composto de fórmula I ou do composto de fórmula II compreendendo a etapa de formação de uma composição por adição de um ou mais co-solventes miscíveis em água a uma mistura compreendendo: (a) o composto de fórmula (I) e o composto de fórmula (II); (b) água; e (c) um ou mais ácidos presentes em uma quantidade total de desde cerca
25 de 0,2 mmol até cerca de 1,0 mmol por mL da mistura, sendo a quantidade adicionada de co-solvente miscível em água cerca de 250 até cerca de 750 mg por mL de composição.

A presente invenção refere-se a um método para o tratamento de uma infecção bacteriana ou protozoária em um mamífero, compreendendo a administração a um mamífero necessitado de tal tratamento de uma quantidade eficaz de uma composição compreendendo: (a) uma mistura compreendendo: (i) o composto de fórmula (I) e o composto de fórmula (II) em uma razão de cerca de $90\% \pm 4\%$ até cerca de $10\% \pm 4\%$, respectivamente; (ii) água; e (iii) um ou mais ácidos presentes em uma concentração total desde cerca de 0,2 mmol até cerca de 1,0 mmol por mL da mistura; e (b) um ou mais co-solventes miscíveis em água presentes em uma quantidade total de desde cerca de 250 até cerca de 750 mg por mL de composição.

Em uma modalidade das composições da invenção, o um ou mais ácidos são selecionados do grupo constituído por ácido acético, ácido benzenossulfônico, ácido cítrico, ácido bromídrico, ácido clorídrico, ácido láctico-D e -L, ácido metanossulfônico, ácido fosfórico, ácido succínico, ácido sulfúrico, ácido tartárico-D e -L, ácido p-toluenossulfônico, ácido adípico, ácido aspártico, ácido canforossulfônico, ácido 1,2-etanodissulfônico, ácido laurilsulfúrico, ácido gluco-heptônico, ácido glucônico, ácido 3-hidróxi-2-naftóico, ácido 1-hidróxi-2-naftóico, ácido 2-hidroxietanossulfônico, ácido málico, ácido múico, ácido nítrico, ácido naftalenossulfônico, ácido palmítico, ácido glucárico-D, ácido esteárico, ácido maléico, ácido malônico, ácido fumárico, ácido benzóico, ácido cólico, ácido etanossulfônico, ácido glucurônico, ácido glutâmico, ácido hipúrico, ácido lactobiônico, ácido lisínico, ácido mandélico, ácido napadisílico, ácido nicotínico, ácido poligalacturônico, ácido salicílico, ácido sulfossilicílico, ácido triptofânico, e misturas dos mesmos.

Em uma modalidade preferida das mesmas, o um ou mais ácidos é ácido cítrico. Em uma outra modalidade preferida das mesmas, o um ou mais ácidos são ácido cítrico e ácido clorídrico. Em uma modalidade mais preferida das mesmas, o ácido cítrico está presente em uma quantidade desde cerca de 0,02 mmol até cerca de 0,3 mmol por mL de composição e o ácido clorídrico está presente em uma quantidade suficiente para se alcançar um pH da composição de cerca de 5 até cerca de 6.

Em uma modalidade das composições da invenção, o um ou mais co-solventes miscíveis em água são selecionados do grupo constituído por etanol, isopropanol, éter monometílico de dietilenoglicol, éter butílico de dietilenoglicol, éter monoetílico de dietilenoglicol, éter dibutílico de dietilenoglicol, polietilenoglicol-300, polietilenoglicol-400, propilenoglicol, glicerina, 2-pirrolidona, N-metil 2-pirrolidona, glicerol formal, sulfóxido de dimetila, sebecato de dibutila, polisorbato 80, e misturas dos mesmos.

Em uma modalidade das mesmas, o um ou mais co-solventes miscíveis em água é propilenoglicol. Em uma modalidade preferida das mesmas, o propilenoglicol está presente em uma quantidade desde cerca de 450 até cerca de 550 mg por mL de composição.

Em uma modalidade das composições da invenção, a composição compreende ainda um ou mais antioxidantes presentes em uma quantidade desde cerca de 0,01 mg até cerca de 10 mg por mL de composição.

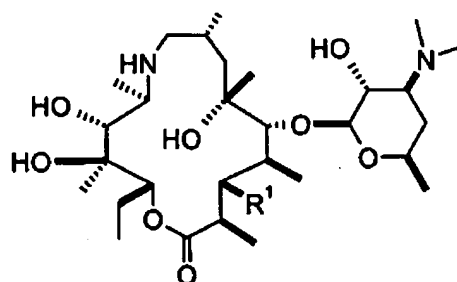
Em uma modalidade preferida das mesmas, o um ou mais antioxidantes é selecionado do grupo constituído por bissulfito de sódio, sulfito de sódio, metabissulfito de sódio, tiosulfato de sódio, formaldeído sulfoxilato de sódio, ácido ascórbico-L, ácido eritórbico, acetilcisteína, cisteína, monotioglicerol, ácido tioglicólico, ácido tioláctico, tiouréia, ditiotreitól, ditioeritreitól, glutatona, palmitato de ascorbila, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, ácido nordihidroguaiarético, galato de propila, α -tocoferol, e misturas dos mesmos. Em uma modalidade mais preferida das mesmas, o um ou mais antioxidantes é monotioglicerol. Em uma modalidade especialmente preferida das mesmas, o monotioglicerol está presente em uma quantidade desde cerca de 4 mg/mL até cerca de 6 mg/mL da composição.

Em uma modalidade das composições da invenção a concentração da primeira mistura (de composto I e composto II) na composição varia desde cerca de 50 mg/mL até cerca de 200 mg/mL. Em uma modalidade preferida das mesmas, a concentração da primeira mistura na composição varia desde cerca de 90 mg/mL até cerca de 110 mg/mL.

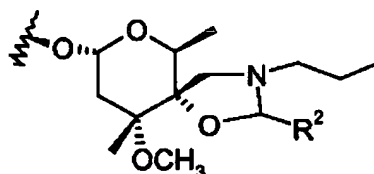
Em uma modalidade especialmente preferida da composição desta invenção, o ácido cítrico está presente em uma quantidade desde

- cerca de 0,02 mmol até cerca de 0,3 mmol por mL de composição e o ácido clorídrico está presente em uma quantidade suficiente para se alcançar um pH da composição de cerca de 5 até cerca de 6; em que o propilenoglicol está presente em uma quantidade desde cerca de 450 até cerca de 550 mg por mL de composição; e em que o monotiglicerol está presente em uma
- 5 quantidade desde cerca de 4 mg/mL até cerca de 6 mg/mL da composição.

Esta invenção refere-se também a um composto de fórmula:



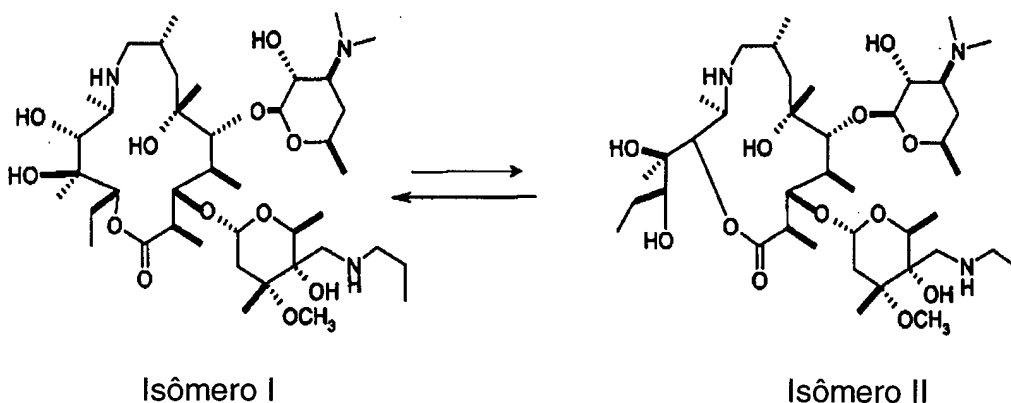
ou a um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo;
em que R^1 é OH ou



- 10 e em que R^2 é H ou CH^3 .

A presente invenção pode ser compreendida mais integralmente por referência à descrição detalhada e aos exemplos ilustrativos que se pretende que sirvam para exemplificar e não para limitar as modalidades da invenção.

15 Descrição Detalhada da Invenção



A presente invenção refere-se a composições farmacêuticas compreendendo isômero I e isômero II (coletivamente os "isômeros azalídeos") em uma razão de cerca de 90% $\pm$ 4% até cerca de 10% $\pm$ 4%. O nome químico do isômero I é (2R,3S,4R,5R,8R,10R,11R,12S,13S,14R)-13-
5 ((2,6-dideóxi-3-C-metil-3-O-metil-4-C-((propilamino)-metil)- α -L-ribo-hexopiranosil)óxi-2-etil-3,4,10-trihidróxi-3,5,8,10,12,14-hexametil-11-((3,4,6-trideóxi-3-(dimetilamino)- β -D-xilo-hexopiranosil)óxi)-1-oxa-6-azaciclopentadecan-15-ona. O nome químico do isômero II é (3R,6R,8R,9R,10S,11S,12R)-11-((2,6-dideóxi-3-C-metil-3-O-metil-4-C-((propilamino)-metil- α -L-ribo-hexopiranosil)
10 óxi)-2-((1R,2R)-1,2-dihidróxi-1-metilbutil)-8-hidróxi-3,6,8,10,12-pentametil-9-((3,4,6-trideóxi-3-(dimetilamino)- β -D-xilo-hexopiranosil)óxi)-1-oxa-4-azaciclotridecan-13-ona. O isômero I pode ser formado a partir de uma reação de translactonização do isômero II. Do mesmo modo, o isômero II pode ser formado a partir de uma reação de translactonização do isômero I. Métodos
15 para obtenção do isômero I são divulgados na Publicação Internacional n° WO 98/56802, aqui incorporada por referência. Métodos para obtenção do isômero II são revelados no Exemplo 1, abaixo. Os isômeros azalídeos são agentes antibióticos ativos. Sem estar limitada por qualquer teoria, a invenção baseia-se em parte na surpreendente descoberta dos Requerentes de
20 que uma composição compreendendo o isômero I e o isômero II em uma razão de cerca de 90% $\pm$ 4% até cerca de 10% $\pm$ 4% pode ser rapidamente obtida utilizando-se os métodos aqui revelados independentemente da razão de partida dos isômeros azalídeos. Embora não estando absolutamente certos, os Requerentes crêem que a razão de cerca de 90% $\pm$ 4% até cerca
25 de 10% $\pm$ 4% de isômero I e isômero II constitui uma mistura de equilíbrio dos isômeros azalídeos. Por consequência, o termo "mistura de equilíbrio de isômeros" da forma como é aqui utilizado refere-se a uma mistura de isômero I e isômero II em uma razão de cerca de 90% $\pm$ 4% até cerca de 10% $\pm$ 4%, respectivamente. Uma composição antibiótica compreendendo a mistu-
30 ra de equilíbrio de isômeros pode ser produzida consistentemente e proporciona um padrão para teste ou para uso do consumidor. Assim, uma composição compreendendo a mistura de equilíbrio de isômeros é altamente desejável.

A presente invenção refere-se ainda a um método para preparação de uma composição compreendendo uma mistura de equilíbrio de isômeros. Em uma modalidade, a mistura de equilíbrio de isômeros é obtida a partir de uma solução de isômero I substancialmente puro. Por "substancialmente puro", da forma como é aqui utilizado, salvo indicação em contrário, quer-se dizer que tem uma pureza de pelo menos 97%. Em uma outra modalidade, a mistura de equilíbrio de isômeros é obtida a partir de uma solução compreendendo uma mistura de isômero I e isômero II. Em geral, uma mistura de equilíbrio de isômeros é gerada por aquecimento de uma solução em água de isômero I, preferencialmente isômero I substancialmente puro, ou uma mistura de isômero I e isômero II, na presença de um ou mais ácidos. Em uma modalidade preferida, uma solução em água de isômero I e um ou mais ácidos é aquecida até uma temperatura entre cerca de 50°C e cerca de 90°C, preferencialmente cerca de 60°C até cerca de 80°C, durante cerca de 0,5 até cerca de 24 horas, preferencialmente cerca de 1 até cerca de 10 horas, a um pH de cerca de 5,0 até cerca de 8,0, preferencialmente cerca de 6,0 até cerca de 8,0. Mais preferencialmente, uma solução de isômero I e isômero II é aquecida até uma temperatura entre cerca de 65°C e cerca de 75°C durante cerca de 1 até cerca de 8 horas a um pH de cerca de 6,5 até cerca de 7,5 na presença de um ou mais ácidos. A concentração de isômero I ou da mistura de isômero I e isômero II a ser equilibrada pode variar desde cerca de 50 mg/mL até cerca de 500 mg/mL, mais preferencialmente desde cerca de 100 mg/mL até cerca de 300 mg/mL, e o mais preferível desde cerca de 225 mg/mL até cerca de 275 mg/mL de solução.

Ácidos adequados úteis para se obter a mistura de equilíbrio de isômeros incluem, mas não estão limitados a, ácido acético, ácido benzenossulfônico, ácido cítrico, ácido bromídrico, ácido clorídrico, ácido láctico-D e -L, ácido metanossulfônico, ácido fosfórico, ácido succínico, ácido sulfúrico, ácido tartárico-D e -L, ácido p-toluenossulfônico, ácido adípico, ácido aspártico, ácido canforossulfônico, ácido 1,2-etanodissulfônico, ácido laurilsulfúrico, ácido gluco-heptônico, ácido glucônico, ácido 3-hidróxi-2-naftóico, ácido 1-hidróxi-2-naftóico, ácido 2-hidroxietanossulfônico, ácido málico, áci-

do mícico, ácido nítrico, ácido naftalenossulfônico, ácido palmítico, ácido glucárico-D, ácido esteárico, ácido maléico, ácido malônico, ácido fumárico, ácido benzóico, ácido cólico, ácido etanossulfônico, ácido glucurônico, ácido glutâmico, ácido hipúrico, ácido lactobiônico, ácido lisínico, ácido mandélico, ácido napadisílico, ácido nicotínico, ácido poligalacturônico, ácido salicílico, ácido sulfossalicílico, ácido triptofânico e misturas dos mesmos. Preferencialmente, o um ou mais ácidos são ácido cítrico e clorídrico. Quando presente, o ácido cítrico está presente em uma concentração desde cerca de 0,02 mmol até cerca de 0,3 mmol por mL de solução. Em uma modalidade, é utilizada uma concentração de ácido de desde cerca de 0,2 mmol até cerca de 1,0 mmol por mL de solução. Sem estarem ligados por qualquer teoria, os Requerentes crêem que o sal formado da adição de um ácido a uma solução de isômero I exerce um efeito tamponante, porque os isômeros azalídeos atuam eles próprios como uma base. Os versados na técnica reconhecerão que a quantidade de ácido requerida para um pH desejado variará de acordo com o ácido utilizado, e que, com o fim de se manter um pH dentro da faixa desejada, pode ser adicionado um ácido e/ou uma base adicional à solução de ácido e isômero I, ou mistura de isômero I e isômero II. Bases adequadas incluem, mas não estão limitadas a, hidróxidos e carbonatos de metais alcalinos, bicarbonatos de metais alcalinos, e hidróxidos e carbonatos de metais alcalino-terrosos. Hidróxido de sódio e hidróxido de potássio são preferidos. Os ácidos e bases acima descritos são convenientemente utilizados na forma das suas soluções aquosas.

Composições compreendendo a mistura de equilíbrio de isômeros (as "composições equilibradas") são úteis para o tratamento de uma infecção bacteriana ou protozoária em um mamífero. As composições equilibradas são também úteis como intermediárias para a formação de composições estabilizadas, equilibradas.

A presente invenção refere-se ainda a composições estabilizadas, equilibradas e a métodos de as estabilizar compreendendo a diluição de composições equilibradas com um ou mais solventes orgânicos miscíveis em água ("co-solvente"). O co-solvente não afeta significativamente a razão

de isômero I e isômero II nas composições equilibradas, e de fato preserva a sua integridade estrutural. "Preservação da integridade estrutural" do isômero I ou isômero II da forma como é aqui utilizada, inclui, mas não está limitada a, retardação da sua taxa de hidrólise para, por exemplo, azalídeo de descladinose, e retardação da sua taxa de formação de subproduto de, por exemplo, um produto de inserção de formaldeído e de acetaldeído, definidos abaixo. Sem estarem ligados por qualquer teoria, os Requerentes crêem que a diluição com co-solvente melhora a estabilidade dos isômeros azalídeos. Além disso, devido à presença de co-solvente, qualquer dor experimentada por injeção das composições estabilizadas, equilibradas pode ser menor do que a experimentada pela injeção de uma composição equilibrada não tão estabilizada. Co-solventes úteis para estabilização das composições equilibradas incluem, mas não estão limitados a, álcoois tais como etanol e isopropanol; éteres de glicol tais como éter monometílico de dietilenoglicol, éter butílico de dietilenoglicol, éter monoetílico de dietilenoglicol e éter dibutílico de dietilenoglicol; polietilenoglicóis tais como polietilenoglicol-300 e polietilenoglicol-400; glicóis tais como propilenoglicol ("PG") e glicerina; pirrolidonas tais como 2-pirrolidona e N-metil 2-pirrolidona; glicerol formal; sulfóxido de dimetila; sebecato de dibutila; ésteres de polioxietileno sorbitan tal como polisorbato 80; e misturas dos mesmos. Preferencialmente, co-solventes úteis para estabilização das composições equilibradas em soluções injetáveis incluem, mas não estão limitados a, etanol, polietilenoglicóis tais como polietilenoglicol-300 e polietilenoglicol-400, glicóis tais como propilenoglicol e glicerina, pirrolidonas tais como 2-pirrolidona e N-metil 2-pirrolidona, glicerol formal, sulfóxido de dimetila, ésteres de polioxietileno sorbitan tal como polisorbato 80, e misturas dos mesmos, mais preferencialmente, glicerol formal, N-metil 2-pirrolidona e propilenoglicol, e o mais preferível, propilenoglicol. Em uma modalidade, é utilizado o co-solvente em uma quantidade de cerca de 250 até cerca de 750 mg por mL das composições farmacêuticas para as estabilizar. Em uma modalidade preferida, são utilizadas cerca de 400 até cerca de 600 mg de co-solvente por mL das composições farmacêuticas. Em uma modalidade mais preferi-

da, são utilizadas cerca de 450 até cerca de 550 mg de co-solvente por mL das composições farmacêuticas.

Em uma modalidade, são adicionados um ou mais co-solventes ao isômero I ou a uma mistura de isômero I e isômero II antes da equilibração. Neste caso, a mistura resultante é aquecida até uma temperatura entre
5 cerca de 50°C até cerca de 90°C, preferencialmente cerca de 60°C até cerca de 80°C, durante cerca de 0,5 até cerca de 24 horas, preferencialmente durante cerca de 1 até cerca de 10 horas, a um pH de cerca de 5,0 até cerca de 8,0, preferencialmente a um pH de cerca de 6,0 até cerca de 8,0. Em
10 uma modalidade preferida, o equilíbrio dos isômeros azalídeos é realizado na ausência de co-solvente, o qual é adicionado às composições equilibradas após terem sido arrefecidas até cerca da temperatura ambiente.

Após adição do co-solvente, o pH da solução resultante pode ser novamente ajustado para se melhorar ainda mais a estabilidade da
15 composição. O pH é ajustado através de métodos conhecidos dos versados na técnica, tais como por exemplo por adição de uma quantidade de ácido ou base anteriormente descritos, por exemplo, como uma solução armazenada a 10% (p/p), e medindo-se o pH da solução resultante utilizando-se, por exemplo, um medidor de pH. Em uma modalidade, o pH da solução re-
20 sultante, se necessário, é ajustado para cerca de 4,5 até cerca de 7,5, preferencialmente cerca de 5,0 até cerca de 6,0, o mais preferível, cerca de 5,2 até cerca de 5,6.

A presente invenção refere-se ainda a composições farmacêuticas compreendendo uma mistura de equilíbrio de isômeros, água, um ou
25 mais ácidos e um ou mais co-solventes miscíveis em água. A quantidade de isômeros azalídeos nas composições farmacêuticas varia desde cerca de 50 mg de isômeros azalídeos por mL de composição farmacêutica até cerca de 200 mg de isômeros azalídeos por mL de composição farmacêutica. Preferencialmente, as composições farmacêuticas compreendem desde cerca de
30 75 mg até cerca de 150 mg, mais preferencialmente, desde cerca de 90 até cerca de 110 mg, de isômeros azalídeos por mL de composição farmacêutica.

As composições farmacêuticas podem ainda compreender um ou mais antioxidantes. Os antioxidantes retardam a taxa de ou previnem o colapso oxidativo das composições farmacêuticas. Antioxidantes adequados incluem, mas não estão limitados a, bissulfito de sódio, sulfito de sódio, metabissulfito de sódio, tiosulfato de sódio, formaldeído sulfoxilato de sódio, ácido ascórbico-L, ácido eritórbico, acetilcisteína, cisteína, monotioglicerol ("MTG"), ácido tioglicólico, ácido tioláctico, tiouréia, ditiotreitól, ditioeritreitol, glutatona, palmitato de ascorbila, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, ácido nordihidroguaiarético, galato de propila, α -tocoferol e misturas dos mesmos. Os versados na técnica reconhecerão que a quantidade de antioxidante variará de acordo com o antioxidante utilizado. Em uma modalidade preferida, o antioxidante, quando presente, está presente em uma quantidade desde cerca de 0,01 mg até cerca de 10 mg por mL de composição farmacêutica. Em uma modalidade mais preferida, o antioxidante é monotioglicerol e está presente em uma quantidade desde cerca de 1 mg até cerca de 8 mg por mL de composição farmacêutica. Em uma modalidade preferível, o antioxidante é monotioglicerol e está presente em uma quantidade desde cerca de 4 mg até cerca de 6 mg por mL de composição farmacêutica.

As composições farmacêuticas compreendem opcionalmente um ou mais conservantes. Os conservantes são úteis para retardarem a taxa de ou prevenirem a proliferação de microorganismos, particularmente quando as composições farmacêuticas são expostas ao ar. Conservantes úteis são: eficazes contra um largo espectro de microorganismos; fisicamente, quimicamente e microbiologicamente estáveis durante o tempo de vida das composições farmacêuticas; não tóxicos; adequadamente solúveis; compatíveis com outros componentes da composição; e aceitáveis com respeito ao paladar e odor. Conservantes adequados incluem, mas não estão limitados a, cloreto de benzalcônio, cloreto de benzetônio, ácido benzoico, álcool benzílico, metilparaben, etilparaben, propilparaben, butilparaben, benzoato de sódio, fenol e misturas dos mesmos. Em uma modalidade preferida, o um ou mais conservantes são selecionados do grupo constituído por álcool benzíli-

co, metilparaben, propilparaben, uma combinação metilparaben/propilparaben e fenol. Quando presentes, o um ou mais conservantes estão presentes em uma quantidade desde cerca de 0,01 até cerca de 10 mg por mL das composições farmacêuticas. Preferencialmente, o um ou mais conservantes é fenol e está presente em uma quantidade desde cerca de 2,0 até cerca de 5,0 mg por mL, mais preferencialmente, desde cerca de 2,0 até cerca de 3,0 mg por mL, das composições farmacêuticas. Um versado na técnica reconhecerá que a quantidade de conservante a ser utilizada nas presentes composições dependerá do conservante escolhido, e que alguns conservantes podem ser utilizados a concentrações menores, até mesmo menores do que cerca de 0,01 mg por mL das composições farmacêuticas.

Em uma modalidade preferida, as composições farmacêuticas da invenção têm um pH desde cerca de 5,0 até cerca de 7,0 e compreendem: (1) uma mistura de equilíbrio de isômeros presente em uma quantidade desde cerca de 50 mg até cerca de 200 mg por mL de composição farmacêutica; (2) ácido cítrico presente em uma concentração desde cerca de 0,02 mmol até cerca de 0,3 mmol por mL de composição farmacêutica e, opcionalmente, uma quantidade de ácido clorídrico eficaz para se alcançar a faixa de pH; (3) propilenoglicol, presente em uma quantidade desde cerca de 250 até cerca de 750 mg por mL de composição farmacêutica; (4) monoglicerol, presente em uma quantidade desde cerca de 1 mg até cerca de 15 mg por mL de composição farmacêutica; e (5) água, presente em uma quantidade desde cerca de 100 até cerca de 750 mg por mL de composição farmacêutica.

Em uma modalidade mais preferida, as composições farmacêuticas da invenção têm um pH desde cerca de 5,0 até cerca de 6,0 e compreendem: (1) uma mistura de equilíbrio de isômeros presente em uma quantidade desde cerca de 75 mg até cerca de 150 mg por mL de composição farmacêutica; (2) ácido cítrico presente em uma quantidade desde cerca de 0,05 mmol até cerca de 0,15 mmol por mL de composição farmacêutica e, opcionalmente, uma quantidade de ácido clorídrico eficaz para se alcançar a faixa de pH; (3) propilenoglicol, presente em uma quantidade desde cerca

de 400 até cerca de 600 mg por mL de composição farmacêutica; (4) monotioglicerol, presente em uma quantidade desde cerca de 1 mg até cerca de 8 mg por mL de composição farmacêutica; e (5) água, presente em uma quantidade desde cerca de 250 até cerca de 550 mg por mL de composição farmacêutica.

Em uma modalidade preferida, as composições farmacêuticas da invenção têm um pH desde cerca de 5,2 até cerca de 5,6 e compreendem: (1) uma mistura de equilíbrio de isômeros presente em uma quantidade desde cerca de 90 mg até cerca de 110 mg por mL de composição farmacêutica; (2) ácido cítrico presente em uma quantidade desde cerca de 0,075 mmol até cerca de 0,125 mmol por mL de composição farmacêutica, e uma quantidade de ácido clorídrico eficaz para se alcançar a faixa de pH; (3) propilenoglicol, presente em uma quantidade desde cerca de 450 até cerca de 550 mg por mL de composição farmacêutica; (4) monotioglicerol, presente em uma quantidade desde cerca de 4 mg até cerca de 6 mg por mL de composição farmacêutica; e (5) água, presente em uma quantidade desde cerca de 300 até cerca de 500 mg por mL de composição farmacêutica.

As composições farmacêuticas podem ser preparadas da forma que se segue. Os reagentes são adicionados em um vaso encamisado com revestimento de aço inoxidável ou de vidro com cobertura de nitrogênio opcional. É adicionada Água para Injeção ao vaso reacional e começa-se a agitação. Cada componente adicional é adicionado enquanto a mistura é continuamente agitada. É adicionado ácido em uma concentração de cerca de 0,02 mmol até cerca de 0,5 mmol por mL de água e deixa-se dissolver. É opcionalmente adicionada uma solução aquosa de um ácido, por exemplo, uma solução aquosa a 10% (p/p) de ácido clorídrico, para se ajustar o pH para uma faixa desejada e mistura-se a solução. Nesta altura, adiciona-se lentamente o isômero I, ou uma mistura de isômero I e isômero II, à mistura de água e ácido e em pequenas quantidades para se evitar o amontoar. Deixa-se o isômero I, ou uma mistura de isômero I e isômero II, dissolver-se e mede-se o pH da solução resultante. Em uma modalidade, a concentração de isômero I ou da mistura de isômero I e isômero II é desde cerca de 50 mg

até cerca de 500 mg por mL, preferencialmente desde cerca de 100 mg até cerca de 300 mg por mL, e o mais preferível desde cerca de 225 até cerca de 275 mg por mL, da solução resultante. A solução é em seguida aquecida até uma temperatura de cerca de $70^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$ e é mantida a esta temperatura até se obter uma mistura de equilíbrio de isômeros. Métodos para a determinação de ter sido obtida uma mistura de equilíbrio de isômeros incluem cromatografia gel, cromatografia em camada fina e cromatografia líquida de elevado desempenho. Geralmente, utilizando-se as condições aqui descritas, obtém-se uma mistura de equilíbrio de isômeros em aproximadamente 1 até cerca de 8 horas. Uma vez a mistura de equilíbrio de isômeros obtida, a solução resultante é resfriada até cerca de $25^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$. Esta solução pode ser utilizada como uma composição farmacêutica. Preferencialmente, é adicionado co-solvente em uma quantidade desde cerca de 250 até cerca de 750 mg por mL de composição farmacêutica. É opcionalmente adicionado antioxidante em uma quantidade desde cerca de 0,01 mg até cerca de 10 mg por mL de composição farmacêutica. Se presente, o conservante é adicionado em uma quantidade desde cerca de 0,01 mg até cerca de 10 mg por mL de composição farmacêutica, e o pH é ajustado para cerca de 5,0 até cerca de 8,0, preferencialmente para cerca de 5,0 até cerca de 6,0, por adição de ácido e/ou base, por exemplo, como uma solução aquosa a 10% (p/p) ou em forma sólida. A mistura resultante é diluída para um volume desejado. Em uma modalidade, a concentração final da mistura de equilíbrio de isômeros é cerca de 50 mg até cerca de 200 mg, preferencialmente cerca de 75 mg até cerca de 150 mg, e o mais preferível cerca de 90 mg até cerca de 110 mg por mL de composição farmacêutica resultante.

As composições resultantes são preferencialmente esterilizadas, por exemplo, passando-se as composições através de um pré-filtro, por exemplo, um filtro de 5-10 microns e em seguida através de um filtro de esterilização final de 0,2 micron que tenha sido previamente esterilizado. O filtro de esterilização é esterilizado por autoclavagem com calor úmido durante 60 minutos a 121°C , e é testado quanto a sua integridade utilizando-se um método em que se mantém a pressão antes de esterilização e após a

filtração do produto. A solução estéril é adicionada a recipientes adequados, por exemplo, frascos de vidro, que são esterilizados e depirogenados a 250°C durante 240 minutos em um túnel de calor seco. O espaço no topo do recipiente é limpo com um gás inerte, por exemplo, árgon ou preferencialmente, nitrogênio. Os recipientes são encapsulados com tampas que são depirogenadas por lavagem e esterilizadas por autoclavagem com calor úmido durante 60 minutos a 121°C. Os recipientes são em seguida selados. Os versados na técnica reconhecerão que podem ser utilizadas modificações menores às anteriores para se prepararem composições estéreis.

10 A presente invenção refere-se ainda a métodos para o tratamento de um mamífero, compreendendo a administração a um mamífero necessitado de tal tratamento de uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma composição farmacêutica da invenção. As composições farmacêuticas da invenção podem ser utilizadas para o tratamento de infecções por

15 bactérias gram-positivas, bactérias gram-negativas, protozoários e micoplasma, incluindo, mas não estando limitadas a, espécies *Actinobacillus pleuropneumonia*, *Pasteurella multocida*, *Pasteurella haemolytica*, *H. parasuis*, *B. bronchiseptica*, *S. choleraesuis*, *S. pilosus*, *Moraxella bovis*, *H. somnus*, *M. bovis*, *Eimeria zuernii*, *Eimeria bovis*, *A. marginale*, *M. hyopneumoniae*,

20 *Lawsonia intracellularis*, e espécies *staphylococcus*, *salmonella*, *chlamydia*, *coccidia*, *cryptosporidia*, *E. coli*, *haemophilus*, *neospora* e *streptococcus*.

O termo "tratamento", da forma como é aqui utilizado, salvo indicação em contrário, inclui o tratamento ou prevenção de uma infecção bacteriana ou de uma infecção protozoária conforme estabelecido no método da presente invenção.

Da forma como são aqui utilizados, salvo indicação em contrário, os termos "infecção(ões) bacteriana(s)" e "infecção(ões) protozoária(s)" incluem infecções bacterianas e infecções protozoárias que ocorrem em mamíferos, peixes e aves bem como distúrbios relacionados com infecções bacterianas e infecções protozoárias que possam ser tratadas ou prevenidas por administração de antibióticos tais como os compostos da presente invenção. Tais infecções bacterianas e infecções protozoárias, e distúrbios

relacionados com tais infecções, incluem as seguintes: pneumonia, otite média, sinusite, bronquite, tonsilite e mastoidite relacionadas com infecção por *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Staphylococcus aureus* ou *Peptostreptococcus* spp.; faringite, febre reumática e glomérulo-nefrite relacionadas com infecção por *Streptococcus pyogenes*, estreptococos dos Grupos C e G, *Clostridium diphtheriae* ou *Actinobacillus haemolyticum*; infecções do trato respiratório relacionadas com infecção por *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* ou *Chlamydia pneumoniae*;

10 infecções não complicadas da pele e de tecido mole, abscessos e osteomielite, e febre puerperal relacionadas com infecção por *Staphylococcus aureus*, estafilococos positivos à coagulase (isto é, *S. epidermidis*, *S. hemolyticus*, etc.), *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, grupos estreptocócicos C-F (estreptococos colônia-minuto), estreptococos viridans, *Corynebacterium minutissimum*, *Clostridium* spp. ou *Bartonella henselae*;

15 infecções agudas não complicadas do trato urinário relacionadas com infecção por *Staphylococcus saprophyticus* ou *Enterococcus* spp.; uretrite e cervicite; e doenças transmitidas sexualmente relacionadas com infecção por *Chlamydia trachomatis*, *Haemophilus ducreyi*, *Treponema pallidum*, *Ureaplasma urealyticum* ou *Neisseria gonorrhoeae*; doenças de toxinas relacionadas com infecção por *S. aureus* (intoxicação alimentar e síndrome de choque Tóxico), ou estreptococos dos Grupos A, B e C; úlceras relacionadas com infecção por *Helicobacter pylori*; síndromes febris sistêmicos relacionados com infecção por *Borrelia recurrentis*; doença de Lyme relacionada com

25 infecção por *Borrelia burgdorferi*; conjuntivite, ceratite e dacrocistite relacionadas com infecção por *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *H. influenzae* ou *Listeria* spp.; doença disseminada provocada pelo complexo *Mycobacterium avium* (MAC) relacionada com infecção por *Mycobacterium avium* ou *Mycobacterium intracellulare*;

30 gastroenterite relacionada com infecção por *Campylobacter jejuni*; protozoários intestinais relacionados com infecção por *Cryptosporidium* spp.; infecção odontogênica relacionada com infecção por estreptococos

viridans; tosse persistente relacionada com infecção por *Bordetella pertussis*; gangrena gasosa relacionada com infecção por *Clostridium perfringens* ou *Bacteroides* spp.; e aterosclerose relacionada com infecção por *Helicobacter pylori* ou *Chlamydia pneumoniae*. Infecções bacterianas e infecções protozoárias e distúrbios relacionados com tais infecções que podem ser tratados ou prevenidos em animais incluem os seguintes: doença respiratória bovina relacionada com infecção por *P. haem.*, *P. multocida*, *Mycoplasma bovis* ou *Bordetella* spp.; doença entérica da vaca relacionada com infecção por *E. coli* ou protozoários (isto é, coccidia, cryptosporidia, etc.); mastite de vacas leiteiras relacionada com infecção por *Staph. aureus*, *Strep. uberis*, *Strep. agalactiae*, *Strep. dysgalactiae*, *Klebsiella* spp., *Corynebacterium* ou *Enterococcus* spp.; doença respiratória suína relacionada com infecção por *A. pleuro.*, *P. multocida* ou *Mycoplasma* spp.; doença entérica suína relacionada com infecção por *E. coli*, *Lawsonia intracellularis*, *Salmonella* ou *Serpulina hyodysenteriae*; peeira da vaca relacionada com infecção por *Fusobacterium* spp.; metrite da vaca relacionada com infecção por *E. coli*; decomposição do pé das vacas relacionadas com infecção por *Fusobacterium necrophorum* ou *Bacteroides nodosus*; conjuntivite aguda epidêmica da vaca relacionado com infecção por *Moraxella bovis*; aborto prematuro da vaca relacionado com infecção por protozoários (isto é neosporium); infecção do trato urinário em cães e gatos relacionada com infecção por *E. coli*; infecções da pele e de tecido mole em cães e gatos relacionadas com infecção por *Staph. epidermidis*, *Staph. intermedius*, *coagulase neg. Staph.* ou *P. multocida*; e infecções dentárias ou da boca em cães e gatos relacionadas com infecção por *Alcaligenes* spp., *Bacteroides* spp., *Clostridium* spp., *Enterobacter* spp., *Eubacterium*, *Peptostreptococcus*, *Porphyromonas* ou *Prevotella*. Outras infecções bacterianas e infecções protozoárias e distúrbios relacionados com tais infecções que podem ser tratados ou prevenidos de acordo com o método da presente invenção são referidos em J. P. Sanford et al., "The Sanford Guide To Antimicrobial Therapy", 26ª Edição, (Antimicrobial Therapy, Inc., 1996).

A atividade antibacteriana e antiprotozoária dos compostos da

presente invenção contra agentes patogênicos bacterianos e protozoários é demonstrada pela capacidade dos compostos para inibirem o crescimento de cepas definidas de agentes patogênicos humanos ou animais.

Ensaio I

5 O Ensaio I, abaixo descrito, emprega metodologia e critérios de interpretação convencionais e é planejado para proporcionar direção para modificações químicas que possam conduzir a compostos que envolvam os mecanismos definidos de resistência a macrólido. No Ensaio I, é montado um painel de cepas bacterianas para incluir uma variedade de espécies

10 patogênicas alvo, incluindo representativas de mecanismos de resistência a macrólido que têm sido caracterizadas. A utilização deste painel permite a determinação da relação estrutura química/atividade relativamente à potência, espectro de atividade e elementos ou modificações estruturais que possam ser necessários para se obviarem os mecanismos de resistência. Os

15 agentes patogênicos bacterianos que compreendem o painel de rastreio estão ilustrados na tabela abaixo. Em muitos casos, estão disponíveis a cepa mãe susceptível de macrólido e a cepa resistente a macrólido derivada daquela para se proporcionar uma avaliação mais precisa da capacidade dos compostos para envolverem o mecanismo de resistência. Cepas que

20 contêm o gene com a designação de *ermA/ermB/ermC* são resistentes a antibióticos macrólidos, lincosamidas e estreptogramina B devido a modificações (metilação) de moléculas 23S rRNA por uma metilase Erm, prevenindo assim geralmente a ligação de todas as três classes estruturais. Têm sido descritos dois tipos de efluxo de macrólido; *msrA* codifica um componente de um sistema de efluxo em estafilococos que previne a entrada de macrólidos e estreptograminas enquanto *mefA/E* codifica uma proteína de

25 transmembrana que parece efluir apenas macrólidos. A desativação de antibióticos macrólidos pode ocorrer e pode ser mediada quer por uma fosforilação do 2N-hidroxila (*mph*), quer por clivagem da lactona macrocíclica (estearase). As cepas podem ser caracterizadas utilizando-se a tecnologia

30 de reação de cadeia de polimerase convencional (PCR) e/ou por análise de sequência da resistência determinante. O uso da tecnologia PCR nesta

- aplicação é descrito em J. Sutcliffe *et al.*, "Detection Of Erythromycin-Resistant Determinants By PCR", Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 40(11), 2562-2566 (1996). O ensaio é realizado em placas de microtitulação e é interpretado em conformidade com Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests – Sexta Edição; Padrão Aprovado, publicado pelos princípios orientadores de The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS); a concentração inibitória mínima (MIC) é utilizada para se compararem cepas. A mistura de equilíbrio de isômeros azalídeos é inicialmente dissolvida em dimetilsulfóxido (DMSO) como uma solução de reserva a 40 mg/ml.

Designação da Cepa	Mecanismo(s) de Resistência a Macrólide
<i>Staphylococcus aureus</i> 1116	mãe susceptível
<i>Staphylococcus aureus</i> 1117	<i>ermB</i>
<i>Staphylococcus aureus</i> 0052	mãe susceptível
<i>Staphylococcus aureus</i> 1120	<i>ermC</i>
<i>Staphylococcus aureus</i> 1032	<i>msrA</i> , <i>mph</i> , esterase
<i>Staphylococcus hemolyticus</i> 1006	<i>msrA</i> , <i>mph</i>
<i>Streptococcus pyogenes</i> 0203	mãe susceptível
<i>Streptococcus pyogenes</i> 1079	<i>ermB</i>
<i>Streptococcus pyogenes</i> 1062	mãe susceptível
<i>Streptococcus pyogenes</i> 1061	<i>ermB</i>
<i>Streptococcus pyogenes</i> 1064	<i>ermB</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i> 1024	mãe susceptível
<i>Streptococcus agalactiae</i> 1023	<i>ErmB</i>
<i>Streptococcus pneumoniae</i> 1016	susceptível
<i>Streptococcus pneumoniae</i> 1046	<i>ermB</i>
<i>Streptococcus pneumoniae</i> 1095	<i>ermB</i>
<i>Streptococcus pneumoniae</i> 1175	<i>mefE</i>
<i>Streptococcus pneumoniae</i> 0085	susceptível
<i>Haemophilus influenzae</i> 0131	susceptível
<i>Moraxella catarrhalis</i> 0040	susceptível
<i>Moraxella catarrhalis</i> 1055	Resistência do intermediário a Eritromicina
<i>Escherichia coli</i> 0266	susceptível

O Ensaio II é utilizado para se testar a atividade contra *Pasteurella multocida* e o Ensaio III é utilizado para se testar a atividade contra *Pasteurella haemolytica*.

Ensaio II

5 Este ensaio é baseado no método de diluição líquida em formato microlitro. Inocula-se uma só colônia de *P. multocida* (cepa 59A067) em 5 ml de caldo de infusão de cérebro-coração (BHI). A mistura de equilíbrio de isômeros azalídeos é preparada por solubilização de 1 mg da mistura em 125 µl de dimetilsulfóxido (DMSO). Preparam-se diluições da mistura
10 de equilíbrio de isômeros azalídeos utilizando-se caldo BHI não inoculado. As concentrações da mistura de equilíbrio de isômeros azalídeos utilizadas variam desde 200 µg/mL até 0,098 µg/mL através de diluições duplas em série. A *P. multocida* inoculada em BHI é diluída com caldo de BHI não inoculado para se obter uma suspensão de 10^4 células por 200 µL. As suspen-
15 sões de células em BHI são misturadas com as respectivas diluições em série da mistura de equilíbrio de isômeros azalídeos, e incubadas a 37°C durante 18 horas. A concentração inibitória mínima (MIC) é igual à concentração da mistura apresentando inibição de crescimento de *P. multocida* de 100% conforme determinado por comparação com um controle não inoculado.

20 Ensaio III

Este ensaio baseia-se no método de diluição de ágar utilizando-se um Steers Replicator. Inoculam-se duas a cinco colônias isoladas de uma placa de ágar em caldo BHI e incubam-se durante a noite a 37°C com agitação (200 rpm). Na manhã seguinte, inoculam-se 300 µL da pré-cultura
25 *P. haemolytica* completamente crescida em 3 ml de caldo de BHI fresco e incubam-se a 37°C com agitação (200 rpm). Dissolvem-se as quantidades apropriadas da mistura de equilíbrio de isômeros azalídeos em etanol e prepara-se uma série de diluições de duas vezes em série. Misturam-se dois mL da respectiva diluição em série com 18 mL de ágar BHI fundido e
30 solidifica-se. Quando a cultura inoculada de *P. haemolytica* atinge a densidade padrão de 0,5 McFarland, inocula-se cerca de 0,5 µL da cultura de *P. haemolytica* em placas de ágar de BHI contendo as várias concentrações da

mistura de equilíbrio de isômeros azalídeos utilizando-se um Steers Repliator e incuba-se durante 18 horas a 37°C. As concentrações iniciais da mistura variam desde 100-200 µg/mL. A MIC é igual à concentração da mistura apresentando uma inibição de crescimento de *P. haemolytica* de 100% conforme determinado por comparação com um controle não inoculado.

Muito mais preferencialmente, o ensaio de micro-diluição é realizado utilizando-se um caldo Mueller-Hilton ajustado com catião de acordo com o princípio orientador de NCCLS M31-A, Vol. 19, N° 11, "Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals", Junho de 1999 (ISBN 1-56238-377-9), que é aqui incorporado por referência. Este ensaio pode ser utilizado para se determinar a MIC de um composto quer contra *P. haemolytica*, quer contra *P. multocida*. Por exemplo, a mistura de equilíbrio de isômeros foi testada de acordo com este padrão, contra *P. haemolytica* (ATCC 14003), e verificou-se ter uma MIC de 1 µg/mL. Quando a mistura de equilíbrio de isômeros foi testada de acordo com este padrão, contra *P. multocida* (ATCC 43137), verificou-se que a MIC era de 1 µg/mL.

Ensaio IV

A atividade *in vivo* das composições farmacêuticas da presente invenção pode ser determinada através de estudos convencionais de proteção animal bem conhecidos dos versados na técnica, geralmente realizados em camundongos.

Os camundongos são distribuídos em gaiolas (10 por gaiola) à sua chegada, e deixados aclimatizar durante um período mínimo de 48 horas antes de serem utilizados. Os animais são inoculados intravertebrealmente com 0,5 ml de uma suspensão bacteriana de 3×10^3 CFU/ml (cepa *P. multocida* 59A006). Cada experiência tem pelo menos 3 grupos de controle não medicados incluindo um infectado com 0,1X dose de provocação e dois infectados com 1X dose de provocação; pode também ser utilizado um grupo de dados com provocação de 10X. Geralmente, todos os camundongos em um dado estudo podem ser provocados no espaço de 30-90 minutos, especialmente se for utilizada uma seringa de repetição (tal como uma se-

ringa Cornwall7) para se administrar a provocação. Trinta minutos depois da provocação ter começado, é dado o primeiro tratamento de composição farmacêutica. Pode ser necessário que uma segunda pessoa comece a dosar a composição farmacêutica se todos os animais não tiverem sido provocados no fim de 30 minutos. As vias de administração são doses subcutâneas ou orais. As doses subcutâneas são administradas na pele folgada na parte detrás do pescoço enquanto as doses orais são dadas através de uma agulha de alimentação. Em ambos os casos, é utilizado um volume de 0,2 ml por camundongo. As composições são administradas 30 minutos, 4 horas e 24 horas após a provocação. Em cada teste é incluída uma composição de controle de eficácia conhecida administrada pela mesma via. Os animais são observados diariamente e é registado o número de sobreviventes em cada grupo. A monitorização do modelo *P. multocida* continua durante 96 horas (quatro dias) pós provocação.

15 A PD₅₀ é uma dose calculada à qual a composição farmacêutica testada protege 50% de um grupo de camundongos da mortalidade devida à infecção bacteriana que seria letal na ausência de tratamento.

As composições farmacêuticas da presente invenção mostram atividade antibacteriana em um dos ensaios anteriormente descritos, particularmente no Ensaio IV.

20 As composições farmacêuticas da invenção podem ser utilizadas para o tratamento de seres humanos, gado, cavalos, carneiros, porcos, cabras, coelhos, gatos, cães e outros mamíferos necessitados de tal tratamento. Em particular, as composições farmacêuticas da invenção podem ser utilizadas para o tratamento, *inter alia*, de doença respiratória bovina, doença respiratória suína, pneumonia, pasteurelose, coccidiose, anaplasmoses e queratinite infecciosa. As composições farmacêuticas podem ser administradas através de via oral, intramuscular, intravenosa, subcutânea, intraocular, parentérica, tópica, intravaginal ou rectal. Para administração em gado, porcos ou outros animais domésticos, as composições farmacêuticas podem ser administradas nos alimentos ou oralmente como uma composição de remédio para animais. Preferencialmente, as composições farma-

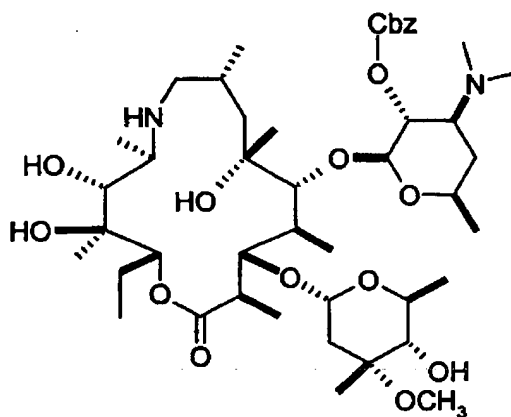
cêuticas são injectadas intramuscularmente, intravenosamente ou subcutaneamente. Em uma modalidade preferida, as composições farmacêuticas são administradas em dosagens variando desde cerca de 0,5 mg da mistura de equilíbrio de isômeros por kg de peso de corpo por dia (mg/kg/dia) até
5 cerca de 20 mg/kg/dia. Em uma modalidade mais preferida, as composições farmacêuticas são administradas em dosagens variando desde cerca de 1 mg/kg/dia até cerca de 10 mg/kg/dia. Em uma modalidade preferível, as composições farmacêuticas são administradas em dosagens variando desde cerca 1,25 mg/kg/dia até cerca de 5,0 mg/kg/dia. As composições farmacêu-
10 ticas podem ser administradas até várias vezes por dia, durante cerca de 1 até cerca de 15 dias, preferencialmente cerca de 1 até cerca de 5 dias, e repetidas quando apropriado. Os versados na técnica reconhecerão facilmente que podem ocorrer variações nas dosagens dependendo das espécies, peso e condição do indivíduo a ser tratado, da sua resposta individual às
15 composições farmacêuticas, e da via particular de administração escolhida. Em algumas circunstâncias, podem ser terapeuticamente eficazes níveis de dosagem abaixo do limite inferior das faixas sobreditas, enquanto em outros casos podem ser empregues doses ainda maiores sem provocarem quaisquer efeitos colaterais nocivos, desde que tais doses maiores sejam primei-
20 ramente divididas em várias doses pequenas para administração durante todo o dia.

Os Exemplos seguintes ilustram adicionalmente as composições e métodos da presente invenção. Deve ser entendido que a presente invenção não está limitada aos pormenores específicos dos Exemplos fornecidos
25 em baixo.

Exemplo 1

Síntese do isômero II. A um erlenmeyer de 2 L adicionou-se desmetilazitromicina (190,5 g, 259,2 mmoles), cloreto de metileno (572 mL) e sulfato de magnésio (38 g). A mistura foi agitada durante 10 min e em se-
30 guida filtrada para um balão de fundo redondo de 5 L. Adicionou-se mais cloreto de metileno (2285 mL) e arrefeceu-se a solução até 0 - 5°C. Depois adicionou-se CBZ-Cl (58,4 mL) (CBZ-Cl = benzilcloroformato) durante 10

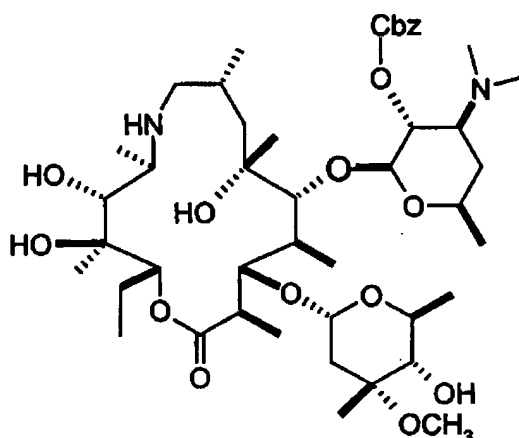
min. Agitou-se a reação a $\approx 0^{\circ}\text{C}$ durante 6 horas e depois à temperatura ambiente durante a noite. Análise por HPLC indicou a presença de material de partida residual de tal forma que a reação foi novamente arrefecida até $\approx 0^{\circ}\text{C}$ e mais CBZ-Cl (19,5 mL) adicionado em uma só porção. A reação foi agitada durante 5,5 horas a 0°C e em seguida 2,5 horas à temperatura ambiente. TLC indicou uma reação completa. A reação foi resfriada bruscamente com bicarbonato de sódio aquoso saturado (953 mL) e as fases separadas. A fase orgânica foi seca sobre sulfato de magnésio, depois filtrada e concentrada para proporcionar o composto de fórmula (III):



(III)

A um balão de fundo redondo de 5 L contendo o composto de fórmula (III) (225,3 g) em cloreto de metileno (901 mL) e DMSO (450 mL) a -65°C adicionou-se anidrido trifluoroacético (82,4 mL). A temperatura foi mantida a -60°C durante toda a adição que se completou em 9 min. A reação foi agitada a -65 até -70°C durante 20 min. A reação foi temperada com trietilamina (145 mL) e depois agitada a -60° até -65°C durante 20 min. À mistura reacional adicionou-se em seguida água (1127 mL) durante 3 min, altura em que a temperatura aumentou para -2°C . A mistura reacional foi agitada durante 10 min e deixou-se que as fases se separassem. A fase orgânica foi lavada com água (675 mL) e depois com cloreto de sódio aquoso saturado (675 mL). A fase orgânica foi seca sobre sulfato de magnésio e em seguida filtrada e os solventes orgânicos removidos por destilação. Adicionou-se MTBE e destilou-se para se removerem todos os vestígios de cloreto de metileno e de DMSO. Adicionou-se mais MTBE até um volume total de

3380 mL. Adicionou-se ácido dibenzoil-tartárico-D monohidratado (87,8 g) em MTBE (1126 mL) para se formar uma pasta espessa. A mistura foi aquecida até ao refluxo e agitada durante a noite. Após arrefecimento até a temperatura ambiente, os sólidos foram coletados em um funil de Buchner e enxaguados com MTBE. Os sólidos foram secos em um forno de secagem a 40°C para proporcionarem 258,3 g do sal de tartarato de dibenzoíla do composto de fórmula (IV):

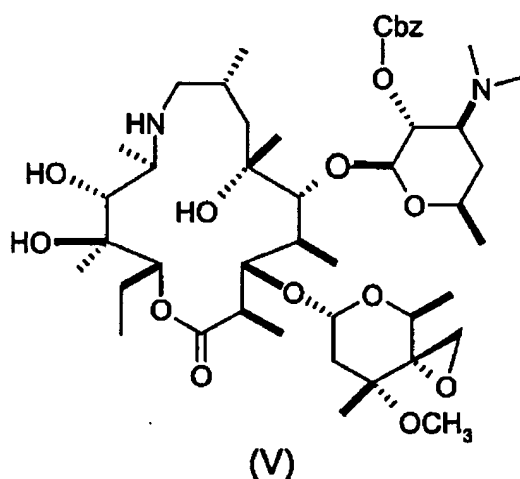


(IV)

A um balão de fundo redondo de 3 L adicionou-se cloreto de metileno (800 mL) e o sal de tartarato de dibenzoíla do composto de fórmula (IV) (188 g). Adicionou-se água (400 mL) e carbonato de potássio (45,5 g) e agitou-se a mistura à temperatura ambiente durante 5 min. A fase orgânica foi separada, em seguida lavada com água (250 mL) e seca sobre sulfato de magnésio. O agente de secagem foi removido por filtração e a solução resultante evaporada sob uma corrente de nitrogênio até um volume final de 623 mL para originar uma cetona base livre.

A um balão de fundo redondo de 5 L adicionou-se THF (623 mL) e brometo de trimetilsulfônio (74,7 g). A pasta fluida resultante foi arrefecida até -10°C e adicionou-se terc-butóxido de potássio (54,4 g). A mistura reacional foi agitada durante 10 min a -10°C e em seguida arrefecida até -70°C durante 5 min. Adicionou-se uma solução da cetona de base livre durante 11 min, mantendo-se a temperatura entre -60 e -65°C. HPLC indicou que a reação foi completa após 90 min. A reação foi temperada a -60°C utilizando-

se uma solução de cloreto de amônio (315 g) em água (1800 mL). A temperatura aumentou para -5°C durante a têmpera. A mistura reacional foi aquecida até 5-10°C e as fases separadas. A fase orgânica foi seca sobre sulfato de sódio e depois filtrada e concentrada para proporcionar o composto de fórmula (V), (117,4 g) como uma espuma amarela. HPLC indicou uma pureza de 61,4% pela área do pico.



A uma solução do composto de fórmula (V) (275 g, 312 mmoles) em metanol seco (2,75 L) adicionou-se iodeto de potássio (518 g, 3,12 mol) e n-propilamina (250 mL, 3,04 mol). A mistura foi agitada durante a noite a 45°C. TLC indicou uma reação completa. A reação foi concentrada em um evaporador rotativo e o resíduo dividido entre água (2,5 L) e cloreto de metileno (2,5 L). O pH da fase aquosa foi ajustado para 6,7 utilizando-se HCl aquoso 3N. Repetiu-se a extração mais uma vez. As fases aquosas combinadas foram combinadas com cloreto de metileno fresco (1,5 L) e o pH da fase aquosa ajustado para 8,5 utilizando-se carbonato de potássio sólido. As fases foram separadas e a fase aquosa novamente extraída duas vezes com cloreto de metileno adicional. As fases orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio e em seguida filtradas. O filtrado foi concentrado em um evaporador rotativo para proporcionar uma espuma bege (230 g). A purificação da espuma foi realizada em uma coluna de gel de sílica com empacotamento em suspensão utilizando-se hexanos-dietilamina 19/3 (v/v) como fase móvel. Desta forma, 125 g de produto bruto proporcionaram 72 g de isômero I como uma espuma branca, amorfa.

O isômero I foi dissolvido em acetonitrila (0,5 L) à temperatura ambiente. Depois adicionou-se água desionizada (1 L), o que provocou precipitação. Em seguida adicionou-se mais acetonitrila (0,5 L) para originar uma solução homogênea que foi agitada à temperatura ambiente durante 30 horas. Análise por HPLC indicou a formação de um novo componente que compreendia $\approx 20\%$ da área total do pico.

O solvente orgânico foi removido em um evaporador rotativo. Ao resíduo aquoso adicionou-se carbonato de potássio (30 g) seguido de cloreto de metileno (0,3 L). A mistura foi agitada e a fase orgânica inferior removida. Realizaram-se também duas extrações adicionais ($2 \times 0,3$ L). As fases orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio, depois filtradas e a solução resultante concentrada até uma espuma seca (≈ 10 g).

A mistura resultante de isômero I e isômero II foi dissolvida em uma mistura de cloreto de metileno e hexanos-dietilamina 19/3 (v/v), colocada em uma coluna de gel de sílica com empacotamento em suspensão e em seguida eluída com o sistema 19/3. O eluente foi alterado para hexanos-dietilamina 19/6 em fração 56. As frações 9-17 foram combinadas e concentradas até uma espuma seca que continha apenas material de partida não reagido. As frações 52-72 foram combinadas e concentradas, e continham isômero II (79% de pureza por HPLC).

Exemplo 2

A Tabela 1 abaixo mostra o efeito do pH, da temperatura, do tipo de ácido e da concentração de isômero I na velocidade de reação de equilíbrio e nos níveis das principais impurezas após equilíbrio. A repetição de ensaios (dados não indicados) demonstrou reprodutibilidade dos resultados. A razão de equilíbrio de isômeros I e II (cerca de $90\% \pm 4\%$ até cerca de $10\% \pm 4\%$, respectivamente) foi consistente para todos os ensaios. A análise dos dados indica que o pH e a temperatura têm um efeito significativo no tempo requerido para se atingir o equilíbrio. Sem se estar limitado por qualquer teoria, menores temperaturas de equilíbrio ou menores valores de pH resultam geralmente em tempos de equilíbrio substancialmente mais longos. O tempo de equilíbrio pode também depender, *inter alia*, da

concentração do material de partida e do tipo e concentração do ácido utilizado. O isômero I em uma concentração de até cerca de 300 mg por mL de composição foi aquecido até uma temperatura de cerca de 40°C até cerca de 80°C na presença de um ou mais ácidos em uma concentração de cerca de 0,2 mmol até cerca de 1,0 mmol por mL de mistura e com uma quantidade suficiente de ácido clorídrico para se atingir um pH de cerca de 6,5 até cerca de 7,5 durante até cerca de 20 horas para se produzir uma mistura de equilíbrio de isômeros que é aproximadamente 95%-98% pura. Os parâmetros cinéticos de equilíbrio e os níveis de impurezas para se atingir o equilíbrio de isômeros I e II azalídeos foram determinados como função do pH, temperatura de equilibração, tipo de ácido e concentração de isômero I e estão indicados na Tabela 1. Para se identificarem as impurezas podem-se utilizar métodos conhecidos, incluindo cromatografia líquida de elevado desempenho ("HPLC"), espectroscopia de ressonância magnética nuclear ("RMN"), cromatografia gasosa ("GC"), espectrometria de massa ("EM"), cromatografia líquida/espectrometria de massa ("LC/EM"), GC/EM e cromatografia em camada fina ("TLC"). "DS" refere-se ao isômero I antes da equilibração e é incluído para comparação.

As misturas de equilíbrio de isômeros foram preparadas e testadas como se segue. Preparam-se 40 mL de solução em cada uma das experiências 1A-11A e cada solução foi dividida em alíquotas de 1 mL antes de ser aquecida de forma a se monitorizar mais facilmente a equilibração a diferentes tempos. Preparam-se 20 mL de solução em cada uma das experiências 12B-24B e cada solução foi dividida em alíquotas de 0,7 mL antes de ser aquecida. Preparam-se 100 mL de solução em cada uma das experiências 25C-28C, preparam-se 200 mL de solução em cada uma das experiências 29C-30C e monitorizou-se a equilibração a partir de alíquotas de 0,5 mL removidas das soluções. Preparam-se 60 mL de solução em cada uma das experiências 31D-33D e 35D-41D, preparam-se 170 mL de solução na experiência 34D e monitorizou-se a equilibração a partir de alíquotas de 0,5 mL removidas das soluções. Preparam-se desde 7.200 mL até 54.000 mL de solução em cada uma das experiências 42E-46E e monitorizou-se a

equilibração removendo-se alíquotas de 2 mL até 5 mL das soluções. Preparam-se desde 35 mL até 50 mL de solução em cada uma das experiências 47F-50G e cada solução foi dividida em alíquotas de 1 mL antes de ser aquecida. Adicionou-se água ao recipiente apropriado, seguindo-se o tipo e

5 quantidade de ácido indicado na coluna 4 da Tabela 1. O termo "qs" precedendo o tipo de ácido refere uma quantidade do ácido suficiente para se atingir o pH indicado na coluna 2. Quando foi utilizado ácido cítrico ou tartárico 0,1 M, foi também adicionado ácido clorídrico em uma quantidade suficiente para se obter o pH indicado na coluna 2. Quando na coluna 4 é

10 especificada uma concentração de ácido (por exemplo, "cítrico 0,1 M"), esta é a concentração de ácido em uma solução contendo uma mistura equilibrada de isômero I e isômero II presente em uma concentração de 100 mg/mL. A mistura de água e ácido foi agitada até que todo o ácido se tivesse dissolvido (cerca de 5 minutos ou menos para menores volumes, e cerca de 20 minutos para maiores volumes). Adicionou-se lentamente isômero I e em

15 pequenas porções para se evitar o amontoar, e a mistura resultante foi agitada vigorosamente até se dissolver (menos do que 30 minutos para menores volumes, e cerca de 60-120 minutos para maiores volumes). Após dissolução do isômero I, mediu-se o pH da solução resultante. Se o pH era inferior

20 ao pH indicado na coluna 2, era aumentado até ao pH indicado na coluna 2 com solução de hidróxido de sódio a 10%. Se o pH era superior ao pH indicado na coluna 2, era baixado com o(s) ácido(s) apropriado(s). Para cada experiência, a solução era aquecida à temperatura indicada na coluna 3 até se obter uma mistura de equilíbrio de isômeros, conforme determinado por

25 um dos ensaios de HPLC abaixo descritos. Nalgumas experiências, as misturas foram aquecidas durante um período de tempo mais longo do que o requerido para a equilibração (percentagens superiores a 100% na coluna 8) para se determinarem os efeitos do aquecimento prolongado no grau de impureza.

30 Para se monitorizar a equilibração de isômeros azalídeos, analisaram-se alíquotas de mistura reacional por HPLC a vários tempos durante a equilibração. Para a maior parte das experiências de equilibração ilustra-

das na Tabela 1, diluíram-se alíquotas com tampão de fosfato de potássio 40 mM (pH 6,0) até uma concentração de aproximadamente 0,5 mg de isômeros azalídeos por mL de volume de amostra total e submeteram-se a cromatografia utilizando-se uma coluna Asahipak ODP-50, 5 μ m, 250 $\times$ 4,0 mm (40% acetonitrila/35% metanol/25% fosfato de potássio 40 mM; pH 8,5 fase móvel; caudal 0,7 mL/min; temperatura ambiente) em um Cromatógrafo Líquido HP 1090 equipado com um Detector de Absorvância Programável externo Applied Biosystems 783A. Os picos foram detectados por monitorização da absorção ultravioleta a 210 nm. Para as restantes experiências de

5 equilíbração ilustradas na Tabela 1 (experiências 31D-46E), diluíram-se alíquotas com 20% acetonitrila/50% metanol/30% fosfato de potássio 50 mM (pH 5,5) até uma concentração de 1,0 mg de isômeros azalídeos por mL de volume de amostra total e submeteram-se a cromatografia utilizando-se uma

10 coluna YMC Pro-Pack C₁₈, 3 μ m, 50 $\times$ 2,0 mm (20% acetonitrila/50% metanol/30% fosfato de potássio 50 mM; pH 7,0 fase móvel; caudal 0,5 mL/min; temperatura ambiente) em um Cromatógrafo Líquido HP 1090 com Detector de UV interno. Os picos foram detectados por monitorização da absorção ultravioleta a 210 nm. As quantidades relativas de isômero I e isômero II foram determinadas calculando-se a razão das áreas relativas dos picos nos

15 cromatogramas. Nas condições anteriores de HPLC, o isômero I tem um tempo de retenção de aproximadamente 13-23 minutos e o isômero II tem um tempo de retenção relativo ("RRT") de aproximadamente 0,8 a 0,9. Por "RRT" quer-se dizer um tempo de retenção relativo ao do isômero I nas condições de HPLC acima descritas.

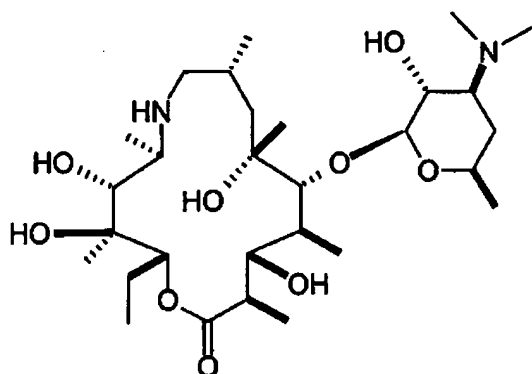
20

25 A pureza das amostras equilibradas na Tabela 1 foi determinada utilizando-se HPLC de acordo com um de três procedimentos. Nas experiências 1A-24B, 48F e 50G, diluíram-se alíquotas com tampão de fosfato de potássio 25 mM (pH 5,5) até uma concentração de 1,25 mg de isômeros azalídeos por mL de volume de amostra total e analisaram-se usando-se

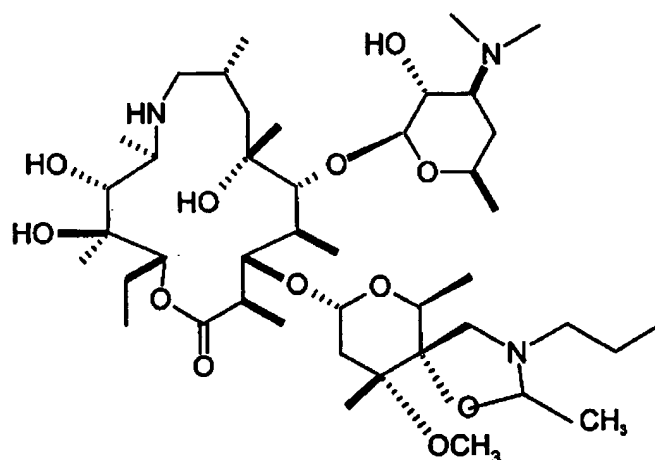
30 uma coluna Eclipse XDB-C₈, 5 μ m, 250 $\times$ 4,6 mm (22% acetonitrila/58% metanol/20% fosfato de potássio 25 mM; pH 8,0 fase móvel; caudal 0,6 mL/min; temperatura ambiente) em um Módulo de Separação Waters Allian-

ce 2690 com um Detector Amperométrico BAS CC-5/LC-4C. Os picos foram detectados electroquimicamente com um eletrodo a +0,70 V, um segundo eletrodo a +0,88 V, e uma faixa de 0,5 μ A. Nas experiências 25C-41 D, diluíram-se alíquotas com ácido cítrico 50 mM (pH 5,5) até uma concentração de 0,25 mg de isômeros azalídeos por mL de volume de amostra total e analisaram-se usando-se uma coluna YMC Pro-Pack C₁₈, 3 μ m, 150 $\times$ 4,6 mm (70% metanol/30% fosfato 50 mM; pH 7,0 fase móvel; caudal 1 mL/min; temperatura ambiente) no sistema Waters Alliance. Os picos foram detectados electroquimicamente com um eletrodo a +0,90 V. Nas experiências 42E-43E, diluíram-se alíquotas com ácido cítrico 50 mM (pH 5,5) até uma concentração de 0,25 mg de isômeros azalídeos por mL de volume de amostra total e analisaram-se usando-se uma coluna YMC Pro-Pack C₁₈, 3 μ m, 150 $\times$ 4,6 mm (70% metanol/30% fosfato 50 mM; pH 7,0 fase móvel; caudal 1 mL/min; temperatura ambiente) em um Cromatógrafo Líquido HP 1090 com Detector Amperométrico BAS CC-5/LC-4C. Os picos foram detectados electroquimicamente com apenas um eletrodo a +0,90 V. A percentagem da mistura de equilíbrio de isômeros (coluna 9) e de impurezas (coluna 10) relativamente à amostra analisada foi determinada utilizando-se as áreas sob os picos nos cromatogramas. Algumas das impurezas detectadas foram: um azalídeo de descladinose (sendo o seu RRT aproximadamente 0,26 em uma coluna Eclipse XDB-C₈), um produto de inserção de acetaldeído (sendo o seu RRT aproximadamente 1,75 em uma coluna Eclipse XDB-C₈) e um produto de inserção de formaldeído (sendo o seu RRT aproximadamente 1,6 em uma coluna Eclipse XDB-C₈).

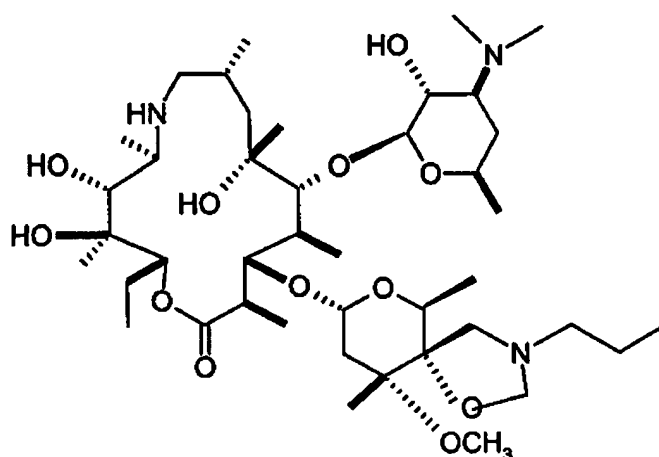
O azalídeo de descladinose tem a estrutura:



O produto de inserção de acetaldeído tem a estrutura:



O produto de inserção de formaldeído tem a estrutura:



O azalídeo de descladinose, o produto de inserção de acetaldeído e o produto de inserção de formaldeído, e sais farmacologicamente aceitáveis dos mesmos, têm propriedades antibióticas e são úteis como agentes antibióticos.

As experiências dos grupos A e B (identificadas pela letra após o número da experiência) na Tabela 1 foram realizadas para se determinarem os efeitos do pH, da temperatura, do tipo de ácido, da concentração do ácido e da concentração do isômero I na equilibração. As experiências do grupo C na Tabela 1 ilustram os efeitos do pH e da temperatura na equilibração. As experiências do grupo D na Tabela 1 ilustram os efeitos do pH, da temperatura e da concentração de ácido na equilibração. As experiências do grupo E na Tabela 1 ilustram um método preferido de equilibração, ou

seja, a um pH de cerca de 7,0, uma temperatura de equilibração de cerca de 70°C e uma concentração de isômero I de cerca de 250 mg/mL. As experiências do grupo F testam os efeitos de ácidos e temperaturas de equilibração alternativos, e a experiência G foi realizada na presença de 50% de co-solvente propilenoglicol.

Os resultados destas experiências indicam que, mesmo sob uma variedade de condições, o equilíbrio de isômeros azalídeos resulta consistentemente na formação de pelo menos cerca de $90\% \pm 4\%$ de isômero I e cerca de $10\% \pm 4\%$ de isômero II. A temperatura de equilibração e o pH parecem ter os maiores efeitos na velocidade de equilibração, com temperaturas maiores conduzindo geralmente a velocidades mais rápidas, mesmo com maiores concentrações de isômero I. Na maior parte dos casos, contudo, maiores tempos de equilibração resultaram em maiores concentrações de impurezas e, portanto, as condições óptimas de equilibração são aquelas conduzindo a velocidades de equilibração relativamente elevadas, i.e., aquelas que formam a mistura de equilíbrio de isômeros em 1-3 horas.

Tabela 1

Número da Experiência e Grupo	pH	Temp. de Equil. (°C)	ácido	Concentração inicial de isômero I (mg/mL)	% de isômero II no equilíbrio	Tempo para equilíbração (horas)	% de tempo para equilíbração	% de mistura de equilíbrio de isômeros	% de impurezas
DS								98,39	1,61
1A	6,3	65	qs cítrico	112	12,2	5,1	100	96,09	3,91
							150	94,03	5,34
2A	6,0	80	qs fosfórico	75	11,6	2	100	94,57	5,43
							370	86,71	13,29
3A	7,0	70	qs cítrico	75	11,5	1,4	100	96,36	3,64
							640	89,62	10,38
4A	7,0	50	qs cítrico	150	11,5	10,9	100	97,76	2,24
							200	96,94	3,06
5A	6,0	60	qs fosfórico	150	11,2	12,9	100	96,52	3,48
							170	95,18	4,82

Tabela 1 (Continuação)

Número da Experiên- cia e Grupo	pH	Temp. de Equil. (°C)	ácido	Concentração inicial de isôme- ro I (mg/mL)	% de isô- mero II no equilíbrio	Tempo para equilibração (horas)	% de tempo para equili- bração	% de mistura de equilíbrio de isômeros	% de impu- rezas
6A	6,0	60	qs cítrico	75	12,3	17,6	100	96,15	3,85
7A	6,0	80	qs cítrico	150	11,9	2,2	100	94,95	5,05
8A	7,0	50	qs fosfórico	75	11,4	7,2	100	96,15	3,85
9A	7,0	70	qs fosfórico	150	12,1	1,2	100	95,20	4,80
10A	6,5	65	qs cítrico	112	11,3	3,3	100	97,79	2,21
							150	96,47	3,53
							100	97,66	2,34
							160	96,70	3,30
							100	96,63	3,37
							190	94,64	5,36

Tabela 1 (Continuação)

Número da Experiência e Grupo	pH	Temp. de Equil. (°C)	ácido	Concentração inicial de isômero I (mg/mL)	% de isômero II no equilíbrio	Tempo para equilíbrio (horas)	% de tempo para equilíbrio	% de mistura de equilíbrio de isômeros	% de impurezas
11A	6,5	65	qs cítrico	112	12,4	3,6	100	96,87	3,13
							200	94,76	5,24
12B	7,0	70	qs cítrico	150	12,5	1,4	100	94,33	5,67
							150	94,00	6,00
13B	7,25	65	0,1 M cítrico/ qs HCl	225	11,2	3,3	100	94,55	5,45
							150	94,26	5,74
14B	7,25	65	qs cítrico	225	11,2	2,5	100	94,75	5,25
							150	94,17	5,83
15B	7,0	70	0,1 M cítrico/ qs HCl	300	11,0	3,6	100	93,08	6,92
							150	92,74	7,26

Tabela 1 (Continuação)

Número da Experiên- cia e Grupo	pH	Temp. de Equil. (°C)	ácido	Concentração inicial de isôme- ro I (mg/mL)	% de isô- mero II no equilíbrio	Tempo para equilibração (horas)	% de tempo para equili- bração	% de mistura de equilíbrio de isômeros	% de impu- rezas
16B	7,5	70	0,1 M cítrico/ qs HCl	150	11,6	1,4	100 150	94,98 94,82	5,02 5,18
17B	7,0	60	qs cítrico	300	11,4	4,9	100 150	93,93 93,80	6,07 6,20
18B	7,5	60	qs cítrico	150	12,1	2,6	100 150	94,00 93,89	6,00 6,11
19B	7,5	60	0,1 M cítrico/ qs HCl	300	11,3	4,5	100 150	93,89 93,78	6,11 6,22
20B	7,5	70	qs cítrico	300	11,3	1,5	100 150	93,88 93,65	6,12 6,35

Tabela 1 (Continuação)

Número da Experiência e Grupo	pH	Temp. de Equil. (°C)	ácido	Concentração inicial de isômero I (mg/mL)	% de isômero II no equilíbrio	Tempo para equilíbrio (horas)	% de tempo para equilíbrio	% de mistura de equilíbrio de isômeros	% de impurezas
21B	7,0	60	0,1 M cítrico/ qs HCl	150	12,3	4,1	100 150	94,31 94,27	5,69 5,73
22B	7,25	65	0,1 M cítrico/ qs HCl	225	11,7	3,0	100 150	94,51 94,24	5,49 5,76
23B	7,25	65	Cítrico	225	12,3	2,3	100 150	94,23 94,10	5,77 5,90
24B	7,0	70	Cítrico	300	11,4	2,2	100 150	94,43 93,91	5,57 6,09
25C	7,5	75	0,1 M cítrico/ qs HCl	250	11,8	1,3	100	98,59	1,41

Tabela 1 (Continuação)

Número da Experiência e Grupo	pH	Temp. de Equil. (°C)	ácido	Concentração inicial de isômero I (mg/mL)	% de isômero II no equilíbrio	Tempo para equilíbrio (horas)	% de tempo para equilíbrio	% de mistura de equilíbrio de isômeros	% de impurezas
26C	7,5	65	0,1 M cítrico/ qs HCl	250	10,5	3,0	100	98,78	1,22
27C	6,5	75	0,1 M cítrico/ qs HCl	250	n/a	4,0	85	98,74	1,26
28C	6,5	65	0,1 M cítrico/ qs HCl	250	n/a	9,9	50	98,91	1,09
29C	7,0	70	0,1 M cítrico/ qs HCl	250	11,1	1,8	100	98,90	1,10
30C	7,0	70	0,1 M cítrico/ qs HCl	250	11,3	2,2	100	98,91	1,09

Tabela 1 (Continuação)

Número da Experiência e Grupo	pH	Temp. de Equil. (°C)	ácido	Concentração inicial de isômero I (mg/mL)	% de isômero II no equilíbrio	Tempo para equilibração (horas)	% de tempo para equilibração	% de mistura de equilíbrio de isômeros	% de impurezas
31D	7,0	70	0,125 M cítrico/ qs HCl	250	10,2	2,6	100	-	-
32D	7,0	70	0,125 M cítrico/ qs HCl	250	10,1	2,8	100	-	-
33D	7,0	70	0,125 M cítrico/ qs HCl	250	10,2	2,6	100	-	-
34D	7,0	70	0,175 M cítrico/ qs HCl	250	10,5	2,5	100	-	-

Tabela 1 (Continuação)

Número da Experiência e Grupo	pH	Temp. de Equil. (°C)	ácido	Concentração inicial de isômero I (mg/mL)	% de isômero II no equilíbrio	Tempo para equilíbração (horas)	% de tempo para equilíbração	% de mistura de equilíbrio de isômeros	% de impurezas
35D	7,0	70	0,1 M cítrico/ qs HCl	250	10,6	2,2	100	-	-
36D	7,5	75	0,1 M cítrico/ qs HCl	250	11,2	1,0	100	-	-
37D	7,5	65	0,1 M cítrico/ qs HCl	250	11,1	1,9	100	-	-
38D	7,0	70	0,1 M cítrico/ qs HCl	250	10,8	2,4	100	-	-
39D	8,0	70	0,1 M cítrico/ qs HCl	250	11,1	1,1	100	-	-

Tabela 1 (Continuação)

Número da Experiên- cia e Grupo	pH	Temp. de Equil. (°C)	ácido	Concentração inicial de isôme- ro I (mg/mL)	% de isô- mero II no equilíbrio	Tempo para equilíbrio (horas)	% de tempo para equili- bração	% de mistura de equilíbrio de isômeros	% de impu- rezas
40D	6,5	75	0,1 M cítrico/ qs HCl	250	10,6	1,9	100	-	-
41D	6,5	65	0,1 M cítrico/ qs HCl	250	10,8	5,8	100	-	-
42E	7,0	70	0,1 M cítrico/ qs HCl	250	11,6	1,1	100	96,00	4,00
43E	7,5	70	0,1 M tartá- rico/ qs HCl	250	12,0	2,0	100	94,90	5,10
44E	7,0	70	0,1 M cítrico/ qs HCl	250	13,6	1,4	100	-	-

Tabela 1 (Continuação)

Número da Experiência e Grupo	pH	Temp. de Equil. (°C)	ácido	Concentração inicial de isômero I (mg/mL)	% de isômero II no equilíbrio	Tempo para equilíbrio (horas)	% de tempo para equilíbrio	% de mistura de equilíbrio de isômeros	% de impurezas
45E	6,8	70	0,1 M cítrico/ qs HCl	250	12,7	1,1	100	-	-
46E	6,9	70	0,1 M cítrico/ qs HCl	250	12,4	1,3	100	-	-
47F	7	70	qs cítrico	250	10,8	1,4	100	94,78	5,22
48F	7	70	0,1 M tartárico/ qs HCl	250	11,5	7,7	100	-	-
49F	7,4	39	qs fosfórico	1	11,1	6,7	100	-	-
50G	7	70	qs cítrico	75	9,4	2,7	100	-	-

Exemplo 3

A estabilidade de composições equilibradas armazenadas a 50°C durante 12 semanas e estabilizadas com co-solvente é ilustrada na Tabela 2 abaixo. Os resultados indicam que as composições que não con-
5 têm co-solvente são significativamente menos estáveis do que as composições contendo co-solvente em uma quantidade desde cerca de 250 até cerca de 500 mg por mL de composição (experiências 1A-11 B). As composições com um pH de cerca de 5,4 e contendo propilenoglicol ("PG") em uma quantidade desde cerca de 450 até cerca de 550 mg por mL de composição
10 são as mais estáveis. Podem-se utilizar outros co-solventes para se estabilizarem as composições (experiências 1E-2E); contudo, é preferido o propilenoglicol. Conforme ilustrado na Tabela 2, a estabilidade depende do pH, e pode também depender do tipo e quantidade do ácido usado, e da concentração da mistura de isômeros equilibrada.

15 Estas composições foram preparadas da seguinte forma. Após aquecimento até a temperatura desejada (coluna 2) e se deixar a mistura de água, ácido e isômero I equilibrar durante o tempo indicado na coluna 3, deixaram-se as misturas de equilíbrio de isômeros arrefecer até a temperatura ambiente. Quando as misturas atingiram a temperatura ambiente, adicionou-se a quantidade apropriada do co-solvente desejado (coluna 6). A
20 percentagem de co-solvente indicada na coluna 6 é uma percentagem peso em volume (por exemplo, 50% PG significa 500 mg de propilenoglicol por mL de composição farmacêutica). Se foi utilizado um antioxidante ou um conservante, adicionaram-se as quantidades apropriadas (colunas 8 e 9). O
25 pH da solução foi medido e ajustado ao valor na coluna 5 por adição de um ou mais ácidos e/ou hidróxido de sódio a 10% p/p. Os volumes das soluções resultantes foram então ajustados por adição de água. As composições foram filtradas através de um filtro de esterilização de 0,2 micron. Encheram-se frascos em uma capela com fluxo laminar e o espaço da parte superior
30 do frasco foi limpo com a mistura gasosa apropriada (coluna 10) antes da-quele ser vedado.

A equilibração e a pureza foram monitorizadas utilizando-se

HPLC conforme acima descrito no Exemplo 2. A estabilidade das composições estabilizadas, equilibradas vedadas em frascos de vidro foi determinada após armazenamento durante 12 semanas a 50°C. Foram monitorizados os efeitos da concentração da mistura de equilíbrio de isômeros, do pH, da quantidade e tipo de co-solvente, do tipo e concentração de ácido, da exposição ao ar, da presença de conservantes e da presença de antioxidantes. Os resultados são ilustrados na Tabela 2.

As experiências 1A-3A foram realizadas para se registrar o efeito da concentração da mistura de equilíbrio na estabilidade. As experiências 2A, 6A e 7A foram realizadas para se registrar o efeito do pH na estabilidade. As experiências 2A, 4A e 5A mostram o efeito da quantidade de co-solvente na estabilidade e as experiências 3A e 8A mostram o efeito do uso de ácido cítrico sozinho, contrariamente a misturas de ácido cítrico e fosfórico, para se obter um pH ácido. As experiências 1B-11B mostram os efeitos do pH e do co-solvente propilenoglicol ("PG") na estabilidade. As experiências 1C e 2C mostram o efeito do uso de ácido tartárico sozinho, contrariamente a uma mistura de ácido tartárico e clorídrico, para se obter um pH ácido. As experiências 9B-11B e 3C mostram os efeitos de um conservante na estabilidade da mistura, e as experiências 9B-11B, 4C e 5C mostram os efeitos de um antioxidante na estabilidade da mistura. As experiências 6C e 7C mostram os efeitos do uso de uma mistura de ácido tartárico e clorídrico ou de uma mistura de ácido cítrico e clorídrico na estabilidade. As experiências 1D-12D mostram os efeitos de diferentes quantidades de antioxidante monotioglicerol ("MTG") e de diferentes graus de exposição ao oxigênio na estabilidade. As experiências 4D-6D e 13D-18D demonstram os efeitos do pH da composição e da concentração de ácido na estabilidade.

Os resultados destas experiências indicam que após armazenamento durante 12 semanas a 50°C, as composições equilibradas que contêm pelo menos 50% de propilenoglicol e que têm um pH na faixa desde cerca de 5,2 até cerca de 5,5 retêm mais de 93% da concentração inicial da mistura de equilíbrio de isômeros. O maior nível de impurezas foi encontra-

do em uma composição sem co-solvente (experiência 4A). Por consequência, a presença de co-solvente limita de forma surpreendente e inesperada a quantidade de impurezas. Em composições com menos de 40% de co-solvente e com um pH inferior a 5,0 detectaram-se elevados níveis de impurezas após 12 semanas. A concentração do ácido também afeta a estabilidade das composições farmacêuticas. As composições com concentrações de ácido relativamente baixas (cerca de 20 mM) e com um pH de cerca de 5,4 mostram a maior estabilidade após armazenamento. Contudo, baixas concentrações de ácido resultam em uma força tamponante baixa, o que provoca flutuações do pH e pode conduzir a um nível de impureza relativamente elevado sob outras condições de tempo ou temperatura.

Tabela 2

Número de Experiência e Grupo	Temp. de Equil. (°C)	Tempo de Equil. (horas)	Concentração da mistura de equilíbrio de isômeros na comp. farmacêutica	pH	Tipo de co-solvente e quantidade	Concentração de Ácido (M)	Conservante	Antioxidante (mg/mL)	Agente de enchimento na parte superior	% 12 semanas e 50°C		% Mistura de Equilíbrio de isômeros	% Impurezas
										isômero II	isômero I		
1A	60	16	10	5,0	50% PG	qs cítrico	-	-	N ₂	12,33	80,48	92,81	7,19
2A	60	16	30	5,0	50% PG	qs cítrico	-	-	N ₂	12,09	77,88	89,97	10,03
3A	60	16	100	5,0	50% PG	qs cítrico	-	-	N ₂	11,95	76,13	88,08	11,92
4A	60	16	30	5,0	-	qs cítrico	-	-	N ₂	12,78	66,44	79,22	20,78
5A	60	16	30	5,0	25% PG	qs cítrico	-	-	N ₂	13,07	75,50	88,57	11,43
6A	60	16	30	4,5	50% PG	qs cítrico	-	-	N ₂	10,71	76,71	87,42	12,58

Tabela 2 (Continuação)

Número de Experimento e Grupo	Tempo de Equil. (°C)	Tempo de Equil. (horas)	Concentração da mistura de equilíbrios na comp. farmacêutica	pH	Tipo de co-solvente e quantidade	Concentração de Ácido (M)	Conservante	Antioxidante (mg/mL)	Agente de enchimento na parte superior	% 12 semanas e 50°C		% Mistura de Equilíbrios de Isômeros	
										isômero I	isômero II		
7A	60	16	30	5,5	50% PG	qs cítrico	-	-	N ₂	11,81	80,34	92,15	7,85
8A	60	24	100	5,0	50% PG	0,23 M cítrico/qs H ₂ PO ₄	-	-	N ₂	11,80	74,27	86,07	13,93
1B	70	1,5	100	5,0	25% PG	qs cítrico	-	-	N ₂	10,90	79,50	90,40	9,60
2B	70	1,5	100	5,0	50% PG	qs cítrico	-	-	N ₂	9,10	83,20	92,30	7,70
3B	70	1,5	100	5,5	25% PG	qs cítrico	-	-	N ₂	10,70	81,40	92,10	7,90

Tabela 2 (Continuação)

Número de Experimento	Temp. Equil. (°C)	Tempo de Equil. (horas)	Concentração da mistura de equilíbrio de isômeros na comp. farmacêutica	pH	Tipo de co-solvente e quantidade	Concentração de Ácido (M)	Conservante	Antioxidante (mg/mL)	Agente de enchimento na parte superior	% 12 semanas e 50°C		% Mistura de Equilíbrio de Isômeros	% Impurezas
										isômero II	isômero I		
4B	70	1,5	100	5,5	50% PG	qs cítrico	-	-	N ₂	9,50	83,80	93,30	6,70
5B	70	1,5	100	5,25	20% PG	qs cítrico	-	-	N ₂	10,90	79,70	90,60	9,40
6B	70	1,5	100	5,25	55% PG	qs cítrico	-	-	N ₂	9,30	84,80	93,70	6,30
7B	70	1,5	100	4,75	37,5% PG	qs cítrico	-	-	N ₂	9,70	79,40	89,10	10,90
8B	70	1,5	100	5,75	37,5% PG	qs cítrico	-	-	N ₂	9,90	82,70	92,60	7,40
9B	70	1,5	100	5,25	37,5% PG	qs cítrico	-	-	N ₂	9,50	83,10	92,60	7,40
10B	70	1,5	100	5,25	37,5% PG	qs cítrico	-	-	N ₂	9,90	81,70	91,60	8,40
11B	70	1,5	100	5,25	37,5% PG	qs cítrico	-	-	N ₂	10,20	82,20	92,40	7,60

Tabela 2 (Continuação)

Número de Experiência e Grupo	Tempo de Equil. (°C)	Tempo de Equil. (horas)	Concentração da mistura de equilíbrio de isômeros na comp. farmacêutica	pH	Tipo de solvente e quantidade	Concentração de Ácido (M)	Conservante	Antioxidante (mg/mL)	Agente de enchimento na parte superior	% 12 semanas e 50°C	isômero II	isômero I	% Mistura de Equilíbrio de Isômeros	% Impurezas
1C	70	1,5	100	5,25	37,5% PG	qs tartárico	-	-	N ₂	10,10	83,40	83,50	93,50	6,50
2C	70	1,5	100	5,25	37,5% PG	0,1M tartárico/qs HCl	-	-	N ₂	10,00	84,30	84,30	94,30	5,70
3C	70	1,5	100	5,25	37,5% PG	qs cítrico	fenol	-	N ₂	10,40	89,60	89,60	100,00	-
4C	70	1,5	100	5,25	37,5% PG	qs cítrico	-	5 MTG	N ₂	9,90	83,00	83,00	92,90	7,10

Tabela 2 (Continuação)

Número de Experiência e Grupo	Temp. Equil. (°C)	Tempo de Equil. (horas)	Concentração da mistura de equilíbrio de isômeros na comp. farmacêutica	pH	Tipo de co-solvente e quantidade	Concentração de Ácido (M)	Conservante	Antioxidante (mg/mL)	Agente de enchimento na parte superior	% 12 semanas e 50°C	% Mistura de Equilíbrio de isômeros	% Impurezas
										isômero II	isômero I	
5C	70	1,5	100	5,25	37,5% PG	qs cítrico	-	5 g/lato de propila	N ₂	9,90	83,00	92,90 7,10
6C	70	1,5	100	5,50	50% PG	0,1M tartárico/qs HCl	-	5 MTG	N ₂	8,40	88,20	96,60 3,40
7C	70	1,5	100	5,50	50% PG	0,1M cítrico/qs HCl	-	5 MTG	N ₂	8,40	88,80	97,20 2,80
1D	70	1,5	100	5,40	50% PG	0,1M cítrico/qs HCl	-	10 MTG	ar	9,02	87,40	96,42 3,58

Tabela 2 (Continuação)

Número de Experiência e Grupo	Temp. de Equil. (°C)	Tempo de Equil. (horas)	Concentração da mistura de equilíbrio de isômeros na comp. farmacêutica	pH	Tipo de co-solvente e quantidade	Concentração de Ácido (M)	Conservante	Antioxidante (mg/mL)	Agente de enchimento na parte superior	% 12 semanas e 50°C	% Mistura de Equilíbrio de Isômeros	% Impurezas
										isômero I	isômero II	
2D	70	1,5	100	5,40	50% PG	0,1M cítrico/qs HCl	-	10 MTG	5% O ₂	9,03	87,40	96,43 3,57
3D	70	1,5	100	5,40	50% PG	0,1M cítrico/qs HCl	-	5 MTG	ar	9,07	87,17	96,24 3,76
4D	70	1,5	100	5,40	50% PG	0,1M cítrico/qs HCl	-	5 MTG	10% O ₂	9,13	87,25	96,38 3,62
5D	70	1,5	100	5,40	50% PG	0,1M cítrico/qs HCl	-	5 MTG	10% O ₂	9,14	87,38	96,52 3,48

Tabela 2 (Continuação)

Número de Experimento	Tempo de Equil. (°C)	Tempo de Equil. (horas)	Concentração da mistura de equilíbios na comp. farmacêutica	pH	Tipo de co-solvente e quantidade	Concentração de Ácido (M)	Conservante	Antioxidante (mg/mL)	Agente de enchimento na parte superior	% 12 semanas e 50°C		% Mistura de Equilíbrios	% Impurezas
										isômero II	isômero I		
6D	70	1,5	100	5,40	50% PG	0,1M cítrico/qs HCl	-	5 MTG	10% O ₂	9,14	87,44	96,58	3,42
7D	70	1,5	100	5,40	50% PG	0,1M cítrico/qs HCl	-	5mM MTG	5% O ₂	9,20	87,16	96,36	3,64
8D	70	1,5	100	5,40	50% PG	0,1M cítrico/qs HCl	-	5 MTG	1% O ₂	9,20	87,14	96,34	3,66
9D	70	1,5	100	5,40	50% PG	0,1M cítrico/qs HCl	-	2,5 MTG	ar	9,19	87,17	96,36	3,64

Tabela 2 (Continuação)

Número de Experimento e Grupo	Tempo de Equil. (°C)	Tempo de Equil. (horas)	Concentração da mistura de equilíbrio de isômeros na comp. farmacêutica	pH	Tipo de co-solvente e quantidade	Concentração de Ácido (M)	Conservante	Antioxidante (mg/mL)	Agente de enchimento na parte superior	% 12 semanas e 50°C		% Mistura de Equilíbrio de Isômeros
										isômero II	isômero I	
10D	70	1,5	100	5,40	50% PG	0,1M cítrico/ qs HCl	-	2,5 MTG	5% O2	9,24	87,14	96,38 3,62
11D	70	1,5	100	5,40	50% PG	0,1M cítrico/ qs HCl	-	-	ar	9,18	86,94	96,12 3,88
12D	70	1,5	100	5,40	50% PG	0,1M cítrico/ qs HCl	-	-	5% O2	9,18	86,92	96,10 3,90

Tabela 2 (Continuação)

Número de Experimento e Grupo	Tempo de Equil. (°C)	Tempo de Equil. (horas)	Concentração da mistura de equilíbrio de isômeros na comp. farmacêutica	pH	Tipo de co-solvente e quantidade	Concentração de Ácido (M)	Conservante	Antioxidante (mg/mL)	Agente de enchimento na parte superior	% 12 semanas e 50°C		% Mistura de Equilíbrio de isômeros	
										isômero I	isômero II		
13D	70	1,5	100	5,70	50% PG	0,1M cítrico/ qs HCl	-	5 MTG	10% O2	9,18	86,96	96,14	3,86
14D	70	1,5	100	5,10	50% PG	0,1M cítrico/ qs HCl	-	5 MTG	10% O2	9,20	87,05	96,25	3,75
15D	70	1,5	100	5,40	50% PG	0,05M cítrico/ qs HCl	-	5 MTG	10% O2	9,21	87,44	96,65	3,35

Tabela 2 (Continuação)

Número de Experiência e Grupo	Tempo de Equil. (°C)	Tempo de Equil. (horas)	Concentração da mistura de equilíbrio de isômeros na comp. farmacêutica	pH	Tipo de co-solvente e quantidade	Concentração de Ácido (M)	Conservante	Antioxidante (mg/mL)	Agente de enchimento na parte superior	% 12 semanas e 50°C		% Mistura de Equilíbrio de Isômeros	% Impurezas
										isômero II	isômero I		
16D	70	1,5	100	5,70	50% PG	0,025M citríco/ qs HCl	-	5 MTG	10% O ₂	9,11	87,51	96,62	3,38
17D	70	1,5	100	5,10	50% PG	0,025M citríco/ qs HCl	-	5 MTG	10% O ₂	9,11	86,79	95,90	4,10
18D	70	1,5	100	5,40	50% PG	0,025M citríco/ qs HCl	-	5 MTG	10% O ₂	9,07	87,86	96,93	3,07

Tabela 2 (Continuação)

Núme- ro de Expe- riência e Grupo	Temp de Equil. (°C)	Tempo de Equil. (horas)	Concentração da mistura de equilíbrio de isômeros na comp. farma- cêutica	pH	Tipo de co- solvente e quantidade Ácido (M)	Con- tração de ser- vante	Con- dante (mg/mL)	Agente de enchi- mento na parte superior	% 12 semanas e 50°C isômero II isômero I	% Mistu- ra de Equilí- brio de Isôme- ros	% Im- pure- zas
1E			30	5,0	50% glice- rol formal	qs cítrico	-	-	ar	99,7	
2E			30	5,0	50% N- metil pir- rolidona	qs cítrico	-	-	ar	94,9	

Exemplo 4

Prepararam-se cinqüenta e dois litros de uma composição farmacêutica injetável contendo 100 mg de mistura de equilíbrio de isômeros por mL de composição da forma que se segue. Adicionaram-se 16,584 kg de Água para Injeção (grau USP) aspergida com nitrogênio (grau NF) a um vaso de combinação de aço inoxidável e começou-se a agitação. Utilizou-se também nitrogênio como uma cobertura para se reduzir a exposição da solução ao oxigênio no vaso de combinação durante a fabricação. Adicionou-se aproximadamente 1 kg de ácido cítrico anídrico (grau USP) à água e agitou-se a mistura resultante até o ácido se dissolver. Adicionou-se subsequentemente à mistura 1,511 kg de uma solução a 10% (p/p) de ácido clorídrico (grau NF) em água (grau USP). Adicionou-se lentamente 5,357 kg de uma mistura contendo aproximadamente 97% de isômero I e isômero II (em uma razão de cerca de 99:1) e 3% de uma ou mais impurezas à mistura em agitação e deixou-se que se dissolvesse. O pH da solução resultante foi ajustado a $7,0 \pm 0,5$ por adição de 0,224 kg de uma solução a 10% (p/p) de ácido clorídrico em água. A equilibração dos isômeros I e II foi atingida por aquecimento da solução até $70^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$ durante 105 minutos. Uma vez completada a equilibração, como determinado utilizando-se HPLC, deixou-se arrefecer a solução até $25^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$, e adicionaram-se 26,008 kg de propilenoglicol (grau USP) à mistura em agitação. Depois do propilenoglicol ter completamente misturado, adicionaram-se 0,26 kg de monotioglicerol (grau NF) à solução, e o pH foi novamente ajustado a $5,4 \pm 0,3$ por adição de 2,349 kg de ácido clorídrico a 10% (p/p) em água. O volume final foi ajustado a 52,015 litros por adição de 1,843 kg de água. A composição resultante continha 100 mg da mistura de equilíbrio de isômeros por mL de composição, 500 mg por mL de propilenoglicol, ácido cítrico em uma concentração de 0,1 M e monotioglicerol em uma concentração de 5 mg/mL de composição.

A composição foi filtrada através de um pré-filtro de 6 microns e em seguida através de um filtro de esterilização final de 0,2 micron, o qual foi esterilizado por autoclavagem com calor úmido durante 60 minutos a

121°C e testado quanto à sua integridade utilizando-se o método em que se mantém a pressão antes da esterilização e após filtração. Esterilizaram-se e depirogenaram-se frascos de cristal de soro do tipo I de 20 mL (Wheaton Science Products, Millville, New Jersey) em um túnel de calor seco a 250°C durante 240 minutos. Despirogenaram-se tampas siliconizadas de clorobutila cinzentas de 20 mm 4432/50 (The West Company, Lionville, PA) por lavagem e esterilizaram-se por autoclavagem com aquecimento úmido durante 60 minutos a 121°C. Cada um dos 2.525 frascos foi cheio sob condições estéreis com 20 mL da composição resultante mais 0,6 mL de sobre-enchimento (20,6 mL/frasco corresponde a 2,06 g/frasco de unidade de potência da composição farmacêutica a 100 mg/mL de mistura de equilíbrio de isômeros baseada em uma potência real do lote da substância droga de 97,1%), os espaços no topo dos frascos foram limpos com nitrogênio e os frascos vedados com as tampas e outros vedantes (tampões de alumínio de 20 mm, produto n° 5120-1125, The West Company, Lionville, PA).

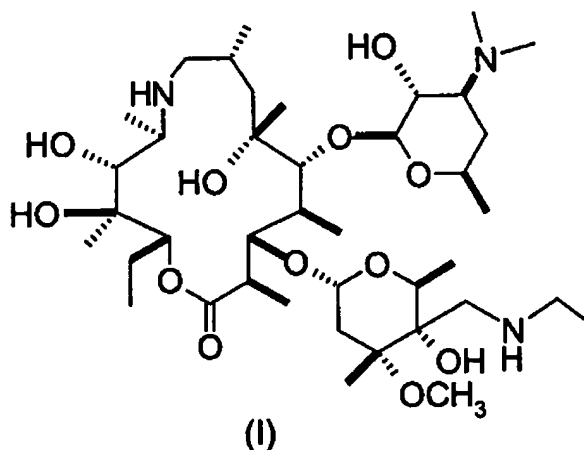
A presente invenção não deve ser limitada no seu escopo pelas modalidades específicas descritas nos Exemplos, que se pretende que sejam ilustrações de alguns aspectos da invenção. Quaisquer modalidades que sejam funcionalmente equivalentes estão dentro do escopo desta invenção. De fato, para os versados na técnica tornar-se-ão aparentes várias modificações da invenção para além daquelas aqui ilustradas e descritas e pretende-se que caiam dentro das reivindicações apensas.

Todas as referências aqui descritas são pela presente incorporadas por referência na sua totalidade.

REIVINDICAÇÕES

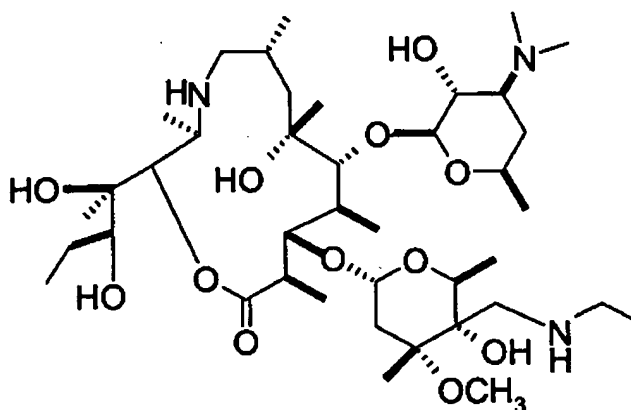
1. Composição compreendendo:

(a) o composto de fórmula I



(I)

e o composto de fórmula II:



(II)

5 em uma razão de cerca de 90% $\pm$ 4% até cerca de 10% $\pm$ 4%, respectivamente;

(b) água; e

(c) um ou mais ácidos presentes em uma concentração total desde cerca de 0,2 mmol até cerca de 1,0 mmol por mL de composição.

2. Método para obtenção da composição como definida na reivindicação 1, compreendendo a etapa de aquecimento até uma temperatura de cerca de 50°C até cerca de 90°C de uma mistura compreendendo:

(a) o composto de fórmula (I),

(b) água, e

15 (c) um ou mais ácidos em uma quantidade que varia desde cerca de 0,2 mmol até cerca de 1,0 mmol por mL da mistura;

em que o pH da mistura varia desde cerca de 5,0 até cerca de 8,0.

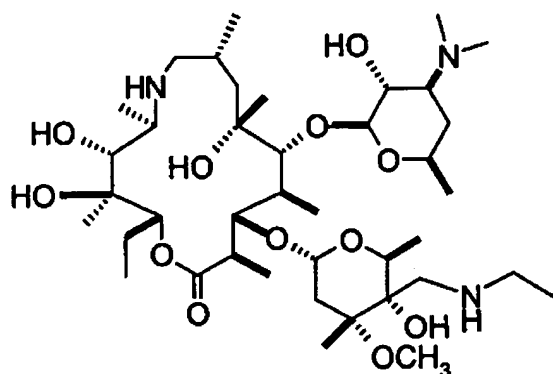
3. Método para o tratamento de uma infecção bacteriana ou protozoária em um mamífero, compreendendo a administração a um mamífero necessitado de tal tratamento de uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma composição como definida na reivindicação 1.

4. Método de acordo com a reivindicação 3, no qual a infecção bacteriana ou protozoária é selecionada do grupo constituído por doença respiratória bovina, doença respiratória suína, pneumonia, coccidiose, anaplasmosse e queratinite infecciosa.

5. Composição compreendendo:

(a) uma primeira mistura de:

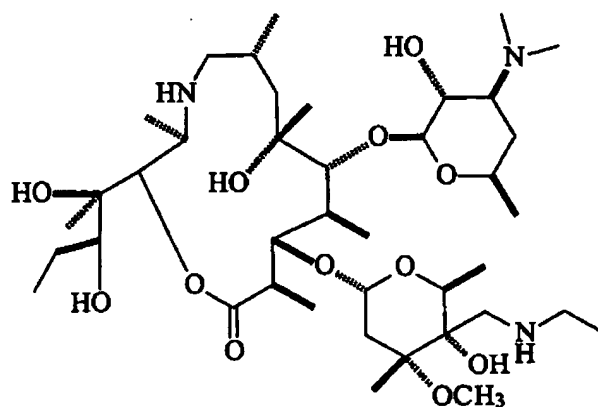
(i) composto de fórmula (I):



(I)

e

15 composto de fórmula (II):



(II)

em uma razão de cerca de $90\% \pm 4\%$ até cerca de $10\% \pm 4\%$, respectivamente;

(ii) água; e

(iii) um ou mais ácidos presentes em uma concentração total desde cerca de 0,2 mmol até cerca de 1,0 mmol por mL da primeira mistura; e

(b) um ou mais co-solventes miscíveis em água presentes em uma quantidade desde cerca de 250 até cerca de 750 mg por mL de composição.

6. Composição de acordo com a reivindicação 5, na qual o um ou mais ácidos são selecionados do grupo constituído por ácido acético, ácido benzenossulfônico, ácido cítrico, ácido bromídrico, ácido clorídrico, ácido láctico-D e -L, ácido metanossulfônico, ácido fosfórico, ácido succínico, ácido sulfúrico, ácido D-tartárico e -L, ácido p-toluenossulfônico, ácido adípico, ácido aspártico, ácido canforossulfônico, ácido 1,2-etanodissulfônico, ácido laurilsulfúrico, ácido gluco-heptônico, ácido glucônico, ácido 3-hidróxi-2-naftóico, ácido 1-hidróxi-2-naftóico, ácido 2-hidroxietanossulfônico, ácido málico, ácido múico, ácido nítrico, ácido naftalenossulfônico, ácido palmítico, ácido D-glucárico, ácido esteárico, ácido maléico, ácido malónico, ácido fumárico, ácido benzóico, ácido cólico, ácido etanossulfônico, ácido glicurônico, ácido glutâmico, ácido hipúrico, ácido lactobiônico, ácido lisínico, ácido mandélico, ácido napadisílico, ácido nicotínico, ácido poligalacturônico, ácido salicílico, ácido sulfossilicílico, ácido triptofânico, e misturas dos mesmos.

7. Composição de acordo com a reivindicação 6, na qual o um ou mais ácidos é ácido cítrico.

8. Composição de acordo com a reivindicação 7, na qual o ácido cítrico está presente em uma quantidade desde cerca de 0,02 mmol até cerca de 0,3 mmol por mL de composição.

9. Composição de acordo com a reivindicação 6, na qual o um ou mais ácidos são ácido cítrico e ácido clorídrico.

10. Composição de acordo com a reivindicação 9, na qual o áci-

do cítrico está presente em uma quantidade desde cerca de 0,02 mmol até cerca de 0,3 mmol por mL de composição e o ácido clorídrico está presente em uma quantidade suficiente para se alcançar um pH da composição de cerca de 5 até cerca de 6.

5 11. Composição de acordo com a reivindicação 5, na qual o um ou mais co-solventes miscíveis em água são selecionados do grupo constituído por etanol, isopropanol, éter monometílico de dietilenoglicol, éter butílico de dietilenoglicol, éter monoetílico de dietilenoglicol, éter dibutílico de dietilenoglicol, polietilenoglicol-300, polietilenoglicol-400, propilenoglicol, glicerina, 2-pirrolidona, N-metil 2-pirrolidona, glicerol formal, sulfóxido de dimetila, sebecato de dibutila, polissorbato 80, e misturas dos mesmos.

12. Composição de acordo com a reivindicação 11, na qual o um ou mais co-solventes miscíveis em água é propilenoglicol.

13. Composição de acordo com a reivindicação 12, na qual o propilenoglicol está presente em uma quantidade desde cerca de 450 até cerca de 550 mg por mL de composição.

14. Composição de acordo com a reivindicação 5, compreendendo ainda um ou mais antioxidantes presentes em uma quantidade desde cerca de 0,01 mg até cerca de 10 mg por mL de composição.

15 15. Composição de acordo com a reivindicação 14, na qual o um ou mais antioxidantes é selecionado do grupo constituído por bissulfito de sódio, sulfito de sódio, metabissulfito de sódio, tiosulfato de sódio, formaldeído sulfoxilato de sódio, ácido L-ascórbico, ácido eritórbico, acetilcisteína, cisteína, monotioglicerol, ácido tioglicólico, ácido tioláctico, tiouréia, ditio-
25 treitol, ditioeritreitol, glutatona, palmitato de ascorbila, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, ácido nordihidroguaiarético, galato de propila, α -tocoferol, e misturas dos mesmos.

16. Composição de acordo com a reivindicação 15, na qual o um ou mais antioxidantes é monotioglicerol.

30 17. Composição de acordo com a reivindicação 16, na qual o monotioglicerol está presente em uma quantidade desde cerca de 4 mg/mL até cerca de 6 mg/mL da composição.

18. Composição de acordo com a reivindicação 5, na qual a concentração da primeira mistura na composição varia desde cerca de 50 mg/mL até cerca de 200 mg/mL.

19. Composição de acordo com a reivindicação 18, na qual a
5 concentração da primeira mistura na composição varia desde cerca de 90 mg/mL até cerca de 110 mg/mL.

20. Composição de acordo com a reivindicação 19, na qual o ácido cítrico está presente em uma quantidade desde cerca de 0,02 mmol até cerca de 0,3 mmol por mL de composição e o ácido clorídrico está presente em uma quantidade suficiente para se alcançar um pH da composição
10 de cerca de 5 até cerca de 6; em que o propilenoglicol está presente em uma quantidade desde cerca de 450 até cerca de 550 mg por mL de composição; e em que o monotioglicerol está presente em uma quantidade desde cerca de 4 mg/mL até cerca de 6 mg/mL da composição.

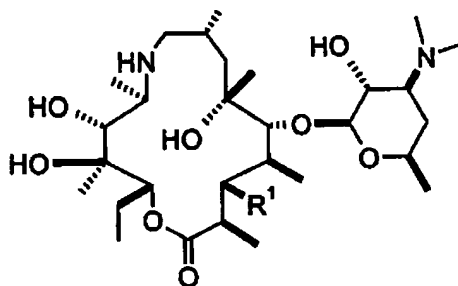
15 21. Método para se obter a composição como definida na reivindicação 5, compreendendo a etapa de aquecimento até uma temperatura de cerca de 50°C até cerca de 90°C de uma mistura compreendendo:

(a) o composto de fórmula (I);

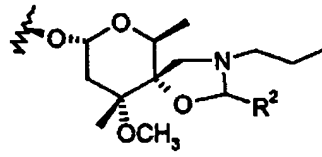
(b) água; e

20 (c) um ou mais ácidos em uma quantidade que varia desde cerca de 0,2 mmol até cerca de 1,0 mmol por mL da mistura; em que um ou mais co-solventes miscíveis em água são adicionados antes, durante ou depois da etapa de aquecimento, em uma quantidade desde cerca de 250 até cerca de 750 mg por mL de composição.

25 22. Composto de fórmula:



ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo; em que R¹ é OH ou



e em que R^2 é H ou CH_3 .

RESUMO

Patente de Invenção: "**COMPOSIÇÕES DE ANTIBIÓTICO AZALÍDEO**".

São descritas composições antibióticas compreendendo uma mistura de equilíbrio de isômeros azalídeos, água e um ou mais ácidos, e
5 métodos para a preparação de tais composições. As composições antibióticas podem ser vantajosamente estabilizadas por adição de um ou mais co-solventes miscíveis em água. Em uma modalidade preferida, o um ou mais co-solventes é propilenoglicol.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "COMPOSIÇÃO DE ANTIBIÓTICO AZALÍDEO, MÉTODO PARA OBTENÇÃO E USO DA MESMA".

Bases da Invenção

5 Esta invenção refere-se a composições farmacêuticas compreendendo uma mistura de equilíbrio de isômeros de um composto antibiótico azalídeo e a métodos para a sua preparação. Esta invenção refere-se ainda a formas estabilizadas das composições supramencionadas e a métodos de as estabilizar. Esta invenção refere-se ainda a métodos para o tratamento

10 de um mamífero compreendendo a administração a um mamífero necessitado de tal tratamento de uma composição farmacêutica da invenção.

Têm sido divulgados agentes antibióticos macrólidos ativos contra uma vasta variedade de infecções bacterianas e protozoárias em mamíferos, peixe e aves (ver, por exemplo, as Publicações de Patentes Internacionais WO 98/56802 e WO 99/12552). Estes compostos têm geralmente um anel de lactona macrocíclico de 12 a 22 átomos de carbono a qual estão ligadas uma ou mais porções de açúcar. Os antibióticos macrólidos atuam na subunidade ribossomal 50S para inibirem a síntese de proteínas em microorganismos. Exemplos de antibióticos macrólidos incluem lincomicina, azitromicina, que é um derivado da eritromicina A, e outros compostos azalídeos.

15

20

O desenvolvimento de composições farmacêuticas contendo compostos azalídeos como ingrediente ativo tem apresentado desafios significativos. Alguns azalídeos são capazes de isomerizarem em solução. Conseqüentemente, a produção de uma composição antibiótica reprodutível compreendendo um só isômero ou uma razão fixa de isômeros tem sido difícil. Em segundo lugar, uma composição contendo uma quantidade fixa de um isômero azalídeo particular pode variar ao longo do tempo. Em terceiro lugar, o anel de lactona e os açúcares de azalídeos são facilmente hidrolizados mesmo em ambientes de pH moderadamente ácido ou básico, diminuindo a potência e a durabilidade de armazenamento de uma composição antibiótica.

25

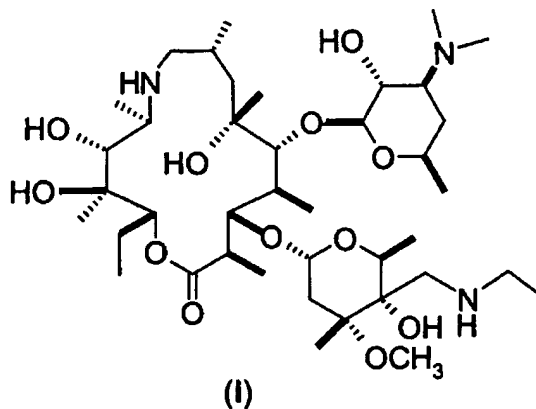
30

Conseqüentemente, é um objetivo da presente invenção propor-

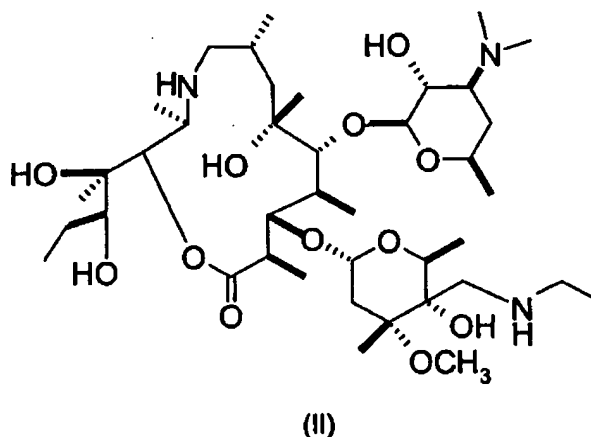
REIVINDICAÇÕES

1. Composição, caracterizada pelo fato de que compreende:

(a) o composto de fórmula I



e o composto de fórmula II:



5 em uma razão de cerca de $90\% \pm 4\%$ até cerca de $10\% \pm 4\%$, respectivamente;

(b) água; e

(c) um ou mais ácidos presentes em uma concentração total desde cerca de 0,2 mmol até cerca de 1,0 mmol por mL de composição.

2. Método para obtenção da composição como definida na reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que compreende a etapa de aquecimento até uma temperatura de cerca de 50°C até cerca de 90°C de uma mistura compreendendo:

(a) o composto de fórmula (I),

(b) água, e

15 (c) um ou mais ácidos em uma quantidade que varia desde cerca de 0,2 mmol até cerca de 1,0 mmol por mL da mistura;

em que o pH da mistura varia desde cerca de 5,0 até cerca de 8,0.

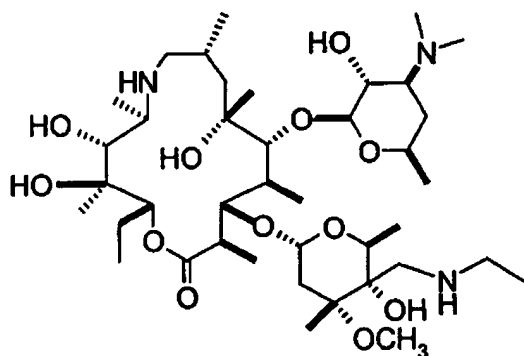
3. Método para o tratamento de uma infecção bacteriana ou protozoária em um mamífero, caracterizado pelo fato de que compreende a administração a um mamífero necessitado de tal tratamento de uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma composição como definida na reivindicação 1.

4. Método de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo fato de que a infecção bacteriana ou protozoária é selecionada do grupo constituído por doença respiratória bovina, doença respiratória suína, pneumonia, coccidiose, anaplasmosse e queratinite infecciosa.

5. Composição, caracterizada pelo fato de que compreende:

(a) uma primeira mistura de:

(i) composto de fórmula (I):

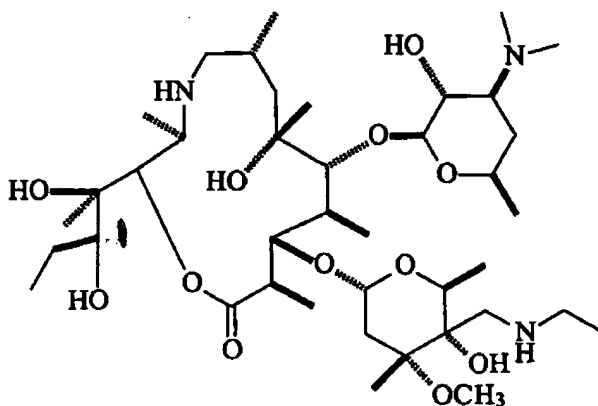


(I)

15

e

composto de fórmula (II):



(II)

em uma razão de cerca de $90\% \pm 4\%$ até cerca de $10\% \pm 4\%$, respectivamente;

(ii) água; e

(iii) um ou mais ácidos presentes em uma concentração total desde cerca de 0,2 mmol até cerca de 1,0 mmol por mL da primeira mistura; e

(b) um ou mais co-solventes miscíveis em água presentes em uma quantidade desde cerca de 250 até cerca de 750 mg por mL de composição.

6. Composição de acordo com a reivindicação 5, caracterizada pelo fato de que um ou mais ácidos são selecionados do grupo constituído por ácido acético, ácido benzenossulfônico, ácido cítrico, ácido bromídrico, ácido clorídrico, ácido láctico-D e -L, ácido metanossulfônico, ácido fosfórico, ácido succínico, ácido sulfúrico, ácido D-tartárico e -L, ácido p-toluenossulfônico, ácido adípico, ácido aspártico, ácido canforossulfônico, ácido 1,2-etanodissulfônico, ácido laurilsulfúrico, ácido gluco-heptônico, ácido glucônico, ácido 3-hidróxi-2-naftóico, ácido 1-hidróxi-2-naftóico, ácido 2-hidroxietanossulfônico, ácido málico, ácido mícico, ácido nítrico, ácido naltalenossulfônico, ácido palmítico, ácido D-glucárico, ácido esteárico, ácido maléico, ácido malónico, ácido fumárico, ácido benzóico, ácido cólico, ácido etanossulfônico, ácido glicurônico, ácido glutâmico, ácido hipúrico, ácido lactobiônico, ácido lisínico, ácido mandélico, ácido napadisílico, ácido nicotínico, ácido poligalacturônico, ácido salicílico, ácido sulfossalicílico, ácido triptofânico, e misturas dos mesmos.

7. Composição de acordo com a reivindicação 6, caracterizada pelo fato de que um ou mais ácidos é ácido cítrico.

8. Composição de acordo com a reivindicação 7, caracterizada pelo fato de que o ácido cítrico está presente em uma quantidade desde cerca de 0,02 mmol até cerca de 0,3 mmol por mL de composição.

9. Composição de acordo com a reivindicação 6, caracterizada pelo fato de que o um ou mais ácidos são ácido cítrico e ácido clorídrico.

10. Composição de acordo com a reivindicação 9, caracterizada

pelo fato de que o ácido cítrico está presente em uma quantidade desde cerca de 0,02 mmol até cerca de 0,3 mmol por mL de composição e o ácido clorídrico está presente em uma quantidade suficiente para se alcançar um pH da composição de cerca de 5 até cerca de 6.

5 11. Composição de acordo com a reivindicação 5, caracterizada pelo fato de que um ou mais co-solventes miscíveis em água são selecionados do grupo constituído por etanol, isopropanol, éter monometílico de dietilenoglicol, éter butílico de dietilenoglicol, éter monoetílico de dietilenoglicol, éter dibutílico de dietilenoglicol, polietilenoglicol-300, polietilenoglicol-400, 10 propilenoglicol, glicerina, 2-pirrolidona, N-metil 2-pirrolidona, glicerol formal, sulfóxido de dimetila, sebecato de dibutila, polissorbato 80, e misturas dos mesmos.

12. Composição de acordo com a reivindicação 11, caracterizada pelo fato de que um ou mais co-solventes miscíveis em água é propilenoglicol. 15

13. Composição de acordo com a reivindicação 12, caracterizada pelo fato de que o propilenoglicol está presente em uma quantidade desde cerca de 450 até cerca de 550 mg por mL de composição.

14. Composição de acordo com a reivindicação 5, caracterizada pelo fato de que compreende ainda um ou mais antioxidantes presentes em uma quantidade desde cerca de 0,01 mg até cerca de 10 mg por mL de composição. 20

15. Composição de acordo com a reivindicação 14, caracterizada pelo fato de que um ou mais antioxidantes é selecionado do grupo constituído por bissulfito de sódio, sulfito de sódio, metabissulfito de sódio, tiosulfato de sódio, formaldeído sulfoxilato de sódio, ácido L-ascórbico, ácido eritórbico, acetilcisteína, cisteína, monotioglicerol, ácido tioglicólico, ácido tioláctico, tiouréia, ditiotreitól, ditioeritreitól, glutatona, palmitato de ascorbila, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, ácido nordihidroguaiarético, galato de propila, α -tocoferol, e misturas dos mesmos. 25 30

16. Composição de acordo com a reivindicação 15, caracterizada pelo fato de que um ou mais antioxidantes é monotioglicerol.

17. Composição de acordo com a reivindicação 16, caracterizada pelo fato de que o monotioglicerol está presente em uma quantidade desde cerca de 4 mg/mL até cerca de 6 mg/mL da composição.

5 18. Composição de acordo com a reivindicação 5, caracterizada pelo fato de que a concentração da primeira mistura na composição varia desde cerca de 50 mg/mL até cerca de 200 mg/mL.

19. Composição de acordo com a reivindicação 18, caracterizada pelo fato de que a concentração da primeira mistura na composição varia desde cerca de 90 mg/mL até cerca de 110 mg/mL.

10 20. Composição de acordo com a reivindicação 19, caracterizada pelo fato de que o ácido cítrico está presente em uma quantidade desde cerca de 0,02 mmol até cerca de 0,3 mmol por mL de composição e o ácido clorídrico está presente em uma quantidade suficiente para se alcançar um pH da composição de cerca de 5 até cerca de 6; em que o propilenoglicol
15 está presente em uma quantidade desde cerca de 450 até cerca de 550 mg por mL de composição; e em que o monotioglicerol está presente em uma quantidade desde cerca de 4 mg/mL até cerca de 6 mg/mL da composição.

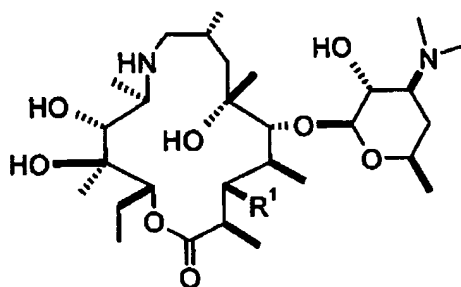
21. Método para se obter a composição como definida na reivindicação 5, caracterizado pelo fato de que compreende a etapa de aquecimento até uma temperatura de cerca de 50°C até cerca de 90°C de uma
20 mistura compreendendo:

(a) o composto de fórmula (I);

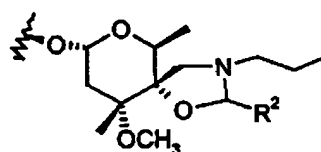
(b) água; e

(c) um ou mais ácidos em uma quantidade que varia desde cerca de 0,2 mmol até cerca de 1,0 mmol por mL da mistura;
25 em que um ou mais co-solventes miscíveis em água são adicionados antes, durante ou depois da etapa de aquecimento, em uma quantidade desde cerca de 250 até cerca de 750 mg por mL de composição.

22. Composto, caracterizado pelo fato de que apresenta a fórmula:
30



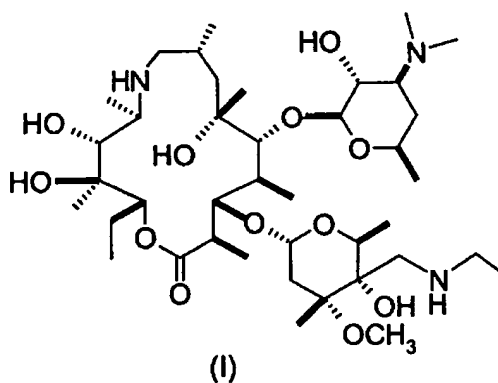
ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo; em que R^1 é OH ou



e em que R^2 é H ou CH_3 .

23. Uso de quantidades terapeuticamente eficazes de

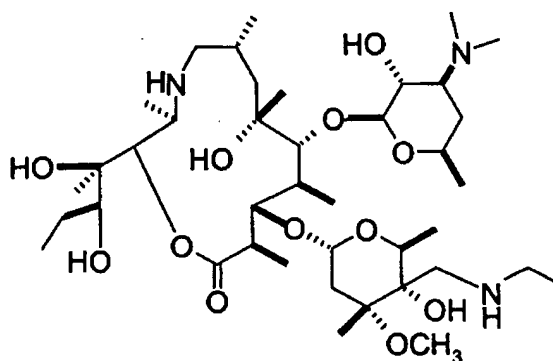
(a) um composto de fórmula I



(I)

5

(b) um composto de fórmula II:



(II)

caracterizado pelo fato de ser para a preparação de uma composição farmacêutica para o tratamento de uma infecção bacteriana ou protozoária em um mamífero.

RESUMO

Patente de Invenção: **"COMPOSIÇÃO DE ANTIBIÓTICO AZALÍDEO, MÉTODO PARA OBTENÇÃO E USO DA MESMA"**.

- 5 São descritas composições antibióticas compreendendo uma mistura de equilíbrio de isômeros azalídeos, água e um ou mais ácidos, e métodos para a preparação de tais composições. As composições antibióticas podem ser vantajosamente estabilizadas por adição de um ou mais co-solventes miscíveis em água. Em uma modalidade preferida, o um ou mais co-solventes é propilenoglicol.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**COMPOSIÇÃO DE ANTIBIÓTICO AZALÍDEO, MÉTODO PARA OBTENÇÃO E USO DA MESMA**".

Bases da Invenção

5 Esta invenção refere-se a composições farmacêuticas compreendendo uma mistura de equilíbrio de isômeros de um composto antibiótico azalídeo e a métodos para a sua preparação. Esta invenção refere-se ainda a formas estabilizadas das composições supramencionadas e a métodos de as estabilizar. Esta invenção refere-se ainda a métodos para o tratamento
10 de um mamífero compreendendo a administração a um mamífero necessitado de tal tratamento de uma composição farmacêutica da invenção.

Têm sido divulgados agentes antibióticos macrólidos ativos contra uma vasta variedade de infecções bacterianas e protozoárias em mamíferos, peixe e aves (ver, por exemplo, as Publicações de Patentes Internacionais WO 98/56802 e WO 99/12552). Estes compostos têm geralmente um anel de lactona macrocíclico de 12 a 22 átomos de carbono a qual estão ligadas uma ou mais porções de açúcar. Os antibióticos macrólidos atuam na subunidade ribossomal 50S para inibirem a síntese de proteínas em microorganismos. Exemplos de antibióticos macrólidos incluem lincomicina, azitromicina, que é um derivado da eritromicina A, e outros compostos azalídeos.
15
20

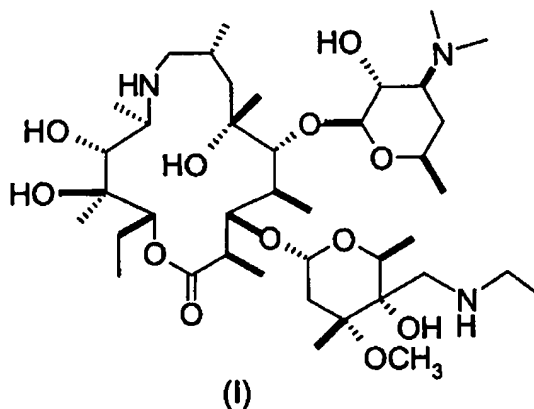
O desenvolvimento de composições farmacêuticas contendo compostos azalídeos como ingrediente ativo tem apresentado desafios significativos. Alguns azalídeos são capazes de isomerizarem em solução. Conseqüentemente, a produção de uma composição antibiótica reprodutível compreendendo um só isômero ou uma razão fixa de isômeros tem sido difícil. Em segundo lugar, uma composição contendo uma quantidade fixa de um isômero azalídeo particular pode variar ao longo do tempo. Em terceiro lugar, o anel de lactona e os açúcares de azalídeos são facilmente hidrolizados mesmo em ambientes de pH moderadamente ácido ou básico, diminuindo a potência e a durabilidade de armazenamento de uma composição antibiótica.
25
30

Conseqüentemente, é um objetivo da presente invenção propor-

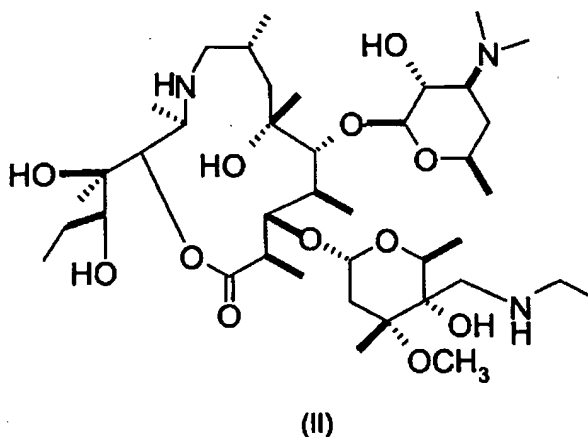
REIVINDICAÇÕES

1. Composição, caracterizada pelo fato de que compreende:

(a) o composto de fórmula I



e o composto de fórmula II:



5 em uma razão de cerca de 90% $\pm$ 4% até cerca de 10% $\pm$ 4%, respectivamente;

(b) água; e

(c) um ou mais ácidos presentes em uma concentração total desde cerca de 0,2 mmol até cerca de 1,0 mmol por mL de composição.

10 2. Método para obtenção da composição como definida na reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que compreende a etapa de aquecimento até uma temperatura de cerca de 50°C até cerca de 90°C de uma mistura compreendendo:

(a) o composto de fórmula (I),

(b) água, e

15 (c) um ou mais ácidos em uma quantidade que varia desde cerca de 0,2 mmol até cerca de 1,0 mmol por mL da mistura;

em que o pH da mistura varia desde cerca de 5,0 até cerca de 8,0.

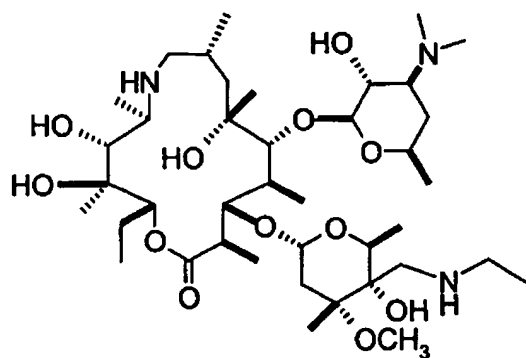
3. Método para o tratamento de uma infecção bacteriana ou protozoária em um mamífero, caracterizado pelo fato de que compreende a administração a um mamífero necessitado de tal tratamento de uma quantidade terapêuticamente eficaz de uma composição como definida na reivindicação 1.

4. Método de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo fato de que a infecção bacteriana ou protozoária é selecionada do grupo constituído por doença respiratória bovina, doença respiratória suína, pneumonia, coccidiose, anaplasmosse e queratinite infecciosa.

5. Composição, caracterizada pelo fato de que compreende:

(a) uma primeira mistura de:

(i) composto de fórmula (I):

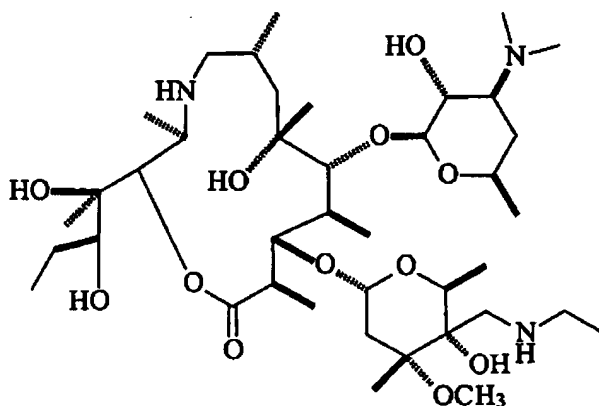


(I)

15

e

composto de fórmula (II):



(II)

em uma razão de cerca de $90\% \pm 4\%$ até cerca de $10\% \pm 4\%$, respectivamente;

(ii) água; e

(iii) um ou mais ácidos presentes em uma concentração total
5 desde cerca de 0,2 mmol até cerca de 1,0 mmol por mL da primeira mistura;
e

(b) um ou mais co-solventes miscíveis em água presentes em uma quantidade desde cerca de 250 até cerca de 750 mg por mL de composição.

10 6. Composição de acordo com a reivindicação 5, caracterizada pelo fato de que um ou mais ácidos são selecionados do grupo constituído por ácido acético, ácido benzenossulfônico, ácido cítrico, ácido bromídrico, ácido clorídrico, ácido láctico-D e -L, ácido metanossulfônico, ácido fosfórico, ácido succínico, ácido sulfúrico, ácido D-tartárico e -L, ácido p-
15 toluenossulfônico, ácido adípico, ácido aspártico, ácido canforossulfônico, ácido 1,2-etanodissulfônico, ácido laurilsulfúrico, ácido gluco-heptônico, ácido glucônico, ácido 3-hidróxi-2-naftóico, ácido 1-hidróxi-2-naftóico, ácido 2-hidroxietanossulfônico, ácido málico, ácido mícico, ácido nítrico, ácido naltalenossulfônico, ácido palmítico, ácido D-glucárico, ácido esteárico, ácido
20 maléico, ácido malónico, ácido fumárico, ácido benzóico, ácido cólico, ácido etanossulfônico, ácido glicurônico, ácido glutâmico, ácido hipúrico, ácido lactobiônico, ácido lisínico, ácido mandélico, ácido napadisílico, ácido nicotínico, ácido poligalacturônico, ácido salicílico, ácido sulfossalicílico, ácido triptofânico, e misturas dos mesmos.

25 7. Composição de acordo com a reivindicação 6, caracterizada pelo fato de que um ou mais ácidos é ácido cítrico.

8. Composição de acordo com a reivindicação 7, caracterizada pelo fato de que o ácido cítrico está presente em uma quantidade desde cerca de 0,02 mmol até cerca de 0,3 mmol por mL de composição.

30 9. Composição de acordo com a reivindicação 6, caracterizada pelo fato de que o um ou mais ácidos são ácido cítrico e ácido clorídrico.

10. Composição de acordo com a reivindicação 9, caracterizada

pelo fato de que o ácido cítrico está presente em uma quantidade desde cerca de 0,02 mmol até cerca de 0,3 mmol por mL de composição e o ácido clorídrico está presente em uma quantidade suficiente para se alcançar um pH da composição de cerca de 5 até cerca de 6.

5 11. Composição de acordo com a reivindicação 5, caracterizada pelo fato de que um ou mais co-solventes miscíveis em água são selecionados do grupo constituído por etanol, isopropanol, éter monometílico de dietilenoglicol, éter butílico de dietilenoglicol, éter monoetílico de dietilenoglicol, éter dibutílico de dietilenoglicol, polietilenoglicol-300, polietilenoglicol-400,
10 propilenoglicol, glicerina, 2-pirrolidona, N-metil 2-pirrolidona, glicerol formal, sulfóxido de dimetila, sebecato de dibutila, polissorbato 80, e misturas dos mesmos.

12. Composição de acordo com a reivindicação 11, caracterizada pelo fato de que um ou mais co-solventes miscíveis em água é propilenoglicol.
15

13. Composição de acordo com a reivindicação 12, caracterizada pelo fato de que o propilenoglicol está presente em uma quantidade desde cerca de 450 até cerca de 550 mg por mL de composição.

14. Composição de acordo com a reivindicação 5, caracterizada
20 pelo fato de que compreende ainda um ou mais antioxidantes presentes em uma quantidade desde cerca de 0,01 mg até cerca de 10 mg por mL de composição.

15. Composição de acordo com a reivindicação 14, caracterizada pelo fato de que um ou mais antioxidantes é selecionado do grupo constituído por bissulfito de sódio, sulfito de sódio, metabissulfito de sódio, tiosulfato de sódio, formaldeído sulfoxilato de sódio, ácido L-ascórbico, ácido eritórbico, acetilcisteína, cisteína, monotioglicerol, ácido tioglicólico, ácido tioláctico, tiouréia, ditiotreitól, ditioeritreitol, glutatona, palmitato de ascorbila, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, ácido nordihidroguaiarético,
25 galato de propila, α -tocoferol, e misturas dos mesmos.
30

16. Composição de acordo com a reivindicação 15, caracterizada pelo fato de que um ou mais antioxidantes é monotioglicerol.

17. Composição de acordo com a reivindicação 16, caracterizada pelo fato de que o monotioglicerol está presente em uma quantidade desde cerca de 4 mg/mL até cerca de 6 mg/mL da composição.

5 18. Composição de acordo com a reivindicação 5, caracterizada pelo fato de que a concentração da primeira mistura na composição varia desde cerca de 50 mg/mL até cerca de 200 mg/mL.

19. Composição de acordo com a reivindicação 18, caracterizada pelo fato de que a concentração da primeira mistura na composição varia desde cerca de 90 mg/mL até cerca de 110 mg/mL.

10 20. Composição de acordo com a reivindicação 19, caracterizada pelo fato de que o ácido cítrico está presente em uma quantidade desde cerca de 0,02 mmol até cerca de 0,3 mmol por mL de composição e o ácido clorídrico está presente em uma quantidade suficiente para se alcançar um pH da composição de cerca de 5 até cerca de 6; em que o propilenoglicol
15 está presente em uma quantidade desde cerca de 450 até cerca de 550 mg por mL de composição; e em que o monotioglicerol está presente em uma quantidade desde cerca de 4 mg/mL até cerca de 6 mg/mL da composição.

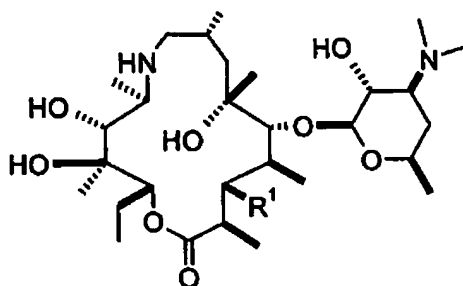
21. Método para se obter a composição como definida na reivindicação 5, caracterizado pelo fato de que compreende a etapa de aquecimento até uma temperatura de cerca de 50°C até cerca de 90°C de uma
20 mistura compreendendo:

(a) o composto de fórmula (I);

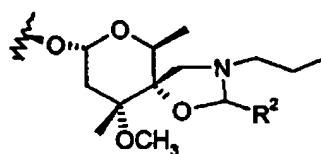
(b) água; e

(c) um ou mais ácidos em uma quantidade que varia desde cerca de 0,2 mmol até cerca de 1,0 mmol por mL da mistura;
25 em que um ou mais co-solventes miscíveis em água são adicionados antes, durante ou depois da etapa de aquecimento, em uma quantidade desde cerca de 250 até cerca de 750 mg por mL de composição.

22. Composto, caracterizado pelo fato de que apresenta a fórmula:
30



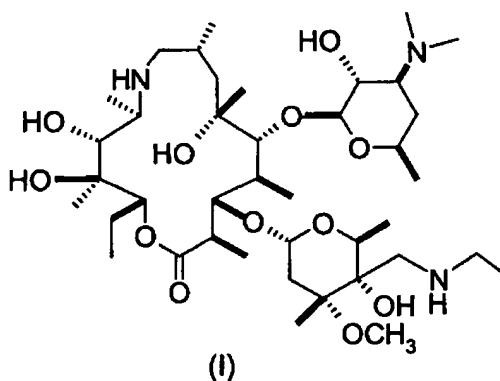
ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo; em que R^1 é OH ou



e em que R^2 é H ou CH_3 .

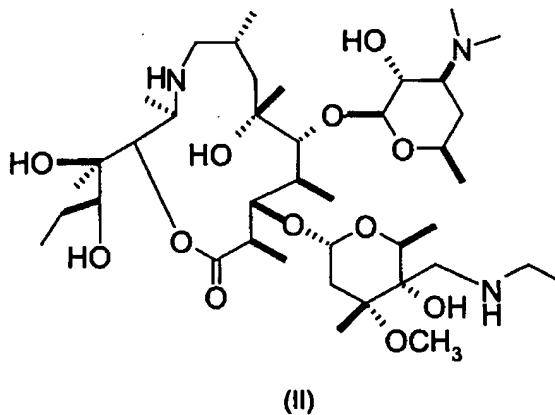
23. Uso de quantidades terapeuticamente eficazes de

(a) um composto de fórmula I



5

(b) um composto de fórmula II:



caracterizado pelo fato de ser para a preparação de uma composição farmacêutica para o tratamento de uma infecção bacteriana ou protozoária em um mamífero.

RESUMO

Patente de Invenção: **"COMPOSIÇÃO DE ANTIBIÓTICO AZALÍDEO, MÉTODO PARA OBTENÇÃO E USO DA MESMA".**

5 São descritas composições antibióticas compreendendo uma mistura de equilíbrio de isômeros azalídeos, água e um ou mais ácidos, e métodos para a preparação de tais composições. As composições antibióticas podem ser vantajosamente estabilizadas por adição de um ou mais co-solventes miscíveis em água. Em uma modalidade preferida, o um ou mais co-solventes é propilenoglicol.