



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0810192-2 B1



(22) Data do Depósito: 14/04/2008

(45) Data de Concessão: 03/09/2019

(54) Título: ASPARTATO DO ÁCIDO 1-CICLOPROPIL-6-FLUORO-7-(8-METOXIIMINO-2,6-DIAZA-ESPIRO [3,4] OCT-6-IL)-4-OXO-1,4-DIIDRO- [1,8] NAFTIRIDINA-3-CARBOXÍLICO, MÉTODO PARA PREPARAÇÃO DO MESMO E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA ANTIMICROBIANA COMPREENDENDO O MESMO.

(51) Int.Cl.: C07D 471/04; C07D 487/10; A61K 31/47; A61P 31/00.

(30) Prioridade Unionista: 13/04/2007 KR 10-2007-0036574.

(73) Titular(es): DONG WHA PHARMACEUTICAL CO. LTD..

(72) Inventor(es): JEI MAN RYU; DONG RACK CHOI; JIN YANG; SUE HYE YOON; SEUNG HWAN KIM; SAE KWANG KU.

(86) Pedido PCT: PCT KR2008002106 de 14/04/2008

(87) Publicação PCT: WO 2008/127060 de 23/10/2008

(85) Data do Início da Fase Nacional: 13/10/2009

(57) Resumo: ASPARTATO DO ÁCIDO 1-CICLOPROPIL-6-FLUORO- 7-(8-METOXIIMINO-2,6-DIAZA-ESPIRO[3,4]OCT-6-IL)-4-OXO-1,4-DIIDRO- [1,8]NAFTIRIDINA-3-CARBOXÍLICO, MÉTODO PARA PREPARAÇÃO DO MESMO E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA ANTIMICROBIANA COMPREENDENDO O MESMO São revelados sais de ácido aspártico do ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3,4]oct-6-il)-4-oxo-1,4- diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico, métodos para sua preparação, e composições farmacêuticas antimicrobianas compreendendo o mesmo.

“ASPARTATO DO ÁCIDO 1-CICLOPROPIL-6-FLUORO-7-(8-METOXIIMINO-2,6-DIAZA-ESPIRO[3.4]OCT-6-IL)-4-OXO-1,4-DIIDRO-[1,8]NAFTIRIDINA-3-CARBOXÍLICO, MÉTODO PARA PREPARAÇÃO DO MESMO E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA ANTIMICROBIANA COMPREENDENDO O MESMO”

Campo Técnico

[001] São revelados sais de ácido aspártico do ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico, métodos para preparação do mesmo, e composições farmacêuticas antimicrobianas compreendendo o mesmo.

Estado da Técnica

REFERÊNCIA CRUZADA

[002] O presente pedido reivindica o benefício do pedido Coreano 2007-36574, depositado em 13 de abril de 2007.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

[003] Os derivados do ácido carboxílico quinolona são agentes antimicrobianos, sendo altamente eficazes no tratamento de doenças infecciosas de humanos ou animais. Atualmente, agentes antimicrobianos à base de quinolona, tal como ciprofloxacina, norfloxacina e ofloxacina, são empregados no tratamento de doenças humanas. Esses agentes são extremamente ativos contra bactérias gram-negativas. No entanto, existe o problema de que esses agentes apresentam atividade fraca ou moderada contra bactérias gram-positivas. Diversos estudos foram realizados para determinar as limitações de vários agentes antimicrobianos à base de quinolona conhecidos. A esparfloxacina é um exemplo representativo de um agente antimicrobiano aprimorado que é ativo contra bactérias gram-positivas. Entretanto, esse composto apresenta fraca atividade contra o *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) e aumenta gradativamente o número de linhagens resistentes à quinolona, além dos estreptococos.

Revelação da Invenção

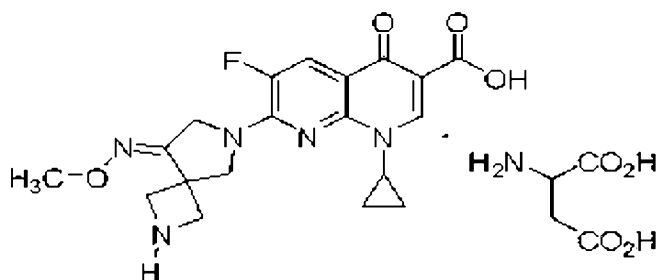
Problema Técnico

[004] As linhagens bacterianas mencionadas acima são bem conhecidas por serem patógenos responsáveis por causarem infecções respiratórias. Dessa forma, são necessários agentes antimicrobianos à base de quinolona, especialmente contra esses patógenos.

Solução Técnica

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

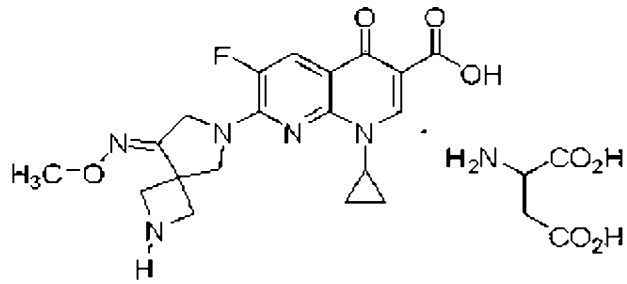
[005] Em um aspecto, revelam-se sais do ácido aspártico ou aspartato do ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico representado pela Fórmula (I):



Fórmula (I).

[006] Em algumas concretizações do presente aspecto, o ácido aspártico é selecionado dentre ácido D-aspártico, ácido L-aspártico, ácido DL-aspártico ou uma mistura não-racêmica do ácido D-aspártico e do ácido L-aspártico. Em algumas concretizações, o ácido aspártico é o ácido D-aspártico.

[007] Em outro aspecto, revelam-se sais de ácido aspártico farmacologicamente aceitáveis do ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico representado pela Fórmula (I):



Fórmula (I)

[008] Em algumas concretizações do presente aspecto, o ácido aspártico é selecionado dentre ácido D-aspártico, ácido L-aspártico, ácido DL-aspártico ou uma mistura não-racêmica do ácido D-aspártico e do ácido L-aspártico. Em algumas concretizações, o ácido aspártico é o ácido D-aspártico.

[009] Em outro aspecto, revelam-se métodos para preparar o sal de ácido aspártico ou aspartato do ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico, compreendendo reagir o ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico com ácido aspártico em um solvente.

[010] Em algumas concretizações desse aspecto, o solvente é pelo menos um selecionado dentre o grupo que consiste de acetato de etila, metanol, etanol, isopropanol, acetona, acetonitrilo, hexano, éter isopropílico e água. Em algumas concretizações desse aspecto, o solvente é selecionado dentre o grupo que consiste de acetato de etila, metanol, etanol, isopropanol, acetato, acetonitrilo, hexano, éter isopropílico, água e qualquer combinação dos mesmos. Em algumas concretizações, o solvente é etanol.

[011] Em algumas concretizações do presente aspecto, o ácido aspártico é selecionado dentre ácido D-aspártico, ácido L-aspártico, ácido DL-aspártico ou uma mistura não-racêmica do ácido D-aspártico e do ácido L-aspártico.

[012] Em algumas concretizações deste aspecto, o rendimento da preparação dos sais de ácido aspártico do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico é de pelo menos 70%. Em algumas concretizações, o rendimento é de pelo menos 80%. Em algumas concretizações, o rendimento é de pelo menos 85%. Em algumas concretizações, o rendimento é de pelo menos 90%.

[013] Em algumas concretizações deste aspecto, o rendimento da preparação dos sais de ácido aspártico do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico está entre aproximadamente 70% e aproximadamente 80%. Em algumas concretizações, o rendimento está entre aproximadamente 75% e aproximadamente 85%. Em algumas concretizações, o rendimento está entre aproximadamente 85% e aproximadamente 95%. Em algumas concretizações, o rendimento está entre aproximadamente 90% e aproximadamente 99%.

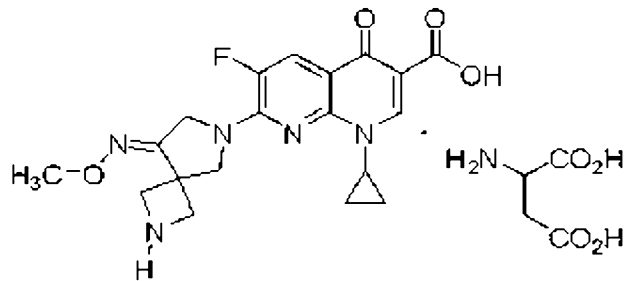
[014] Em outro aspecto, revelam-se composições farmacêuticas antimicrobianas compreendendo um sal de ácido aspártico ou aspartato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico.

[015] Em algumas concretizações do presente aspecto, o ácido aspártico é selecionado dentre ácido D-aspártico, ácido L-aspártico, ácido DL-aspártico ou uma mistura não-racêmica do ácido D-aspártico e do ácido L-aspártico. Em algumas concretizações, o ácido aspártico é o ácido D-aspártico.

[016] Em algumas concretizações do presente aspecto, a composição é formulada para injeção. Em algumas concretizações, a composição compreende uma formulação para injeção.

[017] Em outro aspecto, revelam-se métodos para tratamento de uma doença ou condição em um animal usando uma quantidade

terapeuticamente eficaz de pelo menos um sal de ácido aspártico farmacologicamente aceitável do ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico representado pela Fórmula (I):



Fórmula (I).

[018] Em algumas concretizações do presente aspecto, o ácido aspártico é selecionado dentre ácido D-aspártico, ácido L-aspártico, ácido DL-aspártico ou uma mistura não-racêmica do ácido D-aspártico e do ácido L-aspártico. Em algumas concretizações, o ácido aspártico é o ácido D-aspártico.

[019] Em outro aspecto, revela-se o uso de um composto da Fórmula (I) na produção de um medicamento para tratamento de uma doença ou condição em um animal. Em algumas concretizações do presente aspecto, o ácido aspártico é selecionado dentre ácido D-aspártico, ácido L-aspártico, ácido DL-aspártico ou uma mistura não-racêmica do ácido D-aspártico e do ácido L-aspártico. Em algumas concretizações, o ácido aspártico é o ácido D-aspártico.

[020] Em outro aspecto, revelam-se compostos da Fórmula (I) para uso em um método para tratamento de uma doença ou condição em um animal. Em algumas concretizações do presente aspecto, o ácido aspártico é selecionado dentre ácido D-aspártico, ácido L-aspártico, ácido DL-aspártico ou uma mistura não-racêmica do ácido D-aspártico e do ácido L-aspártico. Em algumas concretizações, o ácido aspártico é o ácido D-aspártico.

INCORPORAÇÃO POR REFERÊNCIA

[021] Todas as publicações e pedidos de patente mencionados neste relatório descritivo são por aqui incorporados para fins de referência, da mesma forma que se que cada publicação ou pedido de patente individual fosse indicado específica e individualmente como sendo incorporado por referência.

Melhor Modo de Concretização da Invenção

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[022] São revelados sais de ácido aspártico ou aspartato do ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico. Também revelados são métodos para preparar sais de ácido aspártico ou aspartato do ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico. Também reveladas são composições farmacêuticas antimicrobianas compreendendo um sal de ácido aspártico ou aspartato do ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico.

Glossário de Termos

[023] Salvo indicação em contrário, os seguintes termos usados neste pedido, inclusive no relatório e nas reivindicações, carregam as definições apresentadas abaixo. Deve-se notar que, como usado no relatório e nas reivindicações em anexo, as formas singulares "um", "uma", "o" e "a" incluem os referentes plurais, salvo indicação clara em contrário pelo contexto. A definição dos termos químicos convencionais pode ser encontrada em trabalhos de referência, como em Carey and Sundberg, *Advanced Organic Chemistry* 4th Ed., Vols. A (2000) and B (2001), Plenum Press, Nova Iorque, NY. Salvo indicação em contrário, empregam-se métodos convencionais de espectroscopia de massa, NMR, HPLC, química de proteínas, bioquímica, técnicas de DNA recombinante e farmacologia, dentro do conhecimento da técnica.

[024] Como utilizadas no presente relatório, as palavras e frases a seguir em geral possuem os significados como especificado abaixo, exceto quando o contexto em que elas são usadas indica outro significado.

[025] Os termos "opcional" e "opcionalmente", como usados na presente invenção, separados ou em combinação, significam que o evento ou circunstância descrita logo em seguida pode ou não ocorrer, mas não precisa ocorrer, e que a descrição inclui casos em que o evento ou circunstância ocorre e casos em que ele(a) não ocorre.

[026] O termo "grupo protetor", como usado na presente invenção, refere-se a um grupamento químico que bloqueia parte ou todos os grupamentos reativos e impede que tais grupos participem em reações químicas até que o grupo protetor seja removido. Os procedimentos e grupos específicos envolvidos são conhecidos pelos versados na técnica e podem ser facilmente encontrados em fontes de referência, tal como em Greene and Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 3rd Ed. (1999) John Wiley & Sons, Nova Iorque, NY, que é incorporado aqui na íntegra para fins de referência.

[027] Quando os grupos químicos são especificados por suas fórmulas químicas convencionais, escritas da esquerda para a direita, eles igualmente abrangem os substituintes quimicamente idênticos que resultariam da estrutura sendo escrita da direita para a esquerda; por exemplo, $-\text{CH}_2\text{O}-$ é equivalente a $-\text{OCH}_2-$.

[028] O termo "agente farmacêutico" se refere a qualquer agente que confira ou que se destine a conferir um efeito terapêutico e que seja usado ou indicado para uso como uma substância farmacêutica. Os agentes farmacêuticos podem ser usados no tratamento, diagnóstico, modulação ou prevenção de um estado doente ou sintoma deste. Os versados na técnica serão capazes de selecionar agentes farmacêuticos apropriados ao lidar com uma doença ou sintoma específico. Exemplos de agentes farmacêuticos contemplados dentro do âmbito da invenção são apresentados

nas seguintes referências (cujas revelações são aqui incorporadas para fins de referência): Lippincott e col., Remington's Pharmaceutical Sciences: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Ed., Williams and Wilkins Publishing, Baltimore (2000); e Lewis e col., Hawley's Condensed Chemical Dictionary, 14th Ed., John Wiley Publishing, Nova Iorque (2001).

[029] O termo "aceitável", no que diz respeito a uma formulação, composição ou ingrediente, conforme usado na presente invenção, quer dizer que não há nenhum efeito nocivo sobre a saúde geral do indivíduo sendo tratado.

[030] O termo "farmaceuticamente aceitável", como usado na presente invenção, sozinho ou em combinação, refere-se a um material que não anula a atividade biológica ou as propriedades do composto, e é relativamente atóxico. Dessa forma, um componente farmaceuticamente aceitável (tal como um sal, veículo, excipiente ou diluente) de uma composição de distribuição de agente farmacêutico contendo os compostos da Fórmula (I) devem ser (1) compatíveis com os demais ingredientes da composição de distribuição para distribuir o agente farmacêutico; e (2) quando a composição de distribuição se destina a uso terapêutico com um animal (por exemplo, um humano), não deve provocar efeitos colaterais adversos indevidos, tal como toxicidade, irritação e resposta alérgica. Os efeitos colaterais são indevidos quando seu risco sobrepuja o benefício oferecido pelo agente farmacêutico, isto é, o material pode ser administrado a um indivíduo sem provocar efeitos biológicos indesejáveis ou interagir de forma prejudicial com qualquer um dos componentes da composição em que ele está contido.

[031] O termo "sal farmaceuticamente aceitável" de um composto, como usado na presente invenção, refere-se a um sal que é farmaceuticamente aceitável. Um sal farmaceuticamente aceitável é um sal que retém a eficácia biológica e as propriedades dos compostos e que não é biologicamente ou de alguma outra forma indesejável. Em alguns casos, os compostos da Fórmula (I) são capazes de formar sais ácidos e/ou de base em

virtude da presença dos grupos amino e/ou carboxila ou grupos similares a estes. Os sais de adição de base farmacologicamente aceitáveis podem ser preparados a partir de bases inorgânicas e orgânicas. Os sais derivados de bases inorgânicas incluem, apenas a título de exemplo, sódio, potássio, lítio, amônio, cálcio e sais de magnésio. Os sais derivados de bases orgânicas incluem, sem a isto se limitar, sais de aminas primárias, secundárias e terciárias, tais como alquil aminas, dialquil aminas, trialkil aminas, alquil aminas substituídas, di(alquila substituída) aminas, tri(alquila substituída) aminas, alquenil aminas, dialquenil aminas, trialkenil aminas, alquenil aminas substituídas, di(alquenila substituída) aminas, tri(alquenila substituída) aminas, cicloalquil aminas, di(cicloalquil) aminas, tri(cicloalquil) aminas, (cicloalquil substituída) aminas, di(cicloalquila substituída) amine, tri(cicloalquila substituída) aminas, cicloalquenil aminas, di(cicloalquenil) aminas, tri(cicloalquenil) aminas, cicloalquenil amina substituída, di(cicloalquenila substituída) amina, tri(cicloalquenila substituída) aminas, aril aminas, diaril aminas, triaril aminas, heteroaril aminas, diheteroaril aminas, triheteroaril aminas, aminas heterocíclicas, aminas diheterocíclicas, aminas triheterocíclicas, di- e triaminas mistas, em que pelo menos dois dos substituintes na amina são diferentes e são selecionados dentre o grupo que consiste de alquila, alquila substituída, alquenila, alquenila substituída, cicloalquila, cicloalquila substituída, cicloalquenila, cicloalquenila substituída, arila, heteroarila, heterocíclica, e similares. Também inclusas estão aminas em que os dois ou três substituintes, junto com o amino nitrogênio, formam um grupo heterocíclico ou heteroarílico. Os sais ácidos de adição farmacologicamente aceitáveis podem ser preparados a partir de ácidos inorgânicos e orgânicos. Sais derivados de ácidos inorgânicos incluem ácido clorídrico, ácido bromídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, entre outros. Sais derivados de ácidos orgânicos incluem ácido acético, ácido propiônico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido málico, ácido malônico, ácido succínico, ácido maléico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido

cítrico, ácido benzóico, ácido cinâmico, ácido mandélico, ácido metanosulfônico, ácido etanosulfônico, ácido p-tolueno-sulfônico, ácido salicílico, e similares.

[032] O termo "pró-fármaco", como usado aqui, refere-se a um fármaco ou composto em que os processo metabólicos dentro do corpo convertem o fármaco ou composto em uma forma farmacologicamente ativa.

[033] O termo "combinação farmacêutica", como usado aqui, significa um produto que resulta da mistura ou combinação de mais de um ingrediente ativo e inclui tanto combinações fixas quanto não-fixas dos ingredientes ativos. O termo "combinação fixa" significa que os ingredientes ativos, por exemplo, pelo menos um composto da Fórmula (I) e um co-agente, são administrados a um paciente simultaneamente, na forma de uma entidade ou dosagem única. O termo "combinação não-fixa" significa que os ingredientes ativos, por exemplo, pelo menos um composto da Fórmula (I) e um co-agente, são administrados a um paciente como entidades separadas, tanto de forma simultânea quanto sequencial, sem nenhum limite de tempo interveniente específico, sendo que tal administração propicia níveis eficazes dos dois compostos no corpo do paciente. O último também se aplica à terapia com coquetéis, por exemplo, a administração de três ou mais ingredientes ativos.

[034] O termo "quantidade eficaz" ou "quantidade terapeuticamente eficaz", como usado na presente invenção, refere-se a uma quantidade suficiente de um agente ou composto sendo administrada, que poderá aliviar, até certa medida, um ou mais dos sintomas da doença ou condição sendo tratada, quando administrada a um mamífero que necessita desse tratamento. O resultado pode ser a redução e/ou o alívio das manifestações, sintomas ou causas de uma doença, ou qualquer outra alteração desejada de um sistema biológico. Por exemplo, uma "quantidade eficaz" para usos terapêuticos é a quantidade da composição compreendendo

um composto conforme revelado aqui necessário para se obter uma redução significativa do ponto de vista clínico em uma doença. A quantidade terapêuticamente eficaz irá variar, dependendo do paciente e da condição da doença sendo tratada, do peso e da idade do paciente, da gravidade da condição da doença, do composto específico, do regime de dosagem a ser seguido, dos tempos de administração, da forma de administração, dentre outros parâmetros, todos os quais podem ser prontamente determinados pelos versados na técnica. Uma quantidade eficaz apropriada em qualquer caso individual pode ser determinada usando técnicas, tal como um estudo de escalada de dose.

[035] O termo "excipiente" se refere a uma substância geralmente farmacologicamente inativa ou inerte usada como diluente ou veículo para um fármaco. Diferentes formas de administração de fármaco podem exigir um excipiente diferente e um "excipiente farmacologicamente aceitável" inclui um "veículo farmacologicamente aceitável". Por exemplo, comprimidos, pastilhas, pílulas, entre outros, podem conter excipientes incluindo um aglutinante, tal como goma tragacanto, acácia, amido de milho ou gelatina; um agente desintegrante, tal como amido de milho, amido de batata, ácido algínico; um lubrificante, tal como estearato de magnésio; um agente adoçante, tal como sucrose, lactose ou sacarina; e/ou um agente aromatizante, tal como hortelã-pimenta, óleo ou óleo de gaultéria ou aroma de cereja. As cápsulas podem conter um excipiente adicional, tal como um veículo líquido. Xaropes ou elixires podem conter excipientes incluindo um agente adoçante, tal como sucrose, um conservante tal como metil e propilparabenos, um corante e/ou aromatizante, tal como aroma de cereja ou laranja.

[036] O termo "aperfeiçoamento", conforme usado na presente invenção, significa um aumento ou prolongamento na potência ou duração de um efeito desejado. Sendo assim, com respeito ao aperfeiçoamento do efeito dos agentes terapêuticos, o termo "aperfeiçoamento" se refere à capacidade de aumentar ou prolongar, tanto em potência quanto

duração, o efeito de outros agentes terapêuticos em um sistema. Uma "quantidade de aperfeiçoamento eficaz", conforme usado na presente invenção, refere-se a uma quantidade adequada para aperfeiçoar o efeito de outro agente terapêutico em um sistema desejado.

[037] O termo "modular" ou "modulação", conforme usado aqui, refere-se à interação com um alvo, tanto direta quanto indiretamente, de modo a alterar a atividade do alvo, incluindo, apenas a título de exemplo, aperfeiçoar a atividade do alvo, inibir a atividade do alvo, limitar a atividade do alvo, ou estender a atividade do alvo.

[038] O termo "modulador", como usado aqui, refere-se a uma molécula que interage com um alvo, tanto direta quanto indiretamente. As interações incluem, sem a isto se limitar, as interações de um agonista e um antagonista.

[039] Os termos "co-administração" e similares, como usado na presente invenção, devem abranger a administração dos agentes terapêuticos selecionados a um único paciente, e devem incluir regimes de tratamento em que os agentes são administrados pela mesma via de administração, ou por outro diferente, ao mesmo tempo ou em momentos diferentes.

[040] O termo "composição farmacêutica", conforme usado na presente invenção, refere-se a uma mistura de um composto ativo com outros componentes químicos, tais como veículos, estabilizantes, diluentes, agentes de dispersão, agentes de suspensão, agentes espessantes e/ou excipientes.

[041] Os termos "veículo", "veículo farmacêuticamente aceitável" ou "excipiente farmacêuticamente aceitável", como usado aqui, referem-se a compostos químicos relativamente atóxicos ou agentes que facilitam a incorporação de um composto nas células ou tecidos. Eles incluem todo e qualquer solvente, meio de dispersão, revestimento, agente antibacteriano e antifúngico, agente de retardamento de absorção e isotônico,

entre outros. O uso de tais meios e agentes para substâncias farmacologicamente ativas é bem conhecido na técnica. Exceto quando o meio convencional ou agente é incompatível com o ingrediente ativo, seu uso nas composições terapêuticas é contemplado. Ingredientes ativos suplementares também podem ser incorporados nas composições.

[042] O termo "indivíduo" ou "paciente" abrange mamíferos e não-mamíferos. Exemplos de mamíferos incluem, sem restrição, qualquer membro da classe dos Mamíferos: humanos, primatas não-humanos, tais como chimpanzés, e outras espécies de macacos e símios; animais de fazenda, tal como gado, cavalos, ovelhas, cabras, suínos; animais domésticos, como coelhos, cachorros e gatos; animais de laboratório, inclusive roedores, tais como ratos, camundongos e preás, entre outros. Exemplos de não-mamíferos incluem, sem a isto se limitar, pássaros, peixes, entre outros. Em uma concretização dos métodos e composições apresentados aqui, o mamífero é um humano.

[043] Os termos "tratar", "tratamento" ou "tratamento", como usado na presente invenção, incluem aliviar pelo menos parcialmente, mitigar ou atenuar uma doença ou sintomas da condição, impedindo pelo menos parcialmente os sintomas adicionais, atenuando ou prevenindo as causas metabólicas subjacentes dos sintomas, inibindo pelo menos parcialmente a doença ou condição, por exemplo, impedindo o desenvolvimento da doença ou condição, aliviando pelo menos parcialmente a doença ou condição, causando pelo menos parcialmente a regressão da doença ou condição, aliviando pelo menos parcialmente uma condição causada pela doença ou condição, ou parando pelo menos parcialmente os sintomas da doença ou condição. Dessa forma, qualquer tratamento de uma doença em um mamífero deve proporcionar um efeito pelo menos parcialmente terapêutico ou profilático, incluindo todos, ou uma combinação do seguinte:

a) prevenir o princípio da doença, isto é, fazer com que os sintomas clínicos da doença não se desenvolvam;

a) retardar o princípio da doença, isto é, fazer com que os sintomas clínicos da doença se desenvolvam em um momento posterior;

c) reduzir a gravidade do princípio da doença, isto é, fazer com que os sintomas clínicos da doença se desenvolvam com menos gravidade;

d) aliviar uma doença existente, isto é, provocar a regressão dos sintomas clínicos;

d) deter uma doença existente, isto é, provocar a eliminação dos sintomas clínicos; e/ou

f) melhorar o funcionamento fisiológico normal.

[044] Os compostos da Fórmula (I) podem ser preparados como sais farmacologicamente aceitáveis formados quando um próton ácido presente no composto pai é substituído por um íon metálico, por exemplo um íon de metal alcalino, um íon de metal alcalino terroso, ou um íon de alumínio; ou coordenadas com uma base orgânica. Além disso, as formas salinas dos compostos revelados podem ser preparadas usando sais dos materiais iniciais ou intermediários.

[045] Os compostos da Fórmula (I) podem ser preparados como sais ácidos de adição farmacologicamente aceitáveis (que são um tipo de sal farmacologicamente aceitável) mediante a reação da forma de base livre do composto com um ácido orgânico ou inorgânico farmacologicamente aceitável, incluindo, sem a isto se limitar, ácidos inorgânicos, tal como ácido clorídrico, ácido bromídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico e ácido metafosfórico, entre outros; e ácidos orgânicos, tal como ácido acético, ácido propiônico, ácido hexanóico, ácido ciclo-pentanopropiônico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido láctico, ácido malônico, ácido succínico, ácido málico, ácido maléico, ácido fumárico, ácido Q-toluenosulfônico, ácido tartárico, ácido tri-fluoroacético, ácido cítrico, ácido benzóico, ácido 3-(4-hidroxibenzoil)benzóico, ácido cinâmico, ácido mandélico, ácido arilsulfônico, ácido metanosulfônico, ácido etanosulfônico, ácido 1,2-

etanodisulfônico, ácido 2-hidroxietanosulfônico, ácido benzenosulfônico, 2-naftalenosulfônico, 4-metilbicyclo-[2.2.2]oct-2-eno-l-carboxílico, ácido glicohéptônico, 4,4'-metilenobis-(ácido 3-hidroxi-2-eno-l-carboxílico), ácido 3-fenilpropionico, ácido trimetilacético, ácido butilacético terciário, ácido lauril sulfúrico, ácido glucônico, ácido glutâmico, ácido hidroxinaftóico, ácido salicílico, ácido esteárico e ácido mucônico.

[046] Como alternativa, os compostos da Fórmula (I) podem ser preparados como sais de adição de base farmacologicamente aceitáveis (que são um tipo de um sal farmacologicamente aceitável) mediante a reação da forma de ácido livre do composto com uma base orgânica ou inorgânica farmacologicamente aceitável, incluindo, sem se limitar a bases orgânicas, tal como etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trometamina, N-metilglucamina, entre outros, e bases inorgânicas, tal como hidróxido de alumínio, hidróxido de cálcio, hidróxido de potássio, carbonato de sódio, hidróxido de sódio, entre outros.

[047] Deve-se entender que uma referência a um sal farmacologicamente aceitável inclui as formas de adição de solvente ou formas de cristal do mesmo, particularmente solvatos ou polimorfos. Os solvatos contêm quantidades estequiométricas ou não-estequiométricas de um solvente, e podem ser formados durante o processo de cristalização com solventes farmacologicamente aceitáveis, tal como água, etanol, entre outros. Os hidratos são formados quando o solvente é água, ou alcoolatos são formados quando o solvente é álcool. Os solvatos dos compostos da Fórmula (I) podem ser convenientemente preparados ou formados durante os processos descritos na presente invenção. Apenas a título de exemplo, hidratos dos compostos da Fórmula (I) podem ser preparados de forma conveniente pela recristalização a partir de uma mistura de solvente orgânico/aquoso, usando solventes orgânicos, incluindo, mas sem se limitar a dioxano, tetraidrofurano ou metanol. Além disso, os compostos fornecidos na presente invenção pode existir na forma não-solvatada, assim como na forma solvatada. Em geral, as formas

solvatadas são consideradas equivalentes às formas não-solvatadas para os fins dos compostos e métodos apresentados na presente invenção.

[048] Os compostos da Fórmula (I) incluem formas cristalinas, também conhecidas como polimorfos.

[049] Os polimorfos incluem as diferentes configurações de empacotamento cristalino da mesma composição elemental de um composto. Os polimorfos geralmente possuem diferentes padrões de difração de raios-X, espectros de infravermelho, pontos e fusão, densidade, dureza, forma de cristal, propriedades ópticas e elétricas, estabilidade e solubilidade. Vários fatores, tal como o solvente de recristalização, a taxa de cristalização e a temperatura de armazenagem, podem fazer com que uma forma de cristal única predomine.

[050] Os compostos da Fórmula (I) podem ser preparados como pró-fármacos. Os pró-fármacos são geralmente precursores de fármaco que, após a administração a um indivíduo e a absorção subsequente, são convertidos em uma espécie ativa, ou em uma espécie mais ativa, via algum processo, tal como conversão por uma via metabólica. Alguns pró-fármacos possuem um grupo químico presente no pró-fármaco que o torna menos ativo e/ou confere solubilidade ou alguma outra propriedade ao fármaco. Uma vez que o grupo químico tenha sido clivado e/ou modificado a partir do pró-fármaco, o fármaco ativo é gerado. Os pró-fármacos são geralmente úteis, pois, em algumas situações, eles podem ser mais fáceis de administrar do que o fármaco pai. Eles podem, por exemplo, estar biodisponíveis por administração oral, ao contrário do fármaco pai. O pró-fármaco também pode ter melhor solubilidade em composições farmacêuticas do que no fármaco pai. Um exemplo, sem limitação, de um pró-fármaco, seria um composto da Fórmula (I), que é administrado como um éster (o "pró-fármaco") para facilitar a transmissão através de uma membrana celular quando a hidrossolubilidade é prejudicial à mobilidade, mas que é então metabolicamente hidrolizado para o ácido carboxílico, uma vez dentro da célula

quando a hidrossolubilidade for benéfica. Outro exemplo de pró-fármaco poderia ser um peptídeo curto (poliaminoácido) ligado a um grupo ácido, em que o peptídeo é metabolizado para revelar o grupamento ativo.

[051] Os pró-fármacos podem ser projetados como derivados de fármaco reversíveis, para uso como modificadores para melhorar o transporte do fármaco para tecidos de um sítio específico. A intenção dos pró-fármacos até o presente momento foi a de aumentar a hidrossolubilidade efetiva do composto terapêutico para direcionamento a regiões em que a água é o principal solvente. Consulte, por exemplo, Fedorak e col, *Am. J. Physiol.* (1995) 269, G210-218; McLoed e col, *Gastroenterol* (1994) 106, 405-413; Hochhaus e col, *Biomed. Chrom.* (1992) 6, 283-286; Larsen and Bundgaard, *Int. J. Pharmaceutics* (1987) 37, 87; Larsen e col, *Int. J. Pharmaceutics* (1988) 47, 103; Sinkula e col, *J. Pharm. Sci.* (1975) 64, 181-210; Higuchi and Stella, *Pro-drugs as Novel Delivery Systems*, Vol. 14 of the A.C.S. Symposium Series; and Roche, *Bioreversible Carriers in Drug Design* (1987) American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, todos incorporados aqui na íntegra.

[052] Além disso, os derivados de pró-fármaco dos compostos da Fórmula (I) podem ser preparados por métodos conhecidos pelos versados na técnica (para detalhes adicionais, vide, por exemplo, Saulnier e col, *Bioorg. and Med. Chem. Lett.* (1994) 4, p. 1985). Apenas a título de exemplo, pró-fármacos apropriados podem ser preparados mediante a reação de um composto derivatizado da Fórmula (I) com um agente de carbamilação adequado, tal como, mas sem se limitar a carbanocloridrato de 1,1-aciloxialquila, carbonato de para-nitrofenila, e similares. Formas de pró-fármaco dos compostos descritos aqui, em que o pró-fármaco é metabolizado *in-vivo* para produzir um derivado conforme especificado aqui, estão dentro do âmbito das reivindicações. De fato, alguns dos compostos descritos aqui podem ser um pró-fármaco para outro composto derivado ou ativo.

[053] Em outras concretizações, os compostos descritos aqui podem ser marcados isotopicamente (por exemplo, com um radioisótopo) ou por outros meios, incluindo, sem restrição, ao uso de cromóforos ou grupamentos fluorescentes, marcadores bioluminescentes, ou marcadores quimioluminescentes. Os compostos da Fórmula (I) podem possuir um ou mais centros quirais e cada centro pode existir na configuração R ou S. Os compostos apresentados aqui incluem todas as formas diastereoisoméricas, enantioméricas e epiméricas, bem como suas misturas apropriadas. Os compostos da Fórmula (I) podem ser preparados como seus estereoisômeros individuais reagindo de uma mistura racêmica do composto com um agente de resolução opticamente ativo para formar um par de compostos diastereoisoméricos, separando os diastereoisômeros e recuperando os enantiômeros opticamente puros. Embora a resolução dos enantiômeros possa ser realizada usando derivados diastereoisoméricos covalentes dos compostos descritos aqui, complexos dissociáveis são preferidos (por exemplo, sais diastereoisoméricos cristalinos). Os diastereoisômeros possuem propriedades físicas distintas (por exemplo, pontos de fusão, pontos de ebulição, solubilidades, reatividade, etc.) e podem ser facilmente separados aproveitando-se dessas dissimilaridades. Os diastereoisômeros podem ser separados por cromatografia quiral, ou, de preferência, por técnicas de separação/resolução baseando-se nas diferenças na solubilidade. O enantiômero opticamente puro é então recuperado, junto com o agente de resolução, por qualquer meio prático que não resulte em racemização. Uma descrição mais detalhada das técnicas aplicáveis à resolução dos estereoisômeros dos compostos a partir de sua mistura racêmica pode ser encontrada em Jacques, Collet and Wilen, *Enantiomers, Racemates and Resolutions* (1981) John Wiley & Sons, Nova Iorque, NY, aqui incorporada na íntegra para fins de referência.

[054] Além disso, os compostos e métodos apresentados aqui podem existir como isômeros geométricos. Os compostos e

métodos apresentados aqui incluem todos os isômeros *cis*, *trans*, *syn*, *anti*, *entgegen* (*E*) e *zusammen* (*Z*), bem como suas misturas apropriadas. Em algumas situações, os compostos podem existir como tautômeros. Todos os tautômeros estão incluídos dentro das fórmulas descritas aqui e são proporcionados pelos compostos e métodos da presente invenção. Em concretizações adicionais dos compostos e métodos proporcionados aqui, misturas de enantiômeros e/ou diastereoisômeros, provenientes de uma única etapa de preparação, combinação ou interconversão, também podem ser úteis para as aplicações ora descritas.

[055] O ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico apresenta excelente atividade antimicrobiana contra bactérias gram-positivas, bactérias gram-negativas, bactérias resistentes à meticilina, bactérias resistentes à penicilina, e as linhagens resistentes à quinolona conhecidas contra agentes antimicrobianos de quinolona. No entanto, a hidrossolubilidade desse agente é baixa (vide a Patente Coreana N^o 10-566346).

[056] Geralmente, é desejável que um ingrediente ativo usado em uma composição farmacêutica tenha alta solubilidade em água ou em solução aquosa ao longo de uma ampla faixa de valores de pH. Para aumentar a utilidade farmacêutica do ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico.

[057] Várias formas salinas do ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico são reveladas na Patente Coreana N^o 10-566346. Exemplos das formas salinas reveladas incluem um ácido inorgânico, tal como ácido clorídrico, ácido fosfórico e ácido sulfúrico; um ácido orgânico, tal como ácido metanosulfônico, ácido p-toluenosulfônico, ácido acético, ácido cítrico, ácido maléico, ácido succínico, ácido oxálico, ácido benzóico, ácido tartárico, ácido fumárico, ácido mandélico, ácido glucurônico; e um cátion, tal como íon

sódio e íon potássio. Pensava-se que as formas salinas fosfato e cloridrato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico tivessem a melhor solubilidade dentre os sais dos ácidos acima.

[058] A forma de sal cloridrato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico provoca peritonite fibrosa grave, não sendo, portanto, adequada para a formulação de injeção.

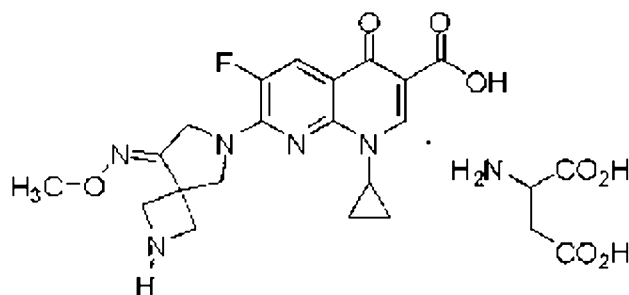
[059] O ácido aspártico (2-aminosuccínico) é um aminoácido de ocorrência natural estável que não possui características corrosivas ou de absorção de umidade, permitindo assim que ele seja manipulado com segurança. Uma vez que o ácido aspártico também se encontra disponível em quantidade, ele pode ser facilmente usado para produção em grande escala. Além disso, o ácido aspártico foi aprovado pela United States Food and Drug Administration para uso como aditivo alimentar ou componente farmacêutico.

[060] O ácido aspártico protege o fígado de certa toxicidade do fármaco, auxilia na absorção mineral e melhora as funções do DNA, RNA e do sistema imunológico.

[061] Foi descoberto que os sais de ácido aspártico ou aspartato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico podem ter solubilidade muito maior, excelentes propriedades físicas, tal como estabilidade, e o mais importante: praticamente não apresenta toxicidade, se comparado às formas salinas fosfato e cloridrato. Em algumas concretizações, os sais de ácido aspártico ou aspartato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico podem provocar peritonite fibrosa menos grave se comparado à forma de sal cloridrato. Em algumas concretizações, os sais de ácido aspártico ou aspartato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-

espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico podem apresentar maior dose letal (LD) se comparado à forma de sal cloridrato. Em algumas concretizações, os sais de ácido aspártico ou aspartato do ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico podem apresentar maior dose letal (LD) se comparado à forma de sal fosfato.

[062] Em um aspecto, são proporcionadas formas salinas de ácido aspártico do ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico representado pela Fórmula (I):



Fórmula (I)

[063] Em uma concretização adicional ou alternativa, o ácido aspártico é o ácido D-aspártico. Em uma concretização adicional ou alternativa, o ácido aspártico é o ácido L-aspártico. Em uma concretização adicional ou alternativa, o ácido aspártico é o ácido DL-aspártico ou uma mistura racêmica deste. Em ainda outra concretização adicional ou alternativa, o ácido aspártico é uma mistura não-racêmica do ácido D-aspártico e do ácido L-aspártico.

[064] O sal de ácido aspártico do ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico tem melhor solubilidade do que o ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico, o um sal cloridrato deste e/ou sal fosfato deste.

[065] Em algumas concretizações, a solubilidade do sal de ácido aspártico do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico é aproximadamente 4 a 8 vezes maior do que a do cloridrato em água destilada. Em algumas concretizações, a solubilidade do sal de ácido aspártico é de cerca de 5 a 6 vezes maior do que a do cloridrato em água destilada.

[066] Em algumas concretizações, a solubilidade do sal de ácido aspártico do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico é aproximadamente 15 a 30 vezes maior do que a do cloridrato em solução aquosa com um pH de 1.2. Em algumas concretizações, a solubilidade do sal de ácido aspártico é de cerca de 17 a 27 vezes maior do que a do cloridrato em solução aquosa com um pH de 1.2. Em algumas concretizações, a solubilidade do sal de ácido aspártico é de cerca de 17 a 30 vezes maior do que a do cloridrato em solução aquosa com um pH de 1.2.

[067] Em algumas concretizações, a solubilidade do sal de ácido aspártico do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico é aproximadamente 50 a 150 vezes maior do que a do cloridrato em solução aquosa com um pH de 6,8. Em algumas concretizações, a solubilidade do sal de ácido aspártico é de cerca de 69 a 130 vezes maior do que a do cloridrato em solução aquosa com um pH de 6,8. Em algumas concretizações, a solubilidade do sal de ácido aspártico é de cerca de 80 a 120 vezes maior do que a do cloridrato em solução aquosa com um pH de 6,8.

[068] Em algumas concretizações, o aspartato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico é estável à temperatura ambiente. Em algumas concretizações, o aspartato é mais estável do que a forma de sal cloridrato. Em algumas concretizações, o aspartato é mais estável do que a forma de sal fosfato

[069] Em algumas concretizações, o aspartato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico tem a maior dose letal média, se comparado aos outros sais (metanosulfonato, cloridrato, fosfato ou formato) quando dosado por via intraparenteral.

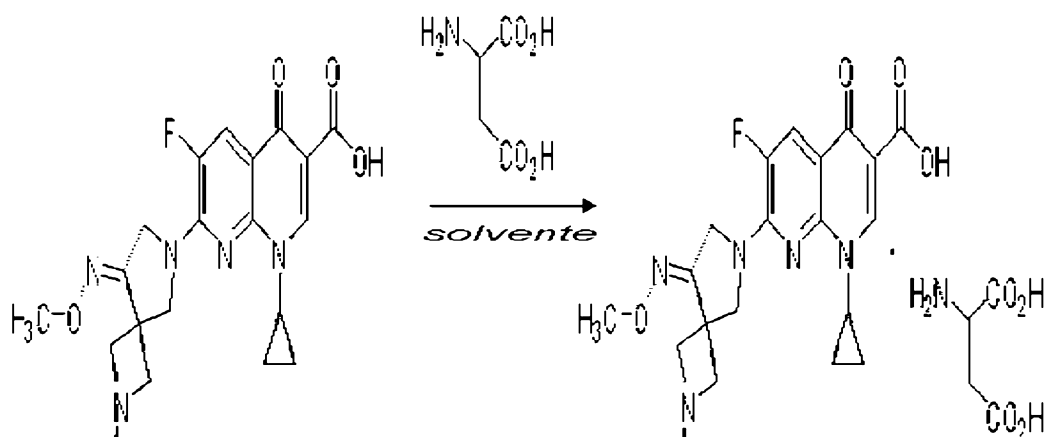
[070] Em algumas concretizações, o aspartato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico tem a maior dose letal aproximada, se comparado aos outros sais (metanosulfonato, cloridrato, fosfato ou formato) quando dosado por via intraparenteral.

[071] Em uma concretização, o aspartato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico pode ser uma forma cristalina. Em outra concretização, o aspartato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico pode ser uma forma não-cristalina.

[072] Em outro aspecto, são proporcionados métodos para preparar o aspartato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico da Fórmula (I).

[073] Em algumas concretizações, o método para preparação do aspartato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico compreende a etapa de reagir o ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico com ácido aspártico em um solvente. O método pode ser representado pelo Esquema 1.

Esquema 1



[074] O ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico pode ser dissolvido em um solvente orgânico inativo. O solvente orgânico inativo pode ser usado num volume de 10 a 20 vezes (mL) em relação ao peso (g) do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico. Pode-se adicionar ácido aspártico ao mesmo com um peso equivalente de 0,9 a 2,5, baseado em 1 peso equivalente do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico. Em algumas concretizações, o ácido aspártico pode ser adicionado a partir de um peso equivalente de 1,0 a 1,5. A reação do Esquema 1 pode ser realizada à temperatura de 30 a 70 °C. Em algumas concretizações, a reação do Esquema 1 é realizada à temperatura de 40 a 60 °C. A reação do Esquema 1 pode durar de 10 minutos a 5 horas. Em algumas concretizações, a reação do Esquema 1 dura de 30 minutos a 2 horas.

[075] Em uma concretização para a preparação do aspartato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico, ácido aspártico é o ácido D-aspártico. Em uma concretização adicional ou alternativa, o ácido aspártico é o ácido L-aspártico. Em uma concretização adicional ou alternativa, o ácido aspártico é o ácido DL-aspártico ou uma mistura racêmica deste. Em

ainda outra concretização adicional ou alternativa, o ácido aspártico é uma mistura não-racêmica do ácido D-aspártico e do ácido L-aspártico. Em algumas concretizações do método para a preparação do aspartato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico, o solvente é selecionado dentre o grupo que consiste de acetato de etila, metanol, etanol, isopropanol, acetona, acetonitrilo, hexano, éter isopropílico, água, e qualquer combinação destes. Em algumas concretizações, o solvente é etanol.

[076] Em outro aspecto, são proporcionadas composições farmacêuticas antimicrobianas compreendendo o sal de ácido aspártico do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico da Fórmula (I). Em algumas concretizações, o ácido aspártico é selecionado dentre ácido D-aspártico, ácido L-aspártico, ácido DL-aspártico ou uma mistura não-racêmica do ácido D-aspártico e do ácido L-aspártico.

[077] Para administração, a composição farmacêutica pode ser preparada incluindo pelo menos um veículo farmacêuticamente aceitável, além dos ingredientes ativos como descrito acima. Exemplos do veículo farmacêuticamente aceitável incluem solução salina, água estéril, solução de Ringer, solução salina tamponada, solução de dextrose, solução de maltodextrina, glicerol, etanol e uma mistura de dois ou mais dos mesmos. Se necessário, a composição também pode conter outros aditivos convencionais, tais como antioxidantes, tampões e agentes bacteriostáticos. Além do mais, a composição pode adicionalmente conter diluentes, dispersantes, surfactantes, aglutinantes e lubrificantes de modo a formulá-la em formulações injetáveis, tal como uma solução aquosa, suspensão e emulsão, pílulas, cápsulas, grânulos e comprimidos. Além do mais, a composição pode ser formulada dependendo das doenças específicas e seus componentes, usando os métodos descritos em Remington's Pharmaceutical Science, Mack Publishing Company, Easton PA.

[078] A composição desse aspecto pode ser administrada por via oral ou parenteral (por exemplo, aplicação intravenosa, subcutânea, intraperitoneal ou tópica). A Fórmula (I) pode ser administrada a uma dosagem diária de cerca de 1 a 100 mg/Kg, de preferência de 2 a 20 mg/Kg, uma ou várias vezes por dia.

[079] A composição da invenção pode ser usada sozinha ou em combinação com outros agentes terapêuticos. Em algumas concretizações, a composição está em combinação com pelo menos um outro agente antimicrobiano.

Composição Farmacêutica/Formulação/Administração

[080] O termo "composição farmacêutica", conforme usado na presente invenção, refere-se a uma mistura de pelo menos um composto da Fórmula (I) com outros componentes químicos, tais como veículos, estabilizantes, diluentes, agentes de dispersão, agentes de suspensão, agentes espessantes e/ou excipientes. A composição farmacêutica facilita a administração do composto a um organismo. Composições farmacêuticas contendo pelo menos um composto da Fórmula (I) podem ser administradas em quantidades terapêuticamente eficazes como composições farmacêuticas por qualquer forma e via convencional conhecida na técnica, incluindo, mas sem a isto se limitar: administração por via intravenosa, oral, retal, aerossol, parenteral, oftálmica, pulmonar, transdérmica, vaginal, ótica, nasal e tópica.

[081] Pode-se administrar as composições farmacêuticas em um local em vez de maneira sistêmica, por exemplo, via a injeção do composto diretamente em um órgão, geralmente em uma formulação de liberação sustentada ou de depósito. Além disso, pode-se administrar composições farmacêuticas contendo pelo menos um composto da Fórmula (I) em um sistema de distribuição de fármaco direcionado, por exemplo, em uma lipossoma revestida com anticorpo específico do órgão.

[082] As lipossomas serão direcionadas para e absorvidas seletivamente pelo órgão. Além disso, composições farmacêuticas contendo pelo menos um composto da Fórmula (I) podem ser fornecidas na forma de formulações de liberação rápida, na forma de formulações de liberação estendida, ou na forma de formulações de liberação intermediária.

[083] Para administração oral, os compostos da Fórmula (I) podem ser rapidamente formulados combinando-se os compostos ativos com veículos farmacêuticamente aceitáveis ou excipientes bem conhecidos na técnica. Tais veículos permitem que os compostos descritos aqui sejam formulados como comprimidos, pós, pílulas, drágeas, cápsulas, líquidos, géis, xaropes, elixires, pastas, suspensões, e similares, para ingestão oral pelo paciente a ser tratado.

[084] As preparações farmacêuticas para uso oral podem ser obtidas pela mistura de um ou mais excipientes sólidos com um ou mais dos compostos descritos aqui, opcionalmente moendo a mistura resultante, e processando a mistura de grânulos, após adicionar auxiliares adequados, se desejado, para obter núcleos de comprimidos ou drágeas. Excipientes adequados incluem, em particular, cargas como açúcares, incluindo lactose, sucrose, manitol ou sorbitol; preparações de celulose, tal como, por exemplo: amido de milho, amido de trigo, amido de arroz, amido de batata, gelatina, goma tragacanto, metilcelulose, celulose microcristalina, hidroxipropilmetilcelulose, carboximetilcelulose sódica; ou outros, tal como: polivinilpirrolidona (PVP ou povidona) ou fosfato de cálcio. Se desejado, podem ser adicionados agentes desintegrantes, tal como croscarmelose sódica reticulada, polivinilpirrolidona, ágar ou ácido algínico ou um sal deste, tal como alginato de sódio.

[085] Os núcleos de drágeas são providos de revestimentos adequados. Para esse fim, podem ser usadas soluções de açúcar concentradas, que podem opcionalmente conter goma arábica, talco, polivinilpirrolidona, gel carbopol, polietileno glicol e/ou dióxido de titânio,

soluções de laca e solventes orgânicas adequados ou misturas de solventes. Corantes ou pigmentos podem ser adicionados aos revestimentos de comprimido ou drágea para identificação ou para caracterizar diferentes combinações das doses do composto ativo.

[086] As preparações farmacêuticas que podem ser usadas oralmente incluem cápsulas duras feitas de gelatina, assim como cápsulas macias, seladas, feitas de gelatina e um plastificante, tal como glicerol ou sorbitol. As cápsulas duras podem conter os ingredientes ativos em mistura com uma carga, tal como lactose, aglutinantes, tais como amidos, e/ou lubrificantes, tal como talco ou estearato de magnésio, e, opcionalmente, estabilizantes. Nas cápsulas macias, os compostos ativos podem ser dissolvidos ou suspensos em líquidos adequados, tais como óleos graxos, parafina líquida, ou polietileno glicóis líquidos. Além disso, podem ser adicionados estabilizantes. Todas as formulações para administração oral devem estar em dosagens adequadas para tal administração.

[087] Para administração bucal ou sublingual, as composições podem assumir a forma de comprimidos, pastilhas expectorantes ou géis formulados da maneira convencional. As injeções parenterais podem envolver injeção em bolus ou infusão contínua. As composições farmacêuticas da Fórmula (I) podem estar numa forma adequada para injeção parenteral, como suspensões estéreis, soluções ou emulsões em veículos oleosos ou aquosos, e podem conter agentes de formulação, tais como agentes de suspensão, agentes estabilizantes e/ou agentes dispersantes. As formulações farmacêuticas para administração parenteral incluem soluções aquosas dos compostos ativos na forma hidrossolúvel. Além disso, suspensões dos compostos ativos podem ser preparadas como suspensões de injeção oleosas apropriadas. Solventes ou veículos lipofílicos adequados incluem óleos graxos, tal como óleo de gergelim, ou ésteres de ácidos graxos sintéticos, por exemplo, oleato de etila ou triglicerídeos, ou lipossomas. As suspensões de injeção aquosa podem conter substâncias que aumentam a viscosidade da suspensão,

tal como carboximetil celulose sódica, sorbitol ou dextrano. Opcionalmente, a suspensão também pode conter estabilizantes ou agentes adequados que aumentem a solubilidade dos compostos para permitir a preparação de soluções altamente concentradas. Como alternativa, os ingredientes ativos podem estar na forma de pó para constituição com um veículo adequado, por exemplo, água estéril destituída de pirogênio, antes do uso.

[088] Os compostos da Fórmula (I) podem ser administrados por via tópica e podem ser formulados em uma variedade de composições administráveis por via tópica, tais como soluções, suspensões, loções, géis, pastas, bálsamos, cremes ou unguentos. Tais composições farmacêuticas podem conter solubilizantes, estabilizantes, agentes acentuadores de tonicidade, tampões e conservantes.

[089] As formulações próprias para administração transdérmica dos compostos da Fórmula (I) podem empregar dispositivos de administração transdérmica ou adesivos de administração transdérmica, e podem ser emulsões lipofílicas ou soluções aquosas tamponadas, dissolvidas e/ou dispersas em um polímero ou adesivo. Tais adesivos podem ser construídos para distribuição contínua, pulsátil ou sob demanda dos agentes farmacêuticos. Além disso, a administração transdérmica dos compostos da Fórmula (I) pode ser realizada por meio de adesivos iontoforéticos e similares. Além disso, os adesivos transdérmicos podem propiciar a administração controlada dos compostos da Fórmula (I). A velocidade de absorção pode ser reduzida usando membranas de controle de velocidade ou aprisionando o composto dentro de uma matriz polimérica ou gel. Inversamente, pode-se utilizar acentuadores de absorção para aumentar a absorção. Um acentuador de absorção ou veículo pode incluir solventes absorvíveis aceitáveis do ponto de vista farmacêutico para auxiliar na passagem através da pele. Por exemplo, os dispositivos transdérmicos estão na forma de uma bandagem compreendendo um membro de suporte, um reservatório contendo o composto, opcionalmente com veículos, opcionalmente uma barreira de

controle de velocidade para distribuir o composto à pele do hospedeiro a uma velocidade controlada e predeterminada durante um período de tempo prolongado, e meios para fixar o dispositivo na pele.

[090] Para administração por inalação, os compostos da Fórmula (I) podem estar numa forma tal como aerossol, vapor ou pó. As composições farmacêutica compreendendo pelo menos um composto da Fórmula (I) podem ser distribuídas adequadamente na forma de apresentação de spray aerossol a partir de pacotes ou nebulizadores pressurizados, com o uso de um propelente apropriado, por exemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoretano, dióxido de carbono ou outro gás adequado. No caso de um aerossol pressurizado, a unidade de dosagem pode ser determinada por meio de uma válvula para distribuir uma quantidade medida. Cápsulas e cartuchos, por exemplo, de gelatina para uso em um inalador ou insuflador podem ser formulados contendo uma mistura em pó do composto e uma base de pó adequada, tal como lactose ou amido.

[091] Os compostos da Fórmula (I) também podem ser formulados em composições retais, tais como enemas, géis retais, espumas retais, aerossóis retais, supositórios, supositórios gelatinosos ou enemas de retenção, contendo bases de supositório convencionais, tal como manteiga de cacau ou outros glicerídeos, assim como polímeros sintéticos, tal como polivinilpirrolidona, PEG, entre outros. Nas formas de supositório das composições, uma cera de baixo de ponto de fusão, tal como, mas sem a isto se restringir, uma mistura de glicerídeos de ácidos graxos, opcionalmente em combinação com manteiga de cacau, é primeiro derretida.

[092] Ao praticar os métodos de tratamento ou uso apresentados aqui, quantidades terapeuticamente eficazes dos compostos da Fórmula (I) apresentados aqui são administradas em composições farmacêuticas a um mamífero que possui uma doença ou condição a ser tratada. De preferência, o mamífero é um humano. Uma quantidade terapeuticamente eficaz pode variar bastante, dependendo da gravidade da

doença, da idade e da saúde relativa do paciente, da potência do composto utilizado, e de outros fatores. Os compostos podem ser usados separadamente ou em combinação com um ou mais agentes terapêuticos como componentes de misturas.

[093] As composições farmacêuticas podem ser formuladas da maneira convencional usando um ou mais veículos fisiologicamente aceitáveis compreendendo excipientes e auxiliares que facilitam o processamento dos compostos ativos em preparações que podem ser usadas farmaceuticamente. A formulação adequada depende da via de administração escolhida. Qualquer uma das técnicas, veículos e excipientes conhecidos pode ser usada conforme apropriado e entendido na técnica. Composições farmacêuticas compreendendo pelo menos um composto da Fórmula (I) podem ser produzidas da maneira convencional, tal como, por exemplo, por meio de mistura convencional, processos de dissolução, granulação, produção de drágeas, levigação, emulsificação, encapsulação, aprisionamento ou compressão.

[094] As composições farmacêuticas irão incluir pelo menos um veículo, diluente ou excipiente aceitável do ponto de vista farmacêutico e pelo menos um composto da Fórmula (I) como descrito aqui como ingrediente ativo na forma de ácido livre ou base livre, ou em uma forma de sal aceitável do ponto de vista farmacêutico. Além disso, os métodos e composições farmacêuticas descritos aqui incluem o uso de óxidos JV, formas cristalinas (também conhecidas como polimorfos), assim como metabólitos ativos desses compostos tendo o mesmo tipo de atividade. Em algumas situações, os compostos podem existir como tautômeros. Todos os tautômeros estão incluídos dentro do âmbito dos compostos apresentados na presente invenção. Além do mais, os compostos descritos aqui podem existir na forma não-solvatada, assim como na forma solvatada, com solventes farmaceuticamente aceitáveis, tal como água, etanol, e similares. As formas solvatadas dos compostos apresentados aqui também são consideradas como

sendo reveladas na presente invenção. Além disso, as composições farmacêuticas podem incluir outros agentes medicinais ou farmacêuticos, veículos, adjuvantes, tais como agentes conservantes, estabilizantes, umectantes ou emulsificantes, promotores de solução, sais para regular a pressão osmótica e/ou tampões. Além disso, as composições farmacêuticas também podem conter outras substâncias de valor terapêutico.

[095] Métodos para a preparação de composições compreendendo os compostos descritos aqui incluem formular os compostos com um ou mais excipientes ou veículos inertes farmacêuticamente aceitáveis para formar um sólido, semi-sólido ou líquido. Composições sólidas incluem, sem a isto se limitar, pós, comprimidos, grânulos dispersíveis, cápsulas, cápsulas medicamentosas e supositórios. Composições líquidas incluem soluções em que um composto é dissolvido, emulsões compreendendo um composto, ou uma solução contendo lipossomas, micelas ou nanopartículas compreendendo um composto conforme revelado no presente documento. Composições semi-sólidas incluem, sem restrição, géis, suspensões e cremes. As composições podem estar em soluções ou suspensões líquidas, formas sólidas adequadas para solução ou suspensão em um líquido antes do uso, ou como emulsões. Essas composições também podem conter quantidades menores de substâncias auxiliares, atóxicas, tais como agentes umedecedores ou emulsificantes, agentes tamponadores de pH, entre outros.

[096] Um resumo das composições farmacêuticas descritas aqui pode ser encontrado, por exemplo, em Remington, *The Science and Practice of Pharmacy*, 19th Ed. (1995) Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania.; Hoover, *Remington's Pharmaceutical Sciences* (1975) Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania; Liberman and Lachman, *Pharmaceutical Dosage Forms* (1980) Marcel Decker, New York, N. Y.; e em Lippincott, Williams & Wilkins, *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 7th Ed. (1999), todos os quais são aqui incorporados por referência na íntegra.

[097] Os compostos de acordo com a revelação são eficazes ao longo de uma ampla faixa de dosagem. Por exemplo, no tratamento de humanos adultos, dosagens de cerca de 0,01 a cerca de 10.000 mg, de cerca de 0,5 a cerca de 1000 mg, de cerca de 1 a cerca de 500 mg por dia, e de cerca de 5 a cerca de 100 mg por dia, são exemplos de dosagens que são utilizadas em algumas concretizações. A dosagem exata irá depender da via de administração, da forma em que o composto é administrado, do indivíduo a ser tratado, do peso corporal do indivíduo a ser tratado, e da preferência e experiência do médico.

Modo para a Invenção

[098] Embora as concretizações preferidas da presente invenção tenham sido ilustradas e descritas aqui, ficará evidente aos versados na técnica que tais concretizações são apresentados apenas a título de exemplo. Diversas variações, alterações e substituições ocorrerão aos versados na técnica sem se afastar da invenção. Deve-se entender que várias alternativas às concretizações da invenção descritas aqui podem ser empregadas na prática da invenção. Pretende-se que as reivindicações a seguir definam o âmbito da invenção e que os métodos e estruturas dentro do âmbito dessas reivindicações e seus equivalentes sejam abrangidas pelas mesmas.

[099] O ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico pode ser preparado pelo mesmo método descrito na Patente Coreana N^o 10-566346. Um metanosulfonato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico pode ser preparado pelo mesmo método descrito na Patente Coreana N^o 10-566346.

Exemplo 1: *Preparação do sal de ácido D-aspártico do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico.*

[100] Adicionou-se ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[l,8]naftiridina-3-carboxílico (5,0g) a etanol a 50% (80 mL), e então a mistura foi agitada a 50°C por 10 minutos. O ácido D-aspártico (2,0 g) foi adicionado e então a mistura foi agitada a 50°C por 1 hora. A mistura foi resfriada à temperatura ambiente, e então o sólido resultante foi coletado por filtração. Adicionou-se etanol (100 mL) ao líquido filtrado, e então a mistura foi agitada por 30 minutos. O sólido resultante foi coletado por filtração para obter um total de 5,55 g do composto alvo (rendimento: 83%). Ponto de fusão: 200-201 °C. ¹H NMR (D₂O): δ 0,97 (bs, 2H), 1,27 (d, 2H), 2,00 (dd, 1H, J = 8,8, 17,6 Hz), 2,77 (dd, 1H, J = 3,3, 17,0 Hz), 3,53 (bs, 1H), 3,84 (dd, 1H, J = 3,3, 8,78 Hz), 4,01 (s, 3H), 4,31-4,45 (m, 8H), 7,46 (d, 1H, J = 12,2 Hz), 8,42 (s, 1H).

Exemplo 2: *preparação do sal de ácido L-aspártico do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[l,8]naftiridina-3-carboxílico.*

[101] Adicionou-se ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[l,8]naftiridina-3-carboxílico (500 mg) a etanol a 50% (20 mL), e então a mistura foi agitada a 50°C por 10 minutos. O ácido L-aspártico (174 mg) foi adicionado e então a mistura foi agitada a 50°C por 1 hora. A mistura foi resfriada à temperatura ambiente. Adicionou-se etanol (20 mL) à mistura de reação, e então a mistura foi agitada por 30 minutos. O sólido resultante foi coletado por filtração para obter 550 mg do composto alvo (rendimento: 82%). Ponto de fusão: 205-206 °C. ¹H NMR (J₆-DMSO): δ 0,93 (d, 2H, J = 3,5 Hz), 1,20 (d, 2H, J = 6,8 Hz), 2,42 (dd, 1H, J = 9,2, 17,3 Hz), 2,59 (dd, 1H, J = 3,3, 17,2 Hz), 3,50 (m, 1H), 3,59 (1H, dd, J = 3,1, 9,1 Hz), 3,91 (s, 3H), 4,24 (m, 6H), 4,41 (br, 2H), 7,59 (d, 1H, J = 12,4 Hz), 8,41(s, 1H).

Exemplo 3 - Preparação do sal de ácido clorídrico, sal de fosfato e sal de formato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[l,8]naftiridina-3-carboxílico.

3-1 Sal de ácido clorídico

[102] O etanol (3 mL) foi resfriado a 0°C e adicionou-se cloreto de acetila (1,13 mL), e então a mistura foi agitada por 30 minutos. Adicionou-se ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[l,8]naftiridina-3-carboxílico (800 mg) à mistura de reação, seguido de agitação a 0°C por 30 minutos. Adicionou-se tetraidrofurano (4 mL), e então a mistura foi agitada por 30 minutos. O sólido resultante foi coletado por filtração e seco para obter 776 mg do composto alvo (rendimento: 89%). Ponto de fusão: 244-245 °C. ¹H NMR (J₆-DMSO): δ 1,07 (d, 2H, J = 4,7 Hz), 1,21 (d, 2H, J = 6,8 Hz), 3,68 (m, 1H), 3,94 (s, 3H), 4,17 (m, 2H), 4,40 (s, 2H), 4,53 (s, 2H), 8,03 (d, 1H, J = 12,5 Hz), 8,59 (s, 1H).

3-2 Sal de fosfato

[103] Adicionou-se ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[l,8]naftiridina-3-carboxílico (5,0g) a etanol a 50% (180 mL), e então a mistura foi agitada a 50°C por 10 minutos. Adicionou-se ácido fosfórico (0,84 mL), e então a mistura foi agitada a 50°C por 1 hora. A mistura foi resfriada à temperatura ambiente. O sólido resultante foi coletado por filtração e seco para obter 3,8 g do composto alvo (rendimento: 61%). Ponto de fusão: 220-222 °C. ¹H NMR (J₆-DMSO): δ 1,11 (d, 2H, J = 4,2 Hz), 1,21 (d, 2H, J = 7,6 Hz), 3,71 (m, 1H), 3,97 (s, 3H), 4,18 (m, 4H), 4,41 (m, 2H), 4,55 (m, 2H), 8,06 (d, 1H, J = 12,6 Hz), 8,59 (s, 1H).

3-3 Sal de formato

[104] Dissolveu-se o ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[l,8]naftiridina-3-carboxílico (5,0g) em etanol (50 mL), e então ácido fórmico a 85% (0,5 mL) foi adicionado. A mistura foi agitada a 50°C por 2 horas e então agitada novamente à temperatura ambiente por 3 horas. O sólido resultante foi coletado por filtração e seco para obter 4,07 g do composto alvo (rendimento: 73%). Ponto de fusão: 198-199 °C. ¹H NMR (J₆-DMSO): δ 1,10 (d, 2H, J=2,4 Hz), 1,25 (d, 2H, J = 6,6 Hz), 3,72

(m, 1H), 3,98 (m, 5H), 4,09 (m, 2H), 4,39 (s, 2H), 4,55 (s, 2H), 8,04 (d, 1H, J = 12,6 Hz), 8,31 (s, 1H), 8,58 (s, 1H).

Exemplo 4A: *Determinação da Solubilidade de Várias Formas de Sal*

[105] A solubilidade do composto pai, a solubilidade do sal de cloridrato, a solubilidade do sal de ácido D-aspártico, e a solubilidade do sal de ácido L-aspártico são medidas sob as condições de vários solventes à temperatura ambiente. Os resultados são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1

Tabela 1 – Solubilidade de Várias Formas de Sal
Solubilidade da Forma de Sal (mg/mL)

	Composto Pai	Cloridrato (Exemplo 3)	D-Aspartato (Exemplo 1)	L-Aspartato (Exemplo 2)
Água destilada	2,22	13,5	63,5	77,9
pH 1,2	7,70	1,62	44,2	28,3
pH 4,0	6,49	8,96	76,1	56,2
pH 6,8	0,038	0,061	7,92	4,21

[106] Como mostra a Tabela 1, o D-aspartato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico, e o L-aspartato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico possuem solubilidade maior do que o ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico, ou o cloridrato do mesmo.

[107] A solubilidade do D-aspartato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico, e a solubilidade do L-aspartato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico pode ser cerca de 5 a 6 vezes maior do que a do cloridrato em água destilada, cerca de 17 a 27 vezes maior do que a do

cloridrato com um pH de 1,2 e/ou cerca de 69 a 130 vezes maior do que a do cloridrato com um pH de 6,8.

Exemplo 4B: *Determinação da Solubilidade de Várias Formas de Sal*

[108] As solubilidades o D-aspartato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico, e do L-aspartato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico preparados conforme descrito acima e de vários sais do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico em água destilada foram medidas à temperatura ambiente.

[109] Os resultados são apresentados na tabela abaixo, em que as solubilidades foram convertidas nas solubilidades correspondentes da base livre (mg/mL).

Sal	Solubilidade (mg/mL)
Base livre	2,2
(D)-Aspartato	59,02
(L)-Aspartato	49,59
Cloridrato	17,18
Fosfato	19,62
Formato	38,84
Malonato	5,26
Ftalato	0,48
Oxalato	2,26
Nitrato	2,19
Arginina	0,09
Maleato	0,18
Magnésio	0,02
Acetato	0,02
Malato	0,91
Salicilato	0,11
Bromidrato	7,27
Benzoato	0,67
p-Toluenosulfato	0,74
Succinato	2,50
Fumarato	0,63

Tartarato	2,80
Mandelato	1,01
Sulfato	2,79
2,5-Diidroxibenzoato	0

[110] Como ilustrado acima, o D-aspartato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico e o L-aspartato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico da presente invenção apresentaram a melhor solubilidade.

Exemplo 5: Determinação da Estabilidade do Sal de Ácido D-aspártico

[111] 30 mg de D-aspartato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico conforme preparado no Exemplo 1 são dissolvidos em 100 mL de água destilada, e então submetidos ao teste de estabilidade à temperatura ambiente. Os resultados são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2

Tabela 2 – Estabilidade do sal de ácido D-aspártico

Curso de Tempo	Teor (%)
Inicial	99,32
Após 1 semana	99,16
Após 2 semanas	99,04

[112] Como mostra a Tabela 2, o D-aspartato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico não altera sua pureza à temperatura ambiente no decorrer de todo o experimento. Portanto, verificou-se que sua estabilidade química é bem adequada para formulação injetável.

Exemplo 6: Teste de Toxicidade em Camundongos

[113] O perfil de toxicidade do D-aspartato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico é confirmado em camundongos ICR macho.

Os camundongos ICR machos são divididos em seis grupos de dose (cinco camundongos por grupo) e então colocados em jejum por 24 horas (são privados de alimentos, exceto água). O D-aspartato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico (conforme preparado no Exemplo 1) e outras formas de sal (inclusive metanosulfonato, cloridrato, fosfato e formato) são administrados por via intraperitoneal a uma dose diária de 2000, 1000, 500, 250, 125 e 0 (controle) mg/Kg administrados (volume de injeção total de 10 mL/Kg) uma vez por dia. Uma dose letal mediana (LD50, uma dose letal aproximada, e uma dose máxima tolerada são determinadas após observação por 14 dias.

[114] A mortalidade, as mudanças de peso corporal e alterações de peso do órgão são medidas. Também são feitas averiguações de necropsia e histopatologia. Todos os camundongos no grupo de 2000 mg/Kg e 2 camundongos no grupo de 1000 mg/Kg morreram dentro de duas horas após o tratamento. Um camundongo no grupo de 1000 mg/Kg morreu oito dias após o tratamento. Diarréias e/ou fezes moles puderam ser detectadas em alguns camundongos. Pesos aumentados no baço, nos testículos ou no epidídimo puderam ser detectados em alguns camundongos. Células germinativas imaturas no lúmen dos túbulos testiculares puderam ser detectadas no grupo de 500 mg/Kg. Alguns camundongos apresentam infiltração das células inflamatórias nos tecidos fibrosos conectados do baço ou focos necróticos ao redor das regiões ligadas ao tecido fibroso no fígado. Os resultados são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3

Tabela 3 - Determinação da Toxicidade em Camundongos

Forma de Sal	Dose letal mediana (mg/Kg)	Dose letal aproximada (mg/Kg)	Dose tolerada máxima (mg/Kg)
D-Aspartato (Exemplo 1)	963,13	500 – 1000	500
Metanosulfonato	716,24	500 – 1000	500
Cloridrato (Exemplo 3)	481,93	250 – 5000	250

Fosfato (Exemplo 3)	356,91	250 – 500	250
Formato (Exemplo 3)	716,24	500 – 1000	500

[115] Como mostra a Tabela 3, verificou-se que o D-aspartato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[l,8]naftiridina-3-carboxílico tem a maior dose letal mediana e maior dose letal aproximada, se comparado às demais formas de sal (incluindo metanosulfonato, cloridrato, fosfato e formato). Logo, podemos concluir que o D-aspartato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[l,8]naftiridina-3-carboxílico tem toxicidade substancialmente reduzida.

Exemplo 7: Preparação de uma Formulação Injetável

[116] Uma formulação injetável contendo 10 mg/mL do ingrediente ativo é preparada pelo seguinte método:

1 g do composto da Fórmula (I), 0,6 g do cloreto de sódio, e 0,1 g de ácido ascórbico são dissolvidos em água destilada e o volume final formado para totalizar 100 mL.

Exemplo 8: Estudo de Toxicidade Intravenosa Repetidos por duas Semanas em Cães da raça Beagle

[117] Cães da raça Beagle com 14 meses de idade (11,80 13,80 kg; Gaoyao Kangda Laboratory Animal Science & Technology Co., LTD., China) receberam administração intravenosa uma vez por dia a níveis de dose de 10, 5, 2,5, 1 e 0 (controle) mg/Kg (peso corporal) por 2 semanas. A mortalidade e as alterações do peso corporal, as manifestações clínicas e observação geral são monitoradas durante os 14 dias com o peso dos órgãos e histopatologia de 23 tipos de órgãos principais.

[118] A forma de sal ácido D-aspartico do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[l,8]naftiridina-3-carboxílico (Exemplo 1) é suspensa de forma homogênea em água destilada à concentração de 200 mg/mL, e é bem

dissolvida às concentrações de 40, 20, 10 e 4 mg/mL. O artigo de teste é repetido por duas semanas injetado por via intravenosa a um volume de dosagem de 0,25 mL/Kg usando água destilada como veículo.

[119] Nenhuma mortalidade é observada em todos os grupos experimentais, inclusive no grupo controle do veículo.

[120] Os sintomas clínicos observados durante o experimento foram vômito e salivação. Observou-se sintomas de vômito, com exceção do grupo controle. Observou-se salivação nos grupos de dosagem de 5 e 10 mg/Kg. Observou-se inquietação, diarreia e inchaço no local da injeção esporadicamente nos grupos de dosagem de 5 ou 10 mg/Kg.

[121] Nenhuma alteração significativa do peso corporal foi observada.

[122] Nenhuma alteração significativa do peso dos órgãos foi observada.

Exemplo 9: Farmacocinética em Camundongos

[123] Camundongos com sete semanas de idade (ICR CD-1), 28-31 g de peso corporal após a recepção, são utilizados. Para cada um do estudo de 100 mg/Kg e do estudo de 10 mg/Kg, um total de setenta e dois camundongos é dividido em dezoito grupos, nove grupos para a forma de sal cloridrato (Exemplo 3) e nove grupos para a forma de sal D-aspartato (Exemplo 1).

[124] O sangue é amostrado a 0,25, 0,5, 1, 1.5, 2, 3, 4, e 5 horas após a dosagem por punção orbital. A farmacocinética da forma de sal cloridrato (Exemplo 3) e da forma de sal D-aspartato (Exemplo 1) é comparada nos camundongos, como mostra a Tabela 4.

Tabela 4

Tabela 4 – Farmacocinética em Camundongos
Parâmetros PK* 100 mg/Kg, p.o.

10 mg/Kg, i.v.

	Cloridrato (Exemplo 3)	D-Aspartato (Exemplo 1)	Cloridrato (Exemplo 3)	D-Aspartato (Exemplo 1)
C max ($\mu\text{g/mL}$)	3,951	3,412	-	-
T max (hr)	0,25	0,25	-	-
C último (c)	-	-	0,067	0,092
T último (hr)	-	-	4,0	4,0
Meia-vida (hr)	2,205	1,707	1,259	1,543
AUC 0-8 hr ($\mu\text{g} \times$ hr/mL)	8,963	8,679	2,140	1,907
AUC Total ($\mu\text{g} \times$ hr/mL)	9,653	9,051	2,310	2,112

*Apenas parâmetros médios apresentados.

Exemplo 10: *Estudo Farmacocinético após Administração Intravenosa em Ratos*

[125] A farmacocinética da forma de sal cloridrato (Exemplo 3) e da forma de sal D-aspartato (Exemplo 1) é comparada em ratos, como mostra a Tabela 5.

Tabela 5

Tabela 5 – Farmacocinética em Ratos (10 mg/Kg i.v. em ratos SD machos)

Parâmetros PK	Cloridrato (Exemplo 3)	D-Aspartato (Exemplo 1)
C último ($\mu\text{g/mL}$)	0,137 \pm 0,042	0,107 \pm 0,025
T último (hr)	5,0 \pm 0,0	5,0 \pm 0,0
Meia-vida (hr)	1,061 \pm 0,093	1,058 \pm 0,040
AUC 0-5 hr	6,070 \pm 0,731	5,228 \pm 0,615
AUC inf ($\mu\text{g} \times$ hr/mL)	6,283 \pm 0,804	5,393 \pm 0,650

Exemplo 11: *Farmacocinética em Cães*

[126] Quatro cães machos da raça Beagle foram adquiridos da Gaoyao Kangda Laboratory Animal Sciences & Technology Co., LTD. A dose é formulada como uma solução em água estéril a uma concentração de 5 mg/0,1 mL/Kg de peso corporal. A forma de sal D-aspartato (Exemplo 1) é administrada por via intravenosa via uma veia cefálica.

[127] Amostras de sangue são coletadas via a veia cefálica em tubos contendo anticoagulante heparina sódica e a 0,083, 0,25, 0,5, 1, 1,5, 2, 3, 5 e 8 horas após a administração. Os parâmetros farmacocinéticos são calculados usando o software WinNonlin (ver 1.0, Scientific Consulting Inc., EUA). As farmacocinéticas da forma de sal D-aspartato (Exemplo 1) são apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6

Tabela 6 – Farmacocinética em Cães (5 mg/Kg i.v.)

Parâmetros	Cão A	Cão B	Cão C	Cão D	Média ± DP
C último (µg/mL)	0,369	0,412	0,380	0,387	0,387 ± 0,018
T último (hr)	8	8	8	8	8 ± 0
Meia-vida (hr)	3,38	4,12	3,51	4,00	3,75 ± 0,37
AUC 0-8hr (µg x hr/mL)	7,293	7,345	7,535	6,650	7,206 ± 0,385
AUC inf (µg x hr/mL)	9,092	9,795	9,457	8,886	9,307 ± 0,402
CL (mL/min/Kg)	9,2	8,5	8,8	9,4	9,0 ± 0,4
Varea	2,7	3,0	2,7	3,3	2,9 ± 0,3
MRT (hr)	4,74	5,68	4,90	5,65	5,24 ± 0,49

Exemplo 12: *Toxicidade de Dose Única em Camundongos e Ratos*

[128] Para o estudo de camundongos, injeções intravenosas de dose única da forma de sal D-aspartato (Exemplo 1) são realizadas com as seguintes dosagens: 900, 400, 200, 100 e 50 mg/Kg/10 mL. Como controle, utiliza-se 10 mL/Kg de água destilada. A mortalidade, as mudanças de peso corporal e alterações de peso dos órgãos são medidas. Averiguações histopatológicas também são realizadas.

[129] Todos os camundongos no grupo de 900 e 400 mg/Kg morreram após o final do tratamento. Os grupos de 200, 100 e 50 mg/Kg não apresentaram toxicidade grave. Nenhum órgão alvo significativo foi encontrado.

[130] Para o estudo de ratos, injeções intravenosas de dose única da forma de sal D-aspartato (Exemplo 1) são realizadas com as

seguintes dosagens: 600, 300, 150, 75, 37,5 mg/Kg/5 mL. Como controle, utiliza-se 5 mL/Kg de água destilada. A mortalidade, as mudanças de peso corporal e alterações de peso dos órgãos são medidas. Averiguações histopatológicas também são realizadas.

[131] Todos os ratos no grupo de 600 e 300 mg/Kg morreram após o final do tratamento. Foi possível detectar perda de locomoção nos grupos de 150 e 75 mg/Kg. Também pôde ser observado um ligeiro aumento do peso corporal nos grupos de 150 e 75 mg/Kg. Também pôde ser observado um aumento do peso dos órgãos para o fígado e o timo nos grupos de 150 e 75 mg/Kg.

[132] Os resultados da toxicidade de dose única são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7

Tabela 7 – Determinação da Toxicidade por I.V. em Camundongos e Ratos

	50° dose letal (LI)₅₀ mg/Kg	Dose letal aproximada (ALI) mg/Kg
Camundongos	279,98	200-400
Ratos	210,72	150-300

Exemplo 13: *Estudo de Toxicidade por Injeção Intravenosa em Bolus*

[133] Uma vez por dia, experimentos de toxicidade de dose repetida por duas semanas da forma de sal D-aspartato (Exemplo 1) foram realizados de forma similar ao Exemplo 8 tanto em cães quanto em ratos. Os resultados da toxicidade de dose única repetida i.v. são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8

Tabela 8 – Determinação da Toxicidade por I.V. em Cães e Ratos

Animal		Dose máxima tolerada mg/Kg
Ratos	Machos	80

	Fêmeas	40
Cães	Machos	10

Exemplo 14: *Teste de Micronúcleo em Células da Medula Óssea de Camundongos Machos*

[134] A citogênese da medula óssea é uma técnica útil de curto prazo para elucidar o mecanismo, e também para identificar a atividade clastogênica e anticlastogênica das substâncias. Consulte Renner HW, (1990) *Mutat Res.* 244: 185-8. O teste de micronúcleo usando pequenos roedores podem ser métodos sensíveis para testar a genotoxicidade de agentes recém-desenvolvidos.

[135] A forma de sal D-aspartato (Exemplo 1) ou ciclofosfamida (CPA) é usada para esse experimento. A dosagem alta intravenosa experimental é de 250 mg/Kg e a dosagem baixa é de 200 mg/Kg para a forma de sal D-aspartato (Exemplo 1). A administração intraperitoneal de 70 mg/Kg da CPA é usada como uma dosagem de controle positivo (sete camundongos ICR machos são usados em cada grupo). Vinte e duas horas após a administração por injeção única, todos os animais foram sacrificados e as alterações no número de eritrócitos policromáticos com um ou mais núcleos (MNPCE) são avaliadas com as alterações nos leucócitos totais e as contagens de diferente nos neutrófilos e linfócitos no sangue preparado. Além disso, a razão PCR/(PCE+eritrócitos normocromáticos (NCE)) é calculada contando 500 eritrócitos para detectar a possibilidade de citotoxicidade.

[136] A injeção intravenosa única a 200 ou 250 mg/Kg pode causar morte seguida de convulsões ao final do tratamento. Para os camundongos sobreviveram após o fim do tratamento, a perda de locomoção pode ser detectada dentro de 4 horas após a injeção. Os resultados da mortalidade ou perda de locomoção são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9

Tabela 9 – Resultados da Mortalidade ou Perda de Locomoção

ID do Grupo	Mortalidade	Perda de Locomoção
Controle Intacto	0/7	0/7
Controle Positivo (CPA 70 mg/Kg)	0/7	0/7
Alta dosagem (250 mg/Kg)	6/7	1/1
Baixa dosagem (200 mg/Kg)	1/7	6/6

[137] Reduções significativas nos números de leucócitos totais do sangue são detectadas nos grupos injetados com 200 mg/Kg e tratados com CPA com aumento dramático nas proporções de linfócitos em contagens diferenciais no esfregaço de sangue. Nenhuma alteração significativa foi observada no peso corporal ou nos números de MNPCE para todos os grupos tratados com a forma de sal D-aspartato, enquanto que o grupo tratado com CPA apresenta aumento significativo do MNPCE. Sendo assim, o teste de micronúcleo nas células e medula óssea de camundongos ICR apresenta resultado negativo para a forma de sal D-aspartato do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico. As alterações nos números de MNPCE e na razão PCE(PCE+NCE) são apresentadas na Tabela 10. As alterações nos leucócitos e neutrófilos são apresentadas na Tabela 11.

Tabela 10

Tabela 10 – Alterações nos números de MNPCE e na Razão PCE(PCE+NCE)

ID do Grupo	MNPCEs PCEs	2000 razão PCE(PCE+NCE)
Controle Intacto	0,71 ± 0,76	0,51 ± 0,07
Controle Positivo (CPA 70 mg/Kg)	71,86 ± 10,43	0,36 ± 0,07
Alta dosagem (250 mg/Kg)	5,00 ± ND*	0,41 ± ND*
Baixa dosagem (200 mg/Kg)	1,00 ± 1,10	0,34 ± 0,04

*Não calculada por causa da alta mortalidade

Tabela 11

Tabela 11 – Alterações nos Leucócitos e Neutrófilos

ID do Grupo	Números de leucócitos totais ($\times 10^3$ células/mm ³)	Proporções entre 100 leucócitos (%)	
		Linfócitos	Neutrófilos
Controle Intacto	5,02 \pm 1,10	89,71 \pm 4,39	9,71 \pm 3,73
Controle Positivo (CPA 70 mg/Kg)	2,36 \pm 0,55	75,71 \pm 9,20	21,71 \pm 9,45
Alta dosagem (250 mg/Kg)	4,30 \pm ND*	13,00 \pm ND*	82,00 \pm ND*
Baixa dosagem (250 mg/Kg)	3,20 \pm 0,56	79,33 \pm 5,20	17,17 \pm 3,19

*Não calculada por causa da alta mortalidade

Exemplo 15: Teste de Irritação Local Intramuscular

[138] Para o teste de irritação local intramuscular, a forma de sal D-aspartato (Exemplo 1) é injetada repetidamente uma vez por dia durante sete dias. As dosagens usadas são 200, 100 e 50 mg/Kg. 50 mg/Kg de ciprofloxacina e 2 mL/Kg de água destilada (controle) também são utilizados. Utilizam-se cinco camundongos por grupo.

[139] Vários parâmetros são medidos ou realizados, incluindo a mortalidade, manifestações clínicas, alterações nos pesos corporais, alterações da espessura da panturrilha, alterações dos pesos dos órgãos, averiguações de necropsia, alterações nas contagens de leucócitos no sangue, e averiguações histopatológicas.

Tabela 12

Tabela 12 – Alterações na Espessura da Panturrilha

ID do Grupo	Panturrilha Intacta (A)	Panturrilha Injetada (B)	Diferenças (B-A)
Controle	4,78 \pm 0,08	5,22 \pm 0,29	0,45 \pm 0,27
Ciprofloxacina (50 mg/Kg)	4,80 \pm 0,07	6,00 \pm 0,36	1,20 \pm 0,38

Dosagem de 200 mg/Kg	4,83 ± 0,06	6,71 ± 0,19	1,88 ± 0,17
Dosagem de 100 mg/Kg	4,78 ± 0,07	5,91 ± 0,37	1,13 ± 0,43
Dosagem de 50 mg/Kg	4,77 ± 0,12	5,13 ± 0,12	0,36 ± 0,11

[140] Os resultados mostram que a injeção intramuscular repetida por sete dias de 200 mg/Kg da forma de sal D-aspartato (Exemplo 1) pode provocar irritação local similar se comparado à mesma injeção de 50 mg/Kg de ciprofloxacina. A injeção intramuscular repetida por sete dias de 50 mg/Kg da forma de sal D-aspartato (Exemplo 1) apresenta apenas ligeiras irritações locais. As alterações na espessura da panturrilha são apresentadas na Tabela 12 e as alterações nas contagens de leucócitos são apresentadas na Tabela 13.

Tabela 13

Tabela 13 – alterações nas contagens de leucócitos

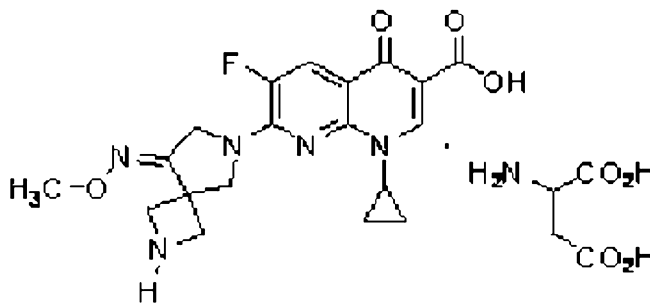
Grupo II	Contagens diferenciais de leucócitos (°)						
	Número de leucócitos (x10 ³ células/µl)	Neutrófilos	Linfócitos	Monócitos	Eosinófilos	Basófilos	
Controle	5,47	± 7,80	± 87,30	± 3,60	± 0,86	± 0,06	±
	0,77	2,43	3,40	0,79	1,06	0,09	
Ciprofloxacina (50 mg/Kg)	5,51	± 13,94	± 80,88	± 4,58	± 0,34	± 0,02	±
	0,40	4,35	4,29	1,13	0,45	0,04	
Dosagem de 200 mg/Kg	5,49	± 13,84	± 80,36	± 5,46	± 0,04	± 0,04	±
	0,21	4,55	4,34	1,14	0,09	0,05	
Dosagem de 100 mg/Kg	4,69	± 8,52	± 85,28	± 5,62	± 0,28	± 0,06	±
	0,46	2,04	2,02	1,34	0,41	0,05	
Dosagem de 50 mg/Kg	4,50	± 8,02	± 86,40	± 4,64	± 0,44	± 0,06	±
	1,01	1,18	3,07	2,22	0,38	0,05	

Aplicabilidade Industrial

[141] Um sal de ácido aspártico do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico de acordo com a presente invenção possui excelentes propriedades físico-químicas, que incluem sua solubilidade e estabilidade. Além do mais, o referido sal ácido possui baixíssima toxicidade, como mostra seu valor LD₅₀ muito maior se comparado aos demais sais. Logo, ele é extremamente eficaz para um agente antimicrobiano.

REIVINDICAÇÕES

1. – Sal de ácido aspártico do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico, **caracterizado** por ser representado pela Fórmula (I):



Fórmula (I).

2. – Sal de ácido aspártico, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que o ácido aspártico é selecionado dentre ácido D-aspártico, ácido L-aspártico, ácido DL-aspártico ou uma mistura não-racêmica de ácido D-aspártico e ácido L-aspártico.

3. – Método para preparação do sal de ácido aspártico do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico conforme definido na reivindicação 1, **caracterizado** por compreender a etapa de reagir o ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-l,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico com ácido aspártico em um solvente.

4. – Método, de acordo com a reivindicação 3, **caracterizado** pelo fato de que o solvente é pelo menos um selecionado dentre o grupo que consiste de acetato de etila, metanol, etanol, isopropanol, acetona, acetonitrilo, hexano, éter isopropílico e água.

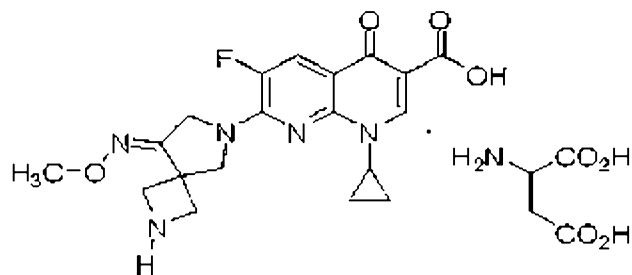
5. – Método, de acordo com a reivindicação 3, **caracterizado** pelo fato de que o ácido aspártico é selecionado dentre ácido D-aspártico, ácido L-aspártico, ácido DL-aspártico ou uma mistura não-racêmica do ácido D-aspártico e do ácido L-aspártico.

6. – Composição farmacêutica antimicrobiana, **caracterizada** por compreender o sal de ácido aspártico do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico.

7. – Composição, de acordo com a reivindicação 6, **caracterizada** pelo fato de que o ácido aspártico é selecionado dentre ácido D-aspártico, ácido L-aspártico, ácido DL-aspártico ou uma mistura não-racêmica do ácido D-aspártico e do ácido L-aspártico.

8. – Composição farmacêutica antimicrobiana, de acordo com a reivindicação 6 ou 7, **caracterizada** pelo fato de que a composição é formulada para injeção.

9. – Sal de ácido aspártico farmacêuticamente aceitável do ácido l-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-diidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico, **caracterizado** por ser representado pela Fórmula (I):



Fórmula (I).