



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

Delegatura de Propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones



SOLICITUD

PCT

PATENTE DE INVENCION

09-7875

21. EXPEDIENTE No.

54. TÍTULO

PROCESO DE SINTESIS DE MACROLIDA

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

71. SOLICITANTE

INTERVET INTERNATIONAL B.V. y MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH
FOUNDATION

DOMICILIO

AN BOXMEER, HOLANDA y SHINAGAWA-KU, TOKYO, JAPON, respectivamente

74. APODERADO

EMILIO FERRERO
C.C. 438. 019 de Usaquén

22. BOGOTÁ, D. C.,



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

PETITORIO

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-007875- -00000-0000

Fecha: 2009-01-28 17:07:34

Tra: 11 PATENTEIYII

Act: 411 PRESENTACION

Dep: 2020 NUECREACIONI

Eve: 378 FASENACIONALI

Folios: 200

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL 28 feb. 2009

1

☒ Patente de Invención.
☒ Capítulo I.

☐ Patente de Modelo de Utilidad.
☐ Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: INTERVET INTERNATIONAL B.V.
y MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH
FOUNDATION

sociedades constituidas y existentes bajo
las leyes de Holanda y Japón,
respectivamente.

Dirección: Wim de Körverstraat 35,
5831 AN Boxmeer,
Holanda

y

3-14-23, Kamiosaki,
Shinagawa-ku,
Tokyo, 141-0021
Japón

Domicilio: AN Boxmeer,
Holanda

y

Shinagawa-ku,
Tokyo,
Japón

Respectivamente

IDENTIFICACIÓN

C.C.☐

C.E.☐

NIT☐

Otro☐

Cual

Número

3

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: EMILIO FERRERO

Dirección: Carrera 4ª. No. 72-35

Teléfono: 347 36 11

Fax: 211 86 50

E-mail: clientes@cavelier.com

Domicilio: Bogotá, Colombia.

IDENTIFICACIÓN

C.C.☒

C.E.☐

NIT☐

Otro☐

Cual

Número 438.019 T.P 31.929

4

INVENTOR (ES)
(72)

1. Fritz BLATTER

Klyeckstrasse 191,
CH-4002 Basel,
Suiza

3. Monika BRINK

Zur Propstei 1,
55720 Schwabenheim,
Alemania

5. Guixian HU

Münchensteinerstrasse 38,
Ch-4002 Basel
Suiza

2. Meinrad BRENNER

Münchensteinerstrasse 38,
CH-4002 Basel
Suiza

4. Kerstin FLEISCHHAUER

Zur Propstei 1,
55720 Schwabenheim,
Alemania

6. Hans Peter NIEDERMANN

Zur Propstei 1,
55270 Schwabenheim,
Alemania

	7. Timo RAGER Klyeckstrasse 191, CH-4002 Basel, Suiza	8. Tanja SCHWEISEL Zur Propstei 1, 55270 Schwabenheim Alemania
	9. Stephan VEIT Zur Propstei 1, 55270 Schwabenheim Alemania	10. Ralf WARRASS Zur Propstei 1, 55270 Schwabenheim Alemania
	11. Heinz Jörg WENNESHEIMER Zur Propstei 1, 55270 Schwabenheim Alemania	

5

PCT (86)
Solicitud Internacional No. PCT/EP2007/057710 Fecha: 26 de julio de 2007
Publicación Internacional No. WO 2008/012343 A3 Fecha: 31 de enero de 2008

6

Título (54)
PROCESO DE SÍNTESIS DE MACROLIDA

7

Clasificación Internacional (51) C07H 017/008

8 Prioridad SI ☒ NO ☐	(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud
	<u>US</u> <u>EP</u>	<u>28 de julio de 2006</u> <u>31 de julio de 2006</u>	<u>60/834,067</u> <u>60118159.0</u>

9

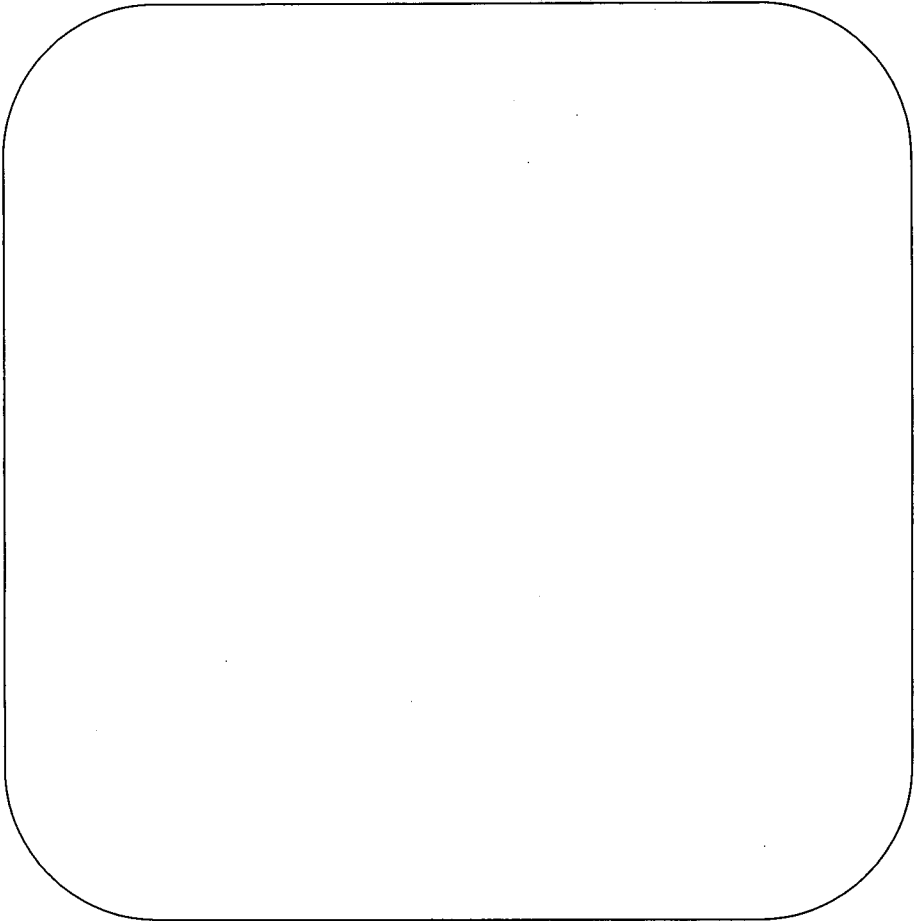
Comprobante de pago No.: 09-3,080 **Fecha: 14 de enero de 2009**
Comprobante de pago No.: 09-2,967 **Fecha: 14 de enero de 2009**

10

Anexos:
☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 540.000.oo.
☒ Comprobante de pago por 4 reivindicaciones adicionales después de la decimoquinta reivindicación por \$100.000.oo
☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
☒ Poderes de las sociedades **INTERVET INTERNATIONAL B.V. y MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH FOUNDATION.**
☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
☐ Declaraciones.
☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
☐ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA.
☐ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA.
☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
☐ Arte final 12x12
☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
☒ Otros: **VER HOJA DE DOCUMENTOS ANEXOS**

11

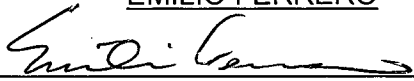
FIGURA CARACTERÍSTICA



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: EMILIO FERRERO

FIRMA: 
C.C. 438.019 de Usaquén T.P. 31.929

SCT

DOCUMENTOS ANEXOS

1. ☒ Publicación Internacional WO 2008/012343 A3

Descripción:

Páginas 59 en el idioma original

Páginas 84 en español

Reivindicaciones: Número (s) 19

Figuras: Número (s)

2. ☒ **Forma PCT/ISA/210.** Informe de Búsqueda Internacional.

3. ☒ Extracto de publicación.

**NO SE REALIZARON MODIFICACIONES EN LA FASE
INTERNACIONAL**

CAVELIER

ABOGADOS

EDIFICIO SISKI

CARRERA 4ª N° 72-35

BOGOTÁ, 8 - COLOMBIA

Para patentes, modelos y dibujos; marcas de fábrica y de servicios; nombres comerciales y enseñas.

Für Patente, Modelle und Zeichnungen; Warenzeichen und Servicezeichen; Handelsnamen-und-zeichen.

REPRESENTACION Y PODER

VERTRETUNG UND VOLLMACHT

4975
2099

Ich (wir) unten Unterzeichnender (de)/Yo (nosotros), abajo firmado (s)
Intervet International B.V.

wohnhaft in/domiciliado(s) en Wim de Körverstraat 35, 5831 AN Boxmeer,
the Netherlands

por el presente nombramos a GERMAN CAVELIER, tpa. 832; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; ERNESTO CAVELIER, tpa. 11519; y EMILIO FERRERO, tpa. 31929; domiciliados en la Carrera 4ª N° 72-35, Bogotá, Colombia, en obediencia a lo dispuesto en el parágrafo 1º del Artículo 543 del Código de Comercio, el primero como principal y los demás como suplentes, en su orden, como nuestros representantes en todos los asuntos de propiedad industrial con facultad para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales. El primer representante suplente reemplazará al principal en caso de ausencia o impedimento temporal o definitivo de aquél. La misma regla se aplicará cuando el segundo representante suplente haya de reemplazar al primero, o el tercero al segundo. En tales casos, el representante principal, o el primero, o segundo suplente, en su caso, o ambos, declararán su intención de no ejercer la representación mediante declaración autenticada por Notario Público en Colombia, o por Notario u otro Funcionario Público, o Cónsul de Colombia, en el extranjero; y si se tratare de impedimento, con el certificado respectivo. Si alguno de los nombrados faltare definitivamente, el siguiente tomará su lugar. Cuando cesare la ausencia o impedimento del representante principal, o de su primero o segundo suplente, en su caso, podrán ejercer la representación, en su orden, uno u otros según el caso, asumiéndola por el solo hecho de ejercerla, cesando en ese momento el ejercicio de la representación por el primero, segundo o tercer suplente en su caso. Además, y bajo las mismas reglas, conferimos poder a los abogados arriba nombrados, para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad industrial y contra la competencia desleal, a cuyo efecto autorizo(amos) a los dichos apoderados para que me(nos) representen ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no jurisdicción, especialmente ante las del orden administrativo, contencioso-administrativo y judicial, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: a) Obtención de patentes de invención, modelos y dibujos industriales; el registro de marcas de fábrica, colectivas, defensivas y de servicios; el depósito de nombres comerciales y enseñas; su renovación, traspaso, cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria; y el registro de licencias de uso de esos derechos; b) Las acciones de oposición, cancelación, nulidad, medidas cautelares, concesión de licencias y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contencioso-administrativos relacionados con estos derechos; acciones y juicios que promovamos o se nos promuevan. Y para que en todos los asuntos arriba determinados, puedan sustituir este mandato, transigir, desistir, cancelar, recibir, renunciar, y ratificar los actos hechos por agentes oficiosos.

verleihen durch dieses Schreiben an GERMAN CAVELIER, tpa. 832; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; ERNESTO CAVELIER, tpa. 11519; und EMILIO FERRERO, tpa. 31929; wohnhaft in der Carrera 4ª N° 72-35, Bogotá, Kolumbien, um die Verfügung des Absatzes 1 im Artikel 543 des Handelsgesetzbuch zu beachten, der erste als Hauptvertreter und die übrigen als Stellvertreter, beziehungsweise, als unsere Vertreter in allen was sich auf das industrielle Eigentum bezieht, berechtigt Meldungen zu empfangen und gerichtliche und aussergerichtliche Bevollmächtigte zu ernennen. Der erste Stellvertreter wird den Hauptvertreter ersetzen wegen zeitweiligen oder definitiven Abwesenheit oder Hindernisses des ersten. Dieselbe Regel wird angewandt werden wenn der zweite Stellvertreter den ersten ersetzen muss, oder der dritte den zweiten. In solchen Fälle der Hauptvertreter, oder der erste oder der zweite Stellvertreter, beziehungsweise, oder beide, werden ihre Absicht aussprechen um nicht die Vertretung auszuüben mittelst Aussage notariell beglaubigt in Kolumbien, oder vor Notar oder vor einem anderen öffentlichen Beamten, oder Kolumbianischen Konsul im Auslande; und wenn es ein Hindernis sei, mittels der betreffenden Beglaubigung. Wenn einer der Gennanten immerfort abwesend wäre, der Folgende wird ihn ersetzen. Im Falle dass die Abwesenheit oder das Hindernis des Hauptvertreters, oder diejenigen seines ersten, zweiten oder dritten Vertreters, beziehungsweise, beendeten, einer oder anderen, ordnungsweise werden die Vertretung ausüben und sie zu sich nehmen nur auf Grund sie auszuüben, mit Aufhören zur Zeit der Ausübung der Vertretung durch den ersten, den zweiten oder den dritten Stellvertreter beziehungsweise.

Ausserdem, und unter dieselben Regeln, wir verleihen den genannten Rechtsanwaelte die Vollmacht, und um den Schutz meines (unseres) industriellen Eigentum zu erhalten, und gegen den unlauteren Wettbewerb; zu dessem Zweck ich (wir) die genannten Bevollmächtigten ernenne(n), damit sie uns vor beliebigen Institutionen oder Personen, die die Rechtssprechung ausüben oder nicht, vor allem vor denen mit Verwaltungs, streitigem Verwaltungs, und juristischem Charakter, in allen was sich auf folgende Angelegenheiten bezieht, zu vertreten: a) Erlangung von Patenten, Modellen, und Zeichnungen; Registrierung von Waren-, Sammel-Defensive- und Service-zeichen; Aufbewahrung von Handelsnamen- und zeichen; ihre Erneuerung und Übertragung, Names und Wohnsitzänderung, freiwillige Annullierung und die Registrierung von Vertragslizenzen; b) Die Oppositionsklagen, Annullierung, Ungültigkeit, Vorsichtsmassnahmen, Lizenzen und im allgemeinen die Zivil-, Straf-, Verwaltungs- oder streitigen Verwaltungsprozesse, die mit diesen Rechten verbunden sind, Aktionen und Verhandlungen, die wir vorantreiben oder die man uns vorantreibt und; c) damit sie in allen oben bestimmten Angelegenheiten dieses Mandat ersetzen, regeln, davon Abstand nehmen, annullieren, empfangen, verzichten, Meldungen annehmen und gerichtliche und aussergerichtliche Bevollmächtigte ernennen, und die Handlungen der halbamtlichen Vertreter bestätigen.

Unterzeichnet heute am/Dado

Arnhem, May 28, 2002

in/en

J.B.H. Aarntzen

Firma

(Holders of Proxy)

Unterschrift



030 16885-841-003-7

BEMERKUNG FÜR ÜBERTRAGER: Die konsularische Legalisierung ist notwendig mit konsularischer Bestätigung über die jetzigen Existenz der Gesellschaften, die Vollziehung seiner gesellschaftlichen Zwecke, und daß seine Vertreter die diese Urkunde ausfertigen, berechtigt sind es zu tun. Dafür bitte dem Konsul die entsprechenden Dokumente vorzeigen.

LEGALISIERUNG

KINGDOM OF THE NETHERLANDS Legalization inter alia ex Section 69 Code of Commerce

I, Petrus Charles HENDRIKS, "Makelaar" in Trademarks and Designs to the District Court (Gazetted 10 March 1976, No. 49), do hereby certify:

1. that Mr. Joseph Bernardus Hendrikus AARNTZEN and Ms. Linda LENTJES, née SISSING, who signed this document on behalf of Intervet International B.V., are jointly duly competent to execute the foregoing document by virtue of a General Power of Attorney legally issued by the Board of Directors of Intervet International B.V. on 20 February 2002, which I have seen;
2. that Intervet International B.V. is domiciled at 5831 AN Boxmeer at Wim de Körverstraat No. 35, the Netherlands, which company presently exists and is organized under the laws of the Netherlands, as evidenced by an abstract issued by the Chamber of Commerce and Industry for Eastern Brabant (No. 16028015 dated 28 January 2002), which I have seen;

Given at Bussum, this 4th day of June 2002.



APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

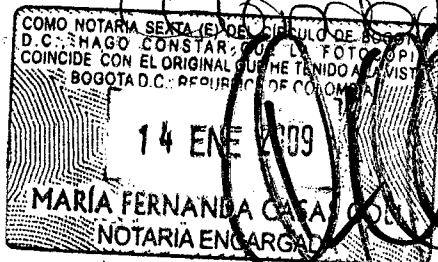
Pais: Los Países Bajos
El presente documento público ha sido
firmado por

P.Ch. Hendriks
actuando en calidad de
makelaar in merken en modellen
se halla sellado/timbrado con

P.Ch. Hendriks
certificado por el Secretario Judicial del Tribunal de Distrito con el número:

Amsterdam,

Firma: mw L.G. van der Horst



Die konsularische Legalisierung ist notwendig.

NOTA PARA EL SEÑOR CONSUL COLOMBIANO: Según los artículos 65 del C. de P. C. y 480 del C. de Co., si el poderdante es una sociedad, el señor Cónsul debe certificar que tuvo a la vista las pruebas de su existencia, que ejerce su objeto social, que quien confiere el poder es su representante y puede otorgar el poder, y seguidamente autenticar la firma de éste.

TRADUCCIÓN OFICIAL No. 13.08/02 preparada por María Elvira Martelo, traductora oficial aprobada por el Ministerio de Justicia mediante Resolución No. 2879 de 1995 y reconocida por el Ministerio de Relaciones Exteriores.

A continuación se traducen los sellos y legalizaciones de un documento por el cual INTERVET INTERNATIONAL B.V. otorga poder a GERMÁN CAVELIER, GONZALO PERDOMO, ERNESTO CAVELIER Y EMILIO FERRERO.

Dado y firmado el 28 de mayo de 2002.

(Firmas ilegibles), J.B.H. Aarntzen y Lentjes-Sissing
(Apoderados).

REINO DE LOS PAÍSES BAJOS

Legalización, entre otras, ex Sección 69 del Código de Comercio
Yo, Petrus Charles HENDRIKS, "Makelaar" (sic) en Marcas y Diseños de la Corte de Distrito (Publicado en la Gaceta de 10 de marzo de 1976, No. 49) por el presente certifico:

1. que el Sr. Joseph Bernardus Hendrikus AARNTZEN y la Sra. Linda LENTJES, née SISSING, quienes firmaron este documento a nombre de la Intervet International B.V. son competentes conjuntamente para ejecutar dicho documento, en virtud del Poder General legalmente expedido por la Directiva de Intervet International B.V. el 20 de febrero de 2002.
2. Que INTERVET INTERNATIONAL B.V. está domiciliada en 5831 AN



Boxmeer at Wim de Köverstraat No. 35, Países Bajos, es una compañía que existe actualmente y está organizada bajo las

4

leyes de los Países Bajos, como lo evidencia el extracto expedido por la Cámara de Industria y Comercio de Eastern Brabant (No. 16028015 de fecha 28 de enero de 2002), el cual he visto.

Dado en Bussum hoy 4 de junio de 2002. (Firma ilegible). Sello de P.CH HENDRIKS.

APOSTILLA

Apostilla de los Países Bajos otorgada en español con fecha 07 de junio de 2002 bajo el número 010107. Firmada por L.G. der Horst.

Es traducción fiel y completa de la cual se deja copia en esta oficina para su confrontación.

COLO 04975-704-001-6

WPCL 4975 ID 17

AGO 22/02

Maria E. Martelo
TRADUCCION No. 13.08/02
MARIA ELVIRA MARTELO
Traductora e Intérprete Oficial
Inglés - Español - Inglés
Res. No. 2879 Min. Justicia

COMO NOTARIA SEXTA (B) DEL CIRCULO DE BOGOTÁ,
D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA
COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTÁ D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA
14 ENE 2002
MARÍA FERNANDA CASAS
NOTARIA ENCARGADA

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2002 AUG 23 A 11:49

JEFE DE LOCALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

Manuel E. Wapfelo

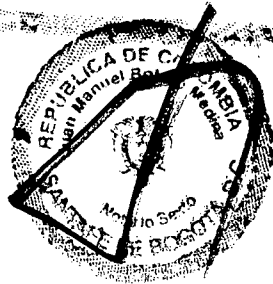
014834

CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

COMO NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE SANTAFE DE BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA(S) ANTERIORES(S) FIRMAS(S) AUTENTICADAS CON C.C. No.(s) ES(SON) AUTENTICA(S)

SANTAFE DE BOGOTA 23 AUG 2002

PODER JURE CIVILIS



COMO NOTARIA SEXTA (E) DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A VISTA BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA

14 ENE 2000

MARIA FERNANDA CASAS CALVO
NOTARIA ENCARGADA

CAVELIER

ABOGADOS

EDIFICIO SISKI
CARRERA 4 No. 72 - 35
BOGOTA 8, COLOMBIA

WEBSITE: www.cavelier.com
E-MAIL: cavelier@cavelier.com

TELEFONO: (57) (1) 347-3611
TELEFAX: (57) (1) 217-9211 (57) (1) 310-4995

Señora Jefe de la

DIVISION DE SIGNOS DISTINTIVOS

Superintendencia de Industria y Comercio

E. S. D.

Poderdante: INTERVET INTERNATIONAL B.V.

Poder conferido el: 28-05-2002

Yo, GERMÁN CAVELIER, obrando en mi calidad de apoderado principal del poderdante arriba mencionado, atentamente manifiesto a Usted que sustituyo el poder que me ha sido conferido en la persona del doctor EMILIO FERRERO, Abogado con Tarjeta Profesional N° 31.929, con todas las facultades que me fueron conferidas.

Hago la anterior sustitución conforme al artículo 66 del Código de Procedimiento Civil ya que los otros sustitutos faltan en este momento.

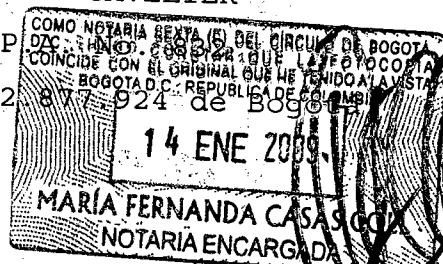
Señora Jefe,



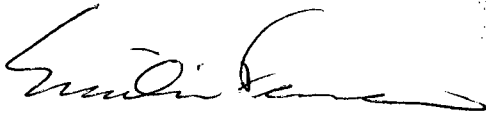
GERMÁN CAVELIER

T.P.

C.C. No. 2



Acepto:



EMILIO FERRERO

T.P.A. N° 31.929

C.C. No. 438.019 de Usaquén

NOTARIA SEXTA DE BOGOTÁ

21 AUG 2002

PRESENCIA PERSONAL

VEZ B...
EL C...

[Signature]

quien (es) es (son) la(s) C.C.
2877924 ID 832
438019 ID 31429

y declaró (se) que la(s) firma(s) que aparece(n)
en el presente documento es (son) la(s) suya (s) y
que el contenido del mismo es cierto. En constan-
cia se firma esta diligencia.

COMO NOTARIA SEXTA (E) DEL CIRCULO DE BOGOTÁ
D.C. HAGO CONSTAR QUE LA COPIA
COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE SE DEPOSITA EN LA
BOGOTÁ D.C. REGISTRADA EN COLOMBIA

14 ENE 2003

MARÍA FERNANDA GARCÍA GÓMEZ
NOTARIA ENCARGADA

NOTARIA SEXTA
PABLO MENDEZ
BARAJAS

[Signature]

REPRESENTACION Y PODER

REPRESENTATION AND POWER- OF- ATTORNEY

Yo (nosotros), abajo firmado (s)/I (we), the undersigned

MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH FOUNDATION

domiciliado (s) en/of 3-14-23, Kamiosaki,

Shinagawa-ku, Tokyo 141-0021 JAPAN

Yo, el presente nombramos a EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 y GERMAN CAVELIER, tpa. 832, domiciliados en la Carrera 4ª N° 72 35, Bogotá, Colombia, en obediencia a lo dispuesto en el parágrafo 1o del Artículo 543 del Código de Comercio, el primero como principal y los demás como suplentes, en su orden, como mis (nuestros) representantes en todos los asuntos de propiedad industrial con facultad para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales. El primer representante suplente reemplazará al principal en caso de ausencia o impedimento temporal o definitivo de aquél. La misma regla se aplicará cuando el segundo representante suplente haya de reemplazar al primero, o el tercero al segundo. En tales casos, el representante principal, o el primero, o segundo suplente, en su caso, o ambos, declararán su intención de no ejercer la representación mediante declaración autenticada por Notario Público en Colombia, o por Notario u otro Funcionario Público, o Cónsul de Colombia, en el extranjero; y si se tratare de impedimento, con el certificado respectivo. Si alguno de los nombrados faltare definitivamente, el siguiente tomará su lugar. Cuando por la ausencia o impedimento del representante principal, o de su primero o segundo suplentes, en su caso, podrán ejercer la representación, en su orden, uno u otros según el caso, asumiéndola por el solo hecho de ejercerla, cesando en ese momento el ejercicio de la representación por el primero, segundo o tercer suplente en su caso.

Además, confiero (conferimos) poder a los abogados arriba nombrados, para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad industrial y contra la competencia desleal, a cuyo efecto autorizo (amos) a los dichos apoderados para que me (nos) representen ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no jurisdicción, especialmente ante las del orden administrativo, contencioso administrativo y judicial, así como los tribunales de arbitramento, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: a) Obtención de patentes de invención, modelos de utilidad, y diseños industriales; el registro de marcas de fábrica, colectivas, defensivas, de servicio, lemas comerciales, nombres comerciales, enseñanzas, nombres de dominio, variedades vegetales y denominaciones de origen; su renovación, traspaso, cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria; y el registro de licencias de uso de esos derechos; b) Las acciones de competencia desleal, protección del consumidor, oposiciones u observaciones, cancelación administrativa y judicial, nulidad, medidas cautelares, concesión de licencias, la tutela, la protección de secretos industriales, y en general los juicios civiles,

in due compliance with the terms of paragraph 1st. of article 543 of the Commercial Code, do hereby appoint EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 and GERMAN CAVELIER, tpa. 832, domiciled at Carrera 4ª N° 72 35, Bogotá, Colombia, the first as principal and the others as alternates, in the order of their appointment, as our representatives for all industrial property matters with faculty to receive notifications and to appoint attorneys in and out of Court. The first alternate shall replace the principal in case of his absence or of temporal or definitive impediment. The same rule will apply when the second alternate representative is to replace the first one, or when the third is to replace the first or second alternates in their turn, or both of them, second. In such cases, the principal representative, or the first or second alternates in their turn, or both of them, shall state their intention not to act as representatives through a declaration given before a Notary Public in Colombia, or before a Notary or another Public Official or a Colombian Consul abroad; and in case of impediment, the appropriate certificate shall suffice. If any of the appointees were to be definitely absent, the following alternate shall take his place. When the absence or impediment of the principal representative, or of the first or second alternate in their turn ceases, the representation can be taken again in their sequence, by the principal, the first or second alternate depending on case, and the mere fact or its exercise will suffice. The exercise of the representation by the first, second or third alternates in their turn shall end at such time.

In addition, we grant a Power of Attorney in favor of the above named attorneys at law so that they may obtain the protection of my (our) industrial property and against the unfair competition, for which purpose I (we) authorize the said attorneys to represent me (us) before any authorities or persons, with or without jurisdiction, specially those administrative, administrative contentious and judicial, as well as before Arbitration Court, in all matters concerning the following: a) Obtainment of patents, utility models and industrial designs; the registration of trademarks, collective, defensive and service marks, commercial names, trade emblems, domain names, vegetable varieties, and denominations of origin; its renewal, assignment, change of name or domicile, voluntary cancellation; and the registration of licenses of use of the above rights; b) Actions of unfair competition, protection of the consumer, oppositions or observations, administrative and judicial cancellation, nullity, infringement, granting of licenses, the action for writ mandamus, the protection of trade secrets, and in general the civil, penal, and administrative suits relating to those rights; actions and suits

penales, administrativos o contencioso administrativos relacionados con estos derechos; acciones y procesos que promovamos o se nos promuevan. Y para que en todos los asuntos arriba determinados, puedan sustituir este mandato, transigir, conciliar, admitir los hechos del proceso, desistir, cancelar, recibir, renunciar, y ratificar los actos de agentes oficiosos.

instituted by me (us) or against me (us). And that in all the above matters they may substitute this Power of Attorney, compromise, conciliate, admit the facts of the case, desist, cancel, receive, resign, and ratify acts done by representatives without a power of attorney.

Dado y firmado hoy/Given and signed this November 20, 2008

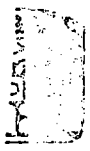
en/in Tokyo, Japan

por/by _____

Firma Yoshiaki NONOMURA, Signature
Chairman of the Board of
Directors

COMO NOTARIA SEXTA (B) DEL CIRCULO DE BOGOTA
D.C. HA QDO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA
COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA
14 ENE 2009
MARIA FERNANDA CASAS COLLA
NOTARIA ENCARGADA

12



Registration No. 1817 of 2008

NOTARIAL CERTIFICATE

This is to certify that Kazuhiko YAZAKI an attorney-in-fact of Yoshiaki NONOMURA who is Chairman of the Board of Directors of MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH FOUNDATION and who is authorized to sign to the attached document on behalf of the said company organized and existing according to the laws of Japan, located at 3-14-23, Kamiosaki, Shinagawa-ku, Tokyo 141-0021, Japan, has stated in my very presence that said Yoshiaki NONOMURA acknowledges himself to have sign to the said document.

Dated this 8th day of December, 2008.

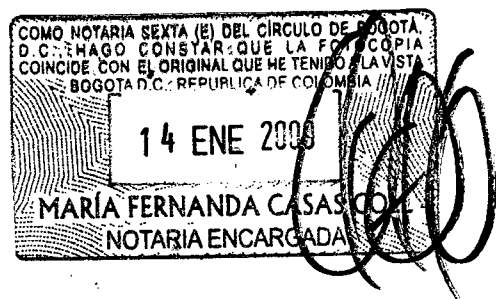


Masakazu Watanabe



Masakazu Watanabe

Notary, attached to
The Tokyo Legal Affairs Bureau.
No.1-10, Nihombashi, Kabuto-cho,
Chuo-ku, Tokyo, Japan.



12



平成 20 年 登 簿 第 1817 号
認 証

4373 =

日本国法律に従い設立され日本国東京都品川区上大崎 3 丁目 14 番 23 号に所在する財団法人
微生物化学研究会の代表者理事長であり、添付の書類に署名する権限を付与されている
野々村禎昭は、別添文書における署名が自己のものに相違ない旨、代理人矢崎和彦を通じ、
本公証人に対し自認した。

よって、これを認証する。

平成 20 年 12 月 8 日、本公証人役場において
東京都中央区日本橋兜町 1 番 10 号

東京法務局 所属

公 証 人
Notary

渡部 正和
Masakazu Watanabe
Masakazu Watanabe



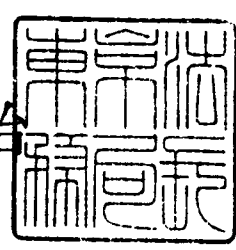
証 明

上記署名は、東京法務局所属公証人の署名に相違ないものであり、かつ、その押印は、
真実のものであることを証明する。

平成 20 年 12 月 8 日

東京法務局長

五十嵐義治



APOSTILLE
(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: JAPAN	
This public document	
2. has been signed by	Masakazu Watanabe
3. acting in the capacity of	Notary of the Tokyo Legal Affairs Bureau
4. bears the seal/stamp of	Masakazu Watanabe, Notary
	Certified
5. at Tokyo	6. DEC. 8, 2008
7. by the Ministry of Foreign Affairs	
8. 08- No 026305	
9. Seal/stamp:	10. Signature

Kazutoyo OYABE
For the Minister for Foreign Affairs

4373-13

DECLARATION

I, Kazuhiko YAZAKI, of Kyowa Patent and Law Office,
2-3, Marunouchi 3-Chome, Chiyoda-Ku, Tokyo-To, Japan, declare
and say:

That I am thoroughly conversant with both the Japanese
and English languages; and,

That the attached document represents a true English
translation of the Certificate of Partial Closed Records.

Dated this 8th day of December, 2008

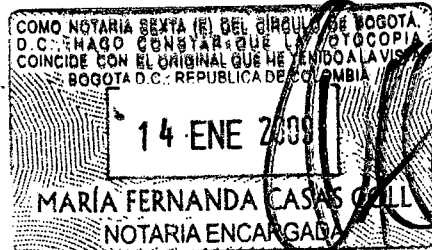

Kazuhiko YAZAKI

Before me


Masakazu Watanabe



Notary, attached to
The Tokyo Legal Affairs Bureau.
No. 1-10, Nihombashi, Kabuto-cho,
Chuo-ku, Tokyo, Japan.





COMO NOTARIA SEXTA (E) DEL CIRCULO DE BOGOTA
D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA
COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. DE COLOMBIA

14 ENE 2009

MARIA FERNANDA CASAS GOMEZ
NOTARIA ENCARGADA

Translation

CERTIFICATE OF PARTIAL CURRENT COMMERCIAL REGISTER

14-23, Kamiosaki 3-Chome, Shinagawa-Ku, Tokyo-To, Japan
MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH FOUNDATION
Company number 0107-05-000078

Trade name	<u>MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH FOUNDATION</u>
Location of head office	14-23, Kamiosaki 3-Chome, Shinagawa-Ku, Tokyo-To, Japan
Date of Incorporation	December 1, 1958
Subject of Business	We conduct microbial and microbiological research to discover new substances widely beneficial, especially for sake of the prevention and treatment of disease. And by promoting the development and the utilization of these substances, we contribute to public health and welfare and support advanced academic research. We engage in the following businesses to achieve our goal. 1 To investigate microbe and microbial products 2 To promote investigations of microbe and microbial products 3 To establish research institutes for research of microbe and microbial products 4 To promote the diffusion of knowledge about microbiological products beneficial for the prevention and treatment of disease 5 To make a connection and cooperation between both domestic and foreign organizations related to a microbial chemical field of study 6 To undertake projects necessary to accomplish of our goal other than the above mentioned categories

This is to certify that the above are partial matters recorded on the current commercial register.

September 12, 2008
Tokyo Legal Affairs Bureau
Registrar: Teruyoshi SAE



File number ケ 153881

13

COMO NOTARIA SEXTA (E) DEL CÍRCULO DE BOGOTÁ,
D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA
COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTÁ D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA

14 ENE 2009

MARIA FERNANDA CASAS COLL
NOTARIA ENCARGADA

15

現在事項全部証明書

東京都品川区上大崎三丁目14番23号
財団法人微生物化学研究会
会社法人等番号 0107-05-000078

名 称	財団法人微生物化学研究会	
主たる事務所	東京都品川区上大崎三丁目14番23号	
法人成立の年月日	昭和33年12月1日	
目的等	目的 微生物及び微生物生産物に関する研究を行い、広く有益な物質を発見するとともに、その開発利用を図ることによって、特に疾病の予防及び治療の促進に資し、もって国民の健康と福祉の増進に寄与するとともに、学術の振興を図ることを目的とする。目的を達成するため、次の事業を行う。 1 微生物及び微生物生産物に関する調査研究 2 微生物及び微生物生産物の調査研究に対する助成 3 微生物及び微生物生産物に関する調査研究を行う研究所の設置 4 疾病の予防及び治療に関する微生物生産物の知識の普及 5 微生物化学に関する内外諸団体との連絡及び協力 6 前各号に掲げるもののほか、本会の目的を達成するために必要な事業	
役員に関する事項	東京都渋谷区広尾三丁目1番2-505号 理事 梅 沢 一 夫	平成19年 6月13日就任
		平成19年 6月22日登記
	東京都世田谷区松原六丁目17番4号 理事 北 里 一 郎	平成19年 6月13日就任
		平成19年 6月22日登記
	埼玉県さいたま市大宮区三橋三丁目116番地6 理事 中 村 輝 夫	平成19年 6月13日就任
		平成19年 6月22日登記
	東京都世田谷区下馬六丁目45番16号 理事 山 川 民 夫	平成19年 6月13日就任
		平成19年 6月22日登記
	名古屋市緑区鳴丘二丁目827番地 理事 永 津 俊 治	平成19年 6月13日就任
		平成19年 6月22日登記
	東京都世田谷区赤堤一丁目28番10号 理事 永 井 克 明	平成19年 6月13日就任
		平成19年 6月22日登記
	東京都杉並区松ノ木二丁目26番7号 理事 竜 田 邦 明	平成19年 6月13日就任
		平成19年 6月22日登記

COMO NOTARIA SEÑALA (SI) EL ORIGINAL DE BOGOTÁ
D. C. ENAGO CONSYRAGUEN Y LA COPIA
COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE MEYEN LA VISTA
BOGOTÁ D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA 09/19
14 ENE 2009
MARIA FERNANDA CABAL COM
NOTARIA ENCARGADA

2413

COMO NOTARIA SEXTA (E) DEL CIRCULO DE BOGOTA.
D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA
COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE VISTO ALISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA

14 ENE 2008

MARIA FERNANDA CASAS CALU
NOTARIA ENCARGADA

東京都品川区上大崎三丁目14番23号
財団法人微生物化学研究会
会社法人等番号 0107-05-000078

26

	東京都杉並区清水一丁目26番21号 理事 赤松 穰	平成19年 6月13日就任 平成19年 6月22日登記
	東京都目黒区目黒一丁目9番6-206号 理事 新井 賢一	平成19年 6月13日就任 平成19年 6月22日登記
	東京都新宿区大京町17番地 理事 杉村 征夫	平成19年 6月13日就任 平成19年 6月22日登記
	千葉県君津市君津台三丁目9番10号 理事 西本 至	平成19年 6月13日就任 平成19年 6月22日登記
	東京都杉並区成田東三丁目36番7号 理事 野々村 禎昭	平成19年 6月13日就任 平成19年 6月22日登記
	東京都杉並区堀ノ内一丁目5番21号 理事 別府 輝彦	平成19年 6月13日就任 平成19年 6月22日登記
	埼玉県蕨市中央七丁目3番1号 理事 新井 輝隆	平成19年 6月13日就任 平成19年 6月22日登記
	東京都三鷹市井の頭四丁目3番1号 理事 佐伯 哲二	平成19年 6月13日就任 平成19年 6月22日登記
	川崎市多摩区栗谷二丁目15番5号 理事 山口 英世	平成19年 6月13日就任 平成19年 6月22日登記
	資産の総額	金385億6567万4070円 平成20年 3月31日変更 平成20年 5月22日登記
出資の方法	1、寄附金 2、その他の収入	

これは登記簿に記録されている事項を証明した書面である。

平成20年 5月12日
東京法務局品川出張所
登記官



COMO NOTARIA SEXTA (E) DEL CIRCULO DE BOGOTA.
D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA
COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA

14 ENE 2009

MARIA FERNANDA CASAS COLL
NOTARIA ENCARGADA



平成 20 年 登簿 第 1816 号
認 証

4373

嘱託人 協和特許法律事務所 弁理士 矢崎和彦は、本公証人の面前において
別添文書に署名した。

よって、これを認証する。
平成 20 年 12 月 8 日、本公証人役場において
東京都中央区日本橋兜町 1 番 10 号
東京法務局所属

公 証 人
Notary

渡部 正和
Masakazu Watanabe
Masakazu Watanabe



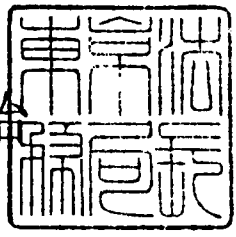
証 明

上記署名は、東京法務局所属公証人の署名に相違ないものであり、かつ、その押印は、
真実のものであることを証明する。

平成 20 年 12 月 8 日

東京法務局長

五十嵐義治



APOSTILLE
(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: JAPAN
This public document

2. has been signed by Masakazu Watanabe

3. acting in the capacity of Notary of the Tokyo Legal Affairs Bureau

4. bears the seal/stamp of Masakazu Watanabe, Notary

Certified

5. at Tokyo

7. by the Ministry of Foreign Affairs

8. 08-Nº 026304

9. Seal/stamp:

6. DEC 8 2008

10. Signature

MARIA FERNANDA CASAS GONZALEZ
NOTARIA ENCARGADA

Kazutoyo OYABE
For the Minister for Foreign Affairs

18

TRADUCCION OFICIAL NO. 1115/2008.-

EL TEXTO QUE SIGUE ES TRADUCCION FIEL Y COMPLETA DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES. LLEVA LA FIRMA Y EL SELLO DE HELENA URIBE DE LEMOINE, TRADUCTORA E INTERPRETE OFICIAL, SEGUN RESOLUCION NO. 3618 DEL MINISTERIO DE JUSTICIA DE COLOMBIA, DE FECHA 6 DE SEPTIEMBRE DE 1972.

TRADUCCION DE LOS SELLOS QUE SE ENCUENTRAN EN EL DOCUMENTO DE REPRESENTACION Y PODER OTORGADO POR **MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH FOUNDATION.**, DOMICILIADA 3-14-23, KAMIOSAKI, SHINAGAWA-KU TOKIO 141-0021 JAPON, A LOS DOCTORES **EMILIO FERRERO, GONZALO PERDOMO, LUZ CLEMENCIA DE PAEZ Y GERMAN CAVELIER.**

DADO Y FIRMADO EL 20 DE NOVIEMBRE DE 2008 EN TOKIO, JAPON

POR: YOSHIAKI NONOMURA

PRESIDENTE DE LA JUNTA DIRECTIVA

CERTIFICACIÓN NOTARIAL (INDIVIDUAL)

Por medio del presente certifico que KANUHIKO YAZAKI, APODERADO DE YOSHIAKI NONOMURA quien es el Presidente de la Junta Directiva de MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH FOUNDATION y quien está autorizado para firmar el documento adjunto a nombre de dicha compañía, organizada y que existe de conformidad con las leyes de Japón, localizada en 3-14-23 Kamiosaki, Shinagawa-Ku, Tokio 141-0021, Japón, declaró en mi presencia que el mencionado Yoshiaki NONOMURA reconoció personalmente haber firmado el documento en cuestión.

Fechado este día 8 de Diciembre de 2008

FIRMADO MASAKAZU WATANABE, NOTARIO ADJUNTO A LA OFICINA DE ASUNTOS LEGALES DE TOKIO

NO.1-10 NIHOMBASHI, KABUTO-CHO, CHUO-KU TOKIO, JAPON.

HAY SELLO DEL NOTARIO.



TRADUCCION OFICIAL NO. 1115/2008.-

APOSTILLA

CONVENIO DE LA HAYA DEL 5 DE OCTUBRE DE 1961

1. PAÍS: JAPON

EL PRESENTE DOCUMENTO PUBLICO

2. HA SIDO FIRMADO POR: **MASAKAZU WATANABE**

3. ACTUANDO EN SU CAPACIDAD DE: NOTARIO DE LA OFICINA DE ASUNTOS LEGALES DE TOKIO

4. LLEVA EL SELLO DE: MASAKAZU WATANABE - NO

CERTIFICADO

5. EN: TOKIO

6. EL: 6 DICIEMBRE DE 2008

7. POR: EL MINISTRO DE RELACIONES EXTERIORES

8. BAJO EL NO: **026305**

9. SELLO: MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES DE JAPON

10. POR EL MINISTRO DE RELACIONES EXTERIORES

FIRMADO: KAZUTOYO OYABE

LA TRADUCTORA OFICIAL

Helena Uribe de Lemoine

HELENA URIBE DE LEMOINE



COMO NOTARIA BOGOTA (E) DEL CIRCUITO DE BOGOTA, D.C. - HAGO CONSTAR QUE LA COPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL DE FENOGA LA VISTA BOGOTA D.C. - REPUBLICA DE COLOMBIA

14 ENE 2009

MARIA FERNANDA CASAS COLLA
NOTARIA ENCARGADA

MINISTERIO DE
RELACIONES
EXTERIORES
32643
HELENA URIBE DE LEMOINE
BOGOTA D.C.

2008 DEC 26 A 12
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

NO ASUME
RESPONSABILIDAD
DEL TEXTO

21446

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES
RECIBO LEGALIZACION

TRADUCCION OFICIAL NO. 1119/2008-.

DECLARACION

YO, KAZUHIKO YAZAKI DE LA OFICINA LEGAL DE PATENTES DE KYOWA , 2-3 MARUNOUCHI 3-CHOME, CHIYODA-KU, TOKIO-TO, JAPÓN DECLARO Y DIGO:

QUE SOY TOTALMENTE IDÓNEO EN LOS IDIOMAS JAPONÉS E INGLÉS Y QUE EL DOCUMENTO ADJUNTO REPRESENTA UNA TRADUCCIÓN AL INGLÉS DEL CERTIFICADO DE REGISTROS PARCIALMENTE CERRADOS.

FECHADO EL 8 DE DICIEMBRE DE 2008

FIRMADO: KAZUHIKO YAZAKI

LEGALIZADO ANTE MI, MASAKAZU WATANABE, NOTARIO ADJUNTO A LA OFICIA DE ASUNTOS LEGALES DE TOKIO NO. 1-10 NIHOMBASHI KBUTO-CHO, CHUO-KU, TOKIO, JAPÓN.

HAY SELLO DEL NOTARIO.

Masaka



TRADUCCION OFICIAL NO. 1119/2008-.

EL TEXTO QUE SIGUE ES TRADUCCION FIEL Y COMPLETA DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN FRANCES. LLEVA LA FIRMA Y EL SELLO DE HELENA URIBE DE LEMOINE, TRADUCTORA E INTERPRETE OFICIAL POR RESOLUCION NO. 3618 DEL MINISTERIO DE JUSTICIA DE COLOMBIA, DE FECHA 6 DE SEPTIEMBRE, 1972.

CERTIFICADO PARCIAL DEL REGISTRO COMERCIAL ACTUAL

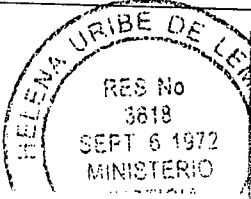
14-23 kamiosaki 3-Chome, Shinagawa-Ku, Tokio-To, Japón

MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH FOUNDATION

Compañía No. 0107/05-000078

Nombre Comercial	MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH FOUNDATION
Localización de la Oficina Principal	14-23 Kamiosaki 3-Chome, Shinagawa-Ku, Tokio-To, Japón
Nombre de Constitución	1° de Diciembre de 1958
Objeto Social	Llevamos a cabo investigación microbiana y microbiológica para descubrir nuevas sustancias ampliamente benéficas, especialmente con miras a la prevención y el tratamiento de enfermedades. Y al promover el desarrollo y la utilización de estas sustancias, contribuimos a la salud y al bienestar públicos y respaldamos la investigación académica avanzada. Estamos comprometidos en las siguientes actividades comerciales para lograr nuestro objetivo: 1. Investigar microbios y productos microbianos 2. Promover la investigación de microbios y productos microbianos 3. Establecer institutos de investigación para promover la investigación de microbios y productos microbianos 4. Promover la difusión del conocimiento acerca de los productos microbiológicos que son benéficos

Handwritten signature



Handwritten signature

TRADUCCION OFICIAL NO. 1119/2008-.

	para la prevención y el tratamiento de enfermedades. 5. Establecer la conexión y la cooperación entre las organizaciones tanto domésticas como extranjeras relacionadas con el campo de estudio químico microbiano. 6. Empezar los proyectos necesarios para lograr nuestro objetivo, distintos a las categorías mencionadas anteriormente.
--	--

Por medio del presente certifico que los mencionados arriba son asuntos parciales registrados en el registro comercial actual.

12 de Septiembre de 2008

Oficina de Asuntos Legales de Tokio, Japón,
Registrador: Teruyoshi SAJI (Sello Oficial)

Archivo Número 153881.

Hde L



TRADUCCION OFICIAL NO. 1119/2008-

MINISTERIO DE
RELACIONES
EXTERIORES

NO ASUME
RESPONSABILIDAD
DEL TEXTO

APOSTILLA 132642

2008 DEC 26 A 11:

CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPENA

JEFE DE LEGALIZACION
BOGOTA D.C.

CONVENIO DE LA HAYA DEL 5 DE OCTUBRE DE 1961

1. PAÍS: JAPON

EL PRESENTE DOCUMENTO PUBLICO

2. HA SIDO FIRMADO POR: **MASAKAZU WATANABE**

3. ACTUANDO EN SU CAPACIDAD DE: NOTARIO DE LA OFICINA DE ASUNTOS LEGALES DE TOKIO

4. LLEVA EL SELLO DE: **MASAKAZU WATANABE - NOTARIO**

CERTIFICADO

5. EN: TOKIO

6. EL 8 DICIEMBRE DE 2008

7. POR: EL MINISTRO DE RELACIONES EXTERIORES

8. BAJO EL NO.: **026304**

9. SELLO: MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES DE JAPON

10. POR EL MINISTRO DE RELACIONES EXTERIORES
FIRMADO: KAZUTOYO OYABE

LA TRADUCTORA OFICIAL

Helena Uribe de Lemoine

HELENA URIBE DE LEMOINE



RES No 3618
SEPT 6 1972
MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES
JEFATURA DE LA OFICINA DE LEGALIZACION
BOGOTA D.C.

14 ENE 2009

MARIA FERNANDA CASAS COLL
NOTARIA ENCARGADA

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
31 January 2008 (31.01.2008)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2008/012343 A3

(51) International Patent Classification:
C07H 17/08 (2006.01)

(74) Agents: STUMM, K. et al.; P.O. Box 31, NL-5830 AA
Boxmeer (NL).

(21) International Application Number:
PCT/EP2007/057710

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG,
ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL,
IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK,
LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW,
MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL,
PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY,
TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, ZA, ZM,
ZW.

(22) International Filing Date: 26 July 2007 (26.07.2007)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/834,067 28 July 2006 (28.07.2006) US
06118159.0 31 July 2006 (31.07.2006) EP

(71) Applicants: INTERVET INTERNATIONAL B.V.
[NL/NL]; P.O. Box 31, NL-5831 AN Boxmeer (NL).
MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH FOUNDA-
TION [JP/JP]; 3-14-23 Kamiosaki Shinagawa-ku, Tokyo,
141-0021 (JP).

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL,
PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,
GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(72) Inventors: BLATTER, Fritz; Klyeckstrasse 191,
CH-4002 Basel (CH). BRENNER, Meinrad; München-
steinerstrasse 38, CH-4002 Basel (CH). BRINK, Monika;
Zur Propstei 1, 55720 Schwabenheim (DE). FLEIS-
CHHAUER, Kerstin; Zur Propstei 1, 55270 Schwaben-
heim (DE). HU, Guixian; Münchensteinerstrasse 38,
CH-4002 Basel (CH). NIEDERMANN, Hans Peter; Zur
Propstei 1, 55270 Schwabenheim (DE). RAGER, Timo;
Klyeckstrasse 191, CH-4002 Basel (CH). SCHWEISEL,
Tanja; Zur Propstei 1, 55270 Schwabenheim (DE). VEIT,
Stephan; Zur Propstei 1, 55270 Schwabenheim (DE).
WARRASS, Ralf; Zur Propstei 1, 55270 Schwabenheim
(DE). WENNESHEIMER, Heinz-Jörg; Zur Propstei 1,
55270 Schwabenheim (DE).

Declaration under Rule 4.17:

— of inventorship (Rule 4.17(iv))

Published:

— with international search report
— before the expiration of the time limit for amending the
claims and to be republished in the event of receipt of
amendments

(88) Date of publication of the international search report:
17 April 2008

(54) Title: MACROLIDE SYNTHESIS PROCESS

(57) Abstract: This invention relates to a method for making macrolides, and, in particular, to a method for making optionally substi-
tuted 20,23-dipiperidinyl-5-O-mycaminosyl- tylosin and derivatives thereof, as well as uses of macrolides to make medicaments,
methods of treatment using macrolides, and methods for making intermediates that, *inter alia*, may be used to make macrolides.

WO 2008/012343 A3

MACROLIDE SYNTHESIS PROCESS

CROSS-REFERENCE TO RELATED PATENT APPLICATIONS

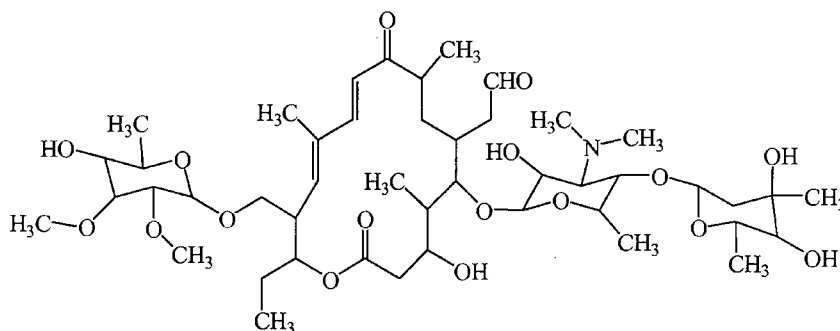
[1] This patent claims priority to U.S. Provisional Patent Application No. 60/834,067 (filed July 28, 2006); and European Patent Application No. 06118159.0 (filed July 31, 2006). The entire text of both those patent applications is incorporated by reference into this patent.

FIELD OF THE INVENTION

10 [2] This invention relates to a method for making macrolides, and, in particular, to a method for making optionally substituted 20,23-dipiperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide and derivatives thereof, as well as methods of treatment using such macrolides, uses of such macrolides to make medicaments, and methods for making intermediates that, *inter alia*, may be used to make macrolides.

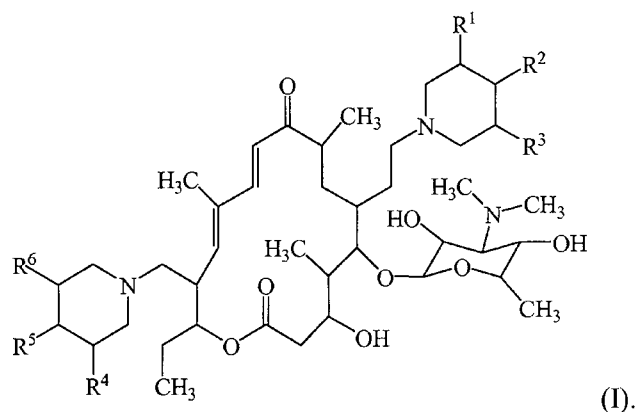
BACKGROUND OF THE INVENTION

[3] Macrolides have long been known to be effective for treating infectious diseases in humans, livestock, poultry, and other animals. Early macrolides included 16-membered macrolides such as, for example, tylosin A:



See, e.g., U.S. Patent No. 4,920,103 (col. 5, lines 12-38). See also, U.S. Patent No. 4,820,695 (col. 7, lines 1-32) and EP 0103465B1 (page 5, line 3). Over the years, various tylosin derivatives have been developed with the goal of enhancing antibacterial activity and selectivity.

25 [4] Tylosin derivatives include, for example, compounds discussed in U.S. Patent No. 6,514,946 that correspond in structure to Formula (I):

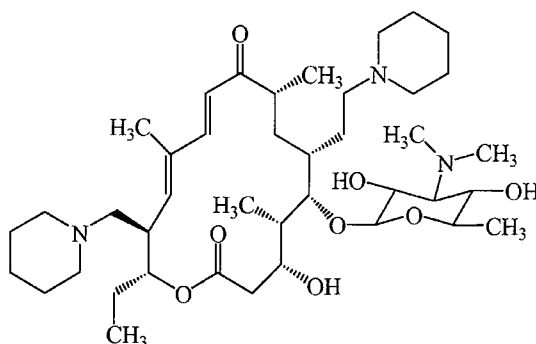


Here:

R^1 and R^3 are each methyl, and R^2 is hydrogen; R^1 and R^3 are each hydrogen, and R^2 is methyl; or R^1 , R^2 , and R^3 are each hydrogen; and

5 R^4 and R^6 are each methyl, and R^5 is hydrogen; R^4 and R^6 are each hydrogen, and R^5 is methyl; or R^4 , R^5 , and R^6 are each hydrogen.

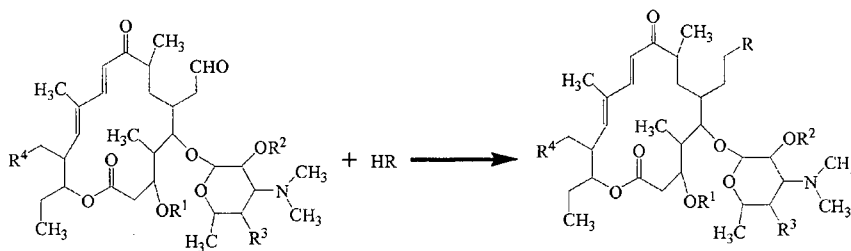
Such compounds include, for example, 20,23-dipiperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide, which has the following structure:



10 These compounds, and particularly 20,23-dipiperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide, are believed to have pharmacokinetic and pharmacodynamic attributes for safe and effective treatment of, for example, pasteurellosis, bovine respiratory disease, and swine respiratory disease. A discussion relating to the use of these compounds to treat livestock and poultry diseases is included in U.S. Patent No. 6,514,946. That discussion is incorporated by
15 reference into this patent.

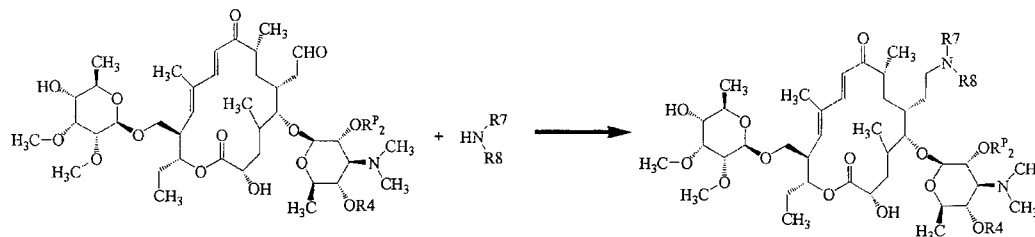
[5] Various approaches for making macrolides have been reported.

[6] In EP 0103465B1, for example, Debono et al. discuss various process steps for making compounds within their recited genus. These processes include, for example, the following reduction:



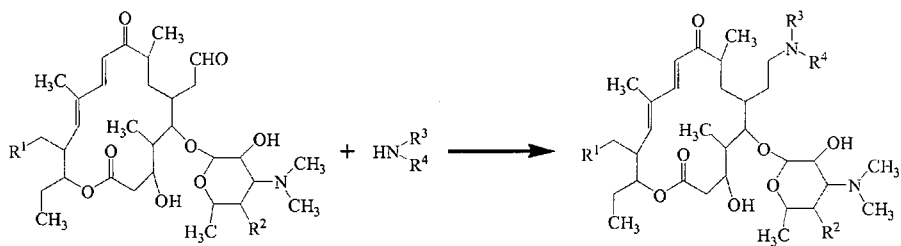
Here, R, R¹, R², R³, and R⁴ are defined as various substituents. R, in particular, is defined as a nitrogen-containing ring system that has up to 3 unsaturated or saturated rings that are optionally substituted. Debono et al. report that the preferred reducing agent is a cyanoborohydride, and that sodium cyanoborohydride is “the reducing agent of choice.” Debono et al. also state that the solvent for this reaction will normally be an inert polar solvent, such as a C₁-C₄ alkanol. *See* page 6, lines 7-14. In a later-filed patent in the same patent family, Debono et al. further discuss reductive amination of various aldehyde compounds (including tylosin) with an amine. Sodium cyanoborohydride and sodium borohydride are cited as suitable reducing agents, and anhydrous methanol is cited as a suitable solvent. *See* U.S. Patent No. 4,820,695, col. 7, lines 60-68.

[7] In U.S. Patent No. 6,664,240, Phan et al. also discuss a reductive amination:



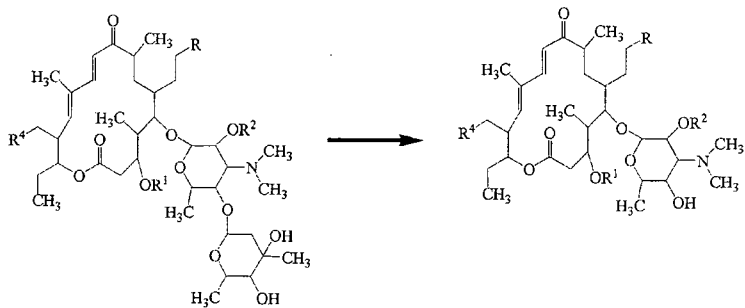
Here, R^p₂, R₄, R₇ and R₈ are defined as various substituents. R₇ and R₈, in particular, are each defined as being independent substituents, or, alternatively, as together forming a 3- to 7-member heterocyclic ring. Phan et al. discuss conducting this reaction with a borohydride reagent in an alcohol or acetonitrile solvent. Sodium borohydride and sodium cyanoborohydride are listed as example borohydride reagents; and methanol, ethanol, and isopropanol are listed as example alcohol solvents. *See, e.g.*, col. 15, line 64 to col. 16, line 42; and col. 22, lines 41-49.

[8] In EP 0240264B1, Tao et al. also discuss a reductive amination:



Here, R^1 , R^2 , R^3 , and R^4 are defined as various substituents. R^3 and R^4 , in particular, are defined as each being independent substituents, or, alternatively, as together forming a heterocyclic ring system having up to 3 optionally substituted rings. Tao et al. report that this reduction may be achieved using formic acid as the reducing agent. Tao et al. further report that the solvent will ordinarily be an inert polar organic solvent. Amyl acetate and acetonitrile are cited as examples of such a solvent. See page 4, line 57 to page 5, line 10. See also, U.S. Patent No. 4,921,947, col. 3, line 62 to col. 4, line 16.

[9] In EP 0103465B1, Debono et al. discuss the following hydrolysis reaction:



Here, R , R^1 , R^2 , and R^4 are defined as various substituents. Debono et al. report that this “hydrolysis can be effected using a strong aqueous mineral acid as hydrochloric or sulfuric acid, or a strong organic acid such as *p*-toluenesulfonic acid.” See page 7, lines 3-8. In a later-filed patent of the same patent family, Debono et al. further discuss mycarose hydrolysis of C-20-modified derivatives of tylosin, macrocin, and DOMM using “well known” procedures for acidic hydrolysis. See U.S. Patent No. 4,820,695, Col. 8, lines 35-43.

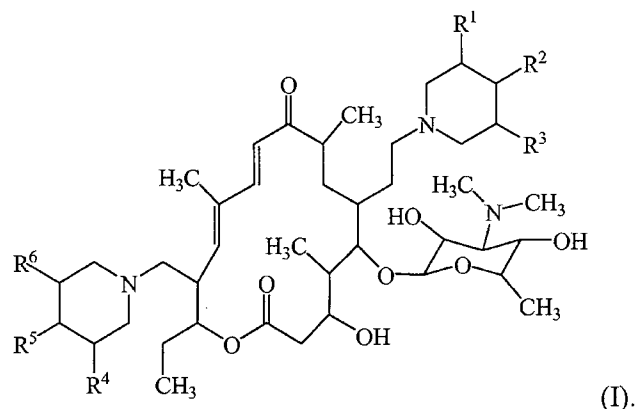
[10] In view of the importance of macrolides in the treatment of a plethora of pathological conditions, there continues to be a need for cost-effective, high-yield processes for making macrolides. The following disclosure addresses this need.

SUMMARY OF THE INVENTION

[11] This invention relates to processes for making macrolides, and, in particular, optionally substituted 20,23-dipiperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide and

derivatives thereof. Such processes include processes for making the macrolides themselves, as well as processes for making compounds that, *inter alia*, may be used as intermediates for making various macrolides.

[12] Briefly, this invention is directed, in part, to a process for making a
5 macrolide and salts thereof. The macrolide corresponds in structure to Formula (I):



Here:

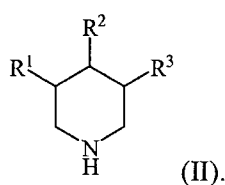
As to R^1 , R^2 , and R^3 :

10 R^1 and R^3 are each methyl, and R^2 is hydrogen,
 R^1 and R^3 are each hydrogen, and R^2 is methyl, or
 R^1 , R^2 , and R^3 are each hydrogen.

As to R^4 , R^5 , and R^6 :

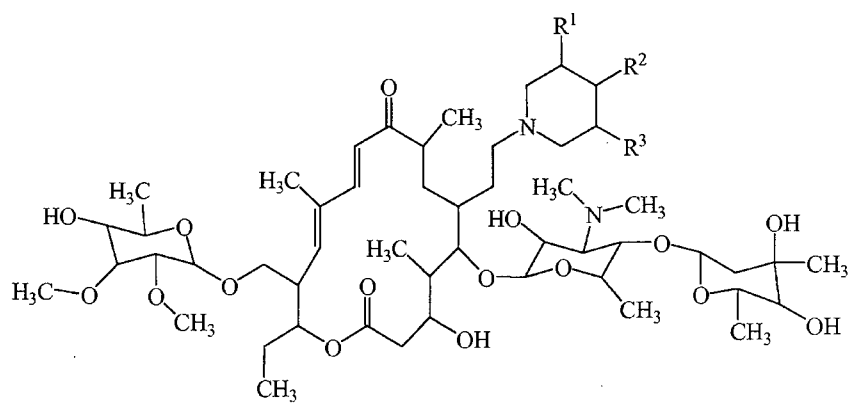
15 R^4 and R^6 are each methyl, and R^5 is hydrogen,
 R^4 and R^6 are each hydrogen, and R^5 is methyl, or
 R^4 , R^5 , and R^6 are each hydrogen.

[13] In some embodiments, the process comprises reacting tylosin (*e.g.*, tylosin A or a salt thereof), a piperidinyl compound of Formula (II), and formic acid in the presence of a non-polar solvent. In these embodiments, the piperidinyl compound of Formula (II) corresponds in structure to:



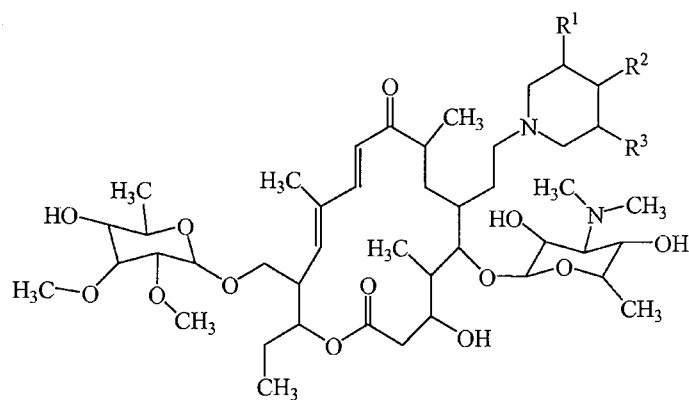
20

[14] In some embodiments, the process comprises reacting a 20-piperidinyl-tylosin compound with an acid. In these embodiments, the 20-piperidinyl-tylosin compound corresponds in structure to Formula (III):



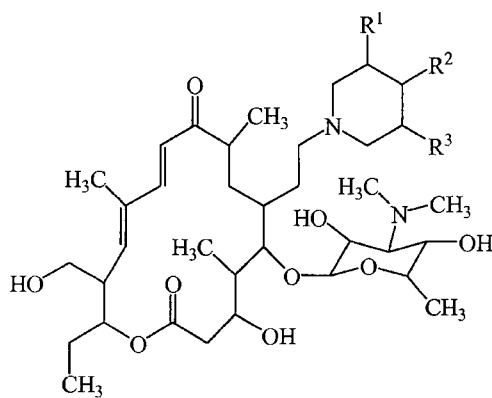
(III).

[15] In some embodiments, the process comprises reacting a 23-O-mycinosyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound with an acid. In these embodiments, the 23-O-mycinosyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound corresponds in structure to Formula (IV):



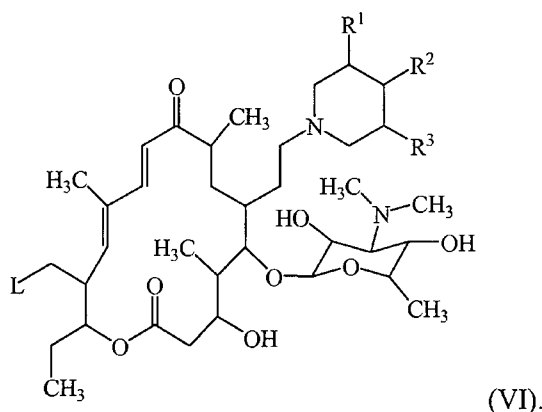
(IV).

[16] In some embodiments, the process comprises activating a 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound with an activating agent to form an activated compound. In these embodiments, the 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound corresponds in structure to Formula (V):



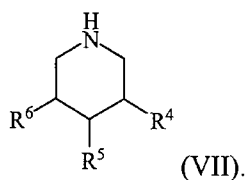
(V).

The activated compound (also referred to as a "23-L-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound") corresponds in structure to Formula (VI):



And L is a leaving group.

- 5 [17] In other embodiments, the process comprises reacting an activated compound of Formula (VI) with a piperidinyl compound of Formula (VII). In these embodiments, the piperidinyl compound of Formula (VII) corresponds in structure to:



- 10 [18] In some embodiments, the process comprises a combination of the above embodiments to make a macrolide of Formula (I) or salt thereof.

[19] In some embodiments, the process comprises one or more of the above embodiments to make, for example, an amorphous, crystalline, co-crystalline, or solvate form of the macrolide of Formula (I) or a salt thereof.

- 15 [20] This invention also is directed, in part, to a process for making the 20-piperidinyl-tylosin compound of Formula (III) or a salt thereof. In these embodiments, the process comprises reacting tylosin (*e.g.*, tylosin A), the piperidinyl compound of Formula (II), and formic acid in the presence of a non-polar solvent.

- 20 [21] This invention also is directed, in part, to a process for making the 23-O-mycinosyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound of Formula (IV) or a salt thereof. In these embodiments, the process comprises reacting the 20-piperidinyl-tylosin compound of Formula (III) with HBr.

[22] This invention also is directed, in part, to a process for making a 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound of Formula (V) or a salt

thereof. In these embodiments, the process comprises reacting the 23-O-mycinosyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound of Formula (IV) with an acid.

[23] This invention also is directed, in part, to a process for making an activated compound of Formula (VI) or a salt thereof. In these embodiments, the process comprises
5 activating a 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound of Formula (V) with an activating agent.

[24] This invention also relates to using compounds of Formula (I) (and pharmaceutically acceptable salts thereof) prepared in accordance with this invention in methods for treating a disease, such as pasteurellosis, swine respiratory disease, or bovine
10 respiratory disease. More specifically, this invention is directed, in part, to a method that comprises preparing a compound of Formula (I) (or a pharmaceutically acceptable salt thereof) in accordance with one or more of the above cited methods, and then administering a therapeutically effective amount of the compound or salt to an animal in need of the treatment. This invention also is directed, in part, to using a compound of
15 Formula (I) (or a pharmaceutically acceptable salt thereof) prepared in accordance with this invention to prepare a medicament, particularly a medicament for use in the above treatments.

[25] Further aspects and benefits of Applicants' invention will be apparent to one skilled in the art from reading this specification.

20

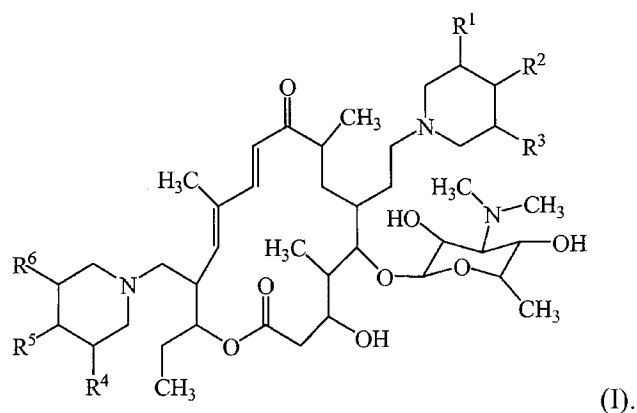
DETAILED DESCRIPTION OF PREFERRED EMBODIMENTS

[26] This detailed description of preferred embodiments is intended only to acquaint others skilled in the art with Applicants' invention, its principles, and its practical application so that others skilled in the art may adapt and apply the invention in its
25 numerous forms, as they may be best suited to the requirements of a particular use. This detailed description and its specific examples, while indicating preferred embodiments of this invention, are intended for purposes of illustration only. This invention, therefore, is not limited to the preferred embodiments described in this specification, and may be variously modified.

30

A. Macrolides That May Be Prepared By This Invention

[27] Compounds that may be prepared by the process of this invention include compounds corresponding in structure to Formula (I):

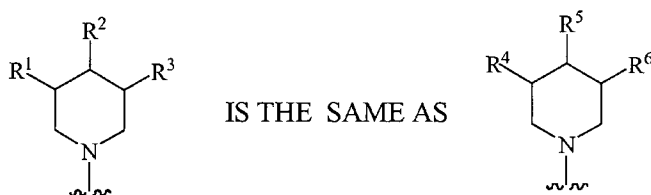


Here:

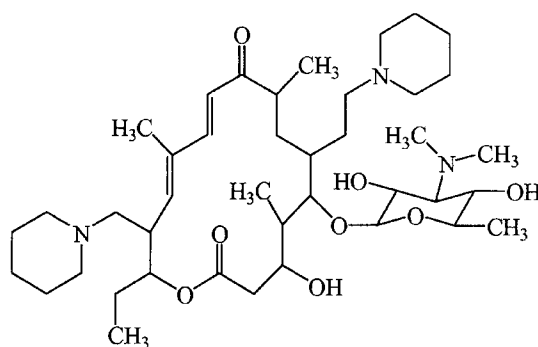
R^1 and R^3 are each methyl, and R^2 is hydrogen; R^1 and R^3 are each hydrogen, and R^2 is methyl; or R^1 , R^2 , and R^3 are each hydrogen; and

R^4 and R^6 are each methyl, and R^5 is hydrogen; R^4 and R^6 are each hydrogen, and R^5 is methyl; or R^4 , R^5 , and R^6 are each hydrogen.

In some embodiments, the piperidinyl substituents of Formula (I) are identical, *i.e.*:

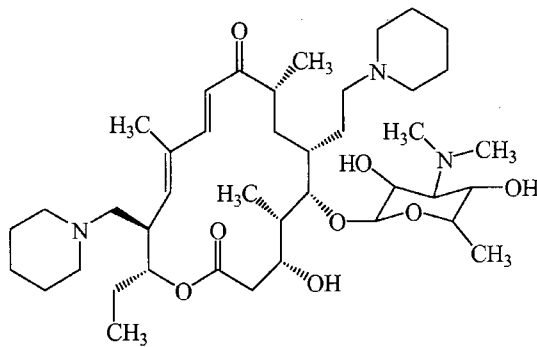


In some such embodiments, for example, both piperidinyl substituents are piperidine (*i.e.*, R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , and R^6 are each hydrogen), such that the compound is 20,23-dipiperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide:

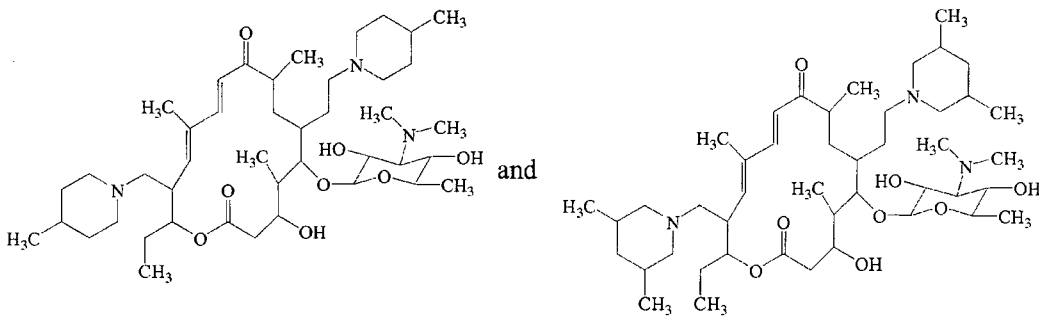


Such compounds include, for example:

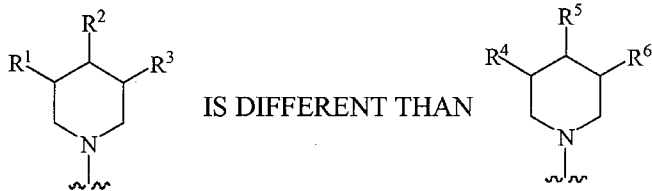
10



Other compounds having identical piperidinyl substituents include:

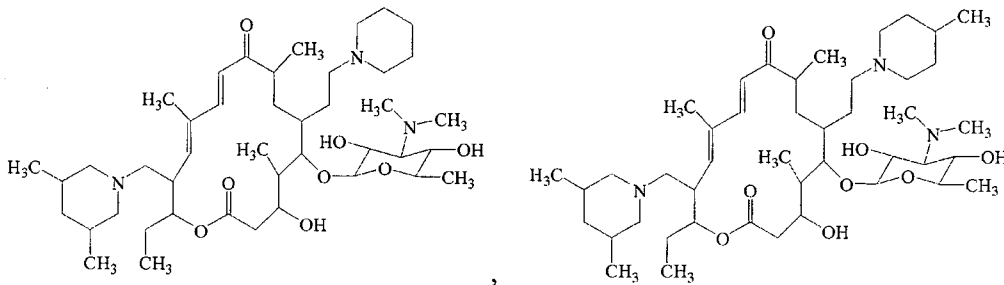


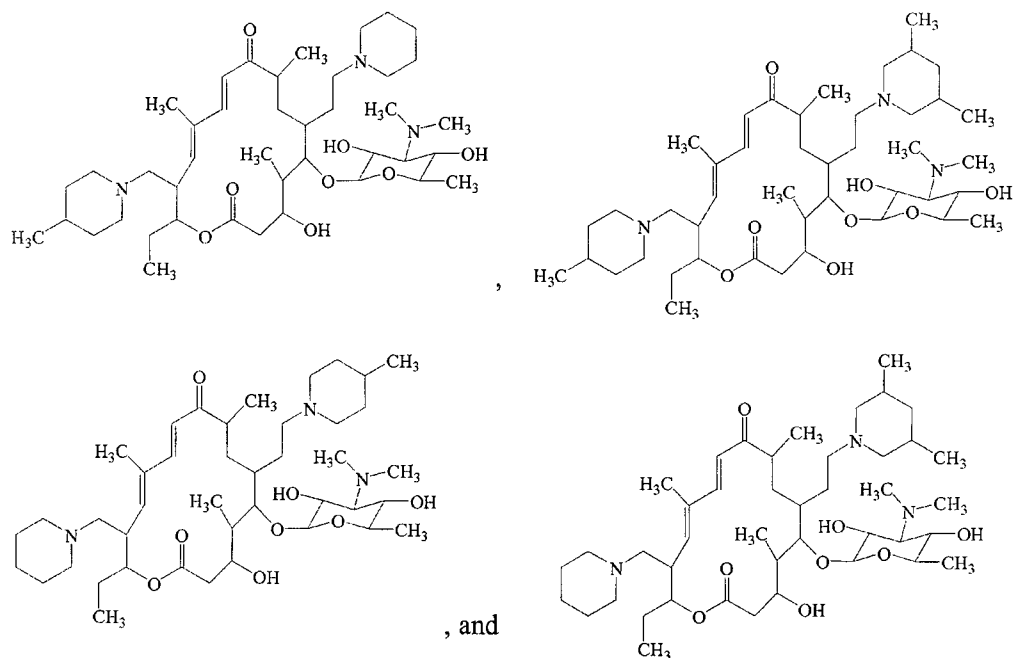
[28] In some embodiments, the piperidinyl substituents of Formula (I) are not identical, *i.e.*:



5

Compounds having different piperidinyl substituents include:





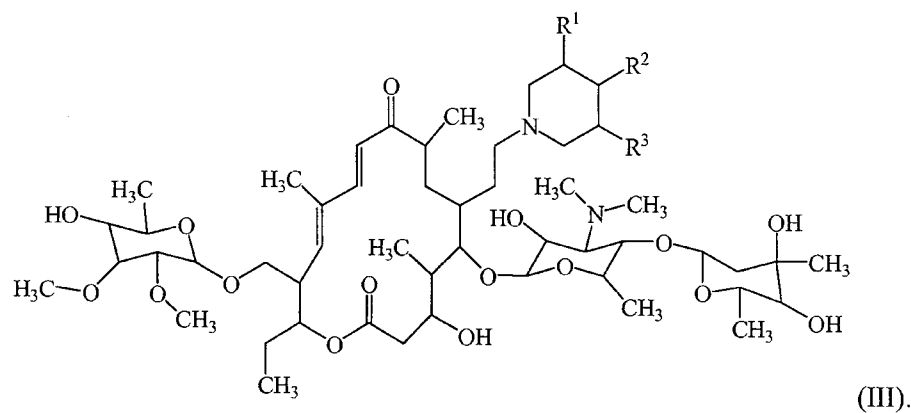
B. Macrolide Synthesis

[29] This invention may be used to synthesize macrolides from materials generally available in the art.

5

B-1. Preparation of 20-Piperidinyl-Tylosin Compound

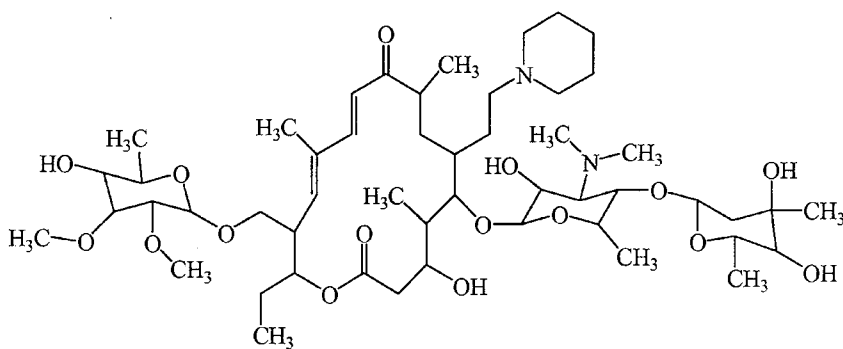
[30] In some embodiments, the macrolide synthesis begins by or includes preparing a 20-piperidinyl-tylosin compound, and particularly a compound corresponding in structure to Formula (III):



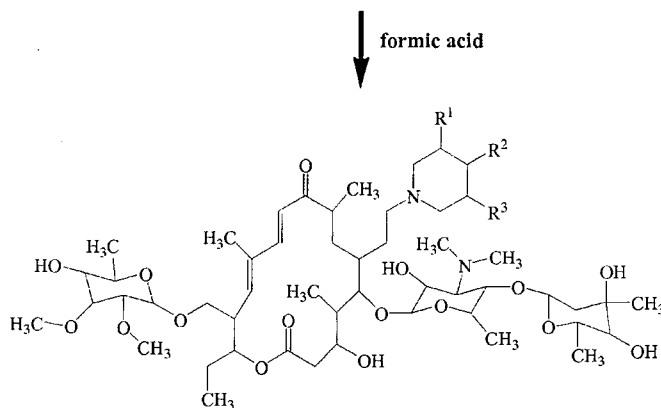
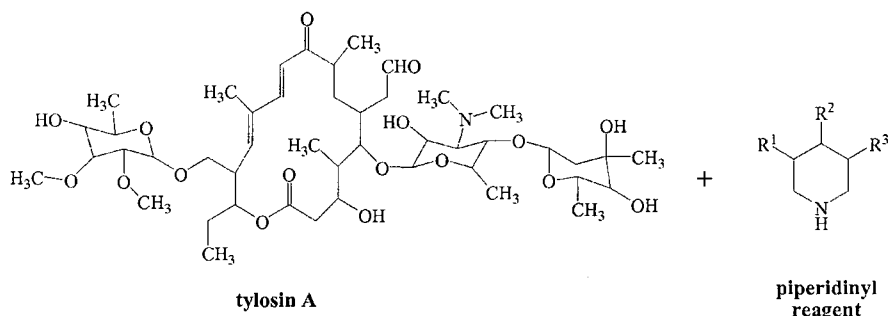
10

In some embodiments, R¹ and R³ are each methyl, and R² is hydrogen; or R¹ and R³ are each hydrogen, and R² is methyl. In other embodiments, R¹, R², and R³ are each hydrogen, such that the compound corresponds in structure to:

12



[31] The 20-piperidinyl-tylosin compound may be prepared from tylosin A and a piperidinyl compound via a reductive amination reaction using a reducing agent comprising formic acid (or "HCOOH"):

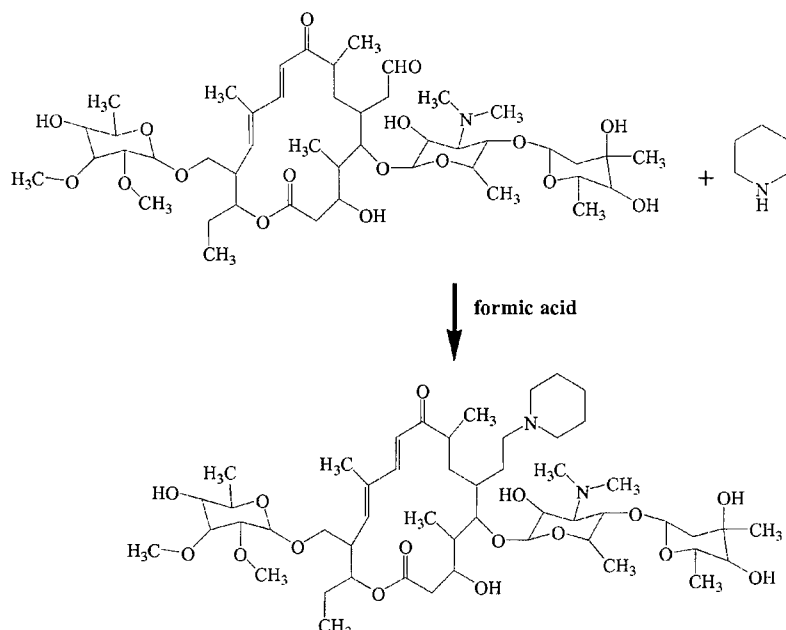


20-piperidinyl-tylosin compound

5

Where R^1 , R^2 , and R^3 are each hydrogen, this reaction is as follows:

13



Tylosin A, piperidinyl compounds, and formic acid are commercially available.

[32] The tylosin A reagent may, for example, be pure (or at least essentially pure) tylosin A. Alternatively, as noted below in **Section B-7**, the tylosin A reagent may be part of a mixture, such as, for example, a mixture comprising tylosin A as well as one or more tylosin A derivatives, such as tylosin B, tylosin C, and/or tylosin D.

[33] The tylosin A may be in the form of its free base, or, alternatively, in the form of a salt. The tylosin A derivatives likewise are optionally in the form of one or more salts. It is contemplated that a variety of salts may be suitable. In some embodiments, for example, the salt comprises a phosphate salt. In other embodiments, the salt comprises a tartrate salt. In still other embodiments, the salt comprises a citrate or sulfate salt. Further discussion relating to salts may be found below in **Section C**.

[34] The solvent may comprise one or more solvents. Although the solvent may comprise one or more polar solvents in some embodiments, the solvent preferably instead comprises one or more non-polar solvents. A "non-polar solvent" is a solvent that does not ionize sufficiently to be electrically conductive, and cannot (or at least essentially cannot) dissolve polar compounds (*e.g.*, various inorganic salts), but can dissolve nonpolar compounds (*e.g.*, hydrocarbons and resins). In general, the solvent preferably is non-reactive with the reagents, products, and any other ingredients in the reaction mixture. The solvent may comprise, for example, chloroform (or "CHCl₃"); tetrahydrofuran (or "THF"); dichloromethane (or "CH₂Cl₂" or "DCM" or "methylene chloride"); carbon tetrachloride (or "CCl₄"); ethyl acetate (or "CH₃COOC₂H₅"); diethyl ether (or "CH₃CH₂OCH₂CH₃");

38

cyclohexane (or "C₆H₁₂"); or aromatic hydrocarbon solvents, such as benzene (or "C₆H₆"), toluene (or "C₆H₅CH₃"), xylene (or "C₆H₄(CH₃)₂" or "dimethylbenzene" (including 1,3-dimethylbenzene (or "*m*-xylene"), 1,2-dimethylbenzene (or "*o*-xylene"), or 1,4-dimethylbenzene (or "*p*-xylene")), ethylbenzene, or mixtures thereof (*e.g.*, mixtures of *m*-xylene, *o*-xylene, *p*-xylene, and/or ethylbenzene). In some embodiments, the solvent comprises dichloromethane, chloroform, or ethyl acetate. In other embodiments, the solvent comprises xylene. In still other embodiments, the solvent comprises toluene. In some such embodiments, toluene is particularly preferred because of its ease of use at typical reaction temperatures.

10 [35] In some embodiments, the solvent comprises a mixture of solvents. In some such embodiments, for example, the solvent comprises a mixture of toluene and DCM. Here, the toluene/DCM ratio may be, for example, from about 1:1 to about 100:1, or from about 5:1 to about 8:1 (v/v). In some of these embodiments, the ratio is, for example, about 8:1 (v/v). In others, the ratio is, for example, about 5.3:1 (v/v).

15 [36] To perform the amination, the tylosin A reagent, piperidinyl compound, formic acid (or a source of formic acid), and solvent normally are charged to a reactor and mixed. These ingredients may generally be charged to the reactor in any sequence.

20 [37] The reactor may comprise various reactor types. In some embodiments, for example, the reactor is a stirred-tank reactor. Glass and glass-lined reactors are often preferred, although any composition stable when exposed to the reaction mixture may be used. For example, stainless steel reactors generally may be used as well.

25 [38] Typically, equimolar amounts of the tylosin A reagent, piperidinyl compound, and formic acid may be used. Normally, however, excess amounts of the piperidinyl compound and formic acid are used, relative to the molar amount of tylosin A reagent.

30 [39] In some embodiments, from 1 to about 3 equivalents (or from 1.05 to about 3 equivalents) of the piperidinyl compound are charged to the reactor. In some such embodiments, for example, from 1.05 to about 1.2 equivalents of piperidinyl compound are charged to the reactor. In other such embodiments, from about 1.07 to about 1.5 equivalents of piperidinyl compound are charged to the reactor. Here, for example, about 1.3 equivalents of the piperidinyl compound may be charged to the reactor. In some embodiments, the piperidinyl compound is charged to the reactor in two or more separate charges over time, preferably with the subsequent charge(s) being less than the first charge. In some embodiments, for example, the piperidinyl compound is charged to the

39
reactor in two charges, with the amount of the second charge being about 10% of the first charge. Applicants have discovered that this can be beneficial for increasing conversion.

[40] In some embodiments, from 1 to about 10 equivalents (or from 1.05 to about 10 equivalents, from about 2 to about 5 equivalents, or from about 2.5 to about 4.5 equivalents) of formic acid are used. In some such embodiments, for example, about 4.5 equivalents of formic acid are used. In other such embodiments, from about 2.5 to about 4 equivalents of formic acid are used. For example, in some such embodiments, about 3.0 equivalents of formic acid are used.

[41] Typically, the amount of solvent is sufficient to, for example, prevent (or essentially prevent) the reagents, products, and other ingredients in the reaction mixture from sticking to the reactor, and promote homogenous distribution of the reagents. In some embodiments, the amount of solvent is at least about 1 L per kg tylosin A reagent (or, where the tylosin A reagent is part of a mixture of tylosin A reagent and derivatives thereof, per kg of the total tylosin mixture). The amount of solvent generally is less than about 40 L per kg tylosin A reagent (or tylosin mixture). In some embodiments, the amount of solvent is from about 2 to about 15 L (or from about 5 to about 15 L, from about 5 to about 12 L, from about 5 to about 10 L, or from about 8 to about 10 L) per kg tylosin A reagent (or tylosin mixture). To illustrate, in some such embodiments, the solvent comprises toluene or a mixture of toluene and DCM, and the amount of solvent is from about 8 to about 10 L per kg tylosin A reagent (or tylosin mixture). Here, for example, the amount of solvent may be about 8 L per kg tylosin A reagent (or tylosin mixture).

[42] At least a portion of the reaction (or the entire reaction) is typically conducted at greater than about 20°C, greater than about 25°C, or greater than about 60°C. In general, at least a portion of the reaction (or the entire reaction) is conducted at a temperature that is not greater than the boiling point of the solvent, and, more typically, is less than the boiling point. When, for example, the solvent is toluene, at least a portion of the reaction (or the entire reaction) is typically conducted at less than about 110°C. Illustrating further, when the solvent is xylene, at least a portion of the reaction (or the entire reaction) is normally conducted at less than about 165°C. In general, at least a portion of the reaction (or the entire reaction) is conducted at from about 60 to about 95°C, from about 70 to about 85°C, from about 70 to about 80°C, or from about 75 to about 80°C. In some embodiments, for example, the reaction temperature for at least a portion of the reaction (or the entire reaction) is about 80°C. In other embodiments, for example,

the reaction temperature for at least a portion of the reaction (or the entire reaction) is about 76°C. Although lesser temperatures than the above ranges may be used, such temperatures tend to coincide with slower reaction rates. And, although greater temperatures than the above ranges may be used, such temperatures tend to coincide with greater production of undesirable byproducts.

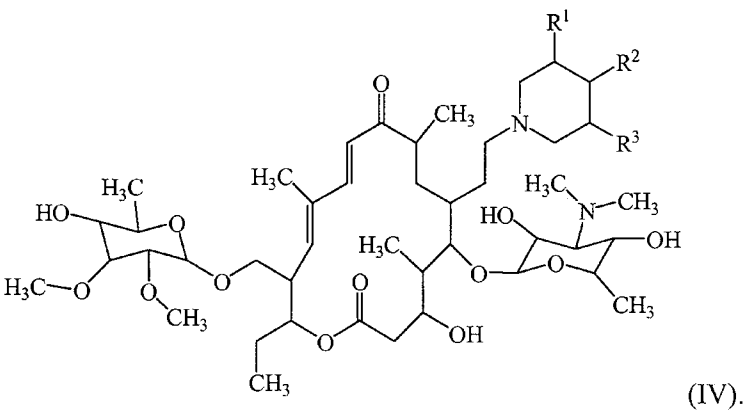
[43] This reaction may be conducted over a wide range of pressures, including atmospheric pressure, less than atmospheric pressure, and greater than atmospheric pressure. It is typically preferred, however, to conduct the reaction at about atmospheric pressure. In preferred embodiments, this reaction is conducted under an inert atmosphere (e.g., N₂).

[44] The reaction time may depend on various factors including, for example, the reaction temperature, characteristics of the solvent, relative amounts of the ingredients, and the desired conversion. In a batch reactor, the reaction time is generally at least about 1 minute, typically at least about 5 minutes, and more typically at least about 1 hour. The reaction time is generally less than about 24 hours. In some embodiments, for example, the reaction time is from about 0.5 to about 12 hours, or from about 1 to about 4 hours. In some such embodiments, the reaction time is about 3.5 hours. In other such embodiments, the reaction time is from about 1 to about 3 hours. In these embodiments, the reaction time may be, for example, about 2 hours. Although lesser reaction times than these ranges may be used, such reaction times tend to coincide with lesser conversions. And, although greater reaction times may be used, such reaction times tend to coincide with greater production of impurities and inefficient use of equipment and manpower.

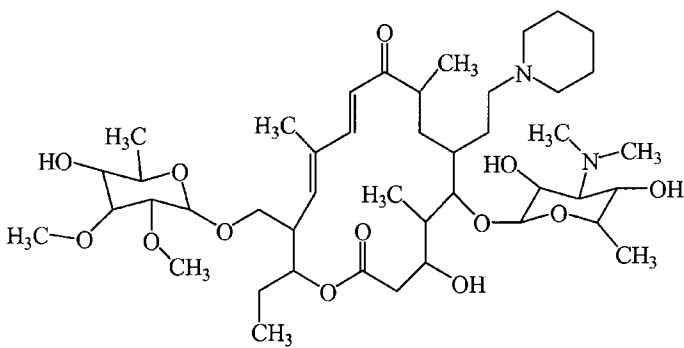
[45] Purification or isolation of the product may be achieved using, for example, various methods known in the art. Alternatively, the product may be used in the next step without further purification or isolation.

*B-2. Preparation of 23-O-Mycinosyl-20-Piperidinyl-5-O-Mycaminosyl-Tylonolide
Compound
(Hydrolysis of Mycarosyloxy Substituent)*

[46] In some embodiments, the macrolide synthesis begins by or includes preparing a 23-O-mycinosyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound, and particularly a compound corresponding in structure to Formula (IV):



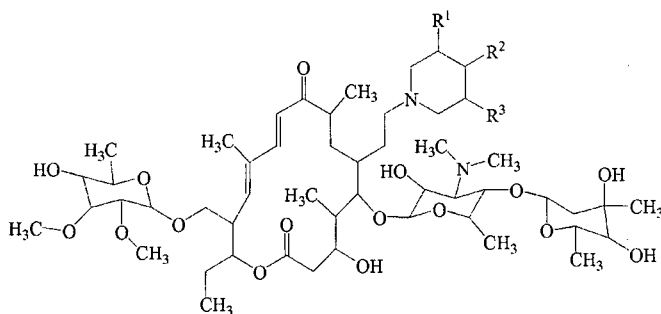
In some embodiments, R^1 and R^3 are each methyl, and R^2 is hydrogen; or R^1 and R^3 are each hydrogen, and R^2 is methyl. In other embodiments, R^1 , R^2 , and R^3 are each hydrogen such that the compound corresponds in structure to:



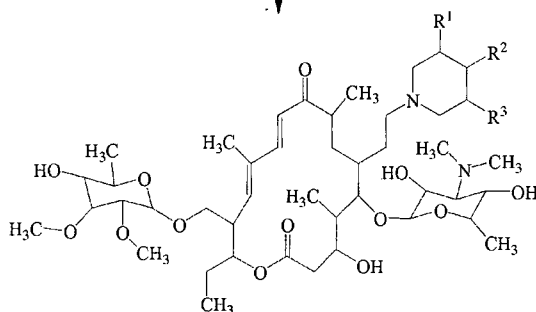
5

[47] The 23-O-mycinosyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound may be prepared via acid hydrolysis of a 20-piperidinyl-tylosin compound:

18

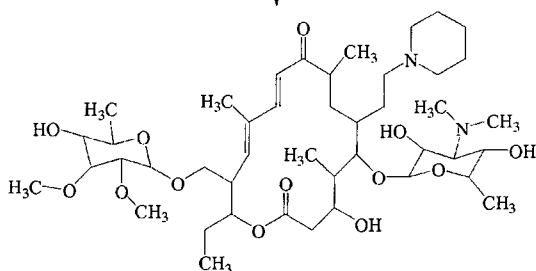
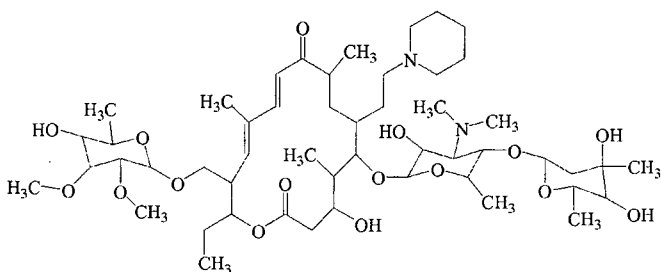


20-piperidinyl-tylosin compound



23-O-mycinosyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound

When R^1 , R^2 , and R^3 are each hydrogen, this reaction is as follows:



[48] The 20-piperidinyl-tylosin compound used in the above reaction may be
 5 prepared using a process discussed above in **Section B-1**, prepared using a different
 process (*e.g.*, a process using a borohydride as a reducing agent), or obtained from a

commercial vendor. In some preferred embodiments, the 20-piperidinyl-tylosin compound is prepared using a process discussed above in **Section B-1**.

[49] The acid may, for example, be a strong mineral acid, such as hydrochloric acid (or "HCl"), nitric acid (or "HNO₃"), fluoroboric acid (or "HBF₄"), sulfuric acid (or "H₂SO₄"), phosphoric acid (or "H₃PO₄"), polyphosphonic acid (or "PPA"), or hydrobromic acid (or "HBr"); or a strong organic acid, such as *p*-toluenesulfonic acid or trifluoroacetic acid ("CF₃COOH"). In some embodiments, the acid comprises HCl. In other embodiments, the acid comprises HBr. Use of HBr tends to coincide with a less amount of impurities in the product mixture relative to the product obtained using, for example, HCl. In some embodiments, a mixture of acids (particularly a strong acid with another acid) is used.

[50] In general, sufficient acid is mixed with the 20-piperidinyl-tylosin compound to hydrolyze (*i.e.*, cleave) the mycarosyloxy substituent to form a hydroxyl group. Typically, the amount of acid will be at least about one equivalent, based on the amount of 20-piperidinyl-tylosin compound. In general, the acid is added to the reaction mixture in the form of a concentrated composition. The concentration typically is not greater than about 50% (mass/vol), not greater than about 48% (mass/vol), from about 1 to about 30% (mass/vol), or from about 1 to about 24% (mass/vol). In some embodiments, for example, the acid is HBr, and the concentration of the acid solution added to the reaction mixture is about 24% (mass/vol). In some embodiments, the concentrated acid comprises a mixture of acids, such as, for example, HBr with another acid.

[51] The ingredients may generally be charged to the reactor in any sequence. The reactor may comprise various reactor types. In some embodiments, for example, the reactor is a stirred-tank reactor. Glass and glass-lined reactors are often preferred, although any composition stable when exposed to the acidic reaction mixture may be used.

[52] At least a portion of the hydrolysis (or the entire hydrolysis) normally is conducted at a temperature that is greater than the freezing point of the mixture, allows the mixture to be stirred, and allows for the mixture to be homogenous. A temperature of at least about 10°C (or greater than about 15°C, or greater than about 25°C) is typically preferred. In general, the reaction temperature is not greater than the boiling point of the solvent (*e.g.*, water), and typically is less than the boiling point. In some embodiments, at least a portion of the reaction (or the entire reaction) is conducted at a temperature that is not greater than about 100°C (or not greater than about 65°C). In some embodiments where the acid is HCl or HBr, the reaction temperature over at least a portion of the

44

reaction (or the entire reaction) is from about 20 to about 60°C. In some such embodiments, the reaction temperature over at least a portion of the reaction (or the entire reaction) is not greater than about 40°C. In such instances, the reaction temperature over at least a portion of the reaction (or the entire reaction) may be, for example, from about 20 to about 40°C, from about 25 to about 40°C, or from about 30 to about 40°C. In other embodiments where the acid is HCl or HBr, the reaction temperature over at least a portion of the reaction (or the entire reaction) is from about 45 to about 60°C, or from about 50 to about 56°C. To illustrate, in such embodiments, the reaction temperature over at least a portion of the reaction (or the entire reaction) may be, for example, about 56°C. Although greater temperatures than these ranges may be used, such temperatures tend to coincide with greater production of undesirable byproducts. And, although lesser temperatures than these ranges may be used, such temperatures tend to coincide with slower reaction rates. Such rates, however, may still be suitable, given the ease with which this hydrolysis occurs.

[53] The reaction mixture may be maintained at a temperature that is slightly less than the desired reaction temperature while the acid is being charged to the reactor. In such embodiments, the temperature tends to increase once the acid has been charged to the reactor.

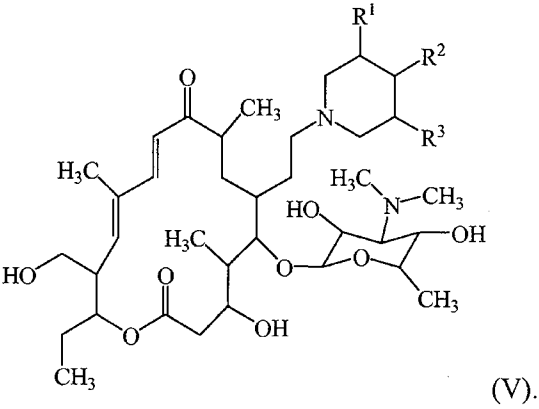
[54] This reaction may be conducted over a wide range of pressures, including atmospheric pressure, less than atmospheric pressure, and greater than atmospheric pressure. It is typically preferred, however, to conduct the reaction at about atmospheric pressure.

[55] The reaction time will depend on various factors including, for example, the reaction temperature, relative amounts of the ingredients, and the desired conversion. In a batch reactor, the reaction time may be less than a minute, essentially spontaneous, or spontaneous. Generally, however, the reaction time is at least about 1 minute, more typically at least about 5 minutes, and still more typically at least about 15 minutes. Normally, the reaction time is less than about 3 hours. In some embodiments, for example, the reaction time is from about 0.25 to about 2 hours, from about 0.25 to about 1.5 hours, or from about 0.25 to about 1.1 hours. Although lesser reaction times may be used, such reaction times may coincide with lesser conversions. And, although greater reaction times may be used, such reaction times tend to coincide with greater production of impurities and inefficient use of equipment and manpower.

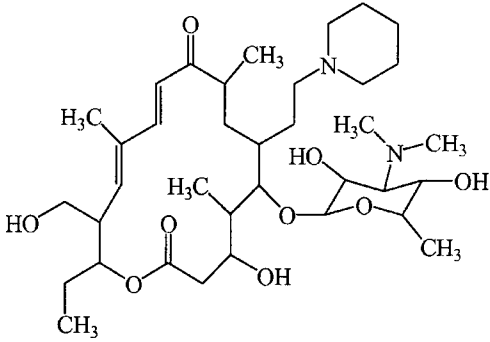
[56] Purification or isolation of the product may be achieved using, for example, various methods known in the art. Alternatively, the product may be used in the next step without further purification or isolation.

5 B-3. Preparation of 23-Hydroxyl-20-Piperidinyl-5-O-Mycaminosyl-Tylonolide Compound (Hydrolysis of Mycinosyloxy Substituent)

[57] In some embodiments, the macrolide synthesis begins by or includes preparing a 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound, and particularly a compound corresponding in structure for Formula (V):

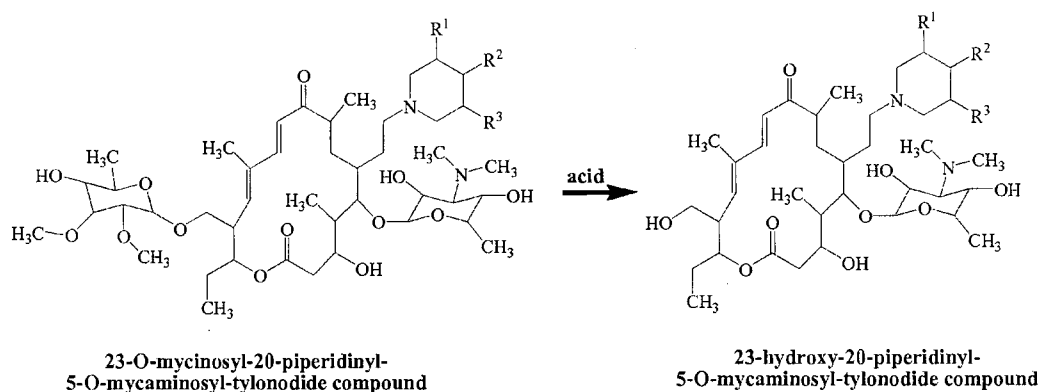


In some embodiments, R¹ and R³ are each methyl, and R² is hydrogen; or R¹ and R³ are each hydrogen, and R² is methyl. In other embodiments, R¹, R², and R³ are each hydrogen:

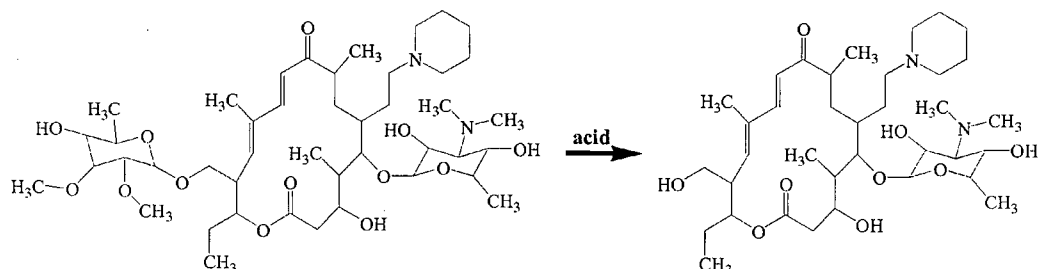


15

[58] The 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound may be prepared via an acid hydrolysis reaction from a 23-O-mycinosyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound:



Where R^1 , R^2 , and R^3 are each hydrogen, this reaction is as follows:



[59] The 23-O-mycinosyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound used in the above reaction may be prepared using a process discussed above in **Section B-2**, prepared using a different process, or obtained from a commercial vendor. In some preferred embodiments, the 23-O-mycinosyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound is prepared using a process discussed above in **Section B-2**.

[60] The acid may, for example, be a strong mineral acid, such as hydrochloric acid, nitric acid, fluoroboric acid, sulfuric acid, phosphoric acid, polyphosphonic acid, or hydrobromic acid; or a strong organic acid, such as *p*-toluenesulfonic acid or trifluoroacetic acid. In some embodiments, the acid comprises HCl. In some preferred embodiments, the acid comprises HBr. As with the hydrolysis discussed above in **Section B-2**, this preference stems from the tendency of HBr to coincide with a less amount of impurities in the product mixture relative to, for example, HCl. In some embodiments, a mixture of acids (particularly a mixture of a strong acid with another acid) is used.

[61] In embodiments where the mycinosyloxy hydrolysis occurs after the acid hydrolysis of mycarosyloxy discussed above in **Section B-2**, the acids used in the mycinosyloxy and mycarosyloxy hydrolysis reactions may be different, although it is generally more preferred for the acids to be the same. In some embodiments, for example, HCl is used in both reactions. In other embodiments, HBr is used in both reactions.

[62] In general, sufficient acid is mixed with the 23-O-mycinosyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound to hydrolyze the mycinosyloxy substituent to form a hydroxyl group. Typically, the amount of acid will be greater than about one equivalent, based on the molar amount of 23-O-mycinosyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound. In general, the acid is added to the reaction mixture in the form of a concentrated composition. The concentration typically is not greater than about 50% (mass/vol), not greater than about 48% (mass/vol), from about 1 to about 30% (mass/vol), or from about 1 to about 24% (mass/vol). In some embodiments, for example, the acid is HBr, and concentration of the acid solution added to the reaction mixture is about 24% (mass/vol). In some embodiments, the concentrated acid comprises a mixture of acids, such as, for example, HBr with another acid.

[63] The ingredients may generally be charged to the reactor in any sequence. The reactor may comprise various reactor types. In some embodiments, for example, the reactor is a stirred-tank reactor. Glass and glass-lined reactors are often preferred, although any composition stable when exposed to the acidic reaction mixture may be used.

[64] The mixture normally is maintained at a temperature that is greater than the freezing point of the mixture, allows the mixture to be stirred, and allows for the mixture to be homogenous. The reaction temperature over at least a portion of the reaction (or the entire reaction) preferably is not greater than the boiling point of the solvent (*e.g.*, water), and typically is less than the boiling point. In general, at least a portion of the reaction (or the entire reaction) is conducted at a temperature of at least about 10°C, greater than about 25°C, or at least about 48°C. The reaction temperature over at least a portion of the reaction (or the entire reaction) typically is not greater than about 100°C, or not greater than about 65°C. In some embodiments, for example, the reaction temperature over at least a portion of the reaction (or the entire reaction) is from about 10 to about 100°C. In some embodiments when the acid is HCl or HBr, the reaction temperature over at least a portion of the reaction (or the entire reaction) preferably is from about 48 to about 60°C. In some such embodiments, for example, the temperature over at least a portion of the reaction (or the entire reaction) is from about 55 to about 60°C. In other such embodiments, the temperature over at least a portion of the reaction (or the entire reaction) is from about 51 to about 57°C (*e.g.*, about 54°C). In still other such embodiments, the temperature over at least a portion of the reaction (or the entire reaction) is from about 50 to about 56°C. Although lesser temperatures than these ranges may be used, such temperatures tend to coincide with slower reaction rates. And, although greater

temperatures than these ranges may be used, such temperatures tend to coincide with greater production of undesirable byproducts.

[65] As with the mycarosyloxy hydrolysis discussed above in **Section B-2**, the mycinosyloxy hydrolysis reaction mixture may be maintained at a temperature that is slightly less than the desired reaction temperature while at least a portion of the acid (or all the acid) is being charged to the reactor.

[66] This reaction may be conducted over a wide range of pressures, including atmospheric pressure, less than atmospheric pressure, and greater than atmospheric pressure. It is typically preferred, however, to conduct the reaction at about atmospheric pressure.

[67] The reaction time depends on various factors including, for example, the reaction temperature, relative amounts of the ingredients, and the desired conversion. In a batch reactor, the reaction time is generally at least about 1 minute, and more typically at least about 15 minutes. Typically, the reaction time is less than about 7 hours. In some embodiments, for example, the reaction time is from about 0.5 to about 7 hours. In some such embodiments, for example, the reaction time is from about 1 to about 5 hours, or from about 3 to about 5 hours. Although lesser reaction times than these ranges may be used, such reaction times tend to coincide with lesser conversions. And, although greater reaction times may be used, such reaction times tend to coincide with greater production of impurities and inefficient use of equipment and manpower.

[68] When the mycinosyloxy hydrolysis occurs after the mycarosyloxy hydrolysis discussed above in **Section B-2**, the two reactions (*i.e.*, those described above in **Section B-2** and this **Section B-3**) may be carried out as two discrete steps or as a single reaction. When the reactions are carried out as a single reaction, the reaction mixture may be maintained at the same temperature or changed (typically increased) over time. If the reaction mixture is maintained at the same temperature, the mixture normally is maintained at a temperature of at least about 10°C, typically greater than about 25°C, more typically at least about 30°C, and still more typically at least about 45°C. In some embodiments, the temperature is maintained at from about 10 to about 100°C. In some such embodiments, for example, the temperature is from about 48 to about 70°C. In other such embodiments, for example, the temperature is from about 50 to about 56°C. In other such embodiments, for example, the temperature is from about 55 to about 60°C. In still other such embodiments, the temperature is from about 65 to about 70°C. If the temperature of the mixture is increased over time, the temperature of the mixture at the

beginning of the hydrolysis normally is at least about 15°C, or at least about 25°C. As the reaction progresses from the mycarosyloxy hydrolysis to the mycinotyloxy hydrolysis, the temperature preferably is increased to at least about 30°C, at least about 45°C, or from about 48 to about 70°C. In some such embodiments, the increased temperature is from about 50 to about 56°C. In other such embodiments, the increased temperature is from about 55 to about 60°C. In still other such embodiments, the increased temperature is from about 65 to about 70°C. In some embodiments, the reaction mixture is maintained at a temperature that is slightly less than the desired reaction temperature while the acid is being charged to the reactor. In those embodiments, the temperature tends to increase once the acid has been charged to the reactor.

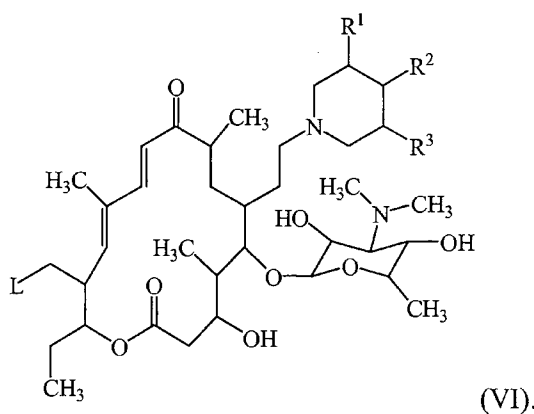
[69] The total reaction time when the two hydrolysis reactions are combined depends on various factors including, for example, reaction temperature, relative amounts of the ingredients, and the desired conversion. Generally, however, the reaction time for the combined hydrolysis reactions in a batch reactor is at least about 4 hours. In some embodiments, the combined reaction time is from about 4 to about 6 hours. In some such embodiments, for example, the combined reaction time is about 4 hours. Such a reaction time may be particularly suitable where, for example, the reaction temperature is from about 65 to about 70°C. In other embodiments, the reaction time is about 5 hours. Such a reaction time may be particularly suitable where, for example, the reaction temperature is from about 55 to about 60°C.

[70] Purification or isolation of the product may be achieved using, for example, various methods known in the art. Alternatively, the product may be used in the next step without further purification or isolation.

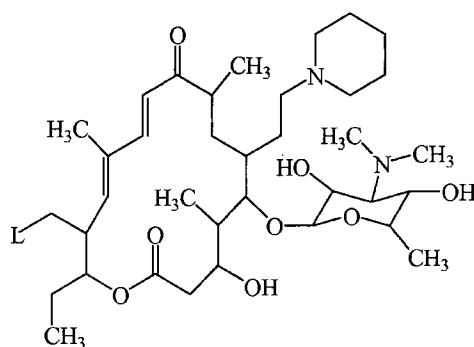
25

B-4. Preparation of the Activated Compound

[71] In some embodiments, the macrolide synthesis begins by or includes preparing an activated compound, and particularly a compound that corresponds in structure to Formula (VI):



[72] In some embodiments, R^1 and R^3 are each methyl, and R^2 is hydrogen; or R^1 and R^3 are each hydrogen, and R^2 is methyl. In other embodiments, R^1 , R^2 , and R^3 are each hydrogen, such that the compound corresponds in structure to:

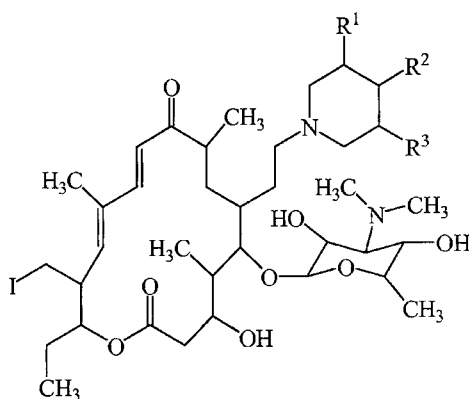


5

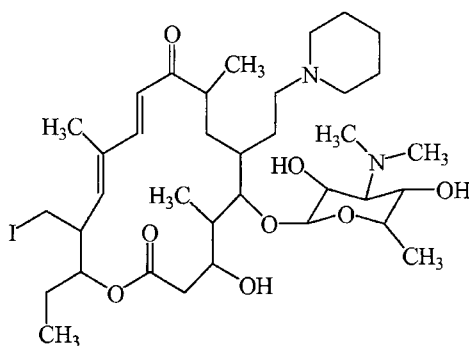
[73] L is a leaving group. In general, the leaving group is a group that may be replaced with a piperidiny group (normally via nucleophilic displacement) using piperidine in an amination reaction, such as the amination reaction discussed below in **Section B-5**. In some embodiments, for example, L is iodo (-I), bromo (-Br),

10 alkylsulfonate, and arylsulfonate. The alkylsulfonate and arylsulfonate are optionally substituted with one or more substituents independently selected from the group consisting of halo, alkyl, and haloalkyl. In some such embodiments, for example, L is iodo, bromo, methylsulfonate (or “-OS(O)₂CH₃” or “mesylate”), trifluoromethylsulfonate (or “-OS(O)₂CF₃” or “triflate”), or 4-methylphenylsulfonate (or “*p*-toluenesulfonate” or

15 “tosylate”). In some embodiments, L is iodo, and the activated compound corresponds in structure to:

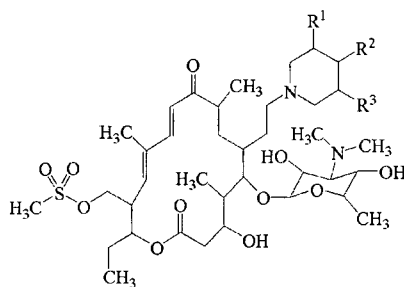


or, when R^1 , R^2 , and R^3 are each hydrogen, corresponds in structure to:

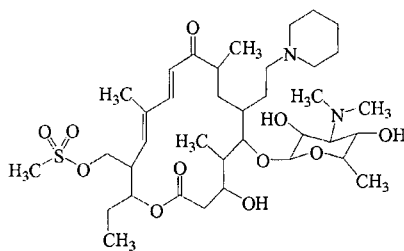


In some embodiments, L is mesylate, and the activated compound corresponds in structure

5 to:

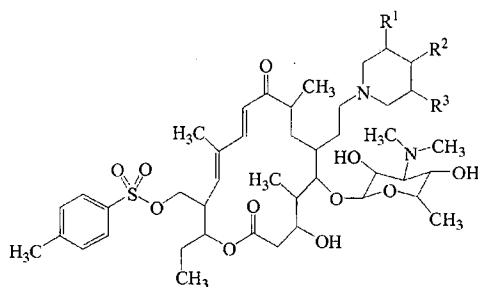


or, when R^1 , R^2 , and R^3 each are hydrogen, corresponds in structure to:

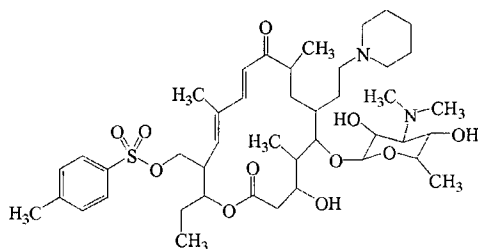


In some embodiments, L is tosylate, and the activated compound corresponds in structure

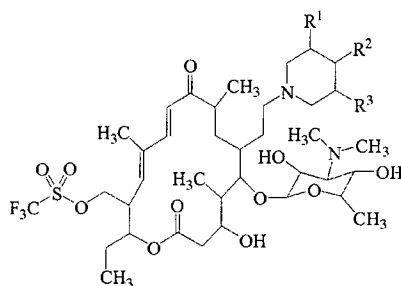
10 to:



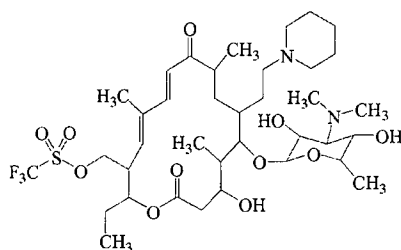
or, when R¹, R², and R³ each are hydrogen, corresponds in structure to:



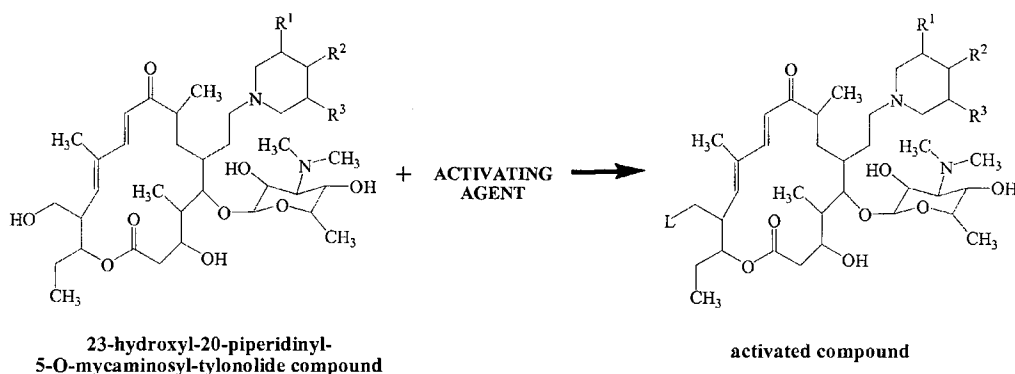
In some embodiments, L is triflate, and the activated compound corresponds in structure to:



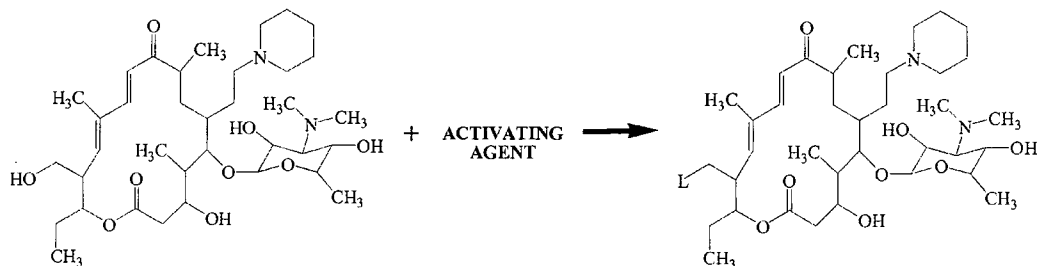
or, when R¹, R², and R³ each are hydrogen, corresponds in structure to:



[74] The activated compound may be prepared via an activation reaction from a 23-hydroxyl-20-piperidiny-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound and an activating agent (*i.e.*, a compound comprising an electron withdrawing group):

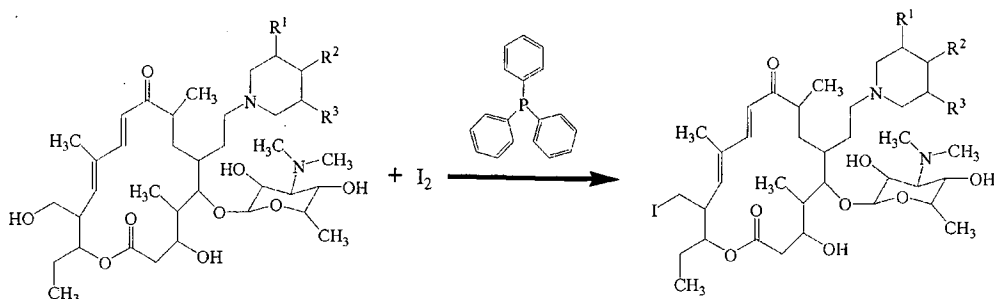


Where R^1 , R^2 , and R^3 are each hydrogen, this reaction is as follows:



[75] The 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound used in the above reaction may be prepared using a process discussed above in **Section B-3**, prepared using a different process, or obtained from a commercial vendor. In some preferred embodiments, the 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound is prepared using a process discussed above in **Section B-3**.

[76] In some embodiments, L is iodo, and the activating agent is formed by
10 mixing I₂ and triphenylphosphine:



[77] Typically, this reaction is conducted in the presence of one or more solvents. In general, the solvent is non-reactive with the reagents, products, and any other ingredients in the reaction mixture (although, as noted below, the solvent may, for example, act as a helping base). The solvent may be, for example, one or more of dichloromethane ("DCM"), acetone, acetonitrile ("ACN"), *tert*-butyl methyl ether (or "tBME"), toluene, and pyridine. In some embodiments, for example, the solvent

comprises tetrahydrofuran ("THF"). In other embodiments, the solvent comprises pyridine, which also may act as a helping base. In still other embodiments, the solvent comprises dichloromethane. In some such embodiments, for example, the solvent comprises both dichloromethane and toluene. In some embodiments, the ratio of
5 dichloromethane to toluene is, for example, be at least about 1:1, from about 3:1 to about 10:1, or from about 3:1 to about 5:1. In some embodiments, at least a portion of the solvent comprises solvent from a process step used during the preparation and/or purification of the 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound.

[78] In general, the amount of solvent is sufficient to, for example, prevent (or
10 essentially prevent) the reagents, products, and other ingredients in the reaction mixture from sticking to the reactor, dissolve the reagents (particularly the 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound), and promote homogenous distribution of the reagents. The amount of solvent typically is at least about 1 L per kilogram of the 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound.
15 The amount of solvent typically is not greater than about 100 L per kilogram of the 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound. In some embodiments, the amount of solvent is from about 5 to about 20 L (or from about 5 to about 15 L, or from about 10 to about 12 L) per kilogram of 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound. To illustrate, in some embodiments, the amount of
20 solvent is about 10 L DCM per kilogram. In other embodiments, the amount of solvent is about 12 L DCM per kilogram. In still other embodiments, the solvent is a mixture of DCM and toluene (about 4:1 vol/vol), and the amount of solvent is about 10 L per kilogram.

[79] As indicated above, this reaction may be conducted in the presence of a
25 base (or "helping base"). The base may be a single base, or a combination of bases. This base may comprise, for example, triethylamine, pyridine, imidazole, potassium carbonate, and/or 4-dimethylaminopyridine (or "DMAP"). The presence of the base may increase the reaction rate. In some embodiments, the base comprises pyridine. In some such embodiments, for example, the activating agent comprises I₂ and triphenylphosphine. In
30 other embodiments, the base comprises imidazole. In other embodiments, the base comprises a combination of potassium carbonate and 4-dimethylaminopyridine. In some such embodiments, for example, the activating agent comprises *p*-toluenesulfonyl chloride. In some embodiments, the helping base is attached to a solid support (*e.g.*, a resin).

SS

[80] When a base is used, the molar amount of the base is typically at least equivalent to the molar amount of 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound. In some embodiments, the amount of the base is at least 1.05 equivalents. For example, in some embodiments, the molar amount of the base is from about 1.1 to about 10 equivalents, from about 1.1 to about 5 equivalents, or from about 1.1 to about 3 equivalents. In some such embodiments, the molar amount of base is from about 1.1 to about 1.4 equivalents (*e.g.*, about 1.15 or about 1.3 equivalents). In other such embodiments, the molar amount of the base is about 2.8 equivalents. When a combination of bases is used, the total molar amount of base preferably falls within the ranges described above. For example, when the source of the activating agent comprises *p*-toluenesulfonyl chloride, an example of a contemplated amount of base is about 1.5 equivalents of potassium carbonate and about 1.0 equivalents of 4-dimethylaminopyridine, based on the amount of the 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound.

[81] When the source of the activating agent is I₂ and triphenylphosphine, the I₂, triphenylphosphine, and base (if present) are typically first combined in the presence of solvent to form the activating agent before they are combined with the 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound. The reactor in which the activating agent is formed may be the same reactor in which the activating agent is combined with the 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound. Alternatively, the activating agent may be formed in a different reactor, and then charged to the reactor to which the 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound is charged. The I₂ may be added in one or more doses to the triphenylphosphine or vice versa. In some embodiments, the I₂ is added to the triphenylphosphine in two or more portions (*e.g.*, 5 portions) or vice versa. The portions may be equal or different amounts. Generally, the combination of the I₂ and triphenylphosphine takes place in the presence of a solvent, which may, for example, comprise the solvent(s) that is used in the substitution reaction. If a base (*e.g.*, pyridine) is present, it is typically combined with the triphenylphosphine before the I₂ is added. The mixture preferably is maintained at from about 15 to about 35°C (or from about 20 to about 30°C, *e.g.*, about 25°C) during the addition of I₂ to the triphenylphosphine, and then maintained at a temperature of from about 15 to about 35°C (or from about 20 to about 30°C, *e.g.*, about 25°C) after the addition for at least about one minute (*e.g.*, about 2 minutes), or for at least about 5 minutes, from about 5 to about 60 minutes, or from about 30 to about 60 minutes (*e.g.*,

about 40 minutes). Afterward, the temperature preferably is adjusted to a temperature that is approximately equal to the temperature at which the substitution reaction is to be initiated.

[82] To perform the substitution reaction, equimolar amounts of the 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound and activating agent generally may be used. Normally, however, an excess of the activating agent is used, and typically at least 1.05 equivalents are used, based on the molar amount of 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound.

[83] In some embodiments when the activating agent is formed from I₂ and triphenylphosphine, the molar amounts of I₂ and triphenylphosphine are each at least 1.05 equivalents, based on the molar amount of 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound. For example, in some such embodiments, the molar amounts of I₂ and triphenylphosphine are each from 1.05 to about 10 equivalents, from 1.05 to about 5 equivalents, or from 1.05 to about 3 equivalents. Although the equivalents of each of I₂ and triphenylphosphine may be the same, the equivalents of triphenylphosphine typically exceeds the equivalents of I₂. To illustrate, suitable molar amounts of I₂ and triphenylphosphine may be about 2.5 and 2.6 equivalents, respectively, based on the molar amount of 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound. In other embodiments, suitable molar amounts of I₂ and triphenylphosphine are about 1.9 and 2.0 equivalents, respectively, based on the molar amount of 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound. In still other embodiments, a suitable molar amount of I₂ is from 1.05 to about 1.2 equivalents, based on the molar amount of 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound; and a suitable amount of triphenylphosphine is from about 1.09 to about 1.25 equivalents, based on the molar amount of 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound. For example, suitable molar amounts of I₂ and triphenylphosphine may be about 1.06 and about 1.13 equivalents, respectively, based on the molar amount of 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound. Exemplifying further, suitable molar amounts of I₂ and triphenylphosphine may alternatively be about 1.2 and about 1.25 equivalents, respectively, based on the molar amount of 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound.

[84] In some embodiments when the activating agent is *p*-toluenesulfonyl chloride, the molar amount of *p*-toluenesulfonyl chloride is from about 1.1 to about 10 equivalents, from about 1.2 to about 5 equivalents, or from about 1.2 to about 3

equivalents, based on the molar amount of 23-hydroxyl-20-piperidiny-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound. A suitable molar amount of *p*-toluenesulfonyl chloride may be, for example, 1.2 equivalents.

[85] The substitution reaction may be conducted over a wide range of pressures, including atmospheric pressure, less than atmospheric pressure, and greater than atmospheric pressure. It is typically preferred, however, to conduct the reaction at about atmospheric pressure.

[86] The reaction temperature for at least a portion of the substitution reaction (or the entire substitution reaction) typically is greater than the freezing point of the solvent. In general, the reaction temperature over at least a portion of the substitution (or the entire substitution) is not greater than the boiling point of the solvent, and typically is less than the boiling point. In some embodiments, for example, the solvent is dichloromethane, and at least a portion of the reaction (or the entire reaction) is conducted at a temperature that is not greater than about 45°C. In some embodiments, at least a portion of the reaction (or the entire reaction) is conducted at a temperature that is not greater than about 32°C, or not greater than about 25°C. In some such embodiments, for example, at least a portion of the reaction (or the entire reaction) is conducted at from about -10°C to about 25°C. For example, in some embodiments, at least a portion of the reaction (or the entire reaction) is conducted at from about zero to about 20°C, or from about 12 to about 18°C (*e.g.*, about 13°C). In other embodiments, at least a portion of the reaction (or the entire reaction) is conducted at from about -10°C to about 45°C, or from about 25 to about 45°C. In still other embodiments, at least a portion of the reaction (or the entire reaction) is conducted at from about -10 to about 0°C, or from about -6 to about -5°C. Although lesser temperatures than these ranges may be used, such temperatures tend to coincide with slower reaction rates. And, although greater temperatures than these ranges may be used, such temperatures tend to coincide with greater production of undesirable byproducts. Use of some sources of the activating agent (*e.g.*, toluenesulfonyl chloride), however, may allow for greater temperatures to be used (*e.g.*, from about 25 to about 45°C). When the activating agent is iodine, it is typically preferred to conduct the substitution reaction within a temperature range that does not produce an unacceptable level of impurities resulting from di-iodination of the 23-hydroxyl-20-piperidiny-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound.

[87] The reaction time depends on various factors including, for example, the reaction temperature, characteristics of the solvent, relative amounts of the ingredients,

and the desired conversion. In a batch reactor, the total reaction time is typically at least about 1 minute, and more typically at least about 45 minutes. In general, the total reaction time is less than about 24 hours. In some embodiments, for example, the total reaction time is less than about 5 hours. To illustrate, in some embodiments, the reaction time is from about 45 minutes to about 5 hours, or from about 1 to about 3 hours. In some such embodiments, for example, the reaction time is from about 2 to about 3 hours, or from about 2 to about 2.5 hours (*e.g.*, about 2 or about 2.2 hours). In other embodiments, the reaction time is from about 5 to about 10 hours, from about 6 to about 10 hours, from about 7 to about 10 hours, or from about 7 to about 8 hours. Although lesser reaction times than these ranges may be used, such reaction times tend to coincide with lesser conversions. And, although greater reaction times may be used, such reaction times tend to coincide with greater production of impurities and inefficient use of equipment and manpower.

[88] Due to the exothermic nature of the substitution reaction, in some embodiments (particularly those using a batch reactor), the 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound is combined with the activating agent over time (or in multiple separate doses) rather than all at once. In some embodiments, this occurs over a period of at least one minute, at least 5 minutes, from about 5 to about 60 minutes, or from about 30 to about 60 minutes (*e.g.*, about 50 minutes). To illustrate, in some embodiments, the substitution reaction is conducted at a maximum temperature of about 25°C, and the dosing of the activating agent occurs over from about 0.5 to about 1 hour, followed by an additional reaction time of about 1 hour. In other embodiments, the substitution reaction is conducted at a maximum temperature of about -5°C, and the dosing of the activating agent occurs over from about 0.7 to about 1 hour, followed by an additional reaction time of about 7 hours.

[89] In some embodiments, the substitution reaction is quenched to inactivate any residual iodine, and, therefore, reduce (and preferably prevent) by-product formation due to such residual iodine. For example, in some such embodiments, the reaction is quenched with aqueous sodium sulfite (*i.e.*, Na₂SO₃). Purification or isolation of the product may be achieved using, for example, various methods known in the art. Alternatively, the product may be used in the next step without further purification or isolation.

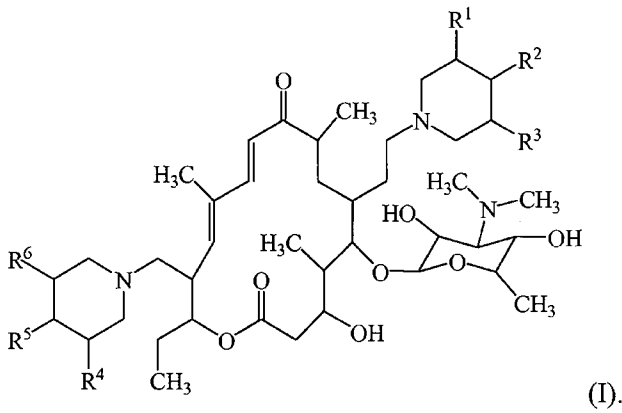
[90] Both the activating agent formation reaction and the substitution reaction may be conducted in various reactor types. In some embodiments, for example, the

reactor is a stirred-tank reactor. The reactor may be made of any composition that remains stable when exposed to the reaction mixture. Such materials include, for example, various materials, such as glass (including glass-lining) or stainless steel.

5

B-5. Preparation of the Macrolide

[91] As noted above, the macrolides prepared in accordance with this invention correspond in structure to Formula (I):



Here:

10

As to R¹, R², and R³:

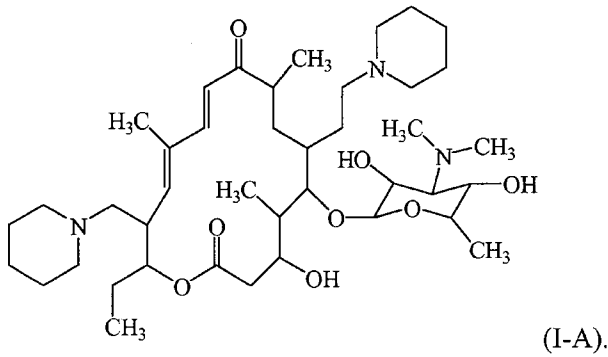
- R¹ and R³ are each methyl, and R² is hydrogen;
- R¹ and R³ are each hydrogen, and R² is methyl; or
- R¹, R², and R³ are each hydrogen.

As to R⁴, R⁵, and R⁶:

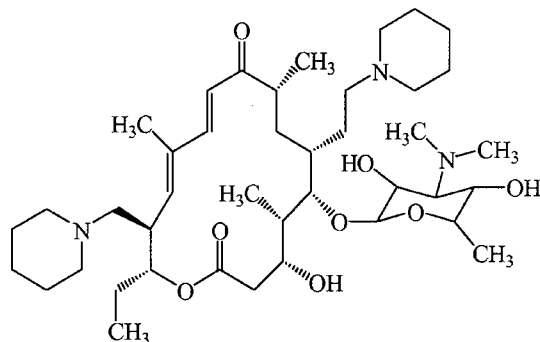
15

- R⁴ and R⁶ are each methyl, and R⁵ is hydrogen;
- R⁴ and R⁶ are each hydrogen, and R⁵ is methyl; or
- R⁴, R⁵, and R⁶ are each hydrogen.

In some embodiments, R¹, R², R³, R⁴, R⁵, and R⁶ are each hydrogen:

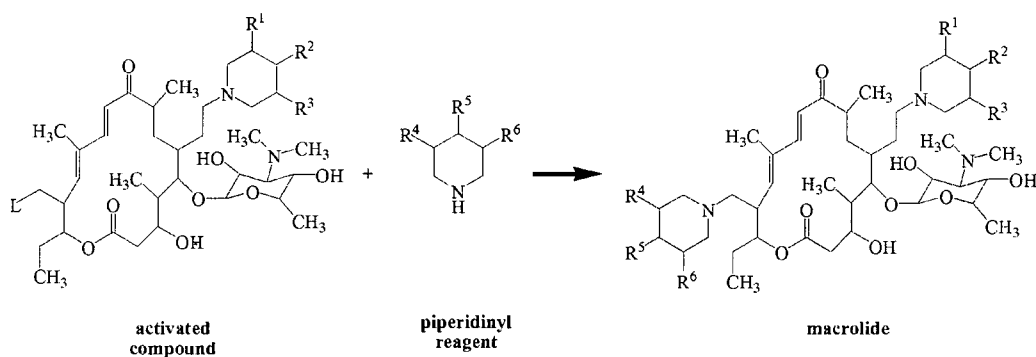


In some such embodiments, for example, the compound corresponds in structure to the following formula:

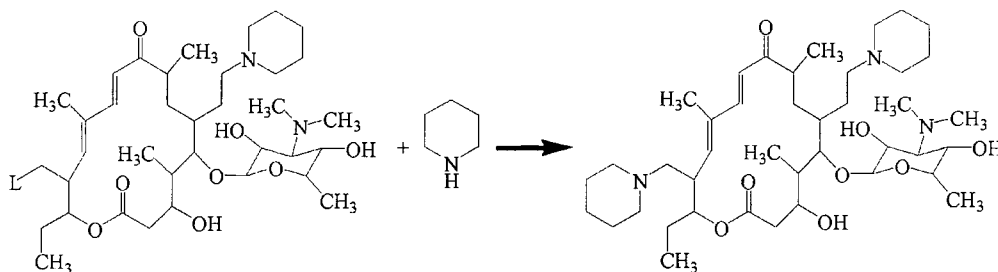


(I-B).

[92] In some embodiments, the preparation of the macrolide begins by or
5 includes an amination reaction of an activated compound with a piperidinyl compound:



Where R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , and R^6 are each hydrogen, this reaction is as follows:



[93] The activated compound used in the above reaction may be prepared using
10 a process discussed above in **Section B-4**, prepared using a different process, or obtained from a commercial vendor. In some preferred embodiments, the activated compound is prepared using a process discussed above in **Section B-4**.

[94] Typically, this reaction is conducted in the presence of one or more
solvents. In general, the solvent is non-reactive with the reagents (*e.g.*, the activated
15 compound), products, and any other ingredients in the reaction mixture. The solvent may be, for example, acetonitrile (or " CH_3CN "); chloroform; dichloromethane;

61

tetrahydrofuran; a ketone solvent, such as acetone (or " CH_3COCH_3 "); a hydrocarbon solvent, such as an aromatic hydrocarbon solvent (*e.g.*, toluene or xylene); or a base, such as pyridine or piperidine. In some embodiments, the solvent comprises acetonitrile. In some embodiments, the solvent comprises tetrahydrofuran. In some embodiments, the solvent comprises dichloromethane. In some embodiments, the solvent comprises xylene. In some embodiments, at least a portion of the solvent comprises solvent from a process step used during the preparation and/or purification of the activated compound.

[95] The amount of solvent can vary widely, from no solvent at all to amounts that create diluted reaction mixtures. Typically, the amount of solvent is sufficient to, for example, prevent (or essentially prevent) the reagents, products, and other ingredients in the reaction mixture from sticking to the reactor, and promote homogenous distribution of the reagents. In some embodiments, sufficient solvent is present such that the combined amount of activating reagent and macrolide is from about 5 to about 50% (mass/volume) of the reaction mixture. In some embodiments, the amount of solvent is at least about 1 L per kilogram activated compound. In some such embodiments, for example, the amount of solvent is from about 1 to about 100 L (or from about 1 to about 20 L) per kilogram of activated compound. To illustrate, in some embodiments, about 5 L of solvent (*e.g.*, xylene or tetrahydrofuran) are used per kilogram of activated compound. Illustrating further, in other embodiments, about 10 L of solvent (*e.g.*, acetonitrile) are used per kilogram of activated compound.

[96] In some embodiments, the amination is conducted in the presence of a base. In some embodiments, the base comprises an un-hydrated base. The base may be, for example, potassium carbonate (or " K_2CO_3 "), sodium carbonate (or " Na_2CO_3 "), or a tertiary amine. The presence of such a base tends to coincide with a greater reaction rate and less production of impurities. It is believed that such advantages may stem from the base deprotonating protonated piperidinyl compound. The base preferably is not so strong as to cause hydrolysis of the lactone in the macrolide core. Generally, equimolar amounts of the activated compound and base may be used. Normally, however, an excess of base is used. In some embodiments, at least 1.05 (or from about 1.1 to about 50, from about 2 to about 30, from about 2 to about 20, or from about 2 to about 10) equivalents of base are used, based on the molar amount of activated compound charged to the reactor. In some such embodiments, about 6.2 equivalents of base are used. In other some such embodiments, about 10 equivalents of base are used. In still other such embodiments, from about 1.1 to about 10 (or from about 2 to about 8, or from about 4 to about 6)

62

equivalents of base are used, based on the molar amount of activated compound charged to the reactor. To illustrate, a suitable amount of base may be, for example, about 5 equivalents.

[97] To perform the amination, the activated compound, piperidinyl compound, and solvent, as well as any base (to the extent present), are normally charged to a reactor and mixed. These ingredients generally may be charged to the reactor in any sequence. The reactor may comprise various reactor types. In some embodiments, for example, the reactor is a stirred-tank reactor. Glass, glass-lined, and stainless steel reactors are often preferred, although any composition stable when exposed to the reaction mixture may be used.

[98] Generally, equimolar amounts of the activated compound and piperidinyl compound may be used. Normally, however, an excess of the piperidinyl compound is used. In some embodiments, at least 1.05 (or from about 1.1 to about 50, from about 2 to about 30, from about 2 to about 20, or from about 2 to about 10) equivalents of the piperidinyl compound are used, based on the molar amount of activated compound charged to the reactor. In some such embodiments, about 10 equivalents of the piperidinyl compound are used. In other such embodiments, from about 2 to about 8 (or from about 4 to about 6) equivalents are used, based on the molar amount of activated compound charged to the reactor. To illustrate, a suitable amount of piperidinyl compound may be, for example, about 4.7 equivalents. A contemplated suitable amount of piperidinyl compound also may be, for example, about 5.7-5.8 equivalents.

[99] At least a portion of the reaction (or the entire reaction) normally is conducted at greater than about 20°C, or greater than about 25°C. The optimal reaction temperature depends on, for example, the solvent. Typically, at least a portion of the reaction (or the entire reaction) is conducted at a temperature that is not greater than the boiling point of the solvent, and typically is less than the boiling point. In general, at least a portion of the reaction (or the entire reaction) is conducted at from about 50 to about 110°C. In some embodiments, for example, at least a portion of the reaction (or the entire reaction) is conducted at from about 60 to about 110°C, or from about 75 to about 110°C. To illustrate, when the solvent comprises acetonitrile or toluene, a suitable contemplated reaction temperature for at least a portion of the reaction (or the entire reaction) is from about 78°C to about 110°C (*e.g.*, about 78°C). To illustrate further, when the solvent comprises xylene, a suitable contemplated reaction temperature for at least a portion of the reaction (or the entire reaction) is from about 95 to about 105°C, and a suitable reaction

63

time for the reaction is about 15 hours. In other embodiments, the solvent comprises tetrahydrofuran, and at least a portion of the reaction (or the entire reaction) is conducted at from about 55 to about 75°C. Although lesser temperatures than these ranges may be used, such temperatures tend to coincide with slower reaction rates. And, although greater
5 temperatures than these ranges may be used, such temperatures tend to coincide with greater production of undesirable byproducts. Typically, lesser temperatures may be used with solvents having greater polarities. The temperature can be adapted accordingly by one skilled in the art.

[100] In some embodiments, the amination reaction is conducted at more than
10 one temperature. For example, the reaction may be conducted at one temperature initially, and then slowly increased to another temperature as the reaction progresses.

[101] The amination may be conducted over a wide range of pressures, including atmospheric pressure, less than atmospheric pressure, and greater than atmospheric pressure. It is typically preferred, however, to conduct the reaction at about atmospheric
15 pressure.

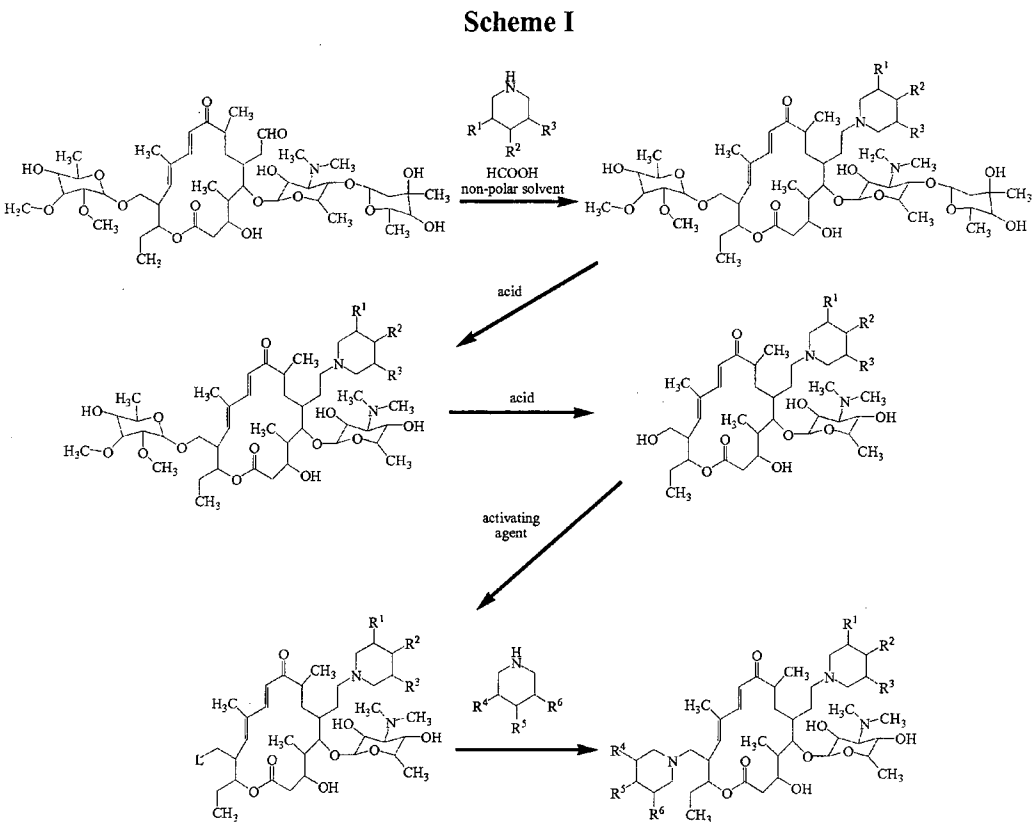
[102] The reaction time depends on various factors including, for example, the reaction temperature, characteristics of the solvent, relative amounts of the ingredients, and the desired conversion. In a batch reactor, the reaction time is generally at least about 1 minute, at least about 5 minutes, or at least about 45 minutes. The reaction time is
20 generally no greater than about 24 hours. In some embodiments, the reaction time is from about 2 to about 15 hours. In other embodiments, the reaction time is from about 1 to about 5 hours, from about 2 to about 4 hours, or from about 2 to about 3 hours (*e.g.*, about 2.5 hours). In other such embodiments, the reaction time is from about 6 to about 15 hours. Although lesser reaction times than these ranges may be used, such reaction times
25 tend to coincide with lesser conversions.

[103] Further purification or isolation of the product may be achieved using, for example, various methods known in the art.

B-6. Examples of Contemplated Reaction Schemes

[104] This invention contemplates any processes that use any of the above reactions. In some embodiments, the process will comprise one of the above reactions. In other embodiments, the process will comprise two, three, four, or all the above reactions.

- 5 The following **Scheme I** generically illustrates a scenario where all the above reactions are used:

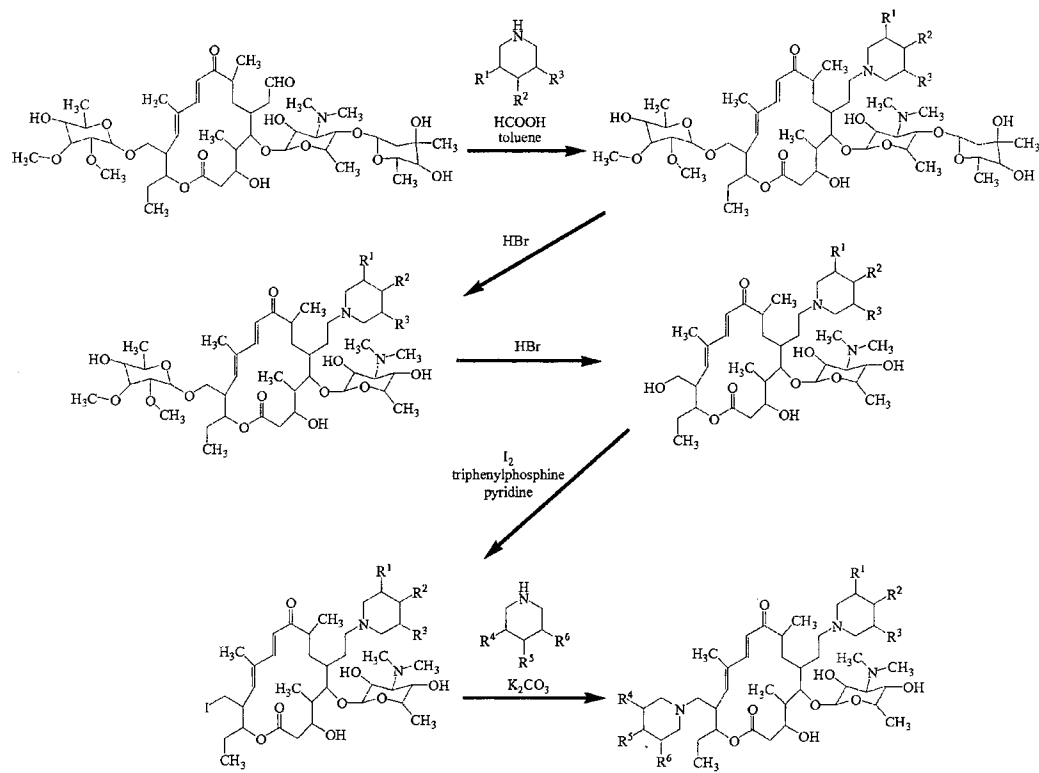


Here:

- 10 As to R¹, R², and R³:
- R¹ and R³ are each methyl, and R² is hydrogen;
R¹ and R³ are each hydrogen, and R² is methyl; or
R¹, R², and R³ are each hydrogen.
- As to R⁴, R⁵, and R⁶:
- 15 R⁴ and R⁶ are each methyl, and R⁵ is hydrogen;
R⁴ and R⁶ are each hydrogen, and R⁵ is methyl; or
R⁴, R⁵, and R⁶ are each hydrogen.
- L is a leaving group.

[105] The following **Scheme II** generically illustrates the above scenario where the non-polar solvent in the reductive amination comprises toluene; the acids in the hydrolysis reactions comprise HBr; the source of the activating agent comprises I₂, triphenylphosphine, and pyridine; and the final amination reaction mixture comprises potassium carbonate:

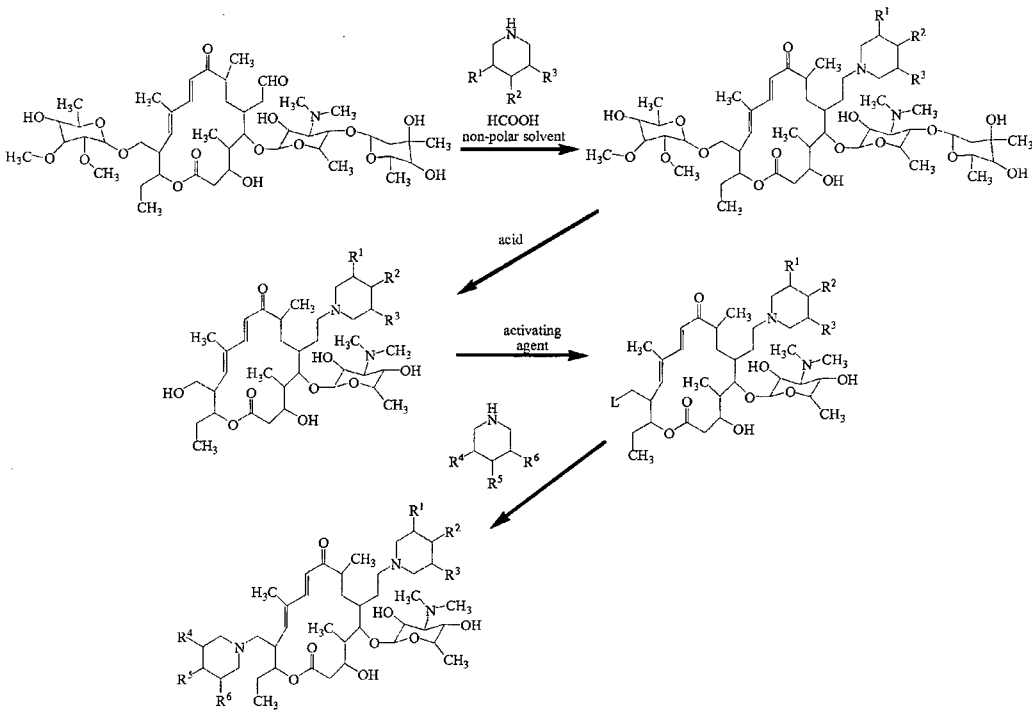
Scheme II



[106] The following **Scheme III** generically illustrates the scenario of **Scheme I** where the two hydrolysis reactions are conducted without stopping the first hydrolysis or isolating product from the first hydrolysis before conducting the second hydrolysis:

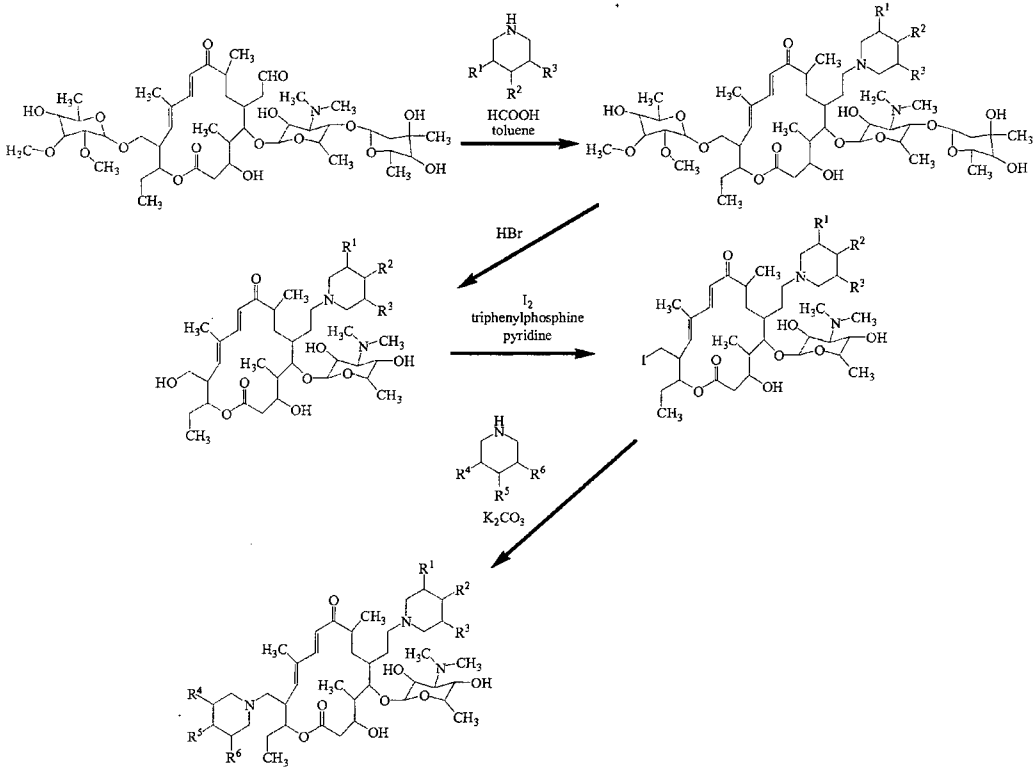
5

Scheme III



[107] The following **Scheme IV** generically illustrates the scenario of **Scheme I** where the non-polar solvent in the reductive amination comprises toluene; the acids in the hydrolysis reactions comprise HBr; the first hydrolysis is not stopped and the product of the first hydrolysis is not isolated before conducting the second hydrolysis; the source of the activating agent comprises I₂, triphenylphosphine, and pyridine; and the final amination reaction mixture comprises potassium carbonate:

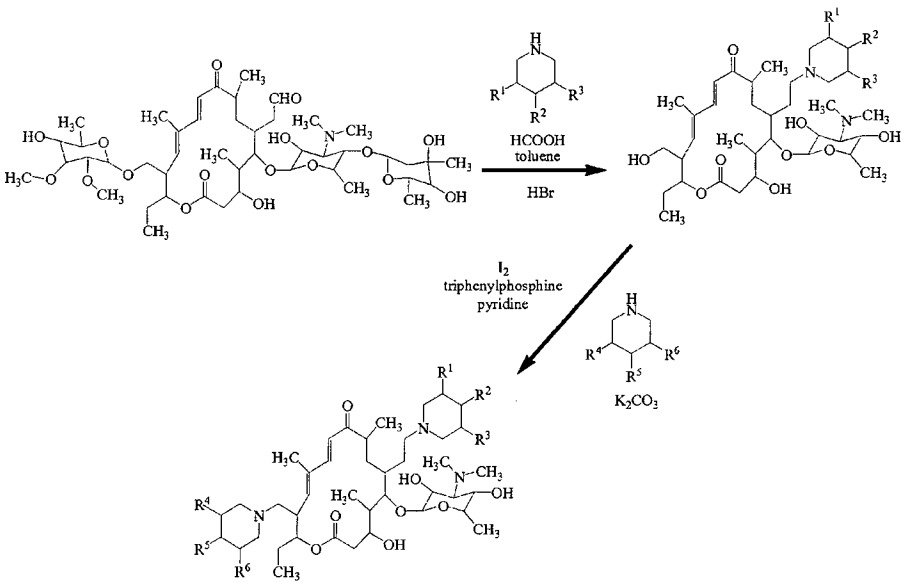
Scheme IV



[108] The following **Scheme V** generically illustrates a 2-stage scenario of **Scheme I** where the non-polar solvent in the reductive amination comprises toluene; the acids in the hydrolysis reactions comprise HBr; the reductive amination and first hydrolysis are not stopped and the products of the reductive amination and first hydrolysis are not isolated before conducting the second hydrolysis; the source of the activating agent comprises I₂, triphenylphosphine, and pyridine; the final amination reaction mixture comprises potassium carbonate; and the activation reaction is not stopped and the product of the activation reaction is not isolated before conducting the final amination reaction:

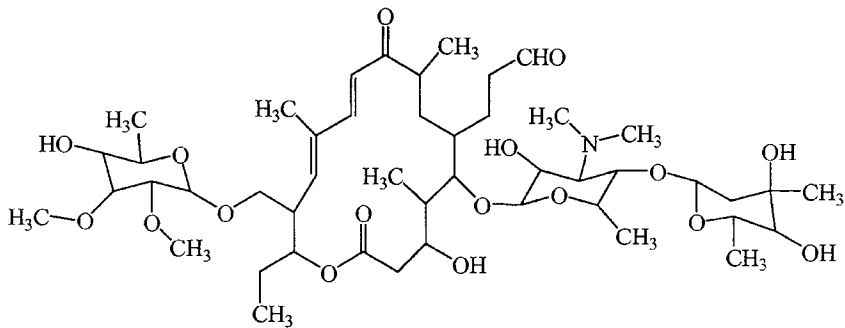
10

Scheme V



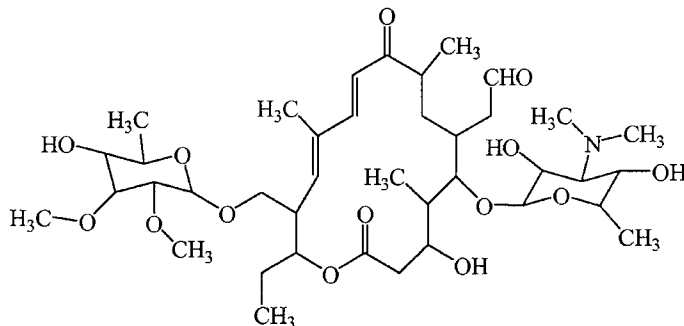
B-7. Tylosin Reagent

[109] In general, the tylosin reagent used in the processes of this invention comprises tylosin A (or a salt thereof):



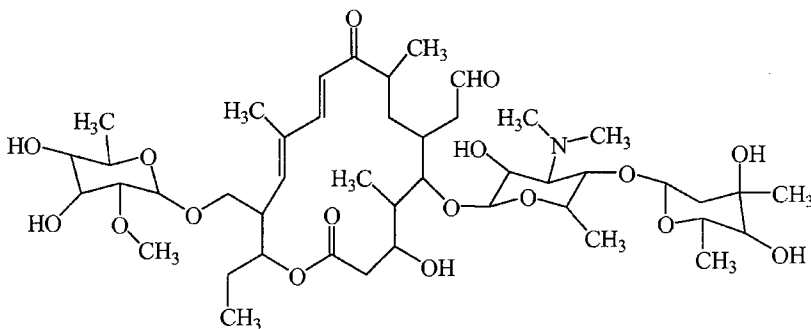
Tylosin A.

Although this invention contemplates the use of pure (or at least essentially pure) tylosin A (or a salt thereof), various commercially available tylosin compositions additionally or alternatively may comprise one or more derivatives of tylosin A, including:

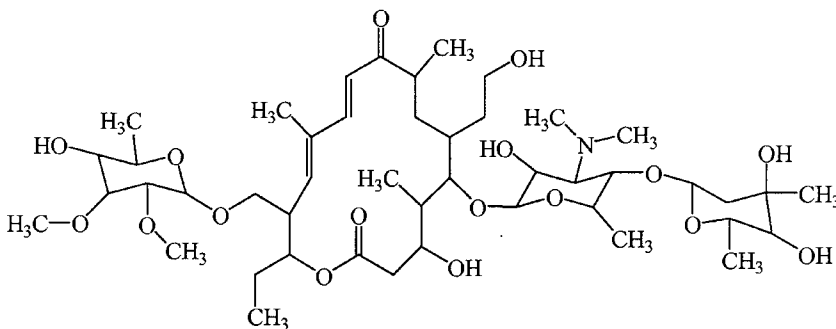


5

tylosin B (also known as desmycocin),



tylosin C (also known as macrocin), and



tylosin D (also known as relomycin).

- 10 In general, these derivatives, if present, are present in only small amounts. In some embodiments, the weight ratio of tylosin A to the total combined amount of tylosin A derivatives in the composition is at least about 1:1. In some such embodiments, for example, the ratio is at least about 4:1, at least about 10:1, at least about 95:5, at least about 98:2, or at least about 99:1. In other such embodiments, about 100% (by weight) of
- 15 the tylosin compounds (*i.e.*, tylosin A and tylosin A derivatives) in the composition consists of tylosin A. Other embodiments are contemplated wherein the tylosin A makes

up less than 50% (by weight) of the tylosin compounds in the composition. To illustrate, in some such embodiments, the weight ratio of tylosin D to the total combined amounts of tylosin A and other tylosin A derivatives is at least about 1:1, at least about 4:1, at least about 9:1, at least about 95:5, at least about 98:2, or at least about 99:1. In other such
5 embodiments, about 100% (by weight) of the tylosin compounds in the composition consists of tylosin D.

[110] The methods discussed above for making 20,23-dipiperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide from tylosin A generally can be used (and, to the extent desirable, modified) for making 20,23-dipiperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide from tylosin B, C,
10 and/or D in addition to (or instead of) tylosin A.

[111] Tylosin B, for example, has a hydroxyl instead of a mycarosyl substituent on the 5-mycanimosyl. Thus, a 20-piperidinyl intermediate derived from tylosin B does not require the first hydrolysis reaction discussed above in **Section B-2**. To the extent such an intermediate is exposed to the hydrolysis method discussed in **Section B-2**, the
15 intermediate will generally remain non-reactive or begin hydrolyzing at the 23-mycinosyloxy substituent.

[112] Tylosin C has a hydroxyl rather than a methoxy at the 3-position of the 23-mycinosyloxy substituent. This difference generally has no effect with respect to the above-described methods. The sugar normally will cleave (*i.e.*, hydrolyze) in the same
20 manner and under the same conditions as the 23-mycinosyloxy of tylosin A during the hydrolysis described above in **Section B-3**.

[113] Tylosin D has a hydroxyl rather than a carbonyl at the 20-position. This hydroxyl is generally not transformed into a piperidinyl using the reductive amination method described above in **Section B-1**. Depending on the reaction conditions, however,
25 it may become activated during the activation reaction described above in **Section B-4**, and then aminated with piperidine along with the 23-position during the amination method described above in **Section B-5**.

C. Salts of Intermediates and Macrolides

[114] This invention may be used to prepare macrolide compounds or
30 intermediates both in the form of free compounds and in the form of salts. In addition, the reagents used in this invention may be in the form of salts. Salts may be, for example, acid addition salts. In general, an acid addition salt can be prepared using any inorganic or organic acid. Depending on the particular compound (and/or its crystalline structure), a

7 2

salt of a compound may be advantageous due to one or more of the salt's chemical or physical properties, such as stability in differing temperatures and humidities, or a desirable solubility in water, oil, or other solvent. In some instances, a salt of a compound also may be used as an aid in the isolation or purification of a compound. In some

5 embodiments (particularly where the salt is intended to be administered to an animal, as opposed to, for example, being used in an *in vitro* context), the salt is pharmaceutically acceptable.

[115] Salts can typically be formed by, for example, mixing the free macrolide or intermediate compound with an acid using various known methods in the art. Examples of

10 often suitable inorganic acids include hydrochloric, hydrobromic, hydroiodic, nitric, carbonic, sulfuric, and phosphoric acid. Examples of often suitable organic acids include, for example, aliphatic, cycloaliphatic, aromatic, araliphatic, heterocyclic, carboxylic, and sulfonic classes of organic acids. Specific examples of often suitable organic salts include

15 cholate, sorbate, laurate, acetate, trifluoroacetate (or "CF₃COOH" or "TFA"), formate, propionate, succinate, glycolate, gluconate, digluconate, lactate, malate, tartrate (and derivatives thereof, such as dibenzoyltartrate), citrate, ascorbate, glucuronate, maleate, fumarate, pyruvate, aspartate, glutamate, benzoate, anthranilic acid, mesylate, stearate, salicylate, p-hydroxybenzoate, phenylacetate, mandelate (and derivatives thereof), embonate (pamoate), ethanesulfonate, benzenesulfonate, pantothenate, 2-

20 hydroxyethanesulfonate, sulfanilate, cyclohexylaminosulfonate, β-hydroxybutyric acid, galactarate, galacturonate, adipate, alginate, butyrate, camphorate, camphorsulfonate, cyclopentanepropionate, dodecylsulfate, glycoheptanoate, glycerophosphate, heptanoate, hexanoate, nicotinate, 2-naphthalesulfonate, oxalate, palmoate, pectinate, 3-phenylpropionate, picrate, pivalate, thiocyanate, tosylate, and undecanoate. In some

25 embodiments, the salt comprises a hydrochlorate, trifluoroacetate, mesylate, tosylate, tartrate, or citrate salt.

D . Preparation of Medicaments and Methods of Treatment Using Macrolides

[116] The macrolides prepared by the above-described processes may generally

30 be used, for example, to treat pasteurellosis in animals, particularly livestock and poultry. In some embodiments, such a macrolide(s) is used to treat bovine animals having bovine respiratory disease (BRD) associated with *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida* and *Histophilus somni*. In other embodiments, such a macrolide(s) is used to

treat swine animals having swine respiratory disease associated with *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida*, and *Bordetella bronchiseptica*.

[117] In general, a therapeutically-effective amount of one or more of such macrolides is administered to the recipient animal. As used in this patent, the term "therapeutically effective amount" constitutes an amount that is sufficient to prevent, reduce the risk of, delay the onset of, ameliorate, suppress, or eradicate a target pathogen(s) infection. Generally, the therapeutically effective amount is defined as the amount necessary to achieve a concentration efficacious to control the target pathogen(s) at the site of infection (or, when used to prevent, reduce the risk of, or delay the onset of infection, at a site susceptible to infection). The concentration at the site of infection (or at a site susceptible to infection) is preferably at least equal to the MIC₉₀ level (minimum inhibitory concentration, *i.e.*, the concentration that inhibits the growth of 90% of the target pathogen) of the macrolide for the target pathogen. Such an amount may be administered to the animal recipient in two or more separate doses, although preferably is administered in a single dose. To the extent the macrolide(s) is administered with another active ingredient(s), the term "therapeutically effective amount" refers to the total amount of the macrolide(s) combined with the other active ingredient(s) that is sufficient to prevent, reduce the risk of, delay the onset of, ameliorate, suppress, or eradicate a target pathogen(s) infection.

[118] Factors affecting the preferred dosage regimen include the type (*e.g.*, species and breed), age, weight, sex, diet, activity, and condition of the animal recipient; the severity of the pathological condition; the apparatus used to administer the composition, as well as the type of administration used; pharmacological considerations, such as the activity, efficacy, pharmacokinetic, and toxicology profiles of the particular composition administered; the existence of an additional active ingredient(s) in the composition; and whether the composition is being administered as part of a drug and/or vaccine combination. Thus, the dosage actually employed can vary for specific animal patients, and, therefore, can deviate from the typical dosages set forth above. Determining such dosage adjustments is generally within the skill of those in the art using conventional means.

[119] In general, the macrolide(s) may be administered once to an animal, although it is contemplated that it may instead be administered multiple times.

[120] For cattle, the total amount of administered macrolide(s) is typically from about 0.1 to about 40 mg per kg body weight, and more typically from about 1 to about 10

mg per kg body weight. For example, in some embodiments, the amount administered to cattle is about 4 mg per kg body weight. Although the macrolide(s) may be given to cattle at any age, in some embodiments, the macrolide(s) is administered to cattle that are from about 1 months to about 1.5 years old, or from about 6 months to about 1 year old. In

5 some embodiments, the macrolide(s) is administered to weaned calves entering the feedlots (often at about 6 months old). In still other embodiments, the cattle are calves at from about 2 to about 12 weeks old, and the macrolide(s) is administered for prophylaxis at a dosage of from about 1 to about 10 mg per kg of the body weight; or for treating an existing infection at a dosage of from about 2 to about 20 mg per kg of the body weight.

10 [121] For swine, the total amount of administered macrolide(s) is typically from about 0.1 to about 50 mg per kg body weight, and more typically from about 1 to about 10 mg per kg body weight. For example, in some embodiments, the amount administered to swine is about 4 mg per kg body weight. In other embodiments, the amount administered to swine is about 5 mg per kg body weight. Although the macrolide(s) may be given to
15 swine at any age, in some embodiments, the macrolide(s) is administered to grower-finisher pigs.

[122] The method of administration can be varied depending on animals, but in the case of large mammals such as cattle, swine, and horses, it is preferably administered orally or parenterally. "Parenteral administration" includes, for example, subcutaneous
20 injections, intravenous injections, intramuscular injections, intrasternal injections, submucosal injections, and infusion. In some embodiments, for example, the animal recipient is a bovine animal, and the macrolide composition is administered subcutaneously, such as in the neck. In other embodiments, for example, the animal recipient is a swine animal, and the macrolide composition is administered
25 intramuscularly.

[123] The macrolide(s) may be used to form a pharmaceutical composition (or "medicament"). It is contemplated that such a composition may entirely comprise one or more macrolides. Normally, however, the composition comprises other ingredients as well.

30 [124] Other ingredients in the composition may comprise, for example, other active ingredients. Alternatively (or in addition), such other ingredients may comprise one or more pharmaceutically acceptable carriers, vehicles, and/or adjuvants (collectively referred to as "excipients"). The selection of such excipients will depend on various factors, such as the mode of administration; the apparatus used to administer the

74

composition; pharmacological considerations, such as the activity, efficacy, pharmacokinetic, and toxicology profiles of the particular composition; the existence of an additional active ingredient(s) in the composition; and whether the composition is being administered as part of a drug and/or vaccine combination.

5 [125] Solid macrolide compositions may comprise, for example, saccharides such as lactose, glucose, and sucrose; starches, such as corn starch and potato starch; cellulose derivatives, such as carboxymethylcellulose sodium, ethylcellulose, and cellulose acetate; etc.

10 [126] Liquid macrolide compositions may comprise for example, water, isotonic physiological saline, Ringer's solution, ethyl alcohol, and/or phosphate buffer solution may be present. Such compositions also may comprise oils, such as peanut oil, cotton seed oil, safflower oil, sesame oil, olive oil, corn oil and soybean oil and/or polyhydric alcohols such as glycerol, propylene glycol, sorbitol, mannitol, polyethylene glycol, and poly(ethylene glycol-2-propylene glycol-2-polyethylene glycol). It also, for example, may
15 be desirable in some instances for the composition to comprise one or more preservatives. The presence of a preservative may, for example, provide a benefit for compositions or solvents that may be stored over lengthy periods of time, *e.g.*, days, weeks, months, or years. When selecting a suitable preservative, factors to consider include, for example, its antimicrobial activity; the pH range at which it has the desired antimicrobial activity; the
20 minimum concentration at which it has the desired antimicrobial activity; its aqueous solubility and other physical characteristics (*e.g.*, potential to cause foaming); its suitability for parenteral use; its possible interactions with the active ingredient(s) (*e.g.*, its effect on the solubility of an active ingredient); its possible interactions with the non-active ingredients (*e.g.*, its effect on the stability of the solvent); and any government
25 regulations that may be applicable where the composition or solvent is being manufactured, sold, or used. Contemplated preservatives include, for example, parabens, propylene glycol, benzalkonium chloride, phenylethanol, chlorocresol, metacresol, ethanol, phenoxyethanol, and benzyl alcohol.

30 [127] Further discussion regarding pharmaceutically acceptable excipients that may be suitable for the macrolide composition may be found in, for example, "Gennaro, Remington: The Science and Practice of Pharmacy" (20th Edition, 2000) (incorporated by reference into this patent). To illustrate, other suitable excipients may include, for example, coloring agents; flavoring agents; and thickening agents, such as povidone carboxymethylcellulose, and/or hydroxypropyl methylcellulose.

[128] Normally, the macrolide(s) occupies at least about 0.5% by weight of the pharmaceutical composition. For example, in some embodiments for swine use, suitable macrolide concentrations for parenteral administration may be, for example, from about 5 to about 500 mg/ml, from about 10 to about 100 mg/ml, or from about 20 to about 60 mg/ml (*e.g.*, about 40 mg/ml). Exemplifying further, in some embodiments for bovine use, suitable macrolide concentrations for parenteral administration may be, for example, from about 5 mg/ml to about 2.0 g/ml, from about 10 mg/ml to about 1.0 g/ml, 50 to about 500 mg/ml, or from about 100 to about 300 mg/ml (*e.g.*, 180 mg/ml).

[129] It should be recognized that the macrolide concentration can be varied depending on the dosage form. Where, for example, the macrolide(s) is administered parenterally, the macrolide concentration preferably is sufficient to provide the desired therapeutically effective amount of the macrolide(s) in a volume that is acceptable for parenteral administration. The maximum acceptable volume may vary, depending on, for example, the apparatus being used for the administration, type of parenteral administration, size of the recipient animal, and subjective desires of the user.

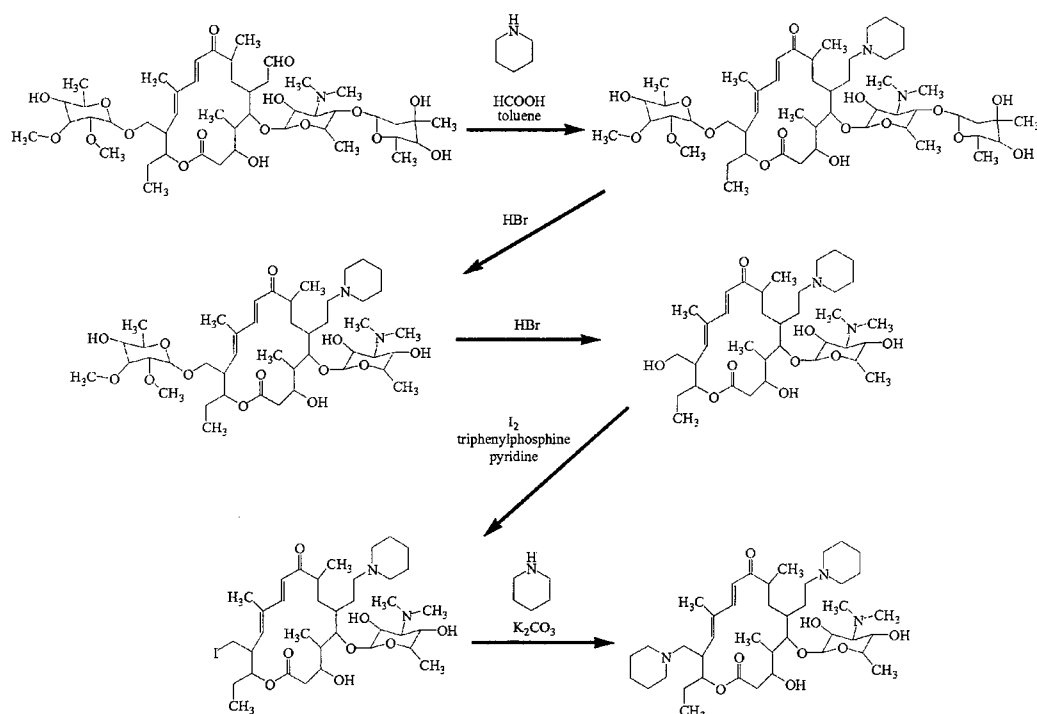
[130] Further discussion relating to the use of 20,23-dipiperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide and derivatives thereof to treat livestock and poultry disease may be found in, for example, U.S. Patent No. 6,514,946. As indicated earlier, that discussion is incorporated by reference into this patent.

[131] This invention also is directed to kits that are, for example, suitable for use in performing the methods of treatment described above. The kit comprises a therapeutically effective amount of at least one of the above-described macrolides, and instructions for combining the macrolide(s) with at least one excipient, such as, for example, instructions for dissolving or suspending the macrolide(s) in a liquid excipient. The kit may further (or alternatively) comprise additional components, such as, for example, one or more apparatuses (*e.g.*, a syringe) for administering a composition comprising (or derived from) the macrolide(s), one or more additional pharmaceutical or biological materials, one or more excipients, and/or one or more diagnostic tools.

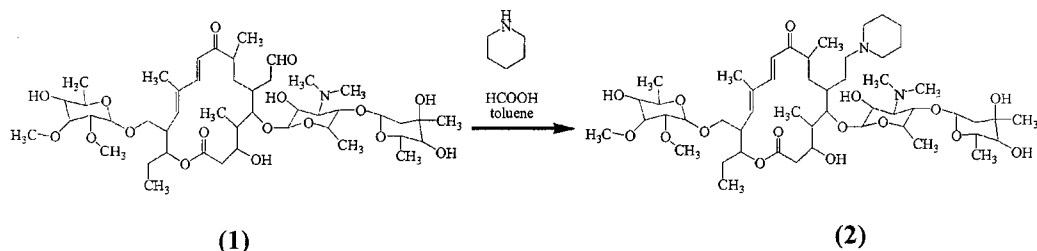
EXAMPLES

[132] The following examples are merely illustrative of embodiments of the invention, and not limiting to the remainder of this disclosure in any way.

5 [133] Example 1. Preparation of 20,23-dipiperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide from tylosin A.



10 [134] Part A. Reductive amination. Preparation of 23-O-Mycinosyl-20-Piperidinyl-5-O-Mycaminosyl-Tylonolide Compound (2).

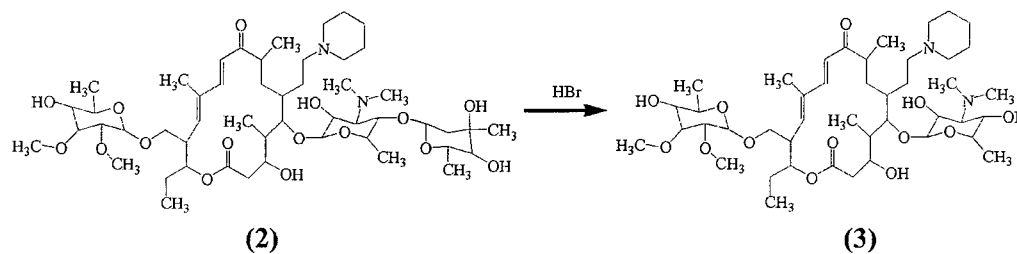


Toluene (19.2 kg), tylosin A (1) (3.68 kg; $\geq 80\%$ tylosin A; $\geq 95\%$ tylosin A, B, C, & D), piperidine (0.40 kg), and formic acid (0.55 kg) were charged to a reactor. The mixture was heated to 70-80°C, while being stirred. Stirring was then continued at that

15 temperature for 1-2 more hours. The formation of the 20-piperidinyl-tylosin compound

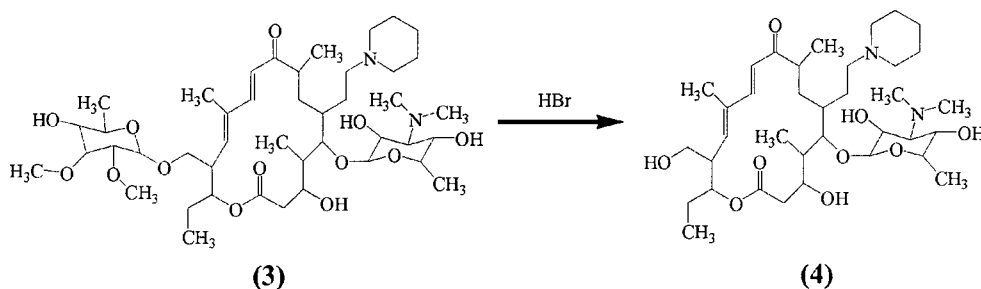
(2) was monitored by HPLC. After reaction completion ($\leq 2\%$ tylosin A (1)), the product mixture was cooled to ambient temperature.

[135] Part B. Acid hydrolysis of mycarosyloxy substituent. Preparation of 23-O-mycinosyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound (3).



HBr (48% HBr diluted to 24%) was added to the product mixture of **Part A** while stirring and maintaining the mixture at less than 40°C . Afterward, the phases in the product mixture were separated using a 20-minute phase separation period. The product mixture was at $20\text{--}25^{\circ}\text{C}$ during this phase separation. HPLC of the lower phase was used to confirm reaction completion ($\leq 2\%$ 20-piperidinyl-tylosin compound (2)).

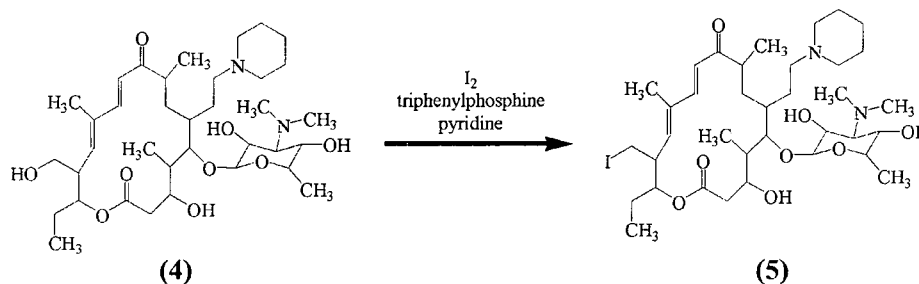
[136] Part C. Acid hydrolysis of mycinosyloxy substituent. Preparation of 23-Hydroxyl-20-Piperidinyl-5-O-Mycaminosyl-Tylonolide (4).



Twenty-four percent HBr (18.4 L) was added at ambient temperature to the aqueous phase obtained from **Part B**, followed by heating to $54 \pm 3^{\circ}\text{C}$ within about 1 hour while stirring. Stirring was continued at this temperature for 2-4 more hours, while the reaction was monitored using HPLC. After completion of the reaction ($\leq 2\%$ 23-O-mycinosyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound (3)), the mixture was cooled to ambient temperature using a -10°C cooling jacket. After cooling, the mixture was extracted with dichloromethane three times (9.8 kg each time). The aqueous product was cooled to $4\text{--}8^{\circ}\text{C}$, and then 6 N NaOH (33.6 kg) was slowly added to adjust the pH to ≥ 10 . The resulting mixture was extracted with dichloromethane three times (with 32.6 kg, 29.3 kg, and 24.5 kg) at ambient temperature. The combined organic phases were charged to a separate reactor. Sodium sulfate (2.9 kg; Na_2SO_4) was added and filtered off.

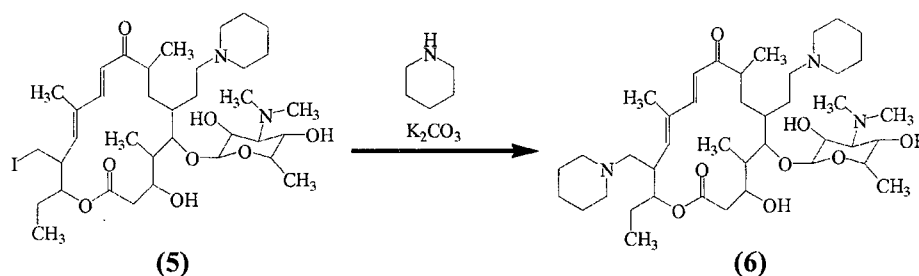
Dichloromethane (4.9 kg) was then added and removed via distillation. The resulting crude product was dissolved and re-crystallized twice in *tert*-butyl methyl ether (6.1 kg each time) at ambient temperature. Afterward, the product was isolated on a Nutsch filter, washed twice with *tert*-butyl methyl ether (1.0 kg each time), and dried in a tray dryer under vacuum overnight at 40°C. The final product was analyzed using HPLC.

[137] Part D. Iodination. Preparation of activated compound (5).



Triphenylphosphine (0.9 kg) and pyridine (0.3 kg; free of water) were dissolved into dichloromethane (11.7 kg) at ambient temperature. Iodine (0.8 kg) was then added. The resulting mixture was then stirred until all the iodine dissolved. The mixture was then cooled to 13°C. The cooled mixture was added to the product from **Part C** in dichloromethane (11.7 kg) while stirring at $15 \pm 3^\circ\text{C}$. The reaction was monitored by HPLC, and was determined to be completed in 2-2.5 hours ($\leq 2\%$ 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound).

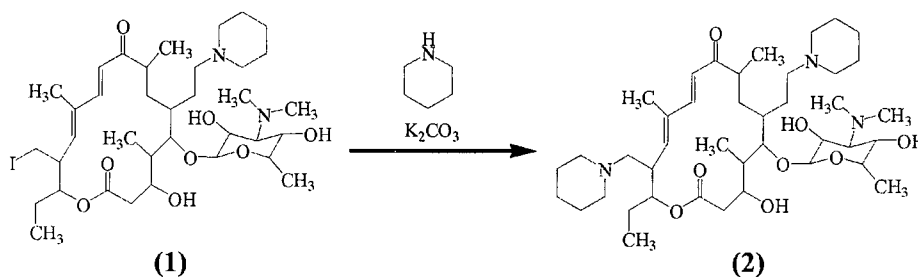
[138] Part E. Amination. Preparation of 20,23-dipiperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide (6).



Potassium carbonate (1.8 kg), acetonitrile (16.7 kg), and piperidine (1.1 kg) were added to the product of **Part D**. The resulting mixture was then heated to 78°C while distilling off dichloromethane. After solvent exchange to acetonitrile, the mixture was stirred at 2-2.5 hours at reflux, and then cooled to ambient temperature. Afterward, the residual potassium carbonate was filtered off, the filter cake was washed with acetonitrile (2.8 kg), and the solvent was distilled off under vacuum at a 50°C jacket temperature. The resulting residue was dissolved in ethyl acetate (15.8 kg), and mixed with 0.5 N HCl (35.6 kg). The

phases were separated at ambient temperature, and the lower aqueous phase was extracted three times with ethyl acetate (15.8 kg were used each time). The resulting aqueous phase was set to a pH of 11 by addition of 6 N NaOH (6.4 kg) and extracted three times with dichloromethane (18.7 kg each time) at ambient temperature. The combined lower organic phases were recharged to the reactor with sodium sulfate (5.3 kg). The mixture was then filtered to form a cake, which, in turn, was washed with dichloromethane (4.9 kg) and dried under vacuum at a jacket temperature of 50°C to form a macrolide product. This product, in turn, was mixed with acetonitrile (21.7 L) and re-crystallized. The resulting crystals were isolated on a Nutsch filter, washed twice with cold acetonitrile (3.5 L each time), and dried under vacuum at 40°C overnight to form macrolide (5) product. The composition of the product was confirmed using HPLC.

[139] **Example 2. Alternative Amination. Preparation of 20,23-Dipiperidinyl-5-O-Mycaminosyl-Tylonolide (2).**



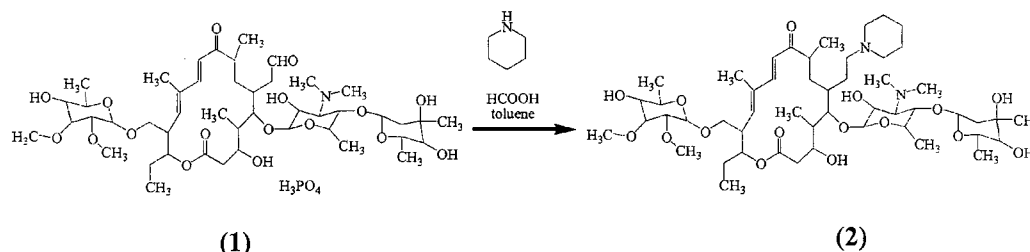
15

Potassium carbonate (0.94 kg), xylene (5 L), and piperidine (0.55 kg) are added to 1.0 kg of activated compound (1) made in accordance with the procedure in **Part D**. The resulting mixture is then heated to 95-105°C for 15 hours. Work-up includes dissolving the K_2CO_3 in water; removing excess piperidine; extracting into diluted HCl; extracting into *tert*-butyl methyl ether at a pH of 11; conducting a solvent switch to ethanol; and precipitating, isolating, and drying of the crude product. The product is then re-crystallized from methyl acetate or ethyl acetate. The composition of the product is confirmed using HPLC.

20

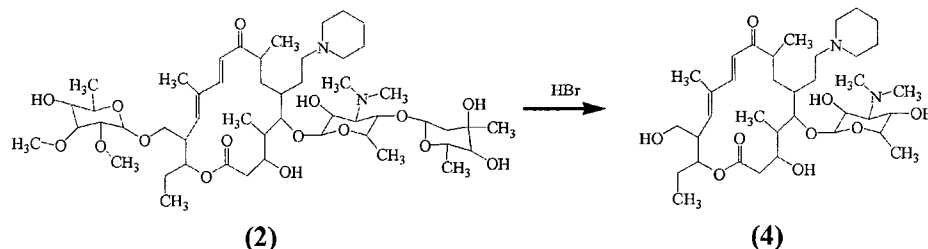
[140] **Example 3. Another illustrative preparation of 20,23-dipiperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide.**

[141] **Part A. Reductive amination. Preparation of 23-O-mycinosyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound (2).**



Tylosin phosphate (1) and dichloromethane (1.3 L per kg tylosin phosphate) were charged to a reactor. The resulting mixture was stirred to produce a clear solution. Next, piperidine (1.2 eq, based on the tylosin phosphate), formic acid (4.5 eq, based on the tylosin phosphate), and toluene (6.7 L per kg tylosin phosphate) were sequentially charged to the reactor. The resulting mixture was heated to 76°C while being stirred. Stirring was then continued at that temperature for 2.5 hours. Additional piperidine (0.1 eq, based on the tylosin phosphate) was then charged, and the resulting mixture was stirred at 76°C for an additional hour. The product mixture was cooled to 50°C.

[142] **Part B. Acid hydrolysis of mycarosyloxy substituent. Preparation of 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide (4).**



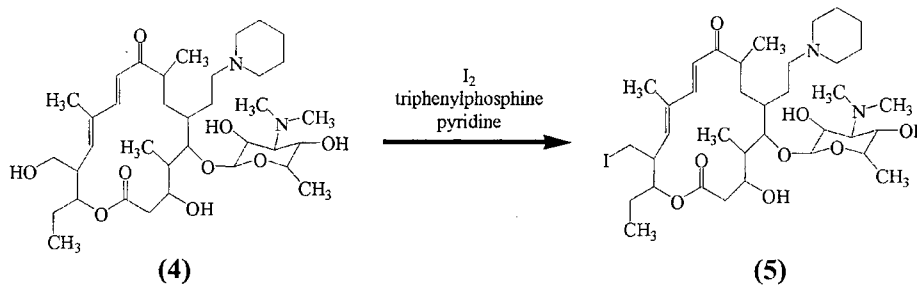
[143] Aqueous HBr (23.3 eq, based on the tylosin phosphate used in **Part A**) was added to the product mixture of **Part A** at 50°C. The resulting mixture was stirred at 56°C for 5 hours. HPLC was used to monitor the reaction.

[144] Once the desired conversion was obtained, the product mixture was cooled. The aqueous phase was extracted twice with dichloromethane at 25-30°C. The aqueous phase was then cooled to 0°C, and the pH was adjusted to 10-10.5 with NaOH at ≤5°C. Afterward, the aqueous phase was extracted twice with dichloromethane at 20°C. The resulting combined organic phases were extracted twice with aqueous NaHCO₃. The dichloromethane was then removed from the combined organic phases via distillation, and

replaced with isopropyl alcohol. Afterward, heptane at 45°C was added to initiate precipitation. The mixture was then stirred at 0°C. Afterward, the crystalline product was isolated by filtration. The isolated crystals were washed with heptane and isopropyl alcohol, dried, and analyzed using HPLC.

- 5 [145] The above procedure made 0.23 kg of product per kilogram of tylosin phosphate used in **Part A**. This product may contain isopropyl alcohol. To remove the isopropyl alcohol, the product may be dissolved in toluene and dichloromethane, followed by distillation.

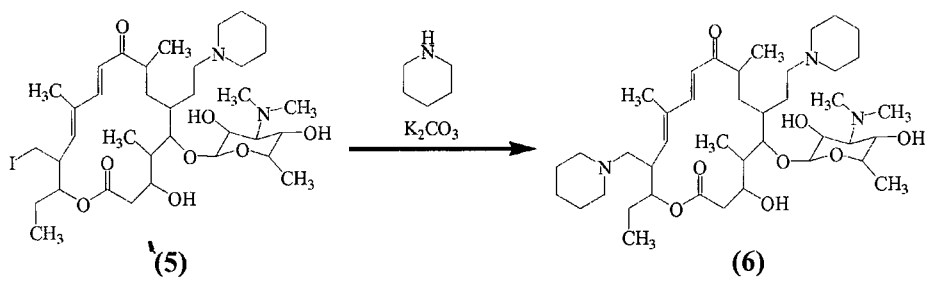
[146] **Part C. Iodination. Preparation of activated compound (5).**



- 15 [147] Triphenylphosphine (0.41 kg per kg of product of **Part B**) was dissolved in dichloromethane (12 L per kg of triphenylphosphine, ≤ 100 ppm H_2O) at 25°C. Pyridine (0.3 kg per kg triphenylphosphine) was then added. Next, iodine (0.9 kg per kg of triphenylphosphine) was added in 5 portions at 25°C. The resulting mixture was stirred for 40 minutes at 25°C, and then cooled to -6°C. The mixture was then added to the product from **Part B** over 50 minutes while stirring at -6°C. Afterward, stirring was continued for 7 hours while maintaining the mixture at -5°C. The reaction was monitored by HPLC (if sufficient conversion is not reached, the mixture may be stirred at -5°C for an additional amount of time, *e.g.*, 1.5 hours).

- 20 [148] When the desired conversion was reached, the product mixture was washed with aqueous Na_2SO_3 solution at -5°C. Dichloromethane was then removed from the organic phase by distillation, and replaced with tetrahydrofuran.

[149] Part D. Amination. Preparation of 20,23-dipiperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide (6).



[150] Piperidine (0.55 kg per kg of product from **Part B**) was added to the product from **Part C**, followed by potassium carbonate (0.94 kg per kg of product from **Part B**). The resulting mixture was heated to 55°C, and then maintained at that temperature for 3 hours while stirring. Afterward, the mixture was heated to 72°C over 1 hour, and then stirred at that temperature for 6 hours. The composition of the product was analyzed using HPLC.

[151] The words "comprise," "comprises," and "comprising" in this patent (including the claims) are to be interpreted inclusively rather than exclusively. This interpretation is intended to be the same as the interpretation that these words are given under United States patent law.

[152] The term "pharmaceutically acceptable" is used adjectivally in this patent to mean that the modified noun is appropriate for use in a pharmaceutical product. When it is used, for example, to describe an excipient or a salt, it characterizes the excipient or salt as having a benefit(s) that outweighs any deleterious effect(s) that the excipient or salt may have to the intended recipient animal.

[153] Unless otherwise characterized by this patent, the term "ambient temperature" means a temperature of from about 20 to about 25°C.

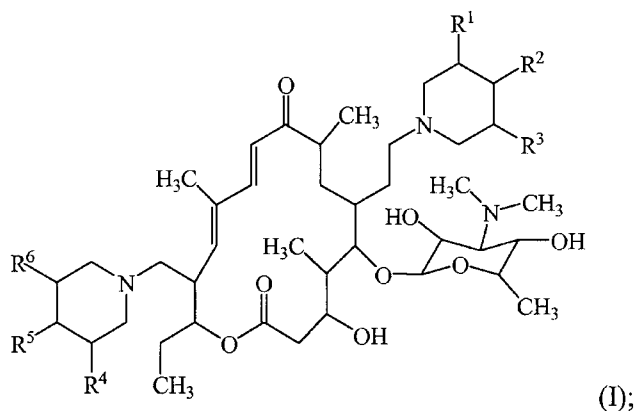
[154] All references cited in this patent are incorporated by reference into this patent.

[155] The above detailed description of preferred embodiments is intended only to acquaint others skilled in the art with the invention, its principles, and its practical application so that others skilled in the art may adapt and apply the invention in its numerous forms, as they may be best suited to the requirements of a particular use. This

invention, therefore, is not limited to the above embodiments, and may be variously modified.

WE CLAIM:

1. A process for making a macrolide or a salt thereof, wherein:
the macrolide corresponds in structure to Formula (I):



the process comprises:

reacting tylosin A (or a salt thereof), a piperidiny compound of Formula (II), and formic acid in the presence of a non-polar solvent to form a 20-piperidiny-tylosin compound,

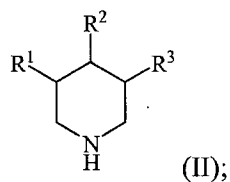
reacting a 20-piperidiny-tylosin compound with an acid to form a 23-O-mycinosyl-20-piperidiny-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound,

reacting a 23-O-mycinosyl-20-piperidiny-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound with an acid to form a 23-hydroxyl-20-piperidiny-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound,

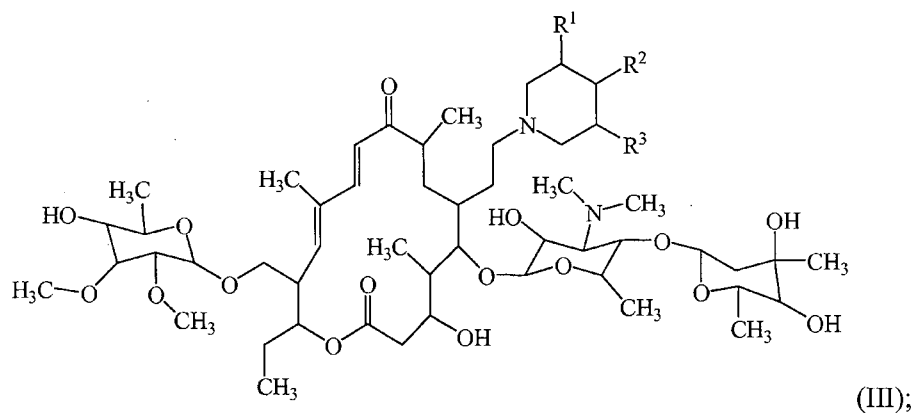
activating a 23-hydroxyl-20-piperidiny-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound with an activating agent to form an activated compound, or

reacting an activated compound with a piperidiny compound of Formula (VII);

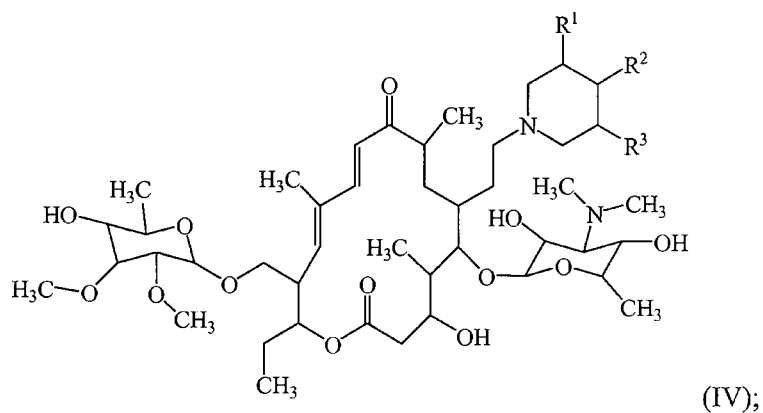
the piperidiny compound of Formula (II) corresponds in structure to:



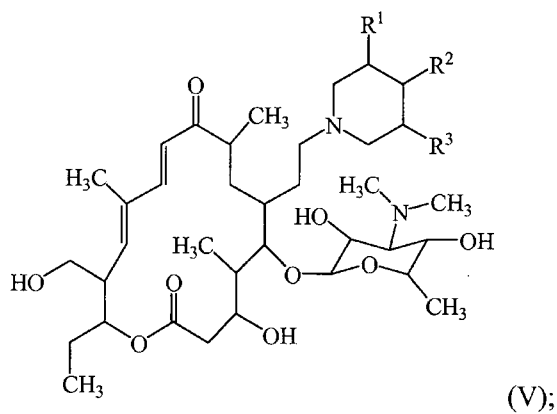
the 20-piperidiny-tylosin compound corresponds in structure to Formula (III):



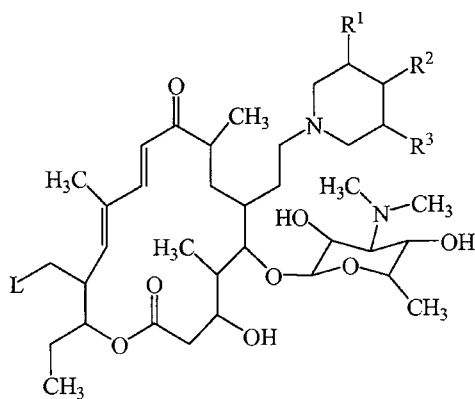
the 23-O-mycinosyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound corresponds in structure to Formula (IV):



5 the 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound corresponds in structure to Formula (V):

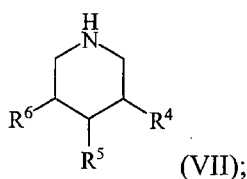


the activated compound corresponds in structure to Formula (VI):



(VI);

the piperidinyl compound of Formula (VII) corresponds in structure to:



(VII);

L is a leaving group;

as to R^1 , R^2 , and R^3 :

R^1 and R^3 are each methyl, and R^2 is hydrogen,

R^1 and R^3 are each hydrogen, and R^2 is methyl, or

R^1 , R^2 , and R^3 are each hydrogen; and

as to R^4 , R^5 , and R^6 :

R^4 and R^6 are each methyl, and R^5 is hydrogen,

R^4 and R^6 are each hydrogen, and R^5 is methyl, or

R^4 , R^5 , and R^6 are each hydrogen.

2. A process of claim 1, wherein the process comprises reacting tylosin A (or a salt thereof), the piperidinyl compound of Formula (II), and formic acid in the presence of a non-polar solvent to form the 20-piperidinyl-tylosin compound.

3. A process of claim 1, wherein the process comprises reacting the 20-piperidinyl-tylosin compound with an acid to form the 23-O-mycinosyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound.

4. A process of claim 1, wherein the process comprises reacting the 23-O-mycinosyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound with an acid to form the 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound.

5. A process of claim 4, wherein the process further comprises preparing the 23-O-mycinosyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide-compound by a process comprising reacting the 20-piperidinyl-tylosin compound with an acid.

5

6. A process of claim 5, wherein at least a portion of the 23-O-mycinosyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound and at least a portion of the 20-piperidinyl-tylosin compound are reacted with HBr.

10

7. A process of claim 1, wherein the process comprises activating the 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound with an activating agent to form the activated compound.

15

8. A process of claim 1, wherein the process comprises reacting the activated compound with the piperidinyl compound of Formula (VII).

9. A process of claim 8, wherein:

the process further comprises:

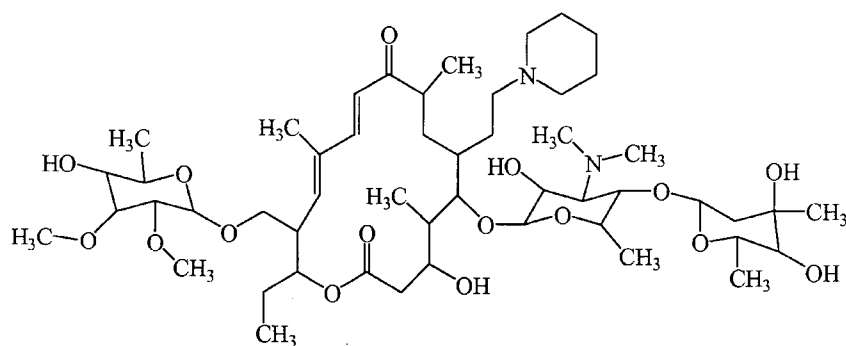
20 reacting tylosin A (or a salt thereof), piperidine, and formic acid in the presence of toluene;

reacting the 20-piperidinyl-tylosin compound with HBr;

reacting the 23-O-mycinosyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound with HBr; and

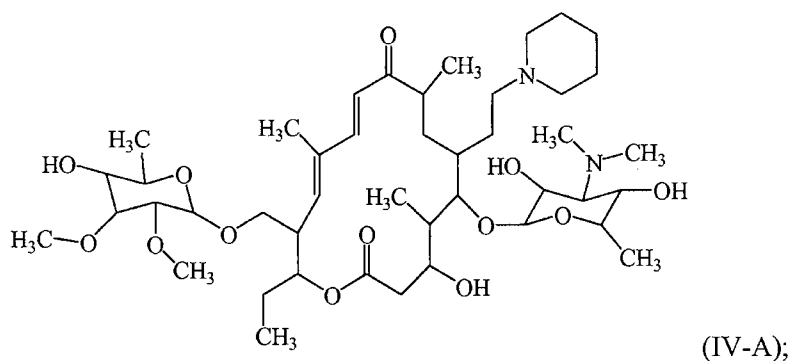
25 activating the 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound with an activating agent;

the 20-piperidinyl-tylosin compound corresponds in structure to Formula (III-A):

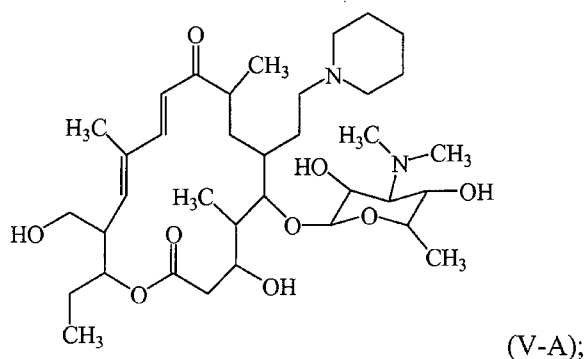


(III-A);

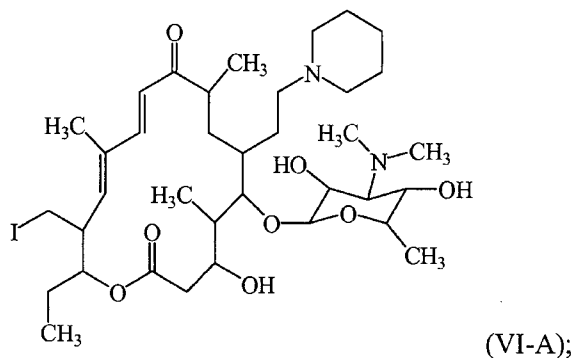
the 23-O-mycinosyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound corresponds in structure to Formula (IV-A):



the 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound
5 corresponds in structure to Formula (V-A):

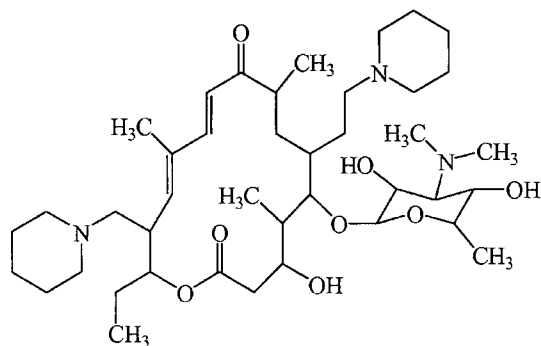


the activated compound corresponds in structure to Formula (VI-A):



the activating agent is prepared by a process comprising mixing I₂,
10 triphenylphosphine, and pyridine;
the piperidinyl compound of Formula (VII) comprises piperidine; and
the macrolide corresponds in structure to Formula (I-A):

65

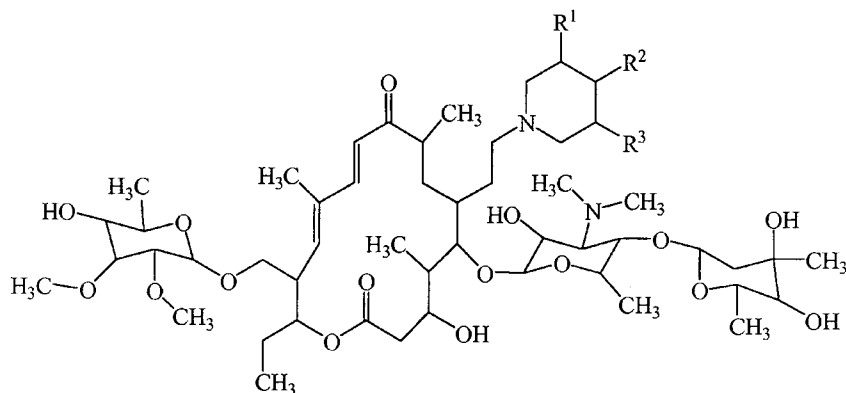


(I-A).

10. A method for treating a disease, wherein
the disease is selected from the group consisting of pasteurellosis, swine
5 respiratory disease, and bovine respiratory disease; and
the method comprises:
preparing a macrolide or pharmaceutically acceptable salt thereof in
accordance with any one of claims 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, and 9; and
administering a therapeutically effective amount of the macrolide or
10 salt to an animal in need of such treatment.

11. A process for making a 20-piperidinyl-tylosin compound or a salt thereof,
wherein:

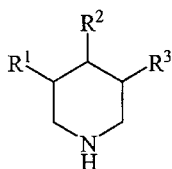
the 20-piperidinyl-tylosin compound corresponds in structure to Formula (III):



(III);

- the process comprises reacting tylosin A (or a salt thereof), a piperidinyl compound
of Formula (II), and formic acid in the presence of a non-polar solvent;
the piperidinyl compound of Formula (II) corresponds in structure to:

66



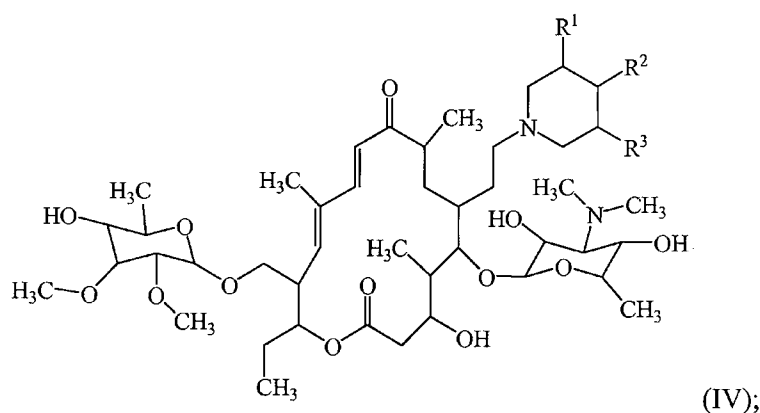
(II); and

as to R^1 , R^2 , and R^3 : R^1 and R^3 are each methyl, and R^2 is hydrogen, R^1 and R^3 are each hydrogen, and R^2 is methyl, or R^1 , R^2 , and R^3 are each hydrogen.

12. A process for making a 23-O-mycinosyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound or a salt thereof, wherein:

the 23-O-mycinosyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound

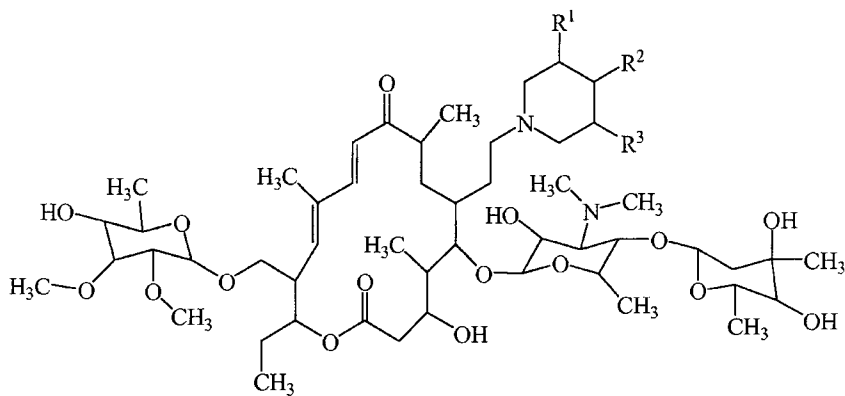
corresponds in structure to Formula (IV):



(IV);

the process comprises reacting a 20-piperidinyl-tylosin compound with HBr;

the 20-piperidinyl-tylosin compound corresponds in structure to Formula (III):



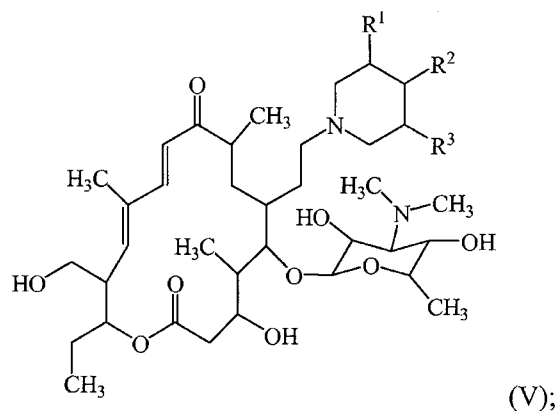
(III); and

as to R^1 , R^2 , and R^3 : R^1 and R^3 are each methyl, and R^2 is hydrogen,

R^1 and R^3 are each hydrogen, and R^2 is methyl, or
 R^1 , R^2 , and R^3 are each hydrogen.

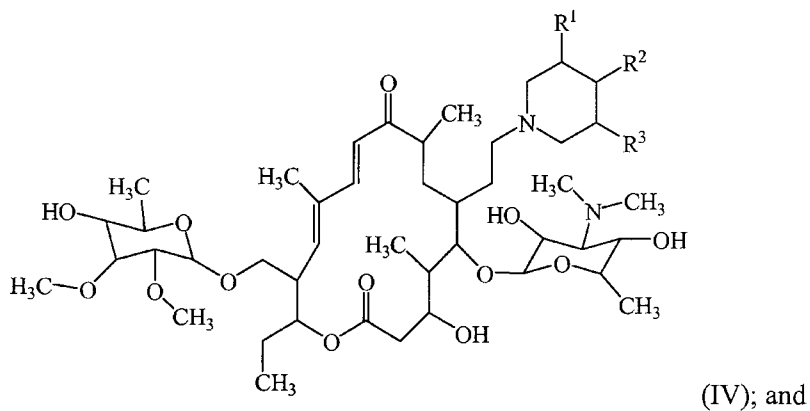
13. A process for making a 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound or a salt thereof, wherein:

the 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound corresponds in structure to Formula (V):



the process comprises reacting a 23-O-mycinosyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound with an acid;

the 23-O-mycinosyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound corresponds in structure to Formula (IV):

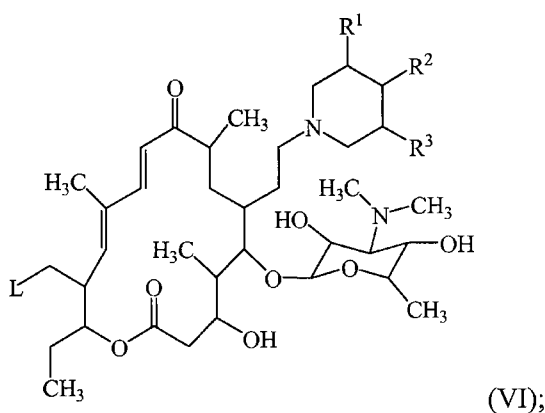


as to R^1 , R^2 , and R^3 :

15 R^1 and R^3 are each methyl, and R^2 is hydrogen,
 R^1 and R^3 are each hydrogen, and R^2 is methyl, or
 R^1 , R^2 , and R^3 are each hydrogen.

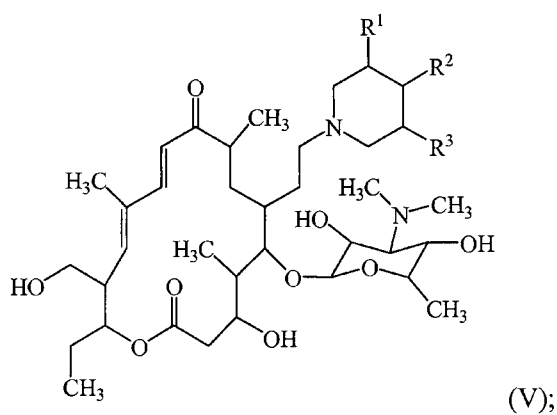
14. A process for making an activated compound or a salt thereof, wherein:

the activated compound corresponds in structure to Formula (VI):



the process comprises activating a 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide compound with an activating agent;

- 5 the 23-hydroxyl-20-piperidinyl-5-O-mycaminosyl-tylonolide corresponds in structure to Formula (V):



L is a leaving group; and

as to R^1 , R^2 , and R^3 :

- 10 R^1 and R^3 are each methyl, and R^2 is hydrogen,
 R^1 and R^3 are each hydrogen, and R^2 is methyl, or
 R^1 , R^2 , and R^3 are each hydrogen.

- 15 15. A process of claims 1, 2, and 11, wherein the non-polar solvent comprises toluene.

16. A process of claims 1, 7, 8, and 14, wherein L is iodo.

93

17. A process of any one of claims 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 11, 12, 13, 14, and 15, wherein R^1 , R^2 , and R^3 are each hydrogen.

18. A process of any one of claims 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, and 8, wherein R^4 , R^5 , and R^6 are each hydrogen.

19. A process of any one of claims 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, and 8, wherein R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , and R^6 are each hydrogen.

PROCESO DE SÍNTESIS DE MACROLIDA

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES DE PATENTE RELACIONADAS

5

[1] Esta patente reivindica la prioridad para la Solicitud de Patente Provisional U.S. No. 60/834,067 (presentada en Julio 28, 2006); y la Solicitud de Patente Europea No. 06118159.0 (presentada en Julio 31, 2006). EL texto completo de aquellas solicitudes de patente se incorpora como referencia en esta

10 patente.

CAMPO DE LA INVENCIÓN

[2] Esta invención se relaciona con un método para elaborar macrolidas, y, en particular, a un método para elaborar opcionalmente 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida sustituida y sus derivados, así como también métodos de tratamiento utilizando tales macrolidas, usos de tales macrolidas para elaborar medicamentos, y métodos para elaborar intermedios que, *entre otros*, se pueden utilizar para elaborar macrolidas.

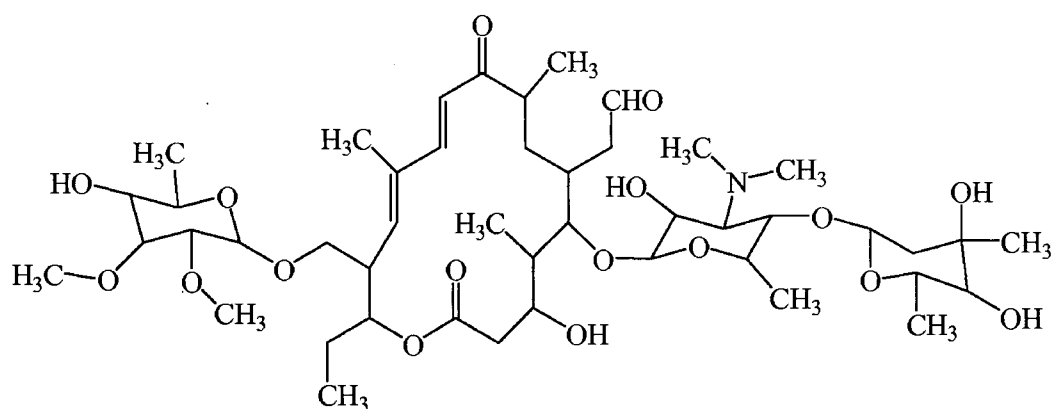
15

20

ANTECEDENTE DE LA INVENCIÓN

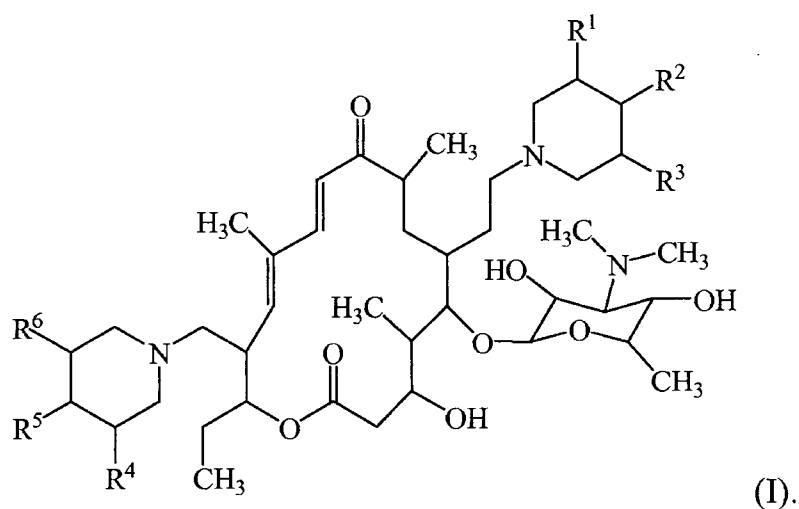
[3] Las macrolidas se han conocido grandemente por ser efectivas para tratar enfermedades infecciosas en humanos, ganado, aves de corral, y otros animales. Las Macrolidas anteriores incluyen macrolidas de 16 miembros tal como, por ejemplo, tilosina A:

25



Ver, por ejemplo, la Patente U.S: No. 4,920,103 (col. 5, líneas 12-38). Ver también, la Patente U.S: No. 4,820,695 (col. 7, líneas 1-32) y EP 0103465B1 (página 5, línea 3). Con los años, varios derivados tilosina se han desarrollado con la meta de mejorar la actividad y selectividad bacteriana.

[4] Derivados tilosina incluyen, por ejemplo, compuestos discutidos en la Patente U.S: No. 6,514,946 que corresponde en estructura a la Fórmula (I):



Aquí:

R^1 y R^3 son cada uno metilo, y R^2 es hidrógeno;

R^1 y R^3 son cada uno hidrógeno, y R^2 es metilo; o

R^1 , R^2 , y R^3 son cada uno hidrógeno; y

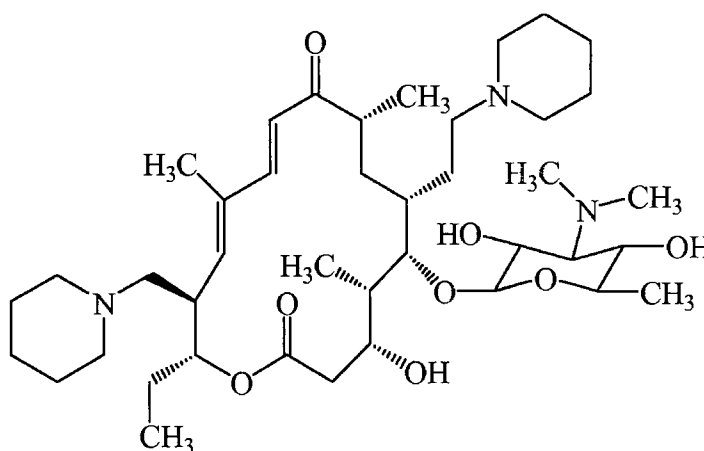
R^4 y R^6 son cada uno metilo, y R^5 es hidrógeno;

R^4 y R^6 son cada uno hidrógeno, y R^5 es metilo; o

R^4 , R^5 , y R^6 son cada uno hidrógeno.

5

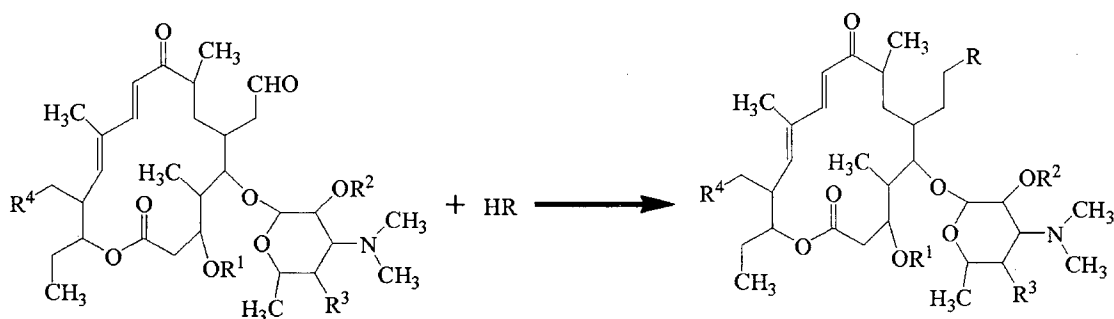
Tales compuestos incluyen, por ejemplo, 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, que tienen la siguiente estructura:



10 Estos compuestos, y particularmente 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, se consideran que tienen atributos farmacocinéticos y farmacodinámicos para la seguridad y el tratamiento efectivo de, por ejemplo, pasteurelosis, enfermedad respiratoria bovina, y enfermedad respiratoria porcina. Una discusión relacionada con el uso de estos compuestos para tratar enfermedades del ganado
15 y aves de corral se incluye en la Patente U.S: No. 6,514,946, cuya discusión se incorpora como referencia en esta patente.

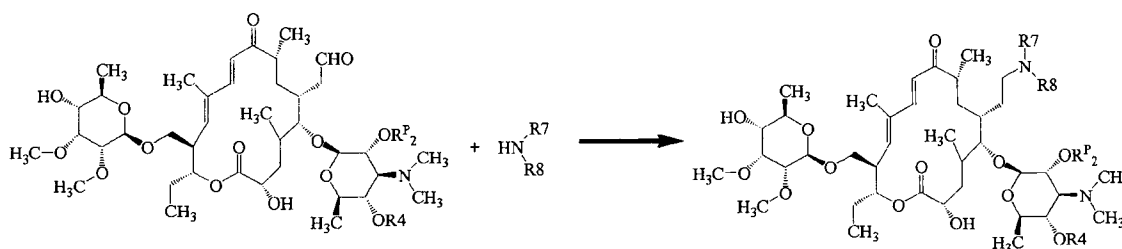
[5] Varias investigaciones para elaborar macrolidas se han reportado.

20 [6] En la EP 0103465B1, por ejemplo, Debono *et al.* discute varias etapas de proceso para elaborar compuestos dentro de su género citado. Estos procesos incluyen, por ejemplo, la siguiente reducción:



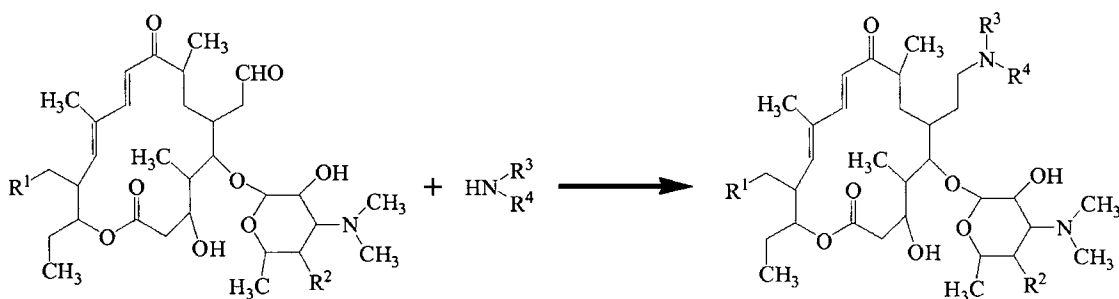
Aquí, R, R¹, R², R³, y R⁴ se definen como varios sustituyentes. R, en particular, se define como un sistema de anillo que contiene nitrógeno que tiene hasta 3 anillos saturados o no saturados que son opcionalmente sustituidos. Debono *et al.* reporta que el agente de reducción preferido es un cianoborohidruro, y que cianoborohidruro de sodio es “el agente de reducción de elección.” Debono *et al.* también establece que el disolvente para esta reacción será normalmente un disolvente polar inerte, tal como un alcohol C₁-C₄. Ver página 6, líneas 7-14. En una patente presentada después en la misma familia de patente, Debono *et al.* discute adicionalmente la aminación reductiva de varios compuestos aldehído (incluyendo tilosina) con una amina. Se citan cianoborohidruro de sodio y borohidruro de sodio como agentes de reducción adecuados, y metanol anhidro se cita como un disolvente adecuado. Ver la Patente U.S: No. 4,820,695, col. 7, líneas 60-68.

[7] En la Patente U.S: No. 6,664,240, Phan *et al.* también discute una aminación reductiva:



Aquí, R^p_2 , R^4 , R^7 y R^8 se definen como varios sustituyentes. R^7 y R^8 , en particular, cada uno se define por ser sustituyentes independientes, o alternativamente, juntos forman un anillo heterocíclico de 3 a 7 miembros. Phan *et al.* discute conducir esta reacción con un reactivo borohidruro en un alcohol o disolvente acetonitrilo. Se listan borohidruro de sodio y cianoborohidruro de sodio como ejemplo de reactivos borohidruro; y metanol, etanol, e isopropanol se listan como ejemplo de disolventes alcohol. Ver, por ejemplo, col. 15, línea 64 a col. 16, línea 42; y col. 22, líneas 41-49.

[8] En la EP 0240264B1, Tao *et al.* también discute una aminación reductiva:

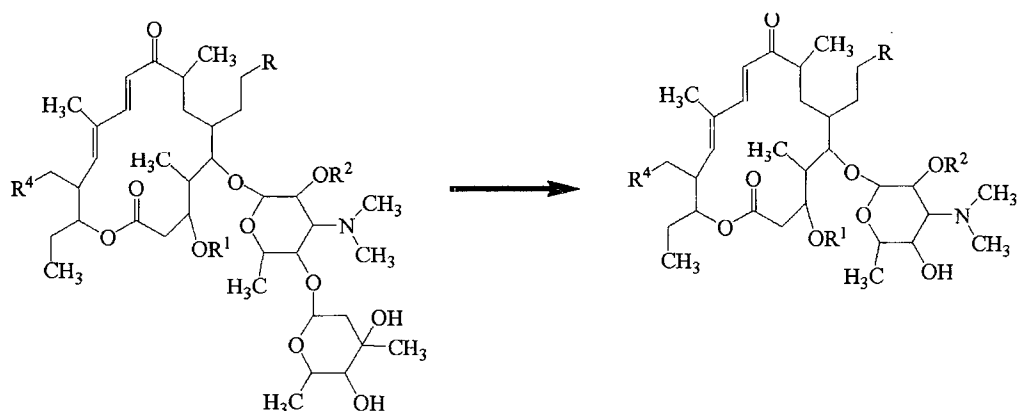


Aquí, R^1 , R^2 , R^3 , y R^4 se definen como varios sustituyentes. R^3 y R^4 , en particular, se definen como cada uno sustituyentes independientes, o, alternativamente, juntos forman un sistema de anillo heterocíclico que tiene hasta 3 anillos opcionalmente sustituidos. Tao *et al.* reporta que esta reducción se puede alcanzar utilizando ácido fórmico como el agente de reducción. Tao *et al.* reporta adicionalmente que el disolvente será ordinariamente un disolvente orgánico polar inerte. Se citan Acetato de amilo y acetonitrilo como ejemplos de tal un disolvente. Ver página 4, línea 57 a página 5, línea 10. Ver también, Patente U.S: No.

4,921,947, col. 3, línea 62 a col. 4, línea 16.

[9] En la EP 0103465B1, Debono *et al.* discute la siguiente reacción de hidrólisis:

5



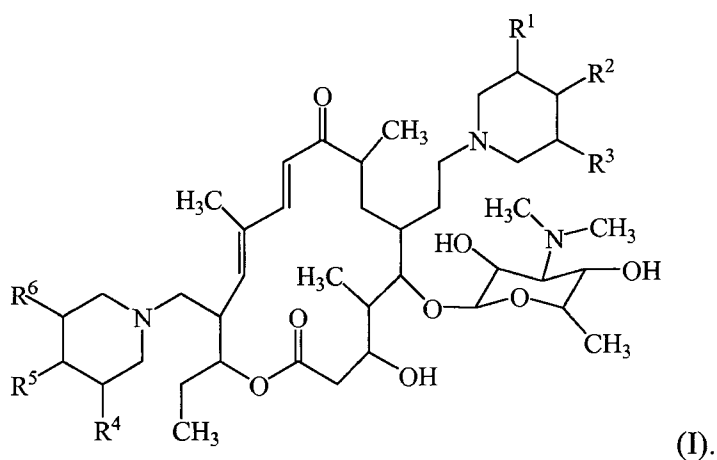
Aquí, R, R¹, R², y R⁴ se definen como varios sustituyentes. Debono *et al.* reporta que esta “hidrólisis se puede efectuar utilizando un ácido mineral acuoso fuerte como ácido clorhídrico o sulfúrico, o un ácido orgánico fuerte tal como ácido p-toluenosulfónico.” Ver página 7, líneas 3-8. En una patente presentada después de la misma familia de patente, Debono *et al.* discute adicionalmente hidrólisis de micarosa de derivados de tilosina modificados C-20, macrocina, y DOMM utilizando procedimientos “bien conocidos” para hidrólisis ácida. Ver la Patente U.S: No. 4,820,695, Col. 8, líneas 35- 43.

[10] En vista de la importancia de macrolidas en el tratamiento de una plétora de afecciones patológicas, continúa siendo una necesidad para procesos efectivos en costos, de alto rendimiento para elaborar macrolidas. La siguiente descripción supera esta necesidad.

RESUMEN DE LA INVENCION

[11] Esta invención se relaciona con procesos para elaborar macrolidas, y, en particular, opcionalmente 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-1tilonolida sustituida y sus derivados. Tales procesos incluyen procesos para elaborar sus propias macrolidas, así como también procesos para elaborar compuestos que, *entre otros*, se pueden utilizar como intermedios para elaborar varias macrolidas.

[12] Brevemente, esta invención se dirige, en la parte, a un proceso para elaborar una macrolida y sus sales. La macrolida corresponde en estructura a la Fórmula (I):



Aquí:

Como a R, R², y R³:

R¹ y R³ son cada uno metilo, y R² es hidrógeno,

R¹ y R³ son cada uno hidrógeno, y R² es metilo, o

R¹, R², y R³ son cada uno hidrógeno.

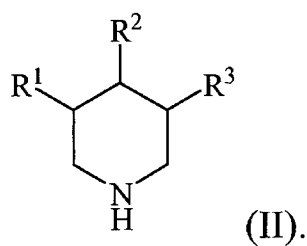
Como a R⁴, R⁵, y R⁶:

R⁴ y R⁶ son cada uno metilo, y R⁵ es hidrógeno,

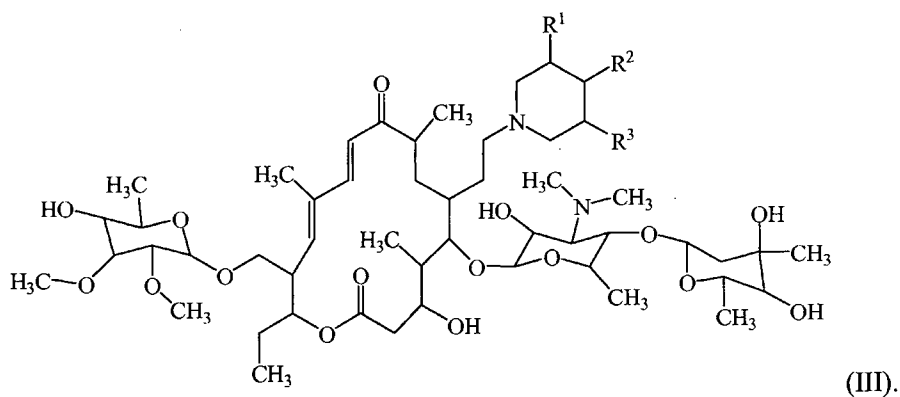
R⁴ y R⁶ son cada uno hidrógeno, y R⁵ es metilo, o

5 R⁴, R⁵, y R⁶ son cada uno hidrógeno.

[13] En algunas modalidades, el proceso comprende hacer reaccionar tilosina (por ejemplo tilosina A o su sal), un compuesto piperidinilo de la Fórmula (II), y ácido fórmico en la presencia de un disolvente no polar. En estas
10 modalidades, el compuesto piperidinilo de la Fórmula (II) corresponde en la estructura a:

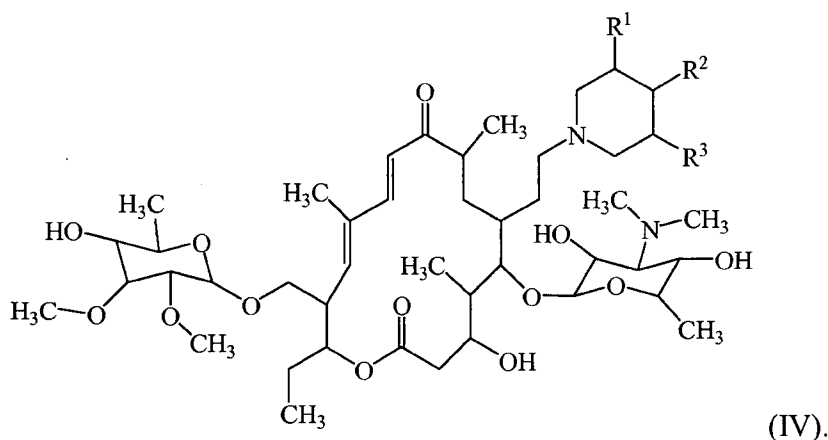


[14] En algunas modalidades, el proceso comprende hacer reaccionar un
15 compuesto 20-piperidinil-tilosina con un ácido. En estas modalidades, el compuesto 20-piperidinil-tilosina corresponde en estructura a la Fórmula (III):

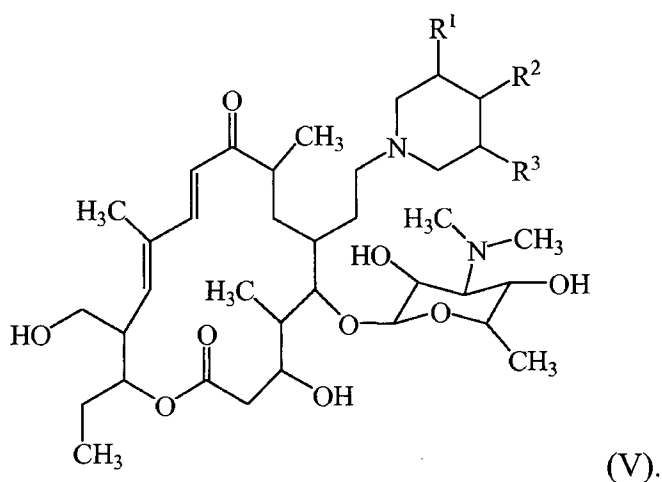


[15] En algunas modalidades, el proceso comprende hacer reaccionar un compuesto 23-O-micinosil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida con un ácido. En estas modalidades, el compuesto 23-O-micinosil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida corresponde en estructura a la Fórmula (IV):

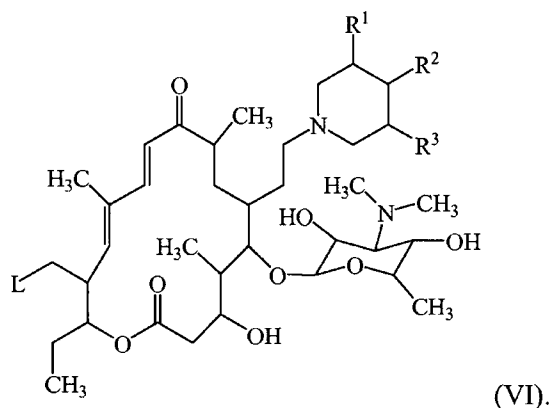
5



[16] En algunas modalidades, el proceso que comprende un compuesto 23-hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida activante con un agente de activación para formar un compuesto activado. En estas modalidades, el compuesto 23-hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida corresponde en estructura a la Fórmula (V):



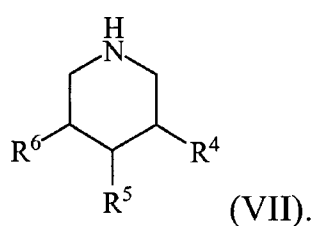
El compuesto activado (*también* referido como un “ compuesto 23-L-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida”) corresponde en estructura a la Fórmula (VI):



5 Y L es un grupo saliente.

[17] En otras modalidades, el proceso comprende hacer reaccionar un compuesto activado de la Fórmula (VI) con un compuesto piperidinilo de la Fórmula (VII). En estas modalidades, el compuesto piperidinilo de la Fórmula (VII) corresponde en la estructura a:

10



[18] En algunas modalidades, el proceso comprende una combinación de las modalidades anteriores para elaborar una macrolida de la Fórmula (I) o su sal.

15

[19] En algunas modalidades, el proceso comprende uno o más de las modalidades anteriores para elaborar, por ejemplo, una forma solvato cristalina o cocrystalina, amorfa de la macrolida de la Fórmula (I) o su sal.

[20] Esta invención también se dirige, en la parte, a un proceso para elaborar el compuesto 20- piperidinil-tilosina de la Fórmula (III) o su sal. En estas modalidades, el proceso comprende hacer reaccionar tilosina (por ejemplo tilosina A), el compuesto piperidinilo de la Fórmula (II), y ácido fórmico en la presencia de un disolvente no polar.

[21] Esta invención también se dirige, en la parte, a un proceso para elaborar el compuesto 23-O-micinosil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida de la Fórmula (IV) o su sal. En estas modalidades, el proceso comprende hacer reaccionar el compuesto 20-piperidinil- tilosina de la Fórmula (III) con HBr.

[22] Esta invención también se dirige, en la parte, a un proceso para elaborar un compuesto 23-hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida de la Fórmula (V) o su sal. En estas modalidades, el proceso comprende hacer reaccionar el compuesto 23-hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida de la Fórmula (IV) con un ácido.

[23] Esta invención también se dirige, en la parte, a un proceso para elaborar un compuesto activado de la Fórmula (VI) o su sal. En estas modalidades, el proceso comprende un compuesto activante 23-hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida de la Fórmula (V) con un agente de activación.

[24] Esta invención también se relaciona con compuestos utilizados de la Fórmula (I) (y sus sales farmacéuticamente aceptables) preparadas de acuerdo con esta invención en métodos para tratar una enfermedad, tal como pasteurelosis, enfermedad respiratoria porcina, o enfermedad respiratoria bovina.

Más específicamente, esta invención se dirige, en la parte, a un método que comprende preparar un compuesto de la Fórmula (I) (o su sal farmacéuticamente aceptable) de acuerdo con uno o más de los métodos citados anteriormente, y luego administrar una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto o sal para un animal en necesidad del tratamiento. Esta invención también se dirige, en la parte, a utilizar un compuesto de la Fórmula (I) (o su sal farmacéuticamente aceptable) preparada de acuerdo con esta invención para preparar un medicamento, particularmente un medicamento para uso en los tratamientos anteriores.

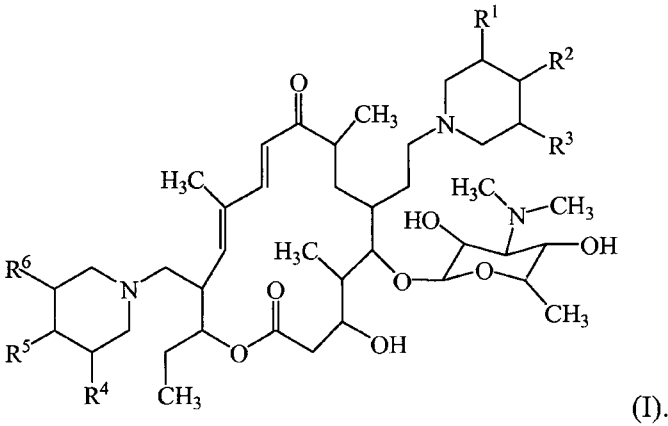
[25] Aspectos y beneficios adicionales de la invención del solicitante serán evidentes para un experto en la técnica a partir de la lectura de esta especificación.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE MODALIDADES PREFERIDAS

[26] Esta descripción detallada de modalidades preferidas está destinada solo a familiarizar a otros expertos en la técnica con la invención del la solicitante, sus principios, y su solicitud práctica de tal manera que otros expertos en la técnica puede adaptar y aplicar la invención en sus numerosas formas, como ya que ellas se pueden adecuar mejor a los requerimientos de un uso particular. Esta descripción detallada y sus ejemplos específicos, mientras se indican modalidades preferidas de esta invención, solo están destinadas para propósitos de ilustración. Esta invención, por lo tanto, no se limita a las modalidades preferidas descritas en esta especificación, y se pueden modificar variablemente.

A. Macrolidas que se pueden preparar mediante esta invención

[27] Los compuestos que se pueden preparar mediante el proceso de esta invención incluyen compuestos que corresponden en estructura a la Fórmula (I):



Aquí:

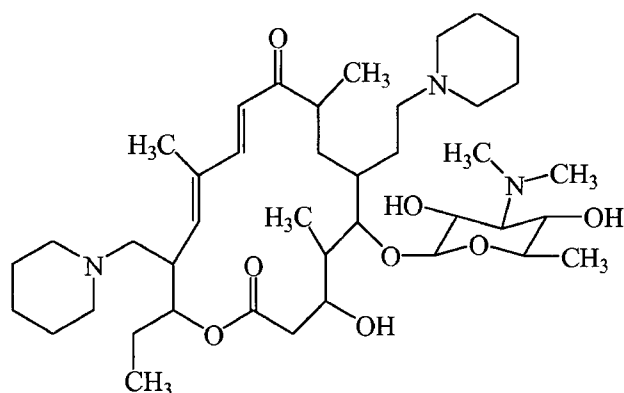
R¹ y R³ son cada uno metilo, y R² es hidrógeno; R¹ y R³ son cada uno hidrógeno, y R² es metilo; o R¹, R², y R³ son cada uno hidrógeno; y

R⁴ y R⁶ son cada uno metilo, y R⁵ es hidrógeno; R⁴ y R⁶ son cada uno hidrógeno, y R⁵ es metilo; o R⁴, R⁵, y R⁶ son cada uno hidrógeno. En algunas modalidades, los sustituyentes piperidinilo de la Fórmula (I) son idénticos, es decir

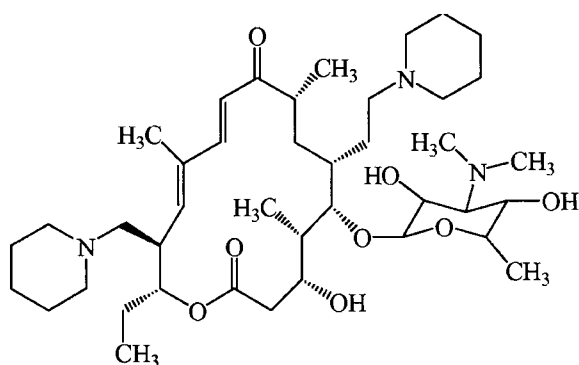


ES EL MISMO COMO

En algunas tales modalidades, por ejemplo, los sustituyentes piperidinilo son piperidina (es decir, R¹, R², R³, R⁴, R⁵, y R⁶ son cada uno hidrógeno), tal que el compuesto es 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida:

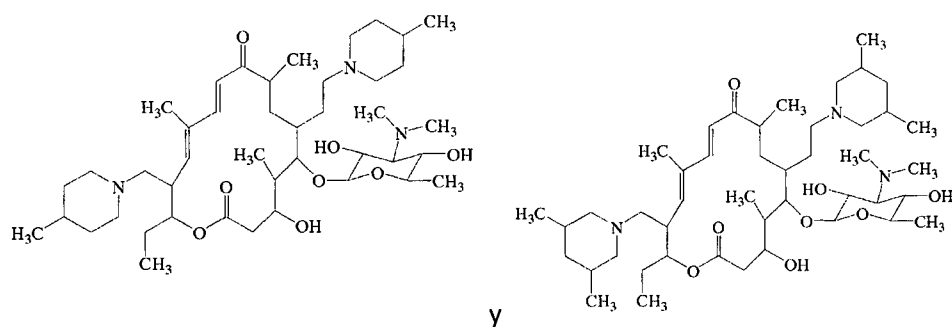


Tales compuestos incluyen, por ejemplo:



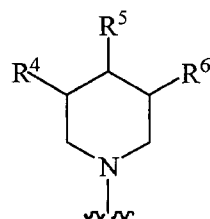
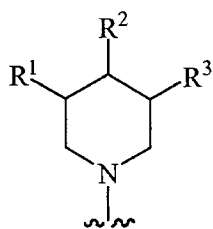
5

Otros compuestos que tienen sustituyentes piperidinilo idénticos incluyen:



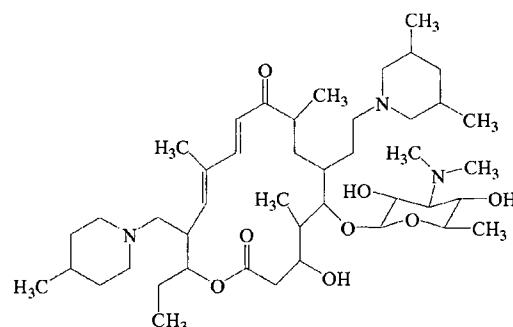
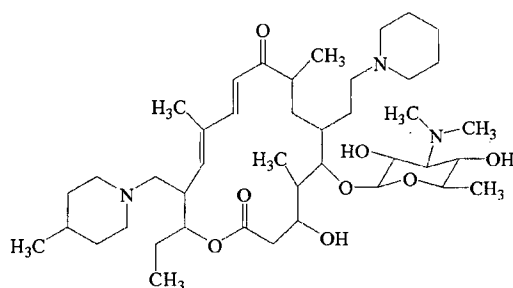
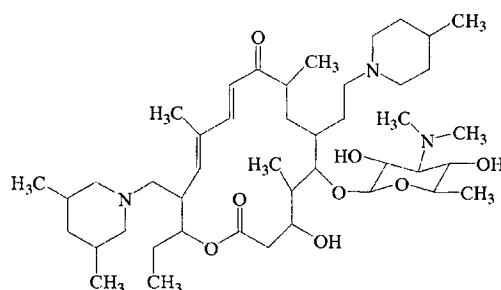
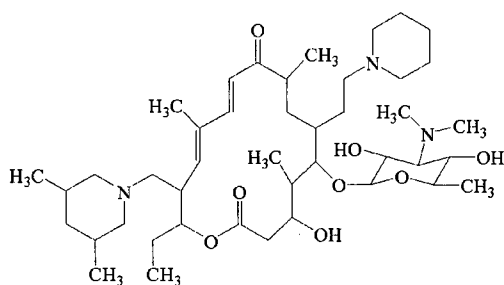
[28] En algunas modalidades, los sustituyentes piperidinilo de la Fórmula

10 (I) no son idénticos, es decir:

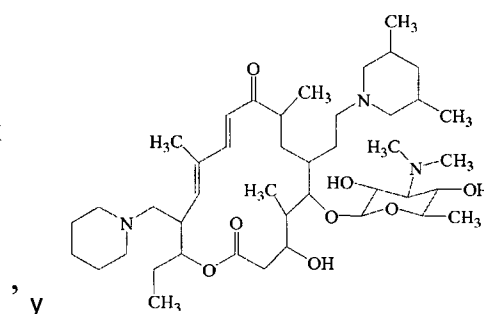
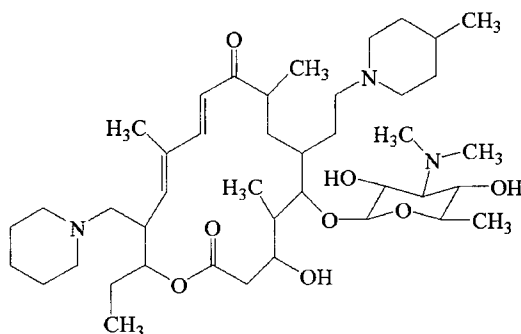


ES DIFERENTE DE

Compuestos que tienen diferentes sustituyentes piperidinilo incluyen:



5



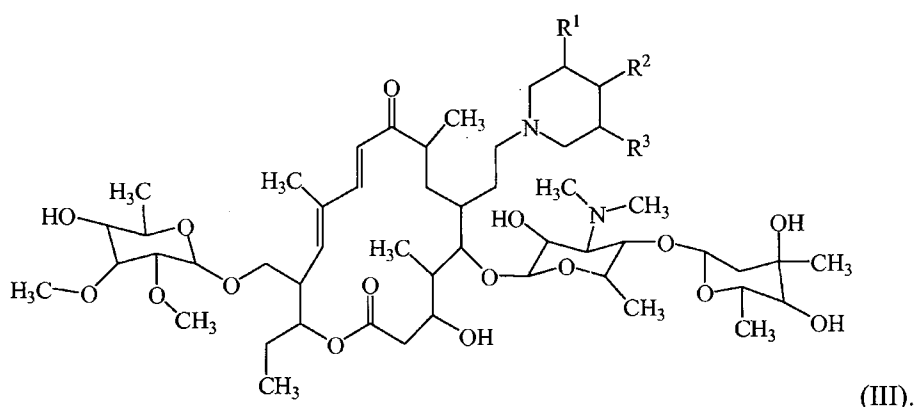
B. Síntesis de macrolida

10

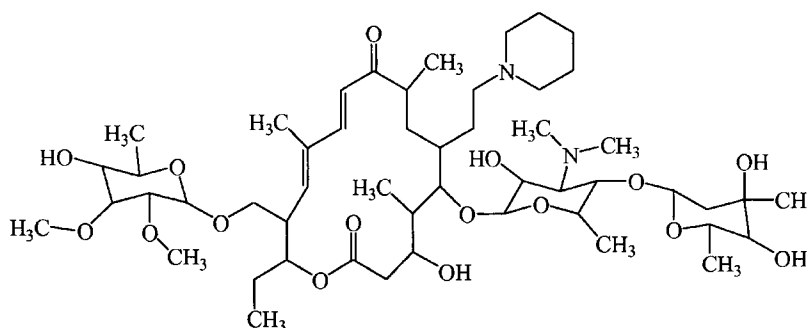
[29] Esta invención se puede utilizar para sintetizar macrolidas de materiales generalmente disponibles en la técnica.

B-I. Preparación del compuesto 20-Piperidinil-Tilosina

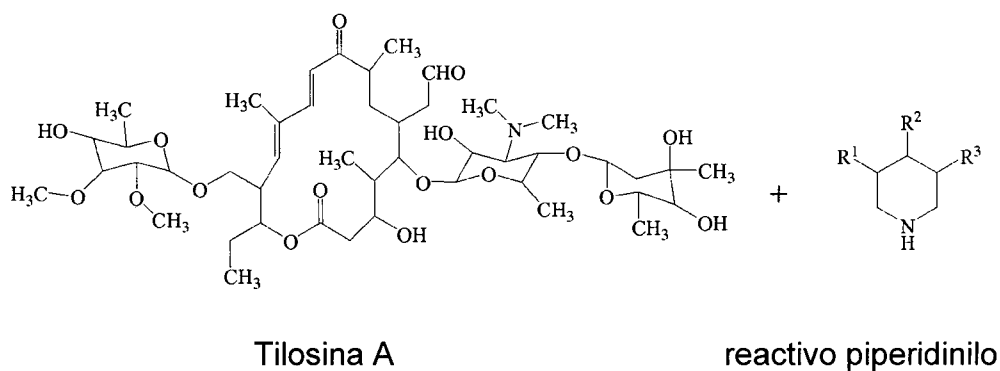
[30] En algunas modalidades, la síntesis de macrolida empieza a o
5 incluye preparar un compuesto 20-piperidinil-tilosina, y particularmente un
compuesto que corresponde en estructura a la Fórmula (III):



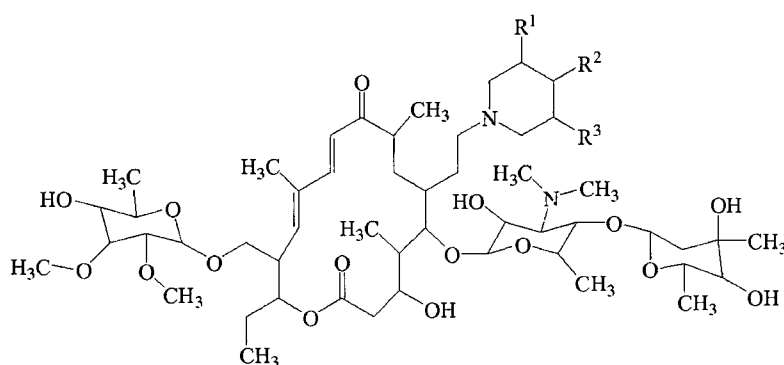
En algunas modalidades, R^1 y R^3 son cada uno metilo, y R^2 es hidrógeno; o
10 R^1 y R^3 son cada uno hidrógeno, y R^2 es metilo. En otras modalidades, R^1 , R^2 , y
 R^3 son cada uno hidrógeno, tal que el compuesto corresponde en la estructura a:



[31] El compuesto 20-piperidinil-tilosina se puede prepara a partir de
tilosina A y un compuesto piperidinilo vía una reacción de aminación reductiva
15 utilizando un agente de reducción que comprende ácido fórmico (o "HCOOH"):

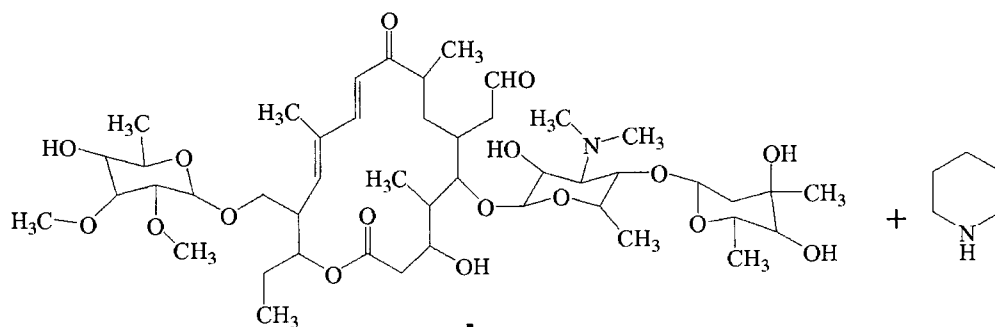


ácido fórmico

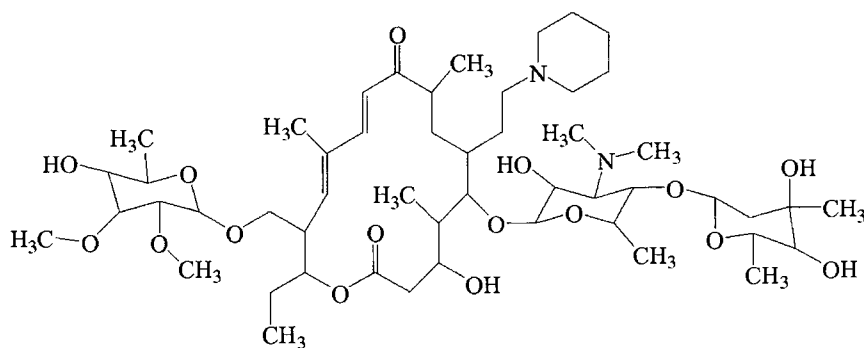


Compuesto 20-piperidinil-tilosina

En donde R^1 , R^2 , y R^3 son cada uno hidrógeno, su reacción es como sigue:



ácido fórmico



P 1 2

Tilosina A, compuestos piperidinilo, y ácido fórmico son comercialmente disponibles.

5 [32] El reactivo tilosina A puede, por ejemplo, ser tilosina A pura (o por lo menos esencialmente puro). Alternativamente, como se nota adelante en la **Sección B-7**, el reactivo tilosina A puede ser parte de una mezcla, tal como, por ejemplo, una mezcla que comprende tilosina A así como también uno o más derivados tilosina A, tales como tilosina B, tilosina C, y/o tilosina D.

10 [33] La tilosina A puede estar en la forma de su base libre, o, alternativamente, en la forma de una sal. Los derivados tilosina A de esta forma están opcionalmente en la forma de una o más sales. Esto contempla que una variedad de sales pueden ser adecuadas. En algunas modalidades, por ejemplo,
15 la sal comprende una sal fosfato. En otras modalidades, la sal comprende una sal tartrato. En todavía otras modalidades, la sal comprende una sal de citrato o sulfato. La discusión adicional se relaciona con sales que se pueden encontrar adelante en la **Sección C**.

20 [34] El disolvente puede comprender uno o más disolventes. Aunque el disolvente puede comprender uno o más disolventes polares en algunas modalidades, el disolvente preferiblemente en lugar comprende uno o más disolventes no polares. Un "disolvente no polar" es un disolvente que no ioniza suficientemente por ser eléctricamente conductor, y no puede (o por lo menos
25 esencialmente no puede) disolver compuestos polares (por ejemplo varias sales inorgánicas), pero puede disolver compuestos no polares (por ejemplo hidrocarburos y resinas). En general, el disolvente preferiblemente no es reactivo

112

con los reactivos, productos, y cualesquier otros ingredientes en la mezcla de reacción. El disolvente puede comprender, por ejemplo, cloroformo (o " CHCl_3 "); tetrahidrofurano (o "THF"); diclorometano (o " CH_2Cl_2 " o "DCM" o "cloruro de metileno"); tetracloruro de carbono (o " CCl_4 "); acetato de etilo (o " $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$ "); éter de dietilo (o " $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ "); ciclohexano (o " C_6H_{12} "); o disolventes de hidrocarburo aromáticos, tales como benceno (o " C_6H_6 "), tolueno (o " $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$ "), xileno (o " $\text{C}_6\text{H}_4(\text{CH}_3)_2$ " o "dimetilbenceno" (incluyendo 1,3-dimetilbenceno (o "m-xileno"), 1,2-dimetilbenceno (o "o-xileno"), o 1,4-dimetilbenceno (o "p-xileno")), etilbenceno, o mezclas de estos (por ejemplo mezclas de m-xileno, o-xileno, p-xileno, y/o etilbenceno). En algunas modalidades, el disolvente comprende diclorometano, cloroformo, o acetato de etilo. En otras modalidades, el disolvente comprende xileno. En todavía otras modalidades, el disolvente comprende tolueno. En algunas tales modalidades, el tolueno es particularmente preferido debido a su caso de uso en las temperaturas de reacción típicas.

15

[35] En algunas modalidades, el disolvente comprende una mezcla de disolventes. En algunas tales modalidades, por ejemplo, el disolvente comprende una mezcla de tolueno y DCM. Aquí, la proporción de tolueno/DCM puede ser, por ejemplo, de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 100:1, o de aproximadamente 5:1 a aproximadamente 8:1 (v/v). En algunas de estas modalidades, la proporción es, por ejemplo, aproximadamente 8:1 (v/v). En otros, la proporción es, por ejemplo, aproximadamente 5.3:1 (v/v).

20

[36] Para desarrollar la aminación, el reactivo tilosina A, compuesto piperidinilo, ácido fórmico (o una fuente de ácido fórmico), y el disolvente normalmente se cargan a un reactor y se mezcla. Estos ingredientes generalmente se pueden cargar al reactor en cualquier secuencia.

25

[37] El reactor puede comprender varios tipos de reactor. En algunas modalidades, por ejemplo, el reactor es un reactor de tanque de agitación. Reactores de vidrio y recubierto con vidrio son a menudo preferidos, aunque se puede utilizar cualquier composición estable cuando se expone a la mezcla de reacción. Por ejemplo, también se puede utilizar generalmente reactores de acero inoxidable.

[38] Típicamente, cantidades equimolares del reactivo tilosina A, compuesto piperidinilo, y ácido fórmico se puede utilizar. Normalmente, sin embargo, se utilizan exceso de cantidades del compuesto piperidinilo y ácido fórmico, relacionados con la cantidad molar del reactivo tilosina A.

[39] En algunas modalidades, se carga el reactor con de 1 a aproximadamente 3 equivalentes (o de 1.05 a aproximadamente 3 equivalentes) del compuesto piperidinilo. En algunas tales modalidades, se carga el reactor con por ejemplo, de 1.05 a aproximadamente 1.2 equivalentes de compuesto piperidinilo. En otras tales modalidades, se carga el reactor con aproximadamente 1.07 a aproximadamente 1.5 equivalentes de compuesto piperidinilo. Aquí, por ejemplo, se puede cargar el reactor con aproximadamente 1.3 equivalentes del compuesto piperidinilo. En algunas modalidades, se carga el reactor con el compuesto piperidinilo en dos o más cargas separadas durante el tiempo, preferiblemente con las cargas posteriores siendo menores que la primera carga. En algunas modalidades, por ejemplo, se carga el reactor con el compuesto piperidinilo en dos cargas, con la cantidad de la segunda carga que es aproximadamente 10% de la primera carga. Los solicitantes han descubierto que esto puede ser benéfico para incrementar la conversión.

[40] En algunas modalidades, se utilizan de 1 a aproximadamente 10 equivalentes (o de 1.05 a aproximadamente 10 equivalentes, de aproximadamente 2 a aproximadamente 5 equivalentes, o de aproximadamente 2.5 a aproximadamente 4.5 equivalentes) de ácido fórmico. En algunas tales modalidades, por ejemplo, se utilizan aproximadamente 4.5 equivalentes de ácido fórmico. En otras tales modalidades, se utilizan de aproximadamente 2.5 a aproximadamente 4 equivalentes de ácido fórmico. Por ejemplo, en algunas tales modalidades, se utilizan aproximadamente 3.0 equivalentes de ácido fórmico.

10

[41] Típicamente, la cantidad del disolvente es suficiente para, por ejemplo, evitar (o esencialmente evitar) que los reactivos, productos, y otros ingredientes en la mezcla de reacción se peguen al reactor, y promuevan la distribución homogénea de los reactivos. En algunas modalidades, la cantidad del disolvente es por lo menos aproximadamente 1 L por kg del reactivo tilosina A (o, en donde el reactivo tilosina A es parte de una mezcla del reactivo tilosina A y sus derivados, por kg de la mezcla de tilosina total). La cantidad del disolvente generalmente es menos de aproximadamente 40 L por kg del reactivo tilosina A (o mezcla de tilosina). En algunas modalidades, la cantidad del disolvente es de aproximadamente 2 a aproximadamente 15 L (o de aproximadamente 5 a aproximadamente 15 L, de aproximadamente 5 a aproximadamente 12 L, de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 L, o de aproximadamente 8 a aproximadamente 10 L) por kg del reactivo tilosina A (o mezcla de tilosina). Para ilustrar, en algunas tales modalidades, el disolvente comprende tolueno o una mezcla de tolueno y DCM, y la cantidad del disolvente es de aproximadamente 8 a aproximadamente 10 L por kg del reactivo tilosina A (o mezcla de tilosina). Aquí, por ejemplo, la cantidad del disolvente puede ser aproximadamente 8 L por kg del

25

reactivo tilosina A (o mezcla de tilosina).

[42] Por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) se conduce típicamente a más de aproximadamente 20° C, más de aproximadamente 25° C, o más de aproximadamente 60° C. En general, por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) se conduce a una temperatura que no es mayor del punto de ebullición del disolvente, y, más típicamente, es menor del punto de ebullición. Cuando, por ejemplo, el disolvente es tolueno, por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) se conduce típicamente en menos de aproximadamente 110° C. Ilustrar adicionalmente, cuando el disolvente es xileno, por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) se conduce normalmente en menos de aproximadamente 165° C. En general, por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) se conduce de aproximadamente 60 a aproximadamente 95° C, de aproximadamente 70 a aproximadamente 85° C, de aproximadamente 70 a aproximadamente 80° C, o de aproximadamente 75 a aproximadamente 80° C. En algunas modalidades, por ejemplo, la temperatura de reacción para por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) es aproximadamente 80° C. En otras modalidades, por ejemplo, la temperatura de reacción para por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) es aproximadamente 76° C. Aunque se pueden utilizar temperaturas menores diferentes a los rangos anteriores, tales temperaturas tienden a coincidir con proporciones de reacción más bajas. Y, aunque se pueden utilizar temperaturas mayores diferentes a los rangos anteriores, tales temperaturas tienden a coincidir con la mayor producción de subproductos indeseables.

[43] Esta reacción se puede conducir sobre un amplio rango de

presiones, incluyendo presión atmosférica, presión atmosférica menor, y presión atmosférica mayor. Esto se prefiere típicamente, sin embargo, para conducir la reacción a aproximadamente presión atmosférica. En modalidades preferidas, esta reacción se conduce bajo una atmósfera inerte (por ejemplo N_2).

5

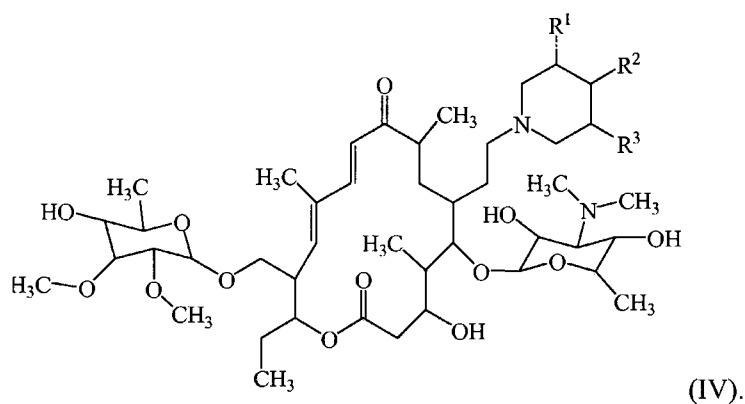
[44] El tiempo de reacción puede depender de varios factores incluyendo, por ejemplo, la temperatura de reacción, características del disolvente, cantidades relativas de los ingredientes, y la conversión deseada. En un reactor de tanda, el tiempo de reacción es generalmente por lo menos aproximadamente 1 minuto, típicamente por lo menos aproximadamente 5 minutos, y más típicamente por lo menos aproximadamente 1 hora. El tiempo de reacción es generalmente menos de aproximadamente 24 horas. En algunas modalidades, por ejemplo, el tiempo de reacción es de aproximadamente 0.5 a aproximadamente 12 horas, o de aproximadamente 1 a aproximadamente 4 horas. En algunas tales modalidades, el tiempo de reacción es aproximadamente 3.5 horas. En otras tales modalidades, el tiempo de reacción es de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 horas. En estas modalidades, el tiempo de reacción puede ser, por ejemplo, aproximadamente 2 horas. Aunque se pueden utilizar tiempos de reacción menores diferentes de estos rangos, tales tiempos de reacción tienden a coincidir con conversiones menores. y, aunque se pueden utilizar tiempos de reacción mayores, tales tiempos de reacción tienden a coincidir con producción mayor de impurezas y uso ineficiente de equipo y mano de obra.

[45] La purificación o aislamiento del producto se puede alcanzar utilizando, por ejemplo, varios métodos conocidos en la técnica. Alternativamente, el producto se puede utilizar en la siguiente etapa sin purificación adicional o aislamiento.

*B-2. Preparación del compuesto 23-O-Micinosil-20-Piperidinil-5-O-**Micaminosil-tilonolida**(Hidrólisis del sustituyente Micarosiloxi)*

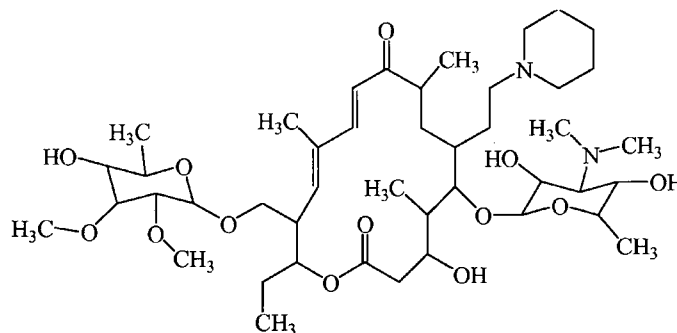
5

[46] En algunas modalidades, la síntesis de macrolida empieza a o incluye preparar un compuesto 23-O-micinosil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, y particularmente un compuesto que corresponde en estructura a la Fórmula (IV):



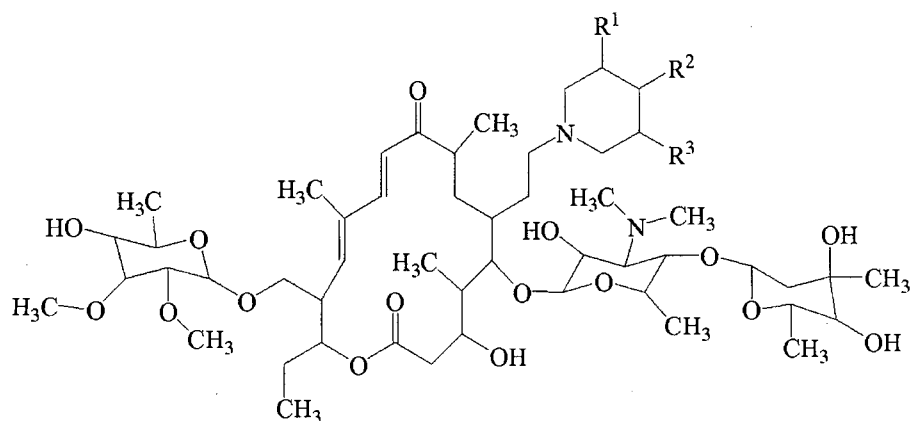
10

En algunas modalidades, R¹ y R³ son cada uno metilo, y R² es hidrógeno; o R¹ y R³ son cada uno hidrógeno, y R² es metilo. En otras modalidades, R¹, R², y R³ son cada uno hidrógeno tal que el compuesto corresponde en la estructura a:

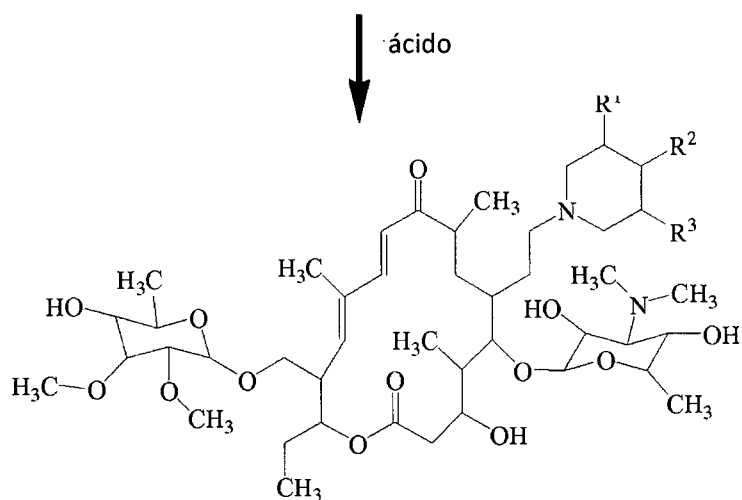


15

[47] El compuesto 23-O-micinosil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida se puede preparar vía hidrólisis ácida de un compuesto 20-piperidinil-tilosina:



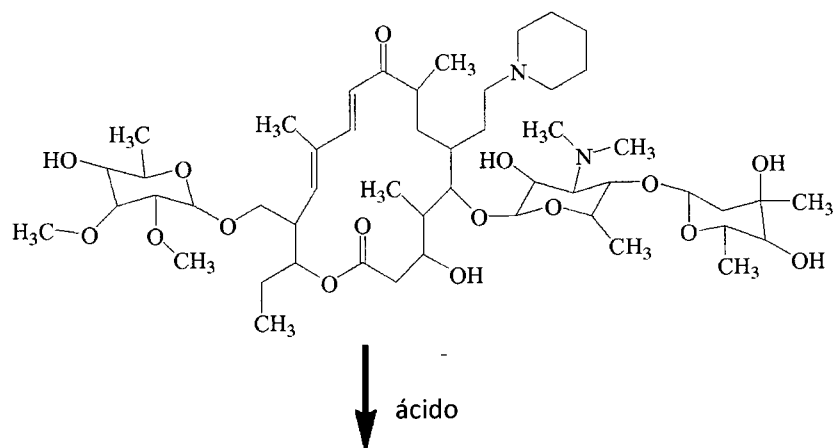
Compuesto 20-piperidinil-tilosina

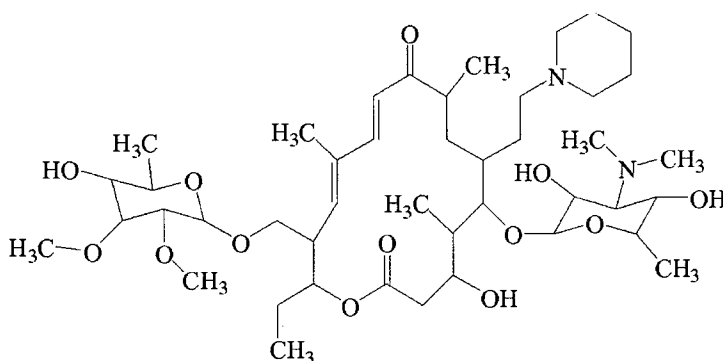


5

Compuesto 23-O-micinosil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida

Cuando R^1 , R^2 , y R^3 son cada uno hidrógeno, su reacción es como sigue:





[48] El compuesto 20-piperidinil-tilosina utilizado en la reacción anterior se puede preparar utilizando un proceso discutido anteriormente en la **Sección B-1**, preparada utilizando un proceso diferente (por ejemplo un proceso utilizando un borohidruro como un agente de reducción), u obtenido a partir de un vendedor comercial. En algunas modalidades preferidas, el compuesto 20-piperidinil-tilosina se prepara utilizando un proceso discutido anteriormente en la **Sección B-1**.

[49] El ácido puede, por ejemplo, ser un ácido mineral fuerte, tal como ácido clorhídrico (o "HCl"), ácido nítrico (o "HNO₃"), ácido fluoroborónico (o "HBF₄"), Ácido sulfúrico (o "H₂SO₄"), ácido fosfórico (o "H₃PO₄"), ácido polifosfónico (o "PPA"), o ácido bromhídrico (o "HBr"); o un ácido orgánico fuerte, tal como ácido p-toluenosulfónico o ácido trifluoroacético ("CF₃COOH"). En algunas modalidades, el ácido comprende HCl. En otras modalidades, el ácido comprende HBr. El uso de HBr tiende a coincidir con una cantidad menor de impurezas en la mezcla de producto que se relaciona con el producto obtenido utilizando, por ejemplo, HCl. En algunas modalidades, se utiliza una mezcla de ácidos (particularmente un ácido fuerte con otro ácido).

[50] En general, el ácido suficiente se mezcla con el compuesto 20-piperidinil-tilosina para hidrolizar (es decir, dividir) el sustituyente micarosiloxi para formar un grupo hidroxilo. Típicamente, la cantidad de ácido será por lo menos

aproximadamente un equivalente, con base en la cantidad de compuesto 20-piperidinil-tilosina. En general, el ácido se agrega a la mezcla de reacción en la forma de una composición concentrada. La concentración típicamente no es más de aproximadamente 50% (masa/vol), no es más de aproximadamente 48% (masa/vol), de aproximadamente 1 a aproximadamente 30% (masa/vol), o de aproximadamente 1 a aproximadamente 24% (masa/vol). En algunas modalidades, por ejemplo, el ácido es HBr, y la concentración de la solución del ácido agregada a la mezcla de reacción es aproximadamente 24% (masa/vol). En algunas modalidades, el ácido concentrado comprende una mezcla de ácidos, tal como, por ejemplo, HBr con otro ácido.

[51] Generalmente se puede cargar el reactor con los ingredientes en cualquier secuencia. El reactor puede comprender varios tipos de reactores. En algunas modalidades, por ejemplo, el reactor es un reactor de tanque de agitación. Reactores de vidrio y recubiertos con vidrio son a menudo preferidos, aunque se puede utilizar cualquier composición estable cuando se expone a la mezcla de reacción ácida.

[52] Por lo menos una porción de la hidrólisis (o la hidrólisis completa) normalmente se conduce en una temperatura que es mayor del punto de congelamiento de la mezcla, permite que la mezcla se agite, y permite a la mezcla ser homogénea. Una temperatura de por lo menos aproximadamente 10° C (o más de aproximadamente 15° C, o más de aproximadamente 25° C) es típicamente preferido. En general, la temperatura de reacción no es mayor del punto de ebullición del disolvente (por ejemplo agua), y típicamente es menor del punto de ebullición. En algunas modalidades, por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) se conduce a una temperatura que no es más de

aproximadamente 100° C (o no es más de aproximadamente 65° C). En algunas modalidades en donde el ácido es HCl o HBr, la temperatura de reacción durante por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) es de aproximadamente 20 a aproximadamente 60° C. En algunas tales modalidades, la

5 temperatura de reacción durante por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) no es más de aproximadamente 40° C. En tales casos, la temperatura de reacción durante por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) puede ser, por ejemplo, de aproximadamente 20 a aproximadamente 40° C, de aproximadamente 25 a aproximadamente 40° C, o de

10 aproximadamente 30 a aproximadamente 40° C. En otras modalidades en donde el ácido es HCl o HBr, la temperatura de reacción durante por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) es de aproximadamente 45 a aproximadamente 60° C, o de aproximadamente 50 a aproximadamente 56° C. Para ilustrar, en tales modalidades, la temperatura de reacción durante por lo

15 menos una porción de la reacción (o la reacción completa) puede ser, por ejemplo, aproximadamente 56° C. Aunque temperaturas mayores diferentes de estos rangos se pueden utilizar, tales temperaturas tienden a coincidir con producción mayor de subproductos indeseables, y, aunque temperaturas menores diferentes de estos rangos se pueden utilizar, tales temperaturas tienden a coincidir con

20 proporciones de reacción menores. Tales proporciones, sin embargo, pueden aún ser adecuadas, dado el caso de que esta hidrólisis ocurre.

[53] La mezcla de reacción se puede mantener en una temperatura que es ligeramente menor de la temperatura de reacción deseada mientras el reactor

25 se sigue cargando con ácido. En tales modalidades, la temperatura tiende a incrementar una vez se ha cargado el reactor con ácido.

[54] Esta reacción se puede conducir durante un amplio rango de presiones, incluyendo presión atmosférica, presión atmosférica menor, y presión atmosférica mayor. Típicamente se prefiere, sin embargo, para conducir la reacción a aproximadamente presión atmosférica.

5

[55] El tiempo de reacción dependerá de varios factores incluyendo, por ejemplo, la temperatura de reacción, cantidades relativas de los ingredientes, y la conversión deseada. En un reactor de tanda, el tiempo de reacción puede ser menos de un minuto, esencialmente espontánea, o espontánea. Generalmente, sin embargo, el tiempo de reacción es por lo menos aproximadamente 1 minuto, más típicamente por lo menos aproximadamente 5 minutos, y aún más típicamente por lo menos aproximadamente 15 minutos. Normalmente, el tiempo de reacción es menor de aproximadamente 3 horas. En algunas modalidades, por ejemplo, el tiempo de reacción es de aproximadamente 0.25 a aproximadamente 2 horas, de aproximadamente 0.25 a aproximadamente 1.5 horas, o de aproximadamente 0.25 a aproximadamente 1.1 horas. Aunque se puede utilizar el tiempo de reacción menor, tales tiempos de reacción pueden coincidir con conversiones menores, y, aunque se pueden utilizar tiempos de reacción mayores, tales tiempos de reacción tienden a coincidir con producción mayor de impurezas y uso ineficiente de equipo y mano de obra.

25

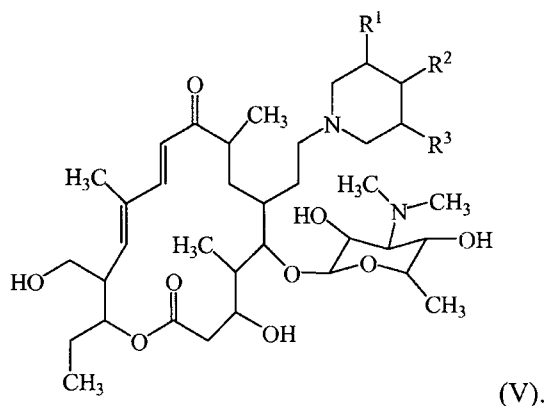
[56] Purificación o aislamiento del producto se puede alcanzar utilizando, por ejemplo, varios métodos conocidos en la técnica. Alternativamente, el producto se puede utilizar en la siguiente etapa sin purificación adicional o aislamiento.

B- 3. Preparación del compuesto 23-Hidroxi-20-Piperidinil-5-O-Micaminosil-

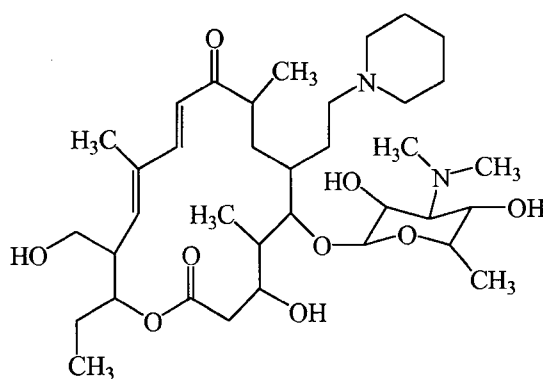
Tilonolida

(Hidrólisis del sustituyente Micinosiloxi)

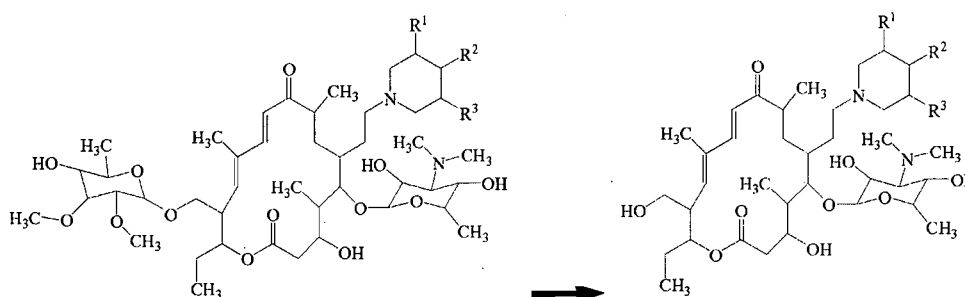
[57] En algunas modalidades, la síntesis de macrolida empieza a o incluye preparar un compuesto 23-hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, y particularmente un compuesto que corresponde en estructura a la Fórmula (V):



En algunas modalidades, R¹ y R³ son cada uno metilo, y R² es hidrógeno; o R¹ y R³ son cada uno hidrógeno, y R² es metilo. En otras modalidades, R¹, R², y R³ son cada uno hidrógeno:



[58] El compuesto 23-hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida se puede preparar por vía de una reacción de hidrólisis ácida de un compuesto 23-O-micinosil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida:

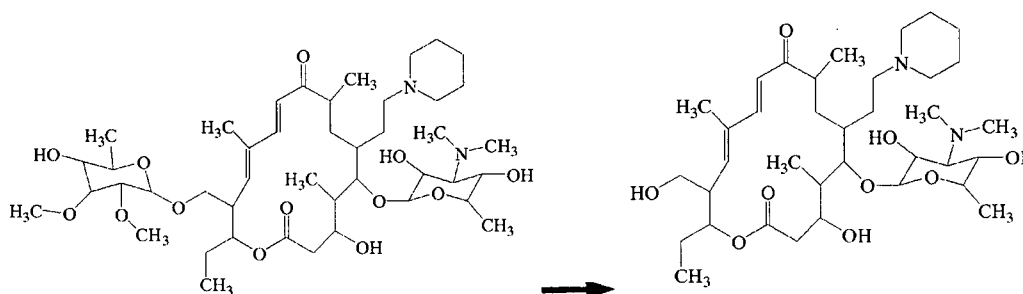


Ácido

5 Compuesto 23-O-micinosil-20-piperidinil-23-hidroxi-20-piperidinil-5-O-micaminosil Tilonodida

Compuesto 23-O-micinosil-20-piperidinil-23-hidroxi-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonodida

En donde R^1 , R^2 , y R^3 son cada uno hidrógeno, su reacción es como sigue:



ácido

10

[59] El compuesto 23-O-micinosil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida utilizado en la reacción anterior se puede preparar utilizando un proceso discutido anteriormente en la Sección B-2, preparado utilizando un proceso diferente, u
15 obtenido a partir de un vendedor comercial. En algunas modalidades preferidas, el compuesto 23-O-micinosil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida se prepara utilizando un proceso discutido anteriormente en la **Sección B-2**.

[60] El ácido puede, por ejemplo, ser un ácido mineral fuerte, tal como
20 ácido clorhídrico, ácido nítrico, ácido fluoroborónico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido polifosfónico, o ácido bromhídrico; o un ácido orgánico fuerte, tal como ácido p-toluenosulfónico o ácido trifluoroacético. En algunas modalidades, el ácido comprende HCl. En algunas modalidades preferidas, el ácido comprende

HBr. Con la hidrólisis discutido anteriormente en la **Sección B-2**, esta preferencia proviene de la tendencia de hacer coincidir el HBr con una cantidad menor de impurezas en la mezcla de producto con relación a, por ejemplo, HCl. En algunas modalidades, se utiliza una mezcla de ácidos (particularmente una mezcla de un

5 ácido fuerte con otro ácido).

[61] En modalidades en donde ocurre la hidrólisis micinosiloxi después de la hidrólisis de micarosiloxi ácida discutida anteriormente en la Sección B-2, el ácidos utilizado en las reacciones de hidrólisis de micinosiloxi y micarosiloxi

10 pueden ser diferentes, aunque generalmente es más preferida para los ácidos para ser los mismos. En algunas modalidades, por ejemplo, HCl se utiliza en ambas reacciones. En otras modalidades, HBr se utiliza en ambas reacciones.

[62] En general, suficiente ácido se mezcla con el compuesto 23-hidroxil-

15 20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida para hidrolizar el sustituyente micinosiloxi para formar un grupo hidroxilo. Típicamente, la cantidad de ácido será más de aproximadamente un equivalente, con base en la cantidad molar del compuesto 23-O-micinosil-20-piperidinil-5-O- micaminosil-tilonolida. En general, el ácido se agrega a la mezcla de reacción en la forma de una composición concentrada. La

20 concentración típicamente no es más de aproximadamente 50% (masa/vol), no es más de aproximadamente 48% (masa/vol), de aproximadamente 1 a aproximadamente 30% (masa/vol), o de aproximadamente 1 a aproximadamente 24% (masa/vol). En algunas modalidades, por ejemplo, el ácido es HBr, y la concentración de la solución ácida que se agrega a la mezcla de reacción es

25 aproximadamente 24% (masa/vol). En algunas modalidades, el ácido concentrado comprende una mezcla de ácidos, tal como, por ejemplo, HBr con otro ácido.

[63] Los ingredientes se pueden generalmente cargar al reactor en cualquier secuencia. El reactor puede comprender varios tipos de reactores. En algunas modalidades, por ejemplo, el reactor es un reactor de tanque de agitación. Se prefieren reactores de vidrio y recubiertos con vidrio a menudo, aunque se puede utilizar cualquier composición estable cuando se expone a la mezcla de reacción ácida.

[64] La mezcla normalmente se mantiene en una temperatura que es mayor del punto de congelamiento de la mezcla, permite que la mezcla se agite, y permite que la mezcla sea homogénea. La temperatura de reacción durante por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) preferiblemente no es mayor del punto de ebullición del disolvente (por ejemplo agua), y típicamente es menor del punto de ebullición. En general, por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) se conduce a una temperatura de por lo menos aproximadamente 10° C, más de aproximadamente 25° C, o por lo menos aproximadamente 48° C. La temperatura de reacción durante por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) típicamente no es más de aproximadamente 100° C, o no es más de aproximadamente 65° C. En algunas modalidades, por ejemplo, la temperatura de reacción durante por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) es de aproximadamente 10 a aproximadamente 100° C. En algunas modalidades cuando el ácido es HCl o HBr, la temperatura de reacción durante por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) preferiblemente es de aproximadamente 48 a aproximadamente 60° C. En algunas tales modalidades, por ejemplo, la temperatura durante por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) es de aproximadamente 55 a aproximadamente 60° C. En otras tales modalidades, la temperatura durante por lo menos una porción de la reacción (o la

128

reacción completa) es de aproximadamente 51 a aproximadamente 57° C (por ejemplo aproximadamente 54° C). En todavía otras tales modalidades, la temperatura durante por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) es de aproximadamente 50 a aproximadamente 56° C. Aunque se pueden utilizar temperaturas menores diferentes de estos rangos, tales temperaturas tienden a coincidir con proporciones de reacción más lentas. Y, aunque se puede utilizar temperaturas mayores diferentes de estos rangos, tales temperaturas tienden a coincidir con producción mayor de subproductos indeseables.

10

[65] Como con la hidrólisis de micarosiloxi discutida anteriormente en la **Sección B-2**, la mezcla de reacción de hidrólisis de micarosiloxi se puede mantener en una temperatura que es ligeramente menor de la temperatura de reacción deseada mientras por lo menos una porción del ácido (o todo el ácido) se sigue cargando al reactor.

15

[66] Esta reacción se puede conducir durante un amplio rango de presiones, incluyendo presión atmosférica, presión atmosférica menor, y presión atmosférica mayor. Esto típicamente se prefiere, sin embargo, para conducir la reacción a aproximadamente presión atmosférica.

20

[67] El tiempo de reacción depende de varios factores incluyendo, por ejemplo, la temperatura de reacción, cantidades relativas de los ingredientes, y la conversión deseada. En un reactor de tanda, el tiempo de reacción es generalmente por lo menos aproximadamente 1 minuto, y más típicamente por lo menos aproximadamente 15 minutos. Típicamente, el tiempo de reacción es menor de aproximadamente 7 horas. En algunas modalidades, por ejemplo, el

25

tiempo de reacción es de aproximadamente 0.5 a aproximadamente 7 horas. En algunas tales modalidades, por ejemplo, el tiempo de reacción es de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 horas, o de aproximadamente 3 a aproximadamente 5 horas. Aunque se pueden utilizar tiempos de reacción menores diferentes de estos rangos, tales tiempos de reacción tienden a coincidir con conversiones menores. Y, aunque se pueden utilizar tiempos de reacción mayores, tales tiempos de reacción tienden a coincidir con producción mayor de impurezas y uso ineficiente de equipo y mano de obra.

10 [68] Cuando ocurre la hidrólisis de micinosiloxi después de la hidrólisis de micarosiloxi discutida anteriormente en la **Sección B-2**, las dos reacciones (es decir, aquellas descritas anteriormente en la **Sección B-2** y esta **Sección B-3**) se puede llevar a cabo como dos etapas discretas o como una única reacción. Cuando las reacciones se llevan a cabo como una única reacción, la mezcla de
15 reacción se puede mantener en la misma temperatura o cambiar (típicamente incrementar) durante el tiempo. Si la mezcla de reacción se mantiene en la misma temperatura, la mezcla normalmente se mantiene en una temperatura de por lo menos aproximadamente 10° C, típicamente más de aproximadamente 25° C, más típicamente por lo menos aproximadamente 30° C, y todavía más típicamente por
20 lo menos aproximadamente 45° C. En algunas modalidades, la temperatura se mantiene en de aproximadamente 10 a aproximadamente 100° C. En algunas tales modalidades, por ejemplo, la temperatura es de aproximadamente 48 a aproximadamente 70° C. En otras tales modalidades, por ejemplo, la temperatura es de aproximadamente 50 a aproximadamente 56° C. En otras tales
25 modalidades, por ejemplo, la temperatura es de aproximadamente 55 a aproximadamente 60° C. En todavía otras tales modalidades, la temperatura es de aproximadamente 65 a aproximadamente 70° C. Si la temperatura de la mezcla se

incrementa durante el tiempo, la temperatura de la mezcla en el inicio de la hidrólisis normalmente que es por lo menos aproximadamente 15° C, o por lo menos aproximadamente 25° C. como el progreso de la reacción de la hidrólisis de micarosiloxi a la hidrólisis de micinosiloxi, la temperatura preferiblemente se incrementa a por lo menos aproximadamente 30° C, por lo menos aproximadamente 45° C, o de aproximadamente 48 a aproximadamente 70° C. En algunas tales modalidades, la temperatura incrementada es de aproximadamente 50 a aproximadamente 56° C. En otras tales modalidades, la temperatura incrementada es de aproximadamente 55 a aproximadamente 60° C. En todavía otras tales modalidades, la temperatura incrementada es de aproximadamente 65 a aproximadamente 70° C. En algunas modalidades, la mezcla de reacción se mantiene en una temperatura que es ligeramente menor de la temperatura de reacción deseada mientras se sigue cargando el reactor con ácido. En aquellas modalidades, la temperatura tiende a incrementar una vez se ha cargado el reactor con ácido.

[69] El tiempo de reacción total cuando las dos reacciones de hidrólisis se combinan depende de varios factores incluyendo, por ejemplo, la temperatura de reacción, cantidades relativas de los ingredientes, y la conversión deseada. Generalmente, sin embargo, el tiempo de reacción para las reacciones de hidrólisis combinadas en un reactor de tanda es por lo menos aproximadamente 4 horas. En algunas modalidades, el tiempo de reacción combinado es de aproximadamente 4 a aproximadamente 6 horas. En algunas tales modalidades, por ejemplo, el tiempo de reacción combinado es aproximadamente 4 horas. Tal un tiempo de reacción puede ser particularmente adecuado en donde, por ejemplo, la temperatura de reacción es de aproximadamente 65 a aproximadamente 70° C. En otras modalidades, el tiempo de reacción es

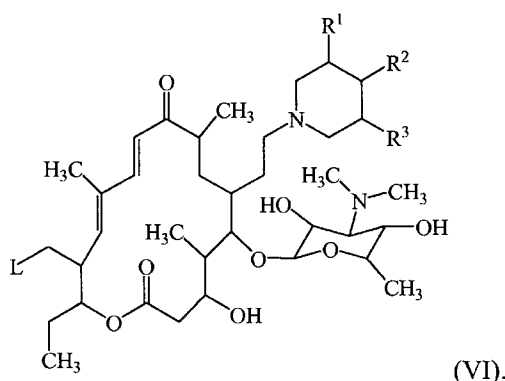
aproximadamente 5 horas. Tal un tiempo de reacción puede ser particularmente adecuado en donde, por ejemplo, la temperatura de reacción es de aproximadamente 55 a aproximadamente 60° C.

5 [70] La purificación o aislamiento del producto se puede alcanzar utilizando, por ejemplo, varios métodos conocidos en la técnica. Alternativamente, el producto se puede utilizar en la siguiente etapa sin purificación adicional o aislamiento.

10

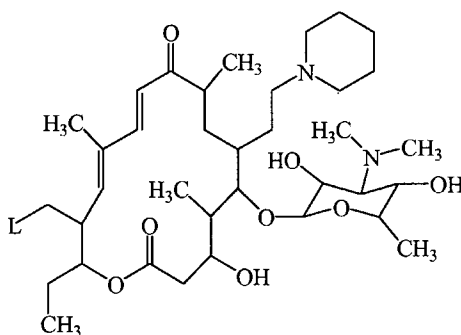
B-4. Preparación del compuesto activado

[71] En algunas modalidades, la síntesis de macrolida empieza a o incluye preparar un compuesto activado, y particularmente un compuesto que corresponde en estructura a la Fórmula (VI):

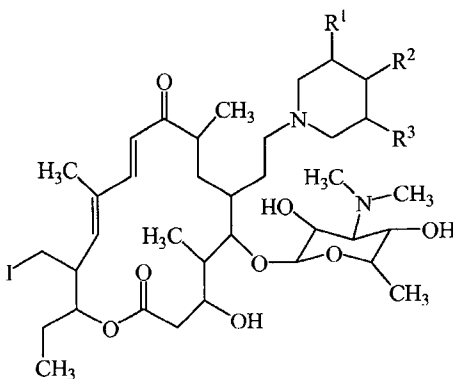


15

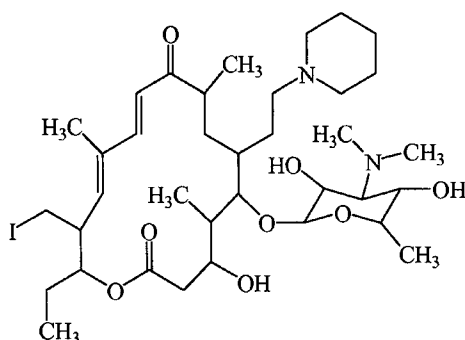
[72] En algunas modalidades, R¹ y R³ son cada uno metilo, y R² es hidrógeno; o R¹ y R³ son cada uno hidrógeno, y R² es metilo. En otras modalidades, R¹, R², y R³ son cada uno hidrógeno, tal que el compuesto
20 corresponde en la estructura a:



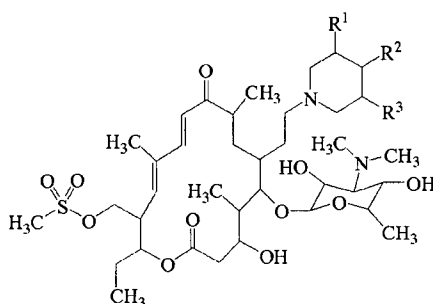
[73] L es un grupo saliente. En general, el grupo saliente es un grupo que se puede reemplazar con un grupo piperidinilo (normalmente vía desplazamiento nucleófilo) utilizando piperidina en una reacción de aminación, tal como la reacción de aminación discutida adelante en la Sección B-5. En algunas modalidades, por ejemplo, L es yodo (-I), bromo (-Br), alquilosulfonato, y arilsulfonato. El alquilosulfonato y arilsulfonato son opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste de halo, alquilo, y haloalquilo. En algunas tales modalidades, por ejemplo, L es yodo, bromo, metilsulfonato (o “-OS(O)₂CH₃” o “mesilato”), trifluorometilsulfonato (o “-OS(O)₂CF₃” o “triflato”), o 4-metilfenilsulfonato (o p-toluenosulfonato” o “tosilato”). En algunas modalidades, L es yodo, y el compuesto activado corresponde en la estructura a:



o, cuando R¹, R², y R³ son cada uno hidrógeno, corresponde en la estructura a:

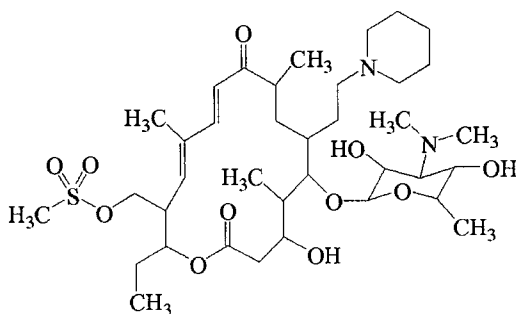


En algunas modalidades, L es mesilato, y el compuesto activado corresponde en la estructura a:



5

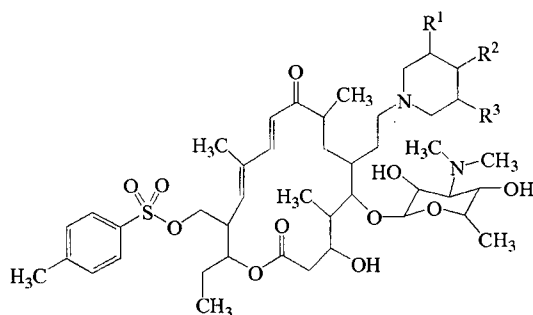
o, cuando R¹, R², y R³ cada uno son hidrógeno, corresponde en la estructura a:



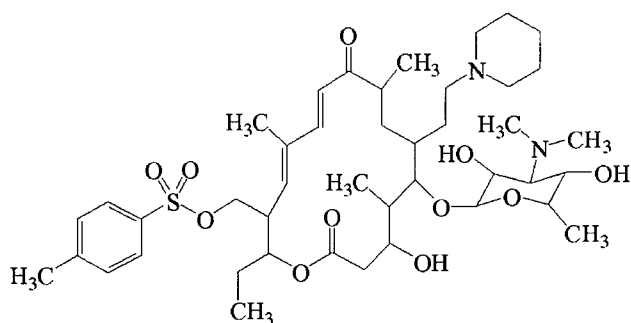
10

En algunas modalidades, L es tosilato, y el compuesto activado corresponde en la estructura a:

133

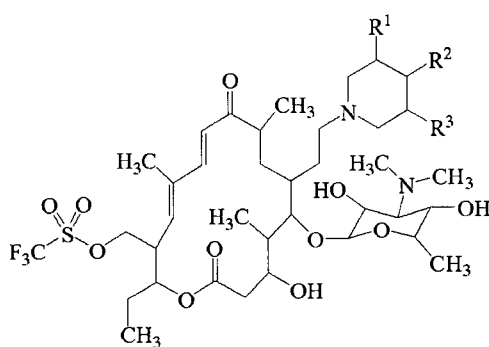


o, cuando R¹, R², y R³ cada uno son hidrógeno, corresponde en la estructura a:



5

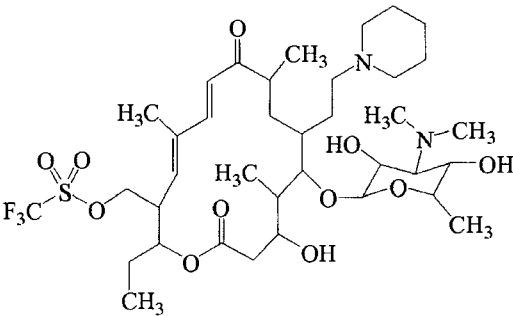
En algunas modalidades, L es triflato, y el compuesto activado corresponde en la estructura a:



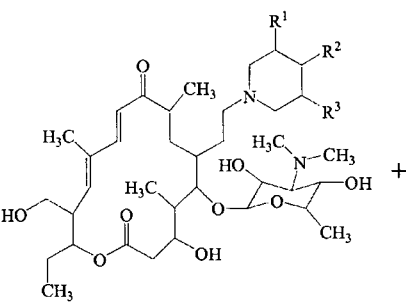
10

o, cuando R¹, R², y R³ cada uno son hidrógeno, corresponde en la estructura a:

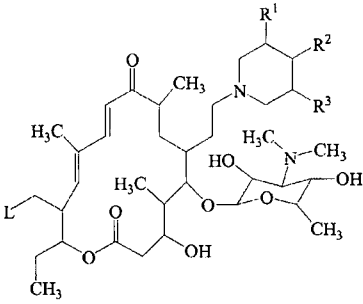
229



[74] El compuesto activado se puede preparar por vía de una reacción de activación de un compuesto 23-hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida y un agente de activación (es decir, un compuesto que comprende un grupo de retiro de electrón):



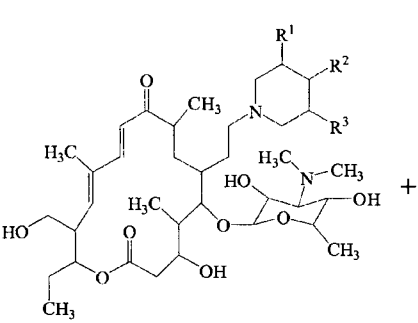
AGENTE
ACTIVANTE



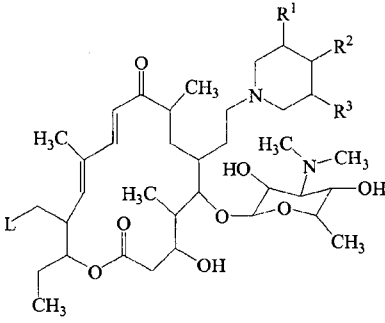
Compuesto 23-hidroxil-20-piperidinil-
5-O-micaminosil-tilonolida

compuesto activado

En donde R¹, R², y R³ son cada uno hidrógeno, su reacción es como sigue:



AGENTE
ACTIVANTE

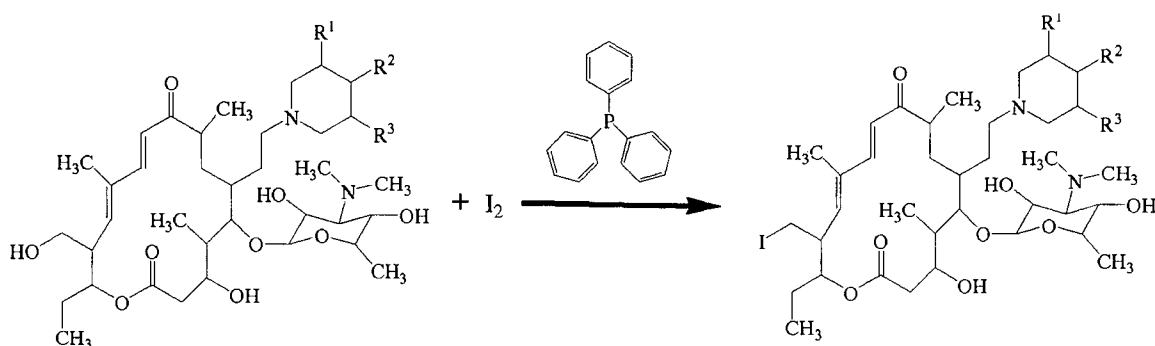


[75] El compuesto 23-hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida utilizado en la reacción anterior se puede preparar utilizando un proceso discutido

anteriormente en la **Sección B- 3**, preparado utilizando un proceso diferente, u obtenido a partir de un vendedor comercial. En algunas modalidades preferidas, el compuesto 23-hidroxi-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida se prepara utilizando un proceso discutido anteriormente en la **Sección B-3**.

5

[76] En algunas modalidades, L es yodo, y el agente de activación se forma al mezclar I_2 y trifenilfosfina:



10

[77] Típicamente, esta reacción se conduce en la presencia de uno o más disolventes. En general, el disolvente no es reactivo con los reactivos, productos, y cualesquier otros ingredientes en la mezcla de reacción (aunque, como se nota adelante, el disolvente puede, por ejemplo, actuar como una base de ayuda). El disolvente puede ser, por ejemplo, uno o más de diclorometano ("DCM"), acetona, acetonitrilo ("ACN"), *tert*-butil metil éter (o "tBME"), tolueno, y piridina. En algunas modalidades, por ejemplo, el disolvente comprende tetrahidrofurano ("THF"). En otras modalidades, el disolvente comprende piridina, que también puede actuar como una base de ayuda. En todavía otras modalidades, el disolvente comprende diclorometano. En algunas tales modalidades, por ejemplo, el disolvente comprende diclorometano y tolueno. En algunas modalidades, la proporción de diclorometano a tolueno es, por ejemplo, por lo menos aproximadamente 1:1, de aproximadamente 3:1 a aproximadamente 10: 1, o de aproximadamente 3: 1 a aproximadamente 5:1. En algunas modalidades, por lo menos una porción del

20

disolvente comprende el disolvente de una etapa de proceso utilizada durante la preparación y/o purificación del compuesto 23-hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

5 [78] En general, la cantidad del disolvente es suficiente para, por ejemplo, prevenir (o esencialmente prevenir) que los reactivos, productos, y otros ingredientes en la mezcla de reacción se peguen al reactor, disolver los reactivos (particularmente el compuesto 23-hidroxil-20- piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida), y promover la distribución homogénea de los reactivos. La cantidad del
10 disolvente típicamente es por lo menos aproximadamente 1 L por kilogramo del compuesto 23-hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. La cantidad del disolvente típicamente no es más de aproximadamente 100 L por kilogramo del compuesto 23-hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. En algunas modalidades, la cantidad del disolvente es de aproximadamente 5 a
15 aproximadamente 20 L (o de aproximadamente 5 a aproximadamente 15 L, o de aproximadamente 10 a aproximadamente 12 L) por kilogramo del compuesto 23-hidroxil-20-piperidinil-5-O- micaminosil-tilonolida. Para ilustrar, en algunas modalidades, la cantidad del disolvente que es aproximadamente 10 L de DCM por kilogramo. En otras modalidades, la cantidad del disolvente es
20 aproximadamente 12 L de DCM por kilogramo. En todavía otras modalidades, el disolvente es una mezcla de DCM y tolueno (aproximadamente 4:1 vol/vol), y la cantidad del disolvente es de aproximadamente 10 L por kilogramo.

[79] Como se indicó anteriormente, esta reacción se puede conducir en la
25 presencia de una base (o "base de ayuda"). La base puede ser una base única, o una combinación de bases. Esta base puede comprender, por ejemplo, trietilamina, piridina, imidazol, carbonato de potasio, y/o 4-dimetilaminopiridina (o

13f

"DMAP"). La presencia de la base puede incrementar la proporción de reacción. En algunas modalidades, la base comprende piridina. En algunas tales modalidades, por ejemplo, el agente de activación comprende I_2 y trifenilfosfina. En otras modalidades, la base comprende imidazol. En otras modalidades, la base comprende una combinación de carbonato de potasio y 4-dimetilaminopiridina. En algunas tales modalidades, por ejemplo, el agente de activación comprende cloruro de p-toluenosulfonilo. En algunas modalidades, la base de ayuda se adhiere a un soporte sólido (por ejemplo una resina).

10 [80] Cuando se utiliza una base, la cantidad molar de la base es típicamente por lo menos equivalente a la cantidad molar del compuesto 23-hidroxi-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. En algunas modalidades, la cantidad de la base es por lo menos 1.05 equivalentes. Por ejemplo, en algunas modalidades, la cantidad molar de la base es de aproximadamente 1.1 a

15 aproximadamente 10 equivalentes, de aproximadamente 1.1 a aproximadamente 5 equivalentes, o de aproximadamente 1.1 a aproximadamente 3 equivalentes. En algunas tales modalidades, la cantidad molar de base es de aproximadamente 1.1 a aproximadamente 1.4 equivalentes (por ejemplo aproximadamente 1.15 o aproximadamente 1.3 equivalentes). En otras tales modalidades, la cantidad molar

20 de la base es aproximadamente 2.8 equivalentes. Cuando se utiliza una combinación de bases, la cantidad molar total de base preferiblemente cabe dentro de los rangos descritos anteriormente. Por ejemplo, cuando la fuente del agente de activación comprende cloruro de p-toluenosulfonilo, un ejemplo de una cantidad contemplada de base es aproximadamente 1.5 equivalentes de

25 carbonato de potasio y aproximadamente 1.0 equivalentes de 4-dimetilaminopiridina, con base en la cantidad del compuesto 23-hidroxi-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

[81] Cuando la fuente del agente de activación es I_2 y trifenilfosfina, el I_2 , trifenilfosfina, y base (si está presente) se combinan primero típicamente en la presencia del disolvente para formar el agente de activación antes que ellos se combinan con el compuesto 23-hidroxil-20- piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. El reactor en el cual el agente de activación se forma puede ser el mismo reactor en el que el agente de activación se combina con el compuesto 23-hidroxil-20- piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. Alternativamente, el agente de activación se puede formar en un reactor diferente, y luego cargar al reactor al cual el compuesto 23-hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida se carga. El I_2 se puede agregar en una o más dosis para la trifenilfosfina o viceversa. En algunas modalidades, el I_2 se agrega a la trifenilfosfina en dos o más porciones (por ejemplo 5 porciones) o viceversa. Las porciones pueden ser cantidades iguales o diferentes. Generalmente, la combinación del I_2 y trifenilfosfina toma lugar en la presencia de un disolvente, que puede, por ejemplo, comprender los disolventes que se utilizan en la reacción de sustitución. Si una base (por ejemplo piridina) está presente, típicamente se combina con la trifenilfosfina antes que se agregue I_2 . La mezcla preferiblemente se mantiene en de aproximadamente 15 a aproximadamente 35° C (o de aproximadamente 20 a aproximadamente 30° C, por ejemplo, aproximadamente 25° C) durante la adición de I_2 a la trifenilfosfina, y luego se mantiene en una temperatura de aproximadamente 15 a aproximadamente 35° C (o de aproximadamente 20 a aproximadamente 30° C, por ejemplo, aproximadamente 25° C) después de la adición durante por lo menos aproximadamente un minuto (por ejemplo aproximadamente 2 minutos), o durante por lo menos aproximadamente 5 minutos, de aproximadamente 5 a aproximadamente 60 minutos, o de aproximadamente 30 a aproximadamente 60 minutos (por ejemplo aproximadamente 40 minutos). Después de esto, la

temperatura preferiblemente se ajusta a una temperatura que es aproximadamente igual a la temperatura en la cual la reacción de sustitución se inicia.

5 [82] Para desarrollar la reacción de sustitución, cantidades equimolares del compuesto 3-hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida y el agente de activación generalmente se puede utilizar. Normalmente, sin embargo, un exceso del agente de activación se utiliza, y típicamente por lo menos 1.05 equivalentes se utilizan, con base en la cantidad molar del compuesto 23-hidroxil-20-
10 5 -O-micaminosil-tilonolida.

[83] En algunas modalidades cuando el agente de activación se forma de I_2 y trifenilfosfina, las cantidades molares de I_2 y trifenilfosfina son cada una por lo menos 1.05 equivalentes, con base en la cantidad molar del compuesto de 23-
15 hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. Por ejemplo, en algunas tales modalidades, las cantidades molares de I_2 y trifenilfosfina son cada una de 1.05 a aproximadamente 10 equivalentes, de 1.05 a aproximadamente 5 equivalentes, o de 1.05 a aproximadamente 3 equivalentes. Aunque los equivalentes de cada uno de I_2 y trifenilfosfina pueden ser los mismos, los equivalentes de trifenilfosfina
20 típicamente exceden los equivalentes de I_2 . Para ilustrar, cantidades molares adecuadas de I_2 y trifenilfosfina pueden ser aproximadamente 2.5 y 2.6 equivalentes, respectivamente, con base en la cantidad molar del compuesto de 23-hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. En otras modalidades, cantidades molares adecuadas de I_2 y trifenilfosfina son aproximadamente 1.9 y
25 2.0 equivalentes, respectivamente, con base en la cantidad molar del compuesto de 23-hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. En todavía otras modalidades, una cantidad molar adecuada de I_2 es de 1.05 a aproximadamente

1.2 equivalentes, con base en la cantidad molar del compuesto de 23-hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida; y una cantidad adecuada de trifenilfosfina es de aproximadamente 1.09 a aproximadamente 1.25 equivalentes, con base en la cantidad molar del compuesto de 23-hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. Por ejemplo, cantidades molares adecuadas de I_2 y trifenilfosfina pueden ser aproximadamente 1.06 y aproximadamente 1.13 equivalentes, respectivamente, con base en la cantidad molar del compuesto de 23-hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. Ejemplificando adicionalmente, cantidades molares adecuadas de I_2 y trifenilfosfina pueden ser alternativamente aproximadamente 1.2 y aproximadamente 1.25 equivalentes, respectivamente, con base en la cantidad molar del compuesto de 23-hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

[84] En algunas modalidades cuando el agente de activación es cloruro P-toluenosulfonilo, la cantidad molar de cloruro de p-toluenosulfonilo es de aproximadamente 1.1 a aproximadamente 10 equivalentes, de aproximadamente 1.2 a aproximadamente 5 equivalentes, o de aproximadamente 1.2 a aproximadamente 3 equivalentes, con base en la cantidad molar del compuesto de 23-hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. Una cantidad molar adecuada de cloruro p-toluenosulfonilo puede ser, por ejemplo, 1.2 equivalentes.

[85] La reacción de sustitución se puede conducir para un amplio rango de presiones, incluyendo presión atmosférica, presión atmosférica menor, y presión atmosférica mayor. Esto típicamente se prefiere, sin embargo, para conducir la reacción a aproximadamente presión atmosférica.

[86] La temperatura de reacción para por lo menos una porción de la

reacción de sustitución (o la reacción de sustitución completa) típicamente es mayor del punto de congelamiento del disolvente. En general, la temperatura de reacción durante por lo menos una porción de la sustitución (o la sustitución completa) no es mayor del punto de ebullición del disolvente, y típicamente es menor del punto de ebullición. En algunas modalidades, por ejemplo, el disolvente es diclorometano, y por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) se conduce a una temperatura que no es más de aproximadamente 45° C. En algunas modalidades, por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) se conduce a una temperatura que no es más de aproximadamente 32° C, o no es más de aproximadamente 25° C. En algunas tales modalidades, por ejemplo, por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) se conduce de aproximadamente -10° C a aproximadamente 25° C. Por ejemplo, en algunas modalidades, por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) se conduce de aproximadamente cero a aproximadamente 20° C, o de aproximadamente 12 a aproximadamente 18° C (por ejemplo aproximadamente 13° C). En otras modalidades, por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) se conduce de aproximadamente -10° C a aproximadamente 45° C, o de aproximadamente 25 a aproximadamente 45° C. En todavía otras modalidades, por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) se conduce de aproximadamente -10 a aproximadamente 0° C, o de aproximadamente -6 a aproximadamente -5° C. Aunque temperaturas menores diferentes de estos rangos se pueden utilizar, tales temperaturas tienden a coincidir con proporciones de reacción más lentas. y, aunque se pueden utilizar temperaturas mayores diferentes de estos rangos, tales temperaturas tienden a coincidir con producción mayor de subproductos indeseables. El uso de algunas fuentes del agente de activación (por ejemplo cloruro de toluenosulfonilo), sin embargo, puede permitir para temperaturas mayores a ser utilizadas (por ejemplo

de aproximadamente 25 a aproximadamente 45° C). Cuando el agente de activación es yodo, esto típicamente se prefiere para conducir la reacción de sustitución dentro de un rango de temperatura que no produce un nivel inaceptable de impurezas que resultan de di-yodinación del compuesto 23-hidroxi-
5 20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

[87] El tiempo de reacción depende de varios factores incluyendo, por ejemplo, la temperatura de reacción, características del disolvente, cantidades relativas de los ingredientes, y la conversión deseada. En un reactor de tanda, el
10 tiempo de reacción total es típicamente por lo menos aproximadamente 1 minuto, y más típicamente por lo menos aproximadamente 45 minutos. En general, el tiempo de reacción total es menor de aproximadamente 24 horas. En algunas modalidades, por ejemplo, el tiempo de reacción total es menor de aproximadamente 5 horas. Para ilustrar, en algunas modalidades, el tiempo de
15 reacción es de aproximadamente 45 minutos a aproximadamente 5 horas, o de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 horas. En algunas tales modalidades, por ejemplo, el tiempo de reacción es de aproximadamente 2 a aproximadamente 3 horas, o de aproximadamente 2 a aproximadamente 2.5 horas (por ejemplo aproximadamente 2 o aproximadamente 2.2 horas). En otras modalidades, el
20 tiempo de reacción es de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 horas, de aproximadamente 6 a aproximadamente 10 horas, de aproximadamente 7 a aproximadamente 10 horas, o de aproximadamente 7 a aproximadamente 8 horas. Aunque se pueden utilizar tiempos de reacción menores diferentes de estos rangos, tales tiempos de reacción tienden a coincidir con conversiones menores.
25 Y, aunque se pueden utilizar tiempos de reacción mayores, tales tiempos de reacción tienden a coincidir con producción mayor de impurezas y uso ineficiente de equipo y mano de obra.

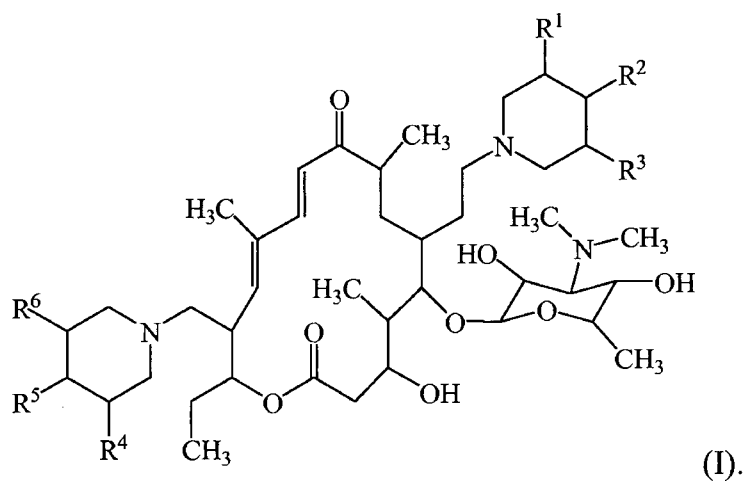
[88] Debido a la naturaleza exotérmica de la reacción de sustitución, en algunas modalidades (particularmente aquellas utilizando un reactor de tanda), el compuesto 23-hidroxil-20-piperidinil-5- O-micaminosil-tilonolida se combina con el agente de activación durante el tiempo (o en múltiples dosis separadas) a diferencia de todo de una vez. En algunas modalidades, esto ocurre durante un periodo de por lo menos un minuto, por lo menos 5 minutos, de aproximadamente 5 a aproximadamente 60 minutos, o de aproximadamente 30 a aproximadamente 60 minutos (por ejemplo aproximadamente 50 minutos). Para ilustrar, en algunas modalidades, la reacción de sustitución se conduce en una temperatura máxima de aproximadamente 25° C, y la dosificación del agente de activación ocurre durante de aproximadamente 0.5 a aproximadamente 1 hora, seguido por un tiempo de reacción adicional de aproximadamente 1 hora. En otras modalidades, la reacción de sustitución se conduce en una temperatura máxima de aproximadamente -5° C, y la dosificación del agente de activación ocurre durante de aproximadamente 0.7 a aproximadamente 1 hora, seguido por un tiempo de reacción adicional de aproximadamente 7 horas.

[89] En algunas modalidades, la reacción de sustitución se apaga para inactivar cualquier yodo residual, y, por lo tanto, reducir (y preferiblemente prevenir) formación de subproducto debido a tal yodo residual. Por ejemplo, en algunas tales modalidades, la reacción se apaga con sulfito de sodio acuoso (es decir, Na_2SO_3). Purificación o aislamiento del producto se puede alcanzar utilizando, por ejemplo, varios métodos conocidos en la técnica. Alternativamente, el producto se puede utilizar en la siguiente etapa sin purificación adicional o aislamiento.

[90] La reacción de formación del agente de activación y la reacción de sustitución se puede conducir en varios tipos de reactores. En algunas modalidades, por ejemplo, el reactor es un reactor de tanque de agitación. El reactor se puede hacer de cualquier composición que permanece estable cuando se expone a la mezcla de reacción. Tales materiales incluyen, por ejemplo, varios materiales, tales como cristal (incluyendo recubrimiento de vidrio) o acero inoxidable.

B-5. Preparación de la macrolida

[91] Como se observó anteriormente, las macrolidas preparadas de acuerdo con esta invención corresponde en estructura a la Fórmula (I):



Aquí:

Como un R^1 , R^2 , y R^3 :

R^1 y R^3 son cada uno metilo, y R^2 es hidrógeno;

R¹ y R³ son cada uno hidrógeno, y R² es metilo; o

R^1, R^2 , y R^3 son cada uno hidrógeno.

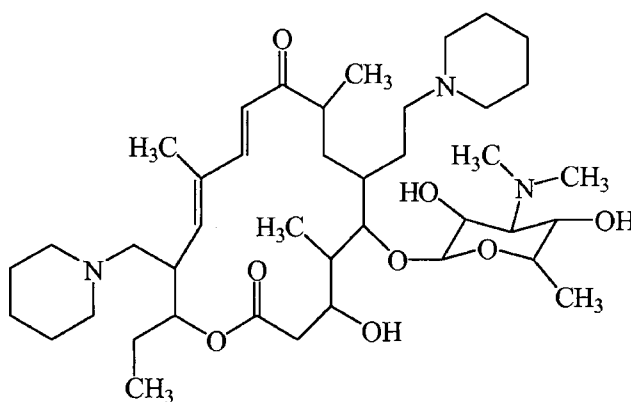
Como un R^4 , R^5 , y R^6 :

R^4 y R^6 son cada uno metilo, y

5 R^5 es hidrógeno; R^4 y R^6 son cada uno hidrógeno, y R^5 es metilo; o

R^4 , R^5 , y R^6 son cada uno hidrógeno.

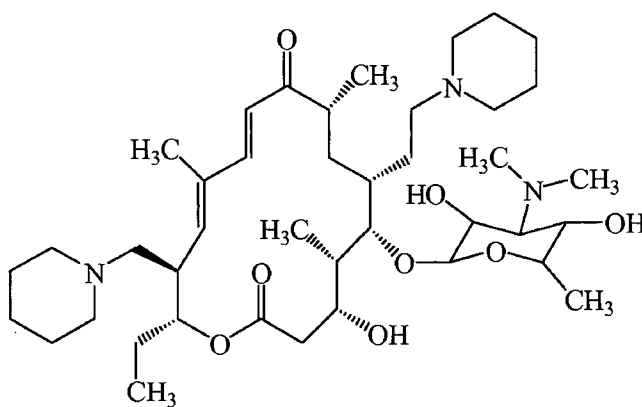
En algunas modalidades, R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , y R^6 son cada uno hidrógeno:



(I-A).

10

En algunas tales modalidades, por ejemplo, el compuesto corresponde en la estructura para la siguiente Fórmula:

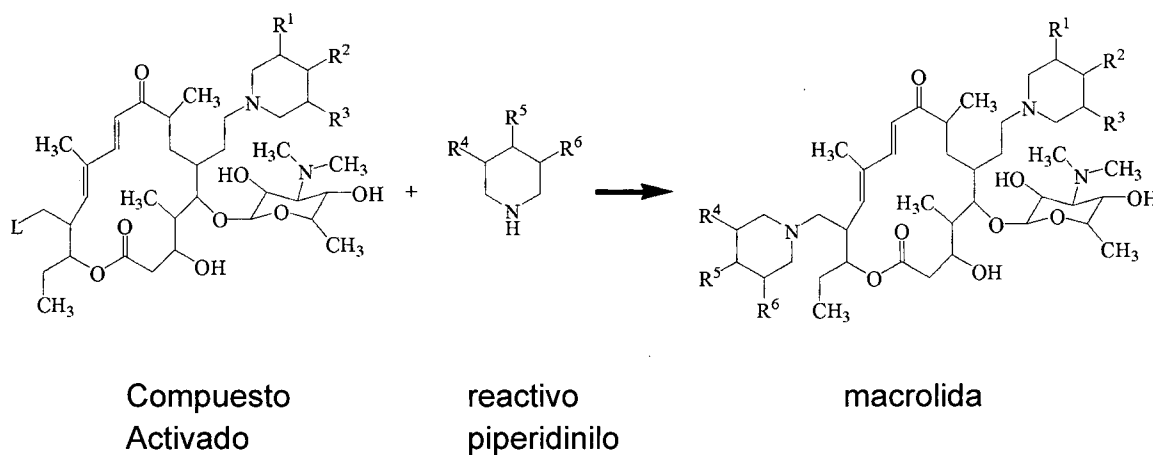


(I-B).

15

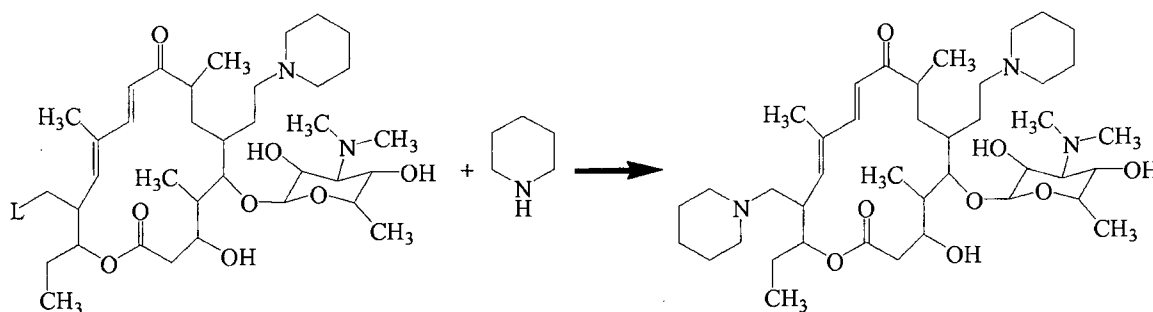
[92] En algunas modalidades, la preparación de la macrolida empieza a o incluye una reacción de aminación de un compuesto activado con un compuesto

piperidinilo:



5

En donde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , y R^6 son cada uno hidrógeno, su reacción es como sigue:



10

[93] El compuesto activado utilizado en la reacción anterior se puede preparar utilizando un proceso discutido anteriormente en la **Sección B-4**, preparado utilizando un proceso diferente, u obtenido a partir de un vendedor comercial. En algunas modalidades preferidas, el compuesto activado se prepara utilizando un proceso discutido anteriormente en la **Sección B-4**.

15

[94] Típicamente, esta reacción se conduce en la presencia de uno o más disolventes. En general, el disolvente no es reactivo con los reactivos (por ejemplo el compuesto activado), productos, y cualesquier otros ingredientes en la mezcla de reacción. El disolvente puede ser, por ejemplo, acetonitrilo (o " CH_3CN ");

20

cloroformo; diclorometano; tetrahidrofurano; un disolvente cetona, tal como acetona (o " CH_3COCH_3 "); un disolvente hidrocarburo, tal como un hidrocarburo aromático el disolvente (por ejemplo tolueno o xileno); o una base, tal como piridina o piperidina. En algunas modalidades, el disolvente comprende acetonitrilo. En algunas modalidades, el disolvente comprende tetrahidrofurano. En algunas modalidades, el disolvente comprende diclorometano. En algunas modalidades, el disolvente comprende xileno. En algunas modalidades, por lo menos una porción del disolvente comprende el disolvente de una etapa de proceso utilizada durante la preparación y/o purificación del compuesto activado.

10

[95] La cantidad del disolvente puede variar ampliamente, no del disolvente en todas las cantidades que crean mezclas de reacción diluidas. Típicamente, la cantidad del disolvente es suficiente para, por ejemplo, evitar (o esencialmente evitar) que los reactivos, productos, y otros ingredientes en la mezcla de reacción se peguen al reactor, y promover la distribución homogénea de los reactivos. En algunas modalidades, disolvente suficiente está presente tal que la cantidad combinada del reactivo activante y la macrolida es de aproximadamente 5 a aproximadamente 50% (masa/volumen) de la mezcla de reacción. En algunas modalidades, la cantidad del disolvente es por lo menos aproximadamente 1 L por kilogramo del compuesto activado. En algunas tales modalidades, por ejemplo, la cantidad del disolvente es de aproximadamente 1 a aproximadamente 100 L (o de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 L) por kilogramo de compuesto activado. Para ilustrar, en algunas modalidades, aproximadamente 5 L del disolvente (por ejemplo xileno o tetrahidrofurano) se utilizan por kilogramo de compuesto activado. Ilustrando adicionalmente, en otras modalidades, aproximadamente 10 L del disolvente (por ejemplo acetonitrilo) se utilizan por kilogramo de compuesto activado.

25

[96] En algunas modalidades, la aminación se conduce en la presencia de una base. En algunas modalidades, la base comprende una base hidratada. La base puede ser, por ejemplo, carbonato de potasio (o " K_2CO_3 "), carbonato de sodio (o " Na_2CO_3 "), o una amina terciaria. La presencia de tal una base tiende a coincidir con una proporción de reacción mayor y menor producción de impurezas. Se cree que tales ventajas pueden provenir de la base del compuesto piperidinilo protonado desprotonado. La base preferiblemente no es tan fuerte como para causar hidrólisis de la lactona en el núcleo macrolida. Generalmente, cantidades equimolares del compuesto activado y base se puede utilizar. Normalmente, sin embargo, se utiliza un exceso de base. En algunas modalidades, por lo menos 1.05 (o de aproximadamente 1.1 a aproximadamente 50, de aproximadamente 2 a aproximadamente 30, de aproximadamente 2 a aproximadamente 20, o de aproximadamente 2 a aproximadamente 10) equivalentes de base se utilizan, con base en la cantidad molar de compuesto activado cargado al reactor. En algunas tales modalidades, se utilizan aproximadamente 6.2 equivalentes de base. En otras algunas de tales modalidades, se utilizan aproximadamente 10 equivalentes de base. En todavía otras tales modalidades, de aproximadamente 1.1 a aproximadamente 10 (o de aproximadamente 2 a aproximadamente 8, o se utilizan de aproximadamente 4 a aproximadamente 6) equivalentes de base, con base en la cantidad molar de compuesto activado cargado al reactor. Para ilustrar, una cantidad adecuada de base puede ser, por ejemplo, aproximadamente 5 equivalentes.

[97] Para desarrollar la aminación, el compuesto activado, compuesto piperidinilo, y el disolvente, así como también cualquier base (al grado actual), normalmente se cargan al reactor y se mezcla. Estos ingredientes generalmente

se pueden cargar al reactor en cualquier secuencia. El reactor puede comprender varios tipos de reactores. En algunas modalidades, por ejemplo, el reactor es un reactor de tanque de agitación. A menudo se prefieren reactores de vidrio, recubiertos con vidrio, y acero inoxidable, aunque se puede utilizar cualquier
5 composición estable cuando se expone a la mezcla de reacción.

[98] Generalmente, se puede utilizar cantidades equimolares del compuesto activado y compuesto piperidinilo. Normalmente, sin embargo, un exceso del compuesto piperidinilo se utiliza. En algunas modalidades, se utilizan
10 por lo menos 1.05 (o de aproximadamente 1.1 a aproximadamente 50, de aproximadamente 2 a aproximadamente 30, de aproximadamente 2 a aproximadamente 20, o de aproximadamente 2 a aproximadamente 10) equivalentes del compuesto piperidinilo, con base en la cantidad molar de compuesto activado cargado al reactor. En algunas tales modalidades, se utilizan
15 aproximadamente 10 equivalentes del compuesto piperidinilo. En otras tales modalidades, se utilizan de aproximadamente 2 a aproximadamente 8 (o de aproximadamente 4 a aproximadamente 6) equivalentes, con base en la cantidad molar de compuesto activado cargado al reactor. Para ilustrar, una cantidad adecuada de compuesto piperidinilo puede ser, por ejemplo, aproximadamente 4.7
20 equivalentes. Una cantidad adecuada contemplada del compuesto piperidinilo también puede ser, por ejemplo, aproximadamente 5.7-5.8 equivalentes.

[99] Por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) normalmente se conduce en más de aproximadamente 20° C, o más de
25 aproximadamente 25° C. La temperatura de reacción óptima depende de, por ejemplo, el disolvente. Típicamente, por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) se conduce a una temperatura que no es mayor del punto de

ebullición del disolvente, y típicamente es menor del punto de ebullición. En general, por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) se conduce de aproximadamente 50 a aproximadamente 110° C. En algunas modalidades, por ejemplo, por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) se conduce de aproximadamente 60 a aproximadamente 110° C, o de aproximadamente 75 a aproximadamente 110° C. Para ilustrar, cuando el disolvente comprende acetonitrilo o tolueno, la temperatura de reacción contemplada adecuadamente para por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) es de aproximadamente 78° C a aproximadamente 110° C (por ejemplo aproximadamente 78° C). Para ilustrar adicionalmente, cuando el disolvente comprende xileno, una temperatura de reacción contemplada adecuada para por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) es de aproximadamente 95 a aproximadamente 105° C, y un tiempo de reacción adecuado para la reacción es aproximadamente 15 horas. En otras modalidades, el disolvente comprende tetrahidrofurano, y por lo menos una porción de la reacción (o la reacción completa) se conduce de aproximadamente 55 a aproximadamente 75° C. Aunque temperaturas menores diferentes de estos rangos se pueden utilizar, tales temperaturas tienden a coincidir con proporciones de reacción más lentas. Y, aunque se pueden utilizar temperaturas mayores diferentes de estos rangos, tales temperaturas tienden a coincidir con producción mayor de subproductos indeseables. Típicamente, se pueden utilizar temperaturas menores con disolventes que tienen polaridades mayores. La temperatura se puede adaptar de acuerdo con esto por un experto en la técnica.

[100] En algunas modalidades, la reacción de aminación se conduce en más de una temperatura. Por ejemplo, la reacción se puede conducir en una temperatura inicial y, luego lentamente incrementar a otra temperatura cuando

progresla la reacción.

[101] La aminación se puede conducir para un amplio rango de presiones, incluyendo presión atmosférica, presión atmosférica menor, y presión atmosférica mayor. Esto típicamente se prefiere, sin embargo, para conducir la reacción a aproximadamente presión atmosférica.

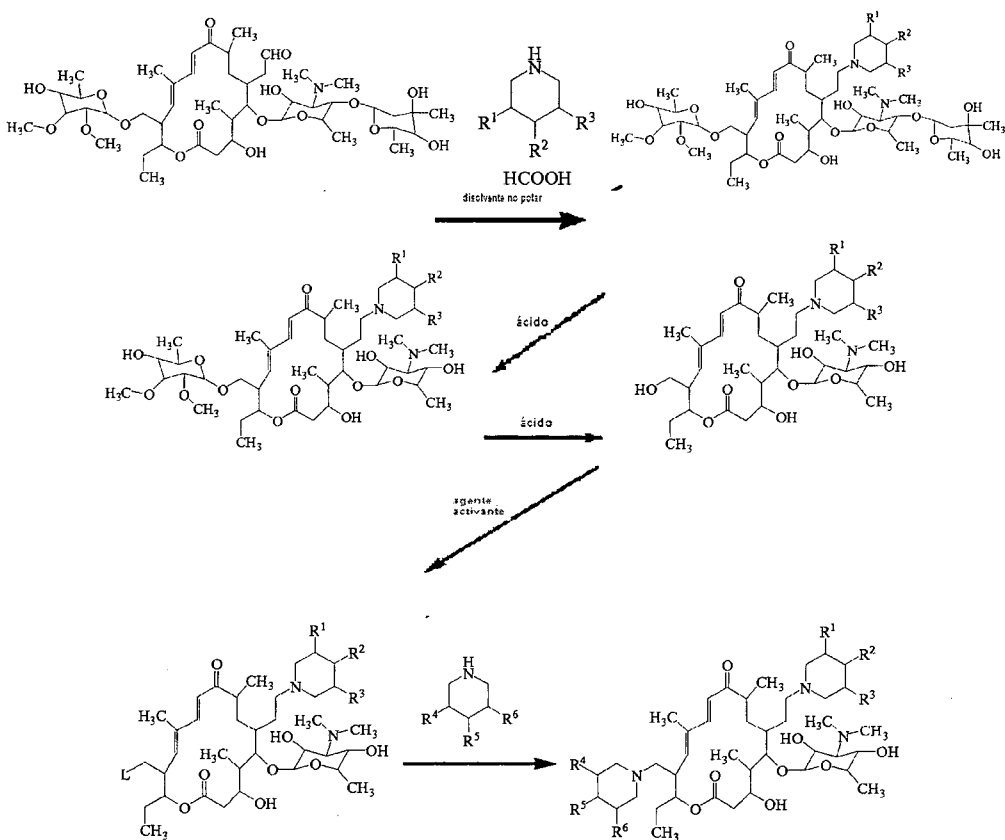
[102] El tiempo de reacción depende de varios factores incluyendo, por ejemplo, la temperatura de reacción, características del disolvente, cantidades relativas de los ingredientes, y la conversión deseada. En un reactor de tanda, el tiempo de reacción es generalmente por lo menos aproximadamente 1 minuto, por lo menos aproximadamente 5 minutos, o por lo menos aproximadamente 45 minutos. El tiempo de reacción es generalmente no más de aproximadamente 24 horas. En algunas modalidades, el tiempo de reacción es de aproximadamente 2 a aproximadamente 15 horas. En otras modalidades, el tiempo de reacción es de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 horas, de aproximadamente 2 a aproximadamente 4 horas, o de aproximadamente 2 a aproximadamente 3 horas (por ejemplo aproximadamente 2.5 horas). En otras tales modalidades, el tiempo de reacción es de aproximadamente 6 a aproximadamente 15 horas. Aunque se pueden utilizar tiempos de reacción menores diferentes de estos rangos, tales tiempos de reacción tienden a coincidir con conversiones menores.

[103] La purificación adicional o aislamiento del producto se puede alcanzar utilizando, por ejemplo, varios métodos conocidos en la técnica.

[104] Esta invención contempla cualesquier procesos que utilizan cualquiera de las anteriores reacciones. En algunas modalidades, el proceso comprenderá una de las anteriores reacciones. En otras modalidades, el proceso comprenderá dos, tres, cuatro, o todas las anteriores reacciones. El siguiente

5 **Esquema I** genéricamente ilustra un escenario en donde se utilizan todas las anteriores reacciones:

Esquema I



Aquí:

Como a R¹, R², y R³:

R¹ y R³ son cada uno metilo, y R² es hidrógeno;

R¹ y R³ son cada uno hidrógeno, y R² es metilo;; o

R¹, R², y R³ son cada uno hidrógeno.

Como a R⁴, R⁵, y R⁶:

R⁴ y R⁶ son cada uno metilo, y R⁵ es hidrógeno;

5 R⁴ y R⁶ son cada uno hidrógeno, y R⁵ es metilo;; o

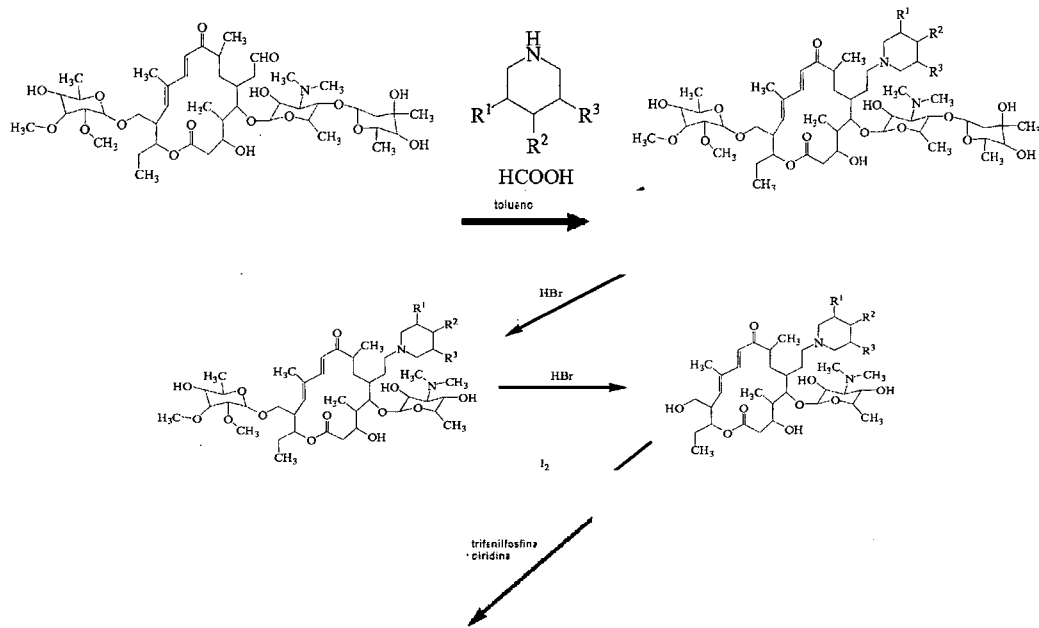
R⁴, R⁵, y R⁶ son cada uno hidrógeno.

L es un grupo saliente.

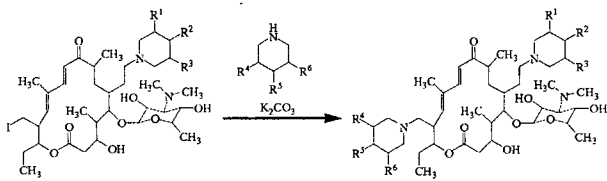
10 [105] El siguiente **Esquema II** ilustra genéricamente el escenario anterior en donde el disolvente no polar en la aminación reductiva comprende tolueno; los ácidos en las reacciones de hidrólisis comprenden HBr; la fuente del agente de activación co mprende I₂, trifenilfosfina, y piridina; y la mezcla de reacción de aminación final comprende carbonato de potasio:

15

Esquema II

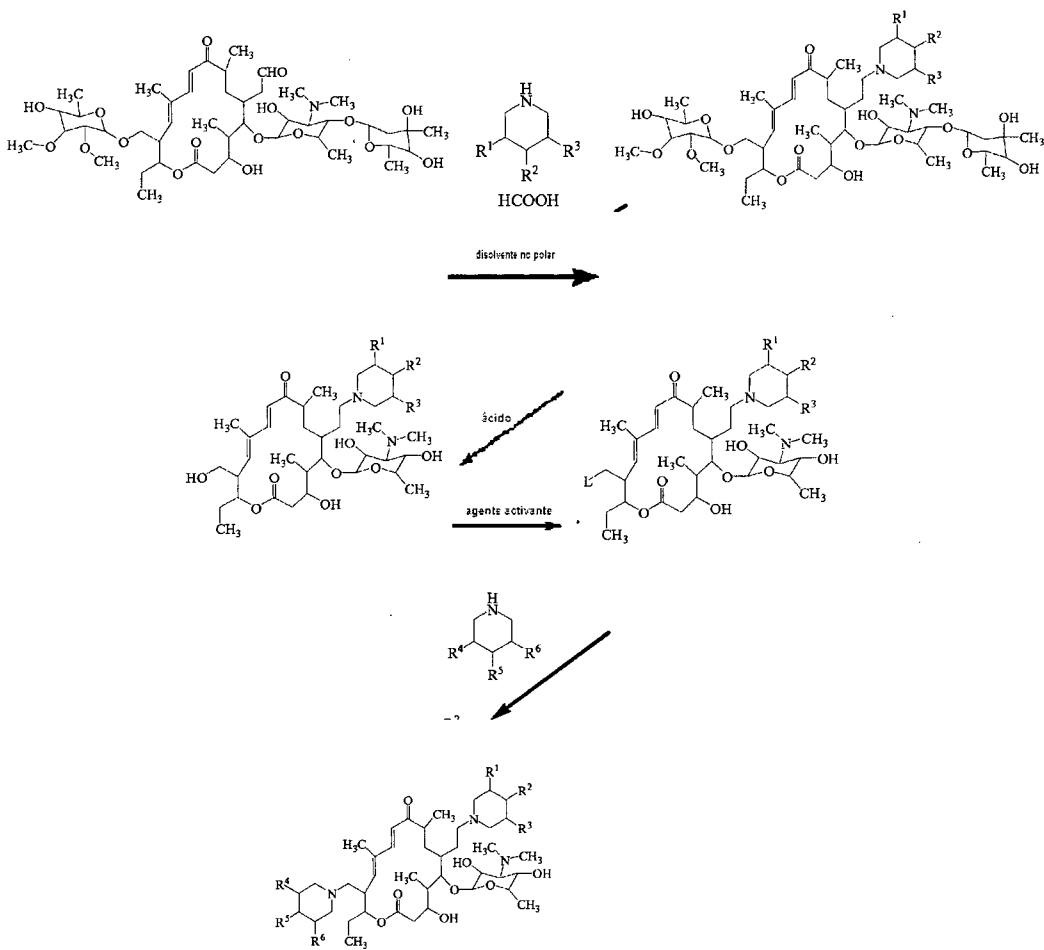


20



[106] El siguiente **Esquema III** ilustra genéricamente el escenario del Esquema I en donde las dos reacciones de hidrólisis se conducen sin detener la primera hidrólisis o el producto de aislamiento de la primera hidrólisis antes de conducir la segunda hidrólisis:

Esquema III

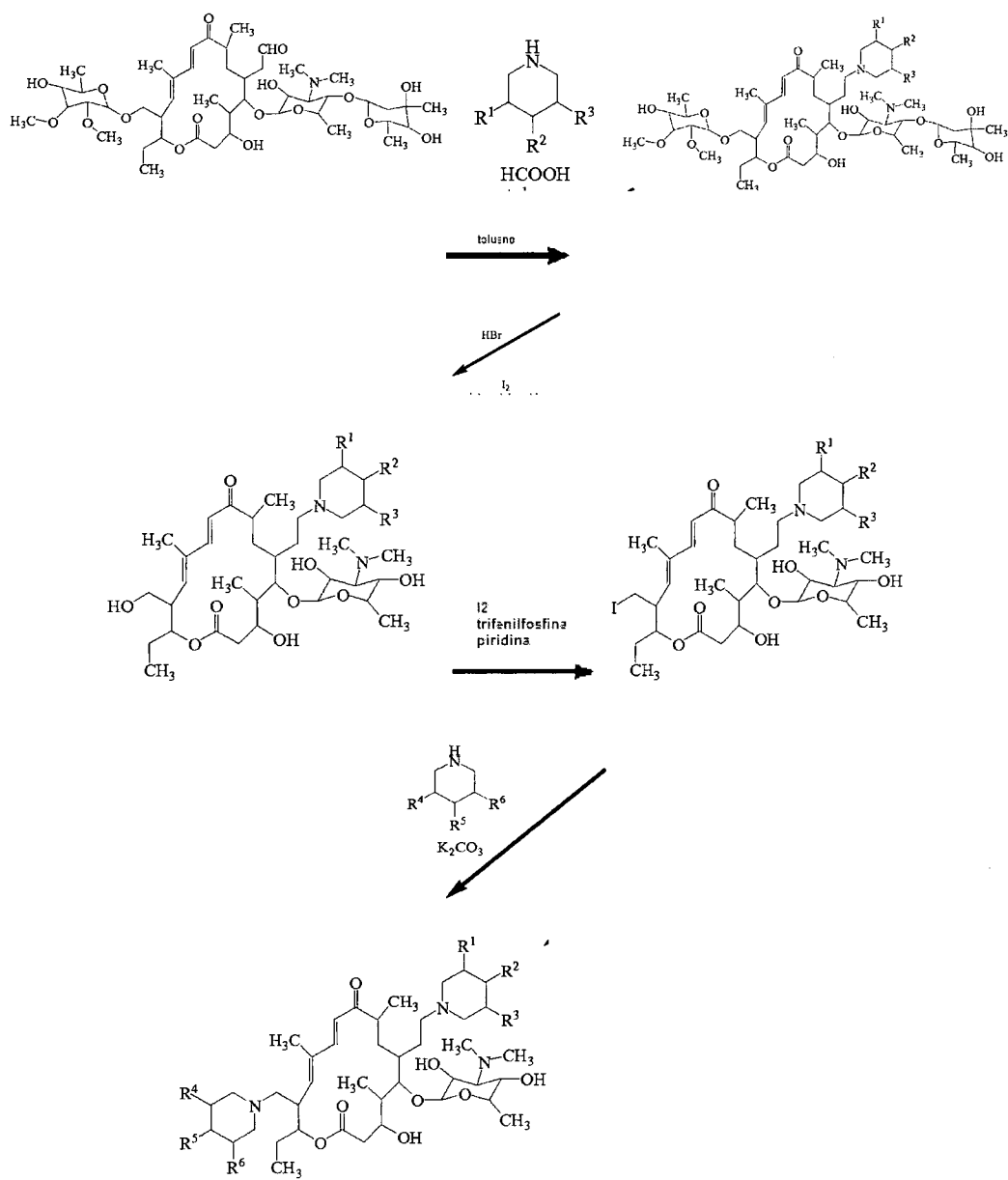


[107] El siguiente **Esquema IV** ilustra genéricamente el escenario de Esquema I en donde el disolvente no polar en la aminación reductiva comprende tolueno; los ácidos en las reacciones de hidrólisis que comprenden HBr; la primera

hidrólisis no se detiene y el producto de la primera hidrólisis no se aísla antes de conducir la segunda hidrólisis; la fuente del agente de activación comprende I₂, trifenilfosfina, y piridina; y la mezcla de reacción de aminación final comprende carbonato de potasio:

5

Esquema IV



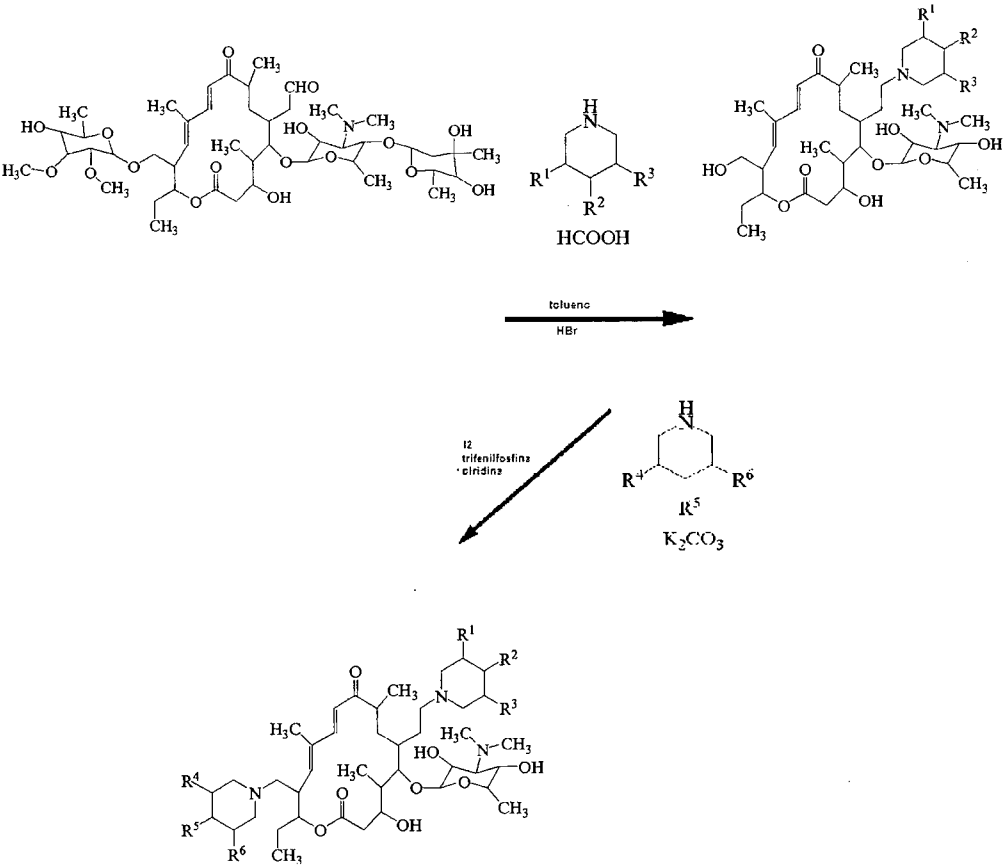
10

[108] El siguiente **Esquema V** ilustra genéricamente un escenario de 2 etapas del Esquema I en donde el disolvente no polar en la aminación reductiva comprende tolueno; los ácidos en las reacciones de hidrólisis comprenden HBr; la

15

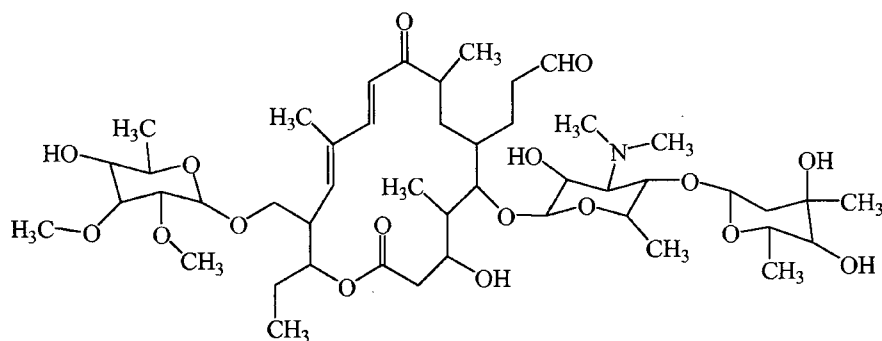
aminación reductiva y la primera hidrólisis no se detiene y los productos de la
aminación reductiva y la primera hidrólisis no se aíslan antes de conducir la
segunda hidrólisis; la fuente del agente de activación comprende I₂, trifenilfosfina,
y piridina; la mezcla de reacción de aminación final comprende carbonato de
5 potasio; y la reacción de activación no se detiene y el producto de la reacción de
activación no se aísla antes de conducir la reacción de aminación final:

Esquema V



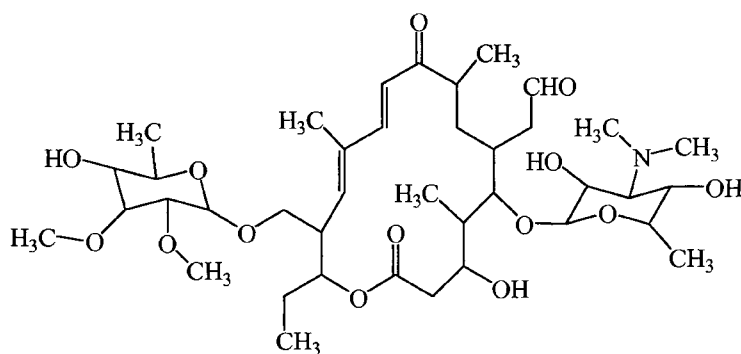
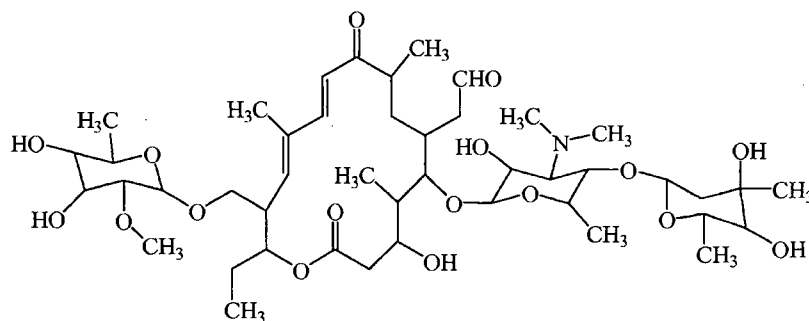
B-7. Reactivo Tilosina

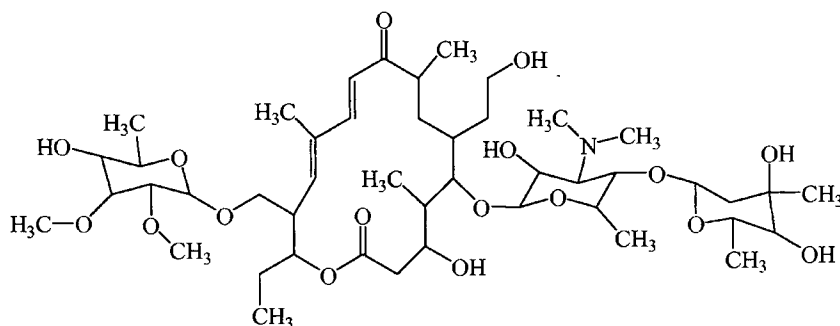
[109] En general, el reactivo tilosina se utiliza en los procesos de esta
invención comprende tilosina A (o su sal):



Tilosina A.

Aunque esta invención contempla el uso de tilosina A pura (o por lo menos
5 esencialmente pura) (o su sal), varias composiciones tilosina disponibles
comercialmente adicionalmente o alternativamente pueden comprender uno o más
derivados de tilosina A, incluyendo:

**tilosina B** (*también* conocida como desmicocina),**tilosina C** (*también* conocida como macrocina), y



tilosina D (*también* conocida como relomicina).

En general, estos derivados, si están presentes, están presentes en
5 solamente cantidades pequeñas. En algunas modalidades, la proporción en peso
de tilosina A para la cantidad combinada total de derivados tilosina A en la
composición es por lo menos aproximadamente 1:1. En algunas tales
modalidades, por ejemplo, la proporción es por lo menos aproximadamente 4:1,
por lo menos aproximadamente 10:1, por lo menos aproximadamente 95:5, por lo
10 menos aproximadamente 98:2, o por lo menos aproximadamente 99:1. En otras
tales modalidades, aproximadamente 100% (en peso) de los compuestos tilosina
(es decir, tilosina A y derivados tilosina A) en la composición que consiste de
tilosina A. otras modalidades se contemplan en donde la tilosina A hace menos de
50% (en peso) de los compuestos tilosina en la composición. Para ilustrar, en
15 algunas tales modalidades, la proporción en peso de tilosina D para las cantidades
combinadas totales de tilosina A y otros derivados tilosina A es por lo menos
aproximadamente 1: 1, por lo menos aproximadamente 4: 1, por lo menos
aproximadamente 9:1, por lo menos aproximadamente 95:5, por lo menos
aproximadamente 98:2, o por lo menos aproximadamente 99:1. En otras tales
20 modalidades, aproximadamente 100% (en peso) de los compuestos tilosina en la
composición que consiste de tilosina D.

[110] Los métodos discutidos anteriormente para elaborar 20,23-

dipiperidinil-5-O- micaminosil-tilonolida de tilosina generalmente se pueden utilizar (y, al grado deseable, modificar) para elaborar 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida de tilosina B, C, y/o D en adición a (o en lugar de) tilosina A.

5 [111] La Tilosina B, por ejemplo, tiene un hidroxilo en lugar de un sustituyente micarosilo en el 5-micanimosilo. Así, un intermedio 20-piperidinilo derivado de tilosina B no requiere la primera reacción de hidrólisis discutida anteriormente en la **Sección B-2**. Se expone a tal grado un intermedio para el
10 método de hidrólisis discutido en la **Sección B-2**, el intermedio per manecerá generalmente no reactivo o empieza a hidrolizar en el sustituyente 23-micinosiloxi.

[112] La Tilosina C tiene un hidroxilo diferente a metoxi en la posición 3 del sustituyente 23-micinosiloxi. Esta diferencia generalmente no tiene efecto con respecto a los métodos descritos anteriormente. El azúcar normalmente dividirá
15 (es decir, hidroliza) en la misma forma y bajo las mismas condiciones como el 23-micinosiloxi de tilosina A durante la hidrólisis descrita anteriormente en la **Sección B-3**.

[113] La Tilosina D tiene un hidroxilo diferente a carbonilo en la posición
20 20. Este hidroxilo generalmente no se transforma en un piperidinilo utilizando el método de aminación reductiva descrito anteriormente en la **Sección B-1**. Dependiendo de las condiciones de reacción, sin embargo, esto puede llegar a activarse durante la reacción de activación descrita anteriormente en la **Sección B-4**, y luego se amina con piperidina junto con la posición 23 durante el método de
25 afinación descrito anteriormente en la **Sección B-5**.

[114] Esta invención se puede utilizar para preparar compuestos macrolida o intermedios en la forma de compuestos libres y en la forma de sales. En adición, los reactivos utilizados en esta invención pueden estar en la forma de sales. Las sales pueden ser, por ejemplo, sales de adición ácida. En general, una sal de adición ácida se pueden preparar utilizando cualquier ácido orgánico o inorgánico. Dependiendo del compuesto particular (y/o su estructura cristalina), una sal de un compuesto puede ser ventajosa debido a uno o más de las propiedades físicas o químicas de la sal, tales como estabilidad en temperaturas y humedades diferentes, o una solubilidad deseable en agua, aceite, u otro disolvente. En algunos casos, también se puede utilizar una sal de un compuesto como una ayuda en el aislamiento o purificación de un compuesto. En algunas modalidades (particularmente cuando la sal está destinada a ser administrada a un animal, en comparación con, por ejemplo, ser utilizada en un contexto *in vitro*), la sal es farmacéuticamente aceptable.

[115] Las sales típicamente se pueden formar mediante, por ejemplo, mezclar la macrolida libre o el compuesto intermedio con un ácido utilizando varios conocidos métodos en la técnica. Ejemplos de ácidos inorgánicos adecuados incluyen clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, nítrico, carbónico, sulfúrico, y ácido fosfórico. Ejemplos de ácidos orgánicos adecuados incluyen, por ejemplo, alifático, cicloalifático, aromático, aralifático, heterocíclico, carboxílico, y sulfónico clases de ácidos orgánicos. Ejemplos específicos de sales orgánicas adecuadas incluyen colato, sorbato, laurato, acetato, trifluoroacetato (o "CF₃COOH" o "TFA"), formato, propionato, succinato, glicolato, gluconato, digluconato, lactato, malato, tartrato (y sus derivados, tal como dibenzoiltartrato), citrato, ascorbato, glucuronato, maleato, fumarato, piruvato, aspartato, glutamato, benzoato, ácido antranílico, mesilato,

OK
RGT

PATENTE DE INVENCION

09-7875

TOMO: 2/2

estearato, salicilato, p-hidroxibenzoato, fenilacetato, mandelato (y sus derivados), embonato (pamoato), etanosulfonato, bencenosulfonato, pantotenato, 2-hidroxietanosulfonato, sulfanilato, ciclohexilaminosulfonato, ácido β -hidroxibutírico, galactarato, galacturonato, adipato, alginato, butirato, camforato, camforsulfonato, 5 ciclopentanopropionato, dodecilsulfato, glicoheptanoato, glicerofosfato, heptanoato, hexanoato, nicotinato, 2-naftalesulfonato, oxalato, palmoato, pectinato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, tiocianato, tosilato, y undecanoato. En algunas modalidades, la sal comprende una sal clorhidrato, trifluoroacetato, mesilato, tosilato, tartrato, o citrato.

10

D. Preparación de Medicamentos y Métodos de Tratamiento utilizando

Macrolidas

[116] Las macrolidas preparadas en los procesos descritos anteriormente 15 se pueden utilizar generalmente, por ejemplo, para tratar pasteurelosis en animales, particularmente ganado y aves de corral. En algunas modalidades, tal una macrolida se utiliza para tratar animales bovinos que tienen enfermedad respiratoria bovina (BRD) asociada con *Mannheimia hemolítica*, *Pasteurella multocida* y *Histophilus somni*. En otras modalidades, tal una macrolida se utiliza 20 para tratar animales porcinos que tienen enfermedad respiratoria porcina asociada con *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida*, y *Bordetella bronchiseptica*.

[117] En general, una cantidad terapéuticamente efectiva de una o más de 25 tales macrolidas se administra al animal recetado. Como se utiliza en esta patente, el término "cantidad terapéuticamente efectiva" constituye una cantidad que es suficiente para prevenir, reducir el riesgo de, retrasar el inicio de, aliviar, suprimir,

o erradicar una infección patógena objetivo. Generalmente, la cantidad terapéuticamente efectiva se define como la cantidad necesaria para alcanzar una concentración eficaz para el control del patógeno efectivo en el sitio de infección (o, cuando se utiliza para prevenir, reducir el riesgo de, o retrasar el inicio de infección, en el sitio susceptible a infección). La concentración en el sitio de infección (o en el sitio susceptible a infección) es preferiblemente por lo menos igual al nivel MIC₉₀ (concentración inhibidora mínima, es decir, la concentración que inhibe el crecimiento de 90% del patógeno objetivo) de la macrolida para el patógeno objetivo. Tal una cantidad se puede administrar al animal recitado en dos o más dosis separadas, aunque preferiblemente se administra en una dosis única. Se administra a tal grado las macrolidas con otros ingredientes activos, el término "cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a la cantidad total de las macrolidas combinadas con los otros ingredientes activos que es suficiente para prevenir, reducir el riesgo de, retrasar el inicio de, aliviar, suprimir, o erradicar una infección de patógenos objetivo.

[118] Factores que afectan el régimen de dosificación preferido incluyen el tipo (por ejemplo especies y raza), edad, peso, sexo, dieta, actividad, y condición del animal recetado; la severidad de la afección patológica; el aparato utilizado para administrar la composición, así como también el tipo de administración utilizado; consideraciones farmacológicas, tales como la actividad, eficacia, perfiles farmacocinéticos y toxicológicos, de la composición particular administrada; la existencia de un ingrediente activo adicional en la composición; y si la composición se sigue administrando como parte de un fármaco y/o combinación de vacuna. Así, la dosificación actualmente empelada puede variar para pacientes animales específicos, y, por lo tanto, puede desviar de las dosificaciones típicas establecidas anteriormente. Determinar tales ajustes de

dosificación está generalmente dentro de la habilidad de aquellos expertos en la técnica que utilizan medios convencionales.

[119] En general, las macrolidas se pueden administrar una vez a un
5 animal, aunque se contempla que esto puede administrarse en múltiples veces.

[120] Para el ganado, la cantidad total de la macrolida administrada es típicamente de aproximadamente 0.1 a aproximadamente 40 mg por kg de peso corporal, y más típicamente de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 mg por
10 kg de peso corporal. Por ejemplo, en algunas modalidades, la cantidad administrada a ganado es aproximadamente 4 mg por kg de peso corporal. Aunque la macrolida se puede dar al ganado en cualquier edad, en algunas modalidades, la macrolida se administra al ganado que son de aproximadamente 1 meses a aproximadamente 1.5 años de edad, o de aproximadamente 6 meses a
15 aproximadamente 1 año de edad. En algunas modalidades, la macrolida se administra a terneros destetados que entran a lotes de alimentación (a menudo a aproximadamente 6 meses de edad). En todavía otras modalidades, el ganado son terneros de aproximadamente 2 a aproximadamente 12 semanas de edad, y la macrolida se administra para profilaxis en una dosificación de aproximadamente
20 1 a aproximadamente 10 mg por kg del de peso corporal; o para tratar una infección existente en una dosificación de aproximadamente 2 a aproximadamente 20 mg por kg del peso corporal.

[121] Para porcinos, la cantidad total de macrolidas administradas es
25 típicamente de aproximadamente 0.1 a aproximadamente 50 mg por kg de peso corporal, y más típicamente de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 mg por kg de peso corporal. Por ejemplo, en algunas modalidades, la cantidad

administrada a porcinos es aproximadamente 4 mg por kg de peso corporal. En otras modalidades, la cantidad administrada a porcinos es aproximadamente 5 mg por kg de peso corporal. Aunque las macrolidas se pueden dar al porcino en cualquier edad, en algunas modalidades, las macrolidas se administran a cerdos en crecimiento.

[122] El método de administración puede variar dependiendo de los animales, pero en el caso de mamíferos más grandes tales como ganado, porcinos, y caballos, este se administra preferiblemente oralmente o parenteralmente. "Administración parenteral" incluye, por ejemplo, inyecciones subcutáneas, inyecciones intravenosas, inyecciones intramusculares, inyecciones intradérmicas, inyecciones submucosales, e infusión. En algunas modalidades, por ejemplo, el animal recitado es un animal bovino, y el compuesto de macrolida se administra subcutáneamente, tal como en el cuello. En otras modalidades, por ejemplo, el animal recitado es un animal porcino, y la composición de macrolida se administra intramuscularmente.

[123] Las macrolidas se pueden utilizar para formar una composición farmacéutica (o "medicamento"). Se contempla que tal una composición puede comprender completamente una o más macrolidas. Normalmente, sin embargo, la composición comprende otros ingredientes conocidos.

[124] Otros ingredientes en la composición puede comprender, por ejemplo, otros ingrediente activos. Alternativamente (o en adición), tales otros ingredientes pueden comprender uno o más portadores farmacéuticamente aceptables, vehículos, y/o adyuvantes (referido colectivamente como "excipientes"). La selección de tales excipientes dependerá de varios factores, tales como el modo

de administración; el aparato utilizado para administrar la composición; consideraciones farmacológicas, tales como la actividad, eficacia, perfiles farmacocinéticas y toxicológicos de la composición particular; la existencia de un ingrediente activo adicional en la composición; y si la composición se sigue
5 administrando como parte de un fármaco y/o combinación de vacuna.

[125] Las composiciones de macrolida sólidas pueden comprender, por ejemplo, sacáridos tales como lactosa, glucosa, y sacarosa; almidones, tales como almidón de maíz y almidón de papa; derivados de celulosa, tales como
10 carboximetilcelulosa sodio, etilcelulosa, y acetato celulosa; etc.

[126] Las composiciones de macrolida líquidas pueden comprender por ejemplo, agua, solución salina fisiológica isotónica, solución de Ringer, alcohol etílico, y/o solución de amortiguador de fosfato puede estar presente. Tales
15 composiciones también pueden comprender aceites, tales como aceite de maní, aceite de semilla de algodón, aceite de girasol, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soya y/o alcohole polihídricos tales como glicerol, propilenglicol, sorbitol, manitol, polietilenglicol, y poli(etilenglicol-2-propilenglicol-2-polietilenglicol). Esto también, por ejemplo, puede ser deseable en algunos casos
20 para que la composición comprenda uno o más conservantes. La presencia de un conservante puede, por ejemplo, proporcionar un beneficio para composiciones o disolventes que se pueden almacenar durante largos periodos de tiempo, por ejemplo, días, semanas, meses, o años. Cuando se selecciona un conservante adecuado, los factores para considerar incluyen, por ejemplo, su actividad
25 antimicrobiana; el rango de pH en el cual se ha deseado la actividad antimicrobiana; la concentración mínima en la cual se desea la actividad antimicrobiana; su solubilidad acuosa y otras características físicas (por ejemplo

potencial para causar espuma); esta solubilidad para uso parenteral; sus posibles interacciones con los ingredientes activos (por ejemplo su efecto en la solubilidad de un ingrediente activo); sus posibles interacciones sin ingrediente activos (por ejemplo su efecto en la estabilidad del disolvente); y cualesquier regulaciones del gobierno que pueden ser aplicables en donde la composición o el disolvente se sigue fabricando, vendiendo, o utilizando. Los conservantes contemplados incluyen, por ejemplo, parabenos, propilenglicol, cloruro de benzalconio, feniletanol, clorocresol, metacresol, etanol, fenoxietanol, y alcohol bencílico.

10 [127] La discusión adicional con respecto a los excipientes farmacéuticamente aceptables pueden ser adecuados para la composición macrolida se puede encontrar en, por ejemplo, "Gennaro, Remington: The Science and Practice de Pharmacy" (20th Edición, 2000) (incorporada como referencia en esta patente). Para ilustrar, otros excipientes adecuados pueden incluir, por
15 ejemplo, agentes colorantes; agentes saborizantes; y agentes espesantes, tales como carboximetilcelulosa povidona, y/o hidroxipropilmetilcelulosa.

[128] Normalmente, la macrolida ocupa por lo menos aproximadamente 0.5% en peso de la composición farmacéutica. Por ejemplo, en algunas
20 modalidades para uso en porcinos, concentraciones de macrolida adecuadas para administración parenteral puede ser, por ejemplo, de aproximadamente 5 a aproximadamente 500 mg/ml, de aproximadamente 10 a aproximadamente 100 mg/ml, o de aproximadamente 20 a aproximadamente 60 mg/ml (por ejemplo aproximadamente 40 mg/ml). Ejemplificando adicionalmente, en algunas
25 modalidades para uso bovino, concentraciones de macrolida adecuadas para administración parenteral puede ser, por ejemplo, de aproximadamente 5 mg/ml a aproximadamente 2.0 g/ml, de aproximadamente 10 mg/ml a aproximadamente

L.F.

1.0 g/ml, 50 a aproximadamente 500 mg/ml, o de aproximadamente 100 a aproximadamente 300 mg/ml (por ejemplo 180 mg/ml).

[129] Se debe reconocer que la concentración de macrolida puede variar dependiendo de la forma de dosificación. En donde, por ejemplo, la macrolida se administra parenteralmente, la concentración de macrolida preferiblemente es suficiente para proporcionar la cantidad terapéuticamente deseada efectiva de la macrolida en un volumen que es aceptable para administración parenteral. El volumen aceptable máximo puede variar, dependiendo de, por ejemplo, el aparato que se está utilizando para la administración, el tipo de administración parenteral, tamaño del animal recetado, y deseos subjetivos de uso.

[130] La discusión adicional se relaciona con el uso de 20,23-dipiperidinil-5-O- micaminosil-tilonolida y sus derivados para tratar enfermedad de ganado y aves de corral se puede encontrar en, por ejemplo, la Patente U.S: No. 6,514,946. Como se indicó anteriormente, la discusión se incorpora como referencia en esta patente.

[131] Esta invención también se dirige a kits que son, por ejemplo, para uso adecuado en desarrollar los métodos de tratamiento descritos anteriormente. El kit comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de por lo menos una de las macrolidas descritas anteriormente, e instrucciones para combinar la macrolida con por lo menos un excipiente, tal como, por ejemplo, instrucciones para disolver o suspender la macrolida en un excipiente líquido. El kit puede adicionalmente (o alternativamente) comprender componentes adicionales, tal como, por ejemplo, uno o más aparatos (por ejemplo una jeringa) para administrar una composición que comprende (o se deriva de) la macrolida, uno o más materiales farmacéuticos

o biológicos adicionales, uno o más excipientes, y/o uno o más herramientas de diagnóstico.

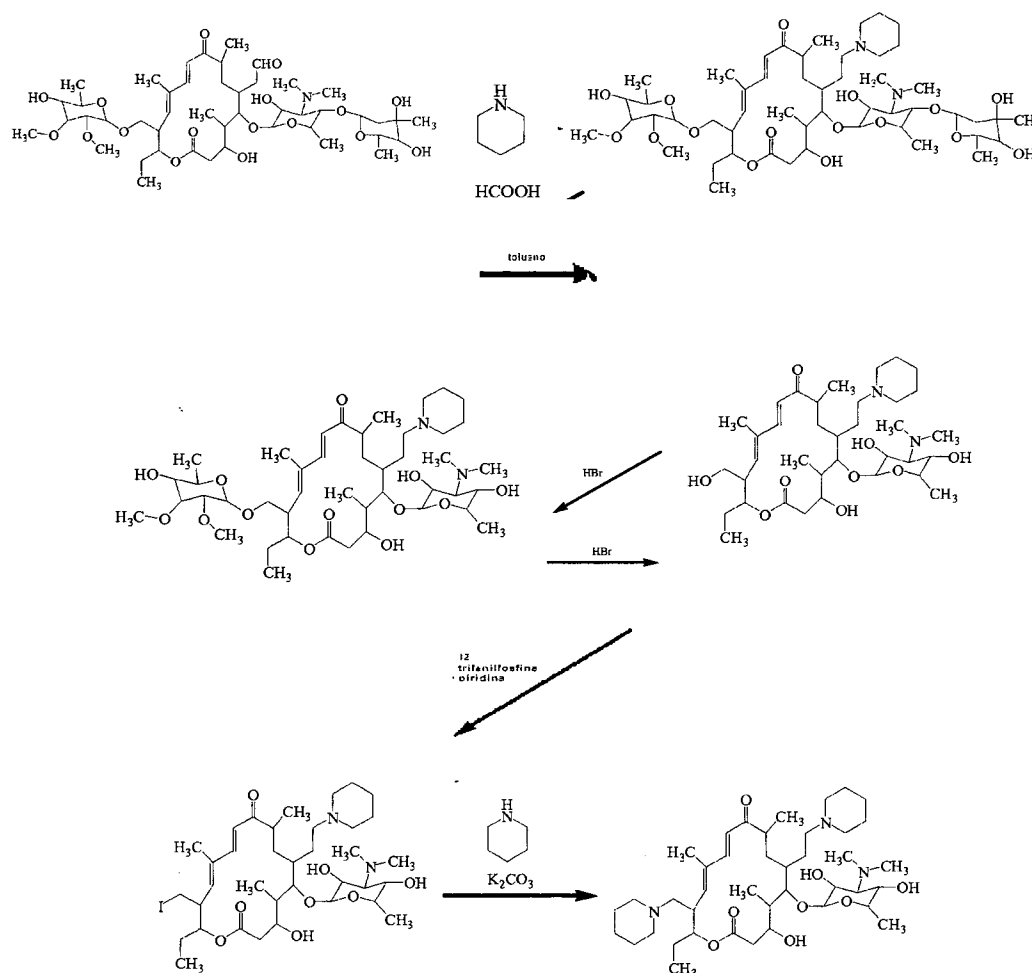
EJEMPLOS

5

[132] Los siguientes ejemplos son únicamente ilustrativos de modalidades de la invención, y no limita lo restante de esta descripción de ninguna forma.

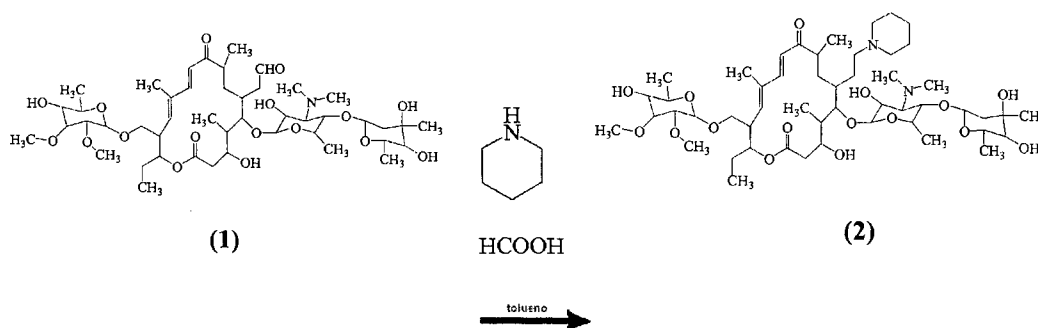
[133] **Ejemplo 1. Preparación de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-1 tilonolida de tilosina A.**

10



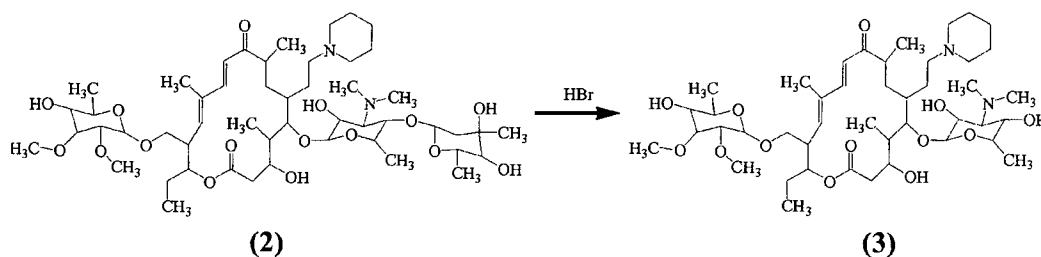
15

[134] Parte A. Aminación reductiva. Preparación del compuesto 23-O-Micinosil-20- Piperidinil-5-O-Micaminosil-tilonolida (2).



El tolueno (19.2 kg), tilosina A (1) (3.68 kg; >80% tilosina A; >95% tilosina A, B, C, & D), piperidina (0.40 kg), y ácido fórmico (0.55 kg) se cargan al reactor. La mezcla se calienta a 70-80° C, mientras se sigue agitando. La agitación luego se continúa en una temperatura durante 1-2 más horas. La formación del compuesto 20-piperidinil-tilosina (2) se monitorea por HPLC. Después que se completa la reacción (< 2% tilosina A (I)), la mezcla de producto se enfría a temperatura ambiente.

[135] **Parte B. hidrólisis ácida del sustituyente micarosiloxi.**
Preparación del compuesto 23-O-micinosil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (3).

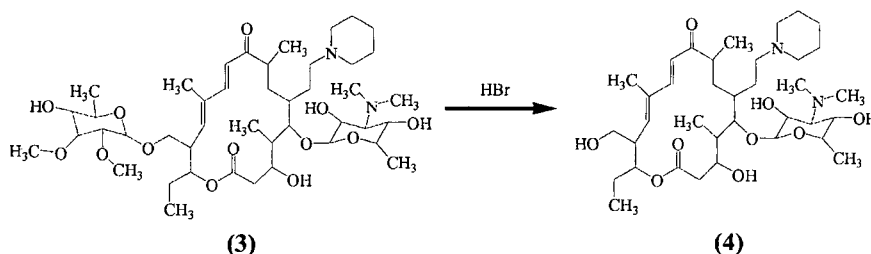


Se agrega HBr (48% HBr diluido a 24%) a la mezcla de producto de Parte A mientras se agita y se mantiene la mezcla a menos de 40° C. Después de esto, las fases en la mezcla de producto se separan utilizando una fase de 20 minutos del periodo de separación. La mezcla de producto es 20-25° C durante esta fase de separación. El HPLC de la fase inferior se utiliza para confirmar la compleción de

la reacción (< 2% de compuesto 20-piperidinil-tilosina (2)).

[136] **Parte C. Hidrólisis ácida del sustituyente micinosiloxi.**

Preparación de 23-Hidroxil-20-Piperidinil-5-O-Micaminosil-tilonolida (4).



5

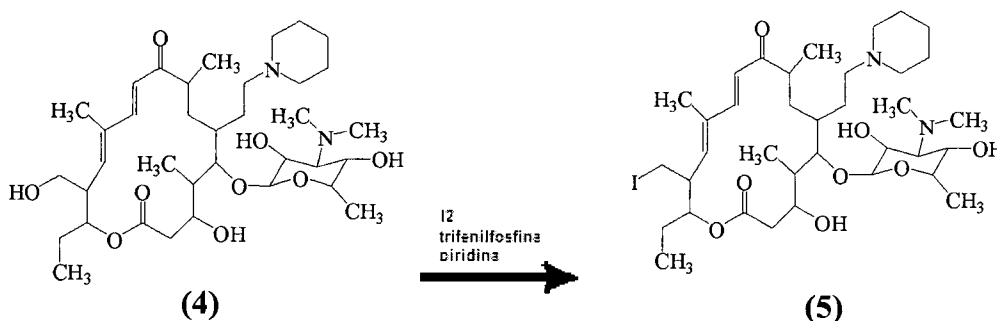
Se agrega 24 por ciento de HBr (18.4 L) a temperatura ambiente para la fase acuosa obtenida a partir de Parte B, seguido por calentamiento a $54 \pm 3^\circ \text{C}$ dentro de aproximadamente 1 hora mientras se agita. La agitación se continúa en esta temperatura durante 2-4 más horas, mientras que la reacción se monitorea utilizando HPLC. Después de la compleción de la reacción (< 2% del compuesto 23-O-micinosil-20- piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (3)), la mezcla se enfría a temperatura ambiente utilizando una chaqueta de enfriada a -10°C . Después de enfriar, la mezcla se extrae con diclorometano tres veces (9.8 kg cada vez). El producto acuoso se enfría a $4-8^\circ \text{C}$, y luego 6 N de NaOH (33.6 kg) se agrega lentamente para ajustar el pH a >10 . La mezcla resultante se extrae con diclorometano tres veces (con 32.6 kg, 29.3 kg, y 24.5 kg) a temperatura ambiente. Las fases orgánicas combinadas se cargan en un reactor de separación. Se agrega sodio sulfato (2.9 kg; Na_2SO_4) y se filtra. El diclorometano (4.9 kg) luego se agrega y se remueve vía destilación. El producto crudo resultante se disuelve y se recrystaliza dos veces en *terc*-butil metil éter (6.1 kg cada vez) a temperatura ambiente. Después de esto, el producto se aísla en un filtro Nutsch, se lava dos veces con *terc*-butii metil éter (1.0 kg cada vez), y se seca en una bandeja para secado bajo vacío durante la noche a 40°C . El producto final se

15

20

analiza utilizando HPLC.

[137] Parte D. Yodinación. Preparación de compuestos activados.



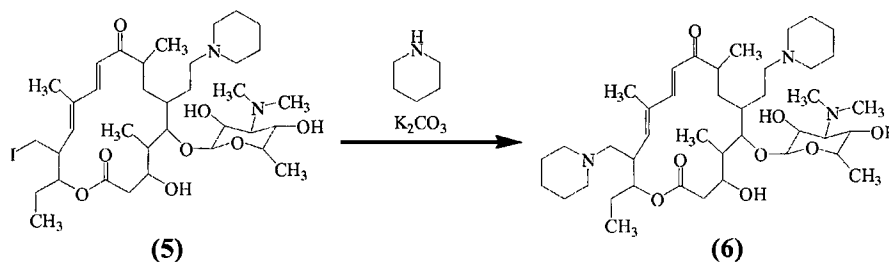
5

El Trifenilfosfina (0.9 kg) y piridina (0.3 kg; libre de agua) se disuelven en diclorometano (11.7 kg) a temperatura ambiente. Luego se agrega yodo (0.8 kg). La mezcla resultante luego se agita hasta que el yodo se disuelve. La mezcla luego se enfría a 13° C. La mezcla enfriada se agrega al producto de Parte C en diclorometano (11.7 kg) mientras se agita a $15 \pm 3^\circ \text{C}$. La reacción se monitorea por HPLC, y se determina para ser completada en 2-2.5 horas (< 2% del compuesto 23-hidroxil-20- piperidinil-5 -O-micaminosil-tilonolida).

10

[138] Parte E. Aminación. Preparación de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (6).

15

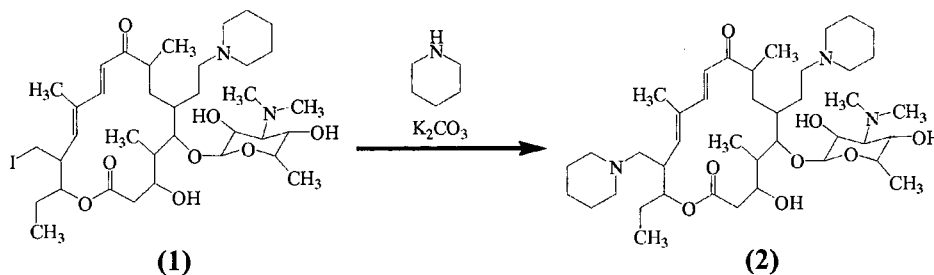


Se agregan carbonato de potasio (1.8 kg), acetonitrilo (16.7 kg), y piperidina (1.1 kg) al producto de Parte D. La mezcla resultante luego se calienta a 78° C mientras se destila el diclorometano. Después el disolvente se cambia por

20

acetonitrilo, la mezcla se agita a 2-2.5 horas en reflujo, y luego se enfría a temperatura ambiente. Después de esto, el carbonato de potasio residual se filtra, la torta de filtro se lava con acetonitrilo (2.8 kg), y el disolvente se destila bajo vacío en una temperatura de chaqueta de 50° C. El residuo resultante se disuelve en acetato de etilo (15.8 kg), y se mezcla con 0.5 N de HCl (35.6 kg). Las fases se separan a temperatura ambiente, y la fase acuosa inferior se extrae tres veces con acetato de etilo (15.8 kg se utilizan cada vez). La fase acuosa resultante se establece a pH de 11 mediante la adición de 6 N de NaOH (6.4 kg) y se extrae tres veces con diclorometano (18.7 kg cada vez) a temperatura ambiente. Las fases orgánicas combinadas inferiores se vuelven a cargar al reactor con sulfato de sodio (5.3 kg). La mezcla luego se filtra para formar una torta, que, a su vez, se lava con diclorometano (4.9 kg) y se seca bajo vacío en una temperatura de chaqueta de 50° C para formar un producto macrolida. Este producto, a su vez, se mezcla con acetonitrilo (21.7 L) y se recrystaliza. Los cristales resultantes se aíslan en un filtro Nutsch, se lava dos veces con acetonitrilo frío (3.5 L cada vez), y se seca bajo vacío a 40° C durante la noche para formar el producto macrolida. La composición del producto se confirma utilizando HPLC.

[139] Ejemplo 2. Aminación alternativa. Preparación de 20,23-Dipiperidinil-5-O-Micaminosil-tilonolida (2).

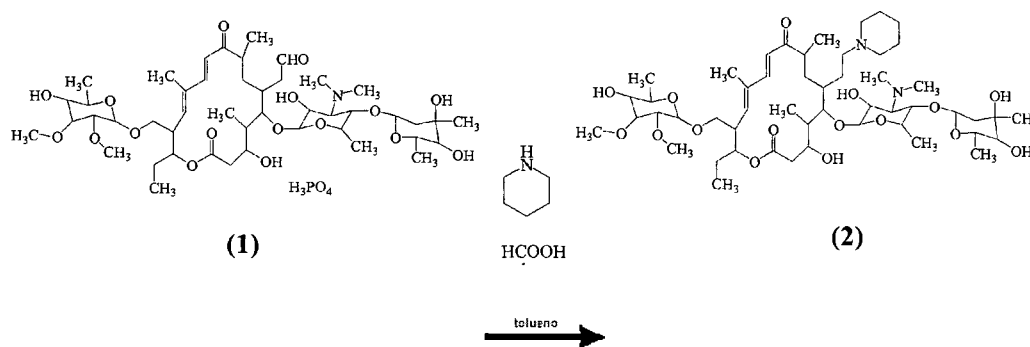


Se agregan carbonato de potasio (0.94 kg), xileno (5 L), y piperidina (0.55 kg) a 1.0 kg de compuesto activado (1) hecho de acuerdo con el procedimiento en

la parte D. La mezcla resultante luego se calienta a 95-105° C durante 15 horas. El trabajo incluye disolver el K₂CO₃ en agua; remover el exceso de piperidina; extraer en HCl diluido; extraer en *terc*-butil metil éter en un pH de 11; conducir un cambio de disolvente a etanol; y precipitar, aislar, y secar el producto crudo. El producto luego se recristaliza de acetato de metilo o acetato de etilo. La composición del producto se confirma utilizando HPLC.

[140] **Ejemplo 3. Otra ilustración de preparación de 20,23-dipiperidinil-5- O-micaminosil-tilonolida.**

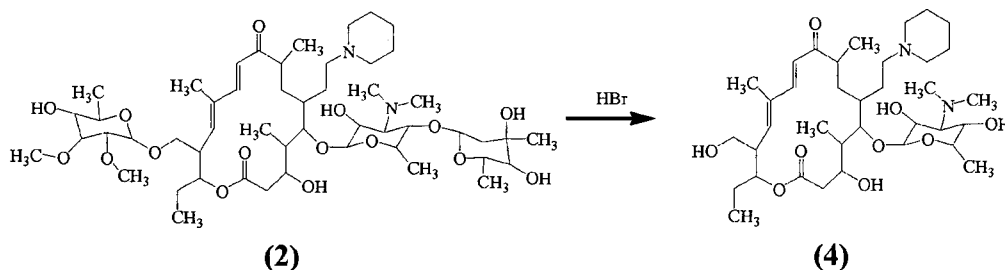
[141] **Parte A. Afinación Reductiva. Preparación del compuesto 23-O-Micinosil-20- Piperidinil-5-O-Micaminosil-tilonolida (2).**



Se carga un reactor con tilosina fosfato (1) y diclorometano (1.3 L por kg de fosfato de tilosina). La mezcla resultante se agita para producir una solución clara. Luego, la piperidina (1.2 eq, con base en el fosfato de tilosina), ácido fórmico (4.5 eq, con base en fosfato de tilosina), y tolueno (6.7 L por kg de fosfato de tilosina) se cargan secuencialmente en el reactor. La mezcla resultante se calienta a 76° C mientras se sigue agitando. La agitación luego se continúa en la temperatura durante 2.5 horas. Luego se carga piperidina adicional (0.1 eq, con base en fosfato de tilosina), y la mezcla resultante se agita a 76° C durante una hora adicional. La mezcla de producto se enfría a 50° C.

[142] **Parte B. Hidrólisis ácida del sustituyente micarosiloxi.**

Preparación de 23-hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (4).



5 [143] Se agrega HBr acuoso (23.3 eq, con base en fosfato de tilosina utilizada en la parte A) a la mezcla del producto de la parte A a 50° C. La mezcla resultante se agita a 56° C durante 5 horas. El HPLC se utiliza para monitorear la reacción.

10 [144] Una vez la conversión deseada se obtiene, la mezcla de producto se enfría. La fase acuosa se extrae dos veces con diclorometano a 25-30° C. La fase acuosa luego se enfría a 0° C, y el pH se ajusta a 10-10.5 con NaOH a <5° C. Después de esto, la fase acuosa se extrae dos veces con diclorometano a 20° C. Las fases orgánicas combinadas resultantes se extraen dos veces con NaHCO₃ acuoso. El diclorometano luego se remueve de las fases orgánicas combinadas vía destilación, y reemplazo con alcohol isopropílico. Después de esto, se agrega el heptano a 45° C para iniciar la precipitación. La mezcla luego se agita a 0° C. Después de esto, el producto cristalino se aísla por filtración. Los cristales aislados se lavan con heptano y alcohol isopropílico, se secan, y se analizan utilizando

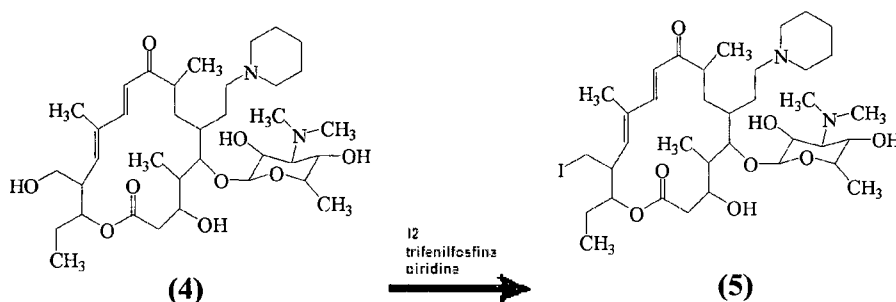
15

20 HPLC.

[145] El procedimiento anterior hace 0.23 kg del producto por kilogramo de fosfato de tilosina utilizado en la parte A. Este producto puede contener alcohol isopropílico. Para remover el alcohol isopropílico, el producto se puede disolver en

tolueno y diclorometano, seguido por destilación.

[146] Parte C. Yodinación. Preparación de compuesto activado.



5

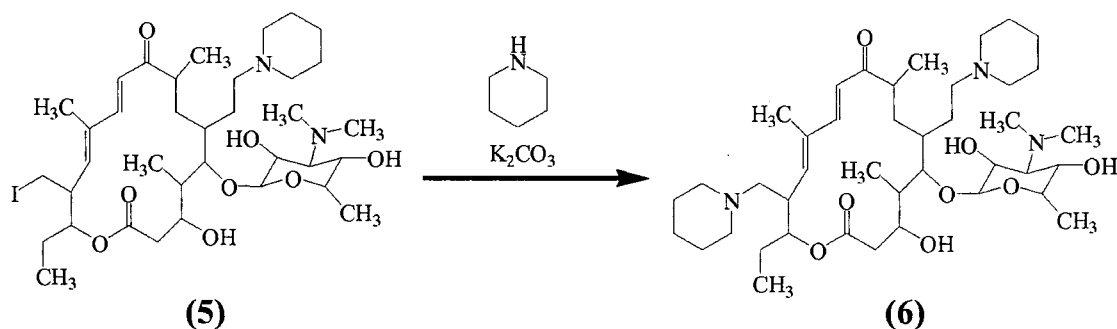
[147] Se disuelve trifenilfosfina (0.41 kg por kg de producto de la parte B) en diclorometano (12 L por kg de trifenilfosfina, <100 ppm H₂O) a 25° C. Luego se agrega piridina (0.3 kg por kg de trifenilfosfina). Luego, se agrega yodo (0.9 kg por kg de trifenilfosfina) en 5 porciones a 25° C. La mezcla resultante se agita durante 40 minutos a 25° C, y luego se enfría a -6° C. La mezcla luego se agrega al producto de la Parte B durante 50 minutos mientras se agita a -6° C. Después de esto, la agitación se continúa durante 7 horas mientras se mantiene la mezcla a -5° C. La reacción se monitorea por HPLC (si no se alcanza la conversión suficiente, la mezcla se puede agitar a -5° C durante una cantidad de tiempo adicional, por ejemplo, 1.5 horas).

15

[148] Cuando la conversión deseada se alcanza, la mezcla de producto se lava con solución de Na₂SO₃ acuosa a -5° C. Luego se remueve diclorometano de la fase orgánica mediante destilación, y se coloca con tetrahidrofurano.

20

[149] Parte D. Aminación. Preparación de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (6).



[150] Se agrega piperidina (0.55 kg por kg del producto de la Parte B) al producto de la Parte C, seguido por carbonato de potasio (0.94 kg por kg del producto de la Parte B). La mezcla resultante se calienta a 55° C, y luego se mantiene a la temperatura durante 3 horas mientras se agita. Después de esto, la mezcla se calienta a 72° C durante 1 hora, y luego se agita en una temperatura durante 6 horas. La composición del producto se analiza utilizando HPLC.

[151] Las palabras “comprenden,” “comprende,” y “que comprende” en esta patente (incluyendo las reivindicaciones) son para ser interpretadas inclusivamente a diferencia de exclusivamente. Esta interpretación se pretende que sea la misma como la interpretación que estas palabras se dan bajo la Ley de Patente de los Estados Unidos.

[152] El término “farmacéuticamente aceptable” se utiliza adjetivamente en su patente significa que el sustantivo modificado es apropiado para uso en un producto farmacéutico. Cuando este se utiliza, por ejemplo, para describir un excipiente o una sal, caracteriza el excipiente o la sal como que tiene un beneficio que pesa más que cualquier efecto deletéreo que el excipiente o la sal puede tener el efecto deseado en el animal receptor.

[153] A menos que se caracterice de otra forma por esta patente, el

término "temperatura ambiente" significa una temperatura de aproximadamente 20 a aproximadamente 25° C.

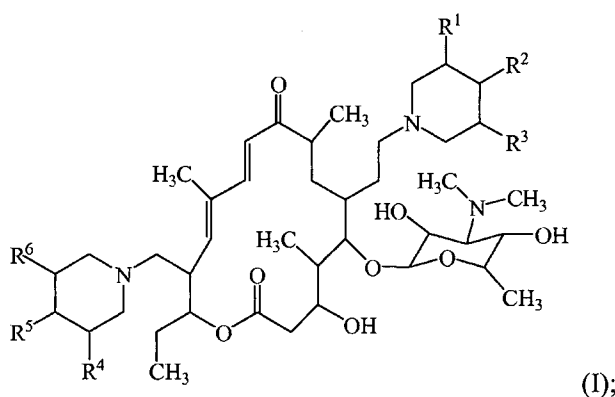
[154] Todas las referencias citadas en esta patente se incorporan como
5 referencia en esta patente.

[155] La anterior descripción detallada de modalidades preferidas se
pretenden solo para familiarizar a otros expertos en la técnica con la invención,
sus principios, y su aplicación práctica dado que otros expertos en la técnica
10 pueden adaptar y aplicar la invención en sus formas numerosas, como ya que
ellos pueden estar mejor adecuados a los requerimientos de un uso particular.
Esta invención, por lo tanto, no se limita a las modalidades anteriores, y se puede
modificar variablemente.

REIVINDICACIONES

REIVINDICAMOS:

- 5 1. Un proceso para elaborar una macrolida o su sal, en donde: la macrolida corresponde en estructura a la Fórmula (I):



el proceso comprende:

10

hacer reaccionar tilosina A (o su sal), un compuesto piperidinilo de la Fórmula (II), y ácido fórmico en la presencia de un disolvente no polar para formar un compuesto 20-piperidinil-tilosina,

15

hacer reaccionar un compuesto 20-piperidinil-tilosina con un ácido p para formar un compuesto 23-O-micinosil-120-piperidinil-5 -O-micaminosil-tilonolida,

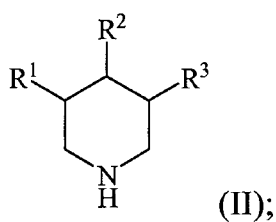
20

hacer reaccionar un compuesto 23-O-micinosil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida con un ácido para formar un compuesto 23-O-micinosil-20-piperidinil-5 -O-micaminosil-tilonolida,

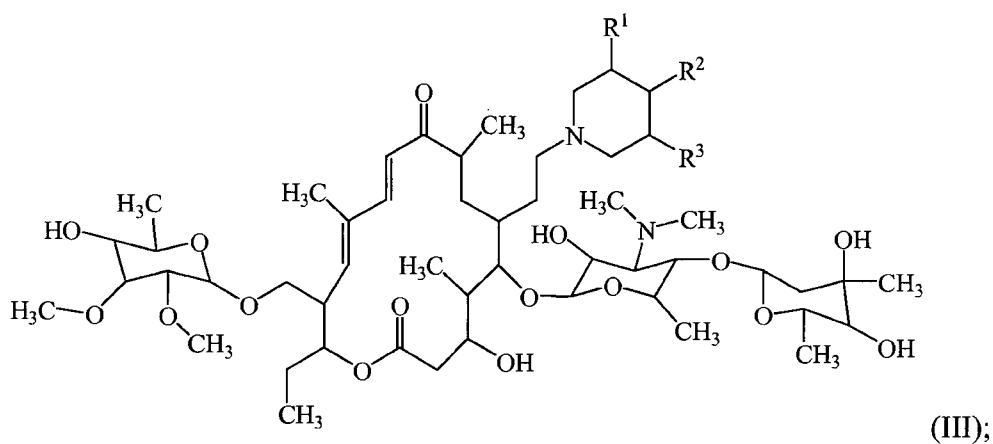
activar un compuesto 23-hidroxi-20-piperidinil-5-O-micaminosil-1 tilonolida con un agente de activación para formar un compuesto activado, o

hacer reaccionar un compuesto activado con un compuesto piperidinilo de la Fórmula (VII);

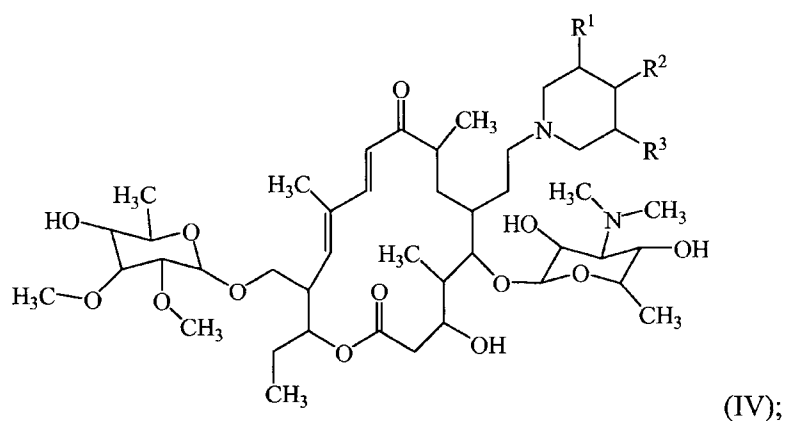
el compuesto piperidinilo de la Fórmula (II) corresponde en la estructura a:



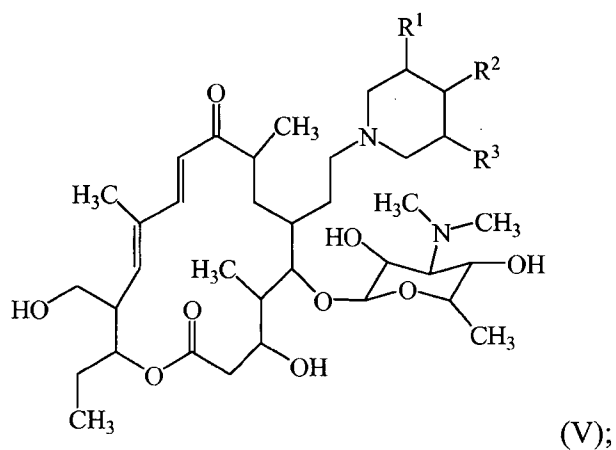
el compuesto 20-piperidinil-tilosina corresponde en estructura a la Fórmula (III):



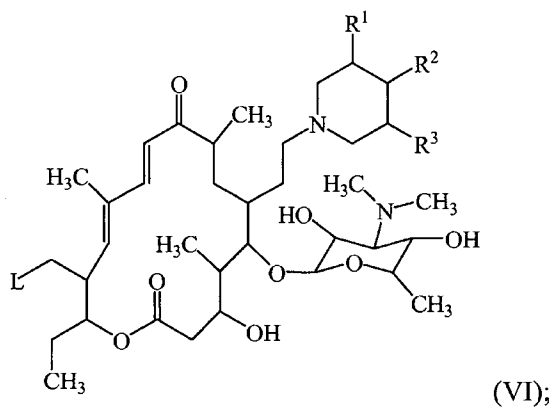
El compuesto 23-O-micinosil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida que corresponde en estructura a la Fórmula (IV):



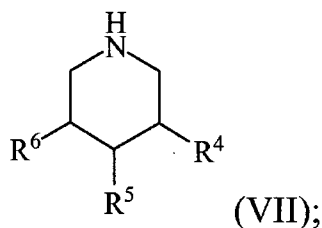
El compuesto 23-hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida
corresponde en estructura a la Fórmula (V):



el compuesto activado corresponde en estructura a la Fórmula (VI):



el compuesto piperidinilo de la Fórmula (VII) corresponde en la estructura a:



L es un grupo saliente; como a R¹, R², y R³:

R¹ y R³ son cada uno metilo, y R² es hidrógeno,

5 R¹ y R³ son cada uno hidrógeno, y

R² es metilo, o

R¹, R², y R³ son cada uno hidrógeno; y

como a R⁴, R⁵, y R⁶:

R⁴ y R⁶ son cada uno metilo, y

10 R⁵ es hidrógeno,

R⁴ y R⁶ son cada uno hidrógeno, y

R⁵ es metilo, o

R⁴, R⁵, y R⁶ son cada uno hidrógeno.

15 2. Un proceso de la reivindicación 1, en donde el proceso comprende hacer reaccionar tilosina A (o su sal), el compuesto piperidinilo de la Fórmula (II), y ácido fórmico en la presencia de un disolvente no polar para formar el compuesto 20-piperidinil-tilosina.

20 3. Un proceso de la reivindicación 1, en donde el proceso comprende hacer reaccionar el compuesto 20-piperidinil-tilosina con un ácido para formar el compuesto 23-O-micinosil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

4. Un proceso de la reivindicación 1, en donde el proceso comprende hacer

reaccionar el compuesto 23-O-micinosil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida con un ácido para formar el compuesto 23-O-micinosil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

- 5 5. Un proceso de la reivindicación 4, en donde el proceso comprende adicionalmente preparar el compuesto 23-O-micinosil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida mediante un proceso que comprende hacer reaccionar el compuesto 20-piperidinil-tilosina con un ácido.
- 10 6. Un proceso de la reivindicación 5, en donde por lo menos una porción del compuesto 23-hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida y por lo menos una porción del compuesto 20-piperidinil-tilosina se hacen reaccionar con HBr.
- 15 7. Un proceso de la reivindicación 1, en donde el proceso comprende activar el compuesto 23-hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida con un agente de activación para formar el compuesto activado.
- 20 8. Un proceso de la reivindicación 1, en donde el proceso comprende hacer reaccionar el compuesto activado con el compuesto piperidinilo de la Fórmula (VII).
9. Un proceso de la reivindicación 8, en donde:
- 25 el proceso comprende adicionalmente:

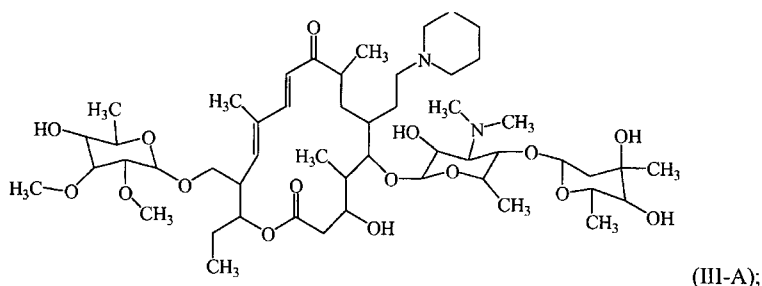
hacer reaccionar tilosina A (o su sal), piperidina, y ácido fórmico en la

presencia de tolueno;

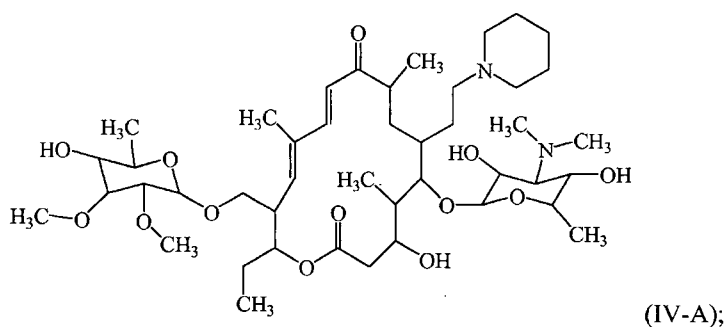
hacer reaccionar el compuesto 20-piperidinil-tilosina con HBr;

5 hacer reaccionar el compuesto 23-O-micinosil-20-piperidinil-5- O-micaminosil-tilonolida con HBr; y

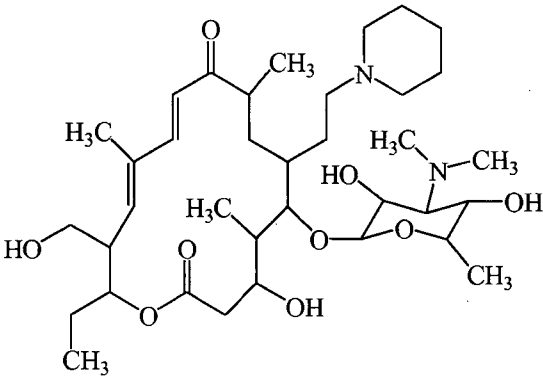
activar el compuesto 23-O-micinosil-20-piperidinil-5- O-micaminosil-tilonolida con un agente de activación; el compuesto 20-piperidinil-tilosina
10 corresponde en estructura a la Fórmula (III-A):



el compuesto 23-O-micinosil-20-piperidinil-5- O-micaminosil-tilonolida
corresponde en estructura a la Fórmula (IV-A):

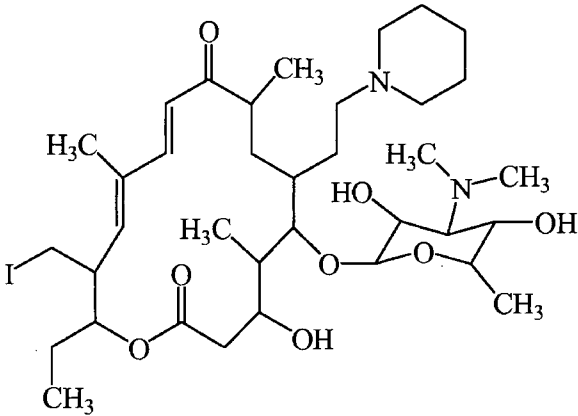


15 el compuesto 23-O-micinosil-20-piperidinil-5- O-micaminosil-tilonolida
corresponde en estructura a la Fórmula (V-A):



(V-A);

el compuesto activado corresponde en estructura a la Fórmula (VI-A):



(VI-A);

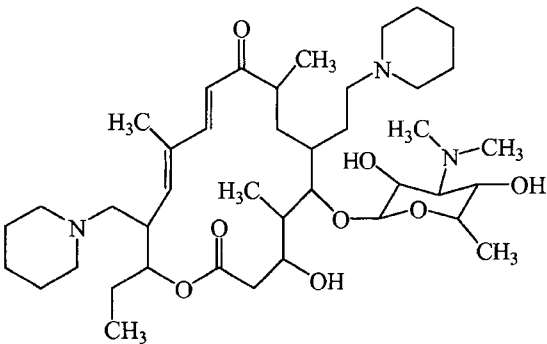
5

el agente de activación se prepara mediante un proceso que comprende mezclar I₂, trifenilfosfina, y piridina;

el compuesto piperidinilo de la Fórmula (VII) comprende piperidina; y

10

la macrolida corresponde en estructura a la Fórmula (I -A):



(I-A).

10. Un método para tratar una enfermedad, en donde la enfermedad se selecciona del grupo que consiste de pasteurelosis, enfermedad respiratoria porcina, y enfermedad respiratoria bovina; y

5

el método comprende:

preparar una macrolida o su sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con una cualquiera de reivindicaciones 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, y 9; y

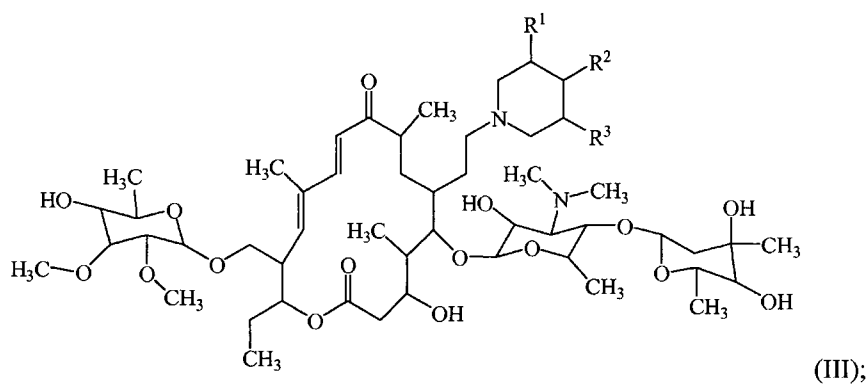
10

administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de la macrolida o la sal para un animal en necesidad de tal tratamiento.

11. Un proceso para elaborar un compuesto 20-piperidinil-tilosina o su sal, en donde:

15

el compuesto 20-piperidinil-tilosina corresponde en estructura a la Fórmula (III):

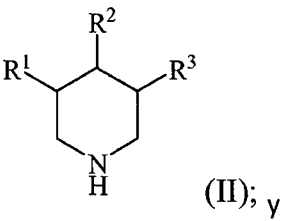


20

el proceso comprende hacer reaccionar tilosina A (o su sal), un compuesto piperidinilo de la Fórmula (II), y ácido fórmico en la presencia de un

disolvente no polar;

el compuesto piperidinilo de la Fórmula (II) corresponde en la estructura a:



5

como a R¹, R², y R³:

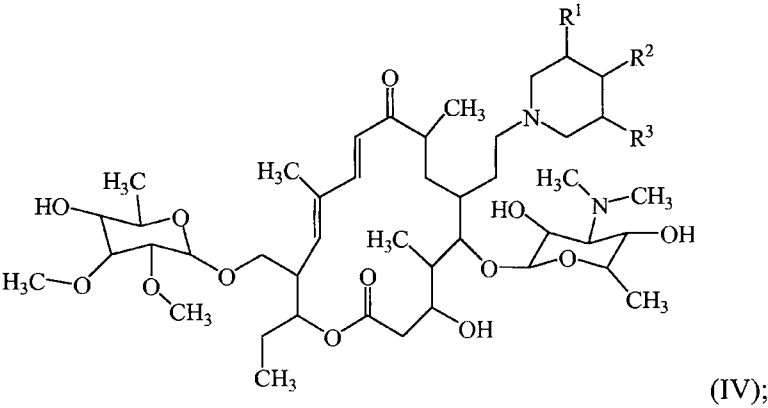
- R¹ y R³ son cada uno metilo, y R² es hidrógeno,
R¹ y R³ son cada uno hidrógeno, y R² es metilo, o
R¹, R², y R³ son cada uno hidrógeno.

10

12. Un proceso para elaborar un compuesto 23-O-micinosil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida o su sal, en donde:

El compuesto 23-O-micinosil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida corresponde en estructura a la Fórmula (IV):

15

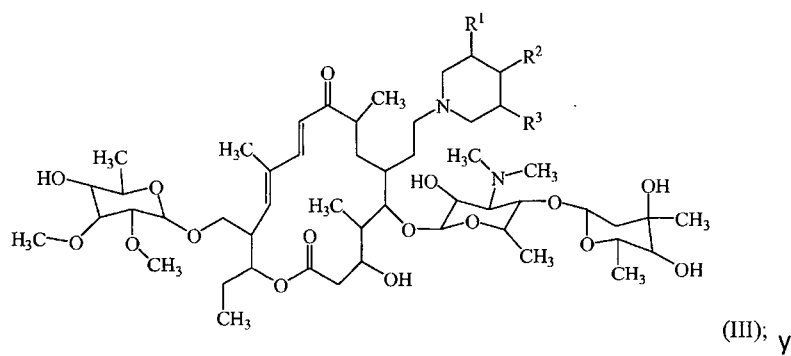


el proceso comprende hacer reaccionar un compuesto 20-piperidinil-tilosina con HBr; el compuesto 20-piperidinil-tilosina corresponde en estructura a la

20

187

Fórmula (III):

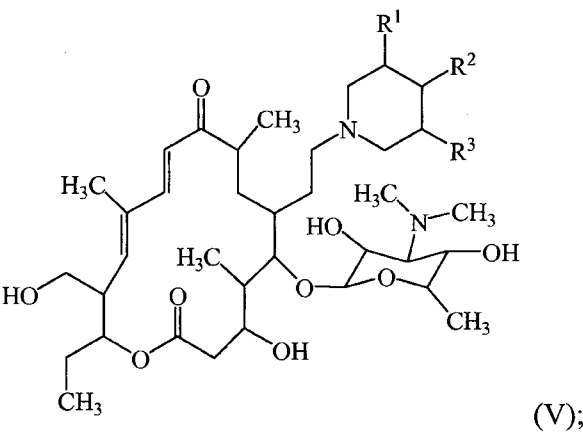


como a R¹, R², y R³:

R¹ y R³ son cada uno metilo, y R² es hidrógeno,
R¹ y R³ son cada uno hidrógeno, y R² es metilo, o
R¹, R², y R³ son cada uno hidrógeno.

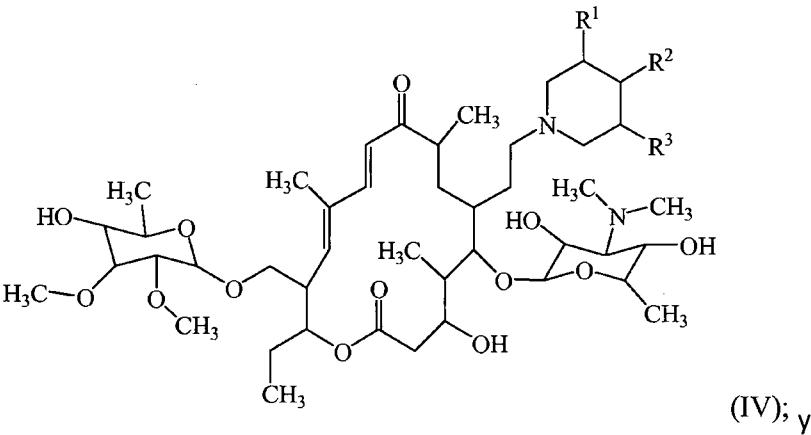
10 13. Un proceso para elaborar un compuesto 23-hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida o su sal, en donde:

el compuesto 23-O-micinosil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida corresponde en estructura a la Fórmula (V):



el proceso comprende hacer reaccionar un compuesto 23-O-micinosil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida con un ácido;

el compuesto 23-O-micinosil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida
corresponde en estructura a la Fórmula (IV):



5

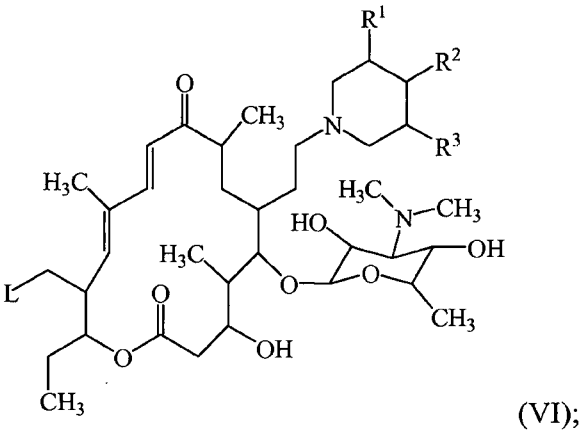
como a R¹, R², y R³:

R¹ y R³ son cada uno metilo, y R² es hidrógeno,
R¹ y R³ son cada uno hidrógeno, y R² es metilo, o
R¹, R², y R³ son cada uno hidrógeno.

10

14. Un proceso para elaborar un compuesto activado o su sal, en donde:

el compuesto activado corresponde en estructura a la Fórmula (VI):



15

12, 13, 14, y 15, en donde R^1 , R^2 , y R^3 son cada uno hidrógeno.

18. Un proceso de una cualquiera de reivindicaciones 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, y 8, en donde R^4 , R^5 , y R^6 son cada uno hidrógeno.

5

19. Un proceso de una cualquiera de reivindicaciones 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, y 8, en donde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , y R^6 son cada uno hidrógeno.

PROCESO DE SÍNTESIS DE MACROLIDA

RESUMEN

5 Esta invención se relaciona con un método para elaborar macrolidas, y, en particular, a un método para elaborar opcionalmente 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-1-tilonolida sustituido y sus derivados, así como también usos de macrolidas para elaborar medicamentos, métodos de tratamiento utilizando macrolidas, y métodos para elaborar intermedios que, *entre otros*, se pueden
10 utilizar para elaborar macrolidas.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

192

International application No
PCT/EP2007/057710

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07H17/08

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07H

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, BEILSTEIN Data, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 03/027250 A2 (NASA [US]) 3 April 2003 (2003-04-03)	1-9, 11-13, 15-19
X	page 14 - page 17; compounds VI, VII, VIII, IX	14
A	GB 2 135 670 A (LILLY CO ELI) 5 September 1984 (1984-09-05) page 7, line 30 - page 8, line 28	1-9, 11-19
A	WO 94/02496 A (PFIZER [US]; HECKER SCOTT J [US]; JEFSON MARTIN R [US]; MCFARLAND JAME) 3 February 1994 (1994-02-03) page 12 - page 15	1-9, 11-19
A	US 3 459 853 A (GORMAN MARVIN ET AL) 5 August 1969 (1969-08-05)	1-9, 11, 14
Y	column 3; example 2	12, 13, 17
	-/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E earlier document but published on or after the international filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

Z document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

27 November 2007

Date of mailing of the international search report

08/02/2008

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Nikolai, Joachim

193

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2007/057710

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 6 514 946 B1 (MIYAKE TOSHIAKI [JP] ET AL) 4 February 2003 (2003-02-04) column 17; examples 1,2 column 6; compounds DMP-MT -----	1-9, 11-19
A	LAWRENCE C. CREEMER ET AL.: JOURNAL OF ANTIBIOTICS, vol. 56, no. 5, 2003, pages 481-487, XP009076866 -----	1-9, 11-13, 15-19
X	figure 1; compounds 3-6 -----	14
A	MANUEL DEBONO, ET AL.: JOURNAL OF ANTIBIOTICS, vol. XLII, no. 8, 1989, pages 1253-1267, XP009076838 figure 3 -----	1-9, 11-19
A	H. A. KIRST ET AL.: JOURNAL OF ANTIBIOTICS, vol. XL, no. 6, 1987, pages 823-842, XP009076836 figures 1,3 -----	1-9, 11-19
A	EP 0 240 264 A (LILLY CO ELI [US]) 7 October 1987 (1987-10-07) cited in the application example 4 -----	11
Y	US 4 629 786 A (DEBONO MANUEL [US] ET AL) 16 December 1986 (1986-12-16) cited in the application column 9, line 44 - line 57 -----	12,13,17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2007/057710

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claim 10 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International search report covers allsearchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search reportcovers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

1-9, 11-19

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

L95

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-9,11-19

Processes for producing C-20 and C-23 piperidine derivatives of macrolides.

2. claim: 10

Method for the treatment of pasteurellosis, swine and bovine respiratory diseases using C-20 and C-23 piperidine derivatives of macrolides.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2007/057710

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 03027250	A2	03-04-2003	AU 2002341839 A1 US 6506885 B1	07-04-2003 14-01-2003
GB 2135670	A	05-09-1984	AU 561861 B2 AU 2503584 A DE 3474831 D1 DK 98184 A EP 0124216 A1 ES 8602742 A1 FI 840780 A GR 79821 A1 HU 35693 A2 NZ 207259 A PL 246417 A1 PT 78141 A	21-05-1987 06-09-1984 01-12-1988 29-08-1984 07-11-1984 16-03-1986 29-08-1984 31-10-1984 29-07-1985 20-02-1987 12-03-1985 01-03-1984
WO 9402496	A	03-02-1994	AT 161265 T AU 4401093 A BR 9306741 A CA 2140243 A1 CN 1083068 A CZ 9500099 A3 DE 69315839 D1 DE 69315839 T2 DK 649430 T3 EP 0649430 A1 FI 933204 A GR 3026064 T3 HU 65330 A2 JP 2836964 B2 JP 7504922 T MX 9304301 A1 PL 307137 A1 SK 4795 A3 US 5545624 A	15-01-1998 14-02-1994 08-12-1998 03-02-1994 02-03-1994 12-07-1995 29-01-1998 09-04-1998 09-02-1998 26-04-1995 16-01-1994 29-05-1998 02-05-1994 14-12-1998 01-06-1995 28-02-1994 02-05-1995 11-07-1995 13-08-1996
US 3459853	A	05-08-1969	BE 667952 A CH 478156 A CY 491 A DE 1545770 A1 DK 112949 B GB 1112211 A NL 6510134 A SE 326192 B	15-09-1969 06-05-1969 10-07-1969 03-02-1969 01-05-1968 07-02-1966 20-07-1970
US 6514946	B1	04-02-2003	AT 261450 T AU 763732 B2 AU 6729400 A CA 2391834 A1 DE 60008895 D1 DE 60008895 T2 DK 1216256 T3 EP 1216256 A1 ES 2213597 T3 WO 0116148 A1 PT 1216256 T	15-03-2004 31-07-2003 26-03-2001 08-03-2001 15-04-2004 20-01-2005 21-06-2004 26-06-2002 01-09-2004 08-03-2001 30-07-2004
EP 0240264	A	07-10-1987	AR 247402 A1	29-12-1994

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

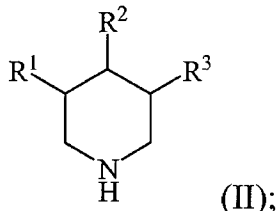
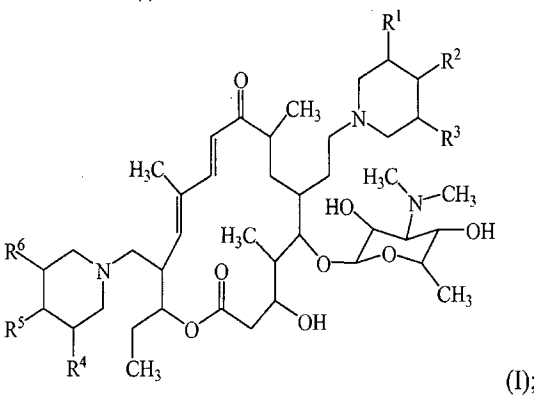
PCT/EP2007/057710

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0240264	A	AU 593894 B2	22-02-1990
		AU 7067087 A	08-10-1987
		CA 1292737 C	03-12-1991
		CN 87102397 A	07-10-1987
		DE 3772423 D1	02-10-1991
		DK 154087 A	01-10-1987
		EG 18550 A	30-10-1993
		ES 2028865 T3	16-07-1992
		GR 3002764 T3	25-01-1993
		HK 82492 A	30-10-1992
		HU 43087 A2	28-09-1987
		IE 61018 B1	07-09-1994
		IL 82005 A	16-08-1991
		JP 1983229 C	25-10-1995
		JP 7010876 B	08-02-1995
		JP 62240681 A	21-10-1987
		NZ 219784 A	27-01-1989
		PT 84561 A	01-04-1987
		US 4921947 A	01-05-1990
		ZA 8702201 A	26-10-1988
US 4629786	A	16-12-1986	NONE

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) N° de solicitud:		(51) Int Cl: C07H 017/008	
22) Fecha de solicitud:		(71) Solicitante(s) INTERVET INTERNARIONAL B.V. Y MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH FOUNDATION	
(30) Prioridad	(31) Prioridad 60/834,067 06118159.0	(32) Fecha 28/07/2006 31/07/2006	(33) País US EP
		(72) Inventor(es) FRITZ BLATTER Y OTROS	
		(74) Apoderado: EMILIO FERRERO	
(85) Fecha limite inicio fase nacional: 28/02/2009		(87) Publicación internacional	
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT		Fecha: 31/01/2008	
Fecha de presentación de la solicitud: 26/07/2007		N° publicación: WO 2008/012343 A3	
No. de solicitud PCT/EP2007/057710			
(54) Titulo: PROCESO DE SINTESIS DE MACROLIDA			

Reivindicación(es):

1. Un proceso para elaborar una macrolida o su sal, en donde: la macrolida corresponde en estructura a la Fórmula (I):



el proceso comprende:

hacer reaccionar tilosina A (o su sal), un compuesto piperidinilo de la Fórmula (II), y ácido fórmico en la presencia de un disolvente no polar para formar un compuesto 20-piperidinil-tilosina,

hacer reaccionar un compuesto 20-piperidinil-tilosina con un ácido para formar un compuesto 23-O-micinosil-120-piperidinil-5 -O-micaminosil-tilonolida,

hacer reaccionar un compuesto 23-O-micinosil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida con un ácido para formar un compuesto 23-O-micinosil-20-piperidinil-5 -O-micaminosil-tilonolida,

activar un compuesto 23-hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-1 tilonolida con un agente de activación para formar un compuesto activado, o

hacer reaccionar un compuesto activado con un compuesto piperidinilo de la Fórmula (VII);

el compuesto piperidinilo de la Fórmula (II) corresponde en la estructura a:

199

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 09 - 3,080
FECHA : ENERO 14 DE 2009

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-007875- -00000-0000

Fecha: 2009-01-28 17:07:34 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEIYII Eve. 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 200

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	102218922	13/01/2009	61,689,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	540,000.00
TOTAL :			\$ 540,000.00

SON: QUINIENTOS CUARENTA MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No.

Colo 16885-841.001-7

260.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 09 - 2,967
FECHA : ENERO 14 DE 2009

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-007875- -00000-0000

Fecha: 2009-01-28 17:07:34 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 200

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	102218922	13/01/2009	61,689,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-03	CAMBIO DE MODALIDAD Y MODIFICA	
12		MARCAS Y LEMAS COMERCIALES	111,000.00
		TOTAL :	\$ 111,000.00

SON: CIENTO ONCE MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No.

06 16885-8910017

**REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE
PCT**

PATENTE DE INVENCION

☒

MODELO DE UTILIDAD ☐

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de una patente ☒
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☒
- ◆ Descripción de la invención ☒
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes ☐
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☒

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial ☐
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☐
- ◆ Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño ☐
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☐

COMPLETA ☐

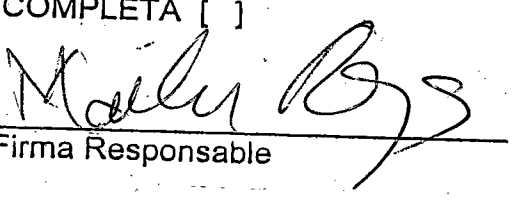
INCOMPLETA ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado ☐
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☐
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado ☐
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☐

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐


Firma Responsable

Fecha

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-007875- -00000-0000

Fecha: 2009-01-28 17:07:34 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 200

arrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
Conmutador: 3 82 08 40
Fax: 350 52 20
E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

202

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)
FERRERO EMILIO
Apoderado(a) y/o Representante de
INTERVET INTERNATIONAL B.V.
MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH FOUNDATION

REFERENCIA	Radicación No.	9 7875
	Solicitud internacional	PCT/EP2007/057710
	Fecha inicio fase nacional	28/02/2009
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	

- 3772

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

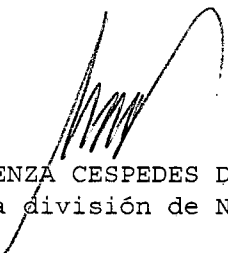
Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No.10 de 2001.

Continúa en la página siguiente...

203

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Radicación No.: 9 7875


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de
fecha 27 MAR. 2009
jfernand