(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 785 644**

(51) Int. Cl.:

***A61K 31/7048*** (2006.01)
***A61P 31/06*** (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.12.2016 PCT/CN2016/108502**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **06.07.2017 WO17114095**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.12.2016 E 16880885 (5)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.02.2020 EP 3384915**

(54) Título: **Carrimicina para el tratamiento de infecciones por Mycobacterium tuberculosis**

(30) Prioridad:

**31.12.2015 CN 201511030787**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
**07.10.2020**

(73) Titular/es:

**SHENYANG FUYANG PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY CO., LTD. (100.0%)**
**18-12 Yaoyang Street Shenbei New District**
**Shenyang, Liaoning 110013, CN**

(72) Inventor/es:

**WANG, YIGUANG;**
**JIANG, YANG;**
**ZHAO, XIAOFENG y**
**HE, WEIQING**

(74) Agente/Representante:

**CURELL SUÑOL, S.L.P.**

**ES 2 785 644 T3**

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

## DESCRIPCIÓN

Carrimicina para el tratamiento de infecciones por *Mycobacterium tuberculosis*

### Campo técnico

La presente descripción se refiere a una utilización de antibióticos macrólidos en el tratamiento de infecciones por bacilos tuberculosos.

### Antecedentes

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa crónica que resulta de la infección por *Mycobacterium tuberculosis* (MTB). Afecta principalmente a los pulmones, y es una enfermedad con la mayor cantidad de víctimas unicausales entre las enfermedades infecciosas. La tuberculosis es común en personas con baja función inmunológica, y es una enfermedad de infección oportunista muy común relacionada con el SIDA (síndrome de inmunodeficiencia adquirida). La Organización Mundial de la Salud (OMS) informó de que cada año aparecen 8 a 10 millones de nuevos casos de tisis en todo el mundo, y 3 a 4 millones de personas mueren de tuberculosis, y los países en desarrollo tienen más pacientes. Además, se pronostica que entre 2000 y 2020, alrededor de mil millones de personas se infectarán, y 35 millones de personas morirán de tuberculosis. Al mismo tiempo, la resistencia a los fármacos contra MTB aumenta con los años, y se convertirá en una gran amenaza para el control de la tuberculosis en todo el mundo. Nuestro país es uno de los 22 países con una alta incidencia de tuberculosis en todo el mundo, el número de pacientes que padecen tuberculosis activa ocupa el segundo lugar en el mundo, y las características epidémicas incluyen alta tasa de infección, alta tasa de casos, alta resistencia a los fármacos y alta tasa de mortalidad, y 1/4 o más de 2 millones de pacientes positivo a MTB en todo el país son pacientes resistentes a los fármacos contra el bacilo tuberculoso.

En la actualidad, los fármacos de primera línea usados comúnmente para el tratamiento clínico de la tuberculosis (con actividad de resistencia a la tuberculosis por *Mycobacterium* definida) comprenden 5 tipos, es decir, rifampicina, isoniazida, estreptomicina, etambutol y pirazinamida. Sin embargo, estos fármacos presentan muchas reacciones adversas, presentan una acción bactericida limitada. El curso del tratamiento es relativamente largo, y generalmente se usan durante más de 6 meses. Y los pacientes presenta un mal cumplimiento. Los antituberculósicos de segunda línea (con acción bacteriostática sobre *Mycobacterium tuberculosis*) comprenden capreomicina, etionamida, ácido p-aminosalicílico, cicloserina, ciprofloxacina, amikacina, kanamicina, etc. Sin embargo, estos fármacos presentan una mayor reacción adversa, y el curso del tratamiento es más largo (18 a 24 meses), el coste es caro, y la tasa de curación es más baja. Es de destacar que las investigaciones clínicas muestran que todos los antituberculósicos de primera línea pueden causar lesiones a los hígados. Por ejemplo: las reacciones adversas de la isoniazida comprenden neuritis periférica, hepatotoxicidad, trastorno del sistema nervioso central, y alergia. Las reacciones adversas de la rifampicina comprenden hepatotoxicidad, molestias en el tubo digestivo, síntomas neurológicos y alergia. Una reacción adversa de etambutol se manifiesta principalmente por toxicidad del nervio óptico. Las reacciones adversas de la pirazinamida comprenden xantocromía y aumento del contenido de ácido úrico en sangre. Los problemas de toxicidad y resistencia a los fármacos bacterianos de la estreptomicina limitan seriamente el uso de estreptomicina, y la tasa de incidencia de la resistencia a los fármacos bacterianos se puede reducir mediante el uso conjunto de la estreptomicina con otros fármacos; aunque los usos clínicos son pocos, la estreptomicina todavía sirve como antituberculósico de primera línea. [Zhu, shanmei, Strait Pharmaceutical Journal, 2010, 22 (2): 123-125] Además, se informó de que las investigaciones en 518 cepas de *Mycobacterium tuberculosis* separadas clínicamente en 2010 muestran que, entre los fármacos de primera línea, la tasa de resistencia más alta de *Mycobacterium tuberculosis* a isoniazida es 53.67%, y la resistencia a estreptomicina es 45.95%; entre los fármacos de segunda línea, la resistencia a ofloxacina alcanza 39.77%, la resistencia a la amikacina es 15.83%, y la resistencia a capreomicina es 21.81%; entre 321 cepas resistentes a uno o más fármacos de primera línea, la resistencia a ofloxacina alcanza hasta el 57.01%, y la resistencia a amikacina y la resistencia a capreomicina son 25.55% y 33.02%, respectivamente; entre 217 cepas resistentes a múltiples fármacos, la resistencia a ofloxacina alcanza 72.35% [Liu, Yidian, et al., Compilation of Academic conference on clinical foundation profession of Anti-Tuberculosis Association of China in 2010, página 274-275]. Esto conlleva un gran desafío para la implementación del trabajo de control de la tuberculosis, particularmente el trabajo de control de la tuberculosis resistente a múltiples fármacos, en nuestro país. Por lo tanto, ya es urgente encontrar lo antes posible sustitutos para la resistencia a *Mycobacterium tuberculosis*, particularmente cepas resistentes a múltiples fármacos.

Los nuevos fármacos macrólidos, es decir, claritromicina, azitromicina y roxitromicina, son derivados de la eritromicina de 14 miembros, son diferentes de los antituberculósicos de primera y segunda línea en el mecanismo de acción antibacteriano, se unen de forma reversible con subunidades 50S del ribosoma en los tallos, e interfieren en la síntesis de proteínas. Se informa a nivel nacional que la MIC de claritromicina para *Mycobacterium tuberculosis* sensible es 0.25-2.0 microgramos/mililitro, y la MIC de claritromicina para bacterias resistentes a fármacos es 2.0-32 microgramos/mililitro; y la MIC de azitromicina para *Mycobacterium tuberculosis* es 128 microgramos/mililitro [Tang, Shenjie, latest progress of antituberculotic research, Anti-Tuberculosis Journal of China, página 1-3, suplemento, Vol.28, 2006]. Se informó en el extranjero que la MIC de claritromicina para *M.*

*tuberculosis* H37Rv (ATCC 27294) es 6 microgramos/mililitro; la MIC de azitromicina es 95 microgramos/mililitro [Kanakeshwari Falzari et al: In vitro and in vivo activities of macrolide derivatives against Mycobacterium tuberculosis. Antimicrob. Agents and Chemother. 2005, 49(4): 1447-1454]; y la MIC de roxitromicina es mayor o igual a 64 microgramos/mililitro. Este tipo de fármacos no se incluyen en los fármacos para el tratamiento clínico de infecciones por *Mycobacterium tuberculosis*, pero existen informes de tratamiento clínico de enfermedades infectadas por bacilos tuberculosos usando fármacos de forma independiente o usando los fármacos junto con antituberculósicos. [Xu, Li, et al., Investigation of application of antituberculotic related antibacterial drugs for Shenzhen inpatients, Anti-Tuberculosis Journal of China, 2010, 32 (3): 151-154].

Demostrado por investigaciones, los antibióticos ciclomacrólidos de 16 y 14 miembros presentan mecanismos de acción antibacterianos similares. Estos tipos de fármacos presentan una baja actividad frente a *Mycobacterium tuberculosis*, por ejemplo, la MIC de tilosina para M. tuberculosis H37Rv (ATCC 27294) es 58.6 microgramos/mililitro, y tanto la MIC de espiramicina como la MIC de medemicina son mayores que 100 microgramos/mililitro [Kanakeshwari Falzari et al: In vitro and in vivo activities of macrolide derivatives against Mycobacterium tuberculosis. Antimicrob. Agents and Chemother. 2005, 49(4): 1447-1454]. Por lo tanto, hasta el momento no existe ningún informe relacionado sobre el tratamiento clínico de la tuberculosis usando este tipo de antibióticos a nivel nacional y en el extranjero.

Un nuevo antibiótico macrólido de 16 miembros, es decir, carrimicina (nombre antiguo: shengjimicina y biotechspiramicina), desarrollado por nuestro laboratorio, es la espiramicina acilada en 4'' tomando como ingrediente principal la isovaleril espiramicina, y un mecanismo de acción de la carrimicina es inhibir la síntesis de proteínas mediante la unión a ribosomas de la bacteria. Mostrado por los resultados de ensayos in vivo e in vitro, la carrimicina es efectiva contra bacterias grampositivas, particularmente algunas bacterias resistentes a fármacos (por ejemplo, Staphylococcus aureus resistente a β-lactama, Staphylococcus aureus resistente a eritromicina, etc.), y está libre de resistencia cruzada a fármacos obvia con fármacos similares. Al mismo tiempo, la carrimicina presenta una actividad antibacteriana muy buena contra micoplasma y clamidia; asimismo presenta una acción antibacteriana sobre parte de bacterias gramnegativas; y asimismo presenta un buen efecto antibacteriano sobre toxoplasma, legionella, etc. [Wang, Yiguang, et al., "Biotechspiramycin and application thereof in infectious disease resistance", 23 de diciembre de 2003, descripción de patente china: ZL 2003 1 0122420.9]. La carrimicina presenta una buena penetrabilidad en los tejidos, y la actividad antibacteriana *in vivo* de la carrimicina es obviamente superior a la actividad antibacteriana *in vitro*. Y la carrimicina presenta una acción de inmunorregulación potencial. Demostrado por investigaciones clínicas de fases I, II y III, la carrimicina es un antibiótico que es seguro en su utilización y notable en el efecto del tratamiento. Fuera del laboratorio, desarrolla aún más los efectos potenciales de la carrimicina, y la indicación clínica y el alcance del uso de la carrimicina se amplían.

**Sumario**

Un objetivo de la presente descripción es proporcionar una serie de detecciones e investigaciones experimentales sobre la actividad de la carrimicina en *Mycobacterium tuberculosis* clínicamente separada, para demostrar que la carrimicina posiblemente presenta una nueva utilización en el tratamiento de enfermedades infectadas por bacilo tuberculoso.

Según la presente descripción, las etapas principales son las siguientes: bacilo de tubérculo clínicamente separado, es decir, la actividad de resistencia a *Mycobacterium tuberculosis* de la carrimicina se mide mediante adoptando un método de concentración absoluta, y los fármacos de primera línea antituberculósicos usados clínicamente, es decir, isoniazida y rifampicina, se toman como controles. Demostrado por resultados experimentales, la carrimicina muestra actividad contra 172 cepas de 240 cepas de *Mycobacterium tuberculosis* separadas clínicamente, y presenta una tasa efectiva total del 71.66%; 37 cepas presentan una actividad superior a la de la isoniazida, y representan el 21.5% de las cepas efectivas; 39 cepas presentan una actividad superior a la de la rifampicina, y representan el 22.7% de las cepas efectivas; y 23 cepas presentan una actividad superior a la de la isoniacida y la de la rifampicina, y representan el 13.4% de las cepas efectivas. Los resultados de la presente descripción muestran que se desarrolla ventajosamente la nueva utilización de carrimicina en el tratamiento de enfermedades infectadas por *Mycobacterium tuberculosis*, que es resistente a la isoniacida y la rifampicina.

La presente descripción proporciona además la utilización de una composición en la fabricación de fármacos para tratar enfermedades infectadas con bacilo tuberculoso, la composición comprende carrimicina como principio activo y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Según la utilización proporcionada por la presente descripción, se puede usar formulación oral, formulación de inyección, o cualquier otra formulación apropiada.

**Descripción detallada**

Las formas de realización a continuación se proporcionan únicamente para ayudar al experto en la materia a comprender mejor la presente descripción, en lugar de limitar la presente descripción de ninguna manera.

En formas de realización específicas, se llevan a cabo una serie de investigaciones sobre la medida de la actividad de resistencia a *Mycobacterium tuberculosis* de la carrimicina tomando antituberculósicos de primera línea usados frecuentemente como controles en la clínica. En los resultados se muestra que, para *Mycobacterium tuberculosis* clínicamente separada, la cantidad de cepas efectivas sobre las cuales actúa la carrimicina es mayor que la de los grupos de control. La carrimicina se aplica para tratar algunas enfermedades infectadas por *Mycobacterium tuberculosis* resistentes a fármacos.

<Forma de realización 1> Adquisición y tratamiento de la muestra de *Mycobacterium tuberculosis*

Según las disposiciones del National Standard WS288-2008 <Pulmonary Tuberculosis Diagnosis Standard> expedido por el Ministry of Health, se seleccionan pacientes que son definitivamente diagnosticados o altamente sospechosos de tuberculosis por manifestaciones clínicas, signos y examen de radiografías de tórax. Se recogieron de los pacientes seleccionados alrededor de 2 ml de muestras de esputo, hidrotórax, líquido cefalorraquídeo y pus, y cada muestra se añadió a un tubo de centrifugadora de 50 ml con un tapón de rosca. Se añadió en el tubo de centrífuga una cantidad igual de disolución de pretratamiento de hidróxido de sodio - N-acetil-L-cisteína (NaOH-NALC), y se sometió a vórtice durante 20 segundos. El material oscilante se dejó reposar durante 18 minutos a temperatura ambiente. Se añadió PBS (pH 6.8) hasta que el volumen es 40 ml, centrifugando a 3000 g durante 20 minutos, y luego se descartó el sobrenadante obtenido y se reservaron los precipitados. Se añadieron 2 ml de PBS (pH 6.8) para preparar una suspensión. Se inoculó un medio de cultivo con la muestra tratada, para cultivo sólido.

<Forma de realización 2> Aislamiento, cultivo e identificación de la muestra de *Mycobacterium tuberculosis*

1. Preparación de un medio de cultivo:

Los ingredientes del medio de cultivo son como se muestran en la tabla 1. Todos los ingredientes se añadieron a agua destilada según la dosis indicada, y los ingredientes se disolvieron por completo. Hervir durante 30 minutos, o 15 minutos a alta presión a la temperatura de 121ºC.

Se tomaron huevos de gallina recientes, se lavaron con agua del grifo, se cepillaron con agua jabonosa para limpiarlos, y se limpiaron con alcohol al 75% para desinfectarlos después de drenarlos. El fluido de huevo se vertió bajo operación estéril en una copa esmaltada graduada esterilizada, agitando completamente para una mezcla uniforme. Después, la filtración del fluido de huevo se lleva a cabo con una gasa de esterilización. Después, se añadieron al medio de cultivo 1000 ml del fluido de huevo filtrado, y se mezcló completa y uniformemente. Se añadieron 20 ml de verde de malaquita al 2%, y se mezcló completa y uniformemente; se añadieron 7 ml del medio de cultivo total a un tubo de ensayo de subpaquete (18 mm ∗ 180 mm), y se llevó a cabo la coagulación durante 50 minutos a la temperatura de 85ºC en un termostato de vapor. El medio de cultivo preparado se tomó del tubo según el 5%, y se cultivó durante 48 horas a la temperatura de 37ºC para un examen estéril. Y el medio de cultivo se colocó en un refrigerador con una temperatura de 4ºC para su uso posterior después de que se califica el examen estéril, y el medio de cultivo se utiliza en un mes.

Tabla 1 medio de cultivo

| Ingrediente | Dosis |
|---|---|
| Glutamato monosódico (pureza: 99% o más) | 7.20 g |
| Dihidrogenofosfato de potasio | 2.40 g |
| Sulfato de magnesio | 0.24 g |
| Citrato de magnesio | 0.60 g |
| Glicerina | 12 ml |
| Agua destilada | 600 ml |

2. Cultivo inoculado de bacilos tuberculosos

Se aspiraron 0.1 ml de muestra tratada en la <forma de realización 1>, y se inoculó uniformemente en una cara inclinada del medio de cultivo. Toda la cara inclinada estaba cubierta con la suspensión. La cara inclinada inoculada del medio de cultivo se cultivó en una incubadora a la temperatura de 37ºC. Se observaron condiciones de crecimiento de bacterias el tercer día y el séptimo día; después, la observación se realizó una vez por semana. Los sospechosos positivos se seleccionaron oportunamente si se descubrieron los sospechosos positivos, y la observación se llevó a cabo todos los días. El crecimiento positivo se verificó a través de la prueba de frotis. Se determina que el cultivo de *Mycobacterium tuberculosis* es negativo si el crecimiento de bacterias está ausente durante 8 semanas de cultivo.

3. Tinción de resistencia a ácidos del bacilo tuberculoso

Se tomó una pequeña cantidad de cepas positivas de *Mycobacterium tuberculosis* cultivadas, y la cepa se revistió

uniformemente en portaobjetos, se fijó en llamas, se tiñó con disolución de ácido carbónico pedregoso, se calentó en llamas durante 5 minutos, se decoloró con ácido clorhídrico al 3% durante alrededor de 1 minuto, y enjuagó con agua. Y luego, después de una contratinción con una disolución alcalina de metileno durante 1 minuto, la cepa se enjuagó con agua, se secó, y se observó bajo el microscopio de aceite. El rojo teñido fue *Mycobacterium tuberculosis*.

<Forma de realización 3> Experimento de actividad de resistencia a *Mycobacterium tuberculosis* de carrimicina

1. Método de concentración absoluta

1) Antituberculósicos

Productos estándar de carrimicina: derivados del National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products; fármacos de control: isoniazida y rifampicina, compradas de productos estándar de Sigma. Las dosis requeridas (tabla 2) se obtienen preparando disoluciones madre de los antituberculósicos según ciertas concentraciones, y añadiendo después un medio de cultivo según cierta cantidad.

2) Inoculación de cepas

Se confirmó mediante frotis que las cepas separadas por muestras clínicas eran un cultivo de bacterias resistentes a ácidos. Después de que se diluyó con disolución salina fisiológica que contenía Tween 80 al 10%, se llevó a cabo la turbidimetría con un tubo de turbidimetría estándar de McFarland (Guangdong Huankai Microbiological technology Co., Ltd.). Se preparó una disolución bacteriana $10^{-2}$ mg/ml, y un medio de cultivo que contenía un fármaco de detección se inoculó con la disolución bacteriana.

Los controles negativos y positivos se organizan en cada lote de ensayos. Un control negativo comprende un medio de cultivo libre de fármacos. Un control positivo comprende cepas estándar H37Rv de *Mycobacterium tuberculosis*. Un volumen de inoculación de cada tubo es de 0.1 ml. El cultivo se llevó a cabo con el medio de cultivo inoculado a la temperatura de 37ºC.

Tabla 2 dosis de antituberculósicos añadidos al medio de cultivo

| Fármaco | Medio de cultivo que contiene alta concentración de fármaco (μg/ml) | Medio de cultivo que contiene baja concentración de fármaco (μg/ml) |
|---|---|---|
| Isoniazida | 1 | 0.2 |
| Rifampicina | 250 | 50 |
| Carrimicina | 20 | 1 |

Nota: las cantidades de uso de fármacos de primera línea en los experimentos de la presente descripción están diseñadas según las cantidades de uso clínico real.

3) Observación de resultados y juicio

La observación se realizó una vez, 3 días después de la inoculación de la disolución bacteriana; después, la observación se realizó una vez por semana, y el resultado se da a conocer en 4 semanas.

El resultado de un cultivo se juzga según los siguientes estándares:

(1) dando a conocer que el cultivo de micobacteria es negativo (-) si el crecimiento de colonias bacterianas está ausente durante 8 semanas de cultivo;

(2) dando a conocer que la micobacteria es positiva, y el número de colonias bacterianas, si el número de colonias bacterianas cultivadas en una cara inclinada de un medio de cultivo es 20 o menos;

(3) dando a conocer que la micobacteria es positiva (1+) si las colonias bacterianas crecen de forma dispersa en la cara inclinada del medio de cultivo y representan 1/4 o menos del área de la cara inclinada, y el número de colonias bacterianas es 20 o más;

(4) dando a conocer que el cultivo de micobacteria es positivo (2+) si las colonias bacterianas crecen de forma dispersa en la cara inclinada del medio de cultivo y representan 1/4 o más de la cara inclinada y 1/2 o menos de la cara inclinada;

(5) dando a conocer que la micobacteria es positiva (3+) si las colonias bacterianas crecen estrechamente en la cara inclinada del medio de cultivo o están parcialmente fusionadas, y representan 1/2 o más de la cara inclinada y 3/4 o menos de la cara inclinada; y

(6) dando a conocer que la micobacteria es positiva (4+) si las colonias bacterianas crecen estrechamente en la cara inclinada del medio de cultivo y representan 3/4 o más del área de la cara inclinada.

2. Actividad de resistencia a *Mycobacterium tuberculosis* de la carrimicina

1) *Mycobacterium tuberculosis* clínica sensible a carrimicina

Entre 240 cepas de *Mycobacterium tuberculosis* identificadas, separadas clínicamente, 172 cepas fueron sensibles a 1 μg/ml o 20 μg/ml de carrimicina (tabla 3). Como se puede apreciar en la tabla 3, 92 cepas de las 172 cepas separadas clínicamente sensibles a carrimicina presentan una sensibilidad equivalente a la de las cepas de control de calidad H37Rv en un laboratorio, y representan el 53.48% de las cepas efectivas. Las otras 80 cepas presentan una sensibilidad obviamente mayor que la de las cepas de control de calidad H37Rv en un laboratorio; y 54 cepas son sensibles a 1 μg/ml de carrimicina, y representan el 31.39% del total de bacterias efectivas. Por lo tanto, la carrimicina presenta una mejor actividad contra *Mycobacterium tuberculosis* separada clínicamente.

Tabla 3 *Mycobacterium tuberculosis* clínica sensible a carrimicina

| Número de serie | 1 (μg/ml) | 20 (μg/ml) | Número de serie | 1 (μg/ml) | 20 (μg/ml) | Número de serie | 1 (μg/ml) | 20 (μg/ml) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | |
| Control de calidad | 4+ | - | 57 | 4+ | - | 115 | 4+ | + |
| Control | 4+ | | 58 | - | - | 116 | 4+ | - |
| 1 | 4+ | - | 59 | 4+ | - | 117 | 4+ | + |
| 2 | 4+ | + | 60 | 4+ | - | 118 | 4+ | - |
| 3 | 4+ | - | 61 | 4+ | - | 119 | 4+ | - |
| 4 | 4+ | + | 62 | 4+ | - | 120 | 2+ | - |
| 5 | 4+ | - | 63 | 4+ | - | 121 | - | - |
| 6 | 4+ | - | 64 | 4+ | - | 123 | - | - |
| 7 | 4+ | + | 65 | - | - | 124 | - | - |
| 8 | 4+ | - | 66 | 4+ | - | 125 | - | - |
| 9 | 4+ | - | 67 | 4+ | - | 126 | - | - |
| 10 | 4+ | + | 68 | 4+ | + | 127 | + | - |
| 11 | 4+ | + | 69 | 4+ | - | 128 | - | - |
| 12 | + | - | 70 | 4+ | - | 129 | - | - |
| 13 | 4+ | + | 71 | 4+ | - | 130 | - | - |
| 14 | 4+ | - | 72 | 4+ | - | 131 | - | - |
| 15 | 4+ | - | 73 | 4+ | - | 132 | - | - |
| 16 | - | - | 74 | 4+ | - | 133 | - | - |
| 17 | 4+ | + | 75 | 4+ | - | 134 | + | - |
| 18 | 4+ | + | 76 | 4+ | - | 135 | - | - |
| 19 | + | - | 77 | 4+ | - | 136 | 4+ | - |
| 20 | 4+ | - | 78 | 4+ | - | 137 | 4+ | - |
| 21 | 4+ | - | 79 | 4+ | - | 138 | 4+ | - |
| 22 | 4+ | - | 80 | 4+ | - | 139 | 4+ | - |
| 23 | 4+ | - | 81 | 4+ | - | 140 | + | - |
| 24 | 4+ | + | 82 | + | - | 141 | 4+ | - |
| 25 | 4+ | + | 83 | 4+ | - | 142 | 4+ | + |
| 26 | 4+ | - | 84 | - | - | 143 | 4+ | - |
| 27 | 4+ | - | 85 | - | - | 144 | 4+ | - |
| 28 | 4+ | - | 86 | - | - | 145 | 4+ | - |
| 29 | 4+ | + | 87 | - | - | 146 | 4+ | - |
| 30 | 4+ | + | 88 | - | - | 147 | 4+ | 2+ |
| 31 | 4+ | + | 89 | + | - | 148 | - | - |
| 32 | + | - | 90 | - | - | 149 | 4+ | - |
| 33 | + | - | 91 | - | - | 150 | 4+ | - |
| 34 | 4+ | - | 92 | + | - | 151 | 4+ | + |
| 35 | 4+ | - | 93 | - | - | 152 | 4+ | - |
| 36 | 4+ | + | 94 | - | - | 153 | 4+ | - |
| 37 | + | - | 95 | - | - | 154 | 4+ | - |
| 38 | - | - | 96 | 2+ | - | 155 | 4+ | + |
| 39 | 4+ | - | 97 | - | - | 156 | 4+ | + |

| Número de serie | 1 (µg/ml) | 20 (µg/ml) | Número de serie | 1 (µg/ml) | 20 (µg/ml) | Número de serie | 1 (µg/ml) | 20 (µg/ml) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 40 | 4+ | - | 98 | 4+ | - | 157 | - | - |
| 41 | 4+ | - | 99 | 4+ | - | 158 | 2+ | - |
| 42 | 4+ | - | 100 | 4+ | - | 159 | - | - |
| 43 | 4+ | - | 101 | 4+ | - | 160 | - | - |
| 44 | 4+ | - | 102 | - | - | 161 | 4+ | - |
| 45 | 4+ | - | 103 | 4+ | - | 162 | - | - |
| 46 | 4+ | - | 104 | 4+ | - | 163 | - | - |
| 47 | 4+ | - | 105 | 4+ | - | 164 | - | - |
| 48 | 4+ | - | 106 | - | - | 165 | - | - |
| 49 | 4+ | - | 107 | 4+ | - | 166 | 3+ | - |
| 50 | 4+ | - | 108 | 4+ | - | 167 | - | - |
| 51 | 4+ | - | 109 | 4+ | - | 168 | - | - |
| 52 | 4+ | - | 110 | 4+ | - | 169 | 4+ | - |
| 53 | 4+ | - | 111 | 4+ | - | 170 | - | - |
| 54 | 4+ | - | 112 | 4+ | - | 171 | - | - |
| 55 | 4+ | - | 113 | 4+ | - | 172 | - | - |
| 56 | 4+ | - | 114 | 4+ | - | | | |

Control de calidad: cepas estándar de laboratorio de *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv sirven como un control positivo;

Control: un medio de cultivo libre de fármacos. Todas las cepas separadas que crecen en el medio de cultivo libre de fármacos son 4+.

2) Comparación de la actividad de carrimicina e isoniazida con algunas *Mycobacterium tuberculosis* clínicas

Se compara la actividad de carrimicina y la actividad de los antituberculósicos clínicos de primera línea, es decir, isoniazida frente a *Mycobacterium tuberculosis* clínica, y un resultado muestra que 20 µg/ml de carrimicina son efectivos para 37 cepas clínicas de *Mycobacterium tuberculosis* resistentes a isoniazida (tabla 4).

Tabla 4 comparación de la sensibilidad de carrimicina e isoniacida frente a *Mycobacterium tuberculosis* clínica

| Número de serie | Isoniazida | | Carrimicina | |
|---|---|---|---|---|
| | 0.2 (µg/ml) | 1 (µg/ml) | 1 (µg/ml) | 20 (µg/ml) |
| 1 | 4+ | 4+ | 4+ | + |
| 2 | 4+ | + | 4+ | - |
| 3 | 4+ | 4+ | 4+ | - |
| 4 | 4+ | 4+ | 4+ | - |
| 5 | 4+ | 4+ | + | - |
| 6 | 4+ | 4+ | 4+ | - |
| 7 | 4+ | 4+ | 4+ | - |
| 8 | 4+ | + | 4+ | - |
| 9 | 3+ | 3+ | 4+ | - |
| 10 | 4+ | 4+ | 4+ | - |
| 11 | 4+ | 4+ | 4+ | - |
| 12 | 4+ | 4+ | 4+ | - |
| 13 | 4+ | 4+ | 4+ | - |
| 14 | 4+ | + | 4+ | - |
| 15 | 3+ | - | - | - |
| 16 | 4+ | 4+ | 4+ | - |
| 17 | 4+ | 4+ | 4+ | - |
| 18 | 4+ | 4+ | 4+ | - |
| 19 | 4+ | 4+ | 4+ | - |
| 20 | 4+ | 4+ | 4+ | - |
| 21 | 4+ | 4+ | 4+ | - |
| 22 | 4+ | 4+ | 4+ | - |
| 23 | 4+ | 4+ | 4+ | + |
| 24 | 4+ | 4+ | 4+ | + |
| 25 | 4+ | 4+ | 4+ | - |
| 26 | 4+ | 4+ | 2+ | - |
| 27 | 4+ | 4+ | 2+ | - |

| Número de serie | Isoniazida | | Carrimicina | |
|---|---|---|---|---|
| | 0.2 (µg/ml) | 1 (µg/ml) | 1 (µg/ml) | 20 (µg/ml) |
| 28 | 3+ | - | - | - |
| 29 | 4+ | 4+ | - | - |
| 30 | 4+ | 3+ | 4+ | - |
| 31 | 4+ | 3+ | - | - |
| 32 | 4+ | 4+ | - | - |
| 33 | 3+ | 2+ | 3+ | - |
| 34 | 4+ | 2+ | - | - |
| 35 | 4+ | 4+ | 4+ | - |
| 36 | 4+ | 4+ | - | - |
| 37 | 3+ | - | 2+ | - |

3) Comparación de la actividad de carrimicina y rifampicina frente a algunas *Mycobacterium tuberculosis* clínicas

Se comparan la actividad de carrimicina y la actividad del antituberculósico clínico de primera línea, es decir, rifampicina frente a *Mycobacterium tuberculosis* separada clínicamente, y un resultado experimental muestra que 20 µg/ml de carrimicina es eficaz para 39 cepas clínicas de *Mycobacterium tuberculosis* resistentes a la rifampicina (tabla 5).

Tabla 5 comparación de la sensibilidad de carrimicina y rifampicina frente *a Mycobacterium tuberculosis* clínica

| Número de serie | Rifampicina | | Carrimicina | |
|---|---|---|---|---|
| | 50 (µg/ml) | 250 (µg/ml) | 1 (µg/ml) | 20 (µg/ml) |
| 1 | 4+ | 4+ | 4+ | - |
| 2 | 4+ | 2+ | 4+ | - |
| 3 | 4+ | 4+ | 4+ | + |
| 4 | 4+ | + | 4+ | - |
| 5 | 4+ | + | 4+ | - |
| 6 | 4+ | 4+ | 4+ | - |
| 7 | 4+ | + | 4+ | - |
| 8 | 4+ | 4+ | 4+ | + |
| 9 | 4+ | - | + | - |
| 10 | 4+ | 4+ | 4+ | - |
| 11 | 4+ | 4+ | 4+ | - |
| 12 | 4+ | - | - | - |
| 13 | 4+ | 4+ | 4+ | + |
| 14 | 4+ | 4+ | 4+ | + |
| 15 | 3+ | + | - | - |
| 16 | 3+ | + | - | - |
| 17 | 4+ | + | 4+ | - |
| 18 | 2+ | + | 4+ | - |
| 19 | 4+ | 4+ | - | - |
| 20 | 4+ | 4+ | 4+ | - |
| 21 | 4+ | 4+ | 4+ | - |
| 22 | 4+ | + | 4+ | - |
| 23 | 4+ | 4+ | 4+ | - |
| 24 | 2+ | + | 4+ | - |
| 25 | 4+ | 4+ | - | - |
| 26 | 4+ | 4+ | 4+ | - |
| 27 | 4+ | + | 4+ | - |
| 28 | 4+ | 4+ | 4+ | + |
| 29 | 2+ | - | + | - |
| 30 | 4+ | - | 2+ | - |
| 31 | 4+ | - | 2+ | - |
| 32 | 4+ | + | - | - |
| 33 | 2+ | - | - | - |
| 34 | 2+ | - | - | - |
| 35 | 4+ | - | - | - |
| 36 | 4+ | 2+ | - | - |
| 37 | 4+ | - | - | - |
| 38 | 4+ | 4+ | - | - |
| 39 | 3+ | + | 2+ | - |

La actividad de la carrimicina frente a algunas *Mycobacterium tuberculosis* clínicas es superior a la de 250 µg/ml de rifampicina.

4) Comparación de la actividad de carrimicina frente a algunas *Mycobacterium tuberculosis* clínicas resistentes a la isoniazida y a la rifampicina

Se comparan las actividades de carrimicina frente a *Mycobacterium tuberculosis* clínica resistente a la isoniazida y resistente a la rifampicina, y un resultado experimental muestra que la actividad de 20 µg/ml de carrimicina frente a 23 cepas clínicas de *Mycobacterium tuberculosis* es superior a la de 1 µg/ml de isoniazida y 250 µg/ml de rifampicina (tabla 6).

Tabla 6 comparación de la actividad de carrimicina frente a algunas *Mycobacterium tuberculosis* clínicas resistentes a la isoniazida y resistentes a la rifampicina

| Número de serie | Isoniazida | | Rifampicina | | Carrimicina | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0.2 (µg/ml) | 1 (µg/ml) | 50 (µg/ml) | 250 (µg/ml) | 1 (µg/ml) | 20 (µg/ml) |
| 1 | 4+ | 4+ | 2+ | + | 4+ | - |
| 2 | 4+ | + | 4+ | + | 4+ | - |
| 3 | 4+ | 4+ | 4+ | + | 4+ | - |
| 4 | 4+ | 4+ | 4+ | - | + | - |
| 5 | 4+ | 4+ | 4+ | 4+ | 4+ | - |
| 6 | 4+ | 4+ | 4+ | 4+ | 4+ | + |
| 7 | 3+ | + | 3+ | + | - | - |
| 8 | 4+ | - | 3+ | + | - | - |
| 9 | 3+ | 3+ | 2+ | + | 4+ | - |
| 10 | 4+ | 4+ | 4+ | 4+ | 4+ | - |
| 11 | 4+ | 4+ | 4+ | 4+ | 4+ | - |
| 12 | 4+ | 4+ | 2+ | + | 4+ | - |
| 13 | 3+ | - | 4+ | 4+ | - | - |
| 14 | 4+ | 4+ | 4+ | 4+ | 4+ | - |
| 15 | 4+ | 4+ | 4+ | + | 4+ | - |
| 16 | 4+ | 4+ | 4+ | 4+ | 4+ | + |
| 17 | 3+ | - | 4+ | + | - | - |
| 18 | 4+ | 4+ | 2+ | - | - | - |
| 19 | + | - | 2+ | - | - | - |
| 20 | 4+ | 4+ | 4+ | - | - | - |
| 21 | 4+ | 2+ | 4+ | - | - | - |
| 22 | 4+ | 4+ | 4+ | 4+ | 4+ | - |
| 23 | 3+ | - | 3+ | + | 2+ | - |

Como demuestran los resultados de la investigación experimental de la presente descripción, la carrimicina no presenta únicamente una actividad contra las bacterias sensibles de los antituberculósicos clínicos de primera línea, es decir, la isoniazida y la rifampicina, sino que asimismo presenta una actividad frente a parte de las bacterias resistentes a los fármacos de la isoniacida y la rifampicina. Y así, se logra ventajosamente una nueva utilización de carrimicina en el tratamiento clínico de enfermedades infectadas por *Mycobacterium tuberculosis* resistentes a los fármacos.

**REIVINDICACIONES**

1. Carrimicina para su utilización en el tratamiento de infecciones por bacilo tuberculoso.

2. Composición que comprende carrimicina como un principio activo y un vehículo farmacéuticamente aceptable para su utilización en el tratamiento de infecciones por bacilo tuberculoso.

3. Carrimicina para su utilización según la reivindicación 1 o composición para su utilización según la reivindicación 2, en la que la carrimicina o la composición que comprende carrimicina se proporciona como una formulación oral o cualquier otra formulación adecuada.

4. Carrimicina para su utilización según la reivindicación 1 o composición para su utilización según la reivindicación 2, en la que la carrimicina o la composición que comprende carrimicina se proporciona como una formulación de inyección o cualquier otra formulación adecuada.

5. Carrimicina o composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para su utilización en el tratamiento de infección por *Mycobacterium tuberculosis*.