

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA



CSA674079

Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones



PGT

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION

09-120908

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TÍTULO ASPARTATO DE ACIDO_CICLOPROPIL-6-FLUORO-7-(8-METOXIIMINO-2,6-DIAZA-
ESPIRO[3.4]OCT-6-IL)-4-OXO-1,4-DIHIDRO-[1,8]NAFTIRIDINA-3-CARBOXILICO,
METODO PARA PREPARAR EL MISMO, Y COMPOSICION FARMACEUTICA
ANTIMICROBIANA QUE COMPRENDE LA MISMA

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL _____

71. SOLICITANTE DONG WHA PHARMACEUTICAL CO. LTD.

DOMICILIO SEOUL, COREA

74. APODERADO LUZ CLEMENCIA DE PAEZ
C.C. 35.456.344 de Usaquén

22. BOGOTÁ, D.C., _____

Rocky Cruz
12-11-2004

PETITORIO

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-120908- -00000-0000

Fecha: 2009-10-27 16:18:12 Dep. 2020 NUECREACIONE

Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI

Act. 411 PRESENTACION Folios: 116

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE

PCT

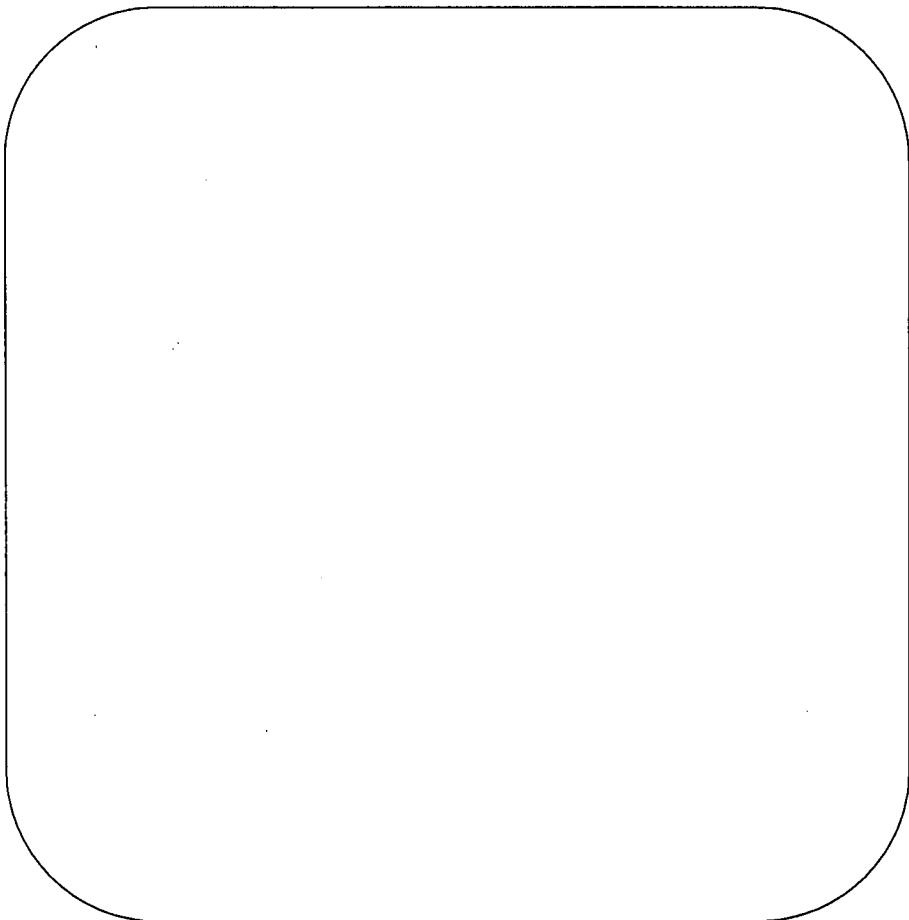
ENTRADA EN FASE NACIONAL

1 ☒ Patente de Invención. ☒ Capítulo I. ☐ Patente de Modelo de Utilidad. ☐ Capítulo II.	
2 SOLICITANTE (71)	Nombre: DONG WHA PHARMACEUTICAL CO. LTD. sociedad constituida y existente bajo las leyes de Corea. Dirección: 5, Sunhwa-dong, Jung-gu, Seoul 110-130, Corea Domicilio: Seoul, Corea IDENTIFICACIÓN C.C. ☐ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Cual _____ Número _____
3 REPRESENTANTE O APODERADO	Nombre: LUZ CLEMENCIA DE PÁEZ 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. ☒ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Cual _____ Número <u>35.456.344</u> T. P. <u>23.555</u>
4 INVENTOR (ES) (72)	1. Jei Man RYU 207-101, Eunhasu Apt. 1103, Buheung-dong, Dongan-gu, Anyang-si, Gyeonggi-do 431-054, Corea 3. Jin YANG 23-8, Seokchon-dong, Songpa-gu, Seoul 138-842, Corea 5. Seung Hwan KIM 101-603, Samho Hanareum Apt. 115-1, Sam-dong, Uiwang-si, Gyeonggi-do 437-720, Corea 2. Dong Rack CHOI 311-201, Dongwon Royaldeuk Apt., Bojeong-dong, Giheung-gu, Yongin-si, Gyeonggi-do 446-913, Corea 4. Sue Hye YOON 740-201, Best Town Dongbu Apt., Cheoncheon-dong, Jangan-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 440-730, Corea 6. Sae Kwang KU 1-1005 Youngkwang Apt. 220-4, Hwaseo 1-dong, Jangan-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 440-865, Corea
5 PCT (86) Solicitud Internacional No. <u>PCT/KR2008/002106</u> Fecha: <u>14 de abril de 2008</u> Publicación Internacional No. <u>WO 2008/127060 A1</u> Fecha: <u>23 de octubre de 2008</u>	
6 Título (54) <u>ASPARTATO DE ÁCIDO-CICLOPROPIL-6-FLUORO-7-(8-METOXIIMINO-2,6-DIAZA-ESPIRO[3.4]OCT-6-IL)-4-OXO-1,4-DIHIDRO-[1,8]NAFTIRIDINA-3-CARBOXÍLICO, MÉTODO PARA PREPARAR EL MISMO, Y COMPOSICIÓN FARMACÉUTICA ANTIMICROBIANA QUE COMPRENDE LA MISMA</u>	

7	Clasificación Internacional (51) <u>C07 471/004</u> <u>A 61 K 31/47</u> <u>C07 D 437/10</u> <u>A 61 P 31/00</u>			
8	Prioridad SI ☒ NO ☐	(33) País de Origen <u>KR</u>	(32) Fecha <u>13 de abril de 2007</u>	(31) Número de Solicitud <u>10-2007-0036574</u>
9	Comprobante de pago No.: <u>09-77,181</u>		Fecha: <u>13 de octubre de 2009</u>	
10	Anexos:			
☒	Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 540.000.00.			
☐	Comprobante de pago por reivindicaciones adicionales después de la decimoquinta reivindicación por.			
☐	Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.			
☐	Poderes, si fuere el caso.			
☐	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: LUZ CLEMENCIA DE PÁEZ

FIRMA : Luz Clemencia de Páez
C.C. 35.456.344 de Usaquén T.P. 23.555

JGG

DOCUMENTOS ANEXOS

1. ☒ Publicación Internacional WO 2008/127060 A1

Descripción:

Páginas 37 en el idioma original

Páginas 57 en español

Reivindicaciones: Número (s) 10

Figuras: Número (s)

2. ☒ **Forma PCT/ISA/210.** Informe de Búsqueda Internacional.
3. ☒ **Forma PCT/ISA/237.** Opinión Escrita De La Administración Encargada De La Búsqueda Internacional.
4. ☒ **Forma PCT/IB/306.** Notificación de la inscripción del cambio en el nombre de la sociedad solicitante.
5. ☒ Extracto de publicación.

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

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
23 October 2008 (23.10.2008)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2008/127060 A1

(51) International Patent Classification:

C07D 471/04 (2006.01) A61K 31/47 (2006.01)
C07D 487/10 (2006.01) A61P 31/00 (2006.01)

Gyeonggi-do 437-720 (KR). KU, Sae Kwang [KR/KR];
1-1005, Youngkwang Apt., 220-4, Hwaseo 1-dong, Jan-
gan-gu, Suwon-si., Gyeonggi-do 440-865 (KR).

(21) International Application Number:

PCT/KR2008/002106

(74) Agent: SON, Min; 19th floor, City Air Tower 159-9, Sam-
seong-dong, Gangnam-gu, Seoul 135-973 (KR).

(22) International Filing Date: 14 April 2008 (14.04.2008)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:

10-2007-0036574 13 April 2007 (13.04.2007) KR

(71) Applicant (for all designated States except US): DONG
WHA PHARMACEUTICAL IND. CO. LTD. [KR/KR];
5, Sunhwa-dong, Jung-gu, Seoul 110-130 (KR).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): RYU, Jei Man
[KR/KR]; 207-101, Eunhasu Apt., 1103, Buheung-dong,
Dongan-gu, Anyang-si, Gyeonggi-do 431-054 (KR).
CHOI, Dong Rack [KR/KR]; 311-201, Dongwon Roy-
aldeuk Apt., Bojeong-dong, Giheung-gu, Yongin-si,
Gyeonggi-do 446-913 (KR). YANG, Jin [KR/KR]; 23-8,
Seokchon-dong, Songpa-gu, Seoul 138-842 (KR). YOON,
Sue Hye [KR/KR]; 740-201, Best Town Dongbu Apt.,
Cheoncheon-dong, Jangan-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do
440-730 (KR). KIM, Seung Hwan [KR/KR]; 101-603,
Samho Hanareum Apt., 115-1, Sam-dong, Uiwang-si,

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AO, 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, 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, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(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, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL,
NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG,
CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

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

(54) Title: ASPARTATE OF 1-CYCLOPROPYL-6-FLUORO-7-(8-METHOXYIMINO-2,6-DIAZA- SPIRO[3.4]OCT-6-YL)-4-
OXO-1,4-DIHYDRO-[1,8]NAPHTHYRIDINE-3-CARBOXYLIC ACID, METHOD FOR PREPARING THE SAME, AND AN-
TIMICROBIAL PHARMACEUTICAL COMPOSITION COMPRISING THE SAME

(57) Abstract: Disclosed are aspartic acid salts of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-
1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid, methods for preparing the same, and antimicrobial pharmaceutical compositions
comprising the same.

WO 2008/127060 A1

b

Description
ASPARTATE OF
1-CYCLOPROPYL-6-FLUORO-7-(8-METHOXYIMINO-2,6-DIAZ
A-SPIRO[3.4]OCT-6-YL)-4-OXO-1,4-DIHYDRO-[1,8]NAPHTHYR
IDINE-3-CARBOXYLIC ACID, METHOD FOR PREPARING
THE SAME, AND ANTIMICROBIAL PHARMACEUTICAL
COMPOSITION COMPRISING THE SAME

Technical Field

- [1] Disclosed are aspartic acid salts of
1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-di
hydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid, methods for preparing the same, and anti-
microbial pharmaceutical compositions comprising the same.

[2]

Background Art

- [3] **CROSS-REFERENCE**

- [4] This application claims the benefit of Korean application 2007-36574 filed on April
13, 2007.

[5]

- [6] **BACKGROUND OF THE INVENTION**

- [7] Quinolone carboxylic acid derivatives are synthetic antimicrobial agents, and are
widely effective in the treatment of infectious diseases of human or animals. Currently,
quinolone antimicrobial agents such as ciprofloxacin, norfloxacin, and ofloxacin, are
employed in the treatment of human diseases. These agents are very active against
gram negative bacteria. However, problems exist where these agents show moderate or
weak activity against gram positive bacteria. Various studies have been made to
determine limitations of several known quinolone antimicrobial agents. Sparfloxacin is
a representative example of an improved antimicrobial agent that is active against gram
positive bacteria. However, this compound shows weak activity against methicillin
resistant Staphylococcus aureus (MRSA) and gradually increases numbers of
quinolone resistant strains, in addition to streptococci.

[8]

Disclosure of Invention

Technical Problem

- [9] The above mentioned bacteria strains are well known to be pathogens responsible for

causing respiratory infections. Thus, improved quinolone antimicrobial agents are needed, especially against these pathogens.

[10]

Technical Solution

[11]

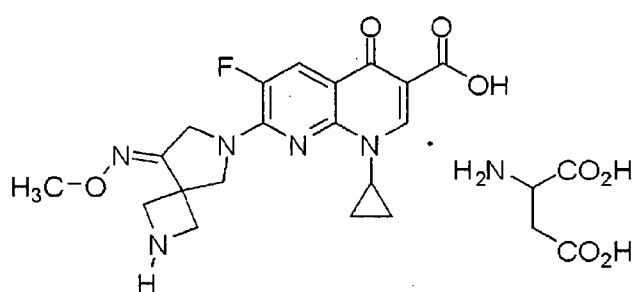
SUMMARY OF THE INVENTION

[12]

[13]

In one aspect are aspartic acid salts or aspartate of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid represented by Formula (I):

[14]



Formula (I).

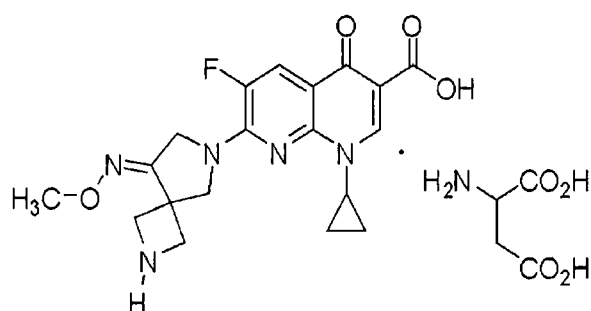
[15]

In some embodiments of this aspect, the aspartic acid is selected from D-aspartic acid, L-aspartic acid, DL-aspartic acid or a non-racemic mixture of D-aspartic acid and L-aspartic acid. In some embodiments, the aspartic acid is D-aspartic acid.

[16]

In another aspect are pharmaceutically acceptable aspartic acid salts of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid represented by Formula (I):

[17]



Formula (I).

[18]

[19]

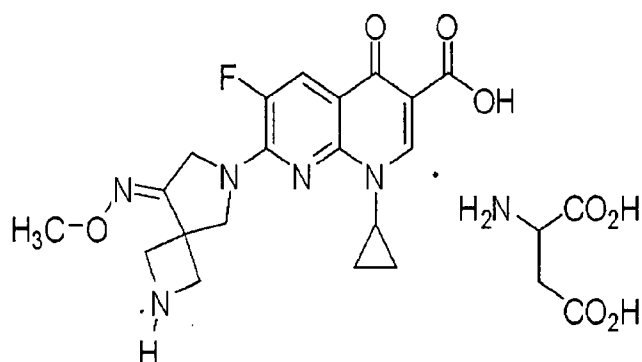
In some embodiments of this aspect, the aspartic acid is selected from D-aspartic acid, L-aspartic acid, DL-aspartic acid, or a non-racemic mixture of D-aspartic acid and L-aspartic acid. In some embodiments, the aspartic acid is D-aspartic acid.

[20]

In another aspect are methods for preparing the aspartic acid salt or aspartate of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid, comprising reacting

1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid with aspartic acid in a solvent.

- [21] In some embodiments of this aspect, the solvent is at least one selected from the group consisting of ethyl acetate, methanol, ethanol, isopropanol, acetone, acetonitrile, hexane, isopropyl ether, and water. In some embodiments of this aspect, the solvent is selected from the group consisting of ethyl acetate, methanol, ethanol, isopropanol, acetone, acetonitrile, hexane, isopropyl ether, water, and any combination thereof. In some embodiments, the solvent is ethanol.
- [22] In some embodiments of this aspect, the aspartic acid is selected from D-aspartic acid, L-aspartic acid, DL-aspartic acid, or a non-racemic mixture of D-aspartic acid and L-aspartic acid.
- [23] In some embodiments of this aspect, the yield of preparing the aspartic acid salts of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid is at least 70%. In some embodiments, the yield is at least 80%. In some embodiments, the yield is at least 85%. In some embodiments, the yield is at least 90%.
- [24] In some embodiments of this aspect, the yield of preparing the aspartic acid salts of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid is between about 70% and about 80%. In some embodiments, the yield is between about 75% and about 85%. In some embodiments, the yield is between about 85% and about 95%. In some embodiments, the yield is between about 90% and about 99%.
- [25] In another aspect are antimicrobial pharmaceutical compositions comprising an aspartic acid salt or aspartate of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid.
- [26] In some embodiments of this aspect, the aspartic acid is selected from D-aspartic acid, L-aspartic acid, DL-aspartic acid or a non-racemic mixture of D-aspartic acid and L-aspartic acid. In some embodiments, the aspartic acid is D-aspartic acid.
- [27] In some embodiments of this aspect, the composition is formulated for injection. In some embodiments, the composition comprises an injection formulation.
- [28] In another aspect are methods of treating a disease or condition in an animal using a therapeutically effective amount of at least one pharmaceutically acceptable aspartic acid salt of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid represented by Formula (I):
- [29]



Formula (I).

[30] In some embodiments of this aspect, the aspartic acid is selected from D-aspartic acid, L-aspartic acid, DL-aspartic acid, or a non-racemic mixture of D-aspartic acid and L-aspartic acid. In some embodiments, the aspartic acid is D-aspartic acid.

[31] In another aspect is the use of a compound of Formula (I), in the manufacture of a medicament for treating a disease or condition in an animal.

[32] In some embodiments of this aspect, the aspartic acid is selected from D-aspartic acid, L-aspartic acid, DL-aspartic acid, or a non-racemic mixture of D-aspartic acid and L-aspartic acid. In some embodiments, the aspartic acid is D-aspartic acid.

[33] In another aspect are compounds of Formula (I) for use in a method of treating a disease or condition in an animal.

[34] In some embodiments of this aspect, the aspartic acid is selected from D-aspartic acid, L-aspartic acid, DL-aspartic acid, or a non-racemic mixture of D-aspartic acid and L-aspartic acid. In some embodiments, the aspartic acid is D-aspartic acid.

[35]

[36] INCORPORATION BY REFERENCE

[37] All publications and patent applications mentioned in this specification are herein incorporated by reference to the same extent as if each individual publication or patent application was specifically and individually indicated to be incorporated by reference.

Best Mode for Carrying Out the Invention

[38] DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

[39]

[40] Disclosed are aspartic acid salts or aspartate of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid. Also disclosed are methods for preparing aspartic acid salts or aspartate of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid. Also disclosed are antimicrobial pharmaceutical compositions comprising an aspartic acid salt or aspartate of

1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid.

[41]

[42] ***Glossary of Terms***

[43] Unless otherwise stated, the following terms used in this application, including the specification and claims, have the definitions given below. It must be noted that, as used in the specification and the appended claims, the singular forms "a", "an", and "the" include plural referents unless the context clearly dictates otherwise. Definition of standard chemistry terms may be found in reference works, including Carey and Sundberg, *Advanced Organic Chemistry 4th Ed.*, Vols. A (2000) and B (2001), Plenum Press, New York, NY. Unless otherwise indicated, conventional methods of mass spectroscopy, NMR, HPLC, protein chemistry, biochemistry, recombinant DNA techniques and pharmacology, within the skill of the art are employed.

[44] As used in the present specification, the following words and phrases are generally intended to have the meanings as set forth below, except to the extent that the context in which they are used indicates otherwise.

[45] The terms "optional" or "optionally" as used herein, alone or in combination, mean that the subsequently described event or circumstance may or may not occur, but need not occur, and that the description includes instances where the event or circumstance occurs and instances in which it does not.

[46] The term "protecting group" as used herein, refers to a chemical moiety which blocks some, or all, reactive moieties and prevents such groups from participating in chemical reactions until the protective group is removed. The procedures and specific groups involved are known to those of skill in the art and can readily be found in reference sources such as Greene and Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd Ed. (1999) John Wiley & Sons, New York, NY, which is incorporated herein by reference in its entirety.

[47] Where chemical groups are specified by their conventional chemical formulas, written from left to right, they equally encompass the chemically identical substituents that would result from writing the structure from right to left; for example, -CH₂O- is equivalent to -OCH₂-.

[48] The term "pharmaceutical agent" refers to any agent which imparts or is intended to impart a therapeutic effect and is used or indicated for use as a pharmaceutical. Pharmaceutical agents may be used in the treatment, diagnosis, modulation, or prevention of a diseased state or symptom thereof. One of skill in the art is able to select appropriate pharmaceutical agents when addressing a particular disease or symptom. Exemplary pharmaceutical agents contemplated within the scope of the invention are provided in the following references (the disclosures of all of which are hereby in-

incorporated by reference): Lippincott *et al.*, *Remington's Pharmaceutical Sciences: The Science and Practice of Pharmacy*, 20th Ed., Williams and Wilkins Publishing, Baltimore (2000); and Lewis *et al.*, *Hawley's Condensed Chemical Dictionary*, 14th Ed., John Wiley Publishing, New York (2001).

- [49] The term "acceptable" with respect to a formulation, composition or ingredient, as used herein, means having no persistent detrimental effect on the general health of the subject being treated.
- [50] The term "pharmaceutically acceptable" as used herein, alone or in combination, refers to a material which does not abrogate the biological activity or properties of the compound, and is relatively nontoxic. Thus, a pharmaceutically acceptable component (such as a salt, carrier, excipient or diluent) of a pharmaceutical agent delivery composition containing compounds of Formula (I) should be (1) compatible with the other ingredients of the delivery composition to deliver the pharmaceutical agent; and (2) where the delivery composition is intended for therapeutic use with an animal (e.g. a human) should not provoke undue adverse side effects, such as toxicity, irritation and allergic response. Side effects are undue when their risk outweighs the benefit provided by the pharmaceutical agent, i.e., the material may be administered to an individual without causing undesirable biological effects or interacting in a deleterious manner with any of the components of the composition in which it is contained.
- [51] The term "pharmaceutically acceptable salt" of a compound, as used herein, refers to a salt that is pharmaceutically acceptable. A pharmaceutically acceptable salt is a salt which retains the biological effectiveness and properties of the compounds and which are not biologically or otherwise undesirable. In some cases, the compounds of Formula (I) are capable of forming acid and/or base salts by virtue of the presence of amino and/or carboxyl groups or groups similar thereto. Pharmaceutically acceptable base addition salts can be prepared from inorganic and organic bases. Salts derived from inorganic bases, include by way of example only, sodium, potassium, lithium, ammonium, calcium and magnesium salts. Salts derived from organic bases include, but are not limited to, salts of primary, secondary and tertiary amines, such as alkyl amines, dialkyl amines, trialkyl amines, substituted alkyl amines, di(substituted alkyl) amines, tri(substituted alkyl) amines, alkenyl amines, dialkenyl amines, trialkenyl amines, substituted alkenyl amines, di(substituted alkenyl) amines, tri(substituted alkenyl) amines, cycloalkyl amines, di(cycloalkyl) amines, tri(cycloalkyl) amines, substituted cycloalkyl amines, disubstituted cycloalkyl amine, trisubstituted cycloalkyl amines, cycloalkenyl amines, di(cycloalkenyl) amines, tri(cycloalkenyl) amines, substituted cycloalkenyl amines, disubstituted cycloalkenyl amine, trisubstituted cycloalkenyl amines, aryl amines, diaryl amines, triaryl amines, heteroaryl amines, diheteroaryl amines, triheteroaryl amines, heterocyclic amines, diheterocyclic amines,

triheterocyclic amines, mixed di- and tri-amines where at least two of the substituents on the amine are different and are selected from the group consisting of alkyl, substituted alkyl, alkenyl, substituted alkenyl, cycloalkyl, substituted cycloalkyl, cycloalkenyl, substituted cycloalkenyl, aryl, heteroaryl, heterocyclic, and the like. Also included are amines where the two or three substituents, together with the amino nitrogen, form a heterocyclic or heteroaryl group. Pharmaceutically acceptable acid addition salts may be prepared from inorganic and organic acids. Salts derived from inorganic acids include hydrochloric acid, hydrobromic acid, sulfuric acid, nitric acid, phosphoric acid, and the like. Salts derived from organic acids include acetic acid, propionic acid, glycolic acid, pyruvic acid, oxalic acid, malic acid, malonic acid, succinic acid, maleic acid, fumaric acid, tartaric acid, citric acid, benzoic acid, cinnamic acid, mandelic acid, methanesulfonic acid, ethanesulfonic acid, p-toluene-sulfonic acid, salicylic acid, and the like.

- [52] The term "prodrug" as used herein, refers to a drug or compound in which metabolic processes within the body convert the drug or compound into a pharmacologically active form.
- [53] The term "pharmaceutical combination" as used herein, means a product that results from the mixing or combining of more than one active ingredient and includes both fixed and non-fixed combinations of the active ingredients. The term "fixed combination" means that the active ingredients, e.g. at least one compound of Formula (I) and a co-agent, are both administered to a patient simultaneously, in the form of a single entity or dosage. The term "non-fixed combination" means that the active ingredients, e.g. at least one compound of Formula (I) and a co-agent, are administered to a patient as separate entities either simultaneously, concurrently or sequentially with no specific intervening time limits, wherein such administration provides effective levels of the two compounds in the body of the patient. The latter also applies to cocktail therapy, e.g. the administration of three or more active ingredients.
- [54] The terms "effective amount" or "therapeutically effective amount" as used herein, refer to a sufficient amount of an agent or compound being administered which will relieve to some extent one or more of the symptoms of the disease or condition being treated, when administered to a mammal in need of such treatment. The result can be reduction and/or alleviation of the signs, symptoms, or causes of a disease, or any other desired alteration of a biological system. For example, an "effective amount" for therapeutic uses is the amount of the composition comprising a compound as disclosed herein required to provide a clinically significant decrease in a disease. The therapeutically effective amount will vary depending upon the subject and disease condition being treated, the weight and age of the subject, the severity of the disease condition, the particular compound, the dosing regimen to be followed, timing of administration,

the manner of administration and the like, all of which can readily be determined by one of ordinary skill in the art. An appropriate effective amount in any individual case may be determined using techniques, such as a dose escalation study.

- [55] The term "excipient" refers to a generally pharmaceutically inactive or inert substance used as a diluent or vehicle for a drug. Different forms of drug administration may require a different excipient and a "pharmaceutically acceptable excipient" includes a "pharmaceutically acceptable carrier". For example, tablets, troches, pills, capsules, and the like, may contain excipients including a binder such as gum tragacanth, acacia, corn starch or gelatin; a disintegrating agent such as corn starch, potato starch, alginic acid; a lubricant such as magnesium stearate; a sweetening agent such as sucrose, lactose or saccharin; and/or a flavoring agent such as peppermint, oil or wintergreen or cherry flavoring. Capsules may contain additional excipient such as a liquid carrier. Syrups or elixirs may contain excipients including a sweetening agent such as sucrose, a preservative such as methyl and propylparabens, a dye and/or flavoring such as cherry or orange flavor.
- [56] The terms "enhance" or "enhancing" as used herein, means to increase or prolong either in potency or duration a desired effect. Thus, in regard to enhancing the effect of therapeutic agents, the term "enhancing" refers to the ability to increase or prolong, either in potency or duration, the effect of other therapeutic agents on a system. An "enhancing-effective amount" as used herein, refers to an amount adequate to enhance the effect of another therapeutic agent in a desired system.
- [57] The term "modulate" or "modulating" as used herein, means to interact with a target either directly or indirectly so as to alter the activity of the target, including, by way of example only, to enhance the activity of the target, to inhibit the activity of the target, to limit the activity of the target, or to extend the activity of the target.
- [58] The term "modulator" as used herein, refers to a molecule that interacts with a target either directly or indirectly. The interactions include, but are not limited to, the interactions of an agonist and an antagonist.
- [59] The terms "co-administration" and the like, as used herein, are meant to encompass administration of the selected therapeutic agents to a single patient, and are intended to include treatment regimens in which the agents are administered by the same or different route of administration or at the same or different time.
- [60] The term "pharmaceutical composition" as used herein, refers to a mixture of an active compound with other chemical components, such as carriers, stabilizers, diluents, dispersing agents, suspending agents, thickening agents, and/or excipients.
- [61] The terms "carrier", "pharmaceutically acceptable carrier", or "pharmaceutically acceptable excipient" as used herein, refer to relatively nontoxic chemical compounds or agents that facilitate the incorporation of a compound into cells or tissues. They

include any and all solvents, dispersion media, coatings, antibacterial and antifungal agents, isotonic and absorption delaying agents and the like. The use of such media and agents for pharmaceutically active substances is well known in the art. Except insofar as any conventional media or agent is incompatible with the active ingredient, its use in the therapeutic compositions is contemplated. Supplementary active ingredients can also be incorporated into the compositions.

- [62] The term "subject" or "patient" encompasses mammals and non-mammals. Examples of mammals include, but are not limited to, any member of the Mammalian class: humans, non-human primates such as chimpanzees, and other apes and monkey species; farm animals such as cattle, horses, sheep, goats, swine; domestic animals such as rabbits, dogs, and cats; laboratory animals including rodents, such as rats, mice and guinea pigs, and the like. Examples of non-mammals include, but are not limited to, birds, fish and the like. In one embodiment of the methods and compositions provided herein, the mammal is a human.
- [63] The terms "treat", "treating", or "treatment" as used herein, include at least partially alleviating, abating or ameliorating a disease or condition symptoms, at least partially preventing additional symptoms, ameliorating or preventing the underlying metabolic causes of symptoms, at least partially inhibiting the disease or condition, e.g., arresting the development of the disease or condition, at least partially relieving the disease or condition, at least partially causing regression of the disease or condition, at least partially relieving a condition caused by the disease or condition, or at least partially stopping the symptoms of the disease or condition. Thus any treatment of a disease in a mammal should provide at least a partial therapeutic or prophylactic effect, including any, all or a combination of the following:
- [64] a) preventing the onset of disease, that is, causing the clinical symptoms of the disease not to develop;
- [65] b) delaying the onset of disease, that is, causing the clinical symptoms of the disease to develop at a later time;
- [66] c) reducing the severity of the onset of disease, that is causing the clinical symptoms of the disease to develop less severely;
- [67] d) relieving an ongoing disease, that is, causing the regression of clinical symptoms;
- [68] e) arresting an ongoing disease, that is, causing the elimination of clinical symptoms; and/or
- [69] f) enhancing normal physiological functioning.
- [70]
- [71] Compounds of Formula (I) can be prepared as pharmaceutically acceptable salts formed when an acidic proton present in the parent compound either is replaced by a metal ion, for example an alkali metal ion, an alkaline earth ion, or an aluminum ion;

or coordinates with an organic base. In addition, the salt forms of the disclosed compounds can be prepared using salts of the starting materials or intermediates.

- [72] Compounds of Formula (I) can be prepared as pharmaceutically acceptable acid addition salts (which are a type of pharmaceutically acceptable salt) by reacting the free base form of the compound with a pharmaceutically acceptable inorganic or organic acid, including, but not limited to, inorganic acids such as hydrochloric acid, hydrobromic acid, sulfuric acid, nitric acid, phosphoric acid metaphosphoric acid, and the like; and organic acids such as acetic acid, propionic acid, hexanoic acid, cyclopentanepropionic acid, glycolic acid, pyruvic acid, lactic acid, malonic acid, succinic acid, malic acid, maleic acid, fumaric acid, Q-toluenesulfonic acid, tartaric acid, trifluoroacetic acid, citric acid, benzoic acid, 3-(4-hydroxybenzoyl)benzoic acid, cinnamic acid, mandelic acid, arylsulfonic acid, methanesulfonic acid, ethanesulfonic acid, 1,2-ethanedisulfonic acid, 2-hydroxyethanesulfonic acid, benzenesulfonic acid, 2-naphthalenesulfonic acid, 4-methylbicyclo-[2.2.2]oct-2-ene-1-carboxylic acid, glucoheptonic acid, 4,4'-methylenebis-(3-hydroxy-2-ene-1-carboxylic acid), 3-phenylpropionic acid, trimethylacetic acid, tertiary butylacetic acid, lauryl sulfuric acid, gluconic acid, glutamic acid, hydroxynaphthoic acid, salicylic acid, stearic acid, and muconic acid.

- [73] Alternatively, compounds of Formula (I) can be prepared as pharmaceutically acceptable base addition salts (which are a type of a pharmaceutically acceptable salt) by reacting the free acid form of the compound with a pharmaceutically acceptable inorganic or organic base, including, but not limited to organic bases such as ethanolamine, diethanolamine, triethanolamine, tromethamine, N-methylglucamine, and the like and inorganic bases such as aluminum hydroxide, calcium hydroxide, potassium hydroxide, sodium carbonate, sodium hydroxide, and the like.

- [74] It should be understood that a reference to a pharmaceutically acceptable salt includes the solvent addition forms or crystal forms thereof, particularly solvates or polymorphs. Solvates contain either stoichiometric or non-stoichiometric amounts of a solvent, and may be formed during the process of crystallization with pharmaceutically acceptable solvents such as water, ethanol, and the like. Hydrates are formed when the solvent is water, or alcoholates are formed when the solvent is alcohol. Solvates of compounds of Formula (I) can be conveniently prepared or formed during the processes described herein. By way of example only, hydrates of compounds of Formula (I) can be conveniently prepared by recrystallization from an aqueous/organic solvent mixture, using organic solvents including, but not limited to, dioxane, tetrahydrofuran or methanol. In addition, the compounds provided herein can exist in unsolvated as well as solvated forms. In general, the solvated forms are considered equivalent to the unsolvated forms for the purposes of the compounds and methods

76

provided herein.

- [75] Compounds of Formula (I) include crystalline forms, also known as polymorphs. Polymorphs include the different crystal packing arrangements of the same elemental composition of a compound. Polymorphs usually have different X-ray diffraction patterns, infrared spectra, melting points, density, hardness, crystal shape, optical and electrical properties, stability, and solubility. Various factors such as the recrystallization solvent, rate of crystallization, and storage temperature may cause a single crystal form to dominate.
- [76] Compounds of Formula (I) can be prepared as prodrugs. Prodrugs are generally drug precursors that, following administration to a subject and subsequent absorption, are converted to an active, or a more active species via some process, such as conversion by a metabolic pathway. Some prodrugs have a chemical group present on the prodrug that renders it less active and/or confers solubility or some other property to the drug. Once the chemical group has been cleaved and/or modified from the prodrug the active drug is generated. Prodrugs are often useful because, in some situations, they may be easier to administer than the parent drug. They may, for instance, be bioavailable by oral administration whereas the parent is not. The prodrug may also have improved solubility in pharmaceutical compositions over the parent drug. An example, without limitation, of a prodrug would be a compound of Formula (I) which is administered as an ester (the "prodrug") to facilitate transmittal across a cell membrane where water solubility is detrimental to mobility but which then is metabolically hydrolyzed to the carboxylic acid, the active entity, once inside the cell where water-solubility is beneficial. A further example of a prodrug might be a short peptide (polyaminoacid) bonded to an acid group where the peptide is metabolized to reveal the active moiety.
- [77] Prodrugs may be designed as reversible drug derivatives, for use as modifiers to enhance drug transport to site-specific tissues. The design of prodrugs to date has been to increase the effective water solubility of the therapeutic compound for targeting to regions where water is the principal solvent. See for example Fedorak *et al*, *Am. J. Physiol.* (1995) 269, G210-218; McLoed *et al*, *Gastroenterol* (1994) 106, 405-413; Hochhaus *et al*, *Biomed. Chrom.* (1992) 6, 283-286; Larsen and Bundgaard, *Int. J. Pharmaceutics* (1987) 37, 87; Larsen *et al*, *Int. J. Pharmaceutics* (1988) 47, 103; Sinkula *et al*, *J. Pharm. Sci.* (1975) 64, 181-210; Higuchi and Stella, *Pro-drugs as Novel Delivery Systems*, Vol. 14 of the A.C.S. Symposium Series; and Roche, *Bioreversible Carriers in Drug Design* (1987) American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, all incorporated herein in their entirety.
- [78] Additionally, prodrug derivatives of compounds of Formula (I) can be prepared by methods known to those of ordinary skill in the art (for further details see for example Saulnier *et al*, *Bioorg. and Med. Chem. Lett.* (1994) 4, p. 1985). By way of example

17

only, appropriate prodrugs can be prepared by reacting a non-derivatized compound of Formula (I) with a suitable carbamylating agent, such as, but not limited to, 1,1-acyloxyalkylcarbanochloridate, para-nitrophenyl carbonate, or the like. Prodrug forms of the herein described compounds, wherein the prodrug is metabolized *in vivo* to produce a derivative as set forth herein are included within the scope of the claims. Indeed, some of the herein-described compounds may be a prodrug for another derivative or active compound.

[79] In other embodiments, the compounds described herein may be labeled isotopically (e.g. with a radioisotope) or by another other means, including, but not limited to, the use of chromophores or fluorescent moieties, bioluminescent labels, or chemiluminescent labels. The compounds of Formula (I) may possess one or more chiral centers and each center may exist in the R or S configuration. The compounds presented herein include all diastereomeric, enantiomeric, and epimeric forms as well as the appropriate mixtures thereof. Compounds of Formula (I) can be prepared as their individual stereoisomers by reacting a racemic mixture of the compound with an optically active resolving agent to form a pair of diastereoisomeric compounds, separating the diastereomers and recovering the optically pure enantiomers. While resolution of enantiomers can be carried out using covalent diastereomeric derivatives of the compounds described herein, dissociable complexes are preferred (e.g., crystalline diastereomeric salts). Diastereomers have distinct physical properties (e.g., melting points, boiling points, solubilities, reactivity, etc.) and can be readily separated by taking advantage of these dissimilarities. The diastereomers can be separated by chiral chromatography, or preferably, by separation/resolution techniques based upon differences in solubility. The optically pure enantiomer is then recovered, along with the resolving agent, by any practical means that would not result in racemization. A more detailed description of the techniques applicable to the resolution of stereoisomers of compounds from their racemic mixture can be found in Jacques, Collet and Wilen, *Enantiomers, Racemates and Resolutions* (1981) John Wiley & Sons, New York, NY, herein incorporated by reference in its entirety.

[80] Additionally, the compounds and methods provided herein may exist as geometric isomers. The compounds and methods provided herein include all cis, trans, syn, anti, entgegen (E), and zusammen (Z) isomers as well as the appropriate mixtures thereof. In some situations, compounds may exist as tautomers. All tautomers are included within the formulas described herein are provided by compounds and methods herein. In additional embodiments of the compounds and methods provided herein, mixtures of enantiomers and/or diastereoisomers, resulting from a single preparative step, combination, or interconversion may also be useful for the applications described herein.

[81] 1-Cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-

516
dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid shows excellent antimicrobial activity against gram positive bacteria, gram negative bacteria, methicillin resistant bacteria, penicillin resistant bacteria, and the known quinolone resistant strains among quinolone antimicrobial agents. However, the aqueous solubility of this agent is low (See Korean Patent No. 10-566346).

- [82] Generally, it is desirable that an active ingredient used in a pharmaceutical composition has high solubility in water or in aqueous solution over a wide range of pH values. To increase the pharmaceutical utility of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid, a salt form of this compound having excellent solubility was developed.
- [83] Various salt forms of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid are disclosed in Korean Patent No. 10-566346. Examples of the salt forms disclosed include an inorganic acid such as hydrochloric acid, phosphoric acid and sulfuric acid; an organic acid such as methanesulfonic acid, p-toluenesulfonic acid, acetic acid, citric acid, maleic acid, succinic acid, oxalic acid, benzoic acid, tartaric acid, fumaric acid, mandelic acid, glucuronic acid; and a cation such as sodium ion, and potassium ion. Phosphate and hydrochloride salt forms of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid were thought to have the best solubility among the salts of the above acids.
- [84] Hydrochloride salt form of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid causes severe fibrous peritonitis and therefore not suitable for injection formulation.
- [85] Aspartic acid (2-aminosuccinic) is a stable, naturally occurring amino acid and has no moisture absorption or corrosive characteristics, thus allowing it to be handled with safety. Since aspartic acid is also readily available in quantity, it can be easily used in large scale production. In addition, aspartic acid has been approved by the United States Food and Drug Administration for use as a food additive or a pharmaceutical component.
- [86] Aspartic acid protects the liver from some drug toxicity, aids mineral absorption, and improves the functions of DNA, RNA, and immune system.
- [87] It has been found that aspartic acid salts or aspartate of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid can have much higher solubility, excellent

physical properties such as stability, and importantly, displays substantially no toxicity, as compared to the phosphate and hydrochloride salt forms. In some embodiments, aspartic acid salts or aspartate of

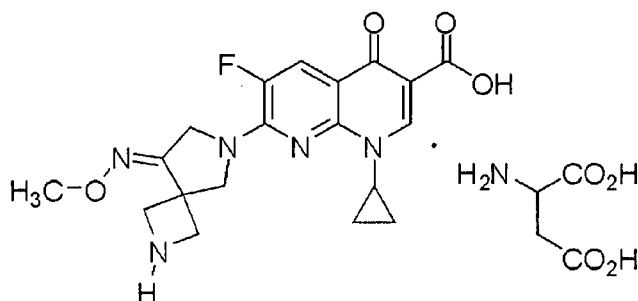
1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid can cause less severe fibrous peritonitis as compared to the hydrochloride salt form. In some embodiments, aspartic acid salts or aspartate of

1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid can show higher lethal dose (LD) as compared to the hydrochloride salt form. In some embodiments, aspartic acid salts or aspartate of

1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid can show higher lethal dose (LD) as compared to the phosphate salt form.

- [88] In one aspect, provided are aspartic acid salt forms of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid represented by the structure of Formula (I).

[89]



Formula (I)

[90]

- [91] In a further or alternative embodiment, the aspartic acid is D-aspartic acid. In a further or alternative embodiment, the aspartic acid is L-aspartic acid. In a further or alternative embodiment, the aspartic acid is DL-aspartic acid or a racemic mixture thereof. In yet another further or alternative embodiment, the aspartic acid is a non-racemic mixture of D-aspartic acid and L-aspartic acid.

[92]

The aspartic acid salt of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid has better solubility than 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid, or a hydrochloride salt thereof and/or the phosphate salt thereof.

[93]

In some embodiments, the solubility of the aspartic acid salt of

20

1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid is about 4 to about 8 times more than that of the hydrochloride in distilled water. In some embodiments, the solubility of the aspartic acid salt is about 5 to about 6 times more than that of the hydrochloride in distilled water.

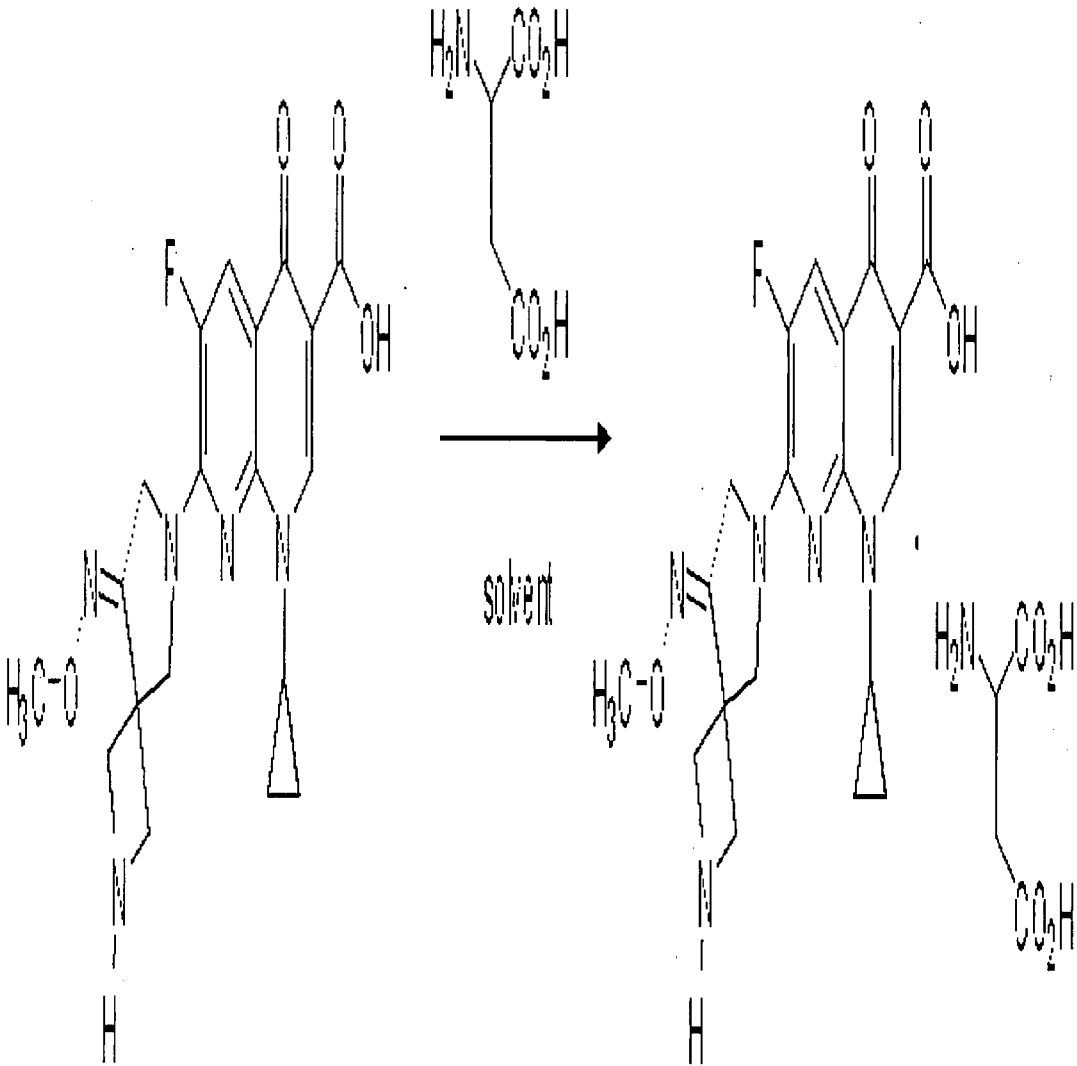
- [94] In some embodiments, the solubility of the aspartic acid salt of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid is about 15 to about 30 times more than that of the hydrochloride in aqueous solution with a pH of 1.2. In some embodiments, the solubility of the aspartic acid salt is about 17 to about 27 times more than that of the hydrochloride in aqueous solution with a pH of 1.2. In some embodiments, the solubility of the aspartic acid salt is about 25 to about 30 times more than that of the hydrochloride in aqueous solution with a pH of 1.2.
- [95] In some embodiments, the solubility of the aspartic acid salt of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid is and about 50 to about 150 times more than that of the hydrochloride in aqueous solution with a pH of 6.8. In some embodiments, the solubility of the aspartic acid salt is about 69 to 130 times more than that of the hydrochloride in aqueous solution with a pH of 6.8. In some embodiments, the solubility of the aspartic acid salt is about 80 to 120 times more than that of the hydrochloride in aqueous solution with a pH of 6.8.
- [96] In some embodiments, the aspartate of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid is stable at room temperature. In some embodiments, the aspartate is more stable than the hydrochloride salt form. In some embodiments, the aspartate is more stable than the phosphate salt form.
- [97] In some embodiments, the aspartate of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid has the highest median lethal dose, as compared to other salts (methanesulfonate, hydrochloride, phosphate, or formate) when dosed intraparenteral.
- [98] In some embodiments, the aspartate of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid has the highest approximate lethal dose, as compared to other salts (methanesulfonate, hydrochloride, phosphate, or formate) when dosed intraparenteral.
- [99] In one embodiment, the aspartate of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-di

hydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid may be a crystalline form. In another embodiment, the aspartate of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid may be a noncrystalline form.

[100] In another aspect, provided are methods for preparing the aspartate of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid of Formula (I).

[101] In some embodiments, the method for preparing the aspartate of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid comprises a step of reacting 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid with aspartic acid in a solvent. The method can be represented by Scheme 1.

[102] **Scheme 1**
 [103]



22

[104]

[105] 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid can be dissolved in an inactive organic solvent. The inactive organic solvent can be used in 10 to 20 fold volume (ml) to the weight (g) of

1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid. Aspartic acid can be added thereto with from 0.9 to 2.5 equivalent weight, based on 1 equivalent weight of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid. In some embodiments, Aspartic acid can be added from 1.0 to 1.5 equivalent weight. The reaction of Scheme 1 can be carried out at temperature of 30 to 70 °C. In some embodiments, the reaction of Scheme 1 is carried out at temperature of 40 to 60 °C. The reaction of Scheme 1 can last from 10 minutes to 5 hours. In some embodiments, the reaction of Scheme 1 lasts from 30 minutes to 2 hours.

[106]

In one embodiment for the preparation of the aspartate of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid, the aspartic acid is D-aspartic acid. In a further or alternative embodiment, the aspartic acid is L-aspartic acid. In a further or alternative embodiment, the aspartic acid is DL-aspartic acid or a racemic mixture thereof. In yet another further or alternative embodiment, the aspartic acid is a non-racemic mixture of D-aspartic acid and L-aspartic acid. In some embodiments of the method for the preparation of the aspartate of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid, the solvent is selected from the group consisting of ethyl acetate, methanol, ethanol, isopropanol, acetone, acetonitrile, hexane, isopropyl ether, water, and any combination thereof. In some embodiments, the solvent is ethanol.

[107]

In another aspect, provided are antimicrobial pharmaceutical compositions comprising the aspartic acid salt of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid of Formula (I). In some embodiments, the aspartic acid is selected from D-aspartic acid, L-aspartic acid, DL-aspartic acid or a non-racemic mixture of D-aspartic acid and L-aspartic acid.

[108]

For administration, the antimicrobial pharmaceutical composition can be prepared including at least one pharmaceutically acceptable carrier, in addition to the active ingredients as described above. Examples of the pharmaceutically acceptable carrier include saline solution, sterile water, Ringer's solution, buffered saline solution,

dextrose solution, maltodextrin solution, glycerol, ethanol and a mixture of two or more thereof. If necessary, the composition may also contain other conventional additives, such as antioxidants, buffers, and bacteriostatic agents. Moreover, the composition may additionally contain diluents, dispersants, surfactants, binders, and lubricants in order to formulate it into injectable formulations, such as aqueous solution, suspension, and emulsion, pills, capsules, granules and tablets. Furthermore, the composition may be formulated depending on particular diseases and its components, using methods described in Remington's Pharmaceutical Science, Mack Publishing Company, Easton PA.

[109] The composition of this aspect can be administered orally or parenterally (for example, intravenous, subcutaneous, intraperitoneal, or topical application). The dosage of the composition of the invention can vary depending on various factors, including patient's weight, age, sex, health condition and diet, and administration time, administration route, secretion rate, disease severity, etc. In some embodiments, the aspartate of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid of Formula (I) can be administered at a daily dosage of about 1 to 100 mg/kg, preferably 2 to 20 mg/kg, one time or several times per day.

[110] The composition of the invention can be used alone or in combination with other therapeutic agents. In some embodiments, the composition is in combination with at least one other antimicrobial agent.

[111]

[112] ***Pharmaceutical Composition/Formulation/Administration***

[113] A pharmaceutical composition, as used herein, refers to a mixture of at least one compound Formula (I) with other chemical components, such as carriers, stabilizers, diluents, dispersing agents, suspending agents, thickening agents, and/or excipients. The pharmaceutical composition facilitates administration of the compound to an organism. Pharmaceutical compositions containing at least one compound of Formula (I) can be administered in therapeutically effective amounts as pharmaceutical compositions by any conventional form and route known in the art including, but not limited to: intravenous, oral, rectal, aerosol, parenteral, ophthalmic, pulmonary, transdermal, vaginal, otic, nasal, and topical administration.

[114] One may administer pharmaceutical compositions in a local rather than systemic manner, for example, via injection of the compound directly into an organ, often in a depot or sustained release formulation. Furthermore, one may administer pharmaceutical compositions containing at least one compound of Formula (I) in a targeted drug delivery system, for example, in a liposome coated with organ-specific antibody.

27

The liposomes will be targeted to and taken up selectively by the organ. In addition, pharmaceutical compositions containing at least one compound of Formula (I) may be provided in the form of rapid release formulations, in the form of extended release formulations, or in the form of intermediate release formulations.

- [115] For oral administration, compounds of Formula (I) can readily be formulated by combining the active compounds with pharmaceutically acceptable carriers or excipients well known in the art. Such carriers enable the compounds described herein to be formulated as tablets, powders, pills, dragees, capsules, liquids, gels, syrups, elixirs, slurries, suspensions and the like, for oral ingestion by a patient to be treated.
- [116] Pharmaceutical preparations for oral use can be obtained by mixing one or more solid excipients with one or more of the compounds described herein, optionally grinding the resulting mixture, and processing the mixture of granules, after adding suitable auxiliaries, if desired, to obtain tablets or dragee cores. Suitable excipients are, in particular, fillers such as sugars, including lactose, sucrose, mannitol, or sorbitol; cellulose preparations such as: for example, maize starch, wheat starch, rice starch, potato starch, gelatin, gum tragacanth, methylcellulose, microcrystalline cellulose, hydroxypropylmethylcellulose, sodium carboxymethylcellulose; or others such as: polyvinylpyrrolidone (PVP or povidone) or calcium phosphate. If desired, disintegrating agents may be added, such as the cross-linked croscarmellose sodium, polyvinylpyrrolidone, agar, or alginic acid or a salt thereof such as sodium alginate.
- [117] Dragee cores are provided with suitable coatings. For this purpose, concentrated sugar solutions may be used, which may optionally contain gum arabic, talc, polyvinylpyrrolidone, carbopol gel, polyethylene glycol, and/or titanium dioxide, lacquer solutions, and suitable organic solvents or solvent mixtures. Dyestuffs or pigments may be added to the tablets or dragee coatings for identification or to characterize different combinations of active compound doses.
- [118] Pharmaceutical preparations which can be used orally include push-fit capsules made of gelatin, as well as soft, sealed capsules made of gelatin and a plasticizer, such as glycerol or sorbitol. The push-fit capsules can contain the active ingredients in admixture with filler such as lactose, binders such as starches, and/or lubricants such as talc or magnesium stearate and, optionally, stabilizers. In soft capsules, the active compounds may be dissolved or suspended in suitable liquids, such as fatty oils, liquid paraffin, or liquid polyethylene glycols. In addition, stabilizers may be added. All formulations for oral administration should be in dosages suitable for such administration.
- [119] For buccal or sublingual administration, the compositions may take the form of tablets, lozenges, or gels formulated in conventional manner. Parental injections may involve for bolus injection or continuous infusion. The pharmaceutical compositions of Formula (I) may be in a form suitable for parenteral injection as sterile suspensions,

25

solutions or emulsions in oily or aqueous vehicles, and may contain formulatory agents such as suspending, stabilizing and/or dispersing agents. Pharmaceutical formulations for parenteral administration include aqueous solutions of the active compounds in water-soluble form. Additionally, suspensions of the active compounds may be prepared as appropriate oily injection suspensions. Suitable lipophilic solvents or vehicles include fatty oils such as sesame oil, or synthetic fatty acid esters, such as ethyl oleate or triglycerides, or liposomes. Aqueous injection suspensions may contain substances which increase the viscosity of the suspension, such as sodium carboxymethyl cellulose, sorbitol, or dextran. Optionally, the suspension may also contain suitable stabilizers or agents which increase the solubility of the compounds to allow for the preparation of highly concentrated solutions. Alternatively, the active ingredients may be in powder form for constitution with a suitable vehicle, *e.g.*, sterile pyrogen-free water, before use.

- [120] The compounds of Formula (I) can be administered topically and can be formulated into a variety of topically administrable compositions, such as solutions, suspensions, lotions, gels, pastes, medicated sticks, balms, creams or ointments. Such pharmaceutical compositions can contain solubilizers, stabilizers, tonicity enhancing agents, buffers and preservatives.
- [121] Formulations suitable for transdermal administration of the compounds of Formula (I) may employ transdermal delivery devices or transdermal delivery patches and can be lipophilic emulsions or buffered, aqueous solutions, dissolved and/or dispersed in a polymer or an adhesive. Such patches may be constructed for continuous, pulsatile, or on demand delivery of pharmaceutical agents. Still further, transdermal delivery of the compounds of Formula (I) can be accomplished by means of iontophoretic patches and the like. Additionally, transdermal patches can provide controlled delivery of the compounds of Formula (I). The rate of absorption can be slowed by using rate-controlling membranes or by trapping the compound within a polymer matrix or gel. Conversely, absorption enhancers can be used to increase absorption. An absorption enhancer or carrier can include absorbable pharmaceutically acceptable solvents to assist passage through the skin. For example, transdermal devices are in the form of a bandage comprising a backing member, a reservoir containing the compound optionally with carriers, optionally a rate controlling barrier to deliver the compound to the skin of the host at a controlled and predetermined rate over a prolonged period of time, and means to secure the device to the skin.
- [122] For administration by inhalation, the compounds of Formula (I) may be in a form such as an aerosol, a mist or a powder. Pharmaceutical compositions comprising at least one compound of Formula (I) can be conveniently delivered in the form of an aerosol spray presentation from pressurized packs or nebulisers, with the use of a

28

suitable propellant, *e.g.*, dichlorodifluoromethane, trichlorofluoromethane, dichlorotetrafluoroethane, carbon dioxide or other suitable gas. In the case of a pressurized aerosol the dosage unit may be determined by providing a valve to deliver a metered amount. Capsules and cartridges of, such as, by way of example only, gelatin for use in an inhaler or insufflator may be formulated containing a powder mix of the compound and a suitable powder base such as lactose or starch.

[123] The compounds of Formula (I) may also be formulated in rectal compositions such as enemas, rectal gels, rectal foams, rectal aerosols, suppositories, jelly suppositories, or retention enemas, containing conventional suppository bases such as cocoa butter or other glycerides, as well as synthetic polymers such as polyvinylpyrrolidone, PEG, and the like. In suppository forms of the compositions, a low-melting wax such as, but not limited to, a mixture of fatty acid glycerides, optionally in combination with cocoa butter is first melted.

[124] In practicing the methods of treatment or use provided herein, therapeutically effective amounts of compounds of Formula (I) provided herein are administered in pharmaceutical compositions to a mammal having a disease or condition to be treated. Preferably, the mammal is a human. A therapeutically effective amount can vary widely depending on the severity of the disease, the age and relative health of the subject, the potency of the compound used and other factors. The compounds can be used singly or in combination with one or more therapeutic agents as components of mixtures.

[125] Pharmaceutical compositions may be formulated in conventional manner using one or more physiologically acceptable carriers comprising excipients and auxiliaries which facilitate processing of the active compounds into preparations which can be used pharmaceutically. Proper formulation is dependent upon the route of administration chosen. Any of the well-known techniques, carriers, and excipients may be used as suitable and as understood in the art. Pharmaceutical compositions comprising at least one compound of Formula (I) may be manufactured in a conventional manner, such as, by way of example only, by means of conventional mixing, dissolving, granulating, dragee-making, levigating, emulsifying, encapsulating, entrapping or compression processes.

[126] The pharmaceutical compositions will include at least one pharmaceutically acceptable carrier, diluent or excipient and at least one compound of Formula (I) as described herein as an active ingredient in free-acid or free-base form, or in a pharmaceutically acceptable salt form. In addition, the methods and pharmaceutical compositions described herein include the use of *N*-oxides, crystalline forms (also known as polymorphs), as well as active metabolites of these compounds having the same type of activity. In some situations, compounds may exist as tautomers. All tautomers

are included within the scope of the compounds presented herein. Additionally, the compounds described herein can exist in unsolvated as well as solvated forms with pharmaceutically acceptable solvents such as water, ethanol, and the like. The solvated forms of the compounds presented herein are also considered to be disclosed herein. In addition, the pharmaceutical compositions may include other medicinal or pharmaceutical agents, carriers, adjuvants, such as preserving, stabilizing, wetting or emulsifying agents, solution promoters, salts for regulating the osmotic pressure, and/or buffers. In addition, the pharmaceutical compositions can also contain other therapeutically valuable substances.

- [127] Methods for the preparation of compositions comprising the compounds described herein include formulating the compounds with one or more inert, pharmaceutically acceptable excipients or carriers to form a solid, semi-solid or liquid. Solid compositions include, but are not limited to, powders, tablets, dispersible granules, capsules, cachets, and suppositories. Liquid compositions include solutions in which a compound is dissolved, emulsions comprising a compound, or a solution containing liposomes, micelles, or nanoparticles comprising a compound as disclosed herein. Semi-solid compositions include, but are not limited to, gels, suspensions and creams. The compositions may be in liquid solutions or suspensions, solid forms suitable for solution or suspension in a liquid prior to use, or as emulsions. These compositions may also contain minor amounts of nontoxic, auxiliary substances, such as wetting or emulsifying agents, pH buffering agents, and so forth.
- [128] A summary of pharmaceutical compositions described herein may be found, for example, in Remington, *The Science and Practice of Pharmacy*, 19th Ed. (1995) Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania.; Hoover, *Remington's Pharmaceutical Sciences* (1975) Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania; Liberman and Lachman, *Pharmaceutical Dosage Forms* (1980) Marcel Decker, New York, N.Y.; and Lippincott, Williams & Wilkins, *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 7th Ed. (1999) all of which are herein incorporated by reference in their entirety.
- [129] The compounds according to the disclosure are effective over a wide dosage range. For example, in the treatment of adult humans, dosages from about 0.01 to about 10,000 mg, from about 0.5 to about 1000 mg, from about 1 to about 500 mg per day, and from about 5 to about 100 mg per day are examples of dosages that in some embodiments are used. The exact dosage will depend upon the route of administration, the form in which the compound is administered, the subject to be treated, the body weight of the subject to be treated, and the preference and experience of the attending physician.

28

Mode for the Invention

- [130] While preferred embodiments of the present invention have been shown and described herein, it will be obvious to those skilled in the art that such embodiments are provided by way of example only. Numerous variations, changes, and substitutions will now occur to those skilled in the art without departing from the invention. It should be understood that various alternatives to the embodiments of the invention described herein may be employed in practicing the invention. It is intended that the following claims define the scope of the invention and that methods and structures within the scope of these claims and their equivalents be covered thereby.
- [131] 1-Cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid can be prepared by the same method described in Korean Patent No. 10-566346. A methanesulfonate of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid can be prepared by the same method as described in Korean Patent No. 10-566346.
- [132]
- [133] **Example 1:** *Preparation of the D-aspartic acid salt of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid.*
- [134]
- [135] 1-Cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid (5.0 g) was added to 50% ethanol (80 mL), and then the mixture was stirred at 50 °C for 10 minutes. D-Aspartic acid (2.0 g) was added and then the mixture was stirred at 50 °C for 1 hour. The mixture was cooled to room temperature, and then the resulting solid was collected by filtration. Ethanol (100 mL) was added to the filtrate, and then the mixture was stirred for 30 minutes. The resulting solid was collected by filtration to obtain a total of 5.55 g of the target compound (yield: 83%). Melting point: 200-201 °C. ¹H NMR (D₂O): δ 0.97 (bs, 2H), 1.27 (d, 2H), 2.00 (dd, 1H, J = 8.8, 17.6 Hz), 2.77 (dd, 1H, J = 3.3, 17.0 Hz), 3.53 (bs, 1H), 3.84 (dd, 1H, J = 3.3, 8.78 Hz), 4.01 (s, 3H), 4.31-4.45 (m, 8H), 7.46 (d, 1H, J = 12.2 Hz), 8.42 (s, 1H).
- [136]
- [137] **Example 2:** *Preparation of L-aspartic acid salt of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid.*
- [138]
- [139] 1-Cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-

29

dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid (500 mg) was added to 50% ethanol (20 mL), and then the mixture was stirred at 50 °C for 10 minutes. L-Aspartic acid (174 mg) was added and then the mixture was stirred at 50 °C for 1 hour. The mixture was cooled to room temperature. Ethanol (20 mL) was added to the reaction mixture, and then the mixture was stirred for 30 minutes. The resulting solid was collected by filtration to obtain 550 mg of the target compound (yield: 82%). Melting point: 205-206 °C. ¹H NMR (*d*₆-DMSO): δ 0.93 (d, 2H, J = 3.5 Hz), 1.20 (d, 2H, J = 6.8 Hz), 2.42 (dd, 1H, J = 9.2, 17.3 Hz), 2.59 (dd, 1H, J = 3.3, 17.2 Hz), 3.50 (m, 1H), 3.59 (1H, dd, J = 3.1, 9.1 Hz), 3.91 (s, 3H), 4.24 (m, 6H), 4.41 (br, 2H), 7.59 (d, 1H, J = 12.4 Hz), 8.41 (s, 1H).

[140]

[141] **Example 3 - Preparation of hydrochloric acid salt, phosphate salt, and formate salt of**

1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid.

[142]

[143] **3-1 Hydrochloric acid salt**

[144]

[145] Ethanol (3 mL) was cooled to 0 °C and acetyl chloride (1.13 mL) was added, and then the mixture was stirred for 30 minutes.

1-Cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid (800 mg) was added to the reaction mixture, and then stirred at 0 °C for 30 minutes. Tetrahydrofuran (4 mL) was added, and then the mixture was stirred for 30 minutes. The resulting solid was collected by filtration and dried to obtain 776 mg of the target compound (yield: 89%). Melting point: 244-245 °C. ¹H NMR (*d*₆-DMSO): δ 1.07 (d, 2H, J = 4.7 Hz), 1.21 (d, 2H, J = 6.8 Hz), 3.68 (m, 1H), 3.94 (s, 3H), 4.17 (m, 2H), 4.40 (s, 2H), 4.53 (s, 2H), 8.03 (d, 1H, J = 12.5 Hz), 8.59 (s, 1H).

[146]

[147] **3-2 Phosphate salt**

[148]

[149] 1-Cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid (5.0 g) is added to 50% ethanol (180 mL), and then the mixture was stirred at 50 °C for 10 minutes. Phosphoric acid (0.84 mL) was added, and then the mixture was stirred at 50 °C for 1 hour. The mixture was cooled to room temperature. The resulting solid was collected by filtration and dried to obtain 3.8 g of the target compound (yield: 61%). Melting point: 220-222 °C. ¹H NMR (*d*₆-DMSO): δ 1.11 (d, 2H, J = 4.2 Hz), 1.21 (d, 2H, J = 7.6 Hz), 3.71 (m, 1H), 3.97 (s,

30

3H), 4.18 (m, 4H), 4.41 (m, 2H), 4.55 (m, 2H), 8.06 (d, 1H, J = 12.6 Hz), 8.59 (s, 1H).

[150]

[151] 3-3 Formate salt

[152]

[153] 1-Cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid (5.0 g) was dissolved in ethanol (50 mL), and then 85% formic acid (0.5 mL) was added. The mixture was stirred at 50 °C for 2 hours, and then stirred again at room temperature for 3 hours. The resulting solid was collected by filtration and dried to obtain 4.07 g of the target compound (yield: 73%). Melting point: 198-199 °C. ¹H NMR (*d*₆-DMSO): δ 1.10 (d, 2H, J=2.4 Hz), 1.25 (d, 2H, J = 6.6 Hz), 3.72 (m, 1H), 3.98 (m, 5H), 4.09 (m, 2H), 4.39 (s, 2H), 4.55 (s, 2H), 8.04 (d, 1H, J = 12.6 Hz), 8.31 (s, 1H), 8.58 (s, 1H).

[154]

[155] **Example 4A: Solubility Determination of Various Salt Forms**

[156]

[157] Solubility of the parent compound, solubility of the hydrochloride salt, solubility of the D-aspartic acid salt, and solubility of the L-aspartic acid salt are measured under the conditions of various solvents at room temperature. The results are shown in Table 1.

[158] Table 1

[Table 1]

Table 1 – Solubility of Various Salt Forms				
	Salt Form Solubility (mg/mL)			
	Parent Compound	Hydrochloride (Example 3)	D-Aspartate (Example 1)	L-Aspartate (Example 2)
Distilled water	2.22	13.5	63.5	77.9
pH 1.2	7.70	1.62	44.2	28.3
pH 4.0	6.49	8.96	76.1	56.2
pH 6.8	0.038	0.061	7.92	4.21

[159] shown in Table 1, the D-aspartate of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid, and the L-aspartate of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid have greater solubility than

31

1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-di
hydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid, or the hydrochloride thereof.

[160] The solubility of the D-aspartate of

1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-di
hydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid, and the solubility of the L-aspartate of
1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-di
hydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid can be about 5 to 6 times more than that of
hydrochloride in distilled water, about 17 to 27 times more than that of hydrochloride
with a pH of 1.2, and/or about 69 to 130 times more than that of hydrochloride with a
pH of 6.8.

[161]

[162] **Example 4B: Solubility Determination of Various Salt Forms**

[163]

[164] The solubilities of the D-aspartate of

1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-di
hydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid and the L-aspartate of

1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-di
hydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid prepared as described above and various
salts of

1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-di
hydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid in distilled water were measured at room
temperature.

[165] The results are shown in the table below, in which the solubilities were converted
into the corresponding solubilities of free base(mg/ml).

[166]

[167]

32

Salt	Solubility (mg/ml)
Free base	2.22
(D)-Aspartate	59.02
(L)-Aspartate	49.59
Hydrochloride	17.18
Phosphate	19.62
Formate	38.84
Malonate	5.26
Phthalate	0.48
Oxalate	2.26
Nitrate	2.19
Arginine	0.09
Maleate	0.18
Magnesium	0.02
Acetate	0.02
Malate	0.91
Salicylate	0.11
Hydrobromide	7.27
Benzoate	0.67
p-Toluenesulfate	0.74
Succinate	2.50
Fumarate	0.63
Tartarate	2.80
Mandelate	1.01
Sulfate	2.79
2,5-Dihydroxybenzoate	0

[168] As shown above, the D-aspartate of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid, and the L-aspartate of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid of the present invention showed the best solubility.

[169]

[170] **Example 5: Stability Determination of D-aspartic Acid Salt**

[171]

[172] 30 mg of D-aspartate of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid as prepared in Example 1 is dissolved in

33

100 ml of distilled water, and then subjected to stability test at room temperature. The results are shown in Table 2.

[173] Table 2
[Table 2]

Table 2 – Stability of D-Aspartic acid salt	
Time Course	Content (%)
Initial	99.32
After 1 week	99.16
After 2 weeks	99.04

[174] As shown in Table 2, the D-aspartate of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid does not change its purity at room temperature over the time course of the experiment. Therefore, its chemical stability is found to be well suited for injectable formulation.

[175]
[176] **Example 6: Mouse Toxicity Test**

[177]
[178] Toxicity profile of the D-aspartate of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid is confirmed in male ICR mice. Male ICR mice are divided into six dose groups (five mice per group), and then fasted (no food is given except water) for 24 hours. The D-aspartate of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid (as prepared in Example 1) and other salt forms (including methanesulfonate, hydrochloride, phosphate, and formate), are administered intraperitoneally at a daily dose of 2000, 1000, 500, 250, 125, and 0 (control) mg/kg administered (10 ml/kg total injection volume) one time per day. A median lethal dose (LD50), an approximate lethal dose, and a maximum tolerate dose are determined after observation for 14 days.

[179] Mortality, body weight changes, and organ weight changes are measured. Necropsy and histopathology findings are also performed. All mice in the 2000 mg/kg group and 2 mice in the 1000 mg/kg group die within two hours after treatment. One mouse in the 1000 mg/kg group dies eight days after treatment. Diarrhea and/or soft feces can be

3-5

detected in some mice. Increased weights in spleen, testis, or epididymis can be detected in some mice. Immature germ cells in the lumen of testicular tubules can be detected in the 500 mg/kg group. Some mice show infiltration of inflammatory cells in the attached fibrous tissues of spleen or necrotic foci around the fibrous tissue attached regions in the liver. The results of toxicity are shown in Table 3.

[180] Table 3
[Table 3]

Table 3 – Mouse Toxicity Determination			
Salt Form	Median lethal dose (mg/kg)	Approximate lethal dose (mg/kg)	Maximum tolerate dose (mg/kg)
D-Aspartate (Example 1)	963.13	500 - 1000	500
Methanesulfonate	716.24	500 - 1000	500
Hydrochloride (Example 3)	481.93	250 - 500	250
Phosphate (Example 3)	356.91	250 - 500	250
Formate (Example 3)	716.24	500 - 1000	500

[181] As shown in Table 3, it is found that the D-aspartate of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-di hydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid has the highest median lethal dose and highest approximate lethal dose, as compared to other salt forms (including methanesulfonate, hydrochloride, phosphate, and formate). Accordingly, it can be concluded that the D-aspartate of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-di hydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid has substantially reduced toxicity.

[182]

[183] **Example 7: Preparation of an Injectable Formulation**

[184]

[185] An injectable formulation containing 10 mg/mL of the active ingredient is prepared by the following method:

[186] 1 g of the compound of Formula (I), 0.6 g of sodium chloride, and 0.1 g of ascorbic acid are dissolved in distilled water and the final volume made to be 100 mL.

- 32
- [187]
- [188] **Example 8: Two-weeks Repeated Intravenous Toxicity Study in Beagle Dogs**
- [189]
- [190] 14-month old Male Beagle dogs (11.80 13.80 kg; Gaoyao Kangda Laboratory Animal Science & Technology Co., LTD., China) are administered intravenously once daily at dose levels of 10, 5, 2.5, 1, and 0 (control) mg/kg (body wt.) for 2 weeks. The mortality and changes on body weight, clinical signs and gross observation are monitored during the 14 days with organ weight and histopathology of 23 types of principle organs.
- [191] D-aspartic acid salt form of
1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid (Example 1) is homogeneously suspended in distilled water at 200 mg/ml concentration, and is well dissolved at 40, 20, 10, and 4 mg/ml concentrations. The test article is two-weeks repeated intravenously injected at a dosage volume of 0.25 ml/kg using distill water as vehicle.
- [192] No mortality is observed in all experimental groups including vehicle control group.
- [193] ClinicalXobserved during the experiment are vomiting and salivation. Vomiting is observed except for the control group. Salivation is observed in the 5 and 10 mg/kg dosing groups. Restlessness, diarrhea, injection site swelling, are sporadically observed in the 5 or 10 mg/kg dosing groups.
- [194] No significant body weight changes are observed.
- [195] No significant organ weight changes are observed.
- [196]
- [197] **Example 9: Pharmacokinetics in Mice**
- [198]
- [199] Seven week old male mice (ICR CD-1), 28-31 g of body weight upon receipt, are used. For each of the 100 mg/kg study and 10 mg/kg study, a total of seventy-two mice are divided into eighteen groups nine groups for the hydrochloride salt form (Example 3) and nine groups for the D-aspartate salt form (Example 1).
- [200] Blood is sampled at 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, and 5 hours after dosing by orbital puncture. Pharmacokinetics of the hydrochloride salt form (Example 3) and the D-aspartate salt form (Example 1) are compared in mice as shown in Table 4.
- [201] Table 4

38

[Table 4]

Table 4 – Pharmacokinetics in Mice				
PK parameters*	100 mg/kg, p.o.		10 mg/kg, i.v.	
	Hydrochloride (Example 3)	D-Aspartate (Example 1)	Hydrochloride (Example 3)	D-Aspartate (Example 1)
C max (µg/mL)	3.951	3.412	-	-
T max (hr)	0.25	0.25	-	-
C last (µg/mL)	-	-	0.067	0.092
T last (hr)	-	-	4.0	4.0
Half-life (hr)	2.205	1.707	1.259	1.543
AUC 0-8hr (µg x hr/mL)	8.963	8.679	2.140	1.907
Total AUC (µg x hr/mL)	9.653	9.051	2.310	2.112
*Only mean parameters shown.				

[202]

[203] **Example 10: Pharmacokinetic Study after Intravenous Administration in Rats**

[204]

[205] Pharmacokinetics of the hydrochloride salt form (Example 3) and the D-aspartate salt form (Example 1) are compared in rats as shown in Table 5.

[206] Table 5

[Table 5]

Table 5 – Pharmacokinetics in Rats (10 mg/kg i.v. in male SD rats)		
PK parameters	Hydrochloride (Example 3)	D-Aspartate (Example 1)
C last (µg/mL)	0.137 ± 0.042	0.107 ± 0.025
T last (hr)	5.0 ± 0.0	5.0 ± 0.0
Half-life (hr)	1.061 ± 0.093	1.058 ± 0.040
AUC 0-5hr	6.070 ± 0.731	5.228 ± 0.615
AUC inf (µg x hr/mL)	6.283 ± 0.804	5.393 ± 0.650

[207]

[208] **Example 11: Pharmacokinetics in Dogs**

[209]

[210] Four male beagle dogs are purchased from Gaoyao Kangda Laboratory Animal Sciences & Technology Co., LTD. The dose is formulated as a solution in sterile water at a concentration of 5 mg/0.1 ml/kg of body weight. The D-aspartate salt form (Example 1) is administered intravenously via a cephalic vein.

38

[211] Blood samples are collected via the cephalic vein into tubes containing sodium heparin anticoagulant and at 0.083, 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 5, and 8 hours post-administration. Pharmacokinetic parameters are calculated using WinNonlin (ver 1.0, Scientific Consulting Inc., USA). Pharmacokinetics of the D-aspartate salt form (Example 1) are shown in Table 6.

[212] Table 6

[Table 6]

Table 6 – Pharmacokinetics in Dogs (5 mg/kg i.v.)					
Parameters	Dog A	Dog B	Dog C	Dog D	Mean $\pm$ SD
C last ($\mu\text{g/mL}$)	0.369	0.412	0.380	0.387	0.387 ± 0.018
T last (hr)	8	8	8	8	8 ± 0
Half-life (hr)	3.38	4.12	3.51	4.00	3.75 ± 0.37
AUC 0-8hr ($\mu\text{g} \times \text{hr/mL}$)	7.293	7.345	7.535	6.650	7.206 ± 0.385
AUC inf ($\mu\text{g} \times \text{hr/mL}$)	9.092	9.795	9.457	8.886	9.307 ± 0.402
CL (ml/min/kg)	9.2	8.5	8.8	9.4	9.0 ± 0.4
Varea (L/kg)	2.7	3.0	2.7	3.3	2.9 ± 0.3
MRT (hr)	4.74	5.68	4.90	5.65	5.24 ± 0.49

[213]

[214] **Example 12: Single Dose Toxicity in Mice and Rats**

[215]

[216] For mice study, single dose intravenous injections of the D-aspartate salt form (Example 1) are carried out with the following dosages: 900, 400, 200, 100, and 50 mg/kg/10 ml. 10 ml/kg distilled water is used as control. Mortality, body weight changes, and organ weight changes are measured. Histopathology findings are also performed.

[217] All mice in the 900 and 400 mg/kg group die after the end of the treatment. The 200, 100, and 50 mg/kg groups show no serious toxicity. No significant target organ is found.

38

- [218] For rat study, single dose intravenous injections of the D-aspartate salt form (Example 1) are carried out with the following dosages: 600, 300, 150, 75, 37.5 mg/kg/5 ml. 5 ml/kg distilled water is used as control. Mortality, body weight changes, and organ weight changes are measured. Histopathology findings are also performed.
- [219] All rats in the 600 and 300 mg/kg group die after the end of the treatment. Loss of locomotion can be detected in the 150 and 75 mg/kg groups. Slight body weight increase can be observed in the 150 and 75 mg/kg groups. Also organ weight increase can be observed for liver and thymus in the 150 and 75 mg/kg groups.
- [220] Results of single dose toxicity are shown in Table 7.
- [221] Table 7
- [Table 7]

Table 7 - I.V. Toxicity Determination in Mice and Rats		
	50% lethal dose (LD ₅₀) mg/kg	Approximate lethal dose (ALD) mg/kg
Mice	279.98	200-400
Rats	210.72	150-300

- [222]
- [223] **Example 13: Intravenous Bolus Injection Toxicity Study**
- [224]
- [225] Once a day two-weeks repeated dose toxicity experiments of the D-aspartate salt form (Example 1) are carried out similarly as Example 8 in both dogs and rats. Results of i.v. repeated single dose toxicity are shown in Table 8.
- [226] Table 8
- [Table 8]

Table 8 - I.V. Toxicity Determination in Dogs and Rats		
Animal		Maximum tolerate dose mg/kg
Rats	Male	80
	Female	40
Dogs	Male	10

- [227]
- [228] **Example 14: Micronucleus Test in Bone Marrow Cells of Male Mice**
- [229]
- [230] Bone marrow cytogenetics is a useful short-term technique for elucidating the mechanism as well as to identify substances clastogenic and anticlastogenic activity. See Renner HW, (1990) *Mutat Res.* 244: 185-8. The micronucleus test using small

rodents can be sensitive methods for testing the genotoxicity of newly developed agents.

[231] The D-aspartate salt form (Example 1) or cyclophosphamide (CPA) is used for this experiment. Experimental intravenous high dosage is 250 mg/kg and low dosage is 200 mg/kg for the D-aspartate salt form (Example 1). 70 mg/kg intraperitoneally administration of CPA is used as a positive control dosage (seven male ICR mice are used in each group). Twenty-four hours after single injection administration, all animals are sacrificed and the changes on the number of polychromatic erythrocyte with one or more nuclei (MNPCE) are evaluated with the changes on the total white blood cells and difference counts on the neutrophils and lymphocytes on the prepared blood. In addition, PCE/(PCE+normochromatic erythrocytes (NCE)) ratio are calculated by counting 500 erythrocytes for detecting possibility of cytotoxicity.

[232] Single intravenous injection at 200 or 250 mg/kg can cause death followed by seizures after the end of treatment. For mice survive after the end of treatment, loss of locomotion can be detected within 4 hours after injection. Results of mortality or loss of locomotion are shown in Table 9.

[233] Table 9

[Table 9]

Table 9 – Results of Mortality or Loss of Locomotion		
Group ID	Mortality	Loss of Locomotion
Intact Control	0/7	0/7
Positive Control (CPA 70 mg/kg)	0/7	0/7
High dosage (250 mg/kg)	6/7	1/1
Low dosage (200 mg/kg)	1/7	6/6

[234]

[235] Significant decreases in blood total leukocyte numbers are detected in CPA treated and 200 mg/kg injected groups with dramatic increase in proportions of lymphocyte at differential counts on blood smear. No significant changes on the body weight or MNPCE numbers for all D-aspartate salt form treated groups, where CPA treated group shows significant increase of MNPCE. Thus, the micronucleus test in bone marrow cells of male ICR show negative result for the D-aspartate salt form of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid. Changes on the MNPCE numbers and PCE(PCE+NCE) ratio are shown in Table 10. Changes on the leukocytes and neutrophiles are shown in Table 11.

[236] Table 10

20

[Table 10]

Table 10 - Changes on the MNPCF Numbers and PCE(PCE+NCE) Ratio		
Group ID	MNPCEs/2000 PCEs	PCE(PCE+NCE) ratio
Intact Control	0.71 ± 0.76	0.51 ± 0.07
Positive Control (CPA 70 mg/kg)	71.86 ± 10.43	0.36 ± 0.07
High dosage (250 mg/kg)	5.00 ± ND*	0.41 ± ND*
Low dosage (200 mg/kg)	1.00 ± 1.10	0.34 ± 0.04
*Not calculated because of high mortality		

[237] Table 11

[Table 11]

Table 11 - Changes on the Leukocytes and Neutrophils			
Group ID	Total leukocyte numbers (x 10 ³ cells/mm ³)	Proportions among 100 leukocytes (%)	
		Lymphocytes	Neutrophils
Intact Control	5.02 ± 1.10	89.71 ± 4.39	9.71 ± 3.73
Positive Control (CPA 70 mg/kg)	2.36 ± 0.55	75.71 ± 9.20	21.71 ± 9.45
High dosage (250 mg/kg)	4.30 ± ND*	13.00 ± ND*	82.00 ± ND*
Low dosage (200 mg/kg)	3.20 ± 0.56	79.33 ± 5.20	17.17 ± 3.19
*Not calculated because of high mortality			

[238]

[239] **Example 15: Intramuscular Local Irritation Test**

[240]

[241] For the intramuscular local irritation test, the D-aspartate salt form (Example 1) is repeatedly injected once a day for seven days. Dosages used are 200, 100, and 50 mg/kg. 50 mg/kg ciprofloxacin and 2 ml/kg distilled water (control) are also used. Five mice per group are used.

[242] Various parameters are measured or performed including mortality, clinical signs, changes on body weights, changes on the calf thickness, changes on the organ weights, necropsy findings, changes on the blood WBC counts, and histopathological findings.

[243] Table 12

[Table 12]

Table 12 - Changes on the Calf Thickness			
Group ID	Intact Calf (A)	Injected Calf (B)	Differences (B-A)
Control	4.78 ± 0.08	5.22 ± 0.29	0.45 ± 0.27
Ciprofloxacin(50mg/kg)	4.80 ± 0.07	6.00 ± 0.36	1.20 ± 0.38
200 mg/kg dosage	4.83 ± 0.06	6.71 ± 0.19	1.88 ± 0.17
100 mg/kg dosage	4.78 ± 0.07	5.91 ± 0.37	1.13 ± 0.43
50 mg/kg dosage	4.77 ± 0.12	5.13 ± 0.12	0.36 ± 0.11

[244] Results show that repeated seven-day intramuscular injection of 200 mg/kg the D-aspartate salt form (Example 1) can cause similar local irritation as compared to the same injection of 50 mg/kg ciprofloxacin. Repeated seven-day intramuscular injection of 50 mg/kg the D-aspartate salt form (Example 1) shows only slight local irritations. Changes on the calf thickness are shown in Table 12, and changes on the white blood cell counts are shown in Table 13.

[245] Table 13

[Table 13]

Table 13 - changes on the white blood cell counts						
Group ID	Total leukocyte numbers (x10 ³ cells/μl)	Differential counts of leukocytes (%)				
		Neutrophils	Lymphocytes	Monocytes	Eosinophils	Basophils
Control	4.57 ± 0.77	7.80 ± 2.43	87.30 ± 3.40	3.60 ± 0.79	0.86 ± 1.06	0.06 ± 0.09
Ciprofloxacin(50mg/kg)	5.51 ± 0.40	13.94 ± 4.35	80.88 ± 4.29	4.58 ± 1.13	0.34 ± 0.45	0.02 ± 0.04
200 mg/kg dosage	5.49 ± 0.21	13.84 ± 4.55	80.36 ± 4.34	5.46 ± 1.14	0.04 ± 0.09	0.04 ± 0.05
100 mg/kg dosage	4.69 ± 0.46	8.52 ± 2.04	85.28 ± 2.02	5.62 ± 1.34	0.28 ± 0.41	0.06 ± 0.05
50 mg/kg dosage	4.50 ± 1.01	8.02 ± 1.18	86.40 ± 3.07	4.64 ± 2.22	0.44 ± 0.38	0.06 ± 0.05

[246]

Industrial Applicability

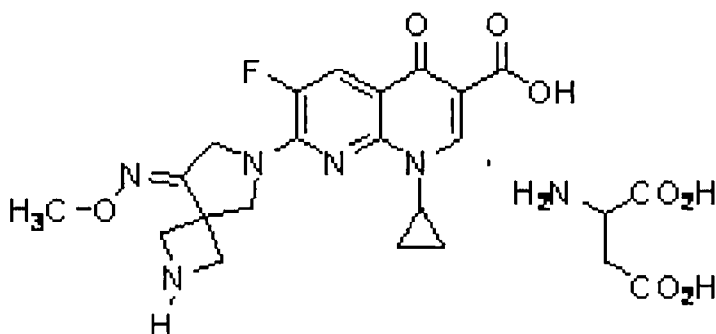
[247] An aspartic acid salt of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid according to the present invention has excellent physicochemical properties, which include its solubility and stability. Moreover, said acid salt has very low toxicity as shown by its much higher LD₅₀ value

42

when compared to other salts. Accordingly, it is very effective for an antimicrobial agent.

Claims

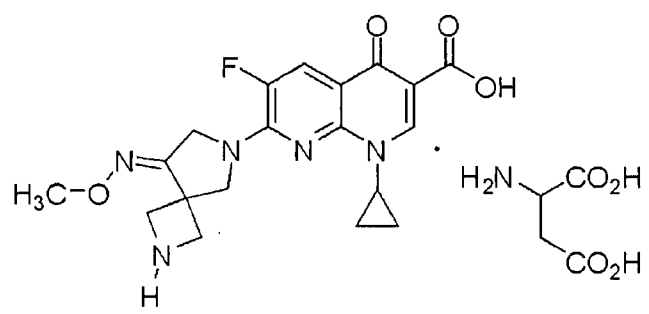
- [1] An aspartic acid salt of
1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid represented by Formula (I):



Formula (I).

- [2] The aspartic acid salt of claim 1, wherein the aspartic acid is selected from D-aspartic acid, L-aspartic acid, DL-aspartic acid or a non-racemic mixture of D-aspartic acid and L-aspartic acid.
- [3] A method for preparing the aspartic acid salt of
1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid of claim 1, comprising a step of reacting
1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid with aspartic acid in a solvent.
- [4] The method for claim 3, wherein the solvent is at least one selected from the group consisting of ethyl acetate, methanol, ethanol, isopropanol, acetone, acetonitrile, hexane, isopropyl ether, and water.
- [5] The method of claim 3, wherein the aspartic acid is selected from D-aspartic acid, L-aspartic acid, DL-aspartic acid or a non-racemic mixture of D-aspartic acid and L-aspartic acid.
- [6] An antimicrobial pharmaceutical composition comprising the aspartic acid salt of
1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid.
- [7] The composition of claim 6, wherein the aspartic acid is selected from D-aspartic acid, L-aspartic acid, DL-aspartic acid or a non-racemic mixture of D-aspartic acid and L-aspartic acid.
- [8] The antimicrobial pharmaceutical composition according to claim 6 or 7, wherein the composition is formulated for injection.
- [9] An pharmaceutically acceptable aspartic acid salt of
1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-

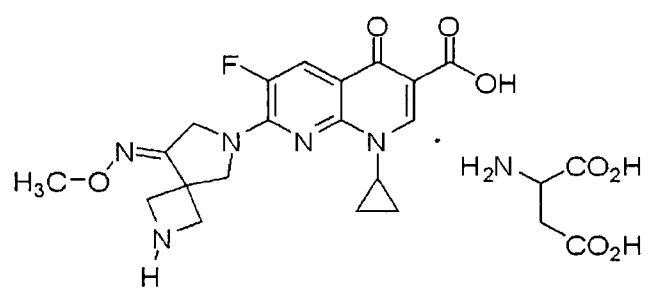
1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid represented by Formula (I):



Formula (I).

[10]

A method of treating a disease or condition in an animal using a therapeutically effective amount of at least one pharmaceutically acceptable aspartic acid salt of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid represented by Formula (I):



Formula (I).

[DESCRIPCIÓN]

[Título de Invención]

ASPARTATO DE ÁCIDO -CICLOPROPIL-6-FLUORO-7-(8-METOXIIMINO-2,6-DIAZA-ESPIRO[3.4]OCT-6-IL)-4-OXO-1,4-DIHIDRO-[1,8]NAFTIRIDINA-3-CARBOXÍLICO, MÉTODO PARA PREPARAR EL MISMO, y COMPOSICIÓN FARMACÉUTICA ANTIMICROBIANA QUE COMPRENDE LA MISMA

[Campo Técnico]

Se describen sales de ácido aspártico de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico, métodos para preparar el mismo, y composiciones farmacéuticas antimicrobianas que comprenden el mismo.

[Técnica Antecedente]

REFERENCIA CRUZADA

Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud Coreana 2007-36574 presentada en Abril 13, 2007.

ANTECEDENTE DE LA INVENCION

Los derivados de ácido carboxílico de quinolona son agentes antimicrobianos sintéticos, y son ampliamente efectivos en el tratamiento de enfermedades infecciosas de humanos o animales. Actualmente, se emplean los agentes

antimicrobianos de quinolona tales como ciprofloxacina, norfloxacina, y ofloxacina, en el tratamiento de enfermedades humanas. Estos agentes son muy activos contra bacterias gram negativas. Sin embargo, existen problemas cuando estos agentes muestran moderada o débil actividad contra las bacterias gram positivas.

- 5 Se han hecho varios estudios para determinar las limitaciones de varios agentes antimicrobianos de quinolona conocidos. La esparfloxacina es un ejemplo representativo de un agente antimicrobiano que es activo contra bacterias gram positivas. Sin embargo, este compuesto muestra actividad débil contra *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) e incrementa gradualmente
- 10 mos números de cepas resistentes a quinolona, en adición a estreptococos.

[Descripción]

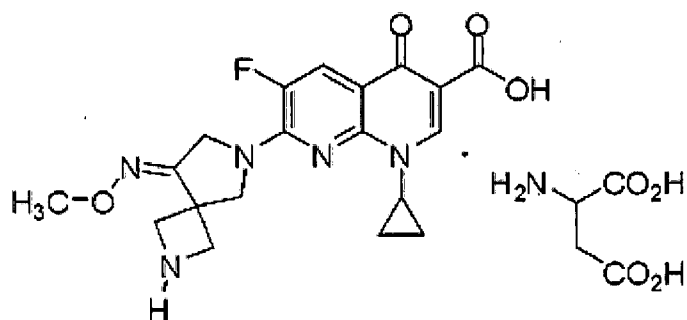
[Problema Técnico]

- 15 Las cepas de bacterias anteriormente mencionadas son bien conocidas por ser patógenos responsables de originar infecciones respiratorias. Así, son necesarios agentes antimicrobianos de quinolona mejorados, especialmente contra estos patógenos.

- 20 [Solución Técnica]

RESUMEN DE LA INVENCION

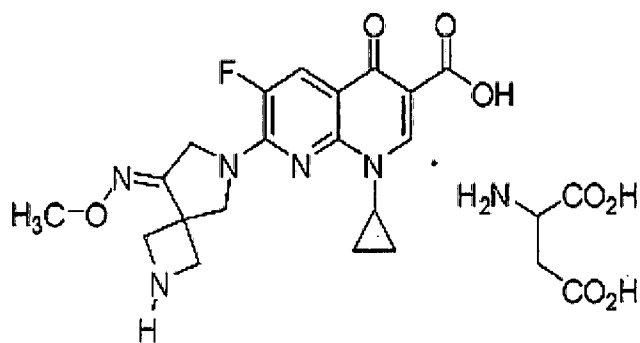
- En un aspecto se representan sales de ácido aspártico o aspartato de ácido 1-
- 25 ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico por la Fórmula (I):



Fórmula (I).

En algunas modalidades de este aspecto, el ácido aspártico se selecciona de
 5 ácido D-aspártico, ácido L-aspártico, ácido DL-aspártico o una mezcla no racémica
 de ácido D-aspártico y ácido L-aspártico. En algunas modalidades, el ácido
 aspártico es ácido D-aspártico.

En otro aspecto se representan sales farmacéuticamente aceptables de ácido
 10 aspártico de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-
 6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico por la Fórmula (I):



Fórmula (I).

15

En algunas modalidades de este aspecto, el ácido aspártico se selecciona de
 ácido D-aspártico, ácido L-aspártico, ácido DL-aspártico, o una mezcla no
 racémica de ácido D-aspártico y ácido L-aspártico. En algunas modalidades, el
 ácido aspártico es ácido D-aspártico.

247

En otro aspecto hay métodos para preparar la sal de ácido aspártico o aspartato de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico, comprenden hacer reaccionar ácido

5 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico con ácido aspártico en un disolvente.

En algunas modalidades de este aspecto, el disolvente es por lo menos uno seleccionado del grupo que consiste de acetato de etilo, metanol, etanol,

10 isopropanol, acetona, acetonitrilo, hexano, isopropil éter, y agua. En algunas modalidades de este aspecto, el disolvente se selecciona del grupo que consiste de acetato de etilo, metanol, etanol, isopropanol, acetona, acetonitrilo, hexano, isopropil éter, agua, y cualquier combinación de los mismos. En algunas modalidades, el disolvente es etanol.

15

En algunas modalidades de este aspecto, el ácido aspártico se selecciona de ácido D-aspártico, ácido L-aspártico, ácido DL-aspártico, o una mezcla no racémica de ácido D-aspártico y ácido L-aspártico.

20 En algunas modalidades de este aspecto, el rendimiento al preparar las sales de ácido aspártico de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico es por lo menos 70%. En algunas modalidades, el rendimiento es por lo menos 80%. En algunas modalidades, el rendimiento es por lo menos 85%. En algunas modalidades, el

25 rendimiento es por lo menos 90%.

En algunas modalidades de este aspecto, el rendimiento al preparar las sales de

49

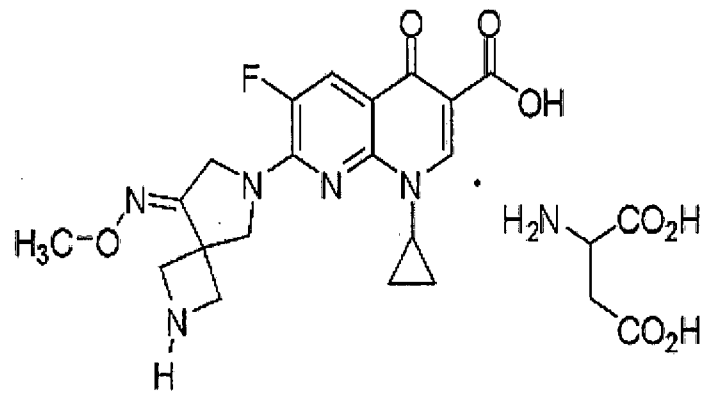
ácido aspártico de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico está entre aproximadamente 70% y aproximadamente 80%. En algunas modalidades, el rendimiento está entre aproximadamente 75% y aproximadamente 85%. En algunas modalidades, el rendimiento está entre aproximadamente 85% y aproximadamente 95%. En algunas modalidades, el rendimiento está entre aproximadamente 90% y aproximadamente 99%.

En otro aspecto hay composiciones farmacéuticas antimicrobianas que comprenden una sal de ácido aspártico o aspartato de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico.

En algunas modalidades de este aspecto, el ácido aspártico se selecciona de ácido D-aspártico, ácido L-aspártico, ácido DL-aspártico o una mezcla no racémica de ácido D-aspártico y ácido L-aspártico. En algunas modalidades, el ácido aspártico es ácido D-aspártico.

En algunas modalidades de este aspecto, la composición se formula para inyección. En algunas modalidades, la composición comprende una formulación para inyección.

En otro aspecto se representan los métodos para tratar una enfermedad o afección en un animal utilizando una cantidad terapéuticamente efectiva de por lo menos una sal de ácido aspártico farmacéuticamente aceptable de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico por la Fórmula (I):



Fórmula (I).

- 5 En algunas modalidades de este aspecto, el ácido aspártico se selecciona de ácido D-aspártico, ácido L-aspártico, ácido DL-aspártico, o una mezcla no racémica de ácido D-aspártico y ácido L-aspártico. En algunas modalidades, el ácido aspártico es ácido D-aspártico.
- 10 Otro aspecto es el uso de un compuesto de Fórmula (I), en la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad o afección en un animal.
- En algunas modalidades de este aspecto, el ácido aspártico se selecciona de ácido D-aspártico, ácido L-aspártico, ácido DL-aspártico, o una mezcla no racémica de ácido D-aspártico y ácido L-aspártico. En algunas modalidades, el
- 15 ácido aspártico es ácido D-aspártico.

En otro aspecto hay compuestos de Fórmula (I) para uso en un método para tratar una enfermedad o afección en un animal.

20

En algunas modalidades de este aspecto, el ácido aspártico se selecciona de ácido D-aspártico, ácido L-aspártico, ácido DL-aspártico, o una mezcla no

racémica de ácido D-aspartico y ácido L-aspartico. En algunas modalidades, el ácido aspartico es ácido D-aspartico.

INCORPORACIÓN POR REFERENCIA

5

Todas las publicaciones y solicitudes de patente mencionadas en esta especificación se incorporan aquí como referencia al mismo grado como si cada publicación individual publicación o solicitud de patente se indica específica e individualmente para ser incorporada como referencia.

10

[Mejor Modo]

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

- 15 Se describen sales de ácido aspartico o aspartato de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico. También se describen métodos para preparar sales de ácido aspartico o aspartato de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico. También se describen composiciones farmacéuticas antimicrobianas que comprenden una sal de ácido aspartico o aspartato de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico.
- 20

Glosario de Términos

25

A menos que se establezca de otra forma, los siguientes términos utilizados en esta solicitud, que incluyen la especificación y las reivindicaciones, tienen las

definiciones dadas adelante. Se debe notar que, como se utiliza en la especificación y las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una", y "el" incluyen referentes plurales a menos que el contexto dicte claramente otra cosa. La definición de los términos químicos estándar se puede encontrar en las

5 palabras, de referencia que incluyen Carey and Sundberg, *Advanced Organic Chemistry 4th Ed.*, Vols. A (2000) and B (2001), Plenum Press, New York, NY. A menos que se indique de otra forma, se emplean los métodos convencionales de espectroscopia de masa, RMN, HPLC, química de proteína, bioquímica, técnicas de de ADN recombinante y farmacología, dentro de la experticia de la técnica.

10

Como se utiliza en la presente especificación, las siguientes palabras y frases se destinan generalmente a tener los significados establecidos adelante, excepto al grado que el contexto en que ellos se utilizan indique otra cosa.

15 Los términos "opcional" u "opcionalmente" como se utilizan aquí, solos o en combinación, significa que el evento o circunstancia descrita posteriormente puede o no puede ocurrir, pero no se necesita que ocurran, y que la descripción incluye casos en donde el evento o circunstancia ocurre y casos en los que no.

20 El término "grupo protector" como se utiliza aquí, se refiere a un grupo funcional químico que bloquea algunos, o todos, los grupos funcionales reactivos y previene que tales grupos participen en reacciones químicas hasta que se remueve el grupo protector. Los procedimientos y grupos específicos involucrados son conocidos por aquellos expertos en la técnica y se pueden encontrar fácilmente en

25 las fuentes de referencia tales como Greene and Wuts, *Group protectors in Organic Synthesis*, 3rd Ed. (1999) John Wiley & Sons, New York, NY, que se incorpora aquí como referencia en su totalidad.

Cuando se especifican los grupos químicos por sus fórmulas químicas convencionales, se escriben de izquierda a derecha, ellos abarcan igualmente los sustituyentes idénticos químicamente que resultarían de escribir la estructura de
5 derecha a izquierda; por ejemplo, $-\text{CH}_2\text{O}-$ es equivalente a $-\text{OCH}_2-$.

El término "agente farmacéutico" se refiere a cualquier agente que imparte o está destinado a impartir un efecto terapéutico y se utiliza o está indicado para uso como un farmacéutico. Los agentes farmacéuticos se pueden utilizar en el
10 tratamiento, diagnóstico, modulación, o prevención de un estado de enfermedad o síntoma de la misma. Un experto en la técnica es capaz de seleccionar apropiadamente agentes farmacéuticos cuando tratan una enfermedad particular o síntoma. Agentes farmacéuticos de ejemplo contemplados dentro del alcance de la invención se proporcionan en las siguientes referencias (las descripciones de
15 todas las que se incorporan por lo tanto aquí por referencia): Lippincott *et al.*, *Remington's Pharmaceutical Sciences: The Science and Practice of Pharmacy*, 20th Ed., Williams and Wilkins Publishing, Baltimore (2000); and Lewis *et al.*, *Hawley's Condensed Chemical Dictionary*, 14th Ed., John Wiley Publishing, New York (2001).

20

El término "aceptable" con respecto a una formulación, composición o ingrediente, como se utiliza aquí, significa que tiene efecto perjudicial no persistente sobre la salud general del sujeto que se trata.

25 El término "farmacéuticamente aceptable" como se utiliza aquí, solo o en combinación, se refiere a un material que no abroga la actividad o propiedades biológicas del compuesto, y es relativamente no tóxico. Así, un componente

farmacéuticamente aceptable (tal como una sal, portador, excipiente o diluyente) de una composición de suministro de agente farmacéutico que contiene compuestos de Fórmula (I) debe ser (1) compatible con los otros ingredientes de la composición de suministro para suministrar el agente farmacéutico; y (2) cuando

5 la composición de suministro está destinada para uso terapéutico con un animal (por ejemplo un humano) no debe provocar efectos colaterales adversos indebidos, tales como toxicidad, irritación y respuesta alérgica. Los efectos colaterales son indebidos cuando su riesgo sobrepasa el beneficio proporcionado por el agente farmacéutico, es decir, el material se puede administrar a un

10 individuo sin originar efectos biológicos no deseables o interactuar en una forma nociva con cualquiera de los componentes de la composición en que este está contenido.

El término "sal farmacéuticamente aceptable" de un compuesto, como se utiliza

15 aquí, se refiere a una sal que es farmacéuticamente aceptable. Una sal farmacéuticamente aceptable es una sal que retiene la efectividad y propiedades biológicas de los compuestos y que no son biológicamente indeseables. En algunos casos, los compuestos de Fórmula (I) son capaces de formas sales de ácido/básicas en virtud de la presencia de grupos amino y/o carboxilo o grupos

20 similares a estos. Las sales de adición básica farmacéuticamente aceptables base se pueden preparar a partir de bases inorgánicas y orgánicas, incluyen por vía solo de ejemplo, sales de sodio, potasio, litio, amonio, calcio y magnesio. Las sales derivadas de bases orgánicas incluyen, pero no se limitan a, sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, tales como alquil aminas, dialquil

25 aminas, trialquil aminas, alquil aminas, di(alquil sustituido) aminas, tri(alquil sustituido) aminas, alquenil aminas, dialquenil aminas, trialquenil aminas, alquenil aminas sustituidas, di(alquenil sustituido) aminas, tri(alquenil sustituido) aminas,

cicloalquil aminas, di(cicloalquil) aminas, tri(cicloalquil) aminas, cicloalquil aminas sustituidas, cicloalquil amina disustituida, cicloalquil aminas trisustituidas, cicloalquenil aminas, di(cicloalquenil) aminas, tri(cicloalquenil) aminas, cicloalquenil aminas sustituidas, cicloalquenil amina disustituida, cicloalquenil aminas trisustituidas, aril aminas, diaril aminas, triaril aminas, heteroaril aminas, diheteroaril aminas, triheteroaril aminas, aminas heterocíclicas, aminas diheterocíclicas, aminas triheterocíclicas, di- y tri-aminas mezcladas en donde por lo menos dos de los sustituyentes de la amina son diferentes y se seleccionan del grupo que consiste de alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalquenilo, cicloalquenilo sustituido, arilo, heteroarilo, heterocíclico, y similares. También se incluyen aminas en donde los dos o tres sustituyentes junto con el nitrógeno amino, forman un grupo heterocíclico o heteroaril. Las sales de adición ácida farmacéuticamente aceptables se pueden preparar a partir de ácidos inorgánicos y orgánicos. Las sales derivadas de ácidos inorgánicos incluyen ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, y similares. Las sales derivadas de ácidos orgánicos incluyen ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido málico, ácido malónico, ácido succínico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-tolueno-sulfónico, ácido salicílico, y similares.

El término "profármaco" como se utiliza aquí, se refiere a un fármaco o compuesto en el que el proceso metabólico dentro del cuerpo convierte el fármaco o compuesto en una forma farmacológicamente activa.

El término "combinación farmacéutica" como se utiliza aquí, significa un producto

que resulta de la mezcla o combinación de más de un ingrediente activo e incluye las combinaciones fijas y no fijas de los ingredientes activos. El término "combinación fija" significa que los ingredientes activos, por ejemplo por lo menos un compuesto de Fórmula (I) y un coagente, se administran ambos a un paciente simultáneamente, en la forma de una dosificación o entidad única. El término "combinación no fija" significa que los ingredientes activos, por ejemplo por lo menos un compuesto de Fórmula (I) y un coagente, se administran a un paciente como entidades separadas simultáneamente, al mismo tiempo o secuencialmente sin límites de tiempo de intervención específica, en donde tal administración proporciona niveles efectivos de los dos compuestos en el cuerpo del paciente. Esto último también aplica a terapia de coctel, por ejemplo la administración de tres o más ingrediente activos.

Los términos "cantidad efectiva" o "cantidad terapéuticamente efectiva" como se utiliza aquí, se refiere a una cantidad suficiente de un agente o compuesto que se administra la cual aliviará en cierta medida uno o más de los síntomas de la enfermedad o afección que se trata, cuando se administra a un mamífero en necesidad de tal tratamiento. El resultado puede ser la reducción y/o alivio de los signos, síntomas, o causas de una enfermedad, o cualquier otra alteración deseada de un sistema biológico. Por ejemplo, una "cantidad efectiva" para usos terapéuticos es la cantidad de la composición que comprende un compuesto como se describe aquí requerido para proporcionar una disminución clínicamente significativa en una enfermedad. La cantidad terapéuticamente efectiva variará dependiendo del sujeto y condición de la enfermedad que se trata, el peso y edad del sujeto, la severidad de la condición de la enfermedad, el compuesto particular, el régimen de dosificación a ser seguido, tiempo de administración, la forma de administración y similares, todos los cuales se pueden determinar fácilmente por

57

una persona medianamente versada en la técnica. Una cantidad efectiva apropiada en cualquier caso individual se puede determinar utilizando técnicas, tales como un estudio de escala de dosis.

- 5 El término "excipiente" se refiere a una sustancia farmacéuticamente inactiva o inerte generalmente utilizada como un diluyente o vehículo para un fármaco. Las formas diferentes de administración de fármaco puede requerir un excipiente diferente y un "excipiente farmacéuticamente aceptable" incluye un "portador farmacéuticamente aceptable". Por ejemplo, los comprimidos, pastillas, píldoras, cápsulas, y similares, pueden contener excipientes que incluyen un aglutinante tal como goma tragacanto, acacia, almidón o gelatina; un agente de desintegración tal como almidón, almidón de papa, ácido algínico; un lubricante tal como estearato de magnesio; un agente endulzante tal como sacarosa, lactosa o sacarina; y/o un agente saborizante tal como menta, aceite o gaulteria o
- 10 saborizante de cereza. Las cápsulas pueden contener excipiente adicional tal como un portador líquido. Los jarabes o elixires pueden contener excipientes que incluyen un agente endulzante tal como sacarosa, un conservante tal como metil y propilparabenos, un colorante y/o saborizante tal como sabor de cereza o naranja.
- 15
- 20 Los términos "mejora" o "mejorar" como se utiliza aquí, significan incrementar o prolongar en potencia o duración un efecto deseado. Así, con respecto a mejorar el efecto de agentes terapéuticos, el término "mejorar" se refiere a la capacidad de incrementar o prolongar, en potencia o duración, el efecto de otros agentes terapéuticos en un sistema. Una "cantidad efectiva que mejora" como se utiliza
- 25 aquí, se refiere a una cantidad adecuada para mejorar el efecto de otro agente terapéutico en un sistema deseado.

El término "modula" o "que modula" como se utiliza aquí, significa interactuar con un objetivo directa o indirectamente con el fin de alterar la actividad del objetivo, que incluye, por vía solo de ejemplo, mejorar la actividad del objetivo, inhibir la actividad del objetivo, limitar la actividad del objetivo, o extender la actividad del
5 objetivo.

El término "modulador" como se utiliza aquí, se refiere a una molécula que interactúa con un objetivo directa o indirectamente. Las interacciones incluyen, pero no se limitan a, las interacciones de un agonista y un antagonista.

10

Los términos "coadministration" y similares, como se utiliza aquí, significan abarcar la administración de los agentes terapéuticos seleccionados a un único paciente, y están destinados a incluir regímenes de tratamiento en los cuales se administran los agentes por la misma o diferente ruta de administración o al mismo o diferente
15 tiempo.

El término "composición farmacéutica" como se utiliza aquí, se refiere a una mezcla de un compuesto activo con otros componentes activos, tales como portadores, estabilizadores, diluyentes, agentes de dispersión, agentes de
20 suspensión, agentes espesantes, y/o excipientes.

Los términos "portador", "portador farmacéuticamente aceptable", o "excipiente farmacéuticamente aceptable" como se utilizan aquí, se refieren a compuestos o agentes químicos relativamente no tóxicos que facilitan la incorporación de un
25 compuesto en células o tejidos. Ellos pueden incluir cualquier y todos los solventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, isotónicos y agentes de retraso de absorción y similares. El uso de

tales medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es bien conocido en la técnica. Excepto en la medida en que cualquier medio convencional o agente es incompatible con el ingrediente activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas. También se pueden incorporar los

5 ingredientes activos en las composiciones.

El término "sujeto" o "paciente" abarca mamíferos y no mamíferos. Ejemplos de mamíferos incluyen, pero no se limitan a, cualquier miembro de la clase mamífera: humanos, primates no humanos tales como chimpancés, y otros simios y especies

10 de monos; animales de granja tales como ganado vacuno, caballos, ovejas, cabras, cerdos; animales domésticos tales como conejos, perros, y gatos; animales de laboratorio que incluyen roedores, tales como ratas, ratones y conejillos de india, y similares. Ejemplos de no mamíferos incluyen, pero no se limitan a, pájaros, aves y similares. En una modalidad de los métodos y

15 composiciones proporcionados aquí, el mamífero es un humano.

Los términos "tratar", "que trata", o "tratamiento" como se utiliza aquí, incluyen por lo menos aliviar parcialmente, o abatir los síntomas de una enfermedad o afección, por lo menos evitar parcialmente síntomas adicionales, mejorar o evitar las causas

20 metabólicas subyacentes de los síntomas, por lo menos inhibir parcialmente la enfermedad o afección, por ejemplo, detener el desarrollo de la enfermedad o afección, por lo menos aliviar parcialmente la enfermedad o afección, por lo menos originar parcialmente la regresión de la enfermedad o afección, por lo menos aliviar parcialmente una afección originada por la enfermedad o afección, o por lo

25 menos parar parcialmente los síntomas de la enfermedad o afección. Así cualquier tratamiento de una enfermedad en un mamífero debe proporcionar por lo menos un efecto terapéutico o profiláctico parcial, que incluye cualquiera, todos, o una

50

combinación de los siguiente:

a) prevenir el inicio de una enfermedad, esto es, hacer que los síntomas clínicos de la enfermedad no desarrollados;

5

b) retrasar el inicio de una enfermedad, esto es, hacer que los síntomas clínicos de la enfermedad se desarrollen en un tiempo posterior;

c) reducir la severidad del inicio de una enfermedad, esto es, hacer que los síntomas clínicos de la enfermedad se desarrollen menos severamente;

10

d) aliviar una enfermedad en curso, esto es, hacer la regresión de síntomas clínicos;

e) detener una enfermedad en curso, esto es, hacer la eliminación de síntomas clínicos; y/o

15

f) mejorar el funcionamiento fisiológico normal.

20 Se pueden preparar los compuestos de Fórmula (I) como sales farmacéuticamente aceptables formadas cuando un protón ácido presente en el compuesto padre se reemplaza por un ión de metal, por ejemplo un ión de metal alcalino, ión de metal alcalinotérreo, o ión de aluminio; o se coordina con una base orgánica. En adición, las formas de sal de los compuestos descritos se pueden preparar utilizando sales

25 de los materiales de partida o intermedios.

Se pueden preparar los compuestos de Fórmula (I) como sales de adición ácida

61

farmacéuticamente aceptable (que son un tipo de sal farmacéuticamente aceptable) al hacer reaccionar la forma de base libre del compuesto con un ácido inorgánico u orgánico farmacéuticamente aceptable, que incluye, pero no se limita a, ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico ácido metafosfórico, y similares; y ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido hexanoico, ácido ciclopentanopropiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido láctico, ácido malónico, ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido Q-toluenosulfónico, ácido tartárico, ácido trifluoroacético, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido 3-(4-hidroxibenzoil)benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido arilsulfónico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 1,2-etanodisulfónico, ácido 2-hidroxietanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido 4-metilbicio-[2.2.2]oct-2-ene-1-carboxílico, ácido glucoheptónico, ácido 4,4'-metilenebis-(3-hidroxi-2-ene-1-carboxílico), ácido 3-fenilpropiónico, ácido trimetilacético, ácido butil terciario acético, lauril ácido sulfúrico, ácido glucónico, ácido glutámico, ácido hidroxinaftoico, ácido salicílico, ácido esteárico, y ácido mucónico.

Alternativamente, se pueden preparar los compuestos de Fórmula (I) como sales de adición básica farmacéuticamente aceptables (que son un tipo de una sal farmacéuticamente aceptable) al hacer reaccionar la forma de ácido libre del compuesto con una base inorgánica y orgánica farmacéuticamente aceptable, que incluye, pero no se limita a bases orgánicas tales como etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trometamina, N-metilglucamina, y similares y bases inorgánicas tales como hidróxido de aluminio, hidróxido de calcio, hidróxido de potasio, carbonato de sodio, hidróxido de sodio, y similares.

82

Se debe entender que una referencia a una sal farmacéuticamente aceptable incluye las formas de adición de disolvente o formas de cristal de los mismos, particularmente solvatos o polimorfos. Los solvatos contienen cantidades estequiométricas y no estequiométricas de un disolvente, y se pueden formar durante el proceso de cristalización con disolventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol, y similares. Se forman hidratos cuando el disolvente es agua, o se forman alcoholatos cuando el disolvente es alcohol. Se pueden preparar convenientemente los solvatos de los compuestos de Fórmula (I) o formar durante los procesos descritos aquí. Por vía solo de ejemplo, se pueden preparar convenientemente los hidratos de los compuestos de Fórmula (I) mediante recristalización a partir de una mezcla de disolvente orgánico/acuoso, utilizando disolventes orgánicos que incluyen, pero no se limitan a, dioxano, tetrahidrofurano o metanol. En adición, los compuestos proporcionados aquí pueden existir en formas insolvatadas así como también solvatadas. En general, las formas solvatadas se consideran equivalentes a las formas no solvatadas para los propósitos de los compuestos y métodos proporcionados aquí.

Los compuestos de Fórmula (I) incluyen formas cristalinas, también conocidas como los polimorfos. Los polimorfos incluyen las diferentes disposiciones de empaque de cristal de la misma composición de un compuesto. Los polimorfos usualmente tienen patrones de difracción de rayos x diferentes, espectro infrarrojo, puntos de fusión, densidad, dureza, forma del cristal, propiedades óticas y eléctricas, estabilidad, y solubilidad. Varios factores tales como el disolvente de recristalización, velocidad de cristalización, y temperatura de almacenamiento pueden causar para dominar una forma de cristal única.

Se pueden preparar los compuestos de Fórmula (I) como profármacos. Los

profármacos son generalmente precursores de fármaco que, luego de administración a un sujeto y posterior absorción, se convierten a una especie activa, o una o más especies activas por vía de algunos procesos, tales como conversión mediante una ruta metabólica. Algunos profármacos tienen un grupo químico presente en el profármaco que lo hacen menos activo y/o confiere solubilidad o algunas otras propiedades al fármaco. Una vez el grupo químico se ha dividido y/o modificado del profármaco se genera el fármaco activo. Los profármacos son frecuentemente útiles porque, en algunas situaciones, se pueden administrar más fácil que el fármaco padre. Ellos pueden, por ejemplo, ser biodisponibles mediante administración oral aunque el padre no lo esté. El profármaco también puede tener solubilidad mejorada en las composiciones farmacéuticas sobre el fármaco padre. Un ejemplo, sin limitación, de un profármaco será un compuesto de Fórmula (I) que se administra como un éster (el "profármaco") para facilitar transmitancia a través de una membrana celular en donde la solubilidad en agua es perjudicial para la movilidad pero que cuando se hidroliza metabolitamente al ácido carboxílico, la entidad activa, una vez dentro de la célula en donde la solubilidad en agua es benéfica. Un ejemplo adicional de un profármaco será un péptido corto (poliaminoácido) unido a un grupo ácido en donde se metaboliza el péptido para revelar el grupo funcional activo.

20

Se pueden diseñar los profármacos como derivados de fármacos reversibles, para como modificadores para mejorar el transporte de fármaco a los tejidos específicos de sitio. El diseño de profármacos a la fecha ha incrementado la solubilidad en agua efectiva del compuesto terapéutico para objetivar a las regiones en donde el agua es el principal disolvente. Ver por ejemplo Fedorak *et al*, *Am. J. Physiol.* (1995) 269, G210-218; McLoed *et al*, *Gastroenterol* (1994) 106, 405-413; Hochhaus *et al*, *Biomed. Chrom*, (1992) 6, 283-286; Larsen and

25

Bundgaard, *Int. J. Pharmaceutics* (1987) 37, 87; Larsen *et al*, *Int. J. Pharmaceutics* (1988) 47, 103; Sinkula *et al*, *J. Pharm. Sci.* (1975) 64, 181-210; Higuchi and Stella, *Pro-drugs as Novel Delivery Systems*, Vol. 14 of the A.C.S. Symposium Series; and Roche, *Bioreversible Bioreversible Carriers in Drug Design* (1987)

5 American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, todas incorporadas aquí en su totalidad. Adicionalmente, se pueden preparar los derivados de profármaco de los compuestos de Fórmula (I) mediante métodos conocidos por aquellos medianamente versados en la técnica (para detalles adicionales ver por ejemplo Saulnier *et al*, *Bioorg. and Med. Chem. Lett.* (1994) 4, p. 1985). Por vía
10 solo de ejemplo, se pueden preparar los profármacos apropiados al hacer reaccionar un compuesto no derivado de Fórmula (I) con un agente de carbamitación adecuado, tal como, pero no limitado a, 1,1-aciloxialquilcarbanocloridaes, para-nitrofenil carbonato, o similares. Las formas de profármaco de los compuestos aquí descritos, en donde el profármaco se
15 metaboliza *in vivo* para producir un derivado como se establece aquí se incluyen dentro del alcance de las reivindicaciones. De hecho, algunos de los compuestos aquí descritos pueden ser un profármaco para otro compuesto activo o derivado.

En otras modalidades, los compuestos descritos aquí se pueden etiquetar
20 isotópicamente (por ejemplo con un radioisotopo) o mediante otros medios, que incluye, pero no se limita a, el uso de cromóforos o grupos funcionales fluorescentes, etiquetas bioluminescentes, o etiquetas quimioluminescentes. Los compuestos de Fórmula (I) pueden poseer uno o más centros quirales y cada centro puede existir en la configuración R o S. Los compuestos presentados aquí
25 incluyen todas las formas diastereoméricas, enantioméricas, y epiméricas así como también las mezclas apropiadas de los mismos. Se pueden preparar los compuestos de Fórmula (I) como sus estereoisómeros individuales al hacer

reaccionar una mezcla racémica del compuesto con un agente de resolución ópticamente activo para formar un par de compuestos diaestereoisoméricos, que separan los diastereómeros y recuperan los enantiómeros ópticamente puros. Aunque se puede llevar a cabo la resolución de enantiómeros utilizando derivados

5 diastereoméricos covalentes de los compuestos descritos aquí, se prefieren los complejos disociables (por ejemplo, sales diastereoméricas cristalinas). Los diastereómeros tienen distintas propiedades químicas (por ejemplo, puntos de fusión, puntos de ebullición, solubilidades, reactividad, etc.) y se pueden separar fácilmente al tomar ventaja de estas diferencias. Se pueden separar los

10 diastereómeros mediante cromatografía quiral, o preferiblemente, mediante técnicas de separación/resolución basadas en las diferencias en la solubilidad. El enantiómero ópticamente puro luego se recupera, junto con el agente de resolución, mediante cualesquier medios prácticos que no deben resultar en racemización. Una descripción más detallada de las técnicas aplicablea a la

15 resolución de estereoisómeros de los compuestos a partir de su mezcla racémica se pueden encontrar en Jacques, Collet and Wilen, *Enantiomers, Racemates and Resolutions* (1981) John Wiley & Sons, New York, NY, incorporados aquí como referencia en su totalidad.

20 Adicionalmente, los compuestos y métodos proporcionados aquí pueden existir como isómeros geométricos. Los compuestos y métodos proporcionados aquí incluyen todos los isómeros cis, trans, syn, anti, entgegen (E), y zusammen (Z) así como también las mezclas apropiadas de los mismos. En algunas situaciones, los compuestos pueden existir como tautómeros. Todos tautómeros están incluidos

25 dentro de las fórmulas descritas aquí se proporcionan mediante los compuestos y métodos aquí. En modalidades adicionales de los compuestos y métodos proporcionados aquí, las mezclas de enantiómeros y/o diastereoisómeros, que

resultan de una etapa preparativa única, combinación, o interconversión también puede ser útil para las aplicaciones descritas aquí. El ácido 1-Ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico muestra excelente actividad antimicrobiana contra las bacterias gram
5 positivas, bacterias gram negativas, bacterias resistentes a meticilina, bacterias resistentes a penicilina, y las cepas resistentes a quinolona conocidas entre los agentes antimicrobianos de quinolona. Sin embargo, la solubilidad acuosa de este agente es baja (Ver Patente Coreana No. 10-566346).

10 Generalmente, es deseable que un ingrediente activo utilizado en una composición farmacéutica tenga alta solubilidad en agua o en una solución acuosa sobre un amplio rango de valores de pH. Para incrementar la utilidad farmacéutica del ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico, se puede desarrollar una forma de sal
15 de este compuesto que tiene excelente solubilidad.

Se describen varias formas de sales de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico en la Patente Coreana No. 10-566346. Ejemplos de las formas de sal
20 descritas incluyen un ácido inorgánico tal como ácido clorhídrico, ácido fosfórico y ácido sulfúrico; un ácido orgánico tal como ácido metanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido acético, ácido cítrico, ácido maleico, ácido succínico, ácido oxálico, ácido benzoico, ácido tartárico, ácido fumárico, ácido mandélico, ácido glucurónico; y un catión tal como ión de sodio, y ión de potasio. Las formas de sal
25 de fosfato y clorhidrato de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico son aquellas que tienen la mejor solubilidad entre las sales de los ácidos anteriores.

67

La forma de sal de clorhidrato del ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico origina peritonitis fibrosa severa y por lo tanto no es adecuada para formulación de inyección.

El ácido aspártico (2-aminosuccínico) es un aminoácido estable, de ocurrencia natural y no tiene absorción de humedad o características corrosivas, permitiendo así ser manejado con seguridad. Debido a que el ácido aspártico está también disponible en cantidad, se puede utilizar fácilmente en producción a gran escala. En adición, se ha aprobado el ácido aspártico por la Administración de Fármacos y Alimentos de los Estados Unidos para uso como un aditivo para alimento o un componente farmacéutico. El ácido aspártico protege el hígado de alguna toxicidad del fármaco, ayuda a la absorción mineral, y mejora las funciones del ADN, ARN, y sistema inmune.

Se ha encontrado que las sales de ácido aspártico o aspartato de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico pueden tener mucha más alta solubilidad, propiedades físicas excelentes tales como estabilidad, y no exhiben toxicidad importante y sustancial, cuando se compara con las formas de sal de fosfato y clorhidrato. En algunas modalidades, las sales de ácido aspártico o aspartato de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico pueden originar menos peritonitis fibrosa severa cuando se compara con la forma de sal de clorhidrato. En algunas modalidades, las sales de ácido aspártico o aspartato de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-

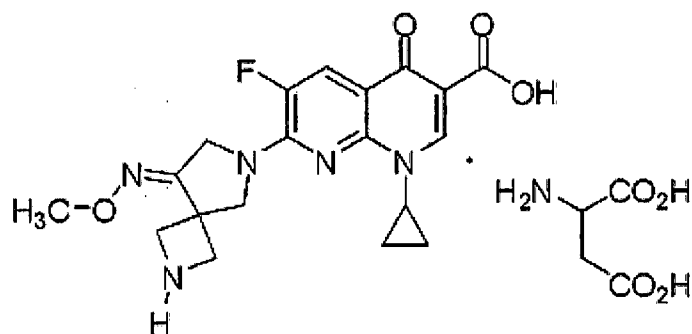
68

[1,8]naftiridina-3-carboxílico pueden mostrar dosis letal más alta (LD) cuando se comparan con la forma de sal de clorhidrato. En algunas modalidades, las sales de ácido aspártico o aspartato de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico pueden

5 mostrar dosis letal más alta (LD) cuando se comparan con la forma de sal de fosfato.

En un aspecto, se proporcionan formas de sal de ácido aspártico del ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-

10 dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico representadas por la estructura de la Fórmula (I).



Fórmula (I)

En una modalidad adicional o alternativa, el ácido aspártico es ácido D-aspártico.

En una modalidad adicional o alternativa, el ácido aspártico es ácido L-aspártico.

En una modalidad adicional o alternativa, el ácido aspártico es ácido DL-aspártico o una mezcla racémica de los mismos. En todavía otra modalidad adicional o

20 alternativa, el ácido aspártico es una mezcla no racémica de ácido D-aspártico y ácido L-aspártico.

La sal de ácido aspártico del ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-

89

diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico tiene la mejor solubilidad que el ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico, o una sal de clorhidrato del mismo y/o la sal de fosfato del mismo.

5

En algunas modalidades, la solubilidad de la sal de ácido aspártico del ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-

dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico es aproximadamente 4 a aproximadamente 8 veces más que aquella del clorhidrato en agua destilada. En algunas modalidades,

10 la solubilidad de la sal de ácido aspártico es aproximadamente 5 a aproximadamente 6 veces más que aquella del clorhidrato en agua destilada.

En algunas modalidades, la solubilidad de la sal de ácido aspártico del ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-

15 dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico es aproximadamente 15 a aproximadamente 30 veces más que aquella del clorhidrato en una solución acuosa con un pH de

1.2. En algunas modalidades, la solubilidad de la sal de ácido aspártico es aproximadamente 17 a aproximadamente 27 veces más que aquella del

clorhidrato en una solución acuosa con un pH de 1.2. En algunas modalidades, la
20 solubilidad de la sal de ácido aspártico es aproximadamente 25 a aproximadamente 30 veces más que aquella del clorhidrato en una solución acuosa con un pH de 1.2.

En algunas modalidades, la solubilidad de la sal de ácido aspártico del ácido 1-
25 ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-

dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico es aproximadamente 50 a aproximadamente 150 veces más que aquella del clorhidrato en una solución acuosa con un pH de

6.8. En algunas modalidades, la solubilidad de la sal de ácido aspártico es aproximadamente 69 a 130 veces más que aquella del clorhidrato en una solución acuosa con un pH de 6.8. En algunas modalidades, la solubilidad de la sal de ácido aspártico es aproximadamente 80 a 120 veces más que aquella del clorhidrato en una solución acuosa con un pH de 6.8.

En algunas modalidades, el aspartato del ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico es estable a temperatura ambiente. En algunas modalidades, el aspartato es más estable que la forma de sal de clorhidrato. En algunas modalidades, el aspartato es más estable que la forma de sal de fosfato.

En algunas modalidades, el aspartato del ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico tiene la dosis letal media más alta, cuando se compara con otras sales (metanosulfonato, clorhidrato, fosfato, o formato) cuando se dosifican intraparenteralmente.

En algunas modalidades, el aspartato del ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico tiene la dosis letal aproximada más alta, cuando se compara con otras sales (metanosulfonato, clorhidrato, fosfato, o formato) cuando se dosifican intraparenteral.

En una modalidad, el aspartato del ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico puede estar en una forma cristalina. En otra modalidad, el aspartato del ácido 1-

21

ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico puede estar en una forma no cristalina.

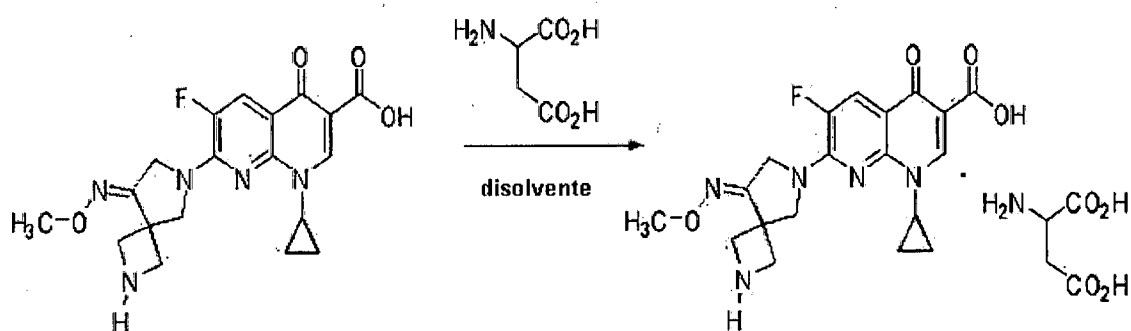
En otro aspecto, se proporcionan métodos para preparar el aspartato del ácido 1-

5 ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico de Fórmula (I).

En algunas modalidades, el método para preparar el aspartato del ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-

10 dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico comprende una etapa de hacer reaccionar ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico con ácido aspártico en un disolvente. Se puede representar el método por el Esquema 1.

15 Esquema 1



Se puede disolver el ácido 1-Ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico en un disolvente orgánico inactivo. El disolvente orgánico inactivo se puede utilizar en 10 a 20 veces volumen (ml) al peso (g) de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico. Se

72

puede agregar el ácido aspártico a este con peso equivalente de 0.9 a 2.5, basado en el peso equivalente de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico. En algunas modalidades, se puede agregar el ácido aspártico de 1.0 a 1.5 peso equivalente.

- 5 La reacción del Esquema 1 se puede llevar a cabo a una temperatura de 30 a 70 °C. En algunas modalidades, la reacción de Esquema 1 se lleva a cabo a una temperatura de 40 a 60 °C. La reacción del Esquema 1 puede durar de 10 minutos a 5 horas. En algunas modalidades, la reacción del Esquema 1 dura de 30 minutos a 2 horas.

10

En una modalidad para la preparación del aspartato del ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-

[1,8]naftiridina-3-carboxílico, el ácido aspártico es ácido D-aspártico. En una modalidad adicional o alternativa, el ácido aspártico es ácido L-aspártico. En una

- 15 modalidad adicional o alternativa, el ácido aspártico es ácido DL-aspártico o una

mezcla racémica de los mismos. En todavía otra modalidad adicional o alternativa, el ácido aspártico es una mezcla no racémica de ácido D-aspártico y ácido L-

aspártico. En algunas modalidades del método para la preparación del aspartato del ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-

- 20 oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico, el disolvente se selecciona del grupo que consiste de acetato de etilo, metanol, etanol, isopropanol, acetona, acetonitrilo, hexano, isopropil éter, agua, y cualquier combinación de los mismos. En algunas modalidades, el disolvente es etanol.

- 25 En otro aspecto, se proporcionan composiciones farmacéuticas antimicrobianas que comprenden la sal de ácido aspártico del ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-

carboxílico de Fórmula (I). En algunas modalidades, el ácido aspártico se selecciona de ácido D-aspártico, ácido L-aspártico, ácido DL-aspártico o una mezcla no racémica de ácido D-aspártico y ácido L-aspártico.

- 5 Para la administración, se puede preparar la composición farmacéutica antimicrobiana incluyendo por lo menos un portador farmacéuticamente aceptable, en adición a los ingredientes activos como se describió anteriormente. Ejemplos del portador farmacéuticamente aceptable incluyen solución salina, agua estéril, solución de Ringer, solución salina amortiguada, solución de dextrosa, solución de
- 10 maltodextrina, glicerol, etanol y una mezcla de dos o más de los mismos. Si es necesario, la composición también puede contener otros aditivos convencionales, tales como antioxidantes, amortiguadores, y agentes bacterioestáticos. Más aún, la composición puede contener adicionalmente diluyentes, dispersantes, tensoactivos, aglutinadores, y lubricantes con el fin de formularlos en
- 15 formulaciones inyectables, tales como solución acuosa, suspensión, y emulsión, píldoras, cápsulas, gránulos y comprimidos. Adicionalmente, la composición se puede formular dependiendo de enfermedades particulares y sus componentes, utilizando métodos descritos in Remington's Pharmaceutical Science, Mack Publishing Company, Easton PA.

20

- La composición de este aspecto se puede administrar oralmente o parenteralmente (por ejemplo, aplicación intravenosa, subcutánea, intraperitoneal, o tópica). La dosificación de la composición de la invención puede variar dependiendo de varios factores, que incluyen el peso del paciente, edad, sexo,
- 25 condición de salud y dieta, y tiempo de administración, ruta de administración, índice de secreción, severidad de la enfermedad, etc. En algunas modalidades, el aspartato del ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-

34

6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico de Fórmula (I) se puede administrar en una dosificación diaria de aproximadamente 1 a 100 mg/kg, preferiblemente 2 a 20 mg/kg, una vez o varias veces por día.

- 5 Se puede utilizar la composición de la invención sola o en combinación con otros agentes terapéuticos. En algunas modalidades, la composición está en combinación con por lo menos otro agente antimicrobiano.

Composición farmacéutica/Formulación/Administración

10

Una composición farmacéutica, como se utiliza aquí, se refiere a una mezcla de por lo menos un compuesto Fórmula (I) con otros componentes activos, tales como portadores, estabilizadores, diluyentes, agentes de dispersión, agentes de suspensión, agentes espesantes, y/o excipientes. La composición farmacéutica

15 facilita la administración del compuesto a un organismo. Las composiciones farmacéuticas que contienen por lo menos un compuesto de Fórmula (I) se pueden administrar en cantidades terapéuticamente efectivas como las composiciones farmacéuticas mediante cualquier forma y ruta convencional conocida en la técnica que incluye, pero no se limita a: administración intravenosa,

20 oral, rectal, aerosol, parenteral, oftálmica, pulmonar, transdérmica, vaginal, ótica, nasal, y tópica.

Uno puede administrar las composiciones farmacéuticas en una forma local a diferencia de una forma sistémica, por ejemplo, por vía de inyección del

25 compuesto directamente en un órgano, frecuentemente en un depósito o formulación de liberación sostenida. Adicionalmente, uno puede administrar las composiciones farmacéuticas que contienen por lo menos un compuesto de

Fórmula (I) en un sistema de suministro de fármaco objetivado, por ejemplo, en un liposoma recubierto con anticuerpo específico a órgano. Los liposomas se objetivarán a y se tomarán selectivamente por en órgano. En adición, las composiciones farmacéuticas que contienen por lo menos un compuesto de

5 Fórmula (I) se pueden proporcionar en la forma de formulaciones de liberación rápida, en la forma de formulaciones de liberación extendida, o en la forma de formulación de liberación intermedias.

Para la administración oral, se pueden formular fácilmente los compuestos de

10 Fórmula (I) al combinar los compuestos activos con portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica. Tales portadores permiten a los compuestos descritos aquí ser formulados como comprimidos, polvos, píldoras, grajeas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, elixires, lechadas, suspensiones y similares, para ingestión oral por un paciente a ser tratado.

15

Se pueden obtener las preparaciones farmacéuticas para uso oral al mezclar uno o más excipientes sólidos con uno o más de los compuestos descritos aquí, opcionalmente moliendo la mezcla resultante, y procesando la mezcla de gránulos, después de agregar auxiliares adecuados, si se desea para obtener

20 núcleos de comprimidos o grajeas. Los excipientes adecuados son, en particular, rellenos tales como azúcares, que incluyen lactosa, sacarosa, manitol, o sorbitol; preparaciones de celulosa tal como: por ejemplo, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de papa, gelatina, goma tragacanto, metilcelulosa, celulosa microcristalina, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio; u

25 otros tal como: polivinilpirrolidona (PVP o povidona) o fosfato de calcio. Si se desea, se pueden agregar agentes desintegrantes, tal como la croscarmelosa de sodio reticulada, polivinilpirrolidona, agar, o ácido algínico o una sal de los mismos

tal como alginato de sodio.

Se proporcionan los núcleos de grajea con recubrimientos adecuados. Para este propósito, se pueden utilizar soluciones de azúcar concentradas, que pueden
5 contener opcionalmente goma arábica, talco, polivinilpirrolidona, carbopol gel, polietilenglicol, y/o dióxido de titanio, soluciones de licor, y disolventes orgánicos adecuados o mezclas de disolvente. Se pueden agregar tintes o pigmentos a los recubrimientos de comprimidos o grajea para la identificación o para caracterizar combinaciones diferentes de dosis de compuesto activo.

10 Las preparaciones farmacéuticas que se pueden utilizar oralmente incluyen cápsulas ajuste por empuje hechas de gelatina, así como también blandas, cápsulas selladas hechas de gelatina y a plastificador, tal como glicerol o sorbitol. Las cápsulas ajuste por empuje puede contener los ingredientes activos en mezcla
15 con relleno tal como lactosa, aglutinadores tales como almidones, y/o lubricantes tales como talco o estearato de magnesio y, opcionalmente, estabilizadores. En las cápsulas blandas, se pueden disolver los compuestos activos o suspender en líquidos adecuados, tales como aceites grasos, parafina líquida, o polietilenglicoles líquidos. En adición, se pueden agregar estabilizadores. Todas las formulaciones
20 para administración deben estar en dosificaciones adecuadas para tal administración.

Para administración bucal o sublingual, las composiciones pueden tomar la forma de comprimidos, pastillas, o geles formulados en forma convencional. Las
25 inyecciones parenterales pueden involucrar inyección de bolo o infusión continua. Las composiciones farmacéuticas de Fórmula (I) pueden estar en una forma adecuada para inyección parenteral como suspensiones, soluciones o emulsiones

estériles in en vehículos aceitosos o acuosos, y pueden contener agentes formuladores tales como agentes de suspensión, de estabilización y/o de dispersión. Las formulaciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen soluciones acuosas de los compuestos activos en forma soluble en agua.

- 5 Adicionalmente, las suspensiones de los compuestos activos se pueden preparar como suspensiones de inyección aceitosas apropiadas. Los disolventes lipófilos adecuados o vehículos incluyen aceites grasos tales como aceite de sésamo, o ésteres de ácidos grasos sintéticos, tales como oleato de etilo o triglicéridos, o liposomas. Las suspensiones de inyección acuosa pueden contener sustancias
- 10 que incrementan la viscosidad de la suspensión, tal como carboximetilcelulosa de sodio, sorbitol, o dextrano. Opcionalmente, la suspensión puede contener estabilizadores o agentes adecuados que incrementan la solubilidad de los compuestos para permitir para la preparación de soluciones altamente concentradas. Alternativamente, los ingredientes activos pueden estar en forma de
- 15 polvo para constitución con un vehículo adecuado, *por ejemplo*, agua libre de pirógeno estéril, antes de uso.

- Se pueden administrar los compuestos de Fórmula (I) tópicamente y se pueden formular en una variedad composiciones tópicamente administrables, tales como
- 20 soluciones, suspensiones, lociones, geles, pastas, barras medicados, bálsamos, cremas o ungüentos. Tales composiciones farmacéuticas pueden contener solubilizadores, estabilizadores, agentes mejoradores de amortiguadores y conservantes.

- 25 Las formulaciones adecuadas para administración transdérmica de los compuestos de Fórmula (I) pueden emplear dispositivos de suministro o parches de suministro transdérmico y pueden ser emulsiones lipófilas o amortiguadas,

soluciones acuosas, disueltas y/o dispersas en un polímero o un adhesivo. Se pueden construir tales parches para suministro continuo, pulsátil o en demanda de agentes farmacéuticos. Aún adicionalmente, el suministro transdérmico de los compuestos de Fórmula (I) se puede lograr mediante medios de parches iontoforéticos y similares. Adicionalmente, los parches transdérmicos pueden proporcionar suministro controlado de los compuestos de Fórmula (I). La velocidad de absorción puede ser lenta utilizando membranas de control de velocidad o al atrapar el compuesto dentro de la matriz de polímero o gel. Por el contrario, los mejoradores de absorción se pueden utilizar para incrementar la absorción. Un mejorador de absorción o portador puede incluir disolventes absorbibles farmacéuticamente aceptables para ayudar el paso a través de la piel. Por ejemplo, los dispositivos transdérmicos están en la forma de un vendaje que comprende un miembro de respaldo, un reservorio que contiene el compuesto opcionalmente con portadores, opcionalmente una barrera que controla la velocidad para suministrar el compuesto a la piel del anfitrión en una velocidad controlada y predeterminada durante un periodo prolongado, y los medios para asegurar el dispositivo a la piel.

Para administración por inhalación, los compuestos de Fórmula (I) pueden estar en una forma tal como un aerosol, una mezcla o un polvo. Las composiciones farmacéuticas que comprenden por lo menos un compuesto de Fórmula (I) se pueden suministrar convenientemente en la forma de una presentación en aerosol de paquetes presurizados o nebulizadores, con el uso de un propulsor adecuado, *por ejemplo*, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado se puede determinar la unidad de dosificación al proporcionar una válvula para suministrar una cantidad medida. Las cápsulas y cartuchos de, tal como, por vía

solo de ejemplo, se puede formular gelatina para uso en un inhalador o insuflador que contiene una mezcla en polvo del compuesto y una base en polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

- 5 Los compuestos de Fórmula (I) también se pueden formular en composiciones rectales tales como enemas, geles rectales, espumas rectales, aerosoles rectales, supositorios, supositorios de jalea, o enemas de retención, que contienen bases de supositorios convencionales tales como manteca de cacao u otros glicéridos, así como también polímeros sintéticos tales como polivinilpirrolidona, PEG, y
- 10 similares. En las formas de supositorio de las composiciones, una cera de bajo punto de fusión a tal como, pero no limitada a, una mezcla de glicéridos de ácido graso, opcionalmente en combinación con manteca de cacao primero se funde.

- En la práctica los métodos de tratamiento o uso proporcionados aquí, con
- 15 cantidades terapéuticamente efectivas de compuestos de Fórmula (I) proporcionadas aquí se administran en composiciones farmacéuticas a un mamífero que tiene una enfermedad o afección a ser tratada. Preferiblemente, el mamífero es un humano. Una cantidad terapéuticamente efectiva puede variar ampliamente dependiendo de la severidad de la enfermedad, la edad, la salud
- 20 relativa del sujeto, la potencia del compuesto utilizado y otros factores. Se pueden utilizar los compuestos solamente o en combinación con uno más agentes terapéuticos como componentes de las mezclas.

- Se pueden formular las composiciones farmacéuticas en forma convencional
- 25 utilizando uno o más portadores fisiológicamente aceptables que comprende excipientes y auxiliares que facilitan el procesamiento de los compuestos activos en las preparaciones que se pueden utilizar farmacéuticamente. La formulación

apropiada es dependiente de la ruta de administración escogida. Cualquiera de las técnicas bien conocidas, portadores, y excipientes se pueden utilizar cuando sean adecuados y como se entienden en la técnica. Las composiciones farmacéuticas que comprenden por lo menos un compuesto de Fórmula (I) se pueden fabricar en una forma convencional, tal como, por vía solo de ejemplo, por medios de procesos de mezclado convencional, disolución, granulación, elaboración de grajeas, levigación, emulsificación, encapsulación, entrapamiento o de compresión.

- 10 Las composiciones farmacéuticas incluirán por lo menos un portador farmacéuticamente aceptable, diluyente o excipiente y por lo menos un compuesto de Fórmula (I) como se describe aquí como un ingrediente activo en forma de base libre o ácido libre, o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable. En adición, los métodos y composiciones farmacéuticas descritas aquí incluyen b el
- 15 uso de *N*-óxidos, formas cristalinas (también conocidas como polimorfos), así como también metabolitos activos de estos compuestos que tienen el mismo tipo de actividad. En algunas situaciones, los compuestos pueden existir como tautómeros. Todos los tautómeros están incluidos dentro del alcance de los compuestos presentados aquí. Adicionalmente, los compuestos descritos aquí
- 20 pueden existir en formas no solvatadas así como también formas solvatadas con disolventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol, y similares. Las formas solvatadas de los compuestos presentados aquí también se consideran por ser descritas aquí. En adición, las composiciones farmacéuticas pueden incluir otros agentes medicinales o farmacéuticos, portadores, adyuvantes,
- 25 tales como agentes de conservación, estabilización, humectación o emulsificación, promotores de solución, sales para regular la presión osmótica, y/o amortiguadores. En adición, las composiciones farmacéuticas también pueden

contener otras sustancias valiosas terapéuticamente.

Los métodos para la preparación de composiciones que comprenden los compuestos descritos aquí incluyen formular los compuestos con uno o más
5 excipientes farmacéuticamente aceptables o portadores inertes, para formar un sólido, semisólido o líquido. Las composiciones sólidas incluyen, pero no se limitan a, polvos, comprimidos, gránulos dispersables, cápsulas, cachets, y supositorios.

Las composiciones líquidas incluyen soluciones en las que se disuelve un compuesto, emulsiones que comprenden un compuesto, o una solución que
10 contiene liposomas, micelos, o nanopartículas que comprenden un compuesto como se describe aquí. Las composiciones semisólidas incluyen, pero no se limitan a, geles, suspensiones y cremas. Las composiciones pueden estar en soluciones o suspensiones líquidas, formas sólidas adecuadas para solución o suspensión en un líquido antes de uso, o como emulsiones. estas composiciones
15 pueden también contrner cantidades menores de sustancias auxiliares, no tóxicas, tales como agentes de humectación o emulsificación, agentes amortiguadores de pH, y sucesivamente.

Un resumen de las composiciones farmacéuticas descrita aquí se puede
20 encontrar, por ejemplo, en Remington, *The Science and Practice of Pharmacy*, 19th Ed. (1995) Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania.; Hoover, *Remington's Pharmaceutical Sciences* (1975) Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania; Liberman and Lachman, *Pharmaceutical Dosage Forms* (1980) Marcel Decker, New York, N.Y.; and Lippincott, Williams & Wilkins, *Pharmaceutical*
25 *Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 7th Ed. (1999) todas las cuales se incorporan aquí como refeencia en su totalidad.

Los compuestos de acuerdo con la descripción son efectivos sobre un amplio rango de dosificación. Por ejemplo, en el tratamiento de humanos adultos, las dosificaciones de aproximadamente 0.01 a aproximadamente 10,000 mg, de aproximadamente 0.5 a aproximadamente 1000 mg, de aproximadamente 1 a aproximadamente 500 mg por día, y de aproximadamente 5 a aproximadamente 100 mg por día con ejemplos de dosificaciones que se utilizan en algunas modalidades. La dosificación exacta dependerá de la ruta de administración, la forma en la que el compuesto se administra, el sujeto a ser tratado, el peso corporal del sujeto a ser tratado, y la preferencia y experiencia del médico que atiende.

[Modo para la Invención]

Aunque se han mostrado y descrito aquí modalidades preferidas de la presente invención, será obvio para aquellos expertos en la técnica que tales modalidades se proporcionan por vía solo de ejemplo. Numerosas variaciones, cambios, y sustituciones ahora ocurrirán para aquellos expertos en la técnica sin apartarse de la invención. Se debe entender que varias alternativas a las modalidades de la invención descritas aquí se pueden emplear en la práctica de la invención. Está destinado que las siguientes reivindicaciones definen el alcance de la invención y que por lo tanto se cubren los métodos y estructuras dentro del alcance de estas reivindicaciones y sus equivalentes.

El ácido 1-Ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico se puede preparar por el mismo método descrito en la Patente Coreana No. 10-566346. Un metanosulfonato de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico se puede preparar por el mismo método

como se describe en la Patente Coreana No. 10-566346.

Ejemplo 1: Preparación de la sal de ácido D-aspártico del ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico.

Se agrega ácido 1-Ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico (5.0 g) a 50% etanol (80 mL), y luego la mezcla se agita a 50° C durante 10 minutos. Se agrega ácido D-aspártico (2.0 g) y luego la mezcla se agita a 50° C durante 1 hora. La mezcla se enfría a temperatura ambiente, y luego se recolecta el sólido resultante mediante filtración. Se agrega etanol (100 mL) al filtrado, y luego la mezcla se agita durante 30 minutos. Se recolecta el sólido resultante mediante filtración para obtener un total de 5.55 g del compuesto objetivo (rendimiento: 83%). Punto de fusión: 200-201° C. ¹H RMN (D₂O): δ 0.97 (bs, 2H), 1.27 (d, 2H), 2.00 (dd, 1H, J = 8.8, 17.6 Hz), 2.77 (dd, 1H, J = 3.3, 17.0 Hz), 3.53 (bs, 1H), 3.84 (dd, 1H, J = 3.3, 8.78 Hz), 4.01 (s, 3H), 4.31-4.45 (m, 8H), 7.46 (d, 1H, J = 12.2 Hz), 8.42 (s, 1H).

Ejemplo 2: Preparación de sal de ácido L-aspártico de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico.

Se agrega ácido 1-Ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico (500 mg) a 50% etanol (20 mL), y luego la mezcla se agita a 50° C durante 10 minutos. Se agrega ácido L-aspártico (174 mg) y luego la mezcla se agita a 50° C durante 1 hora. La mezcla se enfría a

temperatura ambiente. Se agrega etanol (20 mL) a la mezcla de reacción, y luego la mezcla se agita durante 30 minutos. Se recolecta el sólido resultante mediante filtración para obtener 550 mg del compuesto objetivo (rendimiento: 82%). Punto de fusión: 205-206° C. ¹H RMN (*d*₆-DMSO): δ 0.93 (d, 2H, J = 3.5 Hz), 1.20 (d, 2H, J = 6.8 Hz), 2.42 (dd, 1H, J = 9.2, 17.3 Hz), 2.59 (dd, 1H, J = 3.3, 17.2 Hz), 3.50 (m, 1H), 3.59 (1H, dd, J = 3.1, 9.1 Hz), 3.91 (s, 3H), 4.24 (m, 6H), 4.41 (br, 2H), 7.59 (d, 1H, J = 12.4 Hz), 8.41(s, 1H).

Ejemplo 3 - *Preparación de sal de ácido clorhídrico, sal de fosfato, y sal de formato de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico.*

3-1 Sal de Ácido clorhídrico

Se enfría etanol (3 mL) a 0° C y se agrega cloruro de acetilo (1.13 mL), y luego la mezcla se agita durante 30 minutos. Se agrega ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico (800 mg) a la mezcla de reacción, y luego se agita a 0° C durante 30 minutos. Se agrega tetrahidrofurano (4 mL), y luego la mezcla se agita durante 30 minutos. Se recolecta el sólido resultante mediante filtración y se seca para obtener 776 mg del compuesto objetivo (rendimiento: 89%). Punto de fusión: 244-245° C. ¹H RMN (*d*₆-DMSO): δ 1.07 (d, 2H, J = 4.7 Hz), 1.21 (d, 2H, J = 6.8 Hz), 3.68 (m, 1H), 3.94 (s, 3H), 4.17 (m, 2H), 4.40 (s, 2H), 4.53 (s, 2H), 8.03 (d, 1H, J = 12.5 Hz), 8.59 (s, 1H).

3-2 sal de fosfato

Se agrega ácido 1-Ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-

il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico (5.0 g) a 50% etanol (180 mL), y luego la mezcla se agita a 50° C durante 10 minutos. Se agrega ácido fosfórico (0.84 mL), y luego la mezcla se agita a 50° C durante 1 hora. La mezcla se enfría a temperatura ambiente. Se recolecta el sólido resultante mediante filtración y se
5 seca para obtener 3.8 g del compuesto objetivo (rendimiento: 61%). Punto de fusión: 220-222° C. ¹H RMN (d₆-DMSO): δ 1.11 (d, 2H, J = 4.2 Hz), 1.21 (d, 2H, J = 7.6 Hz), 3.71 (m, 1H), 3.97 (s, 3H), 4.18 (m, 4H), 4.41 (m, 2H), 4.55 (m, 2H), 8.06 (d, 1H, J = 12.6 Hz), 8.59 (s, 1H).

10 3-3 Sal de formato

Se disuelve ácido 1-Ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico (5.0 g) en etanol (50 mL), y luego se agrega 85% de ácido fórmico (0.5 mL). La mezcla se agita a 50° C
15 durante 2 horas, y luego se agita de nuevo a temperatura ambiente durante 3 horas. Se recolecta el sólido resultante mediante filtración y se seca para obtener 4.07 g del compuesto objetivo (rendimiento: 73%). Punto de fusión: 198-199° C. ¹H RMN (d₆-DMSO): δ 1.10 (d, 2H, J=2.4 Hz), 1.25 (d, 2H, J = 6.6 Hz), 3.72 (m, 1H), 3.98 (m, 5H), 4.09 (m, 2H), 4.39 (s, 2H), 4.55 (s, 2H), 8.04 (d, 1H, J = 12.6 Hz),
20 8.31 (s, 1H), 8.58 (s, 1H).

Ejemplo 4A: *Determinación de la Solubilidad de Varias Formas de Sa*

La solubilidad del compuesto padre, solubilidad de la sal de clorhidrato, solubilidad
25 de la sal de ácido D-aspartico, y solubilidad de la sal de ácido L-aspartico se miden bajo las condiciones de varios disolventes a temperatura ambiente. Se muestran los resultados en la Tabla 1.

[Tabla 1]

Tabla 1- Solubilidad de Varias Formas de Sal				
	Solubilidad de Forma de Sal (mg/mL)			
	Compuesto Padre	Clorhidrato (Ejemplo 3)	D-Aspartato (Ejemplo 1)	L-Aspartato (Ejemplo 2)
Agua destilada	2.22	13.5	63.5	77.9
pH 1.2	7.70	1.62	44.2	28.3
pH 4.0	6.49	8.96	76.1	56.2
pH 6.8	0.038	0.061	7.92	4.21

5

En la Tabla 1, el D-aspartato de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico, y el L-aspartato de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico muestra tener mayor solubilidad que el ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico, o el clorhidrato del mismo.

10

La solubilidad del D-aspartato de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico, y la solubilidad del L-aspartato de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico puede ser aproximadamente 5 a 6 veces más que aquella del clorhidrato en agua destilada, aproximadamente 17 a 27 veces más que aquella del clorhidrato con un pH de 1.2, y/o aproximadamente 69 a 130 veces más que aquella del clorhidrato con un pH de 6.8.

15

20

Ejemplo 4B: *Determinación de Solubilidad de Varias Formas de Sal*

Las solubilidades del D-aspartato de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-
5 2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico y el L-
aspartato de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-
6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico preparados como se describió
anteriormente y varias sales de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-
diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico en agua
10 destilada se miden a temperatura ambiente.

Se muestran los resultados en la tabla adelante, en la que las solubilidades se
convierten en las solubilidades correspondientes de base libre (mg/ml).

Sal	Solubilidad (mg/ml)
Base libre	2.22
(D)-Aspartato	59.02
(L)-Aspartato	49.59
Clorhidrato	17.18
Fosfato	19.62
Formato	38.84
Malonato	5.26
Ftalato	0.48
Oxalato	2.26
Nitrato	2.19
Arginica	0.09
Maleato	0.18
Magnesio	0.02
Acetato	0.02
Malato	0.91
Salicilato	0.11
Bromohidrato	7.27

Benzoato	0.67
P-toluenosufato	0.74
Succinato	2.50
Fumarato	0.63
Tartrato	2.80
Mandelato	1.01
Sulfato	2.79
2,5-Dihidroxibenzoato	0

Como se mostró anteriormente, el D-aspartato de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico, y el L-aspartato de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico de la presente invención muestran la mejor solubilidad.

Ejemplo 5: Determinación de Estabilidad de Sal de Ácido D-Aspártico

Se disuelve 30 mg de D-aspartato de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico como se prepara en el Ejemplo 1 en 100 ml de agua destilada, y luego se somete a prueba de estabilidad a temperatura ambiente. Se muestran los resultados en la Tabla 2.

[Tabla 2]

Tabla 2 – Estabilidad de sal de ácido D-Aspártico	
Curso de Tiempo	Contenido (%)
Inicial	93.32
Después de 1 semana	99.16
Después de 1 semanas	99.04

Como se muestra en la Tabla 2, el D-aspartato de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico no cambian su pureza a temperatura ambiente durante el curso del tiempo del experimento. Por lo tanto, su estabilidad química se encuentra por ser
5 bien adecuada para formulación inyectable.

Ejemplo 6: Prueba de Toxicidad en Ratones

El perfil de toxicidad del D-aspartato de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico se confirma en ratones ICR machos. Los ratones ICR machos se dividen en seis grupos de dosis (cinco ratones por grupo), y luego se colocan en ayuno (sin comida se da excepto agua) durante 24 horas. El D-aspartato de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico (como se prepara en el Ejemplo 1) y otras formas de sal (que incluyen metanosulfonato, clorhidrato, fosfato, y formato), se administran intraperitonealmente en una dosis diaria de 2000, 1000, 500, 250, 125, y 0 (control) mg/kg administrado (10 ml/kg volumen de inyección total) una vez por día. Se determinan una dosis letal media (LD50), una dosis letal
10 aproximada, y una dosis tolerada máxima después de observación durante 14 días.

Se mide la mortalidad, cambios de peso corporal, y cambios de peso de órgano. También se desarrollan hallazgos en necropsia e histopatología. Todos los ratones en el grupo de 2000 mg/kg y 2 ratones en el grupo de 1000 mg/kg mueren dentro de dos horas después tratamiento. Un ratón en el grupo de 1000 mg/kg muere ocho días después tratamiento. Se pueden detectar diarrea y/o heces blandas en
25

QO

algunos ratones. Se pueden detectar los pesos incrementados en el bazo, testículos, o epididimis en algunos ratones. Se puede detectar las células germinales inmaduras en el lumen de los túbulos testiculares en el grupo de 500 mg/kg. Algunos ratones muestran infiltración de células inflamatorias en los tejidos fibrosos adheridos del bazo o focos necróticos alrededor de las regiones adheridas al tejido fibroso en el hígado. Los resultados de la toxicidad se muestran en la Tabla 3.

[Tabla 3]

Tabla 3 – Determinación de Toxicidad de Ratón			
Forma de Sal	Dosis media letal (mg/kg)	Dosis aproximada letal (mg/kg)	Dosis tolerada máxima (mg/kg)
D-Aspartato (Ejemplo 1)	963.13	500 - 1000	500
Metanosulfonato	716.24	500 - 1000	500
Clorhidrato (Ejemplo 3)	481.93	250 - 500	250
Fosfato (Ejemplo 3)	356.91	250 - 500	250
Formato (Ejemplo 3)	716.24	500 - 1000	500

10

Como se muestra en la Tabla 3, se encuentra que el D-aspartato de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico tiene la dosis letal media más alta y la más alta dosis letal aproximada, cuando se compara con otras formas de sal (que incluyen metanosulfonato, clorhidrato, fosfato, y formato). De acuerdo con lo anterior, se puede concluir que el D-aspartato de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico tiene

15

toxicidad sustancialmente reducida.

Ejemplo 7: Preparación de una Formulación Inyectable

- 5 Una formulación inyectable que contiene 10 mg/mL del ingrediente activo se prepara por el siguiente método:

Se disuelven 1 g del compuesto de Fórmula (I), 0.6 g de cloruro de sodio, y 0.1 g de ácido ascórbico en agua destilada y el volumen final hace 100 mL.

10

Ejemplo 8: Estudio de Toxicidad Intravenosa Repetido de Dos semanas en Perros Beagle

- Perros Beagle Machos de 14 meses de edad (11.80 13.80 kg; Gaoyao Kangda Laboratory Animal Science & Technology Co., LTD., China) se administran intravenosamente una vez diariamente en niveles de dosis de 10, 5, 2.5, 1, y 0 (control) mg/kg (peso corporal) durante 2 semanas. La mortalidad y cambios en el peso corporal, síntomas clínicos y observación bruta se monitorean durante los 14 días con peso de órgano e histopatología fe 23 tipos de órganos principales.

20

- La forma de sal de ácido D-aspartico del ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico (Ejemplo 1) se suspende homogéneamente en agua destilada en una concentración de 200 mg/ml, y se disuelve bien en concentraciones e 40, 20, 10, y 4 mg/ml. El artículo de prueba se inyecta intravenosamente se repite en dos semanas a un volumen de dosificación de 0.25 ml/kg utilizando agua destilada como vehículo.

25

No se observa mortalidad en ninguno de los grupos experimentales que incluyen grupo de contro de vehículo.

- 5 Los síntomas clínicos observados durante el experimento son vómito y salivación. El vómito se observa excepto para el grupo de control. La salivación se observa en los grupos de dosis de 5 y 10 mg/kg. Se observa esporádicamente reposo, diarrea, inflamación en el sitio de inyección en los grupos de dosificación de 5 o 10 mg/kg.
- 10 No se observan cambios significativos de peso corporal.
No se observan cambios significativos de peso de órgano.

Ejemplo 9: Farmacocinéticos en Ratones

- 15 Se utilizan ratones machos de siete semanas de edad (ICR CD-1), de 28-31 g de peso corporal luego de recibo. Para cada uno del estudio de 100 mg/kg y estudio de 10 mg/kg, un total de setenta y dos ratones se divide en dieciocho grupos, nueve grupos para la forma de sal de clorhidrato (Ejemplo 3) y nueve grupos para la forma de sal del D-aspartato (Ejemplo 1).

20

Se muestrea la sangre en 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, y 5 horas después de dosificación mediante punción orbital. Se comparan los farmacocinéticos de la forma de sal de clorhidrato (Ejemplo 3) y la forma de sal del D-aspartato (Ejemplo 1) en los ratones como se muestra en la Tabla 4.

25

[Tabla 4]



Tabla 4 – Farmacocinéticos en ratones				
Parámetros PX*	100 mg/kg, p.o.		10 mg/kg, i.v.	
	Clorhidrato (Ejemplo 3)	D-Aspartato (Ejemplo 1)	Clorhidrato (Ejemplo 3)	D-Aspartato (Ejemplo 1)
C _{max} (µg/mL)	3.951	3.412	-	-
T _{max} (hr)	0.25	0.25	-	-
C _{last} (µg/mL)	-	-	0.067	0.092
T _{last} (hr)	-	-	4.0	4.0
Vida media (hr)	2.205	1.707	1.259	1.543
AUC 0-8hr (µg x hr/mL)	8.963	8.679	2.140	1.907
Total AUC (µg x hr/mL)	9.653	9.051	2.310	2.112
* Solo se muestran parámetros medios				

Ejemplo 10: Estudio de Farmacocinéticos después de Administración Intravenosa en Ratas

5

Los farmacocinéticos de la forma de sal de clorhidrato (Ejemplo 3) y la forma de sal del D-aspartato (Ejemplo 1) se comparan con ratas como se muestra en la Tabla 5.

10 [Tabla 5]

Tabla 5 – Farmacocinéticos en Ratas (10 mg/kg i.v. en ratas SD macho		
Parámetros PX	Clorhidrato (Ejemplo 3)	D-Aspartato (Ejemplo 1)
C _{last} (µg/mL)	0.137 ± 0.042	0.107 ± 0.025
T _{last} (hr)	5.0 ± 0.0	5.0 ± 0.0
Vida media(hr)	1.061 ± 0.093	1.058 ± 0.040
AUC 0-5hr	6.070 ± 0.731	5.228 ± 0.615
AUC inf (µg x hr/mL)	6.283 ± 0.804	5.393 ± 0.650

Ejemplo 11: Farmacocinéticos en Perros

Se compran cuatro perros beagle machos de Gaoyao Kangda Laboratory Animal Sciences & Technology Co., LTD. La dosis se formula como una solución en agua estéril a una concentración de 5 mg/0.1 ml/kg de peso corporal. La forma de sal del D-aspartato (Ejemplo 1) se administra intravenosamente por vía de una vena cefálica.

- 10 Se recolectan muestras de sangre por vía de la vena cefálica en tubos que contienen anticoagulante de heparina sodio y en 0.083, 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 5, y 8 horas post-administración. Se calculan los parámetros farmacocinéticos utilizando WinNonlin (ver 1.0, Scientific Consulting Inc., USA). Los farmacocinéticos de la forma de sal de D-aspartato (Ejemplo 1) se muestran en la
- 15 Tabla 6.

[Tabla 6]

Tabla 6 - Farmacocinéticos en Perros (% mg/kg i.v.)					
Parámetros	Perro A	Perro B	Perro C	Perro D	Media±DE
C last (µg/mL)	0.369	0.412	0.380	0.387	0.387 ± 0.018
T last (hr)	8	8	8	8	8 ± 0
Vida media (hr)	3.38	4.12	3.51	4.00	3.75 ± 0.37
AUC 0-8hr (µg x hr/mL)	7.293	7.345	7.535	6.650	7.206 ± 0.385
AUC inf (µg x hr/mL)	9.092	9.795	9.457	8.886	9.307 ± 0.402
CL (ml/min/kg)	9.2	8.5	8.8	9.4	9.0 ± 0.4
Varea (L/kg)	2.7	3.0	2.7	3.3	2.9 ± 0.3
MRT (hr)	4.74	5.68	4.90	5.65	5.24 ± 0.49

Ejemplo 12: Toxicidad Dosis Única en Ratones y Ratas

- 5
- Para el estudio de ratones, se llevan a cabo inyecciones intravenosas de dosis únicas de la forma de sal D-aspartato (Ejemplo 1) con las siguientes dosificaciones: 900, 400, 200, 100, y 50 mg/kg/10 ml. Se utiliza 10 ml/kg de agua destilada como control. Se miden la mortalidad, cambios de peso corporal, y cambios de peso de órgano. También se desarrollan hallazgos de histopatología.
- 10
- Todos los ratones en el grupo de 900 y 400 mg/kg mueren después de la terminación del tratamiento. Los grupos de 200, 100, y 50 mg/kg no muestran toxicidad seria. No se encuentra órgano objetivo significativo.
- 15
- Para estudio en ratas, se llevan a cabo inyecciones intravenosas de dosis única de la forma de sal D-aspartato (Ejemplo 1) con las siguientes dosificaciones: 600, 300, 150, 75, 37.5 mg/kg/5 ml. Se utiliza 5 ml/kg agua destilada como control. Se

miden l mortalidad, cambios de peso corporal, y cambios de peso de 33rgano. Tambi33n se desarrollan hallazgos de histopatolog33a.

Todas las ratas en los grupos de 600 y 300 mg/kg mueren despu33s de la terminaci33n del tratamiento. Se puede detectar p33rdida de locomoci33n en los grupos 150 y 75 mg/kg. Se puede observar ligero incremento de peso corporal en los grupos de 150 y 75 mg/kg. Tambi33n se puede observar incremento de peso de 33rgano para h33gado y timo en los grupos de 150 y 75 mg/kg.

Los resultados de la toxicidad de dosis 33nica se muestran en la Tabla 7.

[Tabla 7]

Tabla 7 - Determinaci33n de Toxicidad I.V. en Ratones y Ratas		
	50% dosis letal (LD ₅₀) mg/kg	Dosis letal aproximada (ALD) mg/kg
Ratones	279.98	200-400
Ratas	210.72	150-300

Ejemplo 13: Intravenosa Bolus Inyecci33n Toxicidad Study

Una vez al d33a se llevan a cabo experimentos de toxicidad de dosis en dos semanas de la forma de sal D-aspartato (Ejemplo 1) en forma similar como en el Ejemplo 8 en perros y ratas. Los resultados de la toxicidad dosis 33nica repetida se muestran en la Tabla 8.

[Tabla 8]

Tabla 8-Determinación de Toxicidad I.V: en Perros y Ratas		
Animal		Dosis tolerada Máxima mg/kg
Ratas	Macho	80
	Hembra	40
Perros	Macho	10

Ejemplo 14: *Prueba de Micronúcleos en Células de Médula Ósea de Ratones Machos*

5

La citogenética de médula es una técnica a corto plazo útil para elucidar el mecanismo así como también para identificar la actividad clastogénica y anticlastogénica de las sustancias. Ver Renner HW, (1990) *Mutat Res.* 244: 185-8. La prueba de micronúcleos utilizando roedores pequeños puede ser sensible a los métodos para probar la genotoxicidad de agentes desarrollados nuevamente.

10

La forma de sal de D-aspartato (Ejemplo 1) o ciclofosfamida (CPA) se utiliza para este experimento. La alta dosificación intravenosa experimental 250 mg/kg y la baja dosificación es 200 mg/kg para la forma de sal del D-aspartato (Ejemplo 1). Se utiliza 70 mg/kg de administración intraperitoneal de CPA como una dosificación de control positivo (se utilizan siete ratones ICR machos en cada grupo). Veinticuatro horas después de administración de inyección única, se sacrifican todos los animales y se evalúan los cambios en el número de eritrocitos policromáticos con uno o más núcleos (MNPCE) con los cambios en los glóbulos blancos totales y conteos diferentes en los neutrófilos y linfocitos en la sangre preparada. En adición, se calcula la proporción de PCE/(PCE+eritrocitos normocromáticos (NCE)) al contar 500 eritrocitos para detectar posibilidad de citotoxicidad.

15

20

CPV

La inyección intravenosa única en 200 o 250 mg/kg puede causar la muerte seguida por convulsiones después de la terminación del tratamiento. Para los ratones sobrevivientes después de la terminación del tratamiento, se puede 5 detectar pérdida de locomoción dentro de las 4 horas después de inyección. Los resultados de la mortalidad o pérdida de locomoción se muestran en la Tabla 9.

[Tabla 9]

Tabla 9-Resultados de la Mortalidad y Pérdida de Locomoción		
ID de Grupo	Mortalidad	Pérdida de Locomoción
Control Intacto	0/7	0/7
Control Positivo(CPA 70mg/kg)	0/7	0/7
Alta Dosificación (2500mg/kg)	6/7	1/1
Baja Dosificación (2500mg/kg)	1/7	6/6

10

Se detectan reducciones significativas en el número de leucocitos totales en la sangre en los grupos tratados con CPA e inyectados con 200 mg/kg con reducción dramática en las proporciones de linfocito en los conteos diferenciales en grasa de 15 sangre. No hay cambios significativos en el peso corporal o números de MNPCE para ninguno de los grupos tratados con forma de sal de D-aspartato, en donde el grupo tratado con CPA muestra reducción significativa de MNPCE. Así, la prueba de micronúcleo en células de médula ósea de ICR macho muestran resultado negativo para la forma de sal del D-aspartato de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8- 20 metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico. Se muestran los cambios en los números MNPCE y proporción PCE(PCE+NCE) en la Tabla 10. Se muestran los cambios en los leucocitos y neutrófilos en la Tabla 11.

49

[Tabla 10]

Tabla 10-Cambios en los Números MNPCE y Proporción PCE (PCE+NCE)		
ID de Grupo	MNPCE/2000 PCE	Proporción PCE(PCE+NCE)
Control Intacto	0.71 ± 0.76	0.51 ± 0.07
Control Positivo(CPA 70mg/kg)	71.86 ± 10.43	0.36 ± 0.07
Alta Dosificación (2500mg/kg)	5.00 ± ND*	0.41 ± ND*
Baja Dosificación (2500mg/kg)	1.00 ± 1.10	0.34 ± 0.04
* No calculado debido a la alta mortalidad		

5

[Tabla 11]

Tabla 11-Cambios en los Leucocitos y Neutrófilos			
ID de Grupo	Total de números de leucocito (10 ³ células/mm ³)	Proporciones entre 100 leucocitos (%)	
		Linfocitos	Neutrófilos
Control Intacto	5.02 ± 1.10	89.71 ± 4.39	9.71 ± 3.73
Control Positivo (CPA 70 mg/kg)	2.36 ± 0.55	75.71 ± 9.20	21.71 ± 9.45
Alta Dosificación (250 mg/kg)	4.30 ± ND*	13.00 ± ND*	82.00 ± ND*
Baja Dosificación (200 mg/kg)	3.20 ± 0.56	79.33 ± 5.20	17.17 ± 3.19
* No calculado debido a la alta mortalidad			

10 **Ejemplo 15: Prueba de Irritación Local Intramuscular**

Para la prueba de irritación local intramuscular, la forma de sal del D-aspartato (Ejemplo 1) se inyecta repetidamente una vez al día durante siete días. Se utilizan dosificaciones de 200, 100, y 50 mg/kg. 50 mg/kg de ciprofloxacín y también se

100

utilizan agua destilada (control). Se utilizan cinco ratones por grupo.

Se miden o desarrollan varios parámetros que incluyen mortalidad, síntomas clínicos, cambios en peso corporal, cambios en el grosor de la pantorrilla, cambios en el peso de los órganos, hallazgos en necropsia, cambios en los conteos de WBC de sangre, y hallazgos histopatológicos.

[Tabla 12]

Tabla 12-Cambios en el Grosor de la Pantorrilla			
ID de Grupo	Pantorrilla Intacta (A)	Pantorrilla Inyectada (B)	Diferencias (B-A)
Control	4.78 ± 0.08	5.22 ± 0.29	0.45 ± 0.27
Ciprofloxacín(50mg/kg)	4.80 ± 0.07	6.00 ± 0.36	1.20 ± 0.38
200 mg/kg dosificación	4.83 ± 0.06	6.71 ± 0.19	1.88 ± 0.17
100 mg/kg dosificación	4.78 ± 0.07	5.91 ± 0.37	1.13 ± 0.43
50 mg/kg dosificación	4.77 ± 0.12	5.13 ± 0.12	0.36 ± 0.11

Los resultados muestran que la inyección intramuscular del día siete repetida de 200 mg/kg la forma de sal del D-aspartato (Ejemplo 1) pueden originar irritación local similar cuando se compara con la misma inyección de 50 mg/kg de ciprofloxacín. La inyección intramuscular del día siete repetida de 50 mg/kg de la forma de sal del D-aspartato (Ejemplo 1) muestra solo irritaciones locales leves. Los cambios en el grosor de la pantorrilla se muestran en la Tabla 12, y los cambios en los conteos de glóbulos blancos se muestran en la Tabla 13.

[Tabla 13]

Tabla 13 Cambios en los conteos de glóbulos blancos						
ID de Grupo	Númeos de Leucocitos Totales (x10 ³ células/ μ l)	Conteos diferenciales de leucocitos (%)				
		Neutrófilos	Linfocitos	Monocitos	Eosinófilos	Basófilos
Control	4.57 $\pm$ 0.77	7.80 $\pm$ 2.43	87.30 $\pm$ 3.40	3.60 $\pm$ 0.79	0.86 $\pm$ 1.06	0.06 $\pm$ 0.09
Ciprofloxacina (50mg/kg)	5.51 $\pm$ 0.40	13.94 $\pm$ 4.35	80.88 $\pm$ 4.29	4.58 $\pm$ 1.13	0.34 $\pm$ 0.45	0.02 $\pm$ 0.04
200 mg/kg dosificación	5.49 $\pm$ 0.21	13.84 $\pm$ 4.55	80.36 $\pm$ 4.34	5.46 $\pm$ 1.14	0.04 $\pm$ 0.09	0.04 $\pm$ 0.05
100 mg/kg dosificación	4.69 $\pm$ 0.46	8.52 $\pm$ 2.04	85.28 $\pm$ 2.02	5.62 $\pm$ 1.34	0.28 $\pm$ 0.41	0.06 $\pm$ 0.05
50 mg/kg dosificación	4.50 $\pm$ 1.01	8.02 $\pm$ 1.18	86.40 $\pm$ 3.07	4.64 $\pm$ 2.22	0.44 $\pm$ 0.38	0.06 $\pm$ 0.05

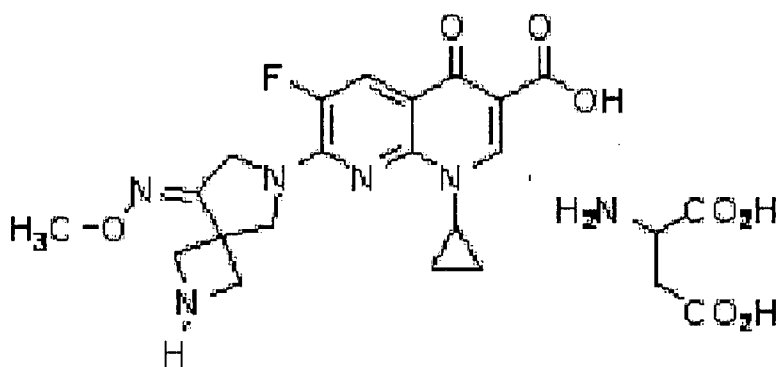
[Aplicabilidad Industrial]

- 5
- Una sal de ácido aspártico de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico de acuerdo con la presente invención tiene excelentes propiedades fisicoquímicas, que incluyen su solubilidad y estabilidad. Más aún, dichas sales de ácido tienen muy baja toxicidad como se muestra por su LD₅₀ mucho más alto cuando se comparan con otras sales. De acuerdo con lo anterior, esto es muy efectivo para un agente antimicrobiano.
- 10

[REIVINDICACIONES]

[Reivindicación 1]

Una sal de ácido aspártico del ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico representada por la Fórmula (I):



Fórmula (I).

[Reivindicación 2]

La sal de ácido aspártico del reivindicación 1, en donde el ácido aspártico se selecciona de ácido D-aspártico, ácido L-aspártico, ácido DL-aspártico o una mezcla no racémica de ácido D-aspártico y ácido L-aspártico.

[Reivindicación 3]

Un método para preparar la sal de ácido aspártico del ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico de la reivindicación 1, que comprende una etapa de hacer reaccionar ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico con ácido aspártico en un disolvente.

[Reivindicación 4]

El método de la reivindicación 3, en donde el disolvente es por lo menos uno seleccionado del grupo que consiste de acetato de etilo, metanol, etanol, isopropanol, acetona, acetonitrilo, hexano, isopropil éter, y agua.

5

[Reivindicación 5]

El método de la reivindicación 3, en donde el ácido aspártico se selecciona de ácido D-aspártico, ácido L-aspártico, ácido DL-aspártico o una mezcla no racémica de ácido D-aspártico y ácido L-aspártico.

10

[Reivindicación 6]

Una composición farmacéutica antimicrobiana que comprende la sal de ácido aspártico del ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico.

15

[Reivindicación 7]

La composición de reivindicación 6, en donde el ácido aspártico se selecciona de ácido D-aspártico, ácido L-aspártico, ácido DL-aspártico o una mezcla no racémica de ácido D-aspártico y ácido L-aspártico.

20

[Reivindicación 8]

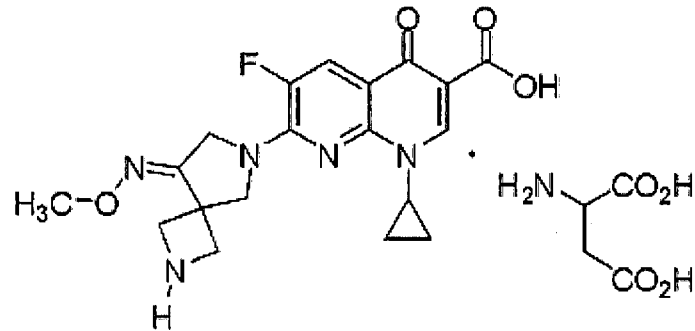
La composición farmacéutica antimicrobiana de acuerdo con la reivindicación 6 o 7, en donde la composición se formula para inyección.

25

[Reivindicación 9]

Una sal de ácido aspártico farmacéuticamente aceptable de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-

dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico representada por la Fórmula (I):



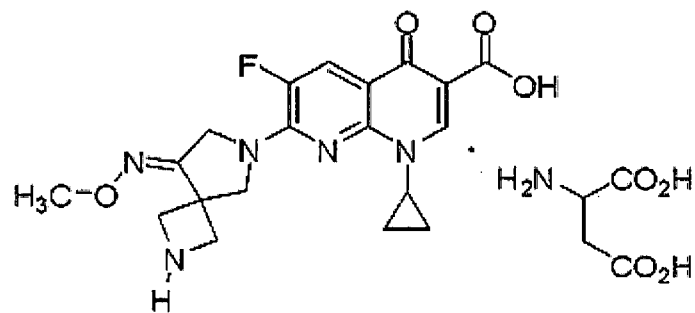
Fórmula (I).

5

[Reivindicación 10]

Un método para tratar una enfermedad o afección en un animal utilizando una cantidad terapéuticamente efectiva de por lo menos una sal de ácido aspártico farmacéuticamente aceptable de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-carboxílico representada por la Fórmula (I):

10



Fórmula (I).

108

[RESUMEN]

Se describen sales de ácido aspártico de ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(8-metoxiimino-2,6-diaza-espiro[3.4]oct-6-il)-4-oxo-1,4-dihidro-[1,8]naftiridina-3-

5 carboxílico, métodos para preparar el mismo, y composiciones farmacéuticas antimicrobianas que comprenden el mismo.

10

15

20

25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2008/002106

106

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER*C07D 471/04(2006.01)i, C07D 487/10(2006.01)i, A61K 31/47(2006.01)i, A61P 31/00(2006.01)i*

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)

IPC 8 as above

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 practicable, search terms used)
STN(REGISTRY, CAPLUS), eKIPASS**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 99/00393 A1 (Dong Hwa Pharmaceutical Industrial Co., Ltd.) 7 January 1999 See the whole document	1-9
A	Park, H.-S. et al "In vitro and in vivo antibacterial activities of DW-224a, a New Fluoronaphthyridone", Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2006, 50(6), 2261-2264, ISSN: 0066-4804 See the whole document	1-9
A	Han, J. et al "Subacute toxicity and toxicokinetics of a new antibiotic, DW-224a, after single and 4-week repeated oral administration in dogs", Biological & Pharmaceutical Bulletin, 2003, 26(6), 832-839, ISSN: 0918-6158 See the whole document	1-9
A	Kwon, A.-R. et al "In vitro and in vivo activities of DW-224a, a novel fluoroquinolone antibiotic agent", Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2006, 58, 684-688, ISSN: 0305-7453 See the whole document	1-9
A	Appelbaum, P.C. et al "Antipneumococcal activity of DW-224a, a new quinolone, Compared to those of eight other agents", Antimicrobial agents and chemotherapy, 2006, 50(6), 2064-2071, ISSN: 0066-4804 See the whole document	1-9



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 application or patent 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 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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

26 AUGUST 2008 (26.08.2008)

Date of mailing of the international search report

27 AUGUST 2008 (27.08.2008)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 139 Seonsa-ro, Seo-
gu, Daejeon 302-701, Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

LEE, MIN JUNG

Telephone No. 82-42-481-5603



107

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2008/002106

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:

- ☒ Claims Nos.: 10
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claim 10 pertains to methods for treatment of the human or animal body by therapy, as well as diagnostic method, and thus relates to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.
- ☐ 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:
- ☐ 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:

- ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
- ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
- ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
- ☐ 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.:

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.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/KR2008/002106

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 99-00393 A1	07.01.1999	AU 1998-79405 A1	19.01.1999
		CN 1114607 C	16.07.2003
		CN 1259952 A	12.07.2000
		DE 69802692 C0	10.01.2002
		EP 0994878 A1	26.04.2000
		EP 0994878 B1	28.11.2001
		JP 2000-513378 A	10.10.2000
		JP 3280388 B2	13.05.2002
		KR 1999-0007390 A	25.01.1999
		US 6313299	06.11.2001
		US 2002-0035258 A1	21.03.2002
		US 2002-035258 AA	21.03.2002
		US 6313299 B1	06.11.2001
		US 6313299 BA	06.11.2001
		US 6552196 BB	22.04.2003

109

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY
(Chapter I of the Patent Cooperation Treaty)

(PCT Rule 44bis)

Applicant's or agent's file reference OPA08018/PCT	FOR FURTHER ACTION		See item 4 below
International application No. PCT/KR2008/002106	International filing date (day/month/year) 14 April 2008 (14.04.2008)	Priority date (day/month/year) 13 April 2007 (13.04.2007)	
International Patent Classification (8th edition unless older edition indicated) See relevant information in Form PCT/ISA/237			
Applicant DONG WHA PHARMACEUTICAL CO. LTD.			

1. This international preliminary report on patentability (Chapter I) is issued by the International Bureau on behalf of the International Searching Authority under Rule 44 bis.1(a).

2. This REPORT consists of a total of 5 sheets, including this cover sheet.

In the attached sheets, any reference to the written opinion of the International Searching Authority should be read as a reference to the international preliminary report on patentability (Chapter I) instead.

3. This report contains indications relating to the following items:

☒ Box No. I	Basis of the report
☐ Box No. II	Priority
☒ Box No. III	Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
☐ Box No. IV	Lack of unity of invention
☒ Box No. V	Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
☐ Box No. VI	Certain documents cited
☐ Box No. VII	Certain defects in the international application
☐ Box No. VIII	Certain observations on the international application

4. The International Bureau will communicate this report to designated Offices in accordance with Rules 44bis.3(c) and 93bis.1 but not, except where the applicant makes an express request under Article 23(2), before the expiration of 30 months from the priority date (Rule 44bis .2).

	Date of issuance of this report 13 October 2009 (13.10.2009)
The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Philippe Becamel
Facsimile No. +41 22 338 82 70	e-mail: pt12.pct@wipo.int

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:

SON Min

19th floor, City Air Tower 159-9, Samseong-dong, Gangnam-
gu, Seoul 135-973 Republic of Korea

PCT

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

(PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing
(day/month/year) **27 AUGUST 2008 (27.08.2008)**

Applicant's or agent's file reference
OPA08018/PCT

FOR FURTHER ACTION

See paragraph 2 below

International application No.

PCT/KR2008/002106

International filing date (day/month/year)

14 APRIL 2008 (14.04.2008)

Priority date(day/month/year)

13 APRIL 2007 (13.04.2007)

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

C07D 471/04(2006.01)i, C07D 487/10(2006.01)i, A61K 31/47(2006.01)i, A61P 31/00(2006.01)i

Applicant

DONG WHA PHARMACEUTICAL IND. CO. LTD. et al

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☒ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. **FURTHER ACTION**

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA/KR
Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 139
Seonsa-ro, Seo-gu, Daejeon 302
-701, Republic of Korea
Facsimile No. 82-42-472-7140

Date of completion of this opinion

26 AUGUST 2008 (26.08.2008)

Authorized officer

LEE, MIN JUNG

Telephone No.82-42-481-5603



(11)

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.

PCT/KR2008/002106

Box No. I Basis of this opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of :

- ☒ the international application in the language in which it was filed
- ☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

2. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43bis.1(a))

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, this opinion has been established on the basis of:

a. type of material

- ☐ a sequence listing
- ☐ table(s) related to the sequence listing

b. format of material

- ☐ on paper
- ☐ in electronic form

c. time of filing/furnishing

- ☐ contained in the international application as filed.
- ☐ filed together with the international application in electronic form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.

4. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

5. Additional comments:

112

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/KR2008/002106

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

☐ the entire international application

☒ claims Nos. 10

because:

☒ the said international application, or the said claims Nos. 10

relate to the following subject matter which does not require an international search (*specify*):

Claim 10 pertains to methods for treatment of the human or animal body by therapy, as well as diagnostic method, and thus relates to a subject matter which this International Searching Authority is not required to search. (Rule 43 bis.1(b), Rule 67.1(iv) PCT).

☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. _____ are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

☐ the claims, or said claims Nos. _____ are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

☐ no international search report has been established for said claims Nos. _____

☐ a meaningful opinion could not be formed without the sequence listing; the applicant did not, within the prescribed time limit:

☐ furnish a sequence listing on paper complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ furnish a sequence listing in electronic form complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ pay the required late furnishing fee for the furnishing of a sequence listing in response to an invitation under Rule 13ter.1(a) or (b).

☐ a meaningful opinion could not be formed without the tables related to the sequence listings; the applicant did not, within the prescribed time limit, furnish such tables in electronic form complying with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions, and such tables were not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ the tables related to the nucleotide and/or amino acid sequence listing, if in electronic form only, do not comply with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions.

☐ See Supplemental Box for further details.

153

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/KR2008/002106

Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement			
Novelty (N)	Claims	1-9	YES
	Claims	None	NO
Inventive step (IS)	Claims	1-9	YES
	Claims	None	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-9	YES
	Claims	None	NO

2. Citations and explanations :

The present invention relates to aspartic acid salts of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid, methods for preparing the same, and antimicrobial pharmaceutical composition comprising the same.

The following documents are referred to in this Written Opinion;

- D1: WO 99/00393 A1
D2: Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2006, 50(6), 2261-2264
D3: Biological & Pharmaceutical Bulletin, 2003, 26(6), 832-839
D4: Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2006, 58, 684-688
D5: Antimicrobial agents and chemotherapy, 2006, 50(6), 2064-2071

1. Novelty

The subject matter of D1 includes 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid and its pharmaceutically acceptable salt. But D1 does not disclose specific example of aspartic acid salt of that compound.

D2-D5 disclose 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid.

None of the prior art describes aspartic acid salt of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid. Therefore, the present invention may be considered as novel over the prior art under the PCT Article 33(2).

2. Inventive Step

Although modifying the acid type in salt formation of active ingredient is commonly used technique in the art, the aspartic acid salt of 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(8-methoxyimino-2,6-diaza-spiro[3.4]oct-6-yl)-4-oxo-1,4-dihydro-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid has improved solubility and decreased toxicity. These effects could not have been predicted from the known prior arts.

Therefore, the subject matter of the claims 1-9 is considered to involve an inventive step under PCT Article 33(3).

3. Industrial Applicability

The subject matter of claims 1-9 is considered to be industrially applicable under PCT Article 33(4).

PATENT COOPERATION TREATY

PCT/KR2008/002106

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCTNOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

SON, Min
19th floor, City Air Tower 159-9
Samseong-dong, Gangnam-gu
Seoul 135-973
RÉPUBLIQUE DE CORÉE

Date of mailing (day/month/year) 10 August 2009 (10.08.2009)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference OPA08018/PCT	
International application No. PCT/KR2008/002106	International filing date (day/month/year) 14 April 2008 (14.04.2008)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☐ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address DONG WHA PHARMACEUTICAL IND. CO. LTD. 5, Sunhwa-dong Jung-gu Seoul 110-130 Republic of Korea	State of Nationality KR	State of Residence KR
	Telephone No. 82-2-778-4331	
	Facsimile No. 82-2-778-2336	
	E-mail address patent@dong-wha.co.kr	

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☐ the person ☒ the name ☐ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address DONG WHA PHARMACEUTICAL CO. LTD. 5, Sunhwa-dong Jung-gu Seoul 110-130 Republic of Korea	State of Nationality KR	State of Residence KR
	Telephone No. 82-2-778-4331	
	Facsimile No. 82-2-778-2336	
	E-mail address patent@dong-wha.co.kr ☐ Notifications by e-mail authorized	

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

- | | |
|--|--|
| ☒ the receiving Office | ☐ the International Preliminary Examining Authority |
| ☐ the International Searching Authority | ☒ the designated Offices concerned |
| ☐ the Authority(ies) specified for supplementary search | ☐ the elected Offices concerned |
| | ☐ other: |

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Cruz Juan

Facsimile No. +41 22 338 70 90

e-mail pt12.pct@wipo.int

Telephone No. +41 22 338 74 12

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 09 - 77,181
FECHA : OCTUBRE 13 DE 2009

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-120908- -00000-0000

Fecha: 2009-10-27 16:18:12 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 116

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	130928140	13/10/2009	15,516,000.00

***** C O N C E P T O *****

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: QUINTENTOS CUARENTA MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

116

COLO: 17302-841-001-2

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 ☐

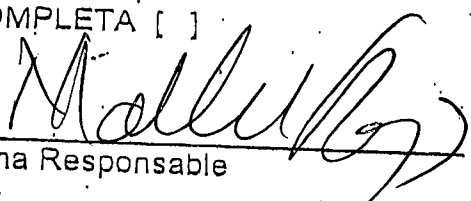
INCOMPLETA ☐

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. 09-120908- -00000-0000

Fecha: 2009-10-27 16:18:12 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 116

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



Bogotá,
2020

Doctor(a)
SUAREZ DE PAEZ LUZ CLEMENCIA

REFERENCIA	Radicación No.	9 120908
	Solicitud internacional	PCT/KR2008/002106
	Fecha inicio fase nacional	13/11/2009
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	14356

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 el poder debidamente otorgado, con el lleno de los requisitos exigidos por los artículos 63 y subsiguientes del Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente, deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante, cuando ésta fuere persona jurídica.

2. 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.

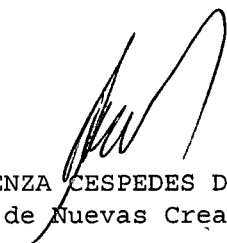
En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud 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 Única No.10 de 2001.

Continúa en la página siguiente...



Radicación No.: 9 120908


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Directora de Nuevas Creaciones (c)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de
fecha 11 DIC. 2009
adpall