

Q.F.



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

Delegatura de Propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

PCT
SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No.

04-43501

54. TITULO

METODOS DE TRATAMIENTO Y FORMULACIONES
DE CEFALOSPORINA.

51. CLASIFICACION INTERNACIONAL

A61K47/00, A61K31/546,
A61K31/428

71. SOLICITANTE

PFIZER PRODUCTS INC.

DOMICILIO

Eastern point Road, Groton
connecticut 06340, Estados Unidos de America

74. APODERADO

CARLOS R. OLARTE.

22. BOGOTA, D.C.,

Mayo 12, 2004.

QF

SS

OLARTE RAISBECK


Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

01/10.
SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicación : 04043501 00000000 Folios: 96
Fecha (MM): 2004-05-12 09:31:21
Trámite : 011 PCT-PATENT 379 FASE NACI 411 PRESENTAR
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

SOLICITUD DE:

1

☒

Patente de Invención.

☐

Patente de Modelo de Utilidad.

☐

Capítulo I.

☒

Capítulo II.

2

S LICITANTE
(71)

Nombre: PFIZER PRODUCTS INC

Dirección: Easter Point Road, Groton,
Connecticut 06340 E.U.A.

Nacionalidad o Domicilio: ESTADOUNIDENSE

Lugar de Constitución: Delaware, Estados
Unidos de América.

Teléfono: _____ Fax: _____

E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: Wold Trade Center Torre A,
Calle 100 No. 8A-37 Piso 10

Teléfono: 601-7700 Fax: 601-7799

E-mail: office@olarteraisbeck.com

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número 79782747Bta
TP 74.295

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: VER PAGINA ADJUNTA.

Dirección: VER PAGINA ADJUNTA.

Nacionalidad o Domicilio: VER PAGINA ADJUNTA

3

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/IB02/04743

Fecha Noviembre 13, 2002

Publicación Internacional No. WO 03/045435

Fecha Junio 5, 2003

4

Título (54) MÉTODOS DE TRATAMIENTO Y FORMULACIONES DE CEFALOSPORINA.

Clasificación Internacional (51) A61K 47/00, A61K31/546, A61K31/428

Prioridad
SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

US

US

(32) Fecha

Noviembre 30, 2001

Julio 26, 2002

(31) Número de Solicitud

60/338,536

60/398,932

5

Comprobante de pago No. _____

Fecha _____

0

ANEXOS

☒

Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.

☐

Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.

☒

Poderes, si fuere el caso.

☒

Documento de cesión del Interventor 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 internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).

☐

Traducción del examen preliminar internacional 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 12 x 12.

☐

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.

☐

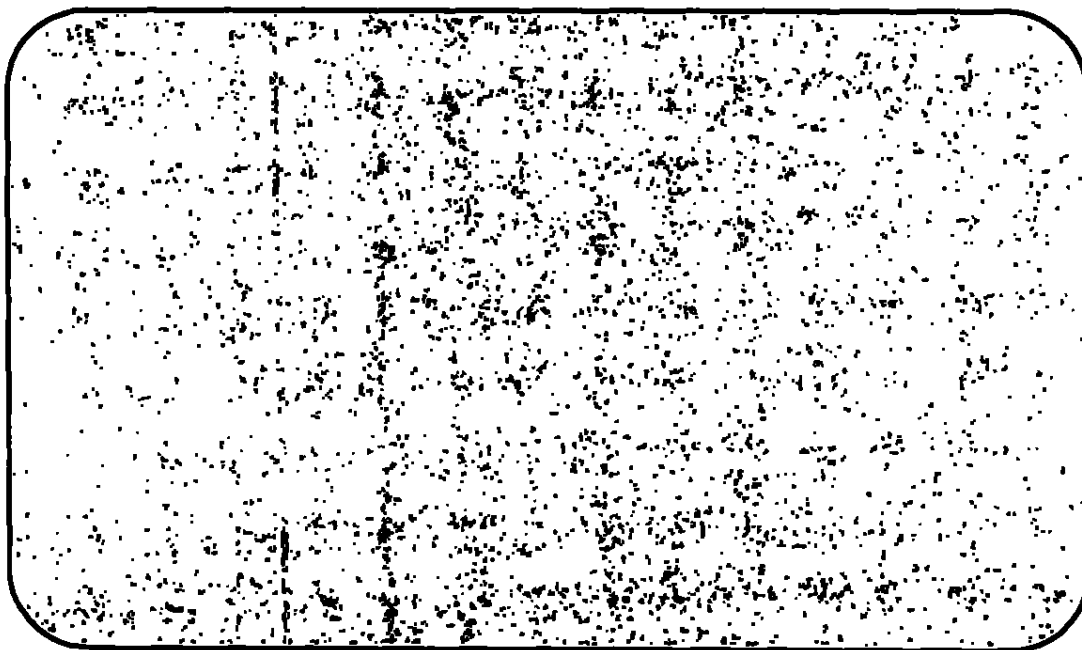
De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.

☒

Otros. Búsqueda Internacional

1

FIGURA CARACTERÍSTICA:



2

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE

FIRMA: 

C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.

INVENTORES SOLICITUD PCT No. PCT/IB02/04743**ROGER NELSON KIMBALL**

Eastern Point Road, Groton,

Connecticut 06340.

Estados Unidos de América.

Nacionalidad: ESTADOUNIDENSE

RENUKA DEVI REDDY

Eastern Point Road, Groton,

Connecticut 06340.

Estados Unidos de América.

Nacionalidad: ESTADOUNIDENSE

EVGENYI YUR'EVICH SHALAEV

Eastern Point Road, Groton,

Connecticut 06340.

Estados Unidos de América.

Nacionalidad: RUSA

SIMON EDWARD BLANCHFLOWER

Ramsgate Road, Sandwich,

Kent, CT 13 9NJ .

Estados Reino Unido.

Nacionalidad: BRITANICA

BRIAN SCOTT BRONK

Eastern Point Road, Groton,

Connecticut 06340.

Estados Unidos de América.

Nacionalidad: ESTADOUNIDENSE

u /

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 04043501 00000000 Folios: 96
Fecha (MM): 2004-05-12 09:31:21
Tramite : 011 PCT-PATENT 379 FASE NNCI 411 PRESENTA
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

MIT : 900176029-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 04 - 37,783
FECHA : MAYO 12 DE 2004

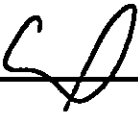
***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
FREDERICK TORRES	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	4940249	11/05/2004	6,330,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT. CONTABILISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	422,000.00
	TOTAL :	\$ 422,000.00

SON: CUATROCIENTOS VEINTIDOS MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

APOSTILLA EN PODER DE REPRESENTACIÓN DE

PFIZER PRODUCTS INC.

Bilingüe inglés- español otorgado en Nueva York, Estados Unidos el 14 de julio de 2003 y firmado por J. Trevor Lumb, Vicepresidente de Pfizer Products Inc.

CERTIFICACION NOTARIAL

Bilingüe inglés- español, el 14 de julio de 2003 el suscrito notario Kenneth Greenwood certifica que J. Trevor Lumb ejercía funciones de Vicepresidente de la Compañía Pfizer Products Inc., con sede en Groton, Connecticut, Estados Unidos.

Firma del notario

Sello notarial: certificado, verificado y autenticado en la Localidad de Egham en Surrey, 14 julio, 2003 por el Notario Kenneth Greenwood-Horne Engall & Freeman

Sello Notario Público en alto relieve rojo.

APOSTILLA

REINO UNIDO DE GRAN BRETAÑA E IRLANDA DEL NORTE

1. País :Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte
Este documento Público
2. ha sido firmado por K. Greenwood
3. ejerce funciones de Notario Público
4. Lleva el sello de dicho Notario Público

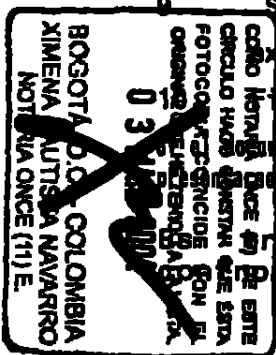
CERTIFICADO

5. En Londres 6. El 17 de julio de 2003
7. Por el Secretario de Estado Principal de su Majestad para Asuntos exteriores y de la mancomunidad
8. No. G210435
9. Sello del Secretario de Estado Principal de su Majestad para Asuntos exteriores y de la mancomunidad

Firma de R. Bawden - Por Secretario de Estado

Este documento se usa en un país que no es parte de la convención de la Haya del 5 de octubre 1961, debe ser presentado en sección consular de la misión que representa el país.

Traducción fiel del inglés, con copia
de la apostilla. Bogotá 25 de julio-2003.



Archivo para
Marlén Neira C.

MARLEN NEIRA CASTRO
Traductor e Intérprete Oficial
Inglés - Español - Inglés
Resolución No. 2117 del 7 Oct 1987

OLARTE RAISBECK

OLARTE RAISBECK & FRIERI, LTDA.
LEGAL & PROFESSIONAL SERVICES

WORLD TRADE CENTER - TORRE C
CALLE 100 No. 8A-55 PISO 10
BOGOTÁ, COLOMBIA
TELEPHONE: +57-1 638-6200
FAX: +57-1 638-6201

www.olarteraisbeck.com

Power of Attorney

The undersigned,

domiciled in

Eastern Point Road, Groton, Connecticut 06340 USA

by means of these presents hereby grants to Carlos R. Olarte, J. Ian Ralsbeck and Ana María Frieri full and sufficient Power of Attorney to file, prosecute, obtain, defend and enforce any and all of the company's Patents, Utility Models and Industrial Designs in the Republic of Colombia, to which end it empowers them to take all steps necessary before any administrative or judicial authority of any class for the objects stated, to file petitions, appeals, replies and oppositions, pay taxes and annuities, request testimonies, receive documents and securities, abandon applications and collect refunds. Sufficient power is hereby granted to receive notifications on behalf of the Company, to confer powers on those who are to represent the company judicially and extrajudicially, to answer in court in the matter of all claims and demands that may be presented in connection with the objects stated, giving them likewise power to substitute these presents and revoke such substitutions.

El suscrito,

Pfizer Products Inc.

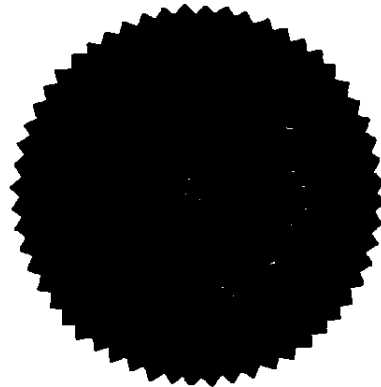
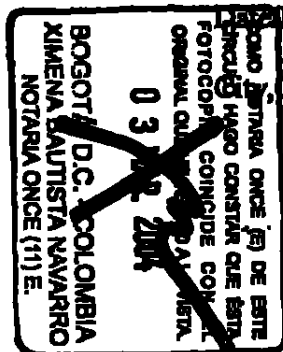
domiciliado en

por medio del presente otorga a Carlos R. Olarte, J. Ian Ralsbeck y Ana María Frieri poder especial, amplio y suficiente para presentar, tramitar, obtener, defender y hacer respetar todas y cualquiera de Patentes, Modelos de Utilidad y Diseños Industriales de la compañía en la República de Colombia, a cuyo efecto los faculta para dar todos los pasos necesarios ante cualquier autoridad administrativa o judicial de cualquier jerarquía para cumplir con lo encomendado, elevar solicitudes, apelaciones, respuestas y oposiciones, pagar impuestos y anualidades, solicitar testimonios, recibir documentos y valores, desistir y percibir. Se concede poder bastante para recibir notificaciones a nombre de la compañía, otorgar poderes a quienes vayan a representar a la compañía judicial y extrajudicialmente, responder en juicio a todas las reclamaciones o demandas que por motivo de lo encomendado se presentaren, dándoles asimismo facultad para sustituir el presente y revocar dichas sustituciones.

Signature/Firma:

Date/Fecha: July 14, 2003

Country/Ciudad, País: New York, USA



OLARTE RAISBECK

OLARTE RAISBECK & FRIERI, LTDA.
LEGAL & PROFESSIONAL SERVICES

WORLD TRADE CENTER -- TORRE C
CALLE 100 No. 8A-55 Piso 10
BOGOTA, COLOMBIA
TELEPHONE: +57-1 638-6200
FAX: +57-1 638-6201

www.olarteraisbeck.com

Notarial Certification

On this date,
July 14, 2003

The undersigned Notary Public certifies:

1. That *J. Trevor Lumb*
of legal age and domiciled in
NEW YORK, USA
signed the foregoing document.

2. That the grantor has executed the foregoing
document as Vice President
of Pfizer Products Inc.

3. That Pfizer Products Inc.,
having its principal place of business located in
Groton, Connecticut, U.S.A.
is duly incorporated, is currently in existence, and
that the purposes for which the Power of Attorney is
granted are within the scope of its corporate
purposes.

4. That the grantor has the authority to execute the
Power of Attorney and that his/her representation is
legal.

5. The foundation for my certifications contained in
points 2, 3 and 4 was the exhibition of the following
authentic document(s):

Certificación Notarial

En esta fecha,

el Notario Público suscrito certifica:

1. Que
J. Trevor Lumb
mayor de edad y domiciliado
New York
suscribió el documento que antecede.

2. Que el otorgante ha suscrito el referido
documento en su carácter de
de

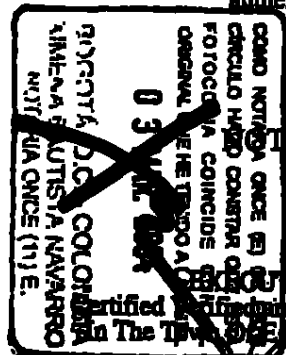
4. Que
con sede principal ubicada en

está legalmente constituida, que tiene existencia
legal vigente y que los propósitos para los cuales
se otorga el poder se encuentra dentro de los que
comprenden su objeto social.

4. Que el otorgante tiene la representación para
suscibir el poder, y que ésta es legítima.

5. El fundamento de mis certificaciones
contenidas en los puntos 2, 3 y 4 fue la exhibición
de los (del) siguiente(s) documento(s) auténtico(s):

NOTARY PUBLIC (Signature):

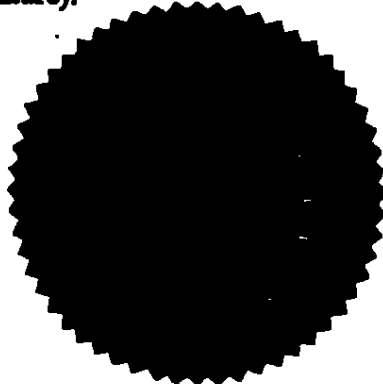


This 14

Day Of

July
2003

KENNETH GREENWOOD
NOTARY PUBLIC
HONORABLE ENGALL AND FREEMAN



APOSTILLE
(Hague Convention of 5 October 1961 / Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

UNITED KINGDOM OF GREAT BRITAIN AND NORTHERN IRELAND

1. Country: United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland
Pays: Royaume-Uni de Grande-Bretagne et d'Irlande du Nord

This public document / Le présent acte public

2. Has been signed by K Greenwood
a été signé par
3. Acting in the capacity of Notary Public
agissant en qualité de
4. Bears the seal/stamp of The Said Notary Public
est revêtu du sceau/timbre de

5. at London/A Londres
6. Certified/Attesté
le 17 July 2003
7. by Her Majesty's Principal Secretary of State for Foreign and Commonwealth Affairs /
par le Secrétaire d'Etat Principal de Sa Majesté aux Affaires Etrangères et du Commonwealth.

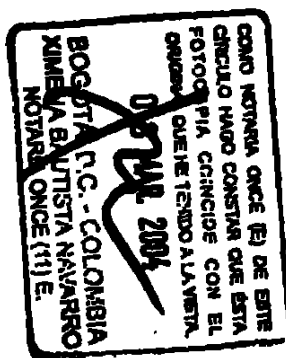
8. Number/No **G210435**

9. Stamp:
timbre:
10. Signature: R. Bawden



For the Secretary of State / Pour le Secrétaire d'Etat

If this document is to be used in a country which is not party to the Hague Convention of 5 October 1961,
it should be presented to the consular section of the mission representing that country.



8

TRADUCCIÓN FICIAL No. 04-183

Efectuada el día 4 de mayo de 2004, de un documento escrito en Inglés, al cual para su Identificación se le estampa el sello de María del Pilar Iglesias, Traductora e Intérprete Oficial por Resolución No. 819 de abril de 1971 expedida por el Ministerio de Justicia de la República de Colombia.

CESIÓN

PC23064A

CO-1

Por contraprestación onerosa recibida por nosotros de **PFIZER PRODUCTS, INC**, sociedad organizada y existente conforme a las leyes del Estado de Connecticut, Estados Unidos de América, domiciliada en el Eastern Point Road, Groton, Connecticut 06340, Estados Unidos de América, por el presente vendemos y cedemos a la mencionada **PFIZER PRODUCTS INC.**, todo nuestro derecho, título e interés en nuestro invento para una nueva y útil Mejora en **MÉTODOS DE TRATAMIENTO Y FORMULACIONES DE CEFALOSPORINA** modificado para que se lea **FORMULACIONES QUE COMPRENDEN UN COMPUESTO DE CEFALOSPORINA Y SU USO EN EL TRATAMIENTO DE INFECCIONES BACTERIANAS EN PERROS Y GATOS** en cuanto respecta a la República de Colombia, tan ampliamente como se describe en las especificaciones, y por el presente autorizamos y solicitamos al Comisario de Patentes de

M. P. Iglesias

María del Pilar Iglesias
TRADUCTORA E
INTÉRPRETE OFICIAL
Resolución No. 819 de 1971

9

Colombia que expida dicha patente a **PFIZER PRODUCTS, INC** de conformidad con esta Cesión.

En fe de lo cual firmamos este documento de nuestro puño y letra,

(Fdo) Renuka Devi REDDY abril 9 de 2004

(Fdo.) Evgenyi Yur'evich SHALAEV abril 12 de 2004

(Fdo) Brian Scout BRONK abril 8 de 2004

Los Cedentes arriba nombrados firmaron en Groton, Connecticut, Estados Unidos de América.

Por el presente certifico que este es el documento original

(Fdo.) Sami Swadek, abril 19 del 2004

Distrito de Columbia

Declaración Jurada

Suscrito y jurado ante mi a los 19 días del mes de abril de 2004.

(Fdo.) Melissa O. Jackson, Notario Público del Distrito de Columbia, cuyo cargo vence el 14 de diciembre de 2008

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América, Distrito de Columbia

Maria del Pilar Iglesias
TRANSCRIBA I
REEMPLAZA OFICIAL
Sancti Spiritus, 570, 570, 570

2

El presente documento público

2. Fue firmado por: Melissa O. Jackson
 3. Que actuó en su calidad de Notario Público del Distrito de Columbia
 4. Lleva el sello del mencionado Notario Público
- Se certificó
5. En Washington, D.C.
 6. El 20 de abril de 2004
 7. Por parte del Secretario del Distrito de Columbia
 8. Bajo el Número 125217
 9. Sello del Distrito de Columbia
 10. Firmado por Sherryl H. Newman

CESIÓN

PC23064A

CO-1

Por contraprestación onerosa recibida por mi de **PFIZER PRODUCTS, INC**, sociedad organizada y existente conforme a las leyes del Estado de Connecticut, Estados Unidos de América, domiciliada en el Eastern Point Road, Groton, Connecticut 06340, Estados Unidos de América, por el presente vendo y cedo a la mencionada **PFIZER PRODUCTS INC.**, todo mi derecho, título e interés en mi invento para una nueva y útil Mejora

Maria del Pilar Iglesias
TRANSCRIPCION Y
INTERPRETE OFICIAL
Washington DC, 2000



11

en **MÉTODOS DE TRATAMIENTO Y FORMULACIONES DE CEFALOSPORINA** modificado para que se lea **FORMULACIONES QUE COMPRENDEN UN COMPUESTO DE CEFALOSPORINA Y SU USO EN EL TRATAMIENTO DE INFECCIONES BACTERIANAS EN PERROS Y GATOS** en cuanto respecta a la República de Colombia, tan ampliamente como se describe en las especificaciones, y por el presente autorizo y solicito al Comisario de Patentes de Colombia que expida dicha patente a **PFIZER PRODUCTS, INC** de conformidad con esta Cesión.

En fe de lo cual firmo este documento de mi puño y letra,

(Fdo) Roger Nelson KIMBALL

abril 5 de 2004

Por el presente certifico que este es el documento original

(Fdo.) Sami Swadek, abril 19 del 2004

Distrito de Columbia

Declaración Jurada

Suscrito y jurado ante mi a los 19 días del mes de abril de 2004.

(Fdo.) Melissa O. Jackson, Notario Público del Distrito de Columbia, cuyo cargo vence el 14 de diciembre de 2008

Marta del Pilar Iglesias
TRANSCRIPCION
INTERPRETE OFICIAL
Notaría No. 179 Bogotá

11

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América, Distrito de Columbia
El presente documento público
 2. Fue firmado por: Melissa O. Jackson
 3. Que actuó en su calidad de Notario Público del Distrito
de Columbia
 4. Lleva el sello del mencionado Notario Público
Se certificó
 5. En Washington, D.C.
 6. El 20 de abril de 2004
 7. Por parte del Secretario del Distrito de Columbia
 8. Bajo el Número 125214
 9. Sello del Distrito de Columbia
 10. Firmado por Sherryl H. Newman
-

Notario del Poder Judicial
TRADUCCIÓN E
INTERPRETE OFICIAL
Notario No. 140 Notario

6

13

CO-1

En fe de lo cual firmo este documento de mi puño y letra,

abril 15 de 2004

46

14

El Cedente firmó en la ciudad de Sándwich, Kent, Inglaterra
Por el presente certifico que este es el documento original
(Fdo.) Sami Swadek, abril 19 del 2004

Distrito de Columbia
Declaración Jurada

Suscrito y jurado ante mi a los 19 días del mes de abril de
2004.

(Fdo.) Melissa O. Jackson, Notario Público del Distrito de
Columbia, cuyo cargo vence el 14 de diciembre de 2008

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América, Distrito de Columbia
El presente documento público
2. Fue firmado por: Melissa O. Jackson
3. Que actuó en su calidad de Notario Público del Distrito
de Columbia
4. Lleva el sello del mencionado Notario Público
Se certificó
5. En Washington, D.C.
6. El 20 de abril de 2004

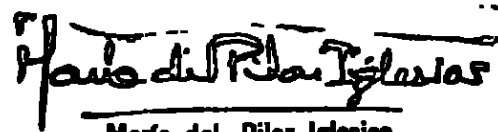
Maria del Pilar Iglesias
TRADUCCION E
INTERPRETE PUBLICO
Washington, DC 20004

7

7. Por parte del Secretario del Distrito de Columbia
8. Bajo el Número 125215
9. Sello del Distrito de Columbia
10. Firmado por Sherryl H. Newman

Es traducción fiel y completa efectuada por:


María del Pilar Iglesias
C.C. 41.339.183 de Bogotá


María del Pilar Iglesias
C. C. 41.339.183 de Bogotá
Intérprete Oficial según Resolución No. 819 de
15 de Abril de 1971 del Ministerio de Justicia

04/40.
16



APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. *District of Columbia*
United States of America **MELISSA O. JACKSON**
2. This public document has been signed by ~~NOTARY PUBLIC IN AND FOR THE DISTRICT OF COLUMBIA~~
3. acting in the capacity of MELISSA O. JACKSON, NOTARY PUBLIC IN AND FOR THE
DISTRICT OF COLUMBIA
4. bears the seal/stamp of _____

CERTIFIED

5. at Washington, D. C.
6. the 20 day of APRIL 2004
7. by Secretary of the District of Columbia
8. No. 125217
9. Seal/

10. Signature


SHERRY H. NEWMAN



50-10120

ASSIGNMENT

For valuable consideration paid to me (us) by **PFIZER PRODUCTS INC.** a corporation organized under the laws of the State of Connecticut, United States of America whose full post office address is Eastern Point Road, Groton, Connecticut 06340, United States of America, I (we) do hereby sell and assign to the said **PFIZER PRODUCTS INC.**, all my (our) right, title and interest in and to my (our) invention for a new and useful Improvement in **METHODS OF TREATMENT AND FORMULATIONS OF CEPHALOSPORIN** amended to read **FORMULATIONS COMPRISING A CEPHALOSPORIN COMPOUND AND THEIR USE TREATING BACTERIAL INFECTIONS IN CATS AND DOGS** so far as the Republic of Colombia is concerned, as fully set forth and described in the specification, and I (we) do hereby authorize and request the Commissioner of Patents of Colombia to issue said patent to the said **PFIZER PRODUCTS INC.** in accordance with this assignment.

In witness whereof I (we) have hereunto set my (our) hand(s) this

Place, date and signature - Roger Nelson KIMBALL

Remuka Devi Reddy
Place, date and signature - Remuka Devi REDDY

09 April 2004

Groton, Connecticut, USA

Evgeny Yur'evich Shalaev
Place, date and signature - Evgeny Yur'evich SHALAEV

12 April 2004

Groton, Connecticut, USA

Place, date and signature - Simon Edward BLANCHFLOWER

Brian Scott Bronk
Place, date and signature - Brian Scott BRONK

08 April 2004

Groton, Connecticut, USA

I HEREBY CERTIFY THAT THIS
IS THE ORIGINAL DOCUMENT

SAMI SWANEK

4.19.04

District of Columbia: SS
Subscribed and sworn to before me
this 19 day of April, 2004.

Melissa O Jackson
Notary Public, D.C.
My Commission Expires

MELISSA O. JACKSON
NOTARY PUBLIC DISTRICT OF COLUMBIA
My Commission Expires December 14, 2008

18



APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. *District of Columbia*
United States of America

MELISSA O. JACKSON

2. This public document has been signed by ~~NOTARY PUBLIC IN AND FOR THE DISTRICT OF COLUMBIA~~

3. acting in the capacity of MELISSA O. JACKSON, NOTARY PUBLIC IN AND FOR THE

DISTRICT OF COLUMBIA

4. bears the seal/stamp of _____

CERTIFIED

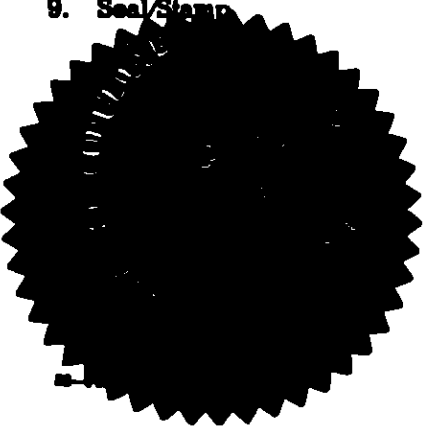
5. at Washington, D. C.

6. the 20 day of APRIL 2004

7. by Secretary of the District of Columbia

8. No. 125214

9. Seal/Stamp



10. Signature

SHERRY H. NEWMAN

ASSIGNMENT

For valuable consideration paid to me (us) by **PFIZER PRODUCTS INC.** a corporation organized under the laws of the State of Connecticut, United States of America whose full post office address is Eastern Point Road, Groton, Connecticut 06340, United States of America, I (we) do hereby sell and assign to the said **PFIZER PRODUCTS INC.**, all my (our) right, title and interest in and to my (our) invention for a new and useful Improvement in **METHODS OF TREATMENT AND FORMULATIONS OF CEPHALOSPORIN** amended to read **FORMULATIONS COMPRISING A CEPHALOSPORIN COMPOUND AND THEIR USE TREATING BACTERIAL INFECTIONS IN CATS AND DOGS** so far as the Republic of Colombia is concerned, as fully set forth and described in the specification, and I (we) do hereby authorize and request the Commissioner of Patents of Colombia to issue said patent to the said **PFIZER PRODUCTS INC.** in accordance with this assignment.

In witness whereof I (we) have hereunto set my (our) hand(s) this

New York, NY 05 April 2004 
Place, date and signature - Roger Nelson KIMBALL

Place, date and signature - Renuka Devi REDDY

Place, date and signature - Evgeniy Yur'evich SHALAEV

Place, date and signature - Simon Edward BLANCHFLOWER

Place, date and signature - Brian Scott BRONK

I HEREBY CERTIFY THAT THIS
IS THE ORIGINAL DOCUMENT
SAMI SWANEK
4.19.04

District of Columbia: SS
Subscribed and sworn to before me
this 19 day of April, 2004.

Melinda Jackson
Notary Public, D.C.
My Commission Expires

MELISSA O. JACKSON
NOTARY PUBLIC DISTRICT OF COLUMBIA
My Commission Expires December 14, 2008

20



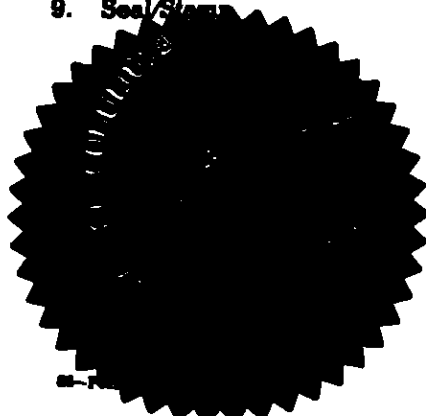
APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. *District of Columbia*
United States of America MELISSA O. JACKSON
2. This public document has been signed by ~~NOTARY PUBLIC IN AND FOR THE DISTRICT OF COLUMBIA~~
3. acting in the capacity of MELISSA O. JACKSON, NOTARY PUBLIC IN AND FOR THE
DISTRICT OF COLUMBIA
4. bears the seal/stamp of _____

CERTIFIED

5. at Washington, D. C.
6. the 20 day of APRIL 2004
7. by Secretary of the District of Columbia
8. No. 125215
9. Seal/Stamp



10. Signature

SHERRY H. NEWMAN

ASSIGNMENT

For valuable consideration paid to me (us) by **PFIZER PRODUCTS INC.** a corporation organized under the laws of the State of Connecticut, United States of America whose full post office address is Eastern Point Road, Groton, Connecticut 06340, United States of America, I (we) do hereby sell and assign to the said **PFIZER PRODUCTS INC.**, all my (our) right, title and interest in and to my (our) invention for a new and useful Improvement in **METHODS OF TREATMENT AND FORMULATIONS OF CEPHALOSPORIN** amended to read **FORMULATIONS COMPRISING A CEPHALOSPORIN COMPOUND AND THEIR USE TREATING BACTERIAL INFECTIONS IN CATS AND DOGS** so far as the Republic of Colombia is concerned, as fully set forth and described in the specification, and I (we) do hereby authorize and request the Commissioner of Patents of Colombia to issue said patent to the said **PFIZER PRODUCTS INC.** in accordance with this assignment.

In witness whereof I (we) have hereunto set my (our) hand(s) this

Place, date and signature - Roger Nelson KIMBALL

Place, date and signature - Renuka Devi REDDY

Place, date and signature - Evgenia Yur'evich SHALAEV

15th April 2004
Place, date and signature - Simon Edward BLANCHFLOWER

Sandwich, Kent, England

Place, date and signature - Brian Scott BRONK

I HEREBY CERTIFY THAT THIS
IS THE ORIGINAL DOCUMENT

SAMI SWADEK

4.14.04

District of Columbia: SS

Subscribed and sworn to before me

this 19 day of April, 2004.

Melissa O. Jackson
Notary Public, D.C.
My Commission Expires

MELISSA O. JACKSON
NOTARY PUBLIC DISTRICT OF COLUMBIA
My Commission Expires December 14, 2008

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

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
5 June 2003 (05.06.2003)

PCT

(10) International Publication Number
WO 03/045435 A1

- (51) International Patent Classification²: A61K 47/00, 31/546. 9/19

(21) International Application Number: PCT/IB02/04743

(22) International Filing Date: 13 November 2002 (13.11.2002)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/338,536 30 November 2001 (30.11.2001) US
60/398,932 26 July 2002 (26.07.2002) US

(71) Applicant (for all designated States except US): PFIZER PRODUCTS INC. [US/US]; Eastern Point Road, Groton, CT 06340 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): KIMBALL, Roger, Nelson [US/US]; Pfizer Global Research and Development, Eastern Point Road, Groton, CT 06340 (US). REDDY, Resuka, Devi [US/US]; Pfizer Global Research and Development, Eastern Point Road, Groton, CT 06340 (US). SHALAEV, Evgenyi, Yur'evich [RU/US]; Pfizer Global Research and Development, Eastern Point Road, Groton, CT 06340 (US). BLANCHFLOWER, Simon, Edward [GB/GB]; Pfizer Global Research and Development, Ramsgate Road, Sandwich, Kent, CT13 9NJ (GB). BRONK, Brian, Scott [US/US]; Pfizer Global Research
- and Development, Eastern Point Road, Groton, CT 06340 (US).

(74) Agents: LUMB, J., Trevor et al.; Pfizer Inc., 201 Tabor Road, Morris Plains, NJ 07950 (US).

(81) Designated States (national): AU, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NI, SN, TD, TG).

Published:

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

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

- (54) Title: FORMULATIONS COMPRISING A CEPHALOSPORIN COMPOUND AND THEIR USE TREATING BACTERIAL INFECTIONS IN CATS AND DOGS

(57) Abstract: Formulations containing an antibacterial alkali metal salt of a cephalosporin compound and methods of treating or preventing bacterial infections in dogs and cats.

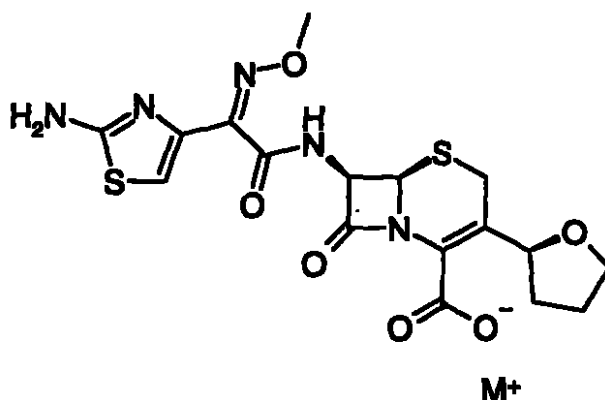


WO 03/045435 A1

5 **FORMULATIONS COMPRISING A CEPHALOSPORIN COMPOUND AND THEIR USE TREATING BACTERIAL INFECTIONS IN CATS AND DOGS**

FIELD OF INVENTION

This invention relates to stable lyophilized formulations containing an
 10 antibacterial alkali metal salt of a cephalosporin compound, Compound I, wherein M^+ is a cation, Na^+ , K^+ or Li^+ (hereinafter "Compound I"). In particular, the invention relates to stable lyophilized formulations of Compound I, wherein M^+ is Na^+ , (6*R*,7*R*)-7-
 15 [[(2*Z*)-(2-amino-4-thiazolyl)(methoxyimino) acetyl]amino]-8-oxo-3-[(2*S*)-tetrahydro-2-furanyl]-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylic acid, monosodium salt. The
 15 invention also relates to aqueous formulations of Compound I.



The invention is also directed to methods for treating bacterial infections in dogs and cats by administering a compound of Formula I.

BACKGROUND OF THE INVENTION

20 Cephalosporins are widely used and therapeutically important antibiotics. The compounds of Formula I are broad spectrum cephalosporin antibacterials and are, therefore, useful in the treatment of bacterial infections in animals. (US 6,020,329, Col. 1, lines 13-14). In particular, Compound I is targeted for dogs and cats with indications for treatment of bacterial infections of the skin, soft tissue,
 25 periodontal and urinary tract.

Compound I, wherein M is Na^+ , and the preparation thereof, are disclosed in U.S. Patent Nos. 6,001,997, 6,020,329 and 6,077,952. The text of the aforementioned patents and all other references cited in this specification are hereby incorporated by reference in their entirety.

2A
b

Cephalosporin formulations are generally, however, unstable and a variety of different methods exist to increase stability including, *inter alia*, the adjustment of pH, crystallization, lyophilization, and the addition of stabilizers, such as sugars.

5 Cephalosporins may be somewhat stabilized within a certain pH range. The optimum pH range varies widely and is unpredictable for different classes of cephalosporins, requiring experimentation and stability tests. For example, Nassar et al., U.S. Pat. No. 5,401,842, disclosed formulations of crystalline cefepime salt buffered with trisodium orthophosphate, sodium bicarbonate, sodium citrate, N-methyl-glucamine and L(+) arginine to a pH of 3.5 to 7.0.

10 K.A. Connors et al. disclose that cephalothin has a broad stability range from a pH of between 2 to 8. Cepharadine, however, stabilizes at a more acidic pH between 1 to 5. Stability for Cefotaxime is achieved in the pH range of 3 to 7. (K.A. Connors, et al. Chemical Stability of Pharmaceuticals, John Wiley & Sons, New York, 1986, p305).

15 In some cases, cephalosporin formulations were stabilized by crystallization and lyophilization. For example, Gotschi, U.S. Pat. No. 5,138,066, describes formulations for parenteral administration as lyophilizates or dry powders for dilution with pharmaceutical carriers such as water or isotonic saline.

20 Bornstein et al, U.S. Pat. No. 4,002,748, disclose methods of preparing essentially amorphous cefazolin by utilizing certain lyophilization techniques, while Daugherty, EP 0327364, describes a lyophilization method to prepare formulations of a crystalline solvate of a 1-carbacephalosporin.

25 Some cephalosporins may be stabilized by addition of a variety of different sugars. Whether a certain sugar will stabilize a particular cephalosporin, however, is unpredictable. Furthermore, the ratio of sugar to cephalosporin to achieve optimum stability is also unpredictable. For example, Shamblyn et al. disclose that the stability of amorphous cefoxitin sodium was improved by a factor of two when co-lyophilized with sucrose. The stability of cefoxitin was not affected, however, when co-lyophilized with trehalose. S.L. Shamblyn, B.C. Hancock, M.J. Pikel, The
30 Chemical Stability of Amorphous Cefoxitin Sodium in the Presence of Glassy Stabilizers, AAPS Pharm. Sci. Vol. 1, Issue 4, 1999.

Similarly, Shima et al., EP 0134568B1, disclose that sugar (glucose, fructose or maltose) or an alkali metal salt of a mineral acid or carboxylic acid

stabilized a specific lyophilized cephalosporin at a 0.01:1 to 0.5:1 weight ratio of stabilizer:cephalosporin. Mannitol, however, was not effective in stabilizing the disclosed cephalosporin compound.

5 Likewise, Almarsson et al., Tetrahedron 56 (2000) 6877-6885, disclose that sucrose improved chemical stability of a *beta*-lactam compound at a sucrose/drug ratio of 0.1:1 to 0.5:1.

Yoshioka, Y. et al., Pharm. Res. 17 (2000), 925-929, disclose the stability of cephalothin in the presence of dextran at a dextran/cephalothin ratio of 200:1.

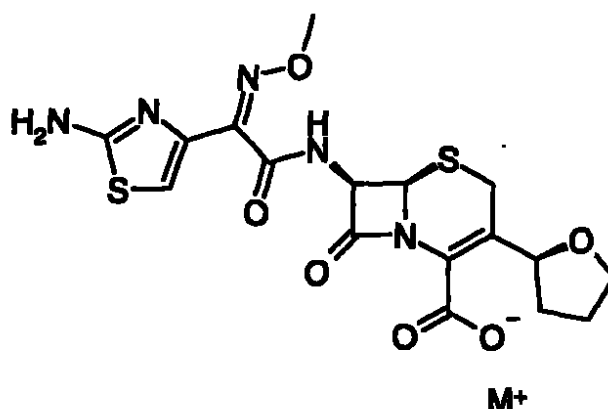
10 Conversely, Hirai et al., U.S. Patent No. 4,418,058, disclose that an excess amount, greater than 1:1, of a variety of different sugars or sugar alcohols adversely affected chemical stability of cephalosporins. Good stabilizing results were obtained, however, when the amount of added sugar or sugar alcohol was 0.1 to 1 sugar/cephalosporin.

15 Consequently, one of ordinary skill in the art cannot, in general, predict whether the addition of a particular sugar to any particular cephalosporin will achieve stability. Moreover, the optimum ratio of sugar:cephalosporin is also highly variable and unpredictable, absent experimentation. Furthermore, as discussed above, the optimum pH range of stability for a particular cephalosporin is also unpredictable.

20 A method of administration for Compound I is by parenteral administration. Other modes of administration include oral and topical. (US 6,020,329, Col. 15, lines 1-2 Compound I is unstable, as both a solid and an aqueous solution. Furthermore, Compound I is hygroscopic. Consequently, a formulation and method for stabilizing Compound I would be a useful addition to the art.

SUMMARY OF THE INVENTION

In a first aspect, the invention provides a pharmaceutical composition comprising a compound of Formula I,



- 5 wherein M^+ is Na^+ , K^+ or Li^+ , and an aqueous diluent, wherein the composition has a pH in the range of 5.0 to 8.0.

In a preferred embodiment, the compound of Formula I is amorphous
 (6*R*,7*R*)-7-[[[(2*Z*)-(2-amino-4-thiazolyl)(methoxyimino) acetyl]amino]-8-oxo-3-[(2*S*)-
 tetrahydro-2-furanyl]-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylic acid,
 10 monosodium salt.

In a preferred embodiment, M^+ is Na^+ and the pH is 6.0 to 7.5.

In a preferred embodiment, the pharmaceutical composition further comprises a pharmaceutically acceptable buffer.

- 15 In a more preferred embodiment, the buffer is carbonate, phosphate, citrate or acetate, and the pH within a range of 6.0 to 7.5.

In a preferred embodiment, the pharmaceutical composition further comprises a pharmaceutically acceptable bulking agent.

In a more preferred embodiment, the bulking agent is selected from sugars, polyalcohols, amino acids, polymers, polysaccharides or inorganic salts.

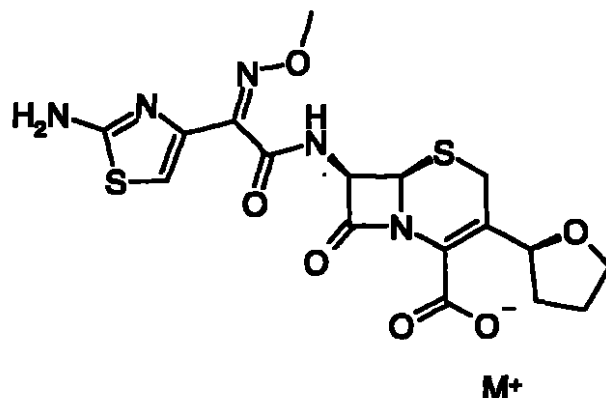
- 20 In a preferred embodiment, the sugars are selected from glucose, maltose, sucrose and lactose; the polyalcohols are sorbitol or mannitol; the amino acid is glycine; the polymer is polyvinylpyrrolidone; the polysaccharide is dextran; and the inorganic salts are sodium or potassium phosphates or sodium chloride.

In a preferred embodiment, the composition has a bulking agent/compound of Formula I ratio greater than 1.0, but less than 100.

In a more preferred embodiment, the ratio is greater than 1, but less than 10.

5 In a more preferred embodiment, the bulking agent is sucrose and the composition has a sucrose/compound of Formula I ratio of 3.

In another aspect, the invention is directed to a pharmaceutical composition comprising a compound of Formula I,



10 wherein M^+ is Na^+ , K^+ or Li^+ , an aqueous diluent and a pharmaceutically acceptable bulking agent.

In a preferred embodiment, the bulking agent is selected from sugars, polyalcohols, amino acids, polymers, polysaccharides or inorganic salts.

15 In a more preferred embodiment, the sugar is selected from glucose, maltose, sucrose or lactose; the polyalcohols are sorbitol or mannitol; the amino acid is glycine; the polymer is polyvinylpyrrolidone; the polysaccharide is dextran; and the inorganic salts are sodium or potassium phosphates or sodium chloride.

In another embodiment, the composition has a bulking agent/compound of Formula I ratio of greater than 1, but less than 10.

20 In a preferred embodiment, M^+ is Na^+ and the bulking agent is sucrose, wherein the composition has a sucrose/compound of Formula I ratio of 3.

In a preferred embodiment, the pharmaceutical composition further comprises a pharmaceutically acceptable buffer.

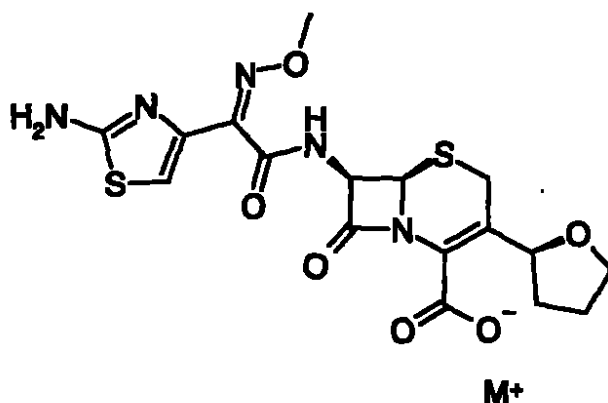
In a preferred embodiment, the pharmaceutical composition further comprises a pharmaceutically acceptable preservative.

In a more preferred embodiment, the preservative is methylparaben, propylparaben, *m*-cresol, benzalkonium chloride, benzethonium chloride or benzyl alcohol, or a combination of two or more thereof.

In a more preferred embodiment, the preservative is a combination of either (a) methylparaben, propylparaben and benzyl alcohol; or (b) methylparaben and *m*-cresol.

In another embodiment, the pharmaceutical composition further comprises a citrate buffer.

In another aspect, the invention is directed to a pharmaceutical composition comprising a compound of Formula I,



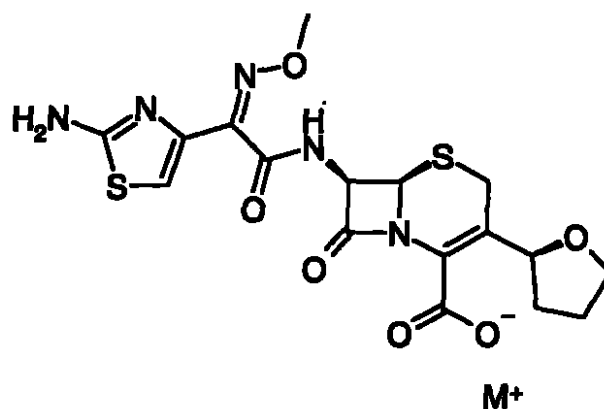
wherein M^+ is Na^+ , further comprising an optional pharmaceutically acceptable buffer, an optional pharmaceutically acceptable preservative, an optional pharmaceutically acceptable bulking agent and an aqueous diluent, wherein the composition has a pH of 6.0 to 7.5.

In a preferred embodiment, the buffer is citrate; the preservative is methylparaben, propylparaben, *m*-cresol, benzalkonium chloride, benzethonium chloride or benzyl alcohol or a combination of two or more thereof; and the optional bulking agent is sucrose.

In a preferred embodiment, the pharmaceutical composition comprises a compound of Formula I, prepared by lyophilizing the pharmaceutical composition as described above.

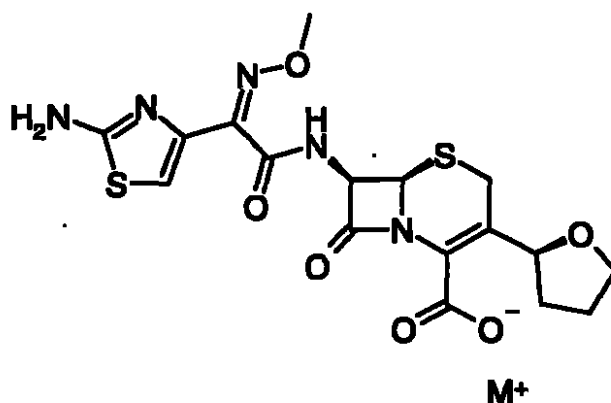
In another aspect, the invention is directed to a kit comprising

- a) A therapeutically effect amount of a lyophilized pharmaceutical composition comprising a compound I of Formula I;



- 5 b) An aqueous pharmaceutically acceptable diluent; and
- c) A first and second container means for containing the composition (1) and the diluent (2), wherein the first container is adapted to receive the diluent from the second container.

10 In another aspect, the invention is directed to a method of treating or preventing a condition caused by a bacterial infection in dogs and cats, comprising administering a therapeutically effective amount of a compound of Formula I



effective in treating such a condition.

- 15 In another aspect, the invention is directed to a method of treating or preventing a condition caused by a bacterial infection in dogs and cats, comprising administering a therapeutically effective amount of the composition described above.

In one embodiment, the condition is a skin, soft tissue or urinary tract bacterial infection.

In another embodiment, the condition or infection is caused by or complicated by Gram positive or Gram negative bacteria.

5 The term "about," as used herein, is defined as a pH of 0.5 above or below the designated upper and lower pH units.

10 The term "aqueous pharmaceutically acceptable diluent" means water or other pharmaceutically acceptable aqueous solutions containing one or more pharmaceutically acceptable excipients for use in making the compositions of the invention (e.g. isotonic solution of sodium chloride, water for injection with ethanol or phosphate, acetate or citrate buffer, and water for injection with benzyl alcohol).

The term "Na⁺," as used herein, is defined as a sodium cation.

The term "K⁺," as used herein, is defined as a potassium cation.

The term "Li⁺," as used herein, is defined as a lithium cation.

15 The term "composition", as used herein, encompasses, *inter alia*, (1) solutions comprising Compound I or (2) dry lyophilized residues of such solutions. The solutions may contain one or more optional agents which aid in stabilizing dissolved Compound I and/or that facilitate re-dissolution, upon reconstitution of the lyophile created after lyophilizing solution (1). Such optional agents include, *inter*
20 *alia*, bulking agents, preservatives, and buffers, as further disclosed herein.

The term "Compound I" is limited to the pharmaceutically acceptable alkali metal salts of Compound I, wherein M⁺ is Na⁺, K⁺ or Li⁺, and in particular, includes Compound I, (6*R*,7*R*)-7-[(2*Z*)-(2-amino-4-thiazolyl)(methoxyimino) acetyl]amino]-8-oxo-3-[(2*S*)-tetrahydro-2-furanyl]-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylic
25 acid, monosodium salt), wherein M⁺ is Na⁺.

The term "lyophilization" means the process of freeze-drying a composition as known in the art. "Lyophilized" and "freeze-dried" are used herein as synonyms.

The terms "pharmaceutical" and "pharmaceutically" and the like are meant to refer to applications in both human and veterinary fields.

30 DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

Compound I is a broad spectrum cephalosporin antibacterial targeted for mammals, in particular, dogs and cats. The preparation of Compound I wherein M⁺ is Na⁺ (hereinafter the "sodium salt") is described in U.S. Patent Nos. 6,001,997,

38

6,020,329, 6077,952, as well as EP1178049A1; Incorporated herein by reference in their entirety. The K^+ and Li^+ salts of Compound I may be prepared by one of ordinary skill in the art, as described in the preparation of the sodium salt of compound I, but substituting an appropriate K^+ or Li^+ salt.

- 5 The antibiotic compounds of the present invention are active against a wide range of organisms, including both Gram-negative organisms (*e.g. E.coli*), and Gram-positive organisms, (*e.g. S. aureus*). (US 6,020,329, Col 17, lines 28-31). Compound I can be used to treat, *inter alia*, bacterial infections of the skin, soft tissue and urinary tract. For example, conditions or infections caused by or
- 10 complicated by Gram positive and/or Gram negative bacteria are: canine pneumonia, feline pneumonia, canine pyoderma, feline pyoderma, pasteurellosis, pneumonia, otitis media, sinusitis, bronchitis, tonsillitis, and mastoiditis associated with infection by *Staphylococcus spp.* (*Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus aureus*), *Escherichia coli*, *Streptococcus spp.* (*Beta Hemolytic Streptococcus spp.*),
- 15 *Pasteurella multocida*, *Bacteroides spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Porphyromonas spp.*, *Prevotella spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, and *Clostridium spp.*, uncomplicated skin and soft tissue infections, abscesses, osteomyelitis, and puerperal fever associated with infection by *Staphylococcus aureus*, *S. intermedius*, *coagulase-positive staphylococci*, *S. epidermidis*, *S. hemolyticus*, *Streptococcus ssp*, *Streptococcal groups C-F (minute-colony streptococci)*, *viridans streptococci*, uncomplicated
- 20 acute urinary tract infections associated with infection by *Staphylococcus ssp* or *E. coli*; odontogenic infection associated with infection by *viridans streptococci*; urinary tract infection in dogs and cats associated with infection by *E. coli*; skin and soft tissue infections in dogs and cats associated with infection by *Staph.*
- 25 *epidermidis*, *Staph. intermedius*, *coagulase neg. Staph.* or *P. multocida*; infections of the oral cavity in dogs and cats associated with infection by *Alcaligenes spp.*, *Bacteroides spp.*, *Clostridium spp.*, *Enterobacter spp.*, *Eubacterium*, *Peptostreptococcus*, *Porphyromonas*, or *Prevotella*.

- 30 It was determined that the compounds of Formula I, as well as similar compounds disclosed in U.S. Patent Nos. 6,001,997, 6,020,329 and 6,077,952, exhibit an unexpectedly long half-life in dogs and cats, especially in view of comparable antibiotics. For example, Table I lists well-known antibiotics and their respective half-lives in different mammals, such as in mice, rats, dogs and cats.

32

TABLE I: Half-life of Known Antibiotics

Compound	Mouse $t_{1/2}$ (h)	Rat $t_{1/2}$ (h)	Canine $t_{1/2}$ (h)
Cefpodoxime	0.68 (PO)	1.4 (PO)	2.4 (PO)
Ampicillin		0.84 (IM)	0.64 (IM)
Cefamandole		0.5 (IM)	0.82 (IV)
Cefazolin		0.66 (IM)	1.11 (IV)
Cefuroxime	0.32 (SC)	0.4 (IM)	0.93 (IM)
Cephalexin		0.5 (IM)	0.97 (IM)
Cephadrine		0.82 (PO)	3.64 (PO)
Erythromycin	0.65 (IV)	1.27 (IV)	1.72 (IV)
Oleandomycin	0.7 (IV)	0.93 (IV)	1.53 (IV)
Tylosin		0.4 (IV)	1.24 (IV)

5

(Cefpodoxime data from "Abstracts of the 1996 ICAAC", Abstract 593. All other data compiled from: "CRC Handbook of Comparative Pharmacokinetics and Residues of Veterinary Antimicrobials", J. Edmond Riviere; Arthur L. Craigmill, Stephen F. Sundlof CRC Press 1991; Routes of administration: "IV" - intravenous; "IM" = intramuscular, "PO" = per os; "SC" = subcutaneous)

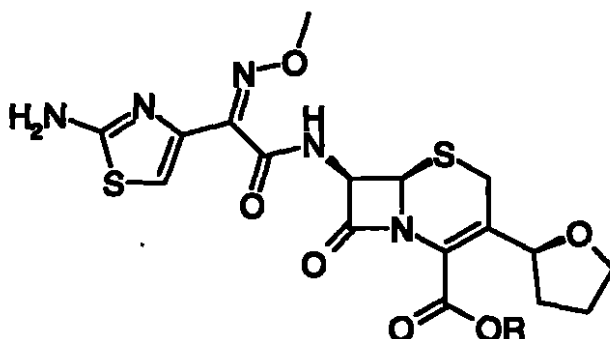
10

A number of cephalosporin derivatives, including compounds of Formula I, were disclosed in International Patent Application publication number WO 92/01696 and by Bateson et al in The Journal of Antibiotics, Feb.1994, vol.47, no.2, at pages 253-256. Various mouse data are also disclosed in the latter paper. Both of these publications are herein incorporated in their entirety.

15

In particular, following administration of the compound of Formula II, the half-life in the mouse and rat were determined to be 2.2 and 3.9 hours, after per os administration, respectively. Unexpectedly, however, in dogs and cats the half-life was in both cases dramatically increased, as is demonstrated below in Table II.

20



II

33

TABLE 2: Half-life in Dogs and Cats

Experiment	Species	Route	Dose (mg/kg)	Compound	Half-life
1	Dog	IV	1	Compound of Formula I, M ⁺ = Na	6.9 days
2	Dog	SC	8	Compound of Formula I, M ⁺ = Na	4.7 days
3	Dog	PO	1	Compound II, R = pivaloyloxymethyl	6.0 days
4	Cat	SC	8	Compound of Formula I, M ⁺ = Na	6.3 days

Note [1] Dose expressed as corresponding free acid : i.e. M⁺ = H. Concentrations measured w.r.t. free acid.

5

EXPERIMENTAL DETAILSa. Pharmacokinetics

10

Experiment 1: Intravenous Dog

A male dog was dosed intravenously with an aqueous solution of Compound I. Blood plasma was sampled at times up to 28 days post dosing. Plasma samples were extracted and assayed to determine the concentration by both bioassay and HPLC as follows:

15

1 mL of plasma (or standards of spiked dog plasma) were acidified to a pH of less than 3 with hydrochloric acid, then shaken with 28 mL of ethyl acetate. The layers were separated by centrifugation. 22 mL of the organic layer was transferred into a fresh container and 2.0 mL of 0.1 M phosphate buffer, pH 7.0, was added. After shaking and centrifugation, the aqueous phase was recovered and assayed.

20

Following processing, samples (and standards) were assayed by hole-in-the-plate microbiological bioassay on large plates (200 mL Mueller Hinton agar) seeded with *M. luteus*. Samples were also assayed by HPLC (μ Bondapak -C18 column eluted with acetonitrile- 0.05M sodium acetate pH 5.0, 15:85, with UV detection at 256nm).

25

Good agreement was obtained between the two assay methods, and the half-life was calculated from bioassay results using standard pharmacokinetic methods.

Experiment 2: Subcutaneous Dog

Two dogs were dosed with compound of Formula I by subcutaneous injection.

30

Blood plasma was sampled at times up to 28 days post-dosing. Plasma samples and appropriate standards were prepared by deproteination by the addition of an equal volume of acetonitrile and centrifugation (3000 r.p.m. for 10 min.). Supernatant

3A

was assayed by a specific HPLC method to determine the concentration (μ Bondapak -C18 column eluted with acetonitrile- 0.05M sodium acetate pH 5.0, 15:85, at 1.0 mL/min with UV detection at 258nm). Pharmacokinetic parameters were calculated using the program PCNONLIN.

5

Experiment 3: per os Dog

Six dogs were dosed orally with the pivaloyloxymethyl-ester pro-drug, compound of Formula II, and the resulting plasma concentrations were determined by both bioassay and HPLC. Following dosing, blood plasma was sampled up to 696
10 hours (29 days). Plasma samples and appropriate standards (1 mL) were first acidified to a pH less than 3.0 with hydrochloric acid then shaken with 30 mL ethyl acetate. The layers were separated by centrifugation then 25 mL of the organic layer was removed. 2 mL of 0.1M phosphate buffer pH 7.0 was added to the ethyl acetate and shaken to effect a back extraction. After separation of the layers, the aqueous
15 phase was removed and used for the assays. Following processing, samples (and standards) were assayed by hole-in-the-plate microbiological bioassay on large plates (200 mL Mueller Hinton agar) seeded with *M. luteus*. Samples were also assayed by HPLC (μ Bondapak -C18 column eluted with acetonitrile- 0.05M sodium acetate pH 5.0, 15:85, at 1.5 mL/min with UV detection at 256nm). There was good
20 agreement between the two assay methods ($r=0.9718$) half-life was calculated from the bioassay data.

Experiment 4: Subcutaneous Cat

Four cats were dosed at 8 mg/kg by subcutaneous injection of Compound I.
25 Blood samples were taken at intervals to 35 days post-dosing and the plasma assayed to determine the concentration of the corresponding free acid by HPLC/MS/MS. Plasma samples (100 μ L) were aliquotted into centrifuge tubes, then 400 μ L of acetonitrile was added. Following vortexing (60 sec.) and centrifugation (20,800 x g for 10 minutes), 0.450 mL of the supernatant was transferred into clean
30 centrifuge tubes, and evaporated to dryness at approximately 50°C under N_2 . Dried samples were reconstituted in 0.100 mL of mobile phase (15/85 v/v acetonitrile/10 mM HCO_2NH_4 , pH 3.0), vortexed for 1 minute, centrifuged at 3,000 rpm for 2 minutes, and transferred to an autosampler vial. Single replicates of plasma were analyzed by LC-MS/MS for concentration of compound. Sample analysis was
35 performed on a SCIEX API 365 or 3000 HPLC/MS/MS system. The column effluent was connected to a Turbo-Ionspray source set at 4500 V. The collision gas was set

to a value of 3. Positive ions were generated in the source and sampled through an orifice into the quadrupole mass filter. The mass spectrometer was adjusted to monitor the precursor and product ions as follows: m/z 454.0 $\rightarrow$ m/z 241.0. Half-life was calculated using pharmacokinetic program WINNONLIN v2.1 and determined to be 8.39 $\pm$ 0.97 days.

b. Efficacy

In an experimentally induced skin infection model study, five out of six dogs had complete clearance of *Staphylococcus intermedius* 15 days after a single administration of 8 mg/kg of the Compound I.

In a separate study, following a single administration of 8 mg/kg Compound I to healthy dogs, there was a significant reduction of the populations of pathogenic *Staphylococci* for four weeks compared to non-treated control animals.

In an experimentally induced abscess model study in cats, there was a substantial reduction in the numbers of *Pasteurella multocida*, *Clostridium perfringens*, and *Bacteriodes fragilis* bacteria 14 days after a single administration of 8 mg/kg Compound I.

The above half-life results, together with the potency of the compounds of Formula I, demonstrates that one administration of an equivalent of ca. 4-12 mg/kg of Compound I, (e.g. Na salt of compound of Formula I), given by injection (e.g. intramuscularly, subcutaneously or intravenously), to a cat or dog would advantageously provide an efficacious concentration for 7-21 days. This represents a novel and very convenient treatment regime for veterinary practitioners and cat and dog owners alike.

It has been determined, however, that Compound I is unstable both as a solid and a liquid. In evaluating possible formulations, stability experiments were conducted. As used herein, "stable" or "stabilized" means less than or equal to about 10% decomposition of Compound I.

While many cephalosporins may be stabilized by crystallization, it has been determined that Compound I is not particularly amenable to crystallization techniques on a commercial scale. Consequently, Compound I is in an amorphous state and is hygroscopic. It was determined that optimal long-term stability of Compound I is achieved at a low residual water content. Accordingly, lyophilization of formulations of Compound I provide preferred stability.

26
30

With respect to the present invention, stable formulations of Compound I were developed, overcoming the inherent stability problems previously hampering long-term storage goals. It was determined that Compound I could be stabilized and formulated into injectable preparations by formulating Compound I with an aqueous pharmaceutically acceptable diluent, such that the pH is in the range of about 5.0 to about 8.0.

For example, formulations are prepared by dissolving a therapeutically effective amount of the sodium salt of Compound I in an aqueous pharmaceutically acceptable diluent and adjusting the pH, if necessary, to within the range of about 5.0 to about 8.0. Alternatively, the free acid form of Compound I (*i.e.* the carboxylate, instead of the salt) may be utilized as starting material. A suspension or solution of the free acid may be titrated with, for example, sodium hydroxide, forming the sodium salt of Compound I. Adjustments to pH may be conducted as described above.

Aliquots of the resulting solution, the quantity of which is dependent upon the ultimate desired reconstituted concentration of Compound I, are clarified and sterile filtered and aseptically transferred to containers appropriate for lyophilization, (*e.g.* vials), and partially stoppered with lyo-stoppers. As described hereinafter, the formulation is cooled to freezing, subjected to lyophilization in a manner conventional per se in the art and hermetically capped, forming a stable, dry lyophile formulation. In a preferred embodiment, the composition has a low residual water content, less than 1% by weight, based on the weight of the lyophile. In a more preferred embodiment, the composition has a residual water content level of less than 0.5% by weight.

As used herein, a "therapeutically effective amount" for a dosage unit may typically about 50 to about 500 mg of active ingredient. (US 6020,329; Col 16, line 3). The dose may vary, however, depending on the species, variety, etc. of animal to be treated, the severity and type of infection and the body weight of the animal. Accordingly, based upon body weight, typical dose ranges of the active ingredient may be from about 0.01 to about 100 mg per kg of body weight of the animal. Preferably, the range is from about 1 to about 20 mg per kg of body weight, and more preferably, from about 4 to about 12 mg per kg of body weight. (PCS10965; p7, lines7-11)

31

The veterinary practitioner, or one skilled in the art, will be able to determine the dosage suitable for the particular individual patient, which may vary with the species, age, weight and response of the particular patient, as well as the bacterial species involved. The above dosages are exemplary of the average case.

- 5 Accordingly, higher or lower dosage ranges may be warranted, depending upon the above factors, and are within the scope of this invention.

- Compounds of Formula I may be administered either alone or in combination with one or more agents used in the treatment or prophylaxis of disease or in the reduction or suppression of symptoms. Examples of such agents (which are
- 10 provided by way of illustration and should not be construed as limiting) include antiparasitics, eg arylpyrazoles such as flipronil, lufenuron, imidacloprid, avermectins (eg abamectin, ivermectin, doramectin, selamectin), milbemycin, organophosphates, pyrethroids; antihistamines, eg chlorpheniramine, trimoprazine, diphenhydramine, doxylamine; antifungals, eg fluconazole, ketoconazole, itraconazole, griseofulvin,
- 15 amphotericin B; antibacterials, eg enrofloxacin, marbofloxacin, ampicillin, amoxycillin; anti-inflammatories eg prednisolone, betamethasone, dexamethasone, carprofen, ketoprofen; steroids or other antipruritic agents; dietary supplements, eg gamma-linoleic acid; and emollients. Therefore, the invention further provides for uses, etc., of compounds of formula (I) and one or more selected compounds from the above list
- 20 as a combined preparation for simultaneous, separate or sequential use in the treatment of diseases or conditions according to the invention.

- The composition of the formulations may optionally contain auxiliary ingredients, as known in the art, such as buffers, bulking agents, diluents, co-solvents, solvents, preservatives, chelating agents, antioxidants, tonicity adjusters,
- 25 whose presence may help to provide a rapidly soluble freeze-dried product or extend the storage time of the formulation.

- An example of a possible solvent and co-solvent is ethanol. An example of a chelating agent is ethylenediaminetetraacetic acid. An example of an antioxidant is ascorbic acid. An example of a tonicity adjuster is dextrose. Furthermore, the
- 30 compound of Formula I may be the sole therapeutic agent in the compositions of the invention or a combination with other antibiotics or with a β -lactamase inhibitor may be employed. (US 6,020,329; Col 16, lines 15-18)

Unlike most cephalosporins with typical broader pH ranges of stability, it was determined that formulations of Compound I with or without various buffers have a

relatively narrow range of stability between a pH of about 5.0 to about 8.0. In particular, and in a preferred embodiment, optimal solution and solid state stability are achieved at a pH of about 6.0 to about 7.5. Adjustment of pH may be accomplished by either titrating to the desired pH range with, for example, a 10% solution of sodium hydroxide or hydrochloric acid, or using an appropriate buffer. Typical buffers include phosphate, acetate, citrate, carbonate, and glycine. In a preferred embodiment, phosphate is used as a buffer. In a more preferred embodiment, citrate is used as a buffer.

The water-soluble bulking agent suitable for use in the present invention can be any of the pharmaceutically acceptable inert solid materials typically used for lyophilization. Bulking agents may improve stability and/or provide a more rapidly soluble freeze-dried product. Such bulking agents include, for example, sugars such as glucose, maltose, sucrose and lactose; polyalcohols such as sorbitol and mannitol; amino acids such as glycine; polymers such as polyvinylpyrrolidone; polysaccharides such as dextran; certain inorganic salts such as sodium or potassium phosphates, or sodium chloride.

The ratio of the weight of the bulking agent to the weight of Compound I used in the compositions of the present invention should generally be within the range of from about 0.01 to about 100, depending upon the bulking agent utilized. In a preferred embodiment, polyhydroxy compounds are the bulking agent of choice. In a more preferred embodiment, sucrose is the bulking agent and was found to stabilize the sodium salt of Compound I when co-lyophilized therewith.

The optimum ratio of sucrose/Compound I, however, was unpredictable, absent experimentation. For example, it was determined that, compared to formulations without sucrose additions, a relatively small amount of sucrose (e.g. sucrose/sodium salt of Compound I ratio of 0.4) increased the extent of degradation of the sodium salt of Compound I. On the other hand, a sucrose/sodium salt of Compound I ratio of 1 exhibited similar stability as formulations wherein no sucrose was added. Ratios greater than 1.0, however, increased the stability of formulations of the sodium salt of Compound I. In a preferred embodiment, the sucrose/sodium salt of Compound I ratio ranges from greater than 1.0 to about 10. In an even more preferred embodiment, the sucrose/sodium salt of Compound I ratio is about 3.

gg
3a

Higher sucrose/Compound ratios may be utilized. A high sucrose concentration is limited, however, by practical considerations of viscosity of high concentrated solution, impacting syringability of the reconstituted solution. Furthermore, high sucrose concentrations may create injection site intolerance for injectable preparations. As a general rule, viscosity of 25-30 mPa·s (millipascals · second), wherein "·" is defined as "multiplied by", can be considered as an upper limit for injectable preparations in the pharmaceutical industry. This translates to an approximate maximum 60% sucrose solution at 40°C. (M.Mathlouthi, J. Génotelle, In: M.Mathlouthi, Sucrose. Properties and Applications, Blackie Academic & Professional, London, 1995, p.137). For example, if the concentration of Compound I in solution is 6% by weight, the acceptable sucrose/Compound I ratio would be 10:1. If Compound I concentration is 3%, the acceptable sucrose/Compound I ratio would be 20:1. These are but two examples of many possible ratios.

Antimicrobial preservatives are frequently added to pharmaceutical formulations to prevent microbial contamination. As used herein, the word "preservative" means a compound, or combination of compounds, added to prevent or inhibit the growth of micro-organisms which could present a risk of infection or degradation of the medicinal product. Generally, the level of efficacy obtained varies according to the chemical structure of the preservative, its concentration and the physical and chemical characteristics of the medicinal product (especially pH). The design of the pack and the temperature at which the product is stored will also affect the level of activity of any antimicrobial preservatives present. Useful preservatives may include *m*-benzoic acid and its salts, sorbic acid and its salts, alkyl esters of parahydroxybenzoic acid, phenol, chlorobutanol, benzyl alcohol, thimerosal, benzalkonium chloride, benzethonium chloride, cetylpyridinium chloride, *m*-cresol and chlorocresol. Mixtures of the aforementioned preservatives may also be employed.

In the present invention, formulations of Compound I containing antimicrobial preservatives were effective in satisfying United States Pharmacopoeia (hereinafter "USP") criteria for antimicrobial effectiveness. In particular, various formulations of the following preservatives were found to satisfy USP criteria, for example, methyl paraben, propylparaben, *m*-cresol and benzyl alcohol. To satisfy European Pharmacopoeia (hereinafter "EP") criteria for antimicrobial effectiveness,

however, other preservatives were more appropriate (e.g. benzethonium chloride and combinations of several preservatives such as methylparaben, propylparaben and benzyl alcohol, in one combination, and methyl paraben and *m*-cresol in another combination.

5 Formulations of Compound I can be isolated by drying, preferably by lyophilization as known in the art. Usually the lyophile formulations are produced with ampule lyophilization, vial lyophilization, tray lyophilization, or like conventional methods by cooling the formulations at subzero temperature to freezing. The frozen material is then dried under vacuum by subliming the water component
10 originally contained in the solution as a solvent, thus leaving a solid lyophilized cake. Thus, for example, the excipients described above, Compound I, or the pharmaceutically acceptable salt of Compound I, are successively dissolved under stirring in a suitable amount of water for injections. Then, further water is added to reach the desired final volume. The resulting solution is clarified, sterile filtered and
15 aseptically distributed in sterile containers (e.g. vials) of desired capacity. Freeze-drying the solution is then performed and the vials are hermetically sealed according to conventional procedures.

The lyophilized drug product is amorphous Compound I, and more preferably the sodium salt thereof. When a product solution is required, it can be
20 reconstituted by dissolving the dry formulation in water for injection, bacteriostatic water for injection or another pharmaceutically acceptable diluent (e.g. isotonic solution of sodium chloride, water for injection with ethanol or citrate buffer, and bacteriostatic water for injection with benzyl alcohol) in an amount sufficient to generate a solution of the required strength for parenteral administration to
25 patients.

An amount of Compound I may be administered such that the composition provides the desired therapeutical effect as disclosed in U.S. Patent Nos. 6,001,997, 6,020,329 and 6,077,952. The injectable reconstituted solutions of the invention may be administered, according to a variety of possible dose schedules.

30

EXAMPLES

To confirm the advantageous effects of the present invention, the sodium salt of Compound I, was formulated into lyophilized injectable preparations and stability of the formulations was measured.

The examples below are intended to illustrate particular embodiments of the invention and are not intended to limit the specification, including the claims, in any manner.

5 **A. Stabilization of lyophilized formulations by pH adjustment.**

The formulations described in Tables 3-6, demonstrate the increased instability of compositions, both buffered and unbuffered, outside the pH range of about 5.0 to about 8.0. As set forth below in Tables 3 and 4, the sodium salt of Compound I was dissolved in either deionized water or in citrate buffer solutions at
10 50 mg/mL.

For formulations 1-5, solution pH was adjusted with a 10% solution of hydrochloric acid after dissolution of the sodium salt of Compound I (TABLE 3). For formulations 6-13, a buffered solution was prepared with citrate and adjusted with a 10% sodium hydroxide solution, upon which the sodium salt of Compound I
15 was dissolved therein (TABLE 4). One mL aliquots of solutions of the sodium salt of Compound I were filled in 10 mL vials, and lyophilized using a FTS Knetics freeze dryer (FTS Systems, Stone Ridge, New York). During lyophilization, the compositions were frozen using a two-step freezing protocol (at -25°C and -40°C), followed by primary drying at -27°C for approximately 22 hours, followed by a
20 secondary drying with increased steps of temperature to 0°C, 25°C and 50°C. The pressure during primary and secondary drying was set at 60 millitorr.

Examples of the solution preparation procedures are given below.

TABLE 3. Composition of formulations with HCl.

Formulation #	Compound I (mg/vial)	HCl*	pH
1	50	+	3.5
2	50	+	3.9
3	50	+	4.1
4	50	+	5.1
5	50	-	6.0

*+ sign means that HCl was added to the formulation whereas - sign indicates that HCl was not added.

25

30

12

TABLE 4. Composition of formulations with Citric Acid.

Formulation #	Compound I (mg)	Citric acid (mg)	pH*
6	50	9.6	5.0
7	50	9.6	5.5
8	50	9.6	5.7
9	50	9.6	6.0
10	50	9.6	6.2
11	50	9.6	6.5
12	50	9.6	6.8
13	50	9.6	7.0
14	50	-	6.1

5

*pH of the solutions were adjusted to the specified values with 10% sodium hydroxide solution prior to lyophilization.

The samples were stored at 40°C for 12 weeks. The remaining amount of Compound I was then measured by reverse-phase High Pressure Liquid Chromatography ("HPLC"), using a Waters (Milford, MA) HPLC system with an Ultraviolet ("UV") detector set at 256 nm and a Kromasil C4 column (MetaChem Technologies Inc., Torrance, CA). A gradient method was utilized with mobile phase A consisting of 9:1 ratio v/v 0.025M sodium phosphate buffer solution, pH 6.5: acetonitrile, and mobile phase B consisting of 4:6 ratio v/v 0.025M sodium phosphate buffer solution, pH 6.5: acetonitrile.

Degradation results are reported at Tables 5 and 6 as percentage (%) of Initial purity of Compound I. Degradation of the formulation after 18 months storage at a controlled room temperature of 25°C (i.e. typical shelf storage conditions) was calculated using the pseudo-zero order model and the Arrhenius equation with an activation energy of 10 kcal/mol (e.g., K.A. Connors, Chemical Kinetics, 1990, VCH Publishers, Inc., New York). At this activation energy, the degradation rate constant at 40°C (k_{40}) is equal to $2.27 \cdot k_{25}$ (k_{25} is the degradation rate constant at 25°C). A person of ordinary skill in the art would appreciate the reasonableness of this assumption, based on data reported by Pikal *et al.* for other amorphous cephalosporin compounds wherein, $k_{40} = 2.2 \cdot k_{25}$. (M.J. Pikal, K.M. Dellerman, Stability testing of pharmaceuticals by high-sensitivity isothermal calorimetry at 25°C: cephalosporins in the solid and aqueous solution states, Int. J. Pharm. 50 (1989) 233-252).

13

5 As set forth in Table 5, formulations 4 and 5 (respectively, pH of 5.1 and 6.0, from Table I) had an acceptable long-term stability, (i.e. degradation after 18 months at 25°C is less than 10%). Formulations with a pH less than or equal to 4.1, however, demonstrated degradation at greater than 10%, which is typically unacceptable in the pharmaceutical industry for pharmaceutical products. As demonstrated in Table 4, the optimal stability for formulations utilizing a citrate buffer, however, was between pH of about 6.0 to about 7.0.

10 **TABLE 5. Percent Compound I after 12 weeks storage at 40°C and estimated shelf life at controlled room temperature 25°C**

Formulation #	12 weeks (40°C)	% Degradation after 12 weeks (40°C)	% Degradation* after 18 months (25°C)
1	91.3	8.7	19
2	94.3	5.7	15
3	95.9	4.1	11
4	96.9	3.1	8
5	97.2	2.8	7

* Calculated as described in the text

15 **TABLE 6. Percent Compound I after 12 weeks storage at 40°C and estimated shelf life at controlled room temperature 25°C**

Formulation #	12 weeks (40°C)	% Degradation after 12 weeks (40°C)	% Degradation* after 18 months (25°C)
6	97.5	2.5	7
7	98.0	2.0	5
8	98.6	1.4	4
9	98.7	1.3	3
10	98.9	1.1	3
11	99.1	0.9	2
12	99.2	0.8	2
13	99.1	0.9	2
14	99.2	0.8	2

* Calculated as described in the text

20 Examples of solution preparation for the above stability studies of lyophilized formulations are with specific concentrations as follows:

AH
44Example 1Formulation without pH Adjustment

1.0453 grams of the sodium salt of Compound I were dissolved in 20.0 mL de-ionized water. One mL aliquots of the resulting solution were transferred to 10-mL vials, partially stoppered with lyo-stoppers, lyophilized and hermetically capped, as described hereinabove.

Example 2Formulation with pH Adjusted by HCl

0.5085 grams of the sodium salt of Compound I were dissolved in 10.0 mL de-ionized water. The solution was titrated with 0.1 N hydrochloric acid to pH 3.87. One mL aliquots of the resulting solution were transferred to 10-mL vials, partially stoppered with lyo-stoppers, lyophilized and hermetically capped, as described hereinabove.

Example 3Formulation with pH Adjusted by Citrate Buffer

0.6 grams of the sodium salt of Compound I were dissolved in 12 mL of 0.05M citrate buffer at pH of 6.0. The resulting solution was filtered and 1 mL aliquots were transferred to 10-mL vials, partially stoppered with lyo-stoppers, lyophilized and hermetically capped, as described hereinabove.

B. Stabilization of lyophilized formulation of the sodium salt of Compound I by Bulking Agents.

In each experiment, formulations of the sodium salt of Compound I and sucrose, at different sucrose/sodium salt of Compound I ratios (TABLE 7), were lyophilized according to standard industry procedures, as described hereinabove. Formulations 15 to 18 and 19 to 22 were prepared independently for quality control reproducibility purposes. Stability measurements of formulations 19 to 22 were only taken at 12 weeks.

AS
45**TABLE 7. Composition of formulations**

Formulation #	Compound I (mg/vial)	Sucrose (mg/vial)	Sucrose/Compound I Ratio
15	50	0	0
16	50	20	0.4
17	50	50	1.0
18	50	150	3.0
19	50	0	0
20	50	20	0.4
21	50	50	1.0
22	50	150	3.0

- The samples were stored at 40°C for up to 12 weeks. The remaining amount of Compound I was measured by reverse-phase HPLC using gradient solvent method, as described above, and reported as percentage (%) of remaining Compound I. The results, as set forth in TABLE 8, demonstrate that additions of sucrose at a ratio of 3:1 (sucrose/sodium salt of Compound I) improved stability. A lower sucrose/sodium salt of Compound I ratio of 2:5 sucrose was less desirable.
- Stability of formulation with 1:1 ratio was similar to the formulation without sucrose.

TABLE 8. Percent Compound I after 12 weeks at 40°C

Formulation #	1 week	2 weeks	4 weeks	6 weeks	12 weeks
15	100.0	99.8	99.1	99.0	97.4
16	98.0	97.7	97.4	96.5	94.6
17	99.5	99.3	98.7	98.3	96.9
18	101	101	101	100	99.5
19	-	-	-	-	98.5
20	-	-	-	-	98.5
21	-	-	-	-	97.5
22	-	-	-	-	99.1

- An example of solution preparation for the above stability studies of lyophilized formulations are as follows:

Example 4**Formulation with Sucrose**

- 0.4818 grams of the sodium salt of Compound I and 0.1964 grams of sucrose were dissolved in 10 mL of de-ionized water. The resulted solution was filled in 1-mL aliquots in 10-mL vials, partially stoppered with lyo-stoppers and lyophilized, as

A6
46

described hereinabove. At the end of the lyophilization cycle, the vials were hermetically capped.

C. Preservatives.

- 5 Generally, preservatives are not required for cephalosporin formulations, including formulations of Compound I. Formulations stored in multi-dose containers versus single dose containers, however, require the addition of preservatives to satisfy antimicrobial effectiveness in vitro. Various formulations prepared in accordance with the working Examples hereinafter were tested for antimicrobial activity in vitro. Antimicrobial Effectiveness Tests (hereinafter "AET") were performed according to European Pharmacopoeia (EP) Procedures (European Pharmacopoeia, 10 3d edition, Supplement 201, Council of Europe, Strasbourg) and United States Pharmacopoeia (USP) procedures (U.S. Pharmacopoeia, and National Formulary USP24 NF19, 2000, United States Pharmacopoeia Convention Inc., Rockville, MD).
- 15 The effectiveness of formulations containing preservatives and the sodium salt of Compound I is demonstrated in the following examples:

Example 5

AET of the sodium salt of Compound I and methylparaben (1.8 mg/mL)

- 20 AET were conducted on a solution containing the sodium salt of Compound I (80 mg/mL) and methylparaben (1.8 mg/mL) in 20 mM citrate buffer. The results of AET are provided in Table 9. The formulation satisfied USP criteria (see Table 12 for acceptance criteria) for all microorganisms. Furthermore, the formulation
- 25 satisfied criteria A for all microorganisms, except for *S. aureus* at 6 and 24 hours time points.

TABLE 9. Log reduction of microbial concentration.
Formulation of the sodium salt of Compound I and Methylparaben

Microorganism	6 Hours	24 Hours	7 Days	14 Days
<i>Aspergillus niger</i>	-	-	5.06*	5.06
<i>Candida albicans</i>	-	-	5.17*	5.17
<i>E. coli</i>	-	-	5.54*	5.54
<i>Ps. aeruginosa</i>	5.16	5.16	5.16*	5.16
<i>S. aureus</i>	0.10	0.10	5.12*	5.12

- 30 *Corresponds to "no recovery" of microorganisms.

A7

Example 6.

AET of the sodium salt of Compound I,
Methylparaben (1.8 mg/mL) and Propylparaben (0.2 mg/mL).

- 5 AET, according to EP and USP Procedures, were conducted on a solution containing the sodium salt of Compound I (80 mg/mL), methylparaben (1.8 mg/mL) and propylparaben (0.2 mg/mL) in 20 mM citrate buffer. The results of AET are provided in Table 8. The formulation satisfied USP criteria (see Table 14 for acceptance criteria) for all microorganisms. Furthermore, the formulation satisfied
- 10 EP criteria A for all microorganisms, except for *S. aureus* at 6 and 24 hours time points.

TABLE 10. Log reduction of microbial concentration. Formulation of the sodium salt of Compound I, Methylparaben and propylparaben.

Microorganism	6 Hours	24 Hours	7 Days	14 Days
<i>Aspergillus niger</i>	-	-	5.06	5.06
<i>Candida albicans</i>	-	-	5.17	5.17
<i>E. coli</i>	-	-	5.54	5.54
<i>Ps. aeruginosa</i>	5.16	5.16	5.16	5.16
<i>S. aureus</i>	0.06	0.24	5.12	5.12

15

Example 7.

AET of the sodium salt of Compound I and *m*-cresol (3 mg/mL).

- AET, performed according to EP and USP Procedures, were conducted on a solution of the sodium salt of Compound I (80 mg/mL) and *m*-cresol (3 mg/mL)
- 20 prepared by reconstitution of a lyophilized cake of the sodium salt of Compound I with Bacteriostatic Water containing 3mg/mL *m*-cresol. The results of AET are provided in Table 11. The formulation satisfied USP criteria (see Table 14 for acceptance criteria) for all microorganisms. Furthermore, the formulation satisfied EP criteria A for all microorganisms, except for *S. aureus* at 6 hours time point.

25

TABLE 11. Log reduction of microbial concentration. Formulation of the sodium salt of Compound I and *m*-cresol.

Microorganism	6 Hours	24 Hours	7 Days
<i>Aspergillus niger</i>	-	-	4.82*
<i>Candida albicans</i>	-	-	5.24*
<i>E. coli</i>	-	-	5.41*
<i>Ps. aeruginosa</i>	3.35	4.76	5.36*
<i>S. aureus</i>	1.56	4.76	5.61*

*Corresponds to "no recovery" of microorganisms.

30

116

Example 8AET of the sodium salt of Compound I,
methylparaben, propylparaben and benzyl alcohol.

5

AET, performed according to EP and USP Procedures, were conducted on a solution of the sodium salt of Compound I (80 mg/mL), methylparaben (1.8 mg/mL), propylparaben (0.2 mg/mL) and benzyl alcohol (8.6 mg/mL) and 20mM of citrate buffer, prepared by reconstitution of a lyophilized cake of the sodium salt of Compound I, methylparaben and propylparaben with bacteriostatic water for injection containing at least 9 mg/mL benzyl alcohol. Methylparaben and propylparaben were included in the lyophilized cake whereas benzyl alcohol was added with bacteriostatic water for injection. The results of AET are provided in Table 12. The formulation satisfied USP criteria (see Table 14 for acceptance criteria) for all microorganisms. Furthermore, the formulation satisfied EP criteria A for all microorganisms.

20

TABLE 12. Log reduction of microbial concentration.
Formulation of the sodium salt of Compound I,
methylparaben, propylparaben and benzyl alcohol.

Microorganism	6 Hours	24 Hours	7 Days
<i>Aspergillus niger</i>	-	-	4.82
<i>Candida albicans</i>	-	-	5.24
<i>E. coli</i>	-	-	5.41
<i>Ps. aeruginosa</i>	5.36	5.36	5.36
<i>S. aureus</i>	2.71	5.61	5.61

Example 9

25

AET of the sodium salt of Compound I, *m*-cresol and methylparaben.

AET, performed according to EP Procedure, were conducted on a solution of the sodium salt of Compound I (80 mg/mL), methylparaben (1.8 mg/mL) and *m*-cresol (3 mg/mL), prepared by reconstitution of a lyophilized cake of the sodium salt of Compound I with bacteriostatic water for injection containing methylparaben and *m*-cresol. The results of AET are provided in Table 13. The formulation satisfied EP Criteria A (see Table 14 for acceptance criteria) for *S. aureus*.

30

29
49

TABLE 13. Log reduction of microbial concentration.
Formulation of the sodium salt of Compound I, m-cresol and methylparaben.

Microorganism	6 Hours	24 Hours
<i>S. aureus</i>	4.05	5.20

5

TABLE 14. AET Acceptance Criteria (USP and EP)

Microorganism	Criteria	Log Reduction				
		6 Hours	24 Hours	7 Days	14 Days	28 Days
Bacteria	EP criteria A	2	3	-	-	NR
	EP criteria B	-	1	3	-	NI
	USP cat 1A	-	-	1.0	3.0	NI
Fungi	EP criteria A	-	-	2	-	NI
	EP criteria B	-	-	-	1	NI
	USP cat 1A	-	-	NI	NI	NI

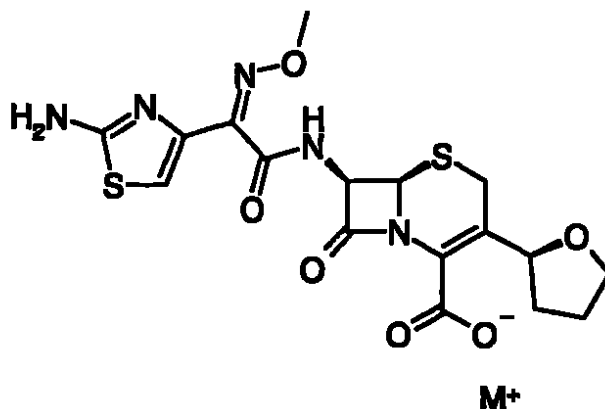
NR = no recovery; NI = no increase

- 10 European Pharmacopoeia, 3d edition, Supplement 2001, Council of Europe, Strasbourg; U.S. Pharmacopoeia, and National Formulary USP24 NF19, 2000, United State Pharmacopeial Convention Inc., Rockville, MD.

50

CLAIMS

1. A pharmaceutical composition comprising a compound of Formula I,

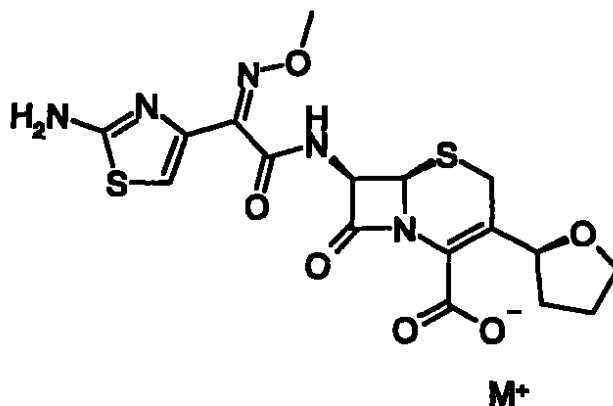


wherein M^+ is Na^+ , K^+ or Li^+ , and an aqueous diluent, wherein the composition has a pH in the range of 5.0 to 8.0.

2. A pharmaceutical composition according to Claim 1, wherein M^+ is Na^+ and the pH is 6.0 to 7.5.

3. A pharmaceutical composition according to Claims 1 or 2 further comprising an optional pharmaceutically acceptable buffer, an optional pharmaceutically acceptable preservative, an optional pharmaceutically acceptable bulking agent and an aqueous diluent.

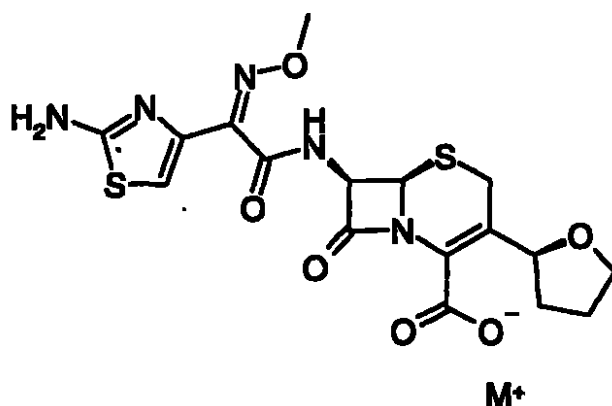
4. A pharmaceutical composition comprising a compound of Formula I,



- wherein M^+ is Na^+ , K^+ or Li^+ , an aqueous diluent and a pharmaceutically acceptable bulking agent and the composition has a bulking agent/compound of Formula I ratio greater than 1.0, but less than 100.

58

5. A pharmaceutical composition according to any of the preceding Claims, wherein the composition has a bulking agent/compound of Formula I ratio greater than 1, but less than 10.
6. A pharmaceutical composition according to Claim 5, wherein the bulking agent is sucrose and the composition has a sucrose/compound of Formula I ratio of 3.
7. A pharmaceutical composition according to Claims 4, 5 or 6 further comprising an optional pharmaceutically acceptable buffer, an optional pharmaceutically acceptable preservative and an aqueous diluent.
8. A pharmaceutical composition according to any of the preceding Claims, wherein the preservative is methylparaben, propylparaben, *m*-cresol, benzalkonium chloride, benzethonium chloride or benzyl alcohol, or a combination of two or more thereof.
9. A pharmaceutical composition according to Claim 8, wherein the preservative is a combination of either (a) methylparaben, propylparaben and benzyl alcohol; or (b) methylparaben and *m*-cresol.
10. A pharmaceutical composition comprising a compound of Formula I, prepared by lyophilizing the pharmaceutical composition of any of the preceding Claims.
11. A method of treating or preventing a condition caused by a bacterial infection in dogs and cats comprising administering to the dog or cat a therapeutically effective amount of a compound of Formula I



- wherein M^+ is Na^+ , K^+ or Li^+ , effective in treating or preventing such a condition.

52

12. A method according to Claim 11, wherein M^+ is Na^+ .

13. A method of treating or preventing a condition caused by a bacterial infection in dogs and cats, comprising administering to the dog or cat a therapeutically effective amount of the pharmaceutical composition according to

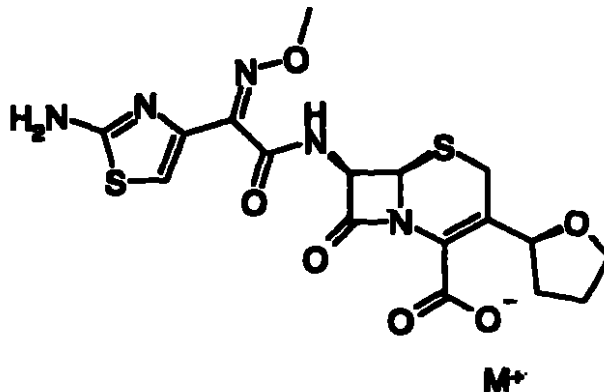
5 Claims 1-10.

14. A method according to Claims 11-13, wherein the condition is a skin, soft tissue or urinary tract bacterial infection.

15. A method according to Claims 11-14, wherein the condition or infection is caused by or complicated by Gram positive or Gram negative bacteria.

MÉTODOS DE TRATAMIENTO Y FORMULACIONES DE CEFALOSPORINA**CAMPO DE LA INVENCIÓN**

Esta invención se refiere a formulaciones liofilizadas estables que contienen un compuesto antibacteriano de sal de metal alcalino de una cefalosporina, 5 **Compuesto I**, en el que M^+ es un catión Na^+ , K^+ , o Li^+ (de aquí en adelante "Compuesto I"). En particular la invención se refiere a formulaciones liofilizadas estables del Compuesto I, en las que M^+ es Na^+ , sal de monosodio del ácido (8R,7R)-7-[[**(2Z)**-(2-amino-4-tiazolil)(metoximino)acetil]amino]-8-oxo-3-[(2S)-tetrahydro-2-furanil]-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-eno-2-carboxílico. La invención se refiere 10 también a formulaciones acuosas del Compuesto I.



La invención se refiere también a métodos para tratar infecciones bacterianas en perros y gatos administrando un compuesto de la fórmula I.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

15 Las cefalosporinas se usan ampliamente y son antibióticos terapéuticamente importantes. Los compuestos de Fórmula I son antibacterianos de cefalosporina de amplio espectro y, por lo tanto, son útiles en el tratamiento de infecciones bacterianas en animales. (documento US 6.020.329, Col.1, líneas 13-14). En particular, el Compuesto I va dirigido a perros y gatos con indicaciones para el tratamiento de 20 infecciones bacterianas de la piel, tejido blando, periodontales y tracto urinario.

El Compuesto I, en el que M es Na^+ , y su preparación, se describe en las patentes de EE.UU. Nos. 6.001.997, 6.020.329 y 6.077.952. El texto de las patentes anteriormente mencionadas y todas las demás referencias citadas en esta memoria descriptiva se incorporan aquí como referencia en su integridad.

25 Las formulaciones de cefalosporina son, sin embargo, generalmente inestables y existen varios métodos diferentes para incrementar la estabilidad que incluyen, entre otros, el ajuste del pH, cristalización, liofilización, y la adición de estabilizantes, tales como azúcares.

Las cefalosporinas se pueden estabilizar en cierto modo dentro de un cierto intervalo de pH. El intervalo de pH óptimo varía ampliamente y es impredecible para diferentes clases de cefalosporinas, requiriendo experimentación y ensayos de estabilidad. Por ejemplo, Nassar et al., patente de EE.UU. No. 5.401.842, describe
5 formulaciones de sal de cefepima cristalina tamponada con ortofosfato de trisodio, bicarbonato de sodio, citrato de sodio, N-metilglucamina y L(+)-arginina hasta un pH de 3,5 a 7,0.

K.A. Connors et al describen que la cefalotina tiene un amplio intervalo de estabilidad en un pH de 2 a 8. La Cefradina, sin embargo, se estabiliza a un pH más
10 ácido entre 1 y 5. La estabilidad para la Cefotaxima se consigue en el intervalo de pH de 3 a 7. (K.A. Connors et al., Chemical Stability of Pharmaceuticals, John Wiley & Sons, New York, 1986, p. 305).

En algunos casos las formulaciones de cefalosporina se estabilizaron por cristalización y liofilización. Por ejemplo, Gotschi, patente de EE.UU. No. 5.138.068
15 describe formulaciones para administración parenteral en forma de liofilizados o polvos secos para su dilución con vehículos farmacéuticos tales como agua o disolución salina isotónica.

Bornstein et al., patente de EE.UU. No. 4.002.748, describe métodos para preparar cefazolina esencialmente amorfa utilizando ciertas técnicas de liofilización,
20 mientras que Daugherty, EP 0327364 describe un método de liofilización para preparar formulaciones de un solvato cristalino de una 1-carbacefalosporina.

Algunas cefalosporinas se pueden estabilizar por adición de varios azúcares diferentes. Sin embargo, es impredecible si un azúcar determinado estabilizará una cefalosporina en particular. Además, también es impredecible la relación de azúcar a
25 cefalosporina para conseguir una óptima estabilidad. Por ejemplo, Shamblin et al., describen que la estabilidad de cefoxitina de sodio mejoró en un factor de dos cuando se co-liofilizó con sacarosa. La estabilidad de la cefoxitina no fue afectada, sin embargo, cuando se co-liofilizó con trehalosa. S.L. Shamblin, B.C. Hancock, M.J. Pikel, The Chemical Stability of Amorphous Cefoxitin Sodium in the Presence of
30 Glassy Stabilizers, AAPS Pharm. Sci. Vol. 1, Issue 4, 1999.

Similarmente, Shima et al., documento EP 0134568B1, describen que azúcar (glucosa, fructosa o maltosa) o una sal de metal alcalino de un ácido mineral o ácido carboxílico estabilizó una cefalosporina liofilizada específica a una relación en peso de estabilizante:cefalosporina de 0,01:1 a 0,5:1. El manitol, sin embargo, no fue
35 efectivo para estabilizar el compuesto de cefalosporina descrito.

Similarmente, Almarsson et al., Tetrahedron 59 (2000) 8877-8885, describen que la sacarosa mejoró la estabilidad química de un compuesto de beta-lactama a una relación de sacarosa/fármaco de 0,1:1 a 0,5:1.

Yoshioka, Y. et al., Pharm. Res. 17 (2000), 925-929, describen la estabilidad de cefalotina en presencia de dextran a una relación de dextran/cefalotina de 200:1.

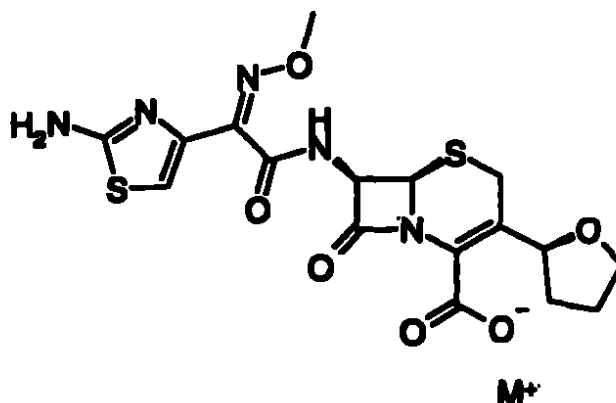
A la inversa, Hirai et al., patente de EE.UU. No. 4.418.058, describen que una cantidad en exceso, mayor de 1:1, de varios azúcares o alcoholes de azúcar diferentes afectó adversamente a la estabilidad química de las cefalosporinas. Se obtuvieron buenos resultados estabilizantes, sin embargo, cuando la cantidad de azúcar o de alcohol de azúcar añadido era de 0,1 a 1 de azúcar/cefalosporina.

Consecuentemente, uno de experiencia media en la técnica, en general, no puede predecir si la adición de un azúcar en particular a cualquier cefalosporina en particular conseguirá la estabilidad. Además, la relación óptima de azúcar:cefalosporina es también enormemente variable e impredecible, en ausencia de experimentación. Además, como se discutió anteriormente, el intervalo de pH óptimo de estabilidad para una cefalosporina en particular es también impredecible.

Un método de administración para el Compuesto I es por administración parenteral. Otros modos de administración incluyen la oral y tópica. El Compuesto I del documento US 6.020.329, col. 15, líneas 1-2 es inestable tanto sólido como en disolución acuosa. Además, el Compuesto I es higroscópico. Consecuentemente, una formulación y un método para estabilizar el Compuesto I sería una adición útil para la técnica.

SUMARIO DE LA INVENCION

En un primer aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula I,



en la que M^+ es Na^+ , K^+ o Li^+ , y un diluyente acuoso, en la que la composición tiene un pH en el intervalo de 5,0 a 8,0.

En una realización preferida, el compuesto de Fórmula I es la sal de monosodio del ácido (6R,7R)-7-[[[(2Z)-(2-amino-4-tiazolil)(metoxiimino)acetil]amino]-8-oxo-3-[(2S)-tetrahidro-2-furanil]-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-eno-2-carboxílico amorfa.

5 En una realización preferida, M^+ es Na^+ y el pH es de 6,0 a 7,5.

En una realización preferida, la composición farmacéutica comprende adicionalmente un tampón farmacéuticamente aceptable.

En una realización más preferida, el tampón es carbonato, fosfato, citrato o acetato, y el pH está dentro del intervalo de 6,0 a 7,5.

10 En una realización preferida, la composición farmacéutica comprende adicionalmente un agente de carga farmacéuticamente aceptable.

En una realización más preferida, el agente de carga se selecciona de azúcares, polialcoholes, aminoácidos, polímeros, polisacáridos o sales inorgánicas.

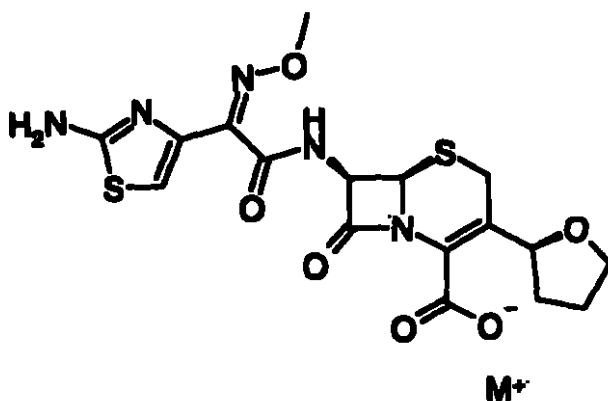
En una realización preferida, los azúcares se seleccionan de glucosa, maltosa, 15 sacarosa y lactosa; los polialcoholes son sorbitol o manitol; el aminoácido es glicina; el polímero es poli(vinilpirrolidona); el polisacárido es dextran; y las sales inorgánicas son fosfatos de sodio o potasio o cloruro de sodio.

En una realización preferida, la composición tiene una relación de agente de carga/compuesto de fórmula I mayor de 1,0 pero menor de 100.

20 En una realización más preferida, la reacción es mayor de 1 pero menor de 10.

En una realización más preferida el agente de carga es sacarosa y la composición tiene una relación de sacarosa/compuesto de Fórmula I de 3.

En otro aspecto, la invención se refiere a una composición farmacéutica que 25 comprende un compuesto de Fórmula I,



en la que M^+ es Na^+ , K^+ o Li^+ , un diluyente acuoso, y un agente de carga farmacéuticamente aceptable

En una realización preferida, el agente de carga se selecciona de azúcares, polialcoholes, aminoácidos, polímeros, polisacáridos o sales inorgánicas.

En una realización más preferida, el azúcar se selecciona de glucosa, maltosa, sacarosa o lactosa; los polialcoholes son sorbitol o manitol; el aminoácido es glicina; el polímero es poli(vinilpirrolidona); el polisacárido es dextran; y las sales inorgánicas son fosfatos de sodio o potasio o cloruro de sodio.

En otra realización, la composición tiene una relación de agente de carga/compuesto de Fórmula I mayor de 1 pero menor de 10.

En una realización preferida, M^+ es Na^+ y el agente de carga es sacarosa, en la que la composición tiene una relación de sacarosa/compuesto de Fórmula I de 3.

En una realización preferida, la composición farmacéutica adicionalmente comprende un tampón farmacéuticamente aceptable.

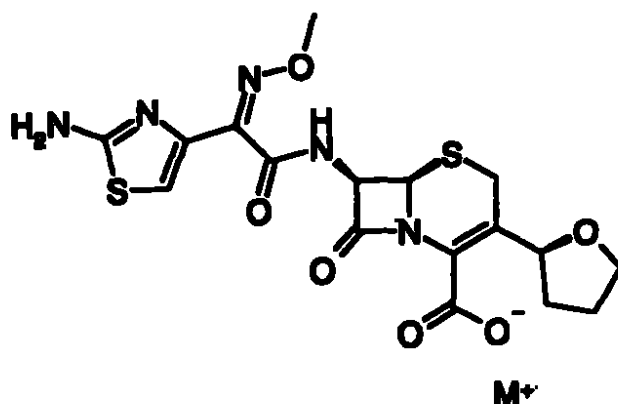
En una realización preferida, la composición farmacéutica comprende adicionalmente un conservante farmacéuticamente aceptable.

En una realización más preferida, el conservante es metilparaben, propilparaben, m-cresol, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio o alcohol bencílico, o una combinación de dos o más de ellos.

En una realización más preferida, el conservante es una combinación de (a) metilparaben, propilparaben y alcohol bencílico; o (b) metilparaben y m-cresol.

En otra realización, la composición farmacéutica comprende adicionalmente un tampón de citrato.

En otro aspecto, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula I,



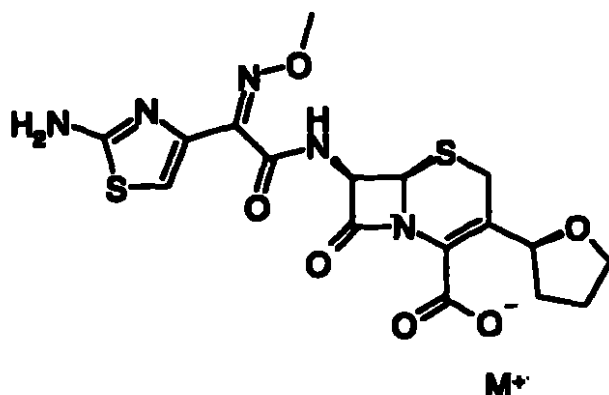
en la que M^+ es Na^+ , que comprende adicionalmente un tampón opcional farmacéuticamente aceptable, un conservante opcional farmacéuticamente aceptable, un agente de carga opcional farmacéuticamente aceptable y un diluyente acuoso, en la que la composición tiene un pH de 6,0 a 7,5.

En una realización preferida, el tampón es citrato; el conservante es metilparaben, propilparaben, m-cresol, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio o alcohol bencílico o una combinación de dos o más de ellos; y el agente de carga opcional es sacarosa.

5 En una realización preferida, la composición farmacéutica comprende un compuesto de Fórmula I, preparado liofilizando la composición farmacéutica como se describe anteriormente.

En otro aspecto, la invención se refiere a un kit que comprende

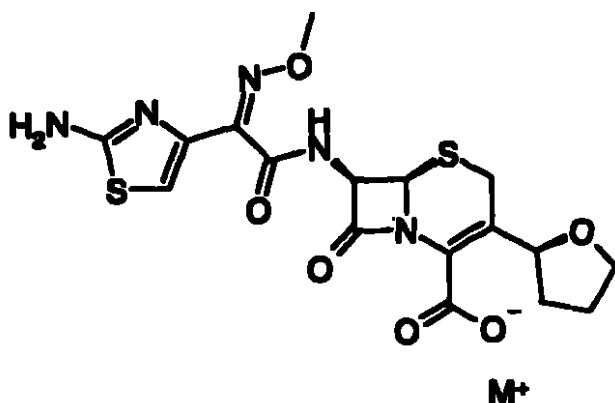
a) Una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición farmacéutica
10 liofilizada que comprende un compuesto de Fórmula I;



b) Un diluyente acuoso farmacéuticamente aceptable; y

c) Un primer y segundo medio de envase para contener la composición (1) y el diluyente (2), en el que el primer recipiente se adapta para recibir el diluyente del segundo recipiente.

En otro aspecto, la invención se refiere a un método para tratar o prevenir un estado causado por una infección bacteriana en perros y gatos, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de Fórmula 1



efectivo para tratar tal estado.

En otro aspecto, la invención se refiere a un método para tratar o prevenir un estado causado por una infección bacteriana en perros y gatos, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de la composición descrita anteriormente.

En una realización, el estado es una infección bacteriana de la piel, tejido blando o tracto urinario.

En otra realización, el estado o infección está causado o complicado por bacterias Gram positivas o Gram negativas.

El término "alrededor" tal como se usa aquí, se define como un pH de 0,5 por encima o por debajo de las unidades de pH superior e inferior designadas.

La expresión "diluyente acuoso farmacéuticamente aceptable" quiere decir agua u otras disoluciones acuosas farmacéuticamente aceptables que contienen uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables para su uso para fabricar las composiciones de la invención (por ejemplo, disolución isotónica de cloruro de sodio, agua para inyección con etanol o fosfato, tampón de acetato o citrato, y agua para inyección con alcohol bencílico).

El término "Na⁺", tal como se usa aquí, se define como catión sodio.

El término "K⁺", tal como se usa aquí, se define como catión potasio.

El término "Li⁺", tal como se usa aquí, se define como catión litio.

El término "composición", tal como se usa aquí, incluye, entre otras, (1) disoluciones que comprenden el Compuesto I o (2) residuos secos liofilizados de tales disoluciones. Las disoluciones pueden contener uno más agentes opcionales que ayudan a estabilizar el Compuesto I disuelto y/o que facilitan la redisolución, al reconstituir el material liofilizado creado después de liofilizar la disolución (1). Tales agentes opcionales incluyen, entre otros, agentes de carga, conservantes, y tampones, como se describe aquí adicionalmente.

El término "Compuesto I" está limitado a las sales de metal alcalino farmacéuticamente aceptables del Compuesto I, en el que M⁺ es Na⁺, K⁺, o Li⁺, y en particular, incluye el compuesto I, sal de monosodio del ácido (6R,7R)-7-[[[(2Z)-(2-amino-4-tiazolil)(metoxiimino)acetil]amino]-8-oxo-3-[(2S)-tetrahidro-2-furanyl]-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxílico, en la que M⁺ es Na⁺.

El término "liofilización" quiere decir el procedimiento de criodesecar una composición como es conocido en la técnica. "Liofilizado" y "criodesecado" son sinónimos tal como se usan aquí.

Los términos "farmacéutico" y "farmacéuticamente" y similares se quiere que se refieran a aplicaciones tanto en seres humanos como en los campos veterinarios.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

El compuesto I es un antibacteriano de cefalosporina de amplio espectro cuyo
 5 objetivo son mamíferos, en particular, perros y gatos. La preparación del Compuesto I, en el que M^+ es Na^+ (de aquí en adelante la "sal de sodio") se describe en las patentes de EE.UU. Nos 6.001.997, 6.020.329, 6.077.952, además de en el documento EP1178049A1; Incorporado aquí como referencia en su totalidad. Las sales de K^+ y Li^+ del Compuesto I se pueden preparar por uno de experiencia media
 10 en la técnica, tal como se describe en la preparación de la sal de sodio del Compuesto I, pero substituyéndola por una apropiada sal de K^+ o Li^+

Los compuestos antibióticos de la presente invención son activos contra una amplia variedad de organismos, que incluye tanto organismos Gram negativos (por ejemplo, E. coli) como organismos Gram positivos (por ejemplo, S. aureus)
 15 (documento US6020.329, Col. 17, líneas 28-31). El Compuesto I se puede usar para tratar, entre otras, infecciones bacterianas de la piel, tejido blando y tracto urinario. Por ejemplo, los estados e infecciones causados o complicados por bacterias Gram-positivas y/o Gram-negativas son: neumonía canina, neumonía felina, pioderma canino, pioderma felino, pastaurelosis, neumonía, otitis media, sinusitis, bronquitis,
 20 tonsilitis y mastoiditis asociadas con la infección por Staphylococcus spp. (Staphylococcus intermedius, Staphylococcus aureus), Escherichia coli, Streptococcus spp. (Streptococcus spp. Beta-Hemolítico), Pasteurella multocida, Bacteroides spp., Fusobacterium spp., Porphyromonas spp., Prevotella spp., Peptostreptococcus spp. y Clostridium spp., infecciones sin complicaciones de la piel
 25 y tejido blando, abscesos, osteomielitis, y fiebre puerperal asociada con la infección por Staphylococcus aureus, S. Intermedius,, staphylococci coagulasa-positivos, S. Epidermidis, S. Hemolyticus, Streptococcus spp., grupos de streptococos C-F (estreptococos de colonias diminutas), estreptococci viridans, infecciones agudas del tracto urinario sin complicaciones asociadas con infección por Staphylococcus spp o
 30 E. Coli; infección odontógena asociada a infección por streptococci viridans; infección del tracto urinario en perros y gatos asociada a la infección por E. Coli, infecciones de la piel y tejido blando en perros y gatos asociada con la infección por Staph. epidermidis, Staph. intermedius, Staph. coagulasa neg. o P. Multocida; infecciones de la cavidad oral en perros y gatos asociadas a la infección por Alcaligenes spp.,
 35 Bacteroides spp., Clostridium spp., Enterobacter spp., Eubacterium, Peptostreptococcus, Porphyromonas, o Prevotella.

68

Se determinó que los compuestos de Fórmula I, además de los compuestos similares descritos en las patentes de EE.UU. Nos. 6.001.997, 6.020.329 y 6.077.952, exhiben una inesperadamente larga semivida en perros y gatos, especialmente a la vista de antibióticos comparables. Por ejemplo, la Tabla I lista 5 antibióticos bien conocidos y sus respectivas semividas en diferentes mamíferos, tal como en ratones, ratas, perros y gatos.

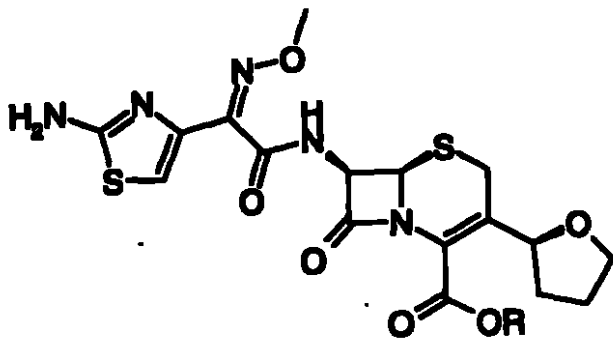
TABLA I: Semivida de antibióticos conocidos

Compuesto	Ratón t _{1/2} (h)	Rata t _{1/2} (h)	Perro t _{1/2} (h)
Cefpodoxima	0,68(PO)	1,4(PO)	2,4(PO)
Ampicilina		0,84(IM)	0,64(IM)
Cefamandol		0,5(IM)	0,82(IV)
Cefazolina		0,68(IM)	1,11(IV)
Cefuroxima	0,32(SC)	0,4(IM)	0,93(IM)
Cefaloridina		0,5(IM)	0,97(IM)
Cefalotina	0,208(IM)	0,4(IM)	1,08(IM)
Cefadrina		0,82(PO)	3,64(PO)
Ertromicina	0,65(IV)	1,27(IV)	1,72(IV)
Oleandomicina	0,7(IV)	0,93(IV)	1,53(IV)
Tilosina		0,4(IV)	1,24(IV)

- 10 (Los datos de Cefpodoxima del "Abstracts of the 1996 ICAAC"; Abstract 583. Todos los demás datos compilados de: "CRC Handbook of Comparative Pharmacokinetics and Residues of Veterinary Antimicrobials", J. Edmond Riviere; Arthur L. Craigmill, Stephen F. Sundlof. CRC Press 1991; Rutas de administración: "IV"- intravenosa; "IM" = intramuscular; "PO" = per os (oral); "SC" = subcutánea).
- 15 Varios derivados de cefalosporina, incluyendo los compuestos de Fórmula I, se describieron en la publicación de solicitud de patente internacional número WO 92/01696 y por Bateson et al. en The Journal of Antibiotics, Febrero de 1994, vol. 47, n° 2, en las páginas 253-256. Se describen también varios datos de ratones en la última publicación. Ambas publicaciones se incorporan aquí en su totalidad.
- 20 En particular, a continuación de la administración del compuesto de Fórmula II, se determinó que la semivida en el ratón y la rata era 2,2 y 3,9 horas, después de administración per os, respectivamente. Inesperadamente, sin embargo, en perros y

62

gatos la semivida se incrementó notablemente en ambos casos, como se demuestra a continuación en la Tabla II.



II

TABLA 2: Semivida en perros y gatos

5

Experimento	Especie	Ruta	Dosis ¹ (mg/kg)	Compuesto	Semivida
1	Perro	IV	1	Compuesto de fórmula I, M ⁺ =Na	8,9 días
2	Perro	SC	8	Compuesto de fórmula I, M ⁺ =Na	4,7 días
3	Perro	PO	1	Compuesto II, R=pivaloiloximetilo	8,0 días
4	Gato	SC	8	Compuesto de fórmula I, M ⁺ =Na	8,3 días

Nota[1] Dosis expresada como ácido libre correspondiente: es decir, M⁺= H.
Concentraciones medidas con respecto al ácido libre.

DETALLES EXPERIMENTALES

10 **a. Farmacocinética**

Experimento 1: Intravenoso en perros

A un perro macho se le administró una dosis intravenosamente de una disolución acuosa del Compuesto I. Se recogió plasma sanguíneo en intervalos hasta de 28 días después de la administración de la dosis. Se extrajeron muestras de
15 plasma y se analizaron para determinar la concentración tanto por bloensayo como por HPLC como sigue:

1 ml de plasma (o estándares de plasma de perro tratado) se acidificó hasta un pH de menos de 3 con ácido clorhídrico, a continuación se agitó con 26 ml de

acetato de etilo. Las capas se separaron por centrifugación. Se transfirieron 22 ml de la capa orgánica a un recipiente nuevo y se añadieron 2,0 ml de tampón de fosfato 0,1 M, pH 7,0. Después de agitar y centrifugar, se recuperó y analizó la fase acuosa. A continuación del procesado, se analizaron muestras (y estándares) por bioensayo microbiológico de placa perforada en placas grandes (200 ml de agar Mueller Hinton) inoculadas con *M. luteus*. Las muestras se analizaron también por HPLC (columna μ Bondapak-C18, eluida con acetonitrilo-acetato de sodio 0,05 M, pH 5,0, 15:85, con detección UV a 256 nm). Se obtuvo buena concordancia entre los dos métodos de análisis, y se calculó la semivida a partir de los resultados del bioensayo usando métodos farmacocinéticos estándar.

Experimento 2: Subcutáneo en perros

A dos perros se les administraron dosis del compuesto de Fórmula I por inyección subcutánea. Se recogió plasma sanguíneo en intervalos de hasta 28 días después de la administración de las dosis. Se prepararon muestras de plasma y estándares apropiados por desproteinación por la adición de un volumen igual de acetonitrilo y centrifugación (3000 rpm durante 10 min). Se analizó el líquido sobrenadante por un método específico de HPLC para determinar la concentración (columna μ Bondapak-C18 eluida con acetonitrilo-acetato de sodio 0,05 M pH 5,0, 15:85 a 1,0 ml/min con detección UV a 256 nm). Se calcularon los parámetros farmacocinéticos usando el programa PCNONLIN.

Experimento 3: per os en perros

A seis perros se les administraron dosis oralmente con el profármaco de pivaloiloximetil-éster, compuesto de fórmula II, y se determinaron las concentraciones en plasma resultantes tanto por bioensayo como por HPLC. A continuación de la administración de las dosis, se recogió plasma sanguíneo hasta después de 696 horas (29 días). Las muestras de plasma y los estándares apropiados (1 ml) se acidificaron primero hasta un pH menor de 3,0 con ácido clorhídrico y a continuación se agitaron con 30 ml de acetato de etilo. Las capas se separaron por centrifugación, a continuación se retiraron 25 ml de la capa orgánica. Se añadieron 2 ml de tampón de fosfato 0,1 M pH 7,0 al acetato de etilo y se agitaron para realizar una retroextracción. Después de la separación de las capas se retiró la capa acuosa y se usó para los análisis. A continuación del procesado, se analizaron las muestras (y los estándares) por el bioensayo microbiológico de placa perforada en placas grandes (200 ml de agar Mueller Hinton) inoculadas con *M. luteus*. Las muestras se analizaron también por HPLC (columna μ Bondapak-C18 eluida con acetonitrilo-acetato de sodio 0,05 M pH 5,0, 15:85, a 1,5 ml/min con detección UV a 256 nm). Hubo buena

concordancia entre los dos métodos de análisis ($r=0,9716$), la semivida se calculó a partir de los datos del bioensayo.

Experimento 4: Subcutáneo en gatos

A cuatro gatos se les administraron dosis de 8 mg/kg por inyección subcutánea del Compuesto I. Se recogieron muestras de sangre a intervalos de 35 días después de la administración de las dosis y se analizó el plasma para determinar la concentración del correspondiente ácido libre por HPLC/EM/EM. Las muestras de plasma (100 µl) se pusieron en partes alícuotas en tubos de centrifuga, a continuación se añadieron 400 µl de acetonitrilo. Después de someter a vórtice (60 s) y centrifugación (20.800xg durante 10 minutos), se transfirieron 0,450 ml del líquido sobrenadante a tubos de centrifuga limpios, y se evaporó hasta sequedad a aproximadamente 50°C en N₂. Las muestras secas se reconstituyeron en 0,100 ml de fase móvil (15/85 v/v de acetonitrilo/HCO₂NH₄ 10 mM, pH 3,0), se sometieron a vórtice durante 1 minuto, se centrifugaron a 3.000 rpm durante 2 minutos y se transfirieron a un vial de automuestreador. Se analizaron réplicas de plasma individuales por LC-EM/EM para ver la concentración del compuesto. El análisis de la muestra se realizó en un sistema SCIEX API 385 o HPLC/EM/EM 3000. El efuente de la columna se conectó a una fuente de Turbo-Ionspray puesta a 4500 V. El gas de colisión se puso a un valor de 3. Se generaron iones positivos en la fuente y se recogieron por un orificio hacia el filtro de masas del cuadrupolo. El espectrómetro de masas se ajustó para controlar los iones del precursor y producto como sigue: m/z 454,0 → m/z 241,0. Se calculó la semivida usando el programa farmacocinético WINNONLIN v2.1 y se determinó que era $8,39 \pm 0,97$ días.

b. Eficacia

En un estudio del modelo de infección de la piel inducida experimentalmente, cinco de seis perros estaban completamente limpios de *Staphylococcus intermedius* 15 días después de una única administración de 8 mg/kg del Compuesto I.

En un estudio separado, a continuación de una única administración de 8 mg/kg de Compuesto I a perros sanos, hubo una significativa reducción de las poblaciones de *Staphylococci* patógenos durante cuatro semanas comparado con los animales de control no tratados.

En un estudio del modelo de absceso inducido experimentalmente en gatos, hubo una reducción sustancial del número de bacterias de *Pasteurella multocida*, *Clostridium perfringens*, y *Bacterioides fragilis* 14 días después de una única administración de 8 mg/kg del Compuesto I.

65

Los resultados de semivida anteriores, junto con la potencia de los compuestos de Fórmula I, demuestran que una administración de un equivalente de ca. 4-12 mg/kg del Compuesto I, (por ejemplo, sal de Na del compuesto de Fórmula I), administrado por inyección (por ejemplo, intramuscularmente, subcutáneamente o intravenosamente) a un gato o perro proporcionaría ventajosamente una concentración eficaz durante 7-21 días. Esto representa un nuevo y muy conveniente régimen de tratamiento para los profesionales veterinarios e igualmente para los dueños de perros y gatos.

Se ha determinado, sin embargo, que el Compuesto I es inestable tanto en forma de sólido como de líquido. Al evaluar posibles formulaciones, se realizaron experimentos de estabilidad. Tal como se usa aquí, "estable" o "estabilizado" quiere decir menor o igual que alrededor de 10% de descomposición del Compuesto I.

Aunque muchas cefalosporinas se pueden estabilizar por cristalización, se ha determinado que el Compuesto I no es particularmente susceptible a las técnicas de cristalización a escala comercial. Consecuentemente, el Compuesto I está en un estado amorfo y es higroscópico. Se determinó que se consigue óptima estabilidad a largo plazo del Compuesto I con un bajo contenido de agua residual. Por consiguiente, la liofilización de las formulaciones del Compuesto I proporcionan una estabilidad preferida.

Respecto a la presente invención, se desarrollaron formulaciones estables del Compuesto I, superando los problemas de estabilidad inherentes que previamente entorpecían los objetivos de almacenamiento a largo plazo. Se determinó que el Compuesto I se podría estabilizar y formular en preparaciones inyectables formulando el Compuesto I con un diluyente acuoso farmacéuticamente aceptable, de tal modo que el pH esté en el intervalo de alrededor de 5,0 a alrededor de 8,0.

Por ejemplo, se preparan formulaciones disolviendo una cantidad terapéuticamente efectiva de la sal de sodio del Compuesto I en un diluyente acuoso farmacéuticamente aceptable y ajustando el pH, si es necesario, dentro del intervalo de alrededor de 5,0 a alrededor de 8,0. Alternativamente, la forma de ácido libre del Compuesto I (es decir, el carboxilato en lugar de la sal) se puede utilizar como material de partida. Una suspensión o disolución del ácido libre se puede valorar, por ejemplo, con hidróxido de sodio, formando la sal de sodio del Compuesto I. Los ajustes de pH se pueden realizar como se describe anteriormente.

Alícuotas de la disolución resultante, la cantidad de las cuales depende de la concentración final deseada del Compuesto I reconstituido, se clarifican y filtran esterilmente y se transfieren asépticamente a recipientes apropiados para

liofilización, (por ejemplo, viales), y se tapan parcialmente con lio-tapones. Tal como se describe aquí, la formulación se enfría hasta la congelación, se somete a liofilización de manera convencional por se en la técnica y se cierra herméticamente, formando una formulación de liofilizado seco estable. En una realización preferida, la
5 composición tiene un bajo contenido de agua residual, menos de 1% en peso, basado en el peso del liofilizado. En una realización más preferida, la composición tiene un nivel de contenido de agua residual de menos de 0,5% en peso.

Tal como se usa aquí, una "cantidad terapéuticamente efectiva" para una unidad de dosificación puede ser típicamente de alrededor de 50 a alrededor de 500
10 mg de ingrediente activo (documento US 8.020.329; Col 16, línea 3). La dosis puede variar, sin embargo, dependiendo de la especie, variedad, etc. del animal que se va a tratar, de la severidad y tipo de infección y del peso corporal del animal. Por consiguiente, basado en el peso corporal, los intervalos de dosificación típicos del ingrediente activo pueden ser de alrededor de 0,01 a alrededor de 100 mg por kg de
15 peso corporal del animal. Preferentemente, el intervalo es de alrededor de 1 a alrededor de 20 mg por kg de peso corporal, y más preferentemente, de alrededor de 4 a alrededor de 12 mg por kg de peso corporal (documento PCS10965; p.7, líneas 7-11).

El profesional veterinario, o un experto en la técnica, será capaz de determinar
20 la dosis apropiada para el paciente individual en particular, que puede variar con la especie, edad, peso y respuesta del paciente en particular, además de con la especie bacteriana implicada. Las dosis anteriores son ejemplares del caso medio. Por consiguiente, se pueden garantizar intervalos de dosificación más altos o más bajos, dependiendo de los factores anteriores, y están dentro del alcance de esta invención.

25 Los compuestos de Fórmula I se pueden administrar solos o en combinación con uno o más agentes usados en el tratamiento o profilaxis de enfermedades o en la reducción o supresión de síntomas. Los ejemplos de tales agentes (que se proporcionan a modo de ilustración y no se deben considerar como limitantes) incluyen antiparasitarios, por ejemplo, anlipirazoles tales como fipronil, lufenuron,
30 imidacloprid, avermectinas (por ejemplo, abamectina, ivermectina, doramectina, selamectina), milbemícinas, organofosfatos, piretroides; antihistaminas, por ejemplo, clorfeniramina, trimeprazina, difenhidramina, doxilamina; antifúngicos, por ejemplo, fluconazol, ketoconazol, itraconazol, griseofulvin, amfotericina B; antibacterianos, por ejemplo, enrofloxacina, marbofloxacina, ampicilina, amoxicilina; antiinflamatorios, por
35 ejemplo, prednisolona, betametasona, dexametasona, carprofen, ketoprofen; esteroides y otros agentes antiprurícticos; suplementos dietarios, por ejemplo, ácido

gamma-linoléico; y emolientes. Por lo tanto, la invención proporciona adicionalmente usos, etc., de los compuestos de fórmula I y uno o más compuestos seleccionados de la lista anterior como una preparación combinada para uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento de enfermedades o estados según la invención.

5 La composición de las formulaciones puede opcionalmente contener ingredientes auxiliares, como es sabido en la técnica, tales como tampones, agentes de carga, diluyentes, codisolventes, disolventes, conservantes, agentes de quelación, antioxidantes, ajustes de tonicidad, cuya presencia puede ayudar a proporcionar un producto liofilizado rápidamente soluble o a alargar el estabilidad de almacenamiento
10 de la formulación.

Un ejemplo de un posible disolvente y codisolvente es etanol. Un ejemplo de un agente de quelación es ácido etilendiaminotetraacético. Un ejemplo de un antioxidante es ácido ascórbico. Un ejemplo de un ajuste de tonicidad es dextrosa. Además, el compuesto de Fórmula I puede ser el único agente terapéutico en las
15 composiciones de la invención o se puede emplear una combinación con otros antibióticos o con un inhibidor de β -lactamasa (documento US 6.020.329; col 16, líneas 15-18).

Al contrario que la mayoría de las cefalosporinas con típicos intervalos de pH de estabilidad más amplios, se determinó que las formulaciones del Compuesto I con
20 o sin varios tampones tienen un intervalo de estabilidad relativamente estrecho entre un pH de alrededor de 5,0 a alrededor de 8,0. En particular, y en una realización preferida, la estabilidad óptima en disolución y en estado sólido se consigue a un pH de alrededor de 6,0 a alrededor de 7,5. El ajuste de pH se puede conseguir valorando hasta el intervalo de pH deseado con, por ejemplo, una disolución de hidróxido de sodio o ácido clorhídrico al 10%, o usando un tampón apropiado. Los tampones
25 típicos incluyen fosfato, acetato, citrato, carbonato, y glicina. En una realización preferida, se usa fosfato como tampón. En una realización más preferida, se usa citrato como tampón.

El agente de carga soluble en agua apropiado para su uso en la presente
30 invención puede ser cualquiera de los materiales sólidos inertes farmacéuticamente aceptables típicamente usados para liofilización. Los agentes de carga pueden mejorar la estabilidad y/o proporcionar un producto liofilizado más rápidamente soluble. Tales agentes de carga incluyen, por ejemplo, azúcares tales como glucosa, maltosa, sacarosa y lactosa; polialcoholes tales como sorbitol y manitol; aminoácidos
35 tales como glicina; polímeros tales como poli(vinilpirrolidona); polisacáridos tales

68

como dextran; ciertas sales inorgánicas tales como fosfatos de sodio o potasio, o cloruro de sodio.

La relación de peso del agente de carga a peso del Compuesto I usado en las composiciones de la presente invención debe estar generalmente dentro del intervalo de alrededor de 0,01 a alrededor de 100, dependiendo del agente de carga utilizado. En una realización preferida, el agente de carga de elección son compuestos polihidroxilados. En una realización más preferida, el agente de carga es sacarosa y se encontró que estabilizaba la sal de sodio del Compuesto I cuando se co-lifilizaba con ella.

La relación óptima de sacarosa/Compuesto I, sin embargo, era impredecible, en ausencia de experimentación. Por ejemplo, se determinó que comparado con formulaciones sin adiciones de sacarosa, una cantidad relativamente pequeña de sacarosa (por ejemplo, una relación de sacarosa/sal de Compuesto I de 0,4) incrementaba el grado de degradación de la sal de sodio del Compuesto I. Por otra parte, una relación de sacarosa/sal del Compuesto I de 1 exhibía una estabilidad similar a las formulaciones en las que no se había añadido sacarosa. Las relaciones mayores de 1,0, sin embargo, incrementaban la estabilidad de las formulaciones de la sal de sodio del Compuesto I. En una realización preferida, la relación de sacarosa/sal de sodio del Compuesto I varía de mayor de 1,0 a alrededor de 10. En una realización incluso más preferida, la relación de sacarosa/sal de sodio del Compuesto I es alrededor de 3.

Se pueden utilizar relaciones de sacarosa/Compuesto más altas. Una alta concentración de sacarosa está limitada, sin embargo, por consideraciones prácticas de viscosidad de una disolución altamente concentrada, que afecta a la facilidad de inyección con jeringa de la disolución reconstituida. Además, las altas concentraciones de sacarosa pueden crear intolerancia en el lugar de inyección para las preparaciones inyectables. Como regla general, se puede considerar la viscosidad de 25-30 mPa.s (milipascas . segundo) , en la que "." se define como "multiplicado por" como un límite superior para preparaciones inyectables en la industria farmacéutica. Esto se translada a un máximo aproximado de 60% de sacarosa en disolución a 40°C. (M. Mathlouthi, J. Génottelle, en: M. Mathlouthi, Sucrose. Properties and Applications, Blackie Academic & Professional, London, 1995, p. 137). Por ejemplo, si la concentración del Compuesto I en disolución es 6% en peso, la relación de sacarosa/Compuesto I aceptable sería 10:1. Si la concentración de Compuesto I es 3%, la relación de sacarosa/Compuesto I sería 20:1. Estos no son sino dos ejemplos de muchas relaciones posibles.

Se añaden conservantes antimicrobianos frecuentemente a las formulaciones farmacéuticas para evitar la contaminación microbiana. Tal como se usa aquí, la palabra "conservante" quiere decir un compuesto, o combinación de compuestos, añadidos para evitar o inhibir el crecimiento de microorganismos que podría presentar un riesgo de infección o degradación del producto medicinal. Generalmente, el nivel de eficacia obtenido varía según la estructura química del conservante, su concentración y las características físicas y químicas del producto medicinal (especialmente el pH). El diseño del envase y la temperatura a la que se almacena el producto afectará también al nivel de actividad de cualquier conservante antimicrobiano presente. Los conservantes útiles pueden incluir ácido m-benzoico y sus sales, ácido sórbico y sus sales, ésteres alquílicos de ácido parahidroxibenzoico, fenol, clorobutanol, alcohol bencílico, timerosal, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, cloruro de cetilpiridinio, m-cresol y clorocresol. También se pueden emplear mezclas de los conservantes anteriormente mencionados.

En la presente invención, las formulaciones del Compuesto I que contienen conservantes antimicrobianos son efectivas para satisfacer los criterios de efectividad antimicrobiana de la United States Pharmacopoeia (de aquí en adelante "USP"). En particular se encontró que varias formulaciones de los siguientes conservantes satisfacían los criterios de la USP, por ejemplo, metilparaben, propilparaben, m-cresol y alcohol bencílico. Para satisfacer los criterios de efectividad antimicrobiana de la European Pharmacopoeia (de aquí en adelante "EP"), sin embargo, eran más apropiados otros conservantes (por ejemplo, cloruro de bencetonio y combinaciones de varios conservantes tales como metilparaben, propilparaben y alcohol bencílico, en una combinación y metilparaben y m-cresol en otra combinación.

Las formulaciones del Compuesto I se pueden aislar por secado, preferentemente por liofilización como es sabido en la técnica. Usualmente las formulaciones de liofilizado se producen por liofilización en ampollas, liofilización en viales, liofilización en bandejas, o métodos convencionales similares enfriando las formulaciones a temperatura bajo cero hasta la congelación. El material congelado se seca a continuación a vacío por sublimación del componente acuoso originalmente contenido en la disolución como disolvente, dejando de este modo una torta liofilizada sólida. De este modo, por ejemplo, los excipientes descritos anteriormente, el Compuesto I, o la sal del Compuesto I farmacéuticamente aceptable, se disuelven sucesivamente con agitación en una cantidad apropiada de agua para inyección. A continuación se añade agua adicionalmente para alcanzar el volumen final deseado. La disolución resultante se clarifica, se filtra esterilmente y se distribuye

asépticamente en recipientes estériles (por ejemplo, viales) de la capacidad deseada. A continuación se realiza la liofilización de la disolución y los viales se cierran herméticamente según procedimientos convencionales.

El producto de fármaco liofilizado es el Compuesto I amorfo, y más preferentemente su sal de sodio. Cuando se requiere una disolución del producto, se puede reconstituir disolviendo la formulación en seco en agua para inyección, agua bacteriostática para inyección u otro diluyente farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, disolución isotónica de cloruro de sodio, agua para inyección con etanol o tampón de citrato, y agua bacteriostática para inyección con alcohol bencílico) en una cantidad suficiente para generar una disolución de la fuerza requerida para la administración parenteral a pacientes.

Se puede administrar una cantidad de Compuesto I de tal modo que la composición proporcione el efecto terapéutico deseado tal como se describe en las patentes de EE.UU. Nos. 6.001.997, 6.020.329 y 6.077.952. Las disoluciones reconstituidas inyectables de la invención se pueden administrar, según varios planes posibles de dosificación.

EJEMPLOS

Para confirmar los efectos ventajosos de la presente invención, la sal de sodio del Compuesto I se formuló en forma de preparaciones liofilizadas inyectables y se midió la estabilidad de las formulaciones.

Los ejemplos a continuación son para ilustrar realizaciones particulares de la invención y no se desea que limiten de ninguna manera la memoria descriptiva, incluyendo las reivindicaciones

A. Estabilización de formulaciones liofilizadas por ajuste del pH.

Las formulaciones descritas en las tablas 3-6 demuestran la inestabilidad incrementada de las composiciones tanto tamponadas como sin tamponar, fuera del intervalo de pH de alrededor de 5,0 a alrededor de 8,0. Como se describe a continuación en las Tablas 3 y 4, la sal de sodio del Compuesto I se disolvió en agua desionizada o en disoluciones tampón de citrato a 50 mg/ml.

Para las formulaciones 1-5, el pH de la disolución se ajustó con una disolución de ácido clorhídrico al 10% después de la disolución de la sal de sodio del Compuesto I (TABLA 3). Para las formulaciones 6-13, se preparó una disolución tamponada con citrato y se ajustó con una disolución de hidróxido de sodio al 10%, después de lo cual se disolvió en ella la sal de sodio del Compuesto I (TABLA 4). Partes alícuotas de un ml de disoluciones de la sal de sodio del Compuesto I se rellenaron en viales de 10 ml y se liofilizaron usando un liofilizador FTS Kinetics (FTS

72

Systems, Stone Ridge, New York). Durante la liofilización, las composiciones se congelaron usando un protocolo de congelación de dos etapas (a -25°C y -40°C), seguido de un secado primario a -27°C durante aproximadamente 22 horas, seguido de un secado secundario con etapas incrementadas de temperatura a 0°C, 25°C y 50°C. La presión durante el secado primario y secundario se puso a 60 millitorr.

Los ejemplos de los procedimientos de preparación de la disolución se dan a continuación.

TABLA 3. Composición de las formulaciones con HCl

Formulación nº	Compuesto I (mg/vial)	HCl*	pH
1	50	+	3,5
2	50	+	3,9
3	50	+	4,1
4	50	+	5,1
5	50	-	6,0

10

El signo "+" quiere decir que se añadió HCl a la formulación, mientras que el signo "-" indica que no se añadió HCl.

TABLA 4. Composición de las formulaciones con ácido cítrico

Formulación nº	Compuesto I (mg)	Acido cítrico (mg)	pH*
6	50	9,6	5,0
7	50	9,6	5,5
8	50	9,6	5,7
9	50	9,6	6,0
10	50	9,6	6,2
11	50	9,6	6,5
12	50	9,6	6,8
13	50	9,6	7,0
14	50	-	6,1

15

* los pH de las disoluciones se ajustaron a los valores especificados con disolución de hidróxido de sodio al 10% previamente a la liofilización.

Las muestras se almacenaron a 40°C durante 12 semanas. La cantidad restante del Compuesto I se midió a continuación por cromatografía de líquidos de

72
22

alta eficacia (HPLC) en fase inversa, usando un sistema de HPLC Waters (Milford, MA) con un detector de ultravioleta "UV" a 256 nm y una columna Kromasil C4 (MetaChem Technologies Inc., Torrance, CA). Se utilizó un método de gradiente con fase móvil A que consiste en una relación 9:1 v/v de disolución tampón de fosfato de sodio 0,025 M, pH 6,5:acetonitrilo, y una fase móvil B que consiste en una relación 4:6 v/v de disolución tampón de fosfato de sodio 0,025 M, pH 6,5:acetonitrilo.

Los resultados de degradación se dan en las Tablas 5 y 6 en forma de porcentaje (%) de la pureza inicial del Compuesto I. La degradación de la formulación después de 18 meses de almacenamiento a una temperatura ambiente controlada de 25°C (es decir, típicas condiciones de almacenamiento en estantes) se calculó usando el modelo de orden pseudo-cero y la ecuación de Arrhenius con una energía de activación de 10 kcal/mol (por ejemplo, K.A. Connors, Chemical Kinetics, 1990, VCH Publishers, Inc., New York). A esta energía de activación, la constante de velocidad de degradación a 40°C (k_{40}) es igual a $2,27 \cdot k_{25}$ (k_{25} es la constante de velocidad de degradación a 25°C). Una persona de experiencia media en la técnica apreciaría lo razonable de esta suposición, basada en datos publicados por Pikal et al. para otros compuestos amorfos de cefalosporina, en los que $k_{40} = 2,2 \cdot k_{25}$ (M.J. Pikal, K.M. Delleman, Stability testing of pharmaceuticals by high-sensitivity isothermal calorimetry at 25°C: cephalosporins in the solid and aqueous solution states, Int. J. Pharm. 50 (1989), 233-252).

Como se describe en la Tabla 5, las formulaciones 4 y 5 (respectivamente, pH de 5,1 y 6,0, de la Tabla I) tenían una estabilidad aceptable a largo plazo, (es decir, la degradación después de 18 meses a 25°C es menos de 10%). Las formulaciones con un pH menor o igual que 4,1, sin embargo, demostraron degradación mayor del 10%, que es típicamente inaceptable para los productos farmacéuticos en la industria farmacéutica. Como se demostró en la Tabla 4, la estabilidad óptima para las formulaciones que utilizan un tampón de citrato, sin embargo, estaba entre pH de alrededor de 6,0 a alrededor de 7,0.

13

TABLA 5. Porcentaje de Compuesto I después de 12 semanas de almacenamiento a 40°C y estabilidad de almacenamiento estimada a temperatura ambiente controlada de 25°C.

Formulación nº	12 semanas (40°C)	% de degradación después de 12 semanas (40°C)	% de degradación* después de 18 meses (25°C)
1	91,3	8,7	19
2	94,3	5,7	15
3	95,9	4,1	11
4	96,9	3,1	8
5	97,2	2,8	7

5

*Calculado como se describe en el texto.

TABLA 6. Porcentaje de Compuesto I después de 12 semanas de almacenamiento a 40°C y estabilidad de almacenamiento estimada a temperatura ambiente controlada de 25°C.

10

Formulación nº	12 semanas (40°C)	% de degradación después de 12 semanas (40°C)	% de degradación* después de 18 meses (25°C)
6	97,5	2,5	7
7	98,0	2,0	5
8	98,6	1,4	4
9	98,7	1,3	3
10	98,9	1,1	3
11	98,1	0,9	2
12	99,2	0,8	2
13	98,1	0,9	2
14	99,2	0,8	2

*Calculado como se describe en el texto.

Los ejemplos de preparación de la disolución para los estudios de estabilidad anteriores de formulaciones liofilizadas son con concentraciones específicas como sigue:

Ejemplo 1

5 **Formulación sin ajuste de pH**

Se disolvieron 1,0453 gramos de la sal de sodio del Compuesto I en 20,0 ml de agua desionizada. Se transfirieron alícuotas de un ml de la disolución resultante a viales de 10 ml, parcialmente tapados con tapones para liofilización, se liofilizaron y se cerraron herméticamente como se describe aquí anteriormente.

10 **Ejemplo 2**

Formulación con pH ajustado con HCl

Se disolvieron 0,5085 gramos de la sal de sodio del Compuesto I en 10,0 ml de agua desionizada. La disolución se valoró con ácido clorhídrico 0,1 N hasta pH 3,87. Se transfirieron alícuotas de un ml de la disolución resultante a viales de 10 ml, parcialmente tapados con tapones para liofilización, se liofilizaron y cerraron herméticamente como se describe aquí anteriormente.

Ejemplo 3

Formulación con pH ajustado con tampón de citrato

Se disolvieron 0,6 gramos de la sal de sodio del Compuesto I en 12 ml de tampón de citrato 0,05 M a pH 6,0. La disolución resultante se filtró, y se transfirieron alícuotas de 1 ml a viales de 10 ml, se taparon parcialmente con tapones para liofilización, se liofilizaron y se taparon herméticamente como se describe aquí anteriormente.

25 **B. Estabilización de la formulación liofilizada de la sal de sodio del Compuesto I por medio de agentes de carga.**

En cada experimento, se liofilizaron formulaciones de la sal de sodio del Compuesto I y sacarosa, a diferentes relaciones de sacarosa/sal de sodio del Compuesto I (TABLA 7) según procedimientos estándar de la industria como se describe aquí anteriormente. Las formulaciones 15 a 18 y 19 a 22 se prepararon independientemente con el propósito de reproducibilidad para el control de calidad. Las medidas de estabilidad de las formulaciones 19 a 22 se tomaron sólo a las 12 semanas.

75 25

TABLA 7. Composición de las formulaciones

Fórmula n°	Compuesto I (mg/vial)	Sacarosa (mg/vial)	Relación Sacarosa/Compuesto I
15	50	0	0
16	50	20	0,4
17	50	50	1,0
18	50	150	3,0
19	50	0	0
20	50	20	0,4
21	50	50	1,0
22	50	150	3,0

Las muestras se almacenaron a 40°C hasta durante 12 semanas. La cantidad
5 restante del Compuesto I se midió por HPLC en fase inversa usando el método del
gradiente de disolvente, como se describe anteriormente, y se dio como porcentaje
(%) del Compuesto I restante. Los resultados, tal como se describen en la TABLA 8,
demuestran que las adiciones de sacarosa con una relación 3:1 (sacarosa/sal de
sodio del Compuesto I) mejoraron la estabilidad. Una relación de sacarosa/sal de
10 sodio del Compuesto I más baja de 2:5 era menos deseable. La estabilidad de la
fórmula con relación 1:1 era similar a la de las formulaciones sin sacarosa.

TABLA 8. Porcentaje del Compuesto I después de 12 semanas a 40°C.

Fórmula	1 semana	2 semanas	4 semanas	6 semanas	12 semanas
15	100,0	99,8	99,1	99,0	97,4
16	98,0	97,7	97,4	96,5	94,6
17	99,5	99,3	98,7	98,3	96,9
18	101	101	101	100	98,5
19	-	-	-	-	98,5
20	-	-	-	-	96,5
21	-	-	-	-	97,5
22	-	-	-	-	99,1

15 Un ejemplo de preparación en disolución para los estudios de estabilidad
anteriores de formulaciones liofilizadas es como sigue:

Ejemplo 4

Formulación con sacarosa

Se disolvieron 0,4818 g de la sal de sodio del Compuesto I y 0,1984 gramos de sacarosa en 10 ml de agua desionizada. Con la disolución resultante se llenaron viales de 10 ml con partes alicuotas de 1 ml, se taparon parcialmente con tapones para liofilización y se liofilizaron como se describe anteriormente. Al final de ciclo de liofilización, los viales se cerraron herméticamente.

C Conservantes

Generalmente, no se requieren conservantes para las formulaciones de cefalosporina, que incluyen las formulaciones del Compuesto I. Las formulaciones almacenadas en recipientes multidosis frente a los recipientes de dosis única, sin embargo, requieren la adición de conservantes para satisfacer la efectividad antimicrobiana in vitro. Varias formulaciones preparadas según los Ejemplos de trabajo de aquí en adelante se ensayaron para ver su actividad antimicrobiana in vitro. Los ensayos de efectividad antimicrobiana (de aquí en adelante "AET") se realizaron según los procedimientos de la Farmacopea Europea (EP) (European Pharmacopeia, 3rd edition, Supplement 201, Council of Europe, Strasbourg) y los procedimientos de la Farmacopea de los EE.UU. (USP) (U.S. Pharmacopeia, and National Formulary USP24NF19,2000, United States Pharmacopeia Convention Inc., Rockville, MD). La efectividad de las formulaciones que contienen conservantes y la sal de sodio del Compuesto I se demuestra en los siguientes ejemplos:

Ejemplo 5

AET de la sal de sodio del Compuesto I y metilparaben (1,8 mg/ml)

Se llevó a cabo un AET de una disolución que contiene la sal de sodio del Compuesto I (80 mg/ml) y metilparaben (1,8 mg/ml) en tampón de citrato 20 mM. Los resultados del AET se proporcionan en la Tabla 9. Las formulaciones satisfacían los criterios de la USP (véase Tabla 12 para los criterios de aceptación) para todos los microorganismos. Además, la formulación satisfacía el criterio A para todos los organismos, excepto para *S. aureus* en los puntos de tiempo de 6 y 24 horas.



TABLA 9. Log. de la reducción de la concentración microbiana
Formulación de la sal de sodio del Compuesto I y metilparaben

Microorganismo	6 Horas	24 Horas	7 Días	14 Días
Aspergillus niger	-	-	5,08*	5,08
Candida albicans	-	-	5,17*	5,17
E. coli	-	-	5,54*	5,54
Ps. aeruginosa	5,16	5,16	5,16*	5,16
S. aureus	0,10	0,10	5,12*	5,12

5 * Corresponde a la "no recuperación" de los microorganismos.

Ejemplo 6

AET de la sal de sodio del Compuesto I, metilparaben (1,8 mg/ml) y propilparaben (0,2 mg/ml)

Se realizó un AET, según los procedimientos de la EP y USP, de una
10 disolución que contiene la sal de sodio del Compuesto I (80 mg/ml), metilparaben (1,8 mg/ml) y propilparaben (0,2 mg/ml) en tampón de citrato 20 mM. Los resultados del AET se proporcionan en la Tabla 8. La formulación satisfacía los criterios de la USP (véase Tabla 14 para los criterios de aceptación) para todos los microorganismos. Además, la formulación satisfacía los criterios A de la EP para todos los
15 microorganismos, excepto para S. aureus en los puntos de tiempo de 6 y 24 horas.

Tabla 10. Log. de la reducción de la concentración microbiana. Formulación de la sal de sodio del Compuesto I, metilparaben y propilparaben.

Microorganismo	6 Horas	24 Horas	7 Días	14 Días
Aspergillus niger	-	-	5,08	5,08
Candida albicans	-	-	5,17	5,17
E. coli	-	-	5,54	5,54
Ps. aeruginosa	5,16	5,16	5,16	5,16
S. aureus	0,08	0,24	5,12	5,12

20

Ejemplo 7

AET de la sal de sodio del Compuesto I y m-cresol (3 mg/ml)

Se efectuó un AET, realizado según los procedimientos de la EP y USP, en una disolución de sal de sodio del Compuesto I (80 mg/ml) y m-cresol (3 mg/ml) preparada por reconstitución de una torta liofilizada de la sal de sodio del Compuesto

7/8

I con agua bacteriostática que contiene 3 mg/ml de m-cresol. Los resultados del AET se proporcionan en la Tabla 11. La formulación satisfacía los criterios de la USP (véase Tabla 14 para los criterios de aceptación) para todos los microorganismos. Además, la formulación satisfacía los criterios A de la EP para todos los microorganismos excepto para *S. aureus* en el punto de tiempo de 6 horas.

TABLA 11. Log. de la reducción de la concentración microbiana
Formulación de la sal de sodio del Compuesto I y m-cresol

Microorganismo	6 Horas	24 Horas	7 Días
<i>Aspergillus niger</i>	-	-	4,82*
<i>Candida albicans</i>	-	-	5,24*
<i>E. coli</i>	-	-	5,41*
<i>Ps. aeruginosa</i>	3,35	4,76	5,36*
<i>S. aureus</i>	1,56	4,76	5,61*

* Corresponde a la "no recuperación" de los microorganismos.

Ejemplo 8

AET de la sal de sodio del Compuesto I, metilparaben, propilparaben y alcohol bencílico.

Se efectuó un AET, realizado según los procedimientos de la EP y USP, en una disolución de la sal de sodio del Compuesto I (80 mg/ml), metilparaben (1,8 mg/ml), propilparaben (0,2 mg/ml) y alcohol bencílico (8,6 mg/ml) y tampón de citrato 20 mM, preparada por reconstitución de una torta liofilizada de la sal de sodio del Compuesto I, metilparaben y propilparaben con agua bacteriostática para inyección que contiene por lo menos 9 mg/ml de alcohol bencílico. El metilparaben y el propilparaben se incluyeron en la torta liofilizada mientras que el alcohol bencílico se añadió con agua bacteriostática para inyección. Los resultados del AET se proporcionan en la Tabla 12. La formulación satisfacía los criterios de la USP (véase Tabla 14 para los criterios de aceptación) para todos los microorganismos. Además, la formulación satisfacía los criterios A de la EP para todos los microorganismos.

79

TABLA 12. Log. de la reducción de la concentración microbiana
Formulación de la sal de sodio del Compuesto I, metilparaben, propilparaben y
alcohol bencílico

Microorganismo	6 Horas	24 Horas	7 Días
Aspergillus niger	-	-	4,82
Candida albicans	-	-	5,24
E. coli	-	-	5,41
Ps. aeruginosa	5,36	5,36	5,36
S. aureus	2,71	5,61	5,61

5

Ejemplo 9

AEP de la sal de sodio del Compuesto I, m-cresol y metilparaben

Se efectuó un AET, realizado según el procedimiento de la EP, en una
disolución de la sal de sodio del Compuesto I (80 mg/ml), metilparaben (1,8 mg/ml) y
10 m-cresol (3 mg/ml), preparada por reconstitución de una torta liofilizada de la sal de
sodio del Compuesto I con agua bacteriostática para inyección que contiene
metilparaben y m-cresol. Los resultados del AET se proporcionan en la Tabla 13. La
formulación satisfacía los criterios A de la EP (véase Tabla 14 para los criterios de
aceptación) para S. aureus.

15

TABLA 13. Log. de la reducción de la concentración microbiana.
Formulación de la sal de sodio del Compuesto I, m-cresol y metilparaben.

Microorganismo	6 Horas	24 Horas
S. aureus	4,05	5,20

TABLA 14. Criterios de aceptación del AET (USP y EP)

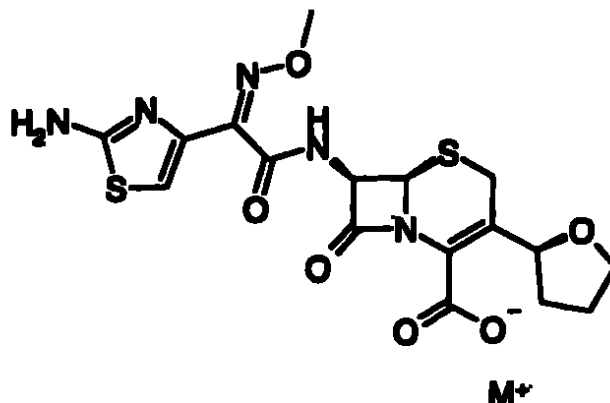
Microorganismo	Criterios	Log de reducción				
		6 Horas	24 Horas	7 Días	14 Días	28 Días
Bacterias	EP criterio A	2	3	-	-	NR
	EP criterio B	-	1	3	-	NI
	USP cat 1A	-	-	1,0	3,0	NI
	EP criterio A	-	-	2	-	NI
	EP criterio B	-	-	-	1	NI
	USP cat 1A	-	-	NI	NI	NI

NR = sin recuperación; NI = sin incremento

- 5 European Pharmacopeia, 3d edition, Supplement 2001, Council of Europe, Strasbourg; U.S. Pharmacopeia and National Formulary USP24NF19, 2000, United States Pharmacopeial Convention Inc., Rockville, MD.

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula I,

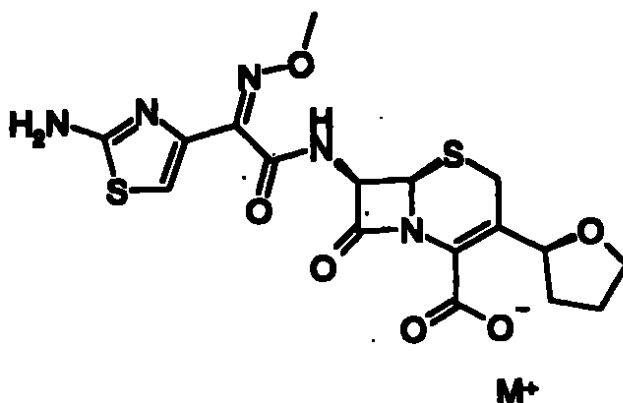


en la que M^+ es Na^+ , K^+ o Li^+ , y un diluyente acuoso, en la que la composición tiene un pH en el intervalo de 5,0 a 8,0.

2. Una composición farmacéutica según la reivindicación 1, en la que M^+ es Na^+ y el pH es de 6,0 a 7,5.

3. Una composición farmacéutica según las reivindicaciones 1 o 2, que comprende adicionalmente un tampón farmacéuticamente aceptable opcional, un conservante farmacéuticamente aceptable opcional, un agente de carga farmacéuticamente aceptable opcional y un diluyente acuoso.

4. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula I.



en la que M^+ es Na^+ , K^+ o Li^+ , un diluyente acuoso y un agente de carga farmacéuticamente aceptable y la composición tiene una relación de agente de carga/compuesto de Fórmula I mayor de 1,0, pero menor de 100.

5. Una composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la composición tiene una relación de agente de carga/compuesto de Fórmula I mayor de 1, pero menor de 10.

6. Una composición farmacéutica según la reivindicación 5, en la que el agente de carga es sacarosa y la composición tiene una relación de sacarosa/compuesto de Fórmula I de 3.

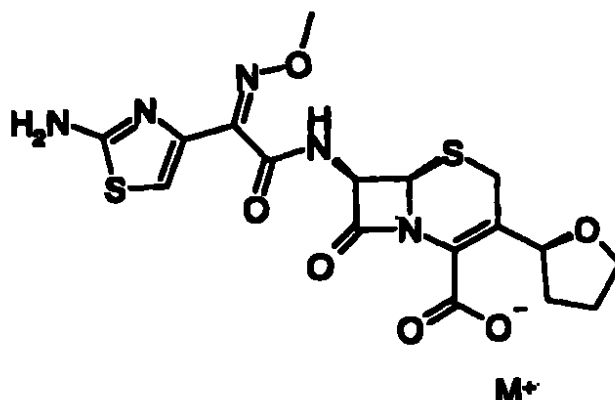
7. Una composición farmacéutica según las reivindicaciones 4, 5 o 6, que comprende adicionalmente un tampón farmacéuticamente aceptable opcional, un conservante farmacéuticamente aceptable opcional y un diluyente acuoso.

8. Una composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el conservante es metilparaben, propilparaben, m-cresol, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio o alcohol bencílico, o una combinación de dos o más de ellos.

9. Una composición farmacéutica según la reivindicación 8, en la que el conservante es una combinación de (a) metilparaben, propilparaben y alcohol bencílico; o (b) metilparaben y m-cresol.

10. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula I, preparado liofilizando la composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones precedentes.

11. Un método para tratar o prevenir un estado causado por una infección bacteriana en perros y gatos administrando al perro o gato una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de Fórmula I



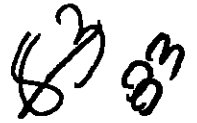
20

en la que M^+ es Na^+ , K^+ o Li^+ , efectiva para tratar o prevenir tal estado.

12. Un método según la reivindicación 11, en el que M^+ es Na^+ .

13. Un método para tratar o prevenir un estado causado por una infección bacteriana en perros y gatos, que comprende administrar al perro o gato una cantidad terapéuticamente efectiva de la composición farmacéutica según las reivindicaciones 1-10.

14. Un método según las reivindicaciones 11-13, en el que el estado es una infección bacteriana de la piel, tejido blando o tracto urinario.



15. Un método según las reivindicaciones 11-14, en el que el estado o infección está causado o complicado por bacterias Gram positivas o Gram negativas.

CA 89

METODOS DE TRATAMIENTO Y FORMULACIONES DE CEFALOSPORINA**RESUMEN**

Formulaciones que contienen un compuesto antibacteriano de sal de metal alcalino de una cefalosporina y métodos de tratar o prevenir las infecciones bacterianas en perros y gatos.

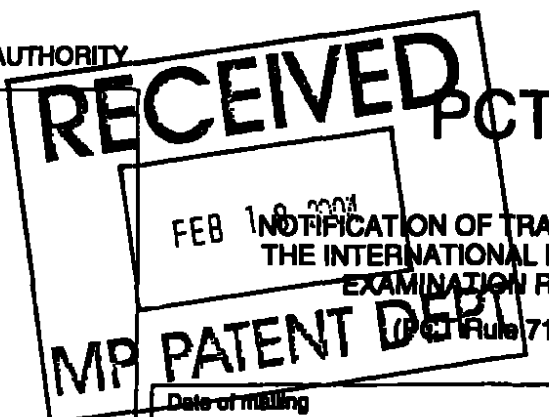
PATENT COOPERATION TREATY

85

From the
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

To:

LUMB, Trevor J.
PFIZER INC.
201 Tabor Road
Morris Plains, New Jersey 07950
ETATS-UNIS D'AMERIQUE



NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT

(PCT Rule 71.1)

Date of mailing

(day/month/year)

10.02.2004

Applicant's or agent's file reference

PC23064A

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.

PCT/AB 02/04743

International filing date (day/month/year)

13.11.2002

Priority date (day/month/year)

30.11.2001

Applicant

PFIZER PRODUCTS INC. et al.

1. The applicant is hereby notified that this International Preliminary Examining Authority transmits herewith the international preliminary examination report and its annexes, if any, established on the international application.
2. A copy of the report and its annexes, if any, is being transmitted to the International Bureau for communication to all the elected Offices.
3. Where required by any of the elected Offices, the International Bureau will prepare an English translation of the report (but not of any annexes) and will transmit such translation to those Offices.

4. REMINDER

The applicant must enter the national phase before each elected Office by performing certain acts (filing translations and paying national fees) within 30 months from the priority date (or later in some Offices) (Article 39(1)) (see also the reminder sent by the International Bureau with Form PCT/IB/301).

Where a translation of the international application must be furnished to an elected Office, that translation must contain a translation of any annexes to the international preliminary examination report. It is the applicant's responsibility to prepare and furnish such translation directly to each elected Office concerned.

For further details on the applicable time limits and requirements of the elected Offices, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The applicant's attention is drawn to Article 33(5), which provides that the criteria of novelty, inventive step and industrial applicability described in Article 33(2) to (4) merely serve the purposes of international preliminary examination and that "any Contracting State may apply additional or different criteria for the purposes of deciding whether, in that State, the claimed inventions is patentable or not" (see also Article 27(5)). Such additional criteria may relate, for example, to exemptions from patentability, requirements for enabling disclosure, clarity and support for the claims.

Name and mailing address of the international preliminary examining authority:



European Patent Office
D-80296 Munich
Tel. +49 89 2369 - 0 Tx: 523656 apmu d
Fax: +49 89 2369 - 4465

Authorized Officer

Senkel, H

Tel. +49 89 2369-8071



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT
(PCT Article 36 and Rule 70)

26

Applicant's or agent's file reference PC23064A	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/PEAA16)	
International application No. PCT/IB 02/04743	International filing date (day/month/year) 13.11.2002	Priority date (day/month/year) 30.11.2001
International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC A61K47/00		
Applicant PFIZER PRODUCTS INC. et al.		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

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

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e. sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of sheets.

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

- I ☒ Basis of the opinion
- II ☐ Priority
- III ☒ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Rule 66.2(a)(II) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 17.01.2003	Date of completion of this report 10.02.2004
Name and mailing address of the international preliminary examining authority:  European Patent Office D-80298 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Tlx 523656 epmu d Fax +49 89 2399 - 4465	Authorized Officer Allnutt, S Telephone No. +49 89 2399-7817 

61

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**

International application No. **PCT/IB 02/04743**

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the International application (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rules 70.16 and 70.17)*):

Description, Pages

1-27 as originally filed

Claims, Numbers

1-15 as originally filed

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the International application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language: , which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of the international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the International preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the International application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages: _____
- ☐ the claims, Nos.: _____
- ☐ the drawings, sheets: _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed (Rule 70.2(c)).

(Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.)

6. Additional observations, if necessary:

080

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**

International application No. **PCT/IB 02/04743**

III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. 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. 11-15 (partially-Industrial Applicability)

because:

- ☒ the said international application, or the said claims Nos. 11-15 relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (specify):

see separate sheet

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

2. A meaningful international preliminary examination cannot be carried out due to the failure of the nucleotide and/or amino acid sequence listing to comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions:

- ☐ the written form has not been furnished or does not comply with the Standard.
- ☐ the computer readable form has not been furnished or does not comply with the Standard.

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	1-10
	No: Claims	11-15
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	1-15
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	1-15
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT - SEPARATE SHEET**

International application No. PCT/IB02/04743

89

Item III

1. Claims 11-15 relate to subject-matter considered by this Authority to be covered by the provisions of Rule 67.1(iv) PCT. Consequently, no opinion will be formulated with respect to the industrial applicability of the subject-matter of these claims (Article 34(4)(a)(i) PCT).
2. Claims 4-6 do not meet the requirements of Article 6 PCT in that the matter for which protection is sought is not clearly defined. The following functional statement "has a bulking agent/compound of formula (I) ratio greater than 1 but less than 100" do not enable the skilled person to determine which technical features are necessary to achieve this.
3. The following documents are referred to in this communication; the numbering will be adhered to in the rest of the procedure:

D1: US-A-6020329

D2: Journal Of Antibiotics, Japan Antibiotics Research Association. Tokyo, Jp (01-02-1994), 47(2), 253-256

D3: WO-A-0246198

D4: WO-A-9201695

The documents considered in the present processing are consecutively numbered D1-D4; this numbering results from the citations D1-D4 found in the Search Report (SR) of the corresponding PCT application. It will be adhered to in the rest of the procedure. The cited passage(s) for each citation will be considered unless otherwise specified.

Item V

Novelty

1. The subject matter of claims 1-10 are not anticipated by prior art documents D1-D4 and therefore fulfill the requirements of Art 33(2) PCT.
2. The subject matter of claims 11-15 are anticipated by documents D1 and D2 and therefore lack novelty in terms of Art 33 (2) PCT.

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT - SEPARATE SHEET**

International application No. PCT/IB02/04743

90

Documents D1 and D2 already disclose the cephalosporin compound of formula (I) of the invention against bacterial infections caused by e.g. Gram positive organisms such as *S. aureus*.

Inventive Step

3. Claims 1-10 are not considered as involving an inventive step (Article 33(3) PCT). The compound itself and its therapeutic use is already known from documents D1 and D2.

Only standard excipients known in the art appear to be contained within the composition according to claims 1-10. Furthermore these excipients do not appear to provide a special technical effect to distinguish it from prior art that it not already known to the skilled person e.g. the use of a bulking agent or maintaining a certain pH is standard practice in order to stabilize active agents.

Further Remarks:

Industrial Applicability (Art 33(4) PCT).

For the assessment of the present claims 11-15 on the question whether they are industrially applicable, no unified criteria exist in the PCT Contracting States. The patentability can also be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognize as industrially applicable the subject-matter of claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow, however, claims to a known compound for first use in medical treatment and the use of such a compound for the manufacture of a medicament for a new medical treatment.

Although D4 is not a valid prior art document pursuant to Art 64.1 PCT, it discloses all the features of claims 11-15.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Patent Application No

PCT/IB 02/04743

a1 98

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K47/00 A61K31/546 A61K9/19

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 7 A61K

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

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

PAJ, WPI Data, EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 6 020 329 A (BATESON JOHN HARGREAVES ET AL) 1 February 2000 (2000-02-01) cited in the application column 1, line 11-14; example 1 column 17, line 28-31	11-15
Y	column 15, line 1-65 — — — — — — / —	1-10

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

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

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

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

A document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

19 March 2003

Date of mailing of the international search report

28/03/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 851 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Allnutt, S

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

onal Application No

P., IB 02/04743

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	BATESON J H ET AL: "NOVEL C-3 CYCLIC ETHER CEPHALOSPORINS AND THEIR ORALLY ABSORBED PRODRUG ESTERS" JOURNAL OF ANTIBIOTICS, JAPAN ANTIBIOTICS RESEARCH ASSOCIATION. TOKYO, JP, vol. 47, no. 2, 1 February 1994 (1994-02-01), pages 253-256, XP000670097 ISSN: 0021-8820 Compound 3 table 1	11-15
Y		1-10
P,X	WO 02 46198 A (FOGLIATO GIOVANNI ;ZENONI MAURIZIO (IT); DONADELLI ALESSANDRO (IT)) 13 June 2002 (2002-06-13) page 17, line 35-37; example 1 page 19, line 11,12	11-15
Y		1-10
A	WO 92 01695 A (BEECHAM GROUP PLC) 6 February 1992 (1992-02-06) cited in the application page 31, line 1-5 claims 11,12 page 26, line 10 -page 27, line 20	1-15

93

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.1

Although claims 11-15 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.

Continuation of Box I.1

Claims Nos.: 11-15

Rule 39.1(iv) PCT - Method for treatment of the human or animal body by therapy

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

national application No.
PCT/IB 02/04743

21

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 11-15
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet)

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

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ 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.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/IB 02/04743

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 6020329	A	01-02-2000	
		US 6001997 A	14-12-1999
		US 6077952 A	20-06-2000
		AP 832 A	03-05-2000
		AT 185567 T	15-10-1999
		AU 648329 B2	21-04-1994
		AU 8222491 A	18-02-1992
		CA 2087967 A1	25-01-1992
		CA 2359744 A1	06-02-1992
		CN 1060469 A ,B	22-04-1992
		CZ 9300064 A3	13-04-1994
		DE 69131714 D1	18-11-1999
		DE 69131714 T2	24-02-2000
		DK 540609 T3	27-12-1999
		EP 0540606 A1	12-05-1993
		EP 0540609 A1	12-05-1993
		ES 2137162 T3	16-12-1999
		FI 930270 A	22-03-1993
		WO 9201695 A1	06-02-1992
		WO 9201696 A1	06-02-1992
		GR 3031711 T3	29-02-2000
		HU 63628 A2	28-09-1993
		IE 912569 A1	29-01-1992
		JP 5509089 T	16-12-1993
		JP 2851428 B2	27-01-1999
		JP 5509305 T	22-12-1993
		KR 189075 B1	01-06-1999
		MX 9100317 A1	28-02-1992
		NO 930226 A	23-03-1993
		NZ 239061 A	25-11-1993
		PT 98426 A	29-05-1992
		ZA 9105725 A	24-06-1992
WO 0246198	A	13-06-2002	
		AU 2394302 A	18-06-2002
		WO 0246198 A1	13-06-2002
		US 2002198375 A1	26-12-2002
WO 9201695	A	06-02-1992	
		AP 832 A	03-05-2000
		AT 185567 T	15-10-1999
		AU 648329 B2	21-04-1994
		AU 8222491 A	18-02-1992
		CA 2087967 A1	25-01-1992
		CA 2359744 A1	06-02-1992
		CN 1060469 A ,B	22-04-1992
		CZ 9300064 A3	13-04-1994
		DE 69131714 D1	18-11-1999
		DE 69131714 T2	24-02-2000
		DK 540609 T3	27-12-1999
		EP 0540606 A1	12-05-1993
		EP 0540609 A1	12-05-1993
		ES 2137162 T3	16-12-1999
		FI 930270 A	22-03-1993
		WO 9201695 A1	06-02-1992
		WO 9201696 A1	06-02-1992
		GR 3031711 T3	29-02-2000
		HU 63628 A2	28-09-1993
		IE 912569 A1	29-01-1992
		JP 5509089 T	16-12-1993
		JP 2851428 B2	27-01-1999

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Patent Application No

PCT/JP 02/04743

06

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9201695 A		JP 5509305 T	22-12-1993
		KR 189075 B1	01-06-1999
		MX 9100317 A1	28-02-1992
		NO 930226 A	23-03-1993
		NZ 239061 A	25-11-1993
		PT 98426 A	29-05-1992
		US 6001997 A	14-12-1999
		US 6077952 A	20-06-2000
		US 6020329 A	01-02-2000
		ZA 9105725 A	24-06-1992

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicación : 64043501 00000000

Folios: 36

Fecha (AMB): 2004-05-12 09:31:21

Trámite : 011 PCT-PATENT 379 FASE MACI 411 PRESENTA

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACION Y AGILIZACION DEL
TRAMITE

	USUARIO	RADICADOR
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 se 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 o 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 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 de trazado	()	()
- Comprobante de pago de las tasas establecidas.	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()

Firma Responsable.

Claudia M Nova

Fecha:

2020
Bogotá D C

Doctor(a)
CARLOS R. OLARTE
Apoderado(a)

REFERENCIA:	Radicación N°	04-043501
	Solicitud internacional	PCT/IB02/04743
	Fecha inicio fase nacional	30/08/2004
	Trámite	011
	Evento	379
	Actuación	416
	Oficio N°	749
	Folios	001

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia, reúne los requisitos de forma establecidos en los artículos 26 y 27 de la Decisión 486, de la Comisión de la Comunidad Andina, y en las demás disposiciones vigentes sobre la materia, se envía el extracto de la solicitud a la oficina de comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial, conforme lo establece el artículo 40 de la Decisión 486.

Cúmplase
Dado en Bogotá D C, 3 1 MAYO 2004


ALIX CARMENZA CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe División de Nuevas Creaciones.

202044

Sede Centro: Carrera 13 No. 27-00 Pisos 2, 5, 7 y 10
Commutador: 3 820840 Fax: 3 505220
Sede CAN: Tr. 40A No. 38-50 3153265 al 69
Fax: 3 505220. Línea 9800-910 165
Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co
Bogotá D.C. - Colombia