



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

Delegatura de propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

PCT

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

21 EXPEDIENTE No.

05-16464

54 TÍTULO

Profarmaco inhibidor de beta-lactamasa

51 CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

A61K 31/43 A61P 31/04

71 SOLICITANTE

Pfizer products Inc

DOMICILIO

Delaware, Estados Unidos

74 APODERADO

Carlos P. Clarke

22 BOGOTÁ, D. C.,

febrero 22- 2005

OLARTERAISBECK



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Radicación 05016464 00000000
Fecha (ARJ): 2003-02-22 16:53:48
Trámite 011 PCT-PATENT 379 FASE NACI 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

Folios 157

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD PATENTE PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL 23-03-2005

SOLICITUD DE

1



Patente de Invención



Patente de Modelo de Utilidad



Capítulo I



Capítulo II

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre PFIZER PRODUCTS INC

Dirección Eastern 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 World 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 (1) ANTHONY MARFAT, (2) DALE GORDON MCLEOD

Dirección (1 y 2) Eastern Point Road, Groton, Connecticut 06340 E U A

Nacionalidad o Domicilio (1) Estadounidense, (2) Canadiense.

3

PCT (86)

Solicitud Internacional No

PCT/IB2003/003582

Fecha Agosto 11, 2003

Publicación Internacional No

WO 2004/018484

Fecha Marzo 4, 2004

4

Título (54) PROFÁRMACO INHIBIDOR DE BETA-LACTAMASA.

Clasificación Internacional (51) C07D 499/00

A61K31/43, A61P31/04

Prioridad

SI



NO



(33) País de Origen

US

(32) Fecha

Agosto 23, 2002

(31) Numero de Solicitud

60/405,640

5

Comprobante de pago No 10,290

Fecha

Febrero 10, 2005

2

0

ANEX S

x

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

x

Poderes, si fuere el caso

x

Documento de cesion del inventor al solicitante o a su causante

Declaraciones

x

Copia de la solicitud Internacional (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)

x

Traducción de la solicitud Internacional al castellano (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)

x

Copia del examen preliminar Internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA)

x

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

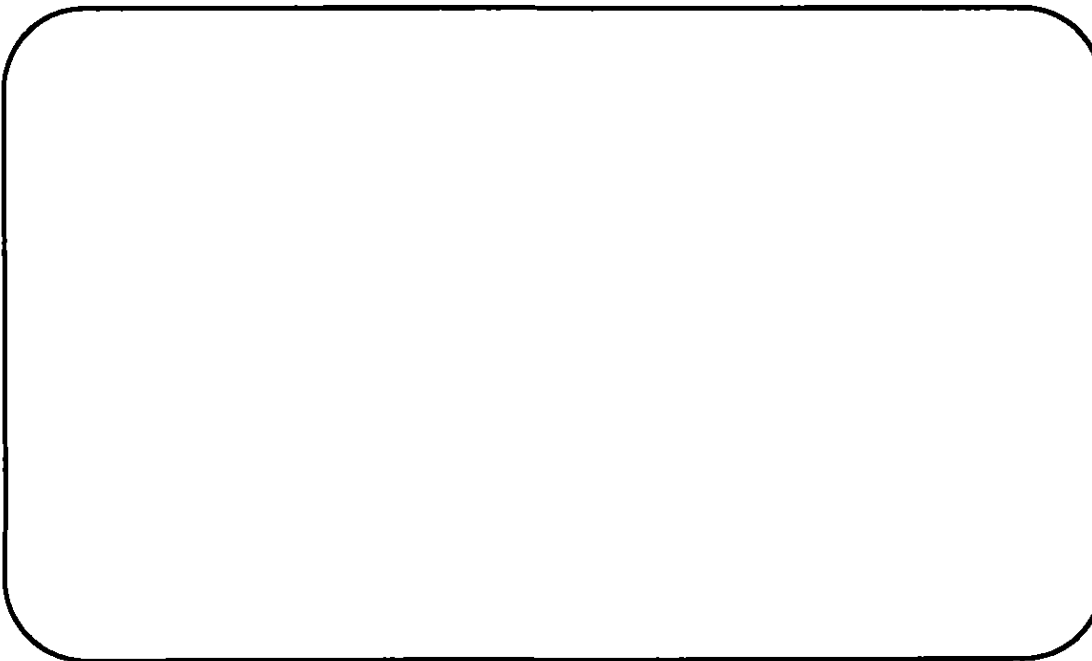
De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud Internacional

x

Otros Búsqueda Internacional

1

FIGURA CARACTERISTICA



2

Solicito la concesion de la patente,

NOMBRE CARLOS R. OLARTE

FIRMA

C C 79 782 747 Bta T P 74 295

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

3

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 05016464 00000000 Folios 157
Fecha (AMB) : 2005-02-22 16:52:46
Trámite : 011 PCT-PATLAF 379 FASE MARCI 411 PRESENTAC
Dependencia: 2025 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 05 - 10,290
FECHA FEBRERO 10 DE 2005

CONSIGNACION

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No PAGO	FECHA PGO	Vr PAGO
JOSE SANTOS	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	37057636	09/02/2005	10,681,000 00

C O N C E P T O

CANT	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL DE PATENTE DE IN	443,000 00
		TOTAL	\$ 443,000 00

SUM: CUATROCIENTOS CUARENTA Y TRES 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

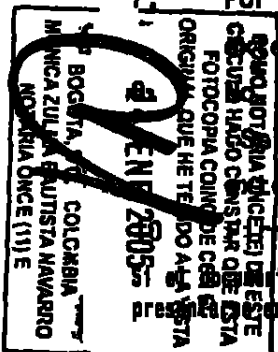
CERTIFICADO

- 5 En Londres 6 El 17 de julio de 2003
- 7 Por el Secretario de Estado Principal de su Majestad para Asuntos
teriores y de la mancomunidad
G210435
lo del Secretario de Estado Principal de su Majestad para Asuntos
teriores y de la mancomunidad
na 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
presentarse en sección consular de la misión que representa el país

Es traducción fiel del inglés, con copia archivo para
confrontación Bogotá 25 de julio-2003

Marlen Neira Castro
Marlen 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

5

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

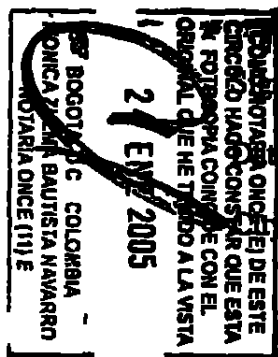
Poder

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, dar 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

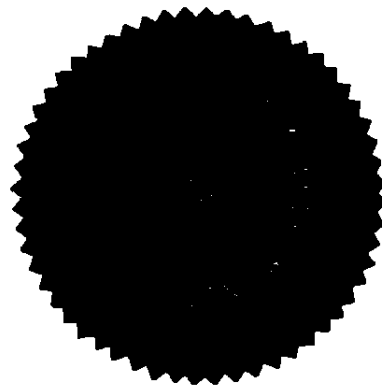


Signature/Firma

Ana María Frieri

Date/Fecha July 14, 2003

City, 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

6

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
suscribir el poder, y que ésta es legítima.

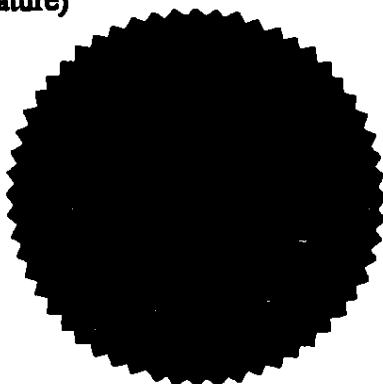
5 El fundamento de mis certificaciones
contenidas en los puntos 2, 3 y 4 fue la exhibición
de los (del) siguiente(s) documento(s) auténtico(s)

BOGOTA, D. C. COLOMBIA
NOTARIA ONCE (11) E
CA ZULETA (AUTISTA)
NOTARIA ONCE (11) E

NOTARIO PUBLIC (Signature)

EXHIBITION OF THE FOLLOWING
CERTIFICATE VERIFIED AND AUTHENTICATED
In The Town Of Bogota, D.C. Surry
This 14th Day Of July
2003

KENNETH GREENWOOD
NOTARY PUBLIC
HUNN BINGALL 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/empreinte de

Certified/Attesté
6. the/le 17 July 2003

- 5 at London/à Londres
- 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.

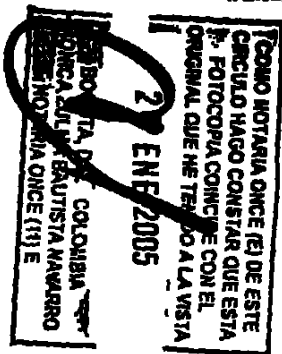
8. Number/sous No **G210435**

- 9 Stamp.
timbre:
10. Signature. R. Bowden



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



7

CESION

Por contraprestación valiosa pagada a nosotros por PFIZER PRODUCTS INC, sociedad constituida en virtud de las leyes del Estado de Connecticut, Estados Unidos de América cuya dirección postal completa es Eastern Point Road, Groton, Connecticut 06340, Estados Unidos de América, por el presente vendemos y traspasamos a la citada PFIZER PRODUCTS INC, todo nuestro derecho, título e interés en y sobre nuestro invento de una nueva y útil mejora en PROFARMACO INHIBIDOR DE BETA-LACTAMASA, en cuanto respecta a la República de Colombia, tal como se indica y describe plenamente en la especificación y por el presente autorizamos y solicitamos al Comisionado de Patentes de Colombia expedir dicha patente a nombre de la citada PFIZER PRODUCTS INC, de conformidad con esta Cesión

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

<u>(Fdo) Anthony Marfat</u>	<u>12 de enero de 2005</u>
Lugar fecha y firma - Anthony MARFAT	Groton Connecticut USA

<u>(Fdo) Dale Gordon McLEOD</u>	<u>11 de enero de 2005</u>
Lugar fecha y firma - Dale Gordon McLEOD	Groton, Connecticut USA

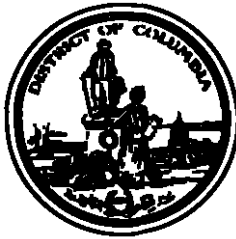
Por el presente certifico que este es el documento original
Distrito de Columbia SS
Suscrito y jurado ante mí, el 18 de enero de 2005
(Fdo) Kevin Woodward, Notario Público del Distrito de Columbia, cuyo cargo vence el 14 de abril de 2007, según consta en su correspondiente sello notarial

8

APOSTILLA

(Convención de la Haya del 5 de Octubre de 1961)

- 1 País Distrito de Columbia**
Estados Unidos de América
- 2 El presente documento público**
Fue firmado por Kevin Woodward
- 3 Que actuó en su calidad de Notario Público del Distrito de Columbia**
- 4 Lleva el sello del mencionado Notario Público Kevin Woodward**
Se certificó
- 5 En Washington D C**
- 6 El 18 de enero de 2005**
- 7 Por parte del Secretario del Distrito de Columbia**
- 8 Bajo el Número 136307**
- 9 Aparece el sello del Distrito de Columbia**
- 10 Firmado por Sherryl H Newman**



9

Apostille

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1 *District of Columbia*
United States of America

2 This public document has been signed by KEVIN WOODWARD

3 acting in the capacity of NOTARY PUBLIC IN AND FOR THE DISTRICT
OF COLUMBIA

4 bears the seal/stamp of KEVIN WOODWARD, NOTARY PUBLIC, D.C.

CERTIFIED

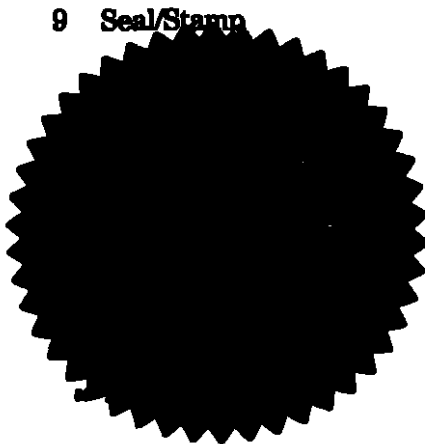
5 at Washington, D C

6 the 18TH day of JANUARY 2005

7 by Secretary of the District of Columbia

8. No 136307

9 Seal/Stamp



10 Signature


SHERRYL 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 **BETA-LACTAMASE INHIBITOR PRODRUG** 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

 12-January 2005
Place, date and signature - Anthony MacFAT Groton, Connecticut, USA

 11 January 2005
Place, date and signature - Dale Gordon McLEOD Groton, Connecticut, USA

10/19/05 10:19:05 AM
10/19/05 10:19:05 AM

I HEREBY CERTIFY THAT THIS
IS THE ORIGINAL DOCUMENT

District of Columbia. SS

Subscribed and Sworn to before me

this 18th day of JANUARY 2005

Kevin Woodward

Notary Public, D.C.

My commission expires 04-14-2007

Kevin Woodward
Notary Public, District of Columbia
My Commission Expires 04-14-2007

(19) World Intellectual Property
Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
4 March 2004 (04.03.2004)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2004/018484 A1

(51) International Patent Classification⁷ C07D 499/00
A61K 31/43, A61P 31/04

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

(21) International Application Number-
PCT/IB2003/003582

(22) International Filing Date- 11 August 2003 (11.08.2003)

(25) Filing Language English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data.
60405,640 23 August 2002 (23.08.2002) 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)- MARFAT, Anthony
[US/US] Pfizer Global Research And Development, East-
ern Point Road Groton, CT 06340 (US) MCLEOD, Dale,
Gordon [CA/US] Pfizer Global Research and Develop-
ment, Eastern Point Road, Groton CT 06340 (US)

(81) Designated States (national)- AE, 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, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD,
SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US,
UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

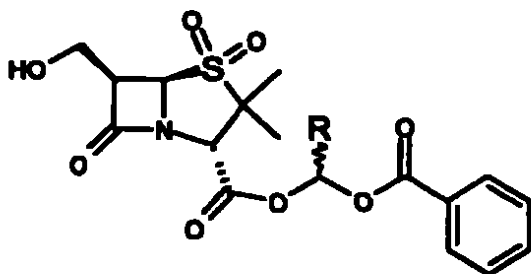
(84) Designated States (regional)- ARIPO patent (GH, GM,
KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
Bourman patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,
ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO,
SE, SI, SK, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF,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

Published:

— with international search report ✓

For two-letter codes and other abbreviations refer to the "Guid-
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-
ning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: BETA-LACTAMASE INHIBITOR PRODRUG



(I)

(57) Abstract. Prodrugs of 6-8-hydroxymethylpen-
cillanic acid sulfone having the structure wherein R is
H or methyl, and solvates thereof are disclosed. Also
disclosed are pharmaceutical compositions comprising
a prodrug of the present invention, or a solvate
thereof, an optional beta lactam antibiotic and at
least one pharmaceutically acceptable carrier. Further
disclosed is a method for increasing the therapeutic
effectiveness of a beta-lactam antibiotic in a mammal
by administering an effective amount of a betalactam
antibiotic and an effectiveness increasing amount of

a prodrug of the present invention, or a solvate thereof. Additionally disclosed is a method for treating a bacterial infection in a
mammal by administering a therapeutically effective amount of a pharmaceutical composition of the present invention to a mammal

12

5

BETA-LACTAMASE INHIBITOR PRODRUG

BACKGROUND OF THE INVENTION

Beta-lactam antibiotics, which generally are penicillins and cephalosporins, have been widely used in the treatment of infections, primarily bacterial, in mammals such as man. Certain micro-organisms are believed to be resistant to these antibiotics because they produce various beta-lactamase enzymes which attack the beta-lactam ring of the antibiotic thereby rendering the drug ineffective.

In U S Patent No 4,287,181, Kellogg disclosed that various 6 β -hydroxyalkylpenicillanic acids, including 6- β -hydroxymethylpenicillanic acid sulfone which is the beta-lactamase inhibitor used in the present invention, are potent beta-lactamase inhibitors. U K Patent Application GB2053220A, Metzger et al and U K Patent Application GB2076812, by Schneider et al, likewise disclosed that 6- β -hydroxymethyl-penicillanic acid sulfone is a beta-lactamase inhibitor. However, the beta-lactamase inhibitor 6- β -hydroxymethyl-penicillanic acid sulfone is very poorly absorbed in vivo in rodents during preclinical studies when administered orally.

Kellogg, Metzger et al and Schneider et al also disclosed ester prodrugs of 6- β -hydroxymethylpenicillanic acid sulfone, which readily hydrolyze in vivo, during preclinical studies, and which demonstrated better absorption in rodents than did the free acid.

5 However, many of these ester prodrugs could only be synthesized as oils or as solids that had low melting points whose usefulness in pharmaceutical formulations is more limited than would be a solid prodrug with a melting point suitable for tableting, milling or
10 purification

 Furthermore, these ester prodrugs were typically not highly absorbed when orally administered. Thus, higher drug dosages would be required to be administered orally, to obtain a therapeutically effective plasma
15 level of the beta-lactamase inhibitor 6- β -hydroxymethylpenicillanic acid sulfone, than would be required for a more highly absorbed prodrug. In addition, oral administration of the less absorbed prodrugs may result in an increase in the incidence and
20 severity of diarrhea experienced by the recipient as the unabsorbed prodrug may hydrolyze in the gastrointestinal tract, to form the active drug, and, with any residual amoxicillin, selectively kill essential components of the normal microbial flora. Further, it
25 is desirable that the process, for producing the desired prodrug, be relatively inexpensive

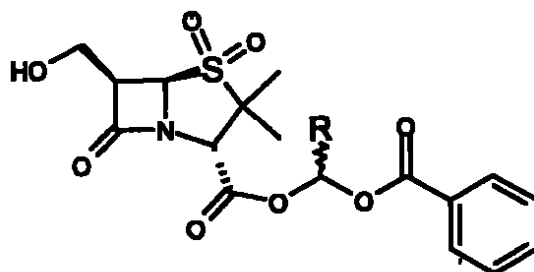
 Therefore, there is a need for a crystalline prodrug of the beta-lactamase inhibitor 6- β -hydroxymethylpenicillanic acid sulfone which has a high
30 oral bioavailability, and more preferably is crystalline with a suitable melting point

SUMMARY OF THE INVENTION

 The present invention relates to prodrugs of 6- β -
35 hydroxymethylpenicillanic acid sulfone (also named 4-

13

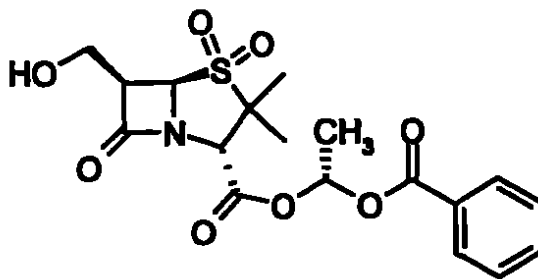
5 4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid, 6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, 4,4-dioxide (2S,5R,6R)) having the structure



10

and solvates thereof, wherein R is H or methyl. The prodrugs of the present invention include 4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid, 6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, -1-(benzoyloxy)-methyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R), 4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid, 6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, -1-(benzoyloxy)-ethyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R), 4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid, 6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, (1R)-1-(benzoyloxy)ethyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R), and 4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid, 6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, (1S)-1-(benzoyloxy)ethyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R). The preferred prodrug of the present invention is 4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid, 6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, (1R)-1-(benzoyloxy)ethyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R), which has the structure

30



5

or a solvate thereof

The present invention also relates to pharmaceutical compositions comprising a prodrug of the present invention, or a solvate thereof, an optional
 10 beta-lactam antibiotic and at least one pharmaceutically acceptable carrier, excipient or diluent. Preferably, the beta-lactam antibiotic is amoxicillin. It is also preferred that the prodrug, used in the pharmaceutical composition, is 4-thia-1-azabicyclo[3.2.0] heptane-2-
 15 carboxylic acid, 6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, (1R)-1-(benzoyloxy)ethyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R) or a solvate thereof. It is more preferred that the pharmaceutical composition comprises 4-thia-1-azabicyclo [3.2.0] heptane-2-carboxylic acid, 6-
 20 (hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, (1R)-1-(benzoyloxy)ethyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R), or a solvate thereof, amoxicillin and a pharmaceutically acceptable carrier, excipient or diluent.

The present invention further relates to a method
 25 for increasing the therapeutic effectiveness of a beta-lactam antibiotic in a mammal comprising administering to said mammal an effective amount of a beta-lactam antibiotic and an effectiveness-increasing amount of a prodrug of the present invention, or a solvate thereof.
 30 Preferably, the beta-lactam antibiotic is amoxicillin. It is also preferred that the prodrug used is 4-thia-1-

ml

5 azabicyclo[3 2 0] heptane-2-carboxylic acid, 6-
(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, (1R)-1-
(benzoyloxy)ethyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R) or a
solvate thereof It is more preferred that the prodrug
is 4-thia-1-azabicyclo [3 2 0] heptane-2-carboxylic
110 acid, 6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, (1R)-1-
(benzoyloxy)ethyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R), or a
solvate thereof, and the beta-lactam antibiotic is
amoxicillin It is further preferred that the mammal is
a human

15 The present invention additionally relates to the
treatment of a bacterial infection in a mammal by
administering a therapeutically effective amount of a
pharmaceutical composition of the present invention to a
mammal in need thereof Preferably, this pharmaceutical
20 composition further comprises a beta-lactam antibiotic
Preferably, the beta-lactam antibiotic is amoxicillin
It is also preferred that the prodrug used is 4-thia-1-
azabicyclo[3 2 0] heptane-2-carboxylic acid, 6-
(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, (1R)-1-
25 (benzoyloxy)ethyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R) or a
solvate thereof It is more preferred that the prodrug
is 4-thia-1-azabicyclo [3 2 0] heptane-2-carboxylic
acid, 6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, (1R)-1-
(benzoyloxy)ethyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R), or a
30 solvate thereof, and the beta-lactam antibiotic is
amoxicillin It is further preferred that the mammal is
a human

5 DETAILED DESCRIPTION

The terms used to describe the present invention have the following meanings herein

The term "effective amount" means the amount of beta-lactam antibiotic which, when administered either
10 alone, or in combination with a prodrug of the present invention which prevents the onset of, alleviates the symptoms of, stops the progression of, or eliminates a bacterial infection in a mammal

The term "effectiveness-increasing amount" means
15 that amount of prodrug which, when administered to a mammal and which subsequently hydrolyzes *in vivo* to form the beta-lactamase inhibitor of the present invention, increases the therapeutic effectiveness of a co-administered beta-lactam antibiotic

20 The term "mammal" is an individual animal that is a member of the taxonomic class Mammalia. The class Mammalia includes, for example, humans, monkeys, chimpanzees, gorillas, cattle, swine, horses, sheep, dogs, cats, mice and rats

25 In the present invention, the preferred mammal is a human

The term "pharmaceutically acceptable" means that the carrier, diluent and excipients must be compatible with other ingredients of the composition, and not
30 deleterious to the recipient thereof. Pharmaceutical compositions of the present invention are prepared by procedures known in the art using well known and readily available ingredients

The prodrugs of the present invention include 4-
35 thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid, 6-

15

5 (hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, -1-
(benzoyloxy)methyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R) which
is described in Example 3 and 4-thia-1-
azabicyclo[3 2 0]heptane-2-carboxylic acid, 6-
(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, -1-(benzoyloxy)ethyl
110 ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R) which is described in
Example 4

The prodrugs of the present invention, as further
described in Example 7, are stable in the upper GI tract
but, after absorption, readily hydrolyze in vivo to form
15 6- β -hydroxymethylpenicillanic acid sulfone (hereinafter
know as "6- β -HMPAS") which is a beta-lactamase inhibitor
that increases the effectiveness of beta-lactam
antibiotics against beta-lactamase-producing bacteria
This beta-lactamase inhibition preserves the
20 antibacterial potency of a co-administered beta-lactam
antibiotic against beta-lactamase (+) strains

As the prodrugs of the present invention hydrolyze
in vivo and form the free acid beta-lactamase inhibitor
6- β -HMPAS, these prodrugs are useful in that, when
25 administered to a mammal, the effectiveness of a co-
administered beta-lactam antibiotic against beta-
lactamase producing bacteria will be enhanced

Prodrugs of this invention may be used, in
combination therapy with beta-lactam antibiotics, to
30 treat infections of, for example, the respiratory tract,
the urinary tract and soft tissues in humans

Compositions of this invention may also be used to treat
infections in other mammals, such as mastitis in cattle

Bacterial infections amenable to treatment by the
35 prodrug, pharmaceutical composition and method of the

5 present invention include upper respiratory diseases including community acquired pneumoniae (CAP), acute exacerbations of chronic bronchitis (AECB) and acute bacterial sinusitis (ABS), caused by respiratory pathogens, such as *Haemophilus influenzae* and *Moraxella*
10 *catarrhalis* including antibiotic resistant isolates

Further, bacterial infections amenable to treatment, by pharmaceutical compositions of the present invention which contain an antibiotic, include, in particular, pediatric otitis media, sinusitis,
15 pneumonia and acute exacerbations of bronchitis in adults caused by *H influenzae* or *Streptococcus pneumoniae*, including Drug Resistant *S pneumoniae* (DRSP) such as Penicillin Resistant *S pneumoniae*

Additional, bacterial infections amenable to
20 treatment, by pharmaceutical compositions of the present invention which contain an antibiotic, include, soft tissue infections caused by *E Coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter spp* and all other members of the family *Enterobacteriaceae*

25 Other infections amenable to treatment, by pharmaceutical compositions of the present invention which contain an antibiotic, including those caused by beta-lactamase producing methicillin susceptible *staphylococci* and beta-lactamase producing anaerobes

30 As the prodrugs of the present invention contain more than one chiral center, they exist in different optically active diastereomeric forms More specifically, the preferred prodrugs of the present invention contain a chiral center at the 1-ethyl
35 location The present invention includes both 1R and 1S

5 diastereomers of 4-thia-1-azabicyclo[3 2 0]heptane-2-carboxylic acid, 6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, -1-(benzoyloxy)ethyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R), and also includes, and mixtures of these diastereomers, such as racemic mixtures. These diastereomeric forms, a
10 mixture thereof, and their respective syntheses are further described herein in the following Examples 4-6

Even more preferably, the prodrug of the present invention comprises the 1R diastereomer of 4-thia-1-azabicyclo[3 2 0]-heptane-2-carboxylic acid, 6-
15 , (hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, -1-(benzoyloxy)ethyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R) as is described in Example 5

The prodrugs of the present invention may exhibit polymorphism. Polymorphs of prodrugs form part of this
20 invention and may be prepared by crystallization of a prodrug of the present invention under different conditions. For example, using different solvents or different solvent mixtures for recrystallization, crystallization at different temperatures, various modes
25 of cooling ranging from very fast to very slow cooling during crystallization. Polymorphs may also be obtained by heating or melting a prodrug followed by gradual or fast cooling. The presence of polymorphs may be determined by solid probe nmr spectroscopy, ir
30 spectroscopy, differential scanning calorimetry, powder X-ray diffraction or other such techniques

The prodrugs of the present invention may also exist in the form of solvates, for example, hydrates. The present invention includes each solvate and mixtures
35 thereof

5 For a prodrug, the minimum amount of prodrug administered is that amount which will increase the effectiveness of a co-administered beta-lactam antibiotic. The maximum amount of prodrug administered¹¹ is that amount, which either alone or in combination
10 with the beta-lactam antibiotic, is toxicologically acceptable.

Typically, for adults and children weighing at least 40 kg, the daily dosage amount of prodrug is between about 200 mg to about 1 g or more. For children
15 weighing less than 40 kg, the daily dosage amount of prodrug is between about 7 mg/kg/day to about 20 mg/kg/day or more. However, these figures are illustrative only, and, in some cases, it may be necessary to use dosages outside these limits.

20 A daily dosage of the prodrug of the present invention can be administered from 1 to 4 times daily in equal doses.

In the treatment of a bacterial infection, a prodrug of the present invention is co-administered with
25 a beta-lactam antibiotic. The prodrug and the beta-lactam antibiotic may be administered concurrently or sequentially. Further, the prodrug and antibiotic may be contained in separate pharmaceutical compositions or in a single pharmaceutical composition.

30 Typical beta-lactam antibiotics, with which the prodrug of the present invention is co-administered, are beta-lactam antibiotics which are sensitive to enzymatic degradation and inactivation by various beta-lactamase enzymes. Examples of such beta-lactamase sensitive
35 antibiotics include, but are not limited to, penicillins.

17

5 such as natural penicillins, amoxicillin and ampicillin, cephalosporins such as cefadroxil, cefazolin, cephalixin, cephalothin, cephapirin, cephradine, cefaclor, cefamandole, cefoicid, ceforanide, cefprozil, cefuroxime, cefdinir, cefoperazone, cefotaxime, 10 cefpodoxime, ceftazidime, ceftibuten, ceftizoxime, ceftriaxone and cefepime, and monobactams such as aztreonam

Typically, when contained together in a pharmaceutical composition, the weight ratio of beta-lactam antibiotic to prodrug is between about 15 1 to about 1 1

Preferably, a prodrug of the present invention is co-administered with amoxicillin. More preferably, amoxicillin is co-administered with the prodrug 4-thia-20 1-azabicyclo[3.2.0]-heptane-2-carboxylic acid, 6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, (1R)-1-(benzoyloxy)ethyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R)

The term "amoxicillin" as used herein shall mean amoxicillin or an alkaline salt, or hydrate thereof such 25 as in particular amoxicillin trihydrate or (crystallized) sodium amoxicillin. Unless otherwise indicated, weights of amoxicillin refer to the equivalent weight of the corresponding free acid. In addition, it will be appreciated that in practice, 30 weights of amoxicillin to be incorporated into a formulation will be further adjusted, in accord with conventional practice, to take account of the potency of the amoxicillin.

Typically, an effective amount of amoxicillin, for 35 adults and children weighing at least 40 kg, is a daily

5 dosage level of about 250 mg to about 5 g For children weighing less than 40 kg, an effectiveness-increasing amount of amoxicillin is a daily dosage level of about 20 mg/kg/day to about 150 mg/kg/day However, these figures are illustrative only, and, in some cases, it
10 may be necessary to use dosages outside these limits

A daily dosage of amoxicillin can be administered from 1 to 4 times daily in equal doses in the form of immediate, modified or delayed (or slow) release compositions Formulations of immediate, modified and
15 delayed (slow) release pharmaceutical compositions containing amoxicillin, which are suitable for the pharmaceutical composition of the present invention, and the preparation thereof, are described in United States Patent Nos 4,537,887, issued to Rooke et al ,
20 6,051,255, issued to Conley et al , 6,218,380, issued to Cole et al , 6,051,255, issued to Conley et al , United States Patent Application Serial Number 09/911,905, by Conley et al , and International Application Number PCT/IB01/01899, by Conley et al The teachings of U S
25 Patent Nos 4,537,887, 6,051,255, 6,218,380, 6,051,255, USSN 09/911,905 and International Application Number PCT/IB01/01899 are incorporated herein, in their entirety, by reference

In these compositions, the exact amount of prodrug
30 and amoxicillin will depend to some extent on the micro-organism which is being treated

As will be appreciated by one skilled in the art, some of the beta-lactam compounds are effective when administered orally or parenterally, while others are
35 effective only when administered parenterally When a

5 prodrug of the present invention is combined with a
parenterally administered beta-lactam antibiotic, a
pharmaceutical suitable for which is effective only on
parenteral administration, a combination formulation
suitable for parenteral use will be employed. When the
110 prodrug is to be combined with a beta-lactam antibiotic
which is effective orally or parenterally, combinations
suitable for either oral or parenteral administration
can be prepared. Additionally, it is possible to
administer preparations of the prodrug orally, while at
15 the same time administering a further beta-lactam
antibiotic parenterally, and it is also possible to
administer preparations of the prodrug parenterally,
while at the same time administering the further beta-
lactam antibiotic orally.

20 A pharmaceutical composition, of the present
invention, comprises a prodrug of the present invention
and at least one pharmaceutically acceptable excipient,
carrier or diluent.

Optionally, the pharmaceutical composition further
25 comprises a beta-lactam antibiotic. It is preferred
that the antibiotic be amoxicillin. It is also
preferred that the prodrug is 4-thia-1-azabicyclo-
[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid, 6-(hydroxymethyl)-3,3-
dimethyl-7-oxo-, (1R)-1-(benzoyloxy)ethyl ester, 4,4-
30 dioxide (2S,5R,6R). It is more preferred that the
pharmaceutical composition comprises 4-thia-1-
azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid, 6-
(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, (1R)-1-
(benzoyloxy)ethyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R),

5 amoxicillin and at least one pharmaceutically acceptable carrier

Examples of excipients, diluents, and carriers that are suitable for such pharmaceutical compositions²¹ include fillers and extenders such as starch, sugars, mannitol, and silicic derivatives, binding agents such as carboxymethyl cellulose and other cellulose derivatives, alginates, gelatin, and polyvinyl pyrrolidone, moisturizing agents such as glycerol, disintegrating agents such as agar agar, calcium carbonate, and sodium bicarbonate, agents for retarding dissolution such as paraffin, resorption accelerators such as quaternary ammonium compounds, surface active agents such as cetyl alcohol, glycerol monostearate, adsorptive carriers such as kaolin and bentonite, and lubricants such as talc, calcium and magnesium stearate and solid polyethylene glycols. The formulations can additionally include lubricating agents such as talc, magnesium stearate, and mineral oil, wetting agents, emulsifying and suspending agents, preserving agents such as methyl- and propylhydroxybenzoates, sweetening agents, and flavoring agents.

In preparing a pharmaceutical composition of the present invention, the prodrug, and optional beta-lactam antibiotic, are usually mixed with an excipient, diluted by an excipient or enclosed within a carrier that can be in the form of a capsule, sachet, or other container. When the excipient serves as a diluent, it can be a solid, semi-solid, or liquid material that acts as a vehicle, carrier or medium for the active ingredient.

19

5 The pharmaceutical composition can be administered orally or parenterally, i.e. intramuscularly, subcutaneously, intravenously or intraperitoneally. The carrier, excipient or diluent is chosen on the basis of the intended mode of administration. For example, when
10 considering the oral mode of administration, a pharmaceutical composition of this invention can be used in the form of tablets including chewable tablets, capsules, lozenges, troches, powders, syrups, elixirs, aqueous solutions and suspensions, and the like, in
15 accordance with standard pharmaceutical practice. The proportional ratio of active ingredient to carrier will naturally depend on the chemical nature, solubility and stability of the active ingredients, as well as the dosage contemplated. However, pharmaceutical
20 compositions containing a beta-lactam antibiotic and a prodrug of the present invention will preferably contain from about 20% to about 95% of active ingredients. In the case of tablets for oral use, carriers which are commonly used include lactose, sodium citrate and salts
25 of phosphoric acid. Various disintegrants such as starch, and lubricating agents, such as magnesium stearate, sodium lauryl sulfate and talc, are commonly used in tablets. For oral administration in capsule form, useful diluents are lactose and high molecular
30 weight polyethylene glycols. When aqueous solutions or suspensions are required for oral use, the active ingredient may be combined with emulsifying and suspending agents. If desired, certain sweetening and/or flavoring agents can be added. For parenteral
35 administration, sterile solutions of the active

5 ingredients are usually prepared, and the pH of the solutions is suitably adjusted and buffered. For intravenous use, the total concentration of solutes should be controlled to render the preparation iso^{to}tonic.

The formulations of the invention may be made up
10 into solid dosage forms for oral administration by a method conventional to the art of pharmaceutical technology, e.g. tablets or powder or granular products for reconstitution into a suspension or solution.

Suitable ingredients and suitable methods for
15 making such tablets are disclosed in, for example, International Applications WO 92/19227 and WO 95/28927 the teachings of which are incorporated herein, in their entirety, by reference. Powder or granular formulations, such as pediatric suspension formulations,
20 may be manufactured using techniques which are generally conventional in the field of manufacture of pharmaceutical formulations and in the manufacture of dry formulations for reconstitution into such suspensions. For example a suitable technique is that of
25 mixing dry powdered or granulated ingredients for loading into a suitable container.

For pediatric dosing, the formulations of the invention are preferably made up into a sweet flavored aqueous syrup formulation of generally conventional
30 formulation (except for its novel amoxicillin prodrug ratio and intended use) containing a suitable weight of the amoxicillin and prodrug in a unit dose volume, e.g. 5 ml or 2.5 ml preferably as a syrup. A pediatric formulation may therefore comprise a bulk of a solution
35 or suspension, e.g. a syrup, or granules or powder which



5 can be made up into such a solution or suspension, at a
concentration of solution or suspension which contains
such a dose in such a volume Suitable such formulations
are described in International application no PCT
EP96/01881 (SmithKline Beecham) The formulation of this
10 invention will normally, in addition to its active
materials amoxicillin and prodrug, also include
excipients which are standard in the field of
formulations for oral dosing and used in generally
standard proportions, and at generally standard particle
15 sizes and grades etc

In the case of pediatric oral suspensions, these
excipients may comprise suspending aids, glidants (to
aid filling), diluents, bulking agent, flavors,
sweeteners, and stabilizers

20 Suitable excipients for use include xanthan gum
(suspension aid), colloidal silica (glidant), succinic
acid (stabilizer), aspartame (sweetener),
hydroxypropylmethylcellulose (suspension aid) and
silicon dioxide (diluent for prodrug and bulking agent)
25 Flavors may comprise common flavors such as bubble gum,
orange, banana, raspberry, grape and golden syrup, or
mixtures thereof, to suit local requirements

The pharmaceutical composition of the present
invention may, for example, be provided in solid unit
30 dose forms embodying suitable quantities for the
administration of such a daily dose For example a unit
dosage form may be tablets, or sachets containing
granules or powders for reconstitution, one or two of
which are to be taken 1-4 times daily Alternatively a
35 unit dose may be provided as a bulk of solid or solution

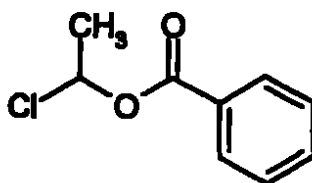
5 or suspension, e g as a syrup for pediatric
administration, together with a suitable measuring
device of known type to facilitate administration of a
suitable unit dose quantity of the formulation A ,
suitable unit dose quantity is one which enables the
10 administration of the above-mentioned daily dosage
quantity divided 1-4 doses

Yet another embodiment of this invention is a kit,
for achieving an antibacterial therapeutic effect in a
mammal, comprising (1) a pharmaceutical composition,
15 which comprises a prodrug of the present invention and,
optionally, a beta-lactam antibiotic, and (2) directions
for the administration of the pharmaceutical composition
in a manner to achieve the desired therapeutic effect

The present invention will be further illustrated
20 by means of the following examples It is to be
understood, however, that the invention is not meant to
be limited to the details described therein

Example 1

25 Preparation and Enantiomeric Separation of (R/S) Benzoic
acid 1-chloro-ethyl ester



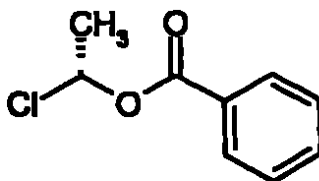
30

(R/S)-Benzoic acid 1-chloro-ethyl ester, shown
above, was prepared as follows

21

5 To a stirred solution of 122 g (862 mmol) benzoyl
chloride (Aldrich), under a nitrogen atmosphere in a 3-
neck round bottom flask, was added 235 g (172 mmol)
anhydrous zinc chloride (Aldrich). The reaction mixture
was stirred for 15 minutes at room temperature and then
10 cooled to -15 °C using an ethylene glycol/ CO₂ bath. To
this mixture was added slowly 379 g (862 mmol)
acetaldehyde (Aldrich) while maintaining an internal
temperature below 0 °C. After addition was completed,
the reaction mixture was allowed to warm to room
15 temperature. 400 mL water and 400 mL CH₂Cl₂ were added
and then the layers were separated. The organic layer
was separated and washed with saturated NaHCO₃, water,
brine, dried over MgSO₄, filtered and concentrated in
vacuo. Chromatography on silica gel eluting with 175 %
20 ethyl acetate/ 9825 % hexanes afforded 554 g of a
yellow oil. ¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8.08 (d, 2H,
J=7.5 Hz), 7.61 (t, 1H, J=7.5 Hz), 7.47 (t, 2H, J=7.5 Hz),
6.80 (q, 1H, J=6 Hz), 1.93 (d, 3H, J=6 Hz).

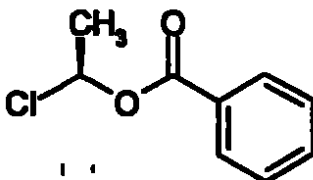
(R)-Benzoic acid 1-chloro-ethyl ester, shown below,
25 was isolated by the chiral separation of (+/-)-benzoic
acid 1-chloro-ethyl ester using a 10 cm by 50 cm
Chiralcel OJ column eluting with heptane/IPA (98/2) and
with a flow rate of 250 mL/min. The enantiomer
collected eluted second with an analytical purity
30 retention time of 7.123 min.



5

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz) 8.08 (d, 2H, $J=7.5\text{Hz}$), 7.61 (t, 1H, $J=7.5\text{Hz}$), 7.47 (t, 2H, $J=7.5\text{Hz}$), 6.80 (q, 1H, $J=6\text{Hz}$), 1.93 (d, 3H, $J=6\text{Hz}$) $[\alpha_D] = -140^\circ$ (C+0.0315, CHCl_3)

10 (S)-Benzoic acid 1-chloro-ethyl ester, shown below, was isolated by the chiral separation of (+/-)-benzoic acid 1-chloro-ethyl ester using a 10 cm by 50 cm Chiralcel OJ column eluting with heptane/IPA (98/2) and with a flow rate of 250 mL/min. The enantiomer
15 collected eluted first with an analytical purity retention time of 5.807 min.



20 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz) 8.08 (d, 2H, $J=7.5\text{Hz}$), 7.61 (t, 1H, $J=7.5\text{Hz}$), 7.47 (t, 2H, $J=7.5\text{Hz}$), 6.80 (q, 1H, $J=6\text{Hz}$), 1.93 (d, 3H, $J=6\text{Hz}$) $[\alpha_D] = +130$ (C+0.0345, CHCl_3)

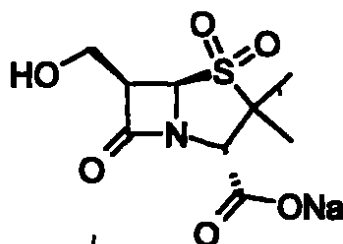
25

Example 2

Preparation of 4-Thia-1-azabicyclo [3.2.0]heptane-2-carboxylic acid, 6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, 4,4-dioxide, monosodium salt, (2S,5R,6R)

22

21

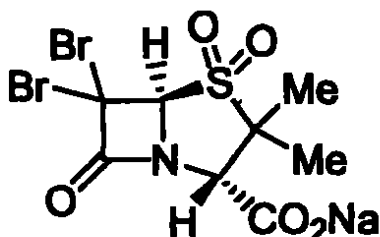


5

4-Thia-1-azabicyclo [3,2,0]heptane-2-carboxylic acid,
6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, 4,4-dioxide,
monosodium salt, (2S,5R,6R), shown above, (hereinafter
10 "Na-HMPAS") was prepared by the following four-step
process

Step 1 - Preparation of sodium 6,6-dibromopenicillanate
sulfone

15

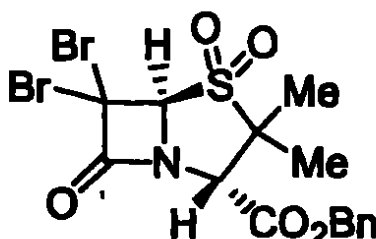


Ethyl acetate (15 8 L) was added to 6,6-
dibromopenicil-lanic acid sulfone (2500 g) and heated to
20 50 °C Sodium ethyl hexanoate (1044 g) and ethyl acetate
(5 0 L) were stirred to form a solution then added to
the 6,6-dibromopenicillanic acid sulfone solution over a
60 minute period The reaction mixture was allowed to
cool to ambient temperature and the resulting solids
25 granulated for a period of 1 hour The product was
collected by filtration and washed with ethyl acetate to
give 2197 g (83%) of the sodium 6,6-dibromo-

5 penicillanate sulfone M P 186-187 °C ¹HNMR (D₂O) δ
1 30 (s, 3H), 1 45 (s, 3H), 4 29 (s, 1H), 5 54 (s, 1H)

Step 2 - Preparation of benzyl 6,6-dibromopenicillanate
sulfone

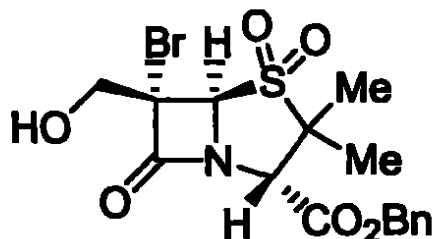
10



Dimethylformamide (5 7 L) and the sodium 6,6-
dibromopenicillanate sulfone (3820 g) were combined and
15 the mixture was stirred for a few minutes until all of
the solids dissolved To this mixture benzyl bromide,
(1400 g) was added over a 1 hour period The reaction
mixture was then stirred overnight at ambient
temperature Water (4 5 L) and ethyl acetate (15 0 L)
20 were added to quench the reaction The aqueous phase
was washed with ethyl acetate (2 x 600 mL) and the
combined organic phases were washed sequentially with a
saturated aqueous sodium bicarbonate solution (2 x 1 L)
and an aqueous sodium chloride solution (2 x 1 L) The
25 organic layer was dried over magnesium sulfate and
concentrated to give 3566 g (90%) of the desired benzyl
6,6-dibromopenicillanate sulfone as crystals M P
146-147 °C ¹HNMR (CDCl₃) δ 1 2 (s, 3H), 1 5 (s, 3H),
4 5 (s, 1H), 4 9 (s, 1H), 5 16 (d, 1H, J = 12 Hz), 5 29
30 (d, 1H, J = 12 Hz), 7 35-7 40 (m, 5H)

13

5 Step 3 - Preparation of benzyl 6- β -hydroxymethyl-6- α -
 bromopenicillanate sulfone



10 In a round bottom flask, paraformaldehyde was
heated under a nitrogen sweep to 160-180 °C to express
excess water. In a separate round bottom flask
tetrahydrofuran (80 L) and benzyl 6,6-
dibromopenicillanate sulfone (1000 g) were combined and
15 stirred until all of the solids had dissolved. The
solution was cooled to -78 °C and 3M methylmagnesium
chloride in THF (720 mL) was added slowly to the
solution while maintaining the temperature less than -70
°C. The reaction mixture was stirred for 1 hour. At
20 this time, formaldehyde gas expressed from the first
round bottom flask was blown over the surface of the
chilled reaction mixture using a stream of nitrogen.
This formaldehyde gas was expressed over the reaction
mixture for approximately 6 hours while maintaining
25 cooling and vigorous stirring of the chill reaction
flask. Upon reaction completion determined by TLC
(80:20 hexanes:ethyl acetate), the reaction was quenched
at -78 °C with a solution of acetic acid (132 mL) in THF
(400 mL). The reaction mixture was allowed to warm to
30 ambient temperature then the reaction mixture was
filtered through Supercel. The filtrate was

5 concentrated to an oil (~1000 g) The oil was then transferred to a large reaction vessel and ethyl acetate (5 0 L)/water (2 5 L) added The mixture was stirred, then separated The aqueous layer was washed with ethyl acetate (2 x 500 mL) The combined organic layers were
10 sequentially washed with 1N hydrochloric acid (3 0 L), water (3 x 3 0 L), and saturated aqueous sodium chloride solution (3 x 3 0 L) The organic layer was dried with magnesium sulfate, filtered through Supercel, concentrated and stored in a refrigerator The
15 resulting oil was chromatographed through silica gel (1 Kg per 500 g of product oil), and eluted with 9 1 hexane/ ethyl acetate (20 0 L) to remove impurities then 4 1 hexane/ ethyl acetate (4 0-8 0 L) and finally 3 2 hexane/ ethyl acetate (as needed) until the benzyl 6- β -
20 hydroxymethyl-6- α -bromo-penicillanate sulfone was removed Yield 205 5 g (23 %) M P 120-121 °C (CDCl₃) ¹HNMR δ 1 28 (s, 3H), 1 57 (s, 3H), 4 09 (d, 1H, J = 16Hz), 4 54 (s, 1H), 4 62 (d, 1H, J = 16Hz), 4 82 (s, 1H), 5 18 (d, 1H, J = 16 Hz), 5 32 (d, 1H, J = 16
25 Hz), 7 36-7 42 (m, 5H)

Step 4 - Preparation of 4-Thia-1-azabicyclo

[3,2,0]heptane-2-carboxylic acid, 6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-,4,4-dioxide, monosodium salt, (2S,5R,6R)

30 Water (163 mL), ethyl acetate (2000 mL), benzyl 6- β -hydroxymethyl-6- α -bromopenicillanate sulfone (180 g), triethylamine (90 0 g) and 5% palladium on carbon (45 g) were combined and hydrogenated at 50 psi at ambient temperature for approximately 2 hours A TLC of the
35 reaction mixture showed the reaction was not complete so

24

5 additional catalyst (15 g) was added and the mixture was
hydrogenated for one hour. Once the reaction was
complete, the reaction was quenched with a mixture of
sulfuric acid (112.5 g) and water (270 mL). The
reaction mixture was filtered to remove catalyst, and
110 washed with EtOAc (450 mL). The aqueous layer was
washed with EtOAc (3 x 750 mL). The organic phases were
combined and dried with calcium chloride to a water
content of less than 1%. The calcium chloride was then
filtered out and the ethyl acetate was reduced to ½ its
15 volume. Fresh ethyl acetate was then back added to the
solution and the water content of the solution was now
0.09%. Sodium ethyl hexanoate (59 g) and EtOAc (450 mL)
were combined and added slowly to organic phase at
ambient temperature. The mixture was then allowed to
20 granulate for a period of 30 to 45 minutes. The
resulting solids were filtered, washed with EtOAc (500
mL) and dried to give 79.0 g (66%) of sodium 6-β-
hydroxymethylpenicillanate sulfone. The solids were
further purified via a recrystallized from 2-
25 propanol/water. M P 246-245 °C ¹H NMR (D₂O) δ 1.23
(s, 3H), 1.39 (s, 3H), 3.82-3.89 (m, 1H), 3.97-4.10 (m,
3H), 4.85 (s, 1H).

Alternate Step 4 - Preparation of 4-Thia-1-azabicyclo
30 [3,2,0]heptane-2-carboxylic acid, 6-(hydroxymethyl)-3,3-
dimethyl-7-oxo-,4,4-dioxide, monosodium salt, (2S,5R,6R)

Benzyl 6-β-hydroxymethyl-6-α-bromopenicillanate
sulfone (1143 g) was placed in a large reaction vessel.
Benzene (6.2 L) and tributyltin hydride (770 mL) were
35 added and the reaction mixture heated to reflux.

5 temperature for 2-3 hours The reaction was monitored
by TLC, solvent = 1:1 hexane/ Ethyl acetate

Upon reaction completion the mixture was
concentrated to an oil to remove the benzene The^{" "}oil
was washed with hexane at ambient temperature, until all
10 the residual tin byproducts were removed The material
was reheated to reflux, ethyl acetate (EtOAc) was added
to transfer material to single necked flask and
concentrated The material was washed with hexane (3 x)
and the product layer dried under reduced pressure

15 Half of the oil (549 g) was chromatographed over
silica gel (1 Kg), with enough methylene chloride to get
oil into solution, eluting with 7:3 hexane/EtOAc going
to 3:2 hexane/EtOAc The product fractions were
combined and concentrated

20 The oil (~540 g) was placed in an autoclave
Tetrahydrofuran (1.9 L), 10% palladium on carbon and
water (300 mL) were added, and the reaction mixture
hydrogenated at 50 psi, at a temperature of 30 °C, for
approximately 1 hour Upon reaction completion the
25 reaction mixture was filtered through celite, to remove
catalyst

The filtrate was concentrated and diluted with
EtOAc

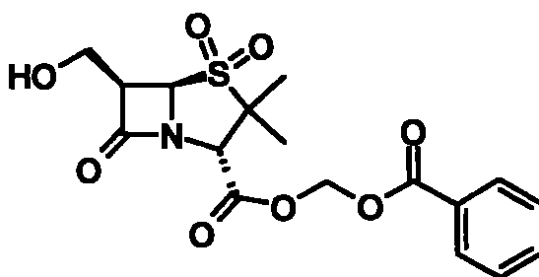
(3.0 L) The aqueous layer was washed with EtOAc (1.0
30 L) The combined organic layers were dried with calcium
chloride, and concentrated to half volume EtOAc (2.5
L) was added followed dropwise by a solution of sodium
ethyl hexanoate (SEH, 250 g) and EtOAc (1.05 L) The
resulting solids were removed by filtration and dried in
35 a vacuum oven

75

5 To the resulting solids, water (6-800 mL) was added and the pH adjusted to between 0.5 and 1.0 with 4M sulfuric acid. The product was extracted with EtOAc (5 x 10 L). The combined organic phases were dried with calcium chloride and filtered through a sparkle filter.
10 The filtrate was reduced to half volume and a solution of SEH (115.3 g) and EtOAc (500 mL) added. The mixture was allowed to granulate. The resulting solids were filtered and washed with EtOAc to give desired product.

Example 3

15 Prodrug 1 4-Thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid, 6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, (benzoyloxy)methyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R)



20

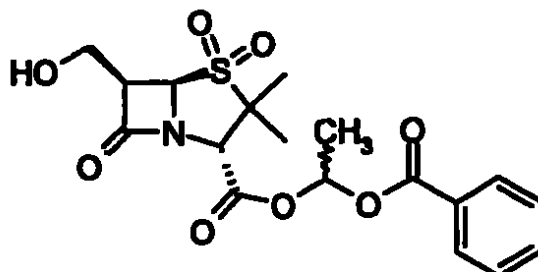
Prodrug 1, shown above, was prepared as follows

To a stirred solution of 3.13 g (18.4 mmol) chloromethyl benzoate (Narchem) in 200 mL acetone was added 13.8 g (92.1 mmol) sodium iodide (Aldrich). The
25 resulting mixture was stirred at room temperature overnight. To this solution was added 3.5 g (12.3 mmol) 4-thia-1-azabicyclo[3,2,0]heptane-2-carboxylic acid, 6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, 4,4-dioxide, monosodium salt, (2S,5R,6R). The reaction mixture was
30 stirred overnight at room temperature. The reaction mixture was then concentrated in vacuo. Subsequently,

5 200 mL water and 200 mL ethyl acetate were added and the organic layer was separated and washed with brine, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated in vacuo. Chromatography on silica gel eluting with 1:1 ethyl acetate/hexanes afforded 8.62 g of an oil. The oil was then recrystallized from ethyl acetate/hexanes yielding 5.5 g of crystalline solid. The mother liquor still contained desired compound. Melting point = 102 °C. ¹H-NMR (DMSO) 7.97 (d, 2H, J=7.5 Hz), 7.70 (t, 1H, J=7.5 Hz), 7.56 (t, 2H, J=7.5 Hz), 6.12 (d, 1H, J=6 Hz), 5.99 (d, 1H, J=6 Hz), 5.19 (d, 1H, J=5 Hz), 5.17 (m, OH), 4.62 (s, 1H), 4.20 (m, 1H), 4.03 (m, 1H), 3.73 (m, 1H), 1.41 (s, 3H), 1.28 (s, 3H).

Example 4

20 Prodrug 2 4-Thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid, 6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, -1-(benzoyloxy)ethyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R)



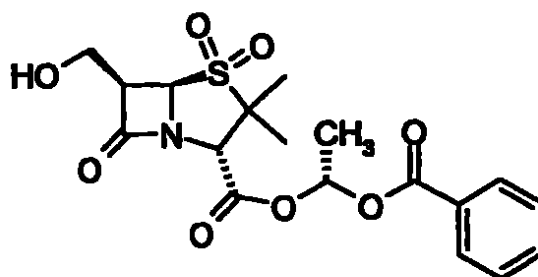
25 Prodrug 2, shown above, was prepared as follows:
To a stirred solution of 2.5 g (8.77 mmol) 4-thia-1-azabicyclo [3,2,0]heptane-2-carboxylic acid, 6-(hydroxy-methyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, 4,4-dioxide, monosodium salt, (2S,5R,6R) in 20 mL DMF was added 2.1 g (11.4 mmol) (+/-)-benzoic acid 1-chloro-ethyl ester

26

5 The resulting mixture was then heated to 35 °C for 3 days 40 mL water and 100 mL ethyl acetate were added and the layers were separated The aqueous layer was extracted with ethyl acetate The combined organic layers were washed with water, brine, dried over Na₂SO₄,
10 filtered and concentrated in vacuo Chromatography on silica gel eluting with 1 L of 20 % ethyl acetate/ 80 % hexanes followed by 1 L 1:1 ethyl acetate/ hexanes afforded 1.2 g of an oil that was recrystallized using ethyl acetate/ hexanes affording 1 g of white
15 crystalline solid (mixture of 2 diastereomers) Melting point = 133-135°C ¹H-NMR (d-DMSO, 400MHz) 7.96 (d, 2H, J=7.5 Hz), 7.71 (t, 1H, J=7.5 Hz), 7.55 (t, 2H, J=7.5 Hz), 7.07 (q, 0.5H, J=5.4 Hz), 7.03 (q, 0.5H, J=5.4 Hz), 5.19 (d, 1H, J=5 Hz), 5.15 (m, OH), 4.54 (s, 0.5H), 4.53 (s, 0.5H), 4.19 (m, 1H), 4.01 (m, 1H), 3.73 (m, 1H), 1.62 (d, 1.5H, J=5.4 Hz), 1.61 (d, 1.5H, J=5.4 Hz), 1.44 (s, 1.5H) 1.38 (m, 4.5H)

Example 5

25 Prodrug 3 4-Thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid, 6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, (1R)-1-(benzoyloxy)ethyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R)



5 Prodrug 3, shown above, was prepared by the method of Example 4 by substituting (S)-Benzoic acid 1-chloro-ethyl ester and only heating to 30 °C Melting Point = 154 °C ^{mp} ¹H NMR (d-DMSO, 400 MHz) 7.96 (d, J= 7.5 Hz, 2H), 7.71 (t, J= 7.5 Hz, 1H), 7.55 (t, J= 7.5 Hz, 2H), 10 7.03 (q, J= 5.4 Hz, 1H), 5.19 (d, J= 5 Hz, 1H), 5.15 (m, OH), 4.53 (s, 1H), 4.18 (m, 1H), 4.02 (m, 1H), 3.72 (m, 1H), 1.61 (d, J= 5.4 Hz, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.37 (s, 3H) [α]_D = +119 (c = 0.0121, CHCl₃)

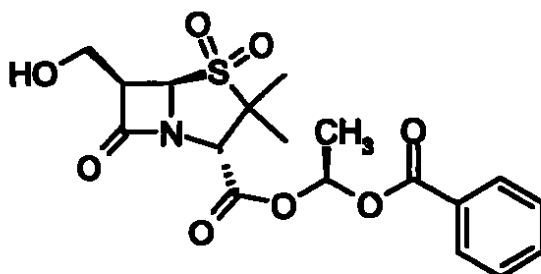
Prodrug 3 was also prepared by the following
15 alternative route 52.03 g (182.4 mmol) of 4-thia-1-azabicyclo [3,2,0]heptane-2-carboxylic acid, 6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-,4,4-dioxide, monosodium salt, (2S,5R,6R), 61.50 g (181.1 mmol) of tetrabutylammonium hydrogen sulfate, and 15.44 g (183.2
20 mmol) of sodium hydrogen carbonate were combined at 20 °C To this was added 400 mL dichloromethane while maintaining a temperature of 20 °C Next 100 mL of water was added The resulting mixture was stirred at 20 °C for 30 minutes Organic layer was separated and dried
25 over sodium sulfate, filter and concentrated in vacuo To the resulting residue was added 169.4 g (917.6 mmol) (S)-Benzoic acid 1-chloro-ethyl ester followed by 160 mL acetone The resulting solution was then stirred for 3 days at room temperature Reaction was concentrated in
30 vacuo and chromatographed on silica gel using 40-50 % ethyl acetate/ hexanes as eluent The resulting product was crystallized from ethanol followed by recrystallization from ethyl acetate/ hexanes

29

5 Filtration and drying in vacuo yielded 85.9 g of white crystalline product

Example 6

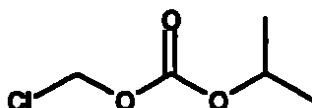
110 Prodrug 4 4-Thia-1'-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid, 6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, (1S)-1-(benzoyloxy)ethyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R)



Prodrug 4, shown above, was prepared by the method
 15 of Example 4 by substituting (R)-benzoic acid 1-chloro-ethyl ester and only heating to 30 °C ¹H-NMR (d-DMSO, 400MHz) 7.96 (d, 2H, J=7.5Hz), 7.71 (t, 1H, J=7.5Hz), 7.55 (t, 2H, J=7.5Hz), 7.07 (q, 1H, J=5.4Hz), 5.19 (d, 1H, J=5Hz), 5.15 (m, OH), 4.54 (s, 1H), 4.18 (m, 1H),
 20 4.01 (m, 1H), 3.72 (m, 1H), 1.62 (d, 3H, J=5.4Hz), 1.44 (s, 3H) 1.35 (s, 3H) MS (m/z) 410 (M⁻ -1, 100)

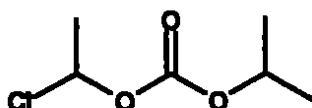
Example 7'

25 Preparation of Carbonic Acids For Synthesizing
Comparison Prodrugs of 4-thia-1-
azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid, 6-
(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, 4,4-dioxide
(2S,5R,6R)



5

Carbonic acid chloromethyl ester isopropyl ester, shown above, was prepared as follows To a stirred solution of 10 grams (75.2 mmol) chloromethyl chloroformate (Fluka) in 100 mL dichloromethane at 0 °C was added 5.8 mL (76 mmol) isopropyl alcohol followed by 11.93 g (97.8 mmol) dimethyl amino pyridine (Fluka). The resulting reaction mixture was then allowed to warm to room temperature and stir overnight. The reaction mixture is then diluted with water. The layers were then separated. The organic layer was washed with brine, dried over MgSO_4 , filtered and concentrated in vacuo yielding 6 grams of a clear oil. The oil was then carried forward as is $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) 5.72 (s, 2H), 4.95 (m, 1H, $J=6.2\text{ Hz}$), 1.33 (d, 6H, $J=6.2\text{ Hz}$).
 20 Note Better yields are achieved when only 1.05 equivalents of dimethyl amino pyridine are used



25

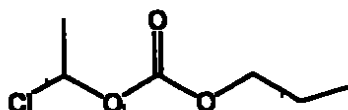
(+/-)-Carbonic acid 1-chloro-ethyl ester isopropyl ester was prepared analogous to carbonic acid chloromethyl ester isopropyl ester by substituting chloroethyl chloroformate (Fluka). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) 6.41 (q, 1H, $J=5.8$), 4.94 (m, 1H, $J=6.2\text{ Hz}$), 1.81 (d, 3H, $J=5.8$), 1.32 (m, 6H).

30

78

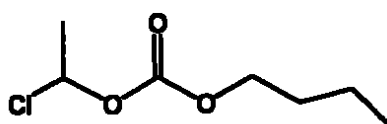
33

5

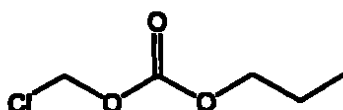


(+/-)-Carbonic acid 1-chloro-ethyl ester propyl ester was prepared analogous to carbonic acid chloromethyl ester isopropyl ester by substituting propanol (Aldrich) ¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) 6.41 (q, 1H, J=5.8), 4.17 (m, 2H), 1.81 (d, 3H, J=5.8), 1.71 (m, 2H), 0.96 (m, 3H)

15

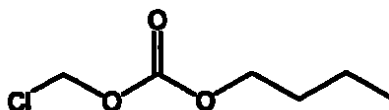


(+/-)-Carbonic acid butyl ester 1-chloro-ethyl ester was prepared analogous to carbonic acid chloromethyl ester isopropyl ester by substituting n-butanol (Aldrich) ¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) 6.41 (q, 1H, J=5.8), 4.20 (m, 2H), 1.81 (d, 3H, J=5.8), 1.67 (m, 2H), 1.41 (m, 2H), 0.93 (m, 3H)



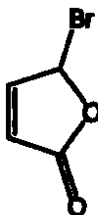
Carbonic acid chloromethyl ester propyl ester was prepared analogous to carbonic acid chloromethyl ester isopropyl ester by substituting propanol (Aldrich) ¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) 5.72 (s, 2H), 4.18 (t, 2H, J=6.6 Hz), 1.71 (m, 2H), 0.97 (t, 3H, J=7.5 Hz)

30

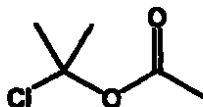


5

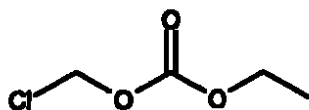
Carbonic acid butyl ester chloromethyl ester was prepared analogous to carbonic acid chloromethyl ester isopropyl ester by substituting n-butanol (Aldrich) ¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) 5.72 (s, 2H), 4.23 (t, 2H, J=6.6 Hz), 1.70 (m, 2H), 1.41 (m, 2H), 0.94 (t, 3H, J=7.5 Hz)



(+/-)-5-Bromo-5H-furan-2-one was prepared analogous to Tett Lett 22, 34, 1981, 3269-3272



Acetic acid-1-chloro-1-methyl ethyl ester was Prepared as in Neuenschwander et al, Helvetica Chimica 1978, 61 2047-2058



25

Carbonic acid chloromethyl ester ethyl ester was prepared analogous to carbonic acid chloromethyl ester isopropyl ester by substituting ethanol ¹H-NMR (CDCl₃,

5 400 MHz) 5.72 (s, 2H), 4.28 (q, 2H, J= 7.1 Hz), 1.34 (t, 3H, J=7.1 Hz)

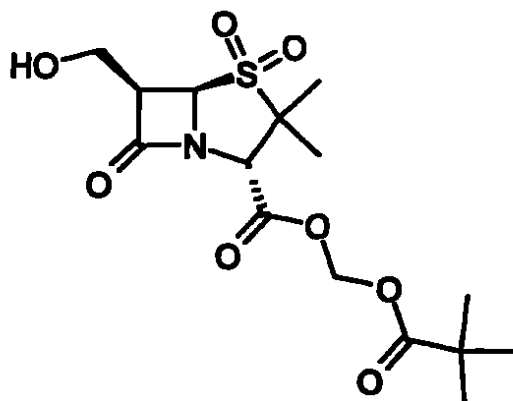
Example 8

Preparation of Comparison Prodrugs of

10 4-Thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid, 6-
(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, 4,4-dioxide
(2S,5R,6R)

Prodrugs of 4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid, 6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, 4,4-dioxide (2S,5R,6R) were prepared to demonstrate the unexpectedly improved bioavailability, and physical properties, of the prodrugs of the present invention. Of these Comparison Prodrugs, Comparison Prodrug 1 is described in Example 25 of U S Patent No 4,287,181. Comparison Prodrugs 2-15 are novel compounds but fall within the scope of the genus disclosed in U S Patent No 4,287,181.

15
20

5 Comparison Prodrug 1

1
10 4-Thia-1-azabicyclo[3 2 0]heptane-2-carboxylic acid, 6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, (2,2-dimethyl-1-oxopropoxy) methyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R)

To a stirred solution of 2.5 g (8.77 mmol) 4-thia-1-azabicyclo [3,2,0]heptane-2-carboxylic acid, 6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, 4,4-dioxide, monosodium salt, (2S,5R,6R) in 20 mL DMF was added (11.4 mmol) chloromethyl pivalate (Aldrich) and stirred at room temperature overnight. The resulting mixture was then heated to 35 °C for 3 days. 40 mL water and 100 mL ethyl acetate were added and the layers were separated. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate. The combined organic layers were washed with water, brine, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated in vacuo. Chromatography on silica gel eluting with 1 L of 20 % ethyl acetate/ 80 % hexanes followed by 1 L 1:1 ethyl acetate/ hexanes yielded an oil. Hexanes (15 mL) were added to the oil and the sample was placed in the refrigerator for 4 days at which point a solid precipitated. It was then concentrated in vacuo yielding 110 mg of white amorphous solid. Melting point

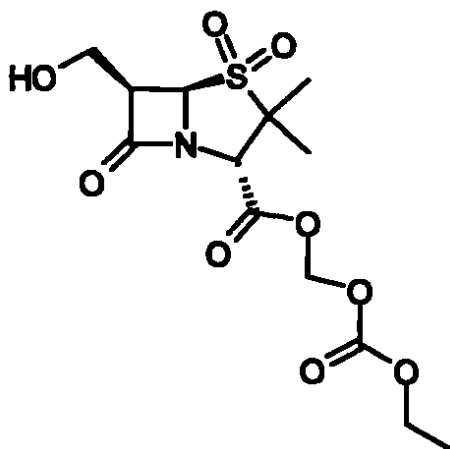
30

37

5 = 70-73 °C ¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) 5.94 (d, 1H, J=5.4 Hz), 5.70 (d, 1H, J=5.4 Hz), 4.69 (d, 1H, J=4.1 Hz), 4.48 (s, 1H), 4.30 (m, 1H), 4.15 (m, 2H), 1.55 (s, 3H), 1.41 (s, 3H), 1.21 (s, 9H)

Alternately, this compound, which is also known as
 10 pivaloyloxymethyl 6-β-hydroxymethylpenicillinate
 sulfone, can be prepared as described in Example 25 of
 U S Patent No 4,287,181

Comparison Prodrug 2



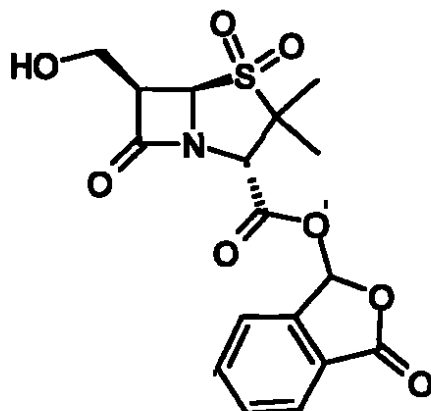
15

4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid, 6-
(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-
, [(ethoxycarbonyl)oxy] methyl ester, 4,4-dioxide
 20 (2S,5R,6R)

This prodrug was prepared according to the method
 used to prepare Comparison Prodrug 1 with the exception
 that carbonic acid chloromethyl ester ethyl ester was
 substituted for chloromethyl pivalate. Melting point
 25 (amorphous solid) = 103-105 °C ¹H-NMR (MeOD, 400 MHz)
 5.91 (d, 1H, J=5.8 Hz), 5.76 (d, 1H, J=5.8 Hz), 4.96 (d,

5 1H, J=4.6 Hz), 4.55 (s, 1H), 4.15-4.25 (m, 4H), 3.95 (m, 1H), 1.53 (s, 3H), 1.41 (s, 3H), 1.29 (t, 3H, J=7.1)

Comparison Prodrug 3

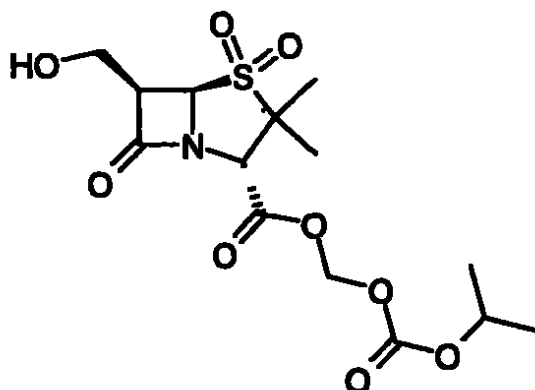


4-Thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid, 6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, 1,3-dihydro-3-oxo-1-isobenzofuranyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R)

15 This prodrug was prepared according to the method used to prepare Comparison Prodrug 1 with the exception that 3-bromo phthalide (Aldrich) was substituted for chloromethyl pivalate

Upon dilution of DMF with water the desired product
 20 precipitated as an amorphous solid and was filtered and dried in vacuo MS (m/z) 394 (M⁺) NMR represents a mixture of diastereomers ¹H-NMR (d-DMSO, 400 MHz)
 7.8-8.0 (m, 4H), 7.60 (s, 0.5H), 7.59 (s, 0.5H), 5.23 (m, 1H), 5.16 (OH), 4.71 (s, 0.5H), 4.67 (s, 0.5H), 4.20
 25 (m, 1H), 4.02 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 1.47 (s, 1.5H), 1.37 (s, 1.5H), 1.36 (s, 1.5H), 1.31 (s, 1.5H)

31

5 Comparison Prodrug 4

10 4-Thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid, 6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, [[(1-methylethoxy) carbonyl]oxy] methyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R)

To a stirred solution of (18.4 mmol) carbonic acid chloromethyl ester isopropyl ester in 200 mL acetone was added 13.8 g (92.1 mmol) sodium iodide (Aldrich). The

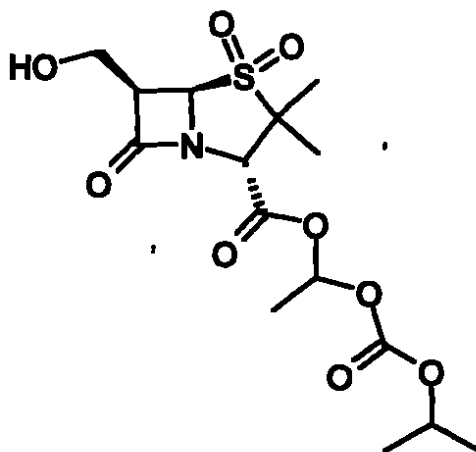
15 resulting mixture was stirred at room temperature overnight. To this solution was added 3.5 g (12.3 mmol) 4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid, 6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, 4,4-dioxide, monosodium salt, (2S,5R,6R) (US 4,287,181) and the

20 reaction mixture was stirred overnight at room temperature. The reaction mixture was then concentrated in vacuo. 200 mL water and 200 mL ethyl acetate were added and the organic layer was separated and washed with brine, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated

25 in vacuo. Chromatography on silica gel eluting with 1:1 ethyl acetate/hexanes. The final product was a reddish oil. MS (m/z) 378 (M⁻). ¹H-NMR (d-DMSO, 400 MHz) 5.86 (d, 1H, J=5.8 Hz), 5.74 (d, 1H, J=5.8 Hz), 5.20 (d, 1H, J=5.8 Hz), 5.17 (m, OH), 4.82 (m, 1H), 4.60 (s, 1H),

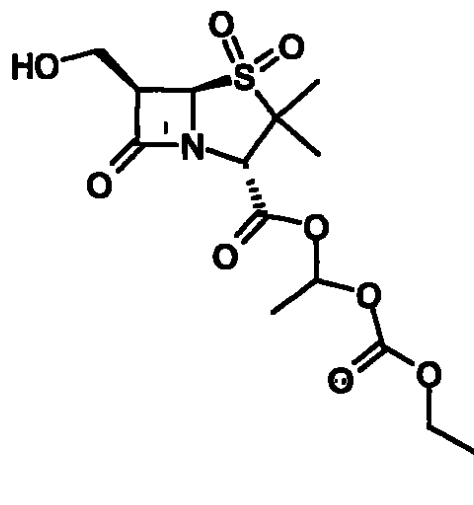
5 4 20 (m, 1H), 4 03 (m, 1H), 3 74 (m, 1H), 1 42 (s, 3H),
1 30 (s, 3H), 1 22 (d, 6H, J=6 2Hz)

Comparison Prodrug 5



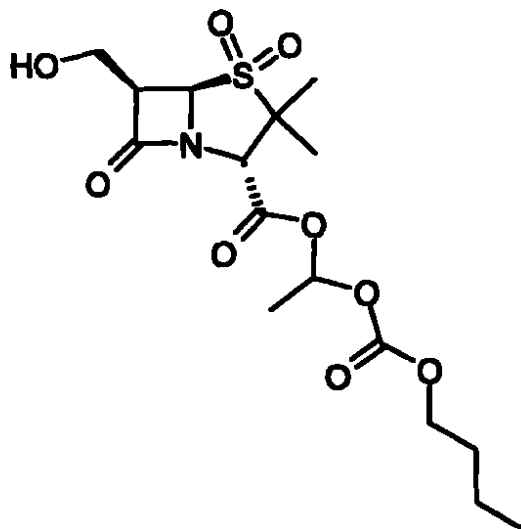
4-Thia-1-azabicyclo[3 2 0]heptane-2-carboxylic acid, 6-
(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-,1-[[[(1-methylethoxy)
carbonyl]oxy] ethyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R)

15 This prodrug was prepared according to the method
used to prepare Comparison Prodrug 4 with the exception
that carbonic acid 1-chloro-ethyl ester isopropyl ester
was substituted for carbonic acid chloromethyl ester
isopropyl ester MS (m/z) 392 (M⁻) NMR is of a reddish
20 oil that is a mixture of 2 diastereomers ¹H-NMR (d-DMSO,
400 MHz) 6 71 (q, 0 5H, J=5 4Hz), 6 67 (q, 0 5H,
J=5 4Hz), 5 20 (d, 1H, J=5Hz), 4 79 (m, 1H), 4 51 (s,
0 5H), 4 49 (s, 0 5H), 4 20 (m, 1H), 4 03 (m, 1H), 3 74
(m, 1H), 1 48 (m, 3H), 1 43 (s, 1 5H), 1 39 (s, 1 5H),
25 1 33 (m, 3H), 1 22 (m, 6H)

5 Comparison Prodrug 6

10 4-Thia-1-azabicyclo[3 2 0]heptane-2-carboxylic acid, 6-
(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, 1-
[(propoxycarbonyl)oxy]ethyl ester, 4,4-dioxide
(2S,5R,6R)

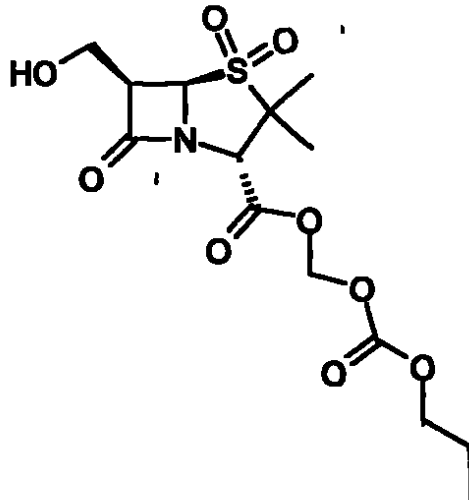
This prodrug was prepared according to the method used to prepare Comparison Prodrug 4 with the exception
 15 that carbonic acid 1-chloro-ethyl ester propyl ester was substituted for carbonic acid chloromethyl ester isopropyl ester MS (m/z) 392 (M⁻) NMR is of a yellow-reddish oil that is a mixture of 2 diastereomers ¹H-NMR (d-DMSO, 400 MHz) 6.72 (q, 0.5H, J=5.4Hz), 6.68 (q, 0.5H, J=5.4Hz), 5.20 (m, 1H), 4.51 (s, 0.5H), 4.49 (s, 0.5H), 4.20 (m, 1H), 4.03 (m, 3H), 3.74 (m, 1H), 1.59 (m, 2H), 1.48 (m, 3H), 1.39 (s, 1.5H), 1.34 (s, 1.5H), 1.22 (m, 3H), 0.86 (m, 3H)

5 Comparison Prodrug 7

10 4-Thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid, 6-
(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, 1-
[(butoxycarbonyl)oxy]ethyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R)

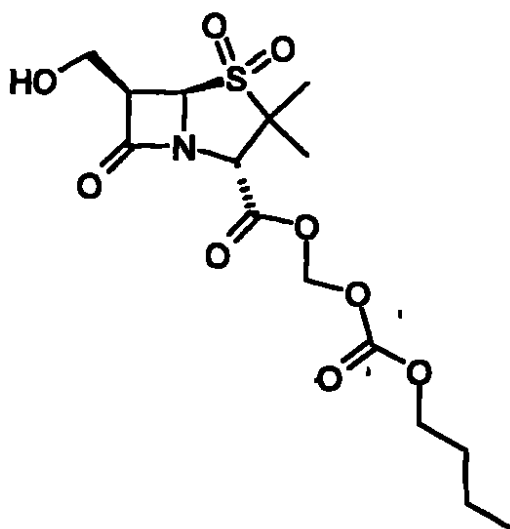
This prodrug was prepared according to the method used to prepare Comparison Prodrug 4 with the exception that carbonic acid butyl ester 1-chloro-ethyl ester was substituted for carbonic acid chloromethyl ester isopropyl ester. MS (m/z) 406 (M⁺). NMR is of a yellow-reddish oil that is a mixture of 2 diastereomers. ¹H-NMR (d-DMSO, 400 MHz): 6.72 (q, 0.5H, J=5.4 Hz), 6.68 (q, 0.5H, J=5.4 Hz), 5.20 (m, 1H), 4.51 (s, 0.5H), 4.49 (s, 0.5H), 4.20 (m, 1H), 4.03 (m, 3H), 3.74 (m, 1H), 1.59 (m, 2H), 1.15-1.55 (m, 11H), 0.86 (m, 3H).

33

5 Comparison Prodrug 8

10 4-Thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid, 6-
(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-
, [(propoxycarbonyl)oxy]methyl ester, 4,4-dioxide
(2S,5R,6R)

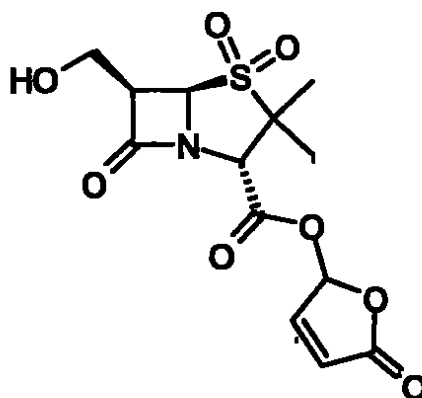
This prodrug was prepared according to the method used to p
 isopropyl ester. The final product was an amorphous
 white solid. MS (m/z) 378 (M⁺). ¹H-NMR (d-DMSO, 400
 15 MHz) 5.86 (d, 1H, J=6.2 Hz), 5.74 (d, 1H, J=6.2 Hz),
 5.20 (d, 1H, J=5 Hz), 5.17 (m, OH), 4.60 (s, 1H), 4.20
 (m, 1H), 4.10 (m, 2H), 4.03 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 1.60
 (m, 2H), 1.42 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 0.86 (t, 3H,
 J=7.5 Hz)

5 Comparison Prodrug 9

10 4-Thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid, 6-
(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-
, [(butoxycarbonyl)oxy]methyl ester, 4,4-dioxide
(2S,5R,6R)

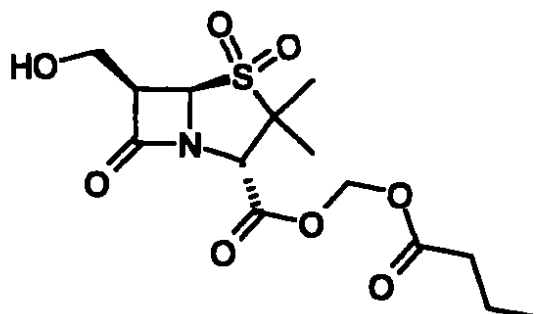
This prodrug was prepared according to the method used to prepare Comparison Prodrug 4 with the exception that carbonic acid butyl ester chloromethyl ester was substituted for carbonic acid chloromethyl ester isopropyl ester. The final product was an amorphous white solid. MS (m/z) 392 (M⁺). ¹H-NMR (d-DMSO, 400 MHz): 5.86 (d, 1H, J=6.2 Hz), 5.74 (d, 1H, J=6.2 Hz), 5.20 (d, 1H, J=5.5 Hz), 5.17 (m, OH), 4.60 (s, 1H), 4.20 (m, 1H), 4.15 (m, 2H), 4.03 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 1.60 (m, 2H), 1.42 (s, 3H), 1.30 (m, 2H), 1.30 (s, 3H), 0.86 (t, 3H, J=7.5 Hz).

34

5 Comparison Prodrug 10

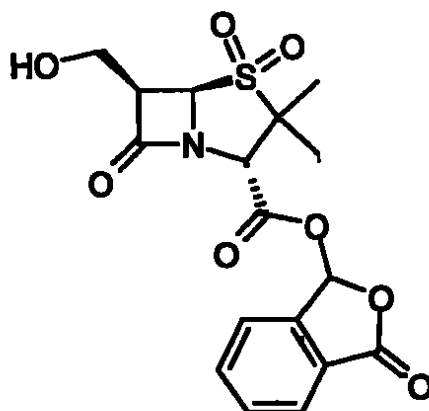
10 4-Thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid, 6-
(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, 2,5-dihydro-5-oxo-2-
furanyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R)

This prodrug was prepared according to the method used to prepare Comparison Prodrug 4 with the exception that 5-bromo-5H-furan-2-one was substituted for
 15 chloromethyl pivalate. MS (m/z) 344 (M⁺) NMR is a mixture of 2 diastereomers The product was an amorphous solid ¹H-NMR (d-DMSO, 400 MHz) 7.81 (m, 0.5H), 7.73 (m, 0.5H), 7.14 (m, 0.5H), 7.10 (m, 0.5H), 6.61 (m, 1H), 5.21 (m, 1H), 5.17 (m, OH), 4.67 (s,
 20 0.5H), 4.63 (s, 0.5H), 4.20 (m, 1H), 4.03 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 1.42 (s, 1.5H), 1.40 (s, 3H), 1.32 (s, 1.5H)

5 Comparison Prodrug 11

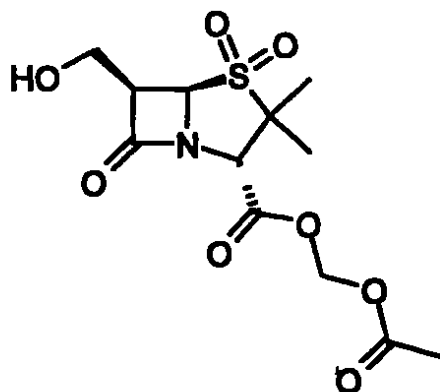
10 4-Thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid, 6-
(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, (1-oxobutoxy) methyl
ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R)

This prodrug was prepared according to the method used to prepare Comparison Prodrug 4 with the exception that chloromethyl butyrate (Acros organics) was substituted for chloromethyl pivalate. The product was a clear oil. MS (m/z) 362 (M⁺). ¹H-NMR (d-DMSO, 400 MHz) 5.86 (d, 1H, J=5.8 Hz), 5.74 (d, 1H, J=5.8 Hz), 5.20 (d, 1H, J=5.5 Hz), 5.17 (m, OH), 4.55 (s, 1H), 4.20 (m, 1H), 4.01 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 2.35 (m, 2H), 1.52 (m, 2H), 1.40 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 0.86 (m, 3H).

5 Comparison Prodrug 12

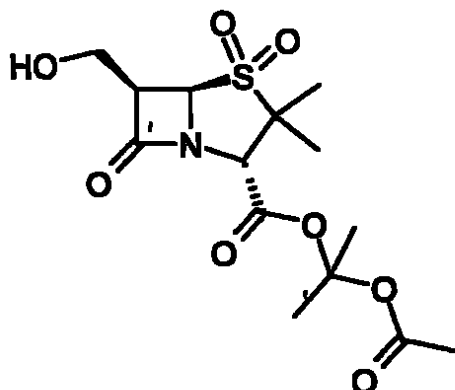
10 4-Thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid, 6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, 1,3-dihydro-3-oxo-1-isobenzofuranyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R)

Prepared by chromatography on silica gel of 275 mg of Comparison Prodrug 3 using 5% isopropyl alcohol/ 95% methylene chloride yielded 200mg of a mixture of
 15 diastereomers followed by 70 mg of a single, (more polar) diastereomer. The product was an amorphous solid. MS (m/z) 394 (M⁻). NMR represents the more polar diastereomer. ¹H-NMR (d-DMSO, 400 MHz): 7.95 (d, 1H, J=7.5 Hz), 7.90 (m, 1H), 7.81 (d, 1H, J=7.5 Hz), 7.77 (m, 1H), 7.60 (s, 1H), 5.23 (d, 1H, J=5 Hz), 5.16 (OH), 4.71 (s, 1H), 4.20 (m, 1H), 4.02 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 1.47 (s, 3H), 1.37 (s, 3H).

5 Comparison Prodrug 13

10 4-Thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid, 6-
(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, (acetyloxy) methyl
ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R)

This prodrug was prepared according to the method used to prepare Comparison Prodrug 1 with the exception that bromomethyl acetate (Aldrich) was substituted for
 15 chloromethyl pivalate. The final product was a viscous oil. MS (m/z) 334 (M⁺). ¹H-NMR (d-DMSO, 400 MHz)
 5.82 (d, 1H, J=6.2 Hz), 5.72 (d, 1H, J=6.2 Hz), 5.19 (d, 1H, J=5 Hz), 5.17 (m, OH), 4.55 (s, 1H), 4.20 (m, 1H),
 4.01 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 2.08 (s, 3H), 1.40 (s, 3H),
 20 1.30 (s, 3H).

5 Comparison Prodrug 14

10 4-Thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid, 6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, 1-(acetyloxy)-1-methylethyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R)

This prodrug was prepared according to the method used to prepare Comparison Prodrug 1 with the exception that acetic acid-1-chloro-1-methyl ethyl ester was substituted for chloromethyl pivalate. The final product was an amorphous solid. MS (m/z) 362 (M⁺). ¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) 4.68 (d, 1H, J=5.0 Hz), 4.40 (s, 1H), 4.31 (m, 1H), 4.15 (m, 2H), 2.06 (s, 3H), 1.92 (s, 3H), 1.82 (s, 3H), 1.58 (s, 3H), 1.47 (s, 3H).

20

Example 9Chemical (pH), Suspension and Plasma Stability

The stability of Prodrug 3 was evaluated with regards to (1) chemical stability while in solutions of various pH,

(2) maintaining potency while in suspension, and (3) chemical stability in plasmas from various mammals to assess the ability of Prodrug 3 to resist hydrolysis

5 prior to absorption and then to rapidly hydrolyze to form 6- β -HMPAS after absorption

Chemical stability of Prodrug 3, in solution, as compared to the sodium salt of 6- β -HMPAS (hereinafter "Na HPMAS") and lithium clavulanate in solution, was
10 assessed at pH 1, 2, 2.5, 4.0, 5.0, 6.5, and 7.4. Buffers were appropriately formulated to achieve the desired pH of each incubation. The incubation consisted of 990 μ l of the appropriate pH buffer and was initiated with the addition of 10 μ l of a 10 mM stock of compound
15 in 100% methanol (final concentration = 100 μ M). Serial samples (20 μ l) were taken at 0, 10, 20, 40, 60, 120, and 240 minutes by an auto injector and injected directly onto an HPLC in-line with a LC/MS single quadrupole mass spectrometer system used for analyte
20 detection. The temperature of the incubation was regulated with a 96-well heat block. Incubations were performed at 25°C and 37°C. The LC/MS system was run in the negative ion mode. Selective ion monitoring of the appropriate $[M-H]^-$ for each analyte was used for
25 detection and quantitation of remaining compound at each timepoint. The peak response at each time point was expressed as a percentage of that obtained at time = 0. A degradation rate constant (k_d) was obtained by regression of these percentages from time = 0 minutes to
30 time = 240 minutes. An apparent first-order half-life could then be estimated as $\ln 2/k_d$. These determinations were completed in duplicate and the average was reported.

37

5 As shown in the following table, Prodrug 3 demonstrated excellent acid stability and adequate stability near neutral pH for absorption. Also, Na-HMPAS demonstrated superior solution stability compared to clavulanate, particularly at low pH.

10 The stability of Prodrug 3 in suspension (unbuffered in 0.5% methylcellulose at 25 °C) was also evaluated to determine the effect of time in suspension upon potency. As shown below, Prodrug 3 maintained greater than 90% of its potency after storage at room
15 temperature for 10 days. By contrast, only 40% of potency is retained with clavulanate in the Augmentin suspension if left at room temperature for the same time period (See Mehta, A C, S Hart-Davies, J Payne and R W Lacey, 1994 Stability of amoxicillin and
20 potassium clavulanate in a co-amoxicillin-clavulanate oral suspension *J Clin Pharm Ther* 19 313-315).

5

	pH						
Solution	7 4	6 5	5 0	4 0	2 5	1 2	
Stability (100 µM)					pH		
	Half-life (Hours)						
Prodrug 3 (25 °C)	2 7	>24	>24	>24	>24	>24	
Prodrug 3 (37 °C)	0 6	4 5	>24	>24	>24	>24	
Na-HMPAS (25 °C)	>24	>24	>24	>24	>24	>24	
Na-HMPAS (37 °C)	>24	>24	>24	>24	>24	>24	
Clavulanate (25 °C)	>24	>24	>24	>24	1 2	0 6	
Clavulanate (37 °C)	>24	>24	>24	>24	0 9	ND	
Prodrug 3 Suspension Stability	Day 1	Day 3	Day 5	Day 7	Day 10		
	Potency (percent) *						
1 51 mg/ml** (10 mg/kg rat dose preparation)	ND	103	98	104	91**	*	

*Potency assessed as a percentage of the target concentration as assayed by LC/MS of solubilized standards Values represent an average of duplicate determinations ND = not determined

** pH of initial suspensions ~6.8 and fell to 4.7 by day 10

*** diastereomer mixture essentially unchanged ~ 95.5

15 Plasma stability of Prodrug 3, Na-HMPAS and lithium clavulanate were determined, in mouse, rat, dog, monkey

38

5 and human plasma, using plasma that was prepared and
subjected to one freeze/thaw cycle prior to use. The
incubation consisted of 990 μ l of plasma preincubated
for 5 minutes at 37 °C in a 96-well heat block. The
incubation was initiated with the addition of 10 μ l of a
10 mM stock of compound in 100% methanol. Serial
10 aliquots (100 μ l) were removed and transferred to 200 μ l
of 75/25 acetonitrile/3% perchloric acid at 0, 1, 2, 5,
10, 20, 30, and 60 minutes. The samples were
centrifuged, the supernatants transferred to injection
15 vials, and 20 μ l was injected onto the HPLC in-line with
a LC/MS single quadropole mass spectrometer. The LC/MS
system was run in the negative ion mode. Selective ion
monitoring of the appropriate $[M-H]^-$ for each analyte was
used for detection and quantitation of remaining
20 compound at each timepoint. The peak response at each
time point was expressed as a percentage of that
obtained at time = 0. A degradation rate constant (k_d)
was obtained by regression of these percentages from
time = 0 minutes to time = 240 minutes. An apparent
25 first-order half-life was then be estimated as $\ln 2/k_d$.
These determinations were completed in duplicate and the
average was reported as shown below.

5

Plasma Stability (100 µM)	Mouse	Rat	Dog	Monkey "	Human
	Half-life				
Prodrug 3 37 °C	2 8 min	<2 0 min	2 8 min	3 6 min	<2 0 min
Na-HMPAS 37 °C	3 9 hr	3 4 hr	> 4 hr	>4 hr	>4 hr
Clavulanate 37 °C	>4 hr	3 3 hr	2 8 hr	3 6 hr	2 6 hr

Prodrug 3 demonstrated excellent acid stability and adequate stability near neutral pH for absorption. Hydrolysis rates of Prodrug 3 in the plasma of all species tested, demonstrate efficient enzymatic hydrolysis to yield 6-β-HMPAS upon absorption. Na-HMPAS demonstrated superior solution stability compared to clavulanate, particularly at low pH. Although both compounds are labile in plasma, Na-HMPAS shows improved human plasma stability.

Example 10

Inhibitory activity of Prodrug 3 at intestinal pH values

It is thought that clavulanate produces diarrhea in the human GI tract since it combines with residual amoxicillin to selectively kill essential components of the normal flora. Clavulanate is not a prodrug, and

5 thus the 40% that remains unabsorbed from the intestine
is the same active molecule as the 60% that is absorbed
into circulation. While the pH of the stomach and
proximal small intestine is acidic, in a study by Berry,
V et al, *Efficacy of a pharmacokinetically enhanced*
110 *formulation of amoxicillin/clavulanate against*
experimental respiratory tract infection in rats caused
by Streptococcus pneumoniae, Abstract B988, 41st
Interscience Conference on Antimicrobial Agents and
Chemotherapy, December 16-19th, 2001 Chicago, IL, found
15 that the median pH of 24h stool samples collected from
subjects with diarrhea was 6.4 (range 5.4-7.8)

As shown in Example 7, Prodrug 3 is very stable and
does not readily convert to 6- β -HMPAS at pH < 6.5. In
order to compare the beta-lactamase inhibitory activity
20 of Prodrug 3 and Na-HMPAS under pH conditions found in
the human large intestine, we determined the IC₅₀ of both
compounds against a TEM-1 beta-lactamase at pH 6.0 and
7.0. The data indicate that at pH 6.0, where there
should be no conversion of the prodrug to the active
25 form of the inhibitor, Prodrug 3 is inactive against
TEM-1 beta-lactamase (IC₅₀ >100 μ M). In contrast, at pH
7.0 where conversion of the prodrug to active inhibitor
occurs with a half-life of 33 minutes, the resulting 6-
 β -HMPAS generated results in a much greater level of
30 inhibition of this beta-lactamase than was observed at
pH 6.0

5

		IC ₅₀ (μM)	
		Prodrug 3	6-β-HMPAS
E coli TEM-1 pH 6 0	> 100		0 37
10 E coli TEM-1 pH 7 0	2 2		0 12

Example 11Absorption (Oral In Vivo Bioavailability)

As Prodrug 3 has a solution half-life of 30 minutes at neutral pH and, in the presence of esterases, the prodrug is hydrolyzed within a few minutes, an *in vitro* assessment using the human Caco-2 cell line was determined to be inappropriate to measure prodrug absorption. Instead, an *in vivo* model for absorption was found to be more relevant for assessing absorption of the prodrugs of the present invention. Further, the correlation of fraction absorbed in the rat to that of human has been studied in several marketed agents and the correlation has been shown to be quite good (corr = 0.971) (See Chiou, W L and A Barve, 1998 Linear correlation of the fraction of oral dose absorbed of 64 drugs between humans and rats *Pharm Res* 15:1792-1795). Based upon this correlation, the rat was used to predict human absorption. It should be further appreciated that 6-β-HMPAS demonstrated minimal hepatic extraction as suggested by rat and human hepatocytes. Thus, oral bioavailability assessments in rats should correlate well with the fraction absorbed in humans.

Estimates of oral bioavailability were conducted on

40

5 Na-HMPAS, Prodrugs 1, 2, 3 and 4, as well as the
fourteen comparison prodrugs of Example 8, each using
sets of three Sprague-Dawley rats (200-225 gm) equipped
with surgically implanted jugular vein catheters. The
selection of dose vehicles, for the oral studies,
110 depended upon the physical state of the compound being
tested. All compounds that were orally administered,
with the exception of Prodrug 1, were in the form of an
oil or an amorphous solid. As such, these compounds
were administered in a solution (PO) dosage form using a
15 70/20/10 water/Chremophore/ethanol vehicle.

The oral prodrug doses were prepared to deliver a
10 mg/kg equivalent dose of 6- β -HMPAS at a dose volume
of 10 ml/kg. Na-HMPAS was administered intravenously
at a dose of 10 mg/kg to establish bioavailability
20 estimates (6- β -HMPAS equivalent).

Blood samples were taken at 0, 15, 30 min, 1, 2,
3, and 5 hr after dosing. The samples were then
processed for plasma and stored at -20 °C prior to
analysis. Samples were assayed for 6- β -HMPAS, as
25 described below, and then the mean concentration versus
time profiles for oral and intravenous administration
were determined. The area under the plasma
concentration versus time curve ($AUC_{0-t_{last}}$) was
calculated from time 0 to the last quantifiable
30 timepoint using linear trapezoidal approximation. The
terminal elimination rate constant (K_{el}) was estimated by
regression of the plasma concentration data from the
apparent beginning of the elimination phase to the last
sample point. An elimination half-life was estimated as
35 $\ln 2/K_{el}$. The area from t_{last} to infinity ($AUC_{t_{last}-\infty}$)

- 5 was estimated at $C_{est,t_{last}}/K_e$, where $C_{est,t_{last}}$ represents the estimated concentration at the last time point in which drug was quantified based on the regression analysis. The total area under the curve ($AUC_{0-\infty}$) was estimated as the sum of $AUC_{0-t_{last}}$ and $AUC_{t_{last}-\infty}$. Bioavailability (F) was expressed as $AUC_{(0-\infty)po} \times Dose_{iv} / AUC_{(0-\infty)iv} \times Dose_{po}$.
- 10 The mean bioavailabilities found were as shown below

5

Compound	Mean Bioavailability	Standard Deviation
Na-HMPAS	6 0	1 6
Prodrug 1	113 1	10 7
Prodrug 2	102 0	11 1
Prodrug 3	92 4	6 0
Prodrug 4	111 1	8 8
Comparison Prodrug 1	55 4	4 7
Comparison Prodrug 2	6 2	1 0
Comparison Prodrug 3	27 2	2 6
Comparison Prodrug 4	6 8	0 9
Comparison Prodrug 5	46 5	1 4
Comparison Prodrug 6	60 9	6 1
Comparison Prodrug 7	40 3	10 8
Comparison Prodrug 8	7 9	1 5
Comparison Prodrug 9	12 3	2 0
Comparison Prodrug 10	10 9	1 7
Comparison Prodrug 11	33 1	5 4
Comparison Prodrug 12	20 4	1 0
Comparison Prodrug 13	37 6	3 7
Comparison Prodrug 14	15 4	3 9

As shown above, the prodrugs of the present invention have significantly better bioavailabilities than does 6- β -HMPAS, the previously known Comparison

- 5 Prodrug 1, or the prior generically disclosed prodrugs
(Comparison Prodrugs 2-14)

Assay Description

10 In this assay, the analytes of interest were back
extracted into the aqueous phase following acetonitrile
precipitation and treatment with chloroform. This
provided approximately a 2 fold concentration factor
without having an evaporation and reconstitution step.

15 Detection was afforded through the use of LC/MS/MS
in negative ion operation. Single quadrapole operation,
was inadequate for selective detection of the analyte.

The pH of the loading solvent (95:5:20 mM ammonium
formate/acetonitrile, solvent A) was ~ 5.0.

20 The analytical column was an Phenomenex AQUA C18
4.6 x 50 mm.

All sample preparation was completed in 96-well 1.2
mL MARSH-tubes. The samples were prepared as follows:
The Plasma sample (200 µl) was added to 400 µl of 95:5
acetonitrile:20 mM ammonium formate containing 5 µg/ml
25 sulbactam as an internal standard. The samples were
centrifuged at 3000 rpm for 10 min in a table top
centrifuge. The supernatant (400 µl) was then
transferred to clean 1.2 mL MARSH[®] tubes. Chloroform
(600 µl) was added to the samples, which were then
30 mixed, and subsequently centrifuged at 3000 rpm for 10
minutes. The transferred aqueous phase was then removed
from top (~ 100 µl) and then analyzed.

Mass Spectrometry Conditions

- 5 Mass Spectrometer API-3000 operated in negative ion
mode using Turbo spray (electrospray)
Ionization voltage -3000V
Orifice voltage -25 eV
Collision energy 30 eV
110 Nebulization and Heat gas adjusted as needed

Reaction Monitoring

- 6- β -HMPAS 262 => 218
Sulbactam (IS) 232 => 140
15 Amoxicillin 364 => 223
Clavulanic acid 198 => 136
Run time 3 min
RT - 2 min for all analytes
Injection Volume 20 μ l

20 HPLC Conditions

- Solvent A 95 5 20 mM ammonium formate acetonitrile
Solvent B 95 5 acetonitrile 20 mM ammonium formate
Analytical Flow 1 ml/min
Flow to Mass Spectrometer ~100 μ l/min

25 Ballistic Gradient Schedule

- 0 - 0.5 min 100% A
0.5 - 1 min 100% A to 100% B
1 - 1.5 min 100% B
1.5 - 2.0 min 100% B to 100% A
30 LLOQ = 0.1 μ g/ml for 6- β -HMPAS and amoxicillin, 0.5
 μ g/ml clavulanic acid
ULOQ = 50 μ g/ml (All)
Regression = linear 1/x weighting
Column life ~ 300 - 400 injections

5 Portal Vein Studies in Rats Systemic exposure of Prodrug 3 was also assessed in portal vein cannulated rats following oral administration of the prodrug at a dose of 100 mg/kg. Whole blood aliquots were stabilized in ice cold acid immediately upon sampling at 5, 15 and 10 30 minutes post dose. No levels of Prodrug 3 were detected in any of the samples (assay LLOQ of 100 ng/ml). These results suggest that upon absorption, Prodrug 3 undergoes rapid hydrolysis to yield 6- β -HMPAS prior to exposure to the liver and circulation 15 throughout the body.

Example 12

In Vitro Screens

Biochemical activity against β -lactamases from , 20 community respiratory pathogens. Only three beta-lactamase inhibitor molecules exist in the marketplace: sulbactam, clavulanate and tazobactam. All three inhibit type A penicillinases found in a broad range of bacteria. Of these, only clavulanate is directed toward 25 oral therapy of community respiratory infections. Na-HMPAS was tested against a collection of cell-free penicillinases commonly found in *H. influenzae* and *M. catarrhalis* that are resistant to ampicillin. The data in the following table indicates that Na-HMPAS is 30 equivalent to lithium clavulanate against the ROB-1 and TEM-1 enzymes from *H. influenzae*. All three beta-lactamase inhibitors were very potent against the BRO-1 and BRO-2 penicillinases found in *M. catarrhalis*, with sulbactam being the most active (Table 1). A broader 35 analysis of β -lactamases from 30 recent clinical

5 isolates of *M. catarrhalis* showed that Na-HMPAS was effective at inhibiting the BRO-1, and BRO-2 enzymes from all of these strains, with an average IC₅₀ of 0.19 µM

IC ₅₀ s of β-lactamase inhibitors against β-lactamases in cell extracts				
	β-lactamase	IC ₅₀ (µM) *		
Strains	Type	Sulbactam	6-β-HMPAS	Clavulanate
<i>H. influenzae</i> ATCC43334	ROB-1	3.40	0.01	0.04
<i>H. influenzae</i> 54A1173	TEM-1	4.78	0.03	0.02
<i>M. catarrhalis</i> 87A1178 ATCC43617	BRO-2	0.03	0.32	0.11
<i>M. catarrhalis</i> 87A1115	BRO-1	0.011	0.143	0.14

*All inhibitory values are determined against the
10 chromogenic cephalosporin in a colorimetric assay

Biochemical activity against β-lactamases from other pathogens, including those associated with skin infections
Na-HMPAS was comparable to clavulanate in
15 terms of its inhibitory potency against a wide variety of TEM extended spectrum beta-lactamases (ESBLs) while Na-HMPAS and clavulanate were usually comparable in potency against ESBLs

Inhibition of selected extended spectrum β -lactamases (ESBLs) (IC_{50} , μM)				
Inhibitor				
	β -lactamase	IC_{50} (μM) *		
Strains	Type	Sulbactam	6- β -HMPAS	Clavulanate
<i>E. coli</i> ATCC35218	TEM-1	6.85	0.14	0.05
<i>E. coli</i> 51A1101	TEM-1	4.76	0.07	0.02
<i>K. pneumoniae</i> CF104	TEM-3	0.55	<0.003	<0.003
<i>K. pneumoniae</i> CF504	TEM-5	4.68	0.08	<0.003
<i>K. pneumoniae</i> B I-1	TEM-10	23.19	0.39	>100
<i>K. pneumoniae</i> MCV37	TEM-12	5.86	0.27	<0.003
<i>K. pneumoniae</i> CF1304	TEM-16	5.80	0.09	0.06
<i>K. pneumoniae</i> E264	TEM-17	10.36	0.66	0.004
<i>K. pneumoniae</i> CF1104	TEM-24	10.48	7.13	0.01
<i>E. coli</i> CF1609	TEM-25	2.58	0.04	0.02
<i>K. pneumoniae</i> 5657	TEM-26	0.56	0.08	0.02
<i>Serratia</i> S6	Sme-I	15.65	0.68	19.55

*All inhibitory values are determined against the chromogenic cephalosporin in a colorimetric assay

In general, it can be concluded that Na-HMPAS is comparable to lithium clavulanate

JAL
44

5

Susceptability assay for β -lactamase producing species*H influenzae* and *M catarrhalis* The *in vitro* activityof various ratios of 6- β -HMPAS and amoxicillin was assessed using clinical isolates of *H influenzae* and *M*

10

catarrhalis that produce β -lactamase The NCCLS

(National Committee for Clinical Laboratory Standards)

approved susceptibility method for Augmentin uses a

fixed 2:1 ratio of amoxicillin/clavulanate The results

indicated that for 46 beta-lactamase (+) strains of *H*

15

influenzae, the amoxicillin MIC₅₀ and MIC₉₀ values (i.e.,

the minimal inhibitory concentrations required to

prevent the growth of either 50% or 90% of the isolates

tested) for both amoxicillin/clavulanate and

amoxicillin/6- β -HMPAS were 1 and 2 μ g/ml, respectively,

20

while the values for 2:1 amoxicillin/sulbactam were 4

and 8 μ g/ml Note that the numbers refer to the

amoxicillin concentration in the mixture

For 48 isolates of *M catarrhalis*, the MIC₅₀ andMIC₉₀ values for amoxicillin/clavulanate were ≤ 0.125 and

25

0.25 μ g/ml, and 0.5 and 1.0 μ g/ml for amoxicillin/6- β -

HMPAS, respectively Values for amoxicillin/sulbactam

(2:1) were 0.25 and 1.0 μ g/ml Thus, MICs obtained with

whole cells do not always correlate well with inhibitor

potencies against cell-free beta-lactamases, as

30

sulbactam was consistently more potent against the BRO-

1/2 enzymes found in *M catarrhalis*Susceptability assay for Non- β -lactamase producingspecies *Streptococcus pneumoniae* The *in vitro* activity

5 of the combination was compared with that observed with amoxicillin alone against clinical isolates of *S pneumoniae* that were classified as penicillin-susceptible, -intermediate and -resistant. Some of these strains showed high-level resistance to penicillin and amoxicillin with MICs in the 4-8 µg/ml range. As expected for a pathogen with PBP-based resistance, results for isolates of *S pneumoniae* confirmed that the presence of inhibitors had no influence on amoxicillin MICs.

15 The amoxicillin MIC₅₀s and MIC₉₀s for 21 penicillin-resistant strains (penicillin MICs from 1-8 µg/ml) were 2 and 4 µg/ml for amoxicillin alone and for all beta-lactamase inhibitor combinations tested at amoxicillin/inhibitor ratios of 2:1, 7:1 and 14:1.

20 Finally, all combinations were tested against a group of 21 penicillin-intermediate *S pneumoniae* and 12 penicillin-susceptible isolates. Again, all of the MICs in both groups reflected the amoxicillin component of the combination. Amoxicillin MICs for the intermediate group ranged from 0.03 to 1 µg/ml and the MICs for the susceptible group were ≤0.0156 to 0.06 µg/ml.

25

Assay Methodology The assay was performed according to the method described in NCCLS Document M7-A4, December 1997 and M100-S12, 2002, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically- Approved Standard.

30

PREPARATION OF FROZEN STOCKS *H influenzae* are grown on chocolate agar plates. Colonies are suspended

45

5 into Haemophilus test medium (HTM, Remel Diagnostics)
which has been pH adjusted to 7.4, with 1N NaOH and
filter sterilized. This is mixed with 50% glycerol to a
final concentration of 20% glycerol. Growth of
Streptococcus pneumoniae and *Moraxella catarrhalis* is
110 scraped off sheep blood agar plates and placed into
Mueller Hinton broth plus 5% lysed sheep blood. For
freezing, 50% glycerol is added to a final concentration
of 20%. All are frozen at -70 °C.

PREPARATION OF DRUG PLATES 96-well microtiter
15 plates are used for the drug dilutions. All drugs are,
weighed out in sufficient quantity to make a 4X working
stock solution. Drug is solubilized in DMSO or other
appropriate solvent, dissolved to volume in testing
medium, and 100 µl is serially diluted twofold through a
20 series of 10 drug wells each containing an initial
volume of 100 µl medium [columns 1 through 10] and 1
drug well with no inoculum [column 11]. Column 12 is a
bacterial inoculum control well containing no drug.
Final volume in each well is 100 µl.

25 Drug plates for *H. influenzae* are serially diluted
in HTM which has been pH adjusted to 7.4 with 1 N NaOH
and filter sterilized. The other two species are
diluted in Mueller Hinton broth plus 5% lysed horse
blood. Control compounds are run with each assay. Drug
30 plates are frozen at -70 °C and thawed on the day of
use.

GROWTH OF INOCULUM *H. influenzae* are grown
overnight on Mueller Hinton agar plates with 1%
hemoglobin and with 1% GCHI [chocolate agar plates] in a
35 5% CO₂ incubator overnight at 37 °C. *S. pneumoniae* and

5 *M catarrhalis* are grown on Mueller Hinton agar containing 5% sheep blood under the same conditions

PREPARATION OF INOCULUM Overnight growth from an agar plate was taken and resuspended in the appropriate test medium All suspensions were adjusted to a standard OD by spectrophotometry on the day of the assay using Haemophilus test medium (HTM) broth for *H influenzae* or cation supplemented Mueller Hinton broth plus 5% lysed horse blood (for *S pneumoniae* and *M catarrhalis*) to a turbidity corresponding to a 0.5 McFarland standard suspension (about 1 to 2×10^8 CFU/ml) This suspension had an OD₆₂₅ of 0.14 To obtain a final inoculum of $2-7 \times 10^5$ cfu/ml in the well (final volume of 200 μ l), the following dilutions were made from the McFarland stock

20 All *H influenzae* strains were diluted 1/100 in HTM

All *S pneumoniae* and *M catarrhalis* were diluted 1/100 in cation supplemented Mueller Hinton broth containing 5% lysed horse blood

25 INOCULATION OF PLATES 100 μ l of the diluted inoculum is added to each 100 μ l of diluted drug in the sterile test plate Total volume for the test is 200 μ l per well Strains that have been diluted appropriately (see above) into microtiter wells will have a final inoculum of 2 to 7×10^5 CFU/ml These cell inocula are confirmed on random plates by performing viability counts of the wells at zero time This is easily done by removing 10 μ l from the well and diluting it in 10 ml of sterile, physiological saline (1/1000 dilution)

5 After vortexing, 100 μ l of the diluted suspension is spread on a blood agar plate or a chocolate agar plate in the case of *H influenzae*. Following incubation, the presence of 50 colonies indicates an inoculum density of 5×10^5 CFU/ml. Cultures used for inocula into the
10 microtiter trays are streaked for single colonies and observed for typical colony morphology.

INCUBATION OF MICROTITER PLATES After placing plastic lids on the plates, microtiter plates are incubated in plastic boxes in a controlled humidity
15 incubator to prevent evaporation from the wells. Plates are stacked no more than 4 high. All microtiter plates are incubated aerobically at 35 °C for 24 hours.

All plates are incubated and read after 24 hours and results are recorded only if the control drugs for
20 the NCCLS type strain *H influenzae* ATCC 49766 and *S pneumoniae* ATCC 49619 is within the published range (NCCLS, M100-S12, 2002).

Example 13

25 In Vivo Efficacy

The in vivo β -lactamase inhibitory activity of 6- β -HMPAS was determined for the β -lactamase (+) pathogens that were evaluated in our pre-clinical infection models. The data for these selected isolates indicated
30 that 6- β -HMPAS is generally equivalent to clavulanate for β -lactamases from the respiratory pathogens *H influenzae* and *M catarrhalis*.

Gerbil otitis media model In this model, Mongolian gerbils were challenged with *S pneumoniae* or *H influenzae*. Female Mongolian gerbils (50-60 g) were
35

5 challenged with log 5-6 CFU of *H influenzae* or *S pneumoniae* delivered in a 50 μ L volume into the left tympanic bulla. Eighteen hours post-challenge, a dose-response therapeutic regimen was initiated (t i d^{bid} for 2 days) with the combination of Amoxicillin and Prodrug 3 (7 1) delivering the dosage in a 500 μ L volume of 0.5% methylcellulose vehicle. ED₅₀s were calculated from bacterial clearance data on day 4 post-challenge.

The amoxicillin/Prodrug 3 and Augmentin combinations were equally effective in clearing this pathogen with ED₅₀s of 6-10 mg/kg, and outcomes for the 7 1 and 14 1 combinations were equivalent. Amoxicillin as a single agent failed against this pathogen.

Murine systemic infection model In this model, Female CF-1 or DBA/2 mice (18-20g) were challenged intraperitoneally with log 2-6 CFU of *S pneumoniae*, *S aureus* or *M catarrhalis* suspended in broth, 10% mucin or 3% Brewers yeast, respectively, and delivered in a 500 μ L volume. One hour post-challenge, a dose-response therapeutic regimen was initiated (b i d for 1 day) with the combination of Amoxicillin/Prodrug 3 (7 1) delivering the dosage in a 200 μ L volume of 0.5% methylcellulose vehicle. ED₅₀s were calculated from the survival data on day 4 post-challenge.

The combination of amoxicillin/Prodrug 3 was effective in protecting mice from death from all of these β -lactamase (+) strains. In general, the activity of the amoxicillin/Prodrug 3 combination was comparable to that of Augmentin (i.e. equivalent versus *H influenzae* and slightly less against *M catarrhalis*). The 7 1 combinations were generally more effective than

H7

5 the 14 1 combinations Data for the skin and skin
structure pathogens *S aureus*, *K pneumoniae* and *E coli*
are also included in the following tables

Murine pneumonia model In this model, Female CF-1
(18-20g) were challenged intranasally with log 5-6 CFU
110 of *S pneumoniae* delivered in a 40 μ L volume and
eighteen hours post-challenge, a dose-response
therapeutic regimen was initiated (b 1 d for 2 days)
with the combination of Amoxicillin/Prodrug 3 (7 1)
delivering the dosage in a 200 μ L volume of 0.5%
15 methylcellulose vehicle ED50s were calculated from the
survival data on day 10 post-challenge

Amoxicillin, amoxicillin/Prodrug 3 and Augmentin
were equally effective against a penicillin-tolerant
(PD₅₀s of 22-25 mg/kg) and penicillin-susceptible
20 pneumococcal strain (PD₅₀s of 2.7-3.3 mg/kg) Since
penicillin-tolerant strains of pneumococci do not harbor
a β -lactamase, the activity of amoxicillin is not
improved (nor is it antagonized) by the presence of 6- β -
HMPAS or clavulanate The higher PD₅₀s noted with the
25 penicillin-tolerant strain relative to the penicillin-
susceptible strain is consistent with the higher MIC

In summary, the *in vivo* oral activity for the
combination of amoxicillin/Prodrug 3 (7 1 and 14 1) was
compared in a head-to-head fashion with Augmentin in a
30 gerbil otitis media model and mouse models of
peritonitis and pneumonia The amoxicillin/Prodrug 3
combination demonstrated comparable *in vivo* activity to
that of Augmentin vs respiratory tract pathogens (*H*
influenzae, *M catarrhalis* and *S pneumoniae*) and skin
35 and soft tissue pathogens (*S aureus*, *E coli* and *K*

5 pneumoniae) in these models The in vivo performance of
the amoxicillin/Prodrug 3 was consistent with the in
vitro activity of this combination when assayed at a 2:1
ratio in the MIC assay

In Vivo Antibacterial Activity (Oral) vs Respiratory

10 Tract and Skin & Skin Structure Pathogens (ED50, mg/kg)

Pathogen	Amoxicillin	Prodrug 3	Amoxicillin/Prodrug 3 (7/1 ratio)	Augmentin (7/1 ratio)
Gerbil Otitis Media Model				
<i>Haemophilus influenzae</i> (54A1218) ²	>50	>25	8.9/1.3 ¹	9.9/1.4
Murine Systemic Model				
<i>Haemophilus influenzae</i> (54A1218)	>100	>25	9.8/1.4	13.4/1.9
<i>Moraxella catarrhalis</i> (87A1115)	>100	>100	37.8/5.4	12.6/1.8
<i>Staphylococcus aureus</i> (01A0400)	>100	>12.5	30.6/4.4	17.8/2.5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (59A0031)	>200	>25	20.2/2.9	13.0/1.8
<i>Escherichia coli</i> (51A0257)	>200	>100	62.2/8.9	148/20.8
Mouse Pneumonia Model				
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (02J1085)	25	>25	21.8/3.1	21.8/3.1
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (02J1016)	3.3	>25	2.66/0.38	2.66/0.38

¹The first value indicates the amoxicillin concentration while the second value is the beta-lactamase inhibitor

²Numbers in parantheses indicate Pfizer strain ID

15 numbers

5 In Vivo Antibacterial Activity (Oral) vs Respiratory Tract and Skin & Skin Structure Pathogens (ED50, mg/kg)

Pathogen	Amoxicillin	Prodrug 3	Amoxicillin/Prodrug 3 (14/1 ratio)	Augmentin (14/1 ratio)
Gerbil Otitis Media Model				
<i>Haemophilus influenzae</i> (54A1218)	>50	>25	10.5/0.73 ¹	5.8/0.4
Murine Systemic Model				
<i>Haemophilus influenzae</i> (54A1218)	>100	>25	12.3/0.88	37.9/2.7
<i>Moraxella catarrhalis</i> (87A1115)	>100	>100	42.5/3.0	23.6/1.7
<i>Staphylococcus aureus</i> (01A0400)	>100	>12.5	94.2/6.7	24.4/1.7
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (53A0031)	>200	>25	23.4/1.7	23.4/1.7
<i>Escherichia coli</i> (51A0257)	>200	>100	134/9.6	196/14
Mouse Pneumonia Model				
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (02J1095)	25	>25	23.8/1.7	17.8/1.3
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (02J1016)	3.3	>25	1.6/0.11	1.8/0.12

¹The first value indicates the amoxicillin concentration while the second value is the beta-lactamase inhibitor

²Numbers in parantheses indicate pfizer strain ID

10 numbers

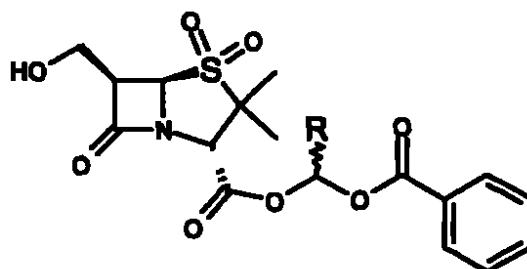
5

Claims

We claim

10

1 A prodrug having the structure



wherein R is H or methyl,
and solvates thereof

15

2 A prodrug of Claim 1 selected from the group
consisting

of

20

4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic
acid,

6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, -1-
(benzoyloxy)-methyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R),
4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic
acid,

25

6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, -1-
(benzoyloxy)-ethyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R),
4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic
acid,

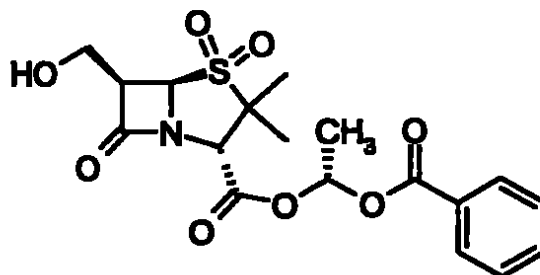
30

6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, (1R)-1-
(benzoyloxy)ethyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R),
and

49

5 4-thia-1-azabicyclo[3 2 0]heptane-2-carboxylic acid,
6- (hydroxymethyl) -3,3-dimethyl-7-oxo-, (1R) -1-
(benzoyloxy)ethyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R)

110 3 A prodrug having the structure



and solvates thereof

15 4 A pharmaceutical composition comprising
(a) a prodrug of Claim 1, or a solvate thereof,
and
(b) at least one pharmaceutically acceptable
carrier, excipient or diluent

20

5 A pharmaceutical composition of Claim 4 further
comprising a beta-lactam antibiotic

6 A pharmaceutical composition of Claim 5 wherein
25 said beta-lactam antibiotic is amoxicillin

7 A pharmaceutical composition of Claim 6 wherein
said
prodrug is 4-thia-1-azabicyclo[3 2 0]heptane-2-
30 carboxylic acid, 6- (hydroxymethyl) -3,3-dimethyl-7-
oxo-, (1R) -1- (benzoyloxy)ethyl ester, 4,4-dioxide

- 5 (2S,5R,6R) or a solvate thereof
- 8 A pharmaceutical composition comprising
- (a) 4-thia-1-azabicyclo [3 2 0] heptane-2-
carboxylic
10 acid, 6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-
, (1R)-1-
(benzoyloxy)ethyl ester, 4,4-dioxide
(2S,5R,6R), or
a solvate thereof,
- 15 (b) amoxicillin, and
(c) a pharmaceutically acceptable carrier,
excipient or
diluent
- 20 9 A method for increasing the therapeutic
effectiveness of a beta-lactam antibiotic in a
mammal comprising administering to said mammal an
effective amount of a beta-lactam antibiotic and an
effectiveness-increasing amount of a prodrug of
25 Claim 1, or a solvate thereof
- 10 A method of Claim 9 wherein said beta-lactam
antibiotic is amoxicillin
- 30 11 A method of Claims 9-10 wherein said prodrug is 4-
thia-1-
azabicyclo[3 2 0]heptane-2-carboxylic acid,
6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, (1R)-
1-(benzoyloxy)ethyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R)
- 35 r a

50

5 solvate thereof

12 A method of treating a bacterial infection in a
mammal by

administering to said mammal an effective amount of

110 a

beta-lactam antibiotic and an effectiveness-
increasing

amount of a prodrug of Claim 1, or a solvate
thereof

15

13 A method of Claim 12 wherein said beta-lactam
antibiotic is amoxicillin

14 A method of Claims 12-13 wherein the prodrug is 4-
20 thia-

1-azabicyclo[3 2 0]heptane-2-carboxylic acid,
6-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-7-oxo-, (1R)-1-
(benzoyloxy)ethyl ester, 4,4-dioxide (2S,5R,6R), or

a

25 solvate thereof

15 A method of treating a bacterial infection in a
mammal by

administering thereto a therapeutically effective

30 amount

of a pharmaceutical composition of Claims 4, 5 or 6

to a

mammal in need thereof

35

S1

PROFÁRMACO INHIBIDOR DE BETA-LACTAMASA**ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

Los antibióticos beta-lactámicos, que generalmente son
5 penicilinas y cefalosporinas, se han usado ampliamente en
el tratamiento de infecciones, principalmente bacterianas,
en mamíferos tales como los hombres. Se cree que ciertos
microorganismos son resistentes a estos antibióticos porque
producen diversas enzimas beta-lactamasa que atacan al
10 anillo beta-lactámico del antibiótico, provocando, por lo
tanto, la ineficacia del fármaco.

En la Patente de Estados Unidos N° 4 287 181, Kellogg
describió que diversos ácidos 6 β -
hidroxialquilpenicilánicos, incluyendo la sulfona del ácido
15 6- β -hidroximetilpenicilánico que es el inhibidor de beta-
lactamasa usado en la presente invención, son potentes
inhibidores de beta-lactamasa. La Solicitud de Patente del
Reino Unido GB2053220A, Metzger y col., y la Solicitud de
Patente del Reino Unido GB2076812, por Schneider y col.,
20 describieron asimismo que la sulfona del ácido 6- β -
hidroximetil-penicilánico es un inhibidor de beta-
lactamasa. Sin embargo, el inhibidor de beta-lactamasa
sulfona del ácido 6- β -hidroximetil-penicilánico a penas se
absorbe *in vivo* en roedores durante estudios preclínicos
25 cuando se administra por vía oral.

Kellogg, Metzger y col y Schneider y col también describieron profármacos de éster de la sulfona del ácido 6- β -hidroximetilpenicilánico, que se hidroliza fácilmente in vivo, durante estudios preclínicos, y demostraron una
5 mejor absorción en los roedores que el ácido libre

Sin embargo, muchos de estos profármacos de éster sólo podían sintetizarse como aceites o como sólidos que tuvieran puntos de fusión bajos cuya utilidad en las formulaciones farmacéuticas está más limitada de lo que lo
10 estaría un profármaco sólido con un punto de fusión adecuado para la encapsulación, la trituration o la purificación

Además, estos profármacos de éster típicamente no se absorbían muy bien cuando se administraban por vía oral. De
15 esta forma, se requerían dosificaciones de fármaco mayores administradas por vía oral, para obtener un nivel en plasma terapéuticamente eficaz del inhibidor de beta-lactamasa, sulfona del ácido 6- β -hidroximetilpenicilánico, que las que se requerirían para un promármaco altamente absorbido.

20 Además, la administración oral de los profármacos que se absorba en mayor medida puede provocar un aumento de la incidencia y gravedad de la diarrea experimentada por el receptor ya que el profármaco no absorbido puede hidrolizarse en el tracto gastrointestinal para formar el
25 fármaco activo y, con cualquier amoxicilina residual, matar

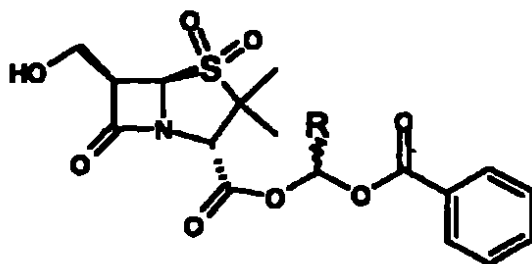
53

selectivamente componentes esenciales de la flora microbiana normal. Además, es deseable que el proceso, para producir el profármaco deseado, sea relativamente barato.

Por lo tanto, existe la necesidad de un profármaco cristalino del inhibidor de beta-lactamasa sulfona del ácido 6- β -hidroximetilpenicilánico que tenga una alta biodisponibilidad oral, y más preferiblemente que sea cristalino con un punto de fusión adecuado.

SUMARIO DE LA INVENCION

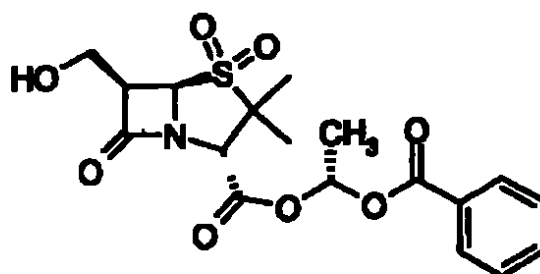
La presente invención se refiere a profármacos de la sulfona del ácido 6- β -hidroximetilpenicilánico (también denominado ácido 4,4-dióxido-(2S,5R,6R)-6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo [3,2,0]heptano-2-carboxílico que tiene la estructura



y solvatos del mismo, donde R es H o metilo. Los profármacos de la presente invención incluyen ácido 1-(benzoiloxi)metiléster del ácido 4,4-dióxido-(2S,5R,6R)-6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo [3,2,0]heptano-2-carboxílico 4,4-dióxido (2S,5R,6R), ácido 4-tia-1-azabicyclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-

54

(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, (1R)-1-(benzoiloxi)etil
 éster, 4,4-dióxido (2S,5R,6R), y ácido 4-tia-1-
 azabíciclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-(hidroximetil)-
 3,3-dimetil-7-oxo-, (1S)-1-(benzoiloxi)etil éster, 4,4-
 5 dióxido (2S,5R,6R) El profármaco preferido de la presente
 invención es ácido (1R)-1-(benzoiloxi)etiléster del ácido
 4,4-dióxido-(2S,5R,6R)-6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-
 4tia-1-azabíciclo [3,2,0]heptano-2-carboxílico, que tiene
 la estructura



10

o un solvato del mismo

La presente invención también se refiere a
 composiciones farmacéuticas que comprenden un profármaco de
 la presente invención, o un solvato del mismo, un
 15 antibiótico beta-lactámico opcional y al menos un vehículo,
 excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable
 Preferiblemente, el antibiótico beta-lactámico es
 amoxicilina También se prefiere que el profármaco, usado
 en la composición farmacéutica, sea (1R)-1-
 20 (benzoiloxi)etiléster del ácido 4,4-dióxido-(2S,5R,6R)-6-
 (hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-4tia-1-azabíciclo



[3,2,0]heptano-2-carboxílico o un solvato del mismo Se prefiere más que la composición farmacéutica comprenda (1R)-1-(benzoiloxi)etiléster del ácido 4,4-dióxido-(2S,5R,6R)-6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-4tia-1-

5 azabíciclo [3,2,0]heptano-2-carboxílico o un solvato del mismo, amoxicilina y un vehículo, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable

La presente invención se refiere adicionalmente a un procedimiento para aumentar la eficacia terapéutica de un
10 antibiótico beta-lactámico en un mamífero que comprende ,
administrar a dicho mamífero una cantidad eficaz de un antibiótico beta-lactámico y una cantidad que aumenta la eficacia de un profármaco de la presente invención, o un solvato del mismo Preferiblemente, el antibiótico beta-
15 lactámico es amoxicilina También se prefiere que el profármaco usado sea (1R)-1-(benzoiloxi)etiléster del ácido 4,4-dióxido-(2S,5R,6R)-6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-4tia-1-azabíciclo [3,2,0]heptano-2-carboxílico o un solvato del mismo Es más preferido que el profármaco sea (1R)-1-
20 (benzoiloxi)etiléster del ácido 4,4-dióxido-(2S,5R,6R)-6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-4tia-1-azabíciclo
[3,2,0]heptano-2-carboxílico o un solvato del mismo, y que el antibiótico beta-lactámico sea amoxicilina Se prefiere adicionalmente que el mamífero sea un ser humano

25 La presente invención se refiere adicionalmente al

56

tratamiento de una infección bacteriana en un mamífero administrando una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica de la presente invención a un mamífero que lo necesita Preferiblemente, esta composición

5 farmacéutica comprende adicionalmente un antibiótico beta-lactámico Preferiblemente, el antibiótico beta-lactámico es amoxicilina También se prefiere que el profármaco usado sea (1R)-1-(benzoiloxi)etiléster del ácido 4,4-dióxido-(2S,5R,6R)-6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-4tía-1-

10 azabíciclo [3,2,0]heptano-2-carboxílico o un solvato del mismo Se prefiere aún más que el profármaco sea (1R)-1-(benzoiloxi)etiléster del ácido 4,4-dióxido-(2S,5R,6R)-6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-4tía-1-azabíciclo [3,2,0]heptano-2-carboxílico o un solvato del mismo y que

15 el antibiótico beta-lactámico sea amoxicilina Se prefiere adicionalmente que el mamífero sea un humano

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Los términos usados para describir la presente invención tienen los significados que se indican a

20 continuación en este documento

La expresión "cantidad eficaz" significa la cantidad de antibiótico beta-lactámico que, cuando se administra sola, o en combinación con un profármaco de la presente invención que previene la aparición de, alivia los síntomas

25 de, detiene la progresión de o elimina una infección

bacteriana en un mamífero

La expresión "cantidad que aumenta la eficacia" significa la cantidad de profármaco que, cuando se administra a un mamífero y que posteriormente se hidroliza in vivo para formar el inhibidor de beta-lactamasa de la presente invención, aumenta la eficacia terapéutica de un antibiótico beta-lactámico coadministrado

El término "mamífero" es un individuo animal que es un miembro de la clase taxonómica Mammalia. La clase Mammalia incluye, por ejemplo, seres humanos, monos, chimpancés, gorilas, ganado, cerdos, caballos, ovejas, perros, gatos, ratones y ratas

En la presente invención, el mamífero preferido es un humano

La expresión "farmacéuticamente aceptable" significa que el vehículo, el diluyente y los excipientes deben ser compatibles con otros ingredientes de la composición, y no deterioran al receptor de los mismos. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se preparan mediante procedimientos conocidos en la técnica usando ingredientes bien conocidos y fácilmente disponibles

Los profármacos de la presente invención incluyen ácido 4-tia-1-azabicyclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, -1-(benzoiloxi)metil éster, 4,4-dióxido (2S,5R,6R) que se describe en el Ejemplo

58

3 y ácido 4-tia-1-azabicyclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico,
6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, -1-(benzoyloxietil
éster, 4,4-dióxido (2S,5R,6R) que se describe en el Ejemplo
4

5 Los profármacos de la presente invención, como se
describen adicionalmente en el Ejemplo 7, son estables en
el tracto GI superior, después de la absorción, se
hidrolizan fácilmente in vivo para formar la sulfona del
ácido 6- β -hidroximetilpenicilánico (en lo sucesivo conocida
10 como "6- β -HMPAS") que es un inhibidor de beta-lactamasa que
aumenta la eficacia de antibióticos beta-lactámicos contra
bacterias productoras de beta-lactamasa Esta inhibición de
beta-lactamasa conserva la potencia antibacteriana de un
antibiótico beta-lactámico coadministrado contra las cepas
15 de beta-lactamasa (+)

Como los profármacos de la presente invención se
hidrolizan in vivo y forman el inhibidor de beta-lactamasa
del ácido libre 6- β -HMPAS, estos profármacos son útiles en
el sentido de que, cuando se administran a un mamífero, se
20 mejorará la eficacia de un antibiótico beta-lactámico
coadministrado contra la bacteria productora de beta-
lactamasa

Los profármacos de esta invención pueden usarse, en
una terapia de combinación con antibióticos beta-
25 lactámicos, para tratar infecciones de, por ejemplo, el

Sd

tracto respiratorio, el tracto urinario y los tejidos blandos de los seres humanos Las composiciones de esta invención también pueden usarse para tratar infecciones en otros mamíferos, tales como la mastitis en el ganado

5 Las infecciones bacterianas que pueden curarse mediante el profármaco, la composición farmacéutica y el procedimiento de la presente invención incluyen enfermedades respiratorias superiores incluyendo neumonía adquirida en la comunidad (CAP), exacerbaciones agudas de
10 bronquitis crónica (AECB) y sinusitis bacteriana aguda (ABS), provocadas por patógenos respiratorios, tales como *Haemophilus influenzae* y *Moraxella catarrhalis* incluyendo los aislados resistentes a los antibióticos

Además, las infecciones bacterianas que pueden
15 curarse, mediante composiciones farmacéuticas de la presente invención que contienen un antibiótico, incluyen, en particular, otitis pediátrica media, sinusitis, neumonía y exacerbaciones agudas de bronquitis en adultos provocadas por *H influenzae* o *Streptococcus pneumoniae*,
20 incluyendo *S pneumoniae* resistente a fármacos (DRSP) tal como *S pneumoniae* resistente a la penicilina

Adicionalmente, las infecciones bacterianas que pueden curarse, mediante composiciones farmacéuticas de la presente invención que contienen un antibiótico, incluyen,
25 infecciones del tejido blando provocadas por *E Coli*,

60

Klebsiella pneumoniae, *Enterobacter spp* y todos los demás miembros de la familia *Enterobacteriaceae*

Otras infecciones que pueden curarse, mediante composiciones farmacéuticas de la presente invención que
5 contienen un antibiótico, incluyen aquellas provocadas por *staphylococci* susceptible a la meticilina productora de beta-lactamasa y anaerobios productores de beta-lactamasa

Como los profármacos de la presente invención contienen más de un centro quiral, éstos existen en
10 diferentes formas diastereoméricas ópticamente activas. Más específicamente, los profármacos preferidos de la presente invención contienen un centro quiral en la localización 1-etilo. La presente invención incluye ambos diastereómeros 1R y 1S del ácido 4-tia-1-
15 azabíciclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, -1-(benzoxiloxi)etil éster, 4,4-dióxido (2S,5R,6R) y también incluye mezclas de estos diastereómeros, tales como mezclas racémicas. Estas formas diastereoméricas, una mezcla de las mismas y sus síntesis
20 respectivas se describen adicionalmente en este documento en los Ejemplos 4-6 mostrados más adelante.

Aún más preferiblemente, el profármaco de la presente invención comprende el diastereómero 1R del ácido 4-tia-1-azabíciclo[3,2,0]-heptano-2-carboxílico, 6-(hidroximetil)-
25 3,3-dimetil-7-oxo-, -1-(benzoxiloxi)etil éster, 4,4-dióxido

61

(2S,5R,6R) como se describe en el Ejemplo 5

Los profármacos de la presente invención pueden mostrar polimorfismo. Los polimorfos de los profármacos forman parte de esta invención y pueden prepararse mediante la cristalización de un profármaco de la presente invención en diferentes condiciones. Por ejemplo, usando diferentes disolventes o diferentes mezclas de disolventes para la recristalización, cristalización a diferentes temperaturas, diversos modos de refrigeración que varían de una refrigeración muy rápida a muy lenta durante la cristalización. Los polimorfos también pueden obtenerse calentando o fundiendo de un profármaco seguido de refrigeración gradual o rápida. La presencia de polimorfos puede determinarse mediante espectroscopia de rmn de prueba sólida, espectroscopia ir, calorimetría de exploración diferencial, difracción de rayos X en polvo u otras técnicas parecidas.

Los profármacos de la presente invención también pueden existir en forma de solvatos, por ejemplo, hidratos. La presente invención incluye cada solvato y mezclas de los mismos.

Para un profármaco, la cantidad mínima de profármaco administrada es aquella cantidad que aumentará la eficacia de un antibiótico beta-lactámico coadministrado. La cantidad máxima de profármaco administrada es aquella

cantidad que, sola o en combinación con el antibiótico beta-lactámico, es toxicológicamente aceptable

Típicamente, para los adultos y niños que pesan al menos 40 kg, la cantidad de dosificación diaria del profármaco está comprendida entre aproximadamente 200 mg y aproximadamente 1 g o más. Para los niños que pesan menos de 40 kg, la cantidad de dosificación diaria del profármaco está comprendida entre 7 mg/kg/día y aproximadamente 20 mg/kg/día o más. Sin embargo, estas cifras sólo son ilustrativas y, en algunos casos, puede ser necesario usar dosificaciones fuera de estos límites

Una dosificación diaria del profármaco de la presente invención puede administrarse de 1 a 4 veces al día en dosis iguales

En el tratamiento de una infección bacteriana, un profármaco de la presente invención se coadministra con un antibiótico beta-lactámico. El profármaco y el antibiótico beta-lactámico pueden administrarse simultáneamente o secuencialmente. Además, el profármaco y el antibiótico pueden estar contenidos en composiciones farmacéuticas separadas o en una única composición farmacéutica

Los antibióticos beta-lactámicos típicos, con los que se coadministra el profármaco de la presente invención, son antibióticos beta-lactámicos que son sensibles a la degradación e inactivación enzimática por diversas enzimas

beta-lactamasa Los ejemplos de tales antibióticos
sensibles a beta-lactamasa incluyen, pero sin limitación,
penicilinas tales como penicilinas naturales, amoxicilina
y ampicilina, cefalosporinas tales como cefadroxila,
5 cefazolina, cefalexina, cefalotina, cefapirina, cefradina,
cefaclor, cefamandol, cefonicid, ceforanida, cefprozil,
cefuroxima, cefdinir, cefoperazona, cefotaxima,
cefpodoxima, ceftazidima, ceftibuteno, ceftizoxima,
ceftriaxona y cefepima, y monobactamas tales como
10 aztreonam

Típicamente, cuando se contienen conjuntamente en una
composición farmacéutica, la relación en peso entre
antibiótico beta-lactámico y el profármaco está
comprendido entre aproximadamente 15:1 y aproximadamente
15 1:1

Preferiblemente, un profármaco de la presente
invención se coadministra con amoxicilina Aún más
preferiblemente, la amoxicilina se coadministra con el
profármaco (1R)-1-(benzoiloxi)etiléster del ácido 4,4-
20 dióxido-(2S,5R,6R)-6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-4tia-
1-azabícclo [3,2,0]heptano-2-carboxílico

El término "amoxicilina" como se usa en este
documento significa amoxicilina o una sal alcalina o
hidrato de la misma tal como, en particular, trihidrato de
25 amoxicilina o amoxicilina sódica (cristalizada) A menos

Gd

que se indique otra cosa, los pesos de amoxicilina se refieren al peso equivalente del correspondiente ácido libre. Además, se apreciará que en la práctica, los pesos de amoxicilina que se van a incorporar en una formulación se ajustarán adicionalmente, de acuerdo con la práctica convencional, para tener en cuenta la potencia de la amoxicilina.

Típicamente, una cantidad eficaz de amoxicilina, para adultos y niños que pesan al menos 40 kg, es un nivel de dosificación diaria de aproximadamente 250 mg a aproximadamente 5 g. Para los niños que pesan menos de 40 kg, una cantidad que aumenta la eficacia de la amoxicilina es un nivel de dosificación diaria de aproximadamente 20 mg/kg/día a aproximadamente 150 mg/kg/día. Sin embargo, estas cifras sólo son ilustrativas y, en algunos casos, puede ser necesario usar dosificaciones fuera de estos límites.

Una dosificación diaria de amoxicilina puede administrarse de 1 a 4 veces al día en dosis iguales en forma de composiciones de liberación inmediata, modificada o retrasada (o lenta). Se describen formulaciones de composiciones farmacéuticas de liberación inmediata, modificada y retrasada (lenta) que contienen amoxicilina, que son adecuadas para las composiciones farmacéuticas de la presente invención, y la preparación de las mismas, en

65

las Patentes de Estados Unidos N° 4 537 887, expedida a
Rooke y col , 6 051 255, expedida a Conley y col ,
6 218 380, expedida a Cole y col , 6 051 255, expedida a
Conley y col , Solicitud de Patente de Estados Unidos con
5 Número de Serie 09/911 905, de Conley y col , y la
Solicitud Internacional Número PCT/IB01/01899, de Conley y
col Las enseñanzas de las Patentes de Estados Unidos N°
4 537 887, 6 051 255, 6 218 380, 6 051 255, el documento
USSN 09/011 905 y la Solicitud Internacional Número
10 PCT/IB01/01899 se incorporan en este documento, en su
totalidad, como referencia

En estas composiciones, la cantidad exacta de
profármaco y amoxicilina dependerá hasta cierto punto del
microorganismo que se esté tratando

15 Como apreciará un especialista en la técnica, algunos
de los compuestos beta-lactámicos son eficaces cuando se
administran por vía oral o parenteral, mientras que otros
sólo son eficaces cuando se administran por vía
parenteral Cuando un profármaco de la presente invención
20 se combina con un antibiótico beta-lactámico administrado
por vía parenteral, un agente farmacéutico adecuado que
sólo es eficaz en administración parenteral, se empleará
una formulación de combinación adecuada para uso
parenteral Cuando el profármaco se va a combinar con un
25 antibiótico beta-lactámico que es eficaz por vía oral o

parenteral, pueden prepararse combinaciones adecuadas para la administración oral o parenteral. Adicionalmente, es posible administrar preparaciones del profármaco por vía oral, mientras al mismo tiempo se administra un
5 antibiótico beta-lactámico adicional parenteralmente, y también es posible administrar preparaciones del profármaco por vía parenteral mientras al mismo tiempo se administra el antibiótico beta-lactámico adicional por vía oral.

10 Una composición farmacéutica de la presente invención comprende un profármaco de la presente invención y al menos un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Opcionalmente, la composición farmacéutica comprende
15 adicionalmente un antibiótico beta-lactámico. Se prefiere que el antibiótico sea amoxicilina. También se prefiere que el profármaco sea ácido(1R)-1-(benzoiloxi)etiléster del ácido 4,4-dióxido-(2S,5R,6R)-6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-4tia-1-azabicyclo [3,2,0]heptano-2-carboxílico. Se
20 prefiere aún más que la composición farmacéutica comprenda(1R)-1-(benzoiloxi)etiléster del ácido 4,4-dióxido-(2S,5R,6R)-6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-4tia-1-azabicyclo [3,2,0]heptano-2-carboxílico, amoxicilina y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.

25 Los ejemplos de excipientes, diluyentes y vehículos

que son adecuados para tales composiciones farmacéuticas incluyen cargas y diluyentes tales como almidón, azúcares, manitol y derivados silícicos, aglutinantes tales como carboximetilcelulosa y otros derivados de
5 celulosa, alginatos, gelatina y polivinil pirrolidona, agentes humectantes tales como glicerol, agentes disgregantes tales como agar agar, carbonato cálcico y bicarbonato sódico, agentes para retardar la disolución tales como parafina, aceleradores de la reabsorción tales
10 como compuestos de amonio cuaternarios, agentes tensioactivos tales como alcohol cetílico, monoestearato de glicerol, vehículos adsorbentes tales como caolín y bentonita, y lubricantes tales como talco, estereato de calcio y de magnesio y polietilenglicoles sólidos Las
15 formulaciones pueden incluir adicionalmente agentes lubricantes tales como talco, estereato de magnesio y aceite mineral, agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, agentes conservantes tales como metil- y propilhidroxibenzoatos, agentes edulcorantes, y agentes
20 aromatizantes

En la preparación de una composición farmacéutica de la presente invención, el profármaco y el antibiótico beta-lactámico opcional normalmente se mezclan con un excipiente, se diluyen por un excipiente o se incluyen en
25 un vehículo que puede estar en forma de cápsula, sello u

67

otro recipiente Cuando el excipiente sirve como diluyente, éste puede ser un material sólido, semi-sólido o líquido que actúa como un vehículo, excipiente o medio para el ingrediente activo

5 La composición farmacéutica puede administrarse por vía oral o parenteral, es decir, por vía intramuscular, subcutánea, intravenosa o intraperitoneal El vehículo, excipiente o diluyente se selecciona en función del modo de administración deseado Por ejemplo, cuando se
10 considera el modo oral de administración, una composición farmacéutica de esta invención puede usarse en forma de comprimidos incluyendo comprimidos masticables, cápsulas, grageas, trociscos, polvos, jarabes, elixires, soluciones y suspensiones acuosas y similares, de acuerdo con la
15 práctica farmacéutica convencional La relación proporcional entre el ingrediente activo y el vehículo dependerá naturalmente de la naturaleza química, la solubilidad y la estabilidad de los ingredientes activos así como de la dosificación contemplada Sin embargo, las
20 composiciones farmacéuticas que contienen un antibiótico beta-lactámico y un profármaco de la presente invención contendrán preferiblemente de aproximadamente el 20% a aproximadamente el 95% de los ingredientes activos En el caso de los comprimidos para el uso oral, los vehículos
25 que se usan comúnmente incluyen lactosa, citrato sódico y

sales de ácido fosfórico Se usan comúnmente en comprimidos diversos disgregantes tales como almidón, y agentes lubricantes tales como estereato de magnesio, lauril sulfato sódico y talco Para la administración oral en forma de cápsula, son diluyentes útiles lactosa y polietilenglicoles de alto peso molecular Cuando se requieren soluciones o suspensiones acuosas para uso oral, el ingrediente activo puede combinarse con agentes emulsionantes y de suspensión Si se desea, pueden añadirse ciertos agentes edulcorantes y/o aromatizantes Para la administración parenteral, normalmente se preparan soluciones estériles de los ingredientes activos, y el pH de las soluciones se ajusta y se tampona adecuadamente Para el uso intravenoso, debe controlarse la concentración total de solutos para conseguir la preparación isotónica

Las formulaciones de la invención pueden prepararse en formas de dosificación sólida para la administración oral mediante un procedimiento convencional para la técnica de la tecnología farmacéutica, por ejemplo, comprimidos o productos en polvo o granulares para la reconstitución en una suspensión o solución

Se describen ingredientes adecuados y procedimientos adecuados para fabricar tales comprimidos en, por ejemplo, las Solicitudes Internacionales WO 92/19227 y WO 95/28927, cuyas enseñanzas se incorporan en este documento, en su

70

totalidad, como referencia Pueden fabricarse formulaciones en polvo o granulares, tales como las formulaciones de suspensión pediátrica, usando técnicas que son generalmente convencionales en el campo de la fabricación de formulaciones farmacéuticas y en la fabricación de formulaciones secas para la reconstitución en tales suspensiones Por ejemplo, una técnica adecuada es aquella que mezcla ingredientes en polvo o granulados secos para rellenar en un recipiente adecuado

10 Para la dosificación pediátrica, las formulaciones de la invención se preparan preferiblemente en una formulación de jarabe acuosa edulcorada de la formulación generalmente convencional (excepto para su nueva relación amoxicilina profármaco y su uso deseado) que contiene un
15 peso adecuado de la amoxicilina y del profármaco en un volumen de dosis unitaria, por ejemplo, 5 ml ó 2,5 ml preferiblemente como un jarabe Por lo tanto, la formulación pediátrica puede comprender un volumen de una solución o suspensión, por ejemplo, un jarabe, o gránulos
20 o polvo que puede prepararse en una solución o suspensión tal, a una concentración de solución o suspensión que contiene tal dosis en tal volumen Tales formulaciones adecuadas se describen en la solicitud Internacional N° PCT EP96/01881 (SmithKline Beecham) Normalmente, la
25 formulación de esta invención, además de sus materiales

activos amoxicilina y profármaco, también incluirá excipientes que son convencionales en el campo de las formulaciones para la dosificación oral y que se usan en porciones generalmente convencionales y a tamaños y grados de partícula generalmente convencionales, etc

En el caso de las suspensiones orales pediátricas, estos excipientes pueden comprender adyuvantes de suspensión, deslizantes (para ayudar en la carga), diluyentes, agentes de carga, aromatizantes, edulcorantes y estabilizantes

Los excipientes adecuados para el uso incluyen goma xantana (adyuvante de suspensión), sílice coloidal (deslizante), ácido succínico (estabilizante), aspartamo (edulcorante), hidroxipropilmetilcelulosa (adyuvante de suspensión) y dióxido de silicio (diluyente para el profármaco y agente de carga) Los aromatizantes pueden comprender aromas comunes tales como chicle, naranja, plátano, frambuesa, uva y miel de caña, o mezclas de los mismos, para satisfacer requerimientos locales

La composición farmacéutica de la presente invención puede proporcionarse, por ejemplo, en cantidades adecuadas que comprenden formas de dosificación unitarias sólidas para la administración de tal dosis diaria Por ejemplo, una forma de dosificación unitaria puede ser comprimidos o sellos que contienen gránulos o polvos para la

72

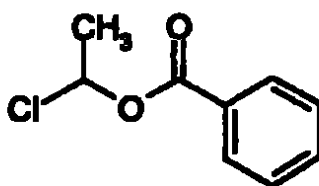
reconstitución, uno o más de los cuales se tomarán 1-4 veces diarias. Como alternativa, una dosis unitaria puede proporcionarse como un volumen de sólido o solución o suspensión, por ejemplo, como un jarabe para la
5 administración pediátrica, junto con un dispositivo de medida adecuado de un tipo conocido para facilitar la administración de una cantidad de dosis unitaria adecuada de la formulación. Una cantidad de dosis unitaria adecuada es aquella que permite la administración de la cantidad de
10 dosificación diaria mencionada anteriormente dividida en 1-4 dosis.

Otra realización de esta invención es un kit, para conseguir un efecto terapéutico antibacteriano en un mamífero, que comprende (1) una composición farmacéutica,
15 que comprende un profármaco de la presente invención y, opcionalmente, un antibiótico beta-lactámico, y (2) directrices para la administración de la composición farmacéutica de una manera tal para conseguir el efecto terapéutico deseado.

20 La presente invención se ilustrará adicionalmente por medio de los siguientes ejemplos. Sin embargo, debe entenderse que la invención no se limita a los detalles descritos en este documento.

Ejemplo 1

25 Preparación y Separación Enantiomérica del 1-cloro-etil

éster del ácido (R/S)-benzoico

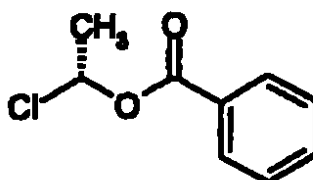
El 1-cloro-etil éster del ácido (R/S)-benzoico, mostrado anteriormente, se prepara como se indica a continuación

A una solución agitada de 122 g (862 mmol) de cloruro de benzoilo (Aldrich) en una atmósfera de nitrógeno en un matraz de fondo redondo de 3 bocas se le añadieron 2,35 g (17,2 mmol) de cloruro de cinc anhidro (Aldrich). La mezcla de reacción se agitó durante 15 minutos a temperatura ambiente y después se enfrió a -15°C usando un baño de etilenglicol/ CO_2 . A esta mezcla se le añadieron lentamente 37,9 g (862 mmol) de acetaldehído (Aldrich) mientras se mantenía la temperatura interna por debajo de 0°C . Después de que se completase la adición, la mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente. Se añadieron 400 ml de agua y 400 ml de CH_2Cl_2 y después las capas se separaron. La capa orgánica se separó y se lavó con NaHCO_3 saturado, agua y salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró al vacío. La cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con acetato de etilo al 1,75%/hexanos al 98,25% produjo 55,4 g de un aceite

74

amarillo ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) 8,08 (d, 2H, $J = 7,5$ Hz), 7,61 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz), 7,47 (t, 2H, $J = 7,5$ Hz), 6,80 (c, 1H, $J = 6$ Hz), 1,93 (d, 3H, $J = 6$ Hz)

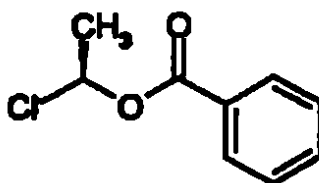
El 1-cloro-etil éster del ácido (R)-benzoico, 5
mostrado a continuación, se aisló por la separación quiral del 1-cloro-etil éster del ácido (+/-)-benzoico usando una columna Chiralcel OJ de 10 cm por 50 cm eluyendo con heptano/IPA (98/2) y con un caudal de 250 ml/min El segundo enantiómero eluido se recogió con un tiempo de 10
retención de pureza analítica de 7,123 min



^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) 8,08 (d, 2H, $J = 7,5$ Hz), 7,61 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz), 7,47 (t, 2H, $J = 7,5$ Hz), 6,80 (c, 1H, $J = 6$ Hz), 1,93 (d, 3H, $J = 6$ Hz) $[\alpha]_D = -140^\circ\text{C}$ (C + 0,0315, 15
 CHCl_3)

El 1-cloro-etil éster del ácido (S)-benzoico, 20
mostrado a continuación, se aisló por la separación quiral del 1-cloro-etil éster del ácido (+/-)-benzoico usando una columna Chiralcel OJ de 10 cm por 50 cm eluyendo con heptano/IPA (98/2) y con un caudal de 250 ml/min El primer enantiómero eluido se recogió con un tiempo de retención de pureza analítica de 5,807 min

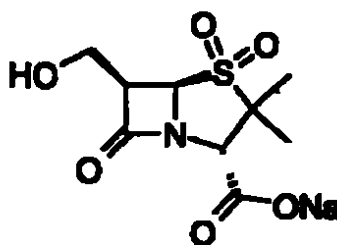
73



^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) 8,08 (d, 2H, $J = 7,5$ Hz), 7,61 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz), 7,47 (t, 2H, $J = 7,5$ Hz), 6,80 (c, 1H, $J = 6$ Hz), 1,93 (d, 3H, $J = 6$ Hz) $[\alpha]_D +130^\circ\text{C}$ ($C + 0,0345$, CHCl_3)

Ejemplo 2

Preparación de ácido 4-tia-1-azabícclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, 4,4-dióxido, sal monosódica, (2S,5R,6R)

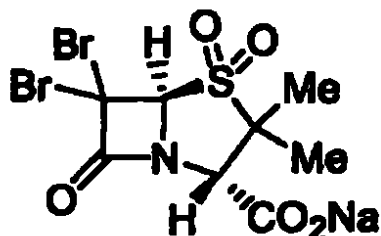


10

El ácido 4-tia-1-azabícclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, 4,4-dióxido, sal monosódica, (2S,5R,6R), mostrado anteriormente (de ahora en adelante "Na-HMPAS") se preparó mediante el siguiente proceso de cuatro etapas

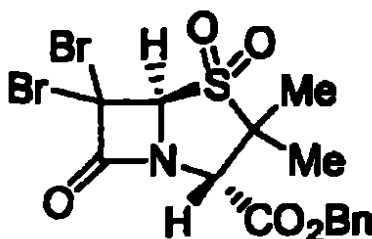
Etapas 1 - Preparación de sulfona de 6,6-dibromopenicilinato sódico

76



Se añadió acetato de etilo (15,8 l) a la sulfona del ácido 6,6-dibromopenicil-lánico (2500 g) y se calentó a 50°C Se agitaron hexanoato de etilo sódico (1044 g) y acetato de etilo (5,0 l) para formar una solución y después se añadieron a la solución de sulfona del ácido 6,6-dibromopenicilánico durante un periodo de 60 minutos La mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y los sólidos resultantes se granularon durante un periodo de 1 hora El producto se recogió por filtración y se lavó con acetato de etilo, dando 2197 g (83%) de la sulfona de 6,6-dibromopenicilanato sódico P f 186-187°C ^1H RMN (D_2) δ 1,30 (s, 3H), 1,45 (s, 3H), 4,29 (s, 1H), 5,54 (s, 1H)

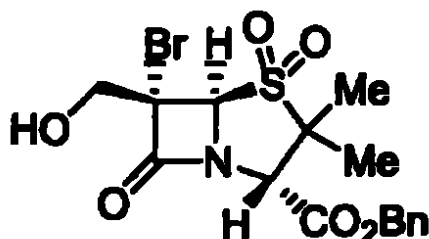
15 Etapa 2 - Sulfona de 6,6-dibromopenicilanato de bencilo



Se combinaron dimetilformamida (5,7 l) y la sulfona de 6,6-dibromopenicilanato sódico (3820 g) y la mezcla se

agitó durante unos minutos hasta que los sólidos se disolvieron. A esta mezcla se le añadió bromuro de bencilo (1400 g) durante un periodo de 1 hora. La mezcla de reacción se agitó durante una noche a temperatura ambiente. Se añadieron agua (4,5 l) y acetato de etilo (15,0 l) para inactivar la reacción. La fase acuosa se lavó con acetato de etilo (2 x 600 ml) y las fases orgánicas combinadas se lavaron secuencialmente con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico (2 x 1 l) y una solución acuosa de cloruro sódico (2 x 1 l). La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró, dando 3566 g (90%) de la sulfona de 6,6-dibromopenicilanoato de bencilo deseada en forma de cristales. P f 146-147°C ^1H RMN (CDCl_3) δ 1,2 (s, 3H), 1,5 (s, 3H), 4,5 (s, 1H), 4,9 (s, 1H), 5,16 (d, 1H, J = 12 Hz), 5,29 (d, 1H, J = 12 Hz), 7,35-7,40 (m, 5H).

Etapas 3 - Preparación de sulfona de 6- β -hidroximetil-6- α -bromopenicilanoato de bencilo



En un matraz de fondo redondo, se calentó paraformaldehído en una atmósfera de nitrógeno a 160-180°C para retirar el exceso de agua. En un matraz de fondo

78

redondo separado se combinaron tetrahidrofurano (8,0 l) y sulfona de 6,6-dibromopenicilano de bencilo (1000 g) y se agitaron hasta que los sólidos se disolvieron. La solución se enfrió a -78°C y a la solución se le añadió lentamente cloruro de metilmagnesio 3 M en THF (720 ml) mientras se mantenía la temperatura por debajo de -70°C . La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora. En este momento, el gas de formaldehído retirado del primer matraz de fondo redondo se burbujeó sobre la superficie de la mezcla de reacción enfriada usando una atmósfera de nitrógeno. Este gas de formaldehído se retiró de la mezcla de reacción durante aproximadamente 6 horas mientras se mantenían la refrigeración y la agitación vigorosa del matraz de reacción frío. Tras la finalización de la reacción determinada por TLC (80/20 de hexano/acetato de etilo), la reacción se inactivó a -78°C con una solución de ácido acético (132 ml) en THF (400 ml). La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y después la mezcla de reacción se filtró a través de Supercel. El filtrado se concentró hasta un aceite (~1000 g). Después, el aceite se transfirió a un recipiente de reacción grande y se le añadió acetato de etilo (5,0 l)/agua (2,5 l). La mezcla se agitó y después se separó. La capa acuosa se lavó con acetato de etilo (2 x 500 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron secuencialmente con ácido

clorhídrico 1 N (3,0 l), agua (3 x 3,0 l) y una solución acuosa saturada de cloruro sódico (3 x 3,0 l) La capa orgánica se secó con sulfato de magnesio, se filtró a través de Supercel, se concentró y se almacenó en un
 5 frigorífico El aceite resultante se cromatografió a través de gel de sílice (1 Kg por 500 g de aceite producido), y se eluyó con 9 l de hexano/acetato de etilo (20,0 l) para retirar las impurezas, después con 4 l de hexano/acetato de etilo (4,0-8,0 l) y finalmente con 3 2
 10 de hexano/acetato de etilo (como necesario) hasta que se retiró la sulfona de 6- β -hidroximetil-6- α -bromopenicilanoato de bencilo Rendimiento 205,5 g (23%) P f 120-121°C ^1H RMN (CDCl_3) δ 1,28 (s, 3H), 1,57 (s, 3H), 4,09 (d, 1H, J = 16 Hz), 4,54 (s, 1H), 4,62 (d, 1H, J = 16
 15 Hz), 4,82 (s, 1H), 5,18 (d, 1H, J = 16 Hz), 5,32 (d, 1H, J = 16 Hz), 7,36-7,42 (m, 5H)

Etapa 4 - Preparación de ácido 4-tia-1-
azabíciclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-(hidroximetil)-
3,3-dimetil-7-oxo-, 4,4-dióxido, sal monosódica,
 20 (2S,5R,6R)

Se combinaron agua (163 ml), acetato de etilo (2000 ml), sulfona de 6- β -hidroximetil-6- α -bromopenicilanoato de bencilo (180 g), trietilamina (90,0 g) y paladio al 5% sobre carbono (45 g) y se hidrogenaron a 344,738 Kpa a
 25 temperatura ambiente durante aproximadamente 2 horas Una

TLC de la mezcla de reacción mostró que la reacción no se había completado, por lo que se añadió más catalizador (15 g) y la mezcla se hidrogenó durante una hora. Una vez que la reacción se había completado, la reacción se inactivó con una mezcla de ácido sulfúrico (112,5 g) y agua (270 ml). La mezcla de reacción se filtró para retirar el catalizador y se lavó con EtOAc (450 ml). La capa acuosa se lavó con EtOAc (3 x 750 ml). Las fases orgánicas se combinaron y se secaron con cloruro cálcico hasta un contenido de agua menor del 1%. Después, el cloruro cálcico se filtró y el acetato de etilo se redujo a la mitad de su volumen. Después, a la solución se le añadió de nuevo acetato de etilo reciente y el contenido de agua de la solución fue ahora del 0,09%. Se combinaron etil hexanoato sódico (59 g) y EtOAc (450 ml) y se añadieron lentamente a la fase orgánica a temperatura ambiente. Después, la mezcla se dejó granular durante un periodo de 30 a 45 minutos. Los sólidos resultantes se filtraron, se lavaron con EtOAc (500 ml) y se secaron, dando 79,0 g (66%) de sulfona de 6- β -hidroximetilpenicilanoato sódico. Los sólidos se purificaron adicionalmente mediante una recristalización en 2-propanol/agua. P f 246-245°C. ^1H RMN (D_2O) δ 1,23 (s, 3H), 1,39 (s, 3H), 3,82-3,89 (m, 1H), 3,97-4,10 (m, 3H), 4,85 (s, 1H).

25 Etapas Alternativas 4 - Preparación de ácido 4-tia-1-

81

azabícciclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-(hidroximetil)-
3,3-dimetil-7-oxo-, 4,4-dióxido, sal monosódica,
(2S,5R,6R)

La sulfona de 6-β-hidroximetil-6-α-bromopenicilano de bencilo (1143 g) se puso en un recipiente de reacción grande. Se añadieron benceno (6,21 l) e hidruro de tributilestano (770 ml) y la mezcla de reacción se calentó a la temperatura de reflujo durante 2-3 horas. La reacción se controló por TLC, disolvente = 1 l de hexano/acetato de etilo.

Tras la finalización de la reacción, la mezcla se concentró hasta un aceite para retirar el benceno. El aceite se lavó con hexano a temperatura ambiente, hasta que todos los subproductos residuales de estaño se retiraron. El material se calentó de nuevo a reflujo, se añadió acetato de etilo (EtOAc) para transferir el material a un matraz de una sola boca y se concentró. El material se lavó con hexano (3 x) y la capa del producto se secó a presión reducida.

La mitad del aceite (549 g) se cromatografió sobre gel de sílice (1 kg), con suficiente cloruro de metileno para conseguir una solución en aceite, eluyendo con 7/3 de hexano/EtOAc y después con 3/2 de hexano/EtOAc. Las fracciones del producto se combinaron y se concentraron.

El aceite (~540 g) se puso en un autoclave. Se

82

añadieron tetrahidrofurano (1,9 l), paladio al 10% sobre carbono y agua (300 ml) y la mezcla de reacción se hidrogenó a 344,738 Kpa a una temperatura de 30°C durante aproximadamente 1 hora Tras la finalización de la
5 reacción, la mezcla de reacción se filtró a través de celite para retirar el catalizador

El filtrado se concentró y se diluyó con EtOAc (3,0 l) La capa acuosa se lavó con EtOAc (1,0 l) Las capas orgánicas combinadas se secaron con cloruro cálcico y se
10 concentraron a la mitad del volumen Se añadió EtOAc (2,5 l) seguido gota a gota de una solución de etil hexanoato sódico (SEH, 250 g) y EtOAc (1,05 l) Los sólidos resultantes se retiraron por filtración y se secaron en una estufa de vacío

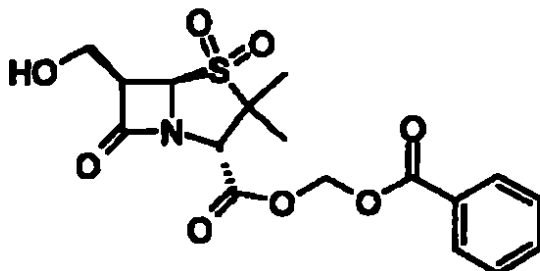
15 A los sólidos resultantes se les añadió agua (6-800 ml) y el pH se ajustó entre 0,5 y 1,0 con ácido sulfúrico 4 M El producto se extrajo con EtOAc (5 x 1,0 l) Las fases orgánicas combinadas se secaron con cloruro cálcico y se filtraron a través de un filtro de centelleo El
20 filtrado se redujo a la mitad del volumen y se añadió una solución de SEH (115,3 g) y EtOAc (500 ml) La mezcla se dejó granular Los sólidos resultantes se filtraron y se lavaron con EtOAc, dando el producto deseado

Ejemplo 3

25 Profármaco 1 ácido 4-tia-1-azabícciclo[3,2,0]heptano-2-

B

carboxílico, 6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-,
(benzoiloxi)metil éster, 4,4-dióxido (2S,5R,6R)



El profármaco 1, mostrado anteriormente, se preparó
 5 como se indica a continuación

A una solución agitada de 3,13 g (18,4 mmol) de benzoato de clorometilo (Narchem) en 200 ml de acetona se le añadieron 13,8 g (92,1 mmol) de yoduro sódico (Aldrich). La mezcla resultante se agitó a temperatura
 10 ambiente durante una noche. A esta solución se le añadieron 3,5 g (12,3 mmol) de ácido 4-tia-1-azabicyclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, 4,4-dióxido, sal monosódica, (2S,5R,6R). La mezcla de reacción se agitó durante una
 15 noche a temperatura ambiente. Después, la mezcla de reacción se concentró al vacío. Posteriormente, se añadieron 200 ml de agua y 200 ml de acetato de etilo y la capa orgánica se separó y se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío. La
 20 cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con 1 l de acetato de etilo/hexanos produjo 8,62 g de un aceite. El

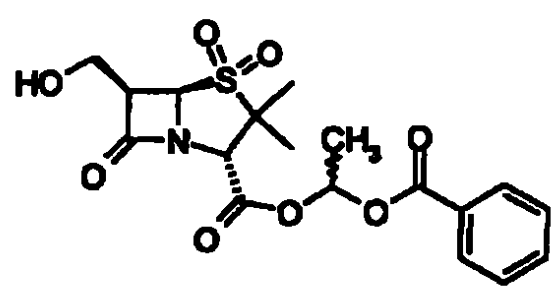
84

aceite después se recristalizó en acetato de etilo/hexanos, produciendo 5,5 g de un sólido cristalino Las aguas madre todavía convenían el compuesto deseado Punto de fusión = 102°C ¹H RMN (DMSO) 7,97 (d, 2H, J = 7,5 Hz), 7,70 (t, 1H, J = 7,5 Hz), 7,56 (t, 2H, J = 7,5 Hz), 6,12 (d, 1H, J = 6 Hz), 5,99 (d, 1H, J = 6 Hz), 5,19 (d, 1H, J = 5 Hz), 5,17 (m, OH), 4,62 (s, 1H), 4,20 (m, 1H), 4,03 (m, 1H), 3,73 (m, 1H), 1,41 (s, 3H), 1,28 (s, 3H)

10

Ejemplo 4

Profármaco 2 ácido 4-tia-1-azabicyclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo,-1-(benciloxi)etil éster, 4,4-dióxido (2S,5R,6R)



15

El profármaco 2, mostrado anteriormente, se preparó como se indica a continuación

20

A una solución agitada de 2,5 g (8,77 mmol) de ácido 4-tia-1-azabicyclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, 4,4-dióxido, sal monosódica, (2S,5R,6R) en 20 ml de DMF se le añadieron 2,1 g (11,4 mmol) de 1-cloro-etil éster del ácido (+/-)-

83

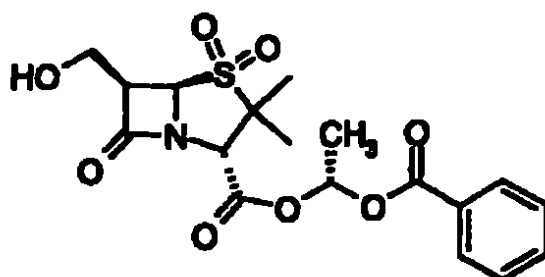
benzoico Después, la mezcla resultante se calentó a 35°C durante 3 días Se añadieron 40 ml de agua y 100 ml de acetato de etilo y las capas se separaron La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío La cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con 1 l de acetato de etilo al 20%/hexanos al 80% seguido de 1 l de 1 l de acetato de etilo/hexanos produjo 1,2 g de un aceite que se recristalizó usando acetato de etilo/hexanos, produciendo 1 g de un sólido cristalino blanco (mezcla de 2 diastereómeros) Punto de fusión = 133-135°C ¹H RMN (d-DMSO, 400 MHz) 7,96 (d, 2H, J = 7,5 Hz), 7,71 (t, 1H, J = 7,5 Hz), 7,55 (t, 2H, J = 7,5 Hz), 7,07 (c, 0,5H, J = 5,4 Hz), 7,03 (c, 0,5H, J = 5,4 Hz), 5,19 (d, 1H, J = 5 Hz), 5,15 (m, OH), 4,54 (s, 0,5H), 4,53 (s, 0,5H), 4,19 (m, 1H), 4,01 (m, 1H), 3,73 (m, 1H), 1,62 (d, 1,5H, J = 5,4 Hz), 1,61 (d, 1,5H, J = 5,4 Hz), 1,44 (s, 1,5H), 1,38 (m, 4,5H)

20

Ejemplo 5

Profármaco 3 Ácido 4-tia-1-azabicyclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, (1R)-1-(benzoiloxi)etil éster, 4,4-dióxido (2S,5R,6R)

86



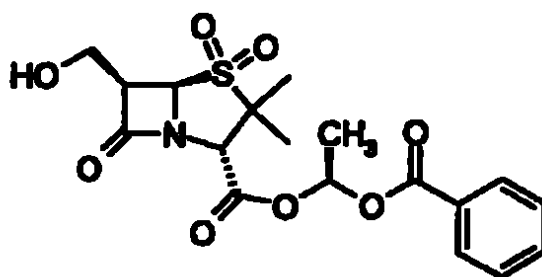
El profármaco 3, mostrado anteriormente, se preparó mediante el procedimiento del Ejemplo 4 por sustitución de 1-cloro-etil éster del ácido (S)-benzoico y calentando únicamente a 30°C Punto de fusión = 154°C ¹H RMN (d-DMSO, 400 MHz) 7,96 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 7,71 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 7,55 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 7,03 (c, J = 5,4 Hz, 1H), 5,19 (d, J = 5 Hz, 1H), 5,15 (m, OH), 4,53 (s, 1H), 4,18 (m, 1H), 4,02 (m, 1H), 3,72 (m, 1H), 1,61 (d, J = 5,4 Hz, 3H), 1,39 (s, 3H), 1,37 (s, 3H) [α]_D = +119 (c = 0,0121, CHCl₃)

El profármaco 3 también se preparó mediante la siguiente ruta alternativa Se combinaron 52,03 g (182,4 mmol) de ácido 4-tia-1-azabicyclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, 4,4-dióxido, sal monosódica, (2S,5R,6R), 61,50 g (181,1 mmol) de hidrogenosulfato de tetrabutilamonio y 15,44 g (183,2 mmol) de hidrogenocarbonato sódico a 20°C A esto se le añadieron 400 ml de diclorometano mientras se mantenía una temperatura de 20°C Después se añadieron 100 ml de agua

La mezcla resultante se agitó a 20°C durante 30 minutos. La capa orgánica se separó y se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío. Al residuo resultante se le añadieron 169,4 g (917,6 mmol) de 1-cloro-etil éster del ácido (S)-benzoico seguido de 160 ml de acetona. Después, la solución resultante se agitó durante 3 días a temperatura ambiente. La reacción se concentró al vacío y se cromatografió sobre gel de sílice usando acetato de etilo al 40-50%/hexanos como eluyente. El producto resultante se cristalizó en etanol seguido de recristalización en acetato de etilo/hexanos. La filtración y el secado al vacío produjeron 85,9 g de producto cristalino blanco.

Ejemplo 6

15 Profármaco 4 ácido 4-tia-1-azabicyclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, (1S)-1-(benzoiloxi)etil éster, 4,4-dióxido (2S,5R,6R)



El profármaco 4, mostrado anteriormente, se preparó mediante el procedimiento del Ejemplo 4 por sustitución de 1-cloro-etil éster del ácido (R)-benzoico y calentando

88

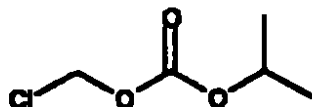
únicamente a 30°C ^1H RMN (d-DMSO, 400 MHz) 7,96 (d, 2H, J = 7,5 Hz), 7,71 (t, 1H, J = 7,5 Hz), 7,55 (t, 2H, J = 7,5 Hz), 7,07 (c, 1H, J = 5,4 Hz), 5,19 (d, 1H, J = 5 Hz), 5,15 (m, OH), 4,54 (s, 1H), 4,18 (m, 1H), 4,01 (m, 1H),
5 3,72 (m, 1H), 1,62 (d, 3H, J = 5,4 Hz), 1,44 (s, 3H), 1,35 (s, 3H) MS (m/z) 410 ($\text{M}^- - 1$, 100)

Ejemplo 7

Preparación de Ácidos Carbónicos para Sintetizar

Profármacos de Comparación del ácido 4-tia-1-

10 azabíciclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-(hidroximetil)-
3,3-dimetil-7-oxo-, 4,4-dióxido (2S,5R,6R)

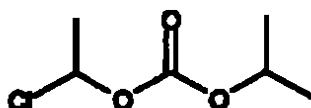


El éster isopropílico del éster clorometílico del
ácido carbónico, mostrado anteriormente, se preparó como
15 se indica a continuación A una solución agitada de 10
gramos (75,2 mmol) de cloroformiato de clorometilo (Fluka)
en 100 ml de diclorometano 0°C se le añadieron 5,8 ml (76
mmol) de alcohol isopropílico seguido de 11,93 g (97,8
mmol) de aminopiridina de dimetilo (Fluka) Después, la
20 mezcla de reacción resultante se dejó calentar a
temperatura ambiente y se agitó durante una noche La
mezcla de reacción después se diluyó con agua Después,
las capas se separaron La capa orgánica se lavó con
salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró al

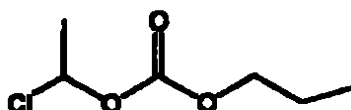
89

vacío, produciendo 6 gramos de un aceite transparente
Después, el aceite se usó en las siguientes etapas tal
cual ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) 5,72 (s, 2H), 4,95 (m, 1H, J
= 6,2 Hz), 1,33 (d, 6H, J = 6,2 Hz)

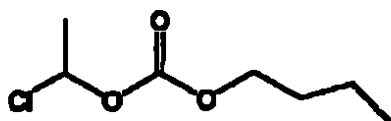
- 5 Nota Los mejores rendimientos se consiguen cuando se usan
únicamente 1,05 equivalentes de aminopiridina de dimetilo.



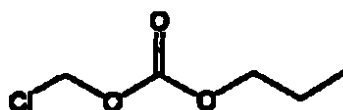
- El éster isopropílico del 1-cloro-etil éster del
ácido (+/-)-carbónico se preparó de forma análoga al éster
10 isopropílico del éster clorometílico del ácido carbónico
por sustitución de cloroformiato de cloroetilo (Fluka) ^1H
RMN (CDCl_3 , 400 MHz) 6,41 (c, 1H, J = 5,8 Hz), 4,94 (m,
1H, J = 6,2 Hz), 1,81 (d, 3H, J = 5,8 Hz), 1,32 (m, 6H)



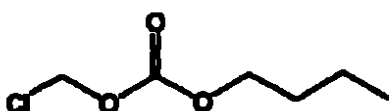
- 15 El éster propílico del 1-cloro-etil éster del ácido
(+/-)-carbónico se preparó de una forma análoga al éster
isopropílico del éster clorometílico del ácido carbónico
por sustitución de propanol (Aldrich) ^1H RMN (CDCl_3 , 400
MHz) 6,41 (c, 1H, J = 5,8 Hz), 4,17 (m, 2H), 1,81 (d, 3H,
20 J = 5,8 Hz), 1,71 (m, 2H), 0,96 (m, 3H)



El 1-cloro-etil éster del éster butílico del ácido (+/-)-carbónico se preparó de una forma análoga al éster isopropílico del éster clorometílico del ácido carbónico por sustitución de *n*-butanol (Aldrich) ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) 6,41 (c, 1H, $J = 5,8$ Hz), 4,20 (m, 2H), 1,81 (d, 3H, $J = 5,8$ Hz), 1,67 (m, 2H), 1,41 (m, 2H), 0,93 (m, 3H)



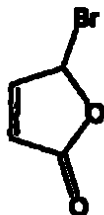
El éster propílico del éster clorometílico del ácido carbónico se preparó de una forma análoga al éster isopropílico del éster clorometílico del ácido carbónico por sustitución de propanol (Aldrich) ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) 5,72 (s, 2H), 4,18 (t, 2H, $J = 6,6$ Hz), 1,71 (m, 2H), 0,97 (t, 3H, $J = 7,5$ Hz)



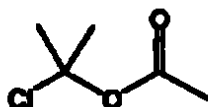
15

El éster clorometílico del éster butílico del ácido carbónico se preparó de una forma análoga al éster isopropílico del éster clorometílico del ácido carbónico por sustitución de *n*-butanol (Aldrich) ^1H RMN (CDCl_3 , 400

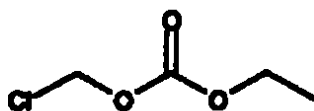
MHz) 5,72 (s, 2H), 4,23 (t, 2H, $J = 6,6$ Hz), 1,70 (m, 2H), 1,41 (m, 2H), 0,94 (t, 3H, $J = 7,5$ Hz)



La -(+/-)-5-bromo-5H-furan-2-ona se preparó de una forma análoga a la descrita en Tett Lett 22, 34, 1981, 3269-3272



El 1-cloro-1-metil-etil éster del ácido acético se preparó como en Neuenschwander y col , Helvetica Chimica 1978, 61 2047-2058



El éster etílico del éster clorometílico del ácido carbónico se preparó de una forma análoga al éster isopropílico del éster clorometílico del ácido carbónico por sustitución de etanol ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) 5,72 (s, 2H), 4,28 (c, 2H, $J = 7,1$ Hz), 1,34 (t, 3H, $J = 7,1$ Hz)

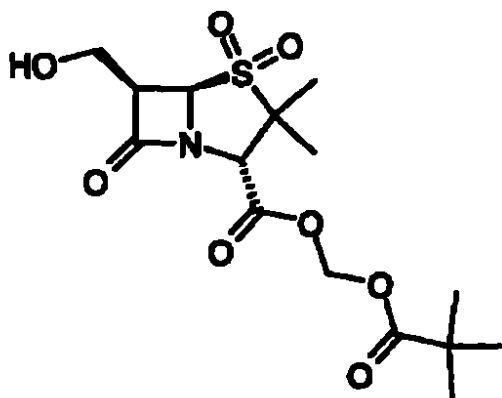
Ejemplo 8

92

Preparación de los Profármacos de Comparación de ácido 4-tia-1-azabicyclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, 4,4-dióxido (2S,5R,6R)

Los profármacos de ácido 4-tia-1-azabicyclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, 4,3-dióxido (2S,5R,6R) se prepararon para demostrar la biodisponibilidad inesperadamente mejorada y las propiedades físicas de los profármacos de la presente invención. De estos Profármacos de Comparación, El profármaco de Comparación 1 se describe en el Ejemplo 25 de la Patente de Estados Unidos N° 4 287 181. Los profármacos de Comparación 2-15 son compuestos nuevos pero están dentro del alcance del gen descrito en la Patente de Estados Unidos N° 4.287 181.

15 Profármaco de Comparación 1



Ácido 4-tia-1-azabicyclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, (2,2-dimetil-1-oxopropoxi)metil éster, 4,4-dióxido (2S,5R,6R)

93

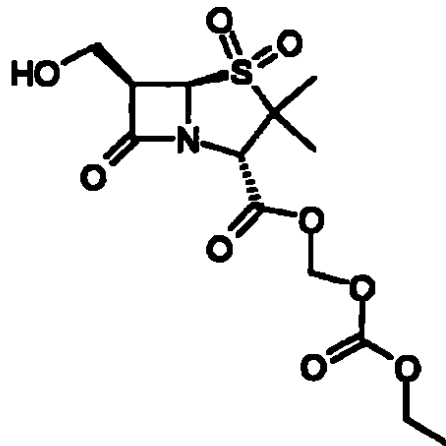
A una solución agitada de 2,5 g (8,77 mmol) de ácido 4-tia-1-azabicyclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, 4,4-dióxido, sal monosódica, (2S,5R,6R) en 20 ml de DMF se le añadió (11,4 mmol) pivalato de clorometilo (Aldrich) y se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Después, la mezcla resultante se calentó a 35°C durante 3 días. Se añadieron 40 ml de agua y 100 ml de acetato de etilo y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. La cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con 1 l de acetato de etilo al 20%/hexanos al 80% seguido de 1 l de 1 l de acetato de etilo/hexanos produjo un aceite. Al aceite se le añadieron hexanos (15 ml) y la muestra se puso en el frigorífico durante 4 días, momento en el que precipitó un sólido. Después, éste se concentró al vacío, produciendo 110 mg de un sólido amorfo blanco. Punto de fusión = 70-73°C. ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) 5,94 (d, 1H, J = 5,4 Hz), 5,70 (d, 1H, J = 5,4 Hz), 4,69 (d, 1H, J = 4,1 Hz), 4,48 (s, 1H), 4,30 (m, 1H), 4,15 (m, 2H), 1,55 (s, 3H), 1,41 (s, 3H), 1,21 (s, 9H).

Como alternativa, este compuesto, que también se conoce como sulfona de 6-β-hidroximetilpenicilinato de pivaloiloximetilo, puede prepararse como se describe en el

94

Ejemplo 25 de la Patente de Estados Unidos N° 4 287 181

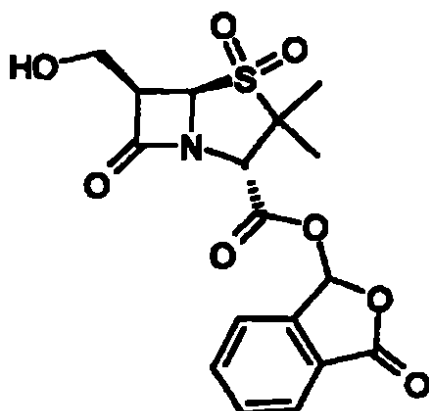
Profármaco de Comparación 2



Ácido 4-tia-1-azabicyclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-
5 (hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-,
[(etoxycarbonil)oxi]metil éster, 4,4-dióxido (2S,5R,6R)

Este profármaco se preparó de acuerdo con el
procedimiento usado para preparar el Profármaco de
Comparación 1 con la excepción de que se sustituyó
10 pivalato de clorometilo por éster etílico del éster
clorometílico del ácido carbónico Punto de fusión (sólido
amorfo) = 103-105°C ¹H RMN (MeOD, 400 MHz) 5,91 (d, 1H, J
= 5,8 Hz), 5,76 (d, 1H, J = 5,8 Hz), 4,96 (d, 1H, J = 4,6
Hz), 4,55 (s, 1H), 4,15-4,25 (m, 4H), 3,95 (m, 1H), 1,53
15 (s, 3H), 1,41 (s, 3H), 1,29 (t, 3H, J = 7,1 Hz)

Profármaco de Comparación 3

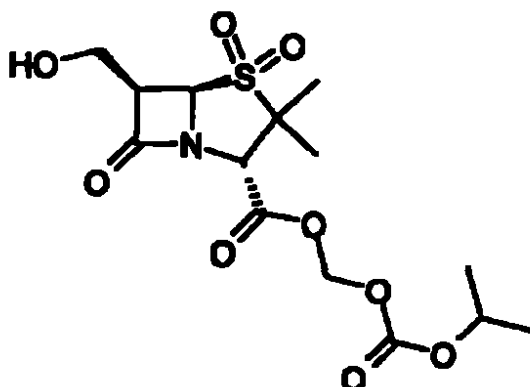


Ácido 4-tia-1-azabicyclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-
(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, 1,3-dihidro-3-oxo-1-
isobenzofuranil éster, 4,4dióxido (2S,5R,6R)

5 Este profármaco se preparó de acuerdo con el
 procedimiento usado para preparar el Profármaco de
 Comparación 1 con la excepción de que se sustituyó
 pivalato de clorometilo por 3-bromo-ftalamida (Aldrich)

Tras la dilución de DMF con agua, el producto deseado
 10 precipitó en forma de un sólido amorfo y se filtró y se
 secó al vacío MS (m/z) 394 (M⁺) La RMN representa una
 mezcla de diastereómeros ¹H RMN (d-DMSO, 400 MHz) 7,8-8,0
 (m, 4H), 7,60 (s, 0,5H), 7,59 (s, 0,5H), 5,23 (m, 1H),
 5,16 (OH), 4,71 (s, 0,5H), 4,67 (s, 0,5H), 4,20 (m, 1H),
 15 4,02 (m, 1H), 3,74 (m, 1H), 1,47 (s, 1,5H), 1,37 (s,
 1,5H), 1,36 (s, 1,5H), 1,31 (s, 1,5H)

Profármaco de Comparación 4



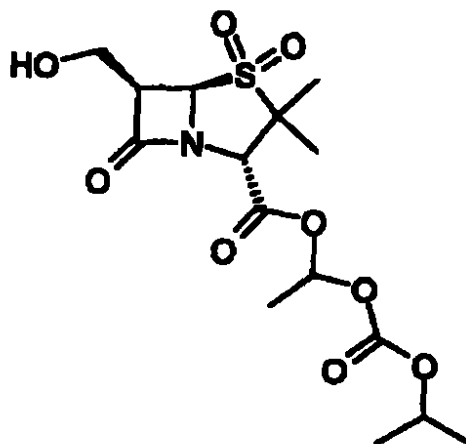
Ácido 4-tia-1-azabíciclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-
(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, [(1-
metiletoxi)carbonil]oxi]metil éster, 4,4dióxido (2S,5R,6R)

5 A una solución agitada de (18,4 mmol) de éster isopropílico del éster clorometílico del ácido carbónico en 200 ml de acetona se le añadieron 13,8 g (92,1 mmol) de yoduro sódico (Aldrich) La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante una noche A esta solución se
10 le añadieron 3,5 g (12,3 mmol) de ácido 4-tia-1-azabíciclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo, 4,4-dióxido, sal monosódica, (2S,5R,6R) (Documento US 4 287 181) y la mezcla de reacción se agitó durante una noche a temperatura ambiente La mezcla de
15 reacción después se concentró al vacío Se añadieron 200 ml de agua y 200 ml de acetato de etilo y la capa orgánica se separó y se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío Cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con 1 l de acetato de etilo/hexanos El

97

producto final fue un aceite rojizo MS (m/z). 378 (M⁻) ¹H RMN (d-DMSO, 400 MHz) 5,86 (d, 1H, J = 5,8 Hz), 5,74 (d, 1H, J = 5,8 Hz), 7,20 (d, 1H, J = 5 Hz), 5,17 (m, OH), 4,82 (m, 1H), 4,60 (s, 1H), 4,20 (m, 1H), 4,03 (m, 1H), 3,74 (m, 1H), 1,42 (s, 3H), 1,30 (s, 3H), 1,22 (d, 6H, J = 6,2 Hz)

Profármaco de Comparación 5

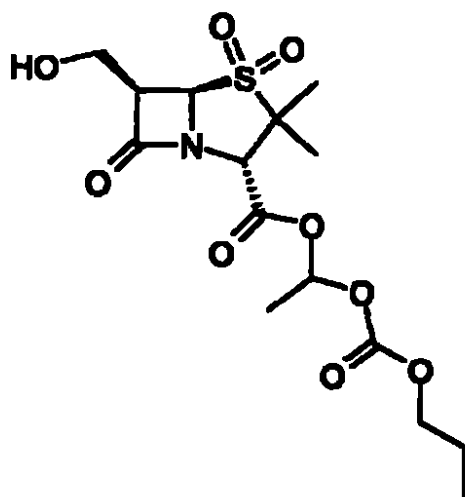


10 Ácido 4-tia-1-azabicyclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-
(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, 1-[[1-
metiletoxí)carbonil]oxí]etil éster, 4,4-dióxido (2S,5R,6R)

Este profármaco se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para preparar el Profármaco de Comparación 4 con la excepción de que se sustituyó éster isopropílico del éster clorometílico del ácido carbónico por éster isopropílico de 1-cloro-etil éster del ácido carbónico MS (m/z) 392 (M⁻) La RMN es de un aceite rojizo que es una mezcla de 2 diastereómeros ¹H RMN (d-

DMSO, 400 MHz) 6,71 (c, 0,5H, J = 5,4 Hz), 6,67 (c, 0,5H, J = 5,4 Hz), 5,20 (d, 1H, J = 5 Hz), 4,79 (m, 1H), 4,51 (s, 0,5H), 4,49 (s, 0,5H), 4,20 (m, 1H), 4,03 (m, 1H), 3,74 (m, 1H), 1,48 (m, 3H), 1,43 (s, 1,5H), 1,39 (s, 1,5H), 1,33 (m, 3H), 1,22 (m, 6H)

Profármaco de Comparación 6



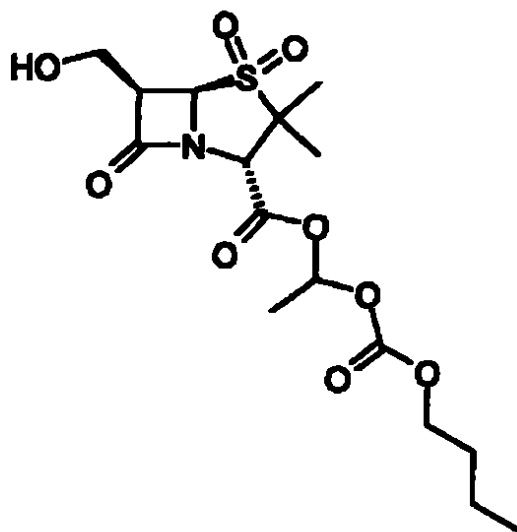
Ácido 4-tia-1-azabicyclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, 1-

10 [(propoxycarbonil)oxi]etil éster, 4,4-dióxido (2S,5R,6R)

Este profármaco se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para preparar el Profármaco de Comparación 4 con la excepción de que se sustituyó éster isopropílico del éster clorometílico del ácido carbónico por el éster propílico de 1-cloro-etil éster del ácido carbónico MS (m/z) 392 (M⁻) La RMN es de un aceite amarillo-rojizo que es una mezcla de 2 diastereómeros ¹H

RMN (d-DMSO, 400 MHz) 6,72 (c, 0,5H, J = 5,4 Hz), 6,68 (c, 0,5H, J = 5,4 Hz), 5,20 (m, 1H), 4,51 (s, 0,5H), 4,49 (s, 0,5H), 4,20 (m, 1H), 4,03 (m, 3H), 3,74 (m, 1H), 1,59 (m, 2H), 1,48 (m, 3H), 1,39 (s, 1,5H), 1,34 (s, 1,5H),
 5 1,22 (m, 3H), 0,86 (m, 3H)

Profármaco de Comparación 7



Ácido 4-tia-1-azabicyclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, 1-

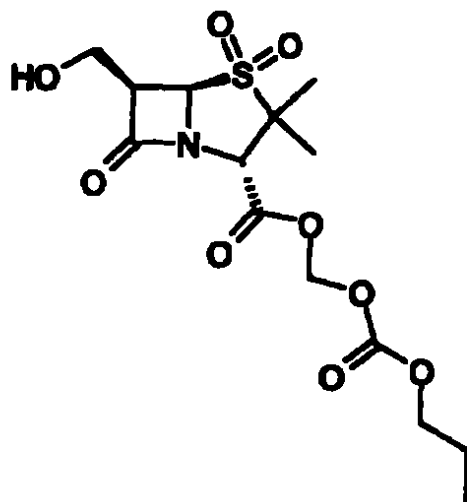
10 [(butoxycarbonil)oxi]etil éster, 4,4-dióxido (2S,5R,6R)

Este profármaco se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para preparar el Profármaco de Comparación 4 con la excepción de que se sustituyó éster isopropílico del éster clorometílico del ácido carbónico por 1-cloro-etil éster del éster butílico del ácido carbónico MS (m/z) 406 (M⁻) La RMN es de un aceite
 15 amarillo-rojizo que es una mezcla de 2 diastereómeros ¹H

100

RMN (d-DMSO, 400 MHz). 6,72 (c, 0,5H, $J = 5,4$ Hz), 6,68 (c, 0,5 Hz, $J = 5,4$ Hz), 5,20 (m, 1H), 4,51 (s, 0,5H), 4,49 (s, 0,5H), 4,20 (m, 1H), 4,03 (m, 3H), 3,74 (m, 1H), 1,59 (m, 2H), 1,15-1,55 (m, 11H), 0,86 (m, 3H)

5 Profármaco de Comparación 8



Ácido 4-tia-1-azabicyclo[2,0]heptano-2-carboxílico, 6-

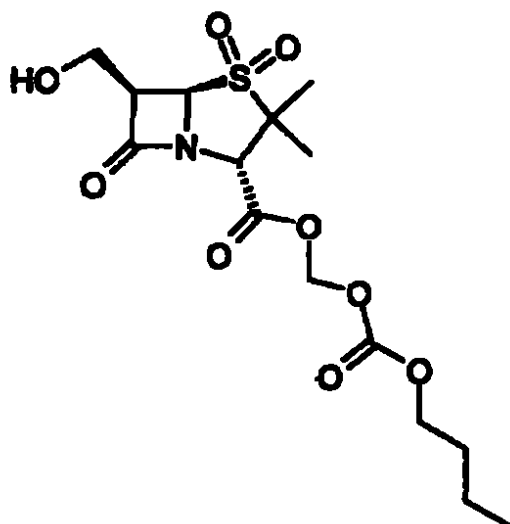
(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-,

[(propoxicarbonil)oxi]metil éster, 4,4-dióxido (2S,5R,6R)

- 10 Este profármaco se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para preparar el éster isopropílico. El producto final fue un sólido blanco amorfo MS (m/z) 378 (M^-). 1H RMN (d-DMSO, 400 MHz) 5,86 (d, 1H, $J = 6,2$ Hz), 5,74 (d, 1H, $J = 6,2$ Hz), 5,20 (d, 1H, $J = 5$ Hz), 5,17 (m, OH), 4,60 (s, 1H), 4,20 (m, 1H), 4,10 (m, 2H), 4,03 (m, 1H), 3,74 (m, 1H), 1,60 (m, 2H), 1,42 (s, 3H), 1,30 (s, 3H), 0,86 (t, 3H, $J = 7,5$ Hz).

Profármaco de Comparación 9

101

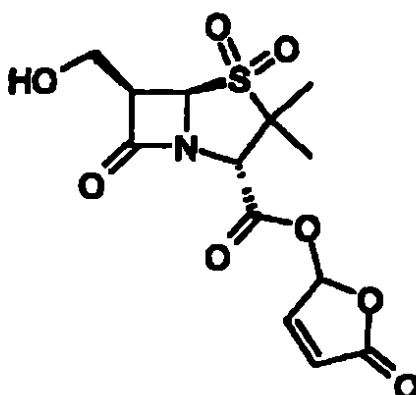


Ácido 4-tia-1-azabíciclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-
(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-,
[(butoxicarbonil)oxi]metil éster, 4,4-dióxido (2S,5R,6R)

5 Este profármaco se preparó de acuerdo con el
 procedimiento usado para preparar el Profármaco de
 Comparación 4 con la excepción de que se sustituyó éster
 isopropílico del éster clorometílico del ácido carbónico
 por el éster clorometílico del éster butílico del ácido
 10 carbónico El producto final fue un sólido blanco amorfo
 MS (m/z) 392 (M⁻) ¹H RMN (d-DMSO, 400 MHz) 5,86 (d, 1H,
 J = 6,2 Hz), 5,74 (d, 1H, J = 6,2 Hz), 5,20 (d, 1H, J = 5
 Hz), 5,17 (m, OH), 4,60 (s, 1H), 4,20 (m, 1H), 4,15 (m,
 2H), 4,03 (m, 1H), 3,74 (m, 1H), 1,60 (m, 2H), 1,42 (s,
 15 3H), 1,30 (m, 2H), 1,30 (s, 3H), 0,86 (t, 3H, J = 7,5 Hz)

Profármaco de Comparación 10

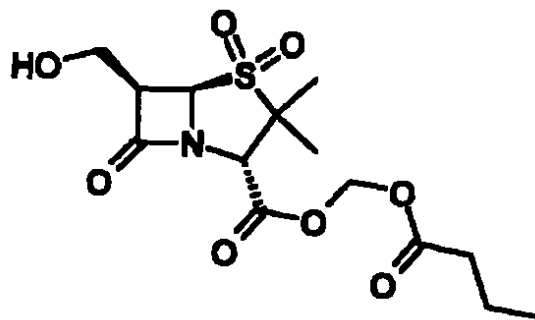
M2



Ácido 4-tia-1-azabicyclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-
(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, 2,5-dihidro-5-oxo-2-
furanil éster, 4,4-dióxido (2S,5R,6R)

- 5 Este profármaco se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para preparar el Profármaco de Comparación 4 con la excepción de que se sustituyó pivalato de clorometilo por 5-bromo-5H-furan-2-ona MS (m/z) 344 (M⁺) La RMN es una mezcla de 2 diastereómeros
- 10 El producto fue un sólido amorfo ¹H RMN (d-DMSO, 400 MHz) 7,81 (m, 0,5H), 7,73 (m, 0,5H), 7,14 (m, 0,5H), 7,10 (m, 0,5H), 6,61 (,m 1H), 5,21 (m, 1H), 5,17 (m, OH), 4,67 (s, 0,5H), 4,63 (s, 0,5H), 4,20 (m, 1H), 4,03 (m, 1H), 3,74 (m, 1H), 1,42 (s, 1,5H), 1,40 (s, 3H), 1,32 (s, 1,5H)
- 15 Profármaco de Comparación 11

103



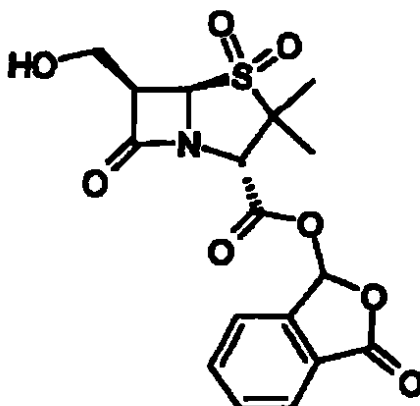
Ácido 4-tia-1-azabicyclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-
(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, (1-oxobutoxi)metil
éster, 4,4-dióxido (2S,5R,6R)

5 Este profármaco se preparó de acuerdo con el
procedimiento usado para preparar el Profármaco de
Comparación 4 con la excepción de que se sustituyó
pivalato de clorometilo por butirato de clorometilo
(orgánicos Acros) El producto fue un aceite transparente

10 MS (m/z) 362 (M⁻) ¹H RMN (d-DMSO, 40 MHz) 5,86 (d, 1H, J
= 5,8 Hz), 5,74 (d, 1H, J = 5,8 Hz), 5,20 (d, 1H, J = 5
Hz), 5,17 (m, OH), 4,55 (s, 1H), 4,20 (m, 1H), 4,01 (m,
1H), 3,74 (m, 1H), 2,35 (m, 2H), 1,52 (m, 2H), 1,40 (s,
3H), 1,30 (s, 3H), 0,86 (m, 3H)

15 Profármaco de Comparación 12

104



Ácido 4-tia-1-azabicyclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, 1,3-dihidro-3-oxo-1-isobenzofuranil éster, 4,4-dióxido (2S,5R,6R)

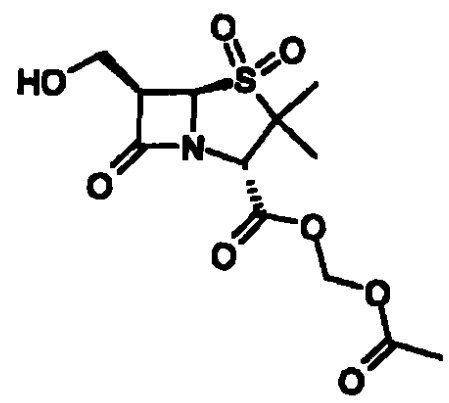
5 Preparado por cromatografía sobre gel de sílice de 275 mg del Profármaco de Comparación 3 usando alcohol isopropílico al 5%/cloruro de metileno al 95%, produciendo 200 mg de una mezcla de diastereómeros seguido de 70 mg de un único diastereómero (más polar) El producto fue un

10 sólido amorfo MS (m/z) 394 (M⁺) la RMN representa el diastereómero más polar ¹H RMN (d-DMSO, 400 MHz) 7,95 (d, 1H, J = 7,5 Hz), 7,90 (m, 1H), 7,81 (d, 1H, J = 7,5 Hz), 7,77 (m, 1H), 7,60 (s, 1H), 5,23 (d, 1H, J = 5 Hz), 5,16 (OH), 4,71 (s, 1H), 4,20 (m, 1H), 4,02 (m, 1H), 3,74 (m,

15 1H), 1,47 (s, 3H), 1,37 (s, 3H)

Profármaco de Comparación 13

103

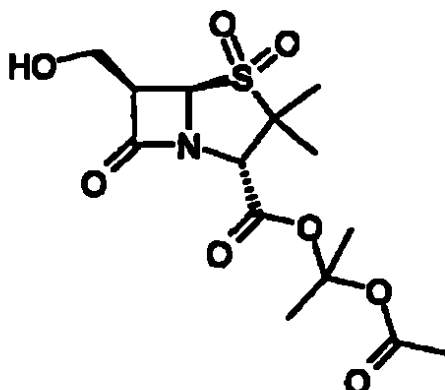


Ácido 4-tia-1-azabicyclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-
(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, (acetiloxi)metil éster,
4,4-dióxido (2S,5R,6R)

5 Este profármaco se preparó de acuerdo con el
 procedimiento usado para preparar el Profármaco de
 Comparación 1 con la excepción de que se substituyó
 pivalato de clorometilo por acetato de bromometilo
 (Aldrich) El producto final fue un aceite viscoso MS
 10 (m/z) 33 4 (M⁻) ¹H RMN (d-DMSO, 400 MHz) 5,82 (d, 1H, J
 = 6,2 Hz), 5,72 (d, 1H, J = 6,2 Hz), 5,19 (d, 1H, J = 5
 Hz), 5,17 (m, OH), 4,55 (s, 1H), 4,20 (m, 1H), 4,01 (m,
 1H), 3,74 (m, 1H), 2,08 (s, 3H), 1,40 (s, 3H), 1,30 (s,
 3H)

15 Profármaco de Comparación 14

106



Ácido 4-tia-1-azabicyclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico, 6-
(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, 1-(acetiloxi)-1-
metiletil éster, 4,4-dióxido (2S,5R,6R)

5 Este profármaco se preparó de acuerdo con el
 procedimiento usado para preparar el Profármaco de
 Comparación 1 con la excepción de que se substituyó
 pivalato de clorometilo por 1-cloro-1-metil-etil éster del
 ácido acético El producto final fue un sólido amorfo MS
 10 (m/z) 362 (M⁻) ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) 4,68 (d, 1H, J =
 5,0 Hz), 4,40 (s, 1H), 4,31 (m, 1H), 4,15 (m, 2H), 2,06
 (s, 3H), 1,92 (s, 3H), 1,82 (s, 3H), 1,58 (s, 3H), 1,47
 (s, 3H)

Ejemplo 9

15 Química (pH), Estabilidad de la Suspensión y del Plasma

La estabilidad del Profármaco 3 se evaluó con
 respecto a (1) la estabilidad química mientras está en
 soluciones de diversos pH, (2) el manteniendo de la
 potencia mientras está en suspensión, y (3) la estabilidad

107

química en plasmas de diversos mamíferos para calcular la capacidad del Profármaco 3 para resistir la hidrólisis antes de la absorción y después para hidrolizar rápidamente, formando 6- β -HMPAS después de la absorción

5 La estabilidad química del Profármaco 3, en solución, cuando se compara con la sal sódica de 6- β -HMPAS (en lo sucesivo "Na HPMAS") y el clavulanato de litio en solución, se calculó a pH 1, 2, 2,5, 4,0, 5,0, 6,5 y 7,4. Los tampones se formularon aproximadamente para conseguir
10 el pH deseado de cada incubación. La incubación consistió en 990 μ l del tampón de pH apropiado y se inició con la adición de 10 μ l de una solución madre 10 mM del compuesto en metanol al 100% (concentración final = 100 μ M). Las muestras en serie (20 μ l) se tomaron a 0, 10, 20, 40, 60,
15 120 y 240 minutos mediante un autoinyector y se inyectaron directamente en una HPLC en línea con un sistema de espectrómetro de masas cuadrupolar único de LC/MS usado para la detección analítica. La temperatura de la incubación se reguló con un bloque térmico de 96 pocillos.
20 Las incubaciones se realizaron a 25°C y 37°C. El sistema de LC/MS se realizó en el modo ión negativo. El ión selectivo que controla el $[M-H]^-$ apropiado para cada analito se usó para la detección y cuantificación del compuesto restante en cada punto temporal. La respuesta pico en cada punto
25 temporal se expresó como un porcentaje del obtenido en el

100

período de tiempo = 0 Se obtuvo una constante de relación de degradación (k_d) mediante la regresión de estos porcentajes del período de tiempo = 0 minutos al período de tiempo = 240 minutos Después, una semi-vida de primer
5 orden aparente podría estimarse como $\ln 2/k_d$ Estas determinaciones se completaron por duplicado y se informó del promedio

Como se muestra en la siguiente tabla, el Profármaco 3 demostró una excelente estabilidad ácida y una
10 estabilidad adecuada a un pH casi neutro para la absorción Además, la Na-HMPAS demostró una estabilidad de la solución superior en comparación con el clavulanato, particularmente a un pH bajo

También se evaluó la estabilidad del Profármaco 3 en
15 suspensión (destamponado en metilcelulosa al 0,5% a 25°C) para determinar el efecto del tiempo en suspensión sobre la potencia Como se muestra a continuación, el Profármaco 3 mantuvo más del 90% de su potencia después del almacenamiento a temperatura ambiente durante 10 días En
20 contraste, sólo se retiene el 40% de su potencia con el clavulanato en la suspensión de Augmentina si se deja a temperatura ambiente durante el mismo período de tiempo (Véase Mehta, A C, S Hart-Davies, J Payne y R W Lacey, 1994 Stability of amoxicillin and potassium
25 clavalanate in a co-amoxicillin-clavulanato oral

WJ

suspension J Clin Pharm Ther 19 313-315)

	pH					
Estabilidad de la Solución	7,4	6,5	5,0	4,0	2,5	1,2
	Semi-vida (horas)					
Profármaco 3 (25°C)	2,7	>24	>24	>24	>24	>24
Profármaco 3 (37°C)	0,6	4,5	>24	>24	>24	>24
Na-HMPAS (25°C)	>24	>24	>24	>24	>24	>24
Na-HMPAS (37°C)	>24	>24	>24	>24	>24	>24
Clavulanato (25°C)	>24	>24	>24	>24	1,2	0,6
Clavulanato (37°C)	>24	>24	>24	>24	0,9	ND
Profármaco 3						
Estabilidad de la Suspensión	Día	Día	Día	Día	Día	
	1	3	5	7	10	
1,51 mg/ml**	Potencia (por ciento)*					
(preparación de la dosis para rata de 10 mg/kg)	ND	103	98	104	91***	

* Potencia calculada como un porcentaje de la concentración diana como se ensaya por LC/MS de los convencionales solubilizados Los valores representan un porcentaje de las determinaciones por duplicado ND = no determinado

** pH de las suspensiones iniciales ~6,8 y se redujo a 4,7 el día 10

*** La mezcla de diastereómeros no cambió esencialmente

110

La estabilidad del plasma del Profármaco 3, Na-HMPAS y el clavulanato de litio se determinaron en plasma de ratón, perro, mono y ser humano, usando plasma que se preparó y se sometió a un ciclo de congelación/deshielo antes de su uso. La incubación consistió en 990 µl de plasma preincubado durante 5 minutos a 37°C en un bloque térmico de 96 pocillos. La incubación se inició con la adición de 10 µl de una solución madre 10 mM de compuesto en metanol al 100%. Las alícuotas en serie (100 µl) se retiraron y se transfirieron a 200 µl de 75/25 de acetonitrilo/ácido perclórico al 3% a 0, 1, 2, 5, 10, 20, 30 y 60 minutos. Las muestras se centrifugaron, los sobrenadantes se transfirieron a viales de inyección y se inyectaron 20 µl en la HPLC en línea con un espectrómetro de masas cuadripolar único de LC/MS. El sistema LC/MS se realizó en el modo de ión negativo. El control del ión selectivo del $[M-H]^-$ apropiado para cada analito se usó para la detección y cuantificación del compuesto restante en cada punto temporal. La respuesta pico en cada punto temporal se expresó como un porcentaje del obtenido en el período de tiempo = 0. Se obtuvo una constante de relación de degradación (K_d) mediante la regresión de estos porcentajes del período de tiempo = 0 minutos al período de tiempo = 240 minutos. Después, la semi-vida de primer orden aparente se estimó como $\ln 2/k_d$. Estas

221

determinaciones se completaron por duplicado y el promedio se indicó como se muestra a continuación

Estabilidad del Plasma (100 µM)	Ratón	Rata	Perro	Mono	Humano
	semi-vida				
Profármaco 3	2,8	<2,0	2,8	3,6	<2,0
37°C	min	min	min	min	min
Na-HMPAS	3,9	3,4	>4	>4 hr	>4 hr
37°C	hr	hr	hr		
Clavulanato	<4	3,3	2,8	3,6	2,6 hr
37°C	hr	hr	hr	hr	

El Profármaco 3 demostró una estabilidad ácida excelente y una estabilidad adecuada a un pH casi neutro para la absorción Las velocidades de hidrólisis del Profármaco 3 en el plasma de todas las especies, demuestran una hidrólisis enzimática eficaz, produciendo 6-β-HMPAS tras la absorción la Na-HMPAS demostró una estabilidad de solución superior en comparación con el clavulanato, particularmente a pH bajo Aunque ambos compuestos son lábil en plasma, la Na-HMPAS muestra una estabilidad mejorada en el plasma humano

Ejemplo 10

Actividad inhibidora del Profármaco 3 a valores de pH intestinales

Se cree que el clavulanato produce diarrea en el

tracto GI humano, ya que se combina con la amoxicilina residual para destruir selectivamente los componentes esenciales de la flora normal. El clavulanato no es un profármaco y, de esta manera, el 40% que permanece sin absorber en el intestino es la misma molécula activa que el 60% que se absorbe en la circulación. Aunque el pH del estómago y del intestino delgado proximal es ácido, en un estudio de Berry, V y col, *Efficacy of a pharmacokinetically enhanced formulation of amoxicillin/clavulanate against experimental respiratory tract infection in rats caused by Streptococcus pneumoniae*, Abstract B988, 41ª Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 16-19 de diciembre, 2001 Chicago, IL, se descubrió que el pH medio de las muestras de heces de 24 horas recogidas de sujetos con diarrea era de 6,4 (intervalo 5,4-7,8).

Como se muestra en el Ejemplo 7, el Profármaco 3 es muy estable y no se convierte fácilmente en 6-β-HMPAS a un pH < 6,5. Con el fin de comparar la actividad inhibidora de beta-lactamasa del Profármaco 3 y de Na-HMPAS en condiciones de pH encontradas en el intestino grueso humano, se ha determinado la CI₅₀ de los dos compuestos contra una beta-lactamasa TEM-1 a pH 6,0 y 7,0. Los datos indican que a un pH de 6,0, donde no debería haber conversión del profármaco en la forma activa del

113

inhibidor, el Profármaco 3 es inactivo contra la betra-
lactamasa TEM-1 ($CI_{50} > 100 \mu M$) En contraste, a un pH de
7,0 cuando la conversión del profármaco en el inhibidor
activo sucede con una semivida de 33 minutos, el 6- β -HMPAS
5 resultante generado da como resultado un nivel mucho mayor
de inhibición de esta beta-lactamasa que el observado con
un pH de 6,0

		$CI_{50} (\mu M)$	
		<u>Profármaco 3</u>	<u>6-β-HMPAS</u>
10	E coli TEM-1 pH 6,0	> 100	0,37
	E coli TEM-1 pH 7,0	2,2	0,12

Ejemplo 11

Absorción (Biodisponibilidad oral in vivo)

Como el Profármaco 3 tiene una vida media de 30
15 minutos a pH neutro y, en presencia de esterazas, el
profármaco se hidroliza en unos pocos minutos, un cálculo
in vitro usando la línea celular humana Caco-2 determinó
que era inapropiado para medir la absorción del
profármaco En cambio, se descubrió que un modelo in vivo
20 para la absorción era más relevante para calcular la
absorción de los profármacos de la presente invención
Adicionalmente, la correlación de la fracción absorbida en
la rata con respecto al ser humano se ha estudiado en
varios agentes vendidos y se ha mostrado que la
25 correlación es algo mejor ($corr = 0,971$) (Véase Chiou, W

L and A Barve, 1998 Linear correlation of the fraction of oral dose absorbed of 64 drugs between humans and rats *Pharm Res* 15 1792-1795) Basándose en esta correlación, la rata se usó para predecir la absorción humana Debería
5 apreciarse adicionalmente que el 6- β -HMPAS demostró una extracción hepática mínima como se sugirió por los hepatocitos de rata y humanos De esta forma, los cálculos de biodisponibilidad oral en las ratas deberían correlacionarse bien con la fracción absorbida en los
10 humanos

La estimación de biodisponibilidad oral se realizó sobre la Na-HMPAS, los Profármacos 1, 2, 3 y 4, así como en los catorce profármacos de comparación del Ejemplo 8, usando cada uno series de tres ratas Sprague-Dawley (200-
15 225 g) equipadas con catéteres implantados quirúrgicamente en la vena yugular La selección de los vehículos de dosificación, para los estudios orales, dependió del estado físico del compuesto a ensayar Todos los compuestos se administraron oralmente, con la excepción
20 del Profármaco 1, estaban en forma de un aceite o un sólido amorfo De esta forma, estos compuestos se administraron en una forma de dosificación de solución (PO) usando un vehículo 70/20/10 de agua/Cremofor/etanol

Las dosis orales de profármaco se prepararon para
25 liberar una dosis equivalente de 10 mg/kg de 6- β -HMPAS a

115

un volumen de dosificación de 10 ml/kg La Na-HMPAS se administró por vía intravenosa a una dosis de 10 mg/kg para establecer estimaciones de la biodisponibilidad (equivalente de 6-B-HMPAS)

5 Se tomaron muestras de sangre a 0, 15, 30 min, 1, 2, 3 y 5 horas después de la dosis Después, las muestras se procesaron para el plasma y se almacenaron a -20°C antes del análisis Las muestras se ensayaron para 6- β -HMPAS, como se describe más adelante, y después se determinaron

10 los perfiles de concentración media frente al tiempo para la administración oral e intravenosa El área bajo la curva de concentración de plasma frente al tiempo ($\text{AUC}_{0-t_{\text{último}}}$) se calculó desde el tiempo 0 hasta el último punto de tiempo cuantificable usando una aproximación

15 trapezoidal lineal La constante de relación de eliminación terminal (K_{e1}) se estimó por regresión de los datos de concentración de plasma desde el comienzo aparente de la fase de eliminación hasta el último punto de muestra Se estimó una vida media de eliminación como

20 $\ln 2/K_{e1}$ El área de $t_{\text{último}}$ a infinito ($\text{AUC}_{t_{\text{último}}-\infty}$) se estimó a $C_{\text{est } t_{\text{último}}}/K_{e1}$ donde $C_{\text{est } t_{\text{último}}}$ representa la concentración estimada en el último punto de tiempo en el que el fármaco se cuantificó basándose en el análisis regresivo El área total bajo la curva ($\text{AUC}_{0-\infty}$) se estimó

25 como la suma de $\text{AUC}_{0-t_{\text{último}}}$ y $\text{AUC}_{t_{\text{último}}-\infty}$ La

116 -

biodisponibilidad (F) se expresó como $AUC_{(0-\infty)po} \times Dosis_{iv} / AUC_{(0-\infty)iv} \times Dosis_{po}$

Las biodisponibilidades medias encontradas fueron como se muestra a continuación

5

Compuesto	Biodisponibilidad Media	Desviación Típica
Na-HMPAS	6,0	1,6
Profármaco 1	113,1	10,7
Profármaco 2	102,0	11,1
Profármaco 3	92,4	6,0
Profármaco 4	111,1	8,8
Profármaco de Comparación 1	55,4	4,7
Profármaco de Comparación 2	6,2	1,0
Profármaco de Comparación 3	27,2	2,6
Profármaco de Comparación 4	6,8	0,9
Profármaco de Comparación 5	46,5	1,4
Profármaco de Comparación 6	60,9	6,1
Profármaco de	40,3	10,8

177

Comparación 7		
Profármaco de Comparación 8	7,9	1,5
Profármaco de Comparación 9	12,3	2,0
Profármaco de Comparación 10	10,9	1,7
Profármaco de Comparación 11	33,1	5,4
Profármaco de Comparación 12	20,4	1,0
Profármaco de Comparación 13	37,6	3,7
Profármaco de Comparación 14	15,4	3,9

Como se ha mostrado anteriormente, los profármacos de la presente invención tienen biodisponibilidades significativamente mejores que las de 6- β -HMPAS, el Profármaco de Comparación 1 conocido previamente, o los
 5 anteriores profármacos descritos genéricamente (Profármacos de Comparación 2-14)

Descripción del Ensayo

En este ensayo, se extrajeron de nuevo los analitos de interés en la fase acuosa después de la precipitación
 10 de acetonitrilo y del tratamiento con cloroformo Esto

118

proporcionó aproximadamente un factor de concentración de 2 veces careciendo de una etapa de evaporación y reconstitución

La detección se produjo mediante el uso de LC/MS/MS en una operación de iones negativa La única operación cuádrupolar fue inadecuada para la detección selectiva del analito

El pH del disolvente de carga (95 5 de formiato amónico 20 mM/acetonitrilo, disolvente A) fue de ~5,0

La columna analítica fue una Phenomenex AQUA C18 de 4,6 x 50 mm

Toda la preparación de la muestra se completó en tubos MARSH de 1,2 ml de 96 pocillos Las muestras se prepararon como se indica a continuación La muestra de Plasma (200 µl) se añadió a 400 µl de 95 5 de acetonitrilo formiato amónico 20 mM que contenía 5 µg/ml de silbactama como patrón interno Las muestras se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 minutos en una centrífuga puesta a punto Después, el sobrenadante (400 µl) se transfirió a tubos limpios MARSH® de 1,2 ml A las muestras se les añadió cloroformo (600 µl), que después se mezcló y posteriormente se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos Después, la fase acuosa transferida se retiró de la parte superior (~100 µl) y después se analizó

Condiciones de Espectrometría de Masas

119

- Espectrómetro de Masas API-3000 operado en modo de ion negativo usando nebulización Turbo (electronebulización)
- Voltaje de ionización -3000V
- Voltaje de orificio -25 eV
- 5 Energía de colisión 30 eV
- Gas de nebulización y calentamiento ajustado según las necesidades
- Control de la Reacción
- 6- β -HMPAS 262 => 218
- 10 Sulbactam (IS) 232 => 140
- Amoxicilina 364 => 223
- Ácido clavulánico 198 => 136
- Tiempo de ejecución 3 min
- TR ~2 minutos para todos los analitos
- 15 Volumen de inyección 20 μ l
- Condiciones de HPLC
- Disolvente A 95 5 de formiato amónico 20 mM acetonitrilo
- Disolvente B 95 5 de acetonitrilo formiato amónico 20 mM
- Flujo analítico 1 ml/min
- 20 Flujo al Espectrómetro de Masas ~100 μ l/min
- Programa de Gradiente Balístico
- 0 - 0,5 min de A al 100%
- 0,5 - 1 min de A al 100% a B al 100%
- 1 - 1,5 min de B al 100%
- 25 1,5 - 2,0 min de B al 100% a A al 100%

120

LLOQ = 0,1 µg/ml para 6-β-HMPAS y amoxicilina, 0,5 µg/ml de ácido clavulánico

ULOQ = 50 µg/ml (Todos)

Regresión = 1/x pesada lineal

5 Vida de la columna ~300-400 inyecciones

Estudios de Vena porta en Ratas La exposición sistémica del Profármaco 3 también se ensayó en las ratas canuladas en la vena porta después de la administración oral del profármaco a una dosis de 100 mg/kg Se estabilizaron
10 alícuotas de sangre completa en ácido enfriado con hielo inmediatamente después del muestreo a 5, 15 y 30 minutos después de la dosificación No se detectaron niveles de Profármaco 3 en ninguna de las muestras (ensayo LLOQ de 100 ng/ml) Estos resultados sugieren que después de la
15 absorción, el Profármaco 3 experimenta una hidrólisis rápida, produciendo 6-β-HMPAS antes de la exposición al hígado y la circulación a través del cuerpo

Ejemplo 12

Selecciones in vitro

20 Actividad bioquímica contra β-lactamasas de los patógenos respiratorios comunitarios Sólo existen tres moléculas inhibidoras de beta-lactamasa en el mercado sulbactam, clavulanato y tazobactam Estas tres inhiben las penicilinasas de tipo A encontradas en una amplia
25 serie de bacterias De estas, únicamente el clavulanato

72

está dirigido a la terapia oral de las infecciones respiratorias comunitarias. La Na-HMPAS se ensayó contra una colección de penicilinasas sin células encontradas en *H influenzae* y *M catarrhalis* que son resistentes a la ampicilina. Los datos de la siguiente tabla indican que la Na-HMPAS es equivalente al clavulanato de litio contra las enzimas ROB-1 y TEM-1 de *H influenzae*. Los tres inhibidores de beta-lactamasa fueron muy potentes contra las penicilinasas BRO-1 y BRO-2 encontradas en *M catarrhalis*, siendo el sulbactam el más activo (Tabla 1). Un análisis más amplio de β -lactamasas de 30 aislados clínicos recientes de *M catarrhalis* mostró que la Na-HMPAS era eficaz en la inhibición de las enzimas BRO-1 y BRO-2 de todas estas cepas, con un CI_{50} medio de 0,19 μ M.

CI ₅₀ de inhibidores de β -lactamasa contra β -lactamasas en extractos de células				
	β -lactamasa	CI ₅₀ (μ M) *		
Cepas	Tipo	Sulbactam	6- β -HMPAS	Clavulanato
<i>H influenzae</i> ATCC43334	ROB-1	3,40	0,01	0,04
<i>H influenzae</i> 54A1173	TEM-1	4,78	0,03	0,02
<i>M catarrhalis</i> 87A1178 ATCC43617	BRO-2	0,03	0,32	0,11
<i>M catarrhalis</i> 87A1115	BRO-1	0,011	0,143	0,14

172

* Todos los valores inhibidores se determinaron contra la cefalosporina cromogénica en un ensayo colorimétrico

Actividad bioquímica contra las β -lactamasas de otros patógenos, incluyendo los asociados con las infecciones

5 cutáneas La Na-HMPAS fue comparable al clavulanato en términos de su potencia inhibidora contra una amplia variedad de beta-lactamasas de amplio espectro TEM (ESBLs) mientras que la Na-HMPAS y el clavulanato fueron comparables normalmente en la potencia contra ESBLs

10

Inhibición de las β -lactamasas de amplio espectro seleccionadas (ESBLs) (CI ₅₀ , μ M) Inhibidor				
	β -lactamasa	CI ₅₀ (μ M)*		
Cepas	Tipo	Sulbactam	6- β - HMPAS	Clavulanato
<i>E coli</i> ATCC35218	TEM-1	6,85	0,14	0,05
<i>E coli</i> 51A1101	TEM-1	4,76	0,07	0,02
<i>K pneumoniae</i> CF104	TEM-3	0,55	<0,003	<0,003
<i>K pneumoniae</i> CF504	TEM-5	4,68	0,08	<0,003
<i>K pneumoniae</i> L-1	TEM-10	23,19	0,39	>100
<i>K pneumoniae</i> MCV37	TEM-12	5,86	0,27	>0,003
<i>K pneumoniae</i> CF1304	TEM-16	5,80	0,09	0,06

<i>K pneumoniae</i> E264	TEM-17	10,36	0,66	0,004
<i>K pneumoniae</i> CF1104	TEM-24	10,48	7,13	0,01
<i>E coli</i> CF1609	TEM-25	2,58	0,04	0,02
<i>K pneumoniae</i> 5657	TEM-26	0,56	0,08	0,02
<i>Serratia</i> S6	Sme-I	15,65	0,68	19,55

* Todos los valores inhibidores se determinaron contra la cefalosporina cromogénica en un ensayo colorimétrico

En general, puede concluirse que la Na-HMPAS es comparable con el clavulanato de litio

- 5 Ensayo de susceptibilidad para las especies *H influenzae* y *M catarrhalis* que producen β -lactamasa La actividad in vitro de diversas relaciones de 6- β -HMPAS y amoxicilina se calcularon usando aislados clínicos de *H influenzae* y *M catarrhalis* que producen β -lactamasa El NCCLS (Comité
- 10 Nacional para convenciones de laboratorio clínico) aprobó un procedimiento de susceptibilidad para la Augmentina que usa una relación fija 2:1 de amoxicilina/clavulanato Los resultados indicaron que para las cepas de beta-lactamasa (+) 46 de *H influenzae*, los valores de amoxicilina MCI₅₀ y
- 15 MCI₉₀ (es decir, las concentraciones inhibidoras mínimas requeridas para prevenir el crecimiento del 50% o el 90% de los aislados ensayados) para amoxicilina/clavulanato y amoxicilina/6- β -HMPAS fueron de 1 y 2 μ g/ml, respectivamente, mientras que los valores para 2:1 de

amoxicilina/sulbactam fueron de 4 y 8 µg/ml. Nótese que los números se refieren a la concentración de amoxicilina en la mezcla.

Para 48 aislados de *M. catarrhalis*, los valores de MCI₅₀ y MCI₉₀ para amoxicilina/clavulanato fueron ≤0,125 y 0,25 µg/ml, y de 0,5 y 1,0 µg/ml para amoxicilina/6-β-HMPAS, respectivamente. Los valores para amoxicilina/sulbactam (2:1) fueron de 0,25 y 1,0 µg/ml. De esta forma, las MCI obtenidas con todas las células no siempre se correlacionan bien con potencias inhibitorias contra las beta-lactamasas de células libres, ya que el sulbactam fue consistentemente más potente contra las enzimas BRO-1/2 encontradas en *M. catarrhalis*.

Ensayo de susceptibilidad para las especies de
15 *Streptococcus pneumoniae* que no producen β-lactamasa. La actividad *in vitro* de la combinación se comparó con la observada con la amoxicilina sola contra aislados clínicos de *S. pneumoniae* que se clasificaron como susceptibles, intermedios y resistentes a penicilina. Algunas de estas
20 cepas mostraron un alto nivel de resistencia a la penicilina y a la amoxicilina con MCI en el intervalo de 4-8 µg/ml. Como se esperaba para un patógeno con resistencia basada en PBP, los resultados para los aislados de *S. pneumoniae* confirmaron que la presencia de
25 inhibidores no tenía influencia sobre las MCI de

amoxicilina

Las MCI_{50} y MCI_{90} de amoxicilina para 21 cepas resistentes a penicilina (MCI de penicilina de 1-8 $\mu\text{g/ml}$) fueron de 2 y 4 $\mu\text{g/ml}$ para la amoxicilina sola y para todas las combinaciones inhibidoras de beta-lactamasa comprobadas a frecuencias de amoxicilina/inhibidor de 2 1, 7 1 y 14 1. Finalmente, todas las combinaciones se probaron contra un grupo de 21 *S. pneumoniae* intermedios a penicilina y 12 aislados susceptibles a penicilina. De nuevo, todos las MCI en ambos grupos reflejaron el componente de amoxicilina de la combinación. Las MCI de amoxicilina para el grupo intermedio variaron de 0,03 a 1 $\mu\text{g/ml}$ y las MCI s para el grupo susceptible fueron $\leq 0,0165$ a 0,06 $\mu\text{g/ml}$.

Metodología del ensayo El ensayo se realizó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Documento del NCCLS M7-A4, diciembre de 1997 y M100-S12, 2002, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests por Bacteria that Grow Aerobically-Approved Standard.

PREPARACIÓN DE SOLUCIONES MASDRE CONGELADAS Se cultivan *H. influenzae* en placas agar de chocolate. Las colonias se suspenden en un medio de ensayo Haemophilus (HTM, Remel Diagnostics) que se ha ajustado a pH 7,4 con NaOH 1 N y que se ha esterilizado por filtro. Esto se mezcla con glicerol al 50% hasta una concentración final

126

de glicerol al 20% El cultivo de *Streptococcus pneumoniae* y *Moraxella catarrhalis* se raspa con placas agar con sangre de oveja y se coloca en caldo de Mueller Hinton más sangre de oveja lisada al 5% Para la congelación, se
5 añade glicerol al 50% hasta una concentración final del 20% Todo se congela a -70°C

PREPARACIÓN DE LAS PLACAS DE FÁRMACO Se usan placas de microtitulación de 96 pocillos para las diluciones de fármacos Todos los fármacos se pesan en una cantidad
10 suficiente para obtener una solución madre que funcione 4X El fármaco se solubiliza en DMSO u otro disolvente apropiado, se disuelve hasta el volumen en el medio de ensayo y se diluyen dos veces 100 μl a través de series de 10 pocillos de fármaco que contienen cada uno un volumen
15 inicial de 100 μl de medio [columnas 1 a 10] y 1 pocillo de fármaco sin inóculo [columna 11] La columna 12 es un pocillo de control inóculo bacteriano que no contiene fármaco El volumen final en cada pocillo es de 100 μl

Las placas de fármaco para *H influenzae* se diluyen
20 en serie en HTM que se ha ajustado a pH 7,4 con NaOH 1 N y que se ha esterilizado por filtro Las otras dos especies se diluyen en caldo Mueller Hinton más sangre de caballo lisada al 5% Se realizan compuestos de control con cada ensayo Las placas de fármaco se congelan a -70°C y se
25 descongelan el día de uso

27

CULTIVO DEL INÓCULO Se cultivan *H influenzae* durante una noche sobre placas agar Mueller Hinton con hemoglobina al 1% y con GCHI al 1% [placas agar de chocolate] en un incubador de CO₂ al 5% durante una noche a 37°C Las *S pneumoniae* y *M catarrhalis* se cultivan sobre un agar Mueller Hinton que contiene sangre de oveja al 5% en las mismas condiciones

PREPARACIÓN DEL INÓCULO Se recoge el cultivo de una noche de una placa agar y se resuspende en el medio de ensayo apropiado Todas las suspensiones se ajustaron a una DO convencional por espectrometría el día del ensayo usando un caldo de medio de ensayo Haemophilus (HTM) para *H influenzae* o cultivo Mueller Hinton suplementado con catión más sangre de caballo lisada al 5% (para *S pneumoniae* y *M catarrhalis*) hasta una turbiedad correspondiente a una suspensión convencional McFarland 0,5 (de aproximadamente $1 \text{ a } 2 \times 10^8$ CFU/ml) Esta suspensión tuvo una DO₆₂₅ de 0,14 Para obtener un inóculo final de $2-7 \times 10^5$ cfu/ml en el pocillo (volumen final de 200 µl), las siguientes diluciones se obtuvieron a partir de la reserva McFarland

Todas las cepas de *H influenzae* se diluyeron 1/100 en HTM

Todas las *S pneumoniae* y *M catarrhalis* se diluyeron 1 100 en caldo Mueller Hinton suplementado con catión que

128

contenía sangre de caballo lisada al 5%

INOCULACIÓN DE PLACAS Se añaden 100 μ l del inóculo diluido a cada 100 μ l de fármaco diluido en la placa de ensayo estéril El volumen total para el ensayo es de 200

5 μ l por pocillo Las cepas que se han diluido aproximadamente (véase anteriormente) en pocillos de microtitulación tendrán un inóculo final de 2 a 7 x 10⁵ FU/ml Estas inóculas celulares se confirman sobre placas aleatorias realizando recuentos de viabilidad de los

10 pocillos a tiempo cero Esto se realiza fácilmente retirando 10 μ l del pocillo y diluyéndolo en 10 ml de solución salina fisiológica estéril (dilución 1 1000) Después de agitar vorticialmente, se extienden 100 μ l de la suspensión diluida en una placa agar con sangre o una

15 placa agar de chocolate en el caso de *H influenzae* Siguiendo la incubación, la presencia de 50 colonias indica una densidad de inóculo de 5 x 10⁵ CFU/ml Las cultivos usados para las inóculas en las cubetas de microtitulación se rayan por colonias únicas y se observan

20 por la morfología de la colonia típica.

INCUBACIÓN DE PLACAS DE MICROTITULACIÓN Después de colocar tapas de plástico sobre las placas, las placas de microtitulación se incuban en cajas de plástico en un incubador de humedad controlada para prevenir la

25 evaporación de los pocillos Las placas se amontonan a no

79d

más de 4 alturas Todas las placas de microtitulación se incuban aeróbicamente a 35°C durante 24 horas

Todas las placas se incuban y se leen después de 24 horas y los resultados se registran sólo si los fármacos de control para la cepa tipo del NCCLS *H influenzae* ATCC 49766 y *S pneumoniae* ATT 49619 está dentro de la variación publicada (NCCLS, M100-S12, 2002)

Ejemplo 13

Eficacia In Vivo

10 La actividad inhibidora de β -lactamasa in vivo de 6- β -HMPAS se determinó para los patógenos (+) de β -lactamasa que se evaluaron en nuestros modelos de infección pre-clínica Los datos para estos aislados seleccionados indicaron que 6- β -HMPAS es generalmente equivalente a
15 clavulanato para las β -lactamasas de los patógenos respiratorios *H influenzae* y *M catarrhalis*

Modelo de otitis media en jerbos En este modelo, se expusieron jerbos mongoles a *S pneumoniae* o *H influenzae* Se expusieron jerbos mongoles hembra (50-60 g)
20 a 5-6 CFU log de *H influenzae* o *S pneumoniae* liberadas en un volumen de 50 μ l en la bulla timpánica izquierda Dieciocho horas después de la exposición, se inició un régimen terapéutico de respuesta a la dosis (t i d , durante 2 días), liberando la combinación de Amoxicilina y
25 Profármaco 3 (7 1) la dosificación en un volumen de 500 μ l

130

de vehículo de metilcelulosa al 0,5% Los valores de DE₅₀ se calcularon a partir de los datos de eliminación bacteriana en el día 4 después de la exposición

Las combinaciones de amoxicilina/Profármaco 3 y 5 Augmentina fueron igualmente eficaces en la eliminación del patógeno con valores de DE₅₀ de 6-10 mg/kg, y los resultados para las combinaciones 7 1 y 14 1 fueron equivalentes La amoxicilina como agente único falló contra este patógeno

10 Modelo de infección sistémica murina En este modelo, se expusieron ratones CF-1 o DBA/2 hembra (18-20 g) por vía intraperitoneal a 2-6 CFU log de *S pneumoniae*, *S aureus* o *M catarrhalis* suspendidas en caldo, mucina al 10% o levadura de Brewers al 3%, respectivamente, y 15 suministradas en un volumen de 500 µl Una hora después de la exposición, se inició un régimen terapéutico de respuesta a la dosis (b 1 d durante 1 día), suministrando la combinación de Amoxicilina/Profármaco 3 (7 1) la dosis en un volumen de 200 µl de vehículo de metilcelulosa al 20 0,5% Los valores de DE₅₀ se calcularon a partir de los datos de supervivencia en el día 4 después de la exposición

La combinación de amoxicilina/Profármaco 3 fue eficaz en la protección de los ratones de la muerte en todas 25 estas cepas β-lactamasa (+) En general, la actividad de

131

la combinación de amoxicilina/Profármaco 3 fue comparable a la de la Augmentina (es decir, equivalente contra *H influenzae* y ligeramente menor contra *M catarrhalis*) Las combinaciones 7 1 fueron generalmente más eficaces que las combinaciones 14 1 Los datos para la piel y los patógenos de estructuras de la piel *S aureus*, *K pneumoniae* y *E coli* también se incluyen en las siguientes tablas

Modelo de neumonía murina En este modelo, se expusieron CF-1 hembra (18-20 g) por vía intranasal a 5-6 CFU log de *S pneumoniae* suministradas en un volumen de 40 µl y dieciocho horas después de la exposición, se inició un régimen terapéutico de respuesta a la dosis (b i d durante 2 días), liberando la combinación de Amoxicilina/Profármaco 3 (7 1) la dosis en un volumen de 200 µl de vehículo de metilcelulosa al 0,5% Los valores de DE₅₀ se calcularon a partir de los datos de supervivencia en el día 10 después de la exposición

La Amoxicilina, la amoxicilina/Profármaco 3 y la Augmentina fueron igualmente eficaces contra una cepa tolerante a penicilina (PD₅₀ de 22-25 mg/kg) y una cepa de neumococo susceptible a la penicilina (PD₅₀ de 2,7-3,3 mg/kg) Como las cepas tolerantes a la penicilina de pneumococos no contienen β-lactamasa, la actividad de la amoxicilina no se mejora (ni se antagoniza) por la presencia de 6-β-HMPAS o clavulanato Los valores de PD₅₀

132

superiores detectados con la cepa tolerante a penicilina con respecto a la cepa susceptible a penicilina son consistentes con la mayor MIC (concentración mínima inhibidora)

5 En resumen, la actividad oral *in vivo* para la combinación de amoxicilina/Profármaco 3 (7 1 y 14 1) se comparó de uno en uno con Augmentina en un modelo de otitis media de jerbo y en modelos de peritonitis y neumonía en ratón. La combinación de
10 amoxicilina/Profármaco 3 demostró una actividad *in vivo* comparable a la de la Augmentina contra los patógenos del tracto respiratorio (*H influenzae*, *M catarrhalis* y *S pneumoniae*) y los patógenos de la piel y de tejidos blandos (*S aureus*, *E coli* y *K pneumoniae*) en estos
15 modelos. El rendimiento *in vivo* de la amoxicilina/Profármaco 3 fue consistente con la actividad *in vitro* de esta combinación cuando se ensayó con una relación 2 1 en el ensayo de MIC.

133

Actividad Antibacteriana In Vivo (Oral) contra Patógenos del Tracto Respiratorio y de la Piel & Estructuras de la Piel (DE₅₀, mg/kg)

Patógeno	Amoxicilina	Profármaco	Amoxicilina/ Profármaco	Augmentina
		3	3 (relación 7/1)	(relación 7/1)
Modelo de Otitis Media en Jarcos				
<i>Haemophilus influenzae</i> (54A1218) ²	>50	>25	8,9/1,3 ¹	9,9/1,4
Modelo Sistémico Murino				
<i>Haemophilus influenzae</i> (54A1218)	>100	>25	9,8/1,4	13,4/1,9
<i>Moraxella catarrhalis</i> (87A1115)	>100	>100	37,6/5,4	12,6/1,8
<i>Staphylococcus aureus</i> (01A0400)	>100	>12,5	30,6/4,4	17,8/2,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (53A0031)	>200	>25	20,2/2,9	13,0/1,8
<i>Escherichia coli</i> (51A0257)	>200	>100	62,2/8,9	146/20,8
Modelo de Neumonía en Ratones				
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (02J1095)	25	>25	21,8/3,1	21,8/3,1
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (02J1016)	3,3	>25	2,66/0,38	2,66/0,36

¹ El primer valor indica la concentración de amoxicilina mientras que el segundo valor es el inhibidor de beta-lactamasa

² Los números entre paréntesis indican los números de ID de la cepa Pfizer

Actividad Antibacteriana in vivo (Oral) contra Patógenos del Tracto Respiratorio y de la Piel y Estructuras de la

Piel (DE50, mg/kg)

Patógeno	Amoxicilina	Profármaco 3	Amoxicilina/ Profármaco 3 (relación 14/1)	Augmentina (relación 14/1)
Modelo de Otitis Media en Jerbos				
<i>Haemophilus influenzae</i> (54A1218)	>50	>25	10,5/0,73 ¹	5,8/0,4
Modelo Sistémico Murino				
<i>Haemophilus influenzae</i> (54A1218)	>100	>25	12,3/0,88	37,9/2,7
<i>Moraxella catarrhalis</i> (87A1115)	>100	>100	42,5/3,0	23,6/1,7
<i>Staphylococcus aureus</i> (01A0400)	>100	>12,5	94,2/6,7	24,4/1,7
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (53A0031)	>200	>25	23,4/1,7	23,4/1,7
<i>Escherichia coli</i> (51A0257)	>200	>100	134/9,6	196/14
Modelo de Neumonía en Ratones				
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (02J1095)	25	>25	23,6/1,7	17,8/1,3
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (02J1016)	3,3	>25	1,6/0,11	1,8/0,12

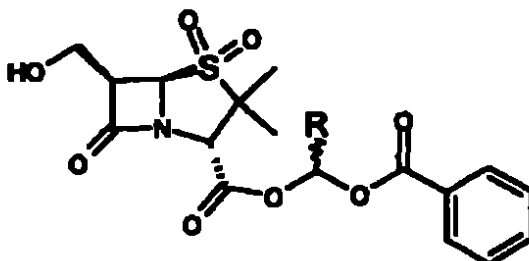
¹ El primer valor indica la concentración de amoxicilina, mientras que el segundo valor es el inhibidor de beta-lactamasa

5 ² Los números entre paréntesis indican los números ID de la cepa Pfizer

Habiendo descrito la invención como antecede, se declara como propiedad lo contenido en las siguientes

REIVINDICACIONES

- 5 1 Un profármaco que tiene la estructura



en la que R es H o metilo,
y solvatos del mismo

- 10 2 Un profármaco de la reivindicación 1, seleccionado entre el grupo compuesto por

ácido 4-tia-1-azabicyclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico,
6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, -1-(benzoiloxi)-
metil éster, 4,4-dióxido (2S,5R,6R),

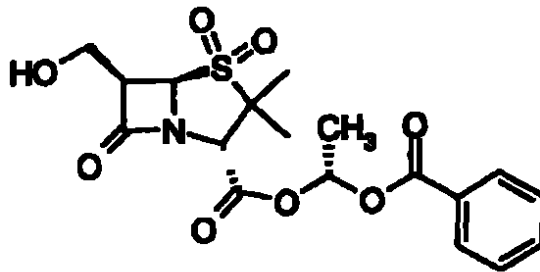
- 15 ácido 4-tia-1-azabicyclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico,
6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, -1-
(benzoiloxi)etil éster, 4,4-dióxido (2S,5R,6R),

- ácido 4-tia-1-azabicyclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico,
6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, (1R)-1-
20 (benzoiloxi)etil éster, 4,4-dióxido (2S,5R,6R), y
ácido 4-tia-1-azabicyclo[3,2,0]heptano-2-carboxílico,

136

6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, (1S)-1-(benzoiloxi)etil éster, 4,4-dióxido (2S,5R,6R)

3 Un profármaco que tiene la estructura



5

o un solvato del mismo

4 Una composición farmacéutica que comprende

(a) un profármaco de la reivindicación 1, o un solvato del mismo, y

(b) al menos un vehículo, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable

5 Una composición farmacéutica de la reivindicación 4, que comprende además un antibiótico beta-lactámico

6 Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5, donde dicho antibiótico beta-lactámico es amoxicilina

20

7 Una composición farmacéutica de la reivindicación 6,

137

donde dicho profármaco es ácido 4-tia-1-azabicyclo[3 2 0]heptano-2-carboxílico, 6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, (1R)-1-(benzoiloxi)etil éster, 4,4-dióxido (2S,5R,6R) o un solvato del mismo

5

8 Una composición farmacéutica que comprende

(a) ácido 4-tia-1-azabicyclo[3 2 0]heptano-2-carboxílico, 6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, (1R)-1-(benzoiloxi)etil éster, 4,4-dióxido (2S,5R,6R), o

10 un solvato del mismo,

(b) amoxicilina, y

(c) un vehículo, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable

15 9 Un procedimiento para incrementar la eficacia terapéutica de un antibiótico beta-lactámico en un mamífero que comprende administrar a dicho mamífero una cantidad eficaz de un antibiótico beta-lactámico y una cantidad que aumenta la eficacia de un profármaco de la reivindicación
20 1, o un solvato del mismo

10 Un procedimiento de la reivindicación 9, donde dicho antibiótico beta-lactámico es amoxicilina

25 11 Un procedimiento de las reivindicaciones 9-10, donde

dicho profármaco es ácido 4-tia-1-azabícciclo[3 2 0]heptano-2-carboxílico, 6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, (1R)-1-(benzoiloxi)etil éster, 4,4-dióxido (2S,5R,6R), o un solvato del mismo

5

12 Un procedimiento para el tratamiento de una infección bacteriana en un mamífero por la administración a dicho mamífero de una cantidad eficaz de un antibiótico beta-lactámico y una cantidad que aumenta la eficacia de un profármaco de la reivindicación 1, o un solvato del mismo

13 Un procedimiento de la reivindicación 12, donde dicho antibiótico beta-lactámico es amoxicilina

14 Un procedimiento de las reivindicaciones 12-13, donde el profármaco es 4-tia-1-azabícciclo[3 2 0]heptano-2-carboxílico, 6-(hidroximetil)-3,3-dimetil-7-oxo-, (1R)-1-(benzoiloxi)etil éster, 4,4-dióxido (2S,5R,6R), o un solvato del mismo

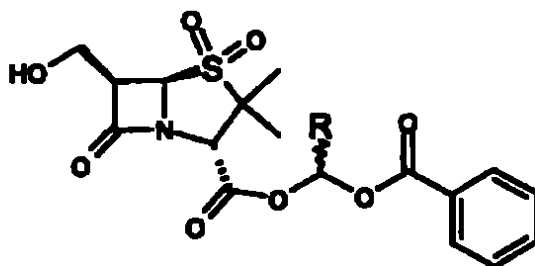
20

15 Un procedimiento para el tratamiento de una infección bacteriana en un mamífero por la administración al mismo de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica de las reivindicaciones 4, 5 ó 6 a un mamífero en necesidad del mismo

25

RESUMEN

Se describen profármacos de sulfona del ácido 6- β -hidroximetilpenicilánico que tienen la estructura



5 en la que R es H o metilo, y solvatos de los mismos
También se describen composiciones farmacéuticas que
comprenden un profármaco de la presente invención, o un
solvato del mismo, un antibiótico beta-lactámico opcional y
al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable

10 Además se describe un procedimiento para incrementar
la eficacia terapéutica de un antibiótico beta-lactámico en
un mamífero por la administración de una cantidad eficaz de
un antibiótico beta-lactámico y una cantidad que incrementa
la eficacia de un profármaco de la presente invención, o un
15 solvato del mismo

Además se describe un procedimiento para el
tratamiento de una infección bacteriana por la
administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de
una composición farmacéutica de la presente invención a un
20 mamífero en necesidad del mismo

140

**TRATADO DE COOPERACIÓN DE PATENTES
PCT
NOTIFICACIÓN DE TRANSMISIÓN DEL REPORTE DE EXAMEN
PRELIMINAR INTERNACIONAL
(PCT Regla 71 1)**

De AUTORIDAD DE REVISION PRELIMINAR INTERNACIONAL

**Para.
LUMB J Trevor
PFIZER INC
201 Tabor Road
Morris Plains, NJ 07950
Estados Unidos de América.**

Sello de recibido 30 de enero de 2004 MP Departamento de Patentes

**Sello de recibido 4 de febrero de 2004, Pfizer Inc Departamento de Patentes
Presentación Extranjera – Groton**

**Sello de recibido 6 de febrero de 2004, Pfizer Inc Departamento de Patentes
Presentación Extranjera - Groton**

**Fecha de envío 22 01 2004
Referencia del solicitante o representante PC23296A
No de Solicitud Internacional PCT/IB03/03582
Fecha de presentación internacional 11 08 2003
Fecha de prioridad 23 08 2002
Solicitante PFIZER PRODUCTS INC**

1 Por la presente se notifica al solicitante que esta Autoridad de Revisión Preliminar Internacional transmite adjunto a la presente el reporte de examen preliminar internacional y sus anexos, si existen, existentes en la solicitud internacional

2 Una copia del reporte y sus anexos, si los hay, serán transmitidos a la Oficina Internacional para dar comunicación a todas las Oficinas designadas

3 Donde se requiera por cualquiera de las Oficinas designadas, la Oficina Internacional preparará una traducción al inglés del reporte (pero no de sus anexos) y transmitirá tal traducción a aquellas Oficinas

4 RECORDATORIO

El solicitante deberá entrar en la fase nacional ante cada Oficina designada realizando ciertos actos (presentando traducciones y cancelando tarifas nacionales) dentro de 30 meses a partir de la fecha de prioridad (o después en algunas Oficinas) (Artículo 39

(1)) (ver también el recordatorio enviado por la Oficina Internacional con el Formulario PCT/IB/301)

Donde se deba presentar una traducción de la solicitud internacional ante una Oficina designada, la traducción deberá contener una traducción de cualquier anexo del reporte de examen preliminar internacional. Es responsabilidad del solicitante preparar y presentar tal traducción directamente a cada Oficina designada.

Para más información con respecto a los plazos y requisitos de las Oficinas designadas, ver el Volumen II de la Guía del Solicitante PCT.

Se llama la atención del solicitante al Artículo 33(5), el cual estipula que los criterios de novedad, nivel inventivo y aplicación industrial descritos en el Artículo 33(2) a (4) sirven meramente para propósitos del examen preliminar internacional y que "cualquier estado miembro puede aplicar criterios adicionales o diferentes para los propósitos de decidir si, en ese estado, los inventos reivindicados son patentables o no" (ver también Artículo 27(5)). Tales criterios adicionales pueden estar relacionados, por ejemplo, con excepciones a partir de la patentabilidad, requerimientos para permitir la divulgación, claridad y soporte para las reivindicaciones.

Nombre y dirección de correspondencia de la Autoridad de Revisión Preliminar Internacional

Oficina de Patentes Europea

D-80298 – Munich

Tel +49-89 2399 - 0, Tx 523656 epmu d

Fax +49-89 2399 – 4465

Funcionario Autorizado Brell, S

Tel + 49 89 2399-7271

12

REPORTE DE EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL
(PCT Artículo 36 y Regla 70)

Referencia del solicitante o representante PC23296A
No de Solicitud Internacional PCT/IB03/03582
Fecha de presentación internacional 11 08 2003
Fecha de prioridad 23 08 2002
Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o ambas, clasificación nacional e IPC
C07D499/00
Solicitante PFIZER PRODUCTS INC

1 El reporte de examen preliminar internacional ha sido preparado por esta Autoridad de Revisión Preliminar Internacional y es transmitido al solicitante según el Artículo 36

2 Este REPORTE consta de 5 hojas, incluyendo esta cubre hoja

☐ Este reporte también está acompañado de ANEXOS, es decir, hojas de la descripción, reivindicaciones, y/o dibujos los cuales han sido modificados y son la base para este reporte y/o hojas que contengan rectificaciones hechas ante esta Autoridad (ver Regla 70 16 y Sección 607 de las Instrucciones Administrativas bajo el PCT)

Estos anexos constan de __hojas

3 Este reporte contiene indicaciones con relación a los siguientes ítems

- I ☒ Base para el reporte
- II ☐ Prioridad
- III ☒ Ninguna opinión con respecto a la novedad, nivel inventivo y aplicación industrial
- IV ☐ Falta de unidad inventiva
- V ☒ Declaración razonada según Regla 66 2(a) (ii) con respecto a la novedad, nivel inventivo o aplicación industrial, citas y explicaciones soportando dicha declaración
- VI ☐ Ciertos documentos citados
- VII ☐ Ciertos defectos en la solicitud internacional
- VIII ☐ Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional

Fecha de radicación de la demanda 22 09 2003
Fecha de elaboración de este reporte 22 01 2004

Nombre y dirección de correspondencia de la Autoridad de Revisión Preliminar Internacional
Oficina de Patentes Europea
D-80298 – Munich

143

Tel +49-89 2399-0, Tx 523656 epmu d
Fax + 49-89 2399-4465

Funcionario Autorizado Bakboord, J
Tel +49 89 2399-2168

REPORTE DE EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL

No de Solicitud Internacional PCT/IB03/03582

124 148 14

I Base del reporte

1 Con respecto a los elementos de la solicitud internacional (Hojas de reemplazo, entregadas a la Oficina receptora en respuesta a un requerimiento según el Artículo 14, son referidas en este reporte como "presentadas originalmente" y no están anexadas al presente puesto que no contienen enmiendas (Reglas 70 16 y 70 17))

Descripción, páginas

1-73 tal como se presentó originalmente

Reivindicaciones, Nos

1-15 tal como se presentó originalmente

2 Con respecto al idioma, todos los elementos marcados anteriormente estuvieron disponibles o fueron suministrados a esta Autoridad en el idioma en el cual fue presentada la solicitud internacional, a menos que se indique de otra manera bajo este punto

Estos elementos estuvieron disponibles o fueron suministrados a esta Autoridad en el siguiente idioma , el cual es

- ☐ el idioma de una traducción suministrada con fines de la búsqueda internacional (bajo Regla 23 1(b))
- ☐ el idioma de la publicación de la solicitud internacional (bajo Regla 48 3 (b))
- ☐ el idioma de una traducción suministrada con fines del examen preliminar internacional (bajo Regla 55 2 y/o 55 3)

3 Con respecto a cualquier secuencia nucleótida y/o de amino ácidos divulgada en la solicitud internacional, el examen preliminar internacional fue realizado con base en el listado de secuencias

- ☐ contenido en la solicitud internacional por escrito
- ☐ presentado junto con la solicitud internacional en forma electrónica
- ☐ suministrado subsecuentemente a esta Autoridad por escrito
- ☐ suministrado subsecuentemente a esta Autoridad en forma electrónica

☐ Ha sido suministrada la declaración donde indica que el listado suministrado de secuencias escrito no va más allá de la divulgación encontrada en la solicitud internacional tal como se presentó

☐ Ha sido suministrada la declaración que indica que la información registrada en forma electrónica es idéntica al listado de secuencias escrito

4 Las enmiendas han resultado en la cancelación de

☐ la descripción, páginas

☐ las reivindicaciones, Nos

☐ los dibujos, hojas

5 ☐ Este reporte ha sido establecido como si no estuvieran hechas las enmiendas, puesto que se consideró que iban más allá de la divulgación tal como se presentó (Regla 70 2(c))

(Cualquier hoja de reemplazo que contenga tales enmiendas debe referirse al ítem 1 y estar adjunto a este reporte)

6 Observaciones adicionales, si son necesarias

III Ninguna formulación de opinión con respecto a la novedad, nivel inventivo, y aplicación industrial

1 Las preguntas con respecto a si el invento reivindicado parece ser novedoso, tener nivel inventivo (no ser obvio), o ser industrialmente aplicable no han sido examinadas con respecto a

☐ toda la solicitud internacional,

☒ reivindicaciones Nos 9-15

puesto que

☒ dicha solicitud internacional, o dichas reivindicaciones Nos 9-15 se relacionan con el siguiente tema el cual no requiere examen preliminar internacional (especifique)

Ver hoja anexa

☐ la descripción, reivindicaciones, o dibujos (indique elementos en particular a continuación) o tales reivindicaciones Nos están tan ambiguas que ninguna opinión significativa pudo formularse (especifique)

146

☐ las reivindicaciones, o dichas reivindicaciones No están tan inapropiadamente soportadas en la descripción que no se pudo formar una opinión significativa

☐ no se ha establecido ninguna búsqueda internacional para dichas reivindicaciones Nos

2 Un examen preliminar internacional significativo no puede efectuarse debido a que el listado de secuencias nucleótidas y/o de amino ácidos no cumple con el estándar suministrado en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas

☐ la forma escrita no ha sido suministrada o no cumple con el estándar

☐ la forma electrónica no ha sido suministrada o no cumple con el estándar

V Declaración razonada según el Artículo 35(2) con respecto a la novedad, nivel inventivo o aplicación industrial anterioridades y explicaciones que soportan tal declaración

1 Declaración

Novedad (N)	Si	Reivindicaciones 1-15
	No	Reivindicaciones
Nivel Inventivo (NI)	Si	Reivindicaciones 1-15
	No	Reivindicaciones
Aplicación Industrial (AI)	Si	Reivindicaciones 1-8
	No	Reivindicaciones

2 Anterioridades y explicaciones

ver hoja adjunta

~~147~~
147

III No establecimiento de opinión con relación a novedad, paso inventivo y aplicabilidad industrial

Las reivindicaciones 9-15 referida al objeto-materia considerado por esta autoridad para ser cubierta por las estipulaciones de la Regla 67 1 (iv) del PCT. Por consiguiente, ninguna opinión será formulada por respecto a la aplicabilidad industrial en materia de estas reivindicaciones (Artículo 34(4)(a)(i) del PCT)

V Declaración razonada conforme al Artículo 35(2) con relación a novedad, paso inventivo o aplicabilidad industrial, citaciones y explicaciones que soportan esa declaración

V 1 La presente invención se refiere profármacos de sulfona del ácido 6- β -hidrometilpenicilánico

V 2 Se hace referencia a los siguientes documentos

- D1 US-A-4 287 181, citada en la solicitud
- D2 GB-A-2 076 812, citada en la solicitud
- D3 GB-A-2 053 220, citada en la solicitud
- D4 US-A-4 540 689
- D5 US-A-4 428 935

V 3 Novedad

El documento D1 revela ésteres de sulfona del ácido 6- β -hidrometilpenicilánico difiriendo del grupo éster usado en la presente solicitud (ejemplo 25)

El documento D2 revela ésteres de sulfona del ácido 6- β -hidrometilpenicilánico difiriendo del grupo éster usado en la presente solicitud (página 16, línea 33-40)

El documento D3 revela ésteres de penicilina 1,1-dioxido difiriendo del grupo éster usado en la presente solicitud (reivindicación 2)

El documento D4 revela ésteres de penicilina derivados difiriendo del grupo éster usado en la presente solicitud (ejemplo 9 y 10)

El documento D5 revela ésteres de ácido dióxido de penicilina difiriendo del grupo éster usado en la presente solicitud (reivindicación 1)

Un profármaco de sulfona del ácido 6- β -hidrometilpenicilánico en donde el grupo éster de C-2 está seleccionado de ésteres de benzoiloximetil ó benzoiloxietil no es revelado en ninguno de los documentos. Reivindicaciones 1-3 por lo tanto cumplen con los requisitos previstos en el Art 33(2) del PCT

Las reivindicaciones 4-8 describen una composición farmacéutica que comprende un profármaco como el descrito en la reivindicación 1 y son novedosas por consecuencia.

MB

V 4 Nivel Inventivo

Comenzando por los documentos D1 y D2 el problema a resolver por la presente solicitud puede ser considerado como cómo proporcionar la novedad posiblemente de un profármaco mejorado de sulfona del ácido 6- β -hidrometilpenicilánico. La solución del solicitante radica en proveer 2 esteres benzoiloximetil de 2 esteres benzoiloxietil. El solicitante muestra en la página 59 que los profármacos de la presente invención tienen una biohabilidad significativamente mejor, que la anterior droga (6- β -HMPA) o que las drogas conocidas el documento D1. Además el solicitante en la página 62 muestra que los profármacos de la presente invención experimenta hidrólisis rápida para ceder 6- β -HMPA previo a la exposición al hígado y a la circulación a través del cuerpo. Como el uso del ester benzoiloxialquil no ha sido hecho obvio por el arte previo a la solución que el solicitante pueda haber considerado involucrada en el nivel inventivo (Art. 33(3) del PCT).

V 5 Aplicabilidad Industrial

Para la evaluación de si las presentes reivindicaciones 9-15 son o no aplicables en la industria, no existe un criterio unificado en los países Contratantes PCT. La posibilidad de patentar también puede depender de la formulación de las reivindicaciones. Por ejemplo, la EPO no reconoce el tema de las reivindicaciones al uso de un compuesto en el tratamiento médico como industrialmente aplicable, pero sin embargo puede permitir reivindicaciones a un compuesto conocido para primer uso en el tratamiento médico y el uso de tal compuesto para la fabricación de un medicamento para un nuevo tratamiento médico.

1,

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

To

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

RECEIVED
JAN 30 2004

RECEIVED
FEB - 6 2004
PCT
PFIZER INC PATENT DEPT
FOREIGN FILING GROTON

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT
(PCT Rule 71 1)

RECEIVED
FEB - 4 2004

Date of mailing
(day/month/year) 22 01 2004

Applicant's or agent's file reference
PC23296A
PFIZER INC - PATENT DEPT
FOREIGN FILING - GROTON

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No. PCT/IB 03/03582	International filing date (day/month/year) 11 08 2003	Priority date (day/month/year) 23 08 2002
--	--	--

Applicant
PFIZER PRODUCTS INC

- 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-80298 Munich
Tel +49 89 2399 0 Tx 523858 epmu d
Fax +49 89 2399 - 4485

Authorized Officer
Brell, S
Tel +49 89 2399-7271



PCT

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

149
150

Applicant's or agent's file reference PC23296A	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/PEA/416)	
International application No PCT/IB 03/03582	International filing date (day/month/year) 11 08.2003	Priority date (day/month/year) 23 08.2002
International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC C07D499/00		
Applicant PFIZER PRODUCTS INC		
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 807 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 22.09.2003	Date of completion of this report 22 01.2004	
Name and mailing address of the international preliminary examining authority  European Patent Office D-80298 Munich Tel: +49 89 2369 - 0 Fax: 523656 apmu d Fax: +49 89 2369 - 4485	Authorized Officer Bakboord, J Telephone No. +49 89 2369-2168 	

131

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**

International application No

PCT/IB 03/03582

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

1-73 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

SL

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**

International application No **PCT/IB 03/03582**

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 9-15
because
- ☒ the said international application, or the said claims Nos 9-15 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	1-15
	No	Claims	
Inventive step (IS)	Yes	Claims	1-15
	No	Claims	
Industrial applicability (IA)	Yes	Claims	1-8
	No	Claims	

2 Citations and explanations

see separate sheet

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT - SEPARATE SHEET**

International application No PCT/IB03/03582

153

**III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and
Industrial applicability**

Claims 9-15 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)

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

**V 1 The present invention relates to prodrugs of 6- β -hydroxymethylpenicillanic acid
sulfone**

V 2 Reference is made to the following documents

- D1 US-A-4 287 181, cited in the application
- D2 GB-A-2 076 812, cited in the application
- D3 GB-A-2 053 220, cited in the application
- D4 US-A-4 540 689
- D5 US-A-4 428 935

V 3 Novelty

Document D1 discloses esters of 6- β -hydroxymethylpenicillanic acid sulfone differing from the ester group used in the present application (example 25)

Document D2 discloses esters of 6- β -hydroxymethylpenicillanic acid sulfone differing from the ester group used in the present application (page 16, line 33-40)

Document D3 discloses esters of penicillin 1,1-dioxides differing from the ester group used in the present application (claim 2)

Document D4 discloses esters of penicillin derivatives differing from the ester group used in the present application (examples 9 and 10)

Document D5 discloses esters of penicillanic acid dioxides differing from the ester group used in the present application (claim 1)

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT - SEPARATE SHEET**

International application No PCT/IB03/03582

154

A prodrug of 6- β -hydroxymethylpenicillanic acid sulfone in which the ester group at C-2 is selected from benzoyloxymethyl or benzoyloxyethyl ester is disclosed in none of the documents. Claims 1-3 therefore fulfill the requirements of Art 33(2) PCT.

Claims 4-8 describe a pharmaceutical composition comprising a prodrug as described in claim 1 and are novel by consequence.

Claims 9-15 describe a method of treating using a prodrug as described in claim 1 and are novel by consequence.

V 4 Inventive step

Starting from documents D1 and D2 the problem to be solved by the present application may be regarded as how to provide novel possibly improved prodrugs of 6- β -hydroxymethylpenicillanic acid sulfone. The solution of the applicant resides in providing 2-benzoyloxymethyl esters or 2-benzoyloxyethyl esters. The applicant shows on page 59 that the prodrugs of the present invention have a significantly better bioavailability than the parent drug (6- β -HMPA) or than the known prodrugs from document D1. Moreover on page 62 the applicant shows that the prodrug of the present invention undergoes rapid hydrolysis to yield 6- β -HMPA prior to exposure to the liver and circulation throughout the body. As the use of the benzoyloxyalkyl ester has not been made obvious by the prior art the solution of the applicant may be regarded as involving an inventive step (Art 33(3) PCT).

V 5 Industrial applicability

For the assessment of the present claims 9-15 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.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/IB 03/03582

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07D499/00 A61K31/43 A61P31/04

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 C07D 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)

EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 4 287 181 A (KELLOGG MICHAEL S) 1 September 1981 (1981-09-01) cited in the application example 25	1-15
A	GB 2 076 812 A (CIBA GEIGY AG) 9 December 1981 (1981-12-09) cited in the application page 16, line 33 - line 40, claim 4	1-15
A	GB 2 053 220 A (BAYER AG) 4 February 1981 (1981-02-04) cited in the application claim 2	1-15
A	US 4 540 689 A (FURUSHO TAKAO ET AL) 10 September 1985 (1985-09-10) examples 9,10	1-15

-/-

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

O document relating 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

11 November 2003

Date of mailing of the international search report

25/11/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5518 Patentkan 2
NL - 2580 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2400, fax 31 70 340 2401
Fax (+31-70) 340-3010

Authorized officer

Bakboord, J

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Application No
PCT/IB 03/03582

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 4 428 935 A (MYERS ROBERT F) 31 January 1984 (1984-01-31) claim 1	1-15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB 03/03582

156

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.
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority namely
Although claims 9-15 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 compounds
- 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 Search Report

Application No

PCT/IB 03/03582

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 4287181	A	01-09-1981	AR 227164 A1	30-09-1982
			AT 374479 B	25-04-1984
			AT 10882 A	15-09-1983
			AT 369372 B	27-12-1982
			AT 518580 A	15-05-1982
			AU 519578 B2	10-12-1981
			AU 6354880 A	30-04-1981
			BE 885812 A1	21-04-1981
			BG 35189 A3	15-02-1984
			BG 38639 A3	15-01-1986
			CA 1144159 A1	05-04-1983
			CA 1163924 A2	20-03-1984
			CH 647242 A5	15-01-1985
			CH 646175 A5	15-11-1984
			CS 219292 B2	25-03-1983
			CS 219291 B2	25-03-1983
			DD 154542 A5	31-03-1982
			DE 3039504 A1	30-04-1981
			DK 389480 A	23-04-1981
			ES 8204437 A1	01-08-1982
			FI 803311 A ,B,	23-04-1981
			FR 2467852 A1	30-04-1981
			GB 2061930 A ,B	20-05-1981
			GB 2128986 A ,B	10-05-1984
			GB 2129421 A ,B	16-05-1984
			GR 70714 A1	18-01-1983
			HU 183236 B	28-04-1984
			IE 51027 B1	17-09-1986
			IE 51026 B1	17-09-1986
			IE 51028 B1	17-09-1986
			IL 61307 A	30-03-1984
			IN 154767 A1	15-12-1984
			IN 154918 A1	22-12-1984
			IT 1149259 B	03-12-1986
			JP 61178988 A	11-08-1986
			JP 1370115 C	25-03-1987
			JP 56065892 A	03-06-1981
			JP 61035197 B	12-08-1986
			KR 8400797 B1	12-06-1984
			LU 82880 A1	04-06-1981
			MX 157883 A	20-12-1988
			MX 6094 E	12-11-1984
			NL 8005810 A ,B,	24-04-1981
			NO 803136 A ,B,	23-04-1981
			NZ 195307 A	24-08-1984
			PH 16219 A	09-08-1983
			PH 17315 A	20-07-1984
			PH 17317 A	20-07-1984
			PH 17458 A	29-08-1984
			PH 18316 A	29-05-1985
GB 2076812	A	09-12-1981	AU 7091181 A	26-11-1981
			DD 159074 A5	16-02-1983
			DK 224281 A	23-11-1981
			EP 0041047 A2	02-12-1981
			FI 811532 A	23-11-1981
			GR 75639 A1	02-03-1984
			JP 57018685 A	30-01-1982

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

International application No

PCT/IB 03/03582

157

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)	Publication date
GB 2076812	A		NO	811740 A	23-11-1981
			PT	73067 A , B	01-06-1981
			ZA	8103408 D	30-06-1982
GB 2053220	A	04-02-1981	DE	2927004 A1	27-05-1981
			JP	56010195 A	02-02-1981
US 4540689	A	10-09-1985	JP	1426626 C	25-02-1988
			JP	58052291 A	28-03-1983
			JP	62034038 B	24-07-1987
			JP	1596396 C	27-12-1990
			JP	2022077 B	17-05-1990
			JP	58052292 A	28-03-1983
			AU	547381 B2	17-10-1985
			AU	8847082 A	31-03-1983
			AU	559689 B2	19-03-1987
			AU	8847282 A	14-04-1983
			DE	3268842 D1	13-03-1986
			DE	3274453 D1	15-01-1987
			EP	0076066 A1	06-04-1983
			EP	0075449 A1	30-03-1983
			US	4496574 A	29-01-1985
			ZA	8206820 A	27-07-1983
			ZA	8206821 A	27-07-1983
			AU	546117 B2	15-08-1985
			AU	8846882 A	24-03-1983
			AU	552746 B2	19-06-1986
			AU	8847182 A	31-03-1983
			DE	3271892 D1	07-08-1986
			DE	3272020 D1	21-08-1986
			EP	0075451 A2	30-03-1983
			EP	0075452 A2	30-03-1983
			US	4496561 A	29-01-1985
US 4428935	A	31-01-1984	DE	3362266 D1	03-04-1986
			DK	226983 A	25-11-1983
			EP	0095341 A1	30-11-1983
			GR	79260 A1	22-10-1984
			IE	55577 B1	07-11-1990
			JP	58216191 A	15-12-1983

REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACION Y AGILIZACION DEL TRAMITE

	USUARIO	RADICADOR
PATENTE DE INVENCION	()	()
MODELO DE UTILIDAD	()	()
Indicacion de que se solicita la concesion de una patente	()	()
- Datos de Identificacion del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.	()	()
- Descripcion de la Invencion	()	()
- Dibujos de ser estos pertinentes.	()	()
Comprobante de Pago de las tasas establecidas	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()
DISEÑO INDUSTRIAL ()		
- Indicacion de que se solicita el registro de Diseño Industrial	()	()
- Datos de Identificacion del solicitante o de la persona que presenta la solicitud	()	()
- Representación gráfica o fotografica del Diseño Industrial o muestra del Material que incorpora el diseño	()	()
Comprobante de pago de las tasas establecidas	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()
ESQUEMA DE TRAZADO ()		
- Indicacion de que solicita el registro de un Esquema de trazado	()	()
- Datos de Identificación del solicitante o de la persona que presenta La solicitud	()	()
Representacion gráfica del esquema de trazado	()	()
Comprobante de pago de las tasas establecidas	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()

Firma Responsable

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion 05016464 00000000 Folios 157
Fecha (MM) 2005-02-22 16 53 46
Tramite 011 PCT-PATENT 379 FASE NACI 411 PRESENTA
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

Fecha

Folio 156

2020
Bogotá DC

Doctor(a)
CARLOS R. OLARTE
Apoderado(a)
PFIZER PRODUCTS INC

REFERENCIA.

Radicación No	05-16464
Solicitud Internacional	PCT/IB2003/003582
Fecha inicio fase nacional	23-03-2005
Trámite	011
Evento	379
Actuación	416
Oficio No	069
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 la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, el Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), el Reglamento y la Circular Unica de la Superintendencia de Industria y Comercio, se envía el extracto de la solicitud a la Oficina de Comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial

Cúmplase
Dado en Bogotá DC

21 ABR. 2005


ALIX CARMENZA CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones

Carrera 13 No 27-00 Pisos 5 7 y 10
Conmutador 382 0840
Fax 350 5220
E-mail info sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá D C Colombia