



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA



Organización CSA Ltda

Q.F



Delegatura de Propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD

PCT

PATENTE DE INVENCION

08-7859

21. EXPEDIENTE No.

54. TÍTULO "INHIBIDORES DE 6-ALQUILIDENO-PENEME B-LACTAMASA

BICÍCLICOS Y COMBINACIÓN ANTIBIÓTICA DE B-LACTAMIA: UN
ANTIBIÓTICO DE AMPLIO ESPECTRO.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
INVENTARIO

61. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL A61K 31/424

71. SOLICITANTE WYETH

DOMICILIO NUEVA JERSEY, ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA.

74. APODERADO ALVARO CORREA ORDÓÑEZ
T.P. 20.281.

22. BOGOTÁ, D. C., 28 DE ENERO DE 2008.

PETITORIO

1



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-007859-00000-0000

Fecha: 2008-01-28 16:12:30 Dep. 2020 NUECREACIÓN
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 149

ción

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

①

SOLICITUD DE :

☒

Patente de Invención

☐

Patente de Modelo de Utilidad

☒

Capítulo I.

☐

Capítulo II.

②

SOLICITANTE

(71)

Nombre: WYETH

Dirección: Five Giralda Farms, Madison, Nueva Jersey 07940, Estados Unidos de América

Nacionalidad o Domicilio: Nueva Jersey, Estados Unidos de América

Lugar de Constitución: Delaware, Estados Unidos de América

Teléfono:

Fax:

E-Mail

IDENTIFICACION

C.C.

☐

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número

③

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: ALVARO CORREA ORDOÑEZ

Dirección: Avenida 82 No. 10-62 Piso 6

Teléfono: 6341500

Fax: 3762211

E-Mail: office.bogota@bakernet.com

IDENTIFICACION

C.C.

☒

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número 79.143.366 Usaquén TP 28281

④

INVENTOR (ES)

(72)

Nombre: MANSOUR, Tarek S.; VENKATESAN, Aranapakam M.; BRADFORD, Patricia; PETERSEN, Peter J.; PROJAN, Steven J.

Dirección: 5 Overlook Road, New City, NY 10956, Estados Unidos de América; 97-07 63RD ROAD, No. 9k, Rego Park, NY 11374, Estados Unidos de América; 9 Village Gate Way, Nyack, NY 10960, Estados Unidos de América; 76 Whitetail Run, Chester, NY 10918, Estados Unidos de América; 9 W. BROADWAY, Apt. 602, Boston, MA 02127, Estados Unidos de América, respectivamente.

Nacionalidad o Domicilio: Canadiense; Estadounidense; Estadounidense; Estadounidense; Estadounidense, respectivamente.

⑤ PCT (85)

Solicitud Internacional No. PCT/US2006/028948

Fecha 26-JUL-2006

Publicación Internacional No. WO/2007/016134

Fecha 08-FEB-2007

⑥ Título (54)

INHIBIDORES DE 6-ALQUILIDENO-PENEME B-LACTAMASA BICÍCLICOS Y COMBINACIÓN ANTIBIÓTICA DE β -LACTAMA: UN ANTIBIÓTICO DE AMPLIO ESPECTRO

⑦

Clasificación Internacional (51)

A61K 31/424, A61K 31/429, A61K 31/43, A61K 31/546, A61P 31/04

⑧

Prioridad

SI

☒

NO

☐

(33) Pais de Origen

US

(32) Fecha

27-JUL-2005

(31) Número de Solicitud

60/702,809

⑨

Comprobante de pago No. 08 - 4,653

Fecha 18-ENE-08

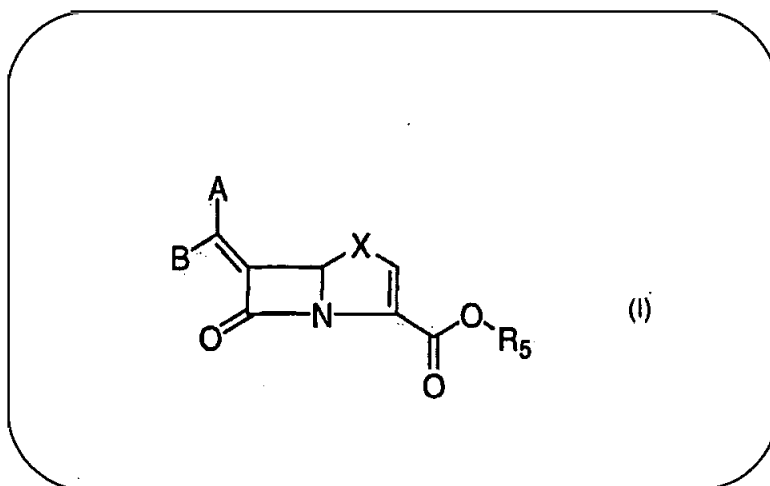
10

ANEXOS

2

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- ☐ Poderes, si fuere el caso
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante
- ☐ Declaraciones
- ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen preliminar (IPEA)
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico
- ☐ Arte final 12 x 12
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☒ Otros: Extractos, Reporte de búsqueda y opinión escrita, Notificación de presentación de documento de prioridad.

11 FIGURA CARATERISTICA



12 Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE ALVARO CORREA ORDONEZ

FIRMA

C.C. 79.143.366 de Usaquén T.P. 20.281

Instrucciones para la presentación de los anexos, ver reverso de esta página

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

2008 / 002

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 08 - 4,653
FECHA : ENERO 18 DE 2008

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-007859-00000-0000

Fecha: 2008-01-28 16:12:30 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 149

***** CONSIGNACION *****

OSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
BAKER & MCKENZIE	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	2930863	18/01/2008	45,361,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	501,000.00
	TOTAL :	\$ 501,000.00

SON: QUINIENTOS UN MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

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

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
8 February 2007 (08.02.2007)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2007/016134 A1

(51) International Patent Classification:

A61K 31/424 (2006.01) A61K 31/43 (2006.01)
A61K 31/429 (2006.01) A61P 31/04 (2006.01)
A61K 31/546 (2006.01)

(74) Agent: SUPERKO, Colleen; WILMER CUTLER PICKERING HALE AND DORR LLP, 60 State Street, Boston, MA 02109 (US).

(21) International Application Number:

PCT/US2006/028948

(22) International Filing Date: 26 July 2006 (26.07.2006)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:

60/702,809 27 July 2005 (27.07.2005) US

(71) Applicant (for all designated States except US): WYETH [US/US]; Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): MANSOUR, Tarek, S. [CA/US]; 5 Overlook Road, New City, NY 10956 (US). VENKATESAN, Aranapakam, M. [US/US]; 97-07 63RD ROAD, No. 9k, Rego Park, NY 11374 (US). BRADFORD, Patricia [US/US]; 9 Village Gate Way, Nyack, NY 10960 (US). PETERSEN, Peter, J. [US/US]; 76 Whitetail Run, Chester, NY 10918 (US). PROJAN, Steven, J. [US/US]; 9 W. BROADWAY, Apt. 602, Boston, MA 02127 (US).

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

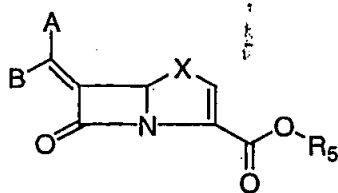
(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT,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

Published:

— with international search report

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

(54) Title: BICYCLIC 6-ALKYLIDENE-PENEM B-LACTAMASE INHIBITORS AND β -LACTAM ANTIBIOTIC COMBINATION: A BROAD SPECTRUM ANTIBIOTIC



(57) Abstract: The present invention provides a β -lactam antibiotic such as cefepime and a compound of formula (I), pharmaceutical compositions and the use thereof for the treatment of bacterial infection or disease in a patient in need thereof.

WO 2007/016134 A1

**BICYCLIC 6-ALKYLIDENE-PENEM β -LACTAMASE INHIBITORS AND β -LACTAM
ANTIBIOTIC COMBINATION: A BROAD SPECTRUM ANTIBIOTIC**

Throughout this application, various publications are referenced. The disclosures of these
5 publications in their entireties are hereby incorporated by reference into this application in order to
more fully describe the state of the art as known to those skilled therein as of the date of the
invention described and claimed herein.

This patent disclosure contains material that is subject to copyright protection. The copyright
10 owner has no objection to the facsimile reproduction by anyone of the patent document or the
patent disclosure, as it appears in the U.S. Patent and Trademark Office patent file or records, but
otherwise reserves any and all copyright rights whatsoever.

FIELD OF INVENTION

15 This invention relates to certain bicyclic 6-alkylidene penems which act as broad spectrum
 β -lactamase inhibitors, when combined with a β -lactam antibiotic, including a "fourth-generation"
cephalosporin antibiotic such as cefepime, a penicillin antibiotic, or a carbapenem antibiotic.
 β -Lactamases hydrolyze β -lactam antibiotics, and as such serve as the primary cause of bacterial
20 resistance. The compounds of the present invention when combined with a β -lactam antibiotic
such as cefepime provide an effective treatment against life threatening bacterial infections.

BACKGROUND OF THE INVENTION

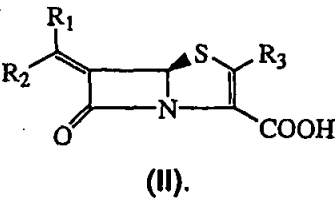
25 Penicillins and cephalosporins are the most frequently and widely used β -lactam antibiotics in the
clinic. However, the development of resistance to β -lactam antibiotics by different pathogens has
had a damaging effect on maintaining the effective treatment of bacterial infections. (Coleman, K.
Expert Opin. Invest. Drugs 1995, 4, 693; Sutherland, R. *Infection* 1995, 23 (4) 191; Bush, K, *Cur.*
Pharm. Design 1999, 5, 839-845). The most significant known mechanism related to the
30 development of bacterial resistance to the β -lactam antibiotics is the production of Class-A, Class-
B and Class-C serine β -lactamases. These enzymes degrade the β -lactam antibiotics, resulting
in the loss of antibacterial activity. Class-A enzymes preferentially hydrolyze penicillins whereas
Class-C lactamases have a substrate profile favoring cephalosporin hydrolysis. (Bush, K.; Jacoby,
G.A.; Medeiros, A.A. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1995, 39, 1211). To date over 250 different
35 β -lactamases have been reported (Payne, D.J.; Du, W and Bateson, J.H. *Exp. Opin. Invest.*
Drugs 2000, 247) and there is a need for a new generation of broad spectrum β -lactamase

inhibitors. Bacterial resistance to these antibiotics could be greatly reduced by administering the β -lactam antibiotic in combination with a compound which inhibits these enzymes.

Cefepime is a parenteral aminothiazolylacetamido cephalosporin antibiotic. (Sanders, C. C. 1993. Cefepime: the next generation? Clin. Infect. Dis. 17:369-379). Even though cefepime was shown to have good activity against many pathogens that cause nosocomial pneumonia and other serious infections, it is not active against *Enterococcus faecalis*, *Clostridium difficile* and methicillin-resistant *S. aureus*. (Jones, R. N. 2001. Resistance patterns among nosocomial pathogens: trends over the past few years. Chest 119:397S-404S; Okamoto, M. P., R. K. Nakajiro, A. Chin, A. Bedikian, and M. V. Gill. 1994. Cefepime: a new fourth-generation cephalosporin. Am. J. Hosp. Pharm. 41:463-477.) Cefepime is also hydrolyzed by the extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) produced by some members of the *Enterobacteriaceae*.

The commercially available β -lactamase inhibitors such as clavulanic acid, sulbactam and tazobactam are all effective against Class-A producing pathogens. Clavulanic acid is clinically used in combination with amoxicillin and ticarcillin; similarly sulbactam with ampicillin and tazobactam with piperacillin. However, these compounds are ineffective against Class-C producing organisms. The mechanism of inactivation of Class-A β -lactamases (such as PCI and TEM-1) has been elucidated. (Bush, K.; *Antimicrob. Agents Chemother.* 1993, 37, 851; Yang, Y.; Janota, K.; Tabei, K.; Huang, N.; Seigal, M.M.; Lin, Y.I.; Rasmussen, B.A. and Shlaes, D.M. *J. Biol. Chem.* 2000, 35, 26674-26682).

Recently it has been shown that 6-methylidene derivatives of general formula (II) are effective, broad spectrum β -lactamase inhibitors when combined with β -lactam antibiotics. WO 03/093280 A1, WO 03/093279 A1, WO 03/093277 A1, and US 2004 132708 A1.



However, there remains a need for effective treatments against life threatening bacterial infections. The present invention is directed to these and other important ends.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

The present invention relates to low molecular weight broad spectrum β -lactam compounds and in

particular to a class of bicyclic heteroaryl substituted 6-alkylidene penems which have β -lactamase inhibitory properties when combined with a β -lactam antibiotic, including a "fourth-generation" cephalosporin antibiotic such as cefepime, a penicillin antibiotic, or a carbapenem antibiotic.

5 In one embodiment, the present invention relates to a method for treating a bacterial infection or disease comprising providing to a patient in need thereof an effective amount of cefepime or a pharmaceutically acceptable salt thereof and a compound of the general formula I, as defined herein, or pharmaceutically acceptable salts or *in vivo* hydrolysable esters thereof. In one
10 embodiment, the compound of general formula I is (5*R*), (6*Z*)-6-(6,7-dihydro-5*H*-pyrrolo[1,2-*a*]imidazol-2-ylmethylene)-7-oxo-4-thia-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylic acid, sodium salt; or (5*R*), (6*Z*)-6-(5,6-dihydro-8*H*-imidazo[2,1-*c*][1,4]oxazin-2-ylmethylene)-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylic acid, sodium salt.

15 In one embodiment, the present invention relates to a composition comprising a pharmaceutically acceptable carrier; cefepime or a pharmaceutically acceptable salt thereof; and a compound of the general formula I, as defined herein or pharmaceutically acceptable salts or *in vivo* hydrolysable esters thereof. In one embodiment, the compound of general formula I is (5*R*), (6*Z*)-6-(6,7-dihydro-5*H*-pyrrolo[1,2-*a*]imidazol-2-ylmethylene)-7-oxo-4-thia-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylic acid, sodium salt; or (5*R*), (6*Z*)-6-(5,6-dihydro-8*H*-imidazo[2,1-*c*][1,4]oxazin-2-ylmethylene)-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylic acid, sodium salt.
20

In one embodiment, the present invention relates to use of a composition comprising cefepime or a pharmaceutically acceptable salt thereof; and a compound of the general formula I, as defined herein or pharmaceutically acceptable salts or *in vivo* hydrolysable esters thereof, for the
25 manufacture of a medicament for treating a bacterial infection or disease

In one embodiment, the present invention relates to compounds of the general formula I, as defined herein, or pharmaceutically acceptable salts or *in vivo* hydrolysable esters thereof, when combined with cefepime, that are useful in the treatment of antibacterial infections in a patient.
30

In one embodiment, the present invention relates to compounds of the general formula I, as defined herein, or pharmaceutically acceptable salts or *in vivo* hydrolysable esters thereof, when combined with a β -lactam antibiotic, including a cephalosporin antibiotic, a penicillin antibiotic, or a carbapenem antibiotic, that are useful in the treatment of antibacterial infections in a patient.
35

In one embodiment, the present invention relates to a package comprising a pharmaceutically acceptable carrier, cefepime or a pharmaceutically acceptable salt thereof, a compound of formula

I, as defined herein, or a pharmaceutically acceptable salt or *in vivo* hydrolysable ester thereof; and instructions, wherein the instructions comprise instructions for treating a bacterial infection or disease.

- 5 In one embodiment, the present invention relates to a product comprising cefepime or a pharmaceutically acceptable salt thereof and a compound of formula I, as defined herein, or a pharmaceutically acceptable salt or *in vivo* hydrolysable ester thereof, as a combined preparation for separate, simultaneous or sequential administration for treating a bacterial infection or disease.
- 10 In one embodiment, the present invention relates to use of cefepime or a pharmaceutically acceptable salt thereof and a compound of formula I, as defined herein, or a pharmaceutically acceptable salt or *in vivo* hydrolysable ester thereof, in the preparation of a medicament for treating a bacterial infection or disease.
- 15 In another embodiment, the present invention of a compound of formula I and a β -lactam antibiotic is further combined with other compounds, including, but not limited to, a dehydropeptidase (DHP) inhibitor, for example, cilastatin, that is useful in the treatment of antibacterial infections in a patient.
- 20 **Chemical Definitions**
As used herein, R_1 is H, optionally substituted -C1-C6 alkyl, optionally substituted -aryl, optionally substituted -heteroaryl or mono or bicyclic saturated heterocycles, optionally substituted -C3-C7 cycloalkyl, optionally substituted -C3-C6 alkenyl, optionally substituted -C3-C6 alkynyl with the proviso that both the double bond and the triple bond should not be present at the carbon atom which is directly linked to N; optionally substituted -C1-C6 per fluoro alkyl, -S(O)_p, optionally substituted alkyl or aryl where p is 2, optionally substituted -C=O heteroaryl, optionally substituted -C=O aryl, optionally substituted -C=O (C1-C6) alkyl, optionally substituted -C=O (C3-C6) cycloalkyl, optionally substituted -C=O mono or bicyclic saturated heterocycles, optionally substituted C1-C6 alkyl aryl, optionally substituted C1-C6 alkyl heteroaryl, optionally substituted aryl-C1-C6 alkyl, optionally substituted heteroaryl-C1-C6 alkyl, optionally substituted C1-C6 alkyl mono or bicyclic saturated heterocycles, optionally substituted arylalkenyl of 8 to 16 carbon atoms, -CONR₆R₇, -SO₂NR₆R₇, optionally substituted arylalkoxyalkyl, optionally substituted -alkyl-O-alkyl-aryl, optionally substituted -alkyl-O-alkyl-heteroaryl, optionally substituted aryloxyalkyl, optionally substituted heteroaryloxyalkyl, optionally substituted aryloxyaryl, optionally substituted aryloxyheteroaryl, optionally substituted C1-C6alkyl aryloxyaryl, optionally substituted C1-C6 alkyl aryloxyheteroaryl, optionally substituted alkyl aryloxy alkylamines, optionally substituted alkoxy carbonyl, optionally substituted aryloxy carbonyl, optionally substituted heteroaryloxy carbonyl. In
- 25
- 30
- 35

one embodiment, R_1 is H, optionally substituted alkyl, optionally substituted aryl, $-C(=O)(C1-C6)alkyl$, C3-C6alkenyl, C3-C6alkynyl, optionally substituted cycloalkyl, SO_2alkyl , SO_2aryl , optionally substituted heterocycles, $-CONR_6R_7$, and optionally substituted heteroaryl.

- 5 R_2 is hydrogen, optionally substituted C1-C6 alkyl, optionally substituted C2-C6 alkenyl having 1 to 2 double bonds, optionally substituted C2-C6 alkynyl having 1 to 2 triple bonds, halogen, cyano, $N-R_6R_7$, optionally substituted C1-C6 alkoxy, hydroxy, optionally substituted aryl, optionally substituted heteroaryl, $COOR_6$, optionally substituted alkyl aryloxy alkylamines, optionally substituted aryloxy, optionally substituted heteroaryloxy, optionally substituted C3-C6 alkenyloxy, 10 optionally substituted C3-C6 alkynyloxy, C1-C6 alkylamino-C1-C6 alkoxy, alkylene dioxy, optionally substituted aryloxy-C1-C6 alkyl amine, C1-C6 perfluoro alkyl, $S(O)_q$ -optionally substituted C1-C6 alkyl, $S(O)_q$ -optionally substituted aryl where q is 0, 1 or 2, $CONR_6R_7$, guanidino or cyclic guanidino, optionally substituted C1-C6 alkylaryl, optionally substituted arylalkyl, optionally substituted C1-C6 alkylheteroaryl, optionally substituted heteroaryl-C1-C6 alkyl, 15 optionally substituted C1-C6 alkyl mono or bicyclic saturated heterocycles, optionally substituted arylalkenyl of 8 to 16 carbon atoms, $SO_2NR_6R_7$, optionally substituted arylalkyloxyalkyl, optionally substituted aryloxyalkyl, optionally substituted heteroaryloxyalkyl, optionally substituted aryloxyaryl, optionally substituted aryloxyheteroaryl, substituted heteroaryloxyaryl, optionally substituted C1-C6alkyl aryloxyaryl, optionally substituted C1-C6 alkylaryloxyheteroaryl, optionally substituted 20 aryloxyalkyl, optionally substituted heteroaryloxyalkyl, optionally substituted alkylaryloxyalkylamines. In one embodiment, R_2 is H, optionally substituted alkyl, optionally substituted substituted alkoxy, optionally substituted heteroaryl, halogen, CN, hydroxy, optionally substituted heterocycle, $-CONR_6R_7$, $COOR_6$, optionally substituted aryl, $S(O)_q$ -alkyl, and $S(O)_q$ -aryl.

- 25 R_3 is hydrogen, C1-C6 alkyl, C5 - C6 cycloalkyl, optionally substituted aryl, optionally substituted heteroaryl; in one embodiment, R_3 is H or C1-C6 alkyl;

- R_4 is H, optionally substituted C1-C6 alkyl, one of R_4 is OH, C1-C6 alkoxy, $-S-C1-C6$ alkyl, $COOR_6$, $-NR_6R_7$, $-CONR_6R_7$; or R_4R_4 may together be $=O$ or R_4R_4 together with the carbon to 30 which they are attached may form a spiro system of five to eight members with or without the presence of heteroatoms selected N, O, $S(=O)_n$ (where $n = 0$ to 2), $N-R_1$; in one embodiment, R_4 is H, C1-C6 alkyl, NR_6R_7 or R_4R_4 together with the carbon to which they are attached may form a spiro system of five to eight members with or without the presence of heteroatoms;

- 35 R_6 and R_7 are independently H, optionally substituted C1-C6 alkyl, optionally substituted aryl, optionally substituted heteroaryl, optionally substituted C1-C6 alkyl aryl, optionally substituted arylalkyl, optionally substituted heteroarylalkyl, optionally substituted C1-C6 alkyl heteroaryl, R_6 and R_7 can be together to form a 3-7 membered saturated ring system optionally having one or

two heteroatoms such as N-R₁, O, S=(O)_n n = 0-2. In one embodiment, R₆ and R₇ are each independently H, C1-C6 alkyl, arylalkyl, heteroarylalkyl or R₆ and R₇ together form a 3-7 membered saturated ring system optionally having one or two heteroatoms.

5 The term alkyl refers to both straight and branched chain alkyl moieties of 1-12 carbons unless specified otherwise; in one embodiment, of 1-8 carbon atoms; in one embodiment, of 1-6 carbon atoms; and in one embodiment, of 1-4 carbon atoms. Representative (C₁-C₆)-alkyl groups include, but are not limited to, methyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl, sec-butyl, tert-butyl, pentyl, isopentyl, neopentyl, hexyl, isohexyl, and neohexyl.

10

The term cycloalkyl refers to an a cyclic hydrocarbon group having 3-7 carbon atoms unless specified otherwise; in one embodiment, 7 carbon atoms; in one embodiment, 6 carbon atoms; in one embodiment, 5 carbon atoms; in one embodiment, 4 carbon atoms; and in one embodiment, 3 carbon atoms.

15

Aryl refers to an aromatic hydrocarbon moiety, e.g., 6-14 carbon atoms, for example selected from the group: phenyl, α -naphthyl, β -naphthyl, biphenyl, anthryl, tetrahydronaphthyl, fluorenyl, indanyl, biphenylenyl, acenaphthenyl; groups. In one embodiment, the aryl group is phenyl or biphenyl.

20

Heteroaryl refers to an aromatic heterocyclic ring system (monocyclic or bicyclic), e.g., having 5-10 ring members and 1-3 heteroatoms selected from O, N and S, for example, where the heteroaryl moieties are selected from: (1) furan, thiophene, indole, azaindole, oxazole, thiazole, isoxazole, isothiazole, imidazole, N-methylimidazole, pyridine, pyrimidine, pyrazine, pyrrole, N-methylpyrrole, pyrazole, N-methylpyrazole, 1,3,4-oxadiazole, 1,2,4-triazole, 1-methyl-1,2,4-triazole, 1H-tetrazole, 1-methyltetrazole, benzoxazole, benzothiazole, benzofuran, benzisoxazole, benzimidazole, N-methylbenzimidazole, azabenzimidazole, indazole, quinazoline, quinoline, and isoquinoline; (2) a bicyclic aromatic heterocycle where a phenyl, pyridine, pyrimidine or pyridazine ring is: (a) fused to a 6-membered aromatic (unsaturated) heterocyclic ring having one nitrogen atom; (b) fused to a 5 or 6-membered aromatic (unsaturated) heterocyclic ring having two nitrogen atoms; (c) fused to a 5-membered aromatic (unsaturated) heterocyclic ring having one nitrogen atom together with either one oxygen or one sulfur atom; or (d) fused to a 5-membered aromatic (unsaturated) heterocyclic ring having one heteroatom selected from O, N or S. In one embodiment, the heteroaryl group is furan, oxazole, thiazole, isoxazole, isothiazole, imidazole, N-methylimidazole, pyridine, pyrimidine, pyrazine, pyrrole, N-methylpyrrole, pyrazole, N-methylpyrazole, 1,3,4-oxadiazole, 1,2,4-triazole, 1-methyl-1,2,4-triazole, 1H-tetrazole, 1-methyltetrazole, quinoline, isoquinoline, or naphthyridine.

25

30

35

The term fused bicyclic heteroaryl group refers to a group comprising two fused rings in which one has aromatic character [i.e. Huckel's rule $(4n+2)$] and the other ring is non-aromatic. The fused bicyclic heteroaryl group contains one to six heteroatoms selected from the group consisting of O, S, N and N-R₁. The fused bicyclic heteroaryl group can be bonded to the remainder of the molecule through a carbon atom in the aromatic ring. The aromatic ring of the fused bicyclic heteroaryl group contains five or six ring atoms (including bridgehead atoms) selected from CR₂, N, O, S or N-R₁. The aromatic ring of the fused bicyclic heteroaryl group contains 0 to 3 heteroatoms selected from the group O, S, N and N-R₁. The non-aromatic ring of the fused bicyclic heteroaryl group contains five to eight ring atoms (including bridgehead atoms) selected from CR₄R₄, N, N-R₁, O, S(O)_n where n = 0-2. The non-aromatic ring of the fused bicyclic heteroaryl group contains 0 to 4 heteroatoms selected from N, N-R₁, O or S(O)_n where n = 0 to 2.

A fused bicyclic heteroaryl group includes optionally substituted ring systems such as (6,7-Dihydro-5H-pyrrolo[1,2-a]imidazole and (5,6-Dihydro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazine moieties.

If any group is said to be 'optionally substituted' such as for example aryl or heteroaryl, then one or two of the following are possible substituents (the same or different): nitro, -aryl, -heteroaryl, alkoxy carbonyl-, -alkoxy, -alkoxy-alkyl, alkyl-O-C2-C4alkyl-O-, -cyano, -halogen, -hydroxy, -N-R₆R₇, -trifluoromethyl, -trifluoromethoxy, arylalkyl, alkylaryl, R₆R₇N-alkyl-, HO-C1-C6-alkyl-, alkoxyalkyl-, alkyl-S-, -SO₂N-R₆R₇, -SO₂NHR₆, -CO₂H, CONR₆R₇, aryl-O-, heteroaryl-O-, -S(O)_s-aryl (where s = 0 -2), -alkyl-O-alkyl-NR₆R₇, -alkyl-aryl-O-alkylN-R₆R₇, C1-C6alkyl, alkenyl, alkynyl, cycloalkyl, alkoxy-alkyl-O-, R₆R₇N-alkyl-, and -S(O)_s-heteroaryl (where s = 0 -2). In one embodiment, substituents, e.g., for aryl and heteroaryl include: alkyl, halogen, -N-R₆R₇, trifluoromethyl, -trifluoromethoxy, arylalkyl, and alkylaryl.

Arylalkyl refers to Aryl-C1-C6alkyl-; Arylalkyl moieties include benzyl, 1-phenylethyl, 2-phenylethyl, 3-phenylpropyl, 2-phenylpropyl and the like. The term 'optionally substituted' refers to unsubstituted or substituted with 1 or 2 substituents on the alkyl or aryl moiety as defined above.

Alkylaryl refers to C1-C6alkyl-aryl-. The term 'optionally substituted' refers to unsubstituted or substituted with 1 or 2 substituents on the aryl or alkyl moiety as defined above.

Heteroaryl-C1-C6-alkyl refers to a heteroaryl substituted alkyl moiety wherein the alkyl chain is 1-6 carbon atoms (straight or branched). Alkyl heteroaryl moieties include Heteroaryl-(CH₂)₁₋₆- and the like. The term 'optionally substituted' refers to unsubstituted or substituted with 1 or 2 substituents on the alkyl or heteroaryl moiety as defined above;

C1-C6 alkylheteroaryl refers to an alkyl chain of 1-6 carbon atoms (straight or branched) attached

to a heteroaryl moiety, which is bonded to the rest of the molecule. For example C1-C6-alkyl-Heteroaryl--. The term 'optionally substituted' refers to unsubstituted or substituted with 1 or 2 substituents on the alkyl or heteroaryl moiety as defined above;

- 5 Saturated or partially saturated heterocycles groups refers to heterocyclic rings selected from the moieties; aziridinyl, azetidiny, 1,4-dioxanyl, hexahydroazepiny, piperaziny, piperidinyl, pyrrolidinyl, morpholinyl, thiomorpholinyl, dihydrobenzimidazolyl, dihydrobenzofuranyl, dihydrobenzothienyl, dihydrobenzoxazolyl, dihydrofuranyl, dihydroimidazolyl, dihydroindolyl, dihydroisooxazolyl, dihydroisothiazolyl, dihydrooxadiazolyl, dihydrooxazolyl, dihydropyrraziny, dihydropyrazolyl, dihydropyridinyl, dihydropyrimidinyl, dihydropyrrolyl, dihydroquinoliny, dihydrotetrazolyl, dihydrothiadiazolyl, dihydrothiazolyl, dihydrothienyl, dihydrotriazolyl, dihydroazetidiny, dihydro-1,4-dioxanyl, tetrahydrofuranyl, tetrahydrothienyl, tetrahydroquinoliny, and tetrahydroisoquinoliny. In one embodiment, saturated or partially saturated heterocycles include: aziridinyl, azetidiny, 1,4-dioxanyl, hexahydroazepiny, piperaziny, piperidinyl, pyrrolidinyl, morpholinyl, thiomorpholinyl, tetrahydroquinoliny, tetrahydroisoquinoliny, dihydroimidazolyl, and dihydroisooxazolyl.

- 20 C1-C6 alkyl mono or bicyclic saturated or partially saturated heterocycles refers to an alkyl group (straight or branched) of C1-C6 attached to a heterocycle (which is defined before) through a carbon atom or a nitrogen atom and the other end of the alkyl chain attached to the rest of the molecule. The term 'optionally substituted' refers to unsubstituted or substituted with 1 or 2 substituents present on the alkyl or heterocyclic portion of the molecule, as defined before;

- 25 Arylalkyloxyalkyl refers to Aryl-C1-C6alkyl-O-C1-C6alkyl---. The term 'optionally substituted' refers to unsubstituted or substituted with 1 or 2 substituents present on the alkyl and/or aryl portions as defined before;

- Alkyloxyalkyl refers to C1-C6 alkyl-O-C1-C6alkyl---. The term 'optionally substituted' refers to unsubstituted or substituted with 1 or 2 substituents present at the alkyl moiety as defined before;

- 30 Aryloxyalkyl is defined as Aryl-O-C1-C6 alkyl---. The term 'optionally substituted' refers to unsubstituted or substituted with 1 or 2 substituents present at the alkyl or aryl moiety as defined before;

- 35 Heteroarylalkyloxyalkyl refers to Heteroaryl-C1-C6alkyl-O-C1-C6alkyl---. The term 'optionally substituted' refers to unsubstituted or substituted with 1 or 2 substituents present on the alkyl or heteroaryl moiety as defined before;

Aryloxyaryl refers to Aryl-O-Aryl---. The term 'optionally substituted' refers to unsubstituted or substituted with 1 or 2 substituents present on the aryl moiety as defined before;

5 Aryloxyheteroaryl refers to Aryl-O-Heteroaryl- or -Aryl-O-Heteroaryl; In this definition either the aryl moiety or the heteroaryl moiety can be attached to the remaining portion of the molecule. The term 'optionally substituted' refers to unsubstituted or substituted with 1 or 2 substituents present on the aryl moiety or on the heteroaryl moiety as defined before;

10 Alkyl aryloxyaryl refers to Aryl-O-Aryl-C1-C6alkyl----. The term 'optionally substituted' refers to unsubstituted or substituted with 1 or 2 substituents present at the aryl moiety as defined before;

15 Alkylaryloxyheteroaryl refers to Heteroaryl-O-Aryl-C1-C6alkyl--. The term 'optionally substituted' refers to unsubstituted or substituted with 1 or 2 substituents present on the aryl moiety or on the heteroaryl moiety as defined before;

Alkylaryloxyalkylamine refers to $R_6R_7N-C1-C6alkyl-O-Aryl-C1-C6alkyl---$. The terms 'optionally substituted' refers to unsubstituted or substituted with 1 or 2 substituents present on the alkyl or aryl moiety as defined before; R_6 and R_7 as defined before;

20 Alkoxy carbonyl refers to C1-C6alkyl-O-C=O--. The term 'optionally substituted' refers to unsubstituted or substituted with 1 or 2 substituents present on the alkyl portion of the alkoxy moiety as defined before;

25 Aryloxy carbonyl refers to Aryl-O-C=O--. The term 'optionally substituted' refers to unsubstituted or substituted with 1 or 2 substituents present at the aryl moiety as defined before;

30 Heteroaryloxy carbonyl refers to Heteroaryl-O-C=O--. The term 'optionally substituted' refers to unsubstituted or substituted with 1 or 2 substituents present at the heteroaryl moiety as defined before;

Alkoxy refers to C1-C6alkyl-O--. The terms 'optionally substituted' refers to unsubstituted or substituted with 1 or 2 substituents present at the alkyl moiety as defined before;

35 Aryloxy refers to Aryl-O--. The term 'optionally substituted' refers to unsubstituted or substituted with 1 or 2 substituents present at the aryl moiety as defined before;

Heteroaryloxy refers to Heteroaryl-O--. The term 'optionally substituted' refers to unsubstituted or substituted with 1 or 2 substituents present at the heteroaryl moiety as defined before;

Alkenyloxy refers to C3-C6 alkene-O--; Example allyl-O--, but-2-ene-O or like moieties. The term 'optionally substituted' refers to unsubstituted or substituted with 1 or 2 substituents present at the alkene moiety as defined before, with the proviso that no hetero atom such as O, S or N-R₁ is present on the carbon atom, which is attached to a double bond;

Alkynyloxy refers to C3-C6alkyne-O--; Example CH≡C-CH₂-O-, or like moieties. The term 'optionally substituted' refers to unsubstituted or substituted with 1 or 2 substituents present at the alkyne moiety as defined before, with the proviso that no hetero atom such as O, S or N-R₁ is present on a carbon atom which is attached to a double or triple bond;

Alkylaminoalkoxy refers to R₆R₇N-C1-C6-alkyl-O-C1-C6-alkyl---, where the terminal alkyl group attached to the oxygen is connected to the rest of the molecule. The terms R₆ and R₇ are defined above. The term 'optionally substituted' refers to unsubstituted or substituted with 1 or 2 substituents present at the alkyl moiety as defined before;

Alkylenedioxy refers to -O-CH₂-O- or -O-(CH₂)₂---O---;

Aryloxyalkylamine refers to R₆R₇N-C1-C6-alkyl-O-Aryl--, where the aryl is attached to the rest of the molecule. The term 'optionally substituted' refers to unsubstituted or substituted with 1 or 2 substituents present at the alkyl or aryl moiety as defined before;

Arylalkenyl refers to Aryl-C2-C8alkene--, with the proviso that no hetero atom such as O, S or N-R₁ is present on the carbon atom, which is attached to a double bond. The term 'optionally substituted' refers to unsubstituted or substituted with 1 or 2 substituents present on the alkene or aryl moiety as defined before;

Heteroaryloxyalkyl refers to Heteroaryl-O-C1-C6alkyl---. The term 'optionally substituted' refers to unsubstituted or substituted with 1 or 2 substituents present at the heteroaryl moiety as defined before;

Heteroaryloxyaryl refers to Heteroaryl-O-aryl---, where the aryl moiety is attached to the rest of the molecule. The term 'optionally substituted' refers to unsubstituted or substituted with 1 or 2 substituents present at the heteroaryl moiety or the aryl moiety as defined before;

Alkoxy, alkoxyalkyl, alkoxyalkyloxy and alkylthioalkyloxy refers to moieties wherein the alkyl chain is 1-6 carbon atoms (straight or branched). Aryloxy, heteroaryloxy, arylthio and heteroarylthio are moieties wherein the aryl and heteroaryl groups are as herein before defined. Arylalkyloxy,

heteroarylalkyloxy, arylalkylthio and heteroarylalkylthio are moieties wherein the aryl and heteroaryl groups are as herein before defined and wherein the alkyl chain is 1-6 carbons (straight or branched). Aryloxyalkyl, heteroaryloxyalkyl, aryloxyalkyloxy and heteroaryloxyalkyloxy are substituents wherein the alkyl radical is 1-6 carbon atoms. The terms monoalkylamino and dialkylamino refer to moieties with one or two alkyl groups wherein the alkyl chain is 1-6 carbons and the groups may be the same or different. The terms monoalkylaminoalkyl and dialkylaminoalkyl refer to monoalkylamino and dialkylamino moieties with one or two alkyl groups (the same or different) bonded to the nitrogen atom which is attached to an alkyl group of 1-3 carbon atoms.

Pharmaceutically acceptable salts are those salts that may be administered or provided to a warm blooded animal, including sodium, potassium or calcium alkaline earth metal salts.

The term patient as used herein includes, without limitation, a human, mouse, rat, guinea pig, dog, cat, horse, cow, pig, monkey, chimpanzee, baboon, or rhesus. In one embodiment, the patient is a warm blooded animal. In another embodiment, the patient is a human.

The term effective amount as used herein refers to an amount of a compound or pharmaceutically acceptable salt of a compound that, when administered to a patient, is effective to prevent, to at least partially ameliorate, or to cure, a condition from which the patient suffers or is suspected to suffer.

The term substantially free of its corresponding opposite enantiomer as used herein means that the compound contains no more than about 10% by weight of its corresponding opposite enantiomer. In other embodiments, the compound that is substantially free of its corresponding opposite enantiomer contains no more than about 5%, no more than about 1%, no more than about 0.5%, or no more than about 0.1% by weight of its corresponding opposite enantiomer. An enantiomer that is substantially free of its corresponding opposite enantiomer includes a compound that has been isolated and purified or has been prepared substantially free of its corresponding opposite enantiomer.

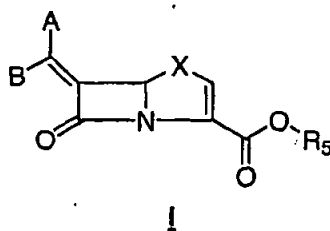
The term isolated and purified as used herein refers to an isolate that is separate from other components of a reaction mixture or a natural source. In certain embodiments, the isolate contains at least about 50%, at least about 55%, at least about 60%, at least about 65%, at least about 70%, at least about 75%, at least about 80%, at least about 85%, at least about 90%, at least about 95%, or at least about 98% of the compound or pharmaceutically acceptable salt of the compound by weight of the isolate.

The term tautomer as used herein refers to compounds produced by the phenomenon wherein a proton of one atom of a molecule shifts to another atom. See, Jerry March, *Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structures*, Fourth Edition, John Wiley & Sons 1992, 69-74.

5

Compounds of Formula I

Compounds useful in the present invention include compounds of formula I and pharmaceutically acceptable salts or *in vivo* hydrolysable esters thereof:



10

or pharmaceutically acceptable salts or *in vivo* hydrolysable esters thereof:

wherein:

one of A and B denotes hydrogen and the other of A and B denotes an optionally substituted fused bicyclic heteroaryl group;

15 X is S or O;

R₅ is hydrogen, an *in vivo* hydrolyzable ester such as C₁-C₆ alkyl, C₅-C₆ cycloalkyl, CHR₃OCOC₁-C₆ alkyl or a salt such as Na, K, Ca; and

R₃ is hydrogen, C₁-C₆ alkyl, C₅-C₆ cycloalkyl, optionally substituted aryl, or optionally substituted heteroaryl.

20

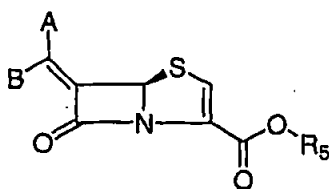
In one embodiment, X is S.

In one embodiment, R₅ is hydrogen or a salt.

25 In one embodiment, R₃ is hydrogen or C₁-C₆ alkyl.

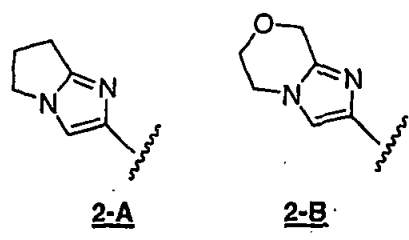
In one embodiment, A denotes an optionally substituted bicyclic heteroaryl group and B denotes hydrogen.

In one embodiment, the compound of formula I has the following stereochemistry:



30

Nonlimiting examples of a bicyclic heteroaryl group include **2-A** and **2-B**:



5 As used herein, e.g., in formula **2-A** and **2-B**, the “” designates the point of attachment of the bicyclic heteroaryl group to the rest of the molecule.

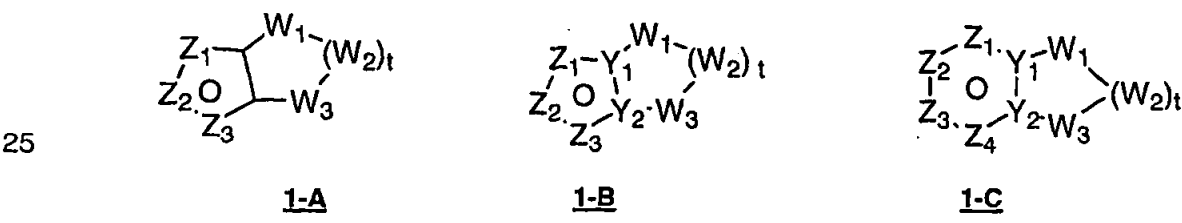
10 In one embodiment, the compound of formula I is: (5*R*), (6*Z*)-6-(6,7-Dihydro-5*H*-pyrrolo[1,2-*a*]imidazol-2-ylmethylene)-7-oxo-4-thia-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylic acid, sodium salt.

15 In one embodiment, the compound of formula I is: or (5*R*), (6*Z*)-6-(5,6-Dihydro-8*H*-imidazo[2,1-*c*][1,4]oxazin-2-ylmethylene)-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylic acid, sodium salt.

In one embodiment, the compound of formula I is: (5*R*), (6*Z*)-6-(6,7-Dihydro-5*H*-pyrrolo[1,2-*a*]imidazol-2-ylmethylene)-7-oxo-4-thia-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylic acid.

20 In one embodiment, the compound of formula I is: (5*R*), (6*Z*)-6-(5,6-Dihydro-8*H*-imidazo[2,1-*c*][1,4]oxazin-2-ylmethylene)-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylic acid.

Additional examples of optionally substituted bicyclic heteroaryl group A and B include the following:



25 In formula **1-A** Z1, Z2 and Z3 are independently CR₂, N, O, S or N-R₁ and one of Z1-Z3 is carbon and is bonded to the remainder of the molecule as shown in formula I. When one of Z's is CR₂ the other two Zs can be either two N or one N and O, S, N-R₁ in any combinations with out

disrupting the aromaticity; when two Zs = CR₂ the other Z can be optionally selected from one N, O, S or N-R₁ in any combination with out disrupting the aromaticity;
 W₁, W₂ and W₃ are independently CR₄R₄, S, SO, SO₂, O, N-R₁, C=O; with the proviso that no S-S or O-O or S-O bond formation can occur to form the saturated ring system; t= 1 to 4.

5

In formula 1-B Z₁, Z₂ and Z₃ are independently CR₂, N, O, S or N-R₁ and one of Z₁ -Z₃ is carbon and is bonded to the remainder of the molecule as shown in formula I.

When one of Z's = CR₂, then the other two Z's can be independently CR₂, N, O, S or N-R₁ in any combinations with out disrupting the aromaticity;

10 When two Z's =N, then the other carbon in the ring is bonded to the penem portion of the molecule as shown in formula I.

W₁, W₂ and W₃ are independently CR₄R₄, S, SO, SO₂, O, N-R₁,
 t= 1 to 4;

15 Y₁ and Y₂ = N or C; with the proviso that when the aromatic heterocycle is imidazole, the saturated ring may not contain a S adjacent to the bridgehead carbon.

In formula 1-C Z₁, Z₂, Z₃ and Z₄ are independently CR₂ or N and one of Z₁ -Z₄ is carbon and is bonded to the remainder of the molecule.

20 W₁, W₂ and W₃ are independently CR₄R₄, S, SO, SO₂, O, or N-R₁; with the proviso that no S-S or O-O or S-O bond formation can occur to form the saturated ring system; t= 1 to 4.

Y₁ and Y₂ are independently C or N.

Additional examples of optionally substituted bicyclic heteroaryl groups A and B are set forth in WO 03/093279 A1, WO 03/093277 A1, and US 2004 132708 A1.

25

Compounds useful in the present invention include pharmaceutically acceptable salts or *in vivo* hydrolysable esters thereof, and as such, the term "compound" as used herein includes a pharmaceutically acceptable salt or *in vivo* hydrolysable ester thereof. A compound's structural formula also includes any tautomers, any stereoisomers (except where stereochemistry is clearly noted) and any crystalline forms.

30

The compounds of formula I can contain an asymmetric carbon atom and some of the compounds of formula I can contain one or more asymmetric centers, and can thus give rise to optical isomers and diastereomers. While in some cases depicted without respect to stereochemistry in the compounds of formula I, the present invention includes such optical isomers and diastereomers, as well as racemic and resolved, enantiomerically pure R and S stereoisomers, and also other mixtures of the R and S stereoisomers and pharmaceutically acceptable salts thereof. Where a

35

stereoisomer is provided, it can in some embodiments be provided substantially free of its corresponding opposite enantiomer.

5 In addition, the compounds of formula I can exist as tautomers. Such tautomers can be transient or isolatable as a stable product. These tautomers are within the scope of the present invention.

Prodrugs of the compounds of formula I are also within the scope of the present invention.

Methods of Making Compounds of Formula I

10 The compounds of formula I can be prepared using a variety of methods starting from commercially available compounds, known compounds, or compounds prepared by known methods. General synthetic routes to many of the compounds are included in the following schemes. It is understood by those skilled in the art that protection and deprotection steps not
15 shown in the Schemes may be required for these syntheses, and that the order of steps may be changed to accommodate functionality in the target molecule.

For example, compounds of formula I can be synthesized according to the procedures outlined in WO 03/093279 A1, WO 03/093277 A1, and US 2004 132708 A1.

Therapeutic Administration

20 In one embodiment, a compound of formula I has β -lactamase inhibitory and antibacterial properties and is useful for the treatment of infections in a patient when combined with cefepime. In one embodiment of the present invention, a compound of formula I in combination with cefepime provides an effective treatment of a bacterial infection or disease.

25

In one embodiment, a compound of formula I has β -lactamase inhibitory and antibacterial properties and is useful for the treatment of infections in a patient when combined with a β -lactam antibiotic. In one embodiment of the present invention, a compound of formula I in combination with a β -lactam antibiotic provides an effective treatment of a bacterial infection or disease.

30

β -lactam antibiotics as used herein include penicillin antibiotics, cephalosporin antibiotics, and carbapenem antibiotics. For example, penicillin antibiotics such as carbenicillin, azlocillin, mezlocillin, mecillinam, nafcillin, and oxacillin; cephalosporin antibiotics such as cefaclor, cefamandol, cefdinir, cefditoren, cefatamet, cefixime, cefmetazole, cefotaxime, cefotetan, cefoxitin, cefpodoxime, ceftibuten, ceftizoxime, and cefuroxime; and carbapenem antibiotics such
35

as loracarbef, imipenem, meropenem, and ertapenem; are useful for the treatment of infections in a patient when combined with a compound of formula I.

5 In one embodiment, a compound of formula I when used in combination with cefepime results in increased antibacterial activity (synergistic effect) against a Class-A producing organism. In one embodiment, a compound of formula I when used in combination with cefepime results in increased antibacterial activity (synergistic effect) against a Class-B producing organism. In one embodiment, a compound of formula I when used in combination with cefepime results in increased antibacterial activity (synergistic effect) against a Class-C producing organism. In one
10 embodiment, a compound of formula I when used in combination with cefepime results in increased antibacterial activity (synergistic effect) against a Class-D producing organism. In another embodiment, a compound of formula I when used in combination with cefepime results in increased antibacterial activity (synergistic effect) against a Class-A and a Class-C producing organism. In still another embodiment, a compound of formula I when used in combination with
15 cefepime results in increased antibacterial activity (synergistic effect) against a Class-A, a Class-C, and a Class-D producing organism.

In one embodiment, a compound of formula I when used in combination with a β -lactam antibiotic results in increased antibacterial activity (synergistic effect) against a Class-A producing organism.
20 In one embodiment, a compound of formula I when used in combination with a β -lactam antibiotic results in increased antibacterial activity (synergistic effect) against a Class-B producing organism. In one embodiment, a compound of formula I when used in combination with a β -lactam antibiotic results in increased antibacterial activity (synergistic effect) against a Class-C producing organism. In one embodiment, a compound of formula I when used in combination with a β -lactam antibiotic
25 results in increased antibacterial activity (synergistic effect) against a Class-D producing organism. In another embodiment, a compound of formula I when used in combination with a β -lactam antibiotic results in increased antibacterial activity (synergistic effect) against a Class-A and a Class-C producing organism. In still another embodiment, a compound of formula I when used in combination with a β -lactam antibiotic results in increased antibacterial activity (synergistic effect)
30 against a Class-A, a Class-C, and a Class-D producing organism.

In one embodiment, administration of the compounds of formula I is provided in conjunction with prior, simultaneous or subsequent administration of cefepime ("co-administration"). "Provided" includes direct administration as well as *in vivo*, e.g. pro-drugs. When the compounds of formula I
35 are co-administered with cefepime, the ratio of the amount of the compound to the amount of the cefepime may vary in a wide range. The ratio of cefepime to the compound of formula I may vary

from 1:1 to 100:1 (w/w). In one embodiment, the ratio of cefepime to the compound of formula I is less than 10:1 (w/w).

5 In one embodiment, administration of the compounds of formula I is provided in conjunction with prior, simultaneous or subsequent administration of a β -lactam antibiotic ("co-administration"). When the compounds of formula I are co-administered with a β -lactam antibiotic, the ratio of the amount of the compound to the amount of the cefepime may vary in a wide range. The ratio of a β -lactam antibiotic to the compound of formula I may vary from 1:1 to 100:1 (w/w). In one embodiment, the ratio of a β -lactam antibiotic to the compound of formula I is less than 10:1 (w/w).

10 In one embodiment, the compositions of the present invention are in a form suitable for oral (PO), intravenous (IV) or topical administration. In one embodiment, the compositions of the invention are in a form of tablets, capsules, creams, syrups, suspension, sterile solutions suitable for injection or infusion.

15 In one embodiment, a compound of formula I and cefepime are administered in doses commonly employed when such agents are used individually for the treatment of a bacterial infection or disease.

20 In one embodiment, a compound of formula I and a β -lactam antibiotic are administered in doses commonly employed when such agents are used individually for the treatment of a bacterial infection or disease.

25 In another embodiment, a compound of formula I and cefepime act synergistically and are administered in doses that are less than the doses commonly employed when such agents are used individually for the treatment of a bacterial infection or disease.

30 In another embodiment, a compound of formula I and a β -lactam antibiotic act synergistically and are administered in doses that are less than the doses commonly employed when such agents are used individually for the treatment of a bacterial infection or disease.

As used herein, cefepime includes a pharmaceutically acceptable salt thereof.

35 Cefepime can be administered to a patient at a dosage ranging from about 250 mg to about 2 g per administration. In one embodiment, the dosage of cefepime is about 300 mg, about 350 mg, about 400 mg, about 450 mg, about 500 mg, about 550 mg, about 600 mg, about 650 mg, about 700 mg, about 750 mg, about 800 mg, about 850 mg, about 900 mg, about 950 mg, about 1 g,

about 1.1 g, about 1.2 g, about 1.25 g, about 1.3 g, about 1.4 g, about 1.5 g, about 1.6 g, about 1.7 g, about 1.75 g, about 1.8 g, or about 1.9 g. Cefepime can be administered at a time ranging from every 8 h to every 48 hr. In one embodiment, cefepime is administered every 12 h, every 16 h, every 20 h, every 24 h, every 28 h, every 32 h, every 36 h, every 40, or every 44 h. Cefepime can
5 be administered for a duration ranging from about 7 days to about 10 days. In a specific embodiment, cefepime is administered for about 8 days or about 9 days.

As used herein, a β -lactam antibiotic includes a pharmaceutically acceptable salt thereof.

10 When administered to a patient, a compound (e.g., a compound of formula I, cefepime, or a β -lactam antibiotic) can be administered neat or as a component of a composition that comprises a physiologically acceptable carrier or vehicle. A composition of the invention can be prepared using a method comprising admixing the compound or a pharmaceutically acceptable salt of the
15 compound and a physiologically acceptable carrier, excipient, or diluent. Admixing can be accomplished using methods well known for admixing a compound or a pharmaceutically acceptable salt of the compound and a physiologically acceptable carrier, excipient, or diluent.

In one embodiment, the invention provides a composition comprising cefepime or a pharmaceutically acceptable salt thereof and a compound of formula I or a pharmaceutically
20 acceptable salt or *in vivo* hydrolysable ester thereof. In another embodiment, the invention provides a composition comprising a compound of formula I or a pharmaceutically acceptable salt or *in vivo* hydrolysable ester thereof, and a composition comprising cefepime or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

25 In one embodiment, the invention provides a composition comprising a β -lactam antibiotic or a pharmaceutically acceptable salt thereof and a compound of formula I or a pharmaceutically acceptable salt or *in vivo* hydrolysable ester thereof. In another embodiment, the invention provides a composition comprising a compound of formula I or a pharmaceutically acceptable salt or *in vivo* hydrolysable ester thereof, and a composition comprising a β -lactam antibiotic or a
30 pharmaceutically acceptable salt thereof.

The present compositions, comprising compounds or pharmaceutically acceptable salts of compounds can be administered orally. The compositions of the invention can also be
35 administered by any other convenient route, for example, by continuous infusion or bolus injection, by absorption through epithelial or mucocutaneous linings (e.g., oral, rectal, vaginal, and intestinal mucosa, etc.) and can be administered together with another therapeutic agent. Administration

can be systemic or local. Various known delivery systems, including encapsulation in liposomes, microparticles, microcapsules, and capsules, can be used.

Methods of administration include, but are not limited to, intradermal, intramuscular, intraperitoneal, intravenous, subcutaneous, intranasal, epidural, oral, sublingual, intracerebral, intravaginal, transdermal, rectal, by inhalation, or topical, particularly to the ears, nose, eyes, or skin. In some instances, administration will result in release of the compound or a pharmaceutically acceptable salt of the compound into the bloodstream. The mode of administration is left to the discretion of the practitioner.

In one embodiment, the compound or a pharmaceutically acceptable salt of the compound of formula I is administered orally.

In one embodiment, cefepime is administered orally.

In one embodiment, the β -lactam antibiotic is administered orally.

In another embodiment, the compound or a pharmaceutically acceptable salt of the compound of formula I is administered intravenously.

In one embodiment, cefepime is administered intravenously.

In one embodiment, the β -lactam antibiotic is administered intravenously.

In another embodiment, it may be desirable to administer the compound or a pharmaceutically acceptable salt of the compound of formula I locally. This can be achieved, for example, by local infusion during surgery, topical application, e.g., in conjunction with a wound dressing after surgery, by injection, by means of a catheter, by means of a suppository or edema, or by means of an implant, said implant being of a porous, non-porous, or gelatinous material, including membranes, such as sialastic membranes, or fibers.

In certain embodiments, it can be desirable to introduce the compound or a pharmaceutically acceptable salt of the compound of formula I into the central nervous system, circulatory system or gastrointestinal tract by any suitable route, including intraventricular, intrathecal injection, paraspinal injection, epidural injection, enema, and by injection adjacent to the peripheral nerve. Intraventricular injection can be facilitated by an intraventricular catheter, for example, attached to a reservoir, such as an Ommaya reservoir.

Pulmonary administration can also be employed, e.g., by use of an inhaler or nebulizer, and formulation with an aerosolizing agent, or via perfusion in a fluorocarbon or synthetic pulmonary surfactant. In certain embodiments, the compound or a pharmaceutically acceptable salt of the compound of formula I can be formulated as a suppository, with traditional binders and excipients such as triglycerides.

In another embodiment, the compound or a pharmaceutically acceptable salt of the compound of formula I can be delivered in a vesicle, in particular a liposome (see Langer, *Science* 1990, 249, 1527-1533 and Treat et al., *Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer* 1989, 317-327 and 353-365).

In yet another embodiment, the compound or a pharmaceutically acceptable salt of the compound of formula I can be delivered in a controlled-release system or sustained-release system (see, e.g., Goodson, in *Medical Applications of Controlled Release*, vol. 2, 1984, 115-138). Other controlled or sustained-release systems discussed in the review by Langer, *Science* 1990, 249, 1527-1533 can be used. In one embodiment, a pump can be used (Langer, *Science* 1990, 249, 1527-1533; Sefton, *CRC Crit. Rev. Biomed. Eng.* 1987, 14, 201; Buchwald et al., *Surgery* 1980, 88, 507; and Saudek et al., *N. Engl. J. Med.* 1989, 321, 574). In another embodiment, polymeric materials can be used (see *Medical Applications of Controlled Release* (Langer and Wise eds., 1974); *Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance* (Smolen and Ball eds., 1984); Ranger and Peppas, *J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem.* 1983 2, 61; Levy et al., *Science* 1935, 228, 190; During et al., *Ann. Neural.* 1989, 25, 351; and Howard et al., *J. Neurosurg.* 1989, 71, 105).

In yet another embodiment, a controlled- or sustained-release system can be placed in proximity of a target of the compound or a pharmaceutically acceptable salt of the compound of formula I, thus requiring only a fraction of the systemic dose.

The present compositions can optionally comprise a suitable amount of a physiologically acceptable excipient.

Such physiologically acceptable excipients can be liquids, such as water and oils, including those of petroleum, animal, vegetable, or synthetic origin, such as peanut oil, soybean oil, mineral oil, sesame oil and the like. The physiologically acceptable excipients can be saline, gum acacia, gelatin, starch paste, talc, keratin, colloidal silica, urea and the like. In addition, auxiliary, stabilizing, thickening, lubricating, and coloring agents can be used. In one embodiment the

physiologically acceptable excipients are sterile when administered to a patient. The physiologically acceptable excipient should be stable under the conditions of manufacture and storage and should be preserved against the contaminating action of microorganisms. Water is a particularly useful excipient when the compound or a pharmaceutically acceptable salt of the compound is administered intravenously. Saline solutions and aqueous dextrose and glycerol solutions can also be employed as liquid excipients, particularly for injectable solutions. Suitable physiologically acceptable excipients also include starch, glucose, lactose, sucrose, gelatin, malt, rice, flour, chalk, silica gel, sodium stearate, glycerol monostearate, talc, sodium chloride, dried skim milk, glycerol, propylene, glycol, water, ethanol and the like. The present compositions, if desired, can also contain minor amounts of wetting or emulsifying agents, or pH buffering agents.

Liquid carriers may be used in preparing solutions, suspensions, emulsions, syrups, and elixirs. The compound or pharmaceutically acceptable salt of the compound of formula I can be dissolved or suspended in a pharmaceutically acceptable liquid carrier such as water, an organic solvent, a mixture of both, or pharmaceutically acceptable oils or fat. The liquid carrier can contain other suitable pharmaceutical additives including solubilizers, emulsifiers, buffers, preservatives, sweeteners, flavoring agents, suspending agents, thickening agents, colors, viscosity regulators, stabilizers, or osmo-regulators. Suitable examples of liquid carriers for oral and parenteral administration include water (particular containing additives as above, e.g., cellulose derivatives, including sodium carboxymethyl cellulose solution), alcohols (including monohydric alcohols and polyhydric alcohols, e.g., glycols) and their derivatives, and oils (e.g., fractionated coconut oil and arachis oil). For parenteral administration the carrier can also be an oily ester such as ethyl oleate and isopropyl myristate. Sterile liquid carriers are used in sterile liquid form compositions for parenteral administration. The liquid carrier for pressurized compositions can be halogenated hydrocarbon or other pharmaceutically acceptable propellant.

The present compositions can take the form of solutions, suspensions, emulsion, tablets, pills, pellets, capsules, capsules containing liquids, powders, sustained-release formulations, suppositories, emulsions, aerosols, sprays, suspensions, or any other form suitable for use. In one embodiment, the composition is in the form of a capsule. Other examples of suitable physiologically acceptable excipients are described in *Remington's Pharmaceutical Sciences* 1447-1676 (Alfonso R. Gennaro, ed., 19th ed. 1995).

In one embodiment, the compound or a pharmaceutically acceptable salt of the compound of formula I is formulated in accordance with routine procedures as a composition adapted for oral administration to humans. Compositions for oral delivery can be in the form of tablets, lozenges, buccal forms, troches, aqueous or oily suspensions or solutions, granules, powders, emulsions,

capsules, syrups, or elixirs for example. Orally administered compositions can contain one or more agents, for example, sweetening agents such as fructose, aspartame or saccharin; flavoring agents such as peppermint, oil of wintergreen, or cherry; coloring agents; and preserving agents, to provide a pharmaceutically palatable preparation. In powders, the carrier can be a finely divided solid, which is an admixture with the finely divided compound or pharmaceutically acceptable salt of the compound. In tablets, the compound or pharmaceutically acceptable salt of the compound is mixed with a carrier having the necessary compression properties in suitable proportions and compacted in the shape and size desired. The powders and tablets can contain up to about 99% of the compound or pharmaceutically acceptable salt of the compound.

Capsules may contain mixtures of the compounds or pharmaceutically acceptable salts of the compounds with inert fillers and/or diluents such as pharmaceutically acceptable starches (e.g., corn, potato, or tapioca starch), sugars, artificial sweetening agents, powdered celluloses (such as crystalline and microcrystalline celluloses), flours, gelatins, gums, etc.

Tablet formulations can be made by conventional compression, wet granulation, or dry granulation methods and utilize pharmaceutically acceptable diluents, binding agents, lubricants, disintegrants, surface modifying agents (including surfactants), suspending or stabilizing agents (including, but not limited to, magnesium stearate, stearic acid, sodium lauryl sulfate, talc, sugars, lactose, dextrin, starch, gelatin, cellulose, methyl cellulose, microcrystalline cellulose, sodium carboxymethyl cellulose, carboxymethylcellulose calcium, polyvinylpyrrolidone, alginic acid, acacia gum, xanthan gum, sodium citrate, complex silicates, calcium carbonate, glycine, sucrose, sorbitol, dicalcium phosphate, calcium sulfate, lactose, kaolin, mannitol, sodium chloride, low melting waxes, and ion exchange resins. Surface modifying agents include nonionic and anionic surface modifying agents. Representative examples of surface modifying agents include, but are not limited to, poloxamer 188, benzalkonium chloride, calcium stearate, cetostearyl alcohol, cetomacrogol emulsifying wax, sorbitan esters, colloidal silicon dioxide, phosphates, sodium dodecylsulfate, magnesium aluminum silicate, and triethanolamine.

Moreover, when in a tablet or pill form, the compositions can be coated to delay disintegration and absorption in the gastrointestinal tract, thereby providing a sustained action over an extended period of time. Selectively permeable membranes surrounding an osmotically active driving compound or a pharmaceutically acceptable salt of the compound are also suitable for orally administered compositions. In these latter platforms, fluid from the environment surrounding the capsule can be imbibed by the driving compound, which swells to displace the agent or agent composition through an aperture. These delivery platforms can provide an essentially zero order delivery profile as opposed to the spiked profiles of immediate release formulations. A time-delay material such as glycerol monostearate or glycerol stearate can also be used. Oral compositions

can include standard excipients such as mannitol, lactose, starch, magnesium stearate, sodium saccharin, cellulose, and magnesium carbonate. In one embodiment the excipients are of pharmaceutical grade.

- 5 In another embodiment, the compound or a pharmaceutically acceptable salt of the compound of formula I can be formulated for intravenous administration. Typically, compositions for intravenous administration comprise sterile isotonic aqueous buffer. Where necessary, the compositions can also include a solubilizing agent. Compositions for intravenous administration can optionally include a local anesthetic such as lignocaine to lessen pain at the site of the
- 10 injection. Generally, the ingredients are supplied either separately or mixed together in unit dosage form, for example, as a dry lyophilized powder or water-free concentrate in a hermetically sealed container such as an ampule or sachette indicating the quantity of active agent. Where the compound or a pharmaceutically acceptable salt of the compound of formula I is to be administered by infusion, it can be dispensed, for example, with an infusion bottle containing
- 15 sterile pharmaceutical grade water or saline. Where the compound or a pharmaceutically acceptable salt of the compound is administered by injection, an ampule of sterile water for injection or saline can be provided so that the ingredients can be mixed prior to administration.

- In another embodiment, the compound or pharmaceutically acceptable salt of the compound of formula I can be administered transdermally through the use of a transdermal patch. Transdermal administrations include administrations across the surface of the body and the inner linings of the bodily passages including epithelial and mucosal tissues. Such administrations can be carried out using the present compounds or pharmaceutically acceptable salts of the compounds, in lotions, creams, foams, patches, suspensions, solutions, and suppositories (e.g., rectal or vaginal).

- 25 Transdermal administration can be accomplished through the use of a transdermal patch containing the compound or pharmaceutically acceptable salt of the compound and a carrier that is inert to the compound or pharmaceutically acceptable salt of the compound, is non-toxic to the skin, and allows delivery of the agent for systemic absorption into the blood stream via the skin.
- 30 The carrier may take any number of forms such as creams or ointments, pastes, gels, or occlusive devices. The creams or ointments may be viscous liquid or semisolid emulsions of either the oil-in-water or water-in-oil type. Pastes comprised of absorptive powders dispersed in petroleum or hydrophilic petroleum containing the active ingredient may also be suitable. A variety of occlusive devices may be used to release the compound or pharmaceutically acceptable salt of the
- 35 compound into the blood stream, such as a semi-permeable membrane covering a reservoir containing the compound or pharmaceutically acceptable salt of the compound with or without a carrier, or a matrix containing the active ingredient.

The compounds or pharmaceutically acceptable salts of the compounds of formula I may be administered rectally or vaginally in the form of a conventional suppository. Suppository formulations may be made from traditional materials, including cocoa butter, with or without the addition of waxes to alter the suppository's melting point, and glycerin. Water-soluble suppository bases, such as polyethylene glycols of various molecular weights, may also be used.

The compound or a pharmaceutically acceptable salt of the compound of formula I can be administered by controlled-release or sustained-release means or by delivery devices that are known to those of ordinary skill in the art. Such dosage forms can be used to provide controlled- or sustained-release of one or more active ingredients using, for example, hydropropylmethyl cellulose, other polymer matrices, gels, permeable membranes, osmotic systems, multilayer coatings, microparticles, liposomes, microspheres, or a combination thereof to provide the desired release profile in varying proportions. Suitable controlled- or sustained-release formulations known to those skilled in the art, including those described herein, can be readily selected for use with the active ingredients of the invention. The invention thus encompasses single unit dosage forms suitable for oral administration such as, but not limited to, tablets, capsules, gelcaps, and caplets that are adapted for controlled- or sustained-release.

In one embodiment a controlled- or sustained-release composition comprises a minimal amount of the compound or a pharmaceutically acceptable salt of the compound of formula I to treat or prevent a bacterial infection or disease in a minimal amount of time. Advantages of controlled- or sustained-release compositions include extended activity of the drug, reduced dosage frequency, and increased compliance by the patient being treated. In addition, controlled or sustained release compositions can favorably affect the time of onset of action or other characteristics, such as blood levels of the compound or a pharmaceutically acceptable salt of the compound, and can thus reduce the occurrence of adverse side effects.

Controlled- or sustained-release compositions can initially release an amount of the compound or a pharmaceutically acceptable salt of the compound of formula I that promptly produces the desired therapeutic or prophylactic effect; and gradually and continually release other amounts of the compound or a pharmaceutically acceptable salt of the compound to maintain this level of therapeutic or prophylactic effect over an extended period of time. To maintain a constant level of the compound or a pharmaceutically acceptable salt of the compound of formula I in the body, the compound or a pharmaceutically acceptable salt of the compound of formula I can be released from the dosage form at a rate that will replace the amount of the compound or a pharmaceutically acceptable salt of the compound being metabolized and excreted from the body. Controlled- or sustained-release of an active ingredient can be stimulated by various conditions, including but not

limited to, changes in pH, changes in temperature, concentration or availability of enzymes, concentration or availability of water, or other physiological conditions or compounds.

In certain embodiments, the present invention is directed to prodrugs of the compounds or
5 pharmaceutically acceptable salts of compounds of formula I. Various forms of prodrugs are known in the art, for example as discussed in Bundgaard (ed.), *Design of Prodrugs*, Elsevier 1985; Widder et al. (ed.), *Methods in Enzymology*, vol. 4, Academic Press 1985; Krogsgaard-Larsen et al. (ed.); "Design and Application of Prodrugs", *Textbook of Drug Design and Development*, 1991, Chapter 5, 113-191; Bundgaard et al., *Journal of Drug Delivery Reviews*, 1992, 8, 1-38;
10 Bundgaard et al., *J. Pharmaceutical Sciences*, 1988, 77, 285 et seq.; and Higuchi and Stella (eds.), *Prodrugs as Novel Drug Delivery Systems*, American Chemical Society (1975).

The amount of the compound or a pharmaceutically acceptable salt of the compound of formula I is an amount that is effective for treating a bacterial infection or disease. In addition, *in vitro* or *in*
15 *vivo* assays can optionally be employed to help identify optimal dosage ranges. The precise dose to be employed can also depend on the route of administration, the condition, the seriousness of the condition being treated, as well as various physical factors related to the individual being treated, and can be decided according to the judgment of a health-care practitioner. Equivalent dosages may be administered over various time periods including, but not limited to, about every 2
20 hours, about every 6 hours, about every 8 hours, about every 12 hours, about every 24 hours, about every 36 hours, about every 48 hours, about every 72 hours, about every week, about every two weeks, about every three weeks, about every month, and about every two months. The number and frequency of dosages corresponding to a completed course of therapy will be determined according to the judgment of a health-care practitioner. The effective dosage amounts
25 described herein refer to total amounts administered; that is, if more than one compound or a pharmaceutically acceptable salt of the compound is administered, the effective dosage amounts correspond to the total amount administered.

The amount of the compound or a pharmaceutically acceptable salt of the compound of formula I that is effective for treating a bacterial infection or disease will typically range from about 0.001
30 mg/kg to about 250 mg/kg of body weight per day, in one embodiment, from about 1 mg/kg to about 250 mg/kg body weight per day, in another embodiment, from about 1 mg/kg to about 50 mg/kg body weight per day, and in another embodiment, from about 1 mg/kg to about 20 mg/kg of body weight per day.

35 In one embodiment, the pharmaceutical composition is in unit dosage form, e.g., as a tablet, capsule, powder, solution, suspension, emulsion, granule, or suppository. In such form, the

composition is sub-divided in unit dose containing appropriate quantities of the active ingredient; the unit dosage form can be packaged compositions, for example, packeted powders, vials, ampoules, prefilled syringes or sachets containing liquids. The unit dosage form can be, for example, a capsule or tablet itself, or it can be the appropriate number of any such compositions
5 in package form. Such unit dosage form may contain from about 1 mg/kg to about 250 mg/kg, and may be given in a single dose or in two or more divided doses.

The compound or a pharmaceutically acceptable salt of the compound of formula I can be assayed *in vitro* or *in vivo* for the desired therapeutic or prophylactic activity prior to use in
10 humans. Animal model systems can be used to demonstrate safety and efficacy.

Therapeutic Uses

In one embodiment, the invention provides a method for treating a bacterial infection or disease comprising providing to a patient in need thereof an effective amount of cefepime or a
15 pharmaceutically acceptable salt thereof and a compound of formula I or pharmaceutically acceptable salt or *in vivo* hydrolysable ester thereof.

In one embodiment, the invention provides a method for treating a bacterial infection or disease comprising providing to a patient in need thereof an effective amount of a β -lactam antibiotic or a
20 pharmaceutically acceptable salt thereof and a compound of formula I or pharmaceutically acceptable salt or *in vivo* hydrolysable ester thereof.

In another embodiment, the method for treating a bacterial infection or disease comprises co-administering cefepime or a pharmaceutically acceptable salt thereof and the compound of
25 formula I or pharmaceutically acceptable salt or *in vivo* hydrolysable ester thereof. For example, the compound of formula I can be provided in conjunction with, prior, simultaneous, or subsequent to cefepime.

In another embodiment, the method for treating a bacterial infection or disease comprises co-administering a β -lactam antibiotic or a pharmaceutically acceptable salt thereof and the
30 compound of formula I or pharmaceutically acceptable salt or *in vivo* hydrolysable ester thereof. For example, the compound of formula I can be provided in conjunction with, prior, simultaneous, or subsequent to the β -lactam antibiotic.

In one embodiment, the ratio of cefepime or pharmaceutically salt thereof to the compound of formula I or pharmaceutically acceptable salt of *in vivo* hydrolysable ester thereof is from about 1:1
35 to about 100:1 (w/w).

In one embodiment, the ratio of β -lactam antibiotic or pharmaceutically acceptable salt thereof to the compound of formula I or pharmaceutically acceptable salt of *in vivo* hydrolysable ester thereof is from about 1:1 to about 100:1 (w/w).

5

In one embodiment, the ratio of cefepime or pharmaceutically acceptable salt thereof to the compound of formula I or pharmaceutically acceptable salt of *in vivo* hydrolysable ester thereof is from about 1:1 to about 80:1; 1:1 to about 70:1; 1:1 to about 60:1; from about 1:1 to about 50:1; 1:1 to about 40:1; from about 1:1 to about 30:1; from about 1:1 to about 20:1; from about 1:1 to about 15:1; 1:1 to about 14:1; 1:1 to about 13:1; from about 1:1 to about 12:1; from about 1:1 to about 11:1; from about 1:1 to about 10:1; from about 1:1 to about 9:1; from about 1:1 to about 8:1; from about 1:1 to about 7:1; from about 1:1 to about 6:1; from about 1:1 to about 5:1; from about 1:1 to about 4:1; from about 1:1 to about 3:1; or from about 1:1 to about 2:1 (w/w).

10

In one embodiment, the ratio of β -lactam antibiotic or pharmaceutically acceptable salt thereof to the compound of formula I or pharmaceutically acceptable salt of *in vivo* hydrolysable ester thereof is from about 1:1 to about 80:1; 1:1 to about 70:1; 1:1 to about 60:1; from about 1:1 to about 50:1; 1:1 to about 40:1; from about 1:1 to about 30:1; from about 1:1 to about 20:1; from about 1:1 to about 15:1; 1:1 to about 14:1; 1:1 to about 13:1; from about 1:1 to about 12:1; from about 1:1 to about 11:1; from about 1:1 to about 10:1; from about 1:1 to about 9:1; from about 1:1 to about 8:1; from about 1:1 to about 7:1; from about 1:1 to about 6:1; from about 1:1 to about 5:1; from about 1:1 to about 4:1; from about 1:1 to about 3:1; or from about 1:1 to about 2:1 (w/w).

15

20

In one embodiment, the ratio of the cefepime or pharmaceutically acceptable salt thereof to the compound of formula I or pharmaceutically acceptable salt or *in vivo* hydrolysable ester thereof is less than about 10:1 (w/w).

25

In one embodiment, the ratio of the β -lactam antibiotic or pharmaceutically acceptable salt thereof to the compound of formula I or pharmaceutically acceptable salt or *in vivo* hydrolysable ester thereof is less than about 10:1 (w/w).

30

In one embodiment, the methods comprise orally administering to a patient.

In another embodiment, the methods comprise intravenously administering to a patient.

35

In one embodiment, the methods of the present invention are useful for treating a bacterial infection or disease that is cefepime-resistant.

In one embodiment, the methods of the present invention are useful for treating a bacterial infection or disease that is β -lactam antibiotic-resistant.

- 5 In one embodiment, the methods of the present invention are useful for treating a bacterial infection or disease selected from a skin infection, a skin structure infection, an intra-abdominal infection, a diabetic foot infection, nosocomial pneumonia, hospital acquired pneumonia, or febrile neutropenia.
- 10 In one embodiment, the methods of the present invention are useful for treating a bacterial infection or disease caused by Enterobacteriaceae, non-Enterobacteriaceae gram negative rods, *Pseudomonas aeruginosa*, staphylococci, or streptococci.

Examples

15 Example 1: IC₅₀ Determination for the Penem Inhibitor

β -Lactamase inhibitory activity of the penem inhibitors was determined spectrophotometrically as described by Bush *et al.*, [Bush, K., Macalintal, C., Rasmussen, B. A., Lee, V. and Yang, Y., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1993, 37, 851]. Homogeneously purified class A β -lactamases TEM-1 from *E. coli* and Imi-1 from *Enterobacter cloacae*, class B enzyme CcrA from *Bacteroides fragilis* and class C enzyme AmpC from *Enterobacter cloacae* were employed in the assay. The enzyme concentrations for TEM-1, Imi-1, CcrA and AmpC were 4.3, 7.1, 1.2 and 2.1 nM, respectively. A wide range of inhibitor concentrations were prepared in 50 mM PO₄, pH 7.0 to include the possible IC₅₀ values. The substrate used to initiate the enzyme reaction was nitrocefin at 50 μ g/ml in the same buffer as the inhibitor. Initially the enzyme and inhibitor (20 μ l each) were preincubated for 10 minutes at 25°C prior to the addition of 160 μ l volume of nitrocefin. Initial rates of hydrolysis were monitored for 5 minutes at 495 nm using a Molecular Devices Spectra Max 250 with kinetic protocol of SoftMax Program. Readings from the Spectra Max 250 were exported and transferred to Microsoft Excel. The percent of inhibition of each inhibitor concentration was calculated based on the control enzyme activity. The inhibitor concentration that caused a 50% reduction in the enzymatic activity (IC₅₀) was determined graphically.

Table 1
β-Lactamase Inhibition Data

Compound	IC50 (nM)			
	Class A		Class B	Class C
	TEM-1	Imi	Ccr	AmpC
Compound 1	0.4	7.8	66	4.8
Compound 2	0.6	20	230	2.2

Example 2: Antimicrobial susceptibility testing.

5 The *in vitro* activities of the antibiotics were determined by the microbroth dilution method as recommended by the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). (NCCLS. 2000. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standards: M7-A5, vol. 19. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, PA). Mueller-Hinton II broth (MHBII)(BBL Cockeysville, MD), was used for the testing
10 procedure. Microtiter plates containing 50 μl per well of two-fold serial dilutions of Cefepime combined with a constant amount (4ug/ml) of a B-lactamase inhibitor (final concentration) were inoculated with 50 μl of Inoculum to yield the appropriate density (10⁵ CFU/ml) in 100 μl. The plates were incubated for 18 - 22 hours at 35°C in ambient air. The minimal inhibitory
15 concentration (MIC) for all isolates was defined as the lowest concentration of antimicrobial agent that completely inhibits the growth of the organism as detected by the unaided eye. The MIC data obtained by the above said procedure are listed in Table 2.

TABLE 2

Minimal Inhibitory Concentration (μg/ml) Data: Inc: 35°C for 18 hours

- Method: Broth Dilution
- Medium: MHBII
- Compound: Diluted in MHBII; 0.05ml / well
- Inoc.: Prompt Inoculation System; diluted 0.1 + 9.9; 0.05ml / well
- Inc.: 35°C for 18 hr

Organism (enzyme)	β-lactamase Class	Control Cefepime	Cefepime + 4 ug/ml Compound 1	Control Cefepime	Cefepime + 4 ug/ml Compound 2
1 E. coli ATCC 25922 (none)	none	0.03	0.03	0.08	0.06
2 E. coli GC 2804 (Imp)	none	0.03	<0.015	<0.015	<0.015

3 E. coli GC 2844 (none)	none	0.06	0.06	0.06	0.06
4 E. coli ATCC 35218 TEM-1	A	0.03	0.03	0.03	0.03
5 E. coli GC 2847 (TEM-1)	A	0.12	0.06	0.06	0.06
6 E. coli LSU 80-8 GC 6265 TEM-1	A	0.06	0.03	0.12	0.06
7 A. baumannii GC 7685 TEM-1	A	>16	16	>16	>16
8 E. coli GC 1684 (TEM-10)	A (ESBL)	>16	0.06	>16	0.06
9 E. coli GC 1995 (TEM-10)	A (ESBL)	8	0.06	16	0.03
10 E. coli GC 2009 (TEM-10)	A (ESBL)	>16	0.12	>16	0.25
11 E. coli GC 2300 (TEM-28)	A (ESBL)	16	0.25	16	0.25
12 E. coli GC 2400 (TEM-43)	A (ESBL)	>16	0.50	>16	0.50
13 E. coli GC 6368 (SHV-7)	A (ESBL)	1	0.03	2	0.06
14 E. coli GC 2017 (TEM-10 + pl 8.3; 8.1)	A (ESBL)	>16	0.12	>16	0.06
15 E. coli GC 2021 (TEM-10 + pl 8.3)	A (ESBL)	16	0.12	8	0.12
16 K. pn GC 1510 (TEM-10)	A (ESBL)	0.50	0.06	2	0.03
17 K. pn GC 1516 (TEM-28)	A (ESBL)	>16	0.25	>16	0.25
18 K. pn GC 1827 (TEM-3)	A (ESBL)	2	0.03	4	0.06
19 K. pn GC 1830 (SHV-2)	A (ESBL)	1	0.03	0.50	0.06
20 K. pn GC 1832 (SHV-4)	A (ESBL)	2	0.06	2	0.06
21 K. pn GC 6639 (SHV-13)	A (ESBL)	>16	0.25	>16	0.12
22 S. typhimurium GC 4197 CTX-M-5	A (ESBL)	>16	1	>16	0.25
23 E. coli GC 1499 (TEM-4 + TEM-1)	A, A (ESBL)	>16	0.50	>16	1
24 E. coli GC 1695 (TEM-1 + TEM-10)	A, A (ESBL)	>16	0.03	>16	0.03
25 E. coli GC 2015 (TEM-10 + SHV-1)	A, A (ESBL)	>16	0.25	>16	0.12
26 E. coli GC 2146 (TEM-1; SHV-7)	A, A (ESBL)	>16	0.12	>16	0.12
27 E. coli GC 5901 (TEM-1 and SHV-8)	A, A (ESBL)	>16	4	>16	2
28 E. coli GC 6260 (TEM-1 + SHV-5)	A, A (ESBL)	>16	0.03	>16	0.03
29 K. pn GC 1507 (TEM-9 + SHV-1)	A, A (ESBL)	8	0.12	8	0.06
30 K. pn GC 2006 (TEM-10 + SHV-1)	A, A (ESBL)	>16	0.12	8	0.25
31 K. pn GC 6657 (TEM-1 + SHV-27)	A, A (ESBL)	0.12	0.12	0.12	0.06
32 K. pn GC 6494 (TEM-1 + SHV-5)	A, A (ESBL)	4	0.12	2	0.12
33 K. pn GC 3057 (CAZ-R; P/T-R)	A, A (ESBL)	>16	0.12	>16	0.12
34 K. pn GC 1554 (TEM-1 + TEM-28 + SHV-1)	A, A (ESBL)	>16	0.25	8	0.12
35 K. pn GC 1963 (TEM-10 + SHV-1 + SHV-ESBL)	A, A (ESBL)	>16	0.12	>16	0.25
36 K. pn GC 6488 (TEM-1 + SHV-5 + SHV-7)	A, A (ESBL)	8	1	4	0.50
37 K. pn GC 6651 (TEM-1 + SHV-1 + SHV-5)	A, A (ESBL)	8	0.12	4	0.12
38 S. typhimurium GC 4198 SHV-1 CTX-M-5	A, A (ESBL)	>16	0.50	>16	0.50
39 E. coli GC 2253 (IRT-2)	A (IRT)	0.03	0.03	0.06	0.03
40 E. coli GC 2920 (IRT-2)	A (IRT)	0.06	0.06	0.06	0.06

41 E. coli GC 2906 (Imi-1)	A (Cb'ase)	0.50	0.08	0.12	0.06
42 K. oxytoca GC 7627 TEM-1 K1 KPC-2	A, A (Cb'ase)	>16	2	>16	2
43 K. pneumoniae GC 7635 SHV-1, KPC2	A, A (Cb'ase)	>16	8	>16	4
44 K. pneumoniae GC 7632 TEM-1 KPC-2, SHV-7, SHV-12	A, A (Cb'ase), A (ESBL)	>16	16	>16	>16
45 K. pneumoniae GC 7636 TEM-1 KPC-2 SHV-12	A, A (Cb'ase), A (ESBL)	>16	16	>16	>16
46 K. pneumoniae GC 7645 TEM-30 TEM-1 KPC-2 SHV-12	A, A (Cb'ase), A (ESBL), A(IRT)	>16	>16	>16	>16
47 E. coli GC 2805 (CcrA)	B	>16	>16	>16	>16
48 S. maltophilia GC 1712 (L1)	B	>16	16	>16	16
49 A. baumannii GC 7684 AmpC, AmpC	C	16	8	16	8
50 A. baumannii GC 7687 AmpC	C	16	16	16	16
51 O. freundii GC 4164 Inducible AmpC	C	1	0.06	1	0.12
52 C. freundii GC 4187 Stably derepressed AmpC	C	2	0.12	1	0.12
53 C. freundii PT 1499 Stably derepressed AmpC	C	4	0.03	2	0.12
54 E. aerogenes 1697-MP GC 7845 AmpC	C	0.25	0.06	0.25	0.03
55 E. cloacae GC 1475 (P99)	C	2	0.12	2	0.12
56 E. cloacae GC 1477 (AmpC)	C	4	0.25	2	0.25
57 E. cloacae GC 1712 AmpC-inducible	C	0.12	0.12	0.12	0.12
58 E. cloacae GC 1713 AmpC- constitutive	C	8	0.12	8	0.12
59 E. cloacae GC 4142 (AmpC)	C	>16	0.12	8	0.12
60 E. cloacae GC 6991 (AmpC)	C	0.50	0.50	1	0.50
61 E. cloacae PT 1494 Inducible AmpC	C	0.25	0.06	0.25	0.06
62 E. cloacae PT 197 Stably derepressed AmpC	C	1	0.50	1	1
63 E. cloacae PT 967 Inducible AmpC	C	0.12	0.06	0.12	0.12
64 E. coli GC 2894 (AmpC)	C	2	0.06	4	0.06
65 E. coli GC 2905 (P99)	C	2	0.06	1	0.06
66 E. coli GC 6539 CMY-2	C	2	0.08	2	0.06
67 K. pneumoniae GC 7820 Act 1	C	0.25	0.25	0.50	0.25
68 K. pneumoniae GC 7821 DHA 1	C	0.25	0.03	0.06	0.03
69 K. pneumoniae GC 7822 Act 1	C	>16	0.50	>16	0.50
70 K. pneumoniae GC 7823 Fox 5	C	0.50	0.12	1	0.12
71 K. pneumoniae GC 7824 Fox 5	C	2	0.12	2	0.25
72 S. marcescens GC 4132 (AmpC)	C	0.50	0.12	2	0.12
73 S. marcescens GC 4132 Stably derepressed AmpC	C	0.50	0.12	0.50	0.12

74 <i>S. marcescens</i> GC 4145 Inducible AmpC	C	1	0.12	0.50	0.25
75 <i>S. marcescens</i> GC 4150 Stably derepressed AmpC	C	2	0.25	1	0.25
76 <i>S. marcescens</i> PT 488 Stably derepressed AmpC	C	1	0.06	2	0.06
77 <i>S. marcescens</i> PT 6003 Stably derepressed AmpC	C	0.50	0.25	0.25	0.25
78 <i>S. marcescens</i> PT 696 Inducible AmpC	C	0.25	0.06	0.50	0.06
79 <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 AmpC- inducible	C	2	2	2	2
80 <i>P. aeruginosa</i> GC 1763 AmpC-Inducible	C	2	1	2	2
81 <i>P. aeruginosa</i> GC 1764 (AmpC)	C	8	1	8	1
82 <i>P. aeruginosa</i> GC 1764 AmpC-constitutive	C	8	0.50	16	1
83 <i>P. aeruginosa</i> GC 3153 Inducible AmpC	C	16	8	16	8
84 <i>P. aeruginosa</i> GC 4161 Stably derepressed AmpC	C	>16	16	>16	16
85 <i>P. aeruginosa</i> PT 8411 PTZ-R	C (presumed)	16	4	16	4
86 <i>P. aeruginosa</i> PT 8503 PTZ-R	C (presumed)	8	2	8	2
87 <i>P. aeruginosa</i> PT 9025 PTZ-R	C (presumed)	>16	16	>16	16
88 <i>P. aeruginosa</i> PT 9236 PTZ-R	C (presumed)	>16	16	>16	16
89 <i>P. aeruginosa</i> PT 9567 PTZ-R	C (presumed)	4	2	4	2
90 <i>A. baumannii</i> GC 7692 TEM-1, AmpC	A, C	>16	>16	>16	>16
91 <i>C. freundii</i> GC 4171 TEM- 1+InducibleAmpC	A, C	4	0.06	4	0.06
92 <i>E. coli</i> GC 2295 TEM- 1+AmpC	A, C	0.50	0.12	0.50	0.12
93 <i>K.pn</i> GC 3104 (MIR-1 + TEM-1)	A, C	0.50	0.50	1	0.50
94 <i>K.pn</i> GC 6655 (TEM-1 + ACT-1)	A, C	2	0.12	4	0.12
95 <i>E. aerogenes</i> GC 7036 TEM-24, Amp C inducible	A (ESBL), C	2	0.06	4	0.06
96 <i>E. aerogenes</i> GC 7039 TEM-4, Amp C Inducible	A (ESBL), C	16	0.03	>16	0.06
97 <i>E. cloacae</i> GC 7052 SHV- 5, Amp C Inducible	A (ESBL), C	16	1	16	1
98 <i>E. cloacae</i> GC 7065 TEM- 26, SHV-12 Amp C Inducible	A (ESBL), C	4	0.06	16	0.06
99 <i>M. morganii</i> GC 1617 TEM-10 + Inducible AmpC	A (ESBL), C	0.25	0.12	0.25	0.12
100 <i>E. coli</i> GC 2149 (ACT-1; TEM-1 + pl 5.6)	A, A (ESBL), C	8	0.50	16	0.50
101 <i>E. coli</i> GC 6197 (TEM-1 + SHV-7 + CMY-2)	A, A (ESBL), C	>16	4	>16	2
102 <i>K. pneumoniae</i> GC 2825 Act 1 + 3 additional	A, A (ESBL), C	2	0.12	2	0.12

* PTZ-R refers to piperacillin-tazobactam-resistant

103 K. pneumoniae GC 2826 Act 1 + 3 additional	A, A (ESBL), C	8	1	8	1
104 E. cloacae GC 7055 TEM-1, SHV-12 Amp C inducible	A, A (ESBL), C	0.50	0.06	0.50	0.06
105 K.pn GC 2391 (pl 5.4; 5.6; 7.6; 8.7 B-lactamases)	A, A (ESBL), C	16	0.50	4	0.50
106 S. marcescens GC 1781 (Sme-1+AmpC)	A (Cb'ase), C	0.25	0.12	0.06	0.06
107 E. coli GC 1480 OXA-1	D	4	0.08	2	0.06
108 E. coli GC 1807 OXA-7	D	0.12	<0.015	0.25	0.03
109 E. coli GC 2883 (OXA-10/PSE-2)	D	0.06	0.06	0.06	0.06
110 E. coli GC 4971 OXA-1,TEM-1	A, D	2	0.12	4	0.12
111 E. coli GAR 6649 TEM, OXA, CTX (By PCR only)	A, A (ESBL), D	>16	1	>16	1
112 E. coli GAR 5929 TEM, OXA, Act-1, CTX (By PCR only)	A, C, D	>16	0.06	>16	0.12
113 A. baumannii GC 6660 IMI-R	PBP ^{**}	>16	>16	>16	>16
114 A. baumannii GC 6661 IMI-R	PBP	>16	16	>16	16
115 A. baumannii GC 6662 IMI-R	PBP	>16	>16	>16	>16
116 A. baumannii PT 8321 PTZ-R	not determined	>16	>16	>16	>16
117 A. baumannii PT 9158 PTZ-R	not determined	>16	16	>16	16
118 A. baumannii PT 9444 PTZ-R	not determined	>16	16	>16	16

Example 3: *In Vivo* Antibacterial Protection

5 MATERIALS:

ANIMALS:

Female mice strain CD-1, approximately 18 - 22 grams, are received from, e.g., Charles River Laboratories and are quarantined 7 days prior to use. In addition, mice may be rendered neutropenic using cytoxan for particular studies.

10

INFECTIONS:

Clinical isolates that have been adapted to cause infection in mice, are used in the experiment, including infections with strains of *E. coli*, *K. pneumoniae*, *M. organii*, *E. cloacae*, *S. marcescens*, *C. freundii*, staphylococci, streptococci, *P. aeruginosa* and *N. gonorrhoeae*.

15

PREPARATION: Animals are housed five to a cage with free access to food and water, in accordance with NIH guidelines.

^{**} PBP refers to penicillin binding protein

38

EXPERIMENTAL PROTOCOL:

Mice are challenged by injecting 0.5 ml intraperitoneally or 0.05 ml intranasally of a predetermined bacterial inoculum suspended in broth, saline or hog gastric mucin (supplemented with dried bovine hemoglobin for *N. gonorrhoeae*). The bacterial inoculum is equivalent to 10 - 100 LD₅₀s of the specific infecting strain and will result in death of the non-treated control animals within 7 days: "Bacterial Virulence in Mice". Antibacterial doses (dose concentration prepared by two fold serial dilutions of the antibiotic) are dissolved or suspended in 0.2% aqueous agar or methocel, phosphate buffered saline or an adjuvant are administered orally, subcutaneously or intravenously in the following manner:

a) Orally or subcutaneously: Dose volume of 0.5 ml administered 1/2 hr after infection. A second dose may be administered 3 hr. after infection for treatment of infections with more virulent organisms.

b) Intravenously: Dose volume of 0.2 ml, administered 1/2hr. after infection. For the treatment of infections with more virulent organisms, more doses, up to 48 hr may be administered. (Intravenous dosing will not exceed 3 doses/24 hr period.)

c) Oral pretreatment : Under special circumstances, the pH of the stomach needs to be adjusted in order to increase the gastric stability of the antibiotic. For this purpose, 0.5 ml of phosphate buffered saline (pH7.8, 0.06M) (or specific approved adjuvant) is administered orally 1/2 hr after infection, followed 5 minutes later by 0.5ml of antibiotic (also orally) contained in phosphate buffered saline (pH7.8, 0.06M).

ANIMAL SPECIES

A detailed explanation as to the number of animals needed for the determination of in vivo efficacy follows:

A) Novel antibiotics are tested at 5 different dose levels with 5 mice per dose level at each of three routes of administration (oral, subcutaneous and intravenous). Initially the three routes of administration should be investigated so as to determine if the drug is orally absorbed and/or which is the most effective route. This would require 25 mice / route with 3 routes / antibiotic or 75 mice per novel compound tested. One to two novel antibiotics will be tested per experiment (75 - 150 mice)

B) The effectiveness of the new compound must be compared to that of a standard, or

antibiotic of known effectiveness. Known or previously tested antibiotics are tested at 5 dose levels with 5 mice per dose level by a single route of administration, for a total of 25 mice / antibiotic. Usually 3 - 6 antibiotics will be tested per experiment. (75 - 150 mice).

- 5 C) Untreated controls - In each of the above tests, untreated animals are infected with 3 different concentrations of bacterial inoculum with 10 mice per concentration (30 mice total in each and every test). These untreated controls are used to determine and maintain the infection level between 10 - 100 LD50s as required for test-to-test comparison and validity.

DETERMINATION OF PROTECTIVE EFFECTS OF ANTIBACTERIAL AGENTS:

- 10 The protective effects of the antibacterial agent(s) are measured by the survival of the infected untreated as compared to the treated animals. For this determination, animals are observed for 7 days after treatment. A census of survivors is taken twice daily and at that time dead as well as moribund animals are removed. The 7 day survival ratio from three separate tests are pooled for estimation of median effective dose (ED50) by computerized program for probit analysis
- 15 (Cleeland, R. and E. Squires. 1991. Evaluation of New Antimicrobials In Vitro and in Experimental Animal Infections. In *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 3rd. ed., edited by Victor Lorian. Williams and Wilkins Baltimore, Maryland. pp. 752 - 783). The test is performed three times on separate days to provide a statistically valid number of animals and to minimize variation in test results on a day-to-day and test-to-test basis.

20

Example 4: Synthesis of (5R), (6Z)-6-(6,7-Dihydro-5H-pyrrolo[1,2-a]imidazol-2-ylmethylene)-7-oxo-4-thia-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylic acid, sodium salt (Compound 1)

Step 1: 6,7-Dihydro-5H-pyrrolo[1,2-a]imidazole-2-carbaldehyde:

- 25 28% Sodium methoxide (5.26g) was added to an EtOH (250 mL) solution of 4,5-dihydro-3H-pyrrol-2-ylamine hydrochloride (3.27g) at room temperature. After stirring for 5 min at room temperature, 2-bromo-3-propoxy-propenal (5.79g) was added to the mixture at room temperature, then the reaction mixture was stirred for 1 h at room temperature. The reaction mixture was taken to dryness *in vacuo*, and the residue was dissolved in CHCl_3 (300 mL) and triethylamine (3.8 mL)
- 30 was added. The mixture was heated to reflux for 3 hours. The reaction mixture was cooled to room temperature, washed with 50% K_2CO_3 , dried over anhydrous K_2CO_3 , filtered, and evaporated under reduced pressure. The residue was purified with silica gel column chromatography, eluted with CHCl_3 :acetone (2:1), and 6,7-Dihydro-5H-pyrrolo[1,2-a]imidazole-2-carbaldehyde (41%, 1.51g) was obtained as a pale yellow solid.
- 35 ^1H NMR (d, CDCl_3): δ 2.62-2.7 (m, 2H), 2.90-2.94 (m, 2H), 4.07 (t, 2H, $J = 7.2$ Hz), 7.59 (s, 1H), 9.80 (s, 1H).

Step 2: (5*R*),(6*Z*)-6-(6,7-Dihydro-5*H*-pyrrolo[1,2-*a*]imidazol-2-ylmethylene)-7-oxo-4-thia-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylic acid, sodium salt:

6,7-Dihydro-5*H*-pyrrolo[1,2-*a*]imidazole-2-carbaldehyde (1.36 g) was added to a dry acetonitrile (155 mL) solution of anhydrous MgBr₂ (5.64 g) under an argon atmosphere at room temperature. A dry THF solution (155 mL) of (5*R*, 6*S*)-6-bromo-7-oxo-4-thia-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylic acid 4-nitro-benzyl ester (3.86 g) was added to the mixture, cooled to -20 °C, and Et₃N (4.18 mL) was added in one portion. The reaction vessel was covered with foil to exclude light. The reaction mixture was stirred for 6 h at -20 °C and treated with acetic anhydride (1.89 mL) and DMAP (370 mg) in one portion. The reaction mixture was warmed to 0 °C and stirred for 14.5 h at 0 °C. The mixture was diluted with ethyl acetate and washed with 1 *M* citric acid aqueous solution, saturated sodium hydrogen carbonate, and brine. The organic layer was dried (MgSO₄) and filtered. The pad was washed with ethyl acetate, and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in THF (166 mL) and acetonitrile (77 mL). Freshly activated Zn dust (23.2 g) was added rapidly with 0.5 *M* phosphate buffer (pH 6.5, 243 mL). The reaction vessel was covered with foil to exclude light. The reaction mixture was vigorously stirred for 2 h at room temperature, then filtered, cooled to 3 °C, and 1 *M* NaOH was added to adjust pH to 8. The filtrate was washed with ethyl acetate and the aqueous layer was separated. 1 *M* NaOH was added to the aqueous layer again to adjust pH to 8. The resultant mixture was concentrated under high vacuum at 35 °C. The concentrate was applied to Diaion HP-21 (20 mL, Mitsubishi Kasei Co. Ltd.) resin column chromatography. After adsorbing, the column was eluted with H₂O:MeCN (1:0 ~ 9:1) to give the purified active fractions of (5*R*),(6*Z*)-6-(6,7-Dihydro-5*H*-pyrrolo[1,2-*a*]imidazol-2-ylmethylene)-7-oxo-4-thia-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylic acid, sodium salt. The combined fractions were concentrated under high vacuum at 35 °C and lyophilized to give the title compound as a yellow amorphous solid (681 mg, 24%, pH 7.8). mp 190 °C (dec); ¹H NMR(d, D₂O): δ: 2.48-2.56 (m, 2H), 2.74-2.79 (m, 2H), 3.94-3.99 (m, 2H), 6.47 (d, 1H, *J* = 0.7 Hz), 6.94 (s, 1H), 6.95 (s, 1H), 7.36 (s, 1H); (M+H) 291.

Example 5: Preparation of (5*R*),(6*Z*)-6-(5,6-Dihydro-8*H*-imidazo[2,1-*c*][1,4]oxazin-2-ylmethylene)-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylic acid, sodium salt (Compound 2)

Step 1: Morpholin-3-one

Morpholin-3-one was prepared in the method of USP 5,349,045.

Step 2: Morpholin-3-thione

A mixture of morpholin-3-one (4.7 g) and Lawesson's reagent (10.3 g) in dry THF (94 mL) was

71

heated to reflux for 1.5 h. The reaction mixture was cooled to room temperature and the reaction solvent was removed *in vacuo*. The residue was applied to silica gel column chromatography and eluted with CHCl₃:methanol (50:1) to obtain a yellow solid. Recrystallization of the crude product from hexane:ethyl acetate gave the title compound (4.0 g, 72.2%) as a yellow powder.

5 ¹H NMR (CDCl₃) δ 3.45 (t, 2H, *J* = 5.1 Hz), 3.91 (t, 2H, *J* = 5.1 Hz), 4.55 (s, 2H).

Step 3: 5-Methylthio-3,6-dihydro-2H-[1,4]oxazine

A mixture of morpholin-3-thione (4.7 g) and methyl iodide (13 mL) in dry CH₂Cl₂ (140 mL) was stirred at room temperature for 15 h. The reaction mixture was filtered and the solid was washed
10 with CH₂Cl₂. The solid was dissolved with 50% K₂CO₃ aqueous solution (150 mL) and the aqueous layer was extracted with CH₂Cl₂ (8 x 100 mL). The combined CH₂Cl₂ layer was dried (MgSO₄) and filtered. The filtrate was concentrated under reduce pressure to provide the title compound as a pale yellow oil (3.6 g, 67.8%).

¹H NMR (CDCl₃) δ 2.32 (s, 3H), 3.71-3.74 (m, 4H), 4.14-4.15 (m, 2H).

15

Step 4: 3-Iminomorpholin hydrochloride

A mixture of 5-methylthio-3,6-dihydro-2H-[1,4]oxazine (3.6 g) and ammonium chloride (1.5 g) in dry ethanol (136 mL) was heated to reflux for 1 h. The reaction mixture was cooled to room temperature. The reaction solvent was removed *in vacuo* and the title was obtained as a pale
20 brown solid (3.6 g, 97.7%).

¹H NMR (DMSO-d₆) δ 3.34 (m, 2H), 3.86 (t, 2H, *J* = 5.2 Hz), 4.47 (s, 2H).

Step 5: 5,6-Dihydro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazine-2-carbaldehyde and 5,6-dihydro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazine-3-carbaldehyde

A mixture of 2-bromo-3-hydroxypropenal (4.1 g), *p*-toluenesulfonic acid monohydrate (52 mg) and 2-propanol (5.2 mL) in cyclohexane (42 mL) was azeotroped until the vapor temperature rose to 80°C. The reaction mixture was concentrated under reduce pressure. The residue was dissolved in dry ethanol (50 mL). A mixture of the dry ethanol (200 mL) solution of 3-Iminomorpholin hydrochloride (3.4 g) and 28% methanol solution of sodium methylate (4.8 g) was added at room
30 temperature. The reaction mixture was stirred at room temperature for 2 h, and then the reaction solvent was removed *in vacuo*. The residue was dissolved in chloroform (125 mL) triethylamine (3.5 mL) was added, then the reaction mixture was heated to reflux for 2 h. The reaction mixture was cooled to room temperature and then concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in dichloromethane (300 mL) and washed with 50% K₂CO₃ aqueous solution (2 x
35 100 mL). The organic layer was dried (MgSO₄) and filtered. The filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was applied to silica gel column chromatography and eluted with CHCl₃:acetone (4:1) to obtain the title compound (pale orange solid, 1.4 g, 36.3%) and the other

42

regioisomer. (pale orange solid, 609 mg, 16.1%).

Desired product: ^1H NMR (CDCl_3) δ 4.08-4.15 (m, 4H), 4.88 (s, 2H), 7.58 (s, 1H), 9.85 (s, 1H).

The unwanted regioisomer: ^1H NMR (CDCl_3) δ 4.06 (t, 2H, $J = 5.2$ Hz), 4.40 (t, 2H, $J = 5.2$ Hz), 4.90 (s, 2H), 7.75 (s, 1H), 9.72 (s, 1H).

5

Step 6: (5*R*),(6*Z*)-6-(5,6-Dihydro-8*H*-imidazo[2,1-*c*][1,4]oxazin-2-ylmethylene)-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylic acid, sodium salt

A dry acetonitrile (66 mL) solution of 5,6-dihydro-8*H*-imidazo[2,1-*c*][1,4]oxazine-2-carbaldehyde (1.2 g) was added to a dry acetonitrile (66 mL) solution of MgBr_2 (3.6 g) under a nitrogen

10 atmosphere at room temperature then the mixture was stirred for 10 min. A dry THF (132 mL) solution of *p*-nitrobenzyl (5*R*, 6*S*)-6-bromopenem-3-carboxylate (3.4 g) was added and the mixture was cooled to -20°C , then triethylamine (2.8 mL) was added in one portion. The reaction vessel was covered with foil to exclude light. The reaction mixture was stirred for 4 h at -20°C and treated with 4-dimethylamino pyridine (100 mg) and acetic anhydride (1.5 mL) in one portion. The reaction mixture was warmed to 0°C and stirred for 18 h at 0°C . 10% Citric acid aqueous solution (1 L) was added to the reaction mixture and the aqueous layer was extracted with ethyl acetate (3 x 500 mL). The combined organic layer was washed with water, saturated sodium hydrogen carbonate and brine, dried (MgSO_4) and filtered. The filtrate was concentrated under reduced pressure and crude (5*R*)-6-[acetoxo-(5,6-dihydro-8*H*-imidazo[2,1-*c*][1,4]oxazin-2-yl)methyl]-6-bromo-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylic acid *p*-nitrobenzyl ester was obtained as brown amorphous solid.

Freshly activated Zn dust (14 g) was added rapidly with 0.5 mol/L phosphate buffer (pH 6.5, 72 mL) to the THF (72 mL) solution of (5*R*)-6-[acetoxo-(5,6-dihydro-8*H*-imidazo[2,1-*c*][1,4]oxazin-2-yl)methyl]-6-bromo-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylic acid *p*-nitrobenzyl ester. The reaction vessel was covered with foil to exclude light. The reaction mixture was vigorously stirred for 2.5 h at room temperature. The reaction solution was filtered through a pad of Celite and the pad was washed with water (170 mL) and *n*-butanol (170 mL). The aqueous layer was separated and then the organic layer was extracted with 0.5 mol/L phosphate buffer (pH 6.5, 2 x 50 mL). The combined aqueous layer was concentrated to 90 g, 1 mol/L NaOH was added to adjust pH to 7.5 and applied to Diaion HP-21 resin (120 mL, Mitsubishi Kasei Co. Ltd.) column chromatography. After adsorbing, the column was eluted with water and then 5% acetonitrile aqueous solution. The combined active fractions was concentrated under high vacuum at 35°C and lyophilized to give the title as a yellow amorphous solid (756 mg, 29.1%).

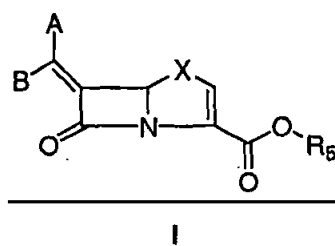
35 Mp 130°C (dec); ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 3.98-4.01 (m, 2H), 4.04-4.07 (m, 2H), 4.74 (AB, 2H, $J = 15.3, 22.9$ Hz), 6.40 (d, 1H, $J = 0.8$ Hz), 6.55 (s, 1H), 6.95 (d, 1H, $J = 0.6$ Hz), 7.54 (s, 1H); IR (KBr) 3412, 1741, 1672, 1592, 1549 cm^{-1} ; λ^{max} (H_2O) 304 nm.

While particular embodiments of the present invention have been illustrated and described, it would be obvious to those skilled in the art that various other changes and modifications can be made without departing from the spirit and scope of the invention. It is therefore intended to cover
5 in the appended claims all such changes and modifications that are within the scope of this invention.

CLAIMS

What is claimed is:

1. A method for treating a bacterial infection or disease comprising administering to a patient in need thereof an effective amount of cefepime or a pharmaceutically acceptable salt thereof and compound of formula I



or a pharmaceutically acceptable salt or *in vivo* hydrolysable ester thereof,

wherein:

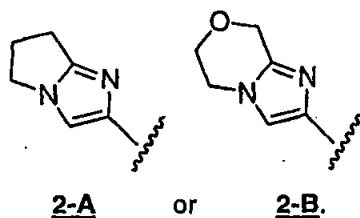
one of A and B denotes hydrogen and the other of A and B denotes an optionally substituted fused bicyclic heteroaryl group;

X is S or O;

R₅ is hydrogen, C₁–C₆ alkyl, C₅–C₆ cycloalkyl, or CHR₃OCOC₁–C₆alkyl; and

R₃ is hydrogen, C₁–C₆ alkyl, C₅–C₆ cycloalkyl, optionally substituted aryl, or optionally substituted heteroaryl.

2. The method of claim 1, wherein the bicyclic heteroaryl group has the formula 2-A or 2-B:



3. The method of claim 1, wherein the compound of formula I is (5*R*), (6*Z*)-6-(6,7-Dihydro-5*H*-pyrrolo[1,2-*a*]imidazol-2-ylmethylene)-7-oxo-4-thia-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylic acid, sodium salt; or (5*R*), (6*Z*)-6-(5,6-Dihydro-8*H*-imidazo[2,1-*c*][1,4]oxazin-2-ylmethylene)-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylic acid, sodium salt.

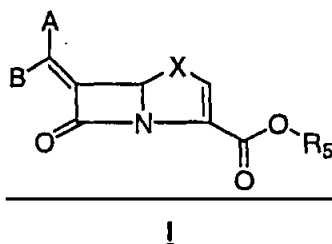
4. The method of any one of claims 1 to 3, comprising co-administering cefepime or a pharmaceutically acceptable salt thereof and the compound of formula I or pharmaceutically acceptable salt or *in vivo* hydrolysable ester thereof.

5. The method of any one of claims 1 to 4, wherein the ratio of cefepime or a pharmaceutically

95

acceptable salt thereof to the compound of formula I or pharmaceutically acceptable salt or *in vivo* hydrolysable ester thereof is from about 1:1 w/w to about 100:1 w/w.

6. The method of any one of claims 1 to 5, wherein the ratio of cefepime or a pharmaceutically acceptable salt thereof to the compound of formula I or pharmaceutically acceptable salt or *in vivo* hydrolysable ester thereof is less than about 10:1 w/w.
7. The method of any one of claims 1 to 6, comprising orally administering to a patient.
8. The method of any one of claims 1 to 6, comprising intravenously administering to a patient.
9. A composition comprising a pharmaceutically acceptable carrier, cefepime or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and a compound of formula I.

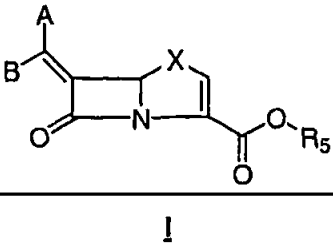


10. The composition of claim 9, wherein the bicyclic heteroaryl group has the formula 2-A or 2-B, as defined above for claim 2.
11. The composition of claim 9, wherein the compound of formula I is (5*R*), (6*Z*)-6-(6,7-Dihydro-5*H*-pyrrolo[1,2-*a*]imidazol-2-ylmethylene)-7-oxo-4-thia-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylic acid, sodium salt; or (5*R*), (6*Z*)-6-(5,6-Dihydro-8*H*-imidazo[2,1-*c*][1,4]oxazin-2-ylmethylene)-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylic acid, sodium salt.
12. The composition of any one of claims 9 to 11, wherein the ratio of cefepime or a pharmaceutically acceptable salt thereof to the compound of formula I or pharmaceutically acceptable salt or *in vivo* hydrolysable ester thereof is from about 1:1 to about 100:1 w/w.
13. The composition of any one of claims 9 to 12, wherein the ratio of cefepime or a pharmaceutically acceptable salt thereof to the compound of formula I or pharmaceutically acceptable salt or *in vivo* hydrolysable ester thereof is from about 1:1 to about 100:1 w/w.

acceptable salt or *in vivo* hydrolysable ester thereof is less than about 10:1 w/w.

14. A package comprising a pharmaceutically acceptable carrier, cefepime or a pharmaceutically acceptable salt thereof, a compound of formula I:

5

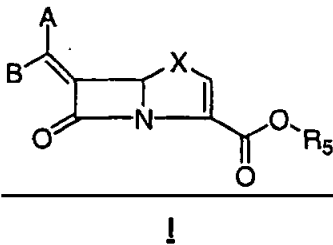


or a pharmaceutically acceptable salt or *in vivo* hydrolysable ester thereof,
wherein:

10 one of A and B denotes hydrogen and the other of A and B denotes an optionally substituted fused bicyclic heteroaryl group; and
X, R₅, and R₃ are as defined above for claim 1;
and instructions, wherein the instructions comprise instructions for treating a bacterial infection or disease.

15

15. A product comprising cefepime or a pharmaceutically acceptable salt thereof and a compound of formula I:



20

or a pharmaceutically acceptable salt or *in vivo* hydrolysable ester thereof,
wherein:

one of A and B denotes hydrogen and the other of A and B denotes an optionally substituted fused bicyclic heteroaryl group; and X, R₅, and R₃ are as defined above for claim 1; as a combined
25 preparation for separate, simultaneous or sequential administration for treating a bacterial infection or disease.

25

16. Use of cefepime or a pharmaceutically acceptable salt thereof and a compound of formula I:

30

INHIBIDORES DE 6-ALQUILIDENO-PENEME B-LACTAMASA BICÍCLICOS Y

COMBINACIÓN ANTIBIÓTICA DE β -LACTAMA: UN ANTIBIÓTICO DE

AMPLIO ESPECTRO

5 A través de esta Solicitud, se hace referencia a varias publicaciones. La descripción de estas publicaciones en su totalidad como referencia con el fin de describir más completamente el estado de la técnica como se conoce por aquellos expertos hasta la fecha de la invención descrita y
10 reivindicada aquí.

Esta descripción de Patente contiene material que está sujeto a protección de derechos de autor. El propietario de los derechos de autor no tiene objeción para la reproducción por
15 facsímile por uno cualquiera de los documentos de patente o la descripción de patente, como esta aparece en los registros o archivos de patente de la oficina de Marcas y Patentes de los Estados Unidos, pero se reserva de otra parte todos y cualquiera de los derechos de autor.

20

CAMPO DE LA INVENCION

Esta invención se relaciona con ciertos penemes 6-alquilideno bicíclicos que actúan como inhibidores de β -lactamasa de
25 amplio espectro, cuando se combinan con un antibiótico β -lactama, que incluye un antibiótico cefalosporin de "cuarta generación" tal como cefepime, un antibiótico de penicilina, o un antibiótico carbapeneme. Los antibióticos β -Lactama hidrolizan β -lactamasas, y como tal sirven como el causante

principal de la resistencia bacteriana. Los compuestos de la presente invención cuando se combinan con un antibiótico β -lactama tal como cefepime proporcionan un tratamiento efectivo contra infecciones bacterianas letales.

5

ANTECEDENTE DE LA INVENCION

Las penicilinas y cefalosporinas son los antibióticos β -lactama más frecuentemente y ampliamente utilizados en el
10 campo clínico. Sin embargo, el desarrollo de resistencia a los antibióticos β -lactama por diferentes patógenos ha tenido un efecto dañino en mantener el tratamiento efectivo de infecciones bacterianas. (Coleman, K. *Expert Opin. Invest. Drugs* **1995**, 4, 693; Sutherland, R. *Infection* **1995**, 23 (4)
15 191; Bush, K, *Cur. Pharm. Design* **1999**, 5, 839-845). El mecanismo conocido más significativo relacionado con el desarrollo de la resistencia bacteriana a los antibióticos β -lactama es la producción de β -lactamasas Clase-A, Clase- B y Clase-C. Estas enzimas degradan a los antibióticos β -lactama,
20 resultando en la pérdida de actividad bacteriana. Las penicilinas hidrolizan preferencialmente enzimas clase-A mientras que las lactamasas clase-C tienen un perfil de sustrato que favorece la hidrólisis de la cefalosporina. (Bush, K.; Jacoby, G. A.; Medeiros, A.A. *Antimicrob. Agents*
25 *Chemother.* **1995**, 39, 1211). Hasta la fecha se han reportado más de 250 β -lactamasas diferentes (Payne, D.J.; Du, W and Bateson, J. H. *Exp. Opin. Invest. Drugs* **2000**, 247) y subsiste la necesidad para una nueva generación de inhibidores de β -lactamasa de amplio espectro. La resistencia bacteriana a

estos antibióticos se puede reducir grandemente al administrar el antibiótico β -lactama en combinación con un compuesto que inhibe estas enzimas.

- 5 El Cefepime es un antibiótico cefalosporina a parenteral aminotiazolilacetamido parenteral. (Sanders, C. C. **1993**. Cefepime: the next generation? Clin. Infect. Dis. 17:369-379). Aunque el cefepime ha mostrado tener buena actividad contra muchos patógenos que originan neumonía nosocomial y
- 10 otras infecciones serias, no es activo contra *Enterococcus faecalis*, *Clostridium difficile* y *S. aureus* resistente a la meticilina. (Jones, R. N. 2001. Resistance patterns among nosocomial pathogens: trends over the past few years. Chest 119:397S-404S; Okamoto, M. P., R. K. Nakahiro, A. Chin, A.
- 15 Bedikian, and M. V. Gill. 1994. Cefepime: a new fourth-generation cephalosporin. Am. J. Hosp. Pharm. **41**:463-477.) El Cefepime también se hidroliza por beta-lactamasas de espectro extendido (ESBL) producido por algunos miembros del *Enterobacteriaceae*.

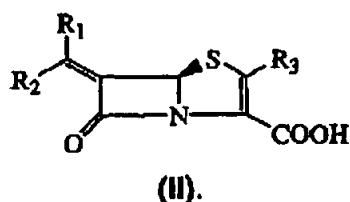
20

- Los inhibidores β -lactamasa disponibles comercialmente tal como ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam todos son efectivos contra patógenos que producen Clase-A. El ácido Clavulánico se utiliza clínicamente en combinación con
- 25 amoxicilina y ticarcilina; de manera similar el sulbactam con ampicilina y tazobactam con piperacilina. Sin embargo, estos compuestos no son efectivos contra organismos que producen clase C. El mecanismo de inactivación de β -lactamasas (tal como PCI y TEM-1) se han elucidado. (Bush, K.; *Antimicrob.*

Agents Chemother. **1993**, 37, 851; Yang, Y.; Janota, K.; Tabei, K.; Huang, N.; Seigal, M.M.; Lin, Y.I.; Rasmussen, B.A. and Shlaes, D.M. *J. Biol. Chem.* 2000, 35, 26674-26682).

5 Recientemente se ha mostrado que los derivados de 6-metilideno de la Fórmula general (II) son inhibidores efectivos β -lactamasa de amplio espectro cuando se combinan con antibióticos β -lactama. WO 03/093280 A1, WO 03/093279 A1, WO 03/093277 A1, y US 2004 132708 A1.

10



15

Sin embargo, subsiste la necesidad para tratamientos efectivos contra infecciones bacterianas letales. La presente invención se dirige a estos y otros fines importantes.

20

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención se relaciona con compuestos β -lactama de alto espectro de bajo peso molecular y en particular a una clase de penemes 6-alquilideno sustituidos heteroarilo
25 bicíclicos que tienen propiedades inhibidoras de β -lactamasa cuando se combinan con un antibiótico β -lactama, que incluye un antibiótico cefalosporina de "cuarta generación" tal como cefepime, un antibiótico de penicilina, o un antibiótico carbapeneme.

En una modalidad, la presente invención se relaciona con un método para tratar una enfermedad o infección bacteriana que comprende suministrar a un paciente en necesidad de este una cantidad efectiva de cefepime o una sal farmacéuticamente aceptable de este y un compuesto de la Fórmula general I, como se definió aquí, o sales farmacéuticamente aceptables o *in vivo* ésteres hidrolizables de este. En una modalidad, el compuesto de la fórmula general I es ácido (5*R*), (6*Z*)-6-(6,7-dihidro-5H-pirrolo[1,2-a]imidazol-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico, sal de sodio; o ácido (5*R*), (6*Z*)-6-(5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico, sal de sodio.

15

En una modalidad, la presente invención se relaciona con una composición que comprende un portador farmacéuticamente aceptable; cefepime o una sal farmacéuticamente aceptable de este; y un compuesto de la Fórmula general I, como se definió aquí o sales farmacéuticamente aceptables o *in vivo* ésteres hidrolizables de este. En una modalidad, el compuesto de la fórmula general I es ácido (5*R*), (6*Z*)-6-(6,7-dihidro-5H-pirrolo[1,2-a]imidazol-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico, sal de sodio; o ácido (5*R*), (6*Z*)-6-(5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico, sal de sodio.

25

En una modalidad, la presente invención se relaciona con uso de una composición que comprende cefepime o una sal farmacéuticamente aceptable de este; y un compuesto de la Fórmula general I, como se definió aquí o sales
5 farmacéuticamente aceptables o *in vivo* ésteres hidrolizables de este, para la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad o infección bacteriana

En una modalidad, la presente invención se relaciona con
10 compuestos de la fórmula general I, como se definió aquí, o sales farmacéuticamente aceptables o *in vivo* ésteres hidrolizables de estos, cuando se combinan con cefepime, que son útiles en el tratamiento de infecciones bacterianas en un paciente.

15

En una modalidad, la presente invención se relaciona con compuestos de la fórmula general I, como se definió aquí, o sales farmacéuticamente aceptables o *in vivo* ésteres hidrolizables de estos, cuando se combinan con un antibiótico
20 β -lactama, que incluye un antibiótico cefalosporina, un antibiótico de penicilina, o un antibiótico carbapenem, que son útiles en el tratamiento de infecciones bacterianas en un paciente.

25 En una modalidad, la presente invención se relaciona con un empaque que comprende un portador farmacéuticamente aceptable, cefepime o una sal farmacéuticamente aceptable de este, un compuesto de fórmula I, como se definió aquí, o una sal farmacéuticamente aceptable o éster hidrolizable *in vivo*

de este; e instrucciones, en donde las instrucciones comprenden instrucciones para tratar una enfermedad o infección bacteriana.

- 5 En una modalidad, la presente invención se relaciona con un producto que comprende cefepime o una sal farmacéuticamente aceptable de este y un compuesto de fórmula I, como se definió aquí, o una sal farmacéuticamente aceptable o éster hidrolizable *in vivo* de este, como una preparación combinada
- 10 para separación, administración secuencial o continua para tratar una enfermedad o infección bacteriana.

- En una modalidad, la presente invención se relaciona con uso de cefepime o una sal farmacéuticamente aceptable de este y
- 15 un compuesto de fórmula I, como se definió aquí, o una sal farmacéuticamente aceptable o éster hidrolizable *in vivo* de este, en la preparación de un medicamento para tratar una enfermedad o infección bacteriana.

- 20 En otra modalidad, la presente invención de un compuesto de fórmula I y un antibiótico de β -lactama se combina adicionalmente con otros compuestos, que incluyen pero no se limitan a, un inhibidor de deshidropeptidasa (DHP), por ejemplo, cilastatin, que es útil en el tratamiento de
- 25 infecciones bacterianas en un paciente.

Definiciones Químicas

Como se utiliza aquí, R_1 es H, alquilo C_1-C_6 opcionalmente
 sustituido, arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo
 opcionalmente sustituido o heterociclos mono o bicíclicos
 saturados, cicloalquilo C_3-C_7 opcionalmente sustituido,
 5 alqueno C_1-C_6 opcionalmente sustituido, alquino C_1-C_6
 opcionalmente sustituido con la condición que el doble enlace
 y el triple enlace no estarían presentes en el átomo de
 carbono que se liga directamente a N; perfluoroalquilo C_1-C_6
 opcionalmente sustituido, alquilo opcionalmente sustituido
 10 con $-S(O)_p$ o arilo en donde p es 2, $C=O$ heteroarilo
 opcionalmente sustituido, $C=O$ arilo opcionalmente sustituido,
 $C=O$ alquilo (C_1-C_6) opcionalmente sustituido, $C=O$ cicloalquilo
 (C_3-C_6) opcionalmente sustituido, $-C=O$ heterociclos mono o
 bicíclicos saturados opcionalmente sustituidos, arilalquilo
 15 C_1-C_6 opcionalmente sustituido, heteroarilalquilo C_1-C_6
 opcionalmente sustituido, aril-alquilo C_1-C_6 opcionalmente
 sustituido, heteroaril-alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido,
 heterociclos mono o bicíclicos saturados alquilo C_1-C_6
 opcionalmente sustituido, arilalqueno de 8 a 16 átomos de
 20 carbono opcionalmente sustituido, $-CONR_6R_7$, $-SO_2NR_6R_7$,
 arilalquiloxialquilo opcionalmente sustituido, $-alquil-O-$
 $alquil-arilo$ opcionalmente sustituido, $-alquil-O-alquil-$
 heteroarilo opcionalmente sustituido, ariloxialquilo
 opcionalmente sustituido, heteroariloxialquilo opcionalmente
 25 sustituido, ariloxiarilo opcionalmente sustituido,
 ariloxiheteroarilo opcionalmente sustituido, ariloxiaril
 alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, ariloxiheteroarilo
 alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, alquilaminas ariloxi
 alquilo opcionalmente sustituidas, carbonil alcoxi

opcionalmente sustituido, carbonil ariloxi opcionalmente sustituido, carbonil heteroariloxi opcionalmente sustituido. En una modalidad, R_1 es H, alquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, $-C=O$ alquilo (C_1-C_6), alquenilo
 5 C_3-C_6 , alquinilo C_3-C_6 , cicloalquilo opcionalmente sustituido, SO_2 alquilo, SO_2 arilo, heterociclos opcionalmente sustituidos, $-CONR_6R_7$, y heteroarilo opcionalmente sustituido.

R_2 es hidrógeno, alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido,
 10 alquenilo C_3-C_6 opcionalmente sustituido que tienen 1 a 2 enlaces dobles, alquinilo C_3-C_6 opcionalmente sustituido que tienen 1 a 2 enlaces triples, halógeno, ciano, $N-R_6R_7$, alcoxi C_1-C_6 opcionalmente sustituido, hidroxil; arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, $COOR_6$,
 15 alquilaminas ariloxi alquilo opcionalmente sustituidas, ariloxi opcionalmente sustituido, heteroariloxi opcionalmente sustituido, alqueniloxi C_1-C_6 opcionalmente sustituido, alquiniloxi C_1-C_6 opcionalmente sustituido, alquilamino C_1-C_6 -alcoxi C_1-C_6 , dioxi alquilenos, ariloxi opcionalmente
 20 sustituido-alquil amina C_1-C_6 , perfluoro alquilo C_1-C_6 , alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido con $S(O)_q$, arilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido con $S(O)_q$ en donde q es 0, 1 o 2, $CONR_6R_7$, guanidino o guanidino cíclico, alquilarilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, arilalquilo opcionalmente
 25 sustituido, alquilheteroarilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, heteroaril-alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, heterociclos mono o bicíclicos saturados alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, arilalquenilo de 8 a 16 átomos de carbono opcionalmente sustituido, $SO_2NR_6R_7$,

arilalquioxialquilo opcionalmente sustituido, ariloxialquilo
 opcionalmente sustituido, heteroariloxialquilo opcionalmente
 sustituido, ariloxiarilo opcionalmente sustituido,
 ariloxiheteroarilo opcionalmente sustituido,
 5 heteroariloxiarilo sustituido, ariloxiarilo alquilo C_1-C_6
 opcionalmente sustituido, alquilariloxiheteroarilo C_1-C_6
 opcionalmente sustituido, ariloxialquilo opcionalmente
 sustituido, heteroariloxialquilo opcionalmente sustituido,
 alquilariloxialquilaminas C_1-C_6 opcionalmente sustituidas. En
 10 una modalidad, R_2 es H, alquilo opcionalmente sustituido,
 alcoxi opcionalmente sustituidas, heteroarilo opcionalmente
 sustituido, halógeno, CN, hidroxí, heterociclo opcionalmente
 sustituido, $-CONR_6R_7$, $COOR_6$, arilo opcionalmente sustituido,
 $S(O)_q$ -alquilo, y $S(O)_q$ -arilo.

15

R_3 es hidrógeno, alquilo C_1-C_6 , cicloalquilo C_5-C_6 , arilo
 opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente
 sustituido; en una modalidad, R_3 es H o alquilo C_1-C_6 ;

20 R_4 es H, alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, uno de R_4 es
 OH, alcoxi C_1-C_6 , $-S$ -alquilo C_1-C_6 , $COOR_6$, $-NR_6R_7$, $-CONR_6R_7$; o
 R_4R_4 pueden juntos ser $=O$ o R_4R_4 junto con el carbono al que
 ellos están adheridos pueden formar un sistema espiro de
 cinco a ocho miembros con o sin la presencia de heteroátomos
 25 seleccionados de N, O, $S(=O)_n$ (en donde $n = 0$ a 2), $N-R_1$; en
 una modalidad, R_4 es H, alquilo C_1-C_6 , NR_6R_7 o R_4R_4 junto con
 el carbono al que ellos están adheridos pueden formar un
 sistema espiro de cinco a ocho miembros con o sin la
 presencia de heteroátomos;

R_6 y R_7 son independientemente H, alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, arilalquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, arilalquilo opcionalmente sustituido, heteroarilalquilo opcionalmente sustituido, heteroarilalquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, R_6 y R_7 pueden estar juntos para formar un sistema de anillo saturado de 3-7 miembros que tiene opcionalmente uno o dos heteroátomos tal como N- R_1 , O, S=(O) $_n$ $n = 0-2$. En una modalidad, R_6 y R_7 son cada una independientemente H, alquilo C_1-C_6 , arilalquilo, heteroarilalquilo o R_6 y R_7 juntos forman un sistema de anillo saturado de 3-7 miembros que tiene opcionalmente uno o dos heteroátomos.

15

El término alquilo se refiere a las porciones alquilo de cadena recta y ramificada de 1-12 carbonos a menos que se especifique otra cosa; en una modalidad, de 1-8 átomos de carbono; en una modalidad, de 1-6 átomos de carbono; y en una modalidad, de 1-4 átomos de carbono. Grupos alquilo representativos (C_1-C_6) incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, tert-butilo, pentilo, isopentilo, neopentilo, hexilo, isohexilo, y neohexilo.

25

El término cicloalquilo se refiere a un grupo hidrocarburo cíclico que tiene 3-7 átomos de carbono a menos que se especifique otra cosa; en una modalidad, 7 átomos de carbono; en una modalidad, 6 átomos de carbono; en una modalidad, 5

átomos de carbono; en una modalidad, 4 átomos de carbono; y en una modalidad, 3 átomos de carbono.

Arilo se refiere a una porción hidrocarburo aromática, por ejemplo, 6-14 átomos de carbono, por ejemplo seleccionados del grupo: grupos fenilo, α -naftilo, β -naftilo, bifenilo, antrilo, tetrahidronaftilo, fluorenilo, indanilo, bifenilenilo, acenaftenilo. En una modalidad, el grupo arilo es fenilo o bifenilo.

10

Heteroarilo se refiere a un sistema de anillo heterocíclico aromático (monocíclico o bicíclico), por ejemplo, que tiene 5-10 miembros en el anillo y 1-3 heteroátomos seleccionados de O, N y S, por ejemplo, en donde las porciones heteroarilo se seleccionan de: (1) furano, tiofeno, indol, azaindol, oxazol, tiazol, isoxazol, isotiazol, imidazol, N-metilimidazol, piridina, pirimidina, pirazina, pirrol, N-metilpirrol, pirazol, N-metilpirazol, 1,3,4-oxadiazol, 1,2,4-triazol, 1-metil-1,2,4-triazol, 1H-tetrazol, 1-metiltetrazol, benzoxazol, benzotiazol, benzofurano, bencisoxazol, bencimidazol, N-metilbencimidazol, azabencimidazol, indazol, quinazolina, quinolina, y isoquinolina; (2) un heterocilo aromático bicíclico en donde un anillo fenilo, piridina, pirimidina o piridizina está: (a) fusionado a un anillo heterocíclico (insaturado) aromático de 6-miembros que tiene un átomo de nitrógeno; (b) fusionado a un anillo heterocíclico (insaturado) aromático de 5 o 6-miembros que tiene dos átomos de nitrógeno; (c) fusionado a un anillo heterocíclico (insaturado) aromático de 5-miembros que tiene un átomo de

25

nitrógeno junto con un átomo de oxígeno o de azufre; o (d) fusionado a un anillo heterocíclico (insaturado) aromático de 5-miembros que tiene un heteroátomo seleccionado de O, N o S. En una modalidad, el grupo heteroarilo es furano, oxazol, tiazol, isoxazol, isotiazol, imidazol, N-metilimidazol, piridina, pirimidina, pirazina, pirrol, N-metilpirrol, pirazol, N-metilpirazol, 1,3,4-oxadiazol, 1,2,4-triazol, 1-metil-1,2,4-triazol, 1H-tetrazol, 1-metiltetrazol, quinolina, isoquinolina, o naftiridina.

10

El término grupo heteroarilo tricíclico fusionado se refiere a un grupo que comprende dos anillos fusionados en el que uno tiene carácter aromático [es decir Regla de Huckel ($4n+2$)] y el otro anillo no es aromático. El grupo heteroarilo bicíclico fusionado contiene uno a seis heteroátomos seleccionados del grupo que consiste de O, S, N y N-R₁. El grupo heteroarilo bicíclico fusionado se puede unir al resto de la molécula a través de un átomo de carbono en el anillo aromático. El anillo aromático del grupo heteroarilo bicíclico fusionado contiene cinco o seis átomos en el anillo (incluyen átomos puenteados) seleccionados de CR₂, N, O, S o N-R₁. El anillo aromático del grupo heteroarilo bicíclico fusionado contiene 0 a 3 heteroátomos seleccionados del grupo O, S, N y N-R₁. El anillo no aromático del grupo heteroarilo bicíclico fusionado contiene cinco a ocho átomos en el anillo (incluyen átomos puenteados) seleccionados de CR₄R₄, N, N-R₁, O, S(O)_n en donde n= 0-2. El anillo no aromático del grupo heteroarilo bicíclico fusionado contiene 0 a 4 heteroátomos seleccionados de N, N-R₁, O o S(O)_n en donde n = 0 a 2.

25

Un grupo heteroarilo bicíclico fusionado incluye sistemas de anillo sustituido opcionalmente tal como porciones (6,7-Dihidro-5H-pirrolo[1,2-a]imidazol y (5,6-Dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazina.

Si cualquier dicho grupo es "opcionalmente sustituido" tal como por ejemplo arilo o heteroarilo, luego uno o dos de los siguientes son posibles sustituyentes (igual o diferente):

10 nitro, -arilo, -heteroarilo, alcoxicarbonil-, -alcoxi, -alcoxi-alquilo, alquil-O-alquilo C_2-C_4-O- , -ciano, -halógeno, -hidroxi, -N- R_6R_7 , -trifluorometilo, -trifluorometoxi, arilalquilo, alquilarilo, R_6R_7N -alquil-, HO-alquilo- C_1-C_6- , alcoxialquil-, alquil-S-, $-SO_2N-R_6R_7$, $-SO_2NHR_6$, $-CO_2H$, $CONR_6R_7$,

15 aril-O-, heteroaril-O-, $-S(O)_s$ -arilo (en donde $s = 0-2$), -alquil-O-alquil- NR_6R_7 , -alquil-aril-O-alquilN- R_6R_7 , alquilo C_1-C_6 , alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, alcoxi-alquil-O-, R_6R_7N -alquil-; y $-S(O)_s$ -heteroarilo (en donde $s = 0-2$). En una modalidad, los sustituyentes, por ejemplo, para arilo y

20 heteroarilo incluyen: alquilo, halógeno, -N- R_6R_7 , trifluorometilo, -trifluorometoxi, arilalquilo, y alquilarilo.

Arilalquilo se refiere a Aril-alquilo C_1-C_6- ; porciones

25 Arilalquilo incluyen bencilo, 1-feniletilo, 2-feniletilo, 3-fenilpropilo, 2-fenilpropilo y similares. El término 'opcionalmente sustituido' se refiere a no sustituido o sustituido con 1 o 2 sustituyentes en la porción alquilo o arilo como se definió anteriormente.

Alquilarilo se refiere a alquilo C_1-C_6 -aril-. El término 'opcionalmente sustituido' se refiere a no sustituido o sustituido con 1 o 2 sustituyentes en la porción arilo o alquilo como se definió anteriormente.

Heteroaril-alquilo C_1-C_6 se refiere a un heteroarilo sustituido con porción alquilo en donde la cadena alquilo es de 1-6 átomos de carbono (recta o ramificada). Porciones heteroarilo alquilo incluyen heteroaril- $(CH_2)_{1-6}$ -- y similares. El término 'opcionalmente sustituido' se refiere a no sustituido o sustituido con 1 o 2 sustituyentes en la porción alquilo o heteroarilo como se definió anteriormente;

Alquilheteroarilo C_1-C_6 se refiere a una cadena alquilo de 1-6 átomos de carbono (recta o ramificada) adherida a una porción heteroarilo, que se une al resto de la molécula. Por ejemplo alquilo- C_1-C_6 -Heteroaril--. El término 'opcionalmente sustituido' se refiere a no sustituido o sustituido con 1 o 2 sustituyentes en la porción alquilo o heteroarilo como se definió anteriormente;

Grupos heterociclos saturados o parcialmente saturados se refiere a anillos heterocíclicos seleccionados de las porciones; aziridinilo, azetidinilo, 1,4-dioxanilo, hexahidroazepinilo, piperazinilo, piperidinilo, pirrolidinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, dihidrobencimidazolilo, dihidrobenzofuranilo, dihidrobenzotienilo, dihidrobenzoxazolilo, dihidrofuranilo,

dihidroimidazolilo, dihidroindolilo, dihidroisooxazolilo,
dihidroisotiazolilo, dihidrooxadiazolilo, dihidrooxazolilo,
dihidropirrazinilo, dihidropirazolilo, dihidropiridinilo,
dihidropirimidinilo, dihidropirrolilo, dihidroquinolinilo,
5 dihidrotetrazolilo, dihidrotiadiazolilo, dihidrotiazolilo,
dihidrotienilo, dihidrotriazolilo, dihidroazetidino,
dihidro-1,4-dioxanilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidrotienilo,
tetrahidroquinolinilo, y tetrahidroisoquinolinilo. En una
modalidad, heterociclos saturados o parcialmente insaturados
10 incluyen: aziridinilo, azetidino, 1,4-dioxanilo,
hexahidroazepino, piperazinilo, piperidinilo,
pirrolidinilo, morfolino, tiomorfolino,
tetrahidroquinolinilo, tetrahidroisoquinolinilo,
dihidroimidazolilo, y dihidroisooxazolilo.

15

Heterociclos saturados o parcialmente saturados mono o
bicíclicos de alquilo C₁-C₆ se refiere a un grupo alquilo
(recto o ramificado) de C₁-C₆ adherido a un heterociclo (que
se definió anteriormente) a través de un átomo de carbono o
20 un átomo de nitrógeno y el otro extremo de la cadena alquilo
adherido al resto de la molécula. El término 'opcionalmente
sustituido' se refiere a no sustituido o sustituido con 1 o
2 sustituyentes presentes en la porción alquilo o
heterocíclica de la molécula, como se definió anteriormente;

25

Arilalquiloxialquilo se refiere a Aril-alquilo C₁-C₆-O-alquilo
C₁-C₆-. El término 'opcionalmente sustituido' se refiere a no
sustituido o sustituido con 1 o 2 sustituyentes presentes en

las porciones alquilo y/o arilo como se definió anteriormente;

Alquiloalquilo se refiere a alquilo C_1-C_6 -O-alquilo C_1-C_6 -.

- 5 El término 'opcionalmente sustituido' se refiere a no sustituido o sustituido con 1 o 2 sustituyentes presentes en la porción alquilo como se definió anteriormente;

- Ariloxialquilo se define como Aril-O-alquilo C_1-C_6 -. El
10 término 'opcionalmente sustituido' se refiere a no sustituido o sustituido con 1 o 2 sustituyentes presentes en la porción alquilo o arilo como se definió anteriormente;

- Heteroarilalquiloalquilo se refiere a Heteroaril-alquilo C_1-C_6 -O-alquilo C_1-C_6 -. El término 'opcionalmente sustituido'
15 se refiere a no sustituido o sustituido con 1 o 2 sustituyentes presentes en la porción alquilo o heteroarilo como se definió anteriormente;

- Ariloxiarilo se refiere a Aril-O-Aril-. El término
20 'opcionalmente sustituido' se refiere a no sustituido o sustituido con 1 o 2 sustituyentes presentes en la porción arilo como se definió anteriormente;

- Ariloxiheteroarilo se refiere a Aril-O-Heteroaril- o -Aril-O-Heteroaril;
25 En esta definición la porción arilo o la porción heteroarilo se puede adherir a la porción restante de la molécula. El término 'opcionalmente sustituido' se refiere a no sustituido o sustituido con 1 o 2 sustituyentes presentes

en la porción arilo o en la porción heteroarilo como se definió anteriormente;

Alquilo ariloxiarilo se refiere a Aril-O-Aril-alquilo C₁-C₆-.

- 5 El término 'opcionalmente sustituido' se refiere a no sustituido o sustituido con 1 o 2 sustituyentes presentes en la porción arilo como se definió anteriormente;

- Alquilariloxiheteroarilo se refiere a Heteroaril-O-Aril-
10 alquilo C₁-C₆-. El término 'opcionalmente sustituido' se refiere a no sustituido o sustituido con 1 o 2 sustituyentes presentes en la porción arilo o en la porción heteroarilo como se definió anteriormente;

- 15 Alquilariloxialquilamina se refiere a R₆R₇N-alquilo C₁-C₆-O-Aril- alquilo C₁-C₆-. Los términos 'opcionalmente sustituido' se refiere a no sustituido o sustituido con 1 o 2 sustituyentes presentes en la porción alquilo o arilo como se definió anteriormente; R₆ y R₇ como se definió anteriormente;

20

Alcoxicarbonilo se refiere a alquilo C₁-C₆-O-C=O-. El término 'opcionalmente sustituido' se refiere a no sustituido o sustituido con 1 o 2 sustituyentes presentes en la porción alquilo de la porción alcoxi como se definió anteriormente;

25

Ariloxicarbonilo se refiere a Aril-O-C=O--. El término 'opcionalmente sustituido' se refiere a no sustituido o sustituido con 1 o 2 sustituyentes presentes en la porción arilo como se definió anteriormente;

Heteroariloxi carbonilo se refiere a Heteroaril-O-C=O--. El término 'opcionalmente sustituido' se refiere a no sustituido o sustituido con 1 o 2 sustituyentes presentes en la porción heteroarilo como se definió anteriormente;

5

Alcoxi se refiere a alquilo C₁-C₆-O-. Los términos 'opcionalmente sustituido' se refiere a no sustituido o sustituido con 1 o 2 sustituyentes presentes en la porción alquilo como se definió anteriormente;

10

Ariloxi se refiere a Aril-O--. El término 'opcionalmente sustituido' se refiere a no sustituido o sustituido con 1 o 2 sustituyentes presentes en la porción arilo como se definió anteriormente;

15

Heteroariloxi se refiere a Heteroaril-O--. El término 'opcionalmente sustituido' se refiere a no sustituido o sustituido con 1 o 2 sustituyentes presentes en la porción heteroarilo como se definió anteriormente;

20

Alqueniloxi se refiere a alqueno C₃-C₆-O--; Ejemplo alil-O-, but-2-eno-O o porciones similares. El término 'opcionalmente sustituido' se refiere a no sustituido o sustituido con 1 o 2 sustituyentes presentes en la porción alqueno como se definió anteriormente, con la condición que ningún heteroátomo tal como O, S o N-R₁ esté presente en el átomo de carbono, que está adherido a un enlace doble;

25

Alquiniloxi se refiere a alquino C_3-C_6-O- ; Ejemplo $CH\equiv C-CH_2-O-$, o porciones similares. El término 'opcionalmente sustituido' se refiere a no sustituido o sustituido con 1 o 2 sustituyentes presentes en la porción alquino como se definió anteriormente, con la condición que ningún heteroátomo tal como O, S o $N-R_1$ esté presente en un átomo de carbono que está adherido a un enlace doble o triple;

Alquilaminoalcoxi se refiere a R_6R_7N -alquilo C_1-C_6-O -alquilo- C_1-C_6-- , en donde el grupo alquilo terminal adherido al oxígeno está conectado al resto de la molécula. Los términos R_6 y R_7 se definieron anteriormente. El término 'opcionalmente sustituido' se refiere a no sustituido o sustituido con 1 o 2 sustituyentes presentes en la porción alquilo como se definió anteriormente;

Alquilenodioxo se refiere a $-O-CH_2-O-$ o $-O-(CH_2)_2-O-$;

Ariloxialquilamina se refiere a R_6R_7N -alquilo C_1-C_6-O -Aril--, en donde el arilo se adhiere al resto de la molécula. El término 'opcionalmente sustituido' se refiere a no sustituido o sustituido con 1 o 2 sustituyentes presentes en la porción alquilo o arilo como se definió anteriormente;

Arilalquenilo se refiere a Aril-alqueno C_2-C_8-- , con la condición que ningún heteroátomo tal como O, S o $N-R_1$ esté presente en el átomo de carbono, que está adherido a un enlace doble. El término 'opcionalmente sustituido' se refiere a no sustituido o sustituido con 1 o 2 sustituyentes

presentes en la porción arilo o alqueno como se definió anteriormente;

Heteroariloxialquilo se refiere a Heteroaril-O-alquilo C_1-C_6 .

5 El término 'opcionalmente sustituido' se refiere a no sustituido o sustituido con 1 o 2 sustituyentes presentes en la porción heteroarilo como se definió anteriormente;

Heteroariloxiarilo se refiere a Heteroaril-O-aril--, en donde la porción arilo se adhiere al resto de la molécula. El

10 término 'opcionalmente sustituido' se refiere a no sustituido o sustituido con 1 o 2 sustituyentes presentes en la porción heteroarilo o la porción arilo como se definió anteriormente;

15 Alcoxi, alcoxialquilo, alcoxialquiloxi y alquiltioalquiloxi se refiere a porciones en donde la cadena alquilo es de 1-6 átomos de carbono (recta o ramificada). Ariloxi, heteroariloxi, ariltio y heteroariltio son porciones en donde los grupos arilo o heteroarilo son como se definieron aquí
20 anteriormente. Arilalquiloxi, heteroarilalquiloxi, arilalquiltio y heteroarilalquiltio son porciones en donde los grupos arilo o heteroarilo son como se definieron aquí anteriormente y en donde la cadena alquilo es de 1-6 carbonos (recta o ramificada). Ariloxialquilo, heteroariloxialquilo,
25 ariloxialquiloxi y heteroariloxialquiloxi son sustituyentes en donde el radical alquilo es de 1-6 átomos de carbono. Los términos monoalquilamino y dialquilamino se refieren a porciones con uno o dos grupos alquilo en donde la cadena alquilo es de 1-6 carbonos y los grupos pueden ser iguales o

diferentes. Los términos monoalquilaminoalquilo y dialquilaminoalquilo se refieren a porciones monoalquilamino y dialquilamino con uno o dos grupos alquilo (iguales o diferentes) unidos al átomo de nitrógeno que está adherido a
5 un grupo alquilo de 1-3 átomos de carbono.

Las Sales farmacéuticamente aceptables son aquellas sales que se pueden administrar o proporcionar a un animal de sangre caliente, que incluyen sales de metales alcalino térreos como
10 sodio, potasio, o calcio.

El término paciente como se utiliza aquí incluye, sin limitación, un humano, ratón, rata, conejillo de indias, perro, gato, caballo, vaca, cerdo, mono, chimpancé, babuino,
15 o macaco. En una modalidad, el paciente es un animal de sangre caliente. En otra modalidad, el paciente es un humano.

El término cantidad efectiva como se utiliza aquí se refiere a una cantidad de un compuesto o sal farmacéuticamente
20 aceptable de un compuesto que, cuando se administra a un paciente, es efectivo para prevenir, para mejorar por lo menos parcialmente, o curar, una afección de la que sufre un paciente o se sospecha que sufre.

25 El término sustancialmente libre de su enantiómero opuesto correspondiente como se utiliza aquí significa que el compuesto contiene no más de aproximadamente 10% de su enantiómero opuesto correspondiente. En otras modalidades, el compuesto que está sustancialmente libre de su enantiómero

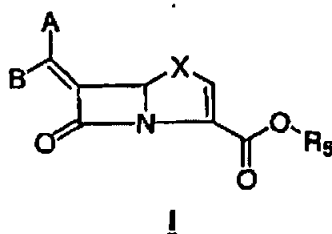
opuesto correspondiente contiene no más de aproximadamente 5%, no más de aproximadamente de 1%, no más de aproximadamente de 0.5%, o no más de aproximadamente de 0.1% en peso de su enantiómero opuesto correspondiente. Un
5 enantiómero que está sustancialmente libre de su enantiómero opuesto correspondiente incluye un compuesto que se ha aislado y purificado o se ha preparado sustancialmente libre de su enantiómero opuesto correspondiente.

- 10 El término aislado y purificado como se utiliza aquí se refiere a un aislado que se separa de otros componentes o una mezcla de redacción o una fuente natural. En ciertas modalidades, el aislado contiene por lo menos aproximadamente 50%, por lo menos aproximadamente 55%, por lo menos
15 aproximadamente 60%, por lo menos aproximadamente 65%, por lo menos aproximadamente 70%, por lo menos aproximadamente 75%, por lo menos aproximadamente 80%, por lo menos aproximadamente 85%, por lo menos aproximadamente 90%, por lo menos aproximadamente 95%, o por lo menos aproximadamente 98%
20 del compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del compuesto por peso del aislado.

El término tautómero como se utiliza aquí se refiere a compuestos producidos por el fenómeno en donde un protón de
25 un átomo de una molécula cambia al otro átomo. Ver, Jerry March, Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structures, Fourth Edition, John Wiley & Sons 1992, 69- 74.

Compuestos de fórmula I

Los compuestos útiles en la presente invención incluyen compuestos de fórmula I y sales farmacéuticamente aceptables
 5 o ésteres hidrolizables *in vivo* de estos:



10

o sales farmacéuticamente aceptables o ésteres hidrolizables
in vivo de estos:

en donde:

15 uno de A y B denota hidrógeno y el otro de A y B denota un grupo heteroarilo bicíclico fusionado opcionalmente sustituido;

X es S o O;

R₅ es hidrógeno, un éster hidrolizable *in vivo* tal como
 20 alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₅-C₆, alquilo CHR₃OCOC₁-C₆ o una sal tal como Na, K, Ca; y

R₃ es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₅-C₆, arilo opcionalmente sustituido, o heteroarilo opcionalmente sustituido.

25 En una modalidad, X es S.

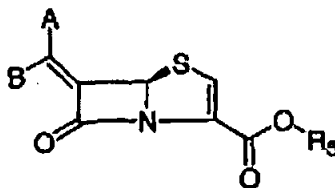
En una modalidad, R₅ es hidrógeno o una sal.

En una modalidad, R₃ es hidrógeno o alquilo C₁-C₆.

En una modalidad, A denota un grupo heteroarilo bicíclico opcionalmente sustituido y B denota hidrógeno.

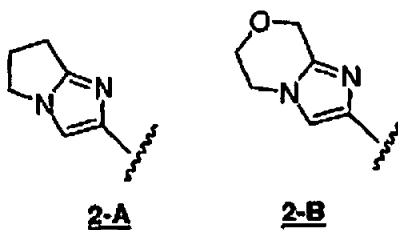
En una modalidad, el compuesto de fórmula I tiene la siguiente estereoquímica:

5



Ejemplos no limitantes de un grupo heteroarilo bicíclico incluyen 2-A y 2-B:

10



Como se utiliza aquí, por ejemplo, en la Fórmula 2-A y 2-B,

15

el  designa el punto de unión del grupo heteroarilo bicíclico al resto de la molécula.

En una modalidad, el compuesto de fórmula I es: ácido (5R), (6Z)-6-(6,7-Dihidro-5H-pirrolo[1,2-a]imidazol-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia--1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico, sal de sodio.

20

En una modalidad, el compuesto de fórmula I es: o ácido (5R), (6Z)-6-(5,6-Dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia--1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico, sal de sodio.

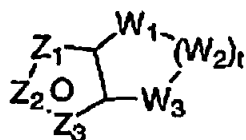
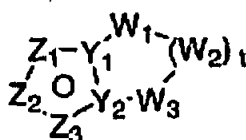
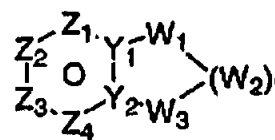
25

72

En una modalidad, el compuesto de fórmula I es: ácido (5R), (6Z)-6-(6,7-Dihidro-5H-pirrolo[1,2-a]imidazol-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia--1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico.

5 En una modalidad, el compuesto de fórmula I es: ácido (5R), (6Z)-6-(5,6-Dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia--1 -azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico.

10 Ejemplos adicionales del grupo heteroarilo bicíclico A y B opcionalmente sustituido incluyen lo siguiente:

**1-A****1-B****1-C**

15

En la Fórmula 1-A Z1, Z2 y Z3 son independientemente CR₂, N, O, S o N-R₁ y uno de Z1-Z3 es carbono y está unido al resto de la molécula como se muestra en la Fórmula I. Cuando uno de
20 Z es CR₂ los otros dos Z pueden ser dos N o un N y O, S, N-R₁ en cualquier combinación sin interrumpir la aromaticidad; cuando dos Z= CR₂ la otra Z se puede seleccionar opcionalmente de un N, O, S o N-R₁ en cualquier combinación sin interrumpir la aromaticidad;

25 W₁, W₂ y W₃ son independientemente CR₄R₄, S, SO, SO₂, O, N-R₁, C=O; con la condición que ninguna unión de S-S o O-O o S-O puede ocurrir para formar el sistema de anillo saturado; t= 1 a 4.

En la Fórmula 1-B Z1, Z2 y Z3 son independientemente CR₂, N, O, S o N-R₁ y uno de Z1 -Z3 es carbono y está unido al resto de la molécula como se muestra en la Fórmula I.

Cuando uno de Z= CR₂, luego los otros dos Z pueden ser
5 independientemente CR₂, N, O, S o N-R₁ en cualquier combinación sin interrumpir la aromaticidad; Cuando dos Z=N, luego el otro carbono en el anillo se une a la porción peneme de la molécula como se muestra en la Fórmula I.

W₁, W₂ y W₃ son independientemente CR₄R₄, S, SO, SO₂, O, N-R₁,
10 t= 1 a 4;

Y₁ y Y₂ = N o C; con la condición que cuando el heterociclo aromático es imidazol, el anillo saturado puede contener un adyacente S al carbono puenteado.

15 En la Fórmula 1-C Z1, Z2, Z3 y Z4 son independientemente CR₂ o N y uno de Z1 -Z4 es carbono y está unido al resto de la molécula.

W₁, W₂ y W₃ son independientemente CR₄R₄, S, SO, SO₂, O, o N-R₁; con la condición que ninguna formación de unión S-S o O-O
20 o S-O puede ocurrir para formar el sistema de anillo saturado; t= 1 a 4. Y₁ y Y₂ son independientemente C o N.

Ejemplos adicionales de grupos heteroarilo bicíclicos A y B opcionalmente sustituidos se establecen en WO 03/093279 A1,
25 WO 03/093277 A1, y US 2004 132708 A1.

Los compuestos útiles en la presente invención incluyen sales farmacéuticamente aceptables o ésteres hidrolizables *in vivo* de estos, y como tal, el término "compuesto" como se utiliza

79

aquí incluye una sal farmacéuticamente aceptable o ésteres hidrolizables *in vivo* de estos. Una fórmula estructural del compuesto también incluye cualquier tautómero, cualquier estereoisómero (Excepto cuando se nota claramente la estequiometría y cualquier forma cristalina.

Los compuestos de fórmula I pueden contener como átomo de carbono asimétrico y algunos de los compuestos de fórmula I pueden contener uno o más centros asimétricos, y pueden así hacer surgir isómeros ópticos y diastereómeros. Mientras en algunos casos se describe independiente a la estequiometría en los compuestos de Fórmula I, la presente invención incluye tales isómeros ópticos y diastereómeros, así como también estereoisómeros R y S enantioméricamente puros, racémicos y redisueltos, y también otras mezclas de los estereoisómeros R y S y sales farmacéuticamente aceptables de estos. Cuando se proporciona un estereoisómero, esto puede en algunas modalidades ser proporcionado sustancialmente libre de su enantiómero opuesto correspondiente.

20

Adicionalmente, los compuestos de fórmula I pueden existir como tautómeros. Tales tautómeros pueden ser transitorios o aislables como un producto estable. Estos tautómeros están dentro del alcance de la presente invención.

25

Prodrogas de los compuestos de fórmula I también están dentro del alcance de la presente invención.

Métodos para elaborar compuestos de fórmula I

Los compuestos de fórmula I se pueden preparar utilizando una variedad de métodos partiendo de compuestos disponibles comercialmente, compuestos conocidos, o compuestos preparados por métodos conocidos. Las rutas sintéticas generales para muchos de los compuestos se incluyen en los siguientes esquemas. Se entiende por aquellos expertos en la técnica que las etapas de protección y desprotección no mostradas en los esquemas se pueden requerir para estas síntesis, y que el orden de las etapas se puede cambiar para acomodar la funcionalidad en la molécula objetivo.

Por ejemplo, los compuestos de fórmula I se pueden sintetizar de acuerdo con los procedimientos destacados en la 03/093279 A1, WO 03/093277 A1, y US 2004 132708 A1.

Administración terapéutica.

En una modalidad, un compuesto de la fórmula I tiene propiedades antibacterianas e inhibidoras β -lactamasa y son útiles para el tratamiento de infecciones en un paciente cuando se combinan con cefepime. En una modalidad de la presente invención, un compuesto de fórmula I en combinación con cefepime suministra un tratamiento efectivo de una enfermedad o infección bacteriana.

En una modalidad, un compuesto de fórmula I tiene propiedades antibacterianas e inhibidoras de β -lactamasa y son útiles

para el tratamiento de infecciones en un paciente cuando se combinan con un antibiótico β -lactama. En una modalidad de la presente invención, un compuesto de fórmula I en combinación con un antibiótico β -lactama suministra un tratamiento
5 efectivo de una enfermedad o infección bacteriana.

Antibióticos β -lactama como se utiliza aquí incluyen antibióticos de penicilina, antibióticos cefalosporina, y antibióticos carbapeneme. Por ejemplo, los antibióticos
10 penicilina tales como carbenicilina, azlocilina, mezlocilina, mecilinam, nafcilina, y oxacilina; los antibióticos cefalosporina tales como cefaclor, cefamandol, cefdinir, cefditoren, cefatamet, cefixime, cefmetazol, cefotaxime, cefotetan, cefoxitin, cefpodoxime, ceftibuten, ceftizoxime, y
15 cefuroxime; y antibióticos carbapenem tales como loracarbef, imipenem, meropenem, y ertapenem; son útiles para el tratamiento de infecciones en un paciente cuando se combinan con un compuesto de fórmula I.

20 En una modalidad, un compuesto de fórmula I cuando se utiliza en combinación con cefepime resulta en el incremento de la actividad antibacteriana (efecto sinérgico) contra un organismo que produce la Clase-A. En una modalidad, un compuesto de fórmula I cuando se utiliza en combinación con
25 cefepime resulta en el incremento de la actividad antibacteriana (efecto sinérgico) contra un organismo que produce la Clase-B. En una modalidad, un compuesto de fórmula I cuando se utiliza en combinación con cefepime resulta en el incremento de la actividad antibacteriana (efecto sinérgico)

contra un organismo que produce la Clase-C. En una modalidad, un compuesto de fórmula I cuando se utiliza en combinación con cefepime resulta en el incremento de la actividad antibacteriana (efecto sinérgico) contra un organismo que produce la Clase-D. En otra modalidad, un compuesto de fórmula I cuando se utiliza en combinación con cefepime resulta en el incremento de la actividad antibacteriana (efecto sinérgico) contra un organismo que produce la Clase-A y la Clase-C. En aún otra modalidad, un compuesto de fórmula I cuando se utiliza en combinación con cefepime resulta en el incremento de la actividad antibacteriana (efecto sinérgico) contra un organismo que produce la Clase-A, la Clase- C, y la Clase-D.

En una modalidad, un compuesto de fórmula I cuando se utiliza en combinación con un antibiótico β -lactama resulta en el incremento de la actividad antibacteriana (efecto sinérgico) contra un organismo que produce la Clase-A. En una modalidad, un compuesto de fórmula I cuando se utiliza en combinación con un antibiótico β -lactama resulta en el incremento de la actividad antibacteriana (efecto sinérgico) contra un organismo que produce la Clase-B. En una modalidad, un compuesto de fórmula I cuando se utiliza en combinación con un antibiótico β -lactama resulta en el incremento de la actividad antibacteriana (efecto sinérgico) contra un organismo que produce la Clase-C. En una modalidad, un compuesto de fórmula I cuando se utiliza en combinación con un antibiótico β -lactama resulta en el incremento de la actividad antibacteriana (efecto sinérgico) contra un

organismo que produce la Clase-D. En otra modalidad, un compuesto de fórmula I cuando se utiliza en combinación con un antibiótico β -lactama resulta en el incremento de la actividad antibacteriana (efecto sinérgico) contra un
5 organismo que produce la Clase-A y a Clase-C. En aún otra modalidad, un compuesto de fórmula I cuando se utiliza en combinación con un antibiótico β -lactama resulta en el incremento de la actividad antibacteriana (efecto sinérgico) contra un organismo que produce la Clase-A, la Clase-C, y la
10 Clase-D.

En una modalidad, la administración de los compuestos de fórmula I se proporciona en conjunto con administración anterior, simultánea o posterior de cefepime ("co-
15 administración"). "Proporcionado" incluye administración directa así como también in vivo, por ejemplo, prodrogas. Cuando los compuestos de fórmula I se co-administran con cefepime, la proporción de la cantidad del compuesto a la cantidad del cefepime puede variar en un amplio rango. La
20 proporción de cefepime al compuesto de fórmula I puede variar de 1:1 a 100:1 (p/p). En una modalidad, la proporción de cefepime al compuesto de fórmula I es menor de 10:1 (p/p).

En una modalidad, la administración de los compuestos de
25 fórmula I se proporciona en Conjunto con administración anterior, simultánea o posterior de un antibiótico β -lactama ("co-administración"). Cuando los compuestos de fórmula I se co-administran con un antibiótico β -lactama, la proporción de la cantidad del compuesto a la cantidad del cefepime puede

variar en un amplio rango. La proporción de un antibiótico β -lactama del compuesto de fórmula I puede variar de 1:1 a 100:1 (p/p). En una modalidad, la proporción de un antibiótico β -lactama al compuesto de fórmula I es menor de 5 10:1 (p/p).

En una modalidad, las composiciones de la presente invención están en una forma adecuada para administración oral (PO), intravenosa (IV) o tópica. En una modalidad, las 10 composiciones de la invención están en una forma de comprimidos, cápsulas, cremas, jarabes, suspensiones, soluciones estériles adecuadas para inyección o infusión.

En una modalidad, un compuesto de fórmula I y cefepime se 15 administran en dosis comúnmente empleadas cuando tales agentes se utilizan individualmente para el tratamiento de una enfermedad o infección bacteriana.

En una modalidad, un compuesto de fórmula I y un antibiótico 20 β -lactama se administran en dosis comúnmente empleadas cuando tales agentes se utilizan individualmente para el tratamiento de una enfermedad o infección bacteriana.

En otra modalidad, un compuesto de fórmula I y cefepime 25 actúan sinérgicamente y se administran en dosis que son menores que las dosis comúnmente empleadas cuando tales agentes se utilizan individualmente para el tratamiento de una enfermedad o infección bacteriana.

En otra modalidad, un compuesto de fórmula I y un antibiótico β -lactama actúan sinérgicamente y se administran en dosis que son menores que las dosis comúnmente empleadas cuando tales agentes se utilizan individualmente para el tratamiento
5 de una enfermedad o infección bacteriana.

Como se utiliza aquí, cefepime incluye una sal farmacéuticamente aceptable de este.

10 El Cefepime se puede administrar a un paciente en una dosis que varía de aproximadamente 250 mg a aproximadamente 2 g por administración. En una modalidad, la dosificación de cefepime es aproximadamente 300 mg, aproximadamente 350 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 450 mg,
15 aproximadamente 500 mg, aproximadamente 550 mg, aproximadamente 600 mg, aproximadamente 650 mg, aproximadamente 700 mg, aproximadamente 750 mg, aproximadamente 800 mg, aproximadamente 850 mg, aproximadamente 900 mg, aproximadamente 950 mg,
20 aproximadamente 1 g, aproximadamente 1.1 g, aproximadamente 1.2 g, aproximadamente 1.25 g, aproximadamente 1.3 g, aproximadamente 1.4 g, aproximadamente 1.5 g, aproximadamente 1.6 g, aproximadamente 1.7 g, aproximadamente 1.75 g, aproximadamente 1.8 g, o aproximadamente 1.9 g. El Cefepime
25 se puede administrar en un tiempo que varía de aproximadamente 8h a cada 48 hr. En una modalidad, el cefepime se administra cada 12 h, cada 16 h, cada 20 h, cada 24 h, cada 28 h, cada 32 h, cada 36 h, cada 40, o cada 44 h. El Cefepime se puede administrar para una duración que varía

de aproximadamente 7 días a aproximadamente 10 días. En una modalidad específica, se administra cefepime durante aproximadamente 8 días o aproximadamente 9 días.

- 5 Como se utiliza aquí, un antibiótico β -lactama incluye una sal farmacéuticamente aceptable de este.

Cuando se administra a un paciente, se puede administrar un compuesto puro (por ejemplo, un compuesto de fórmula I, cefepime, o un antibiótico β -lactama) o como un componente, sal farmacéuticamente aceptable del compuesto y un vehículo o portador fisiológicamente aceptable. Una composición de la invención se puede preparar utilizando un método que comprende mezclar el compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto y un portador fisiológicamente aceptable, excipiente, o diluyente. La mezcla se puede lograr utilizando métodos bien conocidos para mezclar un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto y un portador fisiológicamente aceptable, excipiente, o diluyente.

En una modalidad, la invención suministra una composición que comprende cefepime o una sal farmacéuticamente aceptable de este y un compuesto de Fórmula I o a sal farmacéuticamente aceptable o ésteres hidrolizables *in vivo* de estos. En otra modalidad, la invención suministra una composición que comprende un compuesto de fórmula I o a sal farmacéuticamente aceptable o ésteres hidrolizables *in vivo* de estos, y una

composición que comprende cefepime o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En una modalidad, la invención suministra una composición que
5 comprende un antibiótico β -lactama o una sal farmacéuticamente aceptable de este y un compuesto de Fórmula I o a sal farmacéuticamente aceptable o ésteres hidrolizables *in vivo* de estos. En otra modalidad, la invención suministra una composición que comprende un compuesto de fórmula I o a
10 sal farmacéuticamente aceptable o ésteres hidrolizables *in vivo* de estos, y una composición que comprende un antibiótico β -lactama o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

Las actuales composiciones, que comprenden compuestos o sales
15 farmacéuticamente aceptables de los compuestos se pueden administrar oralmente. Las composiciones de la invención también se pueden administrar mediante cualquier otra ruta conveniente, por ejemplo, mediante infusión continua o inyección de bolo, por absorción a través de recubrimientos
20 mucocutáneos o epiteliales) por ejemplo, oral, rectal, vaginal, o mucosa intestinal, etc.) y se pueden administrar junto con otros agentes terapéuticos. La administración puede ser sistémica o local. Varios sistemas de suministro conocidos, que incluyen encapsulación en liposomas,
25 micropartículas, microcápsulas, y cápsulas, se pueden utilizar.

Los métodos de administración incluyen, pero no se limitan a, administración intradérmica, intramuscular, intraperitoneal,

intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural, oral, sublingual, intracerebral, intravaginal, transdérmica, rectal, por inhalación, o tópica, particularmente a los oídos, nariz, ojos, o piel. En algunos casos, la
5 administración resultará en liberación del compuesto o a sal farmacéuticamente aceptable del compuesto en el torrente sanguíneo. La ruta de administración se deja a la discreción del médico.

10 En una modalidad, el compuesto o a sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de fórmula I se administra oralmente.

En una modalidad, el cefepime se administra oralmente.

15 En una modalidad, el antibiótico β -lactama se administra oralmente.

En otra modalidad, el compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de fórmula I se administra
20 intravenosamente.

En una modalidad, el cefepime se administra intravenosamente.

En una modalidad, el antibiótico β -lactama se administra
25 intravenosamente.

En otra modalidad, puede ser deseable administrar el compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de fórmula I localmente. Esto se puede lograr, por ejemplo,

por infusión durante cirugía, aplicación tópica, por ejemplo, en conjunto con una venda después de cirugía, por inyección, por medio de un catéter, por medio de un supositorio o edema, o por medio de un implante, dicho implante es un material
5 poroso, no poroso, o gelatinoso, que incluye membranas, tal como membranas sialáticas, o fibras,

En ciertas modalidades, puede ser deseable introducir el compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto
10 de fórmula I en el sistema nervioso central, sistema circulatorio o tracto gastrointestinal mediante cualquier ruta adecuada, que incluye inyección intraventricular, intratecal, inyección paraespinal, inyección epidural, enema, e inyección adyacente al nervio periférico. La inyección
15 interventricular se puede facilitar por un catéter intraventricular, por ejemplo, unido a un reservorio, tal como un reservorio o malla.

La administración pulmonar también se puede emplear, por
20 ejemplo, mediante el uso de un inhalador o nebulizador, y la formulación con un agente de aerosolización, o vía per fusión en un fluorocarbono o tensoactivo sintético pulmonar. En ciertas modalidades, el compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de fórmula I se puede formular como
25 un supositorio, con ligadores tradicionales y excipientes tales como triglicéridos.

En otra modalidad, el compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de fórmula I se puede suministrar en

una vesícula, en particular una liposoma (ver Langer, Science 1990, 249, 1527-1533 y Treat et al., Liposomes in the Therapy of Infectious Disease y Cancer 1989, 317-327 y 353-365).

- 5 En aún otra modalidad, el compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de fórmula I se puede suministrar en un sistema de liberación controlada o sistema de liberación sostenida (ver, por ejemplo, Goodson, in Medical Applications of Controlled Release, vol. 2, 1984, 10 115-138). Otros sistemas de liberación controlada o sostenida discutidos en la revisión de Langer, Science 1990, 249, 1527 1533 se pueden utilizar. En una modalidad, se puede utilizar una bomba (Langer, Science 1990, 249, 1527-1533; Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 1987, 14, 201; Buchwald et al., 15 Surgery 1980, 88, 507; y Saudek et al., N. Engl. J Med. 1989, 321, 574). En otra modalidad, se pueden utilizar materiales poliméricos (ver Medical Applications of Controlled Release (Langer y Wise eds., 1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design y Performance (Smolen y Ball eds., 1984); 20 Ranger y Peppas, J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 1983 2, 61; Levy et al., Science 1935, 228, 190; During et al., Ann. Neural. 1989, 25, 351; y Howard et al., J. Neurosurg. 1989, 71, 105).
- 25 En aún otra modalidad, un sistema de liberación controlada o sostenida se puede colocar en proximidad de un objetivo del compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de fórmula I, requiriendo así solo una fracción de la dosis sistémica.

Las actuales composiciones pueden opcionalmente comprender una cantidad adecuada de un excipiente fisiológicamente aceptable.

5

Tales excipientes fisiológicamente aceptables pueden ser líquidos, tal como agua o aceites, que incluyen aquellos aceites de origen de petróleo, animal, vegetal o sintético, tal como aceite de maní, aceite de soya, aceite mineral, aceite de sésamo y similares. Los excipientes fisiológicamente aceptables pueden ser solución salina, goma acacia, gelatina, pasta de almidón, talco, queratina, sílice coloidal, urea, y similares. Adicionalmente, se pueden utilizar agentes auxiliares, estabilizantes, espesantes, lubricantes, y colorantes. En una modalidad los excipientes fisiológicamente aceptables son estériles cuando se administran a un paciente. Los excipientes fisiológicamente aceptables deben ser estables bajo las condiciones de fabricación y almacenamiento y se deben preservar contra la acción contaminante de microorganismos. El agua es un excipiente particularmente útil cuando el compuesto una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto se administra intravenosamente. También se pueden emplear soluciones salinas y dextrosa acuosa y soluciones de glicerol como excipientes líquidos, particularmente para soluciones inyectables. Los excipientes fisiológicamente aceptables adecuados también incluyen almidón, glucosa, lactosa, sacarosa, gelatina, malta, arroz, harina, tiza, gel de sílice, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, talco,

10
15
20
25

cloruro de sodio, leche descremada seca, glicerol, propileno, glicol, agua, etanol y similares. Las actuales composiciones, si se desea, también pueden contener cantidades menores de agentes humectantes y emulsificantes, o amortiguantes del pH.

5

Se pueden utilizar portadores líquidos en la preparación de soluciones, suspensiones, emulsiones, jarabes, y elixires. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de Fórmula I se puede disolver o suspender en un portador líquido farmacéuticamente aceptable tal como agua, un disolvente orgánico, una mezcla de ambos o grasas o aceites farmacéuticamente aceptables. El portador líquido puede contener otros aditivos farmacéuticos adecuados que incluyen solubilizantes, emulsificantes, amortiguantes, conservantes, endulzantes, agentes saborizantes, agentes de suspensión, agentes espesantes, colores, reguladores de viscosidad, estabilizantes, u osmoreguladores. Ejemplos adecuados de portadores líquidos para administración oral y parenteral incluyen agua (particularmente que contiene aditivos como los anteriores, por ejemplo, derivados de celulosa, que incluye solución de carboximetil celulosa de sodio, alcoholes (que incluyen alcoholes monohídricos y alcoholes polihídricos, por ejemplo, glicoles) y sus derivados, y aceites (por ejemplo, aceite de coco fraccionado y aceite de araquís). Para administración parenteral el portador también puede ser un éster aceitoso tal como oleato de etilo y miristato de isopropilo. Los portadores líquidos estériles se utilizan en composiciones de forma líquida estéril para administración parenteral. El portador líquido para composiciones

10

15

20

25

presurizadas puede ser hidrocarburo halogenado u otro propulsor farmacéuticamente aceptable.

Las composiciones pueden tomar la forma de soluciones,
5 suspensiones, emulsiones, comprimidos, píldoras, gránulos, cápsulas, cápsulas que contienen líquidos, polvos, formulaciones de liberación sostenida, supositorios, emulsiones, aerosoles, sprays, suspensiones, o cualquier otra forma adecuada para uso. En una modalidad, la composición
10 está en la forma de una cápsula. Otros ejemplos de excipientes fisiológicamente aceptables adecuados se describen en Remington's Pharmaceutical Sciences 1447 1676 (Alfonso R. Gennaro, ed., 19th ed. 1995).

15 En una modalidad, el compuesto o a sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de fórmula I se formula de acuerdo con los procedimientos de rutina como una composición adaptada para administración oral a humanos. Las composiciones para suministro oral pueden estar en la forma
20 de comprimidos, pastillas, formas bucales, píldoras, suspensiones acuosas o aceitosas, o soluciones, gránulos, polvos, emulsiones, cápsulas, jarabes, o elixires por ejemplo. Las composiciones oralmente administradas pueden contener uno o más agentes, por ejemplo, agentes endulzantes
25 tal como fructosa, aspartamo, o sacarina; agentes saborizantes tal como hierbabuena, aceite de menta, o cereza; agentes colorantes, y agentes preservantes, para proporcionar una preparación farmacéuticamente agradable. En polvos, exportador puede ser un sólido finamente dividido, que está

en mezcla con el compuesto finamente dividido o sal farmacéuticamente aceptable del compuesto. En los comprimidos, el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del compuesto se mezcla con un portador que tiene las propiedades de compresión necesarias en proporciones adecuadas y compactada en la forma y tamaño deseado. Los polvos y comprimidos pueden contener hasta aproximadamente 99% del compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del compuesto.

10

Las cápsulas pueden contener mezclas de los compuestos o sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos con rellenos inertes y/o diluyentes tal como almidones farmacéuticamente aceptables (por ejemplo, almidón de maíz, papa, o tapioca) azúcares, agentes endulzantes artificiales, celulosas en polvo, tal como celulosa cristalina y microcristalina, harinas, gelatinas, gomas, etc.

15

Las formulaciones de comprimidos también se pueden hacer por compresión convencional, granulación en húmedo, o métodos de granulación en seco y utilizan diluyentes farmacéuticamente aceptables, aglutinantes, lubricantes, desintegrantes, agentes modificadores de superficie (que incluyen tensoactivos), agentes de suspensión o estabilizantes (que incluyen, pero no se limitan a, estearato de magnesio, ácido esteárico, lauril sulfato de sodio, talco, azúcares, lactosa, dextrina, almidón, gelatina, celulosa, metilcelulosa, celulosa microcristalina, carboximetilcelulosa de sodio, carboximetilcelulosa de calcio, polivinil pirrolidona, ácido

20

25

algínico, goma acacia, goma xantano, citrato de sodio, silicatos complejos, carbonato de calcio, glicina, sacarosa, sorbitol, fosfato de dicalcio, sulfato de calcio, lactosa, caolín, manitol, cloruro de sodio, ceras de baja fusión y

5 resinas de intercambio de ión. Agentes modificadores de superficie incluyen agentes modificadores de superficie aniónicos y no iónicos. Ejemplos representativos de agentes modificadores de superficie incluyen, pero no se limitan a poloxamer 188; cloruro de benzalconio, estearato de calcio,

10 alcohol cetostearilo, cera emulsificante cetomacrogol, ésteres de sorbitan, dióxido silicio coloidal, fosfatos, dodecilsulfato de sodio, silicato de aluminio magnesio, y trietanolamina.

15 Más aún, cuando hay una forma de comprimido o píldora, las composiciones se pueden cubrir para represar la desintegración y absorción en el tracto gastrointestinal, proporcionando por lo tanto una acción sostenida durante un periodo extendido de tiempo. Las membranas selectivamente

20 permeables que rodean un compuesto de acción osmóticamente activo o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto también son adecuadas para composiciones de administración oral. En estas últimas plataformas, el fluido del ambiente que rodea la cápsula se puede embeber al accionar el

25 compuesto, que se hincha para desplazar el agente o composición a través de una abertura. Estas plataformas de suministro pueden proporcionar un perfil de suministro del orden esencialmente cero opuesto a los perfiles elevados de formulaciones de liberación inmediata. Un material de retraso

en el tiempo tal como monoestearato de glicerol o estearato de glicerol también se pueden utilizar. Las composiciones orales pueden incluir excipientes estándares tal como manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina de sodio, celulosa, y carbonato de magnesio. En una modalidad, los excipientes son de grado farmacéutico.

En otra modalidad, el compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de fórmula I se puede formular para administración intravenosa. Típicamente, las composiciones para administración intravenosa comprenden amortiguador acuoso isotónico estéril. Cuando es necesario, las composiciones también pueden incluir un agente de solubilización. Las composiciones para administración intravenosa pueden incluir opcionalmente un anestésico local como lignocaína para reducir el dolor en el sitio de la inyección. Generalmente, los ingredientes se suministran ya sea separadamente o mezclados en una forma de dosificación unitaria, por ejemplo, como un polvo seco liofilizado o concentrado libre de agua en un contenedor sellado herméticamente tal como una ampolla o bolsa que indica la cantidad de agente activo. Cuando el compuesto o una sal farmacéuticamente del compuesto de Fórmula I se administra por infusión, esta se puede dispensar, por ejemplo, con una botella de infusión que contiene agua estéril grado farmacéutico o solución salina. Cuando el compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto se administra por inyección, una ampolla de agua estéril para inyección o

solución salina se puede proporcionar para que los ingredientes se puedan mezclar antes de administración.

En otra modalidad, el compuesto o sal farmacéuticamente
5 aceptable del compuesto de fórmula I se puede administrar
transdérmicamente a través del uso de un parche transdérmico.
Las administraciones transdérmicas incluyen administraciones
a través de la superficie del cuerpo y los recubrimientos
internos de los pasajes corporales que incluyen tejidos
10 epiteliales y de mucosa. Tales administraciones se pueden
llevar a cabo utilizando los compuestos actuales o las sales
farmacéuticamente aceptables de los compuestos, en lociones,
espumas, cremas, suspensiones, soluciones, parches y
supositorios (por ejemplo rectal o vaginal):

15

La administración transdérmica se puede lograr a través del
uso de un parche transdérmico que contiene el compuesto o sal
farmacéuticamente aceptable del compuesto y un portador que
es inerte al compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del
20 compuesto, no es tóxico a la piel, y permite el suministro
del agente para la absorción sistémica en el torrente
sanguíneo por vía de la piel. El portador puede tomar
cualquier número de formas tal como cremas, o ungüentos,
pastas, geles, o dispositivos oclusivos. Las cremas o
25 ungüentos pueden ser líquidos viscosos o emulsiones semi-
sólidas del tipo aceite en agua o agua en aceite. Las pastas
comprenden polvos absorbentes dispersos en petróleo o
petróleo hidrófilo que contiene el ingrediente activo también
pueden ser adecuados. Una variedad de dispositivos oclusivos

se puede utilizar para liberar el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del compuesto en el torrente sanguíneo. Tal como una membrana semi-permeable que cubre un reservorio que contiene el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del compuesto con o sin un portador, o una matriz que contiene el ingrediente activo.

Los compuestos o sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula I se pueden administrar rectalmente o vaginalmente en la forma de un supositorio convencional. Las formulaciones de supositorio se pueden hacer de materiales tradicionales, que incluyen manteca de cacao, con o sin la adición de ceras para alterar el punto de fusión del supositorio, y glicerinas. Las bases para supositorios solubles en agua, tal como polietilenglicoles de varios pesos moleculares, también se pueden utilizar.

El compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de Fórmula I se puede administrar mediante medios de liberación controlada o liberación sostenida o por dispositivos de suministro que se conocen por aquellos medianamente versados en la técnica. Tales formas de dosificación se pueden utilizar para proporcionar liberación sostenida o controlada de uno más ingredientes activos utilizando, por ejemplo, hidropropilmetil celulosa, otras matrices de polímeros, geles, membranas permeables, sistemas osmóticos, recubrimientos multi capa, micropartículas, liposomas, microesferas, o una combinación de estos para proporcionar el perfil de liberación deseado en proporciones

variantes. Las formulaciones de liberación sostenida o controlada adecuadas conocidas por aquellos expertos en la técnica, que incluyen aquellas descritas aquí, se pueden seleccionar fácilmente para uso con los ingredientes activos de la invención. La invención abarca así formas de dosificación unitaria sencillas para administración oral tal como, pero no limitado a, comprimidos, cápsulas, cápsulas de gel, y comprimidos oblongos que se adaptan para liberación controlada o sostenida.

10

En una modalidad, una composición de liberación sostenida o controlada comprende una cantidad mínima del compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de Fórmula I para tratar o evitar una infección bacteriana o enfermedad en una cantidad mínima de tiempo. Las ventajas de las composiciones de liberación sostenida o controlada incluyen actividad extendida de la droga, frecuencia de dosificación reducida, y obediencia incrementada por parte del paciente a ser tratado. Adicionalmente, las composiciones de liberación controlada sostenida pueden afectar favorablemente el tiempo del inicio de acción u otras características, tal como niveles sanguíneos del compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, y pueden así reducir la ocurrencia de efectos colaterales adversos.

25

Las composiciones de liberación sostenida o controlada pueden liberar inicialmente una cantidad del compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de Fórmula I que produce rápidamente el efecto profiláctico o terapéutico

deseado, y la liberación gradual y continua de otras cantidades del compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, para mantener este nivel de efecto terapéutico o profiláctico durante y un periodo de tiempo
5 extendido. Para mantener un nivel constante del compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de Fórmula I en el cuerpo, el compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de Fórmula I se puede liberar de la forma de dosificación en una proporción que reemplazará la
10 cantidad del compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto a ser metabolizado y extraído del cuerpo. La liberación sostenida o controlada de un ingrediente activo puede ser estimulada por varias condiciones, que incluye pero no se limita a, cambios en el pH, cambios en la temperatura,
15 concentración o disponibilidad de enzimas, concentración o disponibilidad de agua, u otras condiciones fisiológicas o compuestos.

En ciertas modalidades, la presente invención se dirige a
20 prodrogas de los compuestos o sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de Fórmula I. Varias formas o prodrogas se conocen en la técnica, por ejemplo, como se discute en Bundgaard (ed.), Design of Prodrugs, Elsevier 1985; Widder et al. (ed.), Methods in Enzymology, vol. 4, Academic Press 1985; Krogsgaard-Larsen et al. (ed.); "Design
25 y Application of Prodrugs", Textbook of Drug Design and Development, 1991, Chapter 5, 113-191; Bundgaard et al., Journal of Drug Delivery Reviews, 1992, 8, 1-38; Bundgaard et al., J. Pharmaceutical Sciences, 1988, 77, 285 et seq.; y

Higuchi y Stella (eds.), Prodrugs as Novel Drug Delivery Systems, American Chemical Society (1975).

La cantidad del compuesto o una sal farmacéuticamente
5 aceptable del compuesto de fórmula I es una cantidad que es
efectiva para tratar una enfermedad o infección bacteriana.
Adicionalmente, se pueden emplear opcionalmente ensayos in
Vitro o in vivo para ayudar a identificar los rangos de
dosificación óptimos. La dosificación precisa a ser empleada
10 también puede depender de la ruta de administración, la
afección, la seriedad de la afección a ser tratada, así como
también varios factores físicos relacionados con el individuo
a ser tratado, y pueden ser decididos de acuerdo con el
juicio de un médico. La dosificación equivalente se puede
15 administrar durante varios periodos de tiempo que incluyen,
pero no se limitan a, aproximadamente cada 2 horas,
aproximadamente cada 6 horas, aproximadamente cada 8 horas,
aproximadamente cada 12 horas, aproximadamente cada 24 horas,
aproximadamente cada 36 horas, aproximadamente cada 48 horas,
20 aproximadamente cada 72 horas, aproximadamente cada semana,
aproximadamente cada dos semanas, aproximadamente cada tres
semanas, aproximadamente cada mes, y aproximadamente cada dos
meses. El número y frecuencia de dosificación corresponde a
un curso completo de terapia que se determinará de acuerdo
25 con el juicio de un médico. Las cantidades de dosificación
efectivas descritas aquí se refieren a cantidades totales
administradas; esto es, si más de un compuesto o sal
farmacéuticamente aceptable del compuesto se administra, las

cantidades de dosificación efectivas corresponden a la cantidad total administrada.

La cantidad del compuesto o una sal farmacéuticamente
5 aceptable del compuesto de Fórmula I que es efectiva para
tratar una infección bacteriana o enfermedad variará
típicamente de aproximadamente 0.001 mg/kg a aproximadamente
250 mg/kg de peso corporal por día, en una modalidad, de
aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 250 mg/kg de peso
10 corporal por día, en otra modalidad, de aproximadamente 1
mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal por día, y
en otra modalidad, de aproximadamente 1 mg/kg a
aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal por día.

15 En una modalidad, la composición farmacéutica está en forma
de dosificación unitaria, por ejemplo, como un comprimido,
cápsula, polvo, solución, suspensión, emulsión, gránulo, o
supositorio. En tal forma, la composición se subdivide en
dosis unitarias que contienen cantidades apropiadas del
20 ingrediente activo; la forma de dosificación unitaria puede
ser composiciones empacadas, por ejemplo, polvos empacados,
frascos, ampollas, jeringas prellenadas o bolsas que contienen
líquidos. La forma de dosificación unitaria puede ser, por
ejemplo, una cápsula o comprimido en si mismo, o puede ser el
25 número apropiado de cualquiera de tales composiciones en
forma de empaque. Tal forma de dosificación unitaria puede
contener de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 250
mg/kg, y se puede dar en una dosificación única o dos o más
dosis divididas.

El compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de fórmula I se puede ensayar *in Vitro* o *in vivo* para la actividad terapéutica o profiláctica deseada antes de uso en humanos. Los sistemas de modelo animal se pueden utilizar para demostrar seguridad y eficacia.

Usos terapéuticos

10 En una modalidad, la invención suministra un método para tratar una enfermedad o infección bacteriana que comprende suministrar a un paciente en necesidad de este una cantidad efectiva de cefepime o una sal farmacéuticamente aceptable de este y un compuesto de Fórmula I o sal farmacéuticamente
15 aceptable o ésteres hidrolizables *in vivo* de estos.

En una modalidad, la invención suministra un método para tratar una enfermedad o infección bacteriana que comprende suministrar a un paciente en necesidad de este una cantidad
20 efectiva de un antibiótico β -lactama o una sal farmacéuticamente aceptable de este y un compuesto de Fórmula I o sal farmacéuticamente aceptable o ésteres hidrolizables *in vivo* de estos.

25 En otra modalidad, el método para tratar una enfermedad o infección bacteriana comprende co-administrar cefepime o una sal farmacéuticamente aceptable de este y el compuesto de fórmula I o sal farmacéuticamente aceptable o ésteres hidrolizables *in vivo* de estos. Por ejemplo, el compuesto de

fórmula I se puede proporcionar en conjunto con, antes, simultáneamente, o posteriormente al cefepime.

En otra modalidad, el método para tratar una enfermedad o
5 infección bacteriana comprende co-administrar un antibiótico β -lactama o una sal farmacéuticamente aceptable de este y el compuesto de fórmula I o sal farmacéuticamente aceptable o ésteres hidrolizables *in vivo* de estos. Por ejemplo, el compuesto de fórmula I en conjunto con, antes,
10 simultáneamente, o posteriormente al antibiótico β -lactama.

En una modalidad, la proporción de cefepime o sal farmacéuticamente aceptable de este al compuesto de fórmula I o sal farmacéuticamente aceptable de ésteres hidrolizables *in vivo* de estos es de aproximadamente 1:1 a aproximadamente
15 100:1 (p/p).

En una modalidad, la proporción de antibiótico β -lactama o sal farmacéuticamente aceptable de este con el compuesto de
20 fórmula I o sal farmacéuticamente aceptable de ésteres hidrolizables *in vivo* de estos es de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 100:1 (p/p).

En una modalidad, la proporción de cefepime o sal
25 farmacéuticamente aceptable de este con el compuesto de fórmula I o sal farmacéuticamente aceptable de ésteres hidrolizables *in vivo* de estos es de aproximadamente 1 :1 a aproximadamente 80:1; 1:1 a aproximadamente 70:1; 1 :1 a aproximadamente 60:1; de aproximadamente 1 :1 a

aproximadamente 50:1; 1 :1 a aproximadamente 40:1; de
 aproximadamente 1:1 a aproximadamente 30:1; de
 aproximadamente 1:1 a aproximadamente 20:1; de
 aproximadamente 1 :1 a aproximadamente 15:1; 1:1 a
 5 aproximadamente 14:1; 1:1 a aproximadamente 13:1; de
 aproximadamente 1:1 a aproximadamente 12:1; de
 aproximadamente 1:1 a aproximadamente 11 :1; de
 aproximadamente 1:1 a aproximadamente 10:1; de
 aproximadamente 1 :1 a aproximadamente 9:1; de
 10 aproximadamente 1 :1 a aproximadamente 8:1; de
 aproximadamente 1 : 1 a aproximadamente 7: 1; de
 aproximadamente 1 : 1 a aproximadamente 6: 1; de
 aproximadamente 1 : 1 a aproximadamente 5: 1; de
 aproximadamente 1:1 a aproximadamente 4:1; de aproximadamente
 15 1 :1 a aproximadamente 3:1; o de aproximadamente 1 :1 a
 aproximadamente 2:1 (p/p).

En una modalidad, la proporción de antibiótico β -lactama o
 sal farmacéuticamente aceptable de este con el compuesto de
 20 fórmula I o sal farmacéuticamente aceptable de ésteres
 hidrolizables *in vivo* de estos es de aproximadamente 1 :1 a
 aproximadamente 80:1; 1 :1 a aproximadamente 70:1; 1 :1 a
 aproximadamente 60:1; de aproximadamente 1 :1 a
 aproximadamente 50:1; 1:1 a aproximadamente 40:1; de
 25 aproximadamente 1:1 a aproximadamente 30:1; de
 aproximadamente 1:1 a aproximadamente 20:1; de
 aproximadamente 1:1 a aproximadamente 15:1; 1:1 a
 aproximadamente 14:1; 1 :1 a aproximadamente 13:1; de
 aproximadamente 1 :1 a aproximadamente 12:1; de

aproximadamente 1 :1 a aproximadamente 11 :1; de
aproximadamente 1 : 1 a aproximadamente 10: 1; de
aproximadamente 1 : 1 a aproximadamente 9:1; de
aproximadamente 1 : 1 a aproximadamente 8:1; de
5 aproximadamente 1 :1 a aproximadamente 7:1; de
aproximadamente 1 :1 a aproximadamente 6:1; de
aproximadamente 1 :1 a aproximadamente 5:1; de
aproximadamente 1:1 a aproximadamente 4:1; de aproximadamente
1:1 a aproximadamente 3:1; o de aproximadamente 1:1 a
10 aproximadamente 2:1 (p/p).

En una modalidad, la proporción de cefepime o sal
farmacéuticamente aceptable de este con el compuesto de
fórmula I o sal farmacéuticamente aceptable o ésteres
15 hidrolizables *in vivo* de estos es menor de aproximadamente
10:1 (p/p).

En una modalidad, la proporción de el antibiótico β -lactama o
sal farmacéuticamente aceptable de este con el compuesto de
20 fórmula I o sal farmacéuticamente aceptable o ésteres
hidrolizables *in vivo* de estos es menor de aproximadamente
10:1 (p/p).

En una modalidad, los métodos comprenden la administración
25 oral a un paciente.

En otra modalidad, los métodos comprenden administración
intravenosa a un paciente.

En una modalidad, los métodos de la presente invención son útiles para tratar una enfermedad o infección bacteriana que es resistente al cefepime.

- 5 En una modalidad, los métodos de la presente invención son útiles para tratar una enfermedad o infección bacteriana que es resistente al antibiótico β -lactama.

En una modalidad, los métodos de la presente invención son
10 útiles para tratar una enfermedad o infección bacteriana seleccionada de una infección de piel, una infección de estructura de piel, una infección intraabdominal, una infección de pie diabético, neumonía nosocomial, neumonía adquirida en hospital, o neutropenia febril.

15

En una modalidad, los métodos de la presente invención son útiles para tratar una enfermedad o infección bacteriana originada por Enterobacteriaceae, bastones gram negativos no-Enterobacteriaceae, pseudomonas aeruginosa, estafilococcus, o
20 estreptococcus.

Ejemplos

Ejemplo 1: determinación IC_{50} para el inhibidor Penem

25

La actividad inhibidora de la β -Lactamasa de los inhibidores penem se determina espectrofotométricamente como se describe por Bush et al, [Bush, K., Macalintal, C, Rasmussen, B. A., Lee, V. y Yang, Y. Antimicrobial Agents y Chemotherapy 1993,

37, 851]. La clase A homogéneamente purificada de β -lactamases TEM-1 de *E. coli* y Imi-1 de *Enterobacter cloacae*, enzima clase B CcrA de *Bacteroides fragilis* y enzima clase C AmpC de *Enterobacter cloacae* se emplean en el ensayo. Las

5 concentraciones de enzima para TEM-1, Lmi-1, CcrA y AmpC son 4.3, 7.1, 1.2 y 2.1 nM, respectivamente. Un amplio rango de concentraciones de inhibidor se preparan en 50 mM PO_4 , pH 7.0 para incluir los valores IC_{50} posibles. El sustrato utilizado para iniciar la reacción de enzima es nitrocefín en 50 $\mu\text{g/ml}$

10 en el mismo amortiguador como el inhibidor. Inicialmente la enzima y el inhibidor (20 μl cada uno) se preincuban durante 10 minutos a 25°C antes de la adición de 160 μl de volumen de nitrocefín. La proporción inicial de hidrólisis se monitorea durante 5 minutos a 495 nm utilizando un Molecular Devices

15 Spectra Max 250 con protocolo cinético del SoftMax Program. Las lecturas del Spectra Max 250 se exportan y se transfieren a Microsoft Excel. El porcentaje de inhibición de cada concentración de inhibidor se calcula basado en la actividad de enzima de control. La concentración de inhibidor que causa

20 una reducción de 50% en la actividad enzimática (IC_{50}) se determina gráficamente.

Tabla 1

Datos de inhibición de β-Lactamasa

Compuesto	IC ₅₀ (nM)			
	Clase-A		Clase-B	Clase-C
	TEM-1	Imi	Ccr	AmpC
Compuesto 1	0.4	7.8	66	4.8
Compuesto 2	0.6	20	230	2.2

Ejemplo 2: Pruebas de susceptibilidad anti-microbiana

Las actividades in vitro de los antibióticos se determinan mediante el método de dilución de micro caldo como se recomienda por el Comité Nacional para Estándares de Laboratorios clínicos (NCCLS). (NCCLS. 2000. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standards: M7-A5, vol. 19. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, PA). Mueller-Hinton II broth (MHBII) (BBL Cockeysville, MD), se utiliza para el procedimiento de prueba. Placas de microtítulo que contienen 50 µl por pozo de diluciones en serie de dos veces de cefepime combinado con una cantidad constante (4ug/ml) de un inhibidor B-lactamasa (concentración final) se inoculan con 50 µl de inoculum para producir una densidad apropiada (10⁵ CFU/ml) en 100 µl. Las placas se incuban durante 18 - 22 horas a 35°C en aire ambiente. La concentración inhibidora mínima (MIC) para todos los aislados se define como la concentración más baja de agente anti microbiano que inhibe completamente en crecimiento del organismo como se detecta por la vista sin

ayuda. Los datos MIC obtenidos mediante dicho procedimiento anterior se listan en la Tabla 2.

TABLA 2

5

Datos (µg/ml) de Concentración inhibidora mínima: Inc: 35°C
durante 18 horas

Método: Dilución de caldo

10

Medio: MHBII

Compuesto: Diluido en MHBII; 0.05ml / pozo

Inoc: Sistema de inoculación rápido; diluido 0.1 +
9.9; 0.05ml / pozo

Inc.: 35°C durante 18 hr

15

Organismo (enzima)		Clase β -lactamasa	Cefepime Control	Cefepime + 4 ug/mL	Cefepime Control	Cefepime + 4 ug/mL
			Compuesto 1		Compuesto 2	
5	1 E. coli ATCC 25922 (ninguno)	Ninguno	0.03	0.03	0.06	0.06
	2 E. coli GC 2804 (imp)	ninguno	0.03	<0.15	<0.15	<0.15
	3 E. coli GC 2844 (ninguno)	ninguno	0.06	0.06	0.06	0.06
	4 E. coli ATCC 35218 TEM-1	A	0.03	0.03	0.03	0.03
	5 E. coli GC 2847 (TEM-1)	A	0.12	0.06	0.06	0.06
10	6 E. coli LSU 80-8 GC 6265 TEM-1	A	0.06	0.03	0.12	0.06
	7 A. baumannii GC 7685 TEM-1	A	>16	16	>16	>16
	8 E. coli GC 1064 (TEM-10)	A (ESBL)	>16	0.06	>16	0.06
	9 E. coli GC 1995 (TEM-10)	A (ESBL)	8	0.06	16	0.03
	10 E. coli GC 2009 (TEM-10)	A (ESBL)	>16	0.12	>16	0.25
15	11 E. coli GC 2300 (TEM-2B)	A (ESBL)	16	0.25	16	0.25
	12 E. coli GC 2400 (TEM-43)	A (ESBL)	>16	0.50	>16	0.50
	13 E. coli GC 6368 (SHV-7)	A (ESBL)	1	0.03	2	0.06
	14 E. coli GC 2017 (TEM-10 + pl 6.3; B.1)	A (ESBL)	>16	0.12	>16	0.06
	15 E. coli GC 2021 (TEM-10 + pl 6.3)	A (ESBL)	16	0.12	8	0.12
20	16 K. pn GC 1510 (TEM-10)	A (ESBL)	0.50	0.06	2	0.03
	17 K. pn GC 1516 (TEM-26)	A (ESBL)	>16	0.25	>16	0.25
	18 K. pn GC 1827 (TEM-3)	A (ESBL)	2	0.03	4	0.06
	19 K. pn GC 1830 (SHV-2)	A (ESBL)	1	0.03	0.50	0.06
	20 K. pn GC 1832 (SHV-4)	A (ESBL)	2	0.06	2	0.06
25	21 K. pn GC 6639 (SHV-13)	A (ESBL)	>16	0.25	>16	0.12
	22 S. typhimurium GC 4197 CTX-M-5	A (ESBL)	>16	1	>16	0.25
	23 E. coli GC 1499 (TEM-4 + TEM-1)	A, A (ESBL)	>16	0.50	>16	1
	24 E. coli GC 1895 (TEM-1 + TEM-10)	A, A (ESBL)	>16	0.03	>16	0.03
	25 E. coli GC 2015 (TEM-10 + SHV-1)	A, A (ESBL)	>16	0.25	>16	0.12
	26 E. coli GC 2148 (TEM-1; SHV-7)	A, A (ESBL)	>16	0.12	>16	0.12
	27 E. coli GC 5901 (TEM-1 and SHV-8)	A, A (ESBL)	>16	4	>16	2
	28 E. coli GC 6260 (TEM-1 + SHV-5)	A, A (ESBL)	>16	0.03	>16	0.03
	29 K. pn GC 1507 (TEM-9 + SHV-1)	A, A (ESBL)	8	0.12	8	0.06
	30 K. pn GC 2006 (TEM-10 + SHV-1)	A, A (ESBL)	>16	0.12	8	0.25
	31 K. pn GC 6657 (TEM-1 + SHV-27)	A, A (ESBL)	0.12	0.12	0.12	0.06
	32 K. pn GC 6494 (TEM-1 + SHV-5)	A, A (ESBL)	4	0.12	2	0.12
	33 K. pn GC 3057 (CAZ-R; P/T-R)	A, A (ESBL)	>16	0.12	>16	0.12
	34 K. pn GC 1554 (TEM-1 + TEM-26 + SHV-1)	A, A (ESBL)	>16	0.25	8	0.12
	35 K. pn GC 1963 (TEM-10 + SHV-1 + SHV-ESBL)	A, A (ESBL)	>16	0.12	>16	0.25
	36 K. pn GC 6489 (TEM-1 + SHV-5 + SHV-7)	A, A (ESBL)	8	1	4	0.50
	37 K. pn GC 6651 (TEM-1 + SHV-1 + SHV-5)	A, A (ESBL)	8	0.12	4	0.12
	38 S. typhimurium GC 4198 SHV-1 CTX-M-5	A, A (ESBL)	>16	0.50	>16	0.50
	39 E. coli GC 2253 (IRT-2)	A (IRT)	0.03	0.03	0.06	0.03
	40 E. coli GC 2920 (IRT-2)	A (IRT)	0.06	0.06	0.06	0.06

	41 <i>E. coli</i> GC 2808 (Imt-1)	A (Cb'asa)	0.50	0.08	0.12	0.08
	42 <i>K. oxytoca</i> GC 7827 TEM-1 K1 KPC-2	A, A (Cb'asa)	>16	2	>16	2
	43 <i>K. pneumoniae</i> GC 7835 SHV-1, KPC2	A, A (Cb'asa)	>16	8	>16	4
	44 <i>K. pneumoniae</i> GC 7832 TEM-1 KPC-2, SHV-7, SHV-12	A, A (Cb'asa) A (ESBL)	>16	16	>16	>16
	45 <i>K. pneumoniae</i> GC 7836 TEM-1 KPC-2 SHV-12	A, A (Cb'asa) A (ESBL)	>16	16	>16	>16
5	46 <i>K. pneumoniae</i> GC 7845 TEM-30 TEM-1 KPC-2 SHV-12	A, A (Cb'asa) A (ESBL), A(IRT)	>16	>16	>16	>16
	47 <i>E. coli</i> GC 2805 (CcrA)	B	>16	>16	>16	>16
	48 <i>S. maltophilia</i> GC 1712 (L1)	B	>16	16	>16	16
	49 <i>A. baumannii</i> GC 7884 AmpC, AmpC	C	16	8	16	8
	50 <i>A. baumannii</i> GC 7687 AmpC	C	16	16	16	16
	51 <i>C. freundii</i> GC 4184 AmpC-inducible	C	1	0.08	1	0.12
	52 <i>C. freundii</i> GC 4187 AmpC establemente desrepresso	C	2	0.12	1	0.12
10	53 <i>C. freundii</i> PT 1499 AmpC establemente desrepresso	C	4	0.03	2	0.12
	54 <i>E. aerogenes</i> 1697-MP GC 7845 AmpC	C	0.25	0.08	0.25	0.03
	55 <i>E. cloacae</i> GC 1475 (P89)	C	2	0.12	2	0.12
	56 <i>E. cloacae</i> GC 1477 (AmpC)	C	4	0.25	2	0.25
	57 <i>E. cloacae</i> GC 1712 AmpC-inducible	C	0.12	0.12	0.12	0.12
	58 <i>E. cloacae</i> GC 1713 AmpC--constitutivo	C	8	0.12	8	0.12
	59 <i>E. cloacae</i> GC 4142 (AmpC)	C	>16	0.12	8	0.12
15	60 <i>E. cloacae</i> GC 6991 (AmpC)	C	0.50	0.50	1	0.50
	61 <i>E. cloacae</i> PT 1494 AmpC-inducible	C	0.25	0.08	0.25	0.08
	62 <i>E. cloacae</i> PT 197 AmpC establemente desrepresso	C	1	0.50	1	1
	63 <i>E. cloacae</i> PT 967 AmpC-inducible	C	0.12	0.08	0.12	0.12
	64 <i>E. coli</i> GC 2894 (AmpC)	C	2	0.08	4	0.08
	65 <i>E. coli</i> GC 2905 (P99)	C	2	0.08	1	0.08
	66 <i>E. coli</i> GC 6539 CMY-2	C	2	0.08	2	0.08
20	67 <i>K. pneumoniae</i> GC 7820 Act 1	C	0.25	0.25	0.50	0.25
	68 <i>K. pneumoniae</i> GC 7821 DHA 1	C	0.25	0.03	0.08	0.03
	69 <i>K. pneumoniae</i> GC 7822 Act 1	C	>16	0.50	>16	0.50
	70 <i>K. pneumoniae</i> GC 7823 Fox 5	C	0.50	0.12	1	0.12
	71 <i>K. pneumoniae</i> GC 7824 Fox 5	C	2	0.12	2	0.25
	72 <i>S. marcescens</i> GC 4132 (AmpC)	C	0.50	0.12	2	0.12
	73 <i>S. marcescens</i> GC 4132 AmpC establemente desrepresso	C	0.50	0.12	0.50	0.12

5	74 <i>S. marcescens</i> GC 4145 AmpC-inducible	C	1	0.12	0.50	0.25
	75 <i>S. marcescens</i> GC 4150 AmpC establemente desrepresado	C	2	0.25	1	0.25
	76 <i>S. marcescens</i> PT 488 AmpC establemente desrepresado	C	1	0.06	2	0.06
	77 <i>S. marcescens</i> PT 6003 AmpC establemente desrepresado	C	0.50	0.25	0.25	0.25
	78 <i>S. marcescens</i> PT 696 AmpC-inducible	C	0.25	0.06	0.50	0.06
	79 <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 AmpC-inducible	C	2	2	2	2
	80 <i>P. aeruginosa</i> GC 1763 AmpC-inducible	C	2	1	2	2
	81 <i>P. aeruginosa</i> GC 1764 (AmpC)	C	8	1	8	1
	82 <i>P. aeruginosa</i> GC 1764 AmpC -constitutivo	C	8	0.50	16	1
	83 <i>P. aeruginosa</i> GC 3153 AmpC-inducible	C	16	8	16	8
	84 <i>P. aeruginosa</i> GC 4161 AmpC establemente desrepresado	C	>16	16	>16	16
10	85 <i>P. aeruginosa</i> PT 8411 PTZ-R	C (Supuesto)	16	4	16	4
	86 <i>P. aeruginosa</i> PT 8503 PTZ-R	C (Supuesto)	8	2	8	2
	87 <i>P. aeruginosa</i> PT 9025 PTZ-R	C (Supuesto)	>16	16	>16	16
	88 <i>P. aeruginosa</i> PT 9236 PTZ-R	C (Supuesto)	>16	16	>16	16
	89 <i>P. aeruginosa</i> PT 9587 PTZ-R	C (Supuesto)	4	2	4	2
15	90 <i>A. baumannii</i> GC 7692 TEM-1, AmpC	A, C	>16	>16	>16	>16
	91 <i>C. freundii</i> GC 4171 TEM-1+ AmpC-inducible	A, C	4	0.06	4	0.06
	92 <i>E. coli</i> GC 2295 TEM-1+AmpC	A, C	0.50	0.12	0.50	0.12
	93 <i>Kpn</i> GC 3104 (MIR-1 + TEM-1)	A, C	0.50	0.50	1	0.50
	94 <i>Kpn</i> GC 6655 (TEM-1 + ACT-1)	A, C	2	0.12	4	0.12
	95 <i>E. aerogenes</i> GC 7036 TEM-24, AmpC-inducible	A (ESBL), C	2	0.06	4	0.06
	96 <i>E. aerogenes</i> GC 7039 TEM-4, AmpC-inducible	A (ESBL), C	16	0.03	>16	0.06
	97 <i>E. cloacae</i> GC 7052 SHV- 5, AmpC-inducible	A (ESBL), C	16	1	16	1
	98 <i>E. cloacae</i> GC 7065 TEM- 26, SHV-12 AmpC-inducible	A (ESBL), C	4	0.06	16	0.06
	99 <i>M. morganii</i> GC 1617 TEM-10 + AmpC-inducible	A (ESBL), C	0.25	0.12	0.25	0.12
20	100 <i>E. coli</i> GC 2149 (ACT-1; TEM-1 + pt 5.6)	A, A (ESBL), C	8	0.50	16	0.50
	101 <i>E. coli</i> GC 6187 (TEM-1 + SHV-7 + CMY-2)	A, A (ESBL), C	>16	4	>16	2
	102 <i>K. pneumoniae</i> GC 2825 Act 1 + 3 Adicional	A, A (ESBL), C	2	0.12	2	0.12

* PTZ-R Se refiere a resistencia piperacilina-tazobactam

5	103 K. pneumoniae GC 2520 Act 1 +3 Adicional	A, A (ESBL), C	8	1	8	1
	104 E. cloacae GC 705 ^A TEM-1, SHV-12 AmpC-inducible	A, A (ESBL), C	0.50	0.06	0.50	0.06
	105 K.pn GC 2391 (pl 5.4; 5.6; 7.6; 8.7 B- Lactamasas)	A, A (ESBL), C	18	0.60	4	0.50
	106 S. marcescens GC 1781 (Sme-1+AmpC)	A (Cb'ase), C	0.25	0.12	0.06	0.03
	107 E. coli GC 1430 OXA-1	D	4	0.08	2	0.08
	108 E. coli GC 1807 OXA-7	D	0.12	<0.015	0.25	0.03
	109 E. coli GC 2883 (OXA-10/PSE-2)	D	0.06	0.06	0.06	0.06
	110 E. coli GC 4871 OXA-1,TEM-1	A, D	2	0.12	4	0.12
	111 E. coli GAR 8849 TEM, OXA, CTX (por PCR solo)	A, A (ESBL), D	>16	1	>16	1
	112 E. coli GAR 5829 TEM, OXA, Act-1, CTX (por PCR solo)	A, C, D	>16	0.06	>16	0.12
10	113 A. baumannii GC 6060 IMI-R	PBP"	>16	>16	>16	>16
	114 A. baumannii GC 6061 IMI-R	PBP	>16	16	>16	16
	115 A. baumannii GC 6062 IMI-R	PBP	>16	>16	>16	>16
	116 A. baumannii PT 8321 PTZ-R	No determinado	>16	>16	>16	>16
	117 A. baumannii PT 9158 PTZ-R	No determinado	>16	16	>16	16
	118 A. baumannii PT 9444 PTZ-R	No determinado	>16	16	>16	16

Ejemplo 3: Protección anti-bacteriana in vivo

15

MATERIALES:

ANIMALES:

20 Cepa CD-1 de ratones hembra, aproximadamente 18 - 22 gramos, se reciben de, por ejemplo, Charles River Laboratories y se ponen en cuarentena 7 días antes de uso. Adicionalmente, los ratones se les puede dar neutropénicos utilizando Citoxan para estudios particulares.

25

INFECCIONES:

Aislados clínicos que se han adaptado para originar infección en ratones, se utilizan en el experimento, que incluyen

infecciones con cepas de *E. coli*, *K. pneumoniae*, *M. morganii*, *E. cloacae*, *S. marcescens*, *C. freundii*, staphylococci, streptococci, *P. aeruginosa* y *N. gonorrhoeae*.

- 5 PREPARACIÓN: Se alojan cinco Animales en una jaula con acceso libre a agua y alimento. De acuerdo con las directrices del NIH.

**PBP se refiere a proteína de unión a penicilina

10

PROTOCOLO EXPERIMENTAL:

Los ratones se exponen por inyección 0.5 ml intraperitonealmente o 0.05 ml intranasalmente de una
15 bacteria predeterminada inoculada suspendida en caldo de cultivo, solución salina o mucina gástrica de cerdo (complementada con hemoglobina bovina seca para *N. gonorrhoeae*). El inóculo bacteriano es equivalente a 10 - 100
LD₅₀ de la cepa infecciosa específica y resultará en la muerte
20 de los animales de control no tratados dentro de siete días: "Virulencia Bacteriana en Ratones". El Antibacteriano (concentración de dosis preparada por dos veces diluciones seriales del antibiótico) se disuelven o suspenden en 0.2% de agar acuoso o metocel, salina amortiguada con fosfato o un
25 adyuvante que se administra oralmente, subcutáneamente, o intravenosamente en la siguiente forma:

a) Oralmente o subcutáneamente: volumen de dosis de 0.5 ml administrado 1/2 hr después de infección. Una segunda

dosis se puede administrar 3 hr. Después de infección para tratamiento de infecciones con más organismos virulentos.

b) Intravenosamente: volumen de dosis de 0.2 ml, administrado $\frac{1}{2}$ hr. Después de infección. Para el tratamiento de infecciones con más organismos virulentos, más dosis, hasta 48 hr se pueden administrar. (La dosificación intravenosa no excederá periodo de 3 dosis/24 hr.)

c) Pre-tratamiento Oral: bajo circunstancias especiales, el pH del estómago necesita ser ajustado con el fin de incrementar la estabilidad gástrica del antibiótico. Para este propósito, 0.5 ml de salina amortiguada con fosfato (pH 7.8, 0.06 M) (o adyuvante aprobado específico) se administra oralmente 1/2 hr después de infección, seguido por 5 minutos después por 0.5ml de antibiótico (también oralmente) contenido en la Salina amortiguada con fosfato (pH 7.8, 0.06M).

ESPECIES ANIMALES

Una explicación detallada para el número de animales necesarios para la determinación de la eficacia *in vivo* sigue:

A) Se prueban antibióticos novedosos en 5 niveles de dosis diferentes con 5 ratones por nivel de dosis en cada una de las tres rutas de administración (oral, subcutánea e intravenosa). Inicialmente las tres rutas de

administración se deben investigar con el fin de determinar si la droga se absorbe oralmente y/o cual es la ruta más efectiva. Esto requeriría 25 ratones/ruta con tres rutas/antibiótico o 75 ratones por compuesto novedoso ensayado. Uno a dos antibióticos novedosos se probarán por experimento (75-150 ratones).

B) La efectividad del nuevo compuesto se debe comparar con aquella de un estándar, o antibiótico de efectividad conocida. Antibióticos conocidos probados previamente se ensayan en 5 niveles de dosis con 5 ratones por nivel de dosis mediante una ruta única de administración, para un total de 25 ratones/antibiótico. Usualmente, se probarán 3-6 antibióticos por experimento. (75-150 ratones).

c) Controles no tratados. En cada una de los anteriores ensayos, se infectan animales no tratados con tres concentraciones diferentes de inóculo bacteriano con 10 ratones por concentración (30 ratones en total en cada uno y todos los ensayos). Estos controles no tratados se utilizan para determinar y mantener el nivel de infección entre 10-100 LD50 según se requiere la comparación de prueba a prueba y validez.

25 DETERMINACIÓN DE EFECTOS PROTECTORES DE AGENTES ANTI-BACTERIANOS

Los efectos protectores de los agentes antibacterianos se miden mediante la supervivencia de los animales no tratados

comparado con los animales tratados. Para esta determinación, de observan animales durante 7 días después de tratamiento. Se hace un censo a los supervivientes dos veces diariamente y en ese tiempo se remueven los animales muertos y los moribundos. La proporción de supervivencia en el día 7 de tres pruebas separadas se agrupan para la estimación de una dosis efectiva media (ED50) mediante el programa computarizado para análisis probit (Cleeland, R. y E. Squires. 1991. Evaluation of New Antimicrobials in Vitro y in Experimental Animal Infections. In Antibiotics in Laboratory Medicine, 3rd. ed., edited by Victor Lorian. Williams y Wilkins Baltimore, Maryland, pp. 752 - 783). La prueba se desarrolla tres veces en días separados para proporcionar un número estadísticamente válido y para minimizar la variación en los resultados de ensayo sobre una base día a día y prueba a prueba.

Ejemplo 4: Síntesis de ácido (5R), (6Z)-6-(6,7-Dihidro-5H-pirrolo[1,2-alimidazol-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico, sal de sodio (Compuesto 1)

Etapa 1: 6,7-Dihidro-5H-pirrolo[1,2-a]imidazol-2-carbaldehído:

Se agrega 28% de metóxido de sodio (5.26 g) a una solución de EtOH (250 mL) de clorhidrato de 4,5-dihidro-3H-pirrol-2-ilamina (3.27 g) a temperatura ambiente. Después de agitar durante 5 min a temperatura ambiente, se agrega 2-bromo-3-

propoxi-propenal (5.79 g) a la mezcla a temperatura ambiente, luego la mezcla de reacción se agita durante 1 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se toma hasta secado *in vacuo*, y el residuo se disuelve en CHCl_3 (300 mL) y se agrega trietilamina (3.8 mL). La mezcla se calienta a reflujo durante 3 horas. La mezcla de reacción se enfría a temperatura ambiente, se lava con 50% de K_2CO_3 , se seca sobre K_2CO_3 anhidro, se filtra, y se evapora bajo presión reducida. El residuo se purifica con cromatografía de columna de gel de sílice, se eluye con CHCl_3 :acetona (2:1), y se obtiene 6,7-Dihidro-5H-pirrolo[1,2-a]imidazol-2-carbaldehído (41%, 1.51 g) como un sólido amarillo pálido.

^1H RMN (d, CDCl_3): δ 2.62-2.7 (m, 2H), 2.90-2.94 (m, 2H), 4.07 (t, 2H, $J = 7.2$ Hz), 7.59 (s, 1H), 9.80 (s, 1H).

Etapas 2: ácido (5R), (6S)-6-(6,7-Dihidro-5H-pirrolo[1,2-a]imidazol-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico, sal de sodio:

Se agrega 6,7-Dihidro-5H-pirrolo[1,2-a]imidazol-2-carbaldehído (1.36 g) a una solución de acetonitrilo seco (155 mL) de MgBr_2 anhidro (5.64 g) bajo una atmósfera de argón a temperatura ambiente. Una solución de THF seco (155 mL) de 4-nitro-bencil éster de ácido (5R, 6S)-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico (3.86 g) se agrega a la mezcla, se enfría -20°C , y se agrega Et_3N (4.18 mL) en una porción. El recipiente de reacción se cubre con lámina para aislarlo de la luz. La mezcla de reacción se agita durante 6 h a -20°C y se trata con anhídrido acético

(1.89 mL) y DMAP (370 mg) en una porción. La mezcla de reacción se calienta a 0° C y se agita durante 14.5 h at 0° C. La mezcla se diluye con acetato de etilo y se lava con solución acuosa de ácido cítrico 1 M, hidrógeno carbonato de sodio saturado, y solución salina. La capa orgánica se seca (MgSO₄) y se filtra. La almohadilla se lava con acetato de etilo, y el filtrado se concentra bajo presión reducida. El residuo se disuelve en THF (166 mL) y acetonitrilo (77 mL). Se agrega rápidamente polvo de Zn recientemente activado (23.2 g) con amortiguador de fosfato 0.5 M (pH 6.5, 243 mL). El recipiente de reacción se cubre con lámina para aislarlo de la luz. La mezcla de reacción se agita vigorosamente durante 2 h a temperatura ambiente, luego se filtra, se enfría 3° C, y NaOH se agrega 1 M para ajustar el pH a 8. El filtrado se lava con acetato de etilo y la capa acuosa se separa. Se agrega 1 M NaOH a la capa acuosa otra vez para ajustar el pH a 8. La mezcla resultante se concentra bajo alto vacío a 35° C. El concentrado se aplica a cromatografía de columna de resina Diaion HP-21 (20 mL, Mitsubishi Kasei Co. Ltd.). Después de adsorción, la columna se eluye con H₂O:MeCN (1:0 ~ 9:1) para dar las fracciones activas purificadas de ácido (5R), (6Z)-6-(6,7-Dihidro-5H-pirrolol[1,2-a]imidazol-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia--1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico, sal de sodio. Las fracciones combinadas se concentran bajo alto vacío a 35° C y se liofilizan para dar el compuesto del título como un sólido amorfo amarillo (681 mg, 24%, pH 7.8). pf 190° C (dec); ¹H RMN (d, D₂O): δ: 2.48-2.56 (m, 2H), 2.74-2.79 (m, 2H), 3.94-

3.99 (m, 2H), 6.47 (d, 1H, J= 0.7 Hz), 6.94 (s, 1 H), 6.95 (s, 1 H), 7.36 (s, 1 H); (M+H) 291.

Ejemplo 5: Preparación de ácido (5R), (6Z)-6-(5,6-Dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico, sal de sodio (Compuesto 2)

Etapas 1: Morfolin-3-ona

10 Morfolin-3-ona se prepara en el método de USP 5,349,045.

Etapas 2: Morfolin-3-tiona

Una mezcla de morfolin-3-ona (4.7 g) y reactivo Lawesson (10.3 g) en THF seco (94 mL) se calienta a reflujo durante 15 1.5 h. La mezcla de reacción se enfría a temperatura ambiente y el disolvente de reacción se remueve *in vacuo*. El residuo se aplica a cromatografía de columna de gel de sílice y se eluye con CHCl₃: metanol (50:1) para obtener un sólido amarillo. La recristalización del producto crudo a partir de 20 hexano:acetato de etilo da el compuesto del título (4.0 g, 72.2%) como un polvo amarillo.

¹H RMN (CDCl₃) δ 3.45 (t, 2H, J= 5.1 Hz), 3.91 (t, 2H, J = 5.1 Hz), 4.55 (s, 2H).

25 **Etapas 3: 5-Metiltio-3,6-dihidro-2H-[1,4]oxazina**

Una mezcla de morfolin-3-tiona (4.7 g) y yoduro de metilo (13 mL) en CH₂Cl₂ seco (140 mL) se agita a temperatura ambiente durante 15 h. La mezcla de reacción se filtra y el sólido se lava con CH₂Cl₂. El sólido se disuelve con 50% de solución

acuosa de K_2CO_3 (150 mL) y la capa acuosa se extrae con CH_2Cl_2 (8 x 100 mL). la capa CH_2Cl_2 combinada se seca ($MgSO_4$) y se filtra. El filtrado se concentra bajo presión reducida para suministrar el compuesto del título como un aceite amarillo (3.6 g, 67.8%). ^1H RMN ($CDCl_3$) δ 2.32 (s, 3H), 3.71-3.74 (m, 4H), 4.14-4.15 (m, 2H).

Etapas 4: clorhidrato de 3-iminomorfolin

Una mezcla de 5-metiltio-3,6-dihidro-2H-[1,4]oxazina (3.6 g) y cloruro de amonio (1.5 g) en etanol seco (136 mL) se calienta a reflujo durante 1 h. La mezcla de reacción se enfría a temperatura ambiente. El disolvente de reacción se remueve *in vacuo* y el título se obtiene como un sólido café pálido (3.6 g, 97.7%). ^1H RMN ($DMSO-d_6$) δ 3.34 (m, 2H), 3.86 (t, 2H, $J = 5.2$ Hz), 4.47 (s, 2H).

Etapas 5: 5,6-Dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazina-2-carbaldehído y 5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazina-3-carbaldehído

Una mezcla de 2-bromo-3-hidroxipropenal (4.1 g), monohidrato de ácido p-toluenesulfónico (52 mg) y 2-propanol (5.2 mL) en ciclohexano (42 mL) se azeotropiza hasta que la temperatura de vapor alcanza a 80° C. La mezcla de reacción se concentra bajo presión reducida. El residuo se disuelve en etanol seco (50 mL). Una mezcla de la solución de etanol seco (200 mL) de clorhidrato de 3-iminomorfolin (3.4 g) y se agrega 28% de solución de metanol de metilato de sodio (4.8 g) a

temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 2 h, y luego el disolvente de reacción se remueve *in vacuo*. El residuo se disuelve en cloroformo (125 mL) se agrega trietilamina (3.5 mL), luego la
5 mezcla de reacción se calienta a reflujo durante 2 h. La mezcla de reacción se enfría a temperatura ambiente y luego se concentra bajo presión reducida. El residuo se disuelve en diclorometano (300 mL) y se lava con 50% de solución acuosa K_2CO_3 (2 x 100 mL). La capa orgánica se seca ($MgSO_4$) y se
10 filtra. El filtrado se concentra bajo presión reducida. El residuo se aplica a cromatografía de columna de gel de sílice y se eluye con $CHCl_3$:acetona (4:1) para obtener el compuesto del título (sólido naranja pálido, 1.4 g, 36.3%) y el otro regioisómero. (sólido naranja pálido, 609 mg, 16.1%).

15 Producto deseado: ^1H RMN ($CDCl_3$) δ 4.08-4.15 (m, 4H), 4.88 (s, 2H), 7.58 (s, 1H), 9.85 (s, 1H). el regioisómero no deseado: ^1H RMN ($CDCl_3$) δ 4.06 (t, 2H, $J = 5.2$ Hz), 4.40 (t, 2H, $J = 5.2$ Hz), 4.90 (s, 2H), 7.75 (s, 1 H), 9.72 (s, 1H).

20 **Etapla 6: ácido (5R),(6Z)-6-(5,6-Dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico, sal de sodio**

Una solución de acetonitrilo (66 mL) de 5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1 -c][1 ,4]oxazina-2-carbaldehído (1.2 g) se agrega
25 a una solución de acetonitrilo seca (66 mL) de $MgBr_2$ (3.6 g) bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente luego la mezcla se agita durante 10 min. Una solución de THF seco (132 mL) de p-nitrobencil (5R, 6S)-6-bromopenem-3-carboxilato

(3.4 g) se agrega y la mezcla se enfría a -20°C , luego se agrega en una porción trietilamina (2.8 mL). El recipiente de reacción se cubre con lámina para aislarlo de la luz. La mezcla de reacción se agita durante 4 h a -20°C y se trata con 4-dimetilamino piridina (100 mg) y anhídrido acético (1.5 mL) en una porción. La mezcla de reacción se calienta a 0°C y se agita durante 18 h a 0°C . Se agrega 10% de solución de ácido cítrico (1 L) a la mezcla de reacción y la capa acuosa se extrae con acetato de etilo (3 x 500 mL). La capa orgánica combinada se lava con agua, hidrógeno carbonato de sodio saturado y solución salina, se seca (MgSO_4) y se filtra. El filtrado se concentra bajo presión reducida y se obtiene p-nitrobencil éster de ácido (5R)-6-[acetoxi-(5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico como sólido amorfo café.

Se agrega rápidamente polvo de Zn recientemente activado (14 g) con 0.5 mol/L amortiguador de fosfato (pH 6.5, 72 mL) a la solución de THF (72 mL) de p-nitrobencil éster de ácido (5R)-6-[acetoxi-(5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico. El recipiente de reacción se cubre con lámina para aislarlo de la luz. La mezcla de reacción se agita vigorosamente durante 2.5 h a temperatura ambiente. La solución de reacción se filtra a través de una almohadilla de Celita y la almohadilla se lava con agua (170 mL) y n-butanol (170 mL). La capa acuosa se separa y luego la capa orgánica se extrae con 0.5 mol/L de amortiguador de fosfato (pH 6.5, 2

x 50 mL). La capa acuosa combinada se concentra a 90 g, se
agrega 1 mol/L de NaOH para ajustar el pH a 7.5 y se aplica a
cromatografía de columna Diaion HP-21 resin (120 mL,
Mitsubishi Kasei Co. Ltd.). Después de adsorción, la columna
5 se eluye con agua y luego 5% de solución acuosa de
acetonitrilo. Las fracciones activas combinadas se concentran
bajo alto vacío a 35° C y se liofilizan para dar el título
como un sólido amorfo amarillo (756 mg, 29.1%). pf 130° C
(dec); ¹H RMN (DMSO-d₆) δ 3.98-4.01 (m, 2H), 4.04-4.07 (m,
10 2H), 4.74 (AB, 2H, J = 15.3, 22.9 Hz), 6.40 (d, 1 H, J= 0.8
Hz), 6.55 (s, 1H), 6.95 (d, 1H, J= 0.6 Hz), 7.54 (s, 1H); IR
(KBr) 3412, 1741, 1672, 1592, 1549 cm⁻¹; λ^{max} (H₂O) 304 nm.

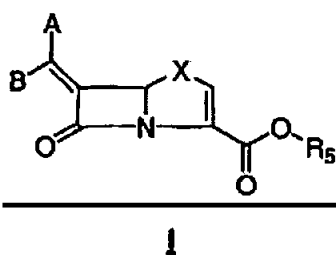
Mientras que las modalidades particulares de la presente
15 invención se han ilustrado y descrito, será obvio para
aquellos expertos en la técnica que varios otros cambios y
modificaciones se puedan hacer sin apartarse del espíritu y
el alcance de la invención. Por lo tanto, se propone cubrir en
las reivindicaciones adjuntas todos tales cambios y
20 modificaciones que están dentro del alcance de esta
invención.

REIVINDICACIONES

Lo que se reivindica es:

- 5 1. Un método para tratar una enfermedad o infección bacteriana que comprende administrar a un paciente en necesidad de este una cantidad efectiva de cefepime o una sal farmacéuticamente aceptable de este y compuesto de fórmula I

10



15

o una sal farmacéuticamente aceptable o éster hidrolizable *in vivo* de este, en donde:

uno de A y B denota hidrógeno y el otro de A y B denota un grupo heteroarilo bicíclico fusionado opcionalmente sustituido;

X es S o O;

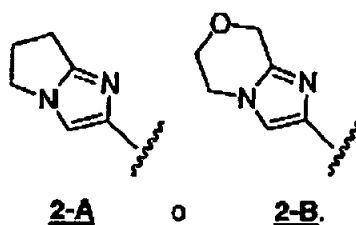
20

R₅ es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₅-C₆, o CHR₃OCOalquilo C₁-C₆; y

R₃ es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₅-C₆, arilo opcionalmente sustituido, o heteroarilo opcionalmente sustituido.

25

2. El método de la reivindicación 1, en donde el grupo heteroarilo bicíclico tiene la fórmula 2-A o 2-B:



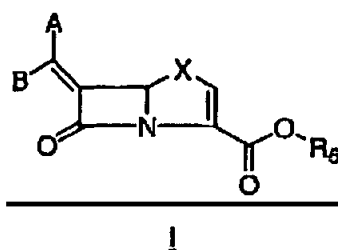
- 5 3. El método de la reivindicación 1, en donde el compuesto de fórmula I es ácido (5R), (6Z)-6-(6,7-dihidro-5H-pirrolo[1,2-a]imidazol-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico, sal de sodio; o ácido (5R), (6Z)-6-(5,6-Dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico, sal de sodio.
- 10
4. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, comprende coadministrar cefepime o una sal farmacéuticamente aceptable de este y el compuesto de fórmula I o sal farmacéuticamente aceptable o éster hidrolizable *in vivo* de este.
- 15
5. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la proporción de cefepime o una sal farmacéuticamente aceptable de este al compuesto de fórmula I o sal farmacéuticamente aceptable o éster hidrolizable *in vivo* de este es de aproximadamente 1:1 p/p a aproximadamente 100:1 p/p.
- 20
- 25
6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la proporción de cefepime o una sal farmacéuticamente aceptable de este al compuesto de fórmula I o sal farmacéuticamente aceptable o éster

hidrolizable *in vivo* de este es menos de aproximadamente 10:1 p/p.

7. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, comprende administrar oralmente a un paciente.

8. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, comprende administrar intravenosamente a un paciente.

9. Una composición que comprende un portador farmacéuticamente aceptable, cefepime o una sal farmacéuticamente aceptable de este, y un compuesto de Fórmula I.



o una sal farmacéuticamente aceptable o éster hidrolizable *in vivo* de este, en donde:

uno de A y B denota hidrógeno y el otro de A y B denota un grupo heteroarilo bicíclico fusionado opcionalmente sustituido; y

X, R₅, y R₃ son como se definió anteriormente para la reivindicación 1.

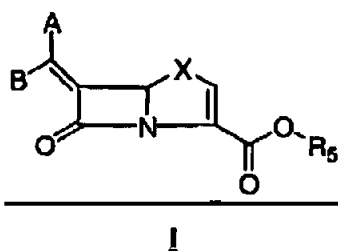
10. La composición de la reivindicación 9, en donde el grupo heteroarilo bicíclico tiene la fórmula **2-A** o **2-B**, como se definió anteriormente para la reivindicación 2.

11. La composición de la reivindicación 9, en donde el compuesto de fórmula I es ácido (5R), (6Z)-6-(6,7-Dihidro-5H-pirrolo[1,2-a]imidazol-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico, sal de sodio; o ácido (5R), (6Z)-6-(5,6-Dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico, sal de sodio.

12. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, en donde la proporción de cefepime o una sal farmacéuticamente aceptable de este al compuesto de fórmula I o sal farmacéuticamente aceptable o éster hidrolizable *in vivo* de este es de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 100:1 p/p.

13. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12, en donde la proporción de cefepime o una sal farmacéuticamente aceptable de este al compuesto de fórmula I o sal farmacéuticamente aceptable o éster hidrolizable *in vivo* de este es menos de aproximadamente 10:1 p/p.

14. Un empaque que comprende un portador farmacéuticamente aceptable, cefepime o una sal farmacéuticamente aceptable de este, un compuesto de fórmula I:

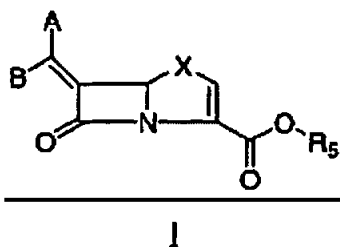


o una sal farmacéuticamente aceptable o éster hidrolizable *in vivo* de este, en donde:

uno de A y B denota hidrógeno y el otro de A y B denota un grupo heteroarilo bicíclico fusionado opcionalmente sustituido; y

X, R₅, y R₃ son como se definió anteriormente para la reivindicación 1; e instrucciones, en donde las instrucciones comprenden instrucciones para tratar una enfermedad o infección bacteriana.

15. Un producto que comprende cefepime o una sal farmacéuticamente aceptable de este y un compuesto de Fórmula I:



o una sal farmacéuticamente aceptable o éster hidrolizable *in vivo* de este, en donde:

uno de A y B denota hidrógeno y el otro de A y B denota un grupo heteroarilo bicíclico fusionado opcionalmente sustituido; y X, R₅, y R₃ son como se definió anteriormente para la reivindicación 1; como una preparación combinada para separación, administración secuencial o continua para tratar una enfermedad o infección bacteriana.

16. Uso de cefepime o una sal farmacéuticamente aceptable de este y un compuesto de Fórmula I:

INHIBIDORES DE 6-ALQUILIDENO-PENEME B-LACTAMASA BICÍCLICOS Y
COMBINACIÓN ANTIBIÓTICA DE β -LACTAMA: UN ANTIBIÓTICO DE
AMPLIO ESPECTRO

5 <http://www.wipo.int/ipdl/IPDL-IMAGES/PCT->

[IMAGES/08022007/US2006028948_08022007_gz_en.x4-b.jpg](http://www.wipo.int/ipdl/IPDL-IMAGES/PCT-IMAGES/08022007/US2006028948_08022007_gz_en.x4-b.jpg)

Resumen

La presente invención suministra un antibiótico β -lactama tal
10 como cefepime y un compuesto de Fórmula (I), composiciones
farmacéuticas y el uso de estas para el tratamiento de
infección bacteriana o enfermedad en un paciente en necesidad
de este.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

127

International application No

PCT/US2006/028948

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K31/424 A61K31/429 A61K31/546 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)

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, BIOSIS, CHEM ABS Data, WPI Data, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 03/093279 A (WYETH CORP [US]; VENKATESAN ARANAPAKAM MUDUMBAI [US]; • MANSOUR TAREK SU) 13 November 2003 (2003-11-13) cited in the application the whole document	1-16
Y	WEISS WILLIAM J ET AL: "In vitro and in vivo activities of novel 6-methylidene penems as beta-lactamase inhibitors" ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, vol. 48, no. 12, December 2004 (2004-12), pages 4589-4596, XP002405426 ISSN: 0066-4804 the whole document	1-16
	----- -/-	



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

3 November 2006

Date of mailing of the international search report

17/11/2006

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 851 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3018

Authorized officer

Bazzanini, Rita

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

128

International application No
PCT/US2006/028948

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	SANDERS CHRISTINE C ET AL: "Cefepime: The last generation or the first enhanced-potency broad spectrum cephalosporin?" CLINICAL DRUG INVESTIGATION, vol. 10, no. 6, 1995, pages 344-354, - XP008070824 ISSN: 1173-2563 the whole document	1-16
Y	JONES RONALD N: "Resistance patterns among nosocomial pathogens: Trends over the past few years" CHEST, vol. 119, no. 2 Suppl., February 2001 (2001-02), pages 397S-404S, XP002405428 ISSN: 0012-3692 cited in the application abstract tables 3,4 page 402S, right-hand column, paragraph 2	1-16
Y	WO 91/12815 A (SQUIBB BRISTOL MYERS CO [US]) 5 September 1991 (1991-09-05) claims 1,4,9,11	1-16

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2006/028948**Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)**

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

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although claims 1-8 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)

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

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

Information on patent family members

International application No

PCT/US2006/028948

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 03093279	A	13-11-2003	AU 2003231205 A1	17-11-2003
			BR 0309757 A	08-03-2005
			CA 2483538 A1	13-11-2003
			CN 1649883 A	03-08-2005
			EP 1499621 A1	26-01-2005
			JP 2005533017 T	04-11-2005
			MX PA04010663 A	20-04-2005
			NZ 536182 A	27-10-2006
WO 9112815	A	05-09-1991	AU 650262 B2	16-06-1994
			AU 7485691 A	18-09-1991
			CA 2076529 A1	24-08-1991
			CN 1054900 A	02-10-1991
			CZ 9100477 A3	14-04-1993
			EP 0516747 A1	09-12-1992
			FI 923747 A	20-08-1992
			HU 63567 A2	28-09-1993
			IE 910630 A1	28-08-1991
			IL 97344 A	31-12-1995
			JP 5506645 T	30-09-1993
			NZ 237202 A	26-01-1994
			OA 10059 A	14-10-1996
			US 5409898 A	25-04-1995

INTERNATIONAL COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT AND
THE WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL
SEARCHING AUTHORITY, OR THE DECLARATION

To:

WILMER CUTLER PICKERING HALE AND
DORR LLP
Attn. Superko, Colleen
60 State Street
Boston MA 02109
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

(PCT Rule 44.1)

Date of mailing
(day/month/year)

17/11/2006

Applicant's or agent's file reference

0036119.00198WO1

FOR FURTHER ACTION

See paragraphs 1 and 4 below

International application No.

PCT/US2006/028948

International filing date
(day/month/year)

26/07/2006

Applicant

WYETH

1. ☒ The applicant is hereby notified that the international search report and the written opinion of the International Searching Authority have been established and are transmitted herewith.

Filing of amendments and statement under Article 19:

The applicant is entitled, if he so wishes, to amend the claims of the International Application (see Rule 46):

When? The time limit for filing such amendments is normally two months from the date of transmittal of the International Search Report.

Where? Directly to the International Bureau of WIPO, 34 chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland, Facsimile No.: (41-22) 338.82.70

For more detailed instructions, see the notes on the accompanying sheet.

2. ☐ The applicant is hereby notified that no international search report will be established and that the declaration under Article 17(2)(a) to that effect and the written opinion of the International Searching Authority are transmitted herewith.
3. ☐ With regard to the protest against payment of (an) additional fee(s) under Rule 40.2, the applicant is notified that:
- ☐ the protest together with the decision thereon has been transmitted to the International Bureau together with the applicant's request to forward the texts of both the protest and the decision thereon to the designated Offices.
 - ☐ no decision has been made yet on the protest; the applicant will be notified as soon as a decision is made.

4. Reminders

Shortly after the expiration of **18 months** from the priority date, the international application will be published by the International Bureau. If the applicant wishes to avoid or postpone publication, a notice of withdrawal of the international application, or of the priority claim, must reach the International Bureau as provided in Rules 90bis.1 and 90bis.3, respectively, before the completion of the technical preparations for international publication.

The applicant may submit comments on an informal basis on the written opinion of the International Searching Authority to the International Bureau. The International Bureau will send a copy of such comments to all designated Offices unless an international preliminary examination report has been or is to be established. These comments would also be made available to the public but not before the expiration of 30 months from the priority date.

Within **19 months** from the priority date, but only in respect of some designated Offices, a demand for international preliminary examination must be filed if the applicant wishes to postpone the entry into the national phase **until 30 months** from the priority date (in some Offices even later); otherwise, the applicant must, **within 20 months** from the priority date, perform the prescribed acts for entry into the national phase before those designated Offices.

In respect of other designated Offices, the time limit of **30 months** (or later) will apply even if no demand is filed within 19 months.

See the Annex to Form PCT/IB/301 and, for details about the applicable time limits, Office by Office, see the *PCT Applicant's Guide*, Volume II, National Chapters and the WIPO Internet site.

Name and mailing address of the International Searching Authority

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

Authorized officer

Joëlle Gerber

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference 0036119.00198WO1	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US2006/028948	International filing date (day/month/year) 26/07/2006	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 27/07/2005
Applicant WYETH		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 5 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the language, the international search was carried out on the basis of:

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

b. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☒ Certain claims were found unsearchable (See Box No. II)

3. ☐ Unity of invention is lacking (see Box No. III)

4. With regard to the title,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the abstract,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the drawings,

- a. the figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No. _____
☐ as suggested by the applicant
☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

133

International application No

PL., US2006/028948

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K31/424 A61K31/429 A61K31/546 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)

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, BIOSIS, CHEM ABS Data, WPI Data, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 03/093279 A (WYETH CORP [US]; - VENKATESAN ARANAPAKAM MUDUMBAL [US]; MANSOUR TAREK SU) 13 November 2003 (2003-11-13) cited in the application the whole document	1-16
Y	WEISS WILLIAM J ET AL: "In vitro and in vivo activities of novel 6-methylidene penems as beta-lactamase inhibitors" ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, vol. 48, no. 12, December 2004 (2004-12), pages 4589-4596, XP002405426 ISSN: 0066-4804 the whole document	1-16



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

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

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

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

Z document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

3 November 2006

Date of mailing of the international search report

17/11/2006

Name and mailing address of the ISA/

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

Authorized officer

Bazzanini, Rita

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

134

International application No
PCT, US2006/028948

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	SANDERS CHRISTINE C ET AL: "Cefepime: The last generation or the first enhanced-potency broad spectrum cephalosporin?" CLINICAL DRUG INVESTIGATION, • vol. 10, no. 6, 1995, pages 344-354, XP008070824 ISSN: 1173-2563 the whole document -----	1-16
Y	JONES RONALD N: "Resistance patterns among nosocomial pathogens: Trends over the past few years" CHEST, vol. 119, no. 2 Suppl., February 2001 (2001-02), pages 397S-404S, XP002405428 ISSN: 0012-3692 cited in the application abstract tables 3,4 page 402S, right-hand column, paragraph 2 -----	1-16
Y	WO 91/12815 A (SQUIBB BRISTOL MYERS CO [US]) 5 September 1991 (1991-09-05) claims 1,4,9,11 -----	1-16

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. PCT/US2006/028948
--

Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

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

- ☒ Claims Nos.:
 because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
 Although claims 1-8 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
- ☐ Claims Nos.:
 because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
- ☐ Claims Nos.:
 because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

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

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

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PL., US2006/028948

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 03093279	A	13-11-2003	AU 2003231205 A1	17-11-2003
			BR 0309757 A	08-03-2005
			CA 2483538 A1	13-11-2003
			CN 1649883 A	03-08-2005
			EP 1499621 A1	26-01-2005
			JP 2005533017 T	04-11-2005
			MX PA04010663 A	20-04-2005
			NZ 536182 A	27-10-2006

WO 9112815	A	05-09-1991	AU 650262 B2	16-06-1994
			AU 7485691 A	18-09-1991
			CA 2076529 A1	24-08-1991
			CN 1054900 A	02-10-1991
			CZ 9100477 A3	14-04-1993
			EP 0516747 A1	09-12-1992
			FI 923747 A	20-08-1992
			HU 63567 A2	28-09-1993
			IE 910630 A1	28-08-1991
			IL 97344 A	31-12-1995
			JP 5506645 T	30-09-1993
			NZ 237202 A	26-01-1994
			OA 10059 A	14-10-1996
			US 5409898 A	25-04-1995

PATENT COOPERATION TREATY

137

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

see form PCT/ISA/220

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY (PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing
(day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference
see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No.
PCT/US2006/028948

International filing date (day/month/year)
26.07.2006

Priority date (day/month/year)
27.07.2005

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. A61K31/424 A61K31/429 A61K31/546 A61K31/43 A61P31/04

Applicant
WYETH

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

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

2. FURTHER ACTION

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

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

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

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

Name and mailing address of the ISA:



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

Date of completion of
this opinion

see form
PCT/ISA/210

Authorized Officer

Bazzanini, Rita

Telephone No. +31 70 340-2970



WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

138
International application No.
PCT/US2006/028948

Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:
 - ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1 (b)).
2. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of:
 - a. type of material:
 - ☐ a sequence listing
 - ☐ table(s) related to the sequence listing
 - b. format of material:
 - ☐ on paper
 - ☐ in electronic form
 - c. time of filing/furnishing:
 - ☐ contained in the international application as filed.
 - ☐ filed together with the international application in electronic form.
 - ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.
3. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
4. Additional comments:

Box No. II Priority

1. ☒ The validity of the priority claim has not been considered because the International Searching Authority does not have in its possession a copy of the earlier application whose priority has been claimed or, where required, a translation of that earlier application. This opinion has nevertheless been established on the assumption that the relevant date (Rules 43bis.1 and 64.1) is the claimed priority date.
2. ☐ This opinion has been established as if no priority had been claimed due to the fact that the priority claim has been found invalid (Rules 43bis.1 and 64.1). Thus for the purposes of this opinion, the international filing date indicated above is considered to be the relevant date.
3. Additional observations, if necessary:

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

139
International application No.
PCT/US2006/028948

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

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

- ☐ the entire international application
- ☒ claims Nos. 1-8 (with respect to industrial application); 1,2,4-10,12-16 (all partially)

because:

- ☒ the said international application, or the said claims Nos. 1-8 with respect to industrial application (Rule 67.1(iv) PCT) relate to the following subject matter which does not require an international search (*specify*)

see separate sheet

- ☒ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. 1,2,4-10,12-16 (partially) are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

see separate sheet

- ☒ the claims, or said claims Nos. 1,2,4-10,12-16 (partially) are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

see separate sheet

- ☒ no international search report has been established for the whole application or for said claims Nos. 1,2,4-10,12-16 (partially)

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

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

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

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

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

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

- ☒ See Supplemental Box for further details

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

140
International application No.
PCT/US2006/028948

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

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	1-16
	No: Claims	-
Inventive step (IS)	Yes: Claims	-
	No: Claims	1-16
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	9-16
	No: Claims	1-8

2. Citations and explanations

see separate sheet

Re Item III.

- III.1. Present claims 1,2,4-10,12-16 have been the object of an incomplete search. In fact, present claims 1,2,4-10,12-16 relate to compounds which are not well defined. The use of the expression "*in vivo* hydrolysable esters" referred to the compounds of formula (I) is an attempt to define the subject-matter in terms of a result to be achieved, thus leading to a lack of clarity within the meaning of Article 6 PCT. Moreover, no support at all within the meaning of Article 6 PCT and disclosure within the meaning of Article 5 PCT is provided in the description. Therefore, the search of present claims 1,2,4-10,12-16 has been limited to the compounds of formula (I), the specific compounds of claim 3 and 11 and their pharmaceutically acceptable salts, in combination with cefepime, in relation to the treatment of a bacterial infection or disease.
- III.2. The Applicant's attention is drawn to the fact that the present opinion expressed as to the novelty, inventive step and industrial applicability refers only to the matter for which an International Search Report has been drawn up.
- III.3. Claims 1-8 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).

Re Item V.

Reference is made to the following documents:

- D1: WO 03/093279 A (WYETH CORP [US]; VENKATESAN ARANAPAKAM MUDUMBAI [US]; MANSOUR TAREK SU) 13 November 2003 (2003-11-13) cited in the application
- D2: WEISS WILLIAM J ET AL: "In vitro and in vivo activities of novel 6-methylidene penems as beta-lactamase inhibitors" ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, vol. 48, no. 12, December 2004 (2004-12), pages 4589-4596, XP002405426 ISSN: 0066-4804
- D3: SANDERS CHRISTINE C ET AL: "Cefepime: The last generation or the first enhanced-potency broad spectrum cephalosporin?" CLINICAL DRUG INVESTIGATION, vol. 10, no. 6, 1995, pages 344-354, XP008070824 ISSN: 1173-2563
- D4: JONES RONALD N: "Resistance patterns among nosocomial pathogens: Trends over the past few years" CHEST, vol. 119, no. 2 Suppl., February 2001 (2001-02), pages

397S-404S, XP002405428 ISSN: 0012-3692 cited in the application
D5: WO 91/12815 A (SQUIBB BRISTOL MYERS CO [US]) 5 September 1991 (1991-09-05)

V-1. Novelty

The present application appears to meet the criteria of Article 33(1) PCT, because the subject-matter of claims 1-16 is new in the sense of Article 33(2) PCT.

None of the cited documents D1-D5 disclose the combination of cefepime with a compound of formula (I).

V-2. Inventive step

The present application does not meet the criteria of Article 33(1) PCT, because the subject-matter of claims 1-16 does not involve an inventive step in the sense of Article 33(3) PCT.

V-2.1. The problem to be solved by present application is the provision of a beta-lactam antibiotic composition comprising cefepime for the treatment of bacterial infections caused by beta-lactamase producing, resistant strains.

V-2.2. The provided solution is the use of cefepime in combination with a beta-lactamase inhibitor selected from the bicyclic 6-alkylidene penems of formula I and in particular the two specific compounds identified in present claim 3.

V-2.3. The present technical problem could only be taken into account if it could be accepted as having been solved, i.e. if it would be credible that the claimed compounds possessed the claimed activity over the whole of the claimed subject-matter. However, from the data of antimicrobial susceptibility testing provided in Table 2 it would seem that the combination of cefepime with the preferred compounds 1 or 2, does not overcome the resistance of ALL of the bacterial strains tested. This is self-evident, for example, for certain bacterial strains such as *K. pneumoniae* (cf. n. 43-46,67,93), *E. Choli* (47,101), *S. maltophilia* (48), *a. baumannii* (7,49,50,90), *E. cloacae* (60,62), *P. aeruginosa* (79,80,83-89).

Therefore, no inventive step is acknowledged for the subject-matter of present claims 1-16.

V-2.4. The combination of compounds or approaches for the treatment of a disease is a matter of common practice when said compounds or approaches are already separately known to possess an activity in the treatment of that disease.

D1 discloses the bicyclic 6-alkylidene penems possessing the same Markush of formula (I) of present application and also the same specific compounds of present

claim 3 (cf. compounds of examples 6 and 7) as inhibitors of beta-lactamase for use in the treatment of bacterial infections. The combinations of these compounds with beta-lactam antibiotics, e.g. piperacillin (cf. Tables 1 and 2), amoxycillin, ticarcillin, benzylpenicilins, ampicillin, sulbenicillin, cefatrizine, cephaloridine, cephalotin, cefazolin, cephalexin, cephradine, aztreonam and latamoxef, results in an increased antibacterial activity (synergy).

D2 discloses compound B and D reported in Fig 1, which correspond to the preferred compounds of present application (cf. claim 3 of present application). They are shown to be more active than other known beta-lactamase inhibitors such as tazobactam, and their combination with piperacillin shows an increase in the activity of this antibiotic against a number of resistant bacterial strains (cf. Tables 1-6).

Therefore, the bicyclic 6-alkylidene penems of formula I are already known from D1 and D2 for their synergistic effect against resistant bacteria when administered in combination with beta-lactam antibiotics.

On the other hand, cefepime is a well known fourth-generation cephalosporin endowed with a broad spectrum activity (cf. D3) also possessing good activity against resistant organisms, covering methicillin-susceptible staphylococci, most streptococci, nearly all enterobacteriaceae, and significant number of *P. aeruginosa*, *S. maltophilia*, and *acinetobacter* (cf. D4). Compositions for the treatment of bacterial infections comprising cefepime in combination with other active compounds are also known (cf. D5).

Therefore, cefepime is already known from D3-D5 for its antibacterial properties.

V-2.4. Document D2 is considered to represent the closest prior art. In fact, it discloses the combination of compounds a-G (falling within the definition of the Markush formula (I) given in present application) with a beta-lactam antibiotic, i.e. piperacillin, and it shows the synergistic effect of said combination against resistant bacterial strains.

The difference between D2 and present application is that in D2 piperacilline is used instead of cefepime.

In view of D2, therefore, the problem to be solved might be seen as the provision of an alternative to piperacillin in the synergistic combination disclosed by D2.

D4 is a study on the resistance patterns among nosocomial pathogens. The susceptibility of certain resistant bacterial strains to a number of antimicrobials is evaluated and compared, including both piperacillin and cefepime. The study concludes that some antimicrobials possess a good activity against resistant

organisms. For example, piperacillin/tazobactam and cefepime cover methicillin-susceptible staphylococci, most streptococci, nearly all enterobacteriaceae, significant numbers of P-aeruginosa as well as other bacteria (cf page 402S, right-hand column, paragraph 2).

Therefore, when faced with the problem of finding an alternative to piperacillin in the combination disclosed by D2, the skilled person with the knowledge of D4 would, without any inventive effort, attempt to use cefepime, by virtue of its good antimicrobial spectrum against resistant strains, with good expectation of success.

Therefore, no inventive step is acknowledged to the subject-matter of claims 1-16.

V-2.4. A similar reasoning can be done when considering document D1 as the closest prior art, wherein the synergistic effect between the beta-lactamase inhibitors of formula (I) and a number of beta-lactam antibiotics, including both penicillins and cephalosporins is disclosed (cf. page 27, lines 8-19).

In view of D1, therefore, the problem to be solved might be seen as the provision of an alternative to the penicillins and cephalosporins mentioned in D1 in the synergistic combination with the compounds of formula (I).

D3 is a review providing an extensive comparison between cefepime and other beta-lactam antibiotics (cf. Tables I-III). Compared to the other beta-lactam antibiotics, cefepime is shown to possess a greater activity against Gram-negative beta-lactam resistant bacteria; to have a lower affinity for beta-lactamases; and to penetrate more rapidly into the bacterial cells.

Therefore, when faced with the problem of finding an alternative to the beta-lactam antibiotics in the combination disclosed by D1, the skilled person with the knowledge of D3 would, without any inventive effort, attempt to use cefepime, by virtue of its good antimicrobial spectrum against resistant strains, with good expectation of success.

Therefore, no inventive step is acknowledged to the subject-matter of claims 1-16.

V-3. Industrial application

For the assessment of the present claims 1-8 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

PATENT COOPERATION TREATY

146
WO 2007/016134
PCT/US2006/028948

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

To:

SUPERKO, Colleen
WILMER CUTLER PICKERING HALE AND DORR
LLP
60 State Street
Boston, MA 02109
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing (day/month/year) 08 February 2007 (08.02.2007)	
Applicant's or agent's file reference 0036119.0019	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/US2006/028948	International filing date (day/month/year) 26 July 2006 (26.07.2006)
International publication date (day/month/year) 08 February 2007 (08.02.2007)	Priority date (day/month/year) 27 July 2005 (27.07.2005)
Applicant WYETH et al	

- By means of this Form, which replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents, the applicant is hereby notified of the date of receipt by the International Bureau of the priority document(s) relating to all earlier application(s) whose priority is claimed. Unless otherwise indicated by the letters "NR", in the right-hand column or by an asterisk appearing next to a date of receipt, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
- (If applicable) The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which, on the date of mailing of this Form, had not yet been received by the International Bureau under Rule 17.1(a) or (b). Where, under Rule 17.1(a), the priority document must be submitted by the applicant to the receiving Office or the International Bureau, but the applicant fails to submit the priority document within the applicable time limit under that Rule, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
- (If applicable) An asterisk (*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b) (the priority document was received after the time limit prescribed in Rule 17.1(a) or the request to prepare and transmit the priority document was submitted to the receiving Office after the applicable time limit under Rule 17.1(b)). Even though the priority document was not furnished in compliance with Rule 17.1(a) or (b), the International Bureau will nevertheless transmit a copy of the document to the designated Offices, for their consideration. In case such a copy is not accepted by the designated Office as the priority document, Rule 17.1(c) provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

Priority date	Priority application No.	Country or regional Office or PCT receiving Office	Date of receipt of priority document
27 July 2005 (27.07.2005)	60/702,809	US	25 September 2006 (25.09.2006)

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

Authorized officer

Yoshiko Kuwahara

Facsimile No. +41 22 338 82 70

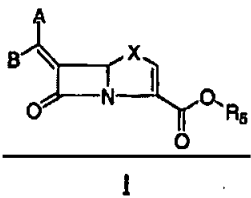
Facsimile No. +41 22 338 90 84

Telephone No. +41 22 338 91 76

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT		147	
(21) N° de solicitud:		(51) Int Cl: A61K 31/424, A61K 31/429, A61K 31/43, A61K 31/546, A61P 31/04			
22) Fecha de solicitud:		(71) Solicitante(s) WYETH			
(30) Prioridad	(31) No. 60702,809	32) Fecha 27/07/2005	(33) País US	(72) Inventor(es) MANSOUR, Tarek S. VENKATESAN, Aranapakam M. y Otros	
				(74) Apoderado: ALVARO CORREA ORDOÑEZ	
(85) Fecha limite inicio fase nacional: 27/02/08		(87) Publicación internacional			
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT		Fecha: 08/02/2007			
Fecha de presentación de la solicitud: 26/07/2006		N° publicación: WO/2007/016134			
No. de solicitud PCT/US2006/028948					
(54) Titulo: INHIBIDORES DE 6-ALQUILIDENO-PENEME B-LACTAMASA BICÍCLICOS Y COMBINACIÓN ANTIBIÓTICA DE β-LACTAMA: UN ANTIBIÓTICO DE AMPLIO ESPECTRO					

Reivindicación(es):

1. Un método para tratar una enfermedad o infección bacteriana que comprende administrar a un paciente en necesidad de este una cantidad efectiva de cefepime o una sal farmacéuticamente aceptable de este y compuesto de fórmula I



o una sal farmacéuticamente aceptable o éster hidrolizable in vivo de este, en donde:
uno de A y B denota hidrógeno y el otro de A y B denota un grupo heteroarilo bicíclico fusionado opcionalmente sustituido;
X es S o O;
R5 es hidrógeno, alquilo C1-C6, cicloalquilo C5-C6, o CHR3OCOalquilo C1-C6; y
R3 es hidrógeno, alquilo C1-C6, cicloalquilo C5-C6, arilo opcionalmente sustituido, o heteroarilo opcionalmente sustituido.



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

TARJETA ARCHIVO PROPIETARIOS

118

SUPERINTENDENCIA PATENTE DE INVENCION ☐ PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD ☐ DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(21) N° de solicitud:

(22) Fecha de solicitud:

(51) Clasificación Internacional : A61K 31/424, A61K 31/429, A61K 31/43, A61K 31/546, A61P 31/04

(71) Solicitante(s)

WYETH

(72) Inventor(es) MANSOUR, Tarek S.; VENKATESAN, Aranapakam M.; BRADFORD, Patricia; PETERSEN, Peter J. y PROJAN, Steven J.

(74) Apoderado: ALVARO CORREA ORDOÑEZ

(30) Prioridad

(31) **No. Prioridad**

(32)

Fecha

(33) **País**

60/702,809

27/07/2005

US

(85) Fecha inicio fase nacional: 27/02/08

(87) Publicación internacional

(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT

Fecha: 08/02/2007

Fecha de presentación de la solicitud: 26/07/2006

N° publicación: WO/2007/016134

No. de solicitud: PCT/US2006/028948

Título: INHIBIDORES DE 6-ALQUILIDENO-PENEME B-LACTAMASA BICÍCLICOS Y COMBINACIÓN ANTIBIÓTICA DE β-LACTAMA: UN ANTIBIÓTICO DE AMPLIO ESPECTRO



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

TARJETA ARCHIVO TEMATICO

149

SUPERINTENDENCIA PATENTE DE INVENCION _____ PCT X MODELO DE UTILIDAD _____ DISEÑO INDUSTRIAL _____

(21) N° de solicitud:

(22) Fecha de solicitud:

(51) Clasificación Internacional : A61K 31/424, A61K 31/429, A61K 31/43, A61K 31/546, A61P 31/04

(71) Solicitante(s)

WYETH

(72) Inventor(es) MANSOUR, Tarek S.; VENKATESAN, Aranapakam M.; BRADFORD, Patricia; PETERSEN, Peter J. y PROJAN, Steven J.

(74) Apoderado: ALVARO CORREA ORDOÑEZ

(30) Prioridad

(31) No. Prioridad

32)

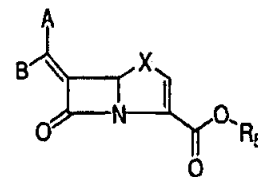
Fecha

(33) País

60/702,809

27/07/2005

US



(I)

(85) Fecha límite inicio fase nacional: 27/02/08

(86) Datos relativos a la presentación de la solíc. PCT

Fecha de presentación de la solicitud: 26/07/2006

No. de solicitud PCT/US2006/028948

(87) Publicación internacional:

Fecha: 08/02/2007

No. Publicación : WO/2007/016134

(54) Título: INHIBIDORES DE 6-ALQUILIDENO-PENEME B-LACTAMASA BICÍCLICOS Y COMBINACIÓN ANTIBIÓTICA DE β -LACTAMA: UN ANTIBIÓTICO DE AMPLIO ESPECTRO

(57) Resumen:

La presente invención suministra un antibiótico β -lactama tal como cefepime y un compuesto de Fórmula (I), composiciones farmacéuticas y el uso de estas para el tratamiento de infección bacteriana o enfermedad en un paciente en necesidad de este.



Industria y Comercio

SUPERINTE

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-007859- -00000-0000

Fecha: 2008-01-28 16:12:30 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTE/II Eve: 378 FASENACIONAL
Act. 411 PRESENTACION Folios: 149

Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones

REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACIÓN Y AGILIZACIÓN DEL TRAMITE

	USUARIO	RADICADOR
PATENTE DE INVENCION (~~X~~) MODELO DE UTILIDAD ()	()	(☒)
-Indicación de que se solicita la concesión de una patente.	(~~X~~)	(☒)
-Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.	(~~X~~)	(☒)
-Descripción de la invención.	(~~X~~)	(☒)
-Dibujos de ser estos pertinentes.	()	()
-Comprobante de Pago de las tasas establecidas.	(~~X~~)	(☒)
COMPLETA (☒)	INCOMPLETA ()	()
DISEÑO INDUSTRIAL ()		
-Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial.	()	()
-Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.	()	()
-Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del Material que incorpora el diseño.	()	()
-Comprobante de Pago de las tasas establecidas.	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()
ESQUEMA DE TRAZADO ()		
-Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial.	()	()
-Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.	()	()
-Representación gráfica del Esquema Trazado.	()	()
-Comprobante de Pago de las tasas establecidas.	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()

Firma Responsable:

Claudia M. Neva Cortés

Fecha:

Enero 28, 2008

151

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)
CORREA ORDOÑEZ ALVARO

REFERENCIA	Radicación No.	8 7859
	Solicitud internacional	PCT/US2006/028948
	Fecha inicio fase nacional	27/02/2008
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	3123

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante. (Art. 26-k) Decisión 486.

2. La solicitud no contiene el poder debidamente otorgado, con el lleno de los requisitos exigidos por los artículos 63 y subsiguientes del Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente, deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante, cuando ésta fuere persona jurídica.

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

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No.10 de 2001.

ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 29 FEB. 2008
adpall