



QR



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
INVENTARIO

PCT

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

08-129401

SOLICITUD DE PATENTE DE
INVENCION

TITULO: PROFARMACOS DE PENEM

(título folio 89)

SOLICITANTE: PFIZER PRODUCTS INC.

DIRECCIÓN: EASTERN POINT ROAD, GROTON, CONNECTICUT 06340 E.U.A

APODERADO: CARLOS R. OLARTE

BOGOTÁ 04 de Diciembre de 2008

99



No. 08-129401-00000-0000

Fecha: 2008-12-04 16:37:24

Tra. 11 PATENTEIYII

Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 NUECREACIONI

Eve: 378 FASENACIONALI

Folios: 86

**PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD
PATENTE PCT**

ENTRADA EN FASE NACIONAL

P2008/000204

SOLICITUD DE:

1

☒

Patente de Invención.

☐

Patente de Modelo de Utilidad.

☒

Capítulo I.

☐

Capítulo II.

2

**SOLICITANTE
(71)**

Nombre: PFIZER PRODUCTS INC

Dirección: Eastern Point Road, Groton,
CT 06340

Nacionalidad o Domicilio: Estadounidense
Lugar de Constitución: Estados Unidos de
America

Teléfono: **Fax:**

E-mail:

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☐

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número

**REPRESENTANTE
O APODERADO**

Nombre: CARLOS R. OLARTE

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

Teléfono: 601-7700 **Fax:** 601-7799

E-mail: office@olarteraisbeck.com

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☒

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número 79.782.747Bta
TP 74.295

**INVENTOR (ES)
(72)**

Nombre: KATHERINE ELIZABETH BRIGHTY, ANTHONY MARFAT, DALE
GORDON MCLEOD, JOHN PAUL O'DONNELL

Dirección: : Eastern Point Road, Groton, CT06340, Estados Unidos de
América

Nacionalidad o Domicilio: Estadounidense y Canadiense

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/IB2007/001843

Fecha

Junio 18, 2007

Publicación Internacional No. WO 2008/001212

Fecha

Enero 3, 2008

6

Título (54) PROFARMACOS DE PENEM

Clasificación Internacional (51) C07D 499/887, A61P 31/04, A61K 31/431.

Prioridad
SI ☒ **NO** ☐

(33) País de Origen

US

US

(32) Fecha

Junio 28, 2006

Abril 13, 2007

(31) Número de Solicitud

60/806.000

60/911.587

9

Comprobante de pago No. 08-93.853

Fecha Diciembre 4 de 2008

10

ANEXOS

☒

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

☒

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

☒

Poderes, si fuere el caso. Adjunto copia simple. Ver Exp. N° 07-017.958

☒

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. Búsqueda Internacional

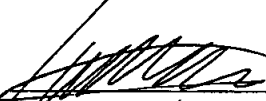
11

FIGURA CARACTERÍSTICA:

12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE

FIRMA: 

C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-129401- -00000-0000

Fecha: 2008-12-04 16:37:24 Dep: 2020 NULCRACION
Lta: 11 PATENTILYII Lve: 375 PASLNACIONAL
Act: 411 PRESENTACION Folios: 86

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

CIBO OFICIAL DE CAJA : 08 - 93,853
FECHA : DICIEMBRE 2 DE 2008

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
OLARTE RAISBEK	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	14445211	02/12/2008	8,195,000.00

***** 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. _____

TRADUCCION OFICIAL No. 05-223

Efectuada el día 9 de diciembre de 2005, de un documento escrito en Inglés, al cual para su identificación se le estampa el sello de Sergio Andrés Rueda Iglesias, Traductor e Intérprete Oficial por Resolución No. 0138 expedida por el Ministerio de Justicia y del Derecho el 11 de febrero de 2002.

Traducción de las Autenticaciones Notariales y subsiguientes correspondientes a un Poder otorgado por **PFIZER PRODUCTS, INC.**, a Carlos R. Olarte y/o J. Ian Raisbeck y/o Ana María Friieri y/o Juan Guillermo Moure y/o Natalia Castro, documento este que viene en español, se explica por sí solo y fue firmado por Grover F. Fuller, Jr. el 17 de noviembre de 2005 en Nueva York, Estados Unidos de América.

También en inglés y en español viene Certificación Notarial mediante la cual se confirma el nombre y cargo de **Grover F. Fuller, Jr.**, así como la existencia legal de la compañía. Dicha certificación notarial está firmada por Susan Z. Killian, Notario Público de Nueva York, cuyo cargo expira el 4 de octubre de 2008, según consta en su correspondiente sello notarial.

Suscrito y jurado ante mi el 17 de noviembre de 2005.

(Fdo.) Susan Z. Killian


SERGIO ANDRÉS RUEDA IGLESIAS
C. C. 27.2
TRADUCTOR E INTÉRPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLÉS
RESOLUCIÓN NO. 0138 DEL 11/02/02
MINISTERIO DE JUSTICIA Y DEL DERECHO

ESTADO DE NUEVA YORK - CONDADO DE NUEVA YORK No. 467518

El suscrito, Norman Goodman, Escribano del Condado y del Tribunal Supremo del Estado de Nueva York, tribunal éste provisto de sello por ley, por medio de este documento certifico conforme a la ley ejecutiva del Estado de Nueva York que Susan Z. Killian, cuyo nombre aparece suscrito en la declaración jurada o certificado de reconocimiento anexo, desempeñaba en el momento de tomar el mismo, las funciones de Notario Público, en y para el Estado de Nueva York, estando debidamente comisionado bajo juramento y habilitado como tal; que conforme a la ley en mi despacho obra un certificado de su nombramiento con su firma autógrafa; que conozco bien la letra manuscrita de dicho Notario Público o he comparado la firma que aparece en el instrumento anexo con la que reposa en los archivos de mi oficina, y creo en conciencia que la misma es auténtica.

EN FE DE LO CUAL, firmo de mi puño y letra y estampo mi sello oficial, el día 22 de noviembre de 2005.

(Fdo.) Norman Goodman, Escribano del Condado y del Tribunal Supremo del Estado de Nueva York.

SERGIO ANDRÉS MUEDA IGLESIAS
C. C. E. 11.773
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLÉS / INGLÉS - ESPAÑOL
RESOLUCION No. 0130 DE FEBRERO DE 2002
MINISTERIO DE JUSTICIA Y DEL DERECHO

6

1. País: Estados Unidos de América

2. Fue firmado por: Norman Goodman

4. Lleva el sello del Condado de Nueva York

5. En Nueva York, Nueva York

7. Por parte del Secretario de Estado, (Encargado) del .
Estado de Nueva York

8. Bajo el Número NYC-10404952A

9. Aparece Sello del Estado de Nueva York

10. Firmado por: James Bizzarri, Secretario de Estado
Especial Encargado

Es traducción fiel y completa efectuada por:

Sergio Andrés Rueda Iglesias
c.c. 80.424.773 de Bogotá

SERGIO APDREY RUEDA IGLESIAS
C. E. 8041793
TRANSDUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLÉS / INGLÉS - ESPAÑOL
16-06-2006 HONORARIO FEBRERO Y MARZO
AGENCIAMIENTO DE JUSTICIA Y DECLARANDO

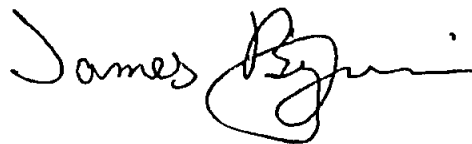
Apostille

(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

1. Country: **United States of America**
This public document
2. has been signed by **Norman Goodman**
3. acting in the capacity of **County Clerk**
4. bears the seal/stamp of the county of **New York**

Certified

5. At New York, New York
6. the 22nd day of November 2005
7. by Special Deputy Secretary of State, State of New York
8. No. NYC-10404952A
9. Seal/Stamp
10. Signature



James Bizzarri
Special Deputy Secretary of State

Power of Attorney

Poder

The undersigned,

El suscrito,

PFIZER PRODUCTS INC.,

domiciled in

domiciliado en

Eastern Point Road, Groton, State of Connecticut 06340, United States of America

by means of these presents hereby grants to **Carlos R. Olarte and/or J. Ian Raisbeck and/or Ana María Frieri and/or Juan Guillermo Moure and/or Natalia Castro** full and sufficient Power of Attorney to file, prosecute, obtain, defend and enforce any and all of the company's Patents for Inventions, Utility Models, Layout-Designs (topographies) of Integrated Circuits, Industrial Designs, Trademarks, Advertising Slogans, Trade Names, Commercial Emblems, Geographical Indications, Protection of Trade Secrets, Obtainer's Certificates, Copyrights, Registration of Domain Names, Health Registrations, or any other intellectual property right in the Republic of Colombia, to which end it empowers them to take all steps necessary before any administrative or judicial authority of any class for the objects stated, to file petitions, recourses, replies and oppositions, pay taxes and annuities, request testimonies, receive documents and securities, abandon applications and collect refunds. Sufficient power is hereby granted to receive notifications on behalf of the Company, to confer powers on those who are to represent the company judicially and extrajudicially, to answer in court in the matter of all claims and demands that may be presented in connection with the objects stated, giving them likewise power to substitute these presents and revoke such substitutions.

por medio del presente otorga a **Carlos R. Olarte y/o J. Ian Raisbeck y/o Ana María Frieri y/o Juan Guillermo Moure y/o Natalia Castro** poder especial, amplio y suficiente para presentar, tramitar, obtener, defender y hacer respetar todas y cualquiera de las Patentes de Invención, Modelos de Utilidad, Esquemas de Trazados de Circuitos Integrados, Diseños Industriales, Marcas, Lemas Comerciales, Nombres Comerciales, Enseñas Comerciales, Denominaciones de Origen, Protección de Secretos Empresariales, Certificados de Obtentor, Derechos de Autor, Registro de Nombres de Dominio, Registros Sanitarios, o cualquier otro bien de propiedad intelectual de la compañía en la República de Colombia, a cuyo efecto los faculta para dar todos los pasos necesarios ante cualquier autoridad administrativa o judicial de cualquier jerarquía para cumplir con lo encomendado, elevar solicitudes, recursos, respuestas y oposiciones, pagar impuestos y anualidades, solicitar testimonios, recibir documentos y valores, desistir y percibir. Se concede poder bastante para recibir notificaciones a nombre de la compañía, otorgar poderes a quienes vayan a representar a la compañía judicial y extrajudicialmente, responder en juicio a todas las reclamaciones o demandas que por motivo de lo encomendado se presentaren, dándoles asimismo facultad para sustituir el presente y revocar dichas sustituciones.

Signature/Firma:

By:

Grover F. Fuller, Jr.

Vice President, Attorney-In- Fact

Date/Fecha:

17 November 2005

City, Country/Ciudad, País: New York, NY USA

Notarial Certification

Certificación Notarial

On this date,

En esta fecha,

The undersigned Notary Public certifies:

el Notario Público suscrito certifica:

1. That

1. Que

Grover F. Fuller, Jr.

of legal age and domiciled in

mayor de edad y domiciliado

Street 150 East 42nd Street

City New York

State New York 10017-5612 USA

signed the foregoing document.

suscribió el documento que antecede.

2. That the grantor has executed the foregoing document as Vice President, Attorney-In-Fact of **PFIZER PRODUCTS INC.**

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

3. That **PFIZER PRODUCTS INC.**, having its principal place of business located in Groton, State of Connecticut 06340, United States of America

4. Que con sede principal ubicada en

is duly incorporated, is currently in existence, and that the purposes for which the Power of Attorney is granted are within the scope of its corporate purposes.

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

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

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

NOTARY PUBLIC (Signature):

Susan Z. Killian



SUSAN Z. KILLIAN
Notary Public, State of New York
No. 01K16116521
Qualified in New York County
Commission Expires October 4, 2008

State of New York
County of New York
SWORN to and SUBSCRIBED before me
this 11th day of Nov. 2005
Susan Z. Killian

Apostille

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

DISTRITO DE COLUMBIA ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

1. País: Distrito de Columbia Estados Unidos de América
2. Este documento público ha sido firmado por: BRAYAN JACKSON, JR.
3. obrando en su condición de Notario Público del distrito de Columbia
4. lleva el sello/estampilla de Brian Jackson, JR., Notario Público y para el distrito de Columbia

Certificado

- | | |
|--|-------------------------------|
| 5. en Washington, D.C. | 6. Dia 28 de octubre de 2008 |
| 7. por: Secretario Principal de Distrito de Columbia | |
| 8. No. 201694 | |
| 9. Sello / Estampilla | 10. Firma: Stephanie D. Scott |
| [Sellado] | [Firmado] |

CESIÓN

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

En fe de lo cual firmamos el presente el día de hoy.

(Fdo) Katherine Elizabeth BRIGHTY

Groton CT.USA, – 20 de abril de 2007 - Katherine Elizabeth BRIGHTY

(Fdo) Anthony MARFAT

Groton CT.USA, – 19 de abril de 2007 - Anthony MARFAT

(Fdo) Dale Gordon MCLEOD

Groton CT.USA, – 19 de abril de 2007 - Dale Gordon MCLEOD

(Fdo) John Paul O'DONNELL

Groton CT.USA, – 20 de abril de 2007 - John Paul O'DONNELL

**POR EL PRESENTE CERTIFICO QUE ESTE
ES EL DOCUMENTO ORIGINAL**

Distrito de Columbia: SS
Suscrito y Juramentado ante mi
El 28 de octubre de 2008
Brian Jackson, Notario Publico D.C
My comision vence el 29 de febrero de 2012



Apostille

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

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

CERTIFIED

5. at Washington, D.C.
6. the 28 day of OCTOBER 2008
7. by *Secretary of the District of Columbia*
8. No. 201694
9. Seal/Stamp



10. Signature

STEPHANIE D. SCOTT

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Stephanie D. Scott", written over a horizontal line.

ASSIGNMENT

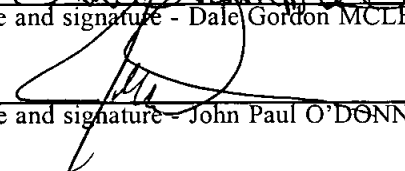
For valuable consideration paid to me (us) by **PFIZER PRODUCTS INC.**, a corporation organized under the laws of the State of Connecticut, United States of America whose full post office address is **Eastern Point Road, Groton, Connecticut 06340, United States of America**, I (we) do hereby sell and assign to the said **PFIZER PRODUCTS INC.**, all my (our) right, title and interest in and to my (our) invention for a new and useful Improvement in **PENEM PRODRUGS** so far as the Republic of Colombia is concerned, as fully set forth and described in the specification, and I (we) do hereby authorize and request the Commissioner of Patents of Colombia to issue said patent to the said **PFIZER PRODUCTS INC.** in accordance with this assignment.

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


Place, date and signature - Katherine Elizabeth BRIGHTY


Place, date and signature - Anthony MARFAT


Place, date and signature - Dale Gordon MCLEOD


Place, date and signature - John Paul O'DONNELL



not a binding document
without signature of all

I hereby certify that this
is the original document.

gu

District of Columbia: SS
Subscribed and Sworn to before me
this 28th day of October, 2008
Brian Jackson Notary Public, D.C.
My Commission Expires February 29, 2012

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

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
3 January 2008 (03.01.2008)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2008/001212 A2

(51) International Patent Classification:
C07D 499/887 (2006.01) A61P 31/04 (2006.01)
A61K 31/431 (2006.01)

(74) Agent: FULLER, Grover, F., Jr.; c/o Lawrence, Jackie,
Pfizer Inc. MS8260-1615, Eastern Point Road, Groton, CT
06340 (US).

(21) International Application Number:
PCT/TB2007/001843

(22) International Filing Date: 18 June 2007 (18.06.2007)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/806,000 28 June 2006 (28.06.2006) US
60/911,587 13 April 2007 (13.04.2007) US

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

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): BRIGHTY,
Katherine, Elizabeth [US/US]; Pfizer Global Research
& Development, Eastern Point Road, Groton, Connecti-
cut 06340 (US). MARFAT, Anthony [US/US]; Pfizer
Global Research & Development, Eastern Point Road,
Groton, Connecticut 06340 (US). MCLEOD, Dale,
Gordon [CA/US]; Pfizer Global Research & Develop-
ment, Eastern Point Road, Groton, Connecticut 06340
(US). O'DONNELL, John, Paul [US/US]; Pfizer Global
Research & Development, Eastern Point Road, Groton,
Connecticut 06340 (US).

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

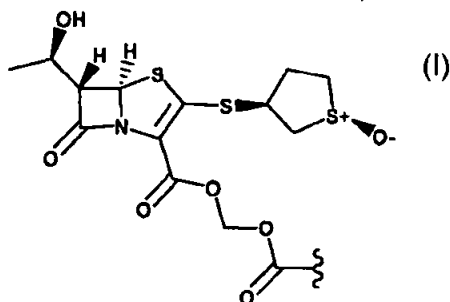
(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, 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:

— without international search report and to be republished
upon receipt of that report

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

(54) Title: PENEM PRODRUGS



(57) Abstract: Orally bioavailable prodrugs of sulopenem, e.g., (I)
and solvates and hydrates thereof, preparation thereof, formulation
thereof, and use to treat and prevent infection in mammals such as
humans. This abstract is not limiting to the invention.

WO 2008/001212 A2

PENEM PRODRUGSFIELD AND BACKGROUND

The present invention relates to antiinfectives, antibiotics, oral antibiotics, and prodrugs, in particular, sulopenem prodrugs, their preparation, and use.

US5013729 describes sulopenem, which is a broad-spectrum antibiotic that can be named as (5R,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-7-oxo-3-[[[(1R,3S)-tetrahydro-1-oxdo-3-thienyl]thio]-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylic acid. See also *J. Org. Chem.*, 57, 4352-61 (1992).

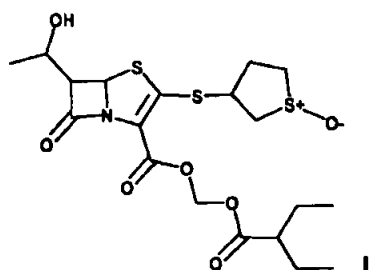
Other penems and prodrugs are discussed in, e.g., US4952577; US5506225; WO1992/003444; and WO2004/067532.

Various preclinical and clinical studies have been conducted with sulopenem and certain prodrugs thereof. Sulopenem itself is not appreciably orally bioavailable. US5013729 also discusses sulopenem prodrugs, including the pivaloyloxymethyl prodrug of sulopenem (sulopenem POM ester). When given orally as a mixture of two stereoisomers, the POM ester was shown to be orally bioavailable in humans. See Foulds et al., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, pp. 665-671 (Apr. 1991). However, POM ester prodrugs are associated with tissue carnitine depletion following hydrolysis and release of pivalic acid or trimethyl acetic acid. See Brass, *Pharmacological Reviews*, 54, 589-598 (2002).

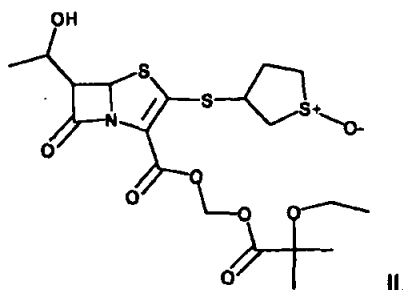
SUMMARY

The present invention addresses a desire for new sulopenem prodrugs that combine one or more of: high oral exposure or bioavailability, a lack of propensity to deplete tissue carnitine, physicochemical properties, such as crystallinity, melting point, aqueous solubility, and permeability, which are favorably suited to practical pharmaceutical formulation and use.

In some aspects, the present invention includes the compounds of Formula I:



In other aspects, the present invention includes the compounds of Formula II:

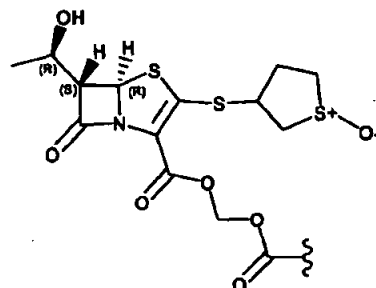


The invention further includes formulations and use of the compounds to treat or prevent bacterial infection.

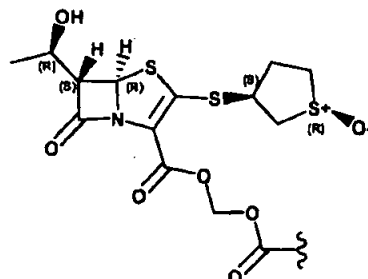
DETAILED DESCRIPTIONCOMPOUNDS

The present invention includes the prodrug compounds of Formulas I and II, as shown and described above. All stereoisomers and mixtures thereof are contemplated and included, as indicated by the drawings above that allow for and embrace both the R and the S configurations at stereocenters.

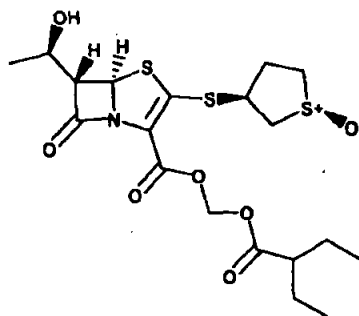
A preferred configuration of the compounds of Formulas I and II is:



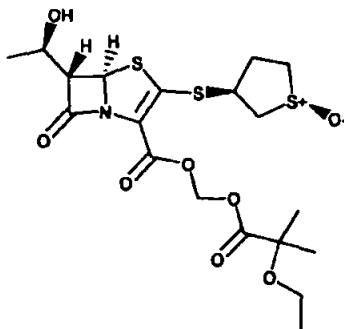
In particular, the oxothiolanyl moiety is preferably configured 1R, 3S, as shown below.



For example, there is provided: (2-Ethyl-1-oxobutoxy)methyl (5R,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-7-oxo-3-[[[(1R,3S)-tetrahydro-1-oxido-3-thienyl]thio]-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylate (Compound 1 herein), which is drawn below:



Another example provides: (2-Ethoxy-2-methyl-1-oxopropoxy)methyl (5R,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-7-oxo-3-[[[(1R,3S)-tetrahydro-1-oxido-3-thienyl]thio]-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylate (Compound 2 herein), which is drawn below:



The prodrugs of the present invention may be amorphous or may exist as different crystal forms or polymorphs, including solvates and hydrates. Polymorphs of prodrugs form part of this invention and may be prepared by crystallization of a prodrug of the present invention under various conditions. Polymorphs may also be obtained by heating or melting a prodrug followed by gradual or fast cooling. The presence of polymorphs may be determined by solid probe NMR spectroscopy, IR spectroscopy, differential scanning calorimetry, powder X-ray diffraction or other such techniques. Thus, a recitation of a compound *per se* is open to its polymorphs, including water or solvent molecules associated therewith.

10 PREPARATION

The prodrugs of the present invention can be prepared, e.g., from the free acid of sulopenem according to known methods such as those disclosed herein or in US3951954; US4234579; US4287181; US4452796; US4342693; US4348264; US4416891; US4457924; and US5013729, all of which are incorporated by reference herein in their entireties.

15 USE

Prodrugs of this invention may be used to treat a variety of hospital and community acquired infections such as respiratory tract, surgical, central nervous system, gastrointestinal, genitourinary, gynecological, skin & soft tissue, and ocular infections and community acquired pneumonia in humans.

The antibacterial activity of the prodrugs may be advantageously exploited for preventive use as well. Oral administration is preferred. Biological activity data are given below.

The minimum amount of prodrug administered is a minimum therapeutically effective amount. The maximum amount of prodrug administered is that amount which is toxicologically acceptable. In some embodiments, the amount of sulopenem prodrug administered is that which will maintain the plasma antibiotic concentration of sulopenem above the (90% minimum inhibitory concentration) MIC₉₀s (e.g., about 0.5 µg/mL or about 1 µg/mL) of the infecting pathogens for at least about 30% (e.g., at least about 3.6 hours for BID (2x/day) dosing or 2.4 hours for TID (3x/day)) of the interval between doses. In some embodiments, the blood level is maintained at or above the target level for at least about 40% (e.g., at least about 4.8 hours for BID or 3.2 hours for TID) of the dosing interval.

In general, a daily dose of the sulopenem prodrug for adults may be about 500 mgA (milligrams sulopenem equivalent) to about 6 gA, or about 1 gA to about 5 gA. A regimen of the sulopenem prodrug for adults may be about 500 mgA to about 1500 mgA administered twice a day in about 12 hour intervals. A regimen may be administered over a period of about one week to about two weeks. For certain infections, it may be necessary or desirable to use dosages outside these parameters.

A daily dosage of the prodrug of the present invention can usually be administered from 1 to 4

times daily normally in equal doses. In some embodiments, the prodrug dosage can be about 500 to about 2500 mg BID or TID; about 800 mg to about 1 g BID; or about 2 g BID or TID for more serious infections. In some embodiments, the dosage can be about 7 to about 25 mg/kg BID; about 17 to about 45 mg/kg BID; or about 17 to about 45 mg/kg TID.

5 In some embodiments, treatment is initiated intravenously with sulopenem itself or other antibiotic and treatment is then continued with an oral prodrug of the present invention.

As discussed further below, the prodrug of Compound 1 was found to provide human blood levels above 0.5 µg/mL for between 3.18 to 4.84 hours upon oral administration of 1000 mg (about 730 mg sulopenem equivalent) of the prodrug. In a different experiment, the prodrug of Compound 1 was found to
10 provide human blood levels above 1 µg/mL for between 4.28 to 5.94 hours upon oral administration of 2000 mg (about 1460 mg sulopenem equivalent) of the prodrug.

Prodrug use can be in conjunction with other active agents. Sulopenem or sulopenem prodrug use can be in conjunction with probenecid or similar acting agent which has an inhibitory effect on renal tubular secretion.

15

FORMULATION

The present invention includes pharmaceutical compositions comprising the prodrug compound(s) of the invention formulated for oral administration with or without one or more excipients and/or one or more other active ingredients. The prodrug can be in a solvate or hydrate form.

20 Oral dosage forms of the present invention can be tablets including chewable tablets, capsules, pills, lozenges, troches, powders, syrups, elixirs, solutions and suspensions, and the like, in accordance with standard pharmaceutical practice. The pharmaceutical composition of the present invention can also be delivered directly to a patient's gastrointestinal tract through a nasogastric tube.

An oral dosage form can in some embodiments contain about 800 to about 2500 mg of the prodrug.

25 Excipients can be chosen on the basis of the intended dosage form. Nonlimiting examples include polyvinylpyrrolidone, hydroxypropylmethylcellulose, hydroxypropylcellulose, sucrose, gelatin, acacia, gum tragacanth, or corn starch; fillers such as microcrystalline cellulose, lactose, sodium citrate, calcium carbonate, dibasic calcium phosphate, glycine and starch; disintegrants such as corn starch, potato starch, alginic acid, sodium starch glycolate, croscarmellose sodium and certain complex silicates; lubricants such as magnesium stearate, sodium lauryl sulfate and talc; and sweeteners such as sucrose, lactose or
30 as saccharin. When a dosage unit form is a capsule, it may contain, in addition to materials of the above type, a liquid carrier such as a fatty oil. Excipients may also include suspending aids such as xanthan gum or hydroxypropylmethylcellulose, glidants such as colloidal silica, diluents and bulking agents such as silicon dioxide, flavors, in particular in the case of pediatric oral suspensions and sachets. Stabilizers such as
35 succinic acid can also be employed. Various other materials may be present as coatings or to modify the physical form of the dosage unit. For instance, tablets may be coated with shellac, sugar or both. Modified release dosage forms are also contemplated.

The prodrug(s) will be present in the pharmaceutical composition in an amount sufficient to provide the desired therapeutic dosage amount in the range described herein. The proportional ratio of prodrug to
40 excipients will naturally depend on factors such as the chemical nature, solubility and stability of the active ingredients, as well as the dosage form contemplated. Typically, pharmaceutical compositions of the present invention can contain about 20% to about 95% of prodrug by weight.

SULOPENEM BIOLOGICAL ACTIVITY

Sulopenem is active against a broad range of pathogens, including hospital pathogens. This includes potent activity against members of the *Enterobacteriaceae* expressing extended-spectrum β -lactamases that confer resistance to cephalosporins (*K. pneumoniae*, ESBL+). In addition, many of these isolates are also resistant to fluoroquinolones. Sulopenem is highly active against many clinically relevant species of anaerobes.

The *in vitro* activity of sulopenem (the parent acid (5R,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-7-oxo-3-[[[(1R,3S)-tetrahydro-1-oxido-3-thienyl]thio]-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylic acid) was evaluated against pathogens involved in community and hospital infections, as summarized in Table 1.

Table 1. MIC₉₀ Values (μ g/ml) for Sulopenem

<i>Staphylococcus aureus</i> oxacillin-S	0.125
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	0.5
<i>Alloiococcus otitidis</i>	1
<i>Streptococcus pyogenes</i> (Group A)	0.03
<i>Streptococcus agalactiae</i> (Group B)	0.125
<i>Streptococcus bovis</i> (Group D)	0.06
Viridans <i>Streptococcus</i> group	0.25
<i>Streptococcus pneumoniae</i> penicillin-susceptible	0.03
<i>Streptococcus pneumoniae</i> penicillin-intermediate	0.25
<i>Streptococcus pneumoniae</i> penicillin-resistant	1
<i>Streptococcus pneumoniae</i> levofloxacin-resistant	0.5
<i>Listeria monocytogenes</i>	0.125
<i>Corynebacterium</i> spp (not <i>C. jeikeium</i>)	2
<i>Citrobacter diversus</i>	0.06
<i>Citrobacter freundii</i>	0.25
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0.5
<i>Enterobacter cloacae</i>	1
<i>Escherichia coli</i>	0.06
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0.125
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.125
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ESBL+	0.25
<i>Morganella morganii</i>	2
<i>Proteus mirabilis</i>	0.5
<i>Salmonella/Shigella</i>	0.125
<i>Haemophilus influenzae</i> β -lactamase-	0.25
<i>Haemophilus influenzae</i> β -lactamase+	0.5
<i>Moraxella catarrhalis</i> β -lactamase-	0.03
<i>Moraxella catarrhalis</i> β -lactamase+	0.125
<i>Legionella pneumophila</i>	0.06
<i>Neisseria meningitidis</i>	0.06
<i>Bacteroides fragilis</i>	0.5
<i>Clostridium perfringens</i>	0.06
<i>Prevotella</i> spp	0.125

Thus, sulopenem is active against a broad range of pathogens, including hospital pathogens that are resistant to cephalosporins and fluoroquinolones. The spectrum supports its broad use in the hospital where the infecting pathogen is identified and the susceptibility to sulopenem is confirmed. This would include a broad list of respiratory indications and surgical indications where mixed flora would likely be involved, particularly as part of a multidrug regimen when mixed infections are suspected.

PRODRUG ORAL EFFICACY

Compounds were profiled for oral efficacy in three different *in vivo* infection models. The bacterial pathogens used to establish each infection were chosen based on their resistance profiles and abilities to cause infection in models relevant to human disease. The *Klebsiella pneumoniae* isolates 1109 and 6485 are from a collection of recent clinical isolates of extended-spectrum β -lactamase-positive (ESBL⁺) strains and have elevated MICs to ciprofloxacin and ceftazidime as well as to other β -lactam antibiotics. Both isolates have demonstrated the ability to cause a lethal systemic infection in mice. *Streptococcus pneumoniae* 1095 is a penicillin-tolerant, macrolide-resistant strain that is pathogenic in murine systemic and respiratory tract infection models. The *Haemophilus influenzae* strain Rd/AH5-3 was derived from laboratory strain Rd; a directed point mutation in PBP3 renders this β -lactamase negative strain ampicillin resistant (BLNAR). This strain is capable of causing otitis media in a Mongolian gerbil model of the disease. The results are summarized in Table 2 below.

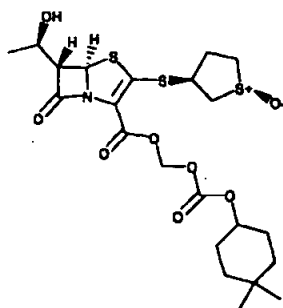
Murine acute systemic infection model: For this model, CF-1 mice were infected via an intraperitoneal injection of a lethal inoculum of either *K. pneumoniae* 1109, 6485, or *S. pneumoniae* 1095. Four dose groups consisting of eight to ten mice per group were infected and treated, to cover a wide range of dose levels. Mice were administered BID therapy at either 30 minutes/four hours post-infection, or at one/five hours post-infection; the PD₅₀ (the dose at which 50% of infected, treated mice survive) was calculated based on the numbers of surviving animals on day four post-infection.

Murine respiratory tract infection model: This model was initiated with an intranasal inoculation of a lethal challenge of *S. pneumoniae* 1095, resulting in pneumonia. Four dose groups consisting of eight to ten mice per group were infected and treated, to cover a wide range of dose levels. BID therapy was initiated eighteen hours post-infection and continued for two days. The number of mice surviving at each dose group on day ten post-infection was used to determine the PD₅₀.

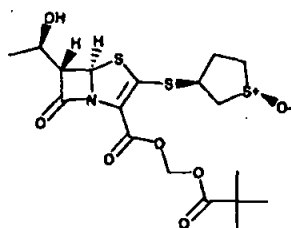
Gerbil otitis media model: To establish otitis media, Mongolian gerbils were infected via intrabulla inoculation with a BLNAR strain of *H. influenzae*. Four dose groups consisting of five gerbils per group were infected and treated, to cover a wide range of dose levels. BID therapy was initiated eighteen hours post-infection and continued for two days. On day four post-infection, animals were euthanized, middle ear fluid washes were collected, and bacterial numbers contained therein were determined. ED₅₀s were calculated based on bacterial levels; middle ear fluid wash samples with counts lower than 100 colony-forming units/ml were considered cleared.

Data were collected for the compounds of Compounds 1 and 2; for Compound A (drawn below); and for Compound B1, which is the pivaloyloxymethyl ester (POM-ester) of sulopenem ((1R,3S) oxothiolane stereochemistry) drawn below. Compound B2 is the diastereomeric mixture (drawn below).

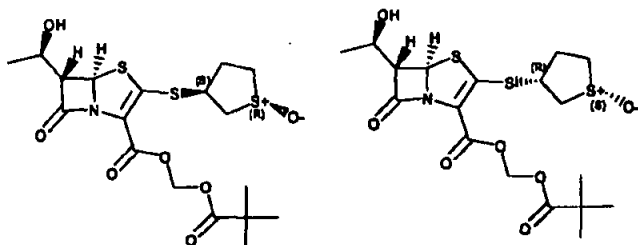
Compound A:



Compound B1:



Compound B2:



5

Table 2. *In Vivo* Efficacy (PD₅₀ or ED₅₀ in mg/kg)

Model	Cpd. 1	Cpd. 2	Cpd. A	Cpd. B1
Murine Acute systemic infection vs. <i>K. pneumoniae</i> 1109 (PD ₅₀)	25.1 (13.6 – 36.6)	12.5 (12.4- 12.6)	10.1 (3.8-16.4)	38.2 (27.7 – 48.7)
"	9.0 (8.7 – 9.3)	16.2 (15.9- 16.6)	15.3 (9.0-21.6)	11.4 (11.3 – 11.5)
-	-	-	-	-
Murine Acute systemic infection vs. <i>K. pneumoniae</i> 6485 (PD ₅₀)	88.6 (87.8 – 89.4)	88.3 (68.5- 108.2)	40.7 (29.1- 52.3)	>100
"	63.4 (2.1 – 124.8)	32.7 (23.7- 41.7)	-	>100
"	-	63.4 (58.5- 68.3)	-	-
-	-	-	-	-
Murine Acute systemic infection vs. <i>S. pneumoniae</i> 1095 (PD ₅₀)	12.5 (12.4 – 12.6)	7.9 (7.3- 8.5)	9.0 (8.7-9.3)	7.9 (7.3 – 8.5)
"	6.3 (1.5 – 11.1)	6.3 (3.4- 9.1)	15.3 (9.0-21.6)	4.3 (4.2 – 4.5)
"	-	11.0 (8.6- 13.5)	-	9.0 (8.7-9.3)
-	-	-	-	-
Murine Respiratory tract infection vs. <i>S. pneumoniae</i> 1095 (PD ₅₀)	16.4 (9.8 – 23.0)	19.7 (18.2- 21.2)	17.8 (0-38.6)	49.9 (34.7 – 65.2)
"	12.5 (5.6 – 19.4)	38.5 (37.7- 39.3)	20.8 (8.7-50.1)	18.1 (1.4 – 34.9)

-	9.5 (4.0 – 15.0)	-	-	16.2 (11.5 – 20.9)
-	-	-	-	-
Gerbil Otitis media vs. <i>H. influenzae</i> BLNAR (ED ₅₀)	8.7 (8.4 – 9.0)	5.7 (3.6 – 7.7)	6.9 (4.4-9.4)	12.6 (6.8 – 18.3)
-	4.5 (4.4 – 4.6)	12.6 (6.8-18.3)	8.7 (8.4-9.0)	5.7 (5.6 – 5.7)

PRODRUG CLINICAL PHARMACOKINETICS

Clinical pharmacokinetic (PK) data from healthy human volunteers for the sulopenem prodrug compounds of Compound 1, Compound B2 (data from Foulds et al.), and Compound A are summarized in Table 3, below. Compound B2 is a diastereomeric mixture of which the diastereomer configured (1R,3S) at the oxothiolanyl moiety is Compound B1 (see drawings above). Clinical data is not available for prodrug Compound 2.

For Compound 1 and Compound A, six subject received doses in an escalating fashion. Whole blood samples were obtained prior to dosing and at 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, and 12 hours post dose and processed for plasma. Serum and plasma samples were then quantified for sulopenem concentrations using validated HPLC methods. Tmax data for Compound A is given as a median and a range.

A total of ten subjects were administered single doses of Compound B2. See Foulds et al., above. Blood samples were obtained prior to dosing and at 0.08, 0.17, 0.33, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, and 8 hours and processed for serum following oral administration of Compound B2 at 500 mg equivalent of sulopenem parent compound (five subjects) and 1000 mg equivalent of sulopenem parent compound (five subjects). Foulds et al. also estimates the contributions to the PK from the 1R,3S (Compound B1) and 1S,3R diastereomers present in Compound B2.

Table 3. Clinical Pharmacokinetics of Compound 1, Compound B2, and Compound A

Oral Prodrug	Dose (mg)	Dose Sulo equiv. (mg)	Cmax (ng/mL)	Tmax (hr)	AUC _{last} (hr-ng/mL)	t _{1/2} (hr)
Cpd. 1	400	292	1464 ±442	1.17 ±0.93	3455 ±670	0.85 ±0.16
"	600	438	1508 ±340	1.33 ±0.82	3914 ±514	0.76 ±0.096
"	1000	730	2860 ±570	0.83 ±0.41	6421 ±1208	1.00 ±0.17
"	2000	1460	4667 ±1181	1.33 ±0.82	13131 ±2101	1.10 ±0.62
Cpd. B2 (Foulds et al.)	273	205	1180 ±280	NC	2260 ±440	NC
"	544	409	1790 ±490	NC	4190 ±730	NC
Cpd. A	300	196	715 ±303	1.0 (0.5-1.5)	818 ±480	NC
"	1000	654	1380 ±372	0.5 (0.5-1.0)	2350 ±642	1.11 ±0.21
"	1000 fed	654 fed	1130 ±300	1.0 (0.5-3.0)	3900 ±535	NC
"	3000	1960	2260 ±335	1.0 (0.5-1.5)	5180 ±1500	1.59 ±0.80

The exposure to sulopenem following oral administration of Compound B2 was expressed as fraction absorbed by comparison to intravenous AUCs within the same study (Table 4, Foulds et al.) The fraction absorbed ranged from 38.5 to 33.5% for Compound B2 at sulopenem equivalent doses of 205 to 409 mg. Using the same intravenous data in Table 4 of Foulds et al., a fraction absorbed of 37.1 and

28.0% can be estimated for Compound 1 at sulopenem equivalent doses of 292 and 438 mg, respectively.

Although different dose equivalents were administered, the trend for the prodrugs is of less than dose-proportional increases in systemic exposure. The Compound A data demonstrates at least that increased prodrug lipophilicity does not necessarily translate to improved oral exposure. Lipophilicity (ClogP) was calculated using ACD Labs 9.0 software (LogP/DB; www.acdlabs.com) with the following results: Compound 1: -0.29; Compound A: 0.83; Compound B1: -1.0; Compound B2: -1.0. Further evaluation of Compound A revealed its inherent instability in the gastrointestinal tract. Improved gastrointestinal stability as demonstrated by Compound 1 *in vitro* using human intestinal juice has correlated to an increase in oral exposure relative to dose.

PRODRUG EVALUATION AND SELECTION

Prodrugs were evaluated with the ultimate objectives of identifying compounds exhibiting or predicted to exhibit one or more of: favorable PK such as high exposure or bioavailability in humans upon oral administration; a lack of propensity to deplete tissue carnitine; and physicochemical properties favorably suited to practical pharmaceutical formulation and use.

Evaluation of Compound A, among other things, led to a conclusion that prodrug gastrointestinal stability is predicted to play a significant role in oral bioavailability. New prodrug compounds were evaluated and ranked, as detailed below, for stability in the presence of porcine pancrelipase (PPE) and stability in human intestinal juice (HIJ). Efficiency of conversion to sulopenem in human liver homogenate was also considered a significant parameter pertaining to prodrug oral bioavailability. *In vitro* endpoints for Liver S9, PPE, and HIJ are summarized in Table 4. Prodrugs were tested according to the following general procedures.

Liver S9 Conversion Efficiency

Prodrugs were evaluated for stability and conversion efficiency in human liver homogenate (S9 fraction). Liver S9 was prepared fresh from liver chunks stored at -70 °C for each analysis completed. Approximately 5 g of frozen liver tissue was homogenized to uniformity in 15 ml of ice cold 100 mM potassium phosphate (pH 7.4) buffer. The homogenate was then centrifuged at 9000 g for 20 minutes at 5 °C to isolate the S9 supernatant fraction. Each incubation was run at a 1:10 dilution of the S9 supernatant in 100 mM potassium phosphate (pH 7.4) buffer. Reactions (1 mL) were initiated by the addition of substrate (50 µM final) at 37 °C. Aliquots (75 µL) were obtained at 0, 0.5, 1, 2, 3, 5, 10, and 20 minutes and quenched in 150 µL of 80/20 acetonitrile/100 mM ammonium acetate pH 4.5 containing an internal standard (ampicillin, 5 µg/mL). Samples were centrifuged at 3000 g for 10 minutes and the supernatants transferred to injection vials. First order degradation of the prodrug was monitored by LC/MS/MS as described below. Conversion to sulopenem was expressed as a percentage of the molar equivalent (50 µM) in a fortified sample. Compounds achieving a conversion efficiency of about 75% or greater were generally progressed for further evaluation.

Stability

In these experiments, the contents of one ku-zyme® HP (USP pancrelipase preparation consisting of: lipase 8000 USP Units, protease 30,000 USP Units, and amylase 30,000 USP Units; Schwarz Pharma

Inc., Milwaukee, WI) capsule were stirred in 50 mL of 100 mM potassium phosphate pH 7.4 and mixed to uniformity. Each incubation (1 mL) was run at 37 °C and was initiated with the addition of substrate (50 µM final). Aliquots (100 µL) were taken at 0, 0.5, 1, 2, 3, 5, 10, and 20 minutes following substrate addition and quenched with 200 µL of 80/20 acetonitrile/100 mM ammonium acetate pH 4.5 containing an internal standard (ampicillin, 5 µg/mL). Samples were centrifuged at 3000 g for 10 minutes and the supernatants transferred to injection vials. First order degradation of the prodrug was monitored by LC/MS/MS as described below. Compounds achieving a stability half-life of about 10 minutes or greater were progressed for further evaluation.

In Table 4, single values represent an average of two duplicate determinations. Where further determinations were carried out for a given compound, the data are expressed as a mean and standard deviation. All of the compounds were run using a first lot (Lot 1) of ku-zyme.

Compounds 1, A, B1, and B2 were also evaluated using a second lot of ku-zyme (Lot 2), for which data is shown in parentheses.

In the HIJ experiments, HIJ from 4 individual subjects (1 mL each) was pooled with 1 mL of 600 mM potassium phosphate buffer pH 7.4. Aliquots of 300 µL x 6 of the buffered human intestinal juice were incubated at 37 °C following fortification of substrate at concentrations of 300, 100, 30, 10, 3, and 1 µM. Two prodrug compounds could be run at the same time. Samples of 35 µL were taken at 0, 0.5, 1, 2, 10, and 20 minutes and quenched with 70 µL of 80/20 acetonitrile/100 mM ammonium acetate pH 4.5 containing an internal standard (ampicillin, 5 µg/mL). Samples were centrifuged at 3000 g for 10 minutes and the supernatants transferred to injection vials. First order degradation of the prodrug was monitored by LC/MS/MS as described below. The percentage of prodrug remaining versus time at each concentration was fitted to a first order decay function to determine the substrate depletion rate constant or k_{dep} . A linear-log plot of k_{dep} versus concentration could be fitted with the following equation where:

$$k_{dep} = k_{dep[S]=0} \cdot \left(1 - \frac{[S]}{[S] + K_m} \right)$$

The value of k_{dep} at an infinitesimally low substrate concentration (where $k_{dep} \sim k_{dep[S]=0}$) represents the maximum consumption rate or intrinsic clearance of the system and the K_m is the concentration at which half of the maximal velocity (V_{max}) of the system is achieved. In Michaelis-Menton terms, intrinsic clearance CL_{int} represents the ratio of V_{max}/K_m when [S] is well below the K_m . Substrate units for these K_m studies are reported in µM and intrinsic clearance (CL_{int}) in mL/min. Generally, compounds with an intrinsic clearance of <0.1 mL/min or a K_m which was three-fold lower than its aqueous solubility (in order to saturate enzymatic action) were progressed for further evaluation.

Solubility

Equilibrium solubility was determined in 25 mM phosphate buffer (pH 5) at ambient temperature. Vials containing excess prodrug in phosphate buffer were rotated for up to 48 hours. After the equilibrium period, samples were pulled, filtered through 0.45 µm Gelman Acrodisc Nylon syringe filter and analyzed for drug concentration using HPLC. The HPLC conditions were: Column: C18, SymmetryShield RP, Waters, 4.6x150 mm, 3.5 micron; Mobile phase A: Acetonitrile; Mobile phase B: 0.1% TFA in water; Flow rate: 1mL/min; Run Time: 30 min; Inj. vol: 20 µL; Detection: 210 nm; Dissolving solvent: Acetonitrile/water (50:50 v:v). Results are shown in Table 4.

Gradient used:		
Time	%A	%B
0 min	5	95
25 min	95	5
5 27 min	5	95
30 min	5	95

Melting Point

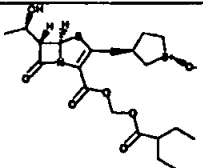
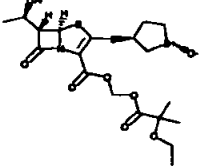
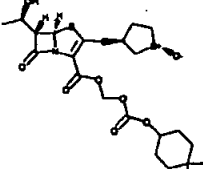
- 10 Melting points were determined on a MEL-TEMP 3.0 capillary melting point apparatus and are uncorrected.

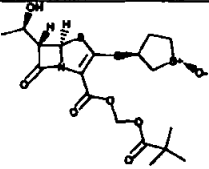
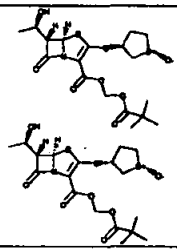
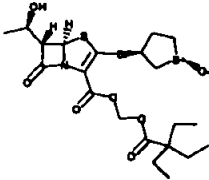
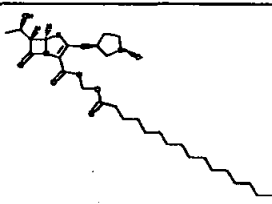
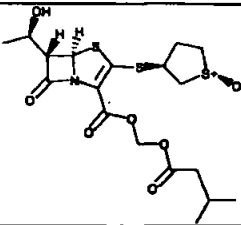
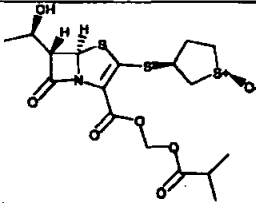
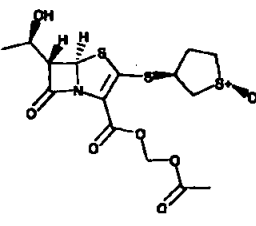
Quantitation of Prodrug

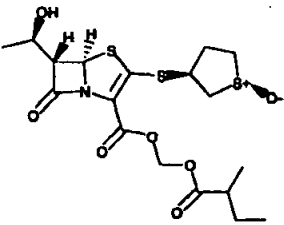
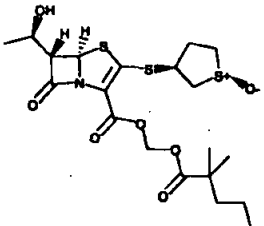
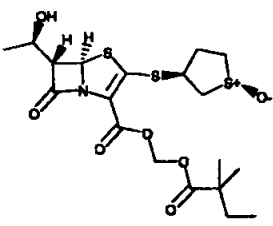
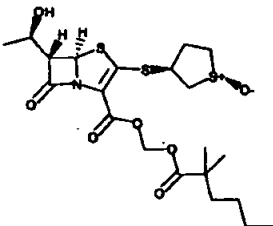
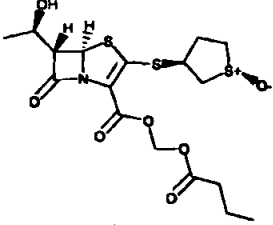
- 15 Quenched samples from these *in vitro* experiments were quantified using LC/MS/MS. Separation was achieved on a Phenomenex Primesphere C18-HC column (5 μ m, 30 x 2.0 mm) using a binary gradient made up of Solvent A (95% water / 5% acetonitrile / 0.1% acetic acid) and Solvent B (5% water / 95% acetonitrile / 0.1% acetic acid). The injection volume was 20 μ L. The column was equilibrated and the gradient initiated with 100% A at a flow rate of 1000 μ L/min. The gradient was ramped to 100% B within 0.4 min., and then back to 100% A by 0.9 min. Ampicillin was used as an internal standard (5 μ g/mL). The
- 20 effluent was analyzed by a mass spectrometer detector (Sciex API 3000) fitted with a turbo ion spray interface and operated in positive ion mode with a declustering potential of 10V, temperature of 400 °C and collision energy of 25V. All prodrugs, sulopenem, and ampicillin, were monitored by MRM transitions of the protonated parent mass to a major fragment ion in the collision induced dissociation spectra. The typical dynamic range of the assay ranged from 10.0 to 10,000 ng/mL.

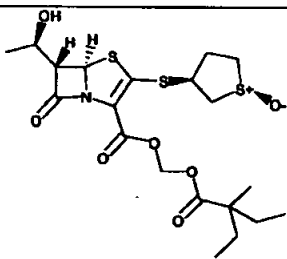
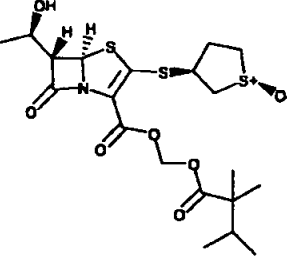
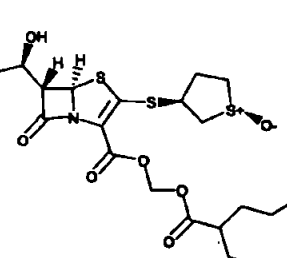
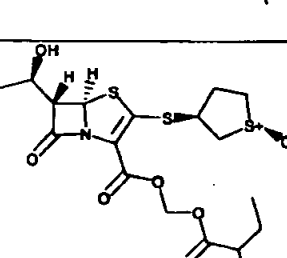
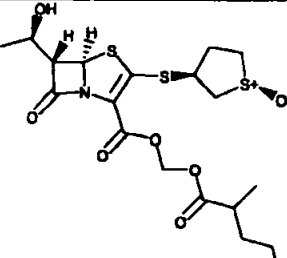
25

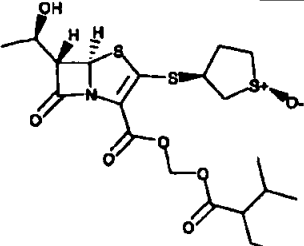
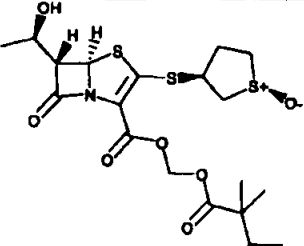
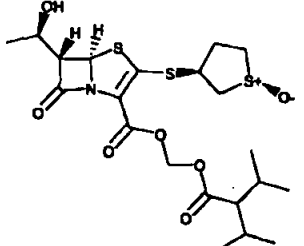
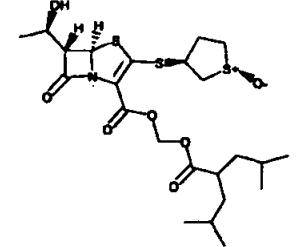
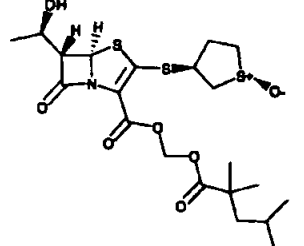
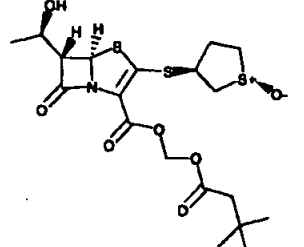
Table 4

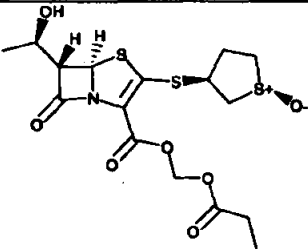
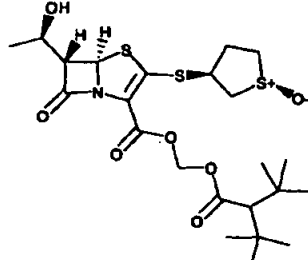
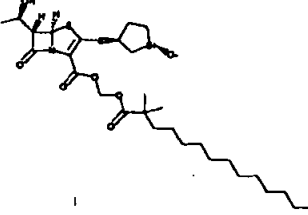
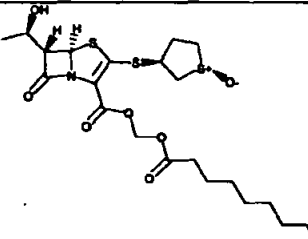
Cpd.	Structure	S9 % Conv. (avg)	PPE Half Life (min)	HLJ Km (μ M) (avg)	HLJ Clint (mL/min) (avg)	solubility (μ g/mL)
1		100	11.7 $\pm$ 3.8 (17.9 lot 2)	91	0.07	1209
2		76	19.1	105	0.13	2900
A		100	3.9 $\pm$ 1.1 (6.3 lot 2)	300	0.38	136

Cpd.	Structure	S9 % Conv. (avg)	PPE Half Life (min)	H ₁ J K _m (μM) (avg)	H ₁ J Cl _{int} (mL/min) (avg)	solubility (μg/mL)
B1		100	(22.5 ± 0.6 lot 2)	29	0.11	389
B2		94	11.6 (19.6 lot 2)	40	0.09	-
C		2.4	21.1	-	-	-
D		-	-	-	-	-
E		-	6.4	-	-	-
F		-	4.7	-	-	-
G		100	21.2	390	0.18	-

Cpd.	Structure	S9 % Conv. (avg)	PPE Half Life (min)	HL Km (μ M) (avg)	HL Clint (mL/min) (avg)	solubility (μ g/mL)
H		-	6.8	-	-	-
I		95	14.4	-	-	-
J		86.8	11	-	-	-
K		47.2	14.5	-	-	-
L		-	-	-	-	-

Cpd.	Structure	S9 % Conv. (avg)	PPE Half Life (min)	HIJ Km (μ M) (avg)	HIJ Clint (mL/min) (avg)	solubility (μ g/mL)
M		20.4	39.4	-	-	-
N		14.1	11.1	-	-	-
O		-	8.3	-	-	-
P		-	4.2	-	-	-
Q		-	4.8	-	-	-

Cpd.	Structure	S9 % Conv. (avg)	PPE Half Life (min)	H ₁₂ Km (μM) (avg)	H ₁₂ Cl _{int} (mL/min) (avg)	solubility (μg/mL)
R		0	5.3	-	-	-
S		-	6.3	-	-	-
T		-	7.7	-	-	-
U		-	6.4	-	-	-
V		-	10.5	-	-	-
W		-	7.6	-	-	-

Cpd.	Structure	S9 % Conv. (avg)	PPE Half Life (min)	HU Km (μ M) (avg)	HU Clint (mL/min) (avg)	solubility (μ g/mL)
X		-	4.7	-	-	-
Y		-	8	-	-	-
Z		-	-	-	-	-
AA		-	-	-	-	-

Carnitine Depletion

Small alkyl acids like pivalic acid which are fully substituted at the carbon alpha to the carboxylate are not sufficiently catabolized through β -oxidation. As a result, carnitine is acylated and acyl carnitine accumulates in the tissue and bloodstream, depleting free concentrations of carnitine. As such, acids that are fully substituted at the alpha carbon provide the potential to decrease carnitine stores in the body. See Brass, above. This has been shown in short course therapies with pivalic acid-containing prodrugs wherein carnitine depletion resulted in impaired fatty acid oxidation and impaired ketogenesis. See Abrahamsson et al. *Biochem. Med. Metab. Biol.*, 52, 18-21 (1994). A prodrug sidechain that is eliminated rapidly and safely and which does not deplete carnitine stores in the body would be desirable. The metabolic conversion of certain small alkyl acids to their glucuronide conjugates provides an efficient pathway of elimination from the body. Valproic acid, for instance, has been shown to be eliminated extensively via glucuronidation (See

Zaccara et al. *Clin. Pharmacol.*, 15, 367-389 (1988)), while pivalic acid is excreted almost entirely as its acylcamitine conjugate in humans. See Totsuka et al. *Antimicrob. Agents and Chemother.*, 36, 757-761 (1992). It can be appreciated that subtle changes in structure can translate to substantial differences in metabolic disposition of these alkyl acids.

5 The metabolic conversion of certain small alkyl acids to their glucuronide conjugates provides an efficient pathway of elimination from the body. Valproic acid, for instance, has been shown to be eliminated extensively via glucuronidation (See Zaccara et al. *Clin. Pharmacol.*, 15, 367-389 (1988)), while pivalic acid is excreted almost entirely as its acylcamitine conjugate in humans.

10 Of interest was a comparison between Compound 1 and Compound B1 in terms of the prodrug side chains' tendency or lack thereof to deplete plasma camitine following metabolism of the intact prodrug. This was evaluated *in vivo* using an acute model of camitine depletion in Sprague-Dawley rats. To understand the potential impact *in vivo*, radiolabeled pivalic acid (Compound B1 side chain) and 2-ethylbutyric acid (Compound 1 side chain) were administered orally at a dose of 200 mg/kg BID for 4 days to two separate groups of animals. The pivalic acid was labeled with ^{14}C at the carbonyl carbon (1-position) and had a
15 specific activity of 0.482 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$. The 2-ethylbutyric acid was labeled with ^{14}C at the carbon adjacent to the carbonyl carbon (2-position) and had a specific activity of 0.503 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$. Doses were administered in 100 mM sodium phosphate pH 6.6 at a dose volume of 10 mL/kg. Blood samples were obtained at 24 hour intervals following initiation of the study, processed for plasma and assayed for camitine levels by LC/MS/MS. A vehicle control consisting of oral administration of an equal volume of buffer without
20 compound was completed as a baseline comparison. As shown in Figure 1, animals receiving 200 mg/kg BID of pivalic acid showed decreased levels of plasma camitine relative to vehicle control. By contrast, animals receiving the same dose of 2-ethylbutyric acid over the course of 4 days demonstrated statistically insignificant changes in plasma camitine, suggesting this compound does not cause camitine depletion.

25 A separate study using a single 200 mg/kg dose of each radiolabeled compound (pivalic acid and 2-ethylbutyric acid) was completed in rats to determine systemic exposure of dose following oral administration. The oral administration route was chosen because it is expected that the majority of hydrolysis of the prodrugs will occur within the intestine prior to entering systemic circulation. Plasma samples were obtained prior to dosing and at 0.25, 0.5, 1, 4, 8, and 24 hr post-dose. Samples were quantified for radioactivity by liquid scintillation counting and the counts were converted to μg
30 equivalents/mL. As shown in Table 5 and Figure 2, once absorbed, radioactivity associated with 2-ethylbutyric acid is cleared 4.5 fold faster than pivalic acid, reflecting efficient metabolic processing and excretion of the compound.

35 Accordingly, oral administration of prodrug Compound 1 is not expected to result in camitine depletion, whereas administration of Compound B1 is.

Table 5. Pharmacokinetics of Total Radioactivity in Sprague-Dawley Rats Following Oral Administration of ^{14}C -pivalic acid or ^{14}C -2-ethylbutyric acid at a dose of 200 mg/kg (100 $\mu\text{Ci}/\text{kg}$)

Administered Compound	C _{max} ($\mu\text{g eq.}/\text{mL}$)	Half-life (hr)	AUC ($\text{hr}\cdot\mu\text{g eq.}/\text{mL}$)	CL/F ($\text{mL}/\text{hr}/\text{kg}$)
pivalic acid	247 $\pm$ 36	13.8 $\pm$ 6.7	6624 $\pm$ 2948	35.6 $\pm$ 14.3
2-ethylbutyric acid	158 $\pm$ 47	5.7 $\pm$ 0.8	1332 $\pm$ 402	163.3 $\pm$ 53.5

Other Properties

For purposes of convenient formulation and suitability as a pharmaceutical product, in some embodiments, the compound is preferably solid at room temperature, preferably readily forms a crystalline solid, and is reasonably stable to degradation.

5

Discussion

Compound 1 was determined to exhibit a favorable combination of properties. In addition to being crystalline and adequately soluble in water, Compound 1 was fully converted to sulopenem in the liver S9 experiments, exhibited a relatively long PPE half-life, and a relatively low intrinsic clearance and saturation of intestinal enzymes in human intestinal juice. Based on this data, Compound 1 was predicted to exhibit favorable clinical PK, which was confirmed by the clinical data described above. Moreover, as evidenced by its structure and the carnitine work described herein, Compound 1 does not carry a carnitine liability. Thus, Compound 1 combines at least all of: good oral bioavailability, lack of carnitine liability, and favorable physical properties. In contrast, other prodrugs, in particular others bearing alkyl side chains, were not predicted to match these attributes. For instance, several of Compounds C to AA have a tertiary carbon alpha to the ester carbonyl group of the promoiety (e.g., Compound C). These are predicted to have a potential carnitine liability. Other of the test compounds had relatively low PPE stability and/or S9 conversion, predictive of lower GI stability and oral bioavailability. Still others were not tested due to difficulties in obtaining readily testable samples. See Table 4.

10
15
20

Prodrug Compound 2 also was shown to have favorable attributes, which include its predicted GI stability and bioavailability, and physical properties. See Table 4.

COMPOUND EXAMPLES

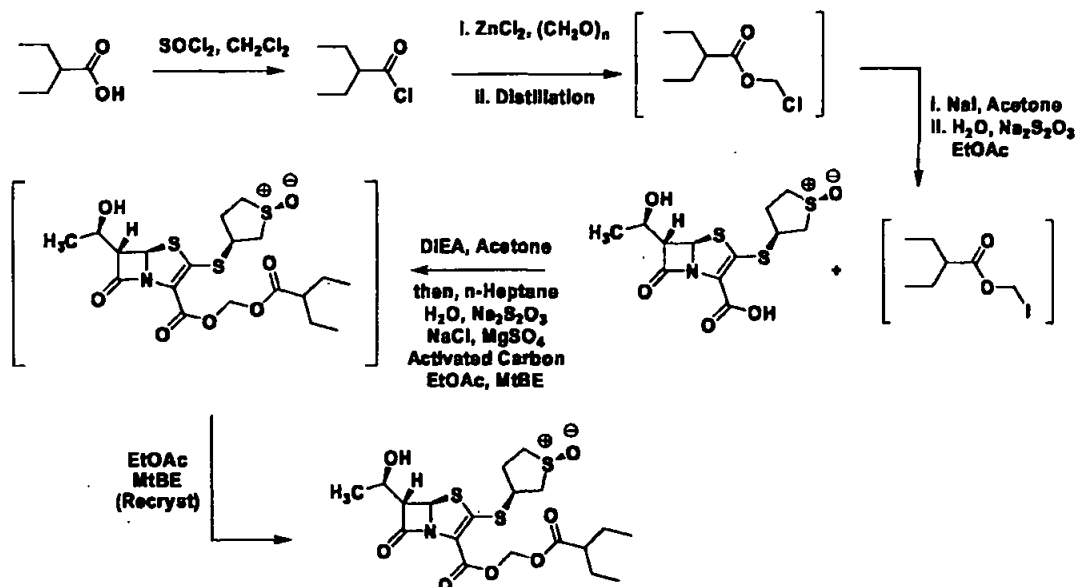
The present invention will be further illustrated by means of the following nonlimiting examples. Crystalline sulopenem, which was used in the present exemplification, was prepared according to Example 11 of US5013729.

25

Example 1: (2-Ethyl-1-oxobutoxy)methyl (5R,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-7-oxo-3-[[1R,3S)-tetrahydro-1-oxido-3-thienyl[thio]-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylate (Compound 1).

30

The title compound was prepared according to the following scheme and description.



Step 1: 2-Ethyl butyric acid (1500 g) was added to a solution of thionyl chloride (1800 g) in dichloromethane (0.75 L) over 1 hour. The mixture was heated to reflux and was monitored by GC (gas chromatography). After approximately 2 hours, the reaction mixture was concentrated via distillation at atmospheric pressure. It was then cooled to 22 °C, dichloromethane (0.75 L) was added, and the mixture was concentrated once again at atmospheric pressure. Due to the extreme corrosiveness of the reagents used, all exhaust gases were passed through a wet caustic scrubber.

Step 2: Meanwhile, a mixture of zinc chloride (18 g) and paraformaldehyde (480 g) was prepared. The semi-crude, neat acid chloride was added to this mixture over 1 hour at ambient temperature with mechanical stirring. After a small induction period, a significant exotherm was observed. The temperature of the reaction mixture increased from ambient (25 °C) to 50 °C over 5 minutes. The rate of addition was slowed to control the exotherm, and maintain the reaction at 50 °C. After complete addition, the reaction mixture was allowed to cool and was stirred at ambient temperature for an additional 18 hours.

n-Heptane (4 L) and 10% aqueous sodium bicarbonate solution (9 L) were then charged and the phases were separated. The aqueous phase was extracted with n-heptane (3.4 L). The combined organic phases were filtered and distilled under vacuum to afford the crude product. The product was purified by vacuum distillation (10-20 mmHg) to give 587 g of 2-ethylbutyric acid chloromethyl ester.

Step 3: 2-Ethyl butyric acid chloromethyl ester (700 g) was dissolved in acetone (3 L). To this solution was added sodium iodide (1.0 kg). The resulting reaction mixture was heated at reflux until reaction completion (2 h (hours), monitored by GC). The solution was then cooled to ambient temperature where *tert*-butyl methyl ether (7L) and 5% aqueous sodium thiosulfate (4 L) were added. The phases were separated and the organic phase was washed with aqueous sodium thiosulfate (4 L), low pyrogen water (4 L) and 10% sodium chloride solution (4 L). The organic layer was dried over magnesium sulfate (350 g), filtered, and the filter cake was washed with *tert*-butyl methyl ether (2x 0.7 L). The filtrate was evaporated to a small volume (ca. 2 L) to give 2-ethyl butyric acid iodomethyl ester, as a solution in *tert*-butyl methyl ether.

Step 4: The semi-crude *tert*-butyl methyl ether solution of 2-ethyl butyric acid iodomethyl ester from Step 3 was added to a slurry of sulopenem (750 g) in acetone (5.9 L). N,N-Diisopropylethylamine (DIEA) (319 g) in acetone (0.5 L) was added and the mixture was stirred at ambient temperature until

reaction completion. Low pyrogen water (8.5 L) and heptane (3.75 L) were added and the phases were separated. The aqueous layer was extracted first with heptane (5 L) and then with ethyl acetate (2x 6 L). The ethyl acetate extracts were combined and washed with 5% aqueous sodium thiosulfate (6 L), low pyrogen water (6 L) and 10% aqueous sodium chloride (6 L). The organic extract was treated with
 5 activated carbon (75 g) and magnesium sulfate (150 g), then was filtered. The filter cake was washed with ethyl acetate (2 x 1 L) and the filtrate was evaporated to dryness to provide the crude product (0.8 kg). Ethyl acetate (2.4 L) was added and the solution was heated (45 °C) to achieve dissolution. This solution was then hot-filtered and *tert*-butyl methyl ether (4.7 L) was added. The resulting slurry was granulated for 10 minutes at 40 °C to 50 °C and was then cooled slowly to less than 10 °C. The resulting
 10 solid was collected, washed with a 1:2 mixture of ethyl acetate and *tert*-butyl methyl ether (4 x 0.5 L) and dried to constant weight under vacuum at up to 50 °C to give 0.57 kg of the desired product (60% yield).

Step 5: The semi-crude product (0.55 kg) was slurried in ethyl acetate (1.65 L) at ambient temperature. The temperature was then adjusted to ca. 50 °C to achieve dissolution. This solution was hot-filtered to remove insoluble impurities then *tert*-butyl methyl ether (3.6 L) was added. The resulting
 15 solution was slowly cooled to less than 5 °C to initiate crystallization. The solid product was collected, washed with a 1:2 mixture of ethyl acetate and *tert*-butyl methyl ether (4 x 150 mL) and dried to constant weight under vacuum at up to 50 °C to give 0.48 kg of the desired product (86% yield). The crystalline material was determined to be non-solvated.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): 5.71 (m, 3H), 5.19 (d, 1H, J = 4.56 Hz), 3.92 (m, 2H), 3.81 (m, 1H),
 20 3.70 (m, 1H), 2.98 (m, 1H), 2.80 (m, 1H), 2.65 (m, 2H), 2.36 (m, 1H), 2.19 (m, 1H), 1.45 (m, 4H), 1.10 (d, 3H, J = 6.22 Hz), 0.78 (t, 6H).

MP: 105 °C; Mass. Spec.: (M+H)⁺ 478.

MW: 477.92 g/mol; Molec. Form.: C₁₉ H₂₇ N O₇ S₃.

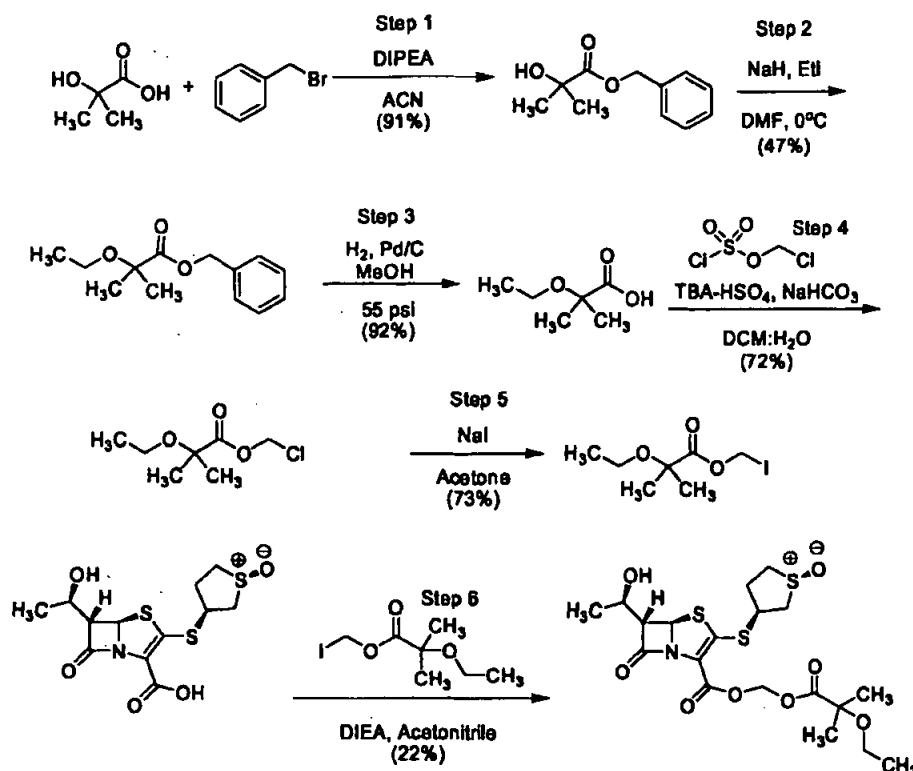
Aqueous solubility (pH 5 phosphate buffer, 25 °C): 1209 µg/mL.

25 Crystals of Compound 1 prepared in the manner of Step 5 above were submitted for X-ray powder diffraction. Samples were analyzed on a Siemens D500 Automated Powder Diffractometer equipped with a graphite monochromator and a Cu (λ=1.54 Å) X-ray source operated at 50 kV, 40 mA. Two-theta calibration was performed using an NBS mica standard. Sample preparation was performed using a zero background sample plate. The diffraction pattern of these crystals of Compound 1 is shown in Figure 3 and
 30 tabulated in Figure 5.

Example 2: (2-Ethoxy-2-methyl-1-oxopropoxy)methyl (5R,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-7-oxo-3-[(1R,3S)-tetrahydro-1-oxido-3-thienyl]thio]-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylate (Compound 2).

The title compound was prepared according to the following scheme and description.

35



In steps 1-4, 2-hydroxy-isobutyric acid was protected with benzyl bromide, alkylated with ethyl iodide, deprotected, and esterified to afford 2-ethoxy-isobutyric acid chloromethyl ester.

In step 5, in a suitable reaction flask, sodium iodide (23.9 g, 159.45 mmol, 1.6 eq.) was dissolved in acetone (96 mL). 2-Ethoxy-isobutyric acid chloromethyl ester (18 g, 99.65 mmol, 1 eq.) was then added as a solution in additional acetone (18 mL), and the resulting reaction mixture was heated at reflux under a nitrogen atmosphere for approximately 2h. The reaction was monitored by GC. Upon complete conversion, the reaction was allowed to cool to room temperature with stirring. The reaction was then partitioned between heptanes (120 mL) and 10% aqueous sodium thiosulfate solution (105 mL). The contents of the reaction vessel were stirred for at least 5 minutes, and then the phases were allowed to separate. The light organic phase was set aside, and the heavy aqueous phase was discarded. Organics were then washed with a second portion of 10% aqueous sodium thiosulfate solution (105 mL), and the heavy phase was once again discarded after separation. The organic layer was then washed with 10% aqueous sodium chloride (105 mL). The heavy aqueous phase was discarded, and the organics were concentrated under reduced pressure (< 35 °C). This provided 16.26 g of 2-ethoxy-isobutyric acid iodomethyl ester that was used in subsequent chemistry without additional purification (assay: ~60%).

In Step 6, to a suitable reaction vessel under a nitrogen atmosphere was added sulopenem (13.92 g, 39.83 mmol, 1 eq.) and acetone (110 mL). 2-Ethoxy-isobutyric acid iodomethyl ester (16.26 g, 59.9 mmol, 1.5 eq. at 100% potency) in acetone (14 mL) was then added, and the suspension was stirred for a minimum of 10 min. *N,N*-Diisopropylethylamine (5.11 g, 39.54 mmol, 1 eq.) in acetone (14 mL) was then added, maintaining an internal temp of < 35°C (exothermic). The reaction mixture was stirred at ambient temperature overnight (after ca. 2h. the sulopenem had dissolved). The reaction mixture was then partitioned between heptanes (80 mL) and water (129 mL), and the contents of the reaction vessel were stirred for at least 5 minutes. The phases were separated, and the light organic phase was

discarded. The heavy phase was washed with additional heptanes (80 mL). Once again, the phases were separated, and the light organic phase was discarded. The contents of the reaction vessel were then concentrated by approximately 50% under reduced pressure, while maintaining an internal temperature of less than 35 °C. Ethyl acetate (120 mL) was added, and the contents of the reaction vessel were stirred for at least 5 minutes. The phases were allowed to separate, and the light organic phase was set aside. The heavy aqueous phase was back-extracted with additional ethyl acetate (2x 120 mL). Combined organics were washed with 10% aqueous sodium thiosulfate (120 mL), water (120 mL) and 10% aqueous sodium chloride (120 mL). The organics were then treated with activated carbon (2.9 g), celite (2.9 g) and magnesium sulfate (MgSO₄) (8.2 g) at ambient temperature and stirred for at least 1h. After removal of these solids by filtration, the solution was concentrated under reduced pressure, while maintaining an internal temperature of less than 45 °C (ethyl acetate bp 76.5-77.5 °C).

Step 7: The resulting crude Compound 2 (23 g) in ethyl acetate (100 mL) was warmed nearly to reflux to fully dissolve the solids, and then *tert*-butyl methyl ether (100 mL) was added gradually, maintaining an internal temperature of 60 °C to reflux. The resultant mixture was stirred slowly at 60 °C to reflux for 5 minutes, and then was granulated for a minimum of 1 h at 5-15 °C. The white to off-white product was filtered, washed with methyl *t*-butyl ether (MTBE) (28 mL) and dried under vacuum at ambient temperature for at least 16h. This gave the product (Compound 2) as a white solid, (12.57 g, 63.9% yield).

Crystals from this product were submitted for X-ray powder diffraction. Samples were analyzed on a Siemens D500 Automated Powder Diffractometer equipped with a graphite monochromator and a Cu ($\lambda=1.54$ Å) X-ray source operated at 50 kV, 40 mA. Two-theta calibration was performed using an NBS mica standard. Sample preparation was performed using a zero background sample plate. The diffraction pattern is shown in Figure 4 and tabulated in Figure 6.

¹H NMR: (d₆-DMSO, 400 MHz): 5.83 (d, 1H, J = 5.81 Hz) 5.73 (m, 2H), 5.20 (m, 1H), 3.92 (m, 2H), 3.81 (m, 1H), 3.70 (m, 1H), 3.28 (q, 2H, J = 7.05 Hz), 2.98 (m, 1H), 2.80 (m, 1H), 2.65 (m, 2H), 2.36 (m, 1H), 1.29 (s, 6H), 1.10 (d, 3H, J = 6.63 Hz), 1.00 (t, 3H, J = 6.63 Hz).

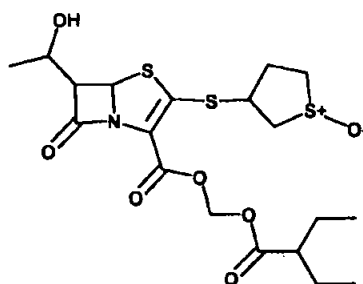
MP: 111-113 °C.

MW: 493.62 g/mol; Molec. Form.: C₁₉H₂₇NO₆S₃.

Aqueous solubility (pH 5 phosphate buffer, 25°C): 2900 µg/mL.

CLAIMS:

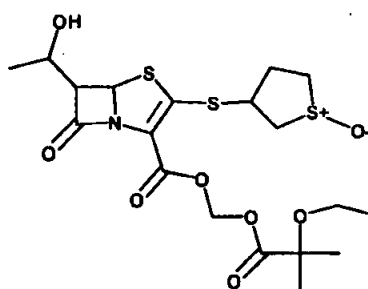
1. A compound of the formula:



2. The compound of claim 1, which is (2-ethyl-1-oxobutoxy)methyl (5R,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-7-oxo-3-[[[(1R,3S)-tetrahydro-1-oxido-3-thienyl]thio]-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylate.

3. The compound of claim 1, which is (2-ethyl-1-oxobutoxy)methyl (5R,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-7-oxo-3-[[[(1R,3S)-tetrahydro-1-oxido-3-thienyl]thio]-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylate in the crystalline form having an X-ray powder diffraction pattern substantially the same as that represented in Figs. 3 and 5.

4. A compound of the formula:



5. The compound of claim 4, which is 2-ethoxy-2-methyl-1-oxopropoxy)methyl (5R,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-7-oxo-3-[[[(1R,3S)-tetrahydro-1-oxido-3-thienyl]thio]-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylate.

6. The compound of claim 4, which is 2-ethoxy-2-methyl-1-oxopropoxy)methyl (5R,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-7-oxo-3-[[[(1R,3S)-tetrahydro-1-oxido-3-thienyl]thio]-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylate in the crystalline form having an X-ray powder diffraction pattern substantially the same as that represented in Figs. 4 and 6.

7. A pharmaceutical composition comprising the compound of any one of claims 1 to 6 formulated for oral administration with or without one or more excipients and/or one or more other active ingredients.

8. A pharmaceutical composition comprising the compound of any one of claims 1 to 6 and probenecid formulated for oral administration with or without one or more excipients and/or one or more other active ingredients.

5 9. A pharmaceutical composition comprising about 800 mg to about 2.5 g of a compound of any one of claims 2, 3, 5, or 6, formulated for oral administration with or without one or more excipients and/or one or more other active ingredients.

10. A method of treating bacterial infection comprising orally administering a therapeutically effective amount of the compound of any one of claims 1 to 6 to a human in need thereof.

10 11. A method of treating bacterial infection comprising orally administering a therapeutically effective amount of the compound of any one of claims 1 to 6 and probenecid to a human in need thereof.

12. Use of a compound of any one of claims 1 to 6 in the manufacture of a medicament for treating bacterial infection in a human in need thereof by oral administration.

15 13. A method of treating bacterial infection comprising orally administering a therapeutically effective amount of the compound of any one of claims 2, 3, 5, or 6, to a human in need thereof.

20 14. The method of claim 13, wherein the compound is orally administered in an amount of about 500 to about 2500 mg BID or TID.

15. The method of claim 13, wherein the compound is orally administered in a dose of about 800 to about 1000 mg BID.

25 16. The method of claim 13, wherein the compound is orally administered in a dose of about 2000 mg BID.

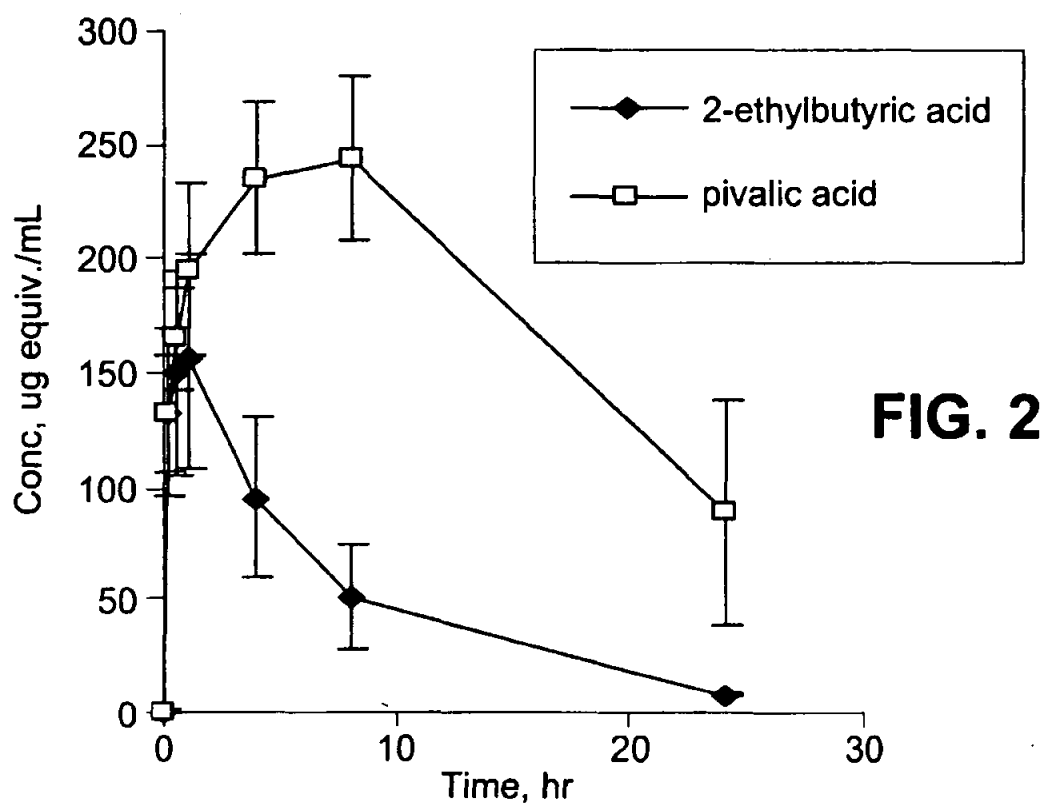
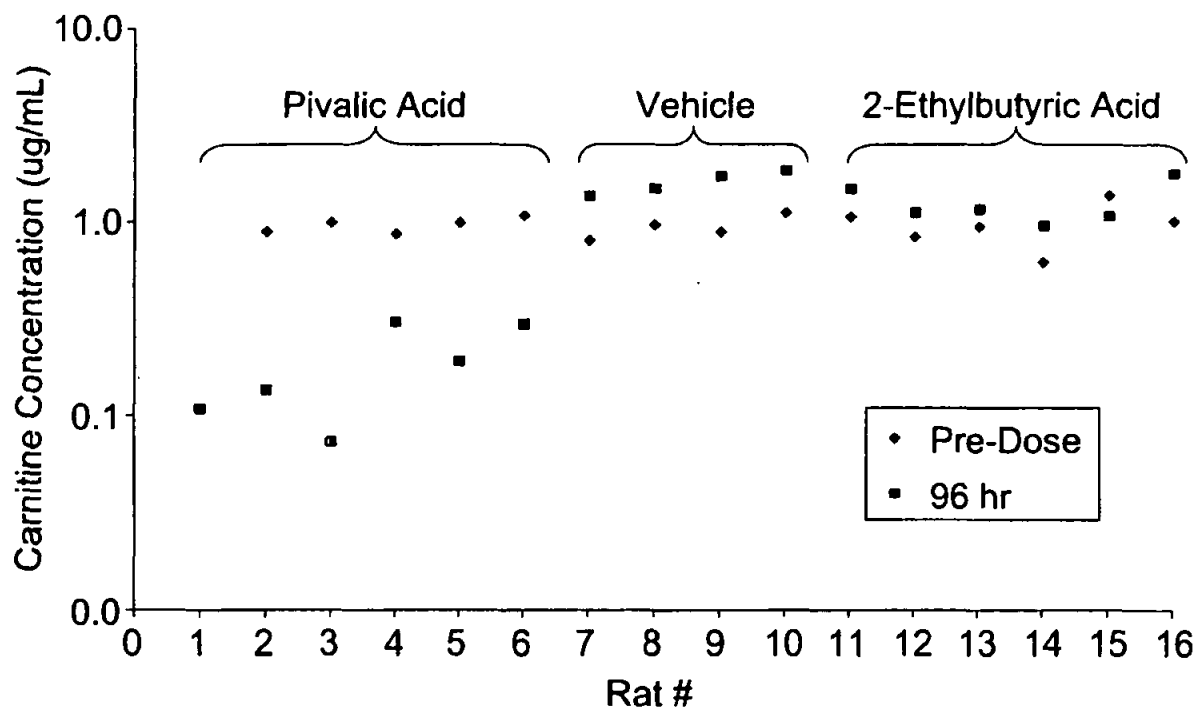
17. The method of claim 13, wherein the compound is orally administered in a dose of about 2000 mg TID.

30 18. The method of claim 13, wherein the compound is orally administered in a dose of about 7 to about 25 mg/kg BID.

35 19. The method of claim 13, wherein the compound is orally administered in a dose of about 17 to about 45 mg/kg BID.

20. The method of claim 13, wherein the compound is orally administered in a dose of about 17 to about 45 mg/kg TID.

1/4

FIG. 1

2/4

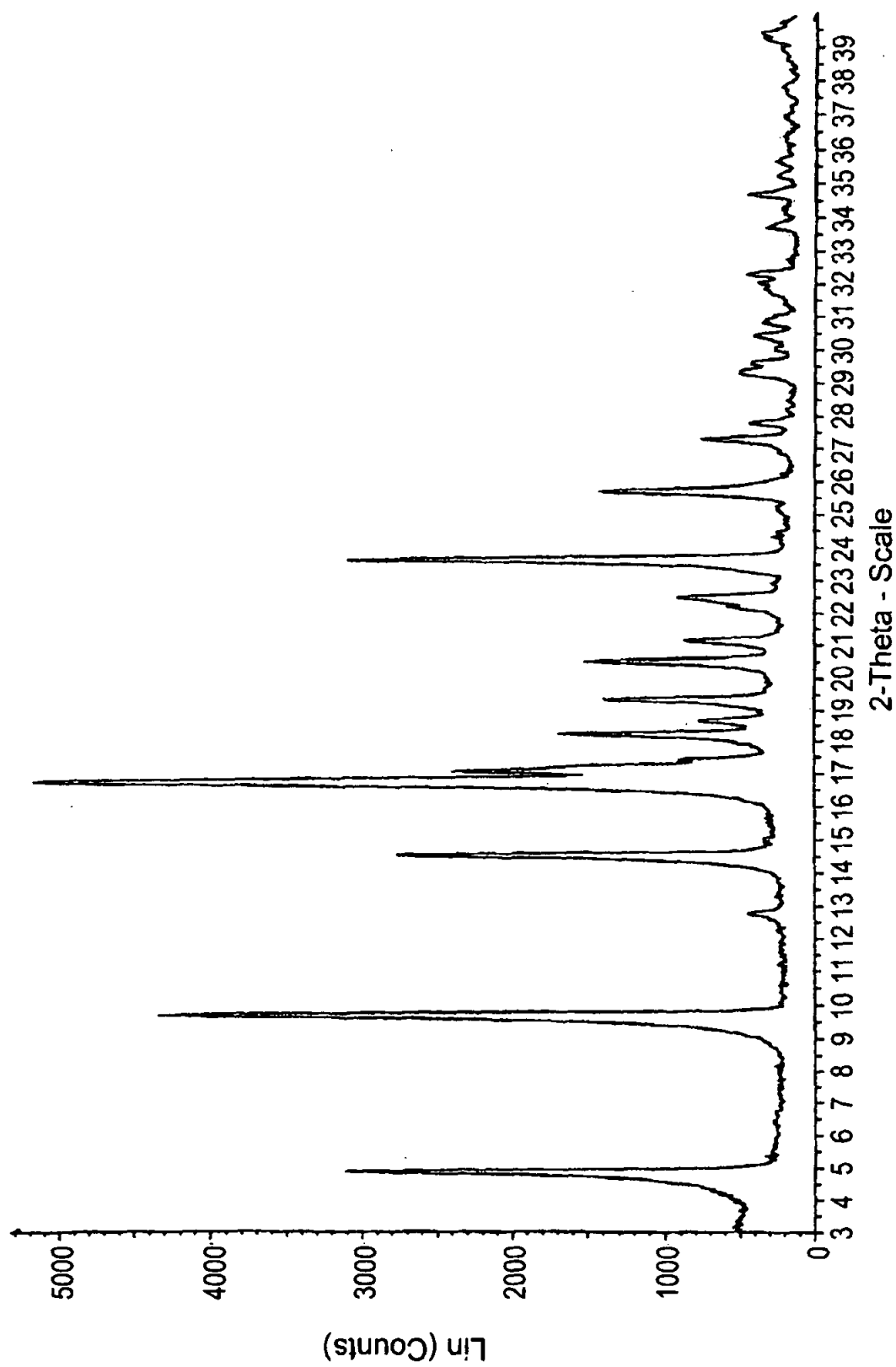
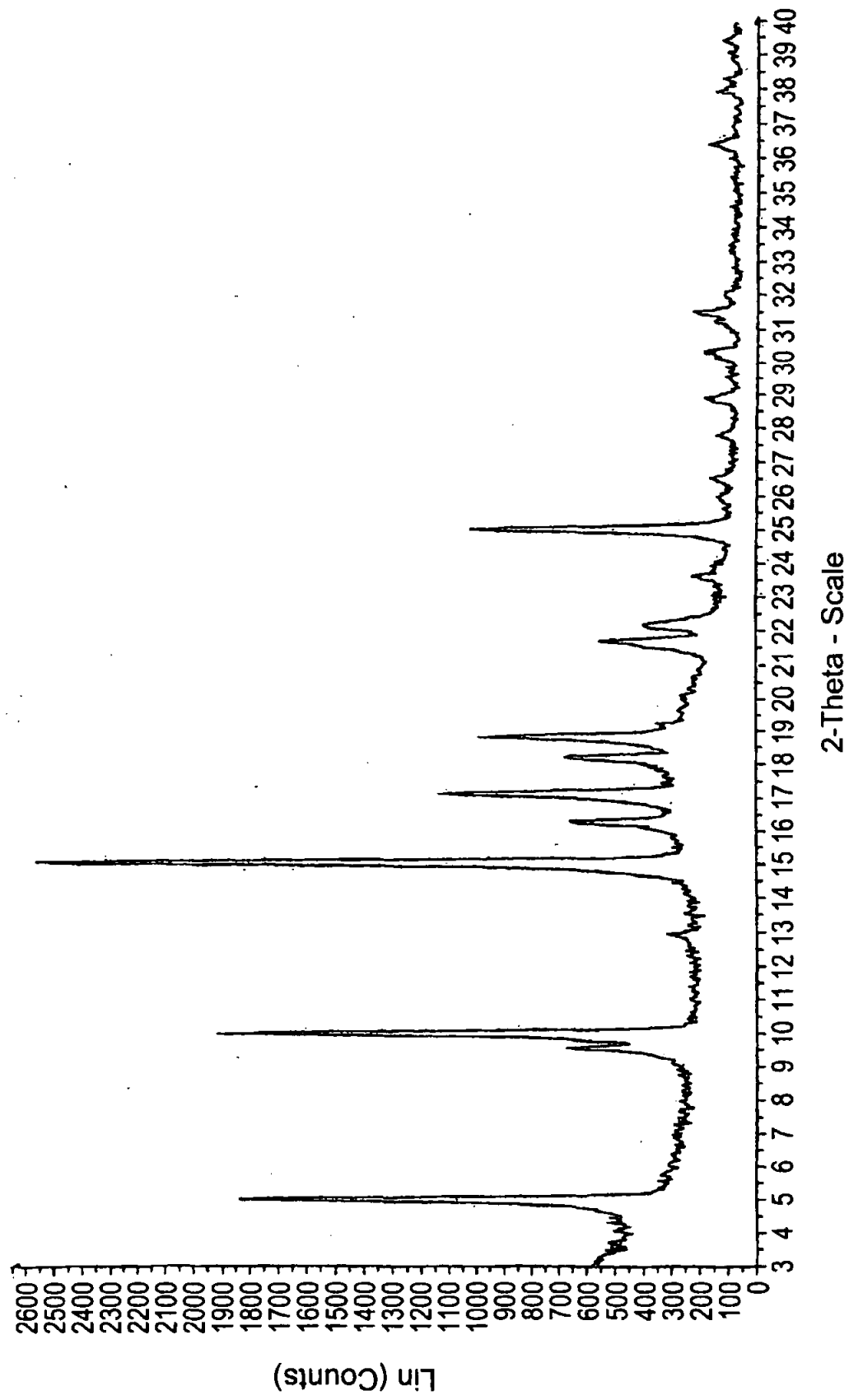
FIG. 3

FIG. 4



4/4

FIG. 6

d value	2-Theta °	Intensity	Intensity %
17.82492	4.953	1838	71.5
9.26907	9.534	667	26.0
8.85757	9.978	1917	74.6
6.84872	12.916	314	12.2
5.88550	15.041	2569	100.0
5.44080	16.278	655	25.5
5.18066	17.101	1135	44.2
4.87518	18.182	673	26.2
4.71380	18.810	988	38.5
4.09211	21.700	552	21.5
4.00937	22.153	399	15.5
3.76619	23.603	226	8.8
3.55534	25.025	1025	39.9
3.35547	26.542	162	6.3
3.20310	27.830	135	5.3
3.08747	28.894	184	7.2
2.94178	30.359	184	7.2
2.83532	31.528	220	8.6
2.46449	36.426	170	6.6
2.36407	38.031	125	4.9
2.28144	39.465	116	4.5

FIG. 5

d value	2-Theta °	Intensity	Intensity %
18.26027	4.835	3108	60.1
9.18278	9.624	4330	83.7
6.92727	12.768	430	8.3
6.11078	14.483	2759	53.3
5.30050	16.712	5174	100.0
5.18708	17.080	2396	46.3
4.86236	18.230	1683	32.5
4.75400	18.649	767	14.8
4.59001	19.322	1387	26.8
4.32314	20.527	1514	29.3
4.19978	21.137	860	16.6
3.99389	22.240	577	11.2
3.94639	22.511	907	17.5
3.75759	23.658	3098	59.9
3.45923	25.732	1421	27.5
3.25936	27.340	758	14.7
3.20146	27.844	426	8.2
3.03698	29.385	503	9.7
3.01040	29.651	412	8.0
2.92866	30.498	401	7.8
2.88994	30.917	348	6.7
2.76299	32.375	449	8.7
2.64868	33.814	316	6.1
2.57969	34.746	442	8.5
2.53966	35.312	244	4.7
2.51050	35.736	255	4.9
2.28153	39.463	350	6.8

PROFÁRMACOS DE PENEM

CAMPO Y ANTECEDENTES

La presente invención se refiere a antiinfecciosos, antibióticos, antibióticos orales y profármacos, en particular a profármacos de sulopenem, su preparación y uso.

El documento US 5013729 describe sulopenem, que es un antibiótico de amplio espectro que puede denominarse ácido (5R,6S)-6-[(1R)-1-hidroxietil]-7-oxo-3-[[[(1R,3S)-tetrahidro-1-oxido-3-tienil]tio]-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxílico. Véase también *J. Org. Chem.*, 57, 4352-61 (1992).

Otros penems y profármacos se describen por ejemplo en los documentos US 4952577; US 5506225; WO 1992/003444; y WO 2004/067532.

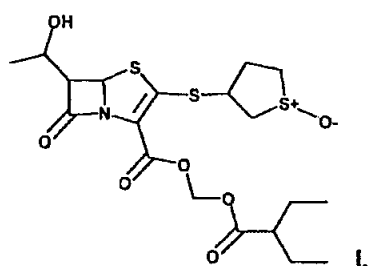
Se han realizado diversos estudios preclínicos y clínicos con sulopenem y ciertos profármacos del mismo. Sulopenem en sí no tiene una biodisponibilidad oral apreciable. El documento US 5013729 describe también profármacos de sulopenem, que incluyen el profármaco de pivaloiloximetilo de sulopenem (éster POM de sulopenem). Cuando se administró por vía oral en forma de una mezcla de dos estereoisómeros, se demostró que el éster POM presentaba biodisponibilidad oral en seres humanos. Véase Foulds y cols. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, páginas 665-671 (abril de 1991). Sin embargo, los profármacos de éster POM están asociados a la disminución de carnitina en los tejidos tras la hidrólisis y liberación de ácido pivalico o ácido trimetilacético. Véase Brass, *Pharmacological Reviews*, 54, 589-598 (2002).

SUMARIO

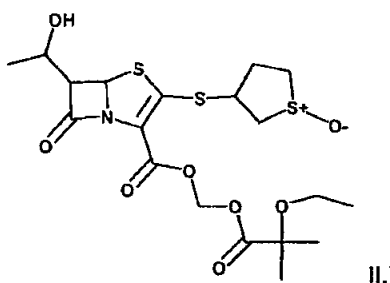
La presente invención se refiere al deseo de nuevos profármacos de

sulopenem que combinen uno o más de: exposición o biodisponibilidad oral elevadas, carencia de propensión a disminuir la carnitina en los tejidos, propiedades fisicoquímicas tales como cristalinidad, punto de fusión, solubilidad en agua y permeabilidad, que sean favorablemente adecuadas para la
5 formulación y uso farmacéuticos prácticos.

En algunos aspectos, la presente invención incluye los compuestos de la Fórmula I:



En otros aspectos, la presente invención incluye los compuestos de la
10 fórmula II:



La invención incluye además las formulaciones y el uso de los compuestos para tratar o prevenir una infección bacteriana.

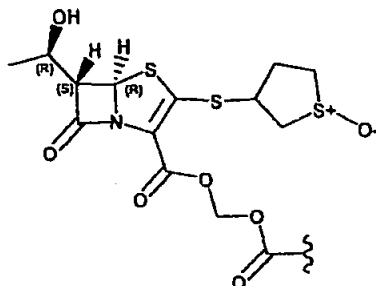
DESCRIPCIÓN DETALLADA

COMPUESTOS

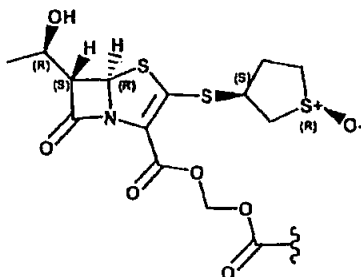
La presente invención incluye los compuestos profármaco de las Fórmulas I y II, tal como se muestran y se describen anteriormente. Todos sus estereoisómeros y sus mezclas están contempladas e incluidas, tal como

indican los dibujos anteriores que permiten y engloban tanto las configuraciones R como S de los estereocentros.

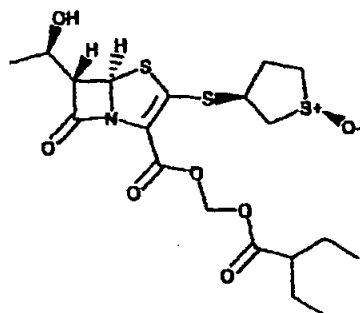
Una configuración preferida de los compuestos de las Fórmulas I y II es:



- 5 En particular, el resto oxotiolanilo preferiblemente presenta una configuración 1R,3S, tal como se muestra a continuación.

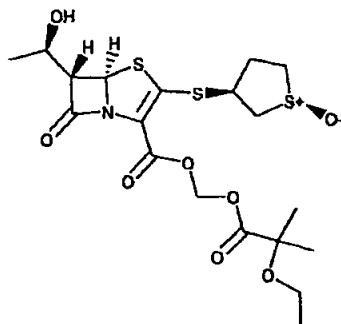


- Por ejemplo, se proporciona: (5R,6S)-6-[(1R)-1-hidroxietil]-7-oxo-3-
 10 [[[1R,3S)-tetrahidro-1-oxido-3-tienil]tio]-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-
 carboxilato (2-etil-1-oxobutoxi)metílico (Compuesto 1 en la presente memoria),
 que se representa a continuación:



- Otro ejemplo proporciona: (5R,6S)-6-[(1R)-1-hidroxietil]-7-oxo-3-

[[[(1R,3S)-tetrahydro-1-oxido-3-tienil]tio]-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxilato (2-etoxi-2-metil-1-oxopropoxi)metílico (Compuesto 2 en la presente memoria), que se representa a continuación:



- 5 Los profármacos de la presente invención pueden ser amorfos o pueden existir en diferentes formas cristalinas o polimorfos, que incluyen solvatos e hidratos. Los polimorfos de los profármacos forman parte de esta invención y pueden prepararse mediante cristalización de un profármaco de la presente invención en diversas condiciones. Los polimorfos pueden obtenerse también
- 10 calentando o fundiendo un profármaco seguido de enfriado gradual o rápido. La presencia de polimorfos puede determinarse mediante espectroscopia de RMN con sonda sólida, espectroscopia IR, calorimetría de barrido diferencial, difracción de cristales finos por rayos X u otras técnicas similares. Así, el nombrar un compuesto *per se*, está abierto a sus polimorfos que incluyen
- 15 moléculas de agua o disolventes asociadas a ellas.

PREPARACIÓN

- Los profármacos de la presente invención pueden prepararse, por ejemplo, a partir del ácido libre de sulopenem de acuerdo con procedimientos conocidos tales como los que se describen en la presente memoria o en los
- 20 documentos US 3951954; US 4234579; US 4287181; US 4452796; US 4342693; US 4348264; US 4416891; US 4457924; y US 5013729, todos los

cuales se incorporan por referencia a la presente memoria en su totalidad.

USO

Los profármacos de esta invención pueden usarse para tratar una variedad de infecciones intrahospitalarias y extrahospitalarias tales como infecciones de las vías respiratorias, quirúrgicas, del sistema nervioso central, gastrointestinales, genitourinarias, ginecológicas, de la piel y los tejidos blandos y oculares, y la neumonía extrahospitalaria en seres humanos. La actividad antibacteriana de los profármacos puede explotarse también ventajosamente para uso preventivo. Se prefiere la administración oral. Los datos de la actividad biológica se proporcionan a continuación.

La cantidad mínima de profármaco que se administra es una cantidad terapéuticamente eficaz mínima. La cantidad máxima de profármaco que se administra es aquella cantidad que es toxicológicamente aceptable. En algunas realizaciones, la cantidad de profármaco de sulopenem que se administra es aquella que mantendrá la concentración antibiótica en plasma de sulopenem por encima de la CIM₉₀ (concentración inhibidora mínima al 90%) (por ejemplo, aproximadamente 0,5 µg/ml o aproximadamente 1 µg/ml) de los patógenos infecciosos durante al menos aproximadamente el 30% (por ejemplo, al menos aproximadamente 3,6 horas para una administración dos veces al día o 2,4 horas para una administración de tres veces al día) del intervalo entre dosis. En algunas realizaciones, el nivel en sangre se mantienen el nivel diana o superior al nivel diana durante al menos aproximadamente el 40% (por ejemplo, al menos aproximadamente 4,8 horas para la administración dos veces al día o 3,2 horas para la administración tres veces al día) del intervalo entre dosis.

En general, una dosis diaria del profármaco de sulopenem para adultos

puede ser aproximadamente 500 mgA (miligramos equivalentes de sulopenem) a aproximadamente 6 gA, o aproximadamente 1 gA a aproximadamente 5 gA. Una posología del profármaco de sulopenem para adultos puede ser de aproximadamente 500 mgA a aproximadamente 1500 mgA administrados dos veces al día con intervalos de aproximadamente 12 horas. Una posología puede administrarse durante un período de aproximadamente una semana a aproximadamente dos semanas. Para ciertas infecciones, puede ser necesario o deseable usar dosis fuera de estos parámetros.

Una dosis diaria del profármaco de la presente invención puede administrarse habitualmente de 1 a 4 veces al día, normalmente en dosis iguales. En algunas realizaciones, la dosis del profármaco puede ser de aproximadamente 500 a aproximadamente 2500 mg dos veces al día o tres veces al día; aproximadamente 800 mg a aproximadamente 1 g dos veces al día; o aproximadamente 2 g dos veces al día o tres veces al día para infecciones más graves. En algunas realizaciones, la dosis puede ser de aproximadamente 7 a aproximadamente 25 mg/kg dos veces al día; de aproximadamente 17 a aproximadamente 45 mg/kg dos veces al día; o de aproximadamente 17 a aproximadamente 45 mg/kg tres veces al día.

En algunas realizaciones, el tratamiento se inicia por vía intravenosa con sulopenem mismo o con otro antibiótico y después se continúa el tratamiento con un profármaco oral de la presente invención.

Como se describe más adelante, se encontró que en seres humanos el profármaco del Compuesto 1 proporcionaba niveles en sangre superiores a 0,5 µg/ml durante entre 3,18 y 4,84 horas tras la administración oral de 1000 mg (aproximadamente 730 mg equivalentes de sulopenem) del profármaco. En un

experimento diferente, se encontró que en seres humanos el profármaco del Compuesto 1 proporcionaba niveles en sangre superiores a 1 µg/ml durante entre 4,28 y 5,94 horas tras la administración oral de 2000 mg (aproximadamente 1460 mg equivalentes de sulopenem) del profármaco.

- 5 El uso del profármaco puede ser concomitante con otros agentes activos. El uso de sulopenem o profármaco de sulopenem puede ser concomitante con probenecid o un agente de actividad similar que tiene un efecto inhibitor sobre la secreción de los túbulos renales.

FÓRMULACION

- 10 La presente invención incluye composiciones farmacéuticas que comprenden el/los compuesto(s) del profármaco del invención formulados para la administración oral con o sin uno o más excipientes y/o otro u otros ingredientes activos. El profármaco puede estar en forma de solvato o hidrato.

- Las formas para la administración oral de la presente invención pueden
15 ser comprimidos, que incluyen comprimidos masticables, cápsulas, píldoras, tabletas, trociscos, polvos, jarabes, elixires, soluciones y suspensiones, y similares, de acuerdo con la práctica farmacéutica estándar. La composición farmacéutica de la presente invención también puede administrarse directamente al tubo gastrointestinal del paciente a través de un tubo
20 nasogástrico.

Una forma farmacéutica oral en algunas realizaciones puede contener de aproximadamente 800 a aproximadamente 2500 mg del profármaco.

- Los excipientes pueden elegirse basándose en la forma farmacéutica pretendida. Ejemplos no limitantes incluyen polivinilpirrolidona,
25 hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, sacarosa, gelatina, goma

arábica, goma tragacanto o almidón de maíz; cargas tales como celulosa microcristalina, lactosa, citrato sódico, carbonato cálcico, fosfato cálcico dibásico, glicina y almidón; disgregantes tales como almidón de maíz, almidón de patata, ácido algínico, almidón glicolato sódico, croscarmelosa sódica y
5 ciertos silicatos complejos; lubricantes tales como estearato magnésico, laurilsulfato sódico y talco; y edulcorantes tales como sacarosa, lactosa o sacarina. Cuando una forma farmacéutica monodosis es una cápsula puede contener, además de los materiales del tipo anterior, un vehículo líquido tal como un aceite graso. Los excipientes también pueden incluir adyuvantes de
10 suspensión tales como goma xantana o hidroxipropilmetilcelulosa, deslizantes tales como sílice coloidal, diluyentes y agentes de carga tales como dióxido de silicio, aromas, en particular en el caso de las suspensiones y sobrecitos orales pediátricos. También pueden emplearse estabilizantes tales como ácido succínico. Pueden estar presentes otros materiales diversos como
15 recubrimientos o para modificar la forma física de la forma farmacéutica. Por ejemplo, los comprimidos pueden estar recubiertos con laca, azúcar o ambas. También se contemplan las formas farmacéuticas de liberación modificada.

El/los profármaco(s) estará(n) presente(s) en la composición farmacéutica en una cantidad suficiente para proporcionar la cantidad de dosis
20 terapéutica que se desee en el intervalo que se describe en la presente memoria. La relación proporcional entre un profármaco y los excipientes dependerá naturalmente de factores tales como la naturaleza química, la solubilidad y la estabilidad de los ingredientes activos, así como de la forma farmacéutica que se contemple. Habitualmente, las composiciones
25 farmacéuticas de la presente invención pueden contener de aproximadamente

el 20% a aproximadamente el 95% de profármaco en peso.

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE SULOPENEM

Sulopenem es activo contra un amplio abanico de patógenos, que incluyen patógenos hospitalarios. Esto incluye una actividad potente contra miembros de la familia Enterobacteriaceae que expresan β -lactamasas de espectro ampliado que confieren resistencia a las cefalosporinas (*K. pneumoniae*, ESBL+). Además, muchas de estas cepas aisladas son también resistentes a las fluoroquinolonas. Sulopenem es muy activo contra muchas especies de anaerobios clínicamente relevantes.

La actividad *in vitro* de sulopenem (el ácido progenitor ácido (5R,6S)-6-[(1R)-1-hidroxietil]-7-oxo-3-[[[(1R,3S)-tetrahydro-1-oxido-3-tienil]tio]-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxílico) se evaluó contra patógenos implicados en infecciones extrahospitalarias e intrahospitalarias, tal como se resume en la Tabla 1.

Tabla 1. Valores de CIM₉₀ (µg/ml) para Sulopenem 1

<i>Staphylococcus aureus</i> s. a oxacilina	0,125
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	0,5
<i>Alloiococcus otitidis</i>	1
<i>Streptococcus pyogenes</i> (Grupo A)	0,03
<i>Streptococcus agalactiae</i> (Grupo B)	0,125
<i>Streptococcus bovis</i> (Grupo D)	0,06
Grupo de <i>Streptococcus viridans</i>	0,25
<i>Streptococcus pneumoniae</i> susceptible a penicilina	0,03
<i>Streptococcus pneumoniae</i> intermedio a penicilina	0,25
<i>Streptococcus pneumoniae</i> resistente a penicilina	1

<i>Streptococcus pneumoniae</i> resistente a levofloxacina	0,5
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,125
<i>Corynebacterium</i> spp (no <i>C. jeikeium</i>)	2
<i>Citrobacter diversus</i>	0,06
<i>Citrobacter freundii</i>	0,25
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0,5
<i>Enterobacter cloacae</i>	1
<i>Escherichia coli</i>	0,06
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0,125
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,125
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ESBL+	0,25
<i>Morganella morganii</i>	2
<i>Proteus mirabilis</i>	0,5
<i>Salmonella/Shigella</i>	0,125
<i>Haemophilus influenzae</i> β -lactamasa -	0,25
<i>Haemophilus influenzae</i> β -lactamasa +	0,5
<i>Moraxella catarrhalis</i> β -lactamasa -	0,03
<i>Moraxella catarrhalis</i> β -lactamasa +	0,125
<i>Legionella pneumophila</i>	0,06
<i>Neisseria meningitides</i>	0,06
<i>Bacteroides fragilis</i>	0,5
<i>Clostridium perfringens</i>	0,06
<i>Prevotella</i> spp.	0,125

Así, sulopenem es activo contra un amplio abanico de patógenos, que

incluyen patógenos hospitalarios que son resistentes a cefalosporinas y fluoroquinolonas. El espectro apoya su amplio uso hospitalario, cuando se identifique el patógeno infeccioso y se confirme la susceptibilidad a sulopenem. Esto incluiría una amplia lista de indicaciones respiratorias y de indicaciones quirúrgicas en las que probablemente estaría implicada una flora mixta, en particular como parte de un régimen con fármacos múltiples cuando se sospecha de infecciones mixtas.

EFICACIA ORAL DE LOS PROFÁRMACOS

Los compuestos se analizaron para determinar la eficacia oral en tres modelos de infección diferentes *in vivo*. Los patógenos bacterianos que se utilizaron para establecer cada infección se eligieron basándose en sus perfiles de resistencia y capacidades de provocar la infección en modelos relevantes para las enfermedades en seres humanos. Las cepas aisladas de *Klebsiella pneumoniae* 1109 y 6485 provienen de una colección de cepas clínicas aisladas recientemente positivas para β -lactamasas de espectro ampliado (ESBL⁺) y tienen CIM elevadas de ciprofloxacina y ceftazidima así como de otros antibióticos de β -lactamas. Ambas cepas aisladas han demostrado la capacidad de provocar infecciones sistémicas letales en ratones. *Streptococcus pneumoniae* 1095 es una cepa tolerante a penicilinas, resistente a macrólidas que es patógena en modelos murinos de infección sistémica y de las vías respiratorias. La cepa de *Haemophilus influenzae* Rd/AH5-3 se derivó de la cepa de laboratorio Rd; una mutación puntual dirigida en PBP3 hace que esta cepa negativa para β -lactamasa sea resistente a ampicilina (BLNAR). Esta cepa es capaz de provocar otitis media en un modelo de la enfermedad en gerbos mongoles. Los resultados se resumen en la Tabla 2 más adelante.

Modelo murino de infección sistémica aguda: para este modelo, se infectaron ratones CF-1 mediante inyección intraperitoneal de un inóculo letal de *K pneumoniae* 1109, 6485, o de *S. pneumoniae* 1095. Se infectaron cuatro grupos de dosis formados por de ocho a diez ratones por grupo y se trataron cubriendo un amplio abanico de niveles de dosis. A los ratones se les administró un tratamiento dos veces al día o a los 30 minutos/4 horas después de la infección o una/cinco horas después de la infección; la DP₅₀ (la dosis a la que sobreviven el 50% de los ratones infectados y tratados) se calculó basándose en los números de animales que sobrevivieron el día cuatro después de la infección.

Modelo murino de infección de las vías respiratorias: Este modelo de infección se inició con una inoculación intranasal de una exposición letal de *S. pneumoniae* 1095 que provocó neumonía. Se infectaron y trataron cuatro grupos de dosis formados por de ocho a diez ratones por grupo, para cubrir un amplio intervalo de niveles de dosis. Se inició un tratamiento dos veces al día 18 horas después de la infección y se continuó durante dos días. Se usó el número de ratones que sobrevivieron en cada grupo de dosis el día diez después de la infección para determinar la DP₅₀.

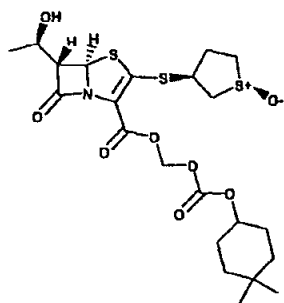
Modelo en gerbos de otitis media: Para establecer la otitis media, se infectaron gerbos mongoles mediante inoculación intrabulla con una cepa BLNAR de *H. influenzae*. Se infectaron y trataron cuatro grupos de dosis constituidos por cinco gerbos por grupo, cubriendo un amplio espectro de niveles de dosis. Se inició un tratamiento de tres veces al día 18 horas después de la infección y se continuó durante dos días. El día cuatro después de la infección, se sacrificó a los animales, se recogieron los lavados de fluido del

oído medio y se determinó el número de bacterias que contenían. Se calcularon las DE_{50} basándose en los niveles de bacterias; las muestras de lavado de fluido del oído medio con recuentos inferiores a 100 unidades formadoras de colonias/ml se consideraron limpias.

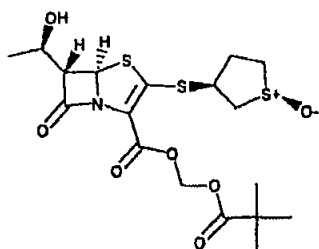
- 5 Se recogieron los datos para los compuestos de los Compuestos 1 y 2; para el Compuesto A (que se representa a continuación); y para el Compuesto B1, que es el éster pivaloiloximetilico (éster POM) de sulopenem (estereoquímica del oxotiolano (1R,3S)) (que se representan a continuación).

El compuesto B2 es la mezcla diastereomérica (mostrada a
10 continuación).

Compuesto A:



Compuesto B1:



15 Compuesto B2:

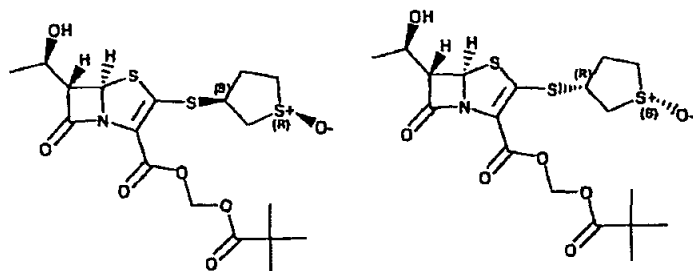


Tabla 2. Eficacia *in vivo* (DP₅₀ o DE₅₀ en mg/kg)

Modelo	Comp. 1	Comp. 2	Comp. A	Comp. B1
Infección sistémica aguda murina con <i>K.</i> <i>pneumoniae</i> 1109 (DP ₅₀)	25,1 (13,6 - 36,6)	12,5 (12,4 - 12,6)	10,1 (3,8 - 16,4)	38,2 (27,7 - 48,7)
"	9,0 (8,7 - 9,3)	16,2 (15,9 - 16,6)	15,3 (9,0 - 21,6)	11,4 (11,3 - 11,5)
-	-	-	-	-
Infección sistémica aguda murina con <i>K.</i> <i>pneumoniae</i> 6485 (DP ₅₀)	88,6 (87,8 - 89,4)	88,3 (68,5 - 108,2)	40,7 (29,1 - 52,3)	> 100
"	63,4 (2,1 - 124,6)	32,7 (23,7 - 41,7)	-	> 100
"	-	63,4 (58,5 - 68,3)	-	-
-	-	-	-	-
Infección sistémica aguda murina con <i>S.</i>	12,5 (12,4 - 12,6)	7,9 (7,3 - 8,5)	9,0 (8,7 - 9,3)	7,9 (7,3 - 8,5)

<i>pneumoniae</i> 1095 (DP ₅₀)				
"	6,3 (1,5 - 11,1)	6,3 (3,4 - 9,1)	15,3 (9,0 - 21,6)	4,3 (4,2 - 4,5)
"	-	11,0 (8,6 - 13,5)	-	9,0 (8,7 - 9,3)
-	-	-	-	-
Infección de las vías respiratorias murina con <i>S. pneumoniae</i> 1095 (DP ₅₀)	16,4 (9,8 - 23,0)	19,7 (18,2 - 21,2)	17,8 (0 - 38,6)	49,9 (34,7 - 65,2)
"	12,5 (5,6 - 19,4)	38,5 (37,7 - 39,3)	20,8 (8,7 - 50,1)	18,1 (1,4 - 34,9)
"	9,5 (4,0 - 15,0)	-	-	16,2 (11,5 - 20,9)
-	-	-	-	-
Otitis media en gerbos con <i>H. influenzae</i> BLNAR (DE ₅₀)	8,7 (8,4 - 9,0)	5,7 (3,6 - 7,7)	6,9 (4,4 - 9,4)	12,6 (6,8 - 18,3)
"	4,5 (4,4 - 4,6)	12,6 (6,8 - 18,3)	8,7 (8,4 - 9,0)	5,7 (5,6 - 5,7)

FARMACOCINÉTICA CLÍNICA DE LOS PROFÁRMACOS

Los datos de la farmacocinética (PK) clínica de voluntarios humanos sanos para los compuestos del profármaco de sulopenem del Compuesto 1,

Compuesto B2 (datos de Foulds y cols.), y Compuesto A se resumen en la Tabla 3, más adelante. El Compuesto B2 es una mezcla diastereoisomérica de la que el diastereoisómero de configuración (1R,3S) en el resto oxotiolanilo es el Compuesto B1 (véanse los dibujos anteriores). No hay disponibles datos
5 clínicos para el profármaco del Compuesto 2.

Para el Compuesto 1 y el Compuesto A, seis personas recibieron dosis crecientes. Se obtuvieron muestras de sangre entera antes de administrar la dosis y a las 0,5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, y 12 horas después de la dosis y se procesaron para obtener el plasma. Después se cuantificó la concentración de
10 sulopenem en las muestras de suero y plasma usando procedimientos de HPLC validados. Los datos de T_{max} para el Compuesto A se expresan en términos de mediana e intervalo.

Se administró una dosis única de Compuesto B2 a un total de diez personas. Véase Foulds y cols., referencia anterior. Se obtuvieron muestras de
15 sangre antes de la dosis y a las 0,08, 0,17, 0,33, 0,5, 1, 1,5, 2, 3, 4, 6 y 8 horas y se procesaron para obtener el suero tras la administración oral del Compuesto B2 a 500 mg equivalentes de compuesto progenitor sulopenem (cinco personas) y 1000 mg equivalentes de compuesto progenitor sulopenem (cinco personas). Foulds y cols. también estiman las contribuciones a la PK de
20 los diastereoisómeros 1R,3S (Compuesto B1) y 1S,3R presentes en el Compuesto B2.

Tabla 3. Farmacocinética clínica de Compuesto 1, Compuesto B2 y Compuesto A

Profármaco oral	Dosis (mg)	Dosis de Sulo. Equiv. (mg)	Cmax (ng/ml)	Tmax (h)	ABC _{última} (h-ng/ml)	t _{1/2} (h)
Comp.1	400	292	1464 ± 442	1,17 ± 0,93	3455 ± 670	0,85 ± 0,16
"	600	438	1508 ± 340	1,33 ± 0,82	3914 ± 514	0,76 ± 0,096
"	1000	730	2860 ± 570	0,83 ± 0,41	6421 ± 1208	1,00 ± 0,17
"	2000	1460	4667 ± 1181	1,33 ± 0,82	13131 ± 2101	1,10 ± 0,62
Comp.B2 (Foulds y cols.)	273	205	1180 ± 280	NC	2260 ± 440	NC
"	544	409	1790 ± 490	NC	4190 ± 730	NC
Comp.A	300	196	715 ± 303	1,0 (0,5 - 1,5)	818 ± 480	NC
"	1000	654	1380 ± 372	0,5 (0,5 - 1,0)	2350 ± 642	1,11 ± 0,21
"	1000 fed	654 fed	1130 ± 300	1,0 (0,5 - 3,0)	3900 ± 535	NC
"	3000	1960	2260 ± 335	1,0 (0,5- 1,5)	5180 ± 1500	1,59 ± 0,80

La exposición a sulopenem tras la administración oral del Compuesto B2 se expresó en términos de la fracción absorbida comparada con las ABC intravenosas en el mismo estudio (Tabla 4, Foulds y cols.) La fracción absorbida variaba de 38,5 a 33,5% para el Compuesto B2 a dosis equivalentes de sulopenem de 205 a 409 mg. Usando los mismos datos intravenosos de la Tabla 4 de Foulds y cols., puede estimarse una fracción absorbida de 37,1 y 28,0% para el Compuesto 1 a dosis equivalentes de sulopenem de 292 y 438 mg, respectivamente.

Aunque se administraron diferentes equivalentes de dosis, la tendencia para los profármacos es de aumentos en la exposición sistémica proporcionales inferiores a la dosis. Los datos para el Compuesto A demuestran al menos que la capacidad lipófila aumentada del profármaco no se traduce necesariamente en una mejor exposición oral. La capacidad lipófila (ClogP) se calculó usando el programa ACD Labs 9.0 (LogP/DB; www.acdlabs.com) con los siguientes resultados: Compuesto 1: -0,29; Compuesto A: 0,83; Compuesto B1: -1,0; Compuesto B2: -1,0. La evaluación ulterior del Compuesto A reveló su inestabilidad inherente en el tracto gastrointestinal. Una estabilidad gastrointestinal mejorada tal como la que demostró el Compuesto 1 *in vitro* usando jugos intestinales humanos se ha correlacionado con un aumento de la exposición oral relativa a la dosis.

EVALUACIÓN Y SELECCIÓN DE LOS PROFÁRMACOS

Los profármacos se evaluaron con el objetivo final de identificar los compuestos que mostraban o que se predijo que mostrarían una o más de las siguientes: farmacocinética favorable tal como exposición o biodisponibilidad

oral elevada en seres humanos tras la administración oral; carencia de propensión a disminuir la carnitina en los tejidos; y propiedades fisicoquímicas adaptadas favorablemente a la formulación y uso farmacéuticos prácticos.

La evaluación del Compuesto A, entre otras cosas, llevó a la conclusión de que la estabilidad gastrointestinal del profármaco se predice que desempeña un papel significativo en la biodisponibilidad oral. Se evaluaron compuestos de profármacos nuevos y se clasificaron, tal como se explica en detalle más adelante, en base a su estabilidad en presencia de pancrelipasa porcina (PPE) y a su estabilidad en jugos intestinales humanos (HIJ). La eficiencia de la conversión en sulopenem en homogenado de hígado humano se consideró también que era un parámetro significativo relativo a la biodisponibilidad oral de los profármacos. Los criterios de valoración *in vitro* para el Hígado S9, PPE y HIJ se resumen en la Tabla 4. Los profármacos se analizaron de acuerdo con los siguientes procedimientos generales.

15 Eficiencia de conversión hepática S9

Se evaluaron los profármacos para determinar la estabilidad y la eficiencia de conversión en homogenado de hígado humano (fracción S9). El hígado S9 se preparó reciente a partir de trozos de hígado almacenados a -70 °C para cada análisis que se completó. Se homogenizaron aproximadamente 5 g de tejido de hígado congelado hasta su uniformidad en 15 ml de tampón de fosfato potásico 100 mM enfriado en hielo (a pH 7,4). El homogenado se centrifugó después a 9000 g durante 20 minutos a 5 °C para aislar la fracción de sobrenadante S9. Cada incubación se realizó a una dilución de 1:10 del sobrenadante de S9 en tampón de fosfato potásico 100 mM (a pH 7,4). Las reacciones (1 ml) se iniciaron mediante la adición del sustrato (50 µM final) a 37

°C. Se obtuvieron alícuotas (75 µl) a los 0, 0,5, 1, 2, 3, 5, 10, y 20 minutos y se inactivó en 150 µl de acetonitrilo/acetato de amonio 100 mM 80/20 a pH 4,5 que contenía un patrón interno (ampicilina, 5 µg/ml). Las muestras se centrifugaron a 3000 g durante 10 minutos y los sobrenadantes se transfirieron a viales para inyección. La degradación de primer orden del profármaco se controló por CL/EM/EM tal como se describe más adelante. La conversión en sulopenem se expresó como un porcentaje del equivalente molar (50 µM) en una muestra enriquecida. Los compuestos que lograban una eficiencia de conversión de aproximadamente el 75% o superior, se seleccionaron para realizar una evaluación más detallada.

Estabilidad

En estos experimentos, se agitó el contenido de una cápsula de kuzyme® HP (preparación de pancrelipasa según la USP formada por: lipasa 8000 unidades USP, proteasa 30.000 unidades USP y amilasa 30.000 unidades USP; Schwarz Pharma Inc., Milwaukee, WI, EE. UU.) en 50 ml de fosfato potásico 100 mM a pH 7,4 y se mezclaron a uniformidad. Cada incubación (1 ml) se realizó a 37 °C y se inició mediante la adición de sustrato (50 µM final). Se tomaron alícuotas (100 µl) a los 0, 0,5, 1, 2, 3, 5, 10, y 20 minutos después de la adición del sustrato y se inactivaron con 200 µl de acetonitrilo/acetato de amonio 100 mM 80/20 a pH 4,5 que contenía un patrón interno (ampicilina, 5 µg/ml). Las muestras se centrifugaron a 3000 g durante 10 minutos y los sobrenadantes se transfirieron a viales para inyección. La degradación de primer orden del profármaco se controló por CL/EM/EM tal como se describe más adelante. Los compuestos que lograron una semivida de estabilidad de aproximadamente 10 minutos o superior se seleccionaron para

realizar una evaluación más detallada.

En la Tabla 4, los valores únicos representan una media de dos determinaciones por duplicado. Cuando se realizaron determinaciones adicionales para un compuesto dado, los datos se expresan en términos de media y desviación típica. Todos los compuestos se analizaron usando un primer lote (Lote 1) de ku-zyme.

Los Compuestos 1, A, B1, y B2 se evaluaron también usando un segundo lote de ku-zyme (Lote 2), para el que se muestran los datos entre paréntesis.

- 10 En los experimentos de jugos intestinales humanos (HIJ), se agruparon los jugos intestinales humanos de 4 personas individuales (1 ml cada uno) con 1 ml de tampón de fosfato potásico 600 mM a pH 7,4. Alícuotas de 300 μ l x 6 del jugo intestinal humano tamponado se incubaron a 37 °C tras la suplementación del sustrato a concentraciones de 300, 100, 30, 10, 3 y 1 μ M.
- 15 Dos compuestos de profármacos se analizarían al mismo tiempo. Se tomaron muestras de 35 μ l a los 0, 0,5, 1, 2, 10, y 20 minutos y se inactivaron con 70 μ l de acetonitrilo/acetato de amonio 100 mM a pH 4,5 80/20 que contenía un patrón interno (ampicilina, 5 μ g/ml). Las muestras se centrifugaron a 3000 g durante 10 minutos y los sobrenadantes se transfirieron a viales para inyección.
- 20 La degradación de primer orden del profármaco se controló por CL/EM/EM tal como se describe más adelante. El porcentaje de profármaco que quedaba en función del tiempo a cada concentración se ajustó en una función de descomposición de primer orden para determinar la constante de la velocidad de la disminución del sustrato o K_{dep} . Una gráfica logarítmica lineal k_{dep} en
- 25 función de la concentración podría introducirse en la siguiente ecuación en la

que:

$$k_{dep} = k_{dep[S]=0} \cdot \left(1 - \frac{[S]}{[S] + K_m} \right)$$

El valor de K_{dep} con una concentración de sustrato infinitesimalmente baja (en la que $k_{dep} \sim K_{dep[S]=0}$) representa la velocidad máxima de consumo o aclaramiento intrínseco del sistema y la K_m es la concentración a la que se logra la mitad de la velocidad máxima (V_{max}) del sistema. En términos de Michaelis-Menton, el aclaramiento intrínseco CL_{int} representa la relación de V_{max}/K_m cuando $[S]$ está muy por debajo de la K_m . Las unidades del sustrato para estos estudios de K_m se expresan en μM y el aclaramiento intrínseco (CL_{int}) en ml/minuto. Generalmente, los compuestos con un aclaramiento intrínseco de $< 0,1$ ml/minuto o una K_m que es tres veces menor que su solubilidad en agua (para saturar la actividad enzimática) se seleccionaron para realizar una evaluación más detallada.

Solubilidad

Se determinó la solubilidad en equilibrio en tampón fosfato 25 mM (pH 5) a temperatura ambiente. Los viales que contenían un exceso de profármaco en tampón fosfato se rotaron durante hasta 48 horas. Después del periodo de equilibrado, se juntaron las muestras, se filtraron con un filtro de jeringa de $0,45 \mu m$ Gelman Acrodisc Nylon y se analizaron para determinar la concentración del fármaco usando HPLC. Las condiciones de HPLC eran: Columna: C18, SymmetryShield RP, Waters, $4,6 \times 150$ mm, 3,5 micrómetros; Fase móvil A: Acetonitrilo; Fase móvil B: TFA al 0,1% en agua; Caudal: 1ml/minuto; Tiempo de análisis: 30 minutos; Vol. Inyectado: 20 μl ; Detección: 210 nm; Disolvente de disolución: acetonitrilo/agua (50:50 v:v). Los resultados se muestran en la Tabla

4.

Gradiente utilizado:

	Tiempo	% de A	% de B
	0 min	5	95
5	25 min	95	5
	27 min	5	95
	30 min	5	95

Punto de fusión

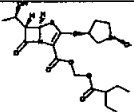
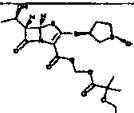
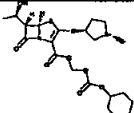
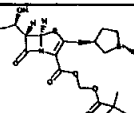
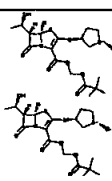
Los puntos de fusión se determinaron en un aparato para determinar el
 10 punto de fusión en capilar MEL-TEMP 3.0 y están sin corregir.

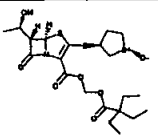
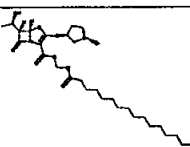
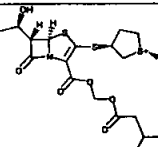
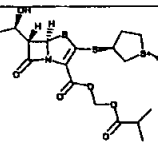
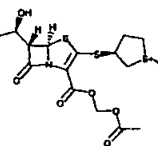
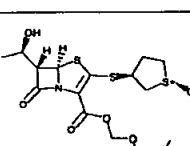
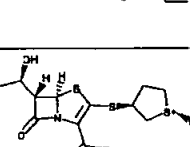
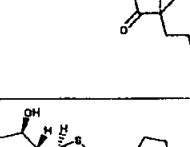
Cuantificación del Profármaco

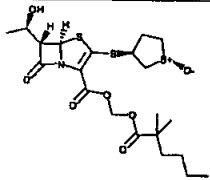
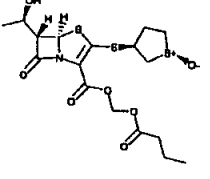
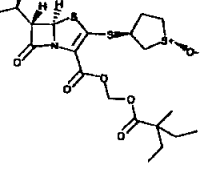
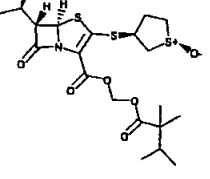
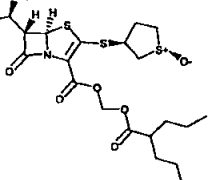
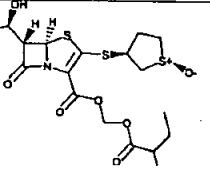
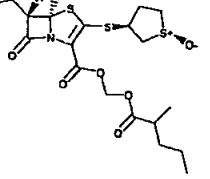
Las muestras inactivadas de estos experimentos *in vitro* se cuantificaron
 usando CL/EM/EM. La separación se logró en una columna Phenomenex
 Primesphere C18-HC (5 µm, 30 x 2,0 mm) usando un gradiente binario del
 15 Disolvente A (agua al 95% / acetonitrilo al 5% / ácido acético al 0,1%) y
 Disolvente B (agua al 5% / acetonitrilo al 95% / ácido acético al 0,1%). El
 volumen de inyección fue de 20 µl. La columna se equilibró y el gradiente se
 inició con A al 100% con un caudal de 1000 µl/minuto. El gradiente se
 incrementó a B al 100% en 0,4 minutos y después se volvió a llevar a A al
 20 100% en 0,9 minutos. Se usó ampicilina como patrón interno (5 µg/ml). El
 efluente se analizó mediante un detector espectrómetro (Sciex API 3000)
 provisto de una interfase de electropulverización iónica turbo y funcionando en
 modo iónico positivo con un potencial de desagrupamiento de 10V, una
 temperatura de 400 °C y una energía de colisión de 25V. Todos los
 25 profármacos, sulopenem y ampicilina se controlaron mediante las transiciones

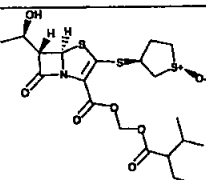
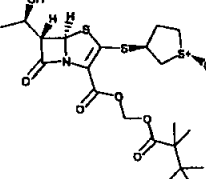
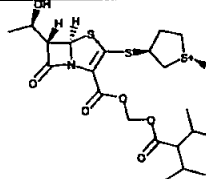
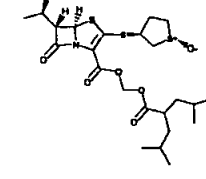
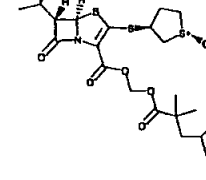
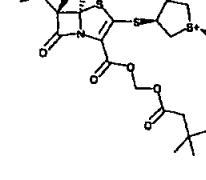
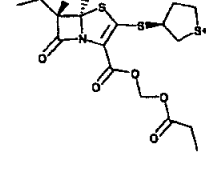
de MRM de la masa progenitora protonada a un ión de fragmentación principal en los espectros de disociación inducidos por la colisión. El intervalo dinámico típico del ensayo variaba en el intervalo de 10,0 a 10.000 ng/ml.

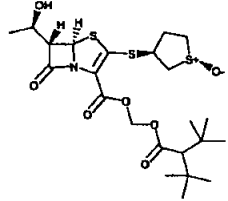
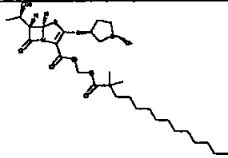
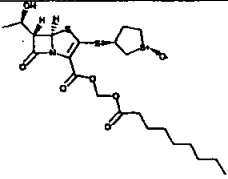
Tabla 4

Co mp.	Estructura	% de conv. por S9 (media)	Semivida con PPE (minutos)	Km de HIJ (μM) (media)	Cl _{int} de HIJ (ml/min) (media)	Solubilidad (μg/ml)
1		100	11,7 ± 3,8 (17,9 lote 2)	91	0,07	1209
2		76	19,1	105	0,13	2900
A		100	3,9 ± 1,1 (6,3 lote 2)	300	0,38	136
B1		100	(22,5 ± 0,6, lote 2)	29	0,11	389
B2		94	11,6 (19,6 lote 2)	40	0,09	-

C		2,4	21,1	-	-	-
D		-	-	-	-	-
E		-	6,4	-	-	-
F		-	4,7	-	-	-
G		100	21,2	390	0,18	-
H		-	6,8	-	-	-
I		95	14,4	-	-	-
J		86,8	11	-	-	-

K		47,2	14,5	-	-	-
L		-	-	-	-	-
M		20,4	39,4	-	-	-
N		14,1	11,1	-	-	-
O		-	8,3	-	-	-
P		-	4,2	-	-	-
Q		-	4,8	-	-	-

R		0	5,3	-	-	-
S		-	6,3	-	-	-
T		-	7,7	-	-	-
U		-	6,4	-	-	-
V		-	10,5	-	-	-
W		-	7,6	-	-	-
X		-	4,7	-	-	-

Y		-	8	-	-	-
Z		-	-	-	-	-
AA		-	-	-	-	-

Disminución de carnitina

Los ácidos alquílicos pequeños tales como el ácido píválico que están completamente sustituidos en el carbono α del carboxilato no se catabolizan suficientemente a través de la β -oxidación. Como resultado, la carnitina se acila y la acilcarnitina se acumula en los tejidos y en el torrente sanguíneo, disminuyendo las concentraciones libres de carnitina. De ese modo, los ácidos que están completamente sustituidos en el carbono α proporcionan el potencial para disminuir las reservas de carnitina en el organismo. Véase Brass, referencia anterior. Esto se ha demostrado en tratamientos de corta duración con profármacos que contienen ácido píválico en los que la disminución de carnitina provocó una oxidación deficiente de los ácidos grasos y una cetogénesis alterada. Véase Abrahamsson y cols. *Biochem. Med. Metab. Biol.*, 52, 18-21 (1994). Sería deseable una cadena lateral del profármaco que se eliminara de forma rápida y segura y que no disminuyera las reservas de

carnitina en el organismo. La conversión metabólica de ciertos ácidos alquílicos pequeños en sus conjugados glucurónidos proporciona una ruta eficaz de eliminación del organismo. Por ejemplo, se ha demostrado que el ácido valproico se elimina extensamente mediante glucuronidación (véase Zaccara y cols. *Clin. Pharmacol.*, 15 367-389 (1988)), mientras que el ácido piválico se excreta casi completamente en forma de su conjugado acilcarnitina en los seres humanos. Véase Totsuka y cols. *Antimicrob. Agents and Chemother.*, 36, 757-761 (1992). Puede apreciarse que cambios sutiles de la estructura pueden traducirse en diferencias sustanciales en la disposición metabólica de estos ácidos alquílicos.

La conversión metabólica de ciertos ácidos alquílicos pequeños en sus conjugados de glucurónidos proporciona una ruta eficaz de eliminación del organismo. Se ha demostrado, por ejemplo, que el ácido valproico se elimina extensamente mediante glucuronidación (véase Zaccara y cols. *Clin. Pharmacol.*, 15 367-389 (1988)), mientras que el ácido piválico se excreta casi completamente en forma de su conjugado acilcarnitina en los seres humanos.

Fue interesante comparar el Compuesto 1 y el Compuesto B1 en términos de la tendencia, o su ausencia, de las cadenas laterales de los profármacos de disminuir la carnitina en plasma tras el metabolismo del profármaco intacto. Esto se evaluó *in vivo* usando un modelo agudo de disminución de carnitina en ratas Sprague-Dawley. Para entender el impacto potencial *in vivo*, se administraron el ácido piválico radiomarcado (cadena lateral del Compuesto B1) y ácido 2-etilbutírico (cadena lateral del Compuesto 1) por vía oral a una dosis de 200 mg/kg dos veces al día durante 4 días a dos grupos de animales diferentes. El ácido piválico se marcó con ^{14}C en el

carbono del carbonilo (posición 1) y presentaba una actividad específica de 0,482 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$. El ácido 2-etilbutírico se marcó con ^{14}C en el carbono adyacente al carbono del carbonilo (posición 2) y presentaba una actividad específica de 0,503 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$. Las dosis se administraron en fosfato sódico 100 mM a pH 6,6 a un volumen de dosis de 10 ml/kg. Las muestras de sangre se obtuvieron a intervalos de 24 horas tras el inicio del estudio, se procesaron para obtener el plasma y se ensayaron para determinar los niveles de carnitina por CL/EM/EM. Se completó un control de vehículo que consistía en la administración oral de un volumen igual de tampón sin compuesto como comparación de los niveles basales. Tal como se muestra en la Figura 1, los animales que recibieron 200 mg/kg dos veces al día de ácido pivalico mostraron niveles mayores de carnitina en plasma comparados con el control de vehículo. Por el contrario, los animales que recibieron la misma dosis de ácido 2-etilbutírico en el transcurso de 4 días demostraron cambios estadísticamente insignificantes de la carnitina en plasma, lo que sugiere que este compuesto no provoca disminución de carnitina.

Se completó un estudio diferente con una única dosis de 200 mg/kg de cada compuesto radiomarcado (ácido pivalico y ácido 2-etilbutírico) en ratas para determinar la exposición sistémica de la dosis tras la administración oral. Se eligió la vía de administración oral porque es de esperar que la mayoría de la hidrólisis de los profármacos se produzca en el intestino antes de entrar en la circulación sistémica. Se obtuvieron muestras de plasma antes de la administración y a las 0,25, 0,5, 1, 4, 8, y 24 horas de la administración. Las muestras se cuantificaron para determinar la radiactividad mediante escintilometría de líquidos y los recuentos se convirtieron en μg

equivalentes/ml. Tal como se muestra en la Tabla 5 y en la Figura 2, una vez absorbido, la radiactividad asociada al ácido 2-etilbutírico se aclara 4,5 veces más rápido que la del ácido píválico, lo que refleja un procesamiento metabólico eficaz y la excreción del compuesto.

- 5 Por consiguiente, no es de esperar que la administración oral del profármaco Compuesto 1 provoque disminución de carnitina, mientras que si lo es en la administración del Compuesto B1.

Tabla 5. Farmacocinética de la radiactividad total en ratas Sprague-Dawley tras la administración oral de ^{14}C -ácido píválico o de ^{14}C -ácido 2-etilbutírico a una dosis de 200 mg/kg (100 $\mu\text{Ci/kg}$)

Compuesto administrado	Cmax (μg eq./ml)	Semivida (h)	ABC (h x μg eq/ml)	CL/F (ml/h/kg)
Ácido píválico	247 $\pm$ 36	13,8 $\pm$ 6,7	6624 $\pm$ 2948	35,6 $\pm$ 14,3
Ácido 2-etilbutírico	158 $\pm$ 47	5,7 $\pm$ 0,8	1332 $\pm$ 402	163,3 $\pm$ 53,5

Otras propiedades

- Para una formulación conveniente e idoneidad como producto farmacéutico, en algunas realizaciones, el compuesto es preferiblemente sólido a temperatura ambiente, preferiblemente forma fácilmente un sólido cristalino y es razonablemente estable a la degradación.

Discusión

- Se determinó que el Compuesto 1 mostraba una combinación favorable de propiedades. Además de ser cristalino y adecuadamente soluble en agua., el Compuesto 1 se convertía completamente en sulopenem en los

experimentos con hígado S9, mostraba una semivida relativamente larga en presencia de PPE y un aclaramiento intrínseco y saturación de las enzimas intestinales del jugo intestinal humano relativamente bajos. Basándose en estos datos, se predijo que el Compuesto 1 mostraría una farmacocinética clínica favorable, lo que se confirmó mediante los datos clínicos que se describen anteriormente. Además, según indica su estructura y las pruebas de carnitina que se describen en la presente memoria, el Compuesto 1 no disminuye la carnitina. Así, el Compuesto 1 combina al menos todas las propiedades siguientes: buena biodisponibilidad oral, no disminución de carnitina y propiedades físicas favorables. Por el contrario, no se predijo que otros profármacos, en particular otros que portan cadenas laterales alquílicas consiguieran estos atributos. Por ejemplo, varios de los Compuestos de C a AA tienen un carbono terciario en posición α al grupo carbonilo del éster del resto de profármaco (por ejemplo, el Compuesto C). Se predice que estos presentan una potencial disminución de la carnitina. Otros de los compuestos de análisis presentaban una estabilidad en presencia de PPE y/o conversión por S9, relativamente bajas, que predicen una estabilidad en el tubo gastrointestinal y biodisponibilidad oral menores. Además, otros no se analizaron debido a dificultades para obtener muestras que pudieran analizarse fácilmente. Véase la Tabla 4.

También se demostró que el profármaco Compuesto 2 presentaba atributos favorables, que incluyen su estabilidad prevista en el tubo gastrointestinal y biodisponibilidad y propiedades físicas. Véase la Tabla 4.

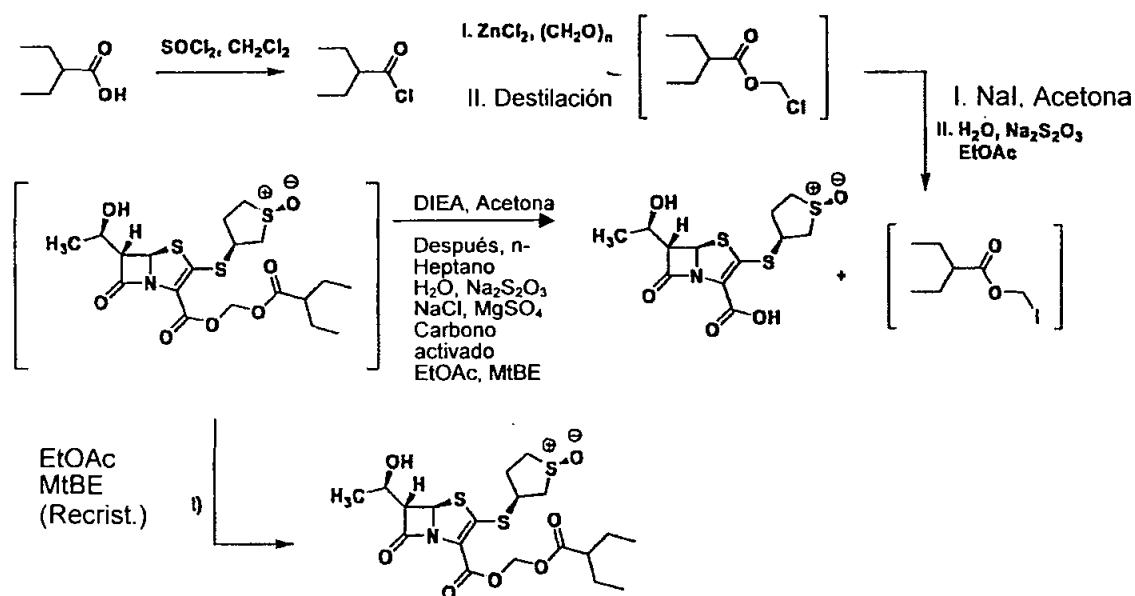
EJEMPLOS DE COMPUESTOS

La presente invención se ilustrará adicionalmente mediante los

siguientes ejemplos no limitantes. El sulopenem cristalino, que se usó en la presente ejemplificación, se preparó de acuerdo con el Ejemplo 11 del documento US 5013729.

Ejemplo 1: (5R,6S)-6-[(1R)-1-hidroxietil]-7-oxo-3-[[[(1R,3S)-tetrahydro-1-oxido-3-tienil]tio]-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxilato (2-etil-1-oxobutoxi)metílico (Compuesto 1).

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el esquema y la descripción siguientes.



Etapa 1: se añadió ácido 2-etilbutírico (1500 g) a una solución de cloruro de tionilo (1800 g) en diclorometano (0,75 l) durante 1 hora. La mezcla se calentó a reflujo y se controló por CG (cromatografía de gases). Después de aproximadamente 2 horas, la mezcla de reacción se concentró por destilación a presión atmosférica. Después se enfrió a 22 °C, se añadió diclorometano (0,75 l) y la mezcla se concentró de nuevo a presión atmosférica. Debido a la extrema capacidad corrosiva de los reactivos que se usaron, todos los gases

de salida se pasaron por un frasco lavador caústico húmedo.

Etapa 2: Mientras tanto, se preparó una mezcla de cloruro de cinc (18 g) y paraformaldehído (480 g). El cloruro de ácido puro, medio en bruto se añadió a esta mezcla durante 1 hora a temperatura ambiente agitando mecánicamente. Después de un corto periodo de inducción, se observó un proceso exotérmico significativo. La temperatura de la mezcla de reacción aumentó desde temperatura ambiente (25 °C) a 50 °C en 5 minutos. Se ralentizó la velocidad de la adición para controlar la reacción exotérmica y mantener la reacción a 50 °C. Cuando se hubo completado la adición, la mezcla de reacción se dejó enfriar y se agitó a temperatura ambiente durante otras 18 horas más.

Después se cargaron n-heptano (4 l) y solución acuosa de bicarbonato sódico al 10% (9 l) y las fases se separaron. La fase acuosa se extrajo con n-heptano (3,4 l). Las fases orgánicas combinadas se filtraron y se destilaron a vacío proporcionando el producto en bruto. El producto se purificó mediante destilación a vacío (10-20 mm de Hg) proporcionando 587 g de éster clorometílico del ácido 2-etilbutírico.

Etapa 3: Se disolvió éster clorometílico del ácido 2-etilbutírico (700 g) en acetona (3 l). A esta solución se añadió yoduro sódico (1,0 kg). La mezcla de reacción resultante se calentó a reflujo hasta que se completó la reacción (2 horas), controlado por CG). La solución después se enfrió a temperatura ambiente, donde se añadieron terc-butilmetiléter (7 l) y tiosulfato sódico acuoso al 5% (4 l). Se separaron las fases y la fase orgánica se lavó con tiosulfato sódico acuoso (4 l), agua apirógena (4 l) y solución de cloruro sódico al 10% (4 l). La fase orgánica se secó sobre sulfato magnésico (350 g), se filtró y la torta

de filtrado se lavó con terc-butilmetiléter (2 x 0,7 l). El filtrado se evaporó a volumen reducido (aproximadamente 2 l) proporcionando el éster yodometílico del ácido 2-etilbutírico, en forma de una solución en terc-butilmetiléter.

Etapa 4: La solución medio en bruto en terc-butilmetiléter del éster yodometílico del ácido 2-etilbutírico de la Etapa 3 se añadió a una suspensión
5 de sulopenem (750 g) en acetona (5,9 l). Se añadió N,N-diisopropiletilamina (DIEA) (319 g) en acetona (0,5 l) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente hasta que se completó la reacción. Se añadieron agua apirógena (6,5 l) y heptano (3,75 l) y se separaron las fases. La fase acuosa se extrajo primero
10 con heptano (5 l) y después con acetato de etilo (2 x 6 l). Los extractos en acetato de etilo se combinaron y se lavaron con tiosulfato sódico acuoso al 5% (6 l), agua apirógena (6 l) y cloruro sódico acuoso al 10% (6 l). Los extractos orgánicos se trataron con carbono activado (75 g) y sulfato magésico (150 g), después se filtraron. La torta de filtrado se lavó con acetato de etilo (2 x 1 l) y el
15 filtrado se evaporó a sequedad proporcionando el producto en bruto (0,8 kg). Se añadió acetato de etilo (2,4 l) y la solución se calentó (45 °C) logrando la disolución. Esta solución después se filtró en caliente y después se añadió terc-butilmetiléter (4,7 l). La suspensión resultante se granuló durante 10 minutos de 40 °C a 50°C y después se enfrió lentamente a menos de 10 °C. El sólido
20 resultante se recolectó, se lavó con una mezcla 1:2 de acetato de etilo y terc-butilmetiléter (4 x 0,5 l) y se secó a peso constante a vacío hasta a 50 °C proporcionando 0,57 kg del producto deseado (rendimiento del 60%).

Etapa 5: El producto medio en bruto (0.55 kg) se suspendió en acetato de etilo (1,65 l) a temperatura ambiente. Después temperatura se ajustó a
25 aproximadamente 50 °C para lograr la disolución. Esta solución se filtró a vacío

para eliminar las impurezas insolubles y después se añadió terc-butilmetiléter (3,6 l). La solución resultante se enfrió lentamente a menos de 5 °C para iniciar la cristalización. El producto sólido se recogió, se lavó con una mezcla de acetato de etilo y terc-butilmetiléter 1:2 (4 x 150 ml) y se secó a peso constante a vacío hasta a 50 °C, proporcionando 0,48 kg del producto deseado (rendimiento del 86%). Se determinó que el material cristalino no estaba solvatado.

RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz): 5,71 (m, 3H), 5,19 (d, 1H, $J = 4,56$ Hz), 3,92 (m, 2H), 3,81 (m, 1H), 3,70 (m, 1H), 2,96 (m, 1H), 2,80(m, 1 H), 2,65 (m, 2H), 2,36 (m, 1H), 2,19 (m, 1H), 1,45 (m, 4H), 1,10 (d, 3H, $J = 6,22$ Hz), 0,78 (t, 6H).

PF: 105 °C; Esp. de masas: $(M+H)^+$ 478.

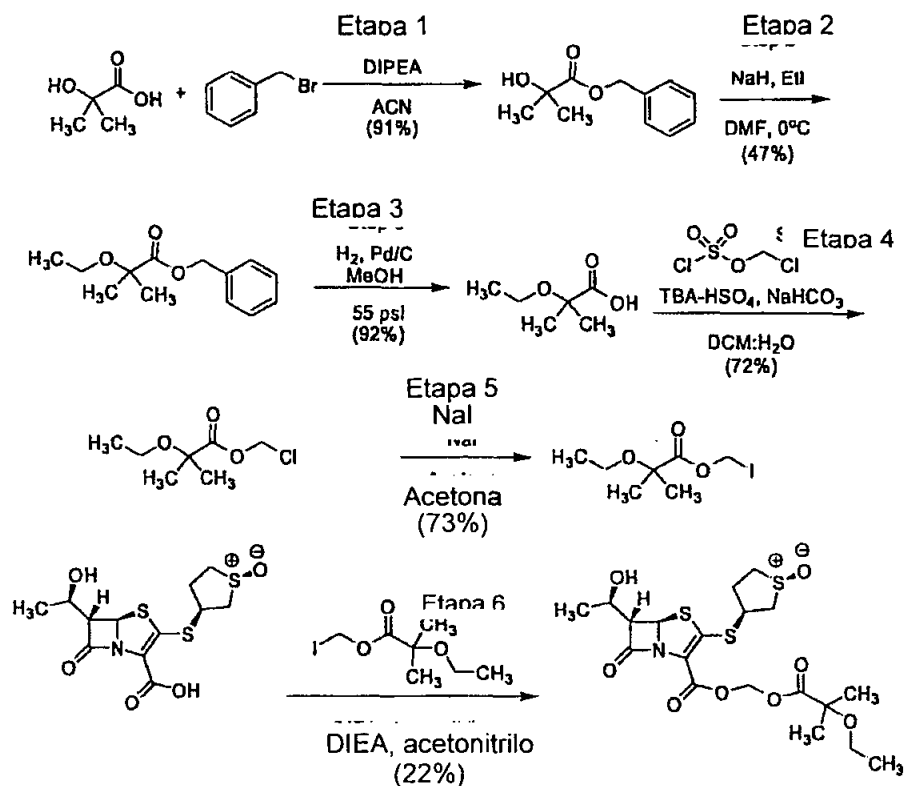
PM: 477,92 g/mol; Form. Molec.: $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{NO}_7\text{S}_3$.

Solubilidad en agua (tampón fosfato a pH 5, 25 °C): 1209 $\mu\text{g/ml}$.

Los cristales del Compuesto 1 preparados de la manera de la Etapa 5 anterior se sometieron a difracción de cristales finos por rayos X. Las muestras se analizaron en un difractómetro automatizado de cristales finos Siemens D500 provisto de un monocromador de grafito y una fuente de rayos X de Cu ($\lambda = 1,54 \text{ \AA}$) que se operó a 50 kV, 40 mA. Se realizó un calibrado de 2θ usando un patrón de mica NBS. La preparación de las muestras se realizó usando una placa de muestra de ruido de fondo cero. El patrón de difracción de estos cristales del Compuesto 1 se muestra en la Figura 3 y se tabula en la Figura 5.

Ejemplo 2: (5R,6S)-6-[(1R)-1-hidroxietil]-7-oxo-3-[[[(1R,3S)-tetrahidro-1-oxido-3-tienil]tio]-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxilato (2-etoxi-2-metil-1-oxopropoxi)metílico (Compuesto 2).

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el esquema y la descripción siguientes.



En las etapas 1-4, el ácido 2-hidroxi-isobutírico se protegió con bromuro bencílico, se alquiló con yoduro etílico, se desprotegió y se esterificó proporcionando éster clorometílico del ácido 2-etoxi-isobutírico.

En la etapa 5, en un matraz de reacción adecuado, se disolvió yoduro sódico (23,9 g, 159,45 mmol, 1,6 eq.) en acetona (96 ml). Después se añadió éster clorometílico del ácido 2-etoxi-isobutírico (18 g, 99,65 mmol, 1 eq.) en forma de una solución en más acetona (18 ml), y la mezcla de reacción resultante se calentó a reflujo en atmósfera de nitrógeno durante aproximadamente 2 horas. La reacción se controló por CG. Cuando la conversión se completó, la reacción se dejó enfriar hasta temperatura ambiente agitando. Después la reacción se fraccionó entre heptanos (120 ml) y solución

acuosa al 10% de tiosulfato sódico (105 ml). El contenido del recipiente de reacción se agitó durante al menos 5 minutos, y después se dejó que se separaran las fases. La fase orgánica ligera se reservó, y la fase acuosa pesada se desechó. Después los compuestos orgánicos se lavaron con una
5 segunda porción de solución acuosa al 10% de tiosulfato sódico (105 ml), y tras la separación se volvió a desechar la fase pesada. La fase orgánica después se lavó con solución acuosa al 10% de cloruro sódico (105 ml). La fase acuosa pesada se desechó y los compuestos orgánicos se concentraron a presión reducida ($< 35\text{ }^{\circ}\text{C}$). Esto proporcionó 16,26 g de éster yodometílico del ácido 2-
10 etoxi-isobutírico que se usó en las reacciones químicas posteriores sin purificación adicional (ensayo: ~60%).

En la Etapa 6, a un recipiente de reacción adecuado en atmósfera de nitrógeno se añadió sulopenem (13,92 g, 39,83 mmol, 1 eq.) y acetona (110 ml). Después se añadió éster yodometílico del ácido 2-etoxi-isobutírico (16,26
15 g, 59,9 mmol, 1,5 eq. a una potencia del 100%) en acetona (14 ml) y la suspensión se agitó durante un mínimo de 10 minutos. Después se añadió N,N-diisopropiletilamina (5,11 g, 39,54 mmol, 1 eq.) en acetona (14 ml), manteniendo una temperatura interna de $< 35\text{ }^{\circ}\text{C}$ (reacción exotérmica). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente toda la noche (después de
20 aproximadamente 2 horas, el sulopenem se disolvió). La mezcla de reacción después se fraccionó entre heptanos (80 ml) y agua (129 ml), y el contenido del recipiente de reacción se agitó durante al menos 5 minutos. Se separaron las fases y la fase orgánica ligera se desechó. La fase pesada se lavó con más heptanos (80 ml). De nuevo se separaron las fases y se desechó la fase
25 orgánica ligera. El contenido del recipiente de reacción después se concentró

aproximadamente un 50% a presión reducida, manteniendo una temperatura interna inferior a 35 °C. Se añadió acetato de etilo (120 ml) y el contenido del recipiente de reacción se agitó durante al menos 5 minutos. Se dejó que se separaran las fases y la fase orgánica ligera se reservó. La fase acuosa pesada se volvió a extraer con más acetato de etilo (2x 120 ml). Los compuestos orgánicos combinados se lavaron con tiosulfato sódico acuoso al 10% (120 ml), agua (120 ml) y cloruro sódico acuoso al 10% (120 ml). Después los compuestos orgánicos se trataron con carbono activado (2,9 g), celite (2,9 g) y sulfato de magnesio (MgSO_4) (8,2 g) a temperatura ambiente y se agitó durante al menos 1 hora. Después de retirar estos sólidos por filtración, la solución se concentró a presión reducida, mientras se mantenía una temperatura interna inferior a 45 °C (acetato de etilo, p.e. 76,5-77,5 °C).

Etapa 7: El Compuesto 2 resultante en bruto (23 g) en acetato de etilo (100 ml) se calentó casi a reflujo para disolver completamente los sólidos, y después se añadió terc-butilmetiléter (100 ml) gradualmente, manteniendo una temperatura interna de entre 60 °C y reflujo. La mezcla resultante se agitó lentamente de entre 60 °C y reflujo durante 5 minutos, y después se granuló durante un mínimo de 1 hora a 5-15 °C. El producto blanquecino se filtró, se lavó con metil-terc-butiléter (MTBE) (28 ml) y se secó a vacío a temperatura ambiente durante al menos 16 horas. Esto proporcionó el producto (Compuesto 2) en forma de un sólido blanco, (12,57 g, rendimiento del 63,9%).

Los cristales de este producto se sometieron a difracción de cristales finos por rayos X. Las muestras se analizaron en un difractómetro automatizado de cristales finos Siemens D500 provisto de un monocromador de grafito y una fuente de rayos X de Cu ($\lambda = 1,54 \text{ \AA}$) que se operó a 50 kV, 40

mA. Se realizó un calibrado de 2θ usando un patrón de mica NBS. La preparación de las muestras se realizó usando una placa de muestra de ruido de fondo cero. El patrón de difracción se muestra en la Figura 4 y se tabula en la Figura 6.

- 5 RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz): 5,83 (d, 1H, $J = 5,81$ Hz) 5,73 (m, 2H), 5,20 (m, 1 H), 3,92 (m, 2H), 3,81 (m, 1 H), 3,70 (m, 1 H), 3,28 (c, 2H, $J = 7,05$ Hz), 2,96 (m, 1 H), 2,80 (m, 1 H), 2,65 (m, 2H), 2,36 (m, 1 H), 1,29 (s, 6H), 1,10 (d, 3H, $J = 6,63$ Hz), 1,00 (t, 3H, $J = 6,63$ Hz).

PF: 111-113 $^{\circ}\text{C}$;

- 10 PM: 493,62 g/mol; Form. Molec.: $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{NO}_8\text{S}_3$.

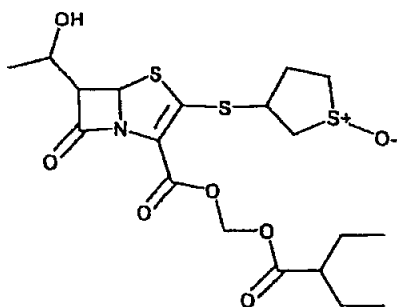
Solubilidad en agua (tampón fosfato a pH 5, 25 $^{\circ}\text{C}$): 2900 $\mu\text{g/ml}$.

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

REIVINDICACIONES

5

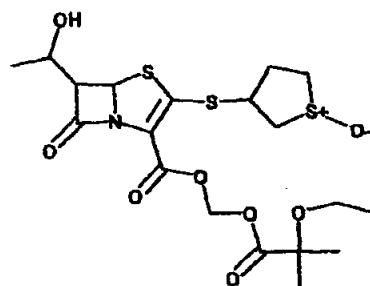
1. Un compuesto de la fórmula:



2. El compuesto de la reivindicación 1, que es (5R,6S)-6-[(1R)-1-hidroxietyl]-
10 7-oxo-3-[[[(1R,3S)-tetrahidro-1-oxido-3-tienil]tio]-4-tia-1-azabicclo[3.2.0]hept-2-
en-2-carboxilato (2-etil-1-oxobutoxi)metílico.

3. El compuesto de la reivindicación 1, que es (5R,6S)-6-[(1R)-1-hidroxietyl]-
7-oxo-3-[[[(1R,3S)-tetrahidro-1-oxido-3-tienil]tio]-4-tia-1-azabicclo[3.2.0]hept-2-
15 en-2-carboxilato (2-etil-1-oxobutoxi)metílico en la forma cristalina que tiene un
patrón de difracción de cristales finos por rayos X sustancialmente igual que el
que se representa en las Figuras 3 y 5.

4. Un compuesto de la Fórmula:



5. El compuesto de la reivindicación 4, que es (5R,6S)-6-[(1R)-1-hidroxietil]-7-oxo-3-[[[(1R,3S)-tetrahidro-1-oxido-3-tienil]tio]-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxilato (2-etoxi-2-metil-1-oxopropoxi)metílico.
6. El compuesto de la reivindicación 4, que es (5R,6S)-6-[(1R)-1-hidroxietil]-7-oxo-3-[[[(1R,3S)-tetrahidro-1-oxido-3-tienil]tio]-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxilato (2-etoxi-2-metil-1-oxopropoxi)metílico en la forma cristalina que tiene un patrón de difracción de cristales finos por rayos X sustancialmente igual que el que se representa en las Figuras 4 y 6.
7. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 formulado para la administración oral con o sin uno o más excipientes y/u otro u otros ingredientes activos.
8. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 y probenecid formulado para la administración oral con o sin uno o más excipientes y/u otro u otros ingredientes activos.

9. Una composición farmacéutica que comprende de aproximadamente 800 mg a aproximadamente 2,5 g de un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 2, 3, 5 ó 6, formulado para la administración oral con o sin uno o más excipientes y/u otro u otros ingredientes activos.

5

10. Un procedimiento de tratar una infección bacteriana que comprende administrar por vía oral una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 a un ser humano que lo necesite.

10 11. Un procedimiento de tratar una infección bacteriana que comprende administrar por vía oral una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 y probenecid a un ser humano que lo necesite.

15 12. Uso de un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en la fabricación de un medicamento para tratar una infección bacteriana en un ser humano que lo necesite mediante administración oral.

20 13. Un procedimiento de tratar una infección bacteriana que comprende administrar por vía oral una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 2, 3, 5 ó 6 a un ser humano que lo necesite.

25 14. El procedimiento de la reivindicación 13, en el que el compuesto se administra por vía oral en una cantidad de aproximadamente 500 a

aproximadamente 2500 mg dos veces al día o tres veces al día.

15. El procedimiento de la reivindicación 13, en el que el compuesto se administra por vía oral en una dosis de aproximadamente 800 a
5 aproximadamente 1000 mg dos veces al día.

16. El procedimiento de la reivindicación 13, en el que el compuesto se administra por vía oral en una dosis de aproximadamente 2000 mg dos veces al día.

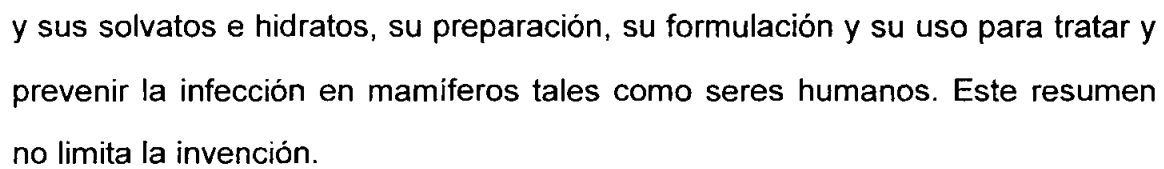
10

17. El procedimiento de la reivindicación 13, en el que el compuesto se administra por vía oral en una dosis de aproximadamente 2000 mg tres veces al día.

- 15 18. El procedimiento de la reivindicación 13, en el que el compuesto se administra por vía oral en una dosis de aproximadamente 7 a aproximadamente 25 mg/kg dos veces al día.

19. El procedimiento de la reivindicación 13, en el que el compuesto se
20 administra por vía oral en una dosis de aproximadamente 17 a aproximadamente 45 mg/kg dos veces al día.

20. El procedimiento de la reivindicación 13, en el que el compuesto se administra por vía oral en una dosis de aproximadamente 17 a
25 aproximadamente 45 mg/kg tres veces al día.



1/4

FIG. 1

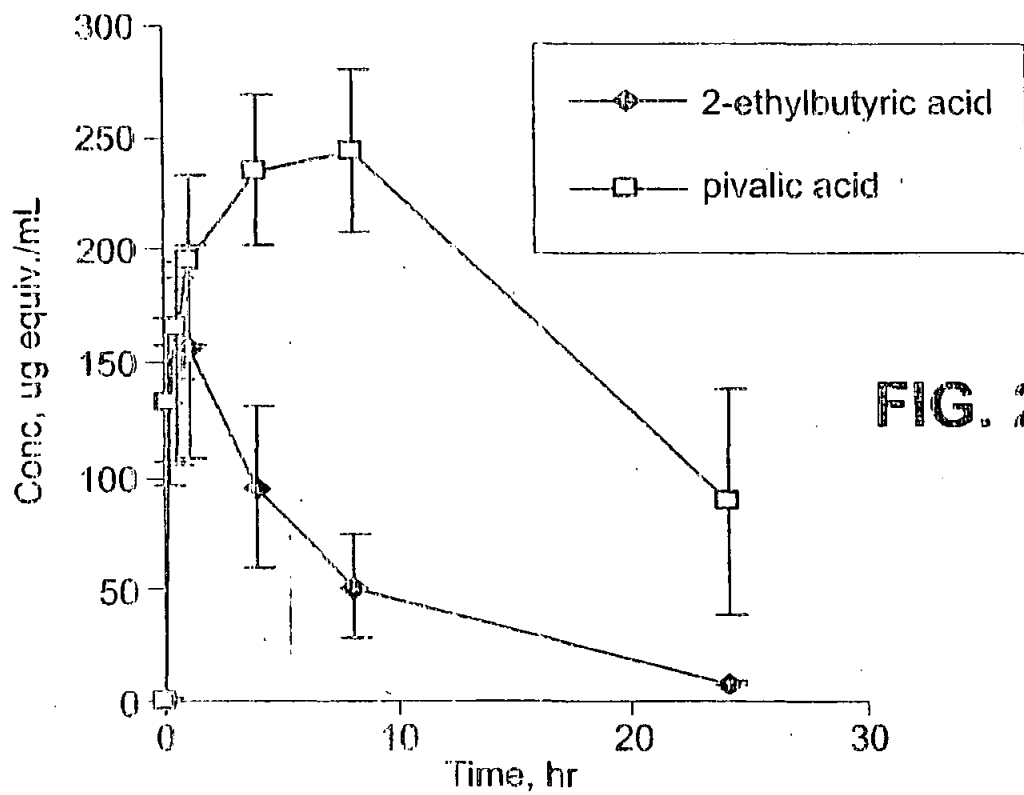
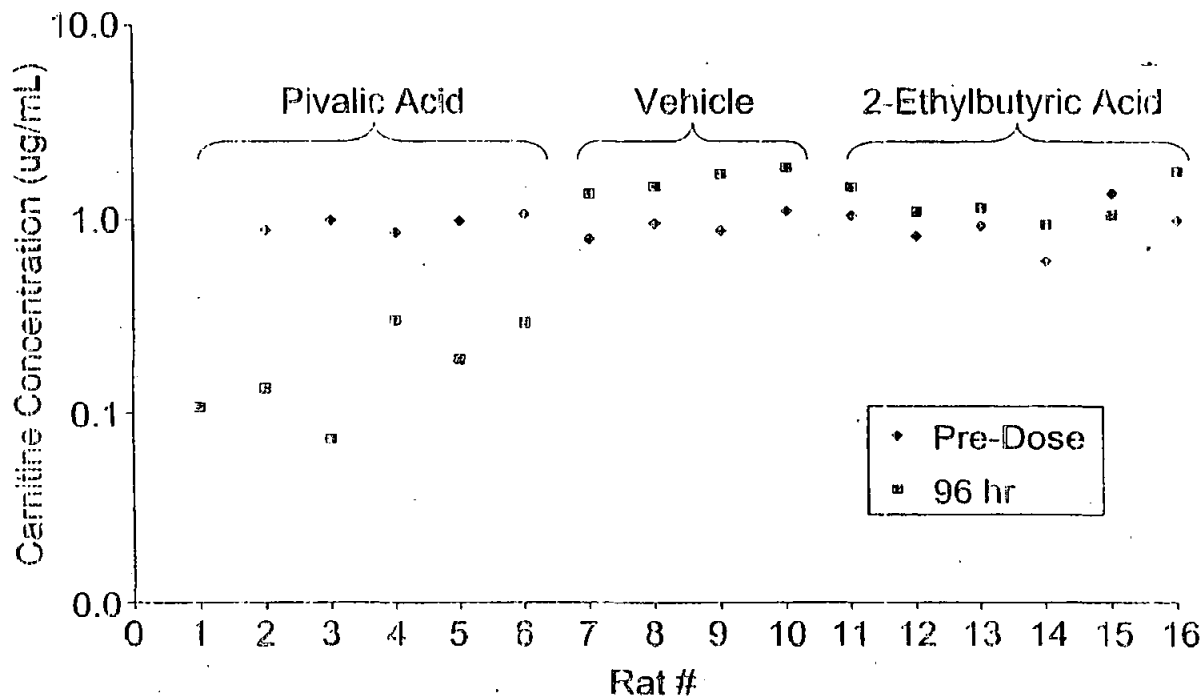


FIG. 2

FIG. 3

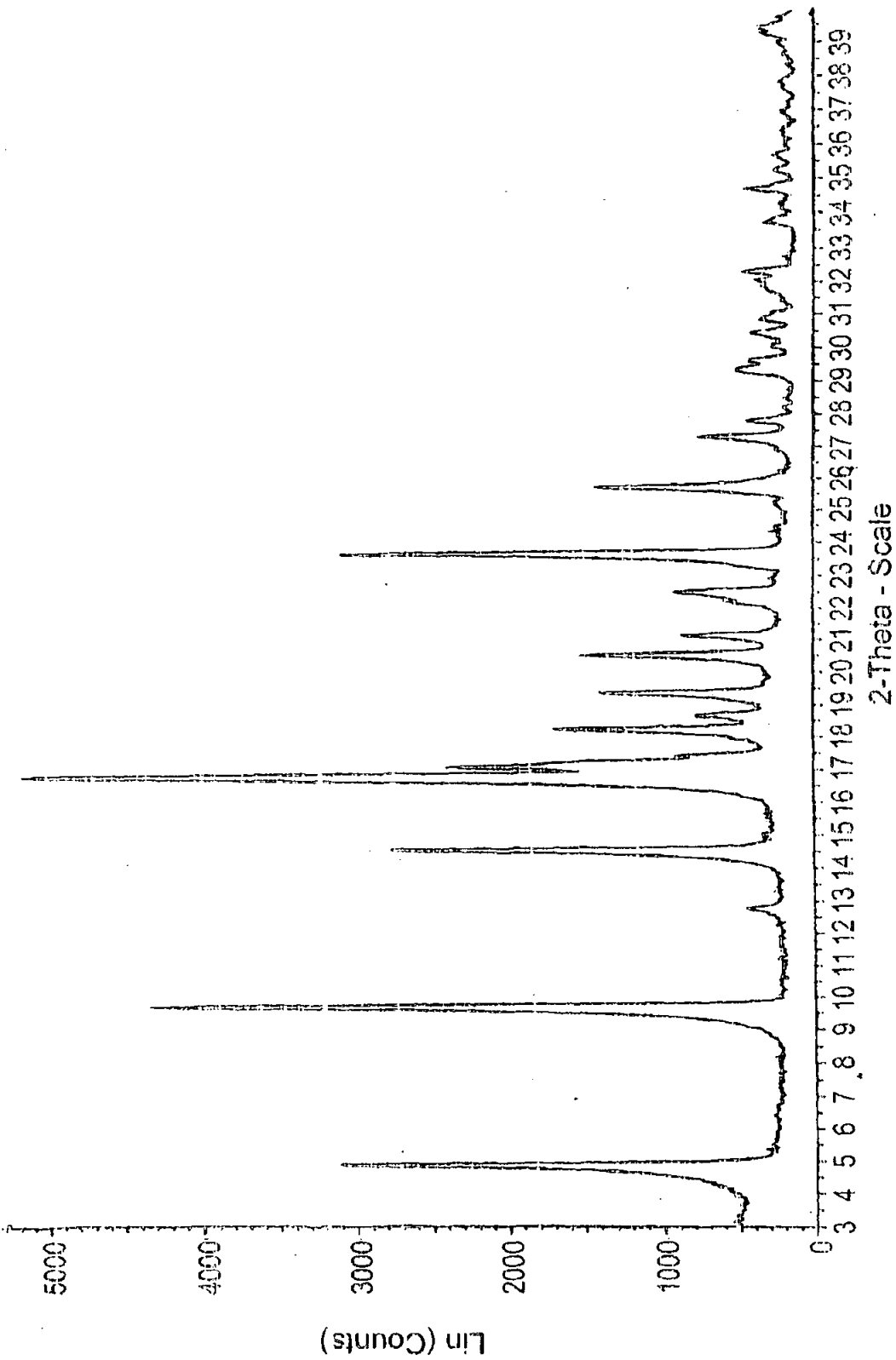


FIG. 4

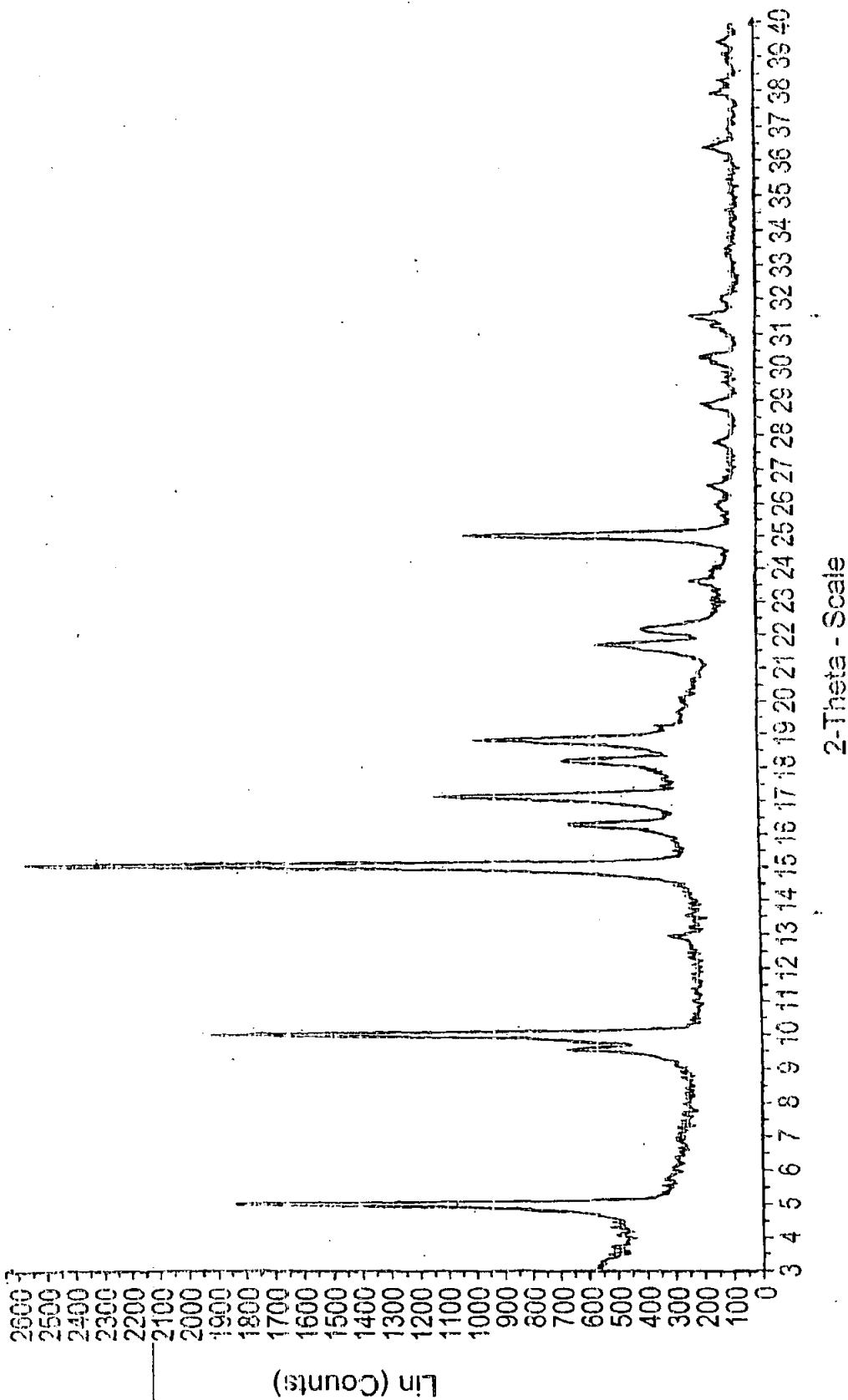


FIG. 5

d value	2-Theta °	Intensity	Intensity %
18.26027	4.835	3108	80.1
9.18278	9.624	4339	83.7
6.92727	12.768	430	8.3
6.11078	14.483	2759	53.3
5.30050	16.712	5174	100.0
5.18708	17.080	2396	46.3
4.86236	18.230	1683	32.5
4.75400	18.649	767	14.8
4.59001	19.322	1387	26.8
4.32314	20.527	1514	29.3
4.19978	21.137	860	16.6
3.99389	22.240	577	11.2
3.94639	22.511	907	17.5
3.75759	23.658	3098	59.9
3.45923	25.732	1421	27.5
3.25936	27.340	758	14.7
3.20146	27.844	426	8.2
3.03698	29.385	503	9.7
3.01040	29.651	412	8.0
2.92866	30.498	401	7.8
2.88994	30.917	348	6.7
2.76299	32.375	449	8.7
2.64868	33.814	316	6.1
2.57969	34.746	442	8.5
2.53966	35.312	244	4.7
2.51050	35.756	255	4.9
2.28153	39.463	350	6.8

FIG. 6

d value	2-Theta °	Intensity	Intensity %
17.82492	4.953	1838	71.5
9.26907	9.534	667	26.0
8.85757	9.978	1917	74.6
6.84872	12.916	314	12.2
5.88550	15.041	2569	100.0
5.44080	16.278	655	25.5
5.18066	17.101	1135	44.2
4.87518	18.182	673	26.2
4.71380	18.810	988	38.5
4.09211	21.700	552	21.5
4.00937	22.153	399	15.5
3.76619	23.603	226	8.8
3.55534	25.025	1025	39.9
3.35547	26.542	162	6.3
3.20310	27.830	135	5.3
3.08747	28.894	184	7.2
2.94178	30.359	184	7.2
2.83532	31.528	220	8.6
2.46449	36.426	170	6.6
2.36407	38.031	125	4.9
2.28144	39.465	116	4.5

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
3 January 2008 (03.01.2008)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2008/001212 A3

(51) International Patent Classification:
C07D 499/887 (2006.01) *A61P 31/04* (2006.01)
A61K 31/431 (2006.01)

Research & Development, Eastern Point Road, Groton,
Connecticut 06340 (US).

(21) International Application Number:
PCT/IB2007/001843

(74) Agent: **FULLER, Grover, F., Jr.**; c/o Lawrence, Jackie,
Pfizer Inc. MS8260-1615, Eastern Point Road, Groton, CT
06340 (US).

(22) International Filing Date: 18 June 2007 (18.06.2007)

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

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/806,000 28 June 2006 (28.06.2006) US
60/911,587 13 April 2007 (13.04.2007) US

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

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (*for US only*): **BRIGHTY,
Katherine, Elizabeth** [US/US]; Pfizer Global Research
& Development, Eastern Point Road, Groton, Connecti-
cut 06340 (US). **MARFAT, Anthony** [US/US]; Pfizer
Global Research & Development, Eastern Point Road,
Groton, Connecticut 06340 (US). **MCLEOD, Dale,
Gordon** [CA/US]; Pfizer Global Research & Develop-
ment, Eastern Point Road, Groton, Connecticut 06340
(US). **O'DONNELL, John, Paul** [US/US]; Pfizer Global

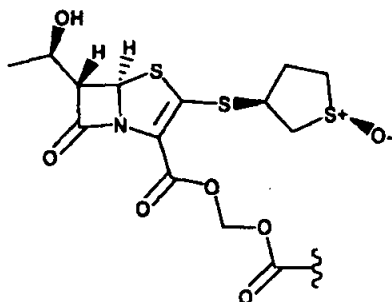
(84) Designated States (*unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available*): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, 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

(88) Date of publication of the international search report:
20 March 2008

(54) Title: PENEM PRODRUGS



(I)

(57) Abstract: Orally bioavailable prodrugs of sulopenem, e.g., For-
mula (I) and solvates and hydrates thereof, preparation thereof, formu-
lation thereof, and use to treat and prevent infection in mammals such
as humans.

WO 2008/001212 A3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IB2007/001843

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07D499/887 A61K31/431 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)

C07D

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

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

EPO-Internal, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 88/08845 A (PFIZER [US]) 17 November 1988 (1988-11-17) page 30; example 15 claims 8,10,11,13	1,3
A	US 4 619 924 A (HAMANAKA ERNEST S [US]) 28 October 1986 (1986-10-28) example 13 claim 14	1,3
A	FOULDS, G. ET AL: "Pharmacokinetics of the penem CP-65,207 and its separate stereoisomers in humans" ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY , 35(4), 665-71 CODEN: AMACQ; ISSN: 0066-4804, 1991, XP002461413 the whole document -/-	1,3



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.
- *G* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

6 December 2007

Date of mailing of the international search report

27/12/2007

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

Fanni, Stefano

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IB2007/001843

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	& FOULDS, G. ET AL: "Pharmacokinetics of the penem CP-65,207 and its separate stereoisomers in humans [Erratum to document cited in CA115(3):21555t]" ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY , 35(8), 1695 CODEN: AMACQ; ISSN: 0066-4804, 1991, page 1695, Erratum pertaining to figure 1	

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box II.1

Although claims 10,11 and 13-20 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.

Continuation of Box II.1

Claims Nos.: -

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/IB2007/001843

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

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

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

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

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

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers allsearchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search reportcovers 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 and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2007/001843

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 8808845	A	17-11-1988	AT 132869 T 15-01-1996
		AU 603665 B2 22-11-1990	
		AU 1589688 A 17-11-1988	
		CA 1338830 C 07-01-1997	
		CN 88102863 A 21-12-1988	
		CN 1073442 A 23-06-1993	
		CS 8803119 A2 14-08-1989	
		DD 270074 A5 19-07-1989	
		DE 3854874 D1 22-02-1996	
		DE 3854874 T2 23-05-1996	
		DK 255888 A 07-02-1989	
		EG 18481 A 30-06-1993	
		EP 0294934 A2 14-12-1988	
		ES 2081805 T3 16-03-1996	
		FI 96423 B 15-03-1996	
		GR 3019094 T3 31-05-1996	
		IE 70587 B1 11-12-1996	
		JP 2009552 C 02-02-1996	
		JP 7037463 B 26-04-1995	
		JP 63287781 A 24-11-1988	
		JP 2544902 B2 16-10-1996	
		JP 7278137 A 24-10-1995	
		MA 21265 A1 31-12-1988	
		NZ 224552 A 27-10-1989	
		PH 23931 A 23-01-1990	
		PL 272358 A1 30-10-1989	
		PT 87443 A 31-05-1989	
		US 5013729 A 07-05-1991	
		YU 90688 A1 31-12-1989	
		ZA 8803291 A 27-12-1989	
US 4619924	A	28-10-1986	NONE

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

To:

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/B2007/001843

International filing date (day/month/year)
18.06.2007

Priority date (day/month/year)
28.06.2006

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. C07D499/887 A61K31/431 A61P31/04

Applicant
PFIZER PRODUCTS INC.

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
D-80298 Munich
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d
Fax: +49 89 2399 - 4465

Date of completion of
this opinion

see form
PCT/ISA/210

Authorized Officer

Fanni, Stefano

Telephone No. +49 89 2399-8712



**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/IB2007/001843

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. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43bis.1(a))
3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application 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.
4. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
5. Additional comments:

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/IB2007/001843

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

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

☐ the entire international application

☒ claims Nos. 10-11, 13-20

because:

☒ the said international application, or the said claims Nos. 10-11, 13-20 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. are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

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

☐ no international search report has been established for the whole application or for said claims Nos.

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

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

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

☐ pay the required late furnishing fee for the furnishing of a sequence listing in response to an invitation under Rules 13~~ter~~.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**International application No.
PCT/IB2007/001843

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

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	<u>1,12</u>
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	<u>1,12</u>
	No: Claims	
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1,12</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations**see separate sheet**

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING
AUTHORITY (SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/IB2007/001843

ITEM III

Claims 10-11 and 13-20 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). See also the paragraph on : "Industrial applicability" in item V below.

ITEM V

Reference is made to the following documents:

- D1: WO 88/08845 A (PFIZER [US]) 17 November 1988 (1988-11-17)
- D2: US-A-4 619 924 (HAMANAKA ERNEST S [US]) 28 October 1986 (1986-10-28)
- D3: FOULDS, G. ET AL: "Pharmacokinetics of the penem CP-65,207 and its separate stereoisomers in humans" ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY , 35(4), 665-71 CODEN: AMACCQ; ISSN: 0066-4804, 1991,

NOVELTY (Article 33(2) PCT)

The present subject matter overlaps with D1 (cf claims 8 and 10), of which it is considered a novel selection on account of the 2-ethyl-1-oxobutoxy moiety in present compounds of formula I.

The said 2-ethyl-1-oxobutoxy moiety establishes novelty over D2 (cf claim 14) and D3 (cf the Erratum pertaining to figure 1).

INVENTIVE STEP (Article 33(3) PCT)

The present subject matter is directed towards present compounds of formula I and formula II (cf page 1) as prodrugs of the antibacterial sulopenem.

D1 is considered to be the closest prior art and also discloses prodrugs of sulopenem.

As pointed out above, the present subject matter is considered to be a novel selection of

D1. Thus, it appears that an inventive step for the present subject matter can be established only in a comparative manner, showing that the present compound unexceptedly solve a problem not yet solved by the structurally closest prior art compounds. The present description discloses comparative test involving (inter alia) the structurally closest compounds from D1 - i.e. compounds from claims 10 and 13 in D1, presently defined as B1 and B2 (cf table 4). The said data show that present compounds I and II have a higher stability in human intestinal juice (HIJ) when compared to the structurally closest compounds from D1. This is an unexpected result which is not derivable neither from D1 nor from the combined teaching of D1 and D2-D3. Accordingly an inventive step can be acknowledged for the present subject matter.

INDUSTRIAL APPLICABILITY (Article 33(4) PCT)

For the assessment of the present claims 10-11 and 13-20 on the question whether they are industrially applicable, no unified criteria exist in the PCT Contracting States. The patentability can also be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognize as industrially applicable the subject-matter of claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow, however, claims to a known compound for first use in medical treatment and the use of such a compound for the manufacture of a medicament for a new medical treatment.

Possible steps after receipt of the international search report (ISR) and written opinion of the International Searching Authority (WO-ISA)

General information	For all international applications filed on or after 01/01/2004 the competent ISA will establish an ISR. It is accompanied by the WO-ISA. Unlike the former written opinion of the IPEA (Rule 66.2 PCT), the WO-ISA is not meant to be responded to, but to be taken into consideration for further procedural steps. This document explains about the possibilities.
Amending claims under Art. 19 PCT	Within 2 months after the date of mailing of the ISR and the WO-ISA the applicant may file amended claims under Art. 19 PCT directly with the International Bureau of WIPO. The PCT reform of 2004 did not change this procedure. For further information please see Rule 46 PCT as well as form PCT/ISA/220 and the corresponding Notes to form PCT/ISA/220.
Filing a demand for international preliminary examination	In principle, the WO-ISA will be considered as the written opinion of the IPEA. This should, in many cases, make it unnecessary to file a demand for international preliminary examination. If the applicant nevertheless wishes to file a demand this must be done before expiry of 3 months after the date of mailing of the ISR/ WO-ISA or 22 months after priority date, whichever expires later (Rule 54bis PCT). Amendments under Art. 34 PCT can be filed with the IPEA as before, normally at the same time as filing the demand (Rule 66.1 (b) PCT). If a demand for international preliminary examination is filed and no comments/amendments have been received the WO-ISA will be transformed by the IPEA into an IPRP (International Preliminary Report on Patentability) which would merely reflect the content of the WO-ISA. The demand can still be withdrawn (Art. 37 PCT).
Filing informal comments	After receipt of the ISR/WO-ISA the applicant may file informal comments on the WO-ISA directly with the International Bureau of WIPO. These will be communicated to the designated Offices together with the IPRP (International Preliminary Report on Patentability) at 30 months from the priority date. Please also refer to the next box.
End of the international phase	At the end of the international phase the International Bureau of WIPO will transform the WO-ISA or, if a demand was filed, the written opinion of the IPEA into the IPRP, which will then be transmitted together with possible informal comments to the designated Offices. The IPRP replaces the former IPER (international preliminary examination report).
Relevant PCT Rules and more information	Rule 43 PCT, Rule 43bis PCT, Rule 44 PCT, Rule 44bis PCT, PCT Newsletter 12/2003, OJ 11/2003, OJ 12/2003

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-129401- -00000-0000

Fecha: 2008-12-04 16:37:24 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 86



REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE
PCT

PATENTE DE INVENCION ☒ MODELO DE UTILIDAD ☐

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de una patente ☒
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☒
- ◆ Descripción de la invención ☒
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes ☒
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☒

COMPLETA ☐ INCOMPLETA ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

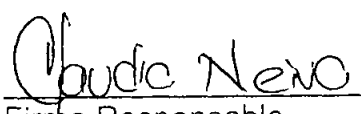
- ◆ Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial ☐
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☐
- ◆ Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño ☐
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☐

COMPLETA ☐ INCOMPLETA ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado ☐
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☐
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado ☐
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☐

COMPLETA ☐ INCOMPLETA ☐


Firma Responsable

Fecha _____

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
Conmutador: 3 82 08 40
Fax: 350 52 20
E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

88

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)
OLARTE GARCIA CARLOS REYNALDO
Apoderado(a) y/o Representante de
PFIZER PRODUCTS INC

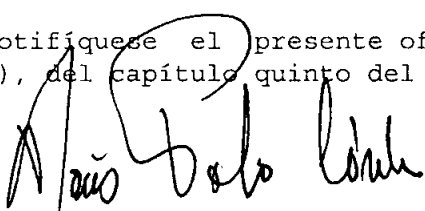
REFERENCIA	Radicación No.	8 129401
	Solicitud internacional	PCT/IB2007/001843
	Fecha inicio fase nacional	28/01/2009
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	2227

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. El solicitante debe presentar un nuevo título que permita identificar la materia de la cual trata la solicitud, ya que el título relacionado no se encuentra con la precisión necesaria para identificar claramente el objeto de la solicitud de patente. (Regla 4.3 PCT, Art 26-27 D-486, Circular única 5.2.9)

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

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


DORIS ELENA POLO CORDOBA
Jefe de la división de Nuevas Creaciones (E)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de
fecha 27 FEB. 2009
adpall