

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 925 215**

51 Int. Cl.:

A61K 31/403 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 31/06 (2006.01)
A61P 31/08 (2006.01)
A61K 31/133 (2006.01)
A61K 31/424 (2006.01)
A61K 31/43 (2006.01)
A61K 31/454 (2006.01)
A61K 31/496 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.05.2018 PCT/EP2018/061615**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **15.11.2018 WO18206466**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.05.2018 E 18721053 (9)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.07.2022 EP 3621609**

54 Título: **Sanfetrinem o una sal o éster del mismo para su uso en el tratamiento de una infección por micobacterias**

30 Prioridad:

08.05.2017 EP 17382255

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
14.10.2022

73 Titular/es:

**GLAXOSMITHKLINE INTELLECTUAL PROPERTY
DEVELOPMENT LIMITED (100.0%)
980 Great West Road
Brentford, Middlesex TW8 9GS, GB**

72 Inventor/es:

**BARROS AGUIRRE, DAVID;
BATES, ROBERT H.;
GONZALEZ DEL RIO, RUBEN;
MENDOZA LOSANA, ALFONSO y
RAMÓN GARCÍA, SANTIAGO**

74 Agente/Representante:

ARIZTI ACHA, Monica

ES 2 925 215 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Sanfetrinem o una sal o éster del mismo para su uso en el tratamiento de una infección por micobacterias

- 5 *El trabajo que condujo a esta invención ha recibido financiación del programa Personas (Acciones Marie Curie) del Séptimo Programa Marco de la Unión Europea (FP7/2007-2013) bajo el convenio de subvención REA n.º 291799.*

Campo de la invención

- 10 La presente invención se refiere a sanfetrinem, o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que el profármaco se forma sobre el resto ácido carboxílico libre, para su uso en el tratamiento de una infección por micobacterias o una enfermedad que resulta de una infección por micobacterias. Más específicamente, la presente invención se refiere a sanfetrinem, o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el profármaco se forma sobre el resto ácido carboxílico libre, para su uso en el tratamiento de la tuberculosis.
- 15 En particular, la presente invención se refiere al profármaco, sanfetrinem cilexetilo, para su uso en el tratamiento de la tuberculosis.

Antecedentes de la invención

- 20 Casi diez millones de personas se infectan con tuberculosis (TB) cada año, lo que provoca 1,5 millones de muertes cada año, según un informe publicado por la Organización Mundial de la Salud en 2014. A pesar de los tratamientos disponibles para la tuberculosis, la carga global de la enfermedad sigue siendo un problema importante debido a *Mycobacterium tuberculosis*, el agente bacteriano causante de la TB, que se vuelve resistente a muchos de los tratamientos.

- 25 Aunque la TB está provocada por una infección bacteriana, el uso de la clase más relevante de antibióticos, los β -lactámicos, se ha ignorado en gran medida. A pesar del hecho de que las docenas de fármacos β -lactámicos aprobados constituyen una estimación de dos tercios del mercado global de antibióticos, su evaluación frente a la TB estuvo limitada por fallos tempranos en los ensayos clínicos y suposiciones de que la pared celular micobacteriana lipófila era impermeable a tales moléculas altamente polares.
- 30 Sanfetrinem cilexetilo es un antibiótico experimental de la década de 1990 vinculado con infecciones provocadas por una variedad de especies bacterianas, pero sin incluir micobacterias.

- 35 Debido a la aparición cada vez mayor de cepas resistentes a múltiples fármacos de *Mycobacterium tuberculosis* y la alta incidencia continua de la TB, existe la necesidad urgente de proporcionar compuestos farmacológicos adicionales para el tratamiento de TB.

- 40 El documento WO 2016/046845 A1 se refiere a la tecnología de nanopartículas dirigidas furtivas (STN) para la administración oral de agentes terapéuticos escasamente biodisponibles. Se nombran un gran número de agentes terapéuticos, incluidos antibióticos, específicamente betalactámicos, uno de los cuales es sanfetrinem.

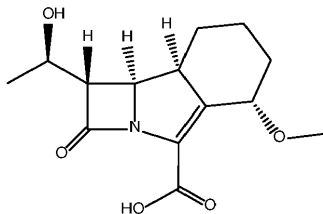
- 45 CARL N WIVAGG ET AL: "Mechanisms of [beta]-lactam killing and resistance in the context of *Mycobacterium tuberculosis*", THE JOURNAL OF ANTIBIOTICS, vol. 67, n.º 9, 23 de julio de 2014 (23-07-2014), páginas 645-654, comenta el hecho de que los betalactámicos son una de las clases más útiles de antibióticos contra muchos patógenos bacterianos comunes, con la excepción de *Mycobacterium tuberculosis*. Se exploran el mecanismo de acción de los betalactámicos contra *Mycobacterium tuberculosis* así como posibles mecanismos de resistencia, y se mencionan ciertos carbapenémicos en combinación con clavulanato en el contexto de la actividad contra *Mycobacterium tuberculosis* resistente a fármacos.

- 50 LOWTHER J ET AL: "New Betalactams - P706: Synergistic, Additive or Indifferent Effects of Sanfetrinem, a New Oral Trinem, in Combination with Other Antimicrobial Agents", CLINICAL MICROBIOLOGY AND INFECTION, ELSEVIER LTD, GB, vol. 3, n.º supl. 2, 1 de julio de 1995 (01-07-1995), página 169, comentan las pruebas de sanfetrinem, un nuevo agente antibacteriano de amplio espectro potente que pertenece a la clase de trinem de antibióticos betalactámicos, junto con otros antimicrobianos. Globalmente, la combinación de sanfetrinem con otros antimicrobianos era principalmente aditiva o indiferente. No se observaron casos significativos de antagonismo.
- 55

Sumario de la invención

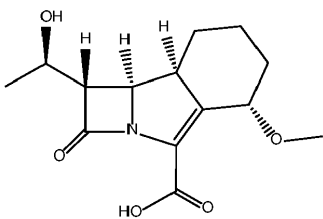
- 60 Las referencias a métodos de tratamiento en el presente sumario y la descripción detallada han de interpretarse como referencias a los compuestos, las composiciones farmacéuticas y los medicamentos de la presente invención para su uso en un método para el tratamiento del cuerpo humano (o animal) mediante terapia (o para diagnóstico).

En un primer aspecto de la presente invención, se proporciona



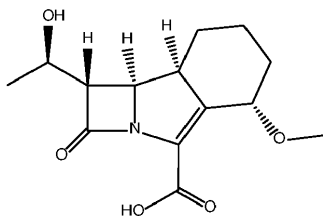
5 que tiene el nombre ácido (1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-hidroxi-*etil*)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-a]isoindol-4-carboxílico, o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el profármaco se forma sobre el resto ácido carboxílico libre, para su uso en el tratamiento de una enfermedad que resulta de una infección por micobacterias.

10 En un segundo aspecto de la presente invención, se proporciona



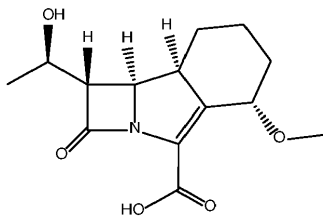
15 que tiene el nombre ácido (1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-hidroxi-*etil*)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-a]isoindol-4-carboxílico, o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el profármaco se forma sobre el resto ácido carboxílico libre, para su uso en el tratamiento de una infección por micobacterias.

En un tercer aspecto de la presente invención, se proporciona



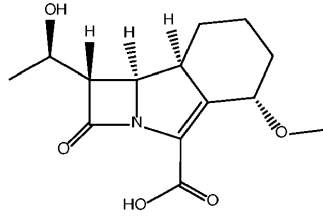
20 que tiene el nombre ácido (1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-hidroxi-*etil*)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-a]isoindol-4-carboxílico, o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el profármaco se forma sobre el resto ácido carboxílico libre, para su uso en el tratamiento de tuberculosis.

25 Se da a conocer en el presente documento un método para el tratamiento de una enfermedad que resulta de una infección por micobacterias en un paciente que lo necesita, que comprende administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de



30 que tiene el nombre ácido (1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-hidroxi-*etil*)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-a]isoindol-4-carboxílico, o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

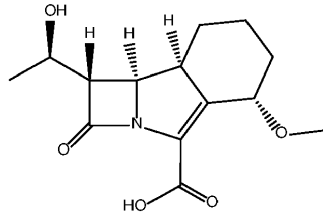
Se da a conocer en el presente documento un método para el tratamiento de una infección por micobacterias en un paciente que lo necesita, que comprende administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de



5

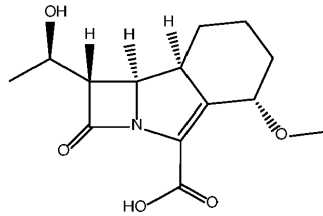
que tiene el nombre ácido (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-hidroxi-etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-octahidroazeto[2,1-*a*]isoindol-4-carboxílico, o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 Se da a conocer en el presente documento un método para el tratamiento de tuberculosis en un paciente que lo necesita, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de



15 que tiene el nombre ácido (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-hidroxi-etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-octahidroazeto[2,1-*a*]isoindol-4-carboxílico, o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Se da a conocer en el presente documento el uso de

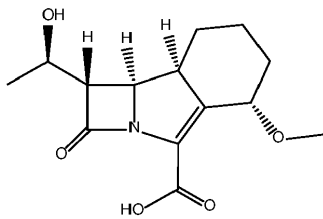


20

que tiene el nombre ácido (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-hidroxi-etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-octahidroazeto[2,1-*a*]isoindol-4-carboxílico, o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de tuberculosis, una infección por micobacterias o una enfermedad que resulta de una infección por micobacterias.

25

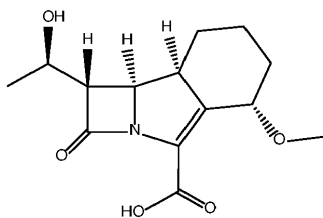
En un cuarto aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende (a)



30

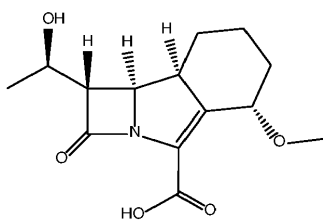
que tiene el nombre ácido (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-hidroxi-etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-octahidroazeto[2,1-*a*]isoindol-4-carboxílico, o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el profármaco se forma sobre el resto ácido carboxílico libre; y (b) un excipiente farmacéuticamente aceptable, para su uso en el tratamiento de tuberculosis, una infección por micobacterias o una enfermedad que resulta de una infección por micobacterias.

En un quinto aspecto de la presente invención, se proporciona una combinación de (a)



5 que tiene el nombre ácido (1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-hidroxiethyl)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-a]isoindol-4-carboxílico, o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el profármaco se forma sobre el resto ácido carboxílico libre; y (b) otro agente antituberculoso adicional, para su uso en el tratamiento de una infección por micobacterias, una enfermedad que resulta de una infección por micobacterias o tuberculosis.

En un sexto aspecto de la presente invención, se proporciona una combinación de (a)



15 que tiene el nombre ácido (1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-hidroxiethyl)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-a]isoindol-4-carboxílico, o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el profármaco se forma sobre el resto ácido carboxílico libre; y (b) un inhibidor de β -lactamasa, para su uso en el tratamiento de una infección por micobacterias, una enfermedad que resulta de una infección por micobacterias o tuberculosis.

Descripción de las figuras

25 La figura 1 ilustra los resultados de un modelo de ratón usado para evaluar la actividad antituberculosa *in vivo* de sanfetrinem y sanfetrinem cilexetilo.

La figura 2 es un gráfico de la distribución de CIM de sanfetrinem (sal de sodio) contra un panel de cepas de laboratorio y aislados clínicos.

30 La figura 3 muestra curvas de dosis-respuesta de sanfetrinem, % de crecimiento frente a la concentración, solo y en combinación con amoxicilina y con amoxicilina más clavulanato (los valores de concentración de amoxicilina están en $\mu\text{g/ml}$).

35 La figura 4 muestra curvas de dosis-respuesta de amoxicilina, % de crecimiento frente a la concentración, sola y en combinación con clavulanato.

La figura 5 muestra curvas de dosis-respuesta para sanfetrinem solo y en combinación con delamanid.

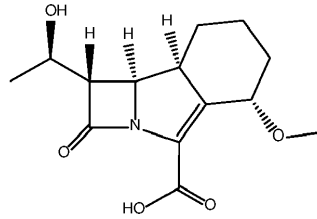
40 La figura 6 muestra curvas de dosis-respuesta para sanfetrinem solo y en combinación con rifampicina.

La figura 7 muestra curvas de dosis-respuesta para sanfetrinem solo y en combinación con etambutol.

La figura 8 muestra curvas de dosis-respuesta para sanfetrinem solo y en combinación con amoxicilina.

45 Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a un compuesto que tiene la siguiente estructura (a continuación en el presente documento también se denomina compuesto A):



o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el profármaco se forma sobre el resto ácido carboxílico libre, para su uso en el tratamiento de una enfermedad que resulta de una infección por micobacterias. Una infección por micobacterias es una provocada por la infección con una micobacteria.

El nombre del compuesto A es ácido (1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-hidroxiethyl)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-a]isoindol-4-carboxílico.

La micobacteria puede ser un miembro de uno de los siguientes grupos de *Mycobacterium*:

Complejo de *Mycobacterium tuberculosis* (MTC), complejo de *Mycobacterium avium* (MAC), clado de *Mycobacterium gordonae*, clado de *Mycobacterium kansasii*, clado de *Mycobacterium chelonae*, clado de *Mycobacterium fortuitum*, clado de *Mycobacterium parafortuitum* o clado de *Mycobacterium vaccae*. La micobacteria puede ser también *Mycobacterium ulcerans* o *Mycobacterium leprae*.

Los miembros del complejo de *Mycobacterium tuberculosis* (MTC) incluyen *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium bovis* BCG, *Mycobacterium canetti*, *Mycobacterium caprae*, *Mycobacterium microti* y *Mycobacterium pinnipedii*. Estas micobacterias son agentes causantes de tuberculosis humana y animal. *Mycobacterium tuberculosis* es la principal causa de la tuberculosis humana.

En una realización, la infección es una provocada por una infección con una micobacteria que es un miembro del complejo de *Mycobacterium tuberculosis* (MTC).

En una realización, la infección es una infección por *Mycobacterium tuberculosis*. En otras palabras, la infección por micobacterias está provocada por infección con *Mycobacterium tuberculosis*.

Los miembros del complejo de *Mycobacterium avium* (MAC) incluyen *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium avium paratuberculosis*, *Mycobacterium avium silaticum*, *Mycobacterium avium hominissuis*, *Mycobacterium columbiense* y *Mycobacterium indicus pranii*.

Los miembros del clado de *Mycobacterium gordonae* incluyen *Mycobacterium asiaticum* y *Mycobacterium gordonae*.

Los miembros del clado de *Mycobacterium kansasii* incluyen *Mycobacterium gastri* y *Mycobacterium kansasii*.

Los miembros del clado de *Mycobacterium chelonae* incluyen *Mycobacterium abscessus*, *Mycobacterium bolletii* y *Mycobacterium chelonae*.

Los miembros del clado de *Mycobacterium fortuitum* incluyen *Mycobacterium boenickei*, *Mycobacterium brisbanense*, *Mycobacterium cosmeticum*, *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium fortuitum* subespecie *acetamidolyticum*, *Mycobacterium houstonense*, *Mycobacterium mageritense*, *Mycobacterium neworleansense*, *Mycobacterium peregrinum*, *Mycobacterium porcinum*, *Mycobacterium senegalense* y *Mycobacterium septicum*.

Los miembros del clado de *Mycobacterium parafortuitum* incluyen *Mycobacterium austroafricanum*, *Mycobacterium diernhoferi*, *Mycobacterium frederiksbergense*, *Mycobacterium hodleri*, *Mycobacterium neoaurum* y *Mycobacterium parafortuitum*.

Por tanto, la infección por micobacterias puede estar provocada por una infección con una micobacteria seleccionada de las siguientes: *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium bovis* BCG, *Mycobacterium canetti*, *Mycobacterium caprae*, *Mycobacterium microti*, *Mycobacterium pinnipedii*, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium avium paratuberculosis*, *Mycobacterium avium silaticum*, *Mycobacterium avium hominissuis*, *Mycobacterium columbiense*, *Mycobacterium indicus pranii*, *Mycobacterium asiaticum*, *Mycobacterium gordonae*, *Mycobacterium gastri*, *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium abscessus*, *Mycobacterium bolletii*, *Mycobacterium chelonae*, incluyendo *Mycobacterium boenickei*, *Mycobacterium brisbanense*, *Mycobacterium cosmeticum*, *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium fortuitum* subespecie *acetamidolyticum*, *Mycobacterium houstonense*, *Mycobacterium mageritense*, *Mycobacterium neworleansense*, *Mycobacterium peregrinum*, *Mycobacterium porcinum*, *Mycobacterium senegalense*, *Mycobacterium septicum*, *Mycobacterium austroafricanum*,

Mycobacterium diernhoferi, *Mycobacterium frederiksbergense*, *Mycobacterium hodleri*, *Mycobacterium neoaurum*, *Mycobacterium parafortuitum*, *Mycobacterium ulcerans* y *Mycobacterium leprae*.

5 Las enfermedades provocadas por una infección con una micobacteria incluyen tuberculosis (por ejemplo de *Mycobacterium tuberculosis*), lepra (por ejemplo de *Mycobacterium leprae*), enfermedad de Johne (por ejemplo de *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis*), úlcera de Buruli o Bairnsdale (por ejemplo de *Mycobacterium ulceran*), enfermedad de Crohn (por ejemplo de *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis*), fibrosis quística (por ejemplo de una micobacteria no tuberculosa tal como complejo de *Mycobacterium avium-intracellulare* y *Mycobacterium abscessus*), enfermedad pulmonar o infección pulmonar, neumonía, bolsa sinovial, vainas tendinosas,
10 absceso localizado, linfadenitis, infecciones de la piel y tejidos blandos, síndrome de Lady Windermere (por ejemplo de complejo de *Mycobacterium avium* (MAC)), enfermedad pulmonar MAC, complejo de *Mycobacterium avium* diseminado (DMAIC), complejo de *Mycobacterium avium intracellulare* diseminado (DMAIC), neumopatía de las saunas (por ejemplo del complejo de *Mycobacterium avium*), mastitis MAC, piomiositis MAC o enfermedad de granuloma.

15 En una realización, la enfermedad que resulta de una infección por micobacterias es tuberculosis, de manera que la presente invención se refiere al compuesto A, o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el profármaco se forma sobre el resto ácido carboxílico libre, para su uso en el tratamiento de tuberculosis.

20 La invención también se refiere al compuesto A, o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el profármaco se forma sobre el resto ácido carboxílico libre, para su uso en el tratamiento de una infección por micobacterias. En una realización particular, la infección por micobacterias es una infección por *Mycobacterium tuberculosis*.

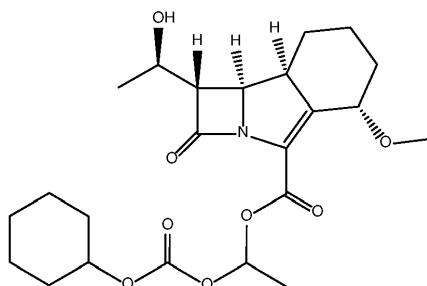
25 Más específicamente, la invención se refiere al compuesto A, o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el profármaco se forma sobre el resto ácido carboxílico libre, para su uso en el tratamiento de tuberculosis. En una realización, el tratamiento de tuberculosis puede dirigirse al tratamiento de tuberculosis resistente a múltiples fármacos, tuberculosis extensamente resistente a fármacos o sensible a fármacos.

30 En una realización, el tratamiento de tuberculosis se dirige a tuberculosis resistente a múltiples fármacos o extensamente resistente a fármacos.

Además, el tratamiento puede dirigirse a tuberculosis pulmonar y/o extrapulmonar. El tratamiento puede dirigirse también al tratamiento de TB latente.

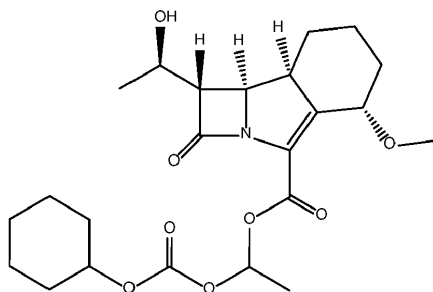
35 El compuesto A también se conoce como sanfetrinem o GV104326. Una sal de sodio de sanfetrinem se conocería como sanfetrinem sódico. Una sal de potasio de sanfetrinem se conocería como sanfetrinem potásico, y así sucesivamente.

40 Más particularmente, la invención se refiere a un profármaco de éster del compuesto A para su uso en el tratamiento de una infección por micobacterias o enfermedad que resulta de una infección por micobacterias, en el que el profármaco tiene la siguiente estructura



45 Este profármaco de éster tiene el nombre 1-((R)-1-hidroxi-etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-a]isoindol-4-carboxilato de (1S,5S,8aS,8bR)-1-(((ciclohexiloxi)carbonil)oxi)etilo. Este profármaco también se conoce como sanfetrinem cilexetilo o GV118819X.

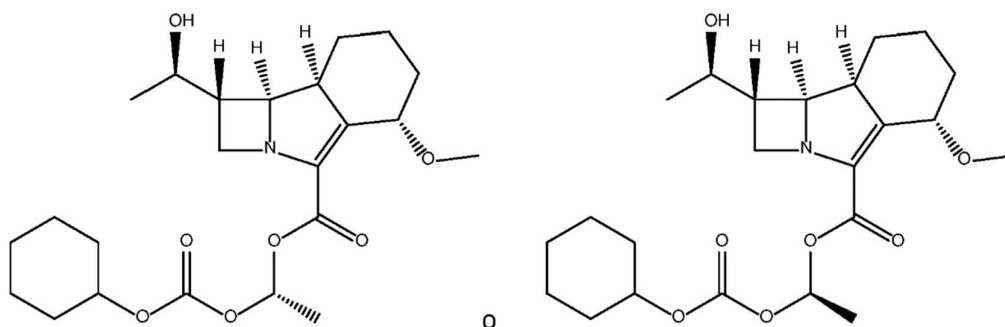
50 Por tanto, la invención también se refiere a 1-((R)-1-hidroxi-etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-a]isoindol-4-carboxilato de (1S,5S,8aS,8bR)-1-(((ciclohexiloxi)carbonil)oxi)etilo, es decir



para su uso en el tratamiento de tuberculosis.

- 5 Se apreciará que el profármaco de éster 1-((*R*)-1-hidroxi)etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-*a*]isoindol-4-carboxilato de (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-(((ciclohexiloxi)carbonil)oxi)etilo (representado anteriormente) es una mezcla de diaestereoisómeros, también conocidos como epímeros. Los diaestereoisómeros pueden estar presentes en la mezcla en cantidades iguales (una mezcla 1:1) o en cantidades desiguales. Alternativamente, el compuesto puede estar presente como un diaestereoisómero. Cada diaestereoisómero se representa a continuación.

10

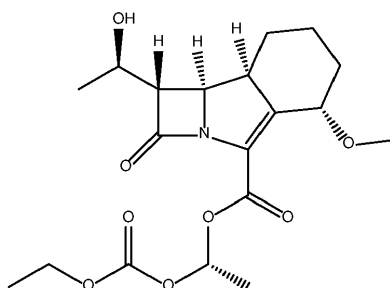


Tales diaestereoisómeros individuales pueden obtenerse mediante separación de una mezcla de diaestereoisómeros.

- 15 El profármaco descrito anteriormente puede usarse ventajosamente en el tratamiento de tuberculosis porque puede administrarse a los pacientes por vía oral.

Un profármaco alternativo es 1-((*R*)-1-hidroxi)etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-*a*]isoindol-4-carboxilato de (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-(*S*)-1-((etoxicarbonil)oxi)etilo, que tiene la siguiente estructura,

20



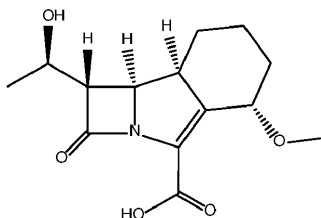
Este profármaco puede prepararse según los procedimientos descritos en, por ejemplo, el documento WO 94/21637 o métodos similares.

25

Todas las estructuras químicas se han nombrado usando ChemBioDraw Ultra versión 12.0 (mediante conversión de la estructura en nombre).

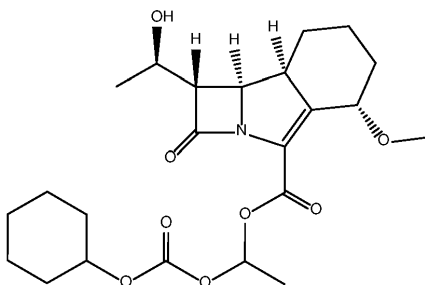
- 30 Ha de entenderse que las referencias en el presente documento al compuesto A o una sal del mismo incluye el compuesto A como ácido libre, o como sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Por tanto, en una realización, la invención se refiere al compuesto A. En otra realización, la invención se refiere a una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto A. En otra realización, la invención se refiere a un profármaco de éster del compuesto A.

El término “profármaco de éster” se refiere al compuesto A en el que se ha formado un éster sobre/usando el resto ácido carboxílico libre que está presente. En otras palabras, “profármaco de éster” significa un éster que se ha formado usando el ácido libre disponible en la estructura a continuación.



5

Como ejemplo de un profármaco de éster de este tipo, está un compuesto que tiene la siguiente estructura



10

El término “farmacéuticamente aceptable” se refiere a los compuestos (incluyendo sales), materiales, composiciones y formas de dosificación que son, dentro del alcance del juicio médico sensato, adecuados para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación u otro problema o complicación, acorde con una razón de beneficio/riesgo razonable.

15

Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen, entre otras, las descritas en Berge, J. Pharm. Sci., 1977, 66, 1-19, o las enumeradas en P H Stahl y C G Wermuth, editors, Handbook of Pharmaceutical Salts; Properties, Selection and Use, segunda edición Stahl/Wermuth: Wiley-VCH/VHCA, 2011 (véase <http://www.wiley.com/WileyCDA/WileyTitle/productCd-3906390519.html>).

20

Las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas pueden incluir sales de adición de base.

Tales sales de adición de base pueden formarse mediante reacción de ácido (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-hidroxietil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-octahidroazeto[2,1-*a*]isoindol-4-carboxílico con la base apropiada, opcionalmente en un disolvente adecuado tal como un disolvente orgánico, para dar la sal que puede aislarse mediante una variedad de métodos, incluyendo cristalización y filtración.

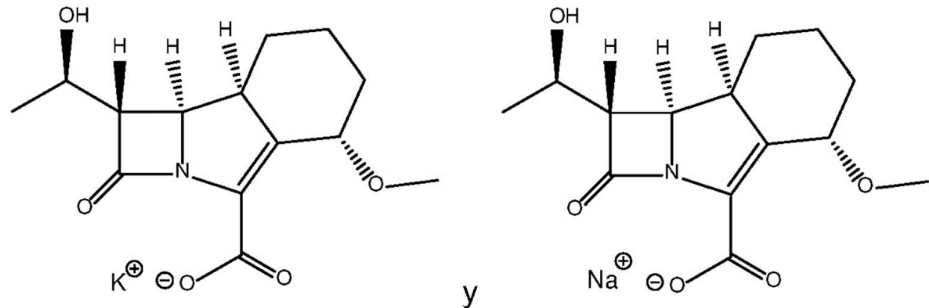
25

Las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables representativas incluyen aluminio, 2-amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol (TRIS, trometamina), arginina, benetamina (*N*-bencilfenetilamina), benztatina (*N,N'*-dibenciletilendiamina), *bis*-(2-hidroxietil)amina, bismuto, calcio, cloroprocaína, colina, clemizol (1-*p*-clorobencil-2-porrolidil-1'-ilmetilbencimidazol), ciclohexilamina, dibenciletilendiamina, dietilamina, dietiltriamina, dimetilamina, dimetiletanolamina, dopamina, etanolamina, etilendiamina, L-histidina, hierro, isoquinolina, lepidina, litio, lisina, magnesio, meglumina (*N*-metilglucamina), piperazina, piperidina, potasio, procaína, quinina, quinolina, sodio, estroncio, *t*-butilamina y zinc.

35

Salas farmacéuticamente aceptables particulares según la presente invención son la sal de sodio y la sal de potasio del compuesto A, de manera que el compuesto que va a administrarse a un paciente para el tratamiento es (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-hidroxietil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-octahidroazeto[2,1-*a*]isoindol-4-carboxilato de potasio o (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-hidroxietil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-octahidroazeto[2,1-*a*]isoindol-4-carboxilato de sodio, representado tal como sigue

40



respectivamente.

5 En una realización, la sal farmacéuticamente aceptable del compuesto A es la sal de sodio.

Se apreciará que el compuesto ácido (1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-hidroxi)etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-a]isoindol-4-carboxílico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o su profármaco, 1-((R)-1-hidroxi)etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-a]isoindol-4-carboxilato de (1S,5S,8aS,8bR)-1-(((ciclohexiloxi)carbonil)oxi)etilo, podría estar en cualquier forma solvatada (por ejemplo hidratada) y/o polimórfica adecuada de los mismos.

15 El compuesto ácido (1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-hidroxi)etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-a]isoindol-4-carboxílico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o su profármaco, 1-((R)-1-hidroxi)etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-a]isoindol-4-carboxilato de (1S,5S,8aS,8bR)-1-(((ciclohexiloxi)carbonil)oxi)etilo, puede prepararse según los procedimientos descritos en los documentos EP0416953 y WO 94/21637 o métodos similares.

20 Específicamente, puede prepararse ácido (1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-hidroxi)etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-a]isoindol-4-carboxílico o su sal del mismo según los procedimientos descritos en los ejemplos 4 y 5 del documento WO 94/21637.

25 Específicamente, el profármaco, 1-((R)-1-hidroxi)etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-a]isoindol-4-carboxilato de (1S,5S,8aS,8bR)-1-(((ciclohexiloxi)carbonil)oxi)etilo, puede prepararse según el procedimiento descrito en el ejemplo 1 del documento WO 92/03437. Otros profármacos de éster pueden prepararse según métodos similares y métodos conocidos por los expertos en la técnica.

30 Se da a conocer en el presente documento un método para el tratamiento de una enfermedad que resulta de una infección por micobacterias en un paciente que lo necesita, que comprende administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de ácido (1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-hidroxi)etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-a]isoindol-4-carboxílico o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La infección por micobacterias puede estar provocada por una de las micobacterias seleccionadas de la lista descrita anteriormente en el presente documento, tal como *Mycobacterium tuberculosis*.

35 En una realización, la enfermedad que va a tratarse es la tuberculosis. Por tanto, se da a conocer en el presente documento un método de tratamiento de tuberculosis en un paciente que lo necesita, que comprende administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de ácido (1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-hidroxi)etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-a]isoindol-4-carboxílico o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

40 Se da a conocer en el presente documento un método para el tratamiento de una infección por micobacterias en un paciente que lo necesita, que comprende administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de ácido (1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-hidroxi)etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-a]isoindol-4-carboxílico o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La infección por micobacterias puede estar provocada por una de las micobacterias seleccionadas de la lista descrita anteriormente. En una realización, la infección por micobacterias es una infección por *Mycobacterium tuberculosis*, y se da a conocer en el presente documento un método de tratamiento de una infección por *Mycobacterium tuberculosis*.

50 Se da a conocer en el presente documento un método para el tratamiento de tuberculosis en un paciente que lo necesita, que comprende administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de ácido (1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-hidroxi)etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-a]isoindol-4-carboxílico o

un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Se da a conocer en el presente documento un método para el tratamiento de tuberculosis en un paciente que lo necesita, que comprende administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un profármaco de éster del compuesto A. En particular, el profármaco de éster es 1-((*R*)-1-hidroxi)etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-*a*]isoindol-4-carboxilato de (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-(((ciclohexiloxi)carbonil)oxi)etilo, que tiene la estructura representada anteriormente.

Se da a conocer en el presente documento un método para el tratamiento de tuberculosis en un paciente que lo necesita, que comprende administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto A. En particular, la sal farmacéuticamente aceptable es la sal de sodio, de manera que el agente administrado a un paciente es (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-hidroxi)etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-*a*]isoindol-4-carboxilato de sodio.

En una realización, el paciente que lo necesita es un paciente humano. El término paciente pretende referirse a una persona que padece, o está infectada con, una infección por micobacterias, una enfermedad que resulta de una infección por micobacterias o tuberculosis.

Se da a conocer además el uso del compuesto ácido (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-hidroxi)etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-*a*]isoindol-4-carboxílico o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de una enfermedad que resulta de una infección por micobacterias, o en el tratamiento de una infección por micobacterias. En particular, se da a conocer en el presente documento el uso del compuesto ácido (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-hidroxi)etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-*a*]isoindol-4-carboxílico o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de tuberculosis.

En particular, también se da a conocer el uso de (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-hidroxi)etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-*a*]isoindol-4-carboxilato de sodio o 1-((*R*)-1-hidroxi)etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-*a*]isoindol-4-carboxilato de (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-(((ciclohexiloxi)carbonil)oxi)etilo en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de tuberculosis.

Tal como se usa en el presente documento, el término “cantidad terapéuticamente eficaz” significa cualquier cantidad que, en comparación con un sujeto correspondiente que no ha recibido tal cantidad, da como resultado una mejora del tratamiento, la curación, la prevención o la mejora de una enfermedad, trastorno o efecto secundario, o una disminución de la tasa de avance de una enfermedad o trastorno.

Una “cantidad terapéuticamente eficaz” apropiada dependerá de varios factores incluidos, por ejemplo, la edad y el peso del sujeto, la afección precisa que requiere tratamiento y su gravedad, la naturaleza de la formulación y la vía de administración, y estará en última instancia al criterio del médico encargado.

Los expertos en la técnica apreciarán que las referencias en el presente documento a un tratamiento se refieren al tratamiento de afecciones establecidas, incluidas, por ejemplo, una infección por micobacterias, una enfermedad que resulta de una infección por micobacterias y/o tuberculosis. Sin embargo, el ácido (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-hidroxi)etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-*a*]isoindol-4-carboxílico así como sales farmacéuticamente aceptables o profármacos de éster de los mismos, dependiendo de la afección, pueden ser útiles también en la prevención de una infección por micobacterias, una enfermedad que resulta de una infección por micobacterias y/o tuberculosis. Por tanto, en una realización, se proporciona el tratamiento (reivindicado) o la prevención (no reivindicado) de una enfermedad. En otra realización, se proporciona el tratamiento de una enfermedad. En una realización no reivindicada adicional, se proporciona la prevención de una enfermedad.

Aunque es posible que, para su uso en el tratamiento de una infección por micobacterias, una enfermedad que resulta de una infección por micobacterias o tuberculosis, el ácido (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-hidroxi)etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-*a*]isoindol-4-carboxílico así como sales farmacéuticamente aceptables o profármacos de éster del mismo puedan administrarse solos, es común presentar el principio activo como una composición farmacéutica que comprende uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

Por tanto, en una realización, se proporciona también una composición farmacéutica que comprende (a) (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-hidroxi)etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-*a*]isoindol-4-carboxilato de sodio o el profármaco, 1-((*R*)-1-hidroxi)etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-*a*]isoindol-4-carboxilato de (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-(((ciclohexiloxi)carbonil)oxi)etilo, y (b) un excipiente farmacéuticamente aceptable, para su uso en el tratamiento de una infección por micobacterias, una enfermedad que resulta de una infección por micobacterias o tuberculosis.

Las composiciones farmacéuticas pueden administrarse por cualquier vía apropiada, por ejemplo por la vía oral

(incluida bucal o sublingual), inhalada, intranasal, tópica (incluida bucal, sublingual o transdérmica) o parenteral (incluida subcutánea, intramuscular, intravenosa o intradérmica).

5 En una realización, la composición farmacéutica se administra por la vía de administración oral. Cuando la composición farmacéutica es para administración oral, en particular, se usa el profármaco de éster 1-((*R*)-1-hidroxi)etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-*a*]isoindol-4-carboxilato de (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-(((ciclohexiloxi)carbonil)oxi)etilo como principio farmacéutico activo.

10 En una realización, la composición farmacéutica se administra por la vía de administración intravenosa. Cuando la composición farmacéutica es para administración intravenosa, en particular, se usa la sal de sodio o potasio del compuesto A como principio farmacéutico activo.

15 Los excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen los siguientes tipos de excipientes: portadores, diluyentes, cargas, aglutinantes, disgregantes, lubricantes, deslizantes, agentes de granulación, agentes de recubrimiento, agentes humectantes, disolventes, codisolventes, agentes de suspensión, emulsionantes, edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes enmascaradores del sabor, agentes colorantes, agentes antiapelmazantes, humectantes, agentes quelantes, plastificantes, agentes viscosificantes, antioxidantes, conservantes, estabilizadores, tensioactivos y agentes tamponantes.

20 Los métodos adecuados para formular ácido (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-hidroxi)etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-*a*]isoindol-4-carboxílico o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo incluyen los que resultan familiares para los expertos en la técnica, que se describen en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21^a edición 2006.

25 Las composiciones farmacéuticas pueden presentarse en formas de dosis unitaria que contienen una cantidad predeterminada de principio activo por dosis unitaria. Composiciones de dosificación unitaria preferidas son las que contienen una dosis o subdosis diaria, o una fracción apropiada de la misma, de un principio activo. Tales dosis unitarias, por tanto, pueden administrarse más de una vez al día. Composiciones de dosificación unitaria preferidas son las que contienen una dosis o subdosis diaria (para administración más de una vez al día), tal como se mencionó anteriormente en el presente documento, o una fracción apropiada de la misma, de un principio activo.

35 Para la administración del principio activo, por ejemplo, el profármaco de éster, 1-((*R*)-1-hidroxi)etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-*a*]isoindol-4-carboxilato de (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-(((ciclohexiloxi)carbonil)oxi)etilo, la dosificación puede ser de desde 100 mg hasta 2000 mg o de 100 mg a 1000 mg. Por ejemplo, la dosificación puede ser de desde 250 mg hasta 500 mg. En particular, la dosificación oral puede ser de desde 250 mg hasta 1000 mg administrados dos veces al día, proporcionando de ese modo una dosis diaria total de 500 mg a 2000 mg. La dosificación oral puede administrarse una vez al día. La cantidad total de principio activo administrada al día puede ser de 500, 1000 o 2000 mg.

40 Para administración intravenosa, por ejemplo ácido (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-hidroxi)etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-*a*]isoindol-4-carboxílico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, la dosis puede ser de hasta 1 g tres veces al día, proporcionando una dosis diaria total de 3 g. Alternativamente, la dosis diaria total puede ser de 1,5 g o 2 g al día.

45 El compuesto puede administrarse en una sola dosis al día o en varias (tal como dos, tres, cuatro, cinco o seis) subdosis al día, de manera que la dosis diaria total sea la misma. Una cantidad eficaz de un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el profármaco se forma sobre el resto ácido carboxílico libre, puede determinarse como una proporción de la cantidad eficaz del compuesto ácido (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-hidroxi)etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1-*a*]isoindol-4-carboxílico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo *per se*.

50 Un ejemplo de una formulación de comprimido oral que puede usarse se describe en el documento EP502465, que es tal como sigue.

	mg / comprimido
Principio activo, por ejemplo, 1-((<i>R</i>)-1-hidroxi)etil)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8a,8b-octahidroazeto[2,1- <i>a</i>]isoindol-4-carboxilato de (1 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,8 <i>aS</i> ,8 <i>bR</i>)-1-(((ciclohexiloxi)carbonil)oxi)etilo	320
Lactosa	150
Etilcelulosa	20
Laurilsulfato de sodio	7
Estearato de magnesio	3

Núcleo de comprimido	500 mg
----------------------	--------

5 El principio activo y la lactosa pueden combinarse entre sí y luego granularse usando agua como fluido de granulación. Los gránulos secados pueden combinarse entonces con la etilcelulosa, el laurilsulfato de sodio y el estearato de magnesio y formarse el núcleo de comprimido usando un punzón adecuado. El comprimido puede entonces recubrirse (por ejemplo, con un recubrimiento entérico) usando técnicas y recubrimientos convencionales.

10 Para su uso en la invención, el compuesto ácido (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-hidroxietyl)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-octahidroazeto[2,1-*a*]isoindol-4-carboxílico o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el profármaco se forma sobre el resto ácido carboxílico libre, puede emplearse solo o en combinación con agentes terapéuticos adicionales. En particular, el compuesto ácido (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-hidroxietyl)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-octahidroazeto[2,1-*a*]isoindol-4-carboxílico o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el profármaco se forma sobre el resto ácido carboxílico libre, puede emplearse en combinación con agentes antituberculosos y/o antivirales adicionales, incluidos agentes antirretrovirales.

15 Por ejemplo, también se da a conocer en el presente documento una combinación de (a) compuesto A o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el profármaco se forma sobre el resto ácido carboxílico libre, y (b) un agente antituberculoso adicional.

20 Por tanto, la presente invención también incluye una combinación de (a) compuesto A o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el profármaco se forma sobre el resto ácido carboxílico libre, y (b) un agente antituberculoso adicional, para su uso en el tratamiento de una infección por micobacterias, una enfermedad que resulta de una infección por micobacterias o tuberculosis. En una realización, la combinación es para su uso en el tratamiento de tuberculosis.

25 En una realización, la combinación puede comprender dos, tres, cuatro, cinco, seis o siete agentes antituberculosos adicionales. Por ejemplo, en el tratamiento de tuberculosis resistente a múltiples fármacos, es común que se administren combinaciones de cuatro o más agentes a los pacientes. Por ejemplo, en el tratamiento de tuberculosis sensible a fármacos, es común que se administren combinaciones de tres o cuatro agentes a los pacientes.

30 El agente antituberculoso adicional puede ser un agente en desarrollo, aprobado o recomendado para el tratamiento de tuberculosis.

35 En una realización, el agente antituberculoso puede seleccionarse de isoniazida, rifampicina, pirazinamida, etambutol, moxifloxacino, rifapentina, clofazimina, etionamida, protionamida, isoxilo, tiacetazona, rifabutina, una diarilquinolina tal como bedaquilina (TMC207) o TBAJ-587, nitroimidazo-oxazina PA-824 (pretomanid), delamanid (OPC-67683), una oxazolidinona tal como linezolid, tedizolid, radezolid, sutezolid (PNU-100480), posizolid (AZD-5847) o TBI-223, análogo de EMB SQ109, OPC-167832, GSK3036656A (también conocido como GSK070), GSK2556286, GSK3211830, una benzotiazinona tal como BTZ043 o PBTZ169, un azaindol tal como TBA-7371, una dinitrobenzamida o un betalactámico tal como meropenem, faropenem, ertapenem, tebipenem o combinaciones de betalactámicos tales como AUGMENTIN (amoxicilina-clavulanato).

40 En una realización, el agente antituberculoso puede ser AUGMENTIN, es decir, amoxicilina-clavulanato. Por tanto, también se da a conocer en el presente documento la combinación del compuesto A o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que el profármaco se forma sobre el resto ácido carboxílico libre y AUGMENTIN.

45 En otra realización, el agente antituberculoso puede seleccionarse de delamanid, rifampicina y etambutol. Por tanto, también se da a conocer en el presente documento la combinación del compuesto A o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que el profármaco se forma sobre el resto ácido carboxílico libre, y al menos uno de delamanid, rifampicina y etambutol.

Una combinación para uso según la presente invención puede comprender además un agente antiviral, incluidos agentes antirretrovirales.

55 Tales agentes antirretrovirales pueden seleccionarse de zidovudina, didanosina, lamivudina, zalcitabina, abacavir, estavudina, adefovir, adefovir dipivoxil, fozivudina, todoxil, emtricitabina, alovudina, amdoxovir, elvicitabina, nevirapina, delavirdina, efavirenz, lovirida, immunocal, oltipraz, capravirina, lersivirina, GSK2248761, TMC-278, TMC-125, etravirina, saquinavir, ritonavir, indinavir, nelfinavir, amprenavir, fosamprenavir, brecanavir, darunavir, atazanavir, tipranavir, palinavir, lasinavir, enfuvirtida, T-20, T-1249, PRO-542, PRO-140, TNX-355, BMS-806, BMS-663068 y BMS-626529, 5-Helix, raltegravir, elvitegravir, GSK1349572, GSK1265744, vicriviroc (Sch-C), Sch-D, TAK779, maraviroc, TAK449, didanosina, tenofovir, lopinavir o darunavir.

60 Una combinación puede presentarse convenientemente para su uso en forma de una composición o formulación

farmacéutica. Por tanto, también se contempla en el presente documento una composición farmacéutica que comprende (a) compuesto A o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que el profármaco se forma sobre el resto ácido carboxílico libre, tal como se describe en el presente documento, junto con (b) otro fármaco antituberculoso adicional y (c) opcionalmente un agente antiviral incluidos agentes antirretrovirales, y (d) uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

El compuesto ácido (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-hidroxiethyl)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-octahidroazeto[2,1-*a*]isoindol-4-carboxílico o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el profármaco se forma sobre el resto ácido carboxílico libre, y el/los agente(s) terapéuticamente activo(s) adicional(es) (tal(es) como el agente antituberculoso y agentes antivirales) puede(n) administrarse juntos o por separado y, cuando se administran por separado, esto puede producirse por separado o secuencialmente en cualquier orden (por la misma o por diferentes vías de administración).

En una realización, el compuesto A o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el profármaco se forma sobre el resto ácido carboxílico libre, se coadministra con un agente antituberculoso adicional. Mediante el término "coadministra" quiere decirse o bien administración simultánea o bien cualquier manera de administración separada del compuesto A o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el profármaco se forma sobre el resto ácido carboxílico libre, y un agente antituberculoso adicional que se sabe que es útil en el tratamiento de una infección por micobacterias, enfermedad que resulta de una infección por micobacterias o tuberculosis, particularmente tuberculosis.

Las cantidades de ácido (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-hidroxiethyl)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-octahidroazeto[2,1-*a*]isoindol-4-carboxílico o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el profármaco se forma sobre el resto ácido carboxílico libre, y el/los agente(s) terapéuticamente activo(s) adicional(es) y los momentos relativos de administración se seleccionarán con el fin de lograr el efecto terapéutico combinado deseado.

El compuesto ácido (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-hidroxiethyl)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-octahidroazeto[2,1-*a*]isoindol-4-carboxílico o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el profármaco se forma sobre el resto ácido carboxílico libre, puede administrarse en combinación con un inhibidor de β -lactamasa.

Por tanto, la invención también se refiere a una combinación del profármaco de éster de sanfetrinem, 1-((*R*)-1-hidroxiethyl)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-octahidroazeto[2,1-*a*]isoindol-4-carboxilato de (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-(((ciclohexiloxi)carbonil)oxi)etilo, y un inhibidor de β -lactamasa, para su uso en el tratamiento de una infección por micobacterias, una enfermedad que resulta de una infección por micobacterias o tuberculosis.

La invención se refiere además a una combinación de la sal de sodio de sanfetrinem, (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-hidroxiethyl)-5-metoxi-2-oxo-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-octahidroazeto[2,1-*a*]isoindol-4-carboxilato de sodio, y un inhibidor de β -lactamasa, para su uso en el tratamiento de una infección por micobacterias, una enfermedad que resulta de una infección por micobacterias o tuberculosis.

En una realización, el inhibidor de β -lactamasa se selecciona de ácido clavulánico o una sal soluble en agua del mismo (tal como clavulanato de potasio), tazobactam, avibactam y sulbactam. En una realización, el inhibidor de β -lactamasa es ácido clavulánico o una sal soluble en agua del mismo, tal como clavulanato de potasio.

En una realización, el inhibidor de β -lactamasa puede proporcionarse como una combinación de amoxicilina y clavulanato de potasio conocida como co-amoxiclav (también conocida como, por ejemplo, AUGMENTIN). El co-amoxiclav puede administrarse como comprimidos de 375 mg o 625 mg, en el que el clavulanato de potasio está presente en una cantidad equivalente a 125 mg de ácido clavulánico. Adicionalmente, puede administrarse co-amoxiclav como comprimidos de 1000 mg, en los que está presente clavulanato de potasio en una cantidad equivalente a 125 mg de ácido clavulánico. Alternativamente, puede administrarse co-amoxiclav como una cantidad total al día de 4000 mg de amoxicilina en la que está presente clavulanato de potasio en una cantidad equivalente a 250 mg, es decir, administración de comprimidos de 1000 mg en los que está presente clavulanato de potasio en una cantidad de 62,5 mg, en la que se administran dos comprimidos dos veces al día.

La invención se describirá ahora con referencia a los siguientes ejemplos.

EJEMPLOS

La sal de sodio de sanfetrinem se sometió a prueba en los siguientes ensayos de viabilidad extracelulares e intracelulares. En el mismo ensayo se sometieron a prueba también algunos otros fármacos de referencia β -lactámicos - meropenem, tebipenem, ertapenem y faropenem.

Se preparó sanfetrinem según uno de los métodos descritos en los documentos EP0416953 y WO 94/21637 (véanse, por ejemplo, los ejemplos 4 y 5). En los ensayos descritos a continuación, se usó la sal de sodio de sanfetrinem.

5 Se adquirió faropenem sódico de AOKChem - CN (ref. A6030).

Se adquirió meropenem de Combi Blocks, EE. UU. (ref. ST-9229).

Se adquirió tebipenem de Chemexpress (Shanghai Haoyuan) Co., Ltd. (ref. HY-A0076).

10 Se adquirió ertapenem de Amatek (ref. DM-0004).

Se usó clavulanato de potasio como fuente de ácido clavulánico, denominado "clav" en las tablas a continuación.

Lista de abreviaturas

15 DMSO: Dimetilsulfóxido

ADC: Albúmina/dextrosa/catalasa

20 UFC: Unidad formadora de colonia

FBS: Suero bovino fetal

25 *Mtb*: *Mycobacterium tuberculosis*

RPMI: Roswell Park Memorial Institute

PBS: Solución salina tamponada con fosfato

30 DETERMINACIÓN DE CIM

La medición de la concentración inhibitoria mínima (MIC) contra *M. Tuberculosis* H37Rv para cada compuesto sometido a prueba se realizó en placas de microtitulación de poliestireno de fondo plano de 96 pocillos en un volumen final de 200 µl.

35 Se realizaron diluciones del fármaco de diez veces del compuesto de prueba en DMSO puro comenzando en 80 µM desde la columna 1 hasta la 10. Se usó moxifloxacino (MX) como control de compuesto de respuesta a la dosis con diluciones de 2 veces de MX comenzando en 1 µg/ml en la columna 11. En G-12 y H-12, se dispensó rifampicina a 1 µg/ml como control sin crecimiento. Desde A12 hasta F12, se dispensó DMSO como control de crecimiento.

40 También se preparó una placa adicional con la misma disposición pero añadiendo 4 µg/ml de clavulanato de potasio (Fluka, ref. 33454) a todas las placas con el fin de someter a prueba el cambio de la CIM en presencia de este inhibidor de β-lactamasa.

45 El inóculo se estandarizó a aproximadamente 1×10^7 ufc/ml y se diluyó 1 en 200 en caldo Middlebrook 7H9 complementado con ADC (Difco). Este inóculo (200 µl y 10^4 ufc/pocillo) se añadió a toda la placa.

Todas las placas se colocaron en una caja sellada para evitar que los pocillos periféricos se secaran y se incubaron a 37 °C sin agitación durante seis días.

50 Se preparó una disolución de resazurina disolviendo un comprimido de resazurina (comprimidos de resazurina para pruebas lácteas; ref. 330884Y' VWR International Ltd) en 30 ml de PBS estéril (solución salina tamponada con fosfato). De esta disolución, se añadieron 25 µl a cada pocillo.

55 Se midió la fluorescencia (Spectramax M5 Molecular Devices, excitación 530 nm, emisión 590 nm, corte 570 nm) después de 48 horas para determinar el valor de CIM.

60 Los valores de CIM extracelular para sanfetrinem, incluido sanfetrinem cilexetilo, y otros β-lactámicos representativos (meropenem, tebipenem, faropenem y ertapenem) se notifican en la tabla 1 a continuación. Tal como puede observarse, se notifican los datos sin procesar junto con un valor de CIM promedio. Una diferencia de dos veces el valor de CIM se considera dentro del margen de error. Cada valor notificado, separado por una coma, es representativo de una lectura separada de CIM.

Tabla 1

Compuesto	CIM, μM (con clav)	CIM, μM (sin clav)	CIM, μM (promedio con clav)	CIM, μM (promedio sin clav)
Sanfetrinem (sal de sodio)	1,25, 2,5, 5	2,5, 5, 7,5	2,9	5
Sanfetrinem cilexetilo	5, 5, 10, 10, 5, 5, 20	10, 7,5, 10, 10, 7,5, 10, 10, 20	8,6	10,6
Faropenem	10, 5, 5, 5, 7,5, 20, 10	20, 10, 5, 5, 20, 30, 20	8,9	15,7
Meropenem	2,5, 5, 15, 5	15, 40, 40	6,9	31,7
Tebipenem	1,25	7,5	1,25	7,5
Ertapenem	10, 20, 20	80, >80, >80	16,7	>80

ENSAYO DE VIABILIDAD INTRACELULAR

- 5 La actividad antituberculosa de los compuestos contra *Mycobacterium tuberculosis* que crece dentro de monocitos THP-1 humanos se determinó usando *M. tuberculosis* H37Rv que contiene el gen de luciferasa de luciérnaga.
- 10 Se mantuvieron monocitos THP-1 en suspensión con medio RPMI-1640 que contenía el 10 % de FBS, 1 mM de piruvato, 2 mM de L-glutamina, y se incubaron a 37 °C con el 5 % de CO₂.
- 15 Se hicieron crecer los monocitos hasta la subconfluencia (5×10^5 células/ml) y se infectaron durante 4 h en un frasco rotativo de células con una multiplicidad de infección (MOI) de 1 con perlas de vidrio asépticas dispersadas en suspensión bacteriana en RPMI-Tween 80 al 0,05 %. Se eliminaron las bacterias en exceso lavando cinco veces en medio RPMI (1500 rpm, 5 min).
- 20 Se dispensaron las células infectadas en placas blancas de 96 pocillos (50.000 células/pocillo) que contenían diluciones en serie 1:2 de los compuestos. El porcentaje de DMSO debe estar por debajo del 0,5 %.
- 25 Se midió la luminiscencia después de 5 días usando el kit Steady-Glo Promega en un sistema Victor 1420.
- 30 Se procesaron los resultados usando el software Grafit. Se calculan los valores de CIM90 a partir de las curvas de dosis-respuesta mediante análisis de regresión no lineal.
- En la tabla 2 a continuación se notifican valores de CIM50 intracelular para sanfetrinem, incluido sanfetrinem cilexetilo, y otros β -lactámicos representativos (meropenem, faropenem, tebipenem y ertapenem). Los valores de CIM90 intracelular para los mismos compuestos se notifican en la tabla 3. Tal como puede observarse, se notifican los datos sin procesar junto con un valor de CIM50 promedio y un valor de CIM90 promedio. Una diferencia de dos veces el valor de CIM se considera dentro del margen de error. Cada valor notificado, separado por una coma, es representativo de una lectura separada de CIM.

Tabla 2

Compuesto	CIM50, μM (con clav)	CIM50, μM (sin clav)	CIM50, μM (promedio con clav)	CIM50, μM (promedio sin clav)
Sanfetrinem (sal de sodio)	0,7, 2,06, 2,15	1,32, 1,64, 2	1,64	1,65
Sanfetrinem cilexetilo	0,3, 0,9	0,49, 1,2	0,6	0,85
Faropenem	1,0, 1,2	2,2, 1,5	1,1	1,85
Meropenem	2,03, 1,85	8,97, 4,6	1,94	6,78
Tebipenem	-	-	0,49	4,51
Ertapenem	-	-	3,84	29,56

35

Tabla 3

Compuesto	CIM90, μM (con clav)	CIM90, μM (sin clav)	CIM90, μM (promedio con clav)	CIM90, μM (promedio sin clav)
Sanfetrinem (sal de sodio)	6,13, 6,8, 8,82	2,13, 6,9, 7,69	7,25	5,57

Sanfetrinem cilexetilo	4,6, 5,3	3,4, 7	5	5,2
Faropenem	6,8, 4,7	14,7, 10,0	5,75	12,35
Meropenem	5,39, 5,71	19,62, 14,41	5,55	17,01
Tebipenem	-	-	3,61	46,48
Ertapenem	-	-	21,02	>50

EXPERIMENTO *IN VIVO*

5 Para evaluar la actividad antituberculosa *in vivo* de sanfetrinem, se usó un diseño experimental descrito previamente en Antimicrob Agents Chemother. Agosto de 2015; 59 (8): 4997-9. Sin embargo, se usó una cepa antecedente diferente para los ratones deficientes en DHP-1: antecedente 129sv en lugar del antecedente C57Bl/6 descrito en el artículo.

10 En resumen, se adquirieron ratones hembra 129sv DHP-1 KO libres de patógenos específicos de 8-10 semanas de edad y se les permitió aclimatarse durante una semana. Se infectó a los ratones por vía intratraqueal con aproximadamente 10e5 UFC/ratón (*M. tuberculosis* H37Rv). Los compuestos sal de sodio de sanfetrinem (SNF), sanfetrinem cilexetilo (SNFc), meropenem (MRP) y clavulanato (CLV) se administraron dos veces al día desde el día 9 hasta el día 14 después de la infección. MRP y SFN se administraron por vía subcutánea. SFNc y CLV se administraron por vía oral. Se recogieron los pulmones los días 9 o 15. Se extirparon asépticamente todos los lóbulos pulmonares, se homogeneizaron y congelaron. Los homogeneizados se descongelaron y se sembraron en placa en medio OADC-7H11 al 10 % + carbón activado al 0,4 % durante 18 días a 37 °C.

20 El recuento de UFC en pulmón en ratones no tratados fue de 7,4 el día 9 y de 9,0 logUFC el día 15. Las UFC en pulmón para ratones tratados con SFN subcutáneo (sc), SFNc oral (v.o.) y MRP-CLV fueron de 7,3, 7,6 y 7,3 respectivamente (véase la figura 1). En la figura 1, cada punto representa datos de un ratón. Los recuentos medios de UFC en pulmón se muestran sobre los puntos para cada grupo.

25 SFN y SFNc fueron igualmente eficaces frente a MRP-CLV en este ensayo, previniendo los tres el crecimiento bacteriano.

Aunque no se observó ningún efecto de destrucción neto, este experimento proporciona evidencias de que sanfetrinem y sanfetrinem cilexetilo tienen ambos un efecto *in vivo*.

30 Todos los estudios con animales se revisaron éticamente y se llevaron a cabo de acuerdo con la Directiva Europea 2010/63/UE y la política de GSK sobre el cuidado, el bienestar y el tratamiento de los animales.

Conclusión

35 Tal como se evidencia en las tablas 1-3, sanfetrinem presenta actividad antimicobacteriana, particularmente contra *Mycobacterium tuberculosis*, tanto en ensayos intracelulares como extracelulares. Sanfetrinem y sanfetrinem cilexetilo también presentan actividad antituberculosa *in vivo*.

ACTIVIDAD *IN VITRO* DE SANFETRINEM CONTRA AISLADOS CLÍNICOS DE *M. TUBERCULOSIS*

40 Se sometió a prueba sanfetrinem (sal de sodio) contra un panel de cepas de laboratorio y aislados clínicos, incluidas tanto cepas susceptibles como resistentes a fármacos. La tabla 4 a continuación proporciona una descripción detallada de los patrones de resistencia de las cepas usadas.

Tabla 4

45

Nombre	Antecedente	Perfil de resistencia
H37Rv	H37Rv	DS
dH37Rv H526D	H37Rv	RIF
Cepa clínica S531L	Clínica	RIF
2A	Clínica	INH
21	Clínica	INH
70	Clínica	INH
223	Clínica	INH

Nombre	Antecedente	Perfil de resistencia
250	Clínica	INH
276	Clínica	INH
280	Clínica	INH
291	Clínica	INH
389R	Clínica	INH
Beijing 1137	Clínica	DS
525 (car1)	Clínica	DS
215 (car3)	Clínica	DS
275 (car5)	Clínica	DS
2020 S (car6)	Clínica	DS
2166S (car8)	Clínica	DS
Moxi R 488 clínica	Clínica	MOX
Strep R clínica	Clínica	STR
Line R	H37Rv	LZD
CDC 1551	CDC 1551	DS
Erdman	Erdman	DS

DS, susceptible a fármacos; RIF, rifampicina; INH, isoniazida; MOX, moxifloxacin; STR, estreptomycin; LZD, linezolid.

5 Cepas bacterianas, condiciones de crecimiento generales y ensayo de susceptibilidad a MGIT

Las cepas se propagaron a 37 °C en caldo Middlebrook 7H9 (Difco) suplementado con albúmina-dextrosa-catalasa (ADC) de Middlebrook al 10 % (Difco), glicerol al 0,2 % y al 0,05 % (vol/vol). Se realizaron ensayos de susceptibilidad usando un sistema MGIT 960 de Becton Dickinson (BD) Medical Technology usando tubos BD BL MGIT suplementados con BD BL MGIT OADC. Brevemente, a los tubos MGIT de 7 ml se les añadieron 0,8 ml de suplemento OADC, 0,1 ml de solución madre de sanfetrinem DMSO y 0,1 ml de células (el volumen final de los tubos MGIT era de 8 ml) hasta una densidad celular final de 10^5 células por tubo. Este inóculo convencional produjo un tiempo hasta la positividad (TTP) de 4 a 5 días. Se definió TTP como el tiempo necesario para que un cultivo bacteriano alcanzara un índice de crecimiento (GI) de MGIT superior a 75. Se sometió a ensayo sanfetrinem a cuatro concentraciones diferentes, es decir, 0,5, 1,25, 5 y 20 μ M. Para cada aislado, se definió un corte de CIM riguroso como la concentración mínima capaz de inhibir ($GI < 75$) el crecimiento bacteriano durante al menos 7 días. También se usaron rifampicina, isoniazida, moxifloxacin, linezolid y estreptomycin como controles internos de actividad contra aislados clínicos.

Se sometió a prueba la actividad de sanfetrinem contra un panel de veintitrés cepas de *M. tuberculosis*, incluidos aislados clínicos con patrones de susceptibilidad monorresistentes. Se evaluaron cuatro concentraciones diferentes de sanfetrinem (0,5, 1,25, 5 y 20 μ M). El número de cepas que comparten los mismos valores de CIM se muestra en la figura 2. El valor de CIM más común fue 5 μ M (15 de 23). Cuatro cepas mostraron valores de CIM inferiores a 5 μ M, mientras que en el caso de otras cuatro cepas este valor fue superior. Todas las cepas fueron sensibles a sanfetrinem dentro del intervalo de concentración sometido a prueba.

EXPERIMENTOS DE COMBINACIÓN

Se realizaron experimentos adicionales con sanfetrinem (sal de sodio) en combinación con otros agentes, tales como amoxicilina (y ácido clavulánico), rifampicina, etambutol y delamanid.

Materiales y métodos - combinación con amoxicilina y/o clavulanato

Placas de damero

El experimento se realizó en placas de 96 pocillos. Se prepararon placas de damero de sanfetrinem (sal de sodio) con amoxicilina. Se diluyó la amoxicilina a lo largo de las abscisas de la columna 1 a 9 (de 80 μ M a 0,3 μ M) mientras que se diluyó el sanfetrinem a lo largo de las ordenadas de la fila A G (de 5 μ M a 0,08 μ M).

Se usaron diluciones en serie de 1:2 y el damero resultante contenía la combinación de sanfetrinem y amoxicilina con la concentración más alta de amoxicilina en la columna 1 y la concentración más alta de sanfetrinem en la fila A.

Con el fin de confirmar sus CIM individuales, la columna 10 contenía sanfetrinem solo y la fila H contenía amoxicilina sola.

5 El inóculo con DMSO como control de crecimiento positivo se dispensó desde A12 hasta D12, y el inóculo más rifampicina (R3501_Sigma) a 1 µg/ml como control de inhibición se dispensó desde E12 hasta H12. Con estos controles, fue posible establecer los valores de Z' y la señal con respecto al fondo como control de calidad de las placas en el ensayo.

10 En la columna 11, se dispensó moxifloxacin como control del ensayo desde A11 (1 µg/ml) hasta H11 (0,008 µg/ml) para proporcionar una curva de respuesta a la dosis.

Se generaron cuatro placas idénticas, y en dos de estas se añadió clavulanato de potasio (33454-100MG SIGMA) al damero a una concentración de 4 µg/ml. El experimento se llevó a cabo con y sin clavulanato.

15 También se preparó un segundo conjunto de cuatro placas con el mismo diseño pero con menos concentración de amoxicilina (de 5 µM a 0,02 µM en las columnas 1 a 9) para garantizar que se exploraran todas las concentraciones de fármaco relevantes.

Inóculo

20 El medio usado fue 7H9-ADC-Tyloxapol. Se disolvieron 4,7 g de base de caldo Middlebrook 7H9 en 900 ml de agua desionizada. Entonces se añadieron 5 ml de tiloxapol al 10 % p/v y enriquecimiento con albúmina-dextrosa-catalasa (ADC) al 10 % (Becton Dickinson). La cepa usada fue *M. tuberculosis* H37Rv y cuando el cultivo estaba en la fase exponencial del crecimiento, se estandarizó el cultivo a aproximadamente 1×10^7 UFC/ml (DO600=0,125). Entonces, se diluyó el cultivo 1:200 en 7H9-ADC-Tyloxapol y se añadieron 200 µl de este inóculo a cada pocillo a 5×10^4 UFC/ml. Las placas se incubaron a 37 °C durante 6 días.

Lectura

30 Se usó resazurina como lectura. Se disolvió un comprimido de resazurina (ref. R/0040/79_Fisher Scientific) en 30 ml de PBS. Esta disolución se esterilizó por filtración (0,22 µm). Se añadieron 25 µl de la disolución esterilizada a cada pocillo y se incubaron las placas durante 48 horas adicionales a 37 °C. Después de la incubación, se determinó la fluorescencia en SpectraMax M5 (Molecular Devices). Los ajustes fueron: Excitación 530 nm; emisión 590 nm (corte 570 nm).

Análisis de datos

40 Cada placa de ensayo contenía un conjunto de controles negativos con DMSO, que correspondían al 100 % de crecimiento bacteriano, y un conjunto de controles positivos (1 µg/ml de rifampicina) en los que se alcanzaba el 100 % de inhibición del crecimiento bacteriano. Estos controles se usaron para monitorizar la calidad del ensayo a través de la determinación de Z', así como para normalizar los datos (% de crecimiento) por placa.

45 Cada conjunto de mediciones de dosis-respuesta de sanfetrinem (% de crecimiento frente a [sanf]) para los diferentes casos: en monoterapia y en combinación con amoxicilina (a diferentes concentraciones) y/o clavulánico; se ajustó a la siguiente ecuación de tipo Hill con cuatro parámetros (superior, inferior, XC50 y pendiente de Hill):

$$\% \text{ de crecimiento} = \text{Superior} + (\text{Superior} - \text{Inferior}) / (1 + 10^{((\text{LogXC50} - \text{Log}[\text{sanf}]) * \text{pendiente de Hill}))}$$

50 Se usó el método de ajuste de curvas de regresión no lineal disponible en el software GraphPad Prism 6 para calcular los parámetros para cada caso.

55 Obsérvese que, en esta ecuación, XC50 representa la concentración para alcanzar el valor de % de crecimiento a medio camino entre el inferior y superior. El parámetro de interés es la concentración de sanfetrinem para alcanzar un 90 % de inhibición (es decir, un 10 % de crecimiento), indicado en este caso por CI90. Usando la ecuación anterior, este parámetro puede calcularse directamente a partir de los parámetros estimados tal como sigue:

$$\text{CI90} = \text{XC50} * ((10 \% - \text{Inferior}) / (\text{Superior} - 10 \%))^{\frac{1}{\text{pendiente de Hill}}}$$

60 Para la caracterización de la amoxicilina en monoterapia, dado que no alcanza un 90 % de inhibición, se calculó en su lugar la CI80. Este parámetro se calculó de manera análoga a partir de los parámetros estimados que resultan del ajuste no lineal de las correspondientes mediciones de dosis-respuesta: % de crecimiento frente a [amox].

Resultados

Los datos se notifican en la tabla 5 y las figuras 3 y 4.

Compuestos	CI90 (µg/ml)
Sanfetrinem	1,22
Sanfetrinem + Clav	0,55
Sanfetrinem + Amoxicilina (5 µg/ml)	0,91

Tabla 5

5

Sanfetrinem + Amoxicilina (5 µg/ml) + Clav	0,1
Sanfetrinem + Amoxicilina (10 µg/ml)	0,33
Sanfetrinem + Amoxicilina (10 µg/ml) + Clav	0,1

Debe observarse que la amoxicilina se sometió a prueba sola y se observó un valor de CI80 (en µg/ml) de 42. También se sometieron a prueba amoxicilina y clavulanato de potasio en combinación y se observó un valor de CI80 (en µg/ml) de 3,9.

10

El índice de concentración inhibitoria fraccional (ICIF) (Synergy, antagonism, and what the checkerboard puts between them. Odds, F.C. 1, s.l., Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2003, vol. 52), que se basa en el modelo de aditividad de Loewe (What is synergy? The Saariselkä agreement revisited. Tang J., Wennerberg K. y Aittokallio T. 181, s.l., Frontiers in Pharmacology, 2015, vol. 6), para el 90 % de inhibición del crecimiento (indicado por ICIF₉₀) se considera en el presente documento para la evaluación de la sinergia de combinaciones en este ensayo *in vitro* de actividad extracelular. Se considera que un ICIF de ≤ 0,5 representa sinergia. Esta caracterización/cuantificación de la sinergia es exploratoria y no explica el mecanismo real de sinergia o antagonismo (tal como indicaron Tang J., Wennerberg K. y Aittokallio T.).

15

El cálculo de ICIF₉₀ implica las CI90 de sanfetrinem solo, 1,22 µg/ml; en combinación con clavulanato, 0,55 µg/ml; en combinación con amoxicilina (a 10 µg/ml), 0,33 µg/ml; y en combinación con amoxicilina (a 5 µg/ml) + clavulanato, 0,1 µg/ml. Dado que el clavulanato solo no es activo y ni la amoxicilina sola ni en combinación con clavulanato alcanzan el 90 % de inhibición del crecimiento (figura 7: dosis-respuesta de amoxicilina), los términos fraccionales correspondientes en el cálculo de la ICIF₉₀ son cero:

25

- Sanfetrinem + Clavulanato:

$$ICIF_{90} = 0,55 / 1,22 = 0,45$$

30

Esto es casi una dilución, de modo que no se considera que represente una sinergia significativa.

- Sanfetrinem + Amoxicilina (10 µg/ml):

$$ICIF_{90} = 0,33 / 1,22 = 0,27$$

35

Se considera que esta combinación representa sinergia.

- Sanfetrinem + Amoxicilina (5 µg/ml) + Clavulanato:

40

$$ICIF_{90} = 0,1 / 1,22 = 0,1$$

Se considera que esta combinación representa sinergia.

Materiales y métodos - combinaciones de sanfetrinem (sal de sodio) con rifampicina (RIF), etambutol (EMB), delamanid (DLD) y amoxicilina (AMX)

45

Cepa bacteriana y condiciones de crecimiento generales

La cepa *Mtb* H37Rv se propagó de manera rutinaria a 37 °C en caldo Middlebrook 7H9 (Difco) suplementado con albúmina-dextrosa-catalasa (ADC) de Middlebrook al 10 % (Difco), glicerol al 0,2 % y al 0,05 % (vol/vol).

50

Ensayo de susceptibilidad a fármacos

Las disoluciones madre de compuestos usados en este estudio se prepararon siempre recientes el mismo día de la

inoculación de la placa. Para su uso en un formato de placa de 384 pocillos, los compuestos se disolvieron en DMSO y se dispensaron usando un dispensador digital HP D3000 y casetes de cabeza dispensadora HP T8 (n.º de ref. CV081A) en diluciones de dos veces.

5 Se determinaron las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) en medio de caldo basado en 7H9. Esto se suplementó con glicerol al 0,2 % y ADC al 10 % sin tiloxapol. Se hicieron crecer células micobacterianas hasta una $DO_{600} = 0,5-0,8$ y se congelaron las disoluciones madre a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Tras descongelar, se diluyeron las células en medio de ensayo hasta una concentración final de 10^5 células/ml y se dispensaron en las placas 50 ul/pocillo. Se usaron MTT [bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio] (disolución madre de 5 mg/ml, ref. de Acros Organics 15224654) y el sistema de ensayo de luciferasa Bactiter-Glo (Promega, Madison, WI) como indicadores de crecimiento celular para la cepa *Mtb* H37Rv. Se midió la luminiscencia en un lector de placas Envision Multilabel (PerkinElmer) usando un modo de luminiscencia ultrasensible placas de 384 opacas blancas (781075_Greiner), con un tiempo de medición de 50 ms por pocillo para el sistema Bactiter-Glo y se midió una DO de 580 nm en un lector Spectramax M5 (Molecular Devices) usando la placa microtransparente negra de 384 (781091_Greiner) para la lectura de MTT.

15 Se incubaron las placas durante 7 días antes de la medición de la producción de ATP (según las indicaciones del fabricante) o la conversión de MTT en formazán (25 ul/pocillo de la disolución madre el día 6 y 25 ul/pocillo de SDS al 10 % el día 7), respectivamente. Se usó la concentración más baja de fármaco que inhibía el 90 % de la conversión de MTT o la producción de ATP en comparación con los pocillos de control interno sin fármaco añadido (control de DMSO) para definir los valores de CIM (C_{I90}).

Ensayo de damero

25 La actividad del fármaco se determinó en formato de placa de 384 pocillos usando el ensayo de MTT o ATP, tal como se describió anteriormente. La concentración inhibitoria fraccional (CIF) para cada compuesto se calculó tal como sigue: $CIF_A = (CIM \text{ del compuesto A en presencia del compuesto B}) / (CIM \text{ del compuesto A solo})$. De manera similar, se calculó la CIF para el compuesto B. El índice de CIF (ICIF) se calculó como: $ICIF = [CIF_A + CIF_B]$. Se considera que un ICIF de $\leq 0,5$ representa sinergia. Se prepararon placas de damero de sanfetrinem (sal de sodio) con rifampicina. Se diluyó la rifampicina a lo largo de las abscisas desde la columna 12 hasta la 3 (desde $0,08\text{ }\mu\text{M}$ hasta $0,00015625\text{ }\mu\text{M}$) mientras que se diluyó el sanfetrinem a lo largo de las ordenadas desde la fila A hasta la G (desde $12,8\text{ }\mu\text{M}$ hasta $0,4\text{ }\mu\text{M}$). La columna 2 y la fila H se usaron para calcular las CIM individuales (sanfetrinem y rifampicina, respectivamente). Se usaron posiciones equivalentes en los cuadrantes 2, 3 y 4 para etambutol y delamanid y amoxicilina.

35 Se diluyó el delamanid desde 40 nM hasta $0,078\text{ nM}$ y se diluyó el etambutol desde $32\text{ }\mu\text{M}$ hasta $0,06\text{ }\mu\text{M}$. Se diluyó la amoxicilina desde $128\text{ }\mu\text{M}$ hasta $0,25\text{ }\mu\text{M}$. Cada uno de ellos se dispensó en posiciones equivalentes en el cuadrante 2 y 3, respectivamente.

Resultados

40 Los datos se notifican en la tabla 6 y las figuras 5 a 8. Todos los valores de CIM de la tabla 6 se notifican en μM .

Tabla 6

Comp. A	Comp. B	CIM de A	CIM de B	CIMsin_A	CIMsin_B	Veces_A	Veces_B	CIF_A	CIF_B	ICIF
SFT	RIF	3,2	0,04	0,4	0,005	8	8	0,125	0,125	0,25
SFT	EMB	1,6	8	0,4	2	4	4	0,25	0,25	0,5
SFT	DLD	1,6	0,01	0,4	0,0025	4	4	0,25	0,25	0,5
SFT	AMX	4	128	0,5	8	8	16	0,125	0,0625	0,1875

45 En la tabla 6 se ha usado la siguiente terminología.

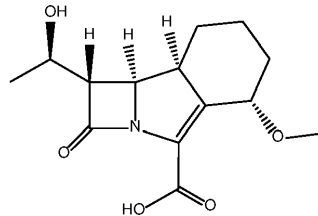
Comp.	Compuesto
50 CIM	Concentración inhibitoria mínima en μM
CIMsin	CIM sinérgica del compuesto sometido a prueba (o bien A o bien B) en presencia del otro compuesto (o bien B o bien A, respectivamente)
55 Veces	CIM/CIMsin

ES 2 925 215 T3

CIF	Concentración inhibitoria fraccional. CIM de A o B en presencia de B o A, respectivamente / CIM A o B solo
5 ICIF	Índice de concentración inhibitoria fraccional. $CIF_A + CIF_B$. Se cree que un valor de $\leq 0,5$ es indicativo de una interacción sinérgica

REIVINDICACIONES

1. Compuesto



5

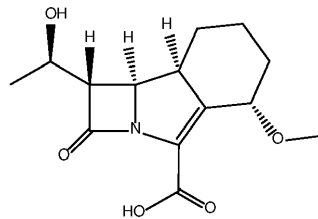
o profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el profármaco se forma sobre el resto ácido carboxílico libre, para su uso en el tratamiento de una enfermedad que resulta de una infección por micobacterias.

10

2. Compuesto o profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso según la reivindicación 1, en el que la enfermedad es tuberculosis.

3. Compuesto

15



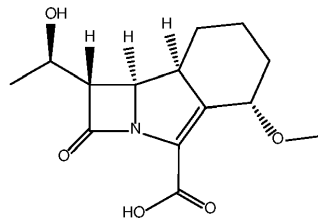
o profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el profármaco se forma sobre el resto ácido carboxílico libre, para su uso en el tratamiento de una infección por micobacterias.

20

4. Compuesto o profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso según la reivindicación 3, en el que la infección por micobacterias es una infección por *Mycobacterium tuberculosis*.

5. Compuesto

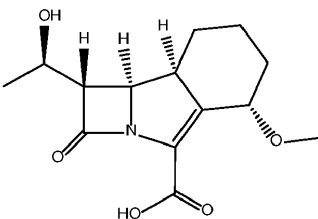
25



o profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el profármaco se forma sobre el resto ácido carboxílico libre, para su uso en el tratamiento de tuberculosis.

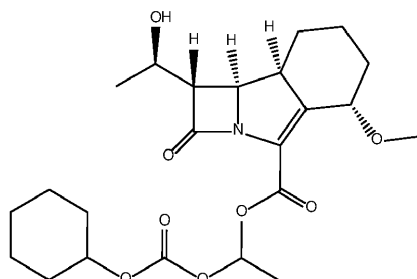
30

6. Compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el compuesto es un profármaco de éster de

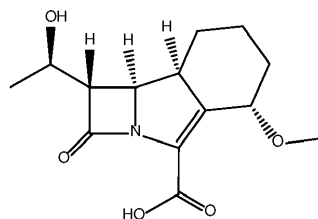


35

7. Compuesto para su uso según la reivindicación 6, en el que el profármaco de éster es:

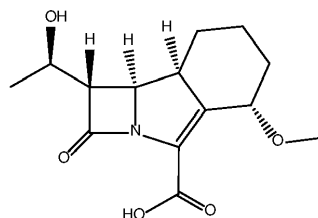


- 5 8. Compuesto para su uso según la reivindicación 6 o 7, en el que el profármaco se administra por vía oral.
9. Compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que



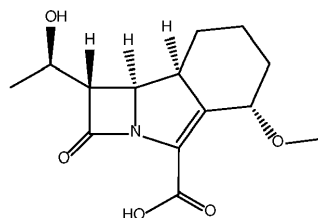
- 10 está en forma de una sal de sodio del mismo.

10. Composición farmacéutica que comprende (a)



- 15 o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el profármaco se forma sobre el resto ácido carboxílico libre; y (b) un excipiente farmacéuticamente aceptable, para su uso en el tratamiento de tuberculosis, una infección por micobacterias o una enfermedad que resulta de una infección por micobacterias.
20

11. Combinación de (a)



- 25 o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que el profármaco se forma sobre el resto ácido carboxílico libre; y (b) un agente antituberculoso adicional, para su uso en el tratamiento de una infección por micobacterias, una enfermedad que resulta de una infección por micobacterias o tuberculosis.
30

12. Combinación para su uso según la reivindicación 11, en el que el agente antituberculoso adicional (b) se selecciona de isoniazida, rifampicina, pirazinamida, etambutol, moxifloxacino, rifapentina, clofazimina, etionamida, protionamida, isoxilo, tiacetazona, rifabutina, una diarilquinolina tal como bedaquilina (TMC207)

- 5 o TBAJ-587, nitroimidazo-oxazina PA-824 (pretomanid), delamanid (OPC-67683), una oxazolidinona tal como linezolid, tedizolid, radezolid, sutezolid (PNU-100480), posizolid (AZD-5847) o TBI-223, análogo de EMB SQ109, OPC-167832, GSK3036656A (también conocido como GSK070), GSK2556286, GSK3211830, una benzotiazinona tal como BTZ043 o PBTZ169, un azaindol tal como TBA-7371, una dinitrobenzamida o un betalactámico tal como meropenem, faropenem, ertapenem, tebipenem o combinaciones de betalactámicos tales como AUGMENTIN (amoxicilina-clavulanato).
13. Combinación para su uso según la reivindicación 11 o la reivindicación 12, en la que el agente antituberculoso adicional (b) es AUGMENTIN (amoxicilina-clavulanato).
- 10 14. Combinación para su uso según la reivindicación 11 o la reivindicación 12, que comprende además un agente antiviral, incluido un agente antirretroviral.
- 15 15. Combinación para su uso según la reivindicación 14, en el que el agente antirretroviral se selecciona de zidovudina, didanosina, lamivudina, zalcitabina, abacavir, estavudina, adefovir, adefovir dipivoxil, fozivudina, todoxil, emtricitabina, alovudina, amdoxovir, elvucitabina, nevirapina, delavirdina, efavirenz, lovirida, inmunocal, oltipraz, capravirina, lersivirina, GSK2248761, TMC-278, TMC-125, etravirina, saquinavir, ritonavir, indinavir, nelfinavir, amprenavir, fosamprenavir, brecanavir, darunavir, atazanavir, tipranavir, palinavir, lasinavir, enfuvirtida, T-20, T-1249, PRO-542, PRO-140, TNX-355, BMS-806, BMS-663068 y BMS-626529, 5-Helix, raltegravir, elvitegravir, GSK1349572, GSK1265744, vicriviroc (Sch-C), Sch-D, TAK779, maraviroc, TAK449, didanosina, tenofovir, lopinavir o darunavir.
- 20 16. Combinación de (a) un compuesto o un profármaco de éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9; y (b) un inhibidor de β -lactamasa, para su uso en el tratamiento de una infección por micobacterias, una enfermedad que resulta de una infección por micobacterias o tuberculosis.
- 25 17. Combinación según la reivindicación 16, en la que el inhibidor de β -lactamasa es clavulanato o ácido clavulánico, para su uso en el tratamiento de una infección por micobacterias, una enfermedad que resulta de una infección por micobacterias o tuberculosis.
- 30 18. Combinación para su uso según la reivindicación 11 o la reivindicación 12, en la que el agente antituberculoso adicional (b) es rifampina.

35

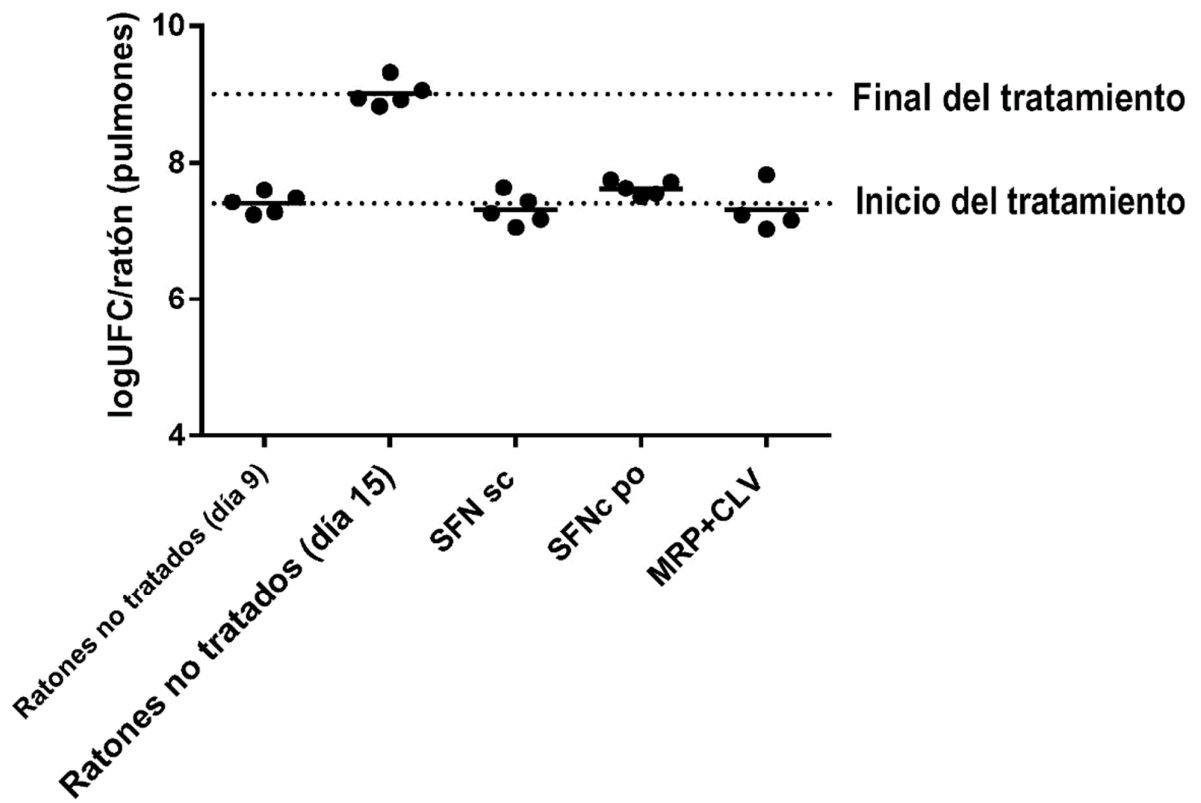


Figura 1

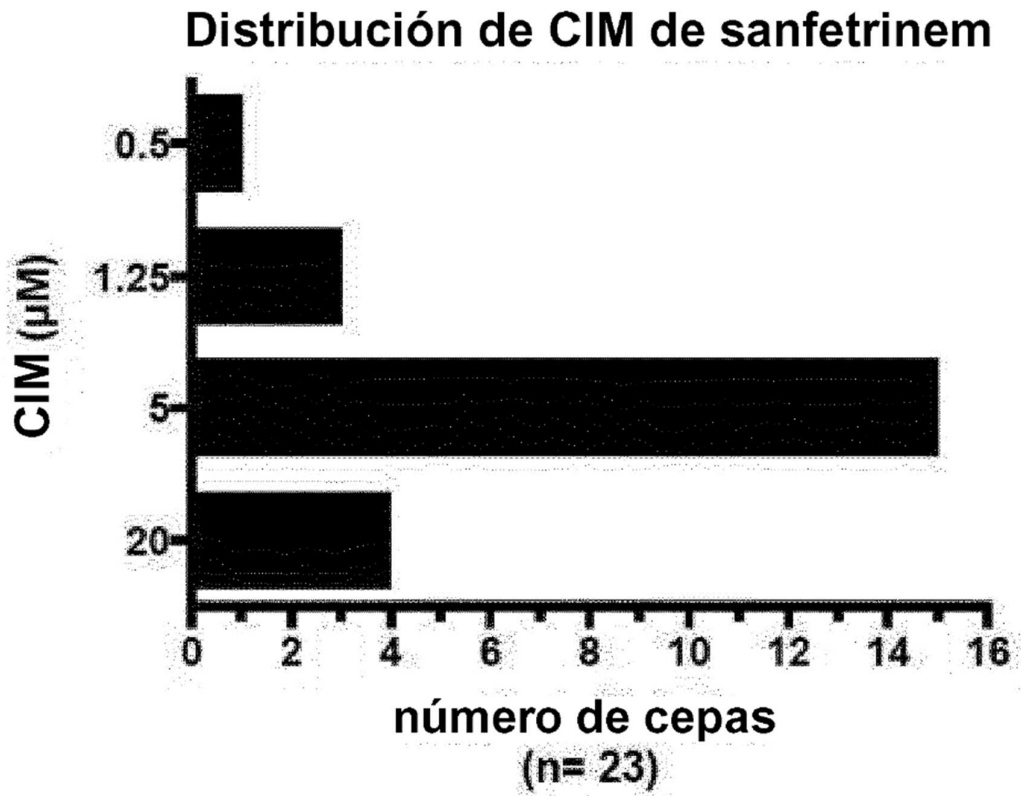


Figura 2

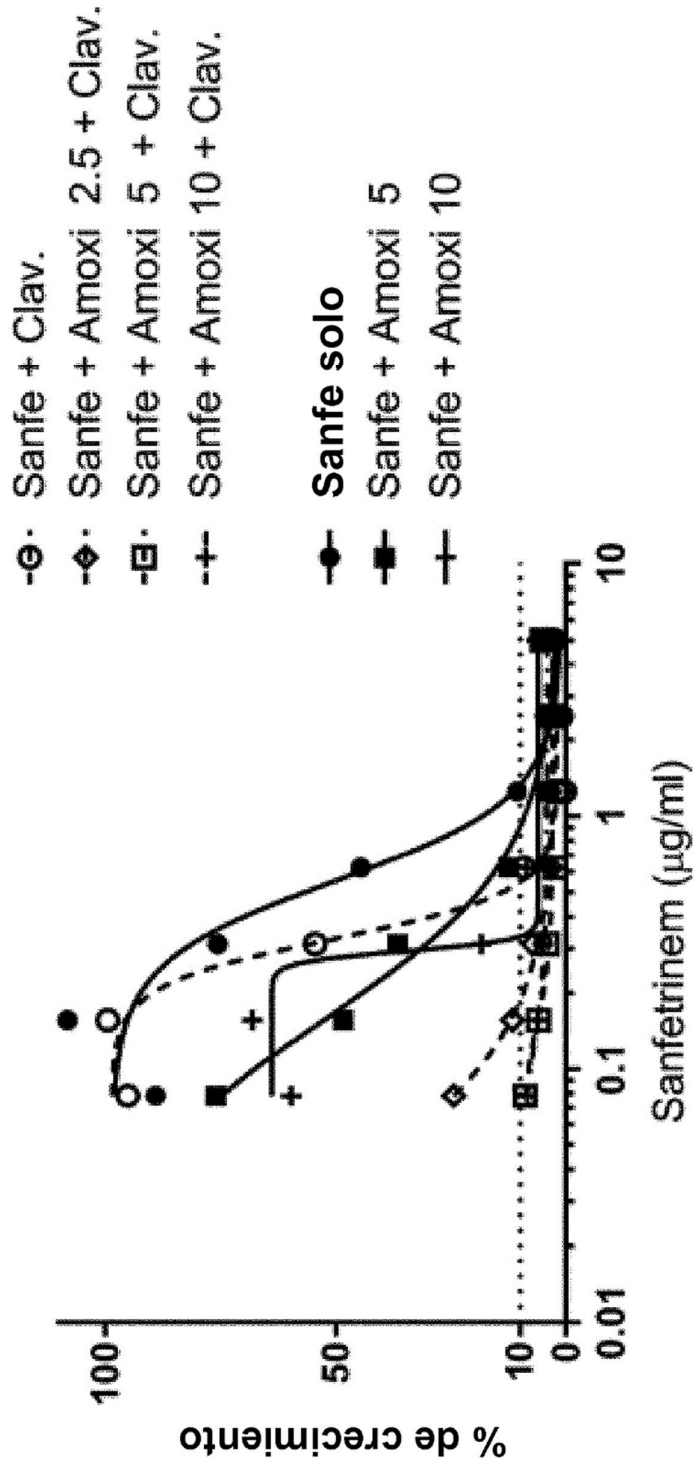


Figura 3

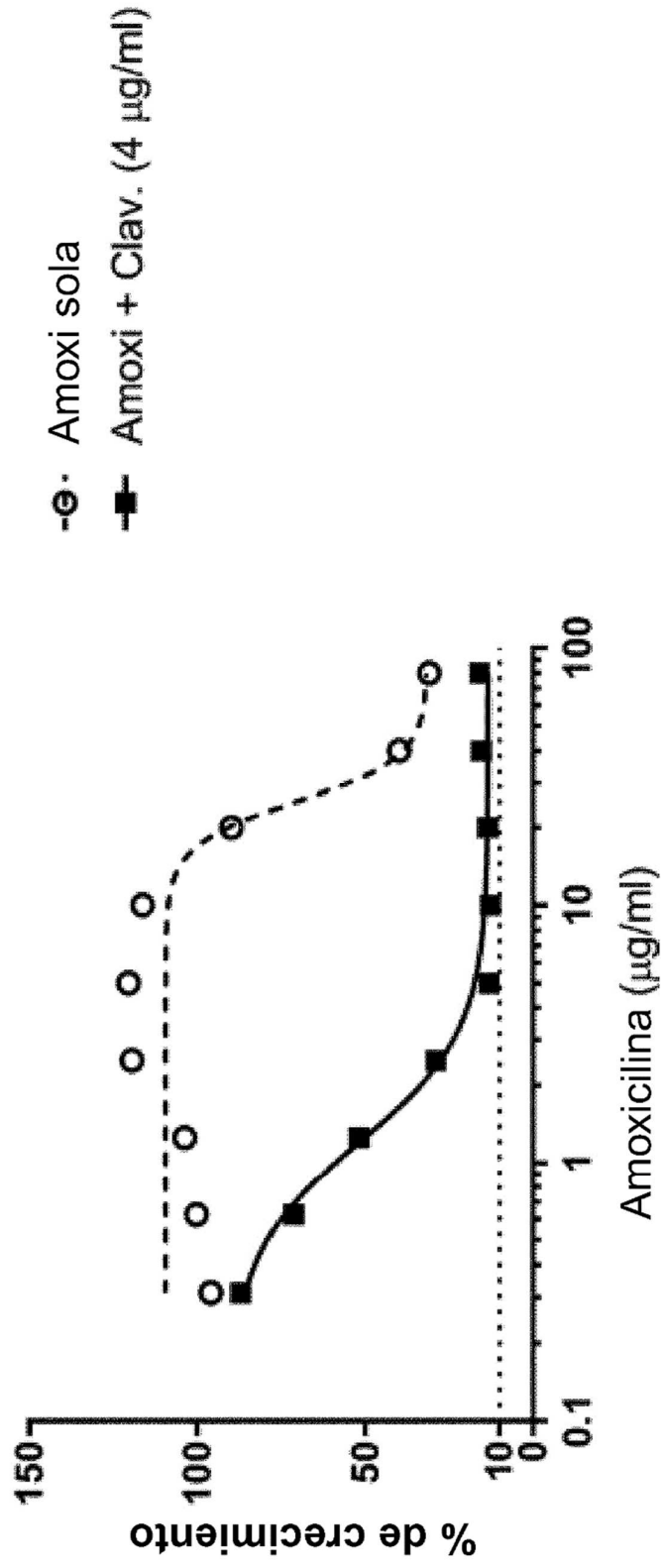


Figura 4

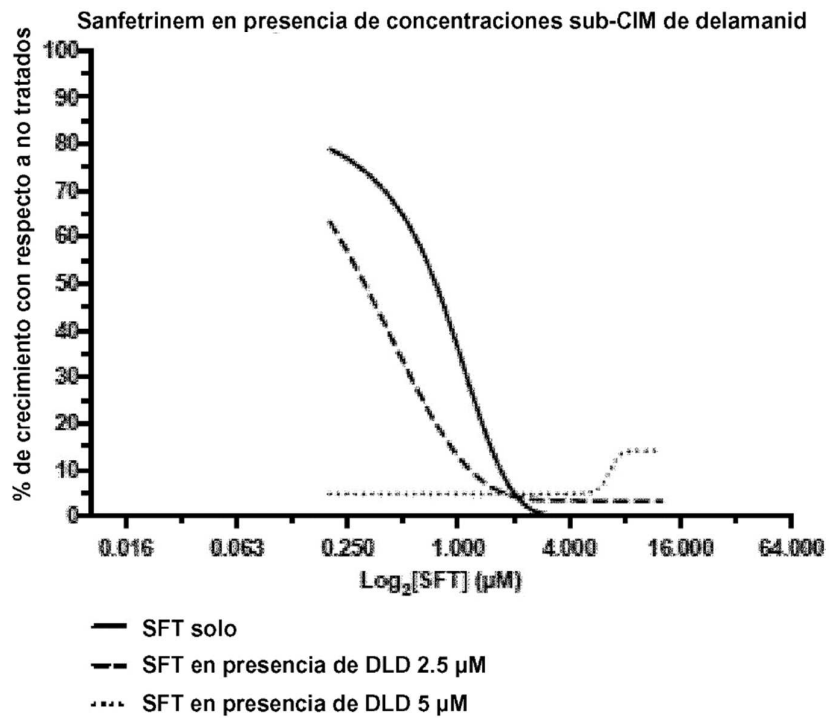
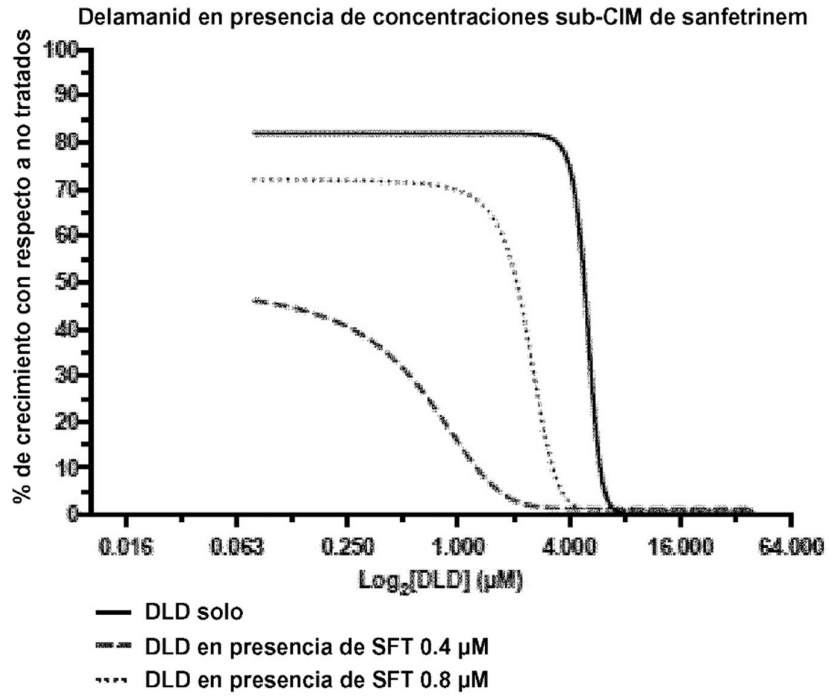


Figura 5

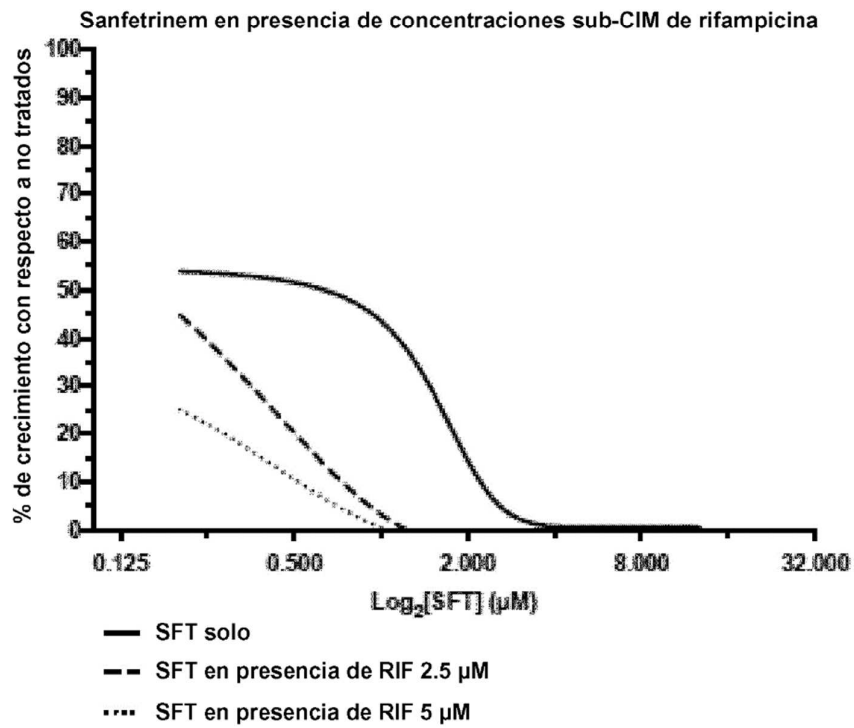
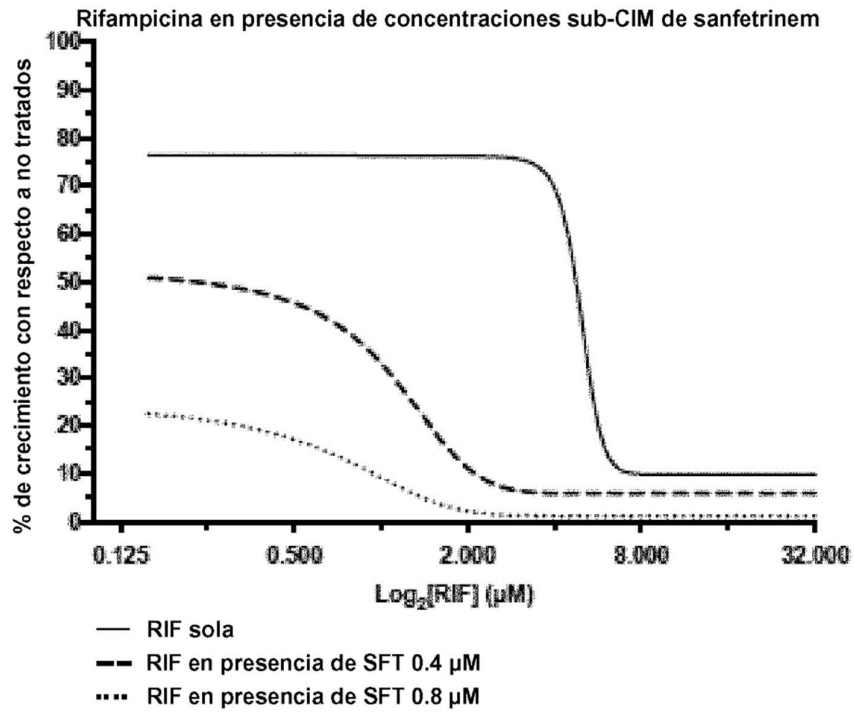


Figura 6

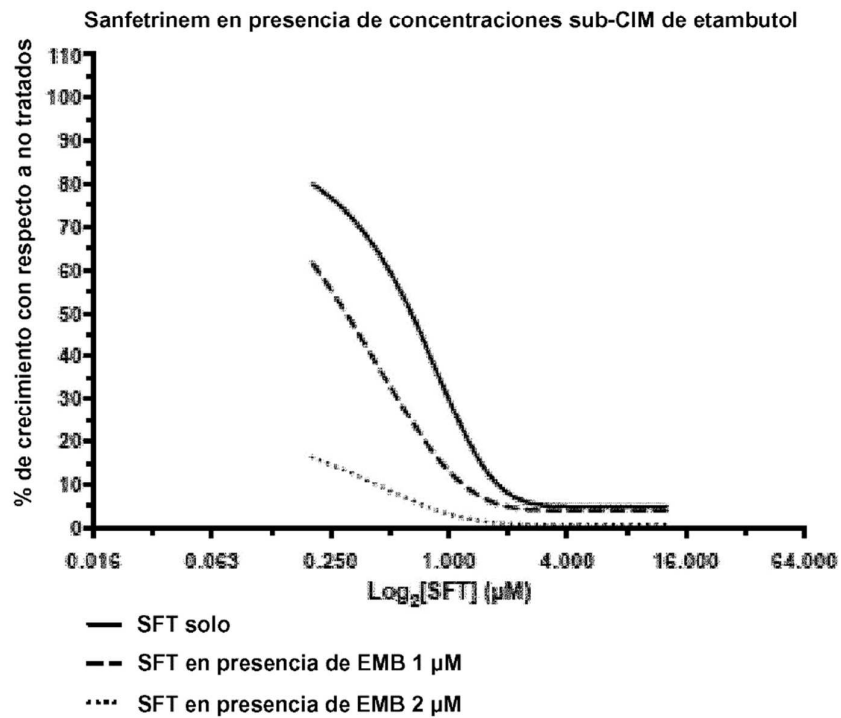
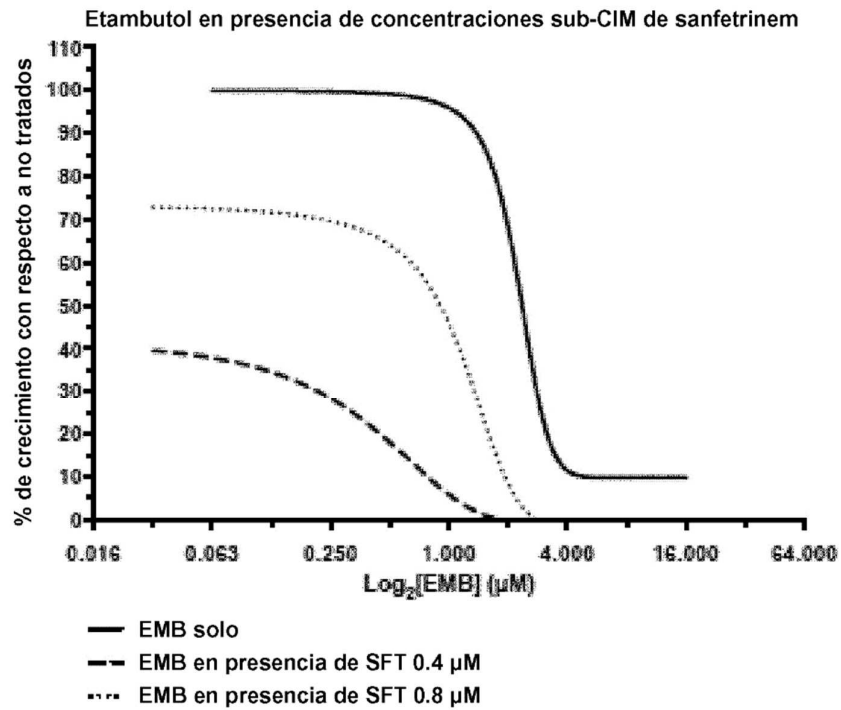


Figura 7

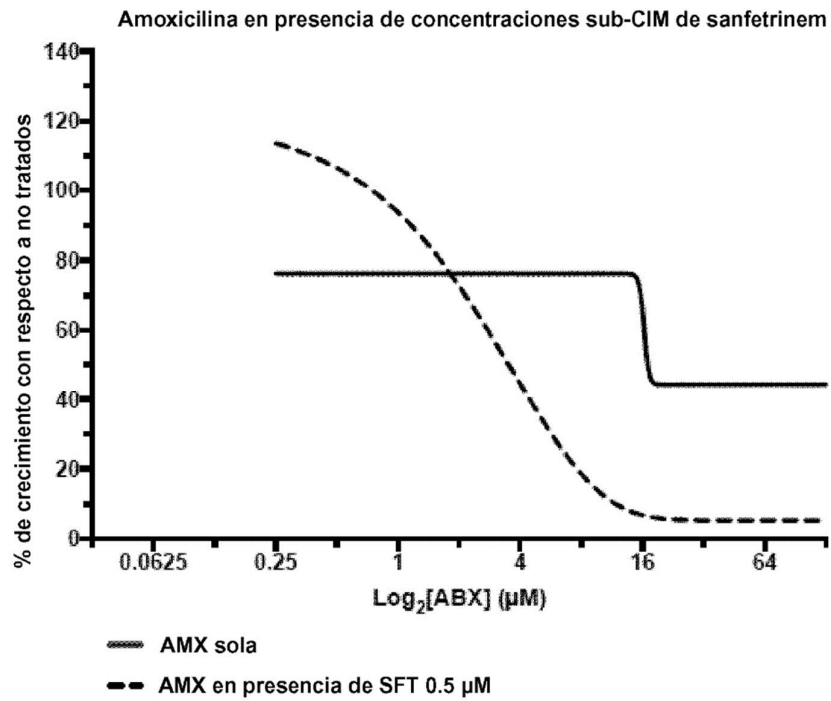
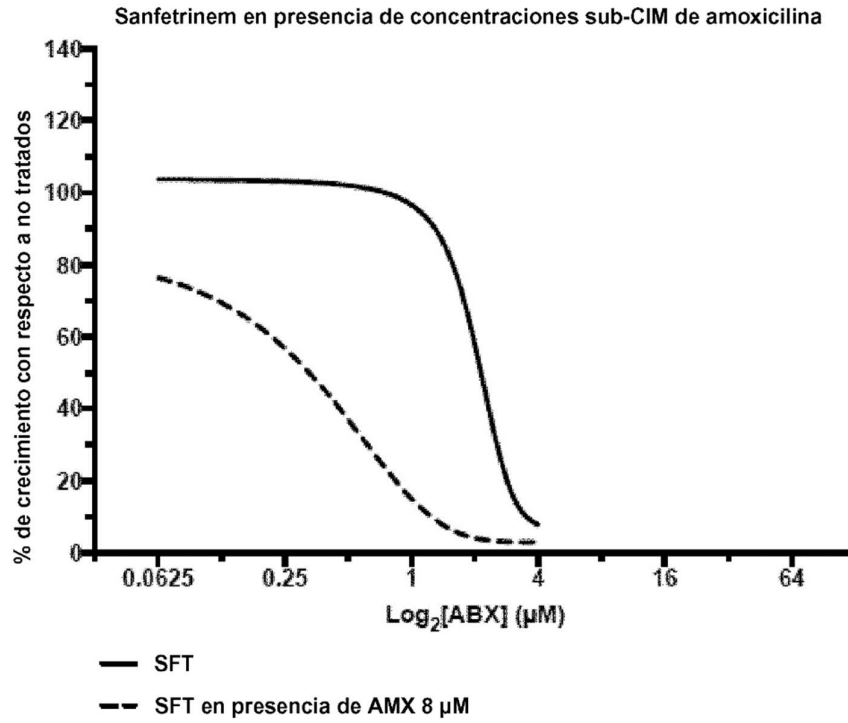


Figura 8