發明專利說明書

200417543

（本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫）

※ 申請案號：92123156

※ 申請日期：92-08-22　　※IPC 分類：C07D 499/00，A61K 31/43，A61P 31/04

壹、發明名稱：（中文/英文）

貝他-內醯胺酶抑制劑前藥

BETA-LACTAMASE INHIBITOR PRODRUG

貳、申 請 人：（共 1 人）

姓名或名稱：（中文/英文）

美商輝瑞產品公司

PFIZER PRODUCTS INC.

代表人：（中文/英文）

J. 崔佛 盧

J. TREVOR LUMB

住居所或營業所地址：（中文/英文）

美國康乃狄克州葛羅頓市東點路

EASTERN POINT ROAD GROTON, CONNECTICUT 06340 U.S.A.

國　籍：（中文/英文）

美國　　U.S.A.

參、發明人：（共 2 人）

姓　名：（中文/英文）

1.安東尼 馬費特

ANTHONY MARFAT

2.戴爾 高登 麥克羅

DALE GORDON MCLEOD

住居所地址：（中文/英文）

1.美國康乃狄克州葛羅頓市東點路

EASTERN POINT ROAD GROTON, CONNECTICUT 06340 U.S.A.

2.美國康乃狄克州葛羅頓市東點路

EASTERN POINT ROAD GROTON, CONNECTICUT 06340 U.S.A.

國　籍：（中文/英文）

1.美國　　U.S.A.

2.加拿大　CANDA

肆、聲明事項：

☐ 本案係符合專利法第二十條第一項☐第一款但書或☐第二款但書規定之期間，其日期為： 年 月 日。

☑ **本案申請前已向下列國家（地區）申請專利：**

1.美國；2002 年 08 月 23 日；60/405,640

2.

3.

4.

5.

☑ **主張國際優先權(專利法第二十四條)：**

【格式請依：受理國家（地區）；申請日；申請案號數 順序註記】

1.美國；2002 年 08 月 23 日；60/405,640

2.

3.

4.

5.

☐ **主張國內優先權(專利法第二十五條之一)：**

【格式請依：申請日；申請案號數 順序註記】

1.

2.

☐ **主張專利法第二十六條微生物：**

☐ 國內微生物 【格式請依：寄存機構；日期；號碼 順序註記】

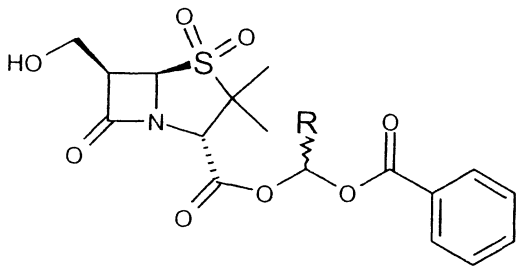
☐ 國外微生物 【格式請依：寄存國名；機構；日期；號碼 順序註記】

☐ 熟習該項技術者易於獲得，不須寄存。

玖、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係揭示一種如下結構式之6-β-羥甲基青黴烷酸碸之前藥



其中R為H或甲基，及其溶合物。亦揭示包含本發明前藥、或其溶合物、可視需要選用之β-內醯胺抗生素及至少一種醫藥上可接受之載劑之醫藥組合物。

並揭示一種提高β-內醯胺抗生素於哺乳動物體內醫療有效性之方法，其係投予有效量之β-內醯胺抗生素與提高其有效性之用量之本發明前藥，或其溶合物。

此外，並揭示一種治療哺乳動物之細菌感染之方法，其係對有此需要之哺乳動物投予醫療有效量之本發明醫藥組合物。

【先前技術】

β-內醯胺抗生素(通常指青黴素與頭孢素)已廣泛用於治療哺乳動物(如：人類)之感染，主要指細菌感染。咸信某些微生物對此等抗生素具有抗性，因為其產生之多種β-內醯胺酶酵素會侵入抗生素之β-內醯胺環，導致藥物失效。

Kellogg之美國專利案No.4,287,181揭示多種6-β-羥烷基青黴烷酸，包括6-β-羥甲基青黴烷酸碸，其係本發明所使

用之β-內醯胺酶抑制劑，為強效之β-內醯胺酶抑制劑。Metzger等人之英國專利申請案GB2053220A及Schneider等人之英國專利申請案GB2076812同樣揭示6-β-羥甲基-青黴烷酸碸為β-內醯胺酶抑制劑。然而，β-內醯胺酶抑制劑6-β-羥甲基-青黴烷酸碸於預備臨床試驗中，當經口投藥時，於嚙齒類活體內之吸收性極差。

Kellogg、Metzger等人與Schneider等人亦揭示6-β-羥甲基青黴烷酸碸之酯前藥，其在預備臨床試驗中很容易於活體內水解，且已於嚙齒類動物身上證實其吸收性優於游離酸。

然而，許多此等酯前藥僅可合成低熔點之油或固體，以致其於醫藥調配物中之用途比具有適合壓錠、碾磨或純化之熔點之固體前藥更受限制。

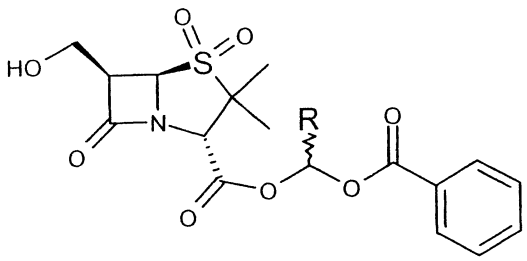
此外，此等酯前藥經口投藥時，典型地不會被高度吸收。因此可能需要比吸收性較高之前藥更高之口服藥物劑量，方能得到β-內醯胺酶抑制劑6-β-羥甲基青黴烷酸碸之醫療上有效之血漿濃度。此外，吸收性較差之前藥經口投藥時可能造成接受者發生下痢之機會增加且嚴重性提高，因為未被吸收之前藥會在胃腸道中水解，形成活性藥物，且殘留之任何羥胺苄青黴素會選擇性殺死正常微生物菌落族群之必要成分。此外，製造所需前藥之過程之成本相當低。

因此，需要一種口服生體利用率高之β-內醯胺酶抑制劑6-β-羥甲基青黴烷酸碸之結晶前藥，以具有適當熔點之結

晶更佳。

【發明內容】

本發明係有關6-β-羥甲基青黴烷酸碸之前藥(亦稱為4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸，6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,4,4-二氧化物(2S,5R,6R))及其溶合物，其結構式如下：



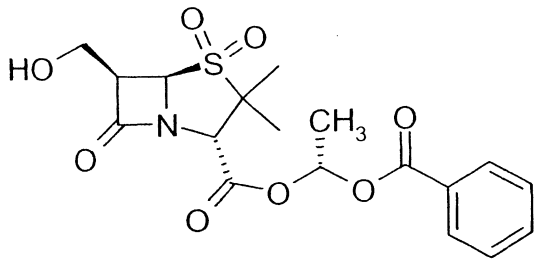
其中R為H或甲基。本發明之前藥包括4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸,6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,-1-(苯甲醯氧基)-甲酯,4,4-二氧化物(2S,5R,6R);

4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸,6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-，-1-(苯甲醯氧基)-乙酯,4,4-二氧化物(2S,5R,6R);

4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸，6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,(1R)-1-(苯甲醯氧基)乙酯,4,4-二氧化物(2S,5R,6R);與

4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸,6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,(1S)-1-(苯甲醯氧基)乙酯，4,4-二氧化物(2S,5R,6R)。本發明較佳前藥為4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸，6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,(1R)-1-(苯甲醯氧基)乙酯,4,4-二氧化物(2S,5R,6R)或其溶合物，其結構

式如下：



本發明亦有關一種醫藥組合物，其包含本發明前藥或其溶合物、可視需要選用之β-內醯胺抗生素與至少一種醫藥上可接受之載劑、賦形劑或稀釋劑。較佳者，該β-內醯胺抗生素為羥胺苄青黴素。亦較佳為該醫藥組合物中所使用之前藥為4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸,6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-, (1R)-1-(苯甲醯氧基)乙酯, 4,4-二氧化物(2S,5R,6R)或其溶合物。更佳為醫藥組合物中包含4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸, 6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,(1R)-1-(苯甲醯氧基)乙酯, 4,4-二氧化物(2S,5R,6R)或其溶合物、羥胺苄青黴素與醫藥上可接受之載劑、賦形劑或稀釋劑。

本發明並有關一種提高β-內醯胺抗生素於哺乳動物體內之醫療有效性之方法，其係對該哺乳動物投予有效量之β-內醯胺抗生素與提高其有效性之用量之本發明前藥，或其溶合物。較佳者，該β-內醯胺抗生素為羥胺苄青黴素。亦較佳為所使用之前藥為4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸, 6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-, (1R)-1-(苯甲醯氧基)乙酯,4,4-二氧化物(2S,5R,6R)或其溶合物。更佳為該前藥為4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸,6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-, (1R)-1-(苯甲醯氧基)乙酯,4,4-二氧化物

(2S,5R,6R)，或其溶合物，且該β-內醯胺抗生素為羥胺苄青黴素。亦較佳為該哺乳動物為人類。

本發明並有關一種治療哺乳動物細菌感染之方法，其係對有此需要之哺乳動物投予醫療有效量之本發明醫藥組合物。較佳者，此醫藥組合物尚包含β-內醯胺抗生素。較佳者，該β-內醯胺抗生素為羥胺苄青黴素。亦較佳者，所使用之前藥為4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸，6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,(1R)-1-(苯甲醯氧基)乙酯，4,4-二氧化物(2S,5R,6R)或其溶合。更佳為該前藥為4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸,6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,(1R)-1-(苯甲醯氧基)乙酯,4,4-二氧化物(2S,5R,6R)或其溶合物，且該β-內醯胺抗生素為羥胺苄青黴素。亦較佳為該哺乳動物為人類。

【實施方式】

用於說明本發明之術語於本文中之定義如下。

"有效量"一詞係指β-內醯胺抗生素單獨投藥或與本發明前藥組合投藥時，可在哺乳動物體內預防細菌感染發生，或減輕其症狀、阻止其發展、或消除其感染時之用量。。

"提高其有效性時之用量"指當該前藥投予哺乳動物後於活體內水解成本發明之β-內醯胺酶抑制劑 時，可提高共同投予之β-內醯胺抗生素醫療有效性時之用量。

"哺乳動物"一詞指屬於哺乳動物綱之動物。哺乳動物包括例如：人類、猴子、黑猩猩、大猩猩、牛、豬、馬、綿羊、狗、貓、小白鼠與大老鼠。

本發明中，較佳哺乳動物為人類。

"醫藥上可接受"一詞意指該載劑、稀釋劑與賦形劑必須可與組合物中其他成分相容，且不危害其接受者。本發明之醫藥組合物可依相關技藝已知之方式，採用習知且容易取得之成分製備。

本發明之前藥包括4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸,6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,-1-(苯甲醯氧基)甲酯，4,4-二氧化物(2S,5R,6R)(其說明於實例3)及4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸，6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-，-1-(苯甲醯氧基)乙酯,4,4-二氧化物(2S,5R,6R)(其說明於實例4)。

說明於實例7之本發明前藥於上胃腸道中安定，但吸收後很容易於活體內水解形成6-β-羥甲基青黴烷酸砜(下文中稱為"6-β-HMPAS")，其係一種β-內醯胺酶抑制劑，可提高β-內醯胺抗生素對抗會產生β-內醯胺酶之細菌之有效性。此β-內醯胺酶抑制作用保留了共同投藥之β-內醯胺抗生素對抗β-內醯胺酶(+)菌種之抗細菌藥效。

由於本發明前藥可於活體內水解形成游離酸β-內醯胺酶抑制劑6-β-HMPAS，因此此等前藥當投予哺乳動物時，適用於加強共同投藥之β-內醯胺抗生素對抗會產生β-內醯胺酶之細菌之有效性。

本發明前藥可用於併用β-內醯胺抗生素之組合療法，供治療例如：人類之呼吸道、尿道與軟組織之感染。本發明組合物亦可用於治療其他哺乳動物之感染，如：貓之乳腺

炎。

可採用本發明前藥、醫藥組合物及方法治療之細菌感染上呼吸道疾病，包括集體感染型肺炎(CAP)、慢性支氣管炎之急性惡化(AECB)與急性細菌性鼻竇炎(ABS)、由呼吸病原菌引起者如：流感嗜血菌(Haemophilus influenzae)與卡塔莫拉氏菌(Moraxella catarrhalis)，包括其抗生素抗性單離株。

此外，可採用本發明包含抗生素之醫藥組合物治療之細菌感染特定言之包括因流感嗜血菌或肺炎鏈球菌(Streptococcus pneumoniae)，包括藥物抗性肺炎鏈球菌(DRSP)如：青黴素抗性肺炎鏈球菌所引起之小兒中耳炎、鼻竇炎、肺炎與成人支氣管炎急性惡化。

其他可採用本發明包含抗生素之醫藥組合物治療之細菌感染包括因大腸桿菌(E. Coli)、肺炎克雷伯氏菌(Klebsiella pneumoniae)、腸桿菌屬(Enterobacter spp)，及腸桿菌科所有其他成員引起之軟組織感染。

其他可採用本發明包含抗生素之醫藥組合物治療之細菌感染包括彼等因會產生β-內醯胺酶之二甲氧基苯青黴素易感性葡萄球菌及會產生β-內醯胺酶之厭氧菌所引起之感染。

由於本發明之前藥包含一個以上對掌性中心，因此會出現不同之光學活性非對映異構型。更明確言之，本發明較佳前藥於1-乙基位置包含一個對掌性中心。本發明包括4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸，6-(羥甲基)-3,3-二甲

基-7-氧代-，-1-(苯甲醯氧基)乙酯，4,4-二氧化物(2S,5R,6R)之1R與1S兩種非對映異構物，亦包括此等非對映異構物之混合物，如消旋混合物。此等非對映異構型、其混合物及其個別合成法亦說明於下列實例4-6中。

甚至更佳者，本發明前藥包括4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]-庚烷-2-羧酸，6-(羥甲基)-3，3-二甲基-7-氧代-，-1-(苯甲醯氧基)乙酯，4,4-二氧化物(2S,5R,6R)之1R非對映異構物，其說明於實例5中。

本發明前藥可呈多晶型。前藥之多晶型可成為本發明之一部份，其可由本發明前藥於不同條件下結晶製成。例如：使用不同溶劑或不同溶劑混合物進行再結晶;於不同溫度下結晶;於結晶期間，由極快速至極緩慢之冷卻條件範圍內之不同冷卻模式。亦可由前藥加熱或熔化後逐漸或快速冷卻而得到多晶型。多晶型之存在可由固體探針NMR光譜學、IR光譜學、差示掃瞄比色法、粉末X-射線繞射或其他此等技術測定。

本發明前藥亦可呈溶合物型，例如：水合物。本發明包括其各溶合物與混合物。

以前藥而言，前藥之最低投藥量為可提高共同投藥之β-內醯胺抗生素之有效性時之用量。前藥之最高量為其單獨或併用β-內醯胺抗生素組合投藥時仍為毒物學上可接受時之用量。

典型地，對體重至少40公斤之成人與兒童而言，前藥之每日劑量在約200 mg至約1 g或以上之間。對體重40公斤以

下之兒童而言，前藥之每日劑量在約7 mg/kg/天至約20 mg/kg/天或以上之間。然而，此等數字僅供說明用，有時候可能必須使用此等限制範圍以外之劑量。

本發明前藥之每日劑量可分成數等份，一天投藥1至4次。

治療細菌感染時，本發明前藥與β-內醯胺抗生素共同投藥。前藥與β-內醯胺抗生素可同時投藥或依序投藥。此外，前藥與抗生素可包含在分開之醫藥組合物中或含在單一醫藥組合物中。

與本發明前藥共同投藥之典型β-內醯胺抗生素為對酵素性降解作用敏感且可被多種不同β-內醯胺酶酵素去除活性之β-內醯胺抗生素。此等β-內醯胺酶敏感性抗生素包括實例(但不限於)青黴素，如：天然青黴素、羥胺苄青黴素與胺苄青黴素;頭孢素如：希法卓(cefadroxil)、希法林(cefazolin)、希法辛(cephalexin)、希法汀(cephalothin)、希法靈(cephapirin)、希法定(cephradine)、希法克(cefaclor)、希法得(cefamandole)、希弗喜(cefoicid)、希弗耐(ceforanide)、希普其(cefprozil)、希弗散(cefuroxime)、希狄尼(cefdinir)、希弗松(cefoperazone)、希弗塔(cefotaxime)、希普得散(cefpodoxime)、希塔定(ceftazidime)、希特丹(ceftibuten)、希色散(ceftizoxime)、希奇松(ceftriaxone)與希弗平(cefepime);及莫巴坦類(monobactams)如：亞奇南(aztreonam)。

典型地，當共同存在於同一醫藥組合物中時，β-內醯胺抗生素對前藥之重量比在約15:1至約1:1之間。

較佳者，本發明前藥與羥胺苄青黴素共同投藥。更佳者

，由羥胺苄青黴素與前藥4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]-庚烷-2-羧酸，6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代- ,(1R)-1-(苯甲醯氧基)乙酯，4,4-二氧化物(2S,5R,6R)共同投藥。

本文所採用"羥胺苄青黴素"一詞應指羥胺苄青黴素或其鹼鹽、或其水合物，如：特定言之羥胺苄青黴素三水合物或(結晶之)羥胺苄青黴素鈉。除非另有說明，否則羥胺苄青黴素之重量係指相應游離酸之當量重。此外，咸了解，羥胺苄青黴素實際上加至調配物中之重量還可以配合一般操作法，考量羥胺苄青黴素之藥效調整。

典型地，羥胺苄青黴素對體重至少40公斤之成人與兒童之每日劑量在約250 mg至約5 g之間。對體重40公斤以下之兒童而言，提高有效性之羥胺苄青黴素用量為每日約20 mg/kg/天至約150 mg/kg/天之間。然而，此等數字僅供說明用，有時候可能必須使用此等限制範圍以外之劑量。

羥胺苄青黴素可呈立即釋出型、經修飾型或緩釋型組合物等型式，將每日劑量分成1至4等份投予1-4次。適合本發明醫藥組合物之含羥胺苄青黴素之立即釋出型、經修飾型或緩釋型調配物及其製法說明於美國專利案Nos. 4,537,887(頒予Rooke等人)、6,051,255(頒予Conley等人)、6,218,380(頒予Cole等人)、6,051,255(頒予Conley等人);美國專利申請案序號09/911,905(Conley等人);及國際申請案案號PCT/IB01/01899(Conley等人)。美國專利案Nos. 4,537,887、6,051,255、6,218,380、6,051,255、USSN 09/911,905與國際申請案案號PCT/IB01/01899之教示內容

已以引用之方式完全併入本文中。

此等組合物中，前藥與羥胺苄青黴素之確實用量部份依所處理之微生物而定。

習此相關技藝之人士咸了解，有些β-內醯胺化合物當經口投藥或非經腸式投藥時有效，但有些則僅當非經腸式投藥時才有效。當本發明前藥與僅當非經腸式投藥時才有效之非經腸式投藥用之β-內醯胺抗生素組合時，將使用適合非經腸式用之組合調配物。當前藥係與經口投藥或非經腸式投藥時均有效之β-內醯胺抗生素組合時，可製備適合經口或非經腸式投藥之組合。此外，該前藥製劑可經口投藥，而β-內醯胺抗生素則同時以非經腸式投藥;前藥製劑亦可非經腸式投藥，而同時再經口投予β-內醯胺抗生素。

本發明之醫藥組合物包含本發明前藥與至少一種醫藥上可接受之賦形劑、載劑或稀釋劑。

醫藥組合物中可視需要包含β-內醯胺抗生素。較佳者，該抗生素為羥胺苄青黴素。亦較佳者，該前藥為4-硫雜-1-氮雜雙環-[3.2.0]庚烷-2-羧酸，6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,(1R)-1-(苯甲醯氧基)乙酯，4,4-二氧化物(2S,5R,6R)。更佳者，該醫藥組合物包含4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸，6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,(1R)-1-(苯甲醯氧基)乙酯，4,4-二氧化物 (2S,5R,6R)、羥胺苄青黴素與至少一種醫藥上可接受之載劑。

適合此等醫藥組合物之賦形劑、稀釋劑與載劑實例包括:填料與補充劑如：澱粉、糖類、甘露糖醇與矽衍生物;結合

劑如：羧甲基纖維素與其他纖維素衍生物、藻酸鹽、明膠、與聚乙烯吡咯啶酮;濕化劑如：甘油;崩解劑如：洋菜、碳酸鈣與碳酸氫鈉;延滯溶解劑如：石蠟;再吸收加速劑如：四級銨化合物;界面活性劑如：鯨蠟醇、單硬脂酸甘油酯;吸附性載劑如：高嶺土與皂土;及潤滑劑如：滑石、硬脂酸鈣與鎂及聚乙二醇固體。該調配物可另包含:潤滑劑如：滑石、硬脂酸鎂與礦物油;濕化劑;乳化劑與懸浮劑;防腐劑如：羥基苯甲酸甲酯與丙酯;甜味劑;與調味劑。

製備本發明醫藥組合物時，該前藥與可視需要選用之β-內醯胺抗生素通常與賦形劑混合、以賦形劑稀釋或包埋在載劑中，該載劑可呈膠囊、藥包或其他容器形式。當賦形劑作為稀釋劑時，其可為固體、半固體或液體材料，作為活性成分之媒劑、載劑或介質。

醫藥組合物可經口投藥或非經腸式投藥，亦即經肌內、皮下、靜脈內或腹膜內。該載劑、賦形劑或稀釋劑係依據計畫之投藥模式選擇。例如：當考慮採用經口投藥模式時，依據標準醫藥操作法，本發明醫藥組合物可呈錠劑型使用，包括可嚼式錠劑、膠囊、口含錠、糖衣錠、散劑、糖漿、酏劑、水性溶液與懸浮液，等等。活性成分對載劑之比例當然依活性成分之化學性質、溶解度與安定性，及計畫使用之劑型而異。然而，含β-內醯胺抗生素與本發明前藥之醫藥組合物最好包含約20%至約95%活性成分。若為口服用錠劑時，常用之載劑包括乳糖、檸檬酸鈉與磷酸之鹽類。錠劑中常使用多種崩解劑如：澱粉、與潤滑劑如：硬

脂酸鎂、月桂基硫酸酯鈉與滑石。經口投藥用之膠囊型中，適用之稀釋劑為乳糖與高分子量聚乙二醇。當需要使用水性溶液或懸浮液經口投藥時，活性成分可與乳化劑及懸浮劑組合。若需要時，可添加某些甜味劑與/或調味劑。非經腸式投藥時，通常製成活性成分之無菌溶液，適當調整溶液之pH，並加以緩衝。經靜脈內投藥用時，溶質之總濃度應加以控制，使製劑呈等張性。

本發明調配物可依醫藥技藝上常用之方法製成經口投藥之固體劑型，例如：錠劑或散劑或供再組成懸浮液或溶液用之粒劑產品。

製備此等錠劑用之合適成分與方法揭示於例如：國際申請案WO 92/19227與WO 95/28927，其教示內容已以引用之方式完全併入本文中。散劑或粒劑調配物，如：小兒科用懸浮液調配物可使用製造醫藥調配物之相關技藝及製造供再組成此等懸浮液用之乾物調配物之相關技藝常用之技術製造。例如：合適之技術為混合乾粉末狀或粒狀成分，再填裝至合適容器中。

小兒科用劑型中，本發明調配物最好將一般調配物(除了其新穎羥胺苄青黴素:前藥比例與計畫用途不同外)製成甜味水性糖漿調配物，其中在劑量單位體積中(例如：5 ml或2.5 ml)包含合適重量之羥胺苄青黴素與前藥，該調配物為糖漿較佳。小兒科用調配物因此可包含散裝之溶液或懸浮液，例如：糖漿，或可製成此等溶液或懸浮液之粒劑或散劑，溶液或懸浮液之濃度則為在此等體積中包含此等劑量

。合適之此等調配物說明於國際申請案No.PCT EP 96/01881 (SmithKline Beecham藥廠)。本發明之調配物中除了其活性成分羥胺苄青黴素與前藥外，通常亦包含口服用調配物技術領域中標準用法之賦形劑且通常依標準比例、一般標準粒子及等級，等等使用。

若為小兒科使用之經口投藥懸浮液時，此等賦形劑可包括懸浮助劑、滑動劑(協助填充)、稀釋劑、膨脹劑、調味劑、甜味劑與安定劑。

適用之賦形劑包括黃原膠(懸浮助劑)、膠體矽石(滑動劑)、琥珀酸 (安定劑)、阿斯巴甜(甜味劑)、羥丙基甲基纖維素(懸浮助劑)與二氧化矽(前藥之稀釋劑與膨脹劑)。調味劑可依當地需求，包括一般香料，如：口香糖膠、柳橙、香焦、覆盆子、葡萄與金色糖漿，或其混合物。

本發明醫藥組合物可呈例如：含有適合投予此等每日劑量之劑量之固體單位劑型。例如：單位劑型可為錠劑，或含有再組成用之粒劑或散劑之藥包，其中一種或兩種可一天投藥1至4次。或者，單位劑量可呈散裝之固體或溶液或懸浮液，例如：小兒科用之糖漿，配合使用已知型式之適當量藥器，以協助投予適當單位劑量之調配物。適當單位劑量通常指可分成1至4個小劑量投予上述每日劑量時之用量。

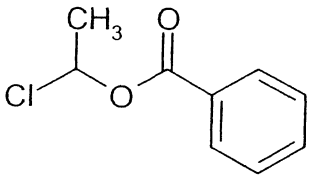
本發明另一項具體實施例為一種可在哺乳動物體內達到抗細菌醫療效果之套組，其包含(1)包含本發明前藥與可視需要選用之β-內醯胺抗生素之醫藥組合物，及(2)指導如何

使用該醫藥組合物投藥，以達成所需醫療效果之說明。

本發明另包含利用下列實例進一步說明。然而咸了解，本發明並無意受到其中說明之詳細內容之限制。

實例1

(R/S)苯甲酸1-氯-乙酯之製法與對映異構性分離法

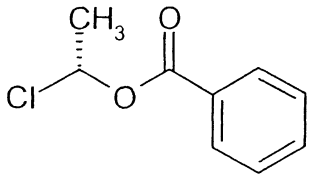


上示(R/S)-苯甲酸1-氯-乙酯之製法如下。

於氮蒙氣下，在含122 g(862 mmol)苯甲醯基氯(Aldrich藥廠)之三頸圓底燒瓶中添加2.35 g(17.2 mmol)無水氯化鋅(Aldrich藥廠)，反應混合物於室溫下攪拌15分鐘後，使用乙二醇/CO_2浴冷卻至-15℃。在混合物中慢慢添加37.9 g(862 mmol)乙醛(Aldrich藥廠)，同時保持內溫在0℃以下。添加完畢後，使反應混合物回升至室溫。添加400 mL 水與400 mL CH_2Cl_2，分層。分離有機層，以飽和$NaHCO_3$、水、鹽水洗滌，經硫酸鎂脫水，過濾及真空濃縮。經矽膠層析，以1.75 %乙酸乙酯/ 98.25%己烷溶離，產生55.4 g黃色油狀物。^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): 8.08 (d, 2H, J=7.5Hz), 7.61 (t, 1H, J=7.5Hz), 7.47 (t, 2H, J=7.5Hz), 6.80 (q, 1H, J=6Hz), 1.93 (d, 3H, J=6Hz)。

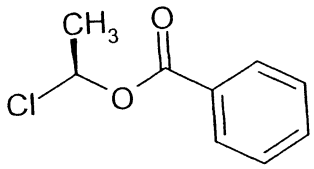
如下所示之(R)-苯甲酸1-氯-乙酯係經由(+/-)-苯甲酸1-氯-乙酯使用10 cm x 50 cm Chiralcel OJ 管柱進行對掌性分離，以庚烷/IPA(98/2)溶離，流速250 mL/分鐘。在分析純度

滯留時間為7.123分鐘時收集第二個溶離出之對映異構物。



^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400MHz): 8.08 (d, 2H, J=7.5Hz), 7.61 (t, 1H, J=7.5Hz), 7.47 (t, 2H, J=7.5Hz), 6.80 (q, 1H, J=6Hz), 1.93 (d, 3H, J=6Hz)。[α_d] = -140^0 (C+0.0315, $CHCl_3$)。

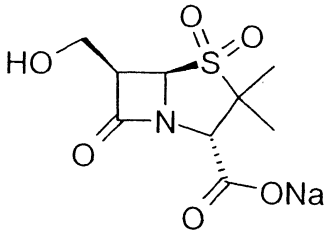
如下所示之(S)-苯甲酸1-氯-乙酯係經由(+/-)-苯甲酸1-氯-乙酯使用10 cm x 50 cm Chiralcel OJ 管柱進行對掌性分離，以庚烷/IPA(98/2)溶離，流速250 mL/分鐘。在分析純度滯留時間為5.807分鐘時收集第一個溶離出之對映異構物。



^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400MHz): 8.08 (d, 2H, J=7.5Hz), 7.61 (t,1H, J=7.5Hz), 7.47 (t, 2H, J=7.5Hz), 6.80 (q, 1H,J=6Hz), 1.93 (d, 3H, J=6Hz)。[α_d] = +130^0 (C+0.0345,$CHCl_3$)。

實例2

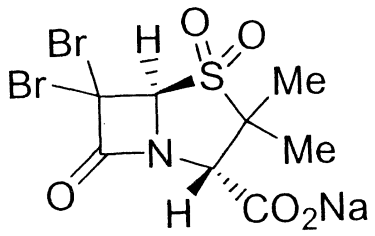
4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸，6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,4,4-二氧化物，一鈉鹽，(2S,5R,6R)



上示4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸，6-(羥甲基)-

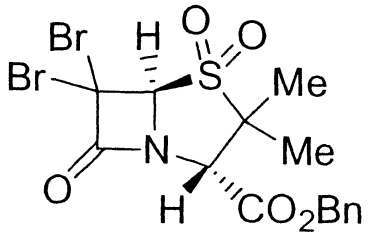
3,3-二甲基-7-氧代-,4,4-二氧化物，一鈉鹽，(2S,5R,6R)(下文中稱為"Na-HMPAS")係以下列四步驟法製備。

步驟1 - 6,6-二溴青黴烷酸鈉碸之製法



添加乙酸乙酯(15.8 L)至6,6-二溴青黴烷酸鈉碸(2500 g)中，加熱至50℃。攪拌添加乙基己酸鈉(1044 g)與乙酸乙酯(5.0 L)，形成溶液後，以60分鐘時間加至6,6-二溴青黴烷酸碸溶液中。使反應混合物冷卻至常溫，所得固體於1小時內結成顆粒。過濾收集產物，以乙酸乙酯洗滌，產生2197 g (83%) 6,6-二溴青黴酸鈉碸。M.P. 186-187℃。^{1}HNMR (D_2O) δ 1.30 (s, 3H), 1.45 (s, 3H), 4.29 (s, 1H), 5.54 (s, 1H)。

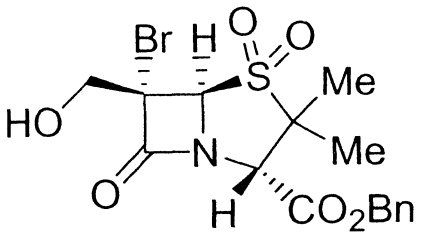
步驟 2 - 6,6-二溴青黴烷酸苯甲基酯碸之製法



合併二甲基甲醯胺(5.7 L)與6,6-二溴青黴烷酸鈉碸(3820 g)，混合物攪拌幾分鐘，至所有固體均溶解為止。以1小時時間，在此混合物中添加苯甲基溴(1400 g)。於常溫下攪拌反應混合物一夜。添加水(4.5 L)與乙酸乙酯(15.0 L)中止反應。水相經乙酸乙酯(2x600 mL)洗滌，合併之有機相依序經飽和碳酸氫鈉溶液(2x1 L)及氯化鈉水溶液(2x1 L)洗滌。

有機層經硫酸鎂脫水及濃縮，產生3566 g(90%)所需6,6-二溴青黴烷酸苯甲基酯碸之晶體。M.P.146-147℃。^{1}HNMR ($CDCl_3$) δ 1.2 (s, 3H), 1.5 (s, 3H),4.5 (s, 1H), 4.9 (s, 1H), 5.16 (d, 1H, J= 12 Hz), 5.29 (d, 1H, J = 12 Hz), 7.35-7.40 (m, 5H)。

步驟3 - 6-β-羥甲基-6-α-溴青黴烷酸苯甲基酯碸之製法



在圓底燒瓶中，取多聚甲醛於氮氣沖刷下加熱至160-180℃，以壓出過量水。在另一個圓底燒瓶中，合併四氫呋喃(8.0 L)與6,6-二溴青黴烷酸苯甲基酯碸(1000 g)，攪拌至所有固體均溶解為止。溶液冷卻至-78℃，慢慢添加含3M甲基鎂化氯之THF溶液(720 mL)至溶液中，同時保持溫度在-70℃以下。攪拌反應混合物1小時。此時，自第一個圓底燒瓶中壓出之甲醛氣體使用氮氣流吹過低溫冷卻之反應混合物之表面。此甲醛氣體壓過反應混合物表面約6小時，同時保持冷卻，並激烈攪拌低溫冷卻之反應燒瓶。當由TLC(80:20己烷:乙酸乙酯)決定已反應完成時，於-78℃下，使用含乙酸(132 mL)之THF(400 mL)溶液中止反應。使反應混合物回升至常溫後，反應混合物經Supercel過濾。濾液濃縮成油狀物(約1000 g)。此油狀物再移至大反應瓶中，添加乙酸乙酯(5.0 L)/水(2.5 L)。攪拌混合物後，分離。水層經乙酸乙酯(2 x 500 mL)洗滌。合併之有機層依序經1N鹽酸(3.0 L)、水

(3 x 3.0 L)與飽和氯化鈉水溶液(3 x 3.0 L)洗滌。有機層經經硫酸鎂脫水，經Supercel過濾，濃縮及保存在冰箱中。所得之油狀物經矽膠層析(每500 g油狀產物使用1 Kg)，以9:1己烷/ 乙酸乙酯(20.0 L)溶離，以排除雜質，然後以4:1己烷/乙酸乙酯(4.0-8.0 L)及最後以3:2己烷/乙酸乙酯(依需要而定)溶離，直到排出6-β-羥甲基-6-α-溴-青黴烷酸苯甲基酯碸為止。產生205.5 g (23 %)。M.P.120-121℃ ($CDCl_3$) ^{1}HNMR δ 1.28 (s, 3H), 1.57 (s, 3H), 4.09 (d, 1H, J= 16Hz), 4.54 (s, 1H), 4.62 (d, 1H, J= 16Hz), 4.82(s, 1H), 5.18 (d, 1H, J = 16 Hz), 5.32 (d, 1H, J = 16Hz), 7.36-7.42 (m, 5H)。

步驟4 - 4-硫雜-1-氮雜雙環[3,2,0]庚烷-2-羧酸，6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,4,4-二氧化物,一鈉鹽,(2S,5R,6R)之製法

合併水(163 mL)、乙酸乙酯(2000 mL)、6-β-羥甲基-6-α-溴青黴烷酸碸(180 g)、三乙胺(90.0 g)與5% Pd/碳(45 g)，於50 psi與常溫下氫化約2小時。反應混合物經TLC顯示，該反應尚未完成，因此再添加觸媒(15 g)，混合物氫化1小時。一旦反應完成後，即以硫酸(112.5 g)與水(270 mL)之混合物中止反應。反應混合物過濾去除觸媒，以EtOAc (450 mL)洗滌。水層經EtOAc(3 x 750 mL)洗滌。有機相合併，經氯化鈣脫水至水含量低於1%為止。然後濾出氯化鈣，並縮減乙酸乙酯之體積至其一半體積為止。回添加新鮮乙酸乙酯至溶液中，現在溶液中之水含量為0.09%。合併乙基己酸鈉(59 g)與EtOAc(450 mL)，於常溫下慢慢加至有機

相中。使混合物以30至45分鐘時間形成顆粒。所得固體過濾，以EtOAc(500 mL)洗滌，乾燥，產生79.0 g(66%) 6-β-羥甲基青黴烷酸鈉碸。該固體再進一步經由2-丙醇/水中再結晶純化。M.P. 246-245℃。^{1}HNMR (D_2O) δ 1.23(s, 3H), 1.39 (s, 3H), 3.82-3.89 (m, 1H), 3.97-4.10.(m, 3H), 4.85 (s, 1H)。

另一種步驟4-4-硫雜-1-氮雜雙環[3,2,0]庚烷-2-羧酸，6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,4,4-二氧化物，一鈉鹽，(2S,5R,6R)之製法

取6-β-羥甲基-6-α-溴青黴烷酸苯甲基酯碸(1143 g)置於大反應瓶中。添加苯(6.2 L)與三丁基錫氫化物(770 mL)，反應混合物加熱至回流溫度2-3小時。以TLC追蹤反應，溶劑= 1:1己烷/乙酸乙酯。

反應完成時，混合物濃縮成油狀物，以去除苯。此油狀物於常溫下經己烷洗滌，直到所有殘留之錫副產物均排出為止。再加熱反應至回流;添加乙酸乙酯(EtOAc)，將物質移至單頸燒瓶中，濃縮。物質經己烷(3 x)洗滌，產物層減壓濃縮。

取一半油狀物(549 g)經矽膠(1 Kg)層析，使用足量二氯甲烷與油狀物形成溶液，以7:3己烷/EtOAc至3:2己烷/EtOAc溶離。合併產物溶離份，濃縮。

取油狀物(約540 g)置於高壓釜中，添加四氫呋喃(1.9 L)、10% Pd/碳之水(300 mL)溶液，反應混合物於50 psi及30℃溫度下氫化約1小時。反應完成時，反應混合物經寅氏鹽

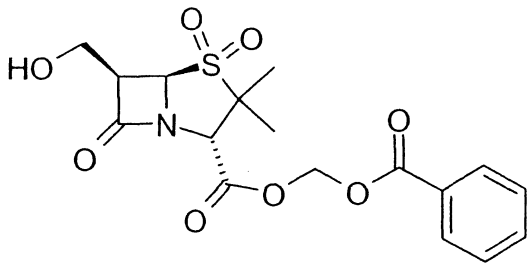
過濾去除觸媒。

濾液濃縮，以EtOAc(3.0 L)稀釋。水相經EtOAc(1.0L)洗滌。合併之有機層經氯化鈣脫水，濃縮至一半體積。依序滴加EtOAc(2.5 L)及乙基己酸鈉(SEH, 250 g)與EtOAc(1.05 L)之溶液。過濾排除所得固體，於真空烘箱中乾燥。

在所得固體中加水(6-800 mL)，以4M硫酸調整pH至0.5與1.0之間。以EtOAc (5x 1.0 L)萃取產物。合併之有機相經氯化鈣脫水，經閃爍(sparkle)濾器過濾。濾液濃縮至一半體積，添加含SEH(115.3 g)與EtOAc(500 mL)之溶液。使混合物形成顆粒。過濾所得固體，以EtOAc洗滌，產生所需產物。

實例3

前藥1:4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸, 6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-, (苯甲醯氧基)甲酯, 4, 4-二氧化物 (2S,5R,6R)



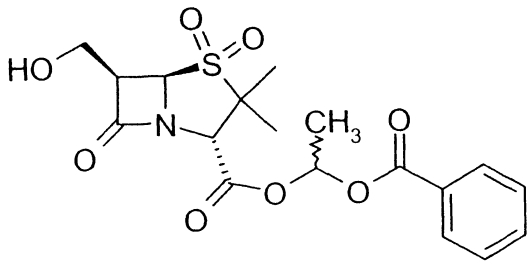
如上示之前藥1之製法如下。

在含3.13 g(18.4 mmol)苯甲酸氯甲酯(Narchem藥廠)之200 mL丙酮攪拌溶液中添加13.8 g(92.1 mmol)碘化鈉(Aldrich藥廠)。所得混合物於室溫下攪拌一夜。在此溶液中添加3.5 g(12.3 mmol)4-硫雜-1-氮雜雙環[3,2,0]庚烷-2-羧酸, 6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代- ,4,4-二氧化物,一鈉鹽

,(2S,5R,6R)。反應混合物於室溫下攪拌一夜。反應混合物真空濃縮。然後添加200 mL水與200 mL乙酸乙酯，分離有機層，以鹽水洗滌，經硫酸鈉脫水，過濾及真空濃縮。經矽膠層析法，以1:1乙酸乙酯/己烷溶離，產生8.62 g油狀物。此油狀物自乙酸乙酯/己烷中再結晶，產生5.5 g晶體。母液中仍含有所需化合物。熔點=102℃。^{1}H-NMR(DMSO): 7.97 (d, 2H, J=7.5Hz), 7.70 (t, 1H, J=7.5Hz), 7.56 (t, 2H, J=7.5Hz), 6.12 (d, 1H, J=6Hz), 5.99 (d, 1H, J=6Hz), 5.19 (d, 1H, J=5Hz), 5.17 (m, OH), 4.62 (s, 1H), 4.20 (m, 1H), 4.03 (m, 1H), 3.73 (m, 1H),1.41 (s, 3H), 1.28 (s, 3H)。

實例4

前藥2: 4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸，6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,-1-(苯甲醯氧基)乙酯，4,4-二氧化物 (2S,5R,6R)



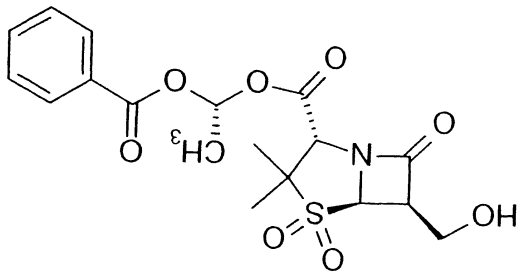
如上示之前藥2之製法如下。

在含2.5 g(8.77 mmol)4-硫雜-1-氮雜雙環[3,2,0]庚烷-2-羧酸，6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-，4,4-二氧化物,一鈉鹽,(2S,5R,6R)之20 mL DMF 攪拌溶液中添加2.1 g(11.4 mmol) (+/-)-苯甲酸1-氯-乙酯。所得混合物加熱至35℃3天。添加40 mL水與100 mL乙酸乙酯，分層。水層經乙酸乙酯

萃取。合併之有機層以水、鹽水洗滌，經硫酸鈉脫水，過濾及真空濃縮。經矽膠層析法，以1 L 20%乙酸乙酯/80%己烷溶離後，以1 L 1:1乙酸乙酯/己烷溶離，產生1.2 g油狀物，使用乙酸乙酯/己烷再結晶，產生1 g白色晶體(2種非對映異構物之混合物)。熔點=133-135℃。^{1}H-NMR (d-DMSO, 400MHz): 7.96 (d, 2H, J=7.5Hz), 7.71 (t, 1H, J=7.5Hz), 7.55 (t, 2H, J=7.5Hz), 7.07 (q, 0.5H, J=5.4Hz), 7.03 (q, 0.5H, J=5.4Hz), 5.19 (d, 1H, J=5Hz), 5.15 (m, OH), 4.54 (s, 0.5H), 4.53 (s, 0.5H), 4.19 (m, 1H), 4.01 (m, 1H), 3.73 (m, 1H), 1.62 (d, 1.5H, J=5.4Hz), 1.61 (d, 1.5H, J=5.4Hz), 1.44 (s, 1.5H) 1.38 (m, 4.5H)。

實例5

前藥 3: 4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸，6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,(1R)-1-(苯甲醯氧基)乙酯，4,4-二氧化物(2S,5R,6R)



如上示之前藥3可依實例4之製法製備，但其中改用(S)-苯甲酸1-氯-乙酯，及僅加熱至30℃。熔點=154℃。^{1}H NMR (d-DMSO, 400 MHz): 7.96 (d, J= 7.5 Hz, 2H), 7.71 (t, J= 7.5 Hz, 1H), 7.55 (t, J= 7.5 Hz, 2H), 7.03 (q, J= 5.4 Hz, 1H), 5.19 (d, J= 5 Hz, 1H), 5.15 (m, OH), 4.53 (s, 1H), 4.18 (m,

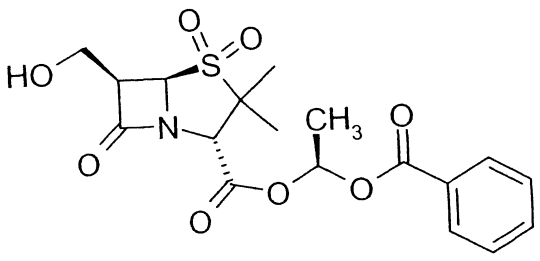
1H), 4.02 (m, 1H), 3.72 (m, 1H), 1.61 (d, J= 5.4 Hz, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.37 (s, 3H)。

$[\alpha]_D$ = +119 (c = 0.0121, $CHCl_3$)

亦可依下列另一種途徑製備前藥3。於20℃下合併52.03 g (182.4 mmol) 4-硫雜-1-氮雜雙環[3,2,0]庚烷-2-羧酸，6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-，4，4-二氧化物，一鈉鹽，(2S,5R,6R)、61.50 g(181.1 mmol)硫酸氫四丁基銨與15.44 g (183.2 mmol)碳酸氫鈉。添加400 mL二氯甲烷，同時保持溫度在20℃。隨後添加100 mL水。所得混合物於20℃下攪拌30分鐘。分離有機層，經硫酸鈉脫水，過濾及真空濃縮。在所得殘質中添加169.4 g (917.6 mmol) (S)-苯甲酸 1-氯-乙酯後，添加160 mL丙酮。所得溶液再於室溫下攪拌3天。反應真空濃縮，經矽膠層析法使用40-50 %乙酸乙酯/己烷溶離。所得產物自乙醇中結晶後，自乙酸乙酯/己烷中再結晶。過濾及真空乾燥後，產生85.9 g 白色結晶產物。

實例 6

前藥4:4-硫雜-1-氮雜雙環[3. 2.0]庚烷-2-羧酸,6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,(1S)-1-(苯甲醯氧基)乙酯，4,4-二氧化物(2S,5R,6R)

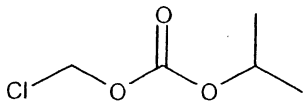


如上示之前藥4可依實例4之製法製備，但其中改用(R)-

苯甲酸1-氯-乙酯，及僅加熱至30℃。^{1}H-NMR (d-DMSO, 400 MHz): 7.96 (d, 2H, J=7.5 Hz), 7.71 (t, 1H, J=7.5 Hz), 7.55 (t, 2H, J=7.5 Hz), 7.07 (q, 1H, J=5.4 Hz), 5.19 (d, 1H, J=5 Hz), 5.15 (m, OH), 4.54 (s, 1H), 4.18 (m, 1H),4.01 (m, 1H), 3.72 (m, 1H), 1.62 (d, 3H, J=5.4 Hz), 1.44 (s, 3H) 1.35 (s, 3H). MS (m/z): 410 (M^--1, 100)。

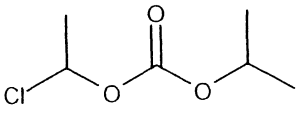
實例 7

用於合成對照前藥4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸，6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,4,4-二氧化物(2S,5R,6R)之碳酸之製法

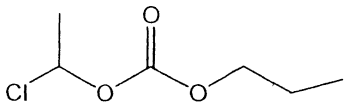


如上示之碳酸氯甲基酯異丙酯之製法如下。於0℃下，在含10 g(75.2 mmol)氯甲酸氯甲酯(Fluka藥廠)之100 mL二氯甲烷攪拌溶液中添加5.8 mL (76 mmol) 異丙醇後，添加11.93 g (97.8 mmol)二甲胺基吡啶(Fluka藥廠)。使所得反應混合物回升室溫並攪拌一夜。反應混合物加水稀釋。分層。有機層經鹽水洗滌，經硫酸鎂脫水，過濾及真空濃縮，產生6 g透明油狀物。此油狀物即直接進行下一個反應。^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) : 5.72 (s, 2H), 4.95 (m, 1H, J=6.2Hz), 1.33 (d, 6H, J=6.2Hz)。

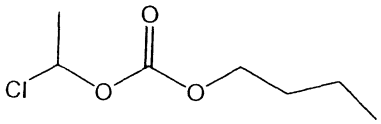
註:當僅使用1.05當量二甲胺基吡啶時，可得到更佳產量。



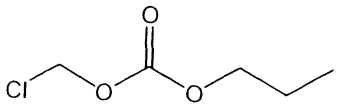
類似碳酸氯甲基酯異丙酯之方法，改用氯甲酸氯乙酯(Fluka藥廠)，製備(+/-)-碳酸1-氯-乙酯異丙酯。^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): 6.41 (q, 1H, J=5.8), 4.94 (m, 1H, J=6.2Hz), 1.81 (d, 3H, J=5.8), 1.32 (m, 6H)。



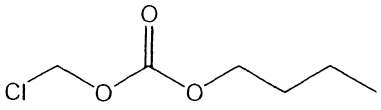
類似碳酸氯甲基酯異丙酯之方法，改用丙醇(Aldrich藥廠)，製備(+/-)-碳酸1-氯-乙酯丙酯。^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): 6.41 (g, 1H, J=5.8), 4.17 (m, 2H), 1.81 (d, 3H, J=5.8), 1.71 (m, 2H), 0.96 (m, 3H)。



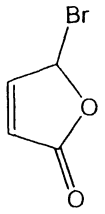
類似碳酸氯甲基酯異丙酯之方法，改用正丁醇(Aldrich藥廠)，製備(+/-)-碳酸丁酯1-氯-乙酯。^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): 6.41 (q, 1H, J=5.8), 4.20 (m, 2H), 1.81 (d, 3H, J=5.8), 1.67 (m, 2H),1.41 (m, 2H), 0.93 (m, 3H)。



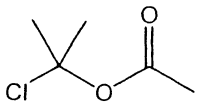
類似碳酸氯甲基酯異丙酯之方法，改用丙醇(Aldrich藥廠)，製備碳酸氯甲基酯丙酯。^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400MHz): 5.72 (s, 2H), 4.18 (t, 2H, J=6.6 Hz), 1.71 (m, 2H), 0.97 (t, 3H, J=7.5Hz)。



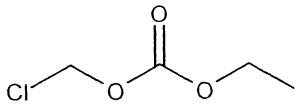
類似碳酸氯甲基酯異丙酯之方法，改用正丁醇(Aldrich藥廠)，製備碳酸丁酯氯甲基酯。^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400MHz): 5.72 (s, 2H), 4.23 (t, 2H, J=6.6Hz), 1.70 (m, 2H), 1.41 (m, 2H), 0.94 (t, 3H, J=7.5Hz)。



類似Tett. Lett. 22, 34, 1981, 3269-3272之方法製備(+/-)-5-溴-5H-呋喃-2-酮。



依Neuenschwander等人述於Helvetica Chimica 1978; 61: 2047-2058之方法製備乙酸-1-氯-1-甲基乙酯。



類似碳酸氯甲基酯異丙酯之方法，改用乙醇，製備碳酸氯甲基酯乙酯。^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400MHz): 5.72 (s, 2H), 4.28 (q, 2H, J= 7.1Hz), 1.34 (t, 3H, J=7.1Hz)。

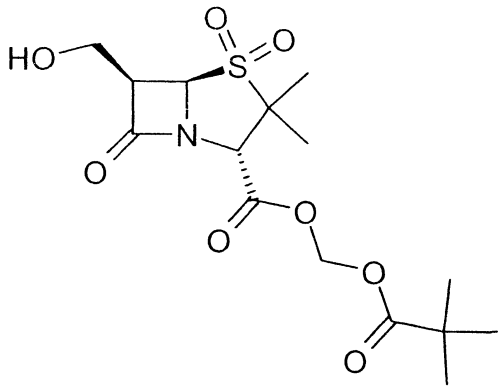
實例 8

對照前藥4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸,6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,4,4-二氧化物 (2S, 5R,6R)之製法

製備前藥4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸,6-(羥甲

基)-3,3-二甲基-7-氧代-,4,4-二氧化物(2S,5R,6R)來證明本發明前藥已出人意外地改善之生體可用率與物理性質。對照前藥中，對照前藥1說明於美國專利案No.4,287,181之實例25中，對照前藥2-15為新穎化合物，但仍屬於美國專利案No. 4,287,181所揭示內容範圍內。

對照前藥 1:



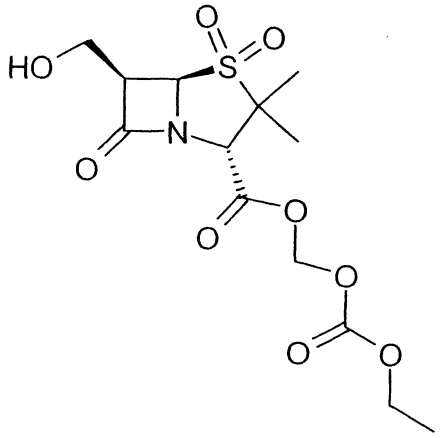
4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸,6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,(2,2-二甲基-1-氧代丙氧基)甲酯,4,4-二氧化物(2S,5R,6R)

在含2.5 g(8.77 mmol)4-硫雜-1-氮雜雙環[3,2,0]庚烷-2-羧酸,6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,4,4-二氧化物,一鈉鹽,(2S,5R,6R)之20 mL DMF攪拌溶液中添加(11.4 mmol)特戊酸氯甲酯(Aldrich藥廠)，於室溫下攪拌一夜。所得混合物加熱至35℃3天。添加40 mL水與100 mL乙酸乙酯，分層。水層經乙酸乙酯萃取。合併之有機層經水、鹽水洗滌，經硫酸鈉脫水，過濾及真空濃縮，經矽膠層析，以1L 20%乙酸乙酯/80%己烷溶離後，以1L 1:1乙酸乙酯/己烷溶離，產生油狀物。添加己烷(15 mL)至油狀物中，取樣置入冰箱

中4天，此時有固體沉澱。真空濃縮，產生110 mg白色非晶形固體。熔點 = 70-73℃。^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): 5.94 (d, 1H, J=5.4Hz), 5.70 (d, 1H, J=5.4Hz), 4.69 (d, 1H, J=4.1Hz), 4.48 (s, 1H), 4.30 (m, 1H), 4.15 (m, 2H), 1.55 (s, 3H), 1.41 (s, 3H), 1.21 (s, 9H)。

或者，此化合物亦已知為6-β-羥甲基青黴烷酸特戊醯氧甲基酯碸，亦可依美國專利案No. 4,287,181中實例25之方法製備。

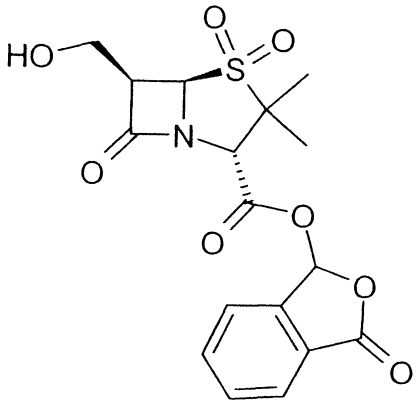
對照前藥 2:



4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸,6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,[(乙氧羰基)氧]甲酯,4,4-二氧化物(2S,5R,6R)

此前藥係依據上述對照前藥1之方法製備，但其中改用碳酸氯甲酯乙酯替代特戊酸氯甲酯。熔點(非晶形固體) = 103-105℃。^{1}H-NMR (MeOD, 400 MHz): 5.91 (d, 1H, J=5.8Hz), 5.76 (d, 1H, J=5.8Hz), 4.96 (d, 1H, J=4.6Hz), 4.55 (s, 1H), 4.15-4.25 (m, 4H), 3.95 (m, 1H), 1.53 (s, 3H), 1.41 (s, 3H), 1.29 (t, 3H, J=7.1)。

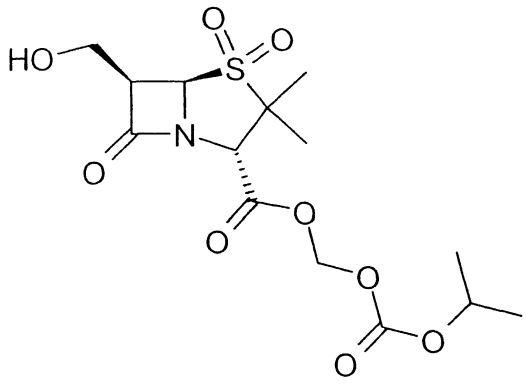
對照前藥 3:



4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸,6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-, 1,3-二氫-3-氧代-1-異苯並呋喃基酯, 4,4-二氧化物(2S,5R,6R)

此前藥係依據上述對照前藥1之方法製備，但其中改用3-溴苯酞(Aldrich藥廠)替代特戊酸氯甲酯。加水稀釋DMF時，所需產物呈非晶形固體沉澱析出，過濾及真空乾燥。MS (m/z): 394(M^-)。NMR代表非對映異構物之混合物。^{1}H-NMR (d-DMSO, 400 MHz): 7.8-8.0 (m, 4H), 7.60 (s, 0.5H), 7.59 (s, 0.5H), 5.23 (m, 1H), 5.16 (OH), 4.71 (s, 0.5H), 4.67 (s, 0.5H), 4.20 (m, 1H), 4.02 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 1.47 (s, 1.5H), 1.37 (s, 1.5H), 1.36 (s, 1.5H), 1.31 (s, 1.5H)。

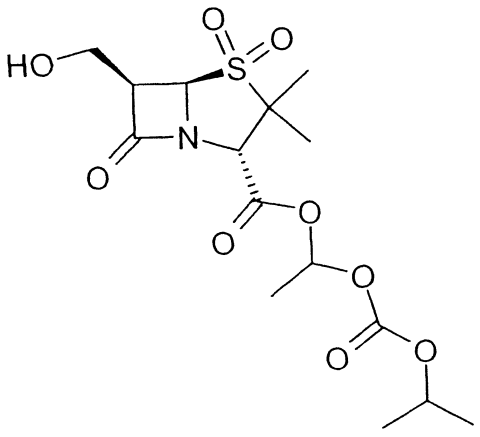
對照前藥 4：



4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸,6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,[[(1-甲基乙氧基)羰基]氧]甲酯,4,4-二氧化物(2S,5R,6R)

在含(18.4 mmol)碳酸氯甲酯異丙酯之200 mL丙酮攪拌溶液中添加13.8 g (92.1 mmol)碘化鈉(Aldrich藥廠)。所得混合物於室溫下攪拌一夜。在此溶液中添加3.5 g (12.3 mmol) 4-硫雜-1-氮雜雙環[3,2,0]庚烷-2-羧酸,6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,4,4-二氧化物,一鈉鹽,(2S,5R,6R) (US 4,287,181),反應混合物於室溫下攪拌一夜。反應混合物真空濃縮。添加200 mL水與200 mL乙酸乙酯,分離有機層,以鹽水洗滌,經硫酸鈉脫水,過濾及真空濃縮。經矽膠層析,以1:1乙酸乙酯/己烷溶離。終產物為紅色油狀物。MS (m/z): 378 (M^-)。^{1}H-NMR (d-DMSO, 400 MHz): 5.86 (d, 1H, J=5.8Hz), 5.74 (d, 1H, J=5.8Hz), 5.20 (d, 1H, J=5Hz), 5.17 (m, OH), 4.82 (m, 1H), 4.60 (s, 1H), 4.20 (m, 1H), 4.03 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 1.42 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 1.22 (d, 6H, J=6.2Hz)。

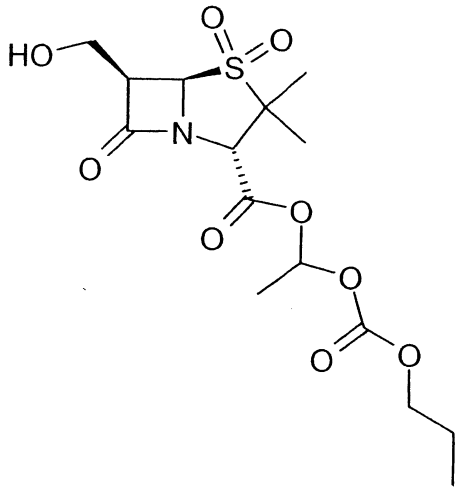
對照前藥 5:



4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸,6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,1-[[(1-甲基乙氧基)羰基]氧]乙酯,4,4-二氧化物(2S,5R,6R)

此前藥係依據上述對照前藥4之方法製備，但其中改用碳酸1-氯-乙酯異丙酯替代碳酸氯甲酯異丙酯。MS (m/z): 392(M^-)。NMR代表紅色之油狀物之數據，其係2種非對映異構物之混合物。^{1}H-NMR (d-DMSO, 400 MHz): 6.71 (q, 0.5H, J=5.4Hz), 6.67 (q, 0.5H, J=5.4Hz), 5.20 (d, 1H, J=5Hz), 4.79 (m, 1H), 4.51 (s, 0.5H), 4.49 (s, 0.5H), 4.20 (m, 1H), 4.03 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 1.48 (m, 3H), 1.43 (s, 1.5H), 1.39 (s, 1.5H),1.33 (m, 3H), 1.22 (m, 6H)。

對照前藥 6：

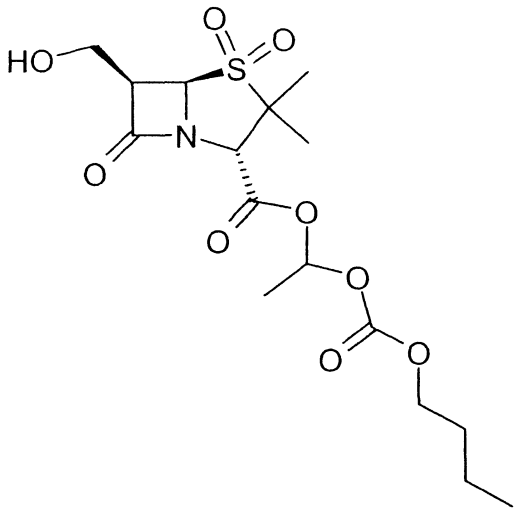


4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸,6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,1-[(丙氧羰基)氧]乙酯,4,4-二氧化物(2S,5R,6R)

此前藥係依據上述對照前藥4之方法製備，但其中改用碳酸1-氯-乙酯丙酯替代碳酸氯甲酯異丙酯。MS (m/z):392(M^-)。NMR代表黃紅色油狀物之數據，其係2種非對映異構物之

混合物。^{1}H-NMR (d-DMSO, 400 MHz): 6.72 (q, 0.5H, J=5.4Hz), 6.68 (q, 0.5H, J=5.4Hz), 5.20 (m, 1H), 4.51 (s, 0.5H), 4.49 (s, 0.5H), 4.20 (m, 1H), 4.03 (m, 3H), 3.74 (m, 1H), 1.59(m, 2H), 1.48 (m, 3H), 1.39 (s, 1.5H), 1.34 (s, 1.5H), 1.22 (m, 3H), 0.86 (m, 3H)。

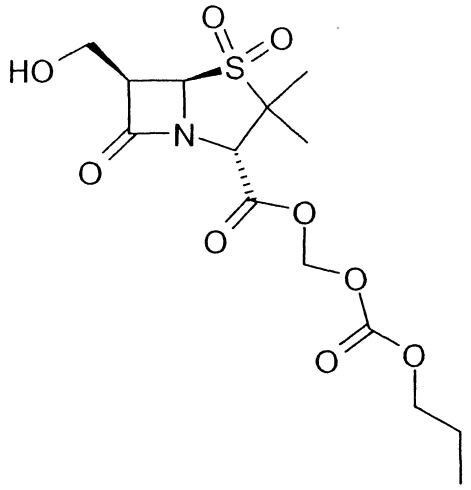
對照前藥 7：



4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸，6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-，1-[(丁氧羰基)氧]乙酯，4,4-二氧化物 (2S,5R,6R)

此前藥係依據上述對照前藥4之方法製備，但其中改用碳酸丁酯1-氯-乙酯替代碳酸氯甲酯異丙酯。MS (m/z): 406(M^-)。NMR代表黃紅色油狀物之數據，其係2種非對映異構物之混合物。^{1}H-NMR (d-DMSO, 400 MHz): 6.72 (q, 0.5H, J=5.4Hz), 6.68 (q, 0.5H, J=5.4Hz), 5.20 (m, 1H), 4.51 (s, 0.5H), 4.49 (s, 0.5H), 4.20 (m, 1H), 4.03 (m, 3H), 3.74 (m, 1H), 1.59 (m, 2H), 1.15-1.55 (m, 11H), 0.86 (m, 3H)。

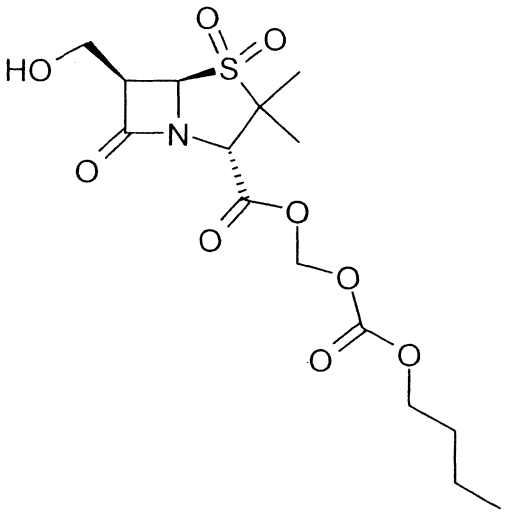
對照前藥 8：



4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸,6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,[(丙氧羰基)氧]甲酯,4,4-二氧化物(2S, 5R, 6R)

此前藥係依據異丙酯之製法製備。終產物為非晶形白色固體。MS (m/z) :378 (M^-)。^{1}H-NMR (d-DMSO, 400MHz): 5.86 (d, 1H, J-6.2H), 5.74 (d, 1H, J=6.2Hz), 5.20 (d, 1H, J=5Hz), 5.17 (m, OH), 4.60 (s, 1H), 4.20 (m, 1H), 4.10 (m, 2H), 4.03 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 1.60 (m, 2H), 1.42 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 0.86 (t, 3H, J=7.5Hz)。

對照前藥 9:

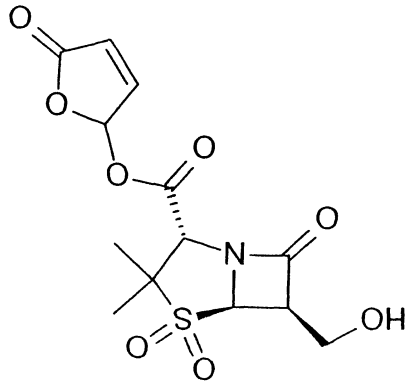


4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸,6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,[(丁氧羰基)氧]甲酯,4,4-二氧化物

(2S,5R,6R)

此前藥係依據上述對照前藥4之方法製備，但其中改用碳酸丁酯氯甲酯替代碳酸氯甲酯異丙酯。終產物為非晶形白色固體。MS (m/z) :392 (M^-)。^{1}H-NMR (d-DMSO, 400MHz): 5.86 (d, 1H, J=6.2Hz), 5.74 (d, 1H, J=6.2Hz), 5.20 (d, 1H, J=5Hz), 5.17 (m, OH), 4.60 (s, 1H), 4.20 (m, 1H), 4.15 (m, 2H), 4.03 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 1.60 (m,2H), 1.42 (s, 3H), 1.30 (m, 2H), 1.30 (s, 3H), 0.86 (t, 3H, J=7.5Hz)。

對照前藥10:



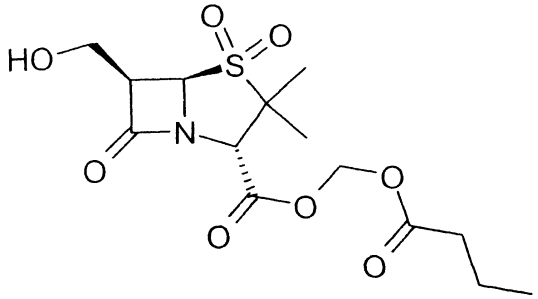
4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸,6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,2,5-二氫-5-氧代-2-呋喃基酯,4,4-二氧化物

(2S,5R,6R)

此前藥係依據上述對照前藥4之方法製備，但其中改用5-溴-5H-呋喃-2-酮替代特戊酸氯甲酯。MS (m/z) :344(M^-)。NMR為2種非對映異構物之混合物。產物為非晶形固體。^{1}H-NMR (d-DMSO, 400 MHz): 7.81 (m,0.5H), 7.73 (m, 0.5H),

7.14 (m, 0.5H), 7.10 (m, 0.5H),6.61 (m, 1H), 5.21 (m, 1H), 5.17 (m, OH), 4.67 (s,0.5H), 4.63 (s, 0.5H), 4.20 (m, 1H), 4.03 (m, 1H), 3.74(m, 1H), 1.42 (s, 1.5H), 1.40 (s, 3H), 1.32 (s, 1.5H)。

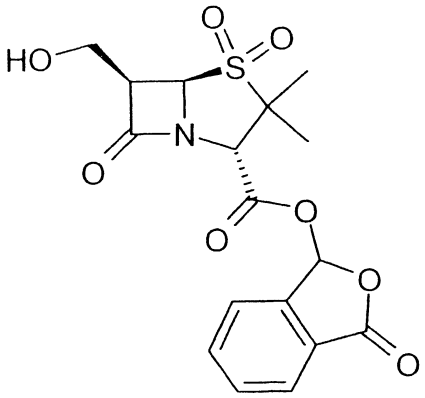
對照前藥11:



4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸，6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,(1-氧代丁基)甲酯,4,4-二氧化物(2S,5R,6R)

此前藥係依據上述對照前藥4之方法製備，但其中改用丁酸氯甲酯(Acros organics藥廠)替代特戊酸氯甲酯。產物為透明油狀物。MS (m/z) :362(M^-)。^{1}H-NMR (d-DMSO, 400 MHz): 5.86 (d, 1H, J=5.8Hz), 5.74 (d, 1H, J=5.8Hz), 5.20 (d, 1H, J=5Hz), 5.17 (m, OH), 4.55 (s, 1H), 4.20(m, 1H), 4.01 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 2.35 (m, 2H), 1.52(m, 2H), 1.40 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 0.86 (m, 3H)。

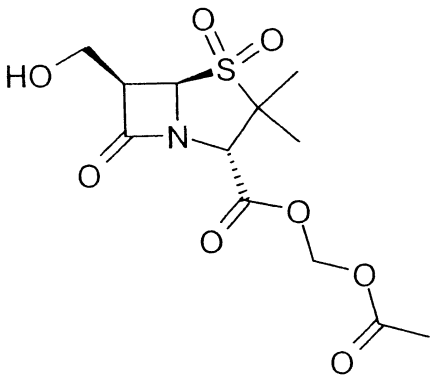
對照前藥 12：



4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸,6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,1,3-二氫-3-氧代-1-異苯並呋喃基酯,4,4-二氧化物(2S,5R,6R)

取275 mg對照前藥3使用5%異丙醇/95%二氯甲烷進行矽膠層析法，產生200 mg非對映異構物之混合物後，再產生70 mg單一(極性較高)之非對映異構物。產物為非晶形固體。MS (m/z):394 (M^-)。NMR代表極性較高之非對映異構物之數據。^{1}H-NMR (d-DMSO, 400 MHz) : 7.95 (d, 1H, J=7.5Hz), 7.90 (m, 1H), 7.81 (d, 1H, J=7.5Hz), 7.77 (m,1H), 7.60 (s, 1H), 5.23 (d, 1H, J=5Hz), 5.16 (OH), 4.71 (s, 1H), 4.20 (m, 1H), 4.02 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 1.47 (s, 3H), 1.37(s, 3H)。

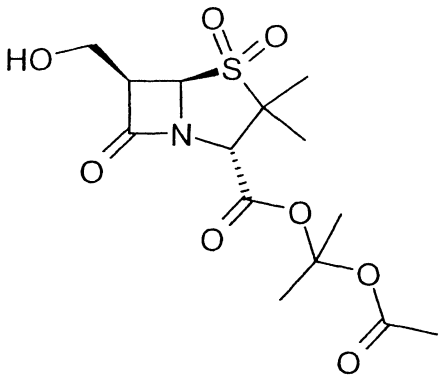
對照前藥13：



4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸,6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,(乙醯氧基)甲酯,4,4-二氧化物(2S,5R,6R)

此前藥係依據上述對照前藥1之方法製備,但其中改用乙酸溴甲酯(Aldrich藥廠)替代特戊酸氯甲酯。終產物為黏稠油狀物。MS(m/z): 334(M^-)。^{1}H-NMR (d-DMSO, 400 MHz): 5.82 (d, 1H, J=6.2Hz), 5.72 (d, 1H, J=6.2Hz), 5.19 (d, 1H, J=5Hz), 5.17 (m, OH), 4.55 (s, 1H), 4.20 (m, 1H), 4.01 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 2.08 (s, 3H), 1.40 (s, 3H), 1.30 (s, 3H)。

對照前藥 14:



4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸,6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,1-(乙醯氧基)-1-甲基乙酯,4,4-二氧化物(2S,5R,6R)

此前藥係依據上述對照前藥1之方法製備,但其中改用乙酸1-氯-1-甲基乙酯(Aldrich藥廠)替代特戊酸氯甲酯。終產物為非晶形固體。MS(m/z):362(M^-)。^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): 4.68 (d, 1H, J=5.0Hz), 4.40 (s,1H), 4.31 (m, 1H), 4.15 (m, 2H), 2.06 (s, 3H), 1.92 (s, 3H), 1.82 (s, 3H), 1.58 (s, 3H), 1.47 (s, 3H)。

實例 9

化學(pH)，懸浮液與血漿安定性

分析前藥3之安定性：(1)於多種不同pH下之溶液中之化學安定性，(2)呈懸浮液時維持之效力，及(3)來自多種不同哺乳動物之血漿之化學安定性，以分析前藥3於吸收前抗拒水解，然後於吸收後迅速水解成6-β-HMPAS之能力。

於pH1、2、2.5、4.0、5.0、6.5與7.4下，比較前藥3、6-β-HMPAS之鈉鹽(下文中稱為"Na HPMAS")及棒形酸鋰(lithium clavulanate)於溶液中之化學安定性。適當調配緩衝液，使各培養物達所需pH。培養物包括990μl適當pH 緩衝液，並添加10μl 10 mM化合物之100%甲醇母液開始反應(終濃度= 100 μM)。採用自動注射器，於0、10、20、40、60、120與240分鐘時取出一系列樣本(20μl)，直接注入與用於檢測分析物質之LC/MS單一四極質譜系統直接連線之HPLC中。使用96-孔加熱器調整培養溫度。於25℃與37℃下培養。LC/MS系統係以陰離子模式操作。各分析物質選擇性追蹤離子之適當$[M-H]^-$，用於檢測及定量每一時間點殘留之化合物。每一時間點之吸收峰反應以相對於時間=0時之百分比表示。降解速率常數(k_d)係由時間=0 分鐘起，至時間= 240分鐘止之此等百分比之迴歸分析得到。然後估算得到表觀一級半衰期為$\ln 2/k_d$。此等測定法係進行雙重覆，並以平均值表示。

如下表所示，前藥3證實具有優越之酸安定性及在可吸收之接近中性pH下具有適當安定性。Na-HMPAS亦證實比棒

形酸鹽具有較佳之溶液安定性，尤其在低pH下。

亦分析前藥3於懸浮液中之安定性(在未緩衝下，含於0.5%甲基纖維素中，25℃)，以測定於懸浮液中之時間對效力之影響。如下所示，前藥3於室溫下保存10天後，其效力仍保持90%以上。反之，棒形酸鹽於奧孟汀(Augmentin)懸浮液中時，若同樣置於於室溫下相同時間期，其效力僅保留40%(參見Mehta, A.C., S. Hart-Davies, J. Payne and R.W. Lacey, 1994. Stability of amoxicillin and potassium clavulanate in a co-amoxicillin-clavulanate oral suspension. J. Clin. Pharm. Ther. 19:313-315.)。

	pH					
溶液安定性 (100 μM)	7.4	6.5	5.0	4.0	2.5	1.2
	半衰期(小時)					
前藥3(25℃)	2.7	>24	>24	>24	>24	>24
前藥3(37℃)	0.6	4.5	>24	>24	>24	>24
Na-HMPAS (25℃)	>24	>24	>24	>24	>24	>24
Na-HMPAS (37℃)	>24	>24	>24	>24	>24	>24
棒形酸鹽(25℃)	>24	>24	>24	>24	1.2	0.6
棒形酸鹽(37℃)	>24	>24	>24	>24	0.9	ND
前藥3 懸浮液安定性	1天	3天	5天	7天	10天	
	效力(%)*					
1.51 mg/ml** (10 mg/kg大老鼠製劑)	ND	103	98	104	91***	

*效力以相對於溶解之標準物採用LC/MS分析之目標濃度之百分比表示。數值代表兩重覆之平均值。ND＝未測定

**懸浮液起初之pH為約6.8，第10天時降至4.7。

***非對映異構物之混合物基本上未改變，約95:5

採用來自小白鼠、大老鼠、狗、猴子與人類之血漿，使用前經過一次冷凍/解凍循環處理，測定前藥3、Na-HMPAS與棒形酸鋰之血漿安定性。培養物包括990 μl血漿(已先於37℃之96孔加熱器中，於37℃下預培養5分鐘)。添加10 μl 10 mM化合物之100%甲醇母液開始反應。採用自動注射器，於0、1、2、5、10、20、30與60分鐘時取出一系列樣本(100μl)，移至200μl 75/25乙腈/3%過氯酸中。樣本離心，取上澄液移至注射閥中，注入20μl至與LC/MS單一四極質譜系統直接連線之HPLC中。LC/MS系統係以陰離子模式操作。各分析物質選擇性追蹤離子之適當$[M-H]^-$，用於檢測及定量每一時間點殘留之化合物。每一時間點之吸收峰反應以相對於時間=0時之百分比表示。降解速率常數(k_d)係由時間=0分鐘起，至時間=240分鐘止之此等百分比之迴歸分析得到。因此估算得到表觀一級半衰期為$\ln 2/k_d$。此等測定法係進行雙重覆，並以平均值示於下表中。

血漿安定性 (100 μM)	小白鼠	大老鼠	狗	猴子	人類
			半衰期		
前藥3 37℃	2.8分鐘	<2.0分鐘	2.8分鐘	3.6分鐘	<2.0分鐘
Na-HMPAS 37℃	3.9小時	3.4小時	>4小時	>4小時	>4小時
棒形酸鹽 37℃	>4小時	3.3小時	2.8小時	3.6小時	2.6小時

前藥3已證實具有優越之酸安定性，且在接近吸收之中性pH下具有適當安定性。前藥3於所有試驗物種之血漿中之水解速率已證實可於吸收時，有效地經酵素水解成6-β-HMPAS。Na-HMPAS經證實具有優於棒形酸鹽之溶液安定性，尤其在低pH下。儘管這兩種化合物均於血漿中不安定，但Na-HMPAS仍於人類血漿中展現改善之安定性。

實例 10

前藥3於腸內pH值下之抑制活性

棒形酸鹽被認為會在人類胃腸道中造成下痢，因為其會與殘留之羥胺苄青黴素結合，選擇性殺死正常菌落族群之必要成分。棒形酸鹽不是一種前藥，因此腸中仍有40%仍呈相同活性分子未吸收，而60%被吸收進入循環中。雖然依據Berry,V.等人之研究：於大老鼠中對抗肺炎鏈球菌引起之實驗性呼吸道感染之羥胺苄青黴素/棒形酸鹽之加強調配物之藥理動力學效力(Abstract B988, 41st Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, December 16-19th, 2001 Chicago, IL.)，胃與鄰接之小腸中之pH為酸性，但已發現自下痢者收集24小時糞便之pH中間值顯示為6.4(範圍為5.4-7.8)。

如實例7所示，前藥3在pH<6.5下非常安定，不容易轉化成6-β-HMPAS。為了在人類大腸之pH條件下比較前藥3與Na-HMPAS之β-內醯胺酶抑制劑活性，吾等在pH6.0與7.0下測定這兩種化合物對抗TEM-1β-內醯胺酶之IC_{50}。數據顯示，在pH6.0時，前藥仍未轉化成抑制劑之活性型。前藥

3沒有對抗TEM-1β-內醯胺酶之活性(IC_{50}>100 μM)。反之，在pH 7.0時，前藥轉化成活性抑制劑，半衰期為33 分鐘，所形成之6-β-HMPAS對此β-內醯胺酶所造成之抑制作用遠大於pH 6.0時。

	IC_{50}(μM)	
	前藥 3	6-β-HMPAS
大腸桿菌TEM-1 pH 6.0	> 100	0.37
大腸桿菌TEM-1 pH 7.0	2.2	0.12

實例 11

吸收性(活體內口服生體可用率)

由於前藥3於酯酶之存在下時，於中性pH下之溶液半衰期為30分鐘，前藥在幾分鐘內即水解，因此採用人類Caco-2細胞株之活體外分析法並不適合用來測定前藥吸收性。反之，發現活體內吸收性模式與分析本發明前藥吸收性具有較高相關性。此外，使用幾種市售藥劑商品探討其在大老鼠與人類中之吸收比例之相關性，且具有相當良好之相關性(相關係數=0.971)(參見Chiou, W.L. and A. Barve, 1998. Linear correlation of the fraction of oral dose absorbed of 64 drugs between humans and rats. Pharm. Res. 15:1792-1795.)。依據此相關性，可使用大老鼠來預測人類之吸收性。亦咸了解，由大老鼠與人類之肝細胞證實6-β-HMPAS於肝中之萃取性最低。因此，大老鼠之口服生體可用率分析法應與人類之吸收比例呈極佳相關性。

口服生體可用率之估算法係以Na-HMPAS、前藥1、2、3

與4、及實例8之14種對照前藥進行，各組採用三隻先經手術植入頸靜脈導管之Sprague-Dawley大老鼠(200-225 gm)。經口投藥試驗所選用之劑型媒劑依所試驗之化合物物理狀態而定。除了前藥外，所有化合物均經口投藥，其係呈油狀物或非晶形固體。因此，此等化合物使用70/20/10 水/Chremophore/乙醇媒劑形成溶液(PO)劑型投藥。

製備經口投藥之前藥劑型，以傳送10 mg/kg 6-P-HMPAS當量劑量，劑量體積為10 ml/kg。Na-HMPAS係經靜脈內投藥，劑量為10 mg/kg，以估算生體可用率(6-p-HMPAS當量)。

於投藥後0、15、30 分鐘、1、2、3、與5小時取血樣。血樣經處理取得血漿，分析前先保存在-20℃。依下文中說明，分析樣本中之6-β-HMPAS，測定經口投藥及經靜脈內投藥之平均濃度相對於時間之圖形。由0時間點至最後可定量之時間點，使用線性梯形面積估算法，測定血漿濃度相對於時間之曲線之曲線下面積(AUC $o\text{-}_{終點時間}$)。由顯著出現消失期之時間起點至最後取樣時間點之血漿濃度數據之迴歸分析估計最終消失速率常數(Kel)。消失半衰期以ln 2/Kel估計。於 $Cest_{終點時間}$/Kel估算自終點時間至無限遠之面積($AUC_{終點時間\text{-}\infty}$)，其中 $Cest_{終點時間}$代表終點時間所估算之濃度，其中依據迴歸分析定量藥物。由 $AUC_{o\text{-}終點時間}$與 $AUC_{終點時間\text{-}\infty}$之總和估算曲線下總面積($AUC_{0\text{-}\infty}$)。以 $AUC_{(o\text{-}oo)\ 經口投藥}$ x 靜脈內投藥劑量/$AUC_{(o\text{-}oo)靜脈內投藥}$x經口投藥劑量表示生體可用率(F)。

所測得之平均生體可用率如下。

化合物	平均生體可用率	標準偏差
Na-HMPAS	6.0	1.6
前藥1	113.1	10.7
前藥2	102.0	11.1
前藥3	92.4	6.0
前藥4	111.1	8.8
對照前藥1	55.4	4.7
對照前藥2	6.2	1.0
對照前藥3	27.2	2.6
對照前藥4	6.8	0.9
對照前藥5	46.5	1.4
對照前藥6	60.9	6.1
對照前藥7	40.3	10.8
對照前藥8	7.9	1.5
對照前藥9	12.3	2.0
對照前藥10	10.9	1.7
對照前藥11	33.1	5.4
對照前藥12	20.4	1.0
對照前藥13	37.6	3.7
對照前藥14	15.4	3.9

如上述，本發明前藥具有顯著優於劑型6-β-HMPAS、過去已知之對照前藥1、或先前技藝已揭示之前藥(對照前藥2-14)之生體可用率。

分析法說明：

本分析法中，以水相萃取所要測定之分析物，然後經乙腈沉澱，及以氯仿處理。結果在不採用蒸發及再組成步驟下產生約2倍濃度。

採用LC/MS/MS之陰離子模式操作法檢測。單一四極操作法並不適合選擇性檢測分析物。

所添加溶劑(95:5 20 mM甲酸銨/乙腈;溶劑A)之pH為約5.0。

分析管柱為Pheneomenex AQUA C18 4.6x50 mm。

所有樣本製劑均於96孔1.2 mL MARSH試管中完成。依下列方法製備樣本。添加血漿樣本(200μl)至含5μg/ml舒巴坦(sulbactam)作為內標準之400μl 95:5乙腈:20 mM甲酸銨中。樣本於桌上型離心機中，於3000 rpm下離心10分鐘。取上澄液(400μl)移至透明之1.2 ml MARSH^{R}試管中。添加氯仿(600μl)至樣本中，混合後，於3000 rpm下離心10分鐘。移出上層水相(約100μl)進行分析。

質譜儀條件：

質譜儀:API-3000，使用Turbo噴灑(電噴灑)操作陰離子模式

離子化電壓：-3000V

銳孔電壓：-25 eV

碰撞能量：30 eV

依需要調整氣霧化與加熱氣體

反應追蹤

6-β-HMPAS：262=>218

舒巴坦(內標準)：232=＞140

羥胺苄青黴素：364=＞223

棒形酸：198=＞136

操作時間：3分鐘

RT：所有分析物均約2分鐘

注射體積：20μl

HPLC條件：

溶劑A：95：5 20mM甲酸銨：乙腈

溶劑B：95：5乙腈：20mM甲酸銨

分析流速：1ml/分鐘

送至質譜儀之流速：約100μl/分鐘

彈道梯度計畫

0-0.5 分鐘100%A

0.5-1 分鐘100%A至100%B

1-1.5 分鐘100%B

1.5-2.0 分鐘100%B至100%A

LLOQ=0.1μg/ml(6-β-HMPAS與羥胺苄青黴素)，0.5μg/ml(棒形酸)

ULOQ=50μg/ml(所有)

迴歸分析=線性 1/x 重量

管柱壽命：約注射300-400次

大老鼠之門靜脈試驗：亦以插入門靜脈導管之大老鼠在經口投予100 mg/kg之前藥劑量後分析前藥3之全身暴露結果

。於投藥後5、15與30 分鐘時取全血樣，立即分裝至冰冷酸中安定化。任何樣本均未測得前藥3(分析LLOQ 100 mg/ml)。此等結果顯示當吸收時，前藥3迅速水解成6-β-HMPAS後才進入肝與全身循環中。

實例 12

活體外篩選法

對抗來自社區型呼吸道感染之病原菌之β-內醯胺酶之生化活性：市面上僅有三種β-內醯胺酶抑制劑分子：舒巴坦，棒形酸鹽與三唑巴坦(tazobactam)。這三種均抑制會出現在許多種細菌中之A型青黴素酶。其中僅棒形酸鹽直接針對社區型呼吸道感染之口服療法。測試Na-HMPAS對抗常出現在流感嗜血菌及卡塔莫拉氏菌中之無細胞之青黴素酶之活性。下表中之數據顯示Na-HMPAS在對抗流感嗜血菌之ROB-1與TEM-1酵素上相當於棒形酸鋰。這三種β-內醯胺酶抑制劑均對卡塔莫拉氏菌中之BRO-1與BRO-2青黴素酶具有強烈效力，以舒巴坦活性最高(表1)。由30種最近臨床單離出之卡塔莫拉氏菌菌株中更廣泛分析β-內醯胺酶，顯示Na-HMPAS可有效抑制所有來自此等菌株之BRO-1與BRO-2酵素，平均IC_{50}為0.19μM。

β-內醯胺酶抑制劑對抗細胞萃出物中β-內醯胺酶之IC_{50}

	β-內醯胺酶	IC_{50}(μM)*		
菌株	型態	舒巴坦	6-β-HMPAS	棒形酸鹽
流感嗜血菌 ATCC43334	ROB-1	3.40	0.01	0.04

流感嗜血菌 54A1173	TEM-1	4.78	0.03	0.02
卡塔莫拉氏菌 87A1178 ATCC43617	BRO-2	0.03	0.32	0.11
卡塔莫拉氏菌 87A1115	BRO-1	0.011	0.143	0.14

*所有抑制作用值均於比色分析法中，針對產色性頭孢素測定。

對抗來自其他病原菌(包括彼等與皮膚感染有關之病原菌)之β-內醯胺酶之生化活性：比較Na-HMPAS與棒形酸鹽在其對抗多種TEM延伸範圍之β-內醯胺酶(ESBLs)之抑制效力，其中Na-HMPAS與棒形酸鹽對抗ESBLs 之效力相差不多。

對選定幾種延伸範圍之β-內醯胺酶(ESBLs)(IC_{50}, μM)之抑制作用				
	β-內醯胺酶	抑制劑 IC_{50}(μM)*		
菌株	型態	舒巴坦	6-β-HMPAS	棒形酸鹽
大腸桿菌 ATCC35218	TEM-1	6.85	0.14	0.05
大腸桿菌 51A1101	TEM-1	4.76	0.07	0.02
肺炎克雷伯氏菌	TEM-3	0.55	<0.003	<0.003

CF104				
肺炎克雷伯氏菌 CF504	TEM-5	4.68	0.08	<0.003
肺炎克雷伯氏菌BL-1	TEM-10	23.19	0.39	>100
肺炎克雷伯氏菌 MCV37	TEM-12	5.86	0.27	<0.003
肺炎克雷伯氏菌 CF1304	TEM-16	5.80	0.09	0.06
肺炎克雷伯氏菌 E264	TEM-17	10.36	0.66	0.004
肺炎克雷伯氏菌 CF1104	TEM-24	10.48	7.13	0.01
大腸桿菌 CF1609	TEM-25	2.58	0.04	0.02
肺炎克雷伯氏菌 5657	TEM-26	0.56	0.08	0.02
沙雷氏菌S6	Sme-I	15.65	0.68	19.55

*所有抑制作用值均於比色分析法中，針對產色性頭孢素測定。

一般而言，其結論為Na-HMPAS之效力相當於棒形酸鋰。

產生β-內醯胺酶之菌種流感嗜血菌與卡塔莫拉氏菌之易感性分析法：採用會產生β-內醯胺酶之流感嗜血菌與卡塔莫拉氏菌之臨床單離菌株分析6-β-HMPAS與羥胺苄青黴

素多種不同比例下之活體外活性。採用NCCLS(國家臨床實驗標準委員會(National Committee for Clinical Laboratory Standards))核准之奧孟汀易感性分析法，以固定比例2:1羥胺苄青黴素/棒形酸鹽進行分析。結果顯示，流感嗜血菌之46種β-內醯胺酶(+)菌株中，羥胺苄青黴素/棒形酸鹽處理及羥胺苄青黴素/6-β-HMPAS處理之羥胺苄青黴素MIC_{50}與MIC_{90}值(亦即要阻止50%或90%試驗之單離株生長時所需之最小抑制濃度)分別為1與2μg/ml，而2:1 羥胺苄青黴素/舒巴坦處理則為4與8 μg/ml。應注意，該數值指混合物中之羥胺苄青黴素濃度。

對48種卡塔莫拉氏菌單離株而言，羥胺苄青黴素/棒形酸鹽之MIC_{50}與MIC_{90}值分別為≦0.125與0.25μg/ml，及羥胺苄青黴素/6-β-HMPAS之0.5與1.0μg/ml。羥胺苄青黴素/舒巴坦(2:1)之數值為0.25及1.0μg/ml。因此，全細胞所得之MICs不一定會與抑制劑對抗無細胞之β-內醯胺酶之效力呈良好相關性，因為舒巴坦仍一致地較有效地對抗卡塔莫拉氏菌中之BRO-1/2酵素。

<u>產生非-β-內醯胺酶之菌種肺炎鏈球菌之易感性分析法</u>:由組合使用藥劑時與單獨使用羥胺苄青黴素時對抗肺炎鏈球菌臨床單離株時之活體外活性進行比較，該肺炎鏈球菌臨床單離株分成青黴素易感性、中間抗性、及抗性菌種。其中有些菌種對青黴素及羥胺苄青黴素展現高度抗性，其MICs為4-8μg/ml之範圍內。如同具PBP抗性之病原菌，肺炎鏈球菌單離株之結果已證實抑制劑之存在並不影響羥胺

苄青黴素MICs。

羥胺苄青黴素單獨或所有β-內醯胺酶抑制劑在羥胺苄青黴素/抑制劑 2:1、7:1與14:1試驗比例之組合下，對21種青黴素抗性菌株(青黴素MICs為1-8μg/ml)之羥胺苄青黴素MIC_{50}與MIC_{90}分別為2與4μg/ml。最後，測試所有組合對抗一組21種青黴素中間抗性肺炎鏈球菌與12種青黴素易感性單離株之活性。這兩組菌株之所有MICs仍舊反映組合中之羥胺苄青黴素成分。中間抗性組之羥胺苄青黴素 MICs在0.03至1μg/ml之範圍內，易感性組之MICs為≤0.0156至0.06μg/ml。

分析法:此分析法係依據NCCLS文獻M7-A4(1997年12月與M100-S12, 2002)：厭氧性生長之細菌之稀釋抗微生物易感性試驗法-核准之標準法(Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically-Approved Standard)中說明之方法進行。

冷凍母液之製法:使流感嗜血菌生長在巧克力洋菜盤上生長。取菌落懸浮於嗜血菌試驗培養基中(HTM, Remel Diagnostics)，其已經使用1N NaOH調至pH7.4，並經無菌過濾。與50%甘油混合，形成終濃度為20%甘油。自羊血洋菜盤上刮下已生長之肺炎鏈球菌與卡塔莫拉氏菌，置入添加5%溶胞羊血之慕勒-亨頓(Mueller Hinton)營養液中。冷凍時，添加50%甘油至終濃度20%。所有物質於-70℃下冷凍。

藥物分析板之製法:採用96孔微滴定板稀釋藥物。所有藥物均稱取足量，以供製造4倍濃度之操作母液。藥物溶於DMSO

或其他適當溶劑中，溶於試驗培養基中，取100μl，在10個各含初體積100μl培養基之藥物孔中[第1至10行]進行一系列稀釋2倍，並留一個孔不接種[第11行]。第12行為不含藥物之細菌接種菌對照組。各孔之終體積為100μl。

流感嗜血菌之藥物分析板使用已使用1N NaOH調至pH7.4，並經無菌過濾之HTM進行一系列稀釋。另兩種菌種則於添加5%溶胞馬血之慕勒-亨頓營養液中稀釋。每次分析時均使用對照化合物操作。藥物分析板於-70℃下冷凍，使用前一天方解凍。

接種菌之生長:使流感嗜血菌於添加1%血紅素1% GCHI[巧克力洋菜盤]之慕勒-亨頓洋菜盤中，於5% CO_2培養箱中，於37℃下培養一夜。使肺炎鏈球菌與卡塔莫拉氏菌於添加5%溶胞羊血之慕勒-亨頓洋菜上，於相同條件下生長。

接種菌之製法:自洋菜盤上取下生長一夜之菌種，再懸浮於適當試驗培養基中。所有懸浮液均於分析當天使用流感嗜血菌之嗜血菌試驗培養基(HTM)營養液或補充陽離子之添加5%溶胞馬血之慕勒-亨頓營養液(用於肺炎鏈球菌與卡塔莫拉氏菌)，利用分光光度測定法調至標準OD，使混濁度相當於0.5 McFarland 標準懸浮液(約1至2 x 10^8 CFU/ml)。此懸浮液之OD_{625}為0.14。為了在孔中得到最終接種菌達2-7 x 10^5cfu/ml (終體積為200μl)，由McFarland母液進行下列稀釋法。

所有流感嗜血菌菌株均於HTM中稀釋1/100。

所有肺炎鏈球菌與卡塔莫拉氏菌均於補充陽離子之含

5%溶胞馬血之慕勒-亨頓營養液中稀釋1:100。

接種培養盤:取100μl稀釋之接種菌加至無菌試驗盤中各100μl稀釋之藥物中。試驗總體積為每孔200μl。取經過適當稀釋之菌株(如上述)加至各微滴定板之孔中，最終接種濃度為2至7 x 10^5 CFU/ ml。此等細胞接種菌均於零時間點，於隨機取樣之培養盤上計算孔中活細胞數，其作法很容易，可自孔中取出10μl，於10 ml無菌生理食鹽水中稀釋(稀釋1:1000)。渦轉混合後，取100μl稀釋之懸浮液塗覆在血液洋菜盤上或流感嗜血菌所使用之巧克力洋菜盤上。培養後，出現50個菌落，表示接種菌密度為5 x 10^5 CFU/ml。使用此培養物接種至微滴定盤中，畫線培養單一菌落，並觀察典型之菌落外型。

微滴定盤之培養:在盤上覆蓋塑膠蓋後，微滴定盤於控制濕度之塑膠培養箱中培養，以防止孔中蒸發。培養盤最多只可疊到4層高。所有微滴定盤均於有氧下，於35℃下培養24小時。

所有培養盤於培養24小時後讀數，僅當對照藥物對NCCLS型菌種流感嗜血菌ATCC 49766與肺炎鏈球菌ATCC 49619之數值在已公告之範圍內時(NCCLS, M100-S12, 2002)，才可記錄其結果。

實例 13

活體內效力

於吾等預備臨床感染模式中，測定6-β-HMPAS於活體內對β-內醯胺酶(+病原菌之β-內醯胺酶之抑制活性。此等所

選定之單離株之數據顯示6-β-HMPAS對來自呼吸道病原菌：流感嗜血菌與卡塔莫拉氏菌之β-內醯胺酶之活性一般相當於棒形酸鹽。

沙鼠之中耳炎模式:此模式中，由蒙古種沙鼠接受肺炎鏈球菌或流感嗜血菌之挑戰。取雌性蒙古種沙鼠(50-60 g)接種以體積50μl傳送之log 5-6 CPU之流感嗜血菌或肺炎鏈球菌至左鼓室大疱中。接種後18小時，開始以含在500 μL體積0.5%甲基纖維素媒劑中傳送之羥胺苄青黴素與前藥3(7:1)之組合進行劑量-效應療程(t.i.d.,2天)。於接種後第4天時，由細菌清除數據計算ED_{50}。

羥胺苄青黴素/前藥3與奧孟汀之組合對清除此病原菌同樣有效，其ED_{50}為6-10 mg/kg，且其7:1及14:1之組合之結果相等。以羥胺苄青黴素作為單一藥劑時則無法對抗此病原菌。

鼠類全身感染模式:此模式中，由雌性CF-1或DBA/2小白鼠(18-20 g)接受挑戰，其係經腹膜內接種懸浮於營養液(分別為10% 黏液素或3%啤酒酵母)中之log 2-6 CPU肺炎鏈球菌、金黃色葡萄球菌(S. aureus)或卡塔莫拉氏菌，傳送體積為500μL。接種後1小時，開始以含在200μL體積0.5%甲基纖維素媒劑中傳送之羥胺苄青黴素與前藥3(7:1)之組合進行劑量-效應療程(b.i.d.,1天)。於接種後第4天時，由存活率數據計算ED_{50}。

羥胺苄青黴素/前藥3之組合可有效保護小白鼠免於因這三種β-內醯胺酶 (+)菌株而死亡。一般而言，羥胺苄青黴

素/前藥3組合之活性相當於奧孟汀(亦即對流感嗜血菌具有同等效力，且對卡塔莫拉氏菌之效力稍低)。7:1之組合通常比14:1之組合更有效。對皮膚及皮膚結構病原菌金黃色葡萄球菌、肺炎克雷伯氏菌與大腸桿菌之數據亦包括在下表中。

鼠類肺炎模式:此模式中，使雌性CF-1(18-20 g)經傳送體積為40μl之log 5-6 CFU肺炎鏈球菌，於鼻內接種，接種挑戰後18小時，開始以含在200μL體積0.5%甲基纖維素媒劑中傳送之羥胺苄青黴素與前藥3(7:1)之組合進行劑量-效應療程(b.i.d.,2天)。於接種後第10天時，由存活率數據計算ED_{50}。

羥胺苄青黴素、羥胺苄青黴素/前藥3及奧孟汀可有效對抗青黴素抗性肺炎菌株(PD_{50}為22-25 mg/kg)及對抗青黴素易感性肺炎菌株(PD_{50}為2.7-3.3 mg/kg)。由於青黴素抗性肺炎菌株中沒有β-內醯胺酶，因此羥胺苄青黴素之活性沒有因6-β-HMPAS或棒形酸鹽之存在而改善(亦未產生擷抗)。青黴素抗性菌株之PD_{50}高於青黴素易感性菌株之結果與MIC較高之結果一致。

總言之，於沙鼠中耳炎迷你及小白鼠腹膜炎模式中，以一對一之方式，由羥胺苄青黴素/前藥 3之組合(7:1及14:1)經口投藥之活體內活性與奧孟汀比較。羥胺苄青黴素/前藥3之組合於此等模式中，對呼吸道病原菌(流感嗜血菌、卡塔莫拉氏菌與肺炎鏈球菌)及皮膚與軟組織病原菌(金黃色葡萄球菌、大腸桿菌及肺炎克雷伯氏菌)之活體內活性相當

於奧孟汀。羥胺苄青黴素/前藥3之活體內效力與此組合以2:1之比例於MIC分析法中測得之活體外活性一致。

對抗呼吸道與皮膚及皮膚結構病原菌之活體內抗細菌活性(經口投藥)(ED50, mg/kg)

病原菌	羥胺苄青黴素	前藥 3	羥胺苄青黴素/前藥3 (7/1比例)	奧孟汀 (7/1比例)
		沙鼠中耳炎模式		
流感嗜血菌 (54A1218)[2]	>50	>25	8.9/1.3[1]	9.9/1.4
		鼠類全身模式		
流感嗜血菌 (54A1218)	>100	>25	9.8/1.4	13.4/1.9
卡塔莫拉氏菌 (87A1115)	>100	>100	37.6/5.4	12.6/1.8
金黃色葡萄球菌 (01A0400)	>100	>12.5	30.6/4.4	17.8/2.5
肺炎克雷伯氏菌 (53A0031)	>200	>25	20.2/2.9	13.0/1.8
大腸桿菌 (51A0257)	>200	>100	62.2/8.9	146/20.8
		小白鼠肺炎模式		
肺炎鏈球菌 (02J1095)	25	>25	21.8/3.1	21.8/3.1
肺炎鏈球菌 (02J1016)	3.3	>25	2.66/0.38	2.66/0.38

[1]第一個數值代表羥胺苄青黴素濃度，而第二個數值指β-內醯胺酶抑制劑濃度。

[2]括號中數字代表Pfizer藥廠菌株之ID編號。

對抗呼吸道與皮膚及皮膚結構病原菌之活體內抗細菌活性(經口投藥)(ED50, mg/kg)

病原菌	羥胺苄青黴素	前藥 3	羥胺苄青黴素/前藥3 (14/1比例)	奧孟汀 (14/1比例)
沙鼠中耳炎模式				
流感嗜血菌 (54A1218)	>50	>25	10.5/0.73[1]	5.8/0.4
鼠類全身模式				
流感嗜血菌 (54A1218)	>100	>25	12.3/0.88	37.9/2.7
卡塔莫拉氏菌 (87A1115)	>100	>100	42.5/3.0	23.6/1.7
金黃色葡萄球菌 (01A0400)	>100	>12.5	94.2/6.7	24.4/1.7
肺炎克雷伯氏菌 (53A0031)	>200	>25	23.4/1.7	23.4/1.7
大腸桿菌 (51A0257)	>200	>100	134/9.6	196/14
小白鼠肺炎模式				
肺炎鏈球菌 (02J 1095)	25	>25	23.6/1.7	17.8/1.3

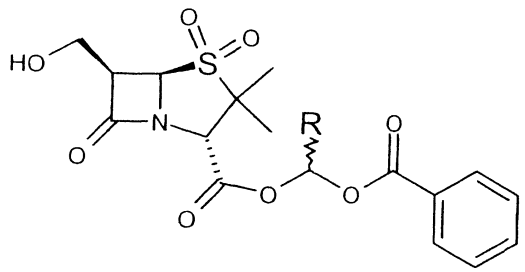
肺炎鏈球菌 (02J1016)	3.3	>25	1.6/0.11	1.85/0.12

[1]第一個數值代表羥胺苄青黴素濃度，而第二個數值指β-內醯胺酶抑制劑濃度。

[2] 括號中數字代表Pfizer藥廠菌株之ID編號。

伍、中文發明摘要：

本發明係揭示一種如下結構式之6-β-羥甲基青黴烷酸碸之前藥



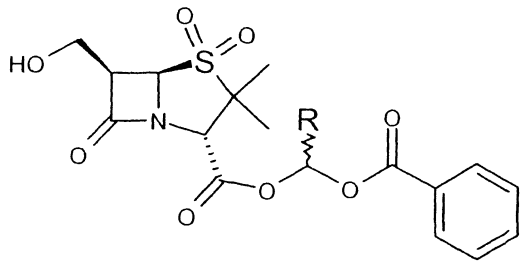
其中R為H或甲基，及其溶合物。亦揭示包含本發明前藥、或其溶合物、可視需要選用之β-內醯胺抗生素及至少一種醫藥上可接受之載劑之醫藥組合物。

並揭示一種提高β-內醯胺抗生素於哺乳動物體內醫療有效性之方法，其係投予有效量之β-內醯胺抗生素與提高其有效性之用量之本發明前藥，或其溶合物。

此外，並揭示一種治療哺乳動物之細菌感染之方法，其係對有此需要之哺乳動物投予醫療有效量之本發明醫藥組合物。

陸、英文發明摘要：

Prodrugs of 6-β-hydroxymethylpenicillanic acid sulfone having the structure



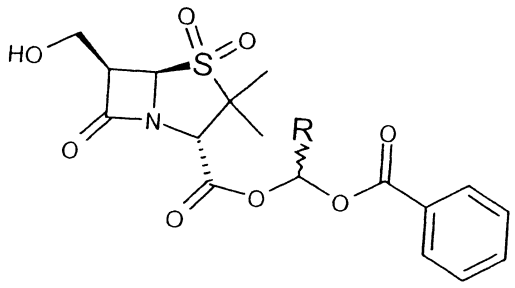
wherein R is H or methyl, and solvates thereof, are disclosed. Also disclosed are pharmaceutical compositions comprising a prodrug of the present invention, or a solvate thereof, an optional beta-lactam antibiotic and at least one pharmaceutically acceptable carrier.

Further disclosed is a method for increasing the therapeutic effectiveness of a beta-lactam antibiotic in a mammal by administering an effective amount of a beta-lactam antibiotic and an effectiveness-increasing amount of a prodrug of the present invention, or a solvate thereof.

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

拾、申請專利範圍：

1. 一種如下結構式之前藥，



其中R為H或甲基，

及其溶合物。

2. 根據申請專利範圍第1項之前藥，其係選自下列組成之群中：

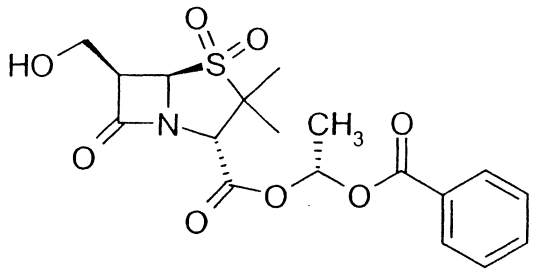
4-硫雜-l-氮雜雙環[3.2.0] 庚烷-2-羧酸,6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代- ,-1-(苯甲醯氧基)-甲酯,4,4-二氧化物(2S,5R,6R);

4-硫雜-l-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸,6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代- , -1-(苯甲醯氧基)-乙酯,4,4-二氧化物(2S,5R,6R);

4-硫雜-l-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸, 6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,(1R)-1-(苯甲醯氧基)乙酯,4,4-二氧化物(2S,5R,6R);與

4-硫雜-l-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸,6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代- ,(1S)-1- (苯甲醯氧基)乙酯, 4,4-二氧化物(2S,5R,6R)。

3. 一種如下結構式之前藥，



及其溶合物。

4. 一種醫藥組合物，其包含:

(a)根據申請專利範圍第1項之前藥或其溶合物;及

(b)至少一種醫藥上可接受之載劑、賦形劑或稀釋劑。

5. 根據申請專利範圍第4項之醫藥組合物，其另包含β-內醯胺抗生素。

6. 根據申請專利範圍第5項之醫藥組合物，其中該β-內醯胺抗生素為羥胺苄青黴素。

7. 根據申請專利範圍第6項之醫藥組合物，其中該前藥為4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸，6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,(1R)-1-(苯甲醯氧基)乙酯，4,4-二氧化物(2S,5R,6R)或其溶合物。

8. 一種醫藥組合物，其包含:

(a) 4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-,羧酸，6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,(1R)-1-(苯甲醯氧基)乙酯，4,4-二氧化物(2S,5R,6R)，或其溶合物，

(b) 羥胺苄青黴素，及

(c) 醫藥上可接受之載劑、賦形劑或稀釋劑。

9. 一種提高β-內醯胺抗生素於哺乳動物體內醫療有效性之方法，其包括對該哺乳動物投予有效量之β-內醯胺抗生

素及提高其有效性之用量之根據申請專利範圍第1項之前藥或其溶合物。

10. 根據申請專利範圍第9項之方法，其中該β-內醯胺抗生素為羥胺苄青黴素。

11. 根據申請專利範圍第9至10項之方法，其中該前藥為4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸,6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代-,(1R)-1-(苯甲醯氧基)乙酯,4,4-二氧化物(2S,5R,6R)或其溶合物。

12. 一種治療哺乳動物細菌感染之方法，其係對該哺乳動物投予有效量之β-內醯胺抗生素及提高其有效性之用量之根據申請專利範圍第1項之前藥或其溶合物。

13. 根據申請專利範圍第12項之方法，其中該β-內醯胺抗生素為羥胺苄青黴素。

14. 根據申請專利範圍第12至13項之方法，其中該前藥為4-硫雜-1-氮雜雙環[3.2.0]庚烷-2-羧酸,6-(羥甲基)-3,3-二甲基-7-氧代- ,(1R)-1-(苯甲醯氧基)乙酯，4,4-二氧化物(2S,5R,6R)，或其溶合物。

15. 一種治療哺乳動物細菌感染之方法，其係對有此需要之哺乳動物投予醫療有效量之根據申請專利範圍第4、5或6項之醫藥組合物。

柒、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第（　　）圖。

(二)本代表圖之元件代表符號簡單說明：

捌、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

