

MINISTERIO DE INDUSTRIA
REGISTRO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL

20 JUL. 1978

ES

NUMERO

466.053

AI



ESPAÑA

Concedido el Registro de acuerdo con los datos que figuran en la presente descripción y según el contenido de la Memoria adjunta.

FECHA DE PRESENTACION

17-1-1978

PATENTE DE INVENCION

30 PRIORIDADES:	32 FECHA:	33 PAIS:
31 NUMERO: 1905/77	18-1-1977	Gran Bretaña

47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL C07D/AG1K	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
------------------------	---	--------------------------------------

54 TITULO DE LA INVENCION

"UN PROCEDIMIENTO DE PREPARACION DE ACIDOS AMINO-ESPIRO
LOXA (O TIA) CICLOALCANO-PENAM-CARBOXILICOS"

71 SOLICITANTE (S)

UCB, S.A. (Cas 16-16-20
DTB/433641)

DOMICILIO DEL SOLICITANTE

4, chaussée de Charleroi, Saint-Gilles-lez-Bruxelles, Bélgica

72 INVENTOR (ES)

Ludovic RODRIGUEZ, Jacques LECLERQ, Pierre YKMAN y Eric COSSEMENT

73 TITULAR (ES)

74 REPRESENTANTE

DON ALBERTO DE ELZABURU MARQUEZ (P.-67.825)

POOR
QUALITY

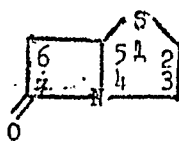
1 - en la que

Z representa hidrógeno, un ión de metal alcalino o un grupo protector de la función carboxílica, por ejemplo un grupo bencilo,

5 X representa un átomo de azufre o de oxígeno, y n y m son independientemente entre sí los números enteros 1 ó 2, preferiblemente 2.

10 Dada la existencia de tres centros asimétricos en C_3 , C_5 y C_6 , estos compuestos pueden presentarse en forma de una mezcla de 8 isómeros que pueden agruparse en 4 diastereoisómeros racémicos. La cinética de las reacciones conduce de hecho a la formación de solamente 3 de los racémicos, alfa, beta y gamma. El compuesto racémico alfa, cuya configuración relativa corresponde a la de la penicilina, se aísla de modo preferencial de la mezcla de reacción.

15 En la presente Memoria descriptiva, la nomenclatura empleada es la presentada por R.J. STODLEY en "Progress in Organic Chemistry", 8, 1973, 102-103. En particular se denomina "penam" el núcleo siguiente:

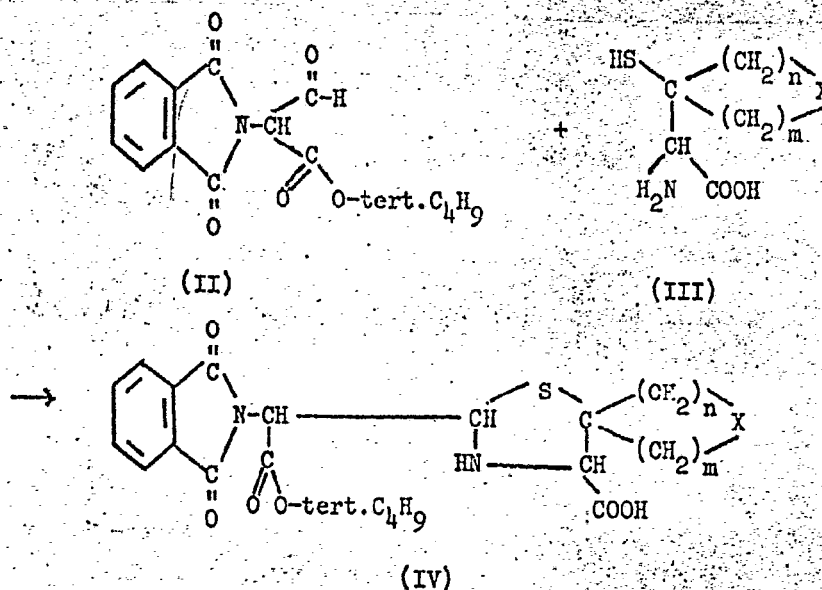


25

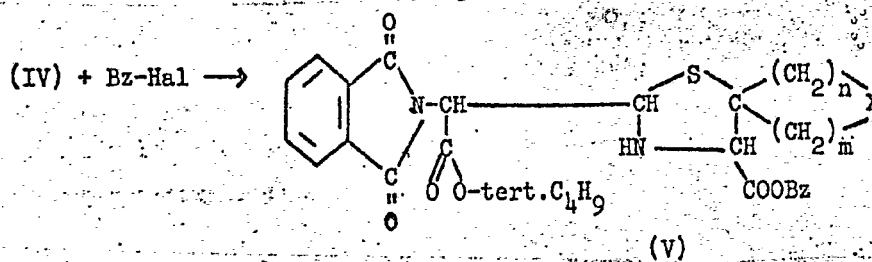
Los compuestos de fórmula general (I) se preparan según un procedimiento caracterizado por (1) hacer reaccionar 2-formil-2-ftalimido-acetato de terc-butilo de fórmula (II) con un ácido alfa-amino-mercapto-oxa (ó tia)-cicloalcanoacético de fórmula (III), para ob

30

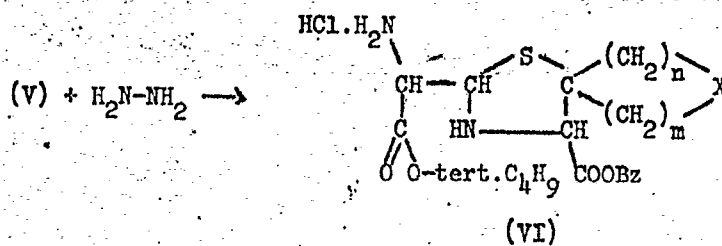
1 tener el isómero alfa de un alfa-ftalimido-ditia (u -
 5 oxa-tia)azaespiroalcanoacetato de terc-butilo de fórmu
 la (IV), según la ecuación:



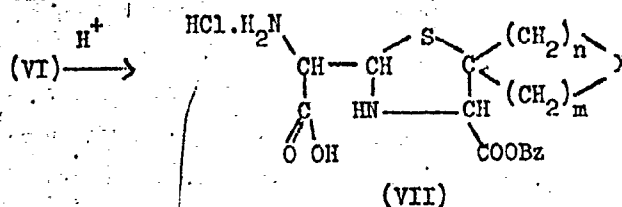
20 (2) a partir del cual se prepara el éster bencílico de fórmu
 mula (V) por reacción con un halogenuro de bencilo, se
 25 gún la ecuación



- 1 (3) sometiéndose después el éster bencílico de fórmula --
 (V) a una hidrazinólisis que conduce a un alfa-amino-
 -ditia (u oxa-tia)-azaespiroalcanoacetato de terc-bu-
 5 tilo de fórmula (VI) en forma de su clorhidrato, se-
 gún la ecuación:

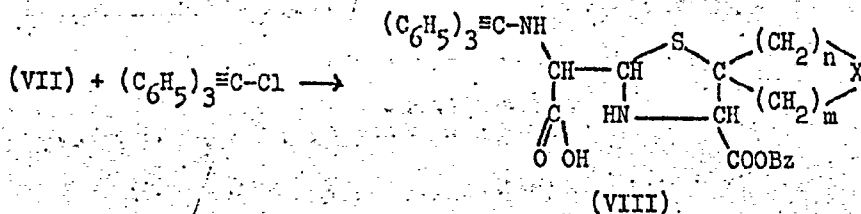


- 15 (4) se somete después el compuesto de fórmula (VI) a una
 hidrólisis ácida parcial para obtener un ácido-alfa-
 -amino-ditia (u oxa-tia)-azaespiroalcanoacético corres-
 pondiente de fórmula (VII), en forma de su clorhidra-
 to, según la ecuación:



- 25 (5) compuestos que, por reacción con cloruro de tritilo -
 da un ácido alfa-tritilaminoditia (u oxa-tia)-azaespi-
 roalcanoacético de fórmula (VIII), según la ecuación:
-
- 30

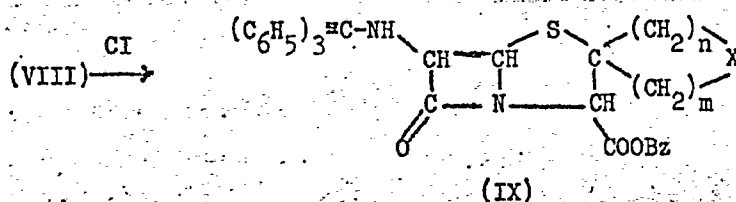
1



5

(6) se cicliza después un compuesto de fórmula (VIII) con una carbodiimida (en abreviatura CI) para obtener un tritilaminoespiro[oxa (ó tia)cicloalcanopenam]-carboxilato de bencilo de fórmula (IX), según la ecuación

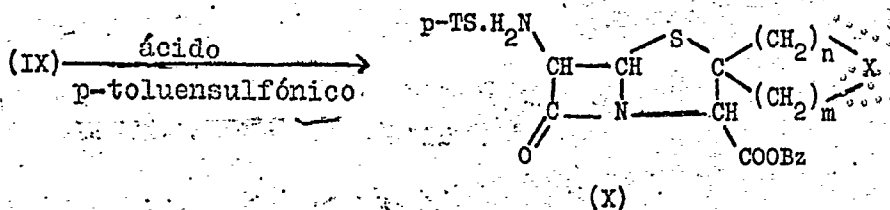
10



15

(7) compuesto que se trata después con ácido p-toluensulfónico para obtener el p-toluensulfonato de un amino-espiro[oxa (ó tia)cicloalcano-penam]-carboxilato de bencilo de fórmula (X), según la ecuación:

20



25

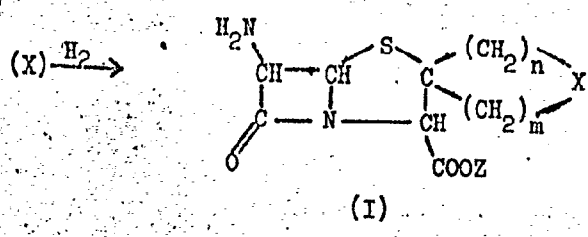
(8) compuesto que se somete finalmente a una hidrogenolisis para obtener un ácido aminoespiro[oxa (ó tia)cicloalcano-penam]-carboxílico de fórmula (I), según la

30

1

ecuación:

5



10

representando en estas fórmulas
 Bz, el grupo bencilo,
 Z, un átomo de hidrógeno,
 p-TS, el ácido p-toluensulfónico,
 Hal un átomo de halógeno, por ejemplo un átomo de --
 bromo,
 X, un átomo de oxígeno o azufre, y
 n y m, independientemente uno de otro, los números --
 enteros 1 ó 2.

15

La preparación del 2-formil-2-ftalimido-acetato de -
 terc-butilo de fórmula (III) está descrita en la biblio--
 grafía (SHEEHAN y colab., J. Am. Chem. Soc. 76 (1954), --
 158-60).

20

Los compuestos de partida de fórmula (III), que son
 igualmente compuestos nuevos, pueden prepararse por ejem-
 plo según el procedimiento siguiente:

25

(1) se condensa un 2-isocianoacetato de R' de fórmula (XI)
 con una oxa (ó tia)cicloalcanona de fórmula (XII), por
 medio de una suspensión de hidruro de sodio en tetrahi-
 drofurano (THF), para obtener un alfa-formamido-oxa -
 (ó tia)cicloalcano- Δ^α -acetato de R' de fórmula (XIII),
 según la ecuación

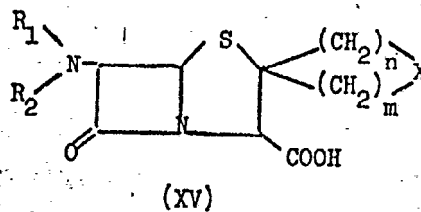
30

m y n, independientemente uno de otro, son los números enteros 1 ó 2.

Es evidente que se pueden separar las dos formas enantiómeras de los compuestos de fórmula (III), lo que conduce directamente al diastereoisómero (IV) buscado en estado puro.

Aplicación de los compuestos de la invención

El interés de los compuestos de la presente invención reside en el hecho de que conducen, por reacciones sencillas y conocidas por sí mismas, a nuevas familias de compuestos análogos a las penicilinas. Estos compuestos se diferencian estructuralmente de las penicilinas tradicionales únicamente en la presencia del heterociclo monocíclico saturado oxigenado o sulfurado en posición 2, en lugar de un sustituyente de gem-dimetilo. Estos nuevos compuestos responden a la fórmula general (XV) siguiente:



en la que X representa un átomo de azufre o de oxígeno o el grupo sulfenilo, y

m y n son independientemente uno de otro los números enteros 1 ó 2.

Estos compuestos, su procedimiento de preparación y su aplicación son objeto de una solicitud de patente presentada conjuntamente por la Solicitante.

1 Los sustituyentes R_1 y R_2 son los sustituyentes tra-
dicionales conocidos en la química de las penicilinas, ta-
les como los indicados por ejemplo en ULLMANN'S ENCYKLOPÄDIE
der TECHNISCHEN CHEMIE; 4ª edic., vol 7; 1974, 651 y 652.

5 Como ejemplo, se pueden obtener, a partir de los com-
puestos de la invención, los ácidos de fórmula (XV) en --
los que R_1 representa hidrógeno y R_2 representa un radical
elegido entre los radicales 2-fenilacetilo, 2,6-dimetoxi-
benzoilo, 2-amino-2-fenilacetilo, 5-metil-3-fenil-4-isoxa-
10 zolcarbonilo, 2-carboxi-2-fenilacetilo, o bien R_1 y R_2 re-
presentan conjuntamente un radical divalente R_3 , preferi-
blemente el radical (hexahidro-1H-azepin-1-il)metileno, -
así como sus sales no tóxicas farmacéuticamente aceptables.

15 Los compuestos de fórmula (XV) en los que R_1 repre-
senta hidrógeno y R_2 un radical seleccionado entre los ra-
dicales citados anteriormente, se obtienen sometiendo los
compuestos de la presente invención a una reacción de aci-
lación, con un halogenuro de un ácido monocarboxílico de
fórmula $R_2\text{Hal}$ o uno de sus equivalentes funcionales, te-
20 niendo R_2 el mismo significado que anteriormente.

 Así, para los radicales R_2 citados anteriormente, --
por ejemplo, se puede emplear como agente de acilación el
cloruro de fenilacetilo, el cloruro de 2,6-dimetoxibenzoí-
lo, el cloruro de 5-metil-3-fenil-4-isoxazolcarbonilo, el
25 cloruro de 2-fenilglicilo y el cloruro de 2-carboxi-2-fe-
nilacetilo.

 Como ejemplos no limitativos de equivalentes funciona-
les de los halogenuros de ácido anteriores, que sirven de
agentes de acilación para el radical amino primario de los
30 ácidos aminoespиро [oxa (ó tia)cicloalcano-penam]-carboxíli

1 -cos según la presente invención, se citarán particularmen
te los anhídridos de ácidos, comprendidos en ellos los --
anhídridos mixtos y en particular los anhídridos mixtos --
5 formados con ácidos más fuertes, como los monoésteres ali
fáticos inferiores del ácido carbónico, los ácidos alcohol
sulfónicos y arilsulfónicos y los ácidos con impedimento
estérico más marcado como el ácido difenilacético. Ade--
más puede emplearse una azida de ácido o un éster o tioés
10 ter activo (por ejemplo con p-nitrofenol, 2,4-dinitrofe--
nol, tiofenol o ácido tioacético), pero como variante el
propio ácido libre puede condensarse con los ácidos amino--
-espiro [oxa(ó tia)cicloalcanopenan]-carboxílicos, una vez
que el ácido libre haya sido activado por reacción con --
cloruro de (clorometilen)dimetilamonio (véase la patente
15 Británica 1.008.170, y NOVAK y WEICHET, *Experientia*, XXI,
6, 1965, 360), o por medio de enzimas, o con un N,N'-car-
bonildiimidazol o un N,N'-carboniditriazol (véase la pá-
tente Británica 967.108), o con una carbodiimida, por --
ejemplo la N,N'-díciclohexilcarbodiimida, N,N'-diisopro--
20 pilcarbodiimida o N-ciclohexil-N'-(2-morfolinoetil)-carbo
diimida (véase SHEEHAN y HESS, *J. Am. Chem. Soc.*, 77, (1955),
1067) o una alquinilamina (BUIJLE y VIEHE, *Angew. Chem.* --
International Edition, 3, 1964, 582), o una ceteno-imina
(STEVENSON y MUNK, *J. Am. Chem. Soc.*, 80, 1958, 4065), o una
25 sal de isoxazolio (WOODWARD y colab., *J. Am. Chem. Soc.*, --
83, (1961), 1010). Se pueden emplear también, en lugar --
de los halogenuros de ácidos, las azolidas correspondien-
tes.

30 Cuando el compuesto de partida empleado para preparar
los compuestos de fórmula (XV) es un ácido amino-espiro-

1 [oxa (ó tia)cicloalcano-penam]-carboxílico de fórmula (I)
en el que Z representa un grupo protector de la función -
carboxilo, preferiblemente un radical bencilo, el procedi-
5 miento de síntesis de los compuestos de fórmula (XV) com-
prende una segunda etapa que consiste en una hidrogenoli-
sis de los ésteres obtenidos a los ácidos correspondientes.

A este respecto, hay que indicar que los compuestos
de partida para sintetizar los compuestos de fórmula (XV)
pueden ser indistintamente los ácidos amino-espiro [oxa (ó
10 tia)cicloalcano-penam]-carboxílicos según la invención,
sus sales, o incluso sus ésteres. Sin embargo se ha podi-
do comprobar que era preferible, en cuanto al rendimiento,
trabajar en ciertos casos a partir de los ésteres, y en -
otros casos a partir de los propios ácidos libres. En -
15 particular, cuando R₂ representa los radicales 2-fenilacé-
tilo y 2-amino-2-fenilacetilo, es preferible partir del -
éster, preferiblemente bencilico, del ácido correspondien-
te, y después someter el éster así obtenido a una reacción
de debencilación para obtener el ácido libre de fórmula
20 (XV) deseado. Por el contrario, cuando R₂ representa el
radical 5-metil-3-fenil-4-isoxazolcarbonilo, es preferi-
ble partir del ácido libre correspondiente. Sin embargo,
no hay que olvidar que los ácidos amino-espiro [oxa (ó tia)
cicloalcano-penam]-carboxílicos se obtienen en todos los
25 casos a partir de los ésteres correspondientes, pues es
necesario proteger temporalmente la función ácido en el
curso de la síntesis. Dicho de otro modo, la etapa de --
transformación del éster en ácido, que puede ser a veces
necesaria para obtener los compuestos de fórmula (XV), no
30 es una etapa suplementaria, ya que en realidad está sim--

1. plemente desplazada en el proceso general de síntesis; en ciertos casos se efectúa antes de la reacción de acilación, y en ciertos casos después de esta reacción de acilación.

5 Por "sales no tóxicas farmacéuticamente aceptables" se entienden particularmente las sales de metales, como el sodio, potasio, calcio y aluminio, las sales de amonio, y las sales de aminas como las trialcohilaminas, particularmente trietilamina, procaína, dibencilamina, N-bencil-beta-fenetilamina, 1-afenamina, N,N'-dibencil-etilendiamina, deshidroabietilamina, N,N'-bis-deshidroabietil-etilendiamina, las N-(alcoholo inferior)piperidinas, como la N-etilpiperidina, y de modo más general las sales ya conocidas para las penicilinas G y V (véase ULLMANN'S ENCYCLOPAEDIA, loc. cit. pag. 653). Estas sales pueden obtenerse a partir de los ácidos correspondientes por métodos conocidos por sí mismos.

15 Cuando en la fórmula (XV) el radical R_2 es por ejemplo el radical 2-amino-2-fenilacetilo, los compuestos pueden presentarse igualmente en forma de sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables, como por ejemplo los ácidos acético, cítrico, succínico, ascórbico, clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico o fosfórico.

20 Los compuestos de fórmula (XV) en los que R_1 y R_2 representan un radical divalente R_3 , se obtienen a partir de compuestos de la invención por reacción con un derivado activado de un compuesto de fórmula $R_3=O$, teniendo R_3 el mismo significado que anteriormente. Así por ejemplo, cuando el radical R_3 es el radical (hexahidro-1H-azepin-1-il)metileno, se hace reaccionar amino-espiro[oxa (6 tía)cicloalcano-penam]-carboxílico, una de sus sales o uno de

1 - sus ésteres, con un derivado activado del hexahidro-1H-aze-
pin-1-carboxaldehído. Los derivados activados de los com-
puestos $R_3=O$ son generalmente el cloruro de amida corres-
pondiente obtenido por acción del cloruro de oxalilo, o -
5 incluso el complejo obtenido por acción del sulfato de di-
metilo.

Los compuestos de fórmula (XV), así como sus sales
no tóxicas farmacéuticamente aceptables, se emplean como
agentes antibacterianos, como suplementos dietéticos para
10 la alimentación de animales, y como agentes terapéuticos
para los animales, e igualmente para el hombre en el tra-
tamiento de las enfermedades infecciosas provocadas por -
bacterias Gram-positivas o Gram-negativas.

Estos compuestos tienen, en efecto, un espectro muy
15 amplio de actividad antibacterina, tanto contra bacterias
Gram-positivas como Gram-negativas, pero son particular-
mente interesantes para combatir las cepas Gram-positivas
productoras de beta-lactamasas.

Propiedades farmacológicas

20 Se han efectuado numerosos ensayos comparativos con-
cernientes a la actividad biológica intrínseca de los com-
puestos de fórmula (XV) frente a diversas cepas bacteria-
nas del tipo Gram-positivo o Gram-negativo. Los productos
de referencia de los ensayos comparativos son respectiva-
25 mente la penicilina G, la oxacilina, ampicilina, meticili-
na y el ácido 6-aminopenicilánico. Se dan a continuación
algunas indicaciones sobre el origen y las características
de las cepas bacterianas empleadas.

A. Cepas bacterianas GRAM POSITIVAS

30 - STAPHYLOCOCCUS AUREUS 6538

18018

1 - Se trata de una variedad Gram-positiva particularmen-
te sensible a las penicilinas y que presenta un mecanismo
de resistencia poco importante. Esta cepa de estafilococo
5 es pues representativa de una sensibilidad máxima de la -
especie.

- STAPHYLOCOCCUS AUREUS 52149

Se trata de una variedad Gram-positiva cuya sensibili-
10 dad intrínseca del receptor es equivalente a la de la -
cepa anterior, pero que produce una beta-lactamasa típica
de la especie que la hace resistente a todas las penicili-
nas sensibles a la hidrólisis.

B. Cepas bacterianas GRAM NEGATIVAS

- ESCHERICHIA COLI B.

Se trata de una cepa clásica de colección de Escheri-
15 chia Coli, que produce muy poca beta-lactamasa (de tipo I)
y es por tanto muy sensible a las penicilinas. En lo que
concierno a la clasificación de las beta-lactamasas, se -
emplea aquí la propuesta por M. H. RICHMOND y R.B. SYKES
en Advances in Microbial Physiology, 9 (1973), páginas 43
y 45.

20 - ESCHERICHIA COLI B-AMPI R.

Se trata de un mutante de la cepa anterior, creado -
por la solicitante. Esta cepa, al contrario que la otra,
es hiperproductora de beta-lactamasa de tipo I, ya produ-
cida por la cepa madre Escherichia Coli B. Presenta una
25 resistencia mayor a las penicilinas que parece relaciona-
da directamente con la producción de la beta-lactamasa.

- ESCHERICHIA COLI K 12-44.

Se trata de un mutante de la Escherichia Coli K 12,
30 cepa madre de referencia típica de la especie. Este mu-
tante no es productor de beta-lactamasa.

1

- ESCHERICHIA COLI K 12-44 S.

Se trata de un mutante pleiotrópico de la Escherichia Coli K 12-44, no productor de beta-lactamasa, creada por la solicitante. Es muy sensible a las penicilinas por -- hiper-permeabilidad.

5

- ESCHERICHIA COLI K 12-44 R.

Esta cepa es un mutante pleiotrópico de la Escherichia Coli k 12-44, creado por la solicitante. No es productor de beta-lactamasa, y presenta una resistencia a las penicilinas, seguramente por modificación de la permeabilidad de las envolturas.

10

C. Resultados de los ensayos comparativos de actividad

Para un cierto número de compuestos de fórmula (XV) preparados a partir de los compuestos de la invención, se ha determinado la concentración mínima inhibitoria (abreviadamente MIC) según el procedimiento que se describe a continuación.

15

Los productos a ensayar se introducen en concentraciones crecientes en un medio de cultivo de agar-agar en cajas de Petri. Se emplea un inoculador múltiple para depositar simultáneamente gotas (es decir en total 10 microlitros) de inóculo (suspensión de alrededor de 10^5 bacterias por ml) en la superficie del medio. Tras la incubación a 37°C durante 24 horas, se observa el crecimiento de las bacterias. Por definición, la MIC está expresada como la concentración mínima de compuesto ensayado que -- inhibe la multiplicación de las bacterias. En los resultados que siguen, sin embargo, la MIC se establece igual a 1 para los productos de referencia, y las cifras de actividad indicadas para los compuestos de fórmula (XV) en-

20

25

30

18018

1 sayados son por tanto valores relativos. Esta presenta-
 ción de los resultados es la más correcta y la más repro-
 ducible, ya que, para una misma cepa bacteriana, se pue-
 5 den observar valores de MIC diferentes si se miden en mo-
 mentos diferentes. Esto está relacionado con las variacio-
 nes "estacionales" de las cepas y de su medio nutritivo.

Los compuestos que se han ensayado son los siguien-
 tes:

- 10 - Acido 6-(2"-fenilacetamido)-2',3',5',6'-tetrahidro-espi-
 ro [penam-2,4'-[4H]piran]-3-carboxílico (sal potásica) -
 (fórmula XV: n=m=2, X=O, R₁=H, R₂=2-fenilacetilo) (Com-
 puesto A).
- 15 - Acido 6-(2"-amino-2"-fenilacetamido)-2',3',5',6'-tetrahi-
 dro-espiro-penam-2,4'-[4H]-piran]-3-carboxílico (fórmu-
 la XV: n=m=2, X=O, R₁=H, R₂=2-amino-2-fenilacetilo) (Com-
 puesto B).
- 20 - Acido 6-(5"-metil-3"-fenil-4"-isoxazolcarboxamido)-2',3',
 5',6'-tetrahidro-espiro-[penam-2,4'-[4H]piran]-3-carbo-
 xílico (sal sódica) (fórmula XV: n=m=2, X=O, R₁=H, R₂=
 5-metil-3-fenil-4-isoxazolcarbonilo) (Compuesto C).
- Acido 6-amino-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro [penam-2,4'-
 -[4H]piran]-3-carboxílico (fórmula I: n=m=2, X=O, Z=H)
 (Compuesto D).
- 25 - Acido 6-(2"-fenilacetamido)-2',3',5',6'-tetrahidro-espi-
 ro [penam-2,4'-[4H]-tiopiran]-3-carboxílico (sal potásica)
 (fórmula XV: n=m=2, X=S, R₁=H, R₂=2-fenilacetilo) (Com-
 puesto E).
- 30 - Acido 6-(2"-amino-2"-fenilacetamido)-2',3',5',6'-tetrahi-
 dro-espiro-[penam-2,4'-[4H]tiopiran]-3-carboxílico (fór-
 mula XV: n=m=2, X=S, R₁=H, R₂=2-amino-2-fenilacetilo) --

1

(Compuesto F).

- Acido 6-(2",6"-dimetoxibenzamido)-2',3',5',6'-tetrahi--
dro-espiro[penam-2,4'-[4H]-tiopiran]-3-carboxilico (sal
sódica) (fórmula XV: n=m=2, X=S, R₁=H, R₂=2,6-dimetoxi-
benzoilo) (Compuesto G).

5

- Acido 6-(2"-fenilacetamido)-2',3',5',6'-tetrahidro-espi-
ro[penam-2,4'-[4H]-tiopiran]-3-carboxilico-1-óxido (sal
potásica) (Fórmula XV: n=m=2, X=SO, R₁=H, R₂=2-fenila--
cetilo) (Compuesto H).

10

- Acido 6-(2"-amino-2"-fenilacetamido)-2',3',5',6'-tetrahi-
dro-espiro-[penam-2,4'-[4H]-tiopiran]-3-carboxilico 1-óxi-
do (fórmula XV: n=m=2, X=SO, R₁=H, R₂=2-amino-2-fenilace-
tilo) (Compuesto J).

a) Ensayos comparativos con la penicilina G

15

Cepa empleada	Penicilina G	Compuesto A	Compuesto E	Compuesto H
S.AUREUS 6538	1	2	10	1
S.AUREUS 52149	1	2	1	1
E.COLI B	1	4	5	1
E.COLI B AMPI-R	1	2	> 2	-

20

b) Ensayos comparativos con la oxacilina

25

Cepa empleada	Oxacilina	Compuesto C
S.AUREUS 6538	1	2
S.AUREUS 52149	1	1

30

18018

1 c) Ensayos comparativos con la ampicilina

	Cepa empleada	Ampicilina	Compuesto B	Compuesto F	Compuesto J
	S.AUREUS 6538	1	1	2	2
5	E.COLI B	1	3,5	7	1
	E.COLI B AMPI-R	1	1	3	2
	E.COLI K 12-44	1	3,5	10	3
10	E.COLI K 12-44S	1	1,9	15	3
	E.COLI K 12-44R	1	1,5	>1,5	2

d) Ensayos comparativos con el ácido 6-amino-penicilánico

	Cepa empleada	Acido penicilánico	Compuesto D
15	S.AUREUS 6538	1	0,5
	S.AUREUS 52149	1	0,5
	E.COLI B	1	0,3
	E.COLI B AMPI-R	1	0,3

e) Ensayos comparativos con la meticilina

	Cepa empleada	Meticilina	Compuesto G
20	S.AUREUS 52149	1	0,5

25 Se deduce de estos resultados que los compuestos de fórmula (XV) muestran actividades sensiblemente de igual orden que las de las penicilinas tradicionales correspondientes. Sin embargo, el interés esencial de estos compuestos se demostrará por los ensayos siguientes. En efecto, los compuestos de fórmula (XV) se distinguen de las penicilinas tradicionales por una mayor resistencia a las beta-lactamasas, que son enzimas desactivantes que hi-

30 drolizan la función lactama del núcleo penicilánico.

1

Esta propiedad se demuestra por los resultados de una cinética de hidrólisis comparada de la ampicilina y del compuesto B frente a dos beta-lactamasas de bacterias Gram-negativas. Estos resultados se resumen en la tabla que sigue:

5

10

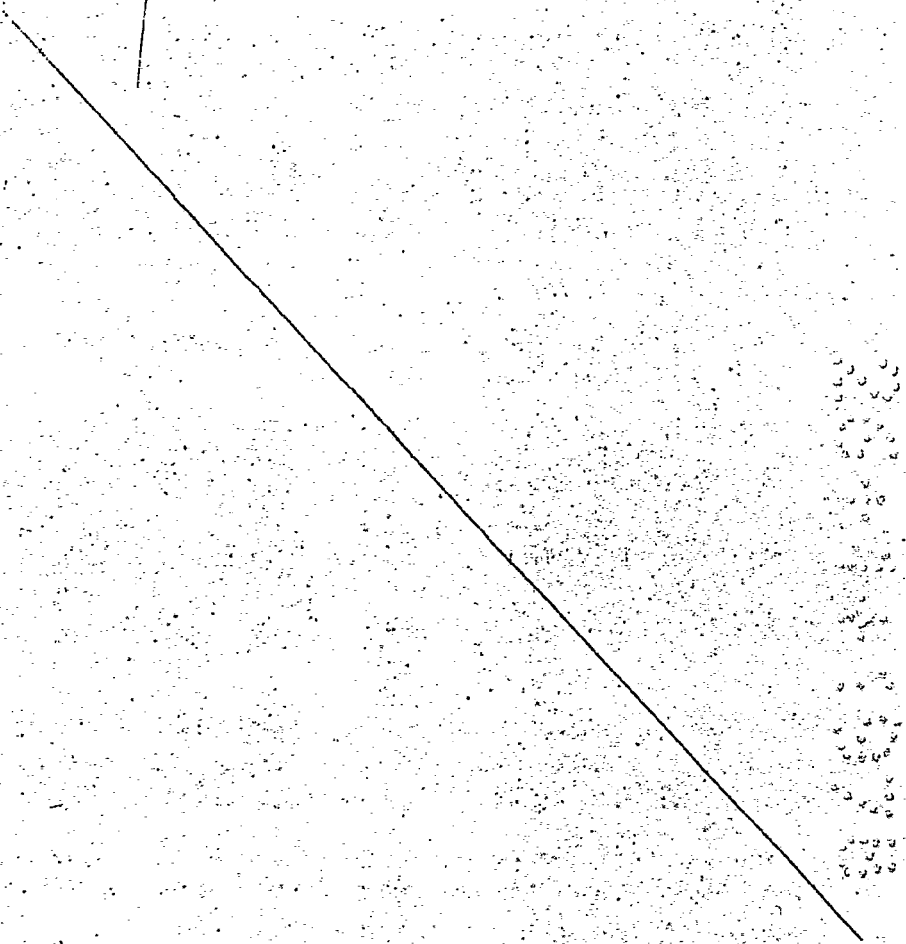
15

20

25

30

18018



Actividades residuales (en micromoles) de la ampicilina y del compuesto B
en presencia de beta-lactamasas, en función del tiempo.

Beta-lactamasa TEM		Beta-lactamasa P 99	
Tiempo de incubación (minutos)	Ampicilina B	Tiempo de incubación (minutos)	Ampicilina B
0	500	0	500
2	469	3	262
4	453	6	138
6	< 50	9	< 50
12	< 50	12	< 50
18	< 50	20	< 50
			300

1 Estos resultados muestran que, al cabo de 6 minutos
de incubación en la beta-lactamasa TEM, la actividad de
la ampicilina no es ya detectable, mientras que permanece
5 una actividad correspondiente a 438 micromoles del --
compuesto B, o sea el 87%. Puede hacerse la misma constatación
para la beta-lactamasa P 99, con la que, al cabo de 9 minutos de incubación,
la actividad de la ampicilina ya no es detectable, mientras que queda aún una actividad
10 correspondiente a 334 micromoles del compuesto B, es decir el 67%.

 Estos resultados se confirman por otro lado por los ensayos de actividad que se describen anteriormente. En efecto, se puede comprobar que entre la actividad del compuesto B sobre el E. COLI B y sobre su mutante hiperproductor de beta-lactamasa, E. COLI B-AMPI R, hay una diferencia de un factor de 3,5.

 Igualmente se observa una resistencia mayor a estas beta-lactamasas para el compuesto F. Sin embargo, es menos pronunciada que para el compuesto B. No se ha detectado ninguna modificación del comportamiento frente a estas beta-lactamasas para el compuesto J en comparación con la ampicilina.

 Se observa igualmente un aumento muy neto de la resistencia a la beta-lactamasa TEM para los compuestos E y H, homólogos de la penicilina G. Esta propiedad puede ponerse de manifiesto por la medida de la velocidad de hidrólisis expresada en términos de consumo por minuto de una disolución de sosa cáustica de concentración dada. Este método permite la valoración del ácido peniciloico resultante de la hidrólisis de la función beta-lactama por la enzima lítica. Los resultados de esta cinética en la tabla que sigue muestran claramente la superioridad de

1 los compuestos E y H con relación a la penicilina G.

Microlitros de sosa cáustica 0,005 N consumidos por minuto

	Penicilina G	3,83
5	Compuesto E	0,64
	Compuesto H	0,50

10 Esto confirma pues el interés de los compuestos de fórmula (XV) con relación a las penicilinas ya conocidas, muy especialmente para combatir las cepas Gram-negativas productoras de beta-lactamasas.

D. Posología y utilización

La administración de los compuestos de fórmula (XV) se hace por vía oral o parenteral.

15 Como ejemplo, la posología del compuesto A está comprendida entre 0,4 y 6 g por día, la del compuesto C entre 4 y 8 g por día, la del compuesto E entre 2 y 10 g por día, y la del compuesto H entre 0,2 y 3 g por día. Para los homólogos de la ampicilina (compuestos B, F y J) puede estimarse una posología idéntica de 0,7 a 7 g por día, entendiéndose que estas dosis son susceptibles de adaptación en función de la enfermedad a tratar y del enfermo.

20 Los homólogos del ácido 6-amino-penicilánico, por ejemplo el compuesto D, no se emplean en terapéutica. Sin embargo, de modo puramente indicativo, se han comparado los espectros de actividad del ácido 6-amino-penicilánico con el del compuesto D. Se ha deducido que el compuesto D presenta una mejor actividad que el ácido 6-amino-penicilánico, tanto para las bacterias gram-positivas como para las bacterias gram-negativas.

30

1 I. Preparación de los ácidos alfa-amino-mercapto-oxa (6 -
tia)cicloalcanoacéticos de fórmula (III).

I.1. Acido alfa-amino-4-mercapto-2,3,5,6-tetrahidro-4H-pi-
ran-4-acético

5 I.1.a. Alfa-formamido-2,3,5,6-tetrahidro-4H-piran- $\Delta_{4,\alpha}$ -
-acetato de etilo (fórmula XIII: n=m=2, X=O, R'=Et)

10 A una suspensión de 12,5 g (0,5 moles) de hidruro de sodio en 500 ml de tetrahidrofurano anhidro se le añade, -
bajo nitrógeno y a temperatura ambiente, una disolución --
que contiene 50 g (0,5 moles) de tetrahidro-4H-piran-4-ona
(fórmula XII: n=m=2, X=O) y 56,5 g (0,5 moles) de 2-isocia-
noacetato de etilo en 300 ml de tetrahidrofurano anhidro.
15 La mezcla de reacción se agita a temperatura ordinaria du-
rante 3 horas. El disolvente se evapora bajo vacío y el -
residuo se recoge en una disolución de 45 g de ácido acéti-
co en 500 ml. de agua. Esta disolución se somete a extrac-
ción con éter, y después la fase orgánica se lava sucesiva-
mente con una disolución de bicarbonato de sodio y de agua.
20 Después de secar sobre sulfato de sodio, el éter se evapo-
ra dejando un residuo bruto de 160 g, que, tras recristali-
zación en una mezcla de acetato de etilo:hexano proporció-
na 58 g (rendimiento 55%) de alfa-formamido-2,3,5,6-tetrahi-
dro-4H-piran- $\Delta_{4,\alpha}$ -acetato de etilo. P. de f. 109°C.

Análisis para $C_{10}H_{15}NO_4$ (PM=213) (en %)

25 Calculado: C 56,33; H 7,04; N 6,57%

Encontrado: 56,20 7,10 6,60%

I.1.b. 8-oxa-1-tia-3-azaespiro [4.5]-dec-2-en-4-carboxilato
de etilo (fórmula XIV: n=m=2, X=O, R'=Et).

30 53 g (0,25 moles) de alfa-formamido-2,3,5,6-tetrahidro-
-4H-piran- $\Delta_{4,\alpha}$ -acetato de etilo y 14,5 g de pentasulfuro

1 de fósforo (forma P_4S_{10}) se ponen en suspensión en 300 ml
de benceno anhidro. Después de hervir a reflujo durante
4 horas con agitación, la disolución bencénica se separa
5 por decantación de la parte insoluble, se trata con car-
bón activo y se filtra sobre hiflo-cel. Después de evapo-
rar el disolvente, queda un aceite parduzco que destila,
a una presión de 0,5 mm Hg, a 130-135°C. Se obtienen así
30 g (rend. 52%) de 8-oxa-1-tia-3-azaespiro[4.5]-dec-2-
-en-4-carboxilato de etilo, que se emplea sin más purifi-
10 cación para continuar la síntesis.

I.l.c. Acido alfa-amino-4-mercapto-2,3,5,6-tetrahidro-4H-
-piran-4-acético (fórmula III: n=m=2, X=0)

2 g (0,0087 moles) de 8-oxa-1-tia-3-azaespiro[4.5]-
-dec-2-en-4-carboxilato de etilo se disuelven en 100 ml
15 de ácido clorhídrico 6N. Se lleva a reflujo durante 3 ho-
ras y después se concentra bajo vacío en un evaporador gi-
ratorio. El residuo gomoso obtenido se tritura en tres
porciones con 50 ml de benceno, y se evapora éste bajo pre-
sión reducida para eliminar las trazas de agua y de ácido
20 clorhídrico restantes. El residuo se recoge en 100 ml de
agua, se trata la disolución con norita y después se lio-
filiza. La trituración del producto de liofilización con
éter seco da 1,6 g del clorhidrato de ácido alfa-amino-4-
-mercapto-2,3,5,6-tetrahidro-4H-piran-4-acético (rendimien-
to 80,5%). El producto da una sóla mancha en cromatogra-
25 fía sobre capa fina de sílice (eluyente: butanol/ácido --
acético/agua 4/1/1, Rf=0,35). P. de f. 196-197°C (con des-
composición).

30

18018

1 I. 2. Acido alfa-amino-4-mercapto-2,3,5,6-tetrahidro-4H-
-tiopiran-4-acético

5 I.2.a. Alfa-formamido-2,3,5,6-tetrahidro-4H-tiopiran-
- $\Delta_{4,\alpha}$ -acetato de etilo (fórmula XIII: n=m=2,
X=S, R=Et)

10 A una suspensión de 29 g de hidruro de sodio (1,21 mo-
les) en 1,4 litros de tetrahidrofurano anhidro, se le aña-
de, con agitación vigorosa y en atmósfera de nitrógeno se-
co, una mezcla constituida por 127,2 g (1,1 moles) de te-
15 trahidro-4H-tiopiran-4-ona y 124 g (1,1 moles) de 2-isocia-
noacetato de etilo en 800 ml de tetrahidrofurano seco. --
Hay desprendimiento de hidrógeno acompañado de una ligera
elevación de temperatura (alrededor de 35-40°C). Se man-
tiene la agitación durante una noche y después se evapora
el disolvente en el evaporador giratorio bajo vacío (a --
unos 25°C). El residuo se trata después cuidadosamente --
(reacción exotérmica) con una disolución de 99 g (1,65 mo-
les) de ácido acético en 1,4 l de agua. La fase acuosa --
se extrae con cloroformo, y la fase orgánica se lava a su
20 vez con una disolución al 5% de bicarbonato de sodio y --
agua. Después de secar sobre sulfato de sodio, el cloro-
formo se elimina bajo vacío dejando un residuo bruto de --
210 g. Después de recristalizar en benceno y cromatogra-
fiar sobre sílice las aguas madres, se obtienen 173 g de
25 alfa-formamido-2,3,5,6-tetrahidro-4H-tiopiran- $\Delta_{4,\alpha}$ -ace-
tato de etilo que funde a 112-113°C. Rendimiento 67%.

I. 2.b. 1,8-ditia-3-azaespiro[4.5]-dec-2-en-4-carboxilato
de etilo (fórmula XIV: n=m=2, X=S, R'=Et).

30 57,2 g (0,25 moles) de alfa-formamido-2,3,5,6-tetrahi-
dro-4H-tiopiran $\Delta_{4,\alpha}$ -acetato de etilo y 15 g (0,0675 -

1 moles) de pentasulfuro de fósforo (forma P_4S_{10}) se ponen
 en suspensión en 600 ml. de benceno anhidro. Después de
 un calentamiento a reflujo de 4 horas con agitación, se
 5 decanta de la disolución bencénica la parte insoluble y
 se evapora hasta sequedad dando un residuo de 55 g. Este
 residuo se destila bajo una presión de 5×10^{-2} mm Hg. En-
 tre 154 y 162°C se recogen alrededor de 27,2 g de 1,8-di-
 tia-3-azaespiro[4.5]-dec-2-en-4-carboxilato de etilo, o -
 sea un rendimiento de 45%. El producto se emplea tal como
 10 está para continuar la síntesis.

I.2.c. Acido alfa-amino-4-mercapto-2,3,5,6-tetrahidro-4H-
 -tiopiran-4-acético (fórmula III: $n=m=2$, $X=S$)

27,2 g (0,11 moles) de 1,8-ditia-3-azaespiro[4.5]-
 -dec-2-en-4-carboxilato de etilo se disuelven en 865 ml.
 15 de ácido clorhídrico 6N y se llevan a ebullición a reflu-
 jo durante 5 horas. Después se concentra la disolución a
 vacío en un evaporador giratorio. El residuo se recoge -
 varias veces con benceno seco para eliminar las trazas de
 agua residuales, y después se tritura en éter y se filtra.
 20 Se obtienen así 27 g (o sea alrededor de 100%) del clorhi-
 drato del ácido alfa-amino-4-mercapto-2,3,5,6-tetrahidro-
 -4H-tiopiran-4-acético. El producto da una sola mancha -
 en cromatografía sobre capa fina de sílice (eluyente: tu-
 tanol/ácido acético/agua 4/1/1, $R_f=0,45$). P. de f. 193-7°C.

25 Se preparan del mismo modo los compuestos siguientes:

I.3. Acido alfa-amino-3-mercapto-tetrahidro-3-furanacético
 (fórmula III: $n=1$, $m=2$, $X=O$)

I.4. Acido alfa-amino-3-mercapto-tetrahidro-3-tiofenacéti-
co

30 (fórmula III: $n=1$, $m=2$, $X=S$)

1 I.5. Acido alfa-amino-3-mercapto-3-oxetanacético
(fórmula III: $n=m=1$, $X=O$)

I.6. Acido alfa-amino-3-mercapto-3-tietanacético
(fórmula III: $n=m=1$, $X=S$)

5 II: Preparación de los alfa-ftalimido-ditia (u oxa-tia)-
-azaespiroalcanoacetatos de terc-butilo de fórmula (IV) y
de los ésteres bencílicos correspondientes de fórmula (V).

10 II.1.a. 4-carboxi-alfa-ftalimido-8-oxa-1-tia-3-azaespiro
[4.5] decan-2-acetato de terc-butilo (fórmula IV:
 $n=m=2$, $X=O$)

15 Se mezclan en un matraz, a temperatura ordinaria, --
28,9 g (0,1 mol) de 2-formil-2-ftalimido-acetato de terc-
butilo, 22,75 g (0,1 mol) de clorhidrato de ácido alfa-
amino-4-mercapto-2,3,5,6-tetrahidro-4H-piran-4-acético;
12,3 g de acetato de sodio, 430 ml de etanol y 350 ml. de
20 agua. Se agita en atmósfera de nitrógeno y se calienta --
progresivamente hasta disolución completa (65-70°C). Se --
mantiene la agitación, dejando al mismo tiempo que la mez-
cla de reacción vuelva progresivamente a la temperatura --
ambiente. Se deja reposar durante una noche, y después --
se filtra el precipitado blanco formado (44 g). Este pro-
ducto contiene en mezcla los diastereoisómeros alfa, beta
y gamma.

25 El isómero alfa, único compatible con la esterequí-
mica de la penicilina natural, puede aislarse por crista-
lización de la mezcla en piridina. La epimerización has-
ta el equilibrio termodinámico de las aguas madres en pi-
ridina a 100°C las enriquece en isómero alfa, que puede --
separarse de nuevo por cristalización. Se repite el mis-
30 mo procedimiento hasta que el isómero alfa ya no pueda --

1 aislarse por cristalización. Se recogen así 21,5 g del isómero alfa de 4-carboxi-alfa-ftalimido-8-oxa-1-tia-3-

5 Análisis para $C_{22}H_{26}N_2O_7S$ (P. mol. 462) (en %)

Calculado: C 57,14; H 5,63; N 6,06

Encontrado: 57,10 5,70 6,10

10 II.l.b. 4-benciloxycarbonil-alfa-ftalimido-8-oxa-1-tia-3-azaespiro [4.5]-decan-2-acetato de terc-butilo (fórmula V: n=m=2, X=0).

15 A una disolución de 4,62 g (0,01 moles) del isómero alfa de 4-carboxi-alfa-ftalimido-8-oxa-1-tia-3-azaespiro [4.5] decan-2-acetato de terc-butilo en 50 ml. de dimetilformamida, se le añaden 3,3 g (0,019 moles) de bromuro de bencilo de una sóla vez, y después se añaden durante 20 minutos 1,32 g (0,013 moles) de trietilamina en 5 ml de dimetilformamida. Se mantiene en agitación débil durante una noche a temperatura ambiente. La disolución límpida así obtenida se vierte en una mezcla de agua-hielo, y se somete a extracción con benceno. Después de lavar la fase orgánica con una disolución de bicarbonato de sodio al 5%, y después con agua, se evapora hasta sequedad. El residuo obtenido se recrystaliza en éter dando 4,7 g (0,00085 moles) de 4-benciloxycarbonil-alfa-ftalimido-8-oxa-1-tia-3-azaespiro [4.5] decan-2-acetato de terc-butilo (rendimiento 85,2%). P. de f. 168-9°C. Otro ensayo con cantidades 10 veces mayores da un rendimiento de 93,6%.

25 Análisis para $C_{29}H_{32}N_2O_7S$ (P. Mol. 552) (en %).

Calculado: C 63,04; H 5,79; N 5,07

30 Encontrado: 63,05 5,80 5,03

1 II.2.a. 4-carboxi-alfa-ftalimido-1,8-ditia-3-azaespiro
[4.5]-decan-2-acetato de terc-butilo (fórmula IV:
n=m=2, X=S).

5 A una mezcla de 178 g (0,616 moles) de 2-formil-2-fta-
limido-acetato de terc-butilo y 150 g (0,616 moles) de --
clorhidrato de ácido alfa-amino-4-mercaptop-2,3,5,6-tetrahi-
dro-4H-tiopiran-4-acético en 2,11 l. de etanol ordinario,
se le añade de una sola vez y a temperatura ambiente una
disolución de 75,7 g (0,924 moles) de acetato de sodio en
10 2,11 l. de agua.

Se calienta a unos 55-60°C para conseguir la disolu-
ción (durante unos 5 minutos). Se deja volver la mezcla
a la temperatura ambiente y se mantiene la agitación du-
rante una noche. El precipitado formado (185 g) se fil-
15 tra y las aguas madres se concentran hasta evaporación --
completa del etanol, y después el residuo se somete a ex-
tracción con cloroformo. El extracto se seca sobre sulfa-
to de sodio, y después se evapora a vacío para dar un re-
siduo de 200 g. El precipitado y el residuo, que contie-
nen una mezcla de los diastereoisómeros alfa, beta y gam-
20 ma, se reúnen y se epimerizan para obtener el isómero al-
fa, único compatible con la estereoquímica de la penicili-
na natural. El procedimiento es el mismo que el descrito
en el párrafo II.1.a antes. Se obtienen así 159,6 g del
isómero alfa de 4-carboxi-alfa-ftalimido-1,8-ditia-3-azaes-
25 piro [4.5] decan-2-acetato de terc-butilo. P. de f. 210-212°C.
Análisis para $C_{22}H_{26}N_2O_6S_2$ (P. mol. 478) (en %)
Calculado: C 55,2; H 5,44; N 5,85
Encontrado: 56,1 5,50 5,80

30

18018

1 II.2.b. 4-benciloxicarbonil-alfa-ftalimido-1,8-ditia-3-
-azaespiro[4.5]decan-2-acetato de terc-butilo --
(fórmula V: n=m=2, X=S)

5 A una disolución de 3,26 g (0,019 moles) de bromuro
de bencilo y 4,8 g (0,01 moles) del isómero alfa de 4-car-
boxi-alfa-ftalimido-1,8-ditia-3-azaespiro[4.5]decan-2-ace-
tato de terc-butilo en 50 ml. de dimetilformamida se le -
añaden gota a gota, manteniendo la temperatura en unos --
25°C por medio de un baño de hielo, 1,34 g (0,013 moles)
10 de trietilamina. Se mantiene la agitación durante la no-
che a temperatura ambiente. La disolución transparente -
así obtenida se vierte sobre una mezcla de agua-hielo, y -
se somete a extracción con benceno. La fase bencénica se
separa y después se lava sucesivamente con bicarbonato de
15 sodio en disolución acuosa al 5%, y con agua. Se seca, -
se concentra hasta sequedad y se recristaliza el producto
bruto en una mezcla de benceno-hexano. El 4-benciloxi-car-
bonil-alfa-ftalimido-1,8-ditia-3-azaespiro[4.5]decan-2-ace-
tato de terc-butilo así obtenido (4,2 g, es decir un ren-
20 dimiento de 74%) funde a 197-198°C.

Análisis para $C_{29}H_{32}N_2O_6S_2$ (P. mol. 568) (en %)

Calculado: C 61,3; H 5,64; N 4,93

Encontrado: 62,0 5,62 4,88

Se preparan del mismo modo los compuestos siguientes:

25 II.3.a. 4-carboxi-alfa-ftalimido-7-oxa-1-tia-3-azaespiro
[4.4]nonan-2-acetato de terc-butilo (fórmula IV:
n=1, m=2, X=0)

II.3.b. 4-benciloxicarbonil-alfa-ftalimido-7-oxa-1-tia-
-3-azaespiro[4.4]nonan-2-acetato de terc-butilo
30 (fórmula V: n=1, m=2, X=0).

- 1 II.4.a. 4-carboxi-alfa-ftalimido-1,7-ditia-3-azaespiro
[4.4] nonan-2-acetato de terc-butilo (fórmula IV:
n=1, m=2, X=S).
- 5 II.4.b. 4-benciloxicarbonil-alfa-ftalimido-1,7-ditia-3-
-azaespiro [4.4] nonan-2-acetato de terc-butilo
(fórmula V: n=1, m=2, X=S).
- 10 II.5.a. 8-carboxi-alfa-ftalimido-2-oxa-5-tia-7-azaespiro
[3.4] octan-6-acetato de terc-butilo (fórmula
IV: n=m=1, X=O).
- 15 II.5.b. 8-benciloxicarbonil-alfa-ftalimido-2-oxa-5-tia-
-7-azaespiro [3.4] octan-6-acetato de terc-butilo
(fórmula V: n=m=1, X=O).
- II.6.a. 8-carboxi-alfa-ftalimido-2,5-ditia-7-azaespiro
[3.4] octan-6-acetato de terc-butilo (fórmula IV:
n=m=1, X=S).
- II.6.b. 8-benciloxicarbonil-alfa-ftalimido-2,5-ditia-7-
-azaespiro [3.4] octan-6-acetato de terc-butilo
(fórmula V: n=m=1, X=S).

20 III. Preparación de los alfa-amino-ditia-(u oxa-tia)azaespiroalcanoacetatos de terc-butilo de fórmula (VI) y de los ácidos alfa-amino-ditia-(u oxa-tia)-azaespiroalcanoacéticos correspondientes de fórmula (VII).

- 25 III.1.a. Alfa-amino-4-benciloxicarbonil-8-oxa-1-tia-3-
-azaespiro [4.5] decan-2-acetato de terc-butilo
(fórmula VI: n=m=2, X=O).

30 A una suspensión de 4,4 g (0,008 moles) de 4-benciloxicarbonil-alfa-ftalimido-8-oxa-1-tia-3-azaespiro [4.5] decan-2-acetato de terc-butilo en 6 ml de dimetilformamida anhidra se le añaden a 0°C, gota a gota y en atmósfera de nitrógeno, 4,4 ml de una disolución de dimetilformamida -

1 anhidra que contiene 2 moles por litro de hidrato de hi--
 drazina (o sea 0,0088 moles). Se deja volver progresiva-
 mente a la temperatura ambiente (en alrededor de 30 minu-
 5 tos). A la disolución amarilla clara así obtenida se le
 añaden gota a gota 7,7 ml de ácido clorhídrico 1,18 N. -
 El medio de reacción se enturbia y después cristaliza en
 masa. Al cabo de una hora se filtra el precipitado, se -
 redisuelve en cloroformo con un poco de metanol, se fil--
 tra, se seca y se evapora hasta sequedad. El residuo ob-
 10 tenido se tritura de nuevo con hexano y se obtienen de es-
 te modo 3,3 g (0,0072 moles) de clorhidrato de alfa-amino-
 -4-benciloxicarbonil-8-oxa-1-tia-3-azaespiro[4.5]decan-2-
 -acetato de terc-butilo (rendimiento 90%). P. de f. 156-7°C.

15 III.1.b. Acido alfa-amino-4-benciloxicarbonil-8-oxa-1-
 -tia-3-azaespiro [4.5]decan-2-acético (fórmula
 VII: n=m=2, X=0).

Se hace burbujear ácido clorhídrico gaseoso seco en
 una suspensión de 6,6 g (0,0144 moles) de clorhidrato de
 alfa-amino-4-benciloxicarbonil-8-oxa-1-tia-3-azaespiro
 20 [4.5]decan-2-acetato de terc-butilo en 150 ml de nitrome-
 tano anhidro, a 0°C. Al cabo de 15 minutos el producto
 está disuelto en gran parte, y se prolonga el burbujeo de
 ácido clorhídrico durante 1 hora. Se filtra el material
 insoluble, y después se elimina de la disolución el nitro
 25 metano bajo una presión de 20 mm de Hg en un evaporador -
 giratorio, a temperatura ambiente, para eliminar el máximo
 de ácido clorhídrico gaseoso. Se añaden a continuación -
 700 ml. de éter anhidro y se enfría a -5°C durante 4 ho--
 ras. Se obtiene así un precipitado que se separa por fil-
 30 tración, se lava con éter y se seca bajo vacío para obte-

1 ner finalmente 4,2 g (0,0104 moles) de clorhidrato del --
ácido alfa-amino-4-benciloxycarbonil-8-oxa-1-tia-3-azaes-
piro [4.5] decan-2-acético (rendimiento 72,5%). P. de f.
152-3°C.

5 III.2.a. Alfa-amino-4-benciloxycarbonil-1,8-ditia-3-azaes-
piro [4.5] decan-2-acetato de terc-butilo (fórmu-
la VI: n=m=2, X=S).

10 A una suspensión de 156,3 g (0,275 moles) de 4-benci-
loxycarbonil-alfa-ftalimido-1,8-ditia-3-azaespiro [4.5] de-
can-2-acetato de terc-butilo en 170 ml de dimetilformami-
da anhidra, se le añaden (a entre 0 y 5°C) 151,5 ml. de --
una disolución de dimetilformamida que contiene 2 moles --
por litro de hidrato de hidrazina (o sea, 0,3025 moles).
15 La adición se efectúa en 1,15 horas y va acompañada de una
disolución completa del producto. Se deja volver a tempé-
ratura ambiente durante 1 hora, y se le añade gota a gota,
entre 20 y 25°C, 309 ml de ácido clorhídrico 1N. Se fil-
tra el precipitado de ftalhidrazida formado y se evaporan
las aguas madres hasta sequedad. El residuo se recoge en
20 metanol y se precipita con éter. Se obtienen así 119,1 g
de clorhidrato de alfa-amino-4-benciloxycarbonil-1,8-ditia-
-3-azaespiro [4.5] -decan-2-acetato de terc-butilo (rendi-
miento 91,5%). P. de f. 178-181°C.

25 Análisis para $C_{21}H_{30}N_2O_4S_2HCl$. (P. mol. 475) (en %)

Calculado: C 53,00; H 6,53; N 5,90

Encontrado: 52,98 6,54 5,85

III.2.b. Acido alfa-amino-4-benciloxycarbonil-1,8-ditia-
-3-azaespiro [4.5] decan-2-acético (fórmula VII:
n=m=2, X=S).

30 Se hace burbujear ácido clorhídrico gaseoso seco en

1 una suspensión de 39,1 g (0,0824 moles) de clorhidrato de
 5 alfa-amino-4-benciloxicarbonil-1,8-ditia-3-azaespiro[4.5]
 decan-2-acetato de terc-butilo en 1,3 l. de nitrometano -
 anhidro, entre 0 y -5°C durante 1,5 horas. Después de --
 filtrar se obtienen 27,7 g de clorhidrato del ácido alfa-
 -amino-4-benciloxicarbonil-1,8-ditia-3-azaespiro[4.5] de--
 can-2-acético (rendimiento de alrededor de 80%). P. de f.
 170-3°C (con descomposición).

10 Se preparan del mismo modo los compuestos siguien--
 tes:

- III.3.a. Alfa-amino-4-benciloxicarbonil-7-oxa-1-tia-3-
 -azaespiro[4.4] nonan-2-acetato de terc-butilo
 (fórmula VI: n=1, m=2, X=0).
- 15 III.3.b. Acido alfa-amino-4-benciloxicarbonil-7-oxa-1-
 -tia-3-azaespiro[4.4] nonan-2-acético (fórmula
 VII: n=1, m=2, X=0).
- III.4.a. Alfa-amino-4-benciloxicarbonil-1,7-ditia-3-azaes-
 piro[4.4] nonan-2-acetato de terc-butilo (fórmu-
 la VI: n=1, m=2, X=S).
- 20 III.4.b. Acido alfa-amino-4-benciloxicarbonil-1,7-ditia-
 -3-azaespiro[4.4] nonan-2-acético (fórmula VII:
 n=1, m=2, X=S).
- III.5.a. Alfa-amino-8-benciloxicarbonil-2-oxa-5-tia-7-
 -azaespiro[3.4] octan-6-acetato de terc-butilo
 25 (fórmula VI: n=m=1, X=0).
- III.5.b. Acido alfa-amino-8-benciloxicarbonil-2-oxa-5-
 -tia-7-azaespiro[3.4] octan-6-acético (fórmula
 VII: n=m=1, X=0).
- 30 III.6.a. Alfa-amino-8-benciloxicarbonil-2,5-ditia-7-azaes-
 piro[3.4] octan-6-acetato de terc-butilo (fórmula

1

VI. $n=m=1$, $X=S$).

III.6.b. Acido alfa-amino-8-benciloxicarbonil-2,5-ditia-
-7-azaespiro [3.4] octan-6-acético (fórmula VII:
 $n=m=1$, $X=S$).

5

IV. Preparación de los tritilamino-espiro [oxa (ó tia) ci--
cloalcano-penam] carboxilatos de bencilo de fórmula (IX).

IV.1. 6-tritilamino-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro [penam-
-2,4'-[4H]piran]-3-carboxilato de bencilo. (fórmu-
la IX: $n=m=2$, $X=O$)

10

Se mezclan en 750 ml de diclorometano anhidro 43 g
(0,107 moles) de clorhidrato de ácido alfa-amino-4-bencilo
xicarbonil-8-oxa-1-tia-3-azaespiro [4.5] decan-2-acético, y
100 g (0,36 moles) de cloruro de tritilo. Se enfría a --
-20°C. Se añaden en 1,5 horas 100 g (1 mol) de trietilam-
15 mina en 200 ml de diclorometano anhidro. La mezcla de re-
reacción se deja en reposo a -5°C durante la noche. Des-
pués se vierte sobre una mezcla de agua-hielo que se acidi-
fica a pH 6 por medio de ácido fosfórico diluido. La fase
acuosa se somete a extracción con cloroformo, y el extrac-
20 to se lava a continuación con agua. Después de secar y --
evaporar se obtienen 160 g de producto amorfo que se redi-
suelve en 800 ml de nitrometano seco. A esta nueva disolu-
ción se le añaden 55 g (0,437 moles) de N,N'-diisopropil-
carbodiimida (abreviadamente DCI) en 100 ml. de dicloromé-
25 tano. Aparece progresivamente un precipitado de diisopro-
pilurea, y se deja proseguir la reacción durante la noche.
El precipitado se filtra y el disolvente se evapora a va-
cío, dando 147 g de producto sólido. Una primera cristali-
zación en una mezcla de benceno-hexano, seguida de una se-
30 gunda en una mezcla de éter-hexano, da finalmente 46,5 g

76

1

de 6-tritilamino-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro [penam-2,4'-
- [4H]piran]-3-carboxilato de bencilo (rendimiento 73,6%).
P. de f. 144-5°C.

5

Análisis para $C_{36}H_{34}N_2O_5$ (P. mol. 590) (en %).

Calculado: C 73,22; H 5,76; N 4,74

Encontrado: 71,30 6,01 4,80

10

IV.2. 6-tritilamino-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro [penam-
-2,4'-[4H]tiopiran]-3-carboxilato de bencilo (fór-
múla IX: n=m=2, X=S)

15

A una suspensión de 1,4 g (0,0033 moles) de clorhi-
drato de ácido alfa-amino-4-benciloxicarbónil-1,8-ditia-3-
azaespiro [4.5] decan-2-acético en 30 ml. de diclorometano -
anhidro, a -10°C, se le añaden de una sola vez 3,42 g -
(0,012 moles) de cloruro de tritilo, y a continuación gota
a gota, una disolución de 3,25 g (0,0322 moles) de triéti-
lamina en 30 ml de diclorometano. Después de dejar repo-
sar durante una noche en un frigorífico, se vierte la diso-
lución sobre 100 ml. de una mezcla de agua-hielo y se aci-
difica a pH 6 con ácido fosfórico. La fase orgánica se de-
canta, se lava con agua, se seca sobre sulfato de sodio y
se evapora, dejando un residuo bruto de 4,7 g. Este resi-
duo se toma de nuevo en 30 ml. de nitrometano y se le aña-
den a temperatura ambiente 1,68 g (0,0134 moles) de DDT. -
Se agita durante una noche. Después de separar por filtra-
ción un material insoluble, el filtrado se evapora hasta -
sequedad y el residuo se cromatografía sobre sílice. Se -
obtienen 0,8 g de 6-tritilamino-2',3',5',6'-tetrahidro-es-
piro [penam-2,4'-[4H]tiopiran -3-carboxilato de bencilo, que
tras recristalización en una mezcla de éter-hexano, funde

20

25

30

1

a 147-8°C.

Análisis para $C_{36}H_{34}N_2O_3S_2$ (P. mol. 606) (en %).

Calculado: C 71,25; H 5,61; N 4,62

Encontrado: 71,18 5,62 4,59

5

Del mismo modo se preparan los compuestos siguientes:

IV.3. 6'-tritolamino-4,5-dihidro-espiro[furan-3(2H),2'-penam]-3'-carboxilato de bencilo (fórmula IX: n=1, m=2, X=0)

10

IV.4. 6-tritolamino-4',5'-dihidro-espiro[penam-2,3'(2H)-tiofen]-3-carboxilato de bencilo (fórmula IV: n=1, m=2, X=S)

IV.5. 6'-tritolamino-espiro[oxetan-3,2'-penam]-3'-carboxilato de bencilo (fórmula IX: n=m=1, X=O)

15

IV.6. 6-tritolamino-espiro[penam-2,3'-tietan]-3-carboxilato de bencilo (fórmula IX; n=m=1, X=S)

V. Preparación de los p-toluensulfonatos de amino-espiro[oxa (ó tia)cicloalcanopenam]-carboxilatos de bencilo.

20

V.1. p-toluensulfonato de 6-amino-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-[4H]piran-3]-carboxilato de bencilo (fórmula X: n=m=2, X=O)

25

A una suspensión de 17,7 g (0,03 moles) de 6-tritolamino-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-[4H]piran-3]-carboxilato de bencilo en 100 ml de acetona se le añaden de una sola vez, con agitación y a temperatura ambiente, 5,7 g (0,3 moles) de ácido paratoluensulfónico monohidratado. Tras disolución rápida del compuesto de tritilo, el p-toluensulfonato precipita progresivamente en 3 horas. Se añaden después 300 ml. de éter anhidro, se agita vigorosamente y se filtra. Después de enjuagar el precipitado con éter y secarlo, se obtienen 13,6 g de p-toluensulfonato de

30

18018

1 6-amino-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-[4H]pi--
ran]-3-carboxilato de bencilo (rendimiento 87,2%). P. de
f. 163-4°C.

Análisis para $C_{17}H_{20}N_2O_4S-C_7H_8O_3S$ (P. mol. 520) (en %).

5 Calculado: C 55,38; H,5,38; N 5,38

Encontrado: 55,45 5,45 5,36

V.2. p-toluensulfonato de 6-amino-2',3',5',6'-tetrahidro-
-espiro[penam-2,4'-[4H]tiopiran]-3-carboxilato de ben-
cilo (fórmula X: n=m=2, X=S)

10 0,4 g (0,0006 moles) de 6-tritilamino-2',3',5',6'-te-
trahidro-espiro[penam-2,4'-[4H]tiopiran]-3-carboxilato de
bencilo se ponen en suspensión en 3,5 ml. de acetona anhi-
dra. Se le añade gota a gota una disolución de 0,125 g --
(0,0006 moles) de ácido p-toluensulfónico monohidratado en
15 3,5 ml de acetona anhidra. Se produce una precipitación
en masa y se diluye con 8 ml de acetona. Después de fil-
trar y enjuagar con éter, se obtienen 0,3 g de p-toluensul-
fonato de 6-amino-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-
-[4H]tiopiran]-3-carboxilato de bencilo. P. de f. 171-3°C.

20 Análisis para $C_{17}H_{20}N_2O_4S_2-C_7H_8O_3S$ (P. mol. 536) (en %):

Calculado: C 53,70; H 5,22; N 5,22

Encontrado 53,68 5,21 5,27

Del mismo modo se preparan los compuestos siguientes,
en forma de sus p-toluensulfonatos:

25 V.3. 6'-amino-4,5-dihidro-espiro[furan-3(2H),2'-penam]-3-
-carboxilato de bencilo (Fórmula X: n=1, m=2, X=O)

V.4. 6-amino-4',5'-dihidro-espiro[penam-2,3'(2'H)-tiofen]-
-3-carboxilato de bencilo (fórmula X: n=1, m=2, X=S)

30 V.5. 6'-amino-espiro[oxetan-3,2'-penam]-3'-carboxilato de
bencilo (fórmula X: n=m=1, X=O)

1 V.6. 6-amino-espiro[penam-2,3'-tietan]-3-carboxilato de bencilo (fórmula X: n=m=1, X=S)

VI. Preparación de los ácidos amino-espiro[oxa (ó tia)cicloalcano-penam]carboxílicos de fórmula I.

5 VI.1. Acido 6-amino-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-[4H]piran]-3-carboxílico (fórmula I: n=m=2, X=O, Z=H)

10 A una suspensión de 3,12 g (0,006 moles) de p-toluen-sulfonato de 6-amino-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-[4H]piran]-3-carboxilato de bencilo en 200 ml. de di-clorometano se le añaden de una vez, a temperatura ambien-te, 0,660 g (0,006 moles) de trietilamina. La fase de di-clorometano se separa, se lava con agua, se seca sobre -- sulfato de sodio y se evapora hasta sequedad. Se obtienen 15 así 2,6 g de base libre. Se redisuelve en 600 ml. de etanol de 96% y se efectúa la hidrogenólisis a una presión - de 3 kg de hidrógeno en presencia de 5 g de catalizador - Pd/C al 10% de Pd, durante 16 horas. Se filtra sobre hi-flo-cel, se evapora el filtrado hasta sequedad, se toma -- 20 de nuevo el residuo en éter, se filtra y se seca. Se ob-tienen así 1,22 g (rendimiento 79%) de ácido 6-amino-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-[4H]piran]-3-carbo-xílico. P. de f. 189-192°C.

Análisis para $C_{10}H_{14}N_2O_4S$ (P. mol. 258) (en %).

25 Calculado: C 46,5; H 5,42; N 10,83

Encontrado: 46,3 5,89 9,30

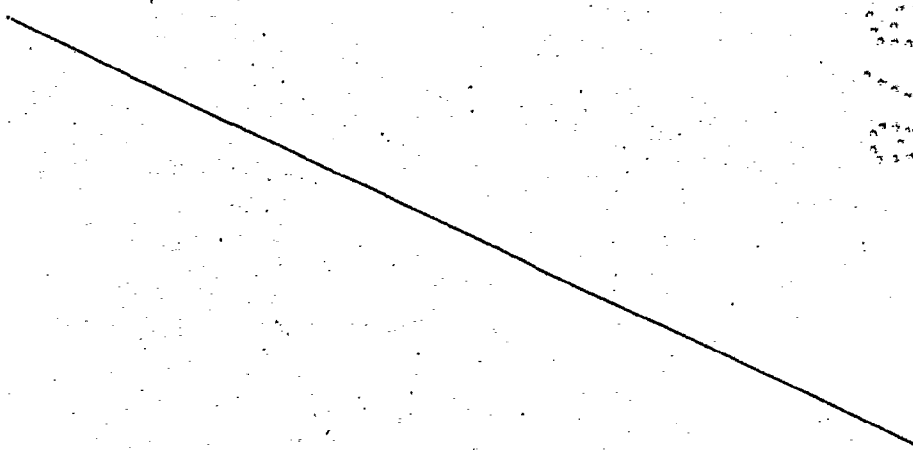
30

18018

1	Espectro I.R. (KBr):	cm ⁻¹	Atribuciones
		3500-2500	NH ₃ ⁺
		2950	CH ₂ y CH
		1765	CO de beta-lactama
5		1580	COO ⁻
		1510	NH ₃ ⁺

Del mismo modo se preparan los compuestos siguientes:

- 10 VI.2. Acido 6-amino-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro [penam-2,4'-[4H]tiopiran]-3-carboxilico (fórmula I: n=m=2, X=S, Z=H)
- VI.3. Acido 6'-amino-4,5-dihidro-espiro [furan-3(2H),2'-penam]-3'-carboxilico (fórmula I: n=1, m=2, X=O, Z=H)
- 15 VI.4. Acido 6-amino-4',5'-dihidro-espiro [penam-2,3'(2H)-tiofen]-3-carboxilico (fórmula I: n=1, m=2, X=S, Z=H)
- VI.5. Acido 6'-amino-espiro [oxetan-3,2'-penam]-3'-carboxilico (fórmula I: n=m=1, X=O, Z=H)
- 20 VI.6. Acido 6-amino-espiro [penam-2,3'-tietan]-3-carboxilico (fórmula I: n=m=1, X=S, Z=H).



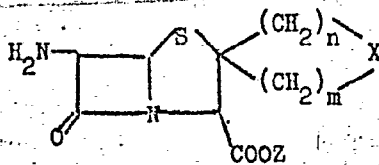
25

30

1 REIVINDICACIONES

5
10 Los puntos de invención propia y nueva, que se presenten para que sean objeto de esta solicitud de Patente de Invención en España, por VEINTE años, son los que se recogen en las reivindicaciones siguientes:

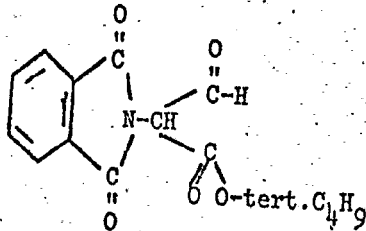
15 1ª.- Un procedimiento de preparación de ácidos amino-espiro [oxa (ó tia)cicloalcano-penam]-carboxílicos, sus sales de metales alcalinos y sus ésteres, de fórmula



25 en la que Z representa hidrógeno, un ión de metal alcalino o un grupo protector de la función carboxílica, preferiblemente un grupo bencilo, X representa un átomo de azufre o de oxígeno, y n y m son, independientemente uno de otro, los números enteros 1 ó 2, preferiblemente 2, caracterizado porque (1) se hace reaccionar 2-formil-2-ftalimido-acetato de terc-butilo de fórmula

1

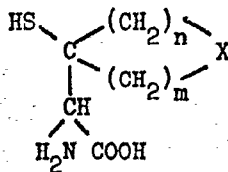
5



10

con un ácido alfa-amino-mercapto-oxa(ó tia)cicloalcanoacético de fórmula

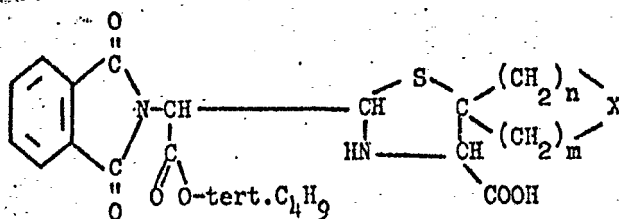
15



20

(2) se hace reaccionar el isómero alfa del alfa-ftalimidoditio(u oxa-tia)-azaespiroalcanoacetato de terc-butilo -- así obtenido, de fórmula

25

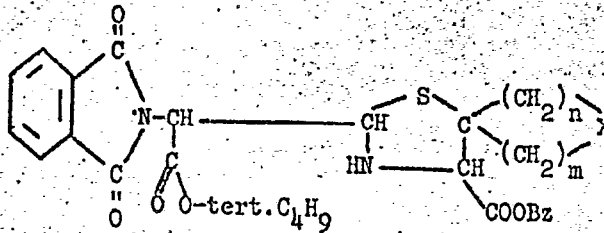


30

con un halogenuro de bencilo, (3) se somete a una hidrazinolisis el éster bencilico así obtenido de fórmula

1

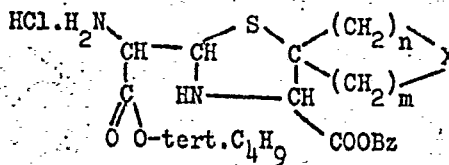
5



10

(4) se somete a una hidrólisis ácida parcial el clorhidrato de alfa-amino-ditia (u oxa-tia)-azaespiroalcanoacetato de terc-butilo así obtenido, de fórmula

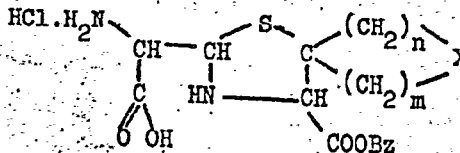
15



20

(5) se hace reaccionar el clorhidrato de ácido alfa-amino-ditia (u oxa-tia)-azaespiroalcanoacético así obtenido, de fórmula

25



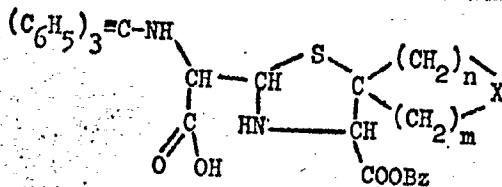
30

con cloruro de tritilo; (6) se cicliza por medio de una carbodiimida, el ácido alfa-tritilamino-ditia(u oxa-tia)-azaespiroalcanoacético así obtenido, de fórmula

18018

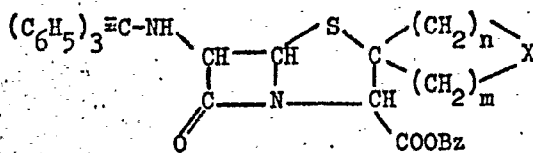
1

5



(7) se trata el tritilamino-espiro[oxa (ó tia)cicloalcano-penam]-carboxilato de bencilo así obtenido, de fórmula

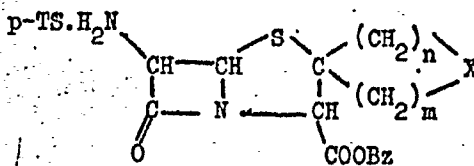
10



15

con ácido p-toluensulfónico, y (8) se somete a una hidrogenolisis el p-toluensulfonato de amino-espiro[oxa (ó tia)-cicloalcano-penam]-carboxilato de bencilo así obtenido, de fórmula

20



25

representando en estas fórmulas: Bz, el grupo bencilo, p-TS el ácido p-toluensulfónico, X, un átomo de oxígeno o de azufre, y siendo n y m, independientemente uno de otro,

30

1 - los números enteros 1 ó 2.

2ª.- "UN PROCEDIMIENTO DE PREPARACION DE ACIDOS AMI-
NO-ESPIRO [OXA (O TIA)CICLOALCANO-PENAM]-CARBOXILICOS".

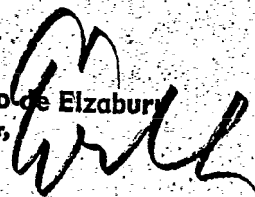
5 Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede,
y para los fines que se han especificado.

Esta Memoria consta de cuarenta y cinco hojas escri-
tas a máquina por una sola cara.

Madrid, 26.ENE.1978

P.A.

Alberto de Elizabur
Por Poder,



10

15

20

25

30

18018
ARS/.