

MINISTERIO DE INDUSTRIA Y ENERGIA

Registro de la Propiedad Industrial



ESPAÑA

10 ES	11 NUMERO 466.054	10 AI
	21	
	22 FECHA DE PRESENTACION 17-1-78	

5 DIC. 1978

Concedido el Registro de acuerdo con los datos que figuran en la descripción y se adjunta el contenido de la Memoria a Junta.

**PATENTE DE INVENCION**

30 PRIORIDADES: 31 NUMERO 1806/77	32 FECHA 18-1-77	33 PAIS Gran Bretaña
---	---------------------	-------------------------

47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL A61K, C07D	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
------------------------	--	--------------------------------------

54 TITULO DE LA INVENCION

"PROCEDIMIENTO DE PREPARACION DE NUEVOS DERIVADOS DEL ACIDO AMINO-ESPIRO/OXA(O TIA)CICLOALCANO-PENAM/CARBOXILICO"

71 SOLICITANTE (ES)

UCB, S.A. (Cas 16.17.20)

DOMICILIO DEL SOLICITANTE

4, Chaussée de Charleroi, Saint-Gilles-lez-Bruxelles, Bélgica.

72 INVENTOR (ES)

Ludovic Rodriguez, Jacques Leclercq, Pierre Ykman y Eric Cossement.

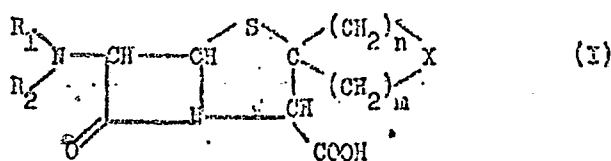
73 TITULAR (ES)

74 REPRESENTANTE

DON ALBERTO DE ELZABURU MARQUEZ (P.- 67.826)

lfg

1 El presente invento tiene por objeto un procedimiento de preparación de nuevos derivados del ácido amino-espiro/oxa(o tia)cicloalcano-penam-carboxílico que responden a la fórmula general:



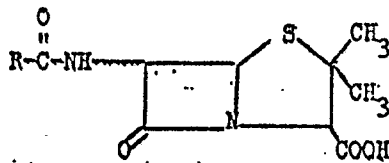
10 en la que X representa un átomo de azufre o de oxígeno o el grupo sulfinilo,

15 n y m son independientemente uno de otro los números enteros 1 ó 2, preferiblemente 2, R<sub>1</sub> representa hidrógeno y R<sub>2</sub> representa un radical elegido entre los radicales conocidos en la química de las penicilinas preferi-  
20 blemente un radical elegido entre los radicales 2-fenil-acetilo, 2-amino-2-fenilacetilo, 5-metil-3-fenil-4-isoxazolcarbonilo y 2,6-dimetoxibenzoilo,

25 así como sus sales no tóxicas farmacéuticamente aceptables, preferiblemente las sales de sodio y de potasio.

Se puede recordar que, de una forma general, las penicilinas son una familia de compuestos que responden a la fórmula siguiente:

1



5

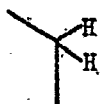
en la que R puede representar una multitud de sustituyentes de los cuales los utilizados más corrientemente están citados en ULLMANN'S ENCYKLOPAEDIE der TECHNISCHEM CHEMIE cuarta edición, vol. 7, (1974), p. 651-652.

10

Así se observa que la mayor parte de los trabajos efectuados hasta el momento con el fin de ampliar este campo están orientados a la investigación de nuevos sustituyentes R, quedando por otra parte sin cambiar el núcleo base de la molécula. Sin embargo, se han hecho algunas tentativas para estudiar la influencia de ciertas variaciones en la molécula sobre la actividad de los compuestos así obtenidos. Se ha propuesto así nuevos compuestos análogos a las penicilinas, pero en los que el grupo gem-dimetilo situado en la posición alfa con relación al átomo de azufre está sustituido por otros grupos. Sucesivamente se han propuesto los grupos siguientes:

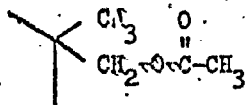
15

20



(patente belga nº 738.131)

y



(D.H.R. BARTON &amp; coll., Chem. Commun. 13, (1970), p.1683-1684)

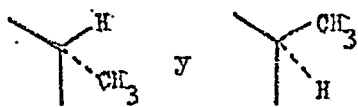
25

30

Sin embargo, se ha concluido en la época de estas diferentes tentativas que la naturaleza de los sustituyentes sobre el átomo de carbono en posición alfa con relación al átomo de azufre no era esencial para la actividad antibacteriana de las penicilinas o de los compuestos

1 análogos (véase por ejemplo referente a esto, R.J. STOOD-  
 LEY en "Progress in Organic Chemistry" (8, (1973), p. 106).  
 Incluso más recientemente, se han propuesto los grupos si-  
 guientes:

5



(P.J. CLAES y coll., Eur.  
 J. Med. Chem.- Chimica  
 Therapeutica, 10, (1975),  
 p. 573 a 577).

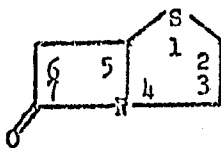
10 La conclusión en cuanto a la actividad anti-  
 bacteriana era idéntica.

Ahora bien, los trabajos de la Sociedad soli-  
 citante en este campo han permitido mostrar que sustituyen-  
 do de forma apropiada el átomo de carbono en la posición  
 15 alfa con relación al átomo de azufre, es posible obtener  
 compuestos cuyas actividades antibacterianas sean al menos  
 iguales a las de las penicilinas correspondientes. Ade-  
 más, estos nuevos compuestos son particularmente interesan-  
 tes en el tratamiento de infecciones causadas por bacte-  
 20 rias gram-negativas productoras de beta-lactamasas. Son  
 estos nuevos compuestos, sus procedimientos de preparación  
 y sus aplicaciones los que forman el objeto del presente  
 invento.

25 En lo que sigue, la nomenclatura utilizada  
 será la presentada por R.J. STOODLEY, loc. cit. 102-103.  
 En particular, se designará por "penam" el núcleo siguien-  
 te:

30

1



5

Los nuevos compuestos preparados según el procedimiento del invento son ácidos amino-espiro/oxa(o tia) cicloalcano-penam<sup>7</sup>-carboxílicos en los que el grupo amino está sustituido por un sustituyente conocido en la química de las penicilinas. Son compuestos análogos a las penicilinas, en los que el átomo de carbono en la posición 2 del núcleo penam está sustituido por una cadena oxa- o tia-alcoholeno, que forma con este átomo de carbono un heterociclo.

10

15

Estos nuevos compuestos contienen por tanto un heterociclo espiránico constituido por el núcleo penam y por un heterociclo monocíclico saturado que posee un átomo de oxígeno o de azufre.

20

Entre los sustituyentes conocidos en la química de las penicilinas, se pueden citar en particular los presentados en ULLMANN'S ENCYKLOPAEDIE der TECHNISCHEN CHEMIE, loc. cit.

25

Así, cuando el sustituyente  $R_2$  es el radical 2-fenilacetilo, los compuestos preparados según el invento son análogos a la bencilpenicilina (penicilina G); cuando  $R_2$  es el radical 2-amino-2-fenilacetilo, los compuestos preparados según el invento son análogos a la ampicilina; cuando el radical  $R_2$  es el radical 5-metil- $\beta$ -fenil-4-isoxazolcarbonilo, los compuestos preparados según el invento son análogos a la oxacilina y cuando el radical  $R_2$  es el

30

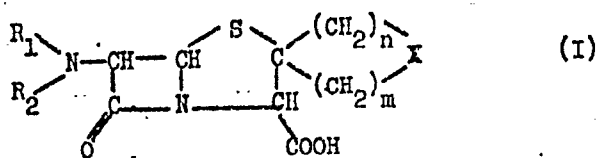
1 radical 2,6-dimetoxibenzoilo, los compuestos preparados según el invento son análogos a la meticilina.

En lo que se refiere a la estereoquímica, la existencia de tres centros asimétricos en C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub> y C<sub>6</sub> debería conducir a la formación de 8 isómeros que pueden agruparse en cuatro diastereoisómeros racémicos. La cinética de las reacciones conduce de hecho a la formación solamente de los isómeros alfa, beta y gamma. Preferiblemente, se aísla de esta mezcla el racémico alfa, cuyas configuraciones relativas corresponden a las de la penicilina, es decir la configuración S en C<sub>3</sub> y la configuración R en C<sub>5</sub> y C<sub>6</sub>.

Los compuestos de fórmula (I) en los que X representa un átomo de azufre o de oxígeno, n y m tienen el significado dado anteriormente, R<sub>1</sub> representa un átomo de hidrógeno y R<sub>2</sub> un radical elegido entre los radicales conocidos en la química de las penicilinas, preferiblemente un radical 2-fenilacetilo, 2-amino-2-fenilacetilo, 5-metil-3-fenil-4-isoxazol-carbonilo o 2,6-dimetoxibenzoilo, se obtienen sometiendo un ácido amino-espiro/oxa (o tia)cicloalcano-penam-7-carboxílico de fórmula (II) correspondiente, uno de sus ésteres o una de sus sales, a una reacción de acilación.

Así, el presente invento tiene por objeto un procedimiento de preparación de un derivado del --

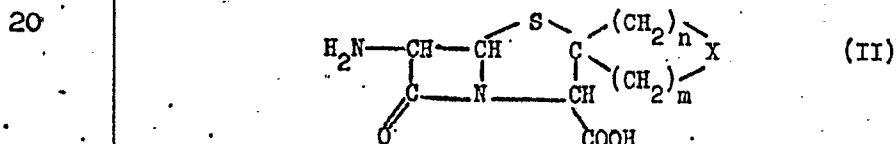
1 ácido amino-espiro[oxa(o tia)cicloalcano-penam]-carboxí-  
lico de fórmula:



5 en la que X representa un átomo de azufre o de oxígeno,  
n y m son independientemente uno de otro los nú-  
meros enteros 1 ó 2,

10  $R_1$  representa un átomo de hidrógeno y  $R_2$  repre-  
senta un radical elegido entre los radicales co-  
nocidos en la química de las penicilinas, prefe-  
riblemente un radical elegido entre los radica-  
les 2-fenil-acetilo, 2-amino-2-fenilacetilo, 5-  
metil-3-fenil-4-isoxazolcarbonilo y 2,6-dimeto-  
xibenzoilo,

15 así como sus sales no tóxicas farmacéuticamente acepta-  
bles, que se caracteriza porque se hace reaccionar un áci-  
do amino-espiro[oxa(o tia)cicloalcano-penam]-carboxílico  
de fórmula (II):



20 en la que n, m y X tienen el mismo significado que se ha  
citado anteriormente, uno de sus ésteres o una de sus sa-  
les, con un halogenuro de un ácido monocarboxílico de fór-  
mula  $R_2OH$  o uno de sus equivalentes funcionales, teniendo  
25  $R_2$  el mismo significado que se ha descrito anteriormente,  
eligiéndose este halogenuro de ácido preferiblemente entre  
el cloruro de fenilacetilo, cloruro de 2-fenilglicilo, clo-  
30 ruro de 5-metil-3-fenil-4-isoxazolcarbonilo y el cloruro

1 de 2,6-dimetoxibenzoilo.

5 Los equivalentes funcionales de los halogenuros del ácido anterior que sirven de agentes de acilación para el radical amino primario de los ácidos amino-espiro-  
10  $\text{[oxa(o tia)cicloalcano-penam]7-carboxílicos}$  de fórmula (II), son principalmente los anhídridos de ácidos, comprendiendo los anhídridos mixtos y en particular los anhídridos mixtos formados con ácidos más fuertes, como los monoésteres alifáticos inferiores del ácido carbónico, los  
15 ácidos alcohilsulfónicos y arilsulfónicos y los ácidos con impedimento más marcado como el ácido difenilacético. Además, puede utilizarse una azida de ácido o un éster o un tioéster activo (por ejemplo con el p-nitrofenol, 2,4-dinitrofenol, tiofenol o el ácido tioacético), pero como variante el ácido libre puede condensarse el mismo con el ácido amino-espiro $\text{[oxa(o tia)cicloalcano-penam]7-carboxílico}$  de fórmula (II), después que el ácido libre ha sido  
20 previamente activado por reacción, con por ejemplo cloruro de (clorometilen)dimetilamonio (véase la patente británica nº 1.008.170 y NOVAK y WEICHET, *Experientia*, XXI, 6, --- (1965), 360) o por medio de enzimas, o con un N,N'-carbonyldiimidazol o un N,N'-carbonylditriazol (véase la patente británica nº 967.108), o con una carbodiimida, por ejemplo la N,N'-díciclohexilcarbodiimida (véase el Ejemplo II  
25 la) y b)) la N,N'-diisopropilcarbodiimida o la N-ciclohexil-N'-(2-morfolinoetil)-carbodiimida (véase SHEEHAN y HESS, *J. Am. Chem. Soc.* 77, (1955) 1067) o una alquilamina (BUIJLE y VIEHE, *Angew. Chem., International Edition*, 3 (1964), 582) o una cetenoimina (STEVENS y MUNK, *J. Am. Chem. Soc.* 80, (1958), 4065) o una sal de isoxazolio (WOOD

1 WARD y colaboradores, J. Am. Chem. Soc. 83, (1961), 1010).  
Igualmente se puede utilizar, en lugar de los halogenuros  
de ácidos, las azolidas correspondientes.

5 Cuando el compuesto de partida utilizado es un  
éster del ácido amino-espiro/oxa(o tia)cicloalcano-penam<sub>7</sub>-  
carboxílico de fórmula (II) preferiblemente el éster ben-  
cílico, el procedimiento según el invento contiene una se-  
gunda etapa que consiste en una hidrogenolisis de los és-  
teres obtenidos de los ácidos correspondientes. Estos és-  
10 teres poseen una actividad antibacteriana débil, y son  
esencialmente útiles como intermediarios de síntesis para  
los ácidos o las sales correspondientes.

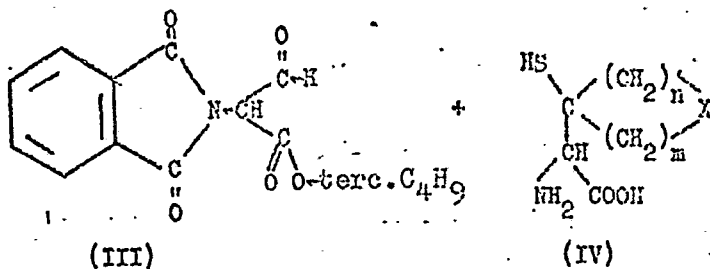
Los compuestos de partida pueden ser indiferen-  
temente los ácidos amino-espiro/oxa(o tia)cicloalcano-pe-  
15 nam<sub>7</sub>-carboxílicos de fórmula (II), sus sales o sus éste-  
res. Sin embargo, se ha podido constatar que era preferi-  
ble en cuanto al rendimiento operar en ciertos casos a par-  
tir de los ésteres, y en otros casos a partir de los pro-  
pios ácidos. En particular, cuando, el sustituyente R<sub>2</sub>  
20 representa los radicales 2-fenilacetilo, 2-amino-2-fenil-  
acetilo y 2,6-dimetoxibenzoilo, es preferible partir de  
un éster, el éster bencílico por ejemplo, del ácido amino-  
-espiro/oxa(o tia)cicloalcano-penam<sub>7</sub>-carboxílico corres-  
pondiente, y someter el compuesto obtenido a una reacción  
25 posterior de debencilación para obtener el ácido libre.  
Por el contrario, cuando el sustituyente R<sub>2</sub> representa el  
radical 5-metil-3-fenil-4-isoxazolcarbonilo, entonces es  
preferible partir del propio ácido. Sin embargo, no es  
preciso perder de vista que los ácidos amino-espiro/oxa(o  
30 tia)cicloalcano-penam<sub>7</sub>-carboxílicos se obtienen siempre a

1 partir de los ésteres correspondientes, porque es neces-  
 2 rio proteger la función ácido temporalmente. Es decir, la  
 3 etapa de transformación del éster en ácido no es una etapa  
 4 suplementaria, porque en realidad está simplemente despla-  
 5 zada en el procedimiento general de síntesis: es en cier-  
 6 tos casos efectuada antes de la reacción de acilación, y en  
 7 ciertos casos después de esta reacción de acilación.

8 El procedimiento de preparación de los áci-  
 9 dos amino-espíro/oxa(o tia)cicloalcano-penam-carboxílico  
 10 de fórmula (II), sus sales de metales alcalinos y sus éste-  
 11 res, que constituyen los compuestos de partida en la pre-  
 12 paración de los compuestos de fórmula (I), forma el objeto  
 13 de la solicitud de patente española no. 466.053, presenta-  
 14 da por la Sociedad solicitante, el mismo día que la presen-  
 15 te, y a la que se envía al lector para una descripción de-  
 16 tallada.

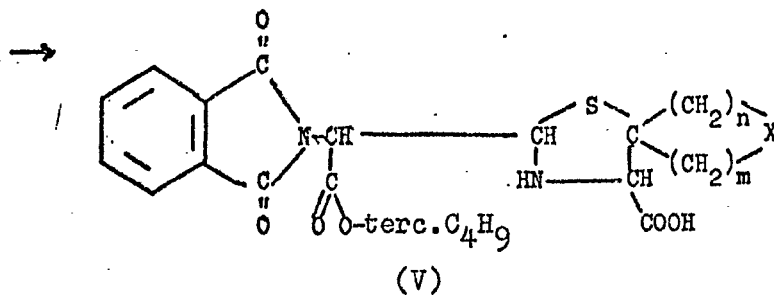
Los compuestos de partida de fórmula (II) se  
 preparan de la forma siguiente:

17 (1) Se hace reaccionar 2-formil-2-ftalimido-acetato de  
 18 terc-butilo de fórmula (III) con un ácido alfa-amino-mer-  
 19 capto-oxa(o tia)cicloalcanoacético de fórmula (IV) para ob-  
 20 tener el isómero alfa de un alfa-ftalimido-ditia-(u oxa-  
 21 tia)-azaespiroalcanoacetato de terc-butilo de fórmula (V),  
 22 según la ecuación:



30

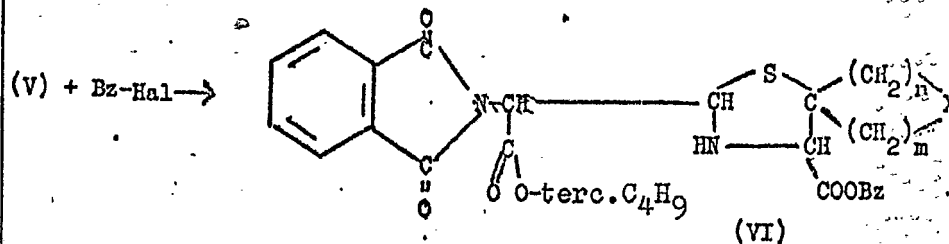
1



5

(2) Se prepara el éster bencílico de fórmula (VI) por reacción con un halogenuro de bencilo, según la ecuación:

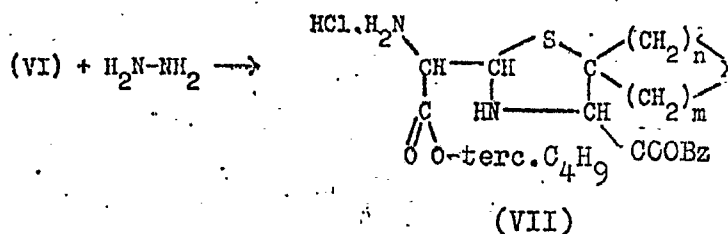
10



15

(3) sometándose a continuación el éster bencílico de fórmula (VI) a una hidrazinólisis que conduce al alfa-amino-ditia-(u oxa-tia)-azaespiroalcano-acetato de terc-butilo de fórmula (VII) en forma de su clorhidrato, según la ecuación:

20

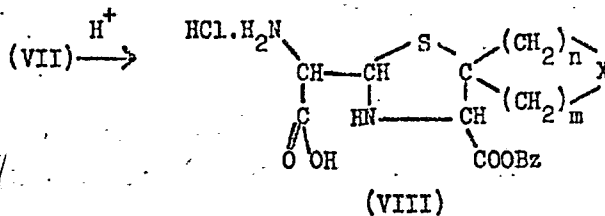


25

(4) se somete a continuación el compuesto de fórmula (VII) a una hidrólisis ácida parcial para obtener un ácido alfa-amino-ditia-(u oxa-tia)-azaespiroalcanoacético correspondiente de fórmula (VIII), en forma de su clorhidrato, según la ecuación:

30

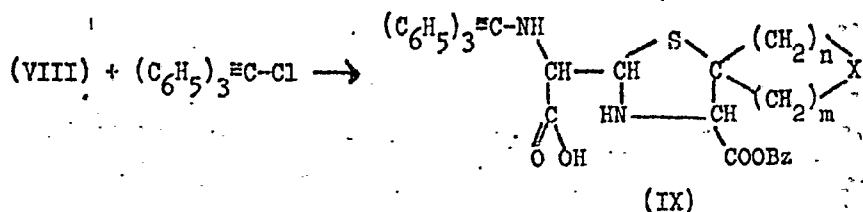
1



5

(5) que por reacción con el cloruro de tritilo produce un ácido alfa-tritilamino-ditia-(u oxa-tia)-azaespiroalca noacético de fórmula (IX) según la ecuación:

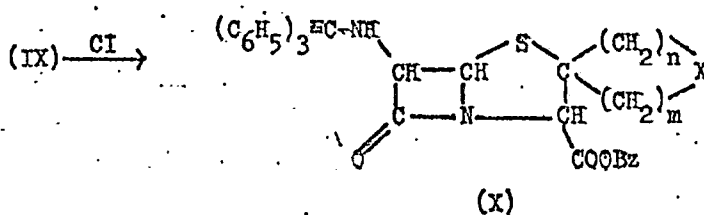
10



15

(6) a continuación se cicliza un compuesto de fórmula (IX) con una carbodiimida (en abreviatura CI), para obtener un tritilamino-espiro[oxa(o tia)cicloalcano-penam]-carboxilato de bencilo de fórmula (X), según la ecuación:

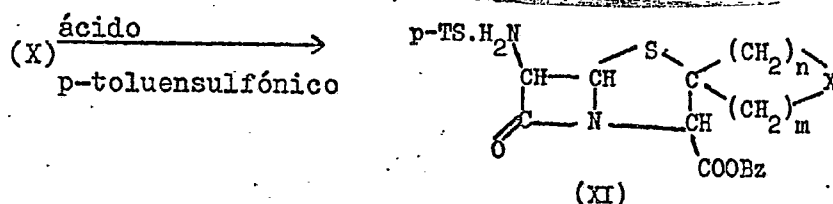
20



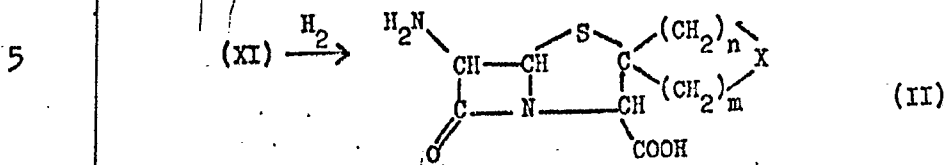
25

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

30



1 (8) que se somete a una hidrogenolisis para obtener un ácido amino-espiro[oxa(o tia)cicloalcano-penam]-carboxílico de fórmula (II), según la ecuación:



en estas fórmulas,

Bz representa el grupo bencilo,

10 p-TS representa el ácido p-toluensulfónico,

Haí un átomo de halógeno, por ejemplo un átomo de bromo,

X un átomo de oxígeno o de azufre, y

siendo n y m independientemente uno del 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 bibliografía (SHEEHAN y colaboradores, J. Am. Chem. Soc. 76, (1954), 158-60).

20

Los compuestos de partida de fórmula (IV) pueden prepararse por ejemplo según el procedimiento siguiente:

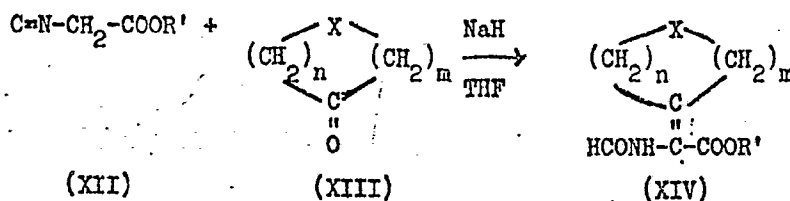
(1) Se condensa un 2-isocianoacetato de R' de fórmula (XII) con una oxa-(o tia)cicloalcanona de fórmula (XIII) por medio de una suspensión de hidruro de sodio en tetrahidrofurano (THF), para obtener un alfa-formamido-oxa(o tia)cicloalcano- $\Delta^{\alpha}$ -acetato de R' de fórmula (XIV), según la ecuación:

25

30

09018

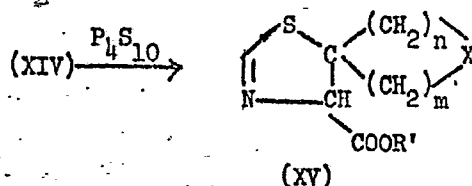
1



5

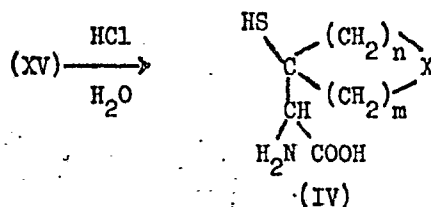
(2) que por tratamiento con pentasulfuro de fósforo se cicla para conducir a un ditia-(u oxa-tia)-azaespiroalce-  
no-carboxilato de R' de fórmula (XV) según la ecuación:

10



(3) el compuesto de fórmula (XV) se somete a continuación a una hidrólisis que se acompaña de una desciclización, lo que conduce a un ácido alfa-amino-mercapto-oxa(o tia)cicloalcanoacético de fórmula (IV) según la ecuación:

15



20

en estas fórmulas,

R' representa un radical alcohilo de C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> o bencilo, y

X representa un átomo de oxígeno o de azufre, siendo m y n independientemente uno del otro los números enteros 1 ó 2.

25

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

30

1 En el marco del presente invento, se entiende  
por "sales no tóxicas farmacéuticamente aceptables" princi-  
palmente las sales de metales como sodio, potasio, calcio  
y aluminio, sales de amonio y sales de aminas como las tri-  
5 alcoholaminas, principalmente trietilamina, procaina, di-  
bencilamina, N-bencil-beta-fenetilamina, l-efenamina, N,N'-  
-dibencil-etilendiamina, deshidroabietilamina, N,N'-bis-des-  
hidroabietil-etilendiamina, N-(alcoholo inferior)piperidi-  
nas, como la N-etilpiperidina, y de forma general las sales  
10 ya conocidas para las penicilinas G y V (ver ULLMANN'S  
ENCYKLÓPAEDIE, loc. cit. p. 653).

Estas sales pueden prepararse a partir de los  
ácidos correspondientes por métodos conocidos per se.

15 En el caso particular en el que  $R_2$  representa el  
radical 2-amino-2-fenilacetilo, los productos preparados se-  
gún el invento pueden convertirse en sus sales de adición  
de ácidos, por ejemplo con ácidos no tóxicos farmaceútica-  
mente aceptables como ácido acético, ácido cítrico, ácido  
succínico, ácido ascórbico, ácido clorhídrico, ácido brom-  
20 hídrico, ácido sulfúrico o ácido fosfórico.

Los compuestos de fórmula (I) en los que X repre-  
senta el grupo sulfinilo ( $S \rightarrow O$ ) y n, m,  $R_1$  y  $R_2$  tienen los  
significados ya indicados anteriormente, se obtienen some-  
tiendo un derivado del ácido amino-espiro[oxa(o tia)ciclo  
alcano-penam]-carboxílico de fórmula (I), en la que X repre-  
25 senta un átomo de azufre, uno de sus ésteres o una de sus  
sales, a una oxidación por medio de un perácido orgánico,  
tal como ácido peracético, ácido perbenzoico, preferiblemen-  
te ácido m-cloroperbenzoico. Cuando el compuesto de partida  
utilizado es un éster de un derivado de fórmula (I), por  
30 ejemplo éster bencílico, será preciso evidentemente trans-

1 formar a continuación el éster obtenido en el ácido correspondiente por hidrogenólisis.

5 Los compuestos de fórmula (I) preparados según el procedimiento del invento, así como sus sales no tóxicas farmacéuticamente aceptables, son utilizables como agentes antibacterianos, como suplementos dietéticos para la nutrición de animales y como agentes terapéuticos para los animales, incluso para el hombre en el tratamiento de enfermedades infecciosas provocadas por las bacterias gram-positivas o gram-negativas.

10 Los compuestos de fórmula (I) poseen en efecto un espectro muy amplio de actividad antibacteriana, a la vez contra las bacterias gram-positivas y gram-negativas, pero son muy particularmente interesantes para combatir las cepas gram-negativas productoras de beta-lactamasas.

15 Ejemplo 1. Preparación de los ácidos (2"-fenilacetamido)-espiro[oxa(o tia)-cicloalcano-penam]-carboxílicos y sus derivados.

20 I.1. Preparación de los (2"-fenilacetamido)-espiro[oxa(o tia)cicloalcano-penam]-carboxilatos de bencilo.

a) 6-(2"-fenilacetamido)-2', 3', 5', 6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-[4H]-pirano]-3-carboxilato de bencilo:

25 A una suspensión de 1,56 g (0,003 mol) de p-toluen sulfonato de 6-amino-2', 3', 5', 6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-[4H]-pirano]-3-carboxilato de bencilo (preparado según el método descrito en el Ejemplo V.1. de la solicitud de patente española nº 466.053, presentada por la Sociedad solicitante el mismo día que la presente) en 100 ml de diclorometano anhidro, se añade de una sola vez, a temperatura ambiente y con agitación, 303 mg (0,003 mol) de trietilamina en 10 ml

1 de diclorometano anhidro. La disolución del p-toluensul-  
 fonato es instantánea. Se enfría entre 0° y -5° y se  
 5 añadido alternativamente y en pequeñas porciones, en el es-  
 pacio de aproximadamente 1 hora, 510 mg (0,0033 mol) de  
 cloruro de fenilacetilo en 10 ml de diclorometano y 335  
 mg (0,0033 mol) de trietilamina en 10 ml de diclorometano.  
 Se mantiene la agitación durante 2 horas volviendo progre-  
 sivamente a la temperatura ambiente.

10 Después de lavar la fase orgánica sucesivamente  
 con ácido clorhídrico 1/20 N, hidrogenocarbonato de sodio  
 en solución acuosa al 5% y agua, y luego por secado sobre  
 sulfato de sodio, se evapora hasta sequedad. El residuo  
 obtenido se recristaliza indiferentemente en acetato de  
 15 etilo o en una mezcla éter-hexano (1:3) para proporcionar  
 1,32 g (rendimiento 94,4%) de 6-(2"-fenilacetamido)-2',3',  
 5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4']-[4H]piran]-3-carboxi-  
 lato de bencilo. P. de F. 130°C.

Análisis para  $C_{25}H_{26}N_2O_5S$  (P.M.=466) (en %)

20	Calculado	C 64,37	H 5,58	N 6,00
	Encontrado	64,70	5,81	6,30

Espectro I.R. (KBr) en  $cm^{-1}$ :

25	3240	NH
	3040	} CH y $CH_2$
	2940	
	2830	
	1772	
	1743	CO éster
	1635	CO amida
30	725	} fenilo monosustituido
	688	

1 R.M.N. (CDCl<sub>3</sub>-tetrametilsilano, abreviadamente TMS)

ppm	multiplicidad	integración	atribución
1 a 2,10	m	4 H	dos H <sub>2</sub> , y dos H <sub>6</sub> ,
3 a 4,10	m	4 H	dos H <sub>3</sub> , y dos H <sub>5</sub> ,
5 3,64	s	2 H	CH <sub>2</sub> del grupo fenil acetilo
4,53	s	1 H	H <sub>3</sub>
5,17	s	2 H	CH <sub>2</sub> del grupo ben- cilo
5,57	q (J=4 cps)	2 H	H <sub>5</sub> y H <sub>6</sub>
10 6	m	1 H	NH
7,35	s	10 H	dos grupos fenilo

(m = multiplete, s= singulete, q = cuadruplete)

b) 6-(2"-fenilacetamido)-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-(4H)-tiopiran]-3-carboxilato de bencilo.

15 Este compuesto se prepara de la misma forma que el precedente a partir de p-toluensulfonato de 6-amino-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-(4H)-tiopiran]-3-carboxilato de bencilo (preparado según el método descrito en el Ejemplo V.2. de la solicitud de patente española nº 466.053, presentada conjuntamente por la sociedad solicitante). El rendimiento es de 56% después de cristalización en éter del producto obtenido. P. de F. 138-141°C.

Análisis para C<sub>25</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub> (P.M.=482) . (en %)

Calculado	C 62,20	H 5,40	N 5,81
25 Encontrado	62,01	5,45	5,80

Espectro I.R. (KBr) en cm<sup>-1</sup>

3260	NH
3035	CH y CH <sub>2</sub>
2900	
1785	CO bêta-lactama

1	1760	CO éster
	1650	CO amida
	1530	NH amida
5	730 } 695 }	fenilo monosustituido

R.M.N. (CDCl<sub>3</sub>-TMS)

	ppm	multiplicidad	integración	atribución
	1,5 a 3	m	8 H	dos veces los H <sub>2</sub> , H <sub>3</sub> , H <sub>5</sub> y H <sub>6</sub>
10	3,65	s	2 H	CH <sub>2</sub> del grupo <u>fenil</u> acetilo
	4,48	s	1 H	H <sub>3</sub>
	5,2	s	2 H	CH <sub>2</sub> del grupo <u>bencilo</u>
	5,2 a 5,8	m	2 H	H <sub>5</sub> y H <sub>6</sub>
15	5,9 a 6,7	m	1 H	NH
	7 a 7,7	m	10 H	dos grupos <u>fenilo</u>

c) Los compuestos siguientes se han preparado de la misma forma que los dos anteriores:

20 6'-(2"-fenilacetamido)-4,5-dihidro-espiro[furano-3(2H)-2'-penam-7-3'-carboxilato de bencilo,

6-(2"-fenilacetamido)-4',5'-dihidro-espiro[penam-2,3'(2'H)-tiofeno-7-3-carboxilato de bencilo,

6'-(2"-fenilacetamido)-espiro[oxetano-3,2-penam-7-3'-carboxilato de bencilo,

25 6-(2"-fenilacetamido)-espiro[penam-2,3'-dietano-7-3-carboxilato de bencilo;

d) 6-(2"-fenilacetamido)-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-[4H]-tiopirano-7-3-carboxilato de bencilo-1'-óxido.

30

Se disuelven 1,6 g (0,0033 mol) de 6-(2"-fenil-

1 acetamido)-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-[4H]/  
 tiopirano]7-3-carboxilato de bencilo (preparado como se ha  
 indicado en 1.b) anterior) en 15 ml de cloroformo. La so-  
 lución se enfría con ayuda de un baño de hielo y se añade  
 5 gota a gota en 25 minutos una solución de 685 mg (0,0031  
 mol) de ácido m-cloroperbenzoico (al 85%) en 10 ml de clo-  
 roformo. Se mantiene la agitación durante 30 minutos.

Después de lavar la solución sucesivamente con  
 hidrogenocarbonato de sodio en solución acuosa al 5% y  
 10 agua, y después de secado sobre sulfato de magnesio, se  
 evapora hasta sequedad. Se obtiene un residuo sólido de  
 1,6 g de 6-(2"-fenilacetamido)-2',3',5',6'-tetrahidro-es-  
 piro[penam-2,4'-[4H]/tiopirano]7-3-carboxilato de bencilo-  
 -1'-óxido. Este producto proporciona una sola mancha en  
 15 cromatografía sobre capa delgada de sílice (eluyente:ben-  
 ceno, acetato de etilo, ácido acético: 20:10:5, Rf =0,45).

Espectro I.R. (CHCl<sub>3</sub>) en cm<sup>-1</sup>:

	3400	NH
	3000	CH <sub>2</sub>
20	1785	CO bêta-lactama
	1740	CO éster
	1680	CO amida
	1500	fenilo
	1040	SO

25 R.M.N. (CDCl<sub>3</sub>-TMS)

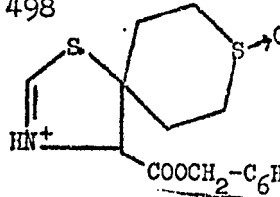
ppm	multiplicidad	integración	atribución
1,4 a 3,4	m	8 H	dos veces las H <sub>2</sub> , H <sub>3</sub> , H <sub>5</sub> , y H <sub>6</sub>
3,65	s	2 H	CH <sub>2</sub> del grupo fenil acetilo

30

ppm	multiplicidad	integración	atribución
4,6	s	1 H	H <sub>3</sub>
5,2	s	2 H	CH <sub>2</sub> del grupo bencilo
5,4 a 5,8	m	2 H	H <sub>5</sub> y H <sub>6</sub>
6 a 6,5	m	1 H	NH
7,4	d	10 H	dos grupos fenilo

(d = doblete)

Espectro de masa: M<sup>+</sup> a m/e 498



a m/e 324.

I.2. Preparación de los ácidos (2"-fenilacetamido)espiro  
oxa(o tia)cicloalcano-penam-carboxílicos.

a) Acido 6-(2"-fenilacetamido)-2',3',5',6'-tetrahydro-espiro[penam-2,4'-[4H]-pirano]-3-carboxílico (sal de potasio).

Se disuelven 466 mg (0,001 mol) de 6-(2"-fenilacetamido)-2',3',5',6'-tetrahydro-espiro[penam-2,4'-[4H]-pirano]-3-carboxilato de bencilo en 50 ml de acetato de etilo. Se efectua la hidrogenolisis bajo una presión de 3 kg de hidrógeno en presencia de 700 mg de carbón sobre paladio al 10% de Pd. Se filtra el catalizador; se enjuaga con un poco de etanol y luego se evapora el disolvente hasta sequedad. El residuo se disuelve a continuación en 50 ml de diclorometano. Se añaden 50 ml de agua. La fase acuosa se lleva bajo agitación a pH 7,2 con hidróxido de potasio en solución acuosa diluida, y luego se decanta y a continuación se liofiliza para proporcionar 370 mg -- (0,000788 mol, rendimiento: 78,8%) de monohidrato de 6-(2"-fenilacetamido)-2',3',5',6'-tetrahydro-espiro[penam-2,

1 4'-[4H]pirano]-3-carboxilato de potasio. P. de F. 218-219°C.

Análisis para  $C_{18}H_{20}KN_2O_5S \cdot H_2O$  (P.M.=433) (en %)

Calculado C 50,0 H 4,86 N 6,48

5 Encontrado 49,2 4,87 6,50

Espectro I.R. (KBr) en  $cm^{-1}$ :

3460  $H_2O$

3250 NH

2940 }  
2842 } CH y  $CH_2$

1750 CO beta-lactama

1647 CO amida

1600 CO del grupo COOK

715 }  
690 } fenilo monosustituido

10 b) Acido 6-(2"-fenilacetamido)-2',3',5',6'-tetrahydro-espiro[penam-2,4'-[4H]-tiopirano]-3-carboxílico (sal de potasio).

20 Este compuesto se prepara de la misma forma que el anterior. Rendimiento: 50%, P. de F. 160-167°C.

Análisis para  $C_{18}H_{20}N_2O_4S_2K \cdot 4H_2O$  (P.M.=502) (en %)

Calculado C 43 H 5,38 N 5,58

Encontrado 42,83 4,42 5,55

25 c) Las sales sódicas correspondientes a sales potásicas preparadas antes han sido preparadas como estas últimas. Incluso por el mismo método, se han preparado las sales sódicas y potásicas de los ácidos (2"-fenilacetamido)-espiro[oxa(o tia)cicloalcano-penam]-carboxílicos a partir de los ésteres bencílicos correspondientes descritos en 30 l.c) antes.

1 d) Acido 6-(2"-fenilacetamido)-2',3',5',6'-tetrahydro-espiro[penam-2,4'-[4H]-tiopirano]-3-carboxílico-1'-óxido (sal de potasio).

5 Este compuesto se prepara de la misma forma a partir del éster bencílico correspondiente indicado en 1.d) anterior. P. de F. 177-203°C (descomposición).

Espectro I.R. (KBr) en  $\text{cm}^{-1}$ :

1750	CO beta-lactama
1650	CO amida
1590	CO del grupo COOK

R.M.N. ( $\text{D}_2\text{O}$ -dimetil-2,2-sila-2-pentanosulfonato de sodio, abreviadamente DSS)

ppm	multiplicidad	integración	atribución
1,5 a 3,4	m	8 H	dos veces los $\text{H}_2, \text{H}_3, \text{H}_5, \text{y } \text{H}_6$
3,65	s	2 H	$\text{CH}_2$ del grupo fenil acetilo
4,35	d	1 H	$\text{H}_3$
5 a 5,8	m	2 H	$\text{H}_5 \text{ y } \text{H}_6$
7,35	s	5 H	un grupo fenilo

Ejemplo II. Preparación de los ácidos (2"-amino-2"-fenilacetamido)-espiro[oxa(o tia)cicloalcano-penam]-carboxílicos y sus derivados.

25 II.1. Preparación de los (2"-amino-2"-fenilacetamido)-espiro[oxa(o tia)cicloalcano-penam]-carboxilatos de bencilo

a) 6-(2"-benciloxicarbonilamino-2"-fenilacetamido)-2',3',5',6'-tetrahydro-espiro[penam-2,4'-[4H]pirano]-3-carboxilato de bencilo.

30 Se mezclan 1,56 g (0,003 mol) de p-toluensulfonato de 6-amino-2',3',5',6'-tetrahydro-espiro[penam-2,4'-

1  $\left[{}^4\text{H}\right]$ pirano-3-carboxilato de bencilo preparado como se  
indica en el Ejemplo I.1.a) y 303 mg (0,003 mol) de tri-  
etilamina en 60 ml de diclorometano. Se enfría la solu-  
ción amarilla-clara obtenida entre 0 y  $-5^{\circ}\text{C}$  y se añade de  
5 una sola vez 939 mg (0,0034 mol) de N-(benciloxicarbonil)-  
-D(-)-2-fenil-glicina y 678 mg de N,N'-diciclohexilcarbodiimida. Después de una hora de agitación en frío, se de-  
ja volver a la temperatura ambiente durante una noche. Des-  
pués de filtración de la N,N'-diciclohexilurea formada,  
10 la fase orgánica se lava sucesivamente con ácido clorhí-  
drico diluido, con una solución acuosa de hidrogenocarbonato de sodio al 5% y finalmente con agua. Después de se-  
cado se evapora hasta sequedad para obtener 2,8 g del pro-  
ducto bruto. Este producto se purifica por cromatografía  
15 sobre columna de sílice (eluyente: cloroformo). Se reco-  
gen así 1,6 g (rendimiento 86,7%) de 6-(2"-benciloxicarbo-  
nilamino-2"-fenilacetamido)-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro  
 $\left[{}^4\text{H}\right]$ penam-2,4'- $\left[{}^4\text{H}\right]$ pirano-3-carboxilato de bencilo. P. de  
F. 58-59°C.

20 Análisis para  $\text{C}_{33}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_5$  (P.M.=615) (en %)  
Calculado C 64,39 H 5,37 N 6,83  
Encontrado 64,42 5,45 6,71

Espectro I.R. (KBr) en  $\text{cm}^{-1}$ :

25 3310 NH  
2945 }  
2850 }  $\text{CH}_2$  y CH  
1775 CO beta-lactama  
1733 CO éster  
1675 CO amida  
30 1230 éster

1

745

692

fenilo monosustituido

5

b) 6-(2"-benciloxicarbonilamino-2"-fenilacetamido)-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-[4H]tiopirano]7-3-carboxilato de bencilo.

10

Este compuesto se obtiene con un rendimiento del 95% de la misma forma que el anterior, partiendo de p-toluensulfonato de 6-amino-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-[4H]tiopirano]7-3-carboxilato de bencilo (preparado como se ha indicado en el Ejemplo I.1.b). P. de F. 66-69°C.

15

c) 6-(2"-benciloxicarbonilamino-2"-fenilacetamido)-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-[4H]tiopirano]7-3-carboxilato de bencilo-1'-óxido.

20

Se disuelven 2,5 g (0,0039 mol) de 6-(2"-benciloxicarbonilamino-2"-fenilacetamido)-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-[4H]tiopirano]7-3-carboxilato de bencilo (preparado como se ha indicado en l.b) anterior) en 18 ml de cloroformo. Se enfría la solución en un baño de hielo, y se añade a ella en el espacio de 30 minutos, 757 mg (0,0037 mol) de ácido m-cloroperbenzoico (al 85%) en 12 ml de cloroformo. Se agita la solución durante 30 minutos, y luego se lava la solución sucesivamente con hidrogenocarbonato de sodio en solución acuosa al 5% y con agua dos veces. Después de secado de la fase orgánica y evaporación del disolvente, se obtienen 2,6 g de 6-(2"-benciloxicarbonilamino-2"-fenilacetamido)-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-[4H]tiopirano]7-3-carboxilato de bencilo-1'-óxido.

25

30

Este producto proporciona una sola mancha en cro

1 matografía sobre capa fina de sílice:

	<u>Eluyente</u>	<u>Rf</u>
	Acetona	0,8
	Acetato de etilo	0,5 a 0,6
5	Cloroformo, metanol 98:2	0,4

Espectro I.R. (KBr) en  $\text{cm}^{-1}$ :

	3350	NH
	3060 } 2900 }	$\text{CH}_2$ y $\text{CH}$
10	1775	CO beta-lactama
	1720	CO éster
	1675	CO amida
	1490	NH amida
	1040	SO
15	695	fenilo monosustituido

R.M.N. ( $\text{CDCl}_3$ -TMS)

	<u>ppm</u>	<u>multiplicidad</u>	<u>integración</u>	<u>atribución</u>
	1,2 a 3,1	m	8 H	dos veces los $\text{H}_2$ , $\text{H}_3$ , $\text{H}_5$ y $\text{H}_6$
20	4,6	s	1 H	$\text{H}_3$
	5,1 y 5,2	2 s	4 H	dos $\text{CH}_2$ de los grupos bencilo
	5,3 a 5,7	m	3 H	$\text{H}_5$ , $\text{H}_6$ y $\text{H}_2$
	7,1 a 7,7	m	15 H	tres grupos fenilo

25 II.2. Preparación de los ácidos (2"-amino-2"-fenilacetamido)-espiro[oxa(o tia)-cicloalcano-penam]-carboxílicos

a) Acido 6-(2"-amino-2"-fenilacetamido)-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-[4H]pirano]-3-carboxílico.

30 Se disuelven en 3 ml de acetato de etilo 1,5 g (0,0024 mol) de 6-(2"-benciloxicarbonilamino-2"-fenilace-

1 tamido)-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-[4H]pi-  
 rano]-3-carboxilato de bencilo y se diluye esta solución  
 con 300 ml de etanol al 96%. Se añaden 5 g de carbono so-  
 bre paladio al 10% de Pd y se efectua la hidrogenolisis  
 5 a una presión de 3 kg de hidrógeno durante 30 minutos. --  
 Después de filtración del catalizador y evaporación del  
 etanol a presión reducida a 30-35°C, se recoge el residuo  
 con agua. Esta fase acuosa se extrae con acetato de etil-  
 lo y a continuación se liofiliza proporcionando 490 mg --  
 10 (0,0012 mol, rendimiento: 50%) de ácido 6-(2"-amino-2"-fe-  
 nilacetamido)-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-  
 [4H]pirano]-3-carboxílico. P. de F. 188-200°C.

Espectro I.R. (KBr) en  $\text{cm}^{-1}$ :

	3390	$\text{NH}_2$
15	2930 } 2880 }	$\text{CH}_2$
	1764	CO beta-lactama
	1680	CO amida
20	720 } 690 }	fenilo monosustituido

R.M.N. (DMSO-TMS)

<u>ppm</u>	<u>multiplicidad</u>	<u>integración</u>	<u>atribución</u>
1 a 2,2	m	4 H	dos $\text{H}_2$ , y dos $\text{H}_6$ ,
2,7 a 4,2	m	4 H	dos $\text{H}_3$ , y dos $\text{H}_5$ ,
25 4,5	s	1 H	$\text{H}_3$
5,1 a 5,6	m	2 H	$\text{H}_5$ y $\text{H}_6$
7,5	s	5 H	un grupo fenilo

b) Acido 6-(2"-amino-2"-fenilacetamido)-2',3',5',6'-tetra-  
 hidro-espiro[penam-2,4'-[4H]tiopirano]-3-carboxílico.

30

Este compuesto se obtiene por el mismo procedi-

09018

1 miento de síntesis que el anterior partiendo de 6-(2"-benciloxicarbonilamino-2"-fenilacetamido)-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-[4H]tiopirano]-3-carboxilato de bencilo. P. de F. 188-190°C.

5 Espectro I.R. (KBr) en  $\text{cm}^{-1}$ :

3400	NH <sub>2</sub>
2900	CH <sub>2</sub>
1770	CO beta-lactama
1690	CO amida

10 695 fenilo monosustituido

c) Ácido 6-(2"-amino-2"-fenilacetamido)-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-[4H]tiopirano]-3-carboxílico-1'-óxido:

15 Este compuesto ha sido preparado con un rendimiento del 44% de la misma forma que los dos anteriores, partiendo de 6-(2"-benciloxicarbonilamino-2"-fenilacetamido)-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-[4H]tiopirano]-3-carboxilato de bencilo-1'-óxido (indicado en l.c) anterior) P. de F. 190-194°C.

20 Espectro I.R. (KBr) en  $\text{cm}^{-1}$ :

3390	NH <sub>2</sub>
2920	CH <sub>2</sub>
2820	
1770	CO beta-lactama
1675	CO amida
1500	COO
695	fenilo monosustituido

25

d) Los ácidos siguientes se han preparado de la misma forma:

30 - Ácido 6'-(2"-amino-2"-fenilacetamido)-4,5-dihidro-espi-

- 1 ro/furano-3(2H),2'-penam7-3'-carboxílico;  
 - Acido 6-(2"-amino-2"-fenilacetamido)-4"5'-dihidro-espi-  
 ro/penam-2,3'(2'H)-tiofeno7-3-carboxílico;  
 - Acido 6'-(2"-amino-2"-fenilacetamido)-espiro/oxetano-  
 5 -3,2'-penam7-3'-carboxílico;  
 - Acido 6-(2"-amino-2"-fenilacetamido)-espiro/penam-2,3'-  
 -tietano7-3-carboxílico.

Ejemplo III. Preparación de los ácidos (5"-metil-3"-fenil-  
 -4"-isoxazol-carboxamido)-espiro/oxa(o tia)cicloalcanó-  
 10 -penam7-carboxílicos y sus derivados.

a) Acido 6-(5"-metil-3"-fenil-4"-isoxazolcarboxamido)-  
 2',3',5',6'-tetrahidro-espiro/penam-2,4'-/4H/pirano7-3-  
 carboxílico (sal de sodio).

15 A una suspensión de 840 mg (0,00325 mol) del  
 ácido 6-amino-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro/penam-2,4'-  
 /4H/pirano7-3-carboxílico (preparado según el método descri-  
 to en el Ejemplo VI.1. de la solicitud de patente española  
 nº 466.053, presentada por la Sociedad solicitante el mismo  
 día que la presente), en 23 ml de cloroformo anhidro, se aña-  
 20 den 2 ml de hexametildisilazano y se calienta a reflujo du-  
 rante 2 horas. La solubilización es rápida. El disolvente  
 se destila bajo vacío y se recoge el residuo con 5 ml de clo-  
 roformo y 5 ml de dioxano anhidro, se enfría a 0°C y se  
 25 añaden 325 mg (0,00325 mol) de trietilamina en 1 ml de clo-  
 roformo. A esta solución, se añaden 720 mg (0,00325 mol)  
 de cloruro de 5-metil-3-fenil-4-isoxazolcarbonilo en una  
 mezcla disolvente anhidra constituida con 3 ml de clorofo-  
 rmo y 3 ml de dioxano y se agita durante 30 minutos alrede-  
 dor de 0°C. Se deja volver a la temperatura ambiente, se  
 30 filtra un producto ligero insoluble y se añaden 2 ml de

1 etanol. Se agita durante 20 minutos más y luego se añaden 414 mg (0,003 mol) de 2-etilbutirato de sodio en 5 ml de isopropanol. La mezcla se deja reposar durante 2 horas y luego se añaden 50 ml de éter anhidro. Aparece inmediatamente un precipitado blanco que se filtra. Se obtiene así 700 mg de 6-(5"-metil-3"-fenil-4"-isoxazolcarboxamido)-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4']-4H-pirano-3-carboxilato de sodio, en forma de dihidrato. (rendimiento 47%). P. de F.: 198-203°C (descomposición).

10 Análisis para  $C_{21}H_{20}N_3NaO_6S \cdot 2H_2O$  (P.M.=501) (en %)

Calculado	C 50,29	H 4,79	N 8,38
Encontrado	50,20	4,77	8,33

Espectro I.R. (KBr) en  $cm^{-1}$ :

	3400	NH y $H_2O$
15	2950	$CH_2$ y $CH_3$
	1760	CO beta-lactama
	1645	CO amida
	1595	CO de $COONa$
	764	} fenilo monosustituido
20	690	

R.M.N. ( $D_2O$ -DSS):

ppm	multiplicidad	integración	atribución	
1,2 a 2,5	m	4 H	dos $H_2$ , y dos $H_6$	
2,65	s	3 H	$CH_3$ en 5"	
25	3,2 a 4,4	m	4 H	dos $H_3$ , y dos $H_5$
4,33	s	1 H	$H_3$	
5,65	q (J=4 cps)	2 H	$H_5$ y $H_6$	
7,7	s	5 H	un grupo fenilo	

b) Se preparan de la misma manera las sales de sodio de los ácidos siguientes:

30

- 1 - Acido 6-(5"-metil-3"-fenil-4"-isoxazolcarboxamido)-2',  
3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-[4H]tiopirano]7-3-  
carboxílico;
- 5 - Acido 6'-(5"-metil-3"-fenil-4"-isoxazolcarboxamido)-4,  
5-dihidro-espiro[furano-3(2H),2'-penam7-3'-carboxílico];
- Acido 6-(5"-metil-3"-fenil-4"-isoxazolcarboxamido)-4',  
5'-dihidro-espiro[penam-2,3'(2'H)-tiofeno]7-3-carboxílico.
- Acido 6'-(5"-metil-3"-fenil-4"-isoxazolcarboxamido)-es-  
piro[oxetano-3,2'-penam]7-3'-carboxílico;
- 10 - Acido 6-(5"-metil-3"-fenil-4"-isoxazolcarboxamido)-espi-  
ro[penam-2,3'-tietano]7-3-carboxílico.

Ejemplo IV. Preparación de los ácidos (2",6"-dimetoxiben-  
zamido)-espiro[oxa(o tia)cicloalcano-penam]7-carboxílicos  
y sus derivados.

- 15 IV.1. 6-(2",6"-dimetoxibenzamido)-2',3',5',6'-tetrahidro-  
-espiro[penam-2,4'-[4H]tiopirano]7-3-carboxilato de ben-  
cilo

20 A una suspensión de 2,5 g (0,0046 mol) de p-to-  
luensulfonato de 6-amino-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[pe-  
nam-2,4'-[4H]tiopirano]7-3-carboxilato de bencilo (prepa-  
rado como se ha indicado en el Ejemplo I.1.b)) en 40 ml  
de diclorometano, se añaden 470 mg (0,0046 mol) de trietil-  
amina en 4 ml de diclorometano. El producto se disuelve  
y se añade alternativamente una solución de 1,028 g - -  
25 (0,0051 mol) de cloruro de 2,6-dimetoxibenzoilo en 8 ml  
de diclorometano y una solución de 518 mg (0,0051 mol) de  
trietilamina en 8 ml de diclorometano. A continuación se  
lava esta solución sucesivamente con ácido clorhídrico --  
1/20N, con agua, con una solución acuosa de hidrogenocar-  
30 bonato de sodio al 5% y con agua.

1 Después de secado y evaporación del disolvente,  
se obtiene un residuo de 2 g de 6-(2'',6''-dimetoxibenzami-  
do)-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4']-[4H]tiopi-  
rano-7-3-carboxilato de bencilo que se recristaliza en --  
5 éter. P. de F.: 187-190°C.

Análisis para  $C_{26}H_{28}N_2O_6S_2$  (P.M.=528) (en %)

Calculado C 59,0 H 5,30 N 5,30

Encontrado 58,89 5,28 5,32

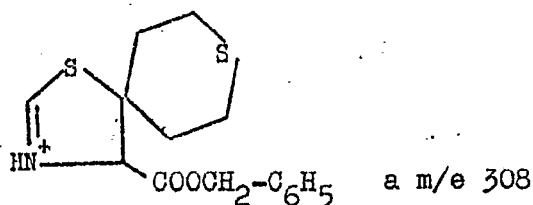
Espectro I.R. (KBr) en  $cm^{-1}$ :

10	3380	NH
	2850	$CH_3$
	1775	CO beta-lactama
	1740	CO éster
	1675	CO amida
15	1515	NH amida
	695	fenilo monosustituido

R.M.N. ( $CDCl_3$ -TMS)

ppm	multiplicidad	integración	atribución
1,6 a 3,1	m	8 H	dos veces los $H_2$ , 20 $H_3$ , $H_5$ , y $H_6$
3,82	s	6 H	H de los dos grupos metoxi
4,5	s	1 H.	$H_3$
5,22	s	2 H	$CH_2$ del grupo bencilo
25 5,5 a 6,1	m	2 H	$H_5$ y $H_6$
6,5 a 6,8	m	3 H	NH + $H_3''$ y $H_5''$
7,1 a 7,6	m	6 H	un grupo fenilo + $H_4''$

Espectro de masas:  $M^{+}$  a m/e 528



5 IV.2.a) Acido 6-(2'',6''-dimetoxibenzamido)-2',3',5',6'-tetrahydro-espiro- $\left[ \begin{array}{l} \text{penam-2,4'} \\ \text{-[4H]tiopirano} \end{array} \right]$ -3-carboxílico (sal de sodio). Este compuesto se obtiene según el procedimiento descrito en el Ejemplo I.2.a). P. de F.: 180-200°C. (descomposición).

10 Espectro I.R. (KBr) en  $\text{cm}^{-1}$ :

2830	$\text{CH}_3$
1765	CO beta-lactama
1660	CO amida
1590	$\text{COO}^-$

15 R.M.N. ( $\text{D}_2\text{O}$ -DSS)

ppm	multiplicidad	integración	atribución
1,8 a 3,2	m	8 H	dos veces los $\text{H}_2$ , $\text{H}_3$ , $\text{H}_5$ , y $\text{H}_6$
3,85	s	6 H	H de los dos grupos metoxi
4,28	s	1 H	$\text{H}_3$
4,7 y 5,62	m	2 H	$\text{H}_5$ y $\text{H}_6$
6,5 a 7,7	m	3 H	$\text{H}_3''$ , $\text{H}_4''$ y $\text{H}_5''$

25 b) Se preparan de la misma forma las sales de sodio de los ácidos siguientes:

- Acido 6-(2'',6''-dimetoxibenzamido)-2',3',5',6'-tetrahydro-espiro $\left[ \begin{array}{l} \text{penam-2,4'} \\ \text{-[4H]pirano} \end{array} \right]$ -3-carboxílico;
- Acido 6'-(2'',6''-dimetoxibenzamido)-4,5-dihidro-espiro $\left[ \begin{array}{l} \text{furano-3(2H)} \\ \text{-[2H]penam} \end{array} \right]$ -3'-carboxílico;
- Acido 6-(2'',6''-dimetoxibenzamido)-4',5'-dihidro-espiro

- 1 penam-2,3'(2'H)-tiofeno7-3-carboxílico;  
 - Acido 6'-(2",6"-dimetoxibenzamido)-espirooxetano-3,2'  
 -penam7-3'-carboxílico;  
 - Acido 6-(2",6"-dimetoxibenzamido)-espiropenam-2,3'-tie  
 5 tano7-3-carboxílico.

PROPIEDADES FARMACOLOGICAS

- Se han efectuado numerosos ensayos comparati-  
 vos referentes a la actividad biológica intrínseca de los  
 compuestos de fórmula I preparados según el invento, frente  
 10 a diversas cepas bacterianas del tipo gram-positivo o gram-  
 negativo. Los productos de referencia de los ensayos com-  
 parativos son respectivamente la penicilina G, la oxacilina,  
 la ampicilina y la meticilina. Se dan a continuación algu-  
 nas reseñas sobre el origen y las características de las ce-  
 15 pas bacterianas utilizadas.

A. Cepas bacterianas GRAM<sup>+</sup>

- STAPHYLOCOCCUS AUREUS 6538.

- Se trata de un capullo gram-positivo particu-  
 larmente sensible a las penicilinas, y que presenta un me-  
 canismo de resistencia poco importante. Esta cepa de Stá-  
 20 philococo es pues representativa de una sensibilidad máxi-  
 ma de la especie.

- STAPHYLOCOCCUS AUREUS 52149

- Se trata de un capullo gram-positivo cuya sen-  
 sibilidad intrínseca del receptor es equivalente a la de  
 la cepa anterior, pero que produce una beta-lactamasa tí-  
 25 pica de la especie que la hace resistente a todas las peni-  
 cilinas sensibles a la hidrólisis.

B. Cepas bacterianas GRAM<sup>-</sup>

- 30 ESCHERICHIA COLI B.

1 Se trata de una cepa clásica de colección de *Es*  
*cherichia Coli*, que produce muy poca beta-lactamasa (del  
tipo I), y es por tanto muy sensible a las penicilinas.  
En lo que se refiere a la clasificación de las beta-lacta  
5 masas, se utiliza aquí la propuesta por M.H. RICHMOND y  
R.B. SYKES en *Advances in Microbial Physiology*, 9 (1973),  
páginas 43 y 45.

- *ESCHERICHIA COLI* B AMPI-R

10 Se trata de un mutante de la cepa anterior,  
creado por la Sociedad solicitante. Esta cepa, al contra-  
rio, es hiper-productora de beta-lactamasa del tipo I ya  
producida por la cepa madre *Escherichia Coli* B. Presenta  
una resistencia creciente a las penicilinas, que parece  
que está unida directamente a la producción de la beta-  
15 -lactamasa.

- *ESCHERICHIA COLI* K 12-44

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

20 - *ESCHERICHIA COLI* K 12-44 S.

Se trata de un mutante pleiotrópico de *Escheri-*  
*chia Coli* K 12-44, no productor de beta-lactamasa, creado  
por la Sociedad solicitante. Es muy sensible a las peni-  
cilinas por hiper-permeabilidad.

25 - *ESCHERICHIA COLI* K 12-44 R .

Esta cepa es un mutante pleiotrópico de *Escheri-*  
*chia Coli* K 12-44, creado por la Sociedad solicitante. No  
es productor de beta-lactamasa pero presenta sin embargo  
una resistencia a las penicilinas, probablemente por módi-  
30 ficación de la permeabilidad de las capas.

1 C. Resultado de los ensayos comparativos de actividad.

Se ha determinado para un cierto número de compuestos de fórmula (I) la concentración mínima inhibidora (en abreviatura MIC) según el procedimiento descrito a continuación.

5 Los productos a ensayar se introducen en concentraciones crecientes en un medio de cultivo con gelosa en botes de Petri. Se utiliza un inoculador múltiple para depositar simultáneamente gotas (en total 10 microlitros) de inóculo (suspensión a aproximadamente  $10^5$  bacterias por ml) en la superficie del medio. Después de incubación a 10 37°C durante 24 horas, se observa el crecimiento de bacterias. Por definición, la MIC se expresa por la concentración mínima que inhibe la multiplicación de las bacterias. 15 En los resultados siguientes sin embargo, la MIC se supone que vale uno para los productos de referencia, y las cifras de actividad indicadas para los compuestos de fórmula (I) ensayados son pues valores relativos. Esta presentación de los resultados es la más correcta y la más reproducible 20 pues, para una misma cepa bacteriana, se pueden observar valores de MIC diferentes si se miden en momentos diferentes. Esto está unido a las variaciones "temporales" de las cepas y de su medio nutritivo.

Los compuestos que se han ensayado son los siguientes:

25 - Acido 6-(2"-fenilacetamido)-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-(4H)-pirano]-3-carboxílico (sal potásica) (fórmula I):  $n = m = 2$ ,  $X = 0$ ,  $R_1 = H$ ,  $R_2 = 2$ -fenilacetilo (compuesto A).

30 - Acido 6-(2"-amino-2"-fenilacetamido)-2',3',5',6'-tetra-

- 1 - hidro-espiro[penam-2,4'-[4H]pirano]-3-carboxílico (fórmula I:  $n = m = 2$ ,  $X = O$ ,  $R_1 = H$ ,  $R_2 = 2$ -amino-2-fenilacetilo) (compuesto B).
- 5 - Acido 6-(5"-metil-3"-fenil-4"-isoxazolcarboxamino)-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-[4H]pirano]-3-carboxílico (sal sódica) (fórmula I:  $n = m = 2$ ,  $X = O$ ,  $R_1 = H$ ,  $R_2 = 5$ -metil-3-fenil-4-isoxazolcarbonilo) (compuesto C).
- 10 - Acido 6-(2"-fenilacetamido)-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-[4H]tiopirano]-3-carboxílico (sal potásica) (compuesto E).  
(fórmula I,  $n = m = 2$ ,  $X = S$ ,  $R_1 = H$ ,  $R_2 = 2$ -fenilacetilo).
- 15 - Acido 6-(2"-amino-2"-fenilacetamido)-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-[4H]tiopirano]-3-carboxílico (compuesto F).  
(Fórmula I,  $n = m = 2$ ,  $X = S$ ,  $R_1 = H$ ,  $R_2 = 2$ -amino-2-fenilacetilo).
- 20 - Acido 6-(2",6"-dimetoxibenzamido)-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-[4H]tiopirano]-3-carboxílico, (sal sódica) (compuesto G)  
(fórmula I,  $n = m = 2$ ,  $X = S$ ,  $R_1 = H$ ,  $R_2 = 2,6$ -dimetoxibenzoilo).
- 25 - Acido 6-(2"-fenilacetamido)-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-[4H]tiopirano]-3-carboxílico-1'-óxido (sal potásica) (compuesto H)  
(Fórmula I,  $n = m = 2$ ,  $X = SO$ ,  $R_1 = H$ ,  $R_2 = 2$ -fenilacetilo).
- 30 - Acido 6-(2"-amino-2"-fenilacetamido)-2',3',5',6'-tetrahidro-espiro[penam-2,4'-[4H]tiopirano]-3-carboxílico-1'-óxido (compuesto J.).

1 (Fórmula I,  $n = m = 2$ ,  $X = SO$ ,  $R_1 = H$ ,  $R_2 = 2\text{-amino-2-fenilacetilo}$ ).

a) Ensayos comparativos con la penicilina G

Cepa utilizada	Penicilina	Compuesto	Compuesto	Compuesto
	G	A	E	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	1

10 b) Ensayos comparativos con oxacilina

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

c) Ensayos comparativos con ampicilina

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

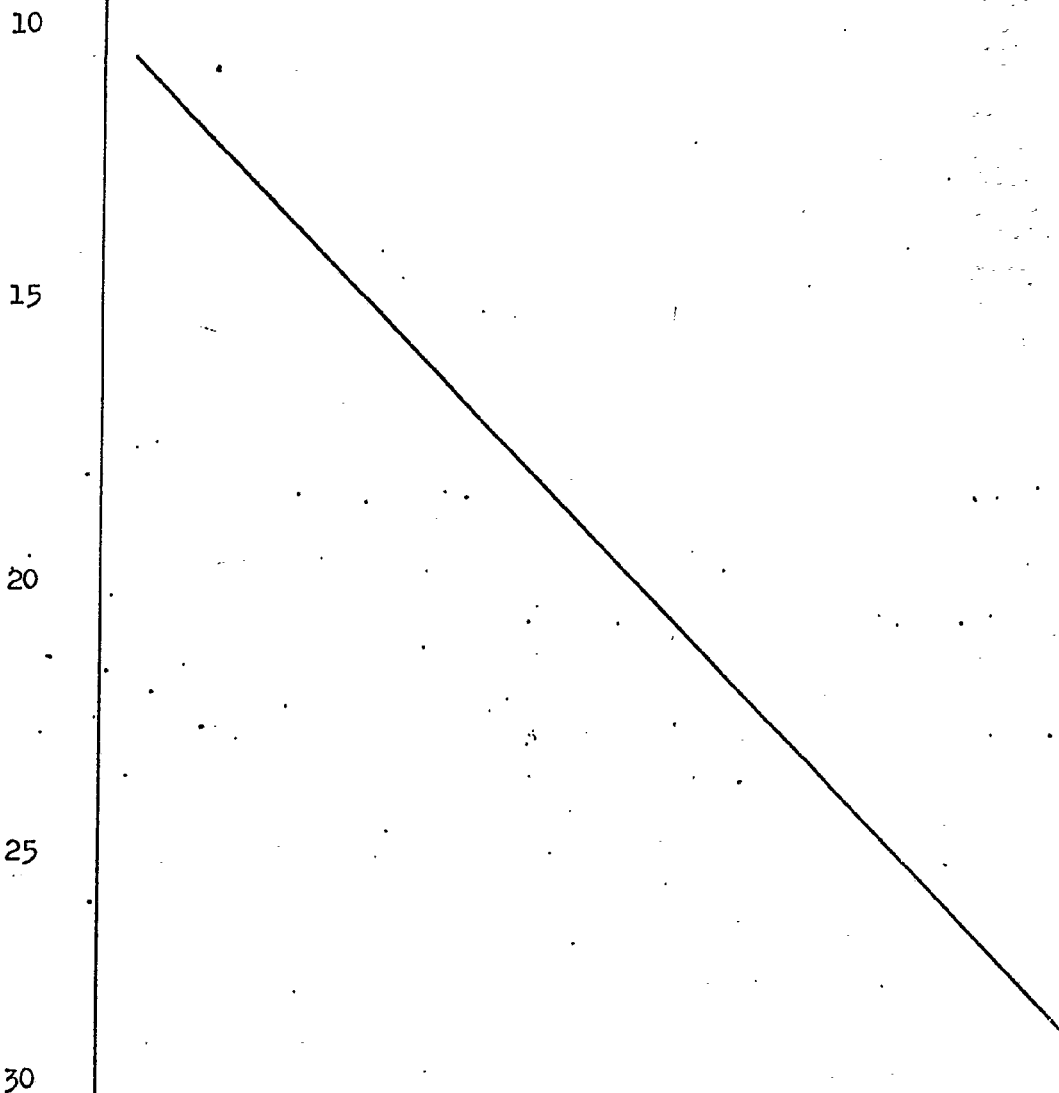
d) Ensayos comparativos con meticilina

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

Se deduce de estos resultados que los compuestos de fórmula (I) presentan actividades comparables a las de las penicilinas tradicionales correspondientes. Sin embargo, el interés esencial de estos nuevos compuestos será demostrado por los resultados siguientes.

1 En efecto, los compuestos de fórmula (I) se distinguen de las penicilinas tradicionales por una mayor resistencia a las beta-lactamasas, que son enzimas desactivantes y que hidrolizan la función lactama del núcleo penicilánico.

5 Esta propiedad de los compuestos de fórmula (I) está demostrada 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 recogen en la Tabla siguiente:



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	
Tiempos de incubación (minutos)	Ampicilina B	Tiempos 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, después de 6 minutos de incubación en la beta-lactamasa TEM, la actividad de la ampicilina no es más revelable, así como subsiste todavía una actividad correspondiente a 438 micromoles del compuesto B, es decir 87%. La misma observación puede hacerse para la beta-lactamasa P 99 con la que, después de 9 minutos de incubación, la actividad de la ampicilina no es más revelable, así como subsiste todavía una actividad correspondiente a 334 micromoles del compuesto B, es decir 67%.

5  
10  
15                    Estos resultados son además confirmados por los ensayos de actividad que han sido descritos antes. En efecto, se puede constatar que entre la actividad del compuesto B sobre E. COLI B y sobre su mutante hiper-productor de beta-lactamasa E. Coli B AMPI-R, hay una diferencia de un factor 3,5.

20                    Una resistencia mayor de estas beta-lactamasas se observa igualmente para el compuesto F. Sin embargo es menos pronunciada que para el compuesto B. Alguna modificación del comportamiento frente a estas beta-lactamasas no ha sido revelado para el compuesto J con relación a la ampicilina.

25                    Un aumento muy neto de la resistencia a la beta-lactamasa TEM se observa igualmente 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 solución de sosa caústica de concentración dada. Este método permite la dosificación del ácido peniciloico que resulta de la hidrólisis de la función beta-lactama por la

30

1 enzima lítica. Los resultados de esta cinética en la Ta-  
bla siguiente muestran claramente la superioridad de los  
compuestos E y H con relación a la penicilina G.

ml de sosa caústica 0,005 N consumidos por minuto

5	penicilina G	3,83
	compuesto E	0,64
	compuesto H	0,50

10 Esto confirma por tanto el interés de los com-  
puestos de fórmula (I) con relación a las penicilinas ya  
conocidas, particularmente para combatir las cepas gram-  
-negativas productoras de beta-lactamasas.

D. Posología y utilización

15 La administración de estos compuestos de fórmu-  
la (I) se hace, como para todas las penicilinas, por vía  
oral o parenteral.

20 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. Pa-  
ra los homólogos de la ampicilina (compuestos B, F y J)  
puede estimarse una posología idéntica de 0,7 a 7 g por  
día, entendiéndose bien que estas dosis son susceptibles  
de adaptación en función de la enfermedad del enfermo y  
de la enfermedad que ha de tratarse.

25

30

1

REIVINDICACIONES

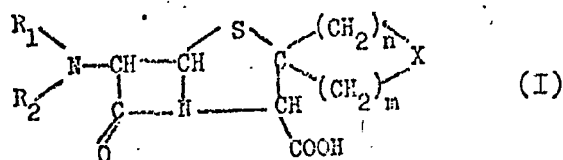
5

Los puntos de invención propia y nueva que se presentan 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:

10

1ª.- Procedimiento de preparación de nuevos derivados del ácido amino-espiro/oxa(o tia)cicloalcano-penam7-carboxílico que responden a la fórmula general

15

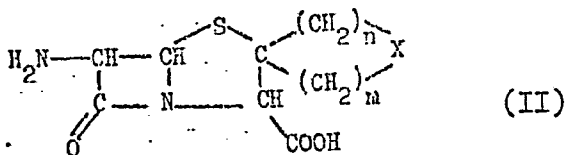


20

en la que X representa un átomo de azufre o de oxígeno o el grupo sulfinilo, n y m son independientemente uno del otro los números enteros 1 ó 2, preferiblemente 2; R<sub>1</sub> representa hidrógeno y R<sub>2</sub> representa un radical elegido entre los radicales conocidos en la química de las penicilinas, preferiblemente un radical elegido entre los radicales 2-fenilacetilo, 2-amino-2-fenilacetilo, 5-metil-3-fenil-4-isoxazolcarbonilo y 2,6-dimetoxi-benzoilo, así como sus sales no tóxicas farmacéuticamente aceptables, preferiblemente las sales de sodio y potasio, caracterizado porque se hace reaccionar un ácido amino-espiro/oxa(o tia)cicloalcano-penam7-carboxílico de fórmula:

30

1



5

10

15

20

en la que X es un átomo de azufre o de oxígeno y n y m tienen el mismo significado que se ha citado antes, un éster o una sal de este ácido, con un halogenuro de un ácido monocarboxílico de fórmula  $R_2OH$  o uno de sus equivalentes funcionales, teniendo  $R_2$  el mismo significado que se ha citado antes, porque se convierte eventualmente el derivado obtenido de fórmula (I) en la cual X representa un átomo de azufre, en el derivado correspondiente de fórmula (I) en la cual X representa el grupo sulfínilo, por oxidación por medio de un perácido orgánico, y cuando se obtiene un derivado del ácido amino-espiro[oxa(o tia)cicloalcano-penam]-carboxílico de fórmula (I), en forma de un éster, se le transforma en el ácido correspondiente por hidrogenolisis, y porque se transforma eventualmente el derivado obtenido en una sal no tóxica farmacéuticamente aceptable.

25

2<sup>a</sup>.- Procedimiento según la reivindicación 1<sup>a</sup>, caracterizado porque el éster del ácido amino-espiro[oxa(o tia)cicloalcano-penam]-carboxílico es un éster bencílico.

30

3<sup>a</sup>.- Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1<sup>a</sup> y 2<sup>a</sup>, caracterizado porque el halogenuro de ácido se elige entre el cloruro de fenil-acetilo, cloruro de 2-fenilglicilo, cloruro de 5-metil-3-fenil-4-isoxazolcarbonilo y cloruro de 2,6-dimetoxiben-

1 zoilo.

4<sup>a</sup>.- PROCEDIMIENTO DE PREPARACION DE NUEVOS  
DERIVADOS DEL ACIDO AMINO-ESPIRO/OXA(O TIA)CICLOALCANO-  
-PENAM<sup>7</sup>-CARBOXILICO.

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

Esta Memoria consta de cuarenta y cuatro  
hojas escritas a máquina por una sola cara.

10

Madrid,

P.A.

25.OCT.1978

Alberto de Elizaburu  
Por poder,

15

20

25

17108

JL/