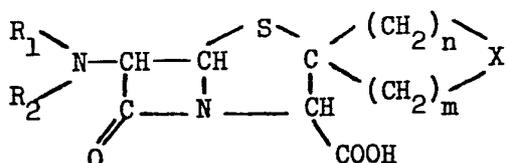


REVENDEICATIONS

1. Composés thérapeutiquement actifs de l'acide aminospiro[oxa- (ou thia)cycloalcanepénam]carboxylique répondant à la formule générale



dans laquelle:

X représente un atome de soufre ou d'oxygène ou le groupe sulfynyle,

n et m sont, indépendamment l'un de l'autre, les nombres entiers 1 ou 2,

R₁ représente de l'hydrogène et R₂ représente un radical choisi parmi les radicaux 2-phénylacétyle, 2-amino-2-phénylacétyle, 5-méthyl-3-phényl-4-isoxazolecarbonyle et 2,6-diméthoxybenzoyle, ou bien R₁ et R₂ représentent ensemble le radical (hexahydro-[1H]-azépin-1-yl)méthylène,

ainsi que leurs sels non toxiques pharmaceutiquement acceptables.

2. Composés selon la revendication 1, caractérisés en ce que n et m = 2.

3. Composés selon la revendication 1:

acide 6-(2''-phénylacétamido)-2', 3', 5', 6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]-pyranne]-3-carboxylique ou son sel de potassium,

acide 6-(2''-phénylacétamido)-2', 3', 5', 6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]-thiopyranne]-3-carboxylique ou son sel de potassium,

acide 6-(2''-phénylacétamido)-2', 3', 5', 6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'[4H]-thiopyranne]-3-carboxylique 1'-oxyde ou son sel de potassium,

acide 6-(2''-amino-2''-phénylacétamido)-2', 3', 5', 6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]-pyranne]-3-carboxylique,

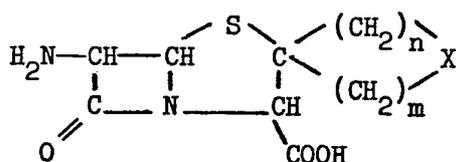
acide 6-(2''-amino-2''-phénylacétamido)-2', 3', 5', 6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]-thiopyranne]-3-carboxylique,

acide 6-(2''-amino-2''-phénylacétamido)-2', 3', 5', 6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]-thiopyranne]-3-carboxylique 1'-oxyde,

acide 6-(5''-méthyl-3''-phényl-4''-isoxazolecarboxamido)-2', 3', 5', 6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]-pyranne]-3-carboxylique ou son sel de sodium,

acide 6-(2'', 6''-diméthoxybenzamido)-2', 3', 5', 6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]-thiopyranne]-3-carboxylique ou son sel de sodium.

4. Procédé de préparation des composés répondant à la formule générale de la revendication 1 dans laquelle X représente un atome de soufre ou d'oxygène, n et m ont la signification donnée à la revendication 1, R₁ est un atome d'hydrogène et R₂ représente un radical choisi parmi les radicaux 2-phénylacétyle, 2-amino-2-phénylacétyle, 5-méthyl-3-phényl-4-isoxazolecarbonyle et 2,6-diméthoxybenzoyle, caractérisé en ce que l'on fait réagir un acide aminospiro[oxa- (ou thia)cycloalcanepénam]carboxylique de formule



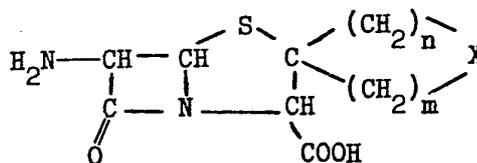
dans laquelle X, n et m ont la même signification que ci-dessus, avec un halogénure d'un acide monocarboxylique de formule R₂OH ou un de ses équivalents fonctionnels, R₂ ayant la même signification que ci-dessus.

5. Procédé de préparation des composés répondant à la formule générale de la revendication 1 dans laquelle X représente un atome de soufre ou d'oxygène, n et m ont la signification donnée à la revendication 1, R₁ est un atome d'hydrogène et R₂ représente un

2

radical choisi parmi les radicaux 2-phénylacétyle, 2-amino-2-phénylacétyle, 5-méthyl-3-phényl-4-isoxazolecarbonyle et 2,6-diméthoxybenzoyle, caractérisé en ce que: a) on fait réagir un ester d'un acide aminospiro[oxa- (ou thia)cycloalcanepénam]carboxylique de formule

5



10

dans laquelle X, n et m ont la même signification que ci-dessus, avec un halogénure d'un acide monocarboxylique de formule R₂OH ou un de ses équivalents fonctionnels, R₂ ayant la même signification que ci-dessus, et en ce que: b) on transforme l'ester obtenu en l'acide correspondant par hydrogénolyse.

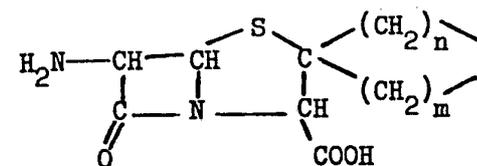
6. Procédé selon la revendication 5, caractérisé en ce que l'ester de l'acide aminospiro[oxa- (ou thia)cycloalcanepénam]carboxylique est un ester benzyle.

7. Procédé de préparation des composés répondant à la formule générale de la revendication 1 dans laquelle X représente le groupe sulfynyle, n et m ont la signification donnée à la revendication 1, R₁ est un atome d'hydrogène et R₂ représente un radical choisi parmi les radicaux 2-phénylacétyle, 2-amino-2-phénylacétyle, 5-méthyl-

3-phényl-4-isoxazolecarbonyle et 2,6-diméthoxybenzoyle, caractérisé en ce que: a) on fait réagir un acide aminospiro[thiacycloalcanepénam]carboxylique de formule

20

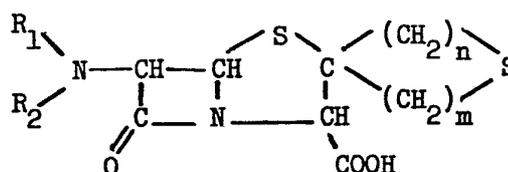
25



30

35 dans laquelle X est un atome de soufre et n et m ont la même signification que ci-dessus, avec un halogénure d'un acide monocarboxylique de formule R₂OH ou un de ses équivalents fonctionnels, R₂ ayant la même signification que ci-dessus, et en ce que: b) on soumet le dérivé de l'acide aminospiro[thiacycloalcanepénam]carboxylique ainsi obtenu de formule

40



45

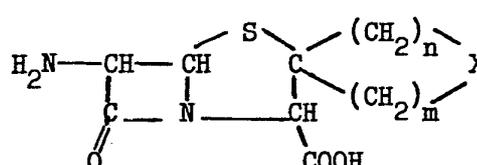
dans laquelle n, m, R₁ et R₂ ont la même signification que ci-dessus, à une oxydation au moyen d'un peracide organique.

8. Procédé de préparation des composés répondant à la formule générale de la revendication 1 dans laquelle X représente le groupe sulfynyle, n et m ont la signification donnée à la revendication 1, R₁ est un atome d'hydrogène et R₂ représente un radical choisi parmi les radicaux 2-phénylacétyle, 2-amino-2-phénylacétyle, 5-méthyl-

3-phényl-4-isoxazolecarbonyle et 2,6-diméthoxybenzoyle, caractérisé en ce que: a) on fait réagir un ester d'un acide aminospiro[thiacycloalcanepénam]carboxylique de formule

55

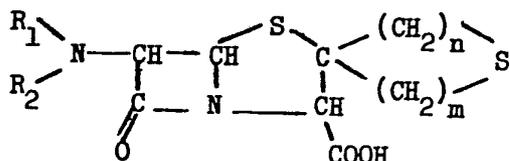
60



60

65 dans laquelle X est un atome de soufre et n et m ont la même signification que ci-dessus, avec un halogénure d'un acide monocarboxylique de formule R₂OH ou un de ses équivalents fonctionnels, R₂ ayant la même signification que ci-dessus, en ce que:

b) on soumet l'ester du dérivé de l'acide aminospiro[thiacycloalcanépénam]carboxylique ainsi obtenu de formule



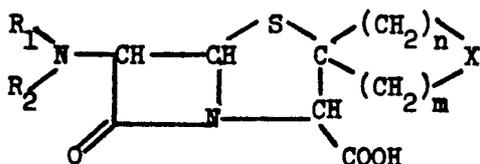
dans laquelle n, m, R₁ et R₂ ont la même signification que ci-dessus, à une oxydation au moyen d'un peracide organique, et en ce que:

c) on transforme l'ester obtenu en l'acide correspondant par hydrogénéolyse.

9. Procédé selon la revendication 8, caractérisé en ce que l'ester du dérivé de l'acide aminospiro[thiacycloalcanépénam]carboxylique est un ester benzylique.

10. Composition pharmaceutique contenant une quantité thérapeutiquement efficace d'un composé selon l'une des revendications 1 à 3, en mélange avec un excipient pharmaceutiquement acceptable.

La présente invention a pour objet de nouveaux dérivés de l'acide aminospiro[oxa- (ou thia)cycloalcanépénam]carboxylique répondant à la formule générale



dans laquelle:

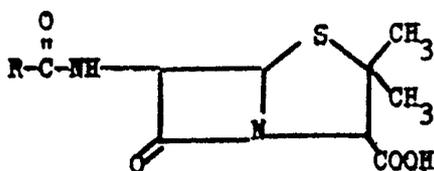
X représente un atome de soufre ou d'oxygène ou le groupe sulfinylo,

n et m sont, indépendamment l'un de l'autre, les nombres entiers 1 ou 2,

R₁ représente de l'hydrogène et R₂ représente un radical choisi parmi les radicaux 2-phénylacétyle, 2-amino-2-phénylacétyle, 5-méthyl-3-phényl-4-isoxazolecarbonyle et 2,6-diméthoxybenzoylo, ou bien R₁ et R₂ représentent ensemble le radical (hexahydro-1H-azépin-1-yl)méthylène, ainsi que leurs sels non toxiques pharmaceutiquement acceptables.

La présente invention a également pour objet les procédés de préparation de ces nouveaux dérivés.

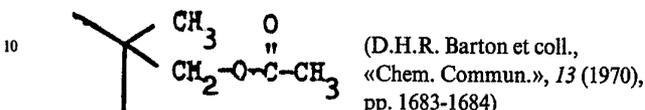
On peut rappeler que, d'une manière générale, les pénicillines sont une famille de composés qui répondent à la formule suivante:



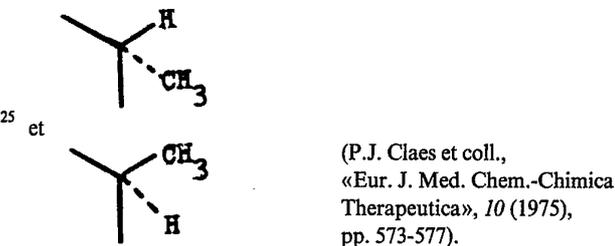
dans laquelle R peut présenter une multitude de substituants dont les plus couramment utilisés sont cités dans «Ullmanns Encyklopädie der Technischen Chemie», 4^e éd., vol. 7, (1974), pp. 651-652.

On constate ainsi que la majorité des travaux effectués à ce jour en vue d'étendre ce domaine étaient axés sur la recherche de nouveaux substituants R, le noyau de base de la molécule restant inchangé par ailleurs. Néanmoins, quelques tentatives ont été faites pour étudier l'influence de certaines variations dans la molécule sur l'activité des composés ainsi obtenus. C'est ainsi que l'on a proposé de nouveaux composés analogues aux pénicillines, mais dans lesquels le groupe gem-diméthyle situé en position α par rapport à l'atome de

soufre était remplacé par d'autres groupements. On a successivement proposé les groupements suivants:



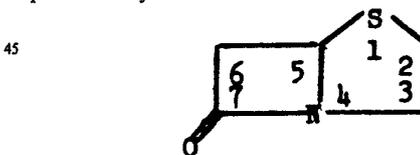
Cependant, on a conclu à l'époque de ces différentes tentatives que la nature des substituants sur l'atome de carbone en position α par rapport à l'atome de soufre n'était pas essentielle pour l'activité antibactérienne des pénicillines ou des composés analogues (voir par exemple à ce sujet R.J. Stoodley dans «Progress in Organic Chemistry», 8 (1973), p. 106). Encore plus récemment, on a proposé les groupements suivants:



La conclusion quant à l'activité antibactérienne était identique.

Or, les travaux des inventeurs dans ce domaine ont permis de montrer qu'en substituant de manière appropriée l'atome de carbone en position α par rapport à l'atome de soufre, il est possible d'obtenir des composés dont les activités antibactériennes sont au moins égales à celles des pénicillines correspondantes. En outre, ces nouveaux composés sont particulièrement intéressants dans le traitement des infections causées par des bactéries Gram négatives productrices de β-lactamases. Ce sont ces nouveaux composés et leurs procédés de préparation qui font l'objet de la présente invention.

Dans ce qui suit, la nomenclature utilisée sera celle présentée par R.J. Stoodley, *loc. cit.*, pp. 102-103. En particulier, on désignera par pénam le noyau suivant:



Les nouveaux composés de la présente invention sont des acides aminospiro[oxa- (ou thia)cycloalcanépénam]carboxylique dans lesquels le groupe amino est substitué par un substituant connu en chimie des pénicillines. Ce sont des composés analogues aux pénicillines, dans lesquels l'atome de carbone en position 2 du noyau pénam est substitué par une chaîne oxa- ou thiaalkylène, qui forme avec cet atome de carbone un hétérocycle.

Ces nouveaux composés comportent donc un hétérocycle spiranique constitué par le noyau pénam et par un hétérocycle monocyclique saturé possédant un atome d'oxygène ou de soufre.

Parmi les substituants connus en chimie des pénicillines, on peut citer en particulier ceux présentés dans «Ullmanns Encyklopädie der Technischen Chemie», *loc. cit.*

Ainsi, lorsque le substituant R₂ est le radical 2-phénylacétyle, les composés de l'invention sont analogues à la benzylpénicilline (pénicilline G); lorsque R₂ est le radical 2-amino-2-phénylacétyle, les composés de l'invention sont analogues à l'ampicilline; lorsque le radical R₂ est le radical 5-méthyl-3-phényl-4-isoxazolecarbonyle, les composés de l'invention sont analogues à l'oxacilline et, lorsque le

radical R_2 est le radical 2,6-diméthoxybenzoyle, les composés de l'invention sont analogues à la méthicilline.

Lorsque R_1 et R_2 représentent ensemble le radical (hexahydro-1H-azépin-1-yl)méthylène, les composés de l'invention sont analogues aux pénicillines qui font l'objet du brevet britannique N° 1293590. On a, dans ce cas, des chaînes latérales reliées au noyau

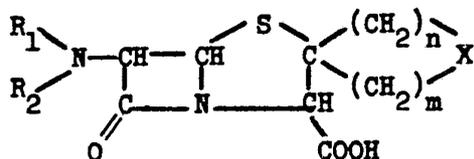


pénam par un groupe $-\text{N}-\text{C}=\text{N}-$ et l'on qualifie ces composés d'amidinopénicillines. Ce type de chaîne latérale a été introduit récemment dans la chimie des pénicillines et il conduit à des composés dont l'activité au niveau de la paroi bactérienne procède d'un mécanisme différent de celui des pénicillines comportant des chaînes latérales traditionnelles, telles que définies précédemment. La différence de leur mode d'action sur les bactéries confère aux amidinopénicillines un spectre antibactérien original.

En ce qui concerne la stéréochimie, l'existence de trois centres asymétriques en C_3 , C_5 et C_6 devrait conduire à la formation de 8 isomères pouvant se grouper en 4 diastéréo-isomères racémiques. La cinétique des réactions conduit en fait à la formation seulement des isomères α , β et γ . De préférence, on isole de ce mélange le racémique α , dont les configurations relatives correspondent à celles de la pénicilline, c'est-à-dire la configuration S en C_3 , et la configuration R en C_5 et C_6 .

Les composés de formule (I) conformes à l'invention, dans lesquels X représente un atome de soufre ou d'oxygène, n et m ont la signification donnée plus haut, R_1 représente un atome d'hydrogène et R_2 un radical choisi parmi les radicaux 2-phénylacétyle, 2-amino-2-phénylacétyle, 5-méthyl-3-phényl-4-isoxazolecarbonyle et 2,6-diméthoxybenzoyle, sont obtenus en soumettant un acide aminospéro[oxa- (ou thia)cycloalcanepénam]carboxylique de formule (II) correspondant, un de ses esters ou un de ses sels, à une réaction d'acylation.

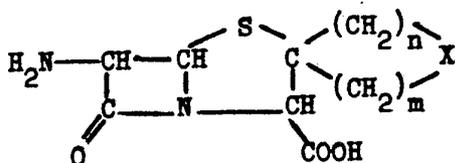
Ainsi, la présente invention a également pour objet un procédé de préparation d'un dérivé de l'acide aminospéro[oxa- (ou thia)cycloalcanepénam]carboxylique de formule



dans laquelle:

X représente un atome de soufre ou d'oxygène, n et m sont, indépendamment l'un de l'autre, les nombres entiers 1 ou 2,

R_1 représente un atome d'hydrogène et R_2 représente un radical choisi parmi les radicaux 2-phénylacétyle, 2-amino-2-phénylacétyle, 5-méthyl-3-phényl-4-isoxazolecarbonyle et 2,6-diméthoxybenzoyle, ainsi que de leurs sels non toxiques pharmaceutiquement acceptables, qui est caractérisé en ce que l'on fait réagir un acide aminospéro[oxa- (ou thia)cycloalcanepénam]carboxylique de formule (II)



dans laquelle n, m et X ont la même signification que ci-dessus, un de ses esters ou un de ses sels, avec un halogénure d'un acide monocarboxylique de formule $R_2\text{OH}$ ou un de ses équivalents fonctionnels, R_2 ayant la même signification que ci-dessus, cet halogénure d'acide étant choisi de préférence parmi le chlorure de phénylacétyle, le chlorure de 2-phényl-glycyle, le chlorure de 5-méthyl-3-phényl-4-isoxazolecarbonyle et le chlorure de 2,6-diméthoxybenzoyle.

Les équivalents fonctionnels des halogénures d'acide ci-dessus servant d'agents d'acylation pour le radical amino primaire des

acides aminospéro[oxa- (ou thia)cycloalcanepénam]carboxylique de formule (II), sont notamment les anhydrides d'acides, y compris les anhydrides mixtes et en particulier les anhydrides mixtes formés avec des acides plus forts, comme les monoesters aliphatiques inférieurs de l'acide carbonique, les acides alkylsulfoniques et arylsulfoniques et les acides à empêchement plus marqué comme l'acide diphenyl-acétique. En outre, un azide d'acide ou un ester ou thioester actif (par exemple avec le p-nitrophénol, le 2,4-dinitrophénol, le thiophénol ou l'acide thioacétique) peut être utilisé mais, en variante, l'acide libre lui-même peut être condensé avec l'acide aminospéro[oxa- (ou thia)cycloalcanepénam]carboxylique de formule (II), après que l'acide libre a été au préalable activé par réaction avec, par exemple, du chlorure de (chlorométhylène)diméthylammonium (voir le brevet britannique N° 1008170 et Novak et Weichet, «Experientia», XXI, 6 (1965), 360 ou au moyen d'enzymes, ou avec un N,N'-carbonyldiimidazole ou un N,N'-carbonylditriazole (voir le brevet britannique N° 967108), ou avec un carbodiimide, par exemple le N,N'-dicyclohexylcarbodiimide (voir l'exemple II 1a et b), le N,N'-diisopropylcarbodiimide ou le N-cyclohexyl-N'-(2-morpholinoéthyl)carbodiimide (voir Sheehan et Hess, «J. Am. Chem. Soc.», 77 (1955), 1067) ou une alkylnylamine (Buijle et Viehe, «Angew. Chem.», International Edition, 3 (1964), 582) ou une cétène-imine (Stevens et Munk, «J. Am. Chem. Soc.», 80 (1958), 4065) ou un sel d'isoxazolium (Woodward et coll., «J. Am. Chem. Soc.», 83 (1961), 1010). On peut également utiliser, à la place des halogénures d'acides, les azolides correspondants.

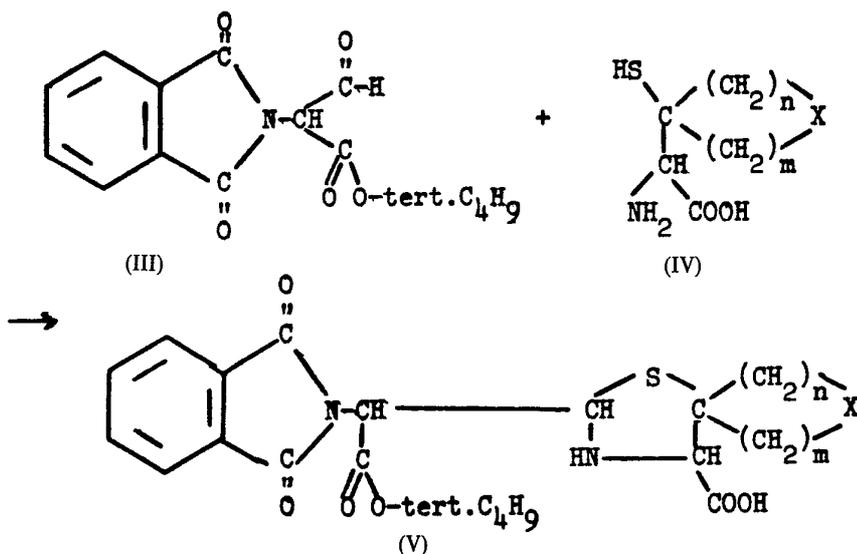
Lorsque le composé de départ utilisé est un ester de l'acide aminospéro[oxa- (ou thia)cycloalcanepénam]carboxylique de formule (II), de préférence l'ester benzylique, le procédé selon l'invention comporte une seconde étape qui consiste en une hydrogénolyse des esters obtenus en acides correspondants. Ces esters possèdent une activité antibactérienne faible, et sont utiles essentiellement en tant qu'intermédiaires de synthèse pour les acides ou les sels correspondants.

Les composés de départ peuvent être indifféremment les acides aminospéro[oxa- (ou thia)cycloalcanepénam]carboxyliques de formule (II), leurs sels ou leurs esters. Néanmoins, on a pu constater qu'il était préférable, quant au rendement, d'opérer, dans certains cas, à partir des esters et, dans d'autres cas, à partir des acides eux-mêmes. En particulier, lorsque le substituant R_2 représente les radicaux 2-phénylacétyle, 2-amino-2-phénylacétyle et 2,6-diméthoxybenzoyle, il est préférable de partir d'un ester, l'ester benzylique par exemple, de l'acide aminospéro[oxa- (ou thia)cycloalcanepénam]carboxylique correspondant, et de soumettre le composé obtenu à une réaction ultérieure de débenzylation pour obtenir l'acide libre. Lorsque, par contre, le substituant R_2 représente le radical 5-méthyl-3-phényl-4-isoxazolecarbonyle, il est alors préférable de partir de l'acide lui-même. Néanmoins, il ne faut pas perdre de vue que les acides aminospéro[oxa- (ou thia)cycloalcanepénam]carboxyliques sont eux-mêmes toujours obtenus à partir des esters correspondants, car il est nécessaire de protéger la fonction acide temporairement. Autrement dit, l'étape de transformation de l'ester en acide n'est pas une étape supplémentaire, car elle est en fait simplement décalée dans le processus général de synthèse: elle est, dans certains cas, effectuée avant la réaction d'acylation et, dans certains cas, après cette réaction d'acylation.

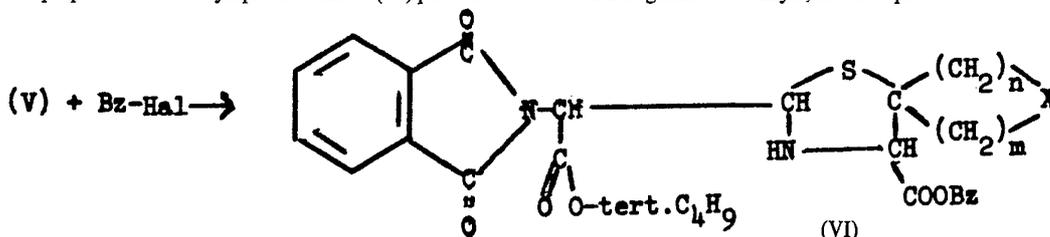
Les acides aminospéro[oxa- (ou thia)cycloalcanepénam]carboxylique de formule (II), leurs sels de métaux alcalins et leurs esters, qui constituent les composés de départ dans la préparation des composés de l'invention, ainsi que leurs procédés de préparation, sont décrits dans le brevet belge N° 862972.

Les composés de départ de formule (II) peuvent être préparés de la manière suivante:

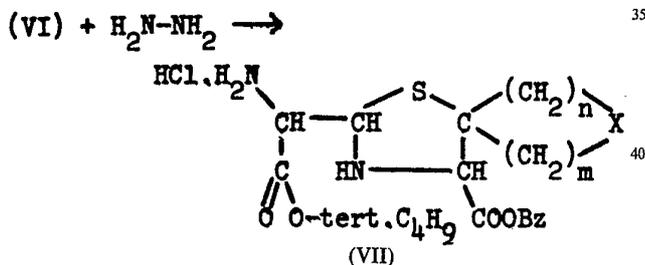
1. On fait réagir du 2-formyl-2-phthalimidoacétate de tert.-butyle de formule (III) avec un acide α -aminomercaptooxa- (ou thia)cycloalcan-acétique de formule (IV) pour obtenir l'isomère α d'un α -phthalimidodithia- (ou oxathia)azaspéroalcan-acétate de tert.-butyle de formule (V), selon l'équation:



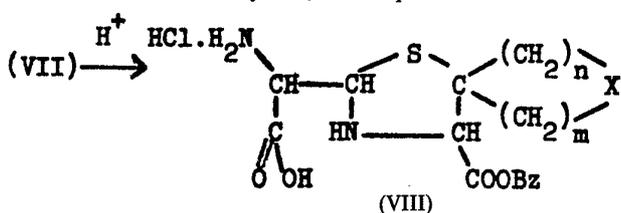
2. dont on prépare l'ester benzylique de formule (VI) par réaction avec un halogénure de benzyle, selon l'équation:



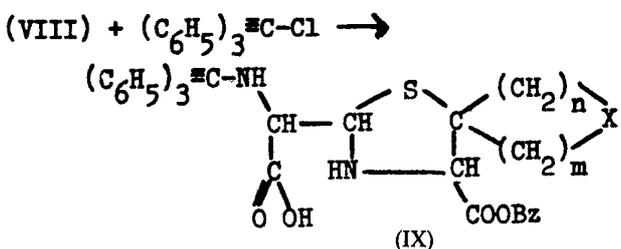
3. l'ester benzylique de formule (VI) étant ensuite soumis à une hydrazinolyse conduisant à l' α -aminodithia-(ou oxathia)azaspiroalcane-acétate de tert.-butyle de formule (VII) sous la forme de son chlorhydrate, selon l'équation:



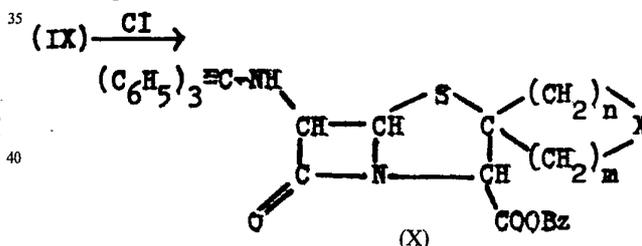
4. on soumet ensuite le composé de formule (VII) à une hydrolyse acide partielle pour obtenir un acide α -aminodithia- (ou oxathia)azaspiroalcane-acétique correspondant de formule (VIII), sous la forme de son chlorhydrate, selon l'équation:



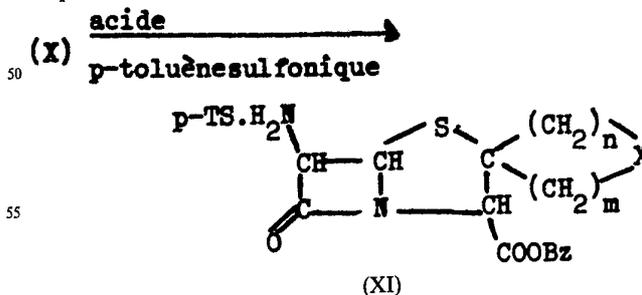
5. qui, par réaction avec le chlorure de trityle, fournit un acide α -tritylamino-dithia- (ou oxathia)azaspiroalcane-acétique de formule (IX), selon l'équation:



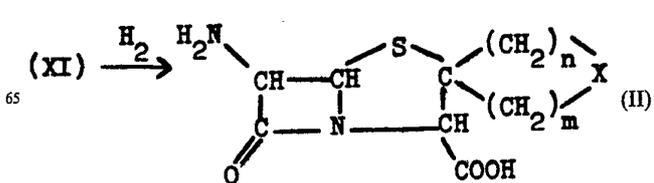
6. on cyclise ensuite un composé de formule (IX) avec un carbodiimide (en abrégé CI), pour obtenir un tritylamino-spiro[oxa- (ou thia)cycloalcane-pénam]carboxylate de benzyle de formule (X), selon l'équation:



7. que l'on traite ensuite avec de l'acide p-toluènesulfonique pour obtenir le p-toluènesulfonate d'un aminospiro[oxa- (ou thia)-cycloalcane-pénam]carboxylate de benzyle de formule (XI), selon l'équation:



8. que l'on soumet à une hydrogénolyse pour obtenir un acide aminospiro[oxa- (ou thia)cycloalcane-pénam]carboxylique de formule (II), selon l'équation:



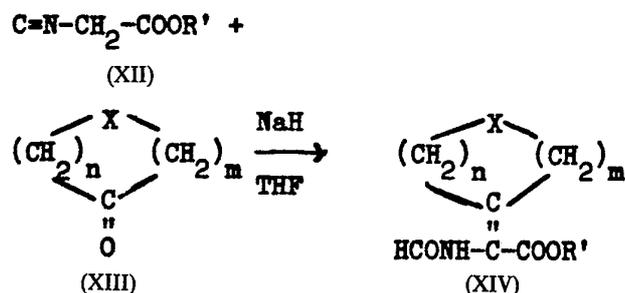
dans ces formules,

- Bz représentant le groupe benzyle,
- p-TS représentant l'acide p-toluènesulfonique,
- Hal un atome d'halogène, par exemple un atome de brome,
- X un atome d'oxygène ou de soufre, et
- n et m, indépendamment l'un de l'autre, étant les nombres entiers 1 ou 2.

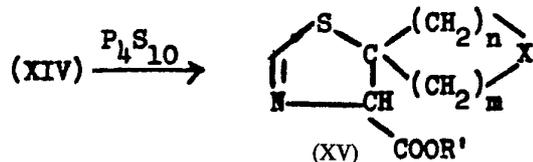
La préparation du 2-formyl-2-phtalimidoacétate de tert.-butyle de formule (III) est décrite dans la littérature (Sheehan et coll., «J. Am. Chem. Soc.», 76 (1954), 158-160).

Les composés de départ de formule (IV) peuvent être préparés par exemple selon le procédé suivant:

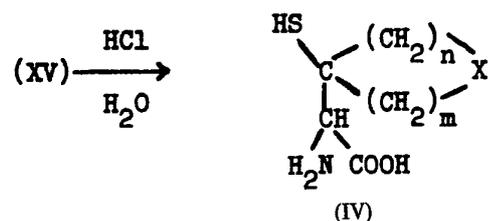
1. on condense un 2-isocynoacétate de R' de formule (XII) avec une oxa- (ou thia)cycloalcanone de formule (XIII), au moyen d'une suspension d'hydrure de sodium dans du tétrahydrofurane (THF), pour obtenir un α -formamidooxa (ou thia)cycloalcanone- Δ^{α} -acétate de R' de formule (XIV), selon l'équation:



2. qui, par traitement avec du pentasulfure de phosphore, se cyclise pour conduire à un dithia- (ou oxathia)azaspiroalcène-carboxylate de R' de formule (XV) selon l'équation:



3. Le composé de formule (XV) est ensuite soumis à une hydrolyse s'accompagnant d'une décyclisation, ce qui conduit à un acide α -aminomercaptooxa- (ou thia)cycloalcanone-acétique de formule (IV) selon l'équation:



dans ces formules,

- R' représentant un radical alkyle en C₁-C₃ ou benzyle, et
- X représentant un atome d'oxygène ou de soufre,
- m et n, indépendamment l'un de l'autre, étant les nombres entiers 1 ou 2.

Il est clair que l'on peut séparer les deux formes énantiomères des composés de formule (IV), ce qui conduit directement au diastéréoisomère (V) recherché à l'état pur.

Dans le cadre de la présente invention, on entend par sels non toxiques pharmaceutiquement acceptables notamment les sels de métaux, comme le sodium, le potassium, le calcium et l'aluminium, les sels d'ammonium et les sels d'amines comme les trialkylamines, notamment la triéthylamine, la procaine, la dibenzylamine, la N-benzyl- β -phénéthylamine, la 1-éphénamine, la N,N'-dibenzyl-éthylènediamine, la déhydroabiétylamine, la N,N'-bisdéhydroabiéthylènediamine, les N-(alkyle inférieur)pipéridines, comme la N-

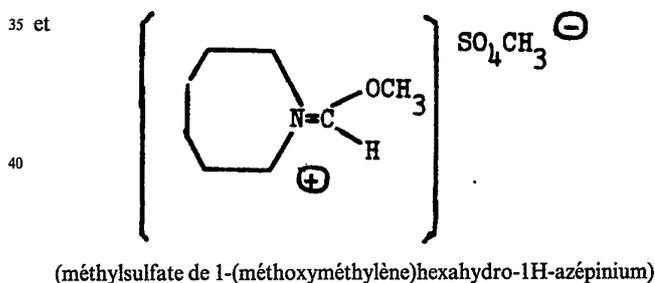
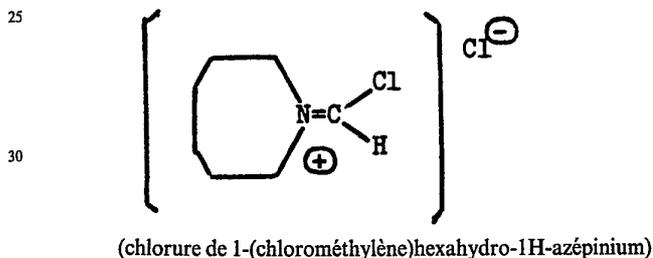
éthylpipéridine, et de manière générale les sels déjà connus pour les pénicillines G et V (voir «Ullmanns Encyklopädie», loc. cit., p. 653).

Ces sels peuvent être préparés à partir des acides correspondants par des méthodes connues en elles-mêmes.

Dans le cas particulier où R₂ représente le radical 2-amino-2-phénylacétyle, les produits de l'invention peuvent être convertis en leurs sels d'addition d'acides, par exemple avec des acides non toxiques pharmaceutiquement acceptables comme l'acide acétique, l'acide citrique, l'acide succinique, l'acide ascorbique, l'acide chlorhydrique, l'acide bromhydrique, l'acide sulfurique ou l'acide phosphorique.

Les composés de formule (I) dans lesquels X représente un atome de soufre ou d'oxygène, m et n ont la signification donnée plus haut et R₁ et R₂ représentent ensemble le radical (hexahydro-1H-azépin-1-yl)méthylène, peuvent être préparés selon un procédé dans lequel on fait réagir un acide aminospiro[oxa- (ou thia)cycloalcanepénam]-carboxylique de formule (II), un de ses esters ou un de ses sels, avec un dérivé activé de l'hexahydro-1H-azépine-1-carboxaldéhyde.

Ce dérivé activé est, par exemple et préférentiellement, le chlorure d'amide correspondant obtenu par l'action du chlorure d'oxalyle, ou encore le complexe obtenu par l'action du sulfate de diméthyle. De préférence, on utilise les composés suivants, qui sont des dérivés activés de l'hexahydro-1H-azépine-1-carboxaldéhyde, respectivement les composés de formules



Les composés de formule (I) dans lesquels X représente le groupe sulfinyle (S \rightarrow O) et n, m, R₁ et R₂ ont la signification déjà indiquée plus haut, sont obtenus en soumettant un dérivé de l'acide aminospiro[oxa- (ou thia)cycloalcanepénam]-carboxylique de formule (I), dans laquelle X représente un atome de soufre, un de ses esters ou un de ses sels, à une oxydation au moyen d'un peracide organique, tel que l'acide peracétique, l'acide perbenzoïque, de préférence l'acide m-chloroperbenzoïque. Lorsque le composé de départ utilisé est un ester d'un dérivé de formule (I), par exemple l'ester benzylique, il faudra évidemment transformer ensuite l'ester obtenu en l'acide correspondant par hydrogénolyse.

Les composés de formule (I), ainsi que leurs sels non toxiques pharmaceutiquement acceptables, peuvent être utilisés en tant qu'agents antibactériens, en tant que suppléments diététiques pour la nourriture des animaux et comme agents thérapeutiques pour les animaux, de même que pour l'homme dans le traitement des maladies infectieuses provoquées par les bactéries Gram positives ou Gram négatives.

Les composés de la présente invention possèdent en effet un spectre très vaste d'activité antibactérienne, à la fois contre les bactéries Gram positives et Gram négatives, mais ils sont tout particulièrement intéressants pour combattre les souches Gram négatives productrices de β -lactamases.

Exemple 1:

Préparation des acides (2''-phénylacétamido)spiro[oxa- (ou thia)-cycloalcanépénam]carboxyliques et de leurs dérivés.

1.1. Préparation des (2''-phénylacétamido)spiro[oxa- (ou thia)-cycloalcanépénam]carboxylates de benzyle.

a) 6-(2''-Phénylacétamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]-pyranne]-3-carboxylate de benzyle.

A une suspension de 1,56 g (0,003 mol) de p-toluènesulfonate de 6-amino-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]-pyranne]-3-carboxylate de benzyle (préparé selon la méthode décrite à l'exemple V.1. du brevet belge N° 862972) dans 100 ml de dichlorométhane anhydre, on ajoute en une seule fois, à la température ambiante et sous agitation, 303 mg (0,003 mol) de triéthylamine dans 10 ml de dichlorométhane anhydre. La dissolution du p-toluènesulfonate est instantanée. On refroidit entre 0 et -5°C et on ajoute alternativement et par petites portions, en l'espace de 1 h environ, 510 mg (0,0033 mol) de chlorure de phénylacétyle dans 10 ml de dichlorométhane et 335 mg (0,0033 mol) de triéthylamine dans 10 ml de dichlorométhane. On maintient l'agitation durant 2 h en revenant progressivement à la température ambiante.

Après lavage de la phase organique successivement avec de l'acide chlorhydrique 1/20 N, de l'hydrogénocarbonate de sodium en

solution aqueuse à 5% et de l'eau, puis séchage sur du sulfate de sodium, on l'évapore à sec. Le résidu obtenu est recristallisé indifféremment dans l'acétate d'éthyle ou dans un mélange éther/hexane (1/3) pour fournir 1,32 g (rendement 94,4%) de 6-(2''-phénylacétamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]-pyranne]-3-carboxylate de benzyle. P.F. 130°C.

Analyse pour C₂₅H₂₆N₂O₅S (P.M. = 466) (en%)

Calculé: C 64,37 H 5,58 N 6,00%

10 Trouvé: C 64,70 H 5,81 N 6,30%

Spectre IR (KBr) en cm⁻¹:

3240	NH
3040	} CH et CH ₂
2940	
2830	
1772	CO β-lactame
1743	CO ester
1635	CO amide
725	} phényle monosubstitué
688	

RMN (CDCl₃-tétraméthylsilane, en abrégé TMS)

ppm	Multiplicité	Intégration	Attribution
1 à 2,10	m	4 H	Deux H _{2'} et deux H _{6'}
3 à 4,10	m	4 H	Deux H _{3'} et deux H _{5'}
3,64	s	2 H	CH ₂ du groupe phénylacétyle
4,53	s	1 H	H ₃
5,17	s	2 H	CH ₂ du groupe benzyle
5,57	q (J = 4 cPo)	2 H	H ₅ et H ₆
6	m	1 H	NH
7,35	s	10 H	Deux groupes phényle

(m = multiplet, s = singulet, q = quadruplet)

b) 6-(2''-Phénylacétamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]-thiopyranne]-3-carboxylate de benzyle.

Ce composé est préparé de la même manière que le précédent à partir de p-toluènesulfonate de 6-amino-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]-thiopyranne]-3-carboxylate de benzyle (préparé selon la méthode décrite à l'exemple V.2. du brevet belge N° 862972. Le rendement est de 56% après cristallisation dans l'éther du produit obtenu. P.F. 138-141°C.

Analyse pour C₂₅H₂₆N₂O₄S₂ (P.M. = 482) (en %)

Calculé: C 62,20 H 5,40 N 5,81%

Trouvé: C 62,01 H 5,45 N 5,80%

40 Spectre IR (KBr) en cm⁻¹:

3260	NH
3035	} CH et CH ₂
2900	
1785	
1760	CO β-lactame
1760	CO ester
1650	CO amide
1530	NH amide
730	} phényle monosubstitué
695	

50 RMN (CDCl₃-TMS)

ppm	Multiplicité	Intégration	Attribution
1,5 à 3	m	8 H	Deux fois les H _{2'} , H _{3'} , H _{5'} et H _{6'}
3,65	s	2 H	CH ₂ du groupe phénylacétyle
4,48	s	1 H	H ₃
5,2	s	2 H	CH ₂ du groupe benzyle
5,2 à 5,8	m	2 H	H ₅ et H ₆
5,9 à 6,7	m	1 H	NH
7 à 7,7	m	10 H	Deux groupes phényle

c) Les composés suivants ont été préparés de la même manière que les deux précédents:

6'-(2''-phénylacétamido)-4,5-dihydrospiro[furanne-3[2H]2'-pénam]-3'-carboxylate de benzyle,

65 6-(2''-phénylacétamido)-4',5'-dihydrospiro[pénam-2,3'[2'H]-thiophène]-3-carboxylate de benzyle,
6'-(2''-phénylacétamido)spiro[oxétanne-3,2'-pénam]-3'-carboxylate de benzyle,

6-(2''-phénylacétamido)spiro[pénam-2,3'-thiétanne]-3-carboxylate de benzyle;

d) 6-(2''-phénylacétamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]-thiopyranne]-3-carboxylate de benzyle 1'-oxyde.

On dissout 1,6 g (0,0033 mol) de 6-(2''-phénylacétamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]-thiopyranne]-3-carboxylate de benzyle (préparé comme indiqué en 1b) ci-dessus dans 15 ml de chloroforme. On refroidit la solution à l'aide d'un bain de glace et l'on y ajoute goutte à goutte en 25 min une solution de 685 mg (0,0031 mol) d'acide m-chloroperbenzoïque (à 85%) dans 10 ml de chloroforme. On maintient l'agitation durant 30 min.

Après lavage de la solution successivement avec de l'hydrogénéocarbonate de sodium en solution aqueuse à 5% et de l'eau, puis séchage sur du sulfate de magnésium, on l'évapore à sec. On obtient

un résidu solide de 1,6 g de 6-(2''-phénylacétamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]thiopyranne]-3-carboxylate de benzyle 1'-oxyde. Ce produit fournit une seule tache en chromatographie sur couche mince de silice (éluant: benzène/acétate d'éthyle/acide acétique: 20/10/5, Rf=0,45).

Spectre IR (CHCl₃) en cm⁻¹:

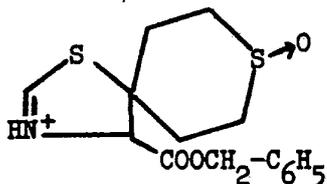
3400	NH
3000	CH ₂
1785	CO β-lactame
1740	CO ester
1680	CO amide
1500	phényle
1040	SO

RMN (CDCl₃-TMS)

ppm	Multiplicité	Intégration	Attribution
1,4 à 3,4	m	8 H	Deux fois les H ₂ , H ₃ , H ₅ et H ₆
3,65	s	2 H	CH ₂ du groupe phénylacétyle
4,6	s	1 H	H ₃
5,2	s	2 H	CH ₂ du groupe benzyle
5,4 à 5,8	m	2 H	H ₅ et H ₆
6 à 6,5	m	1 H	NH
7,4	d	10 H	Deux groupes phényle

(d = doublet)

Spectre de masse: M⁺ à m/e 498



à m/e 324.

I.2. Préparation des acides (2''-phénylacétamido)spiro[oxa (ou thia)cycloalcanépénam]carboxyliques.

a) Acide 6-(2''-phénylacétamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]-pyranne]-3-carboxylique (sel de potassium).

On dissout 466 mg (0,001 mol) de 6-(2''-phénylacétamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]pyranne]-3-carboxylate de benzyle dans 50 ml d'acétate d'éthyle. On effectue l'hydrogénéolyse sous une pression de 3 kg d'hydrogène en présence de 700 mg de charbon palladié à 10% de Pd. On filtre le catalyseur, on le rince avec un peu d'éthanol puis on évapore le solvant à sec. Le résidu est ensuite dissous dans 50 ml de dichlorométhane. On ajoute 50 ml d'eau. La phase aqueuse est amenée sous agitation à pH 7,2 avec de l'hydroxyde de potassium en solution aqueuse diluée, puis décantée et ensuite lyophilisée pour fournir 370 mg (0,000788 mol, rendement: 78,8%) de monohydrate de 6-(2''-phénylacétamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]pyranne]-3-carboxylate de potassium. P.F. 218-219°C.

Analyse pour C₁₈H₂₀KN₂O₅S·H₂O (P.M. = 433) (en %)

Calculé: C 50,0 H 4,86 N 6,48%

Trouvé: C 49,2 H 4,87 N 6,50%

Spectre IR (KBr) en cm⁻¹:

3460	H ₂ O
3250	NH
2940	} CH et CH ₂
2842	
1750	CO β-lactame
1647	CO amide
1600	CO du groupe COOK
715	} phényle monosubstitué
690	

b) Acide 6-(2''-phénylacétamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[30 [pénam-2,4'-[4H]-thiopyranne]-3-carboxylique (sel de potassium).

Ce composé est préparé de la même manière que le précédent. Rendement: 50%, P.F. 160-167°C.

Analyse pour C₁₈H₂₀N₂O₄S₂K·4H₂O (P.M. = 502) (en %)

Calculé: C 43,00 H 5,38 N 5,58%

Trouvé: C 42,83 H 4,42 N 5,55%

c) Les sels sodiques correspondant aux sels potassiques préparés ci-dessus ont été préparés comme ces derniers. Par la même méthode encore, on a préparé les sels sodiques et potassique des acides (2''-phénylacétamido)spiro[oxa (ou thia)cycloalcanépénam]carboxyliques à partir des esters benzyliques correspondant décrits au I.1.c ci-dessus.

d) Acide 6-(2''-phénylacétamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[45 [pénam-2,4'-[4H]-thiopyranne]-3-carboxylique 1'-oxyde (sel de potassium).

Ce composé est préparé de la même manière à partir de l'ester benzylique correspondant indiqué au I.1.d ci-dessus. P.F. 177-203°C (décomposition).

Spectre IR (KBr) en cm⁻¹:

1750	CO β-lactame
1650	CO amide
1590	CO du groupe COOK

RMN (D₂O-diméthyl-2,2-sila-2-pentanesulfonate de sodium, en abrégé DSS)

(Tableau en tête de la page suivante)

Exemple II:

60 Préparation des acides (2''-amino-2''-phénylacétamido)spiro[oxa (ou thia)cycloalcanépénam]carboxyliques et de leurs dérivés.

II.1. Préparation des (2''-amino-2''-phénylacétamido)spiro[oxa (ou thia)cycloalcanépénam]carboxylates de benzyle.

65 a) 6-(2''-benzyloxy-carbonylamino-2''-phénylacétamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]pyranne]-3-carboxylate de benzyle.

On mélange 1,56 g (0,003 mol) de p-toluènesulfonate de 6-amino-

ppm	Multiplicité	Intégration	Attribution
1,5 à 3,4	m	8 H	Deux fois les H ₂ , H ₃ , H ₅ et H ₆
3,65	s	2 H	CH ₂ du groupe phénylacétyle
4,35	d	1 H	H ₃
5 à 5,8	m	2 H	H ₅ et H ₆
7,35	s	5 H	Un groupe phényle

2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]pyranne]-3-carboxylate de benzyle préparé comme indiqué à l'exemple I.1.a) et 303 mg (0,003 mol) de triéthylamine dans 60 ml de dichlorométhane. On refroidit la solution jaune clair obtenue entre 0 et -5°C et on ajoute en une seule fois 939 mg (0,0034 mol) de N-(benzyloxycarbonyl)-D(-)-2-phénylglycine et 678 mg de N,N'-dicyclohexylcarbodiimide. Après 1 h d'agitation à froid, on laisse revenir à température ambiante durant une nuit. Après filtration de la N,N'-dicyclohexylurée formée, la phase organique est lavée successivement par de l'acide chlorhydrique dilué, par une solution aqueuse d'hydrogénocarbonate de sodium à 5% et finalement par de l'eau. Après séchage, on évapore à sec pour obtenir 2,8 g de produit brut. Ce produit est purifié par chromatographie sur colonne de silice (éluant: chloroforme). On recueille ainsi 1,6 g (rendement 86,7%) de 6-(2''-benzyloxycarbonylamino-2''-phénylacétamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]pyranne]-3-carboxylate de benzyle. P.F. 58-59°C.

Analyse pour C₃₃H₃₃N₃O₇S (P.M. = 615) (en %)

Calculé: C 64,39 H 5,37 N 6,83%

Trouvé: C 64,42 H 5,45 N 6,71%

Spectre IR (KBr) en cm⁻¹:

3310	NH
2945	} CH ₂ et CH
2850	
1775	CO β-lactame
1733	CO ester
1675	CO amide
1230	ester
745	} phényle monosubstitué
692	

b) 6-(2''-Benzyloxycarbonylamino-2''-phénylacétamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]thiopyranne]-3-carboxylate de benzyle.

Ce composé est obtenu avec un rendement de 95% de la même façon que le précédent, en partant de p-toluènesulfonate de 6-amino-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]thiopyranne]-3-carboxylate de benzyle (préparé comme indiqué à l'exemple I.1.b). P.F. 66-69°C.

ppm	Multiplicité	Intégration	Attribution
1,2 à 3,1	m	8 H	Deux fois les H ₂ , H ₃ , H ₅ et H ₆
4,6	s	1 H	H ₃
5,1 et 5,2	2 s	4 H	Deux CH ₂ des groupes benzyle
5,3 à 5,7	m	3 H	H ₅ , H ₆ et H _{2''}
7,1 à 7,7	m	15 H	Trois groupes phényle

II.2. Préparation des acides (2''-amino-2''-phénylacétamido)-spiro[oxa- (ou thia)cycloalcanepénam]carboxyliques.

a) Acide 6-(2''-amino-2''-phénylacétamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]pyranne]-3-carboxylique.

On dissout dans 3 ml d'acétate d'éthyle 1,5 g (0,0024 mol) de 6-(2''-benzyloxycarbonylamino-2''-phénylacétamido)-

c) 6-(2''-Benzyloxycarbonylamino-2''-phénylacétamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]thiopyranne]-3-carboxylate de benzyle 1'-oxyde.

On dissout 2,5 g (0,0039 mol) de 6-(2''-benzyloxycarbonylamino-2''-phénylacétamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]thiopyranne]-3-carboxylate de benzyle (préparé comme indiqué en II.1b) ci-dessus dans 18 ml de chloroforme. On refroidit la solution dans un bain de glace, et on y ajoute, en l'espace de 30 min, 127 mg (0,0037 mol) d'acide m-chloroperbenzoïque (à 85%) dans 15 ml de chloroforme. On agite la solution durant 30 min, puis on lave la solution successivement par de l'hydrogénocarbonate de sodium en solution aqueuse à 5% et par de l'eau à deux reprises. Après séchage de la phase organique et évaporation du solvant, on obtient 2,6 g de 6-(2''-benzyloxycarbonylamino-2''-phénylacétamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]thiopyranne]-3-carboxylate de benzyle 1'-oxyde.

Ce produit fournit une seule tache en chromatographie sur couche mince de silice:

Eluant	Rf
Acétone	0,8
Acétate d'éthyle	0,5 à 0,6
Chloroforme/méthanol 98/2	0,4

Spectre IR (KBr) en cm⁻¹:

3350	NH
3060	} CH ₂ et CH
2900	
1775	CO β-lactame
1720	CO ester
1675	CO amide
1490	NH amide
1040	SO
695	phényle monosubstitué

RMN (CDCl₃-TMS)

2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]pyranne]-3-carboxylate de benzyle et on dilue cette solution avec 300 ml d'éthanol à 96%. On ajoute 5 g de charbon palladié à 10% de Pd et on effectue l'hydrogénolyse sous une pression de 3 kg d'hydrogène pendant 30 min. Après filtration du catalyseur et évaporation de l'éthanol sous pression réduite à 30-35°C, on reprend le résidu par de l'eau. Cette phase aqueuse est extraite par de l'acétate d'éthyle et est ensuite

lyophilisée pour fournir 490 mg (0,0012 mol, rendement: 50%) d'acide 6-(2''-amino-2''-phénylacétamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]pyranne]-3-carboxylique. P.F. 188-200°C.

Spectre IR (KBr) en cm^{-1} :

3390	NH ₂
2960	} CH ₂
2880	

Spectre IR (KBr) en cm^{-1} : (suite)

1764	CO β -lactame
1680	CO amide
720	} phényle monosubstitué
690	

RMN (DMSO-TMS)

ppm	Multiplicité	Intégration	Attribution
1 à 2,2	m	4 H	Deux H ₂ ' et deux H ₆ '
2,7 à 4,2	m	4 H	Deux H ₃ ' et deux H ₅ '
4,5	s	1 H	H ₃
5,1 à 5,6	m	2 H	H ₅ et H ₆
7,5	s	5 H	Un groupe phényle

b) Acide 6-(2''-amino-2''-phénylacétamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]thiopyranne]-3-carboxylique.

Ce composé est obtenu par le même procédé de synthèse que le précédent en partant de 6-(2''-benzyloxycarbonylamino-2''-phénylacétamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]thiopyranne]-3-carboxylate de benzyle. P.F. 188-190°C.

Spectre IR (KBr) en cm^{-1} :

3400	NH ₂
2900	CH ₂
1770	CO β -lactame
1690	CO amide
695	phényle monosubstitué

c) Acide 6-(2''-amino-2''-phénylacétamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]thiopyranne]-3-carboxylique 1'-oxyde:

Ce composé a été préparé avec un rendement de 44% de la même façon que les deux précédents, en partant de 6-(2''-benzyloxy-carbonylamino-2''-phénylacétamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]thiopyranne]-3-carboxylate de benzyle 1'-oxyde (indiqué au II.1.c ci-dessus). P.F. 190-194°C.

Spectre IR (KBr) en cm^{-1} :

3390	NH ₂
2920	} CH ₂
2820	
1770	CO β -lactame
1675	CO amide
1500	COO [⊖]
695	phényle monosubstitué

d) Les acides suivants ont été préparés de la même manière:

- Acide 6-(2''-amino-2''-phénylacétamido)-4,5-dihydrospiro[furanne-3(2H), 2'-pénam]-3'-carboxylique;
- Acide 6-(2''-amino-2''-phénylacétamido)-4',5'-dihydrospiro[pénam-2,3'(2'H)-thiophène]-3-carboxylique;
- Acide 6-(2''-amino-2''-phénylacétamido)spiro[oxétanne-3,2'-pénam]-3'-carboxylique;
- Acide 6-(2''-amino-2''-phénylacétamido)spiro[pénam-2,3'-thiétanne]-3-carboxylique.

RMN (D₂O-DSS):

ppm	Multiplicité	Intégration	Attribution
1,2 à 2,5	m	4 H	Deux H ₂ ' et deux H ₆ '
2,65	s	3 H	CH ₃ en 5''
3,2 à 4,4	m	4 H	Deux H ₃ ' et deux H ₅ '
4,33	s	1 H	H ₃
5,65	q (J = 4 cPo)	2 H	H ₅ et H ₆
7,7	s	5 H	Un groupe phényle

Exemple III:

²⁰ Préparation des acides (5''-méthyl-3''-phényl-4''-isoxazolecarboxamido)spiro[oxa- (ou thia)cycloalcanepénam]carboxyliques et de leurs dérivés.

a) Acide 6-(5''-méthyl-3''-phényl-4''-isoxazolecarboxamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]pyranne]-3-carboxylique (sel de sodium).

²⁵ A une suspension de 840 mg (0,00325 mol) de l'acide 6-amino-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]pyranne]-3-carboxylique (préparé selon la méthode décrite à l'exemple VI.1. du brevet belge N° 862972, dans 23 ml de chloroforme anhydre, on ajoute 2 ml d'hexaméthylsilazane et l'on chauffe à reflux pendant 2 h. La solubilisation est rapide. On distille le solvant sous vide et on reprend le résidu par 5 ml de chloroforme et 5 ml de dioxanne anhydre, on refroidit à 0°C et on ajoute 325 mg (0,00325 mol) de triéthylamine dans 1 ml de chloroforme. A cette solution, on ajoute 720 mg (0,00325 mol) de chlorure de 5-méthyl-3-phényl-4-isoxazole-carbonyle dans un mélange solvant anhydre constitué par 3 ml de chloroforme et 3 ml de dioxanne et on agite pendant 30 min vers 0°C. On laisse revenir à température ambiante, on filtre un léger insoluble et on ajoute 2 ml d'éthanol. On agite encore pendant 20 min, puis on ajoute 414 mg (0,003 mol) de 2-éthylbutyrate de sodium dans 5 ml d'isopropanol. On laisse reposer le mélange pendant 2 h, puis on ajoute 50 ml d'éther anhydre. Il apparaît immédiatement un précipité blanc qui est filtré. On obtient ainsi 700 mg de 6-(5''-méthyl-3''-phényl-4''-isoxazolecarboxamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]pyranne]-3-carboxylate de sodium, sous forme de dihydrate (rendement 47%). P.F.: 198-203°C (décomposition).

⁴⁵ Analyse pour C₂₁H₂₀N₃NaO₆S · 2H₂O (P.M. = 501) (en %)

Calculé: C 50,29 H 4,79 N 8,38%

⁵⁰ Trouvé: C 50,20 H 4,77 N 8,33%

Spectre IR (KBr) en cm^{-1} :

3400	NH et H ₂ O
2950	CH ₂ et CH ₃
1760	CO β -lactame
1645	CO amide
1595	CO de COONa
764	} phényle monosubstitué
690	

b) On prépare de la même manière les sels de sodium des acides suivants:

— Acide 6-(5''-méthyl-3''-phényl-4''-isoxazolecarboxamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]thiopyranne]-3-carboxylique;

— Acide 6'-(5''-méthyl-3''-phényl-4''-isoxazolecarboxamido)-4,5-dihydrospiro[furanne-3(2H),2'-pénam]-3'-carboxylique;

— Acide 6-(5''-méthyl-3''-phényl-4''-isoxazolecarboxamido)-4',5'-dihydrospiro[pénam-2,3'(2'H)-thiophène]-3-carboxylique;

— Acide 6'-(5''-méthyl-3''-phényl-4''-isoxazolecarboxamido)-spiro[oxétanne-3,2'-pénam]-3'-carboxylique;

— Acide 6-(5''-méthyl-3''-phényl-4''-isoxazolecarboxamido)-spiro[pénam-2,3'-thiétanne]-3-carboxylique.

Exemple IV:

Préparation des acides (2'',6''-diméthoxybenzamido)spiro[oxa- (ou thia)cycloalcanepénam]carboxyliques et de leurs dérivés.

IV.1. 6-(2'',6''-Diméthoxybenzamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]thiopyranne]-3-carboxylate de benzyle.

A une suspension de 2,5 g (0,0046 mol) de p-toluènesulfonate de 6-amino-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]thiopyranne]-3-carboxylate de benzyle (préparé comme indiqué à l'exemple I.1.b)) dans 40 ml de dichlorométhane, on ajoute 470 mg (0,0046 mol) de triéthylamine dans 4 ml de dichlorométhane. Le

produit se dissout et on ajoute alternativement une solution de 1,028 g (0,0051 mol) de chlorure de 2,6-diméthoxybenzoyle dans 8 ml de dichlorométhane et une solution de 518 mg (0,0051 mol) de triéthylamine dans 8 ml de dichlorométhane. On lave ensuite cette solution successivement par de l'acide chlorhydrique 1/20N, par de l'eau, par une solution aqueuse d'hydrogencarbonate de sodium à 5% et par de l'eau.

Après séchage et évaporation du solvant, on obtient un résidu de 2 g de 6-(2'',6''-diméthoxybenzamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]thiopyranne]-3-carboxylate de benzyle que l'on recrystallise dans l'éther. P.F.: 187-190°C.

Analyse pour C₂₆H₂₈N₂O₆S₂ (P.M. = 528) (en %)

Calculé: C 59,00 H 5,30 N 5,30%

15. Trouvé: C 58,89 H 5,28 N 5,32%

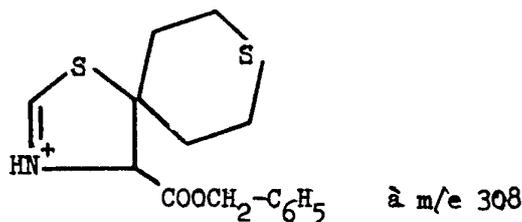
Spectre IR (KBr) en cm⁻¹:

3380	NH
2850	CH ₃
1775	CO β-lactame
1740	CO ester
1675	CO amide
1515	NH amide
695	phényle monosubstitué

25 RMN (CDCl₃-TMS)

ppm	Multiplicité	Intégration	Attribution
1,6 à 3,1	m	8 H	Deux fois les H ₂ , H ₃ , H ₅ et H ₆
3,82	s	6 H	H des deux groupes méthoxy
4,5	s	1 H	H ₃
5,22	s	2 H	CH ₂ du groupe benzyle
5,5 à 6,1	m	2 H	H ₅ et H ₆
6,5 à 6,8	m	3 H	NH + H _{3''} et H _{5''}
7,1 à 7,6	m	6 H	Un groupe phényle + H _{4''}

Spectre de masse: M⁺ à m/e 528



40 IV.2.a) Acide 6-(2'',6''-diméthoxybenzamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]thiopyranne]-3-carboxylique (sel de sodium).

Ce composé est obtenu selon le procédé décrit à l'exemple I.2.a). P.F.: 180-200°C (décomposition).

45 Spectre IR (KBr) en cm⁻¹:

2830	CH ₃
1765	CO β-lactame
1660	CO amide
1590	COO [⊖]

50 RMN (D₂O-DSS)

ppm	Multiplicité	Intégration	Attribution
1,8 à 3,2	m	8 H	Deux fois les H ₂ , H ₃ , H ₅ et H ₆
3,85	s	6 H	H des deux groupes méthoxy
4,28	s	1 H	H ₃
4,7 et 5,62	m	2 H	H ₅ et H ₆
6,5 à 7,7	m	3 H	H _{3''} , H _{4''} et H _{5''}

b) On prépare de la même manière les sels de sodium des acides suivants:

— Acide 6-(2'',6''-diméthoxybenzamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]pyranne]-3-carboxylique;

— Acide 6'-(2'',6''-diméthoxybenzamido)-4,5-dihydrospiro[furanne-3(2H),2'-pénam]-3'-carboxylique;

— Acide 6-(2'',6''-diméthoxybenzamido)-4',5'-dihydrospiro[pénam-2,3'(2'H)-thiophène]-3-carboxylique;

65 — Acide 6'-(2'',6''-diméthoxybenzamido)spiro[oxétanne-3,2'-pénam]-3'-carboxylique;

— Acide 6-(2'',6''-diméthoxybenzamido)spiro[pénam-2,3'-thiétanne]-3-carboxylique.

Propriétés pharmacologiques

On a effectué de nombreux essais comparatifs concernant l'activité biologique intrinsèque des composés de formule I conformes à l'invention, vis-à-vis de diverses souches bactériennes du type Gram positif ou Gram négatif. Les produits de référence des essais comparatifs sont respectivement la pénicilline G, l'oxacilline, l'ampicilline et la méthicilline. On donne ci-après quelques renseignements sur l'origine et les caractéristiques des souches bactériennes utilisées.

A. Souches bactériennes Gram +

— *Staphylococcus aureus* 6538

Il s'agit d'une coque Gram positive particulièrement sensible aux pénicillines, et qui présente un mécanisme de résistance peu important. Cette souche de staphylocoque est donc représentative d'une sensibilité maximale de l'espèce.

— *Staphylococcus aureus* 52149

Il s'agit d'une coque Gram positive dont la sensibilité intrinsèque du récepteur est équivalente à celle de la souche précédente, mais qui produit une β -lactamase typique de l'espèce qui la rend résistante à toutes les pénicillines sensibles à l'hydrolyse.

B. Souches bactériennes Gram -

— *Escherichia coli* B.

Il s'agit d'une souche classique de collection d'*Escherichia coli*, qui produit très peu de β -lactamase (de type I) et est donc très sensible aux pénicillines. En ce qui concerne la classification des β -lactamases, on utilise ici celle proposée par M.H. Richmond et R.B. Sykes dans «Advances in Microbial Physiology», 9 (1973), pp. 43 et 45.

— *Escherichia coli* B AMPI-R.

Il s'agit d'un mutant de la souche précédente, créé par la titulaire. Cette souche, par contre, est hyperproductrice de β -lactamase de type I déjà produite par la souche mère *Escherichia coli* B. Elle présente une résistance accrue aux pénicillines, qui est liée semble-t-il directement à la production de la β -lactamase.

— *Escherichia coli* K 12-44

Il s'agit d'un mutant d'*Escherichia coli* K 12, souche mère de référence typique de l'espèce. Ce mutant n'est pas producteur de β -lactamase.

— *Escherichia coli* K 12-44 S

Il s'agit d'un mutant pléiotropique d'*Escherichia coli* K 12-44, non producteur de β -lactamase, créé par la titulaire. Il est très sensible aux pénicillines par hyperperméabilité.

— *Escherichia coli* K 12-44 R

Cette souche est un mutant pléiotropique d'*Escherichia coli* K 12-44, créé par la titulaire. Il n'est pas producteur de β -lactamase, mais présente néanmoins une résistance aux pénicillines, vraisemblablement par modification de la perméabilité des enveloppes.

C. Résultats des essais comparatifs d'activité

On a déterminé, pour un certain nombre de composés de formule (I) conformes à l'invention, la concentration minimale inhibitrice (en abrégé MIC) selon la procédure décrite ci-après.

Les produits à tester sont introduits en concentrations croissantes dans un milieu de culture gélosé en boîtes de Petri. Un inoculateur multiple est utilisé pour déposer simultanément des gouttes (soit en tout 10 μ l) d'inoculum (suspension à environ 10⁵ bactéries/ml) à la surface du milieu. Après incubation à 37°C pendant 24 h, la croissance des bactéries est observée. Par définition, la MIC est exprimée par la concentration minimale inhibant la multiplication des bactéries. Dans les résultats qui suivent, toutefois, la MIC est posée égale à 1 pour les produits de référence, et les chiffres d'activité indiqués pour les composés de formule (I) testés sont donc des valeurs relatives. Cette présentation des résultats est la plus correcte et la plus reproductible car, pour une même souche bactérienne, on peut observer des valeurs de MIC différentes si elles ont été mesurées à des moments différents. Cela est lié aux variations saisonnières des souches et de leur milieu nutritif.

Les composés qui ont été testés sont les suivants:

— Acide 6-(2''-phénylacétamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]-pyranne]-3-carboxylique (sel potassique) (formule I: n = m = 2, X = O, R₁ = H, R₂ = 2-phénylacétyle) (composé A).

— Acide 6-(2''-amino-2''-phénylacétamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]pyranne]-3-carboxylique (formule I: n = m = 2, X = O, R₁ = H, R₂ = 2-amino-2-phénylacétyle) (composé B).

— Acide 6-(5''-méthyl-3''-phényl-4''-isoxazolecarboxamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]pyranne]-3-carboxylique (sel sodique) (formule I: n = m = 2, X = O, R₁ = H, R₂ = 5-méthyl-3-phényl-4-isoxazolecarbonyle) (composé C).

— Acide 6-(2''-phénylacétamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]thiopyranne]-3-carboxylique (sel potassique) (composé E) (formule I: n = m = 2, X = S, R₁ = H, R₂ = 2-phénylacétyle).

— Acide 6-(2''-amino-2''-phénylacétamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]thiopyranne]-3-carboxylique (composé F) (formule I: n = m = 2, X = S, R₁ = H, R₂ = 2-amino-2-phénylacétyle).

— Acide 6-(2'',6''-diméthoxybenzamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]thiopyranne]-3-carboxylique (sel sodique) (composé G) (formule I: n = m = 2, X = S, R₁ = H, R₂ = 2,6-diméthoxybenzoyle).

— Acide 6-(2''-phénylacétamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]thiopyranne]-3-carboxylique 1'-oxyde (sel potassique) (composé H) (formule I: n = m = 2, X = SO, R₁ = H, R₂ = 2-phénylacétyle).

— Acide 6-(2''-amino-2''-phénylacétamido)-2',3',5',6'-tétrahydrospiro[pénam-2,4'-[4H]thiopyranne]-3-carboxylique 1'-oxyde (composé J) (formule I: n = m = 2, X = SO, R₁ = H, R₂ = 2-amino-2-phénylacétyle).

a) Essais comparatifs avec la pénicilline G

Souche utilisée	Pénicilline G	Composé A	Composé E	Composé H
<i>S. aureus</i> 6538	1	2	10	1
<i>S. aureus</i> 52149	1	2	1	1
<i>E. coli</i> B	1	4	5	1
<i>E. coli</i> B AMPI-R	1	2	>2	—

b) Essais comparatifs avec l'oxacilline

Souche utilisée	Oxacilline	Composé C
<i>S. aureus</i> 6538	1	2
<i>S. aureus</i> 52149	1	1

c) Essais comparatifs avec l'ampicilline

Souche utilisée	Ampicilline	Composé B	Composé F	Composé J
<i>S. aureus</i> 6538	1	1	2	2
<i>E. coli</i> B	1	3,5	7	1
<i>E. coli</i> B AMPI-R	1	1	3	2
<i>E. coli</i> K 12-44	1	3,5	10	3
<i>E. coli</i> K 12-44S	1	1,9	15	3
<i>E. coli</i> K 12-44R	1	1,5	> 1,5	2

d) Essais comparatifs avec la méthicilline

Souche utilisée	Méthicilline	Composé G
<i>S. aureus</i> 52149	1	0,5

Il découle de ces résultats que les composés de formule (I) conformes à l'invention présentent des activités comparables à celles des pénicillines traditionnelles correspondantes. Toutefois, l'intérêt essentiel de ces nouveaux composés sera démontré par les résultats suivants. En effet, les composés de formule (I) se distinguent des pénicillines traditionnelles par une résistance accrue aux β -lactama-

ses, qui sont des enzymes désactivantes hydrolysant la fonction lactame du noyau pénicillanique.

Cette propriété des composés de l'invention est démontrée par les résultats d'une cinétique d'hydrolyse comparée de l'ampicilline et du composé B vis-à-vis de deux β -lactamases de bactéries Gram négatives. Ces résultats sont repris dans le tableau ci-après:

Activités résiduelles (en micromoles) de l'ampicilline et du composé B en présence de β -lactamases, en fonction du temps

β -Lactamase TEM			β -Lactamase P 99		
Temps d'incubation (min)	Ampicilline	B	Temps d'incubation (min)	Ampicilline	B
0	500	500	0	500	500
2		469	3	262	458
4		453	6	138	422
6	< 50	438	9	< 50	334
12	< 50	334	12	< 50	312
18	< 50	225	20	< 50	300

Ces résultats montrent que, après 6 min d'incubation dans la β -lactamase TEM, l'activité de l'ampicilline n'est plus décelable, alors qu'il subsiste encore une activité correspondant à 438 μ mol du composé B, soit 87%. La même constatation peut être faite pour la β -lactamase P 99 avec laquelle, après 9 min d'incubation, l'activité de l'ampicilline n'est plus décelable, alors qu'il subsiste encore une activité correspondant à 334 μ mol du composé B, soit 67%.

Ces résultats sont d'ailleurs confirmés par les essais d'activité qui ont été décrits plus haut. En effet, on peut constater qu'entre l'activité du composé B sur *E. coli* B et sur son mutant hyperproducteur de β -lactamase *E. coli* B AMPI-R, il y a une différence d'un facteur 3,5.

Une résistance accrue à ces β -lactamases est également observée pour le composé F. Elle est cependant moins prononcée que pour le

composé B. Aucune modification du comportement vis-à-vis de ces β -lactamases n'a été décelée pour le composé J par rapport à l'ampicilline.

Une très nette augmentation de la résistance à la β -lactamase TEM est également observée pour les composés E et H, homologues de la pénicilline G. Cette propriété peut être mise en évidence par la mesure de la vitesse d'hydrolyse exprimée en termes de consommation par minute d'une solution de soude caustique de concentration donnée. Cette méthode permet le dosage de l'acide pénicilloïque résultant de l'hydrolyse de la fonction β -lactame par l'enzyme lytique. Les résultats de cette cinétique dans le tableau ci-après montrent clairement la supériorité des composés E et H par rapport à la pénicilline G.

Microlitres de soude caustique 0,005N consommés par minute

pénicilline G	3,83
composé E	0,64
composé H	0,50

Cela confirme donc bien l'intérêt des composés de formule (I) par rapport aux pénicillines déjà connues, tout particulièrement pour combattre les souches Gram négatives productrices de β -lactamases.

D. Posologie et utilisation

L'administration des composés de formule (I) se fait, comme pour toutes les pénicillines, par voie orale ou parentérale.

A titre d'exemple, la posologie du composé A est comprise entre 0,4 et 6 g/d, celle du composé C entre 4 et 8 g/d, celle du composé E entre 2 et 10 g/d et celle du composé H entre 0,2 et 3 g/d. Pour les homologues de l'ampicilline (composés B, F et J) une posologie identique de 0,7 à 7 g/d peut être estimée, ces doses étant bien entendu susceptibles d'adaptation en fonction du malade et de la maladie à traiter.